



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PROPESP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS – ICE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ

**Contribuição ao estudo fitoquímico das folhas de *Annona
neoinsignis* H. Rainer (Annonaceae) e investigação das suas
propriedades citotóxicas**

Melissa Pires Souza

Manaus/AM
Setembro/2025

Melissa Pires Souza

**Contribuição ao estudo fitoquímico das folhas de *Annona
neoinsignis* H. Rainer (Annonaceae) e investigação das suas
propriedades citotóxicas**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pesquisa e Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química na linha de pesquisa Produtos Naturais e Biomoléculas.

Prof. Dr. Emmanoel Vilaça Costa

Orientador

Manaus/AM

Setembro/2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729c Souza, Melissa Pires

Contribuição ao estudo fitoquímico das folhas de *Annona neoinsignis* H. Rainer (Annonaceae) e investigação das suas propriedades citotóxicas / Melissa Pires Souza. - 2025.
164 f. : il., color. ; 31 cm.

Orientador(a): Emmanoel Vilaça Costa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Química de Prod. Naturais, Manaus, 2025.

1. *Annona neoinsignis*. 2. Annonaceae. 3. Óleo essencial. 4. Alcaloides. 5. Citotoxicidade. I. Costa, Emmanoel Vilaça. II. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Química de Prod. Naturais. III. Título



Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química

FOLHA DE APROVAÇÃO

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *ANNONA NEOINSIGNIS* H. RAINER (ANNONACEAE) E
INVESTIGAÇÃO DAS SUAS PROPRIEDADES CITOTÓXICAS**

MELISSA PIRES

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Ciências Exatas da
Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Aprovada em 18 de setembro de 2025.

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **EMMANOEL VILACA COSTA**
Data: 18/09/2025 14:50:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. EMMANOEL VILAÇA COSTA (PPGQ/UFAM)
PRESIDENTE/ORIENTADOR(A)

Documento assinado digitalmente
 **SERGIO MASSAYOSHI NUNOMURA**
Data: 18/09/2025 18:31:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. SERGIO MASSAYOSHI NUNOMURA (PPGQ/UFAM)

MEMBRO INTERNO

Documento assinado digitalmente
 **JOAO HENRIQUE GHILARDI LAGO**
Data: 18/09/2025 15:12:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PROF. DR. JOÃO HENRIQUE GHILARDI LAGO (UFABC)

MEMBRO EXTERNO**Universidade Federal do Amazonas**

Manaus, 18 de setembro de 2025.

Av. General Rodrigo Octávio, 6200 - Bairro Coroado 1 Campus Universitário Senador Arthur Virgílio Filho, Setor Norte - Telefone: (92)
(92) 3305-1181 / Ramal 2403
CEP 69080-900 Manaus/AM - ppgq@ufam.edu.br

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me dado sabedoria, fé e força durante todo este tempo, principalmente nos momentos mais difíceis;

Agradeço aos meus pais Wilson Henrique e Lucenilda Pires por todo o amor, carinho e suporte, sempre fazendo o possível e impossível para eu me dedicar totalmente aos meus estudos, sem vocês eu não conseguiria chegar até aqui;

Agradeço o meu noivo Messias Celestino por todo apoio e suporte, pelas inúmeras palavras de motivação e conforto, por me ajudar nos momentos em que mais precisei sem medir esforços, sendo sempre o meu maior incentivador;

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Emmanoel Vilaça Costa, por sua incrível orientação, disponibilidade, paciência, otimismo e dedicação. O desenvolvimento deste trabalho não seria possível sem os seus conhecimentos, experiências e comprometimento, me proporcionando a oportunidade de aprender cada vez mais;

Agradeço a todos os meus amigos e colegas do grupo de pesquisa GEQBiom (Grupo de Estudo de Química de Biomoléculas) em especial a Victória Nardelli e Jessica Auzier, que me acompanham desde a graduação e que tornaram essa jornada acadêmica mais leve;

Agradeço o professor Dr. Daniel Pereira Bezerra e à toda sua equipe de trabalho do Instituto Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz-BA) pela colaboração na realização dos ensaios de citotoxicidade;

Agradeço o Herbário (HUAM) do Departamento de Biologia da UFAM pela identificação da espécie em estudo;

Agradeço a todos os programas de apoio e fomento à pesquisa científica (CNPq/CAPES/FAPEAM/PROPESP) pela disponibilização de bolsas e de recursos financeiros para obtenção de reagentes e equipamentos, viagem a estudos a Paraíba que me ajudou a ganhar mais conhecimento científico, a fim de contribuir para o desenvolvimento da pesquisa;

Agradeço a Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela disponibilização do espaço, assim como ao Departamento de Química e ao Programa de Pós-Graduação em Química, que me proporcionaram um espaço de aprendizagem, crescimento e troca de experiências;

Agradeço a Central Analítica (CA/CAM/UFAM), em especial ao Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (NMRLAB) e ao Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM) pelas análises de minhas amostras.

“Mas sejam fortes e não fiquem desanimados, pois vocês serão bem-sucedidos em tudo o que fizerem. ”

(2 Crônicas 15:7 - NTLH)

RESUMO

O gênero *Annona* L. com cerca de 166 espécies, pertencente à família Annonaceae, é considerado o mais importante da família em razão do valor econômico de seus frutos comestíveis, bem como das propriedades medicinais de várias de suas espécies. Embora seja um gênero com muitos estudos, há espécies ainda desconhecidas do ponto de vista químico e biológico. Dentre estas encontra-se a *Annona neoinsignis* H. Rainer (sinonímia *Rollinia insignis* R. E. Fries), que produz frutos amarelos quando maduros e com a casca bem crespa, com várias sementes e polpa de sabor agradável. Desse modo, neste trabalho foi realizado o estudo fitoquímico das folhas de *A. neoinsignis* direcionado para a investigação da citotoxicidade *in vitro* dos extratos, frações, óleo essencial e substâncias isoladas. O estudo da fração alcaloídica resultou no isolamento e na caracterização de seis alcaloides contendo o esqueleto isoquinolínico e uma lactona. Para o isolamento destes foram empregadas técnicas cromatográficas clássicas, como CC e CCDP e, para a identificação estrutural foram usadas técnicas espectroscópicas (RMN de ^1H e ^{13}C 1D/2D) e espectrométricas (EM). A extração do óleo essencial das folhas foi realizada em seis períodos diferentes, sendo obtido por hidrodestilação e seus constituintes químicos determinados e quantificados por CG-DIC e CG-EM. Os alcaloides isolados e identificados pertencem às classes dos oxoaporfínicos (liriodenina e lisicamina), aporfínicos (nornuciferina, anonaina e asimilobina) e tetrahidroprotoberberinos (estefolidina), além de uma lactona (loliolida). O estudo do óleo essencial mostrou que o composto majoritário para o período de jun/23 foi o germacreno D (24,11%), para out/24 foi o (E)-cariofileno (26,38%) e para jul/24, jan/25, abr/25 e jul/25 o β -elemeno foi o majoritário representando 29,61%, 24,61%, 30,0% e 27,8%, respectivamente. A avaliação citotóxica *in vitro* do óleo essencial de jun/23 apresentou promissora citotoxicidade frente às células tumorais HCT116 e HepG2 com valor de CI_{50} de 28,71 e 27,90 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, além de não apresentar citotoxicidade para células normais e, unido ao estudo *in vitro* e *in vivo* do óleo de julho/24, pode-se constatar que este foi capaz de causar morte celular em células de câncer de fígado. Além do mais, três alcaloides apresentaram atividade citotóxica promissora. Sendo assim, os resultados obtidos encontram-se de acordo com aqueles descritos na literatura para diversas espécies do gênero *Annona*, além de contribuir para o conhecimento de espécies de Annonaceae do Amazonas. Além disso, todos os resultados obtidos são descritos para primeira vez na espécie indicando mais uma espécie de Annonaceae como fonte promissora de substâncias citotóxicas contra linhagens de células tumorais humanas.

Palavras-Chave: *Annona neoinsignis*; Annonaceae; Óleo essencial; Alcaloides; Citotoxicidade.

ABSTRACT

The genus *Annona* L., with approximately 166 species, is part of the Annonaceae family and is regarded as the most significant within this family due to the economic value of its edible fruits and the medicinal properties of several species. Despite being well-studied, there are still some species that remain unexplored from both chemical and biological perspectives. One such species is *Annona neoinsignis* H. Rainer (synonym: *Rollinia insignis* R. E. Fries), which produces yellow fruits when ripe. These fruits have a very rough skin, contain several seeds, and feature a pleasantly flavored pulp. This study focused on the phytochemical examination of *A. neoinsignis* leaves, particularly evaluating the *in vitro* cytotoxicity of extracts, fractions, essential oil, and isolated compounds. The analysis of the alkaloid fraction resulted in the isolation and characterization of six alkaloids that contain an isoquinoline skeleton, along with one lactone. For the isolation of these compounds, classical chromatographic techniques such as column chromatography (CC) and thin-layer chromatography (TLC) were utilized. Structural identification was conducted using spectroscopic techniques (1D/2D ^1H and ^{13}C NMR) and spectrometric techniques (MS). The essential oil was extracted from the leaves during six different time periods using hydrodistillation, and its chemical constituents were identified and quantified using gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The isolated and identified alkaloids belong to various classes: oxoaporphines (liriodenine and lysicamine), aporphines (nornuciferine, anonaine, and asimilobine), and tetrahydroprotoberberines (stepholidine), along with a lactone (loliolide). The essential oil study showed that the major compound for the June/23 period was germacrene D (24.11%), for October/24 was (*E*)-caryophyllene (26.38%), and for July/24, January/25, April/25, and July/25, the major compound was β -elemene, representing 29.61%, 24.61%, 30.0%, and 27.8%, respectively. The *in vitro* cytotoxic evaluation of the June/23 essential oil showed promising cytotoxicity against HCT116 and HepG2 tumor cells with IC_{50} values of 28.71 and 27.90 $\mu\text{g/mL}$, respectively, while showing no cytotoxicity against normal cells. Combined with the *in vitro* and *in vivo* studies of the July/24 oil, it was found that the latter was capable of inducing cell death in liver cancer cells. Furthermore, three alkaloids demonstrated promising cytotoxic activity. Therefore, the results obtained are in agreement with those reported in the literature for several species of the *Annona* genus and contribute to the knowledge of

Annonaceae species from the Amazon. Additionally, all the results reported here are described for the first time for this species, indicating yet another Annonaceae species as a promising source of cytotoxic substances against human tumor cell lines.

Keywords: *Annona neoinsignis*; Annonaceae; Essential oil; Alkaloids; Cytotoxicity.

LISTA DE ABREVIATURAS, CÓDIGOS, FÓRMULAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

β	beta
δ	Deslocamento químico
μg	Micrograma
μL	Microlitro
μM	Micromolar
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
CD_3OD	Metanol deuterado
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CHCl_3	Clorofórmio
CH_2Cl_2	Diclorometano
CH_3OH	Metanol
CI_{50}	Concentração inibitória média
CIM	Concentração Inibitória Mínima
cm	Centímetros
IGM	Instituto Gonçalo Moniz
<i>d</i>	Dupleto
Da	Dalton
<i>dd</i>	Duplo dupleto

DMSO	Dimetilsulfóxido
Dox	Doxorrubicina
EM	Espectrometria de massas
FAFAN	Fração alcaloídica das folhas de <i>Annona neoinsignis</i>
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
g	Grama
ESI	Eletrospray Ionization
EMFAN	Extrato metanólico das folhas de <i>Annona neoinsignis</i>
HCl	Ácido clorídrico
HepG2	Carcinoma Hepatocelular Humano
HL-60	Leucemia Promielocítica Humana
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
Hz	Hertz
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
<i>J</i>	Constante de acoplamento
L	Litro
LETI	Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia
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
NH ₄ OH	Hidróxido de amônio
nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
Pax	Pseudoaxial
Peq	Pseudoequatorial
pH	Potencial de hidrogênio
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de Carbono 13
TR	Tempo de retenção
s	Simpleto
<i>t</i>	Tripleto
TMS	Tetrametilsilano
v/v	Volume/volume

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da morfina e quinina.	22
Figura 2. Distribuição global de Annonaceae com base em 67.966 espécimes.	26
Figura 3. Estrutura química das acetogeninas e diterpenos isolados de espécies de Annonaceae.	28
Figura 4. Estrutura química geral dos alcaloides derivados do esqueleto isoquinolínico e dos diterpenos mais comuns encontrados na família Annonaceae.	30
Figura 5. Frutos da <i>A. muricata</i> (graviola), <i>A. squamosa</i> (fruta do conde), <i>A. reticulata</i> (pinha) e <i>A. crassiflora</i> (araticum), da esquerda para a direita, respectivamente.	31
Figura 6. Estruturas químicas de alguns alcaloides reportados em espécies de <i>Annona</i>	33
Figura 7. Biossíntese dos principais alcaloides do tipo isoquinolinos.	34
Figura 8. Classificação esquemática dos principais alcaloides do tipo isoquinolinos encontrados em Annonaceae (R = -H ou -CH ₃).	35
Figura 9. Estrutura geral das acetogeninas e de diferentes posições de anéis tetrahydrofuranos de acordo com sua classificação.	36
Figura 10. Estruturas de algumas acetogeninas frequentemente reportadas em espécies de <i>Annona</i>	37
Figura 11. Estruturas químicas de flavonoides e terpenos reportadas em espécies de <i>Annona</i>	38
Figura 12. Rota biossintética simplificada dos principais constituintes químicos voláteis dos óleos essenciais.	39
Figura 13. Estruturas químicas de alguns constituintes majoritários reportados nos óleos essenciais de espécies de Annonaceae, principalmente as pertencentes ao gênero <i>Annona</i>	40
Figura 14. Estruturas químicas de alcaloides isolados de diferentes espécies e partes das plantas pertencentes ao gênero <i>Annona</i>	44
Figura 15. Características botânicas de <i>A. neoinsignis</i> (a) Árvore; (b) e (c) detalhes das folhas e (d) botão de flor.	46
Figura 16. Estruturas da Resazurina e Resofurina.	70
Figura 17. Esqueletos dos alcaloides identificados nas folhas de <i>A. neoinsignis</i>	72
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de AN-1	73
Figura 19. Ampliação da região aromática (δ 8,9-6,2 ppm) do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de AN-1	74

Figura 20. Mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-1	74
Figura 21. Mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-1	75
Figura 22. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-1	75
Figura 23. Demais correlações no mapa de correlação HMBC para AN-1	76
Figura 24. Espectro MS (ESI+) da AN-1	77
Figura 25. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-1	78
Figura 26. Proposta de fragmentação para o alcaloide oxoaporfino liriodenina adaptada de Carnevale Neto et al., 2020.	78
Figura 27. Estrutura do alcaloide liriodenina.	79
Figura 28. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de AN-2	80
Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de AN-2	80
Figura 30. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de AN-2	80
Figura 31. Espectro MS (ESI+) da AN-2	82
Figura 32. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-2	82
Figura 33. Proposta de fragmentação para o alcaloide oxoaporfino lisicamina adaptada de Carnevale Neto et al., 2020.	83
Figura 34. Estrutura do alcaloide lisicamina.	83
Figura 35. Ampliação da região aromática (δ 8,5-5,8 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de AN-3a	84
Figura 36. Ampliação da região não aromática (δ 4,3-2,5 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de AN-3a	85
Figura 37. Ampliação na região aromática do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-3a	86
Figura 38. Ampliação na região não aromática do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-3a	86
Figura 39. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-3a	87
Figura 40. Ampliação (δ 6,2-5,8 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de AN-3b	87

Figura 41. Ampliação (δ 8,2-5,7 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de AN-3b	88
Figura 42. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-3b	89
Figura 43. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-3b	89
Figura 44. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-3b	90
Figura 45. Demais correlações no mapa de correlação HMBC para AN-3a e AN-3b	90
Figura 46. Espectro MS (ESI+) da AN-3	93
Figura 47. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-3a	93
Figura 48. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-3b	94
Figura 49. Proposta de fragmentação para o alcaloide aporfino <i>sensu stricto</i> nornuciferina adaptada de De Lima et al., 2020.....	94
Figura 50. Proposta de fragmentação para o alcaloide aporfino <i>sensu stricto</i> anonaina adaptada de De Lima et al., 2020.	95
Figura 51. Estrutura dos alcaloides nornuciferina e anonaina.	95
Figura 52. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5	96
Figura 53. Ampliação da região aromática (δ 8,5-6,6 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5	97
Figura 54. Ampliação da região alifática (δ 5,5-2,5 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5	98
Figura 55. Mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5	98
Figura 56. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os sinais na região dos aromáticos de AN-5	98
Figura 57. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os sinais na região dos hidrogênios diastereotópicos de AN-5	99
Figura 58. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5	99

Figura 59. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5	100
Figura 60. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5	101
Figura 61. Demais correlações observadas no mapa de correlação HMBC para AN-5	101
Figura 62. Espectro MS (ESI+) da AN-5	103
Figura 63. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-5	103
Figura 64. Proposta de fragmentação para o alcaloide aporfino <i>sensu stricto</i> assimilobina adaptada de De Lima et al., 2020.....	104
Figura 65. Estrutura do alcaloide assimilobina.	104
Figura 66. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	105
Figura 67. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	106
Figura 68. Ampliação da região aromática (δ 7,0-6,5 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	106
Figura 69. Ampliação da região não aromática (δ 4,5-2,5 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	107
Figura 70. Mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	108
Figura 71. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os grupos aromáticos de AN-6	108
Figura 72. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	109
Figura 73. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os grupos metoxílicos e metínicos de AN-6	109
Figura 74. Mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	110
Figura 75. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	110
Figura 76. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-6	111
Figura 77. Demais correlações no mapa de correlação HMBC para AN-6	111

Figura 78. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-6 .	113
Figura 79. Proposta de fragmentação para o alcaloide tetraidroprotoberberino estefolidina adaptada de De Lima et al., 2020.	113
Figura 80. Estrutura do alcaloide estefolidina.	114
Figura 81. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	115
Figura 82. Ampliação (δ 2,6-1,0 ppm) do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	115
Figura 83. Ampliação em (δ 6,0-4,0 ppm) do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	116
Figura 84. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	116
Figura 85. Espectro de DEPT-135 de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	117
Figura 86. Mapa de correlação HSQC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	117
Figura 87. Mapa de correlação HMBC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	118
Figura 88. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	118
Figura 89. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de AN-4 .	118
Figura 90. Estrutura da lactona terpênica loliolida.	119
Figura 91. Teor dos principais constituintes voláteis presentes no óleo essencial das folhas de <i>A. neoinsignis</i> .	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de Annonaceae usadas na medicina tradicional e suas respectivas atividades biológicas segundo a literatura.....	29
Tabela 2. Espécies de <i>Annona</i> usadas na medicina tradicional e suas respectivas atividades farmacológicas reportadas na literatura.	41
Tabela 3. Atividades biológicas reportadas na literatura para alcaloides encontrados em várias espécies de <i>Annona</i>	43
Tabela 4. Reunião das frações provenientes do fracionamento cromatográfico de FAFAN.....	56
Tabela 5. Frações provenientes da análise por CCDP de FAFAN-10.	57
Tabela 6. Frações provenientes da análise por CCDP de FAFAN-11.	58
Tabela 7. Reunião das frações provenientes do fracionamento cromatográfico de FAFAN-12.	60
Tabela 8. Reunião das frações provenientes do fracionamento cromatográfico de FAFAN-14.	64
Tabela 9. Substâncias isoladas a partir do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	72
Tabela 10. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de AN-1	76
Tabela 11. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de AN-2	81
Tabela 12. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de AN-3a	91
Tabela 13. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de AN-3b	92
Tabela 14. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de AN-5	102
Tabela 15. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de AN-6	112
Tabela 16. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de AN-4	119
Tabela 17. Constituintes presentes no óleo essencial das folhas de <i>Annona neoinsignis</i> colhidas em diferentes épocas.	122
Tabela 18. Dados meteorológicos dos períodos de coleta das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	125
Tabela 19. Índice de inibição da proliferação celular em linhagens de células tumorais para o óleo essencial das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	127
Tabela 20. Índice de inibição da proliferação celular em linhagens de células tumorais para os extratos das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	129
Tabela 21. Índice de inibição da proliferação celular em linhagens de células tumorais para as substâncias isoladas das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	130

Tabela 22. Importância quimiofenética dos alcaloides e a lactona isolados das folhas da <i>A. neoinsignis</i>	133
--	-----

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1.	Esquema da obtenção dos extratos pelo método da maceração....	53
Fluxograma 2.	Esquema do tratamento ácido-base	54
Fluxograma 3.	Esquema do fracionamento cromatográfico de FAFAN.	55
Fluxograma 4.	Esquema do isolamento de AN-1.....	58
Fluxograma 5.	Esquema do isolamento de AN-1 e AN-2.....	59
Fluxograma 6.	Esquema do fracionamento cromatográfico de FAFAN-12.....	60
Fluxograma 7.	Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-3.	61
Fluxograma 8.	Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-4.	62
Fluxograma 9.	Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-3.	63
Fluxograma 10.	Esquema do fracionamento cromatográfico de FAFAN-14.....	64
Fluxograma 11.	Esquema do isolamento de AN-2 e AN-5.....	65
Fluxograma 12.	Esquema do isolamento de AN-1 e AN-2.....	66
Fluxograma 13.	Esquema do isolamento de AN-6.....	67
Fluxograma 14.	Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-5.	68

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1. Família Annonaceae.....	26
2.3. Gênero <i>Annona</i>	31
2.3.1. Aspectos Gerais	31
2.3.2. Aspectos químicos.....	32
2.3.2.1. Constituintes Químicos.....	32
2.3.2.2. Óleo Essencial	38
2.3.3. Aspectos farmacológicos do gênero <i>Annona</i>	40
2.4. A espécie <i>Annona neoinsignis</i> H. Rainer	45
3. OBJETIVOS	46
3.1. Objetivo Geral.....	46
3.2. Objetivos Específicos	46
4. METODOLOGIA.....	47
4.1. Cromatografia em coluna (CC).....	47
4.2. Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA).....	47
4.3. Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP)	47
4.4. Gel de sílica tratada com NaHCO₃	48
4.5. Reveladores	48
4.5.1. Solução de anisaldeído	48
4.5.2. Reagente Dragendorff com modificação de Munier.....	48
4.5.3. Vanilina Sulfúrica	49
4.6. Solventes	49
4.7. Equipamentos.....	49
4.7.1. Espectrometria de Massas (EM).....	49

4.7.2.	Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	49
4.7.3.	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM e CG-DIC).....	50
4.7.4.	Outros Equipamentos	51
4.8.	Coleta do Material Vegetal.....	52
4.9.	Preparo dos extratos	52
4.10.	Tratamento ácido-base do extrato metanólico (EMFAN).....	53
4.11.	Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica (FAFAN).....	55
4.12.	Isolamento	56
4.12.1.	Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-10.....	57
4.12.2.	Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-11.....	58
4.12.3.	Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-12.....	59
4.12.4.	Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-14.....	63
4.12.5.	Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-15.....	67
4.13.	Extração de óleo essencial	68
4.14.	Estudo biológico: atividade citotóxica do óleo essencial.....	69
4.14.1.	Preparo de amostra.....	69
4.14.2.	Células	69
4.14.3.	Ensaio de citotoxicidade	69
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
5.1.	Identificação estrutural das substâncias isoladas das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	71
5.1.1.	Identificação estrutural dos alcaloides do tipo oxoaporfino.....	73
5.1.1.1.	Identificação estrutural de AN-1	73
5.1.1.2.	Identificação estrutural de AN-2	79
5.1.2.	Identificação estrutural dos alcaloides do tipo aporfino	84
5.1.2.1.	Identificação estrutural de AN-3	84
5.1.2.2.	Identificação estrutural de AN-5	96

5.1.3.	Identificação estrutural dos alcaloides do tipo tetraidroprotoberberino	105
5.1.3.1.	Identificação estrutural de AN-6	105
5.1.4.	Identificação estrutural da lactona	114
5.1.4.1.	Identificação estrutural de AN-4	114
5.2.	Estudo dos constituintes voláteis das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	120
5.3.	Investigação da atividade citotóxica <i>in vitro</i> pelo Método Alamar Blue	125
5.3.1.	Investigação da atividade citotóxica do óleo essencial das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	126
5.3.2.	Investigação da atividade citotóxica dos extratos das folhas de <i>A. neoinsignis</i>	128
5.3.3.	Investigação da atividade citotóxica das substâncias isoladas de <i>A. neoinsignis</i>	129
5.4.	Importância quimiofenética	132
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	135
7.	PRODUÇÃO CIENTÍFICA 2023-2025	137
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
9.	APÊNDICE	159

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais como medicamento representa a técnica mais antiga na medicina tradicional em todo o mundo durante séculos (Marrelli, 2021; Attiq et al., 2017). Diversas partes das plantas, como folhas, sementes, cascas e frutos ainda são utilizadas tradicionalmente, as quais são submetidas a diferentes métodos de preparação tais como, infusões, pastas e decocções, empregadas como medicamento para o tratamento de várias doenças (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022).

As plantas são produtoras de uma variedade de moléculas bioativas, sendo utilizadas como fonte de agentes medicinais. A partir disso, e com o desenvolvimento da ciência química e da farmacognosia, foi possível o isolamento de produtos químicos a partir de plantas medicinais. Como exemplo, tem-se a morfina, originalmente isolada da *Papaver somniferum* L. pelo farmacêutico alemão Friedrich Wilhelm Adam em 1804, sendo este alcaloide ainda utilizado até os dias atuais para tratamento de dor crônica, especialmente em pacientes terminais com câncer (Barreiro; Bolzani, 2009). Outro exemplo refere-se a quinina, isolada da *Cinchona officinalis* L. pelo farmacêutico francês Peletier e Caventou em 1920, em que estudos posteriores ratificaram os efeitos terapêuticos referentes a quinina e seus derivados, a qual inclui atividades antiparasitárias, antibacterianas, antivirais, antifúngicas e anticâncer (Saranraj et al., 2016; Kacprzak, 2013; Mohammadi; Niarak, 2023) (Figura 1).

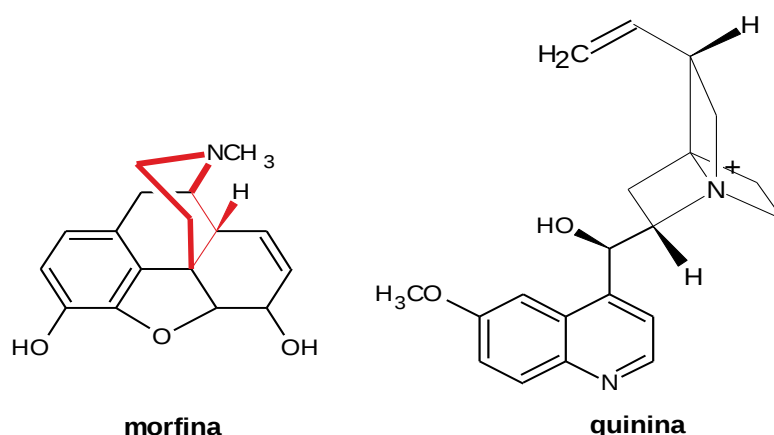


Figura 1. Estrutura química da morfina e quinina.
Fonte: Autora (2025).

As atividades biológicas apresentadas pelas plantas medicinais geralmente decorrem da presença de metabólitos especiais (anteriormente chamados de metabólitos secundários) (Frank, 2020). Inicialmente, estes compostos eram conhecidos por serem sintetizados pela planta como forma de defesa contra predadores e atração de polinizadores, posteriormente, com o desenvolvimento de pesquisas, foi constatado que inúmeros metabólitos especiais são capazes de proteger os humanos contra uma variedade de doenças. Os metabólitos especiais podem ser classificados como terpenos, flavonoides, alcaloides, lignoides, fenilpropanoides, compostos fenólicos, quinonas, ácidos graxos, entre outros, os quais exibem propriedades biológicas, como atividade antioxidante, antimicrobiana e antitumoral, além de serem considerados protetores e preventivos contra doenças degenerativas, tais como, o envelhecimento, Alzheimer, distúrbios neurodegenerativos, aterosclerose e inflamação (Dewick, 2009; Saranraj et al., 2016).

O câncer é uma patologia que causa alterações fisiopatológicas no estágio de divisão celular e que possui alto índice de mortalidade, o qual vem aumentando ano após ano por todo o mundo. A recente estimativa para o ano de 2020, realizada pelo Observatório Global de Câncer (GLOBOCAN), indica que ocorreram, aproximadamente, 19,3 milhões de incidências e 10 milhões de mortes por câncer. Para o Brasil, a estimativa de novos casos para 2023 foi de mais de 239 mil para homens e 244 mil para mulheres (exceto pele não melanoma), sendo os cânceres mais incidentes o de próstata, mama feminino e o de cólon e reto. Como consequência, há um crescente interesse no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos com potencial atividade anticâncer (Chhikara; Parang, 2023; INCA, 2022).

Os metabólitos especiais de diferentes fontes e estruturas derivadas deles ou um “farmacóforo” desempenham um importante papel na descoberta e desenvolvimento de medicamentos baseados em produtos naturais. Entre os anos de 1946 e final de 2019, foram desenvolvidas 321 moléculas com atividade antitumoral, dentre as quais 79% (206) são derivadas ou inspiradas em produtos naturais. Ademais, até o final de 2017, moléculas derivadas de produtos naturais ocupavam as posições 1 e 4 no ranking de medicamentos mais vendidos no EUA (Newman; Cragg, 2020).

A região Amazônica abrange uma área de sete milhões de quilômetros quadrados, a qual abriga a floresta amazônica, o ecossistema mais abundante do mundo, com aproximadamente 16 mil espécies de plantas catalogadas (Lima Barros et al., 2022). Dentre elas, encontra-se a família Annonaceae, com grande importância econômica, dos quais seus frutos são empregados na culinária, sua madeira é leve e durável, sendo usado para suprir diferentes necessidades humanas, como na construção de casas, navios e barcos, móveis, utensílios domésticos, implementos agrícolas, compensados e lenha, além das diversas atividades farmacológicas apresentadas pelos metabólitos especiais, sobretudo os alcaloides, terpenos, acetogeninas, flavonoides e óleos essenciais produzidos pelas espécies desta família e que inspiram novos medicamentos (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022; Handayani; Yuzammi, 2021; Menezes et al., 2021).

Assim, constata-se o potencial químico-farmacológico das espécies de Annonaceae, das quais muitas espécies ainda não possuem estudos relatados na literatura. Dentre estas espécies, encontra-se a *Annona neoinsignis* H. Rainer, a qual não apresenta registros de estudos nas bases de buscas disponíveis. Dessa forma, o presente trabalho tem como proposta a investigação fitoquímica e atividades biológicas dos extratos brutos, frações, substâncias isoladas, e do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*, afim de contribuir para o conhecimento químico e biológico das anonáceas do Amazonas.

Importante salientar que este trabalho não está limitado apenas a descoberta e caracterização de compostos bioativos de plantas endêmicas da região amazônica, mas encontra-se também, em concordância com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). Desse modo, a bioprospecção de novas plantas para uso na medicina, bem como, o descobrimento de compostos que apresentem ação contra doenças, estão diretamente ligadas o ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), enquanto a adoção de métodos de extração e análise que minimizam o impacto ecológico, contribui para o ODS 12 (Consumo e Produção responsáveis), reduzindo a geração de resíduos e, conseqüentemente, diminuição dos impactos negativos sobre a saúde humana e o meio ambiente. Ao mesmo tempo, o desenvolvimento de técnicas sustentáveis compreende as ODS 13 (Combate as alterações climáticas) e ODS 15 (Vida sobre a terra) e, ao considerar os conhecimentos tradicionais no desenvolvimento da pesquisa científica, estabelecendo parcerias entre comunidades

locais e instituições de pesquisa, estimulam os ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura) e 17 (Parcerias e Meios de Implementação). Nesse sentido, a pesquisa colabora tanto para o conhecimento farmacológico como para o desenvolvimento sustentável, evidenciando como a ciência pode ser considerado como um incentivador na transformação social e ambiental (Kumar et al., 2021).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Família Annonaceae

Annonaceae Juss. representa uma das maiores famílias das Magnoliales, a qual é composta por árvores, arbustos e raramente lianas, compreendendo cerca de 122 gêneros e 2440 espécies (Rangel et al., 2024; Guo et al., 2017). Possui distribuição tropical e subtropical, presente em vários continentes como Ásia, Austrália, África, América do Sul e Central (Figura 2). No Brasil, são descritas mais de 385 espécies distribuídas em 31 gêneros, com 268 espécies ocorrendo na região amazônica e 98 espécies com ocorrência na Mata Atlântica (Cascaes et al., 2021; Annonaceae *in* Flora e funga do Brasil; Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022).

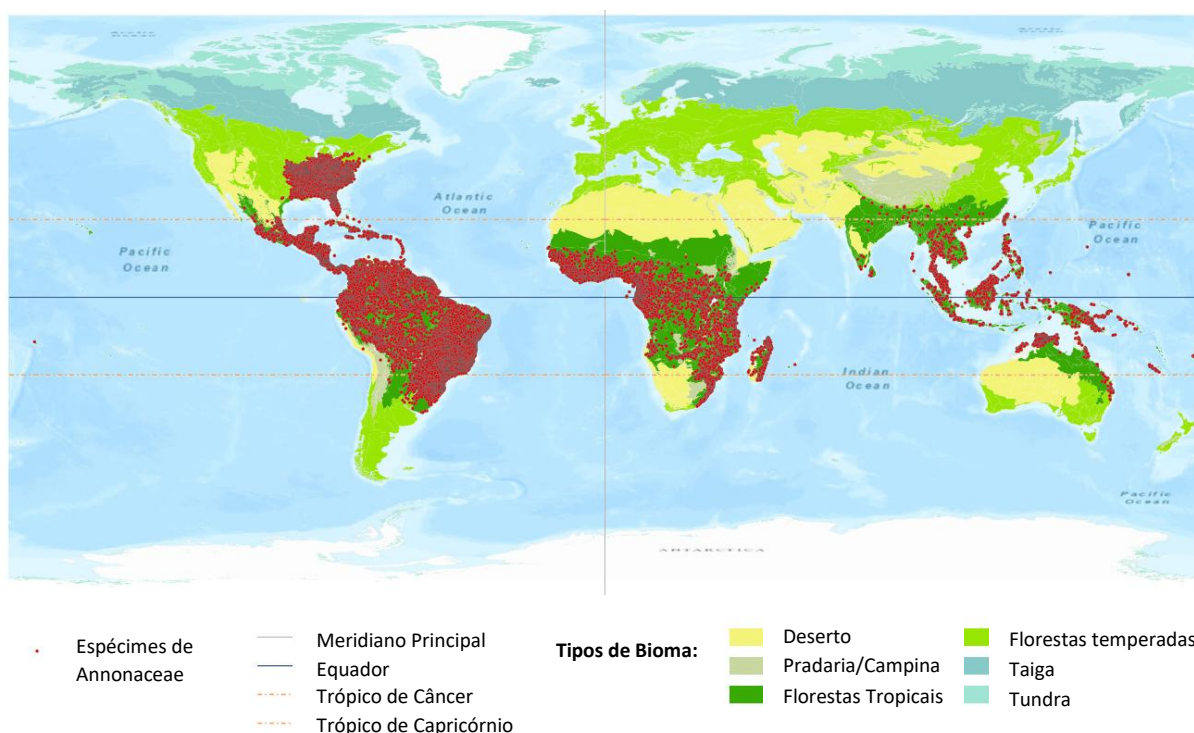


Figura 2. Distribuição global de Annonaceae com base em 67.966 espécimes.
Fonte: Adaptada de Erkens et al. (2023).

Esta família é marcada pela presença de uma pluralidade de características primitivas e arcaicas, as quais induziram a serem definidas por Darwin como “fósseis vivos”, em virtude de sua capacidade em sobreviver a períodos com grandes riscos de extinção (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022), fato que condiz com a fácil adaptabilidade de suas espécies às mudanças das condições edafoclimáticas, como o clima, temperatura, umidade do ar, entre outros. De modo geral, as anonáceas possuem casca fibrosa e aromática, folhas alternadas, dísticas e inteiras com frutos

constituídos de monocarpas livres ou fundidos de um para muitos. Além disso, muitas espécies de Annonaceae produzem frutos comestíveis, dos quais são cultivados em hortas comerciais ou apanhados de modo extrativista, evidenciando a importância econômica desta família (Erkens et al., 2023; São José et al., 2014).

Espécies de Annonaceae são comumente utilizadas no tratamento de doenças, em que diferentes partes das plantas, incluindo folhas, sementes, cascas, frutos, caules, raízes e galhos são empregadas na medicina tradicional. A título de exemplo, no Brasil, o fruto de *Annona dioica* St. Hill é usada para cicatrização, enquanto a mistura dos extratos das folhas e dos galhos de *Duguetia chrysocarpa* Maas são empregadas no tratamento de úlceras gastrointestinais, sendo também usado como remédio para doenças intestinais. Na Indonésia, as folhas secas de *Annona muricata* L. são usadas por via oral para efeito analgésico, enquanto em Burkina-Faso (África), sua casca e raízes são usadas para tratar disenteria, além de ser considerado um medicamento anti-helmíntico (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022). Na região amazônica, África, América Central, Índia e Malásia, tem sido relatada espécies do gênero *Annona* e *Xylopia* que possuem atividade antimalárica, por exemplo, a *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. usada por populações locais de Brasília para o tratamento desta doença (Frausin et al., 2014).

2.2. Aspectos farmacológicos da família Annonaceae

O crescente interesse em estudar as plantas de Annonaceae é devido a abundância estrutural e atividades biológicas demonstradas por seus metabólitos especiais (Handayani; Yuzammi, 2021). Estudos recentes com espécies dessa família têm corroborado com tais afirmações. Os óleos essenciais de Annonaceae exibem propriedades anticancerígenas significativas, a exemplo, o óleo essencial de *Guatteria friesiana* (W. A. Rodrigues) Erkens & Maas que apresentou atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo*, e o óleo da *Duguetia gardneriana* Mart. mostrou ser capaz de inibir células de melanoma em camundongos (Lima Barros et al., 2022). Assim como, os óleos essenciais das folhas de *Monodora myristica* (Gaertn.) Dunal e dos frutos de *Xylopia parviflora* Spruce e *Xylopia aethiopica* A. Rich. possuem atividade antifúngica promissora frente as cepas de *Candida albicans* (ATCC24433), *Candida parapsilosis* (ATCC22019) e *Cryptococcus neoformans* (IP95026), além de inibirem a proliferação

de células cancerígenas de câncer de mama (MCF-7) (Bakarnga-Via et al., 2022). Extratos vegetais das folhas de *Annona coriacea* Mart., *Duguetia lanceolata* A.St.-Hil. *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff, *Guatteria australis* A.St.-Hil apresentaram promissora atividade antimalárica *in vitro* frente as cepas de *Plasmodium falciparum* (Frausin et al., 2014). Em relação às substâncias isoladas, as acetogeninas annocherimolina e anomolina, isoladas das sementes da *Annona cherimola* Mill. mostraram-se citotóxicas contra linhagens de células de câncer de mama (MCF-7) e cólon (HT-29) e contra a linhagem de células tumorais de próstata humana (PC-3), respectivamente (Biba et al., 2014). Ainda, os diterpenos ácido caurenoico e ácido xilópico, presentes em diversas espécies de Annonaceae, apresentam diferentes atividades biológicas, como atividade anti-inflamatória, antifúngica, leishmanicida e hepatoprotetora para o ácido caurenoico e atividade antimalárica, antimicrobiana, antiproliferativa e analgésico para o ácido xilópico (Ibrahim et al., 2023) (Figura 3).

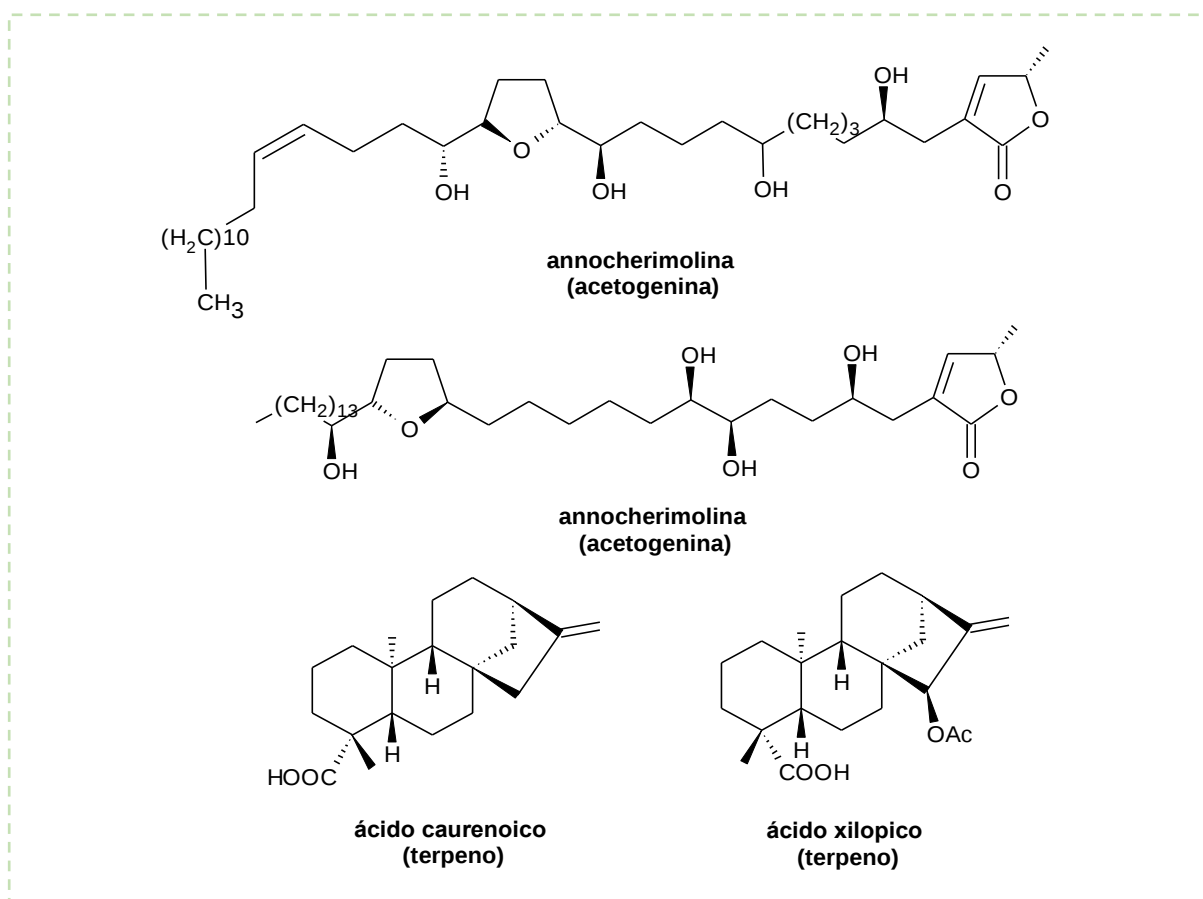


Figura 3. Estrutura química das acetogeninas e diterpenos isolados de espécies de Annonaceae.
Fonte: Autora (2025).

A tabela a seguir descreve algumas espécies da família Annonaceae e seus respectivos usos medicinais e atividades farmacológicas.

Tabela 1. Espécies de Annonaceae usadas na medicina tradicional e suas respectivas atividades biológicas segundo a literatura.

Espécie	Parte da planta	Uso popular	Atividade farmacológica	Referência
<i>Annickia chloranta</i> (Oliv.) Setten & Maas	Casca	- Tratamento de feridas, úlceras, tuberculose, reumatismo, icterícia, infecção do trato urinário ¹ - Antipirético no tratamento de febre ¹ - Contra vômitos e fadiga ¹	Analgésica, anti-inflamatória e não ulcerogênica ²	Bele et al., 2011 ¹ ; Mezui et al., 2022 ² .
<i>Xylopia aethiopica</i> A.Rich.	Fruta e Casca	Tratamento de bronquite, asma e dores estomacais ¹	Analgésica e anti-inflamatória ²	Erhirhie; Moke, 2014 ¹ ; Enema et al., 2015 ² .
	Raízes	Tratamento de feridas ¹		
	Sementes	Vermífugo ¹		
<i>Duguetia staudtii</i> (Engl. & Diels)	Casca	Tratamento de malária e problemas respiratórios	Anti-inflamatória	Rangel et al., 2024
<i>Polyalthia longifolia</i> (Sonn.) Thwaites	Casca	Antibacteriano, antifúngico, febre, doenças de pele, diabetes, hipertensão e helmintíase ^{1,2}	Hipotensor e Anti-hipertensivo ³	Continua... Handayani; Yuzammi, 2021 ¹ ; Katkar et al., 2010 ² ; Vieira, 2022 ³
<i>Dennettia tripetala</i> Barker F.	Folhas e sementes	Tratamento de febre, tosse, asma, dor de dente e reumatismo	Antinociceptiva, anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, inseticida	Muhammed et al., 2021
<i>Xylopia aromatic</i> (Lam.) Mart.	Frutos e outras partes ¹	Tratamento de doenças digestivas, efeito carminativo, estimulante e diurético ^{1,2}	Antimicrobiana ²	Ribeiro, 2016 ¹ ; Nascimento et al., 2018 ²
<i>Duguetia chrysocarpa</i> Maas	Folhas e galhos	Tratamento de úlceras gastrointestinais ¹	Antinociceptiva ²	Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022 ¹ ; Almeida et al., 2012 ²
<i>Guatteria boliviana</i> Winkl	Casca ²	Efeito Antitérmico e Vermífugo ¹	Antiparasitária ²	Rabelo, 2008 ¹ ;

				Mahiou et al., 2000 ²
<i>Guatteria foliosa</i> Benth.	Casca do caule ²	Efeito inseticida e antiparasitário ¹	Antiparasitária e antiviral ²	Rabelo, 2008 ¹ ; Mahiou et al., 1994 ²

^{1,2,3} Relação das informações descritas na tabela e suas respectivas referências.

Em relação aos metabólitos especiais sintetizados por espécies de Annonaceae, os alcaloides e os terpenos representam as classes de compostos majoritários. Os alcaloides presentes são isoquinolinas, porém os principais núcleos precursores são: isoquinolina simples, aporfina, proaporfina, belzilioquinolina, protoberberina e fenantreno. Os terpenos estão presentes em todas as subclasses (monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos e triterpenos) com maior ocorrência da classe dos diterpenos. Os esqueletos de diterpenos mais comuns são os do tipo caurano, labdano, traquilobano e atisano (Figura 4) (Menezes et al., 2021).

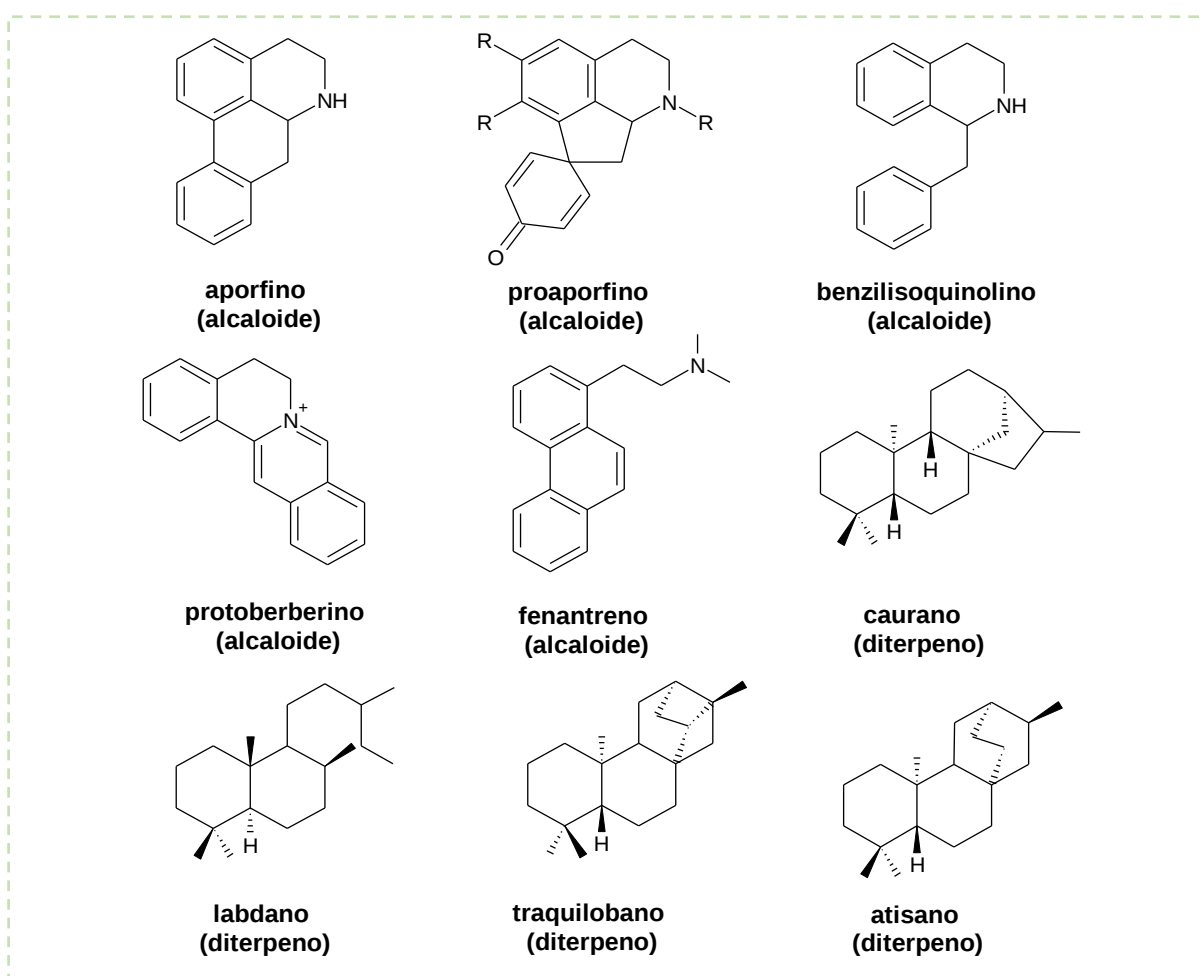


Figura 4. Estrutura química geral dos alcaloides derivados do esqueleto isoquinolínico e dos diterpenos mais comuns encontrados na família Annonaceae.

Fonte: Adaptada de Araújo et al (2020), Singh et al (2021), Bailly (2024) e Menezes et al (2021).

2.3. Gênero *Annona*

2.3.1. Aspectos Gerais

O gênero *Annona* é considerado o segundo maior gênero pertencente à família Annonaceae, compreendendo cerca de 166 espécies, sendo encontrada na África tropical e subtropical, Madagascar, México, América Tropical, Ásia e no Território do Norte e Queensland, localizado na Austrália. O nome '*Annona*' é derivado da palavra '*anon*', do latim, o qual significa 'produção anual' (Amala; Joseph, 2021). Nesse sentido, este gênero é conhecido como o mais importante dentre as anonáceas devido aos seus frutos comestíveis de grande valor econômico, destacando-se a *A. muricata* ("graviola"), *Annona squamosa* L. ("fruta do conde"), *Annona reticulata* L. ("pinha") e *Annona crassiflora* Mart. ("araticum") (Figura 5) (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022; Yassin et al., 2025; Joseph; Dev; Kanchana, 2023).



Figura 5. Frutos da *A. muricata* (graviola), *A. squamosa* (fruta do conde), *A. reticulata* (pinha) e *A. crassiflora* (araticum), da esquerda para a direita, respectivamente.

Fonte: <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/>; <https://vgrgardens.com/>; <https://frutosatrativosdocerrado.bio.br/>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2025

As espécies pertencentes ao gênero *Annona* são classificadas como árvores ou arbustos, sendo a maioria moderadamente ereta, com casca cinza ou marrom escura e altura podendo variar de 5 a 11 metros. O sistema radicular é composto por uma raiz principal pouco pronunciada e muitas raízes laterais finas. A sua folhagem possui margens lisas ordenadas alternadamente em duas fileiras ao longo dos caules, sendo as lâminas das folhas finas, macias e peludas. Em geral, as flores são perfumadas, arranjadas em forma circular de dois verticilos, seis pétalas e três sépalas verdes. Seus polinizadores naturais são os besouros, os quais são atraídos pelo odor adocicado das flores e, após a fertilização, um único fruto com vários sincarpas é produzido por flor, em que cada sincarpo é constituído de apenas uma semente. A quantidade de frutos, tamanho e formato depende da polinização por insetos e, a

polpa destes frutos comestíveis são ricas em vitaminas, minerais e fibras alimentares (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022; Joseph; Dev; Kanchana, 2023).

2.3.2. Aspectos químicos

2.3.2.1. Constituintes Químicos

Do ponto de vista fitoquímico, as espécies do gênero *Annona* são marcadas pela presença de diferentes classes de metabólitos especiais, dentre elas, encontram-se os alcaloides, terpenoides, flavonoides, compostos fenólicos, acetogeninas e ácidos graxos. Além do mais, a polpa das frutas de espécies de *Annona* são uma fonte importante de açúcar, minerais, vitaminas e compostos fenólicos, podendo ser encontrados até 3 g de compostos fenólicos para cada 100 g de polpa. Entre estas classes, as acetogeninas são consideradas substâncias características da família Annonaceae, e os alcaloides são os mais frequentemente relatados para espécies pertencentes a este gênero (Anaya-Esparza et al., 2020; Joseph; Dev; Kanchana, 2023; Nugraha et al., 2019).

O estudo de alcaloides tem crescido expressivamente desde o isolamento do primeiro deles, a anonaina, isolada a partir das cascas de *A. muricata*, em 1931 (Nugraha et al., 2019). Os alcaloides mais abundantes em plantas do gênero *Annona* são, principalmente, os derivados do esqueleto isoquinolino, destacando-se as classes dos benzilisoquinolinos (**A**), os aporfinos (**B**) e oxoaporfinos (**C**) (Figura 6) (Brar et al., 2014).

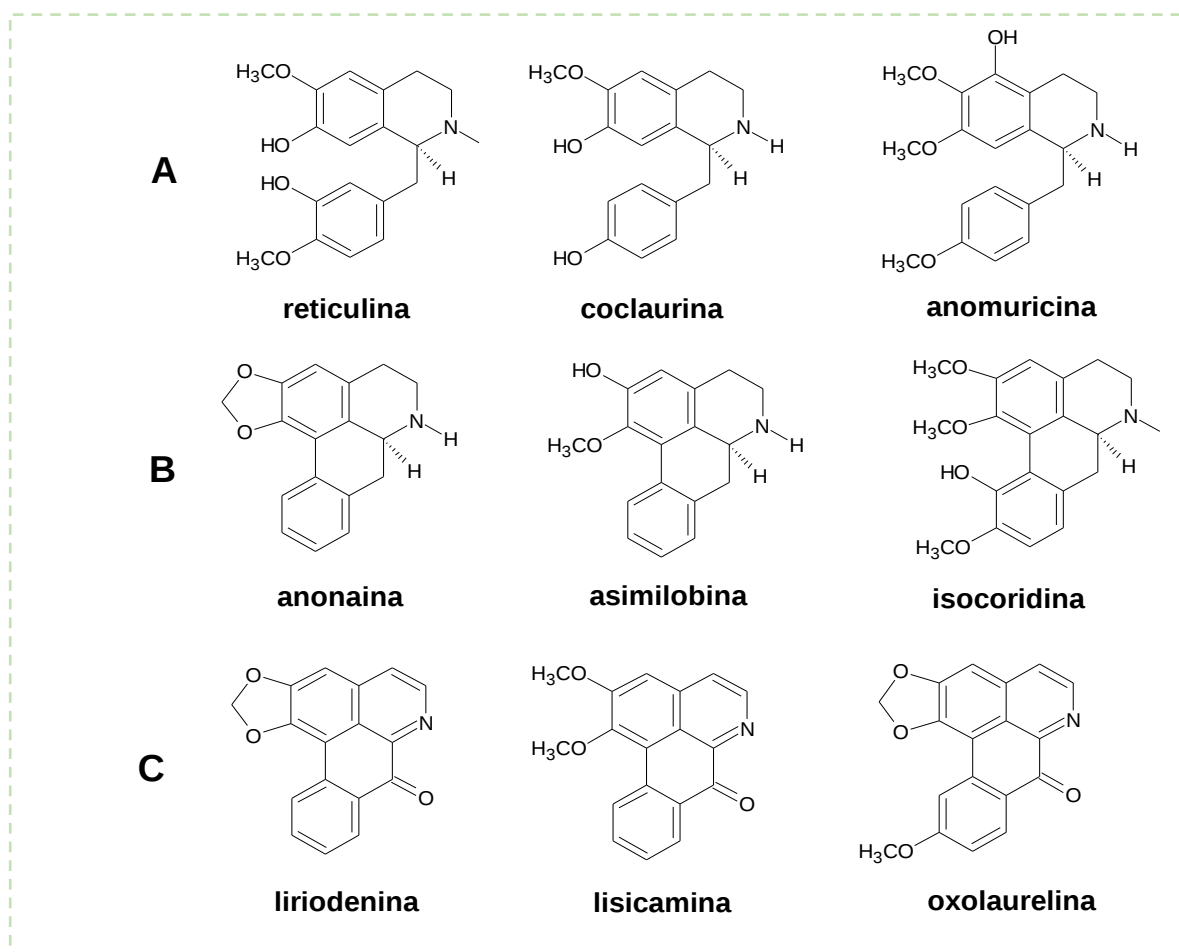


Figura 6. Estruturas químicas de alguns alcaloides reportados em espécies de *Annona*.
Fonte: Autora (2025).

O precursor biossintético dos alcaloides isoquinolínicos é o aminoácido aromático tirosina e, a formação destes compostos pode ser simplificada em três fases principais. A primeira é a formação do alcaloide benzilisoquinolínico (*S*)-norcoclaurina, por meio da condensação e ciclização entre a dopamina e 4-hidroxifenilacetaldeído, ambos derivados da tirosina. Em seguida, a (*S*)-norcoclaurina sofre reações enzimáticas de hidroxilação e metilação, gerando ao final a (*S*)-reticulina, a qual é o intermediário comum na biossíntese de grande parte dos esqueletos isoquinolinos. Por fim, a (*S*)-reticulina sofre transformação através de reações enzimáticas do tipo acoplamento C-C ou C-O, levando a formação de algumas classes de alcaloides, como os benzilisoquinolinos, protoberberinos e aporfinos (Figura 7) (Plazas et al., 2022; Ramawat, 2019).

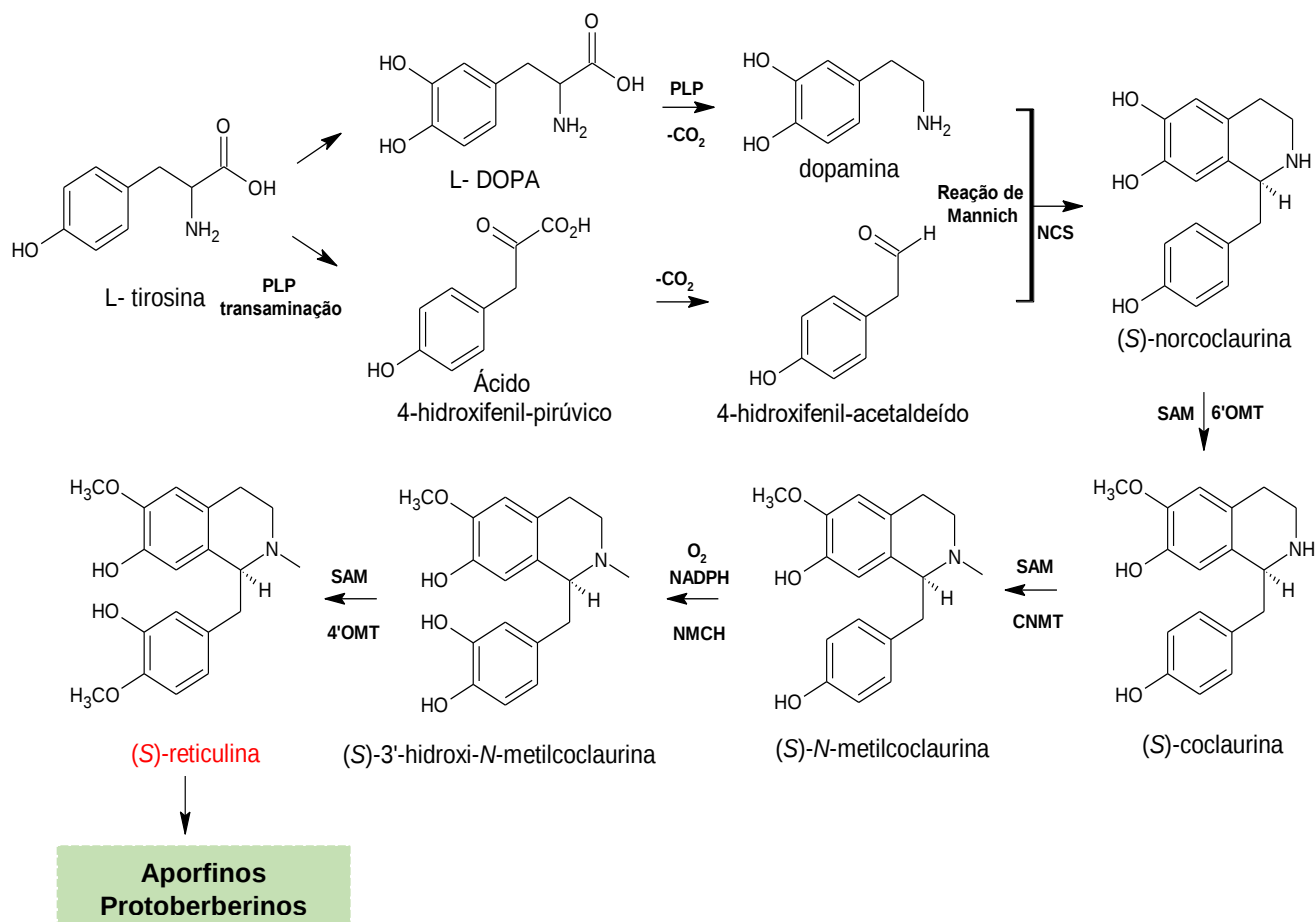


Figura 7. Biossíntese dos principais alcaloides do tipo isoquinolinos.
NCS: (S)-norcoclaurina sintase, **6'OMT:** norcoclaurina 6-O-metiltransferase, **CNMT:** coclaurina N-metiltransferase, **NMCH:** N-metilcoclaurina-3-hidroxilase, **4'OMT:** 3-hidroxi-N-metilcoclaurina-4-O-metiltransferase.

Fonte: Adaptada de Dewick (2009); Plazas et al. (2022) e Ramawat (2019).

Muitas classes e subclasses de alcaloides contém um núcleo de isoquinolina simples, os quais são classificados de acordo com sua complexidade estrutural (Figura 8) (Ramawat, 2019). Além disso, é importante salientar que os benzilisoquinolinos são derivados dos benziltetrahydroisoquinolinos, no entanto, muitos trabalhos ainda se referem a estas subclasses como sendo as mesmas.

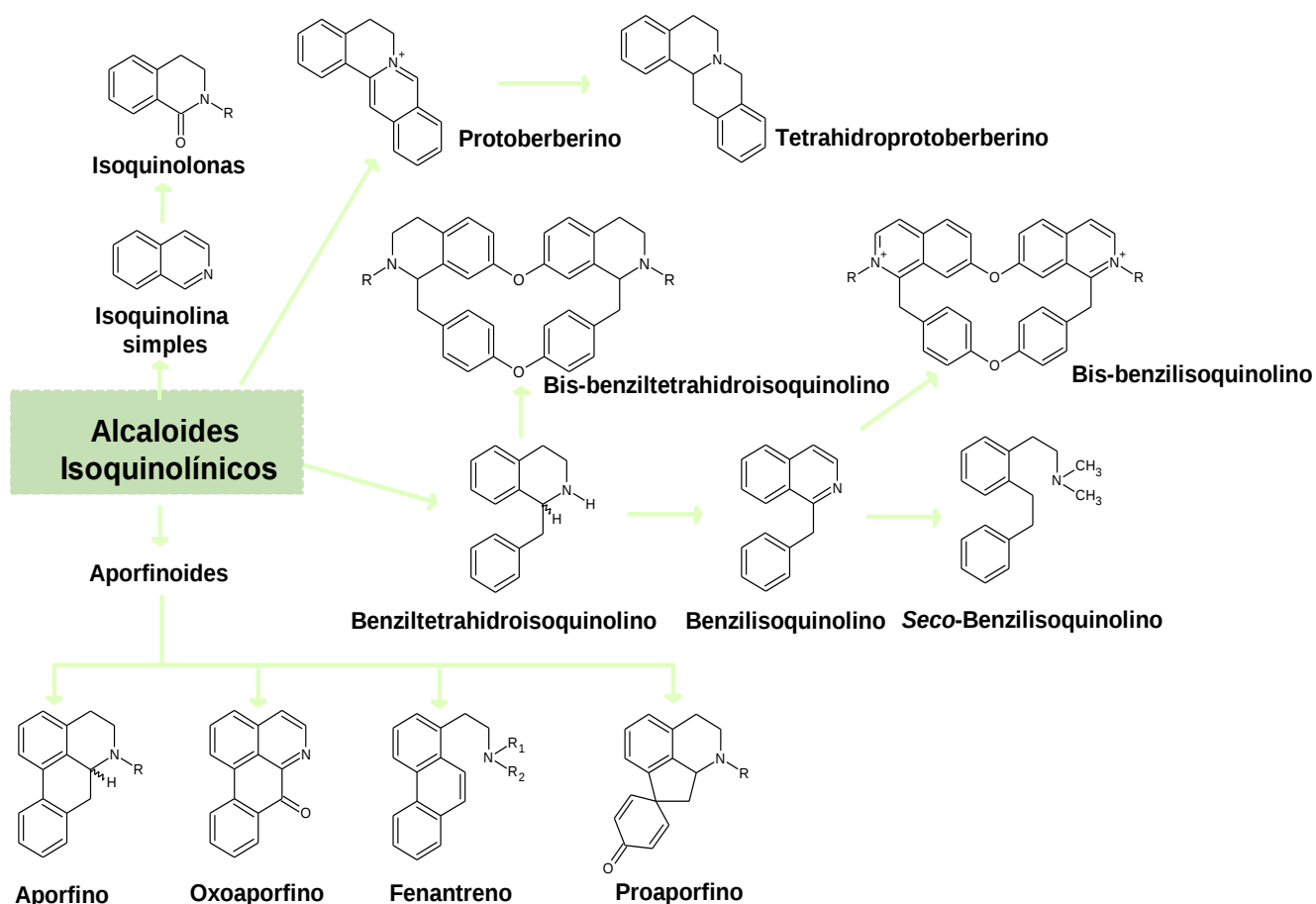


Figura 8. Classificação esquemática dos principais alcaloides do tipo isoquinolinos encontrados em Annonaceae (R = -H ou -CH₃).
Fonte: Adaptada de Plazas et al. (2022) e Ramawat (2019).

Os alcaloides anonaina, asimilobina, liriodenina e reticulina têm sido descritas em uma variedade de espécies de *Annona*, dentre elas estão a *A. atemoya* Mabb., *A. foetida* Mart., *A. glabra* L., *A. mucosa* Jacq., *A. reticulata* e *A. squamosa*. Por esta razão, estes alcaloides são frequentemente considerados como marcadores quimiofenéticos do gênero (Brar et al., 2014; Anaya-Esparza et al., 2020).

Além dos alcaloides, o interesse em acetogeninas presentes em espécies de *Annona* também cresceu desde quando estas foram identificadas e relacionadas a atividades antitumorais. As acetogeninas são uma classe de metabólitos secundários provenientes da via do policetídeo, em que estas são caracterizadas por uma combinação de ácidos graxos de cadeia longa (C-32 ou C-34) contendo anéis de tetrahydrofurano (THF), juntamente com uma unidade 2-propanol em C-2, formando

um anel γ -lactona α,β -insaturado terminal substituída por um grupo metil, além de vários grupos hidroxila, acetoxila e acetona ao longo de uma cadeia linear e alifática de hidrocarbonetos. Ademais, as acetogeninas de anonáceas podem ser classificadas de acordo com suas estruturas centrais, principalmente, com relação as posições dos anéis THF (Figura 9) (Barbalho et al., 2012; Neske et al., 2020; Mangal; Khan; Agarwal, 2016).

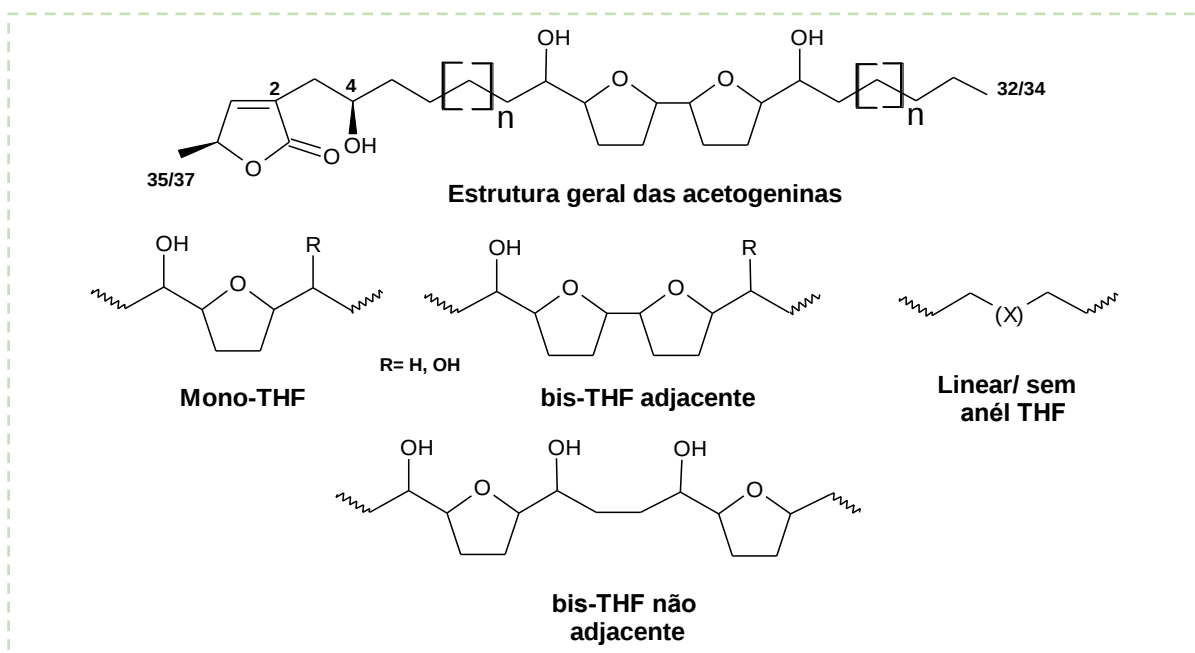


Figura 9. Estrutura geral das acetogeninas e de diferentes posições de anéis tetrahydrofuranos de acordo com sua classificação.

Fonte: Adaptada de Neske et al. (2020); Mangal; Khan; Agarwal (2016) e Spurr; Brown (2010).

Desde a identificação da uvaricina, a partir de extratos das raízes de *Uvaria accuminata* Oliv. em 1982, várias acetogeninas foram isoladas e identificadas em 16 gêneros da família Annonaceae, onde muitas delas foram relatadas em, ao menos, 20 espécies de *Annona*. Geralmente, as acetogeninas encontradas em anonáceas possuem de duas a cinco hidroxilas, sendo uma ou duas delas adjacentes a um a três anéis THF e as demais localizadas em outros pontos da cadeia de ácidos graxos (Neske et al., 2020; Mangal et al., 2016) (Figura 10).

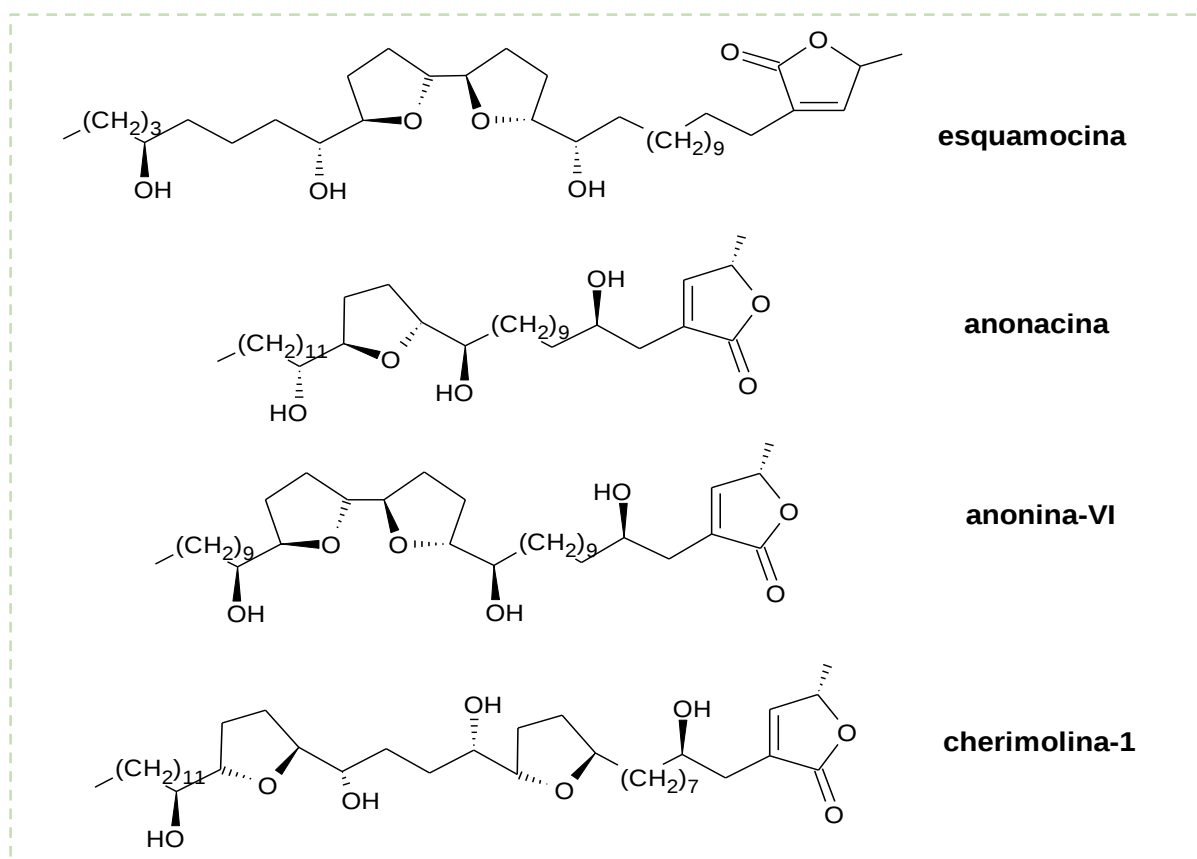


Figura 10. Estruturas de algumas acetogeninas frequentemente reportadas em espécies de *Annona*.
Fonte: Autora (2025).

Os flavonoides, como a catequina, epicatequina e rutina, são frequentemente encontrados nas folhas, frutos e sementes, as quais já foram identificadas em espécies de *A. crassiflora*, *A. atemoya*, *A. coriacea* e *A. muricata* (Ramos et al., 2022). Terpenos, especialmente os do tipo caurano, estão presentes principalmente nos frutos, galhos e cascas, como em *A. glabra*, *Annona vepretorum* Mart. e *A. squamosa* (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022; Anaya-Esparza et al., 2020; Dutra et al., 2014) (Figura 11).

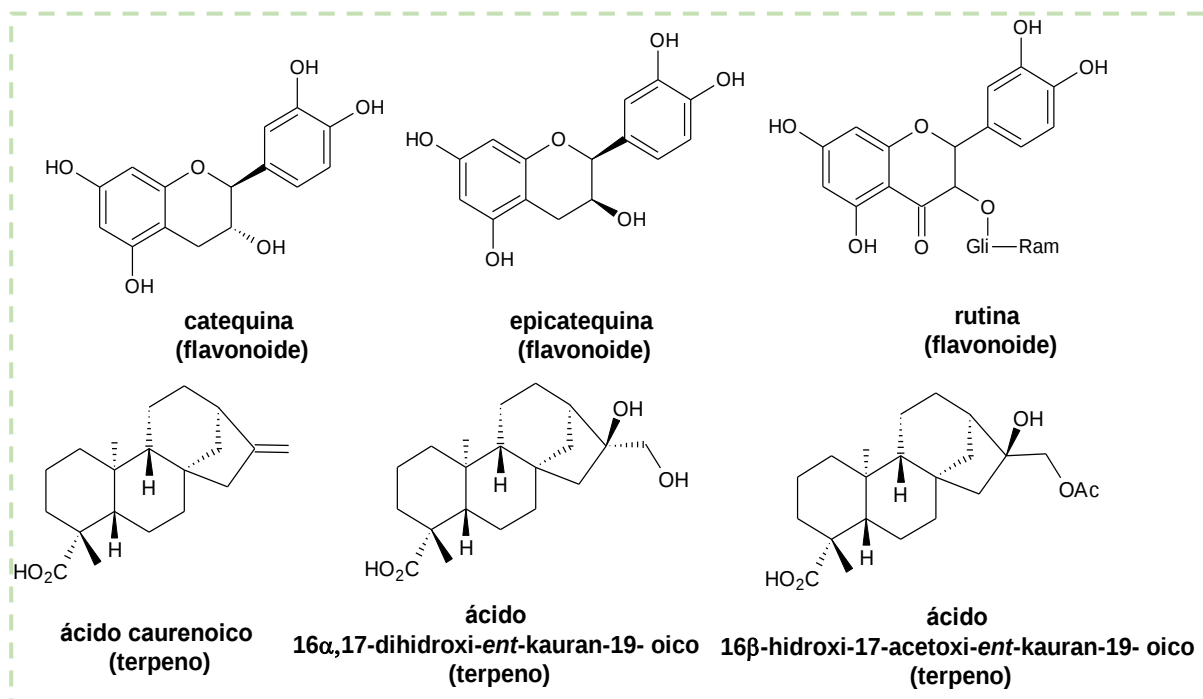


Figura 11. Estruturas químicas de flavonoides e terpenos reportadas em espécies de *Annona*.

Fonte: Autora (2025).

2.3.2.2. Óleo Essencial

Os óleos essenciais são constituídos por metabólitos especiais voláteis, lipossolúveis e de forte aroma, podendo ser extraídos de diferentes partes das plantas, como folhas, cascas, galhos, sementes, flores, raízes e caule. No geral, os óleos essenciais são incolores, entretanto, podem apresentar outras colorações, como verde, laranja ou azul a depender da parte da planta, condições de extração e/ou presença de pigmentos ou outros compostos que favorecem o aparecimento destas cores. A importância da produção de óleos essenciais pelas plantas está relacionada a função de defesa contra pragas e predadores, como também, para atrair insetos, animais ou pássaros que auxiliem na polinização ou disseminação de sementes. Ademais, devido as propriedades medicinais exibidas pelos óleos essenciais, estes têm sido amplamente utilizados pelas indústrias farmacêuticas, perfumaria, cosméticos e de alimentos (Joseph; Dev; Kanchana, 2023; Ben Miri, 2025).

Os óleos essenciais são divididos em dois grupos fundamentais: os compostos oxigenados, os quais são responsáveis pelo sabor e odor, e os hidrocarbonetos terpênicos com fórmula geral $(C_5H_8)_n$. Os constituintes químicos frequentemente

identificados nos óleos essenciais são pertencente às classes dos terpenos (mono e sesquiterpenos), os isoprenoides e compostos aromáticos, os quais ocorrem de diversas formas químicas, como aldeídos, cetonas, álcoois, óxidos, ésteres, aminas, amidas, fenóis, compostos de nitrogênio e enxofre, além dos heterociclos. Os diterpenos, triterpenos e tetraterpenos são encontrados em baixas concentrações (Joseph; Dev; Kanchana, 2023; Ben Miri, 2025).

A unidade C5 ativa do isopreno, o isopentenil pirofosfato (IPP), e o seu isômero dimetilalil pirofosfato (DMAPP) são os precursores universais de todas as classes dos terpenos, onde os terpenos e isoprenoides são produzidos pelas vias do mevalonato e MEP (Figura 12) (Rehman et al., 2016; Aqeel et al., 2023).

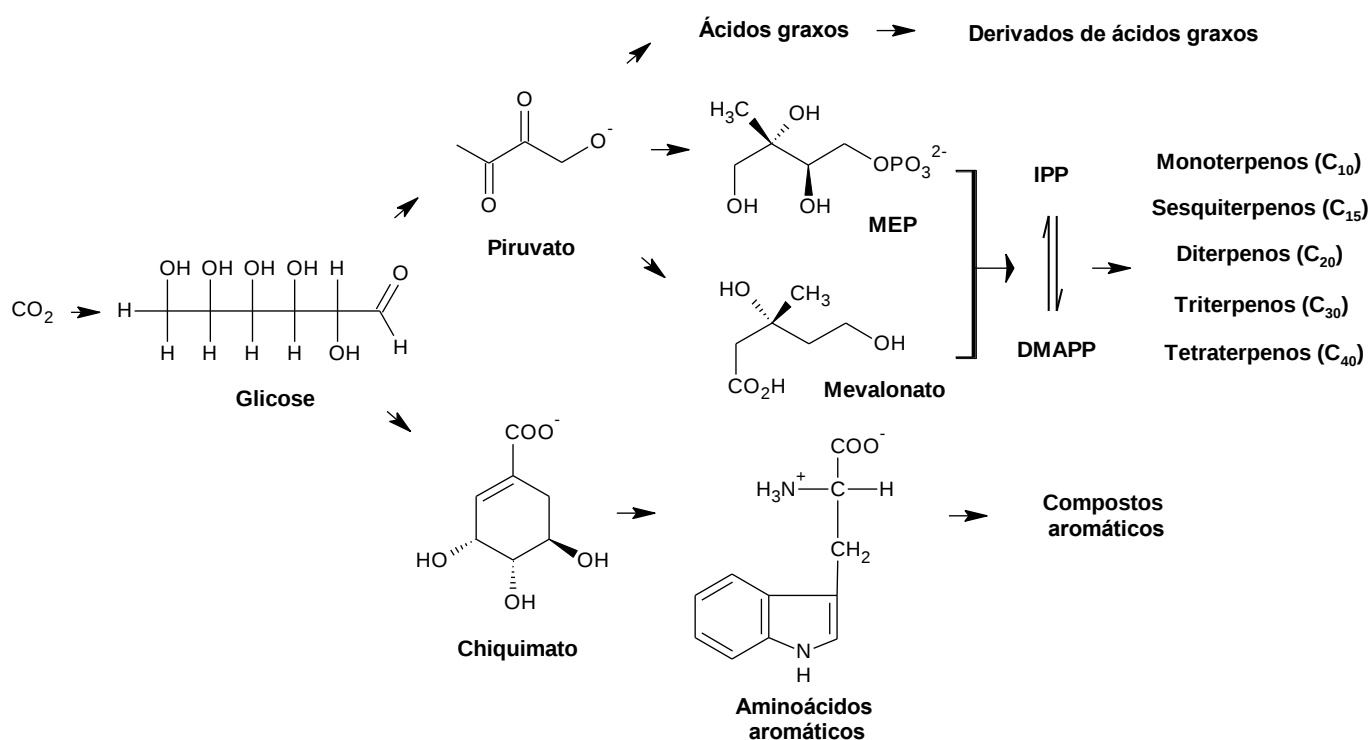


Figura 12. Rota biossintética simplificada dos principais constituintes químicos voláteis dos óleos essenciais.

MEP: 2-metil-eritritol-4-fosfato, **IPP:** isopentenil pirofosfato).

Fonte: Adaptada de Rehman et al. (2016) e Aqeel et al. (2023).

No Brasil, dados publicados entre os anos de 2011 e 2021, mostram que a maior parte dos estudos realizados com óleos essenciais da família Annonaceae são pertencentes às espécies dos gêneros *Annona*, *Guatteria* e *Xylopia*, sendo ainda, constatado que as coletas do material vegetal ocorreram principalmente nos estados do Amazonas e Sergipe. Estimativas apontam que foram obtidos aproximadamente 100 constituintes químicos voláteis a partir de óleos essenciais de anonáceas. Dentre

estes compostos, aqueles considerados majoritários foram o (*E*)-cariofileno, biciclogermacreno, germacreno D, limoneno, espatulenol, α -pineno, β -pineno e β -elemeno (Figura 13) (Cascaes et al., 2021; Joseph; Dev; Kanchana, 2023).

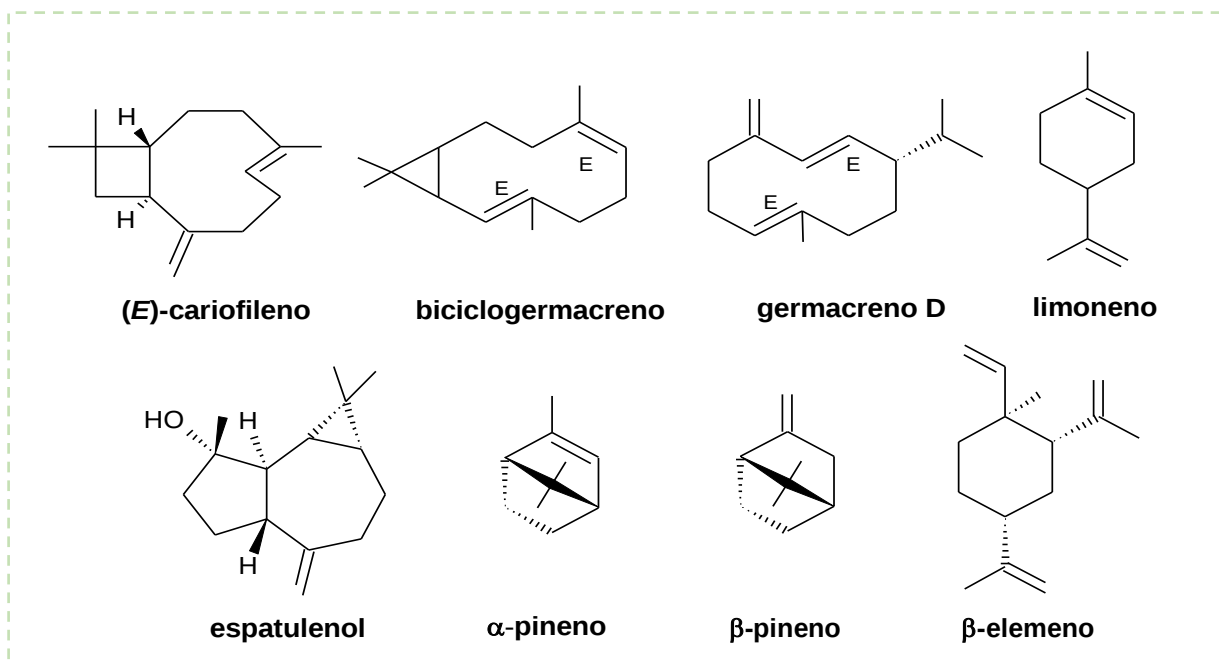


Figura 13. Estruturas químicas de alguns constituintes majoritários reportados nos óleos essenciais de espécies de Annonaceae, principalmente as pertencentes ao gênero *Annona*.
Fonte: Autora (2025).

2.3.3. Aspectos farmacológicos do gênero *Annona*

Desde os tempos antigos, espécies de *Annona* tem sido empregue na medicina tradicional para o tratamento de uma ampla variedade de doenças por todo o mundo. Historicamente, várias partes da planta, o que inclui as folhas, cascas, frutos, sementes e raízes, são submetidas aos métodos de decocção, maceração ou infusão para extração de seus compostos bioativos, com a finalidade de tratar febre, diarreia, disenteria, hematúria, uretrite, asma, doenças parasitárias e hepáticas (Joseph; Dev; Kanchana, 2023; Anaya-Esparza et al., 2020).

Estudos apresentam uma gama de atividades farmacológicas para espécies de *Annona*, principalmente para as folhas e sementes, as quais incluem propriedades antibacteriana, antinociceptiva, anticâncer, anticonvulsionante, antimalárica, anti-inflamatória, antioxidante, anti-leishmania, anti-diarréica, anti-diabética, atuando também como antidepressivo (Tabela 2) (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022; Anaya-Esparza et al., 2020). As espécies que detém um grande número de estudos

são *A. muricata*, *A. montana*, *A. squamosa*, *A. senegalensis*, *A. glabra*, *A. reticulata*, *A. cherimola*, *A. crassiflora* e *A. coriacea* (Quílez et al., 2018).

Tabela 2. Espécies de *Annona* usadas na medicina tradicional e suas respectivas atividades farmacológicas reportadas na literatura.

Espécie	Parte da planta	Uso popular	Atividade farmacológica	Referência
<i>A. coriacea</i> Mart.	Folhas	Tratamento de estomatite, neuralgia, reumatismo, dores de cabeça, furúnculo, dermatite e úlceras	Antinociceptiva, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, anseolíticas, antiulcerosas, inseticida, leshimanicida e tripanocida.	Rocha et al., 2021a; Quílez et al., 2018; Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022
	Sementes	Tratamento contra ectoparasitas (ex.: piolho)		
	Raízes	Uso como laxante natural		
	Cascas	Tratamento de trombose		
<i>A. dioica</i> A. St. Hill.	Folhas	Tratamento de diarreia e reumatismo	Antioxidante, antiproliferativa, anti-inflamatória e antiglicêmica.	Quílez et al., 2018
<i>A. pickelii</i> (Diels) H. Rainer	Folhas, sementes, raízes, caule, cascas, frutos	- Tratamento de febre, doenças de pele, histeria, feridas, disenteria sanguínea	Antioxidante, antimicrobiana, larvicida, antitumoral, ansiolítica, anti-inflamatória, antibactericida e analgésico	Quílez et al., 2018
		- Anticoncepcional		
<i>A. muricata</i>	Partes aéreas	Tratamento de diabetes, malária e câncer	Anticonvulsionante, antiviral, antidiabética, anti-hipertensiva, antimutagênica, vasodilatador, cardio-depressiva e antiespasmódico	Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022
<i>A. squamosa</i> Linn.	Folhas	Tratamento de histeria, desmaios, úlceras e desinteria	Antibacteriana, antidiabética, antioxidante, antitumoral, antimalárica e antigenotóxica	Bhattacharya; Chakraverty, 2016
	Frutos	Tratamento de tumores		
	Cascas	Tratamento de diarreia		Continua...

	Raízes	Tratamento de disenteria		
<i>A. salzmannii</i> A. DC.	Folhas e cascas	Tratamento de diabetes, tumores e inflamação ¹	Antioxidante, antimicrobiana, larvicida, antitumoral e tripanocida ²	Cascaes et al., 2021 ¹ ; Quílez et al., 2018 ²
<i>A. glabra</i> L.	Folhas	Tratamento de febre ¹ e reumatismo ²	Anticancerígena, anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante ³	Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022 ¹ ; Cascaes et al., 2021 ² ; Sinchana et al., 2024 ³
<i>A. montana</i> Macfad.	Folhas, sementes, caule, galhos e suco da polpa	Tratamento para picada de cobra e obesidade ^{1,2}	Antitumoral, anti-inflamatória e hipoglicêmica ³	Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022 ¹ ; Cascaes et al., 2021 ² ; Quílez et al., 2018 ³
<i>A. reticulata</i> Linn.	Folhas, sementes e frutos	Tratamento de bronquite, asma e inflamação intestinal ¹	Antioxidante, analgésica, anti-inflamatória e citotóxica ²	Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022 ¹ ; Barbalho et al., 2012 ²
<i>A. foetida</i> Mart.	Folhas e cascas	Tratamento de febre ¹	Antileishmania e tripanocida ²	Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022 ¹ ; Quílez et al., 2018 ²

^{1,2,3} Relação das informações descritas na tabela e suas respectivas referências.

Os óleos essenciais exibem numerosas atividades biológicas, tais como efeitos antioxidante, anti-inflamatório, citotóxico, antibactericida, inseticida e alelopático. Os sesquiterpenos, presente em muitos óleos essenciais, são encontrados contendo diferentes grupos funcionais em sua estrutura, o que os proporciona propriedades antifúngicas e antibacterianas (Joseph; Dev; Kanchana, 2023). Nesse sentido, estudos apontam que o óleo essencial das folhas de *A. vepretorum* e *A. pickelli* exibem promissora atividade antimicrobiana, antioxidante e antitumoral, enquanto que, o óleo das folhas de *A. sylvatica* possui atividades anti-inflamatória e antiproliferativa, a *A. coriacea* exibe propriedades anti-leishmania e a *A. squamosa* apresenta ser tripanocida e antimalárica (Cascaes et al., 2021).

As acetogeninas identificadas e isoladas apresentaram efeitos antimicrobiano, antimalárico, antiviral, anti-helmíntico, antiprotozoários, imunossupressor e pesticidas (Barbalho et al., 2012). A exemplo, estudos mostram que a anonacina, esquamocina e cherimolina-1 (Figura 10) possuem significativa atividade antiproliferativa *in vitro* frente a linhagem celular de linfoma histiocítico (U-937) (Amala; Joseph, 2021). Outro exemplo são os alcaloides e flavonoides, os quais têm sido empregues no tratamento de pele, vermes intestinais e inflamações oculares devido a atividade antibacteriana demonstrada por muitos deles (Joseph; Dev; Kanchana, 2023). Estudos apontam que os alcaloides oxoaporfínicos liriodenina e lisicamina exibem efeitos antiproliferativos promissores, enquanto a asimilobina apresenta atividade antioxidante e antimicrobiana (Figura 6) (Egydio-Brandão et al., 2017). A Tabela 3 apresenta um resumo de algumas das atividades biológicas reportadas para alcaloides isolados de espécies do gênero *Annona* (Figura 14).

Tabela 3. Atividades biológicas reportadas na literatura para alcaloides encontrados em várias espécies de *Annona*.

Nº	Composto Bioativo	Espécie/Parte da planta	Atividade farmacológica	Referência
[1]	annomontina	<i>A. foetida</i> (Cascas e galhos) <i>A. purpurea</i> (Raízes)	Tripanocida e antileishmania	Egydio-Brandão et al., 2017
[2]	discretamina	<i>A. pickelli</i> (Cascas)	Antioxidante e antimicrobiana	Egydio-Brandão et al., 2017
[3]	atherospeminina	<i>A. montana</i> <i>A. muricata</i> (Folhas)	Sedativo	Lúcio et al., 2015
[4]	anolobina	<i>A. glabra</i> (Folhas) <i>A. pickelli</i> (Cascas) <i>A. coriácea</i> (Folhas) <i>A. muricata</i> (Folhas e sementes)	Inibidor de acetilcolinesterase e antimicrobiana	Egydio-Brandão et al., 2017
[5]	nornantenina	<i>A. cherimola</i> (Folhas) <i>A. sericea</i> (Folhas)	Antileishmania	Lúcio et al., 2015
[6]	nornuciferina	<i>A. muricata</i> (Frutos) <i>A. pickelli</i> (Folhas) <i>A. sericea</i> (Folhas)	Antileishmania e antidepressivo	Lúcio et al., 2015
[7]	xilopina	<i>A. salzmannii</i> (Cascas) <i>A. montana</i>	Antileishmania, analgésico e sedativo	Lúcio et al., 2015
[8]	isocoridina	<i>A. purpurea</i> (Toda a planta) ¹ <i>A. squamosa</i> (Folhas e caule) ¹	Antitumoral, antioxidante, antibacteriano, antiúlcera, antiplamódico e antiarrítmico ²	Lúcio et al., 2015 ¹ ; Zhou et al., 2024 ² ...
[9]	isoboldina	<i>A. montana</i> (Cascas)		Continua...

		<i>A. salzmännii</i> (Folhas)		
		<i>A. senegalensis</i> (Caule)		Lúcio et al., 2015
		<i>A. sericea</i> (Folhas)		
		<i>A. cherimola</i> (Folhas)		
[10]	O- metilmoschatolina	<i>A. ambotay</i> (Tronco)	Antileishmania, citotóxico e tripanocida	Lúcio et al., 2015
		<i>A. foetida</i> (Casca e galhos)		
		<i>A. cherimola</i> (Folhas) ¹		Lúcio et al., 2015 ¹ ;
[11]	lanuginosina	<i>A. squamosa</i> (Folhas) ¹	Citotóxico ²	Mohamed; Hassan; Ibrahim, 2010 ²
		<i>A. foetida</i> (Galhos)		
		<i>A. purpurea</i>		
[12]	atehrospermidina	<i>A. mucosa</i> (Folhas e sementes)	Anticâncer e citotóxico	Lúcio et al., 2015
		<i>A. muricata</i> (Folhas) ¹		
[13]	estefarina	<i>A. purpurea</i> (Todas as partes) ¹	Anti-hipertensivo, antiviral e anti- envelhecimento ²	Lúcio et al., 2015 ¹ ; Hao et al., 2020 ²
[14]	promucosina	<i>A. purpurea</i> (Tronco)		Lúcio et al., 2015

^{1,2} Relação das informações descritas na tabela e suas respectivas referências.

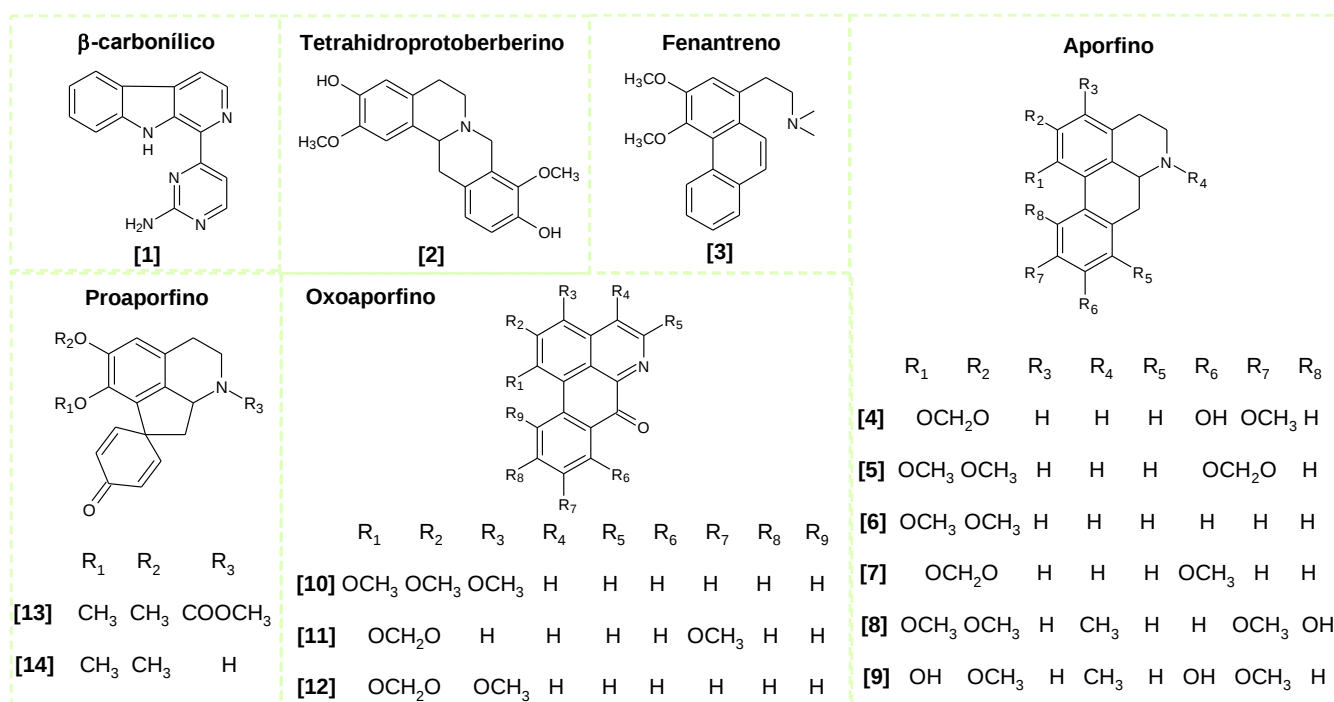


Figura 14. Estruturas químicas de alcaloides isolados de diferentes espécies e partes das plantas pertencentes ao gênero *Annona*.

Fonte: Autora (2025).

2.4. A espécie *Annona neoinsignis* H. Rainer

Esta espécie foi originalmente identificada e catalogada como *Rollinia insignis* var. *pallida* R. E. Fries em 1935 e, posteriormente, como *Rollinia insignis* R. E. Fries em 1987, ambas localizadas no estado do Amazonas (Mendes-Silva et al., 2020). O nome adotado e corretamente aceito atualmente é *Annona neoinsignis* H. Rainer, a qual é conhecida popularmente como envira-bobó, envireira-bobó, araticum do mato, cortiça e cortiça crespa. Esta espécie é muito semelhante as demais pertencentes ao gênero, apresentando-se na forma de árvores, sendo facilmente reconhecida por suas folhas e frutos (Figura 15).

A árvore pode ser cultivada na arborização urbana ou em praças, devido ao seu pequeno porte. É indispensável na recomposição florestal, pois seus frutos alimentam aves e diversos animais terrestres, como pacas, porcos-do-mato, cutias, antas e iraras. Os frutos são muito saborosos para o consumo *in natura*, embora as sementes não se soltem facilmente da polpa. Também podem ser despulpados, com a polpa sendo congelada para uso futuro ou utilizada imediatamente no preparo de mousses, sorvetes, massas, recheios de bolos e biscoitos. Além disso, os frutos dessa espécie possuem casca resistente ao manuseio, o que os torna muito promissores para o cultivo por agricultores familiares e a comercialização em feiras livres (coleccionando frutas, 2025).

Apesar desta espécie pertencer a um dos maiores gêneros da família Annonaceae, a busca nos principais bancos de dados, tais como *Scifinder*, *Scopus*, *Web of Science* e *Google Scholar*, apresentou apenas um trabalho referente ao estudo químico dos constituintes voláteis das flores, realizado por Jürgens; Webber; Gottsberger (2000). Neste trabalho, o naftaleno foi descrito como sendo o constituinte volátil majoritário das flores.

Contudo, é possível verificar que os estudos acerca desta espécie se referem principalmente as características botânicas, ou seja as características florais, encontrando-se ainda uma carência de estudos relativos à sua composição fitoquímica e propriedades farmacológicas, o que justifica o início do estudo desta espécie neste trabalho direcionado para a investigação fitoquímica da composição química das suas folhas direcionado para a busca de princípios ativos com propriedades citotóxicas contra linhagens de células tumorais humana. Além disso,

contribuir para conhecimento botânico, químico e farmacológico desta espécie gerando valor agregado a esta, tendo em vista que a mesma possui ainda frutos comestíveis que são pouco conhecidos que poderiam ser explorados de modo sustentável pela população local, atrelado ao conhecimento químico e farmacológico proveniente deste trabalho.

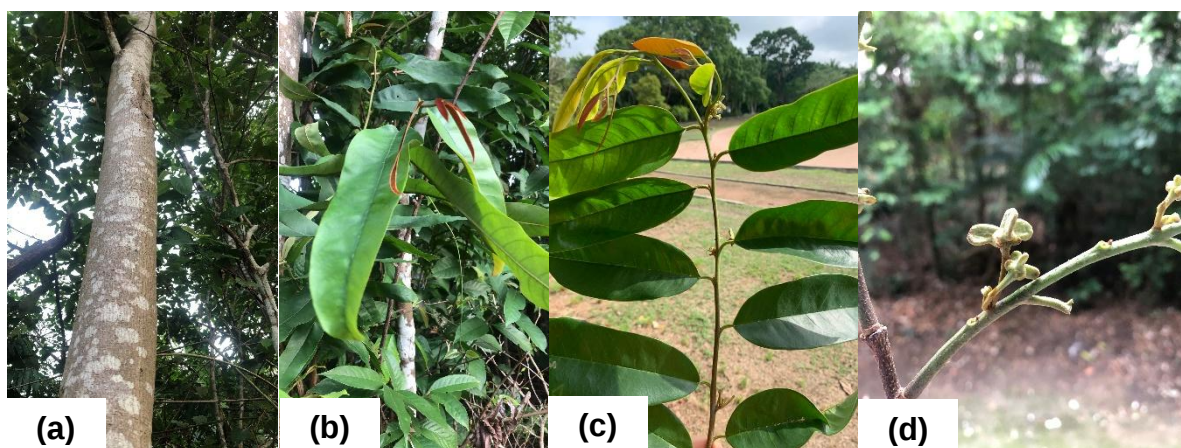


Figura 15. Características botânicas de *A. neoinsignis* (a) Árvore; (b) e (c) detalhes das folhas e (d) botão de flor.

Fonte: Autora (2025).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Realizar o estudo fitoquímico das folhas de *Annona neoinsignis* e investigar o seu potencial citotóxico contra linhagens de células tumorais humana, contribuindo assim para o conhecimento químico e biológico das espécies de Annonaceae do Amazonas.

3.2. Objetivos Específicos

- Extrair o óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* e caracterizar por CG-EM;
- Isolar através dos métodos cromatográficos clássicos os constituintes químicos presentes no extrato metanólico das folhas de *Annona neoinsignis*;
- Identificar os constituintes químicos isolados por RMN 1D (^1H , ^{13}C e ^{13}C -DEPT 135) e 2D (COSY, HSQC, HMBC e NOESY), bem como Espectrometria de Massas;
- Avaliar a atividade citotóxica contra diferentes linhagens de células tumorais e não tumoral humana do óleo essencial, dos extratos, frações e substâncias isoladas das folhas de *A. neoinsignis*.

4. METODOLOGIA

4.1. Cromatografia em coluna (CC)

Os fracionamentos cromatográficos foram realizados em colunas de vidro aberta, utilizando como fase estacionária sílica gel 60 com partículas entre 0,060-0,200 mm (70-230 mesh) da Macherey-Nagel tratada previamente com solução de bicarbonato de sódio 10% (NaHCO_3). A quantidade de sílica utilizada na separação cromatográfica foi o equivalente à 25 vezes a massa do produto bruto a ser purificado para o empacotamento da coluna e de 2 vezes para pastilha. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades das amostras a serem submetidas a cromatografia em coluna.

4.2. Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA)

As análises em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 da Macherey-Nagel, com 0,2 mm de espessura com indicador de fluorescência F254.

4.3. Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP)

As análises por cromatografia em escala preparativa foram efetuadas em cromatoplacas de vidro com dimensões de 20 x 20 cm e espessura de 1,0 mm. As placas foram preparadas pesando-se 23 g de sílica gel 60 F254 da Macherey-Nagel em um erlenmeyer, seguido da adição de água destilada (65 mL) e rigorosa agitação por alguns minutos para obter uma solução homogênea. Posteriormente, verteu-se a solução sob a cromatoplaça, dispondo de maneira uniforme e deixada para a evaporação da água à temperatura ambiente por 72h. Após este período, as cromatoplacas foram ativadas em estufa a 110 °C por 1h. As cromatoplacas foram submetidas à luz ultravioleta de 254 nm para a visualização das bandas. As amostras foram recuperadas utilizando como solventes uma mistura de 9:1 de clorofórmio (CHCl_3) e metanol (CH_3OH) ou acetato de etila (AcOEt) e metanol.

4.4. Gel de sílica tratada com NaHCO₃

A sílica utilizada no fracionamento cromatográfico em coluna aberta foi previamente tratada com uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). Para isto, preparou-se 1000 mL de uma solução de bicarbonato de sódio 10%, a qual foi adicionado 500 g de sílica gel 60 com partículas entre 0,060-0,200 mm (70-230 mesh) da Macherey-Nagel. Posteriormente, a solução foi agitada para a eliminação de bolhas e mantida em repouso por 24 horas. Decorrido este tempo, a sílica foi filtrada em funil de Büchner para remover o excesso da solução de bicarbonato de sódio e armazenada em uma cápsula de porcelana em estufa à 180°C, com agitação constante afim de evitar a formação de grumos, até a sua completa secagem permanecendo a 180°C na estufa por 24h. Após esse tempo o material é resfriado a temperatura ambiente, transferido para um frasco e posteriormente armazenado para futuras análises cromatográficas.

4.5. Reveladores

A revelação das manchas (*spots*) nas CCDAs e CCDPs foi realizada sob luz ultravioleta (254 nm) e, posteriormente, com a solução de anisaldeído ou vanilina sulfúrica para revelação de terpenoides e, reagente de Dragendorff para revelação alcaloides.

4.5.1. Solução de anisaldeído

Para 100 mL de solução de anisaldeído, foi adicionado 5 mL de anisaldeído em 90 mL de álcool etílico, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1 mL de ácido acético glacial.

4.5.2. Reagente Dragendorff com modificação de Munier

Solução A: 1,7 g de nitrato de bismuto III e 20,00 g de ácido tartárico dissolvidos em 80 mL de água destilada. Solução B: 16,00 g de iodeto de potássio dissolvidos em 40 mL de água destilada. A solução estoque constitui-se da mistura de partes iguais (1:1) das soluções A e B. Para a utilização deste reagente sob as placas, adicionou-se 5,0 mL da solução estoque a 10,0 g de ácido tartárico dissolvido em 50 mL de água destilada (Munier, 1953 apud Merck, 1971).

4.5.3. Vanilina Sulfúrica

Para 100 mL de solução de vanilina sulfúrica, primeiramente, preparou-se uma solução composta por 45 mL de água destilada, 45 mL de álcool etílico e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente, dissolveu-se 1 g de vanilina nesta solução e a mesma foi transferida e armazenada em um frasco âmbar.

4.6. Solventes

Os solventes utilizados no desenvolvimento das técnicas cromatográficas foram das marcas Synth, Qhemis e Honeywell. O preparo das amostras para análise dos espectros de massas foi realizado utilizando solventes grau HPLC da marca Tédia Brasil.

4.7. Equipamentos

4.7.1. Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massas (EM) das frações e substâncias isoladas foram obtidos na Central Analítica do Centro de Apoio Multidisciplinar da Universidade Federal do Amazonas (CA/CAM/UFAM) utilizando um espectrômetro modelo LCQ Fleet (ThermoScientific) com analisador de massas do tipo *ion trap* e equipado com uma fonte de ionização por eletrospray (ESI) programada para operar no modo positivo de aquisição. Os dados obtidos foram analisados através do software LCQ Fleet Tune (Thermo Xcalibur). As amostras foram solubilizadas em metanol grau HPLC e injetadas no looping de 5 μL do equipamento. Utilizou-se uma bomba ACCELA 600 (Fluxo de 200 $\mu\text{L min}^{-1}$ de metanol grau HPLC) para levar as amostras do looping até a fonte de ionização.

4.7.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensionais (^1H , ^{13}C e ^{13}C -DEPT 135) e bidimensionais (COSY, HSQC, HMBC e/ou NOESY) das substâncias isoladas foram obtidos utilizando dois espectrômetros.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram obtidos na Central Analítica do Centro de Apoio Multidisciplinar da Universidade Federal do

Amazonas (CA/CAM/UFAM) utilizando um espectrômetro de RMN BRUKER AVANCE III HD operando a 11,75 Teslas (500 MHz para RMN de ^1H e 125 MHz para RMN de ^{13}C), e em um aparelho Bruker Avance III-400 operando a 9,4 Teslas (400 MHz para RMN de ^1H e 100 MHz para RMN de ^{13}C) do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná (DQ/UFPR). As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3), metanol deuterado (CD_3OD), e/ou a misturas de clorofórmio com gotas de metanol deuterados (CDCl_3 + gotas de CD_3OD).

As amostras foram solubilizadas em solventes deuterados 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 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 herts (Hz). A análise dos dados espectroscópicos foi feita utilizando o software Bruker TopSpin 3.7.0, versão gratuita.

4.7.3. Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM e CG-DIC)

A metodologia de análise foi desenvolvida conforme proposto por Silva e Colaboradores (2013). A análise do óleo essencial foi realizada utilizando cromatógrafo gasoso TRACE GC ULTRA/ ISQ (Thermo Scientific) acoplado a um espectrômetro de massas ISQ com amostrador automático modelo Tri Plus RSH e detector de ionização de chama (DIC). A separação dos compostos por CG-DIC foi desenvolvida utilizando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm espessura do filme) revestida com 5%-fenil-arileno-95%-dimetilpolisiloxano. O Hélio foi utilizado como gás de arraste mantendo um fluxo de 1,0 mL/min. A temperatura inicial foi mantida a 40 °C por 4 minutos, posteriormente programada a uma taxa de 4 °C/min até atingir 240 °C, depois a 10 °C/min até 280 °C, e por fim, a 280 °C por 2 minutos. A temperatura do injetor foi de 250 °C e do detector 280 °C. As amostras foram preparadas dissolvendo-se aproximadamente 1 mg das amostras em 1 mL de acetato de etila grau HPLC, sendo injetado 1 μL de solução em modo Split, na razão 1:25. Os índices de retenção foram gerados a partir de uma solução padrão de n-alcanos ($\text{C}_8\text{-C}_{20}$). As áreas dos picos e os tempos de retenção foram medidos de modo eletrônico com um integrador. Para as análises por CG-EM, utilizou-se como

fase estacionária, uma coluna capilar de sílica fundida DB-5MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm espessura do filme) revestida com 5%-fenil-arileno-95%-dimetilpolisiloxano. Os espectros de massas foram obtidos a 70 eV com intervalos de varredura de 0,5s e fragmentos de 40-550 Da. As demais condições de análise foram análogas às utilizadas para análise por CG-DIC.

O índice de retenção foi calculado utilizando a equação de Van Den Dool e Kratz, em comparação a série homóloga de n-alcanos (C₈-C₂₀).

$$IR = 100 i \times \frac{Tr_X - Tr_{HA}}{Tr_{HP} - Tr_{HA}} + 100N$$

onde, **Tr_x** é o tempo de retenção do composto em análise, **Tr_{HA}** é o tempo de retenção do hidrocarboneto anterior, **Tr_{HP}** é o tempo de retenção do hidrocarboneto posterior, **N** é o número de carbonos do hidrocarboneto posterior e **i** é a diferença entre o número de carbono dos hidrocarbonetos anterior e posterior.

Para a identificação dos constituintes voláteis, comparou-se os espectros de massas adquiridos com aqueles disponíveis na literatura (ADAMS, 2007), bem como, com base nos índices de retenção. A percentagem de cada substância foi determinada pela área do componente dividida pela área total de todas as substâncias presentes na amostra e o resultado multiplicado por 100.

4.7.4. Outros Equipamentos

Evaporador rotativo: Fisatom em banho-maria com temperatura controlada;

Bomba de vácuo: Tecnal, modelo TE-0581;

Moinho: Modelo Marconi com quatro facas;

Estufa de esterilização e secagem analógica: MyLabor;

Estufa Incubadora: De Leo;

Lanterna de emissão de radiação ultravioleta: Boitton;

Balança analítica: Shimadzu, modelo AUY220;

Balança semi-analítica: Modelo UX6200H da marca SHIMADZU.

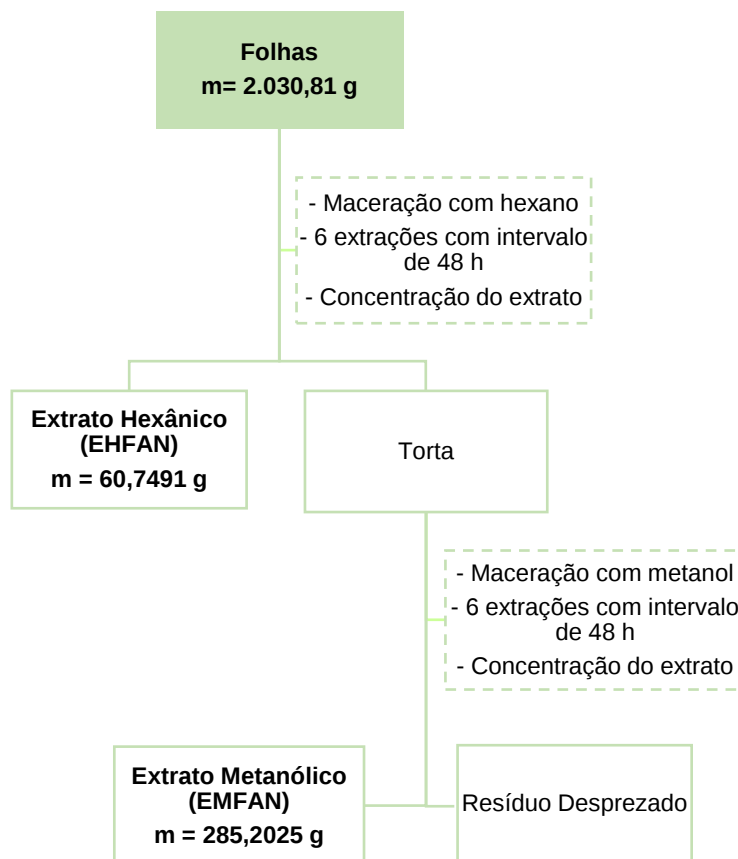
4.8. Coleta do Material Vegetal

As folhas de *A. neoinsignis* foram coletadas no dia 12 de dezembro de 2023 no Setor Sul do campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) sob as coordenadas 3°05'51,2"S e 59°58'34,7"W, na região metropolitana de Manaus, Amazonas, Brasil. A espécie foi identificada pela bióloga Deisy Pereira Saraiva do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas. Para consultas posteriores, uma exsicata da espécie foi depositada no herbário (HUAM) do Departamento de Biologia da própria UFAM sob o número 12577. O acesso (espécime) foi cadastrado no **Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN)** sob o número de registro **A6E79F4**.

4.9. Preparo dos extratos

O material botânico em estudo (folhas de *A. neoinsignis*) foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C por 24h. Posteriormente, o material seco foi moído em moinho de facas e a massa foi determinada em uma balança semi-analítica, obtendo-se 2.030,81 g de folhas. Em seguida, o material foi submetido à extração a frio em temperatura ambiente pelo método de maceração (Fluxograma 1), utilizando um frasco Mariotte com adição de solventes em ordem crescente de polaridade, com renovação a cada 48 horas. Foram realizadas seis extrações, primeiramente utilizando hexano e, posteriormente, metanol. A cada etapa de maceração, os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo a pressão reduzida e temperatura controlada entre 40-50°C. O solvente recuperado foi reutilizado em cada etapa de maceração, com um gasto inicial de 6,5 L de solvente, sendo a cada renovação adicionado mais 500 mL, totalizando em um gasto 9 L de cada solvente. Ao término do processo, o resíduo vegetal proveniente da extração foi descartado. Após secagem, o extrato hexânico apresentou massa igual a 60,7491 g e o extrato metanólico 285,2025 g. Uma alíquota (30,0 mg) dos extratos hexânico e metanólico foi enviada para realização de ensaios de atividade citotóxica no Instituto Gonçalo Moniz (IGM) da Fundação Osvaldo Cruz (Fiocruz) do estado da Bahia (Fiocruz-BA), sob a coordenação do Dr. Daniel Pereira Bezerra.

Fluxograma 1. Esquema da obtenção dos extratos pelo método da maceração.



4.10. Tratamento ácido-base do extrato metanólico (EMFAN)

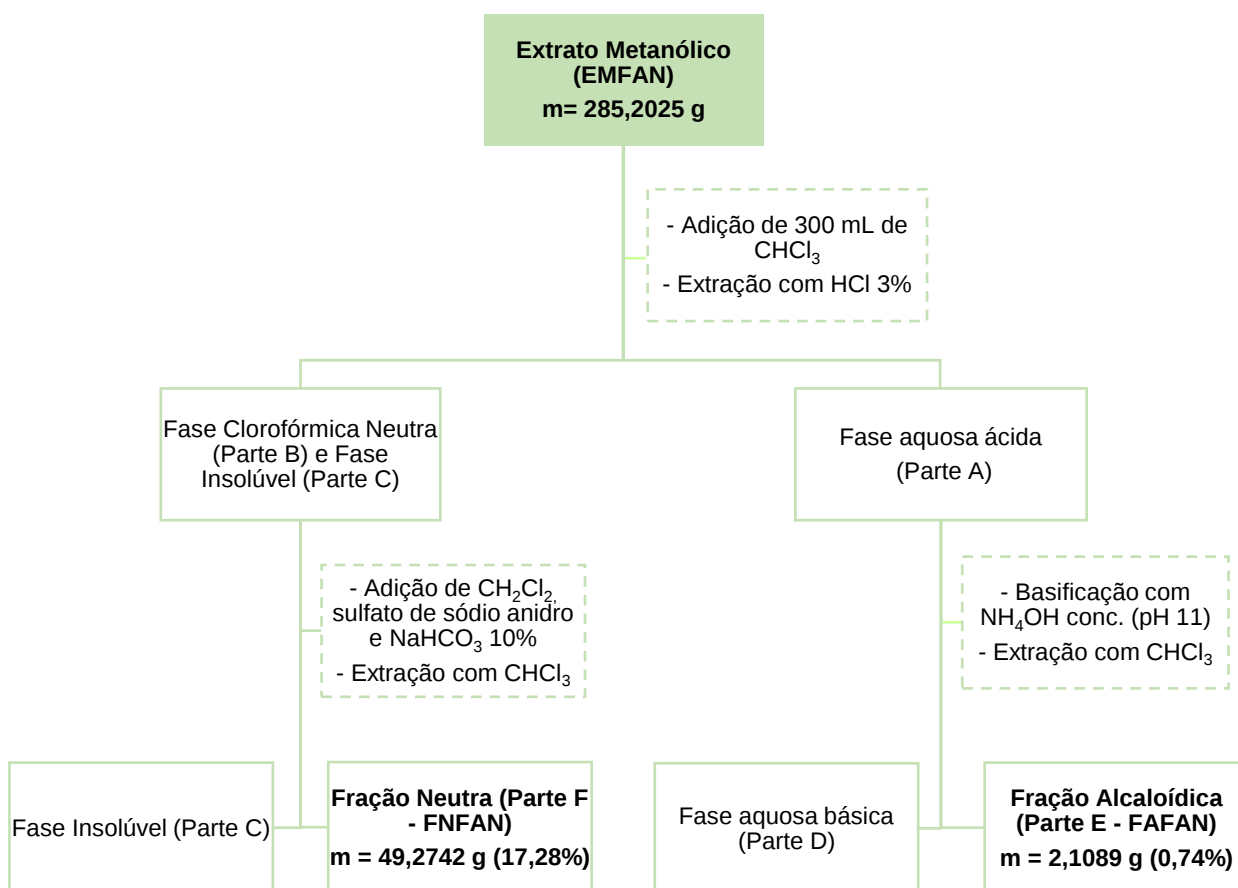
Uma alíquota de 13 g do extrato metanólico foi reservada para análises futuras enquanto o restante (285,2025 g) foi submetido ao tratamento ácido-base (Fluxograma 2), tendo como base a metodologia descrita no trabalho de Costa et al. (2006).

Inicialmente, foi adicionado ao extrato 300 mL de CHCl_3 , o qual solubilizou parte do extrato e, em seguida, foi realizada a acidificação por meio de extração sucessiva com ácido clorídrico 3% v/v (HCl) utilizando o mesmo volume de CHCl_3 (300 mL), obtendo-se três fases: a fase aquosa ácida (**Parte A**), a fase clorofórmica neutra (**Parte B**) e a fase insolúvel (**Parte C**). A fase aquosa ácida foi separada e basificada com hidróxido de amônio (NH_4OH) até pH igual a 11, sendo submetida a extração sucessiva em funil de separação com CHCl_3 , produzindo duas novas fases: a fase

aquosa básica (**Parte D**) e a fração alcaloídica (**Parte E**). A fração alcaloídica foi coletada e concentrada em evaporador rotativo a pressão reduzida, enquanto a fase aquosa básica foi descartada.

À fase clorofórmica neutra (**Parte B**), foi adicionado um volume de CHCl_3 , sendo posteriormente submetida a filtração a vácuo utilizando funil de Buchner e papel filtro. Em seguida, adicionou-se sulfato de sódio anidro ao filtrado e um volume da solução de bicarbonato de sódio 10% (NaHCO_3) (previamente preparada) até atingir pH 7 (neutro). Posteriormente, o mesmo foi submetido a extração sucessiva com CHCl_3 , formando duas fases: a fase insolúvel (**Parte C**) e a fração neutra (**Parte F**). A fração neutra foi coletada e concentrada em evaporador rotativo a pressão reduzida e a fase insolúvel foi descartada.

Fluxograma 2. Esquema do tratamento ácido-base.

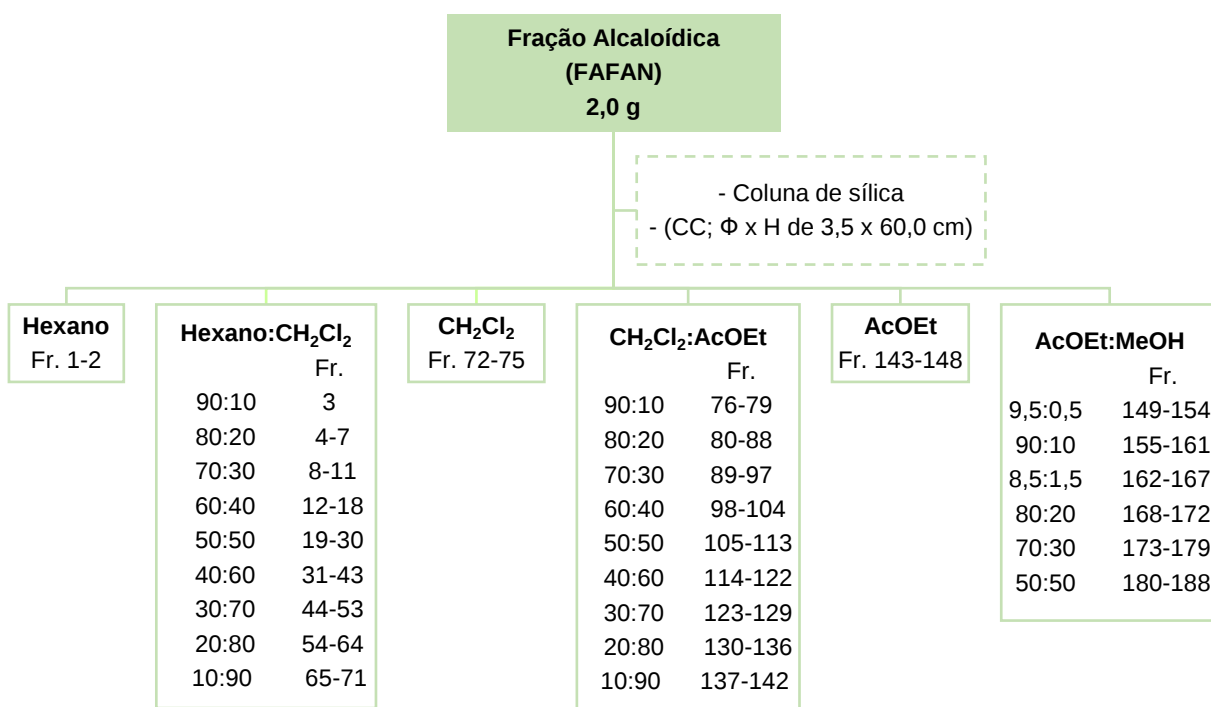


Após a secagem, a fração alcaloídica apresentou massa igual a 2,1089 g e a fase neutra apresentou massa igual a 49,2742 g. Uma alíquota de 30,0 mg tanto da fração alcaloídica quanto da fração neutra foi enviada para a realização dos ensaios de atividade citotóxica pela Fundação Osvaldo Cruz (Fiocruz) do estado da Bahia.

4.11. Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica (FAFAN)

Uma parte da FAFAN (1,87 g) foi submetida ao fracionamento por cromatografia em coluna aberta (CC; Φ x H de 3,5 x 60,0 cm) com sílica tratada com solução de NaHCO_3 a 10%, eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em misturas binárias de polaridade crescente, obtendo-se 288 frações (Fluxograma 3).

Fluxograma 3. Esquema do fracionamento cromatográfico de FAFAN.



Após a secagem, as frações provenientes do fracionamento cromatográfico foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) sendo utilizado a irradiação de luz ultravioleta a 254 nm, seguido por revelação em solução de anisaldeído e reagente Dragendorff. As frações foram reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_f), obtendo-se 26 grupos de frações (Tabela 4).

Tabela 4. Reunião das frações provenientes do fracionamento cromatográfico de FAFAN.

Grupo de Frações	Código	Frações	Massa (mg)
1	FAFAN-1	1-4	12,8
2	FAFAN-2	5-7	15,8
3	FAFAN-3	8-11	15,9
4	FAFAN-4	12-13	6,5
5	FAFAN-5	14-23	58,2
6	FAFAN-6	24-29	67,8
7	FAFAN-7	30-34	12,5
8	FAFAN-8	35-58	216,4
9	FAFAN-9	59-67	41,8
10	FAFAN-10	68-75	48,8
11	FAFAN-11	76-79	28,8
12	FAFAN-12	80-82	171,4
13	FAFAN-13	83-86	130,2
14	FAFAN-14	87-91	69,8
15	FAFAN-15	92-97	63,0
16	FAFAN-16	98-115	122,1
17	FAFAN-17	116-126	64,2
18	FAFAN-18	127-133	33,1
19	FAFAN-19	134-141	37,0
20	FAFAN-20	142-153	28,1
21	FAFAN-21	154-160	79,0
22	FAFAN-22	161-165	65,9
23	FAFAN-23	166-173	606,5
24	FAFAN-24	174-175	83,7
25	FAFAN-25	176-183	282,8
26	FAFAN-26	184-188	243,4

4.12. Isolamento

Os grupos de frações listados na Tabela 4 foram selecionados para isolamento conforme o perfil observado nas CCDAs. Dessa forma, aqueles que apresentaram fatores de retenção distintos e adequada definição para purificação, foram submetidos a separação utilizando cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP). Foi utilizado como eluente CH_2Cl_2 :MeOH ou CHCl_3 :MeOH (9,5:0,5 ou 9,7:0,3) ou Hexano:AcOEt (8,5:1,5, 7,5:2,5 ou 6:4) entre uma a quatro eluições e, sendo a mistura de CHCl_3 :MeOH (9,5:0,5) empregue para extrair as substâncias da sílica, sendo posteriormente filtradas à vácuo em funil com placa porosa, rotaevaporadas e pesadas.

4.12.1. Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-10

O grupo de frações FAFAN-10 (48,8 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente Hexano:AcOEt (7,5:2,5) com quatro eluições, rendendo na obtenção de 11 novas subfrações, conforme apresentado na Tabela 5.

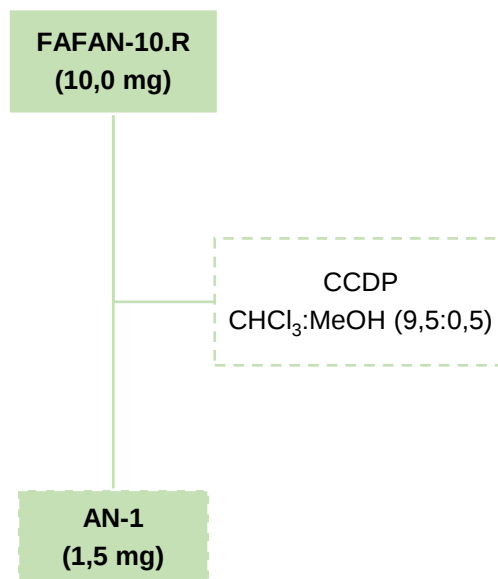
Tabela 5. Frações provenientes da análise por CCDP de FAFAN-10.

Grupo de Frações	Código	Massa (mg)
1	FAFAN-10.1	3,7
2	FAFAN-10.2	2,0
3	FAFAN-10.3	2,0
4	FAFAN-10.4	4,7
5	FAFAN-10.5	1,5
6	FAFAN-10.6	5,2
7	FAFAN-10.7	1,2
8	FAFAN-10.8	4,0
9	FAFAN-10.9	2,5
10	FAFAN-10.10	8,5
11	FAFAN-10.R	10,0

*Marcado em vermelho as frações trabalhadas posteriormente

A subfração FAFAN-10.R foi submetida a uma nova análise por CCDP utilizando como eluente CHCl_3 :MeOH (9,5:0,5) com uma eluição, rendendo no isolamento de uma substância com bom grau de pureza. Quando submetida a análise por CCDA e, após a revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído seguido de aquecimento, a substância apresentou um único “spot”, bem como, quando submetida a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm. A substância foi codificada como **AN-1** e submetida às análises de EM e RMN de ^1H e ^{13}C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. O esquema do isolamento desta substância é apresentado no Fluxograma 4.

Fluxograma 4. Esquema do isolamento de AN-1.



4.12.2. Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-11

O grupo de frações FAFAN-11 (28,8 mg) foi submetido a análise de CCDP utilizando como eluente Hexano:AcOEt (8,5:1,5) com quatro eluições seguido de Hexano:AcOEt (7,5:2,5) com duas eluições, resultando na obtenção de 9 novas subfrações, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Frações provenientes da análise por CCDP de FAFAN-11.

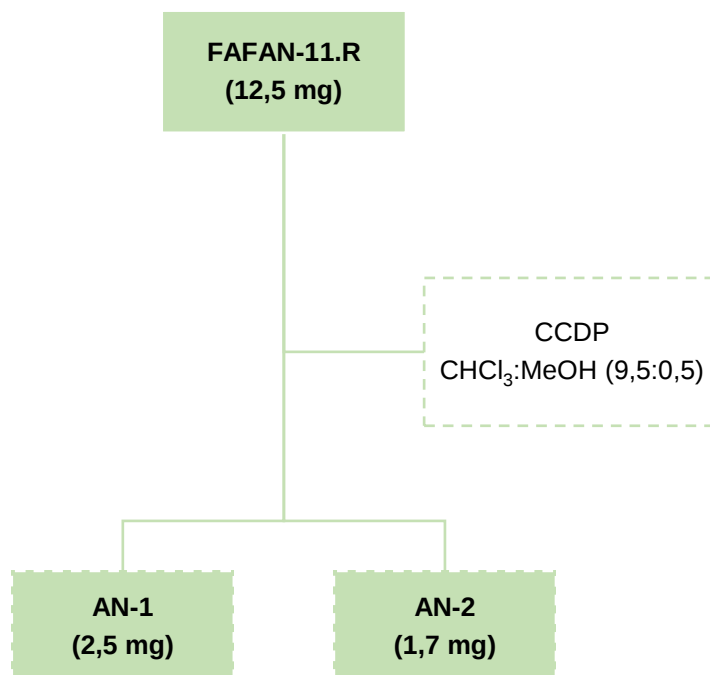
Grupo de Frações	Código	Massa (mg)
1	FAFAN-11.1	1,7
2	FAFAN-11.2	1,5
3	FAFAN-11.3	1,3
4	FAFAN-11.4	1,4
5	FAFAN-11.5	5,7
6	FAFAN-11.6	1,3
7	FAFAN-11.7	3,2
8	FAFAN-11.8	5,1
9	FAFAN-11.R	7,4

*Marcado em vermelho as frações trabalhadas posteriormente

As subfrações FAFAN-11.8 e FAFAN-11.R foram reunidas, sendo esta nova fração codificada como FAFAN-11.R. Esta nova fração foi submetida a análise de CCDP utilizando como eluente CHCl_3 :MeOH (9,5:0,5) com uma eluição, rendendo no isolamento de duas substâncias com bom grau de pureza. Quando submetidas a análise por CCDA e, após a revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído seguido de aquecimento, a substância apresentou um único “spot”, bem como, quando submetida a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm. Uma das substâncias apresentou perfil químico e fator de retenção (R_f) semelhantes a **AN-1**, logo, foi

codificada com o mesmo código, enquanto a outra substância isolada foi codificada como **AN-2**. As substâncias foram submetidas às análises de EM e RMN de ^1H e ^{13}C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. O esquema do isolamento destas substâncias é apresentado no Fluxograma 5.

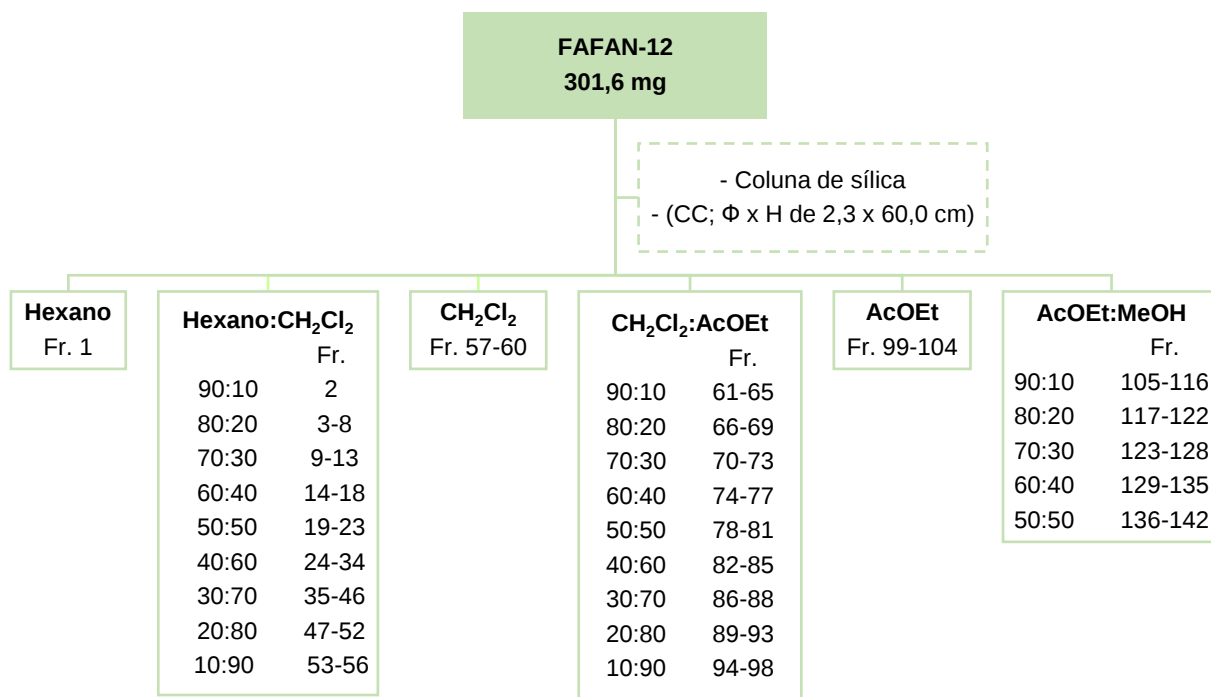
Fluxograma 5. Esquema do isolamento de AN-1 e AN-2.



4.12.3. Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-12

Os grupos de frações FAFAN-12 a FAFAN-13 foram reunidas, rendendo em 301,6 mg, sendo esta nova fração codificada como FAFAN-12. Esta foi submetida ao fracionamento cromatográfico em coluna aberta (CC; $\Phi \times h$ de 2,3 x 60,0 cm) com sílica tratada com solução de NaHCO_3 a 10%, eluída com hexano (C_6H_{12}), diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila (AcOEt) e Metanol (CH_3OH) em misturas de polaridades crescentes, resultando em 142 frações conforme o Fluxograma 6.

Fluxograma 6. Esquema do fracionamento cromatográfico de FAFAN-12.



As frações provenientes do fracionamento foram submetidas a análises por CCDA e as que apresentaram o mesmo R_f foram agrupadas, resultando em dezoito (18) novos grupos de frações, como mostrado na Tabela 7. As placas foram eluídas em CH₂Cl₂:MeOH (9,7:0,3), (9,5:0,5) e (9:1). A revelação foi feita com luz UV 254 nm, solução de vanilina sulfúrica e reagente de Dragendorff.

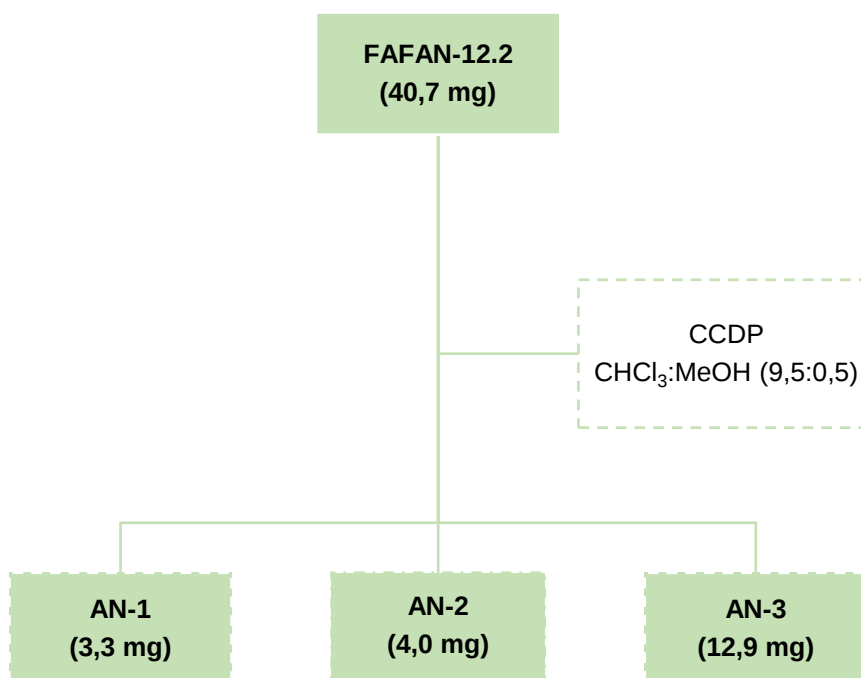
Tabela 7. Reunião das frações provenientes do fracionamento cromatográfico de FAFAN-12.

Grupo de Frações	Código	Frações	Massa (mg)
1	FAFAN-12.1	1	4,4
2	FAFAN-12.2	2-3	40,7
3	FAFAN-12.3	4-12	38,5
4	FAFAN-12.4	13-21	31,5
5	FAFAN-12.5	22-24	8,2
6	FAFAN-12.6	27-27	12,5
7	FAFAN-12.7	28-37	28,5
8	FAFAN-12.8	38-41	9,4
9	FAFAN-12.9	42-45	6,5
10	FAFAN-12.10	46-68	19,7
11	FAFAN-12.11	69-105	34,6
12	FAFAN-12.12	106-107	8,7
13	FAFAN-12.13	108-110	25,5
14	FAFAN-12.14	111-121	30,2
15	FAFAN-12.15	122-123	4,7
16	FAFAN-12.16	124-127	10,5
17	FAFAN-12.17	128-136	12,2
18	FAFAN-12.18	137-142	11,8

*Marcado em vermelho as frações trabalhadas posteriormente

O grupo de frações FAFAN-12.2 (40,7 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9,5:0,5) com uma eluição, rendendo no isolamento de quatro substâncias, sendo duas em mistura. Tal afirmação foi verificada pela análise por CCDA, após a revelação com a solução de Dragendorff e vanilina sulfúrica, bem como, quando submetida a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm. Dentre estas substâncias, duas apresentaram perfil químico e R_f semelhantes as substâncias codificadas como **AN-1** e **AN-2**, dessa forma, receberam o mesmo código, enquanto a mistura de duas substâncias foi codificada como **AN-3**. Posteriormente, as substâncias foram submetidas às análises de EM e RMN de ^1H e ^{13}C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. Os esquemas do isolamento estão apresentados no Fluxograma 7.

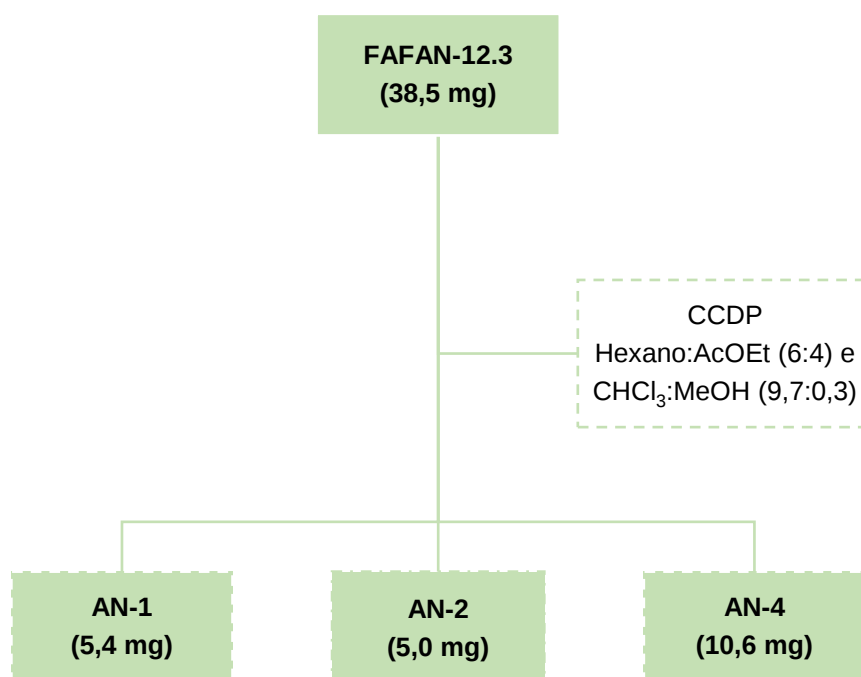
Fluxograma 7. Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-3.



O grupo de frações FAFAN-12.3 (38,5 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente Hexano:AcOEt (6:4) com uma eluição, seguido de $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9,7:0,3) com duas eluições, rendendo no isolamento de três substâncias com bom grau de pureza. A análise por CCDA, após revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído, assim como, pela irradiação de luz ultravioleta em 254 nm, mostrou que duas substâncias apresentavam perfil químico e R_f semelhantes as substâncias anteriormente codificadas como **AN-1** e **AN-2**, logo, receberam o mesmo código, enquanto a terceira substância foi codificada como **AN-**

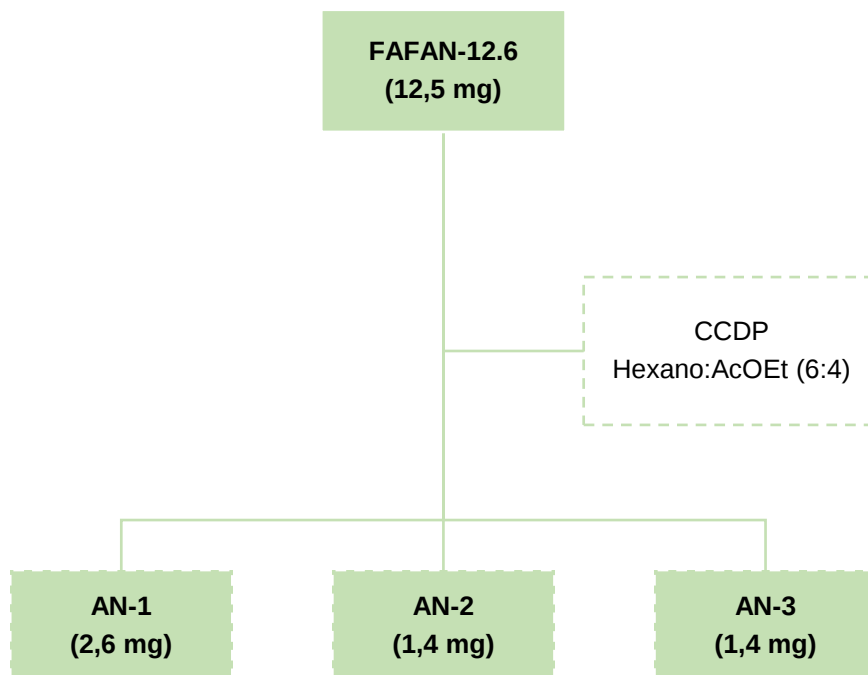
4, pois mostrou-se ser diferente das substâncias já isoladas. Posteriormente, as substâncias foram submetidas às análises de EM e RMN de ^1H e ^{13}C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. Os esquemas do isolamento estão apresentados no Fluxograma 8.

Fluxograma 8. Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-4.



O grupo de frações FAFAN-12.6 (12,5 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente Hexano:AcOEt (6:4) com quatro eluições, rendendo no isolamento de quatro substâncias, sendo duas em mistura. A análise por CCDA, após revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído, assim como, pela irradiação de luz ultravioleta em 254 nm, mostrou que estas substâncias apresentavam perfil químico e R_f semelhantes as substâncias anteriormente codificadas como **AN-1**, **AN-2** e **AN-3**, logo, receberam o mesmo código. Posteriormente, as substâncias foram submetidas às análises de EM e RMN de ^1H e ^{13}C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. Os esquemas do isolamento estão apresentados no Fluxograma 9.

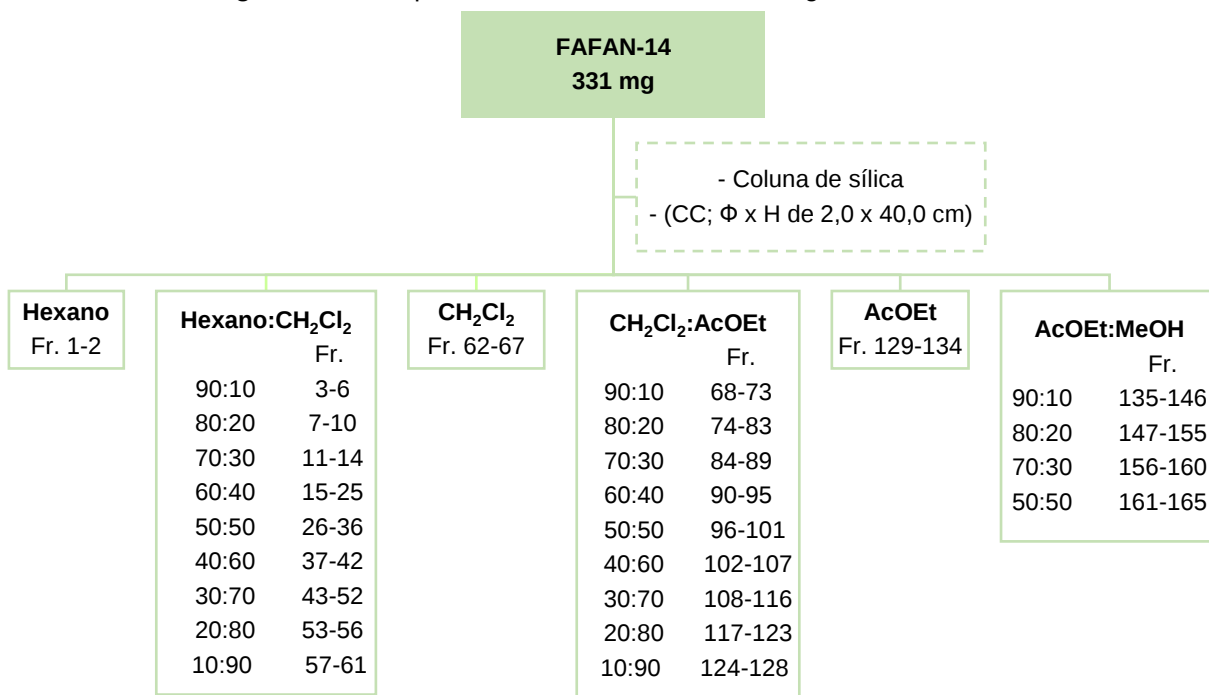
Fluxograma 9. Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-3.



4.12.4. Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-14

Os grupos de frações FAFAN-14 a FAFAN-18 foram reunidas, rendendo em 331 mg, sendo esta nova fração codificada como FAFAN-14. Esta foi submetida ao fracionamento cromatográfico em coluna aberta (CC; Φ x h de 2,0 x 40,0 cm) com sílica tratada com solução de NaHCO_3 a 10%, eluída com hexano (C_6H_{12}), diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila (AcOEt) e metanol (CH_3OH) em misturas de polaridades crescentes, resultando em 165 frações conforme o Fluxograma 10.

Fluxograma 10. Esquema do fracionamento cromatográfico de FAFAN-14.



As frações oriundas do fracionamento foram submetidas a análises por CCDA e as que apresentaram o mesmo R_f foram agrupadas, resultando em quinze (15) novos grupos de frações, como mostrado na Tabela 8. O eluente utilizado para as placas foi CH₂Cl₂:MeOH (9:1). A revelação foi feita com luz UV 254 nm, solução de vanilina sulfúrica e reagente de Dragendorff.

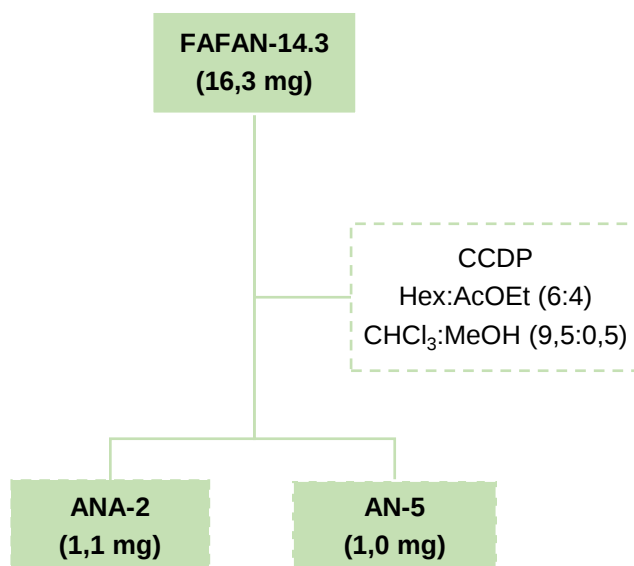
Tabela 8. Reunião das frações provenientes do fracionamento cromatográfico de FAFAN-14.

Grupo de Frações	Código	Frações	Massa (mg)
1	FAFAN-14.1	1-6	19,1
2	FAFAN-14.2	7-11	10,7
3	FAFAN-14.3	12-19	16,3
4	FAFAN-14.4	20-25	14,5
5	FAFAN-14.5	27-37	26,7
6	FAFAN-14.6	38-55	38,9
7	FAFAN-14.7	56-75	23,3
8	FAFAN-14.8	76-85	20,0
9	FAFAN-14.9	86-93	22,2
10	FAFAN-14.10	94-107	35,0
11	FAFAN-14.11	108-115	21,8
12	FAFAN-14.12	116-136	29,2
13	FAFAN-14.13	137-149	80,8
14	FAFAN-14.14	150-159	41,8
15	FAFAN-14.15	160-165	26,6

*Marcado em vermelho as frações trabalhadas posteriormente

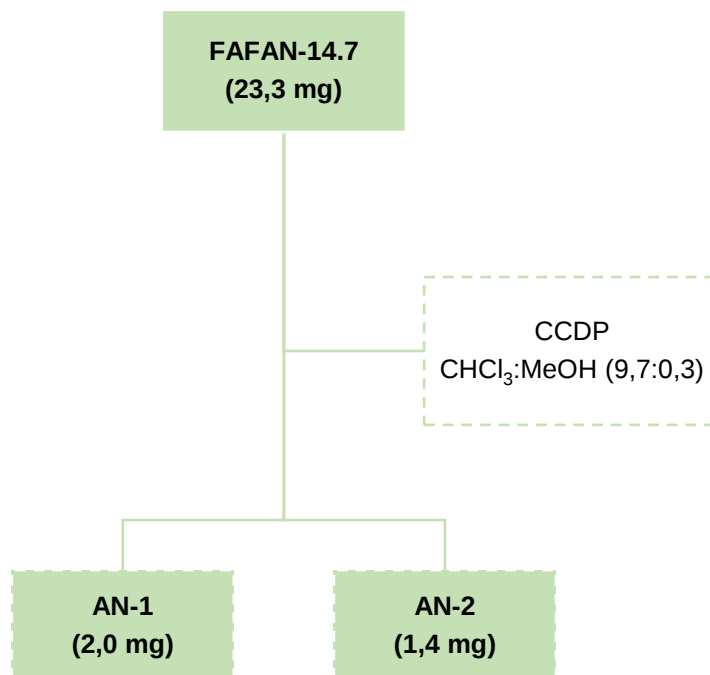
O grupo de frações FAFAN-14.3 (16,3 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente Hexano:AcOEt (6:4) com duas eluições seguido de uma eluição usando como eluente CHCl₃:MeOH (9,5:0,5), rendendo no isolamento de duas substâncias com bom grau de pureza. A análise por CCDA, após a revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído, assim como, a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm, revelou que uma possui perfil químico e R_f semelhante a **AN-2**, recebendo o mesmo código enquanto a outra apresentou-se diferente das substâncias anteriormente isoladas, recebendo o código **AN-5**. Posteriormente, foram submetidas às análises de EM e RMN de ¹H e ¹³C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. O esquema do isolamento está apresentado no Fluxograma 11.

Fluxograma 11. Esquema do isolamento de AN-2 e AN-5.



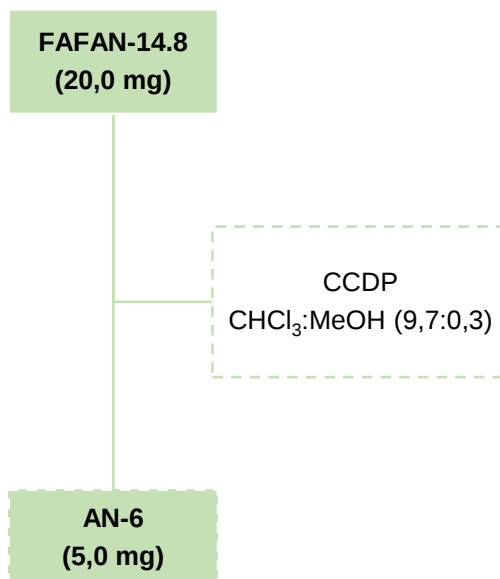
O grupo de frações FAFAN-14.7 (23,3 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente CHCl₃:MeOH (9,7:0,3) com duas eluições, rendendo no isolamento de duas substâncias. A análise por CCDA, após a revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído, assim como, a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm, mostrou que ambas as substâncias apresentavam perfil químico e R_f semelhantes as substâncias anteriormente codificadas como **AN-1** e **AN-2**, recebendo então o mesmo código. Posteriormente, foram submetidas às análises de EM e RMN de ¹H e ¹³C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. O esquema do isolamento está apresentado no Fluxograma 12.

Fluxograma 12. Esquema do isolamento de AN-1 e AN-2.



O grupo de frações FAFAN-14.8 (20,0 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente CHCl₃:MeOH (9,7:0,3) com duas eluições, rendendo no isolamento de uma substância. A análise por CCDA, após a revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído, assim como, a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm, mostrou que tal substância apresentava perfil químico e R_f diferente das substâncias anteriormente isoladas, nesse sentido, foi codificada como **AN-6**. Posteriormente, foi submetida às análises de EM e RMN de ¹H e ¹³C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. O esquema do isolamento está apresentado no Fluxograma 13.

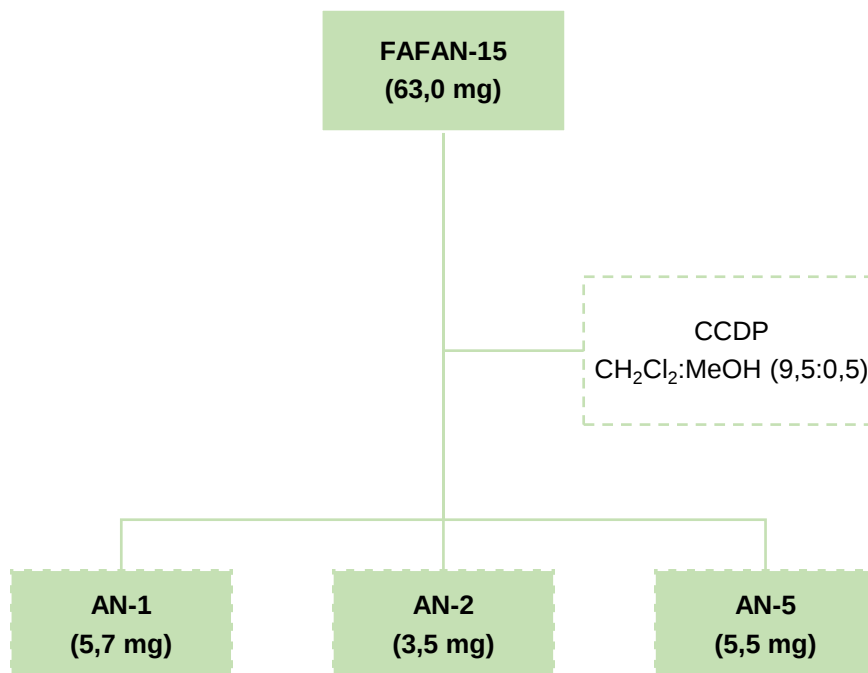
Fluxograma 13. Esquema do isolamento de AN-6.



4.12.5. Estudo cromatográfico do grupo de frações FAFAN-15

O grupo de frações FAFAN-15 (63,0 mg) foi submetido a análise por CCDP utilizando como eluente CH₂Cl₂:MeOH (9,5:0,5) com três eluições, rendendo no isolamento de três substâncias com bom grau de pureza. Quando submetidas a análise por CCDA e, após a revelação com a solução de Dragendorff e anisaldeído seguido de aquecimento, as substâncias apresentaram um único “spot”, bem como quando submetida a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm. Assim, estas substâncias apresentavam perfil químico e R_f semelhantes as substâncias anteriormente codificadas como **AN-1**, **AN-2** e **AN-5**, logo, receberam o mesmo código. As substâncias foram então submetidas às análises de EM e RMN de ¹H e ¹³C 1D/2D para identificação e determinação estrutural. O esquema do isolamento destas substâncias é apresentado no Fluxograma 14.

Fluxograma 14. Esquema do isolamento de AN-1, AN-2 e AN-5.



4.13. Extração de óleo essencial

As folhas secas de *A. neoinsignis*, após 24 horas em estufa com circulação de ar à 40°C, foram moídas em moinho de quatro facas. A extração do óleo essencial foi realizada pelo método da hidrodestilação utilizando um sistema do tipo Clevenger, vinculado a um balão de fundo redondo de 4000 mL e uma manta aquecedora, com temperatura a 100°C. As extrações foram realizadas em triplicatas, em que para cada extração, adicionou-se 300g do material vegetal seguido da adição de água destilada (3000 mL). O óleo essencial foi extraído por um período de três horas. Terminado este tempo, o óleo foi recolhido e filtrado com sulfato de sódio anidro para remoção da água residual e armazenado em frasco âmbar sob refrigeração, de modo a prevenir possíveis perdas ou degradação dos compostos voláteis. O rendimento do óleo, expresso em porcentagem, foi calculado utilizando a seguinte fórmula

$$\text{Rendimento do Óleo Essencial (\%)} = \frac{\text{massa do óleo}}{\text{massa do material vegetal}} \times 100\%$$

É importante salientar que foram efetuadas três coletas de material vegetal para a extração do óleo essencial, sendo elas em junho de 2023, julho de 2024 e outubro

de 2024. Após a obtenção do óleo essencial, o mesmo foi submetido às análises cromatográficas e testes da atividade citotóxica.

4.14. Estudo biológico: atividade citotóxica do óleo essencial

O ensaio foi realizado em colaboração com o pesquisador Dr. Daniel Pereira Bezerra do Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia (LETI) do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, Bahia, Brasil.

4.14.1. Preparo de amostra

Óleo essencial foi diluído em DMSO puro estéril na concentração de 5mg/mL. A amostra foi testada em concentrações que variaram de 0,19-50 µg/mL.

4.14.2. Células

Foram utilizadas células tumorais HCT116 (carcinoma de cólon humano) e HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) obtidas da ATCC (coleção de cultura americana). As células foram cultivadas em garrafas para cultura de células (75 cm³, volume de 250 mL), os meios utilizados foram RPMI 1640 e suplementados com 10% de soro bovino fetal. As células foram mantidas em incubadoras com atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C.

A avaliação da citotoxicidade do óleo essencial sobre a proliferação de células não tumorais foi realizada utilizando a célula MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano), também obtida pela ATCC.

O crescimento celular foi acompanhado diariamente com a utilização de microscópio de inversão. O meio foi trocado sempre que o crescimento celular atingia confluência necessária para renovação de nutrientes. Para a manutenção de células aderidas utilizou-se tripsina (0,25%) para que as células se despregassem das paredes das garrafas. As culturas de células apresentavam negativas para microplasma, conforme avaliado pela colocação com Hoechst (Mycoplasma Stain Kit, Cat. MYC1, Sigma-Aldrich®, St Louis, MO, USA).

4.14.3. Ensaio de citotoxicidade

Para avaliar a citotoxicidade do óleo essencial, o ensaio do alamar blue foi realizado após 72 horas de exposição com as substâncias teste. O reagente Alamar

Blue é preparado com uma solução de resazurina (O'Brien *et al.*, 2000), um indicador fluorescente/colorimétrico com propriedades redox. A resazurina em seu estado fundamental apresenta uma coloração azul não fluorescente, indicando a presença de células não-viáveis, enquanto que sua forma reduzida, a resofurina, é rósea fluorescente, indicando célula viável. Assim, as células viáveis convertem a resazurina em resorufina (Figura 16), possibilitando uma medida quantitativa da viabilidade celular (Kumar *et al.*, 2018).

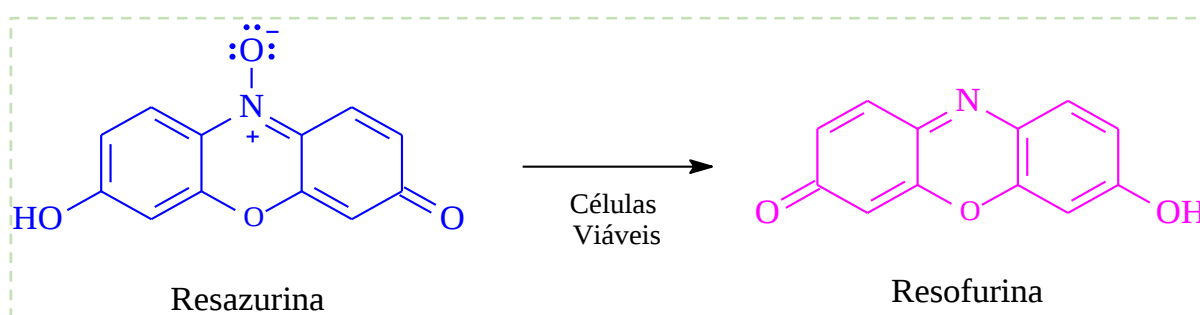


Figura 16. Estruturas da Resazurina e Resofurina.
Fonte: Autora (2025).

Inicialmente, as células foram plaqueadas em placas de 96 cavidades (100 µL/poço de uma solução de $0,3 \times 10^6$ células/mL para células em suspensão e $0,7 \times 10^5$ células/mL para células aderidas). Após 24 horas de incubação, as substâncias testes dissolvidas em DMSO foram adicionadas em cada poço e incubadas por 72 horas. A doxorubicina foi utilizada como controle positivo. O controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO.

Quatro horas antes do final do período de incubação, 20 µL da solução estoque (0,312 mg/mL) de alamar blue (resazurina) foram adicionados a cada poço. Vale ressaltar que a substância é dissolvida em DMSO puro 100% e depois diluído em meio de cultura. A concentração máxima de DMSO que entra em contato com a célula é 0,5%, o que não afeta a viabilidades das células tumorais e não tumorais. O controle negativo é tratado com o veículo usado para diluir a substância (DMSO a 0,5%). As absorbâncias foram mensuradas nos comprimentos de onda de 570 nm (reduzido) e 595 nm (oxidado) utilizando uma leitora de placa (Ahmed *et al.*, 1994).

Para o cálculo da proliferação celular, primeiramente, calcula-se um fator de correção (R_0), o qual é dado pela absorbância do meio sozinho subtraída pela absorbância do meio mais o azul de Alamar Blue no comprimento de onda mais baixo (AO_{LW}), como também, para o comprimento de onda mais alto (AO_{HW})

$$R_0 = \frac{AO_{LW}}{AO_{HW}}$$

Posteriormente, é calculada a porcentagem de proliferação celular usando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ proliferação celular} = A_{LW} - (A_{HW} \times R_0) \times 100$$

Os termos A_{LW} e A_{HW} referem-se as absorbâncias do meio de cultura obtidas no menor e maior comprimento de onda, respectivamente (Costa et al., 2015).

A porcentagem de inibição foi calculada e registrada a porcentagem de inibição x log da concentração e determinado suas IC_{50} realizado a partir de regressão não-linear utilizando o programa Prisma versão 5.0 (GraphPad Software).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Identificação estrutural das substâncias isoladas das folhas de *A. neoinsignis*

O estudo fitoquímico das folhas de *A. neoinsignis* foi realizado empregando técnicas cromatográficas convencionais, como CC, CCDA e CCDP, possibilitando o isolamento e a caracterização de sete (7) substâncias conhecidas. A identificação das substâncias ocorreu por meio do uso de técnicas modernas de elucidação estrutural, tais como RMN de 1H e ^{13}C 1D/2D e EM, além da comparação dos dados adquiridos com os descritos na literatura. Dessa forma, as substâncias isoladas e identificadas são pertencentes a classes dos alcaloides do tipo isoquinolínicos, sendo eles os oxoaporfinos (**AN-1** e **AN-2**), aporfinos (**AN-3a**, **AN-3b** e **AN-5**) e, tetraidroprotoberberino (**AN-6**) (Figura 17), além de uma lactona terpênica (**AN-4**).

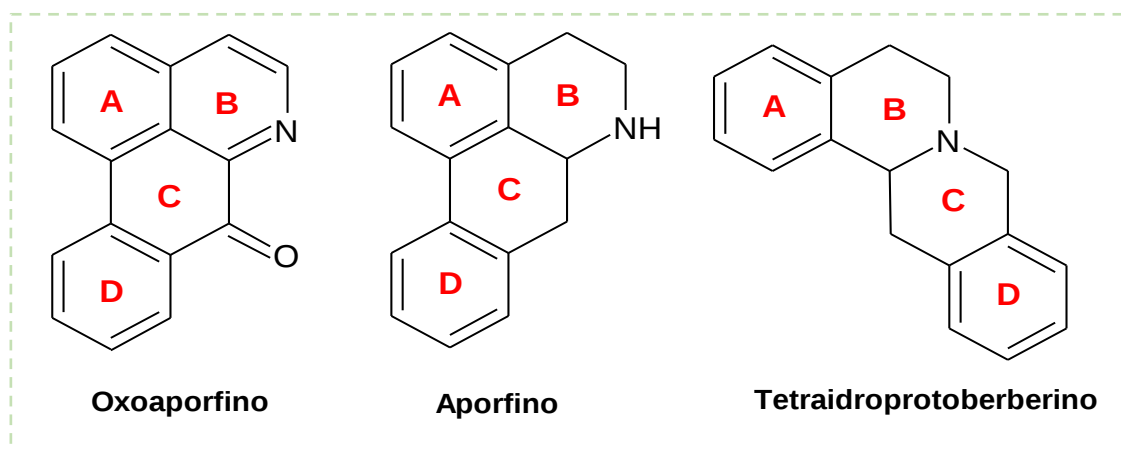


Figura 17. Esqueletos dos alcaloides identificados nas folhas de *A. neoinsignis*.
Fonte: Autora (2025).

As substâncias isoladas que apresentaram ser iguais, ou seja, receberam o mesmo código, foram reunidas. A Tabela abaixo apresenta as frações trabalhadas e as respectivas substâncias isoladas, bem como, a massa total para cada.

Tabela 9. Substâncias isoladas a partir do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica das folhas de *A. neoinsignis*.

Código	Substância Isolada	Massa (mg)
FAFAN-10.R	AN-1	1,5
FAFAN-11.R	AN-1	2,5
	AN-2	1,7
FAFAN-12.2	AN-1	3,3
	AN-2	4,0
	AN-3	12,9
FAFAN-12.3	AN-1	5,4
	AN-2	5,0
	AN-4	10,6
FAFAN-12.6	AN-1	2,6
	AN-2	1,4
	AN-3	1,4
FAFAN-14.3	AN-2	1,1
	AN-5	1,0
FAFAN-14.7	AN-1	2,0
	AN-2	1,4
FAFAN-14.8	AN-6	5,0
FAFAN-15	AN-1	5,7
	AN-2	3,5
	AN-5	5,5
	AN-1	23,0
	AN-2	18,1
	AN-3	14,3
	AN-4	10,6
	AN-5	6,5
	AN-6	5,0

5.1.1. Identificação estrutural dos alcaloides do tipo oxoaporfino

5.1.1.1. Identificação estrutural de **AN-1**

A substância **AN-1** foi isolada como um sólido amarelo amorfo e a análise por CCDA utilizando o reagente Dragendorff testou positivo para presença de nitrogênio na molécula (coloração alaranjada).

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (Figura 18) observou-se a presença de oito sinais indicativos de um alcaloide do tipo oxoaporfino dissustituído. Na região dos hidrogênios aromáticos, foi possível observar a presença de sete sinais, cada um integrando para um hidrogênio cada, incluindo um sinal em δ 6,36 (2H, s, OCH_2O) característico de grupo metilenodióxido substituído em C-1 e C-2 (Chen; Tsai; Chen, 1996; Ortiz; Suarez; Patiño, 2007).

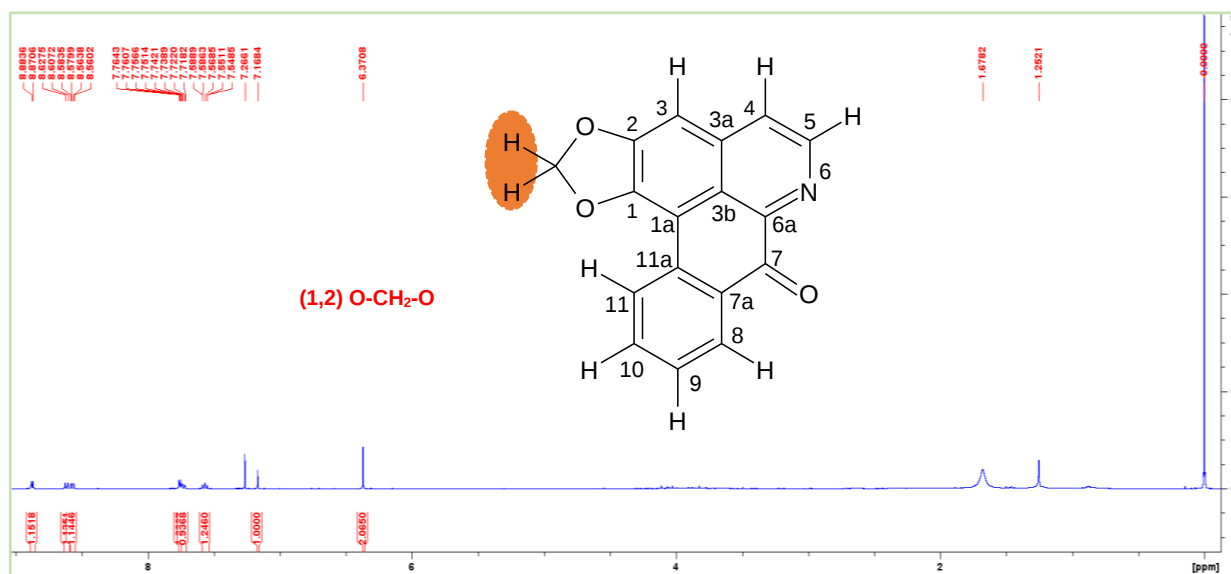


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **AN-1**.

Além do mais, quatro sinais apresentaram multiplicidades relativas a ausência de substituição no anel D, sendo eles em δ 8,61 (1H, *dd*, $J = 7,9$ e $1,4$ Hz), δ 7,73 (1H, *ddd*, $J = 8,1$, $7,4$ e $1,5$ Hz), δ 7,56 (1H, *ddd*, $J = 7,9$, $7,4$ e $1,0$ Hz) e δ 8,57 (1H, *dd*, $J = 7,9$ e $1,4$ Hz) atribuídos aos hidrogênios H-11, H-10, H-9 e H-8, respectivamente. O sinal em δ 7,16 (1H, *s*) foi atribuído a H-3, sendo este relativo ao anel A dissustituído, enquanto os dupletos ($J = 5,2$ Hz) em δ 8,87 e δ 7,75 foram atribuídos aos hidrogênios H-5 e H-4, respectivamente, os quais são indicativos da presença de um sistema piridínico no anel B do sistema oxoaporfino (Figura 19).

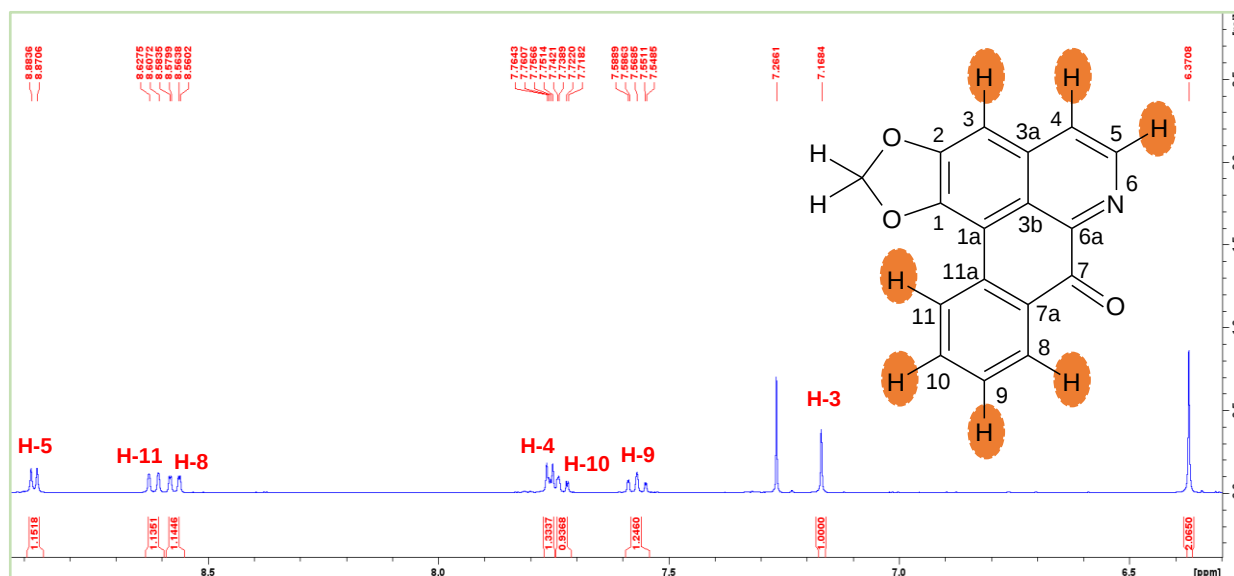


Figura 19. Ampliação da região aromática (δ 8,9-6,2 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de AN-1.

Os mapas de correlação HSQC (Figura 20) e HMBC (Figura 21), mostraram sinais entre δ 182,6 – 102,3 relativos a 17 carbonos, sendo 15 aromáticos (δ 151,9 – 103,1). O sinal em δ 182,6, característico de carbono carbonílico, foi atribuído ao C-7, corroborando a presença de um esqueleto oxoaporfino na estrutura. (Ortiz; Suarez; Patiño, 2007).

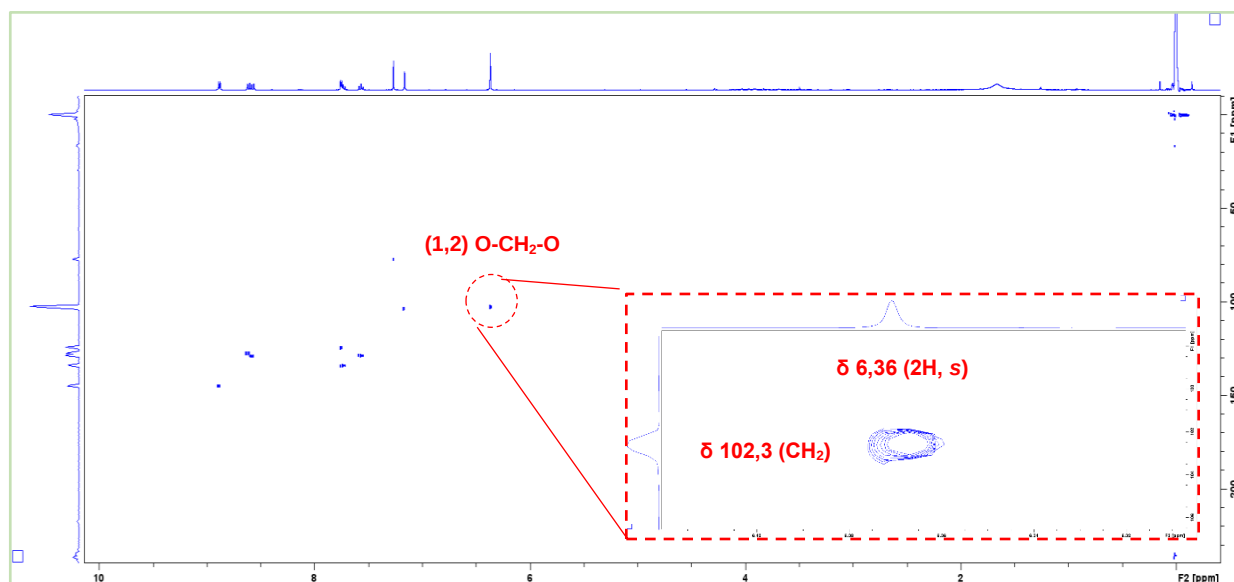


Figura 20. Mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de AN-1.

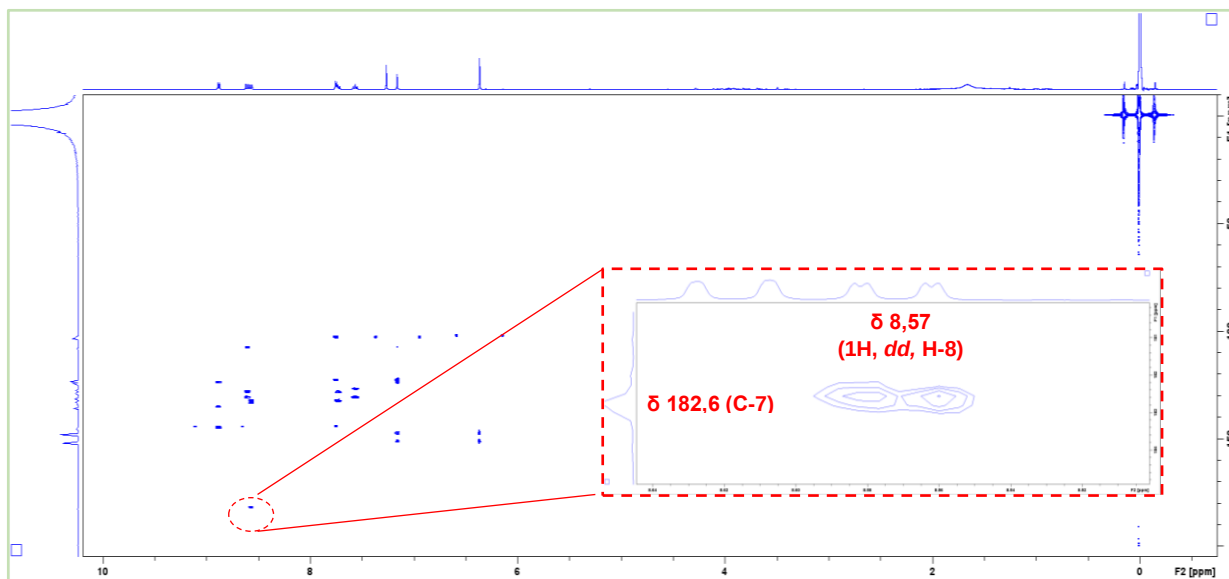


Figura 21. Mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-1**.

Pelo mapa de correlação HSQC, foi observado a correlação entre o simpleto em δ 6,36 com o sinal de carbono em δ 102,3, indicando uma substituição em C-1 e C-2, típico de grupo metilenodióxi dissustituído no anel A de um esqueleto isoquinolino. Pela análise do mapa de correlação HMBC, também foi possível verificar a correlação entre o sinal δ 6,36 a 3J com os sinais dos carbonos em δ 148,1 e δ 151,9. Ademais, o simpleto em δ 7,16 (H-3) apresentou correlação com os sinais de carbono em δ 148,1 (3J) e em δ 151,9 (2J), o qual permitiu a correta atribuição destes sinais aos carbonos C-1 e C-2, respectivamente (Figura 22), sustentando o pressuposto da presença do esqueleto oxoaporfino. A Figura 23 apresenta as de,,mais correlações observadas para a estrutura em questão.

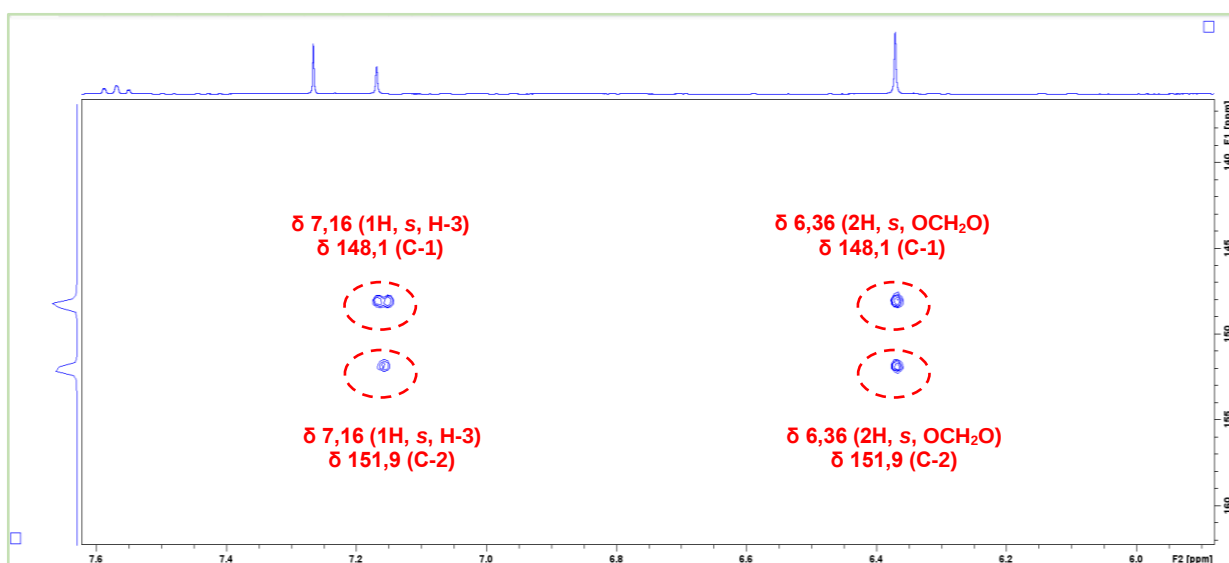


Figura 22. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-1**.

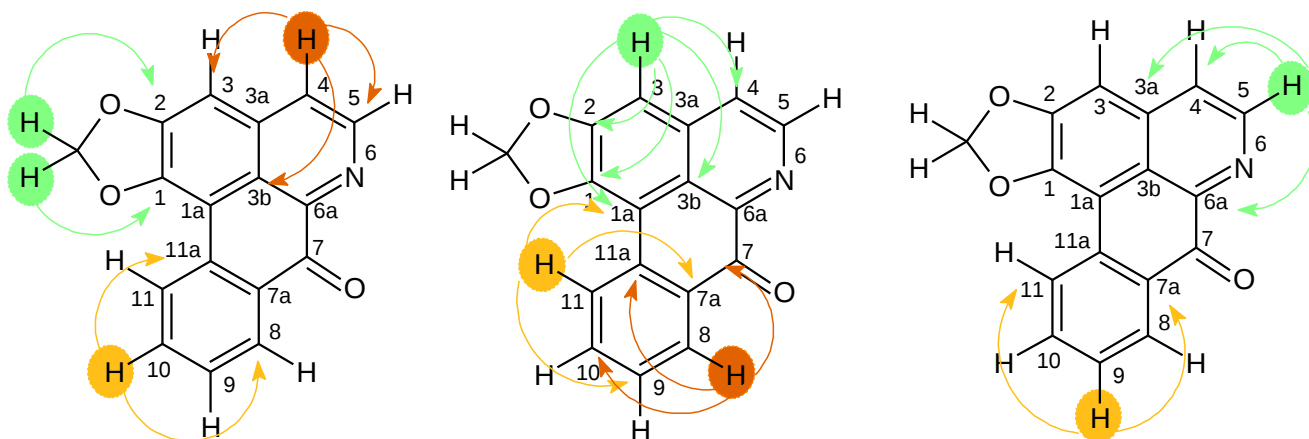


Figura 23. Demais correlações no mapa de correlação HMBC para **AN-1**.

A Tabela 10 apresenta os corretos valores de ^1H , ^{13}C e correlação ^1H - ^{13}C para **AN-1**, os quais foram atribuídos de acordo com dados obtidos pelo espectro de ^1H e mapas de correlação HSQC e HMBC, assim como os dados da literatura, indicando tratar-se do alcaloide oxoaporfino liriodenina.

Tabela 10. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **AN-1**.

Posição	AN-1			liriodenina	
	^1H δ (multi., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	HMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (multi., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^e
1	-	148,1 C	-	-	147,9 C
1a	-	108,1 C	-	-	107,9 C
2	-	151,9 C	-	-	151,6 C
3	7,16 (1H, s)	103,1 CH	108,1 (C-1a); 123,2 (C-3b); 124,2 (C-4); 148,1 (C-1); 151,9 (C-2)	7,16 (1H, s)	103,2 CH
3a	-	135,7 C	-	-	135,7 C
3b	-	123,2 C	-	-	123,1 C
4	7,75 (1H, <i>d</i> , 5,2)	124,2 CH	103,1 (C-3); 123,2 (C-3b); 135,7 (C-3a) e 144,8 (C-5)	7,75 (1H, <i>d</i> , 5,2)	124,3 CH
5	8,87 (1H, <i>d</i> , 5,2)	144,8 CH	123,2 (C-3b); 124,2 (C-4); 135,7 (C-3a) e 145,4 (C-6a)	8,87 (1H, <i>d</i> , 5,2)	144,7 CH
6a	-	145,4 C	-	-	145,3 C
7	-	182,6 CO	-	-	182,5 CO
7a	-	131,3 C	-	-	131,2 C
8	8,57 (1H, <i>ddd</i> , 7,9 e 1,4)	128,9 CH	133,0 (C-11a); 133,7 (C-10) e 182,6 (C-7)	8,57 (1H, <i>ddd</i> , 7,9, 1,4 e 0,5)	128,8 CH
9	7,56 (1H, <i>ddd</i> , 7,9, 7,4 e 1,0)	128,6 CH	127,2 (C-11); 128,9 (C-8); e 131,3 (C-7a)	7,56 (1H, <i>ddd</i> , 7,9, 7,4 e 1,0)	128,5 CH
10	7,73 (1H, <i>ddd</i> , 8,1, 7,4 e 1,5)	133,7 CH	127,2 (C-11); 128,6 (C-9); 128,9 (C-8) e 133,0 (C-11a)	7,73 (1H, <i>ddd</i> , 8,1, 7,4 e 1,4)	133,8 CH
11	8,61 (1H, <i>ddd</i> , 8,1, 1,0 e 0,5)	127,2 CH	108,1 (C-1a); 128,6 (C-9) e 131,3 (C-7a)	8,61 (1H, <i>ddd</i> , 8,1, 1,0 e 0,5)	127,3 CH
11a	-	133,0 C	-	-	132,8 C
(1,2)-OCH₂O	6,36 (2H, s)	102,3 CH ₂	148,1 (C-1) e 151,9 (C-2)	6,37 (2H, s)	102,4 CH ₂

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno; ^bMultiplicidades determinadas pelos espectros de HSQC e HMBC; ^cÁtomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios; ^dCosta et al., 2011 (^1H : 400 MHz, CDCl_3); ^eCosta, 2009 (^{13}C : 100 MHz; CDCl_3); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas (Figura 24), obtida através de ionização por *eletrospray* em modo positivo de aquisição de dados (ESI+), indicou tratar-se de uma molécula protonada $[M+H]^+$ de íon molecular m/z 276 Da, compatível com a fórmula molecular $C_{17}H_9NO_3$.

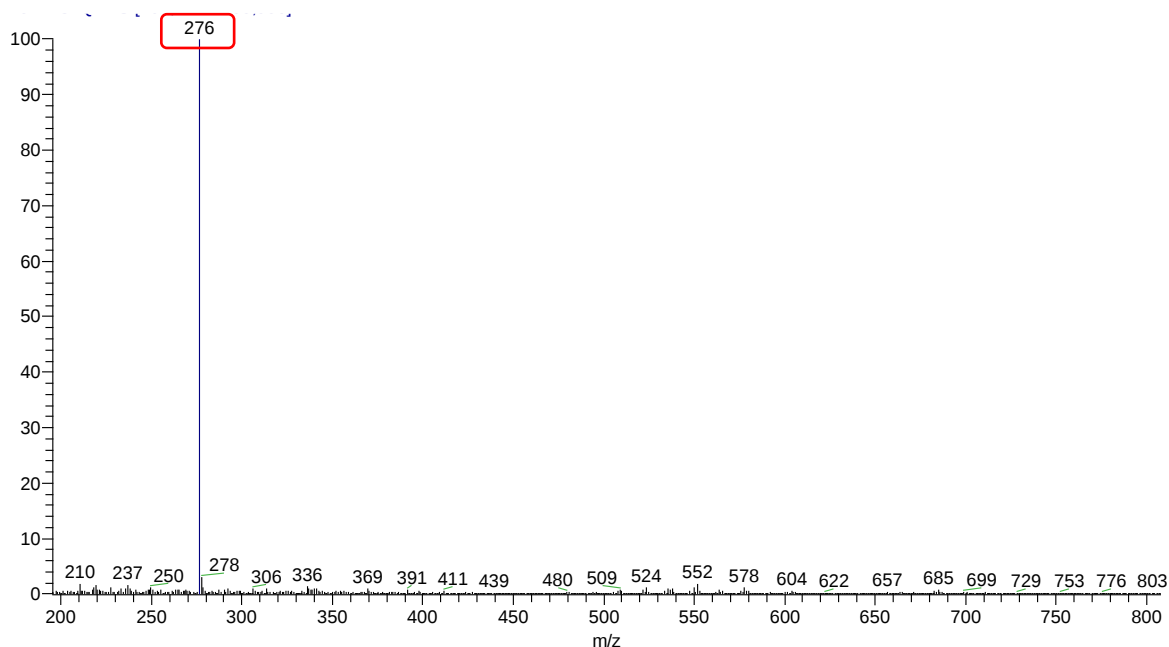


Figura 24. Espectro MS (ESI+) da AN-1.

A fragmentação deste íon resultou em uma perda inicial de -28 Da (-CO), o qual é indicativo de uma quebra na carbonila do sistema oxoaporfino e perdas consecutivas de -30 Da e -28 Da permitidas pela deslocalização dos elétrons da ligação π entre os anéis A e B, em razão da ruptura da ponte de dióxido de metileno (Da Silva et al., 2017) (Figura 25), possibilitando uma proposta de fragmentação para a molécula (Figura 26). Estes dados estão coerentes com a proposta para o alcaloide oxoaporfino descrito a partir das análises de RMN.

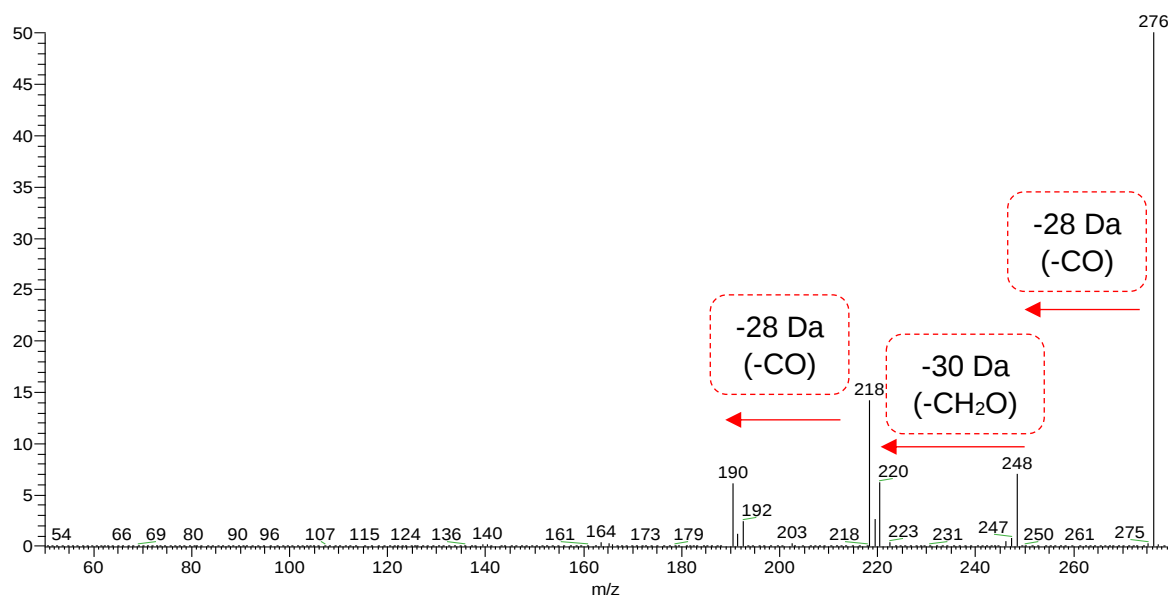


Figura 25. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-1.

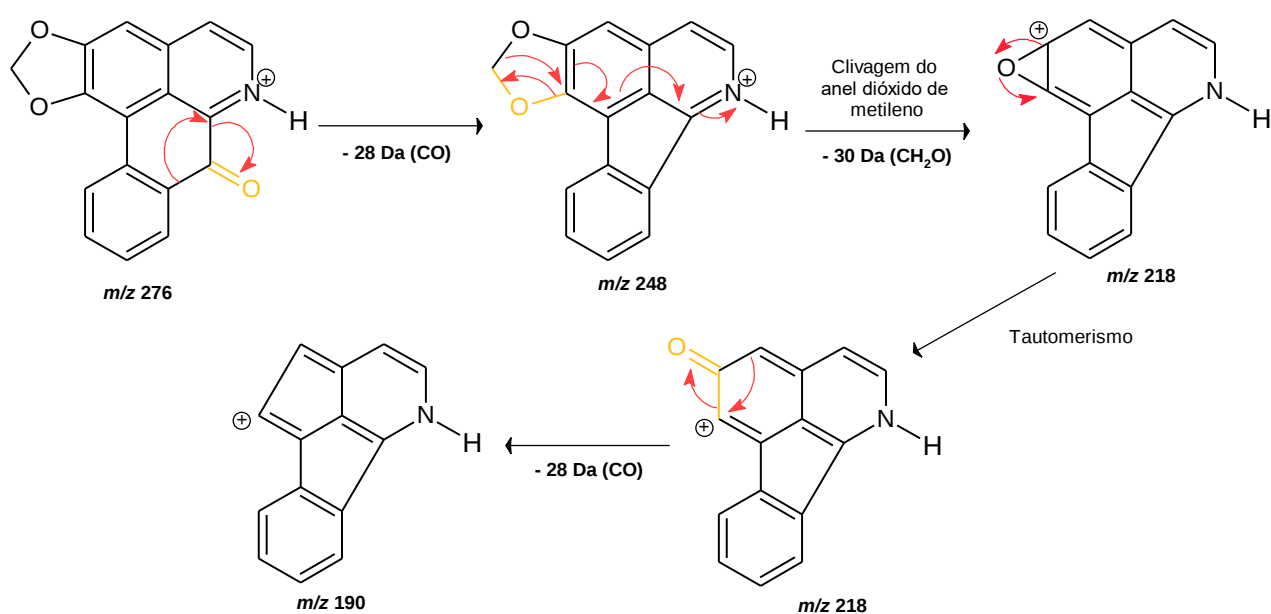


Figura 26. Proposta de fragmentação para o alcaloide oxoaporfino liriodenina adaptada de Carnevale Neto et al., 2020.

Assim, após a dedução da fórmula molecular pelo espectro de massas sendo $C_{17}H_9NO_3$ e as fragmentações indicarem a presença de um alcaloide oxoaporfino, também tendo como base os dados espectrais obtidos e os dados descritos na literatura (Tabela 10) (Da Silva et al., 2017; Chen; Tsai; Chen, 1996; Ortiz; Suarez; Patiño, 2007; Costa et al., 2011 e Costa, 2009), foi possível confirmar a substância de código **AN-1** como sendo a liriodenina (Figura 27).

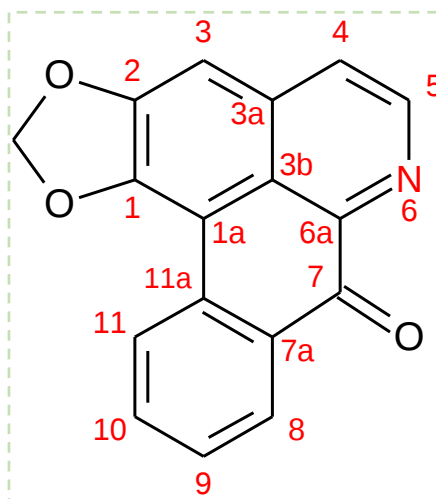


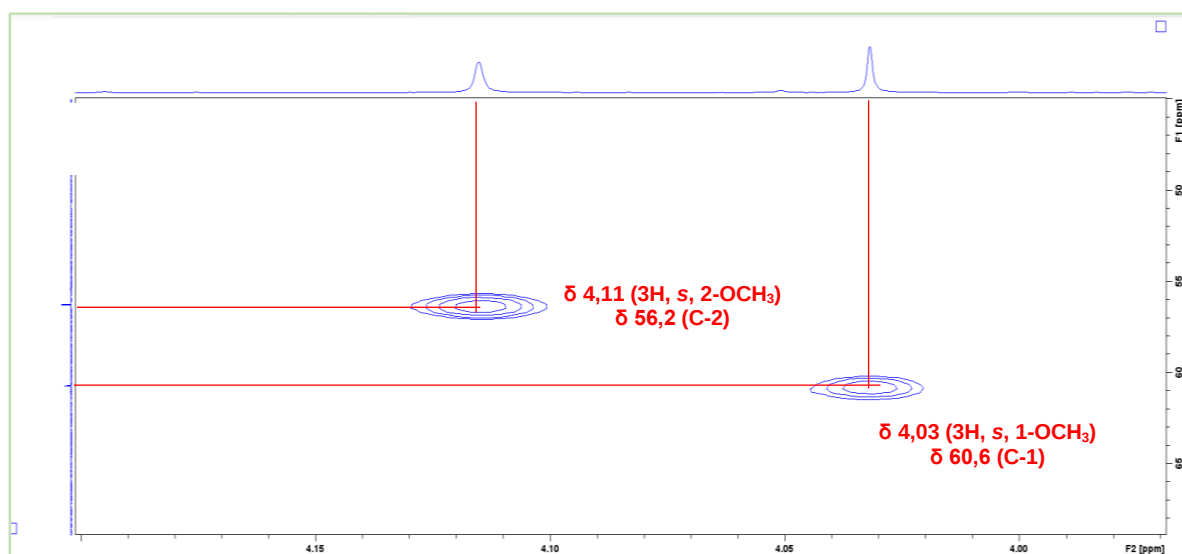
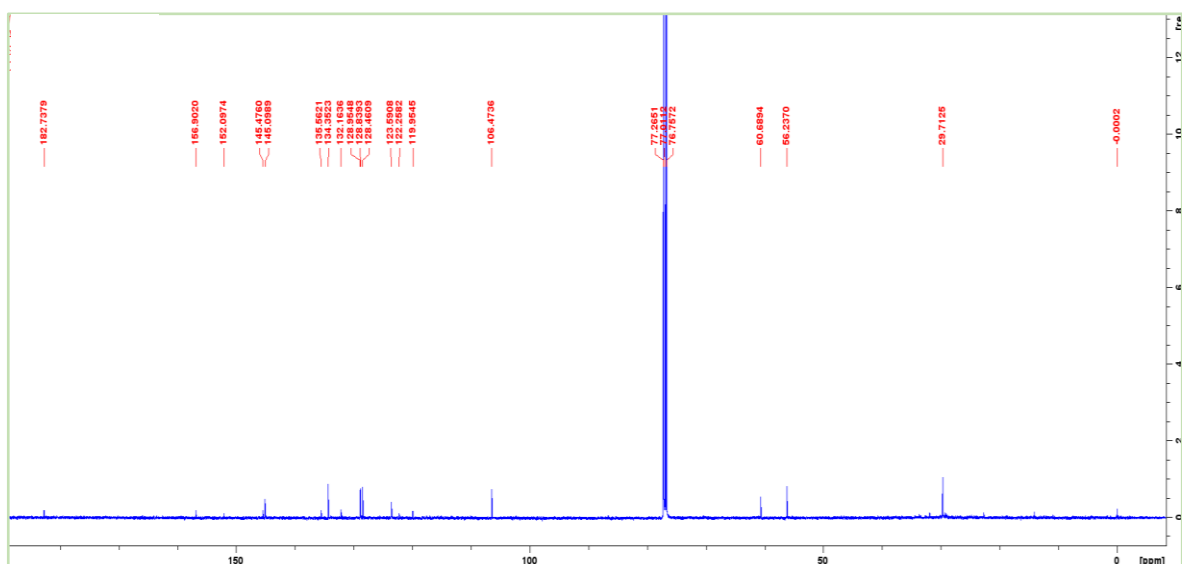
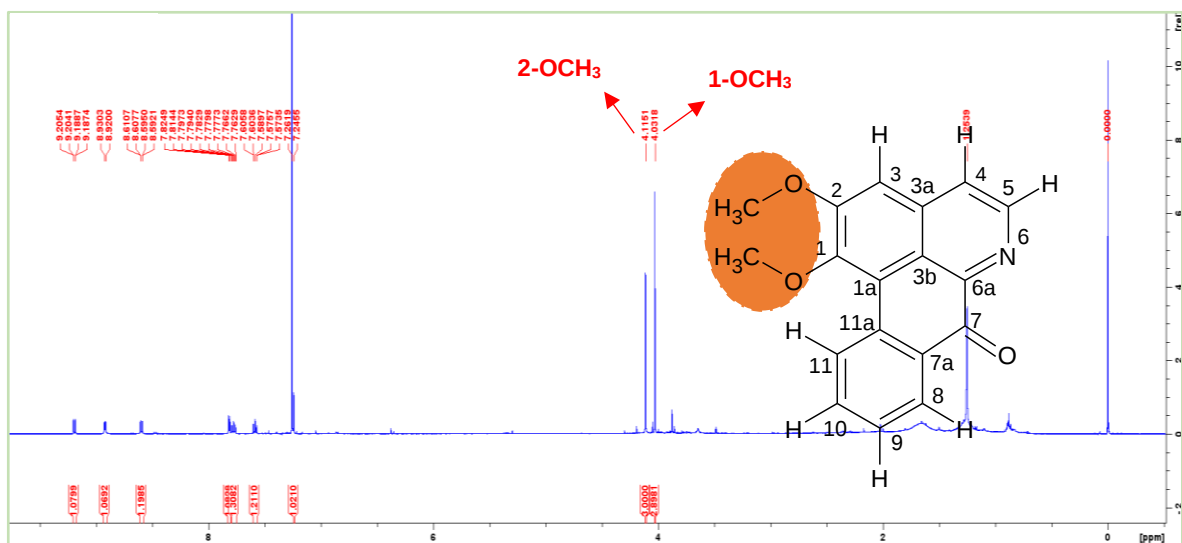
Figura 27. Estrutura do alcaloide liriodenina.

5.1.1.2. Identificação estrutural de **AN-2**

A substância **AN-2** foi isolada como um sólido amarelo em forma de agulhas e pela análise por CCDA utilizando o reagente Dragendorff também revelou uma coloração laranja, confirmando a presença de nitrogênio na molécula.

Os espectros de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 28), RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) (Figura 29) e os mapas de correlação HSQC (Apêndice 1) e HMBC (Apêndice 2) apresentaram sinais muito semelhantes aos dados espectrais obtidos para a **AN-1** (liriodenina), diferenciando-se pela ausência de sinal de grupo metilenodióxi e, conseqüentemente, o aparecimento de dois simpletos, um em δ 4,03 e outro em δ 4,11 (3H, s, OCH_3), assim como, dois sinais de carbono em δ 56,2 e outro em 60,6, característicos de grupos metoxila (Taha, 2016).

Pela análise do mapa de correlação HSQC, foi observado a correlação entre o simpleto em δ 4,03 com o sinal de carbono em δ 60,6 e o simpleto em δ 4,11 com o sinal de carbono em δ 56,2, enquanto que, pelo mapa HMBC não foi possível identificar demais correlações com estes sinais, os quais corroboram na afirmação de dupla substituição de grupos metoxila no anel A de um esqueleto isoquinolino. Dessa maneira, estes sinais foram atribuídos aos carbonos C-1 e C-2, respectivamente (Figura 30), sustentando o pressuposto da presença do esqueleto oxoaporfino. As correlações observadas pelo mapa HMBC foram as mesmas daquelas descritas para **AN-1** (liriodenina) (Figura 23).



A Tabela 11 apresenta os corretos valores de ^1H , ^{13}C e correlação ^1H - ^{13}C para **AN-2**, os quais foram atribuídos de acordo com dados obtidos pelo espectro de ^1H , ^{13}C e os mapas de correlação HSQC e HMBC, assim como os dados da literatura, indicando tratar-se do alcaloide oxoaporfino lisicamina.

Tabela 11. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **AN-2**.

Posição	AN-2			lisicamina	
	^1H δ (multi., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	HMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (multi., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^d
1	-	152,0 C	-	-	152,1 C
1a	-	119,9 C	-	-	119,8 C
2	-	156,9 C	-	-	156,9 C
3	7,24 (1H, s)	106,4 CH	119,9 (C-1a); 122,2 (C-3b); 123,5 (C-4); 152,0 (C-1) e 156,9 (C-2)	7,23 (1H, s)	106,5 CH
3a	-	135,5 C	-	-	135,6 C
3b	-	122,2 C	-	-	122,2 C
4	7,81 (1H, d, 5,2)	123,5 CH	106,4 (C-3); 122,2 (C-3b); 135,5 (C-3a) e 145,1 (C-5)	7,81 (1H, d, 5,2)	123,6 CH
5	8,92 (1H, d, 5,2)	145,1 CH	122,2 (C-3b); 123,5 (C-4); 135,5 (C-3a) e 145,4 (C-6a)	8,91 (1H, d, 5,2)	145,0 CH
6a	-	145,4 C	-	-	145,4 C
7	-	182,7 CO	-	-	182,7 CO
7a	-	132,1 C	-	-	132,1 C
8	8,60 (1H, dd, 7,8 e 1,5)	128,9 CH	134,3 (C-11a e C-10) e 182,7 (C-7)	8,58 (1H, ddd, 7,9, 1,6 e 0,5)	128,9 CH
9	7,58 (1H, ddd, 7,8, 7,0 e 1,0)	128,8 CH	128,4 (C-11); 128,9 (C-8); 132,1 (C-7a) e 134,3 (C-10)	7,58 (1H, ddd, 7,9, 7,2 e 1,1)	128,8 CH
10	7,78 (1H, dtd, 8,3, 7,0 e 1,5)	134,3 CH	128,4 (C-11); 128,8 (C-9); 128,9 (C-8) e 134,3 (C-11a)	7,77 (1H, ddd, 8,4, 7,2 e 1,6)	134,3 CH
11	9,19 (1H, ddd, 8,3, 1,0 e 0,6)	128,4 CH	119,0 (C-1a); 128,8 (C-9) e 132,1 (C-7a)	9,18 (1H, ddd, 8,4, 1,1 e 0,5)	128,5 CH
11a	-	134,3 C	-	-	134,3 C
1-OCH₃	4,03 (3H, s)	60,6 CH ₃	152,0 (C-1)	4,02 (3H, s)	60,7 CH ₃
2-OCH₃	4,11 (3H, s)	56,2 CH ₃	156,9 (C-2)	4,10 (3H, s)	56,2 CH ₃

^aExperimento realizado a 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno; ^bMultiplicidades determinadas pelos espectros de HSQC e HMBC; ^cÁtomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios; ^dDe Oliveira Teles et al., 2015 (^1H : 600 MHz; ^{13}C : 150 MHz; CDCl_3); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas (Figura 31), obtida através de ionização por *eletrospray* em modo positivo de aquisição de dados (ESI+), indicou tratar-se de uma molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ de íon molecular m/z 292 Da, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{NO}_3$. A fragmentação deste íon resultou em uma perda inicial perda de 15 Da, correspondendo a uma perda radicalar de $\cdot\text{CH}_3$, seguido de

uma perda de 28 Da (-CO) (Da Silva et al., 2017) (Figura 32), possibilitando uma proposta de fragmentação para a molécula (Figura 33). Estes dados estão coerentes com a proposta para o alcaloide oxoaporfino descrito a partir das análises de RMN.

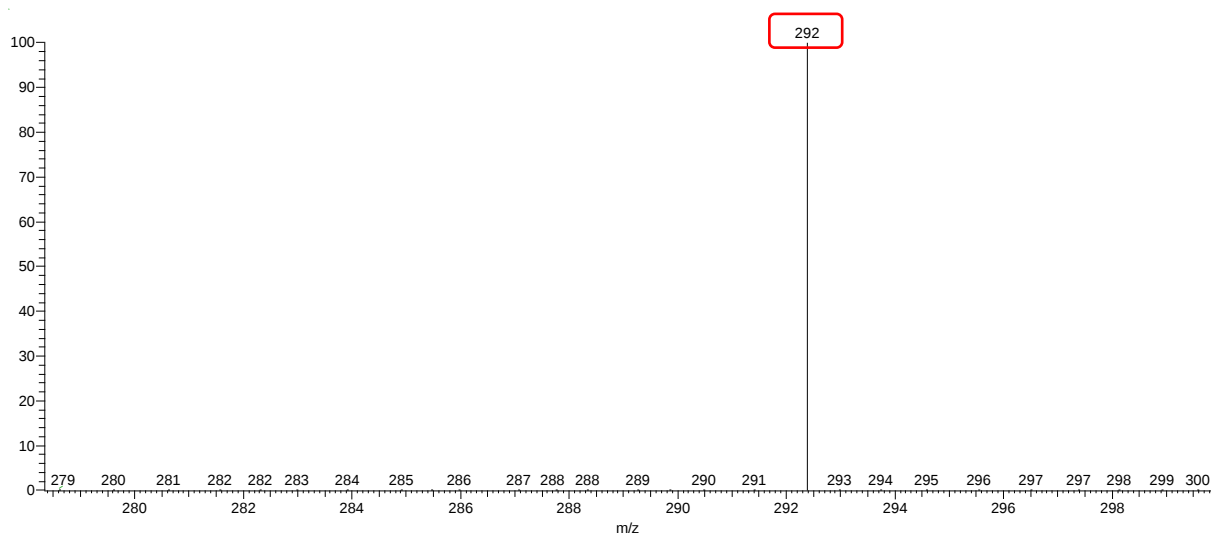


Figura 31. Espectro MS (ESI+) da AN-2.

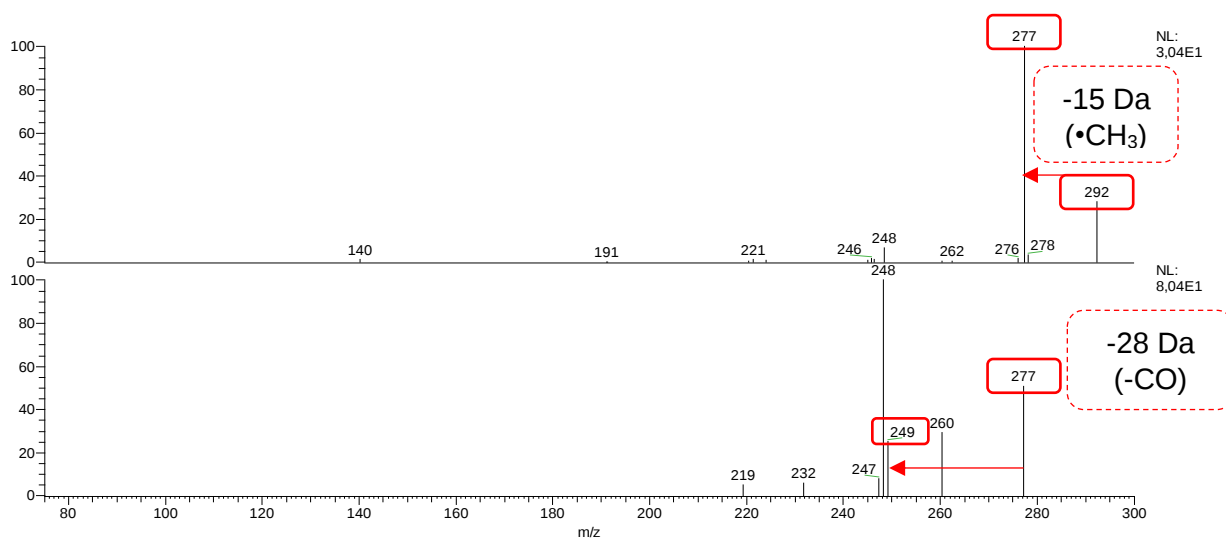


Figura 32. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-2.

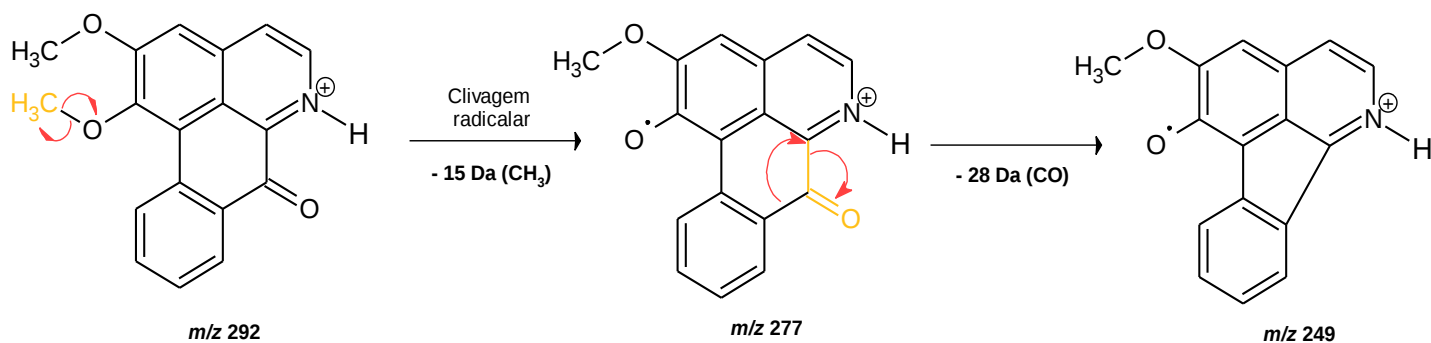


Figura 33. Proposta de fragmentação para o alcaloide oxoaporfino lisicamina adaptada de Carnevale Neto et al., 2020.

Assim, após a dedução da fórmula molecular pelo espectro de massas sendo $C_{18}H_{13}NO_3$ e as fragmentações indicarem a presença de um alcaloide oxoaporfino, também tendo como base os dados espectrais obtidos e os dados descritos na literatura (Tabela 11) (Da Silva et al., 2017; Carnevale Neto et al., 2020; De Oliveira Teles et al., 2015; Taha, 2016), foi possível confirmar a substância de código **AN-2** como sendo a lisicamina (Figura 34).

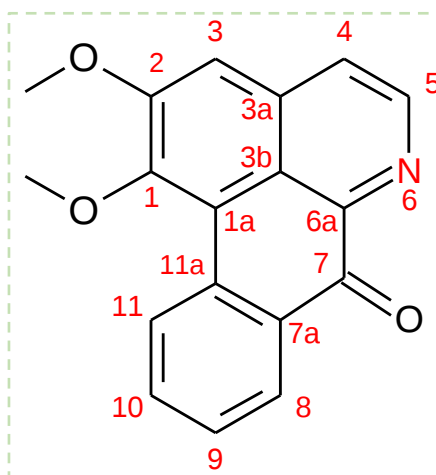


Figura 34. Estrutura do alcaloide lisicamina.

5.1.2. Identificação estrutural dos alcaloides do tipo aporfino

5.1.2.1. Identificação estrutural de **AN-3**

A substância **AN-3** foi isolada como um sólido marrom amorfo e a análise por CCDA utilizando o reagente Dragendorff testou positivo para presença de nitrogênio na molécula (coloração alaranjada).

A análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (Apêndice 3) de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) (Apêndice 4) e os mapas de correlação HSQC (Apêndice 5) e HMBC (Apêndice 6) indicaram sinais referentes a mistura de dois alcaloides, os quais foram codificados como **AN-3a** e **AN-3b**, os quais serão discutidos de forma independente.

A análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (Figura 35) para **AN-3a**, mostrou sinais de quatro sinais de hidrogênios ligados a anel benzênico, cada um integrando para um hidrogênio, sendo eles em δ 8,39 (1H, *dl*, $J = 7,8$ Hz), δ 7,31 (1H, *m*) e δ 7,25 (2H, *m*) típicos de hidrogênios aromáticos H-11, H-10 e H-9/H-8, os quais estão correlacionados no HSQC com os sinais de carbonos em δ 128,4, δ 127,2 e δ 127,9 (Figura 37), respectivamente, sendo assim, atribuídos a C-11, C-10, C-8 e C-9, os quais são indicativos do anel D do esqueleto aporfínico não substituído. Ademais, o simpleto em δ 6,65 (1H, *s*) ligado ao carbono em δ 111,7, apresentou deslocamento típico do anel A do sistema aporfínico dissustituído, sendo estes sinais atribuídos ao H-3 e C-3, respectivamente (Figuras 35 e 37).

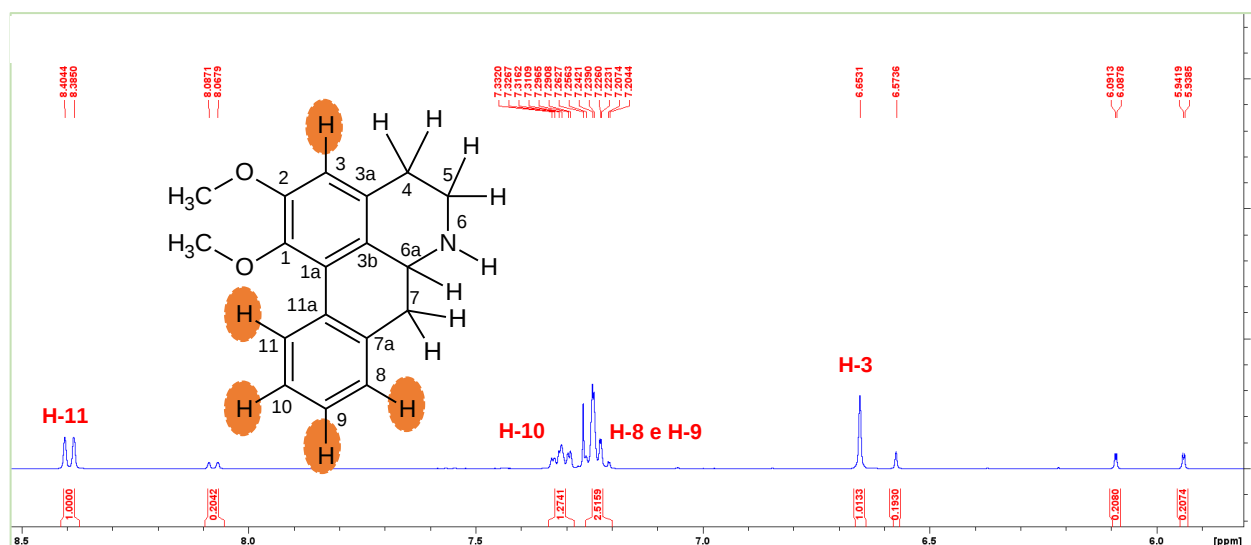


Figura 35. Ampliação da região aromática (δ 8,5-5,8 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **AN-3a**.

Também, foi possível observar sinais de hidrogênios diasterotópicos para três grupos metilênicos em δ 3,13 (1H, m)/ δ 2,74 (1H, m), δ 3,47 (1H, m)/ δ 3,08 (1H, m) e δ 2,94 (1H, m)/ δ 2,83 (1H, m) (Figura 36), típicos de hidrogênios H-4pax/ H-4peq, H-5peq/H-5pax e H-7peq/H-7pax, os quais encontram-se correlacionados a 1J com os sinais dos carbonos em δ 28,5 (C-4), δ 42,8 (C-5) e δ 36,9 (C-7) (Figura 38). Ademais, foi constatado um sinal de hidrogênio metínico em δ 4,02 (1H, m) relativo a posição H-6a correlacionando a 1J com o carbono em δ 53,5 (C-6a) (Blanchfield et al., 2003) (Figuras 36 e 38). Além do mais, foi possível verificar dois simpletos em δ 3,67 e δ 3,89, ambos integrando para três hidrogênios, e correlacionando a 1J com os carbonos em δ 60,3 e δ 55,9 (Figuras 36 e 38), típicos de grupos metoxílicos substituídos em C-1 e C-2, respectivamente (Guinaudeau et al., 1975, 1979, 1983, 1988 e 1994), indicando tratar-se de um alcaloide do tipo aporfino *sensu stricto* dissustituído.

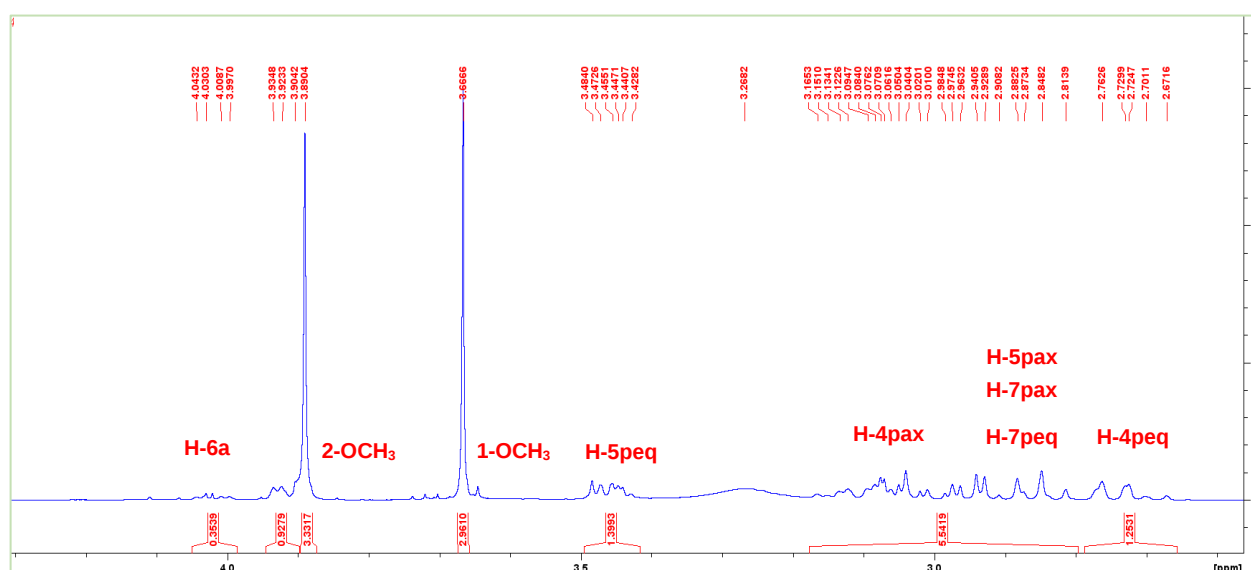


Figura 36. Ampliação da região não aromática (δ 4,3-2,5 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de AN-3a.

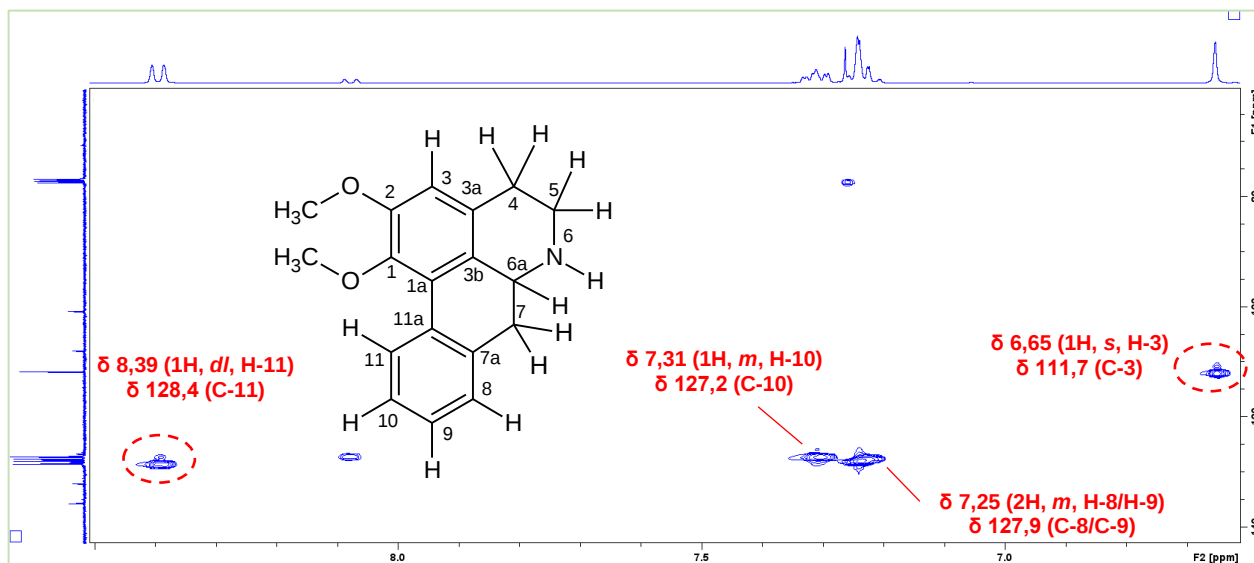


Figura 37. Ampliação na região aromática do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3a**.

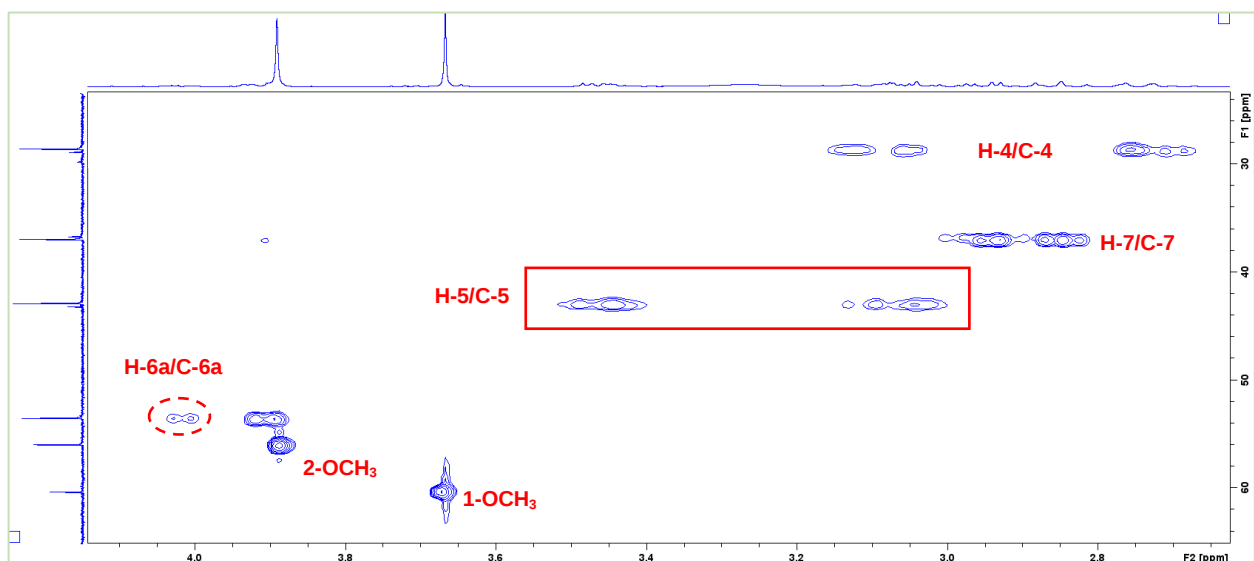


Figura 38. Ampliação na região não aromática do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3a**.

O mapa de correlação HMBC (Figura 39) permitiu a correta atribuição das posições dos grupos metoxílicos no anel A do esqueleto aporfino. Assim, foi observado forte correlação a 3J do sinal em δ 6,65 (H-3) com o sinal de carbono em δ 145,4 (C-1), como também, correlação a 2J com o sinal do carbono em δ 152,4 (C-2), confirmando a posição dos grupos metoxílicos nas posições C-1 e C-2. Este mesmo sinal (δ 6,65), apresentou correlação a 3J com o sinal do carbono metilênico em δ 28,5 (C-4), confirmando assim a conectividade do anel A (Tabela 12). A Figura 45 apresenta as demais correlações observadas.

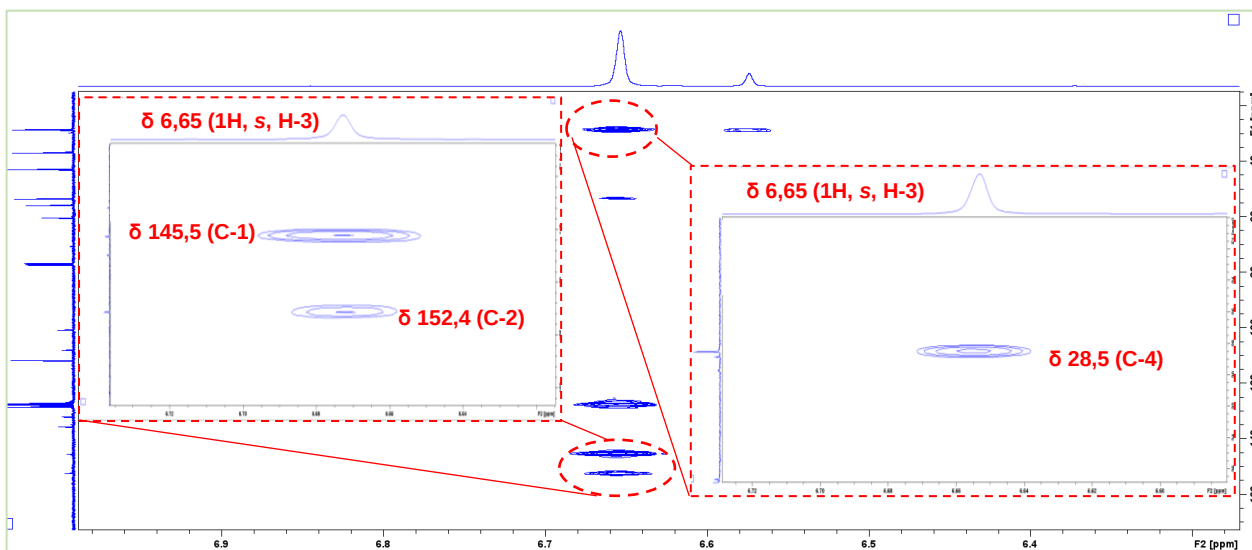


Figura 39. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3a**.

Em relação a **AN-3b**, a análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (Apêndice 3), de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) (Apêndice 4) e os mapas de correlação HSQC (Apêndice 5) e HMBC (Apêndice 6), também apresentaram sinais indicativos de um alcaloide do tipo aporfino *sensu stricto*. Nesse sentido, os dados espectrais obtidos para **AN-3b**, apresentaram sinais muito semelhantes aos dados espectrais obtidos para a **AN-3a**, diferenciando-se pela presença de dois dupletos em δ 6,09 (1H, $J = 1,4$ Hz) e δ 5,94 (1H, $J = 1,4$ Hz), correlacionados a 1J ao sinal de carbono em δ 100,7 (Figuras 40 e 42), típicos de grupo metilenodióxi substituído em C-1 e C-2 e, conseqüentemente, ausência de sinais referentes aos grupos metoxílicos observados para **AN-3a**.

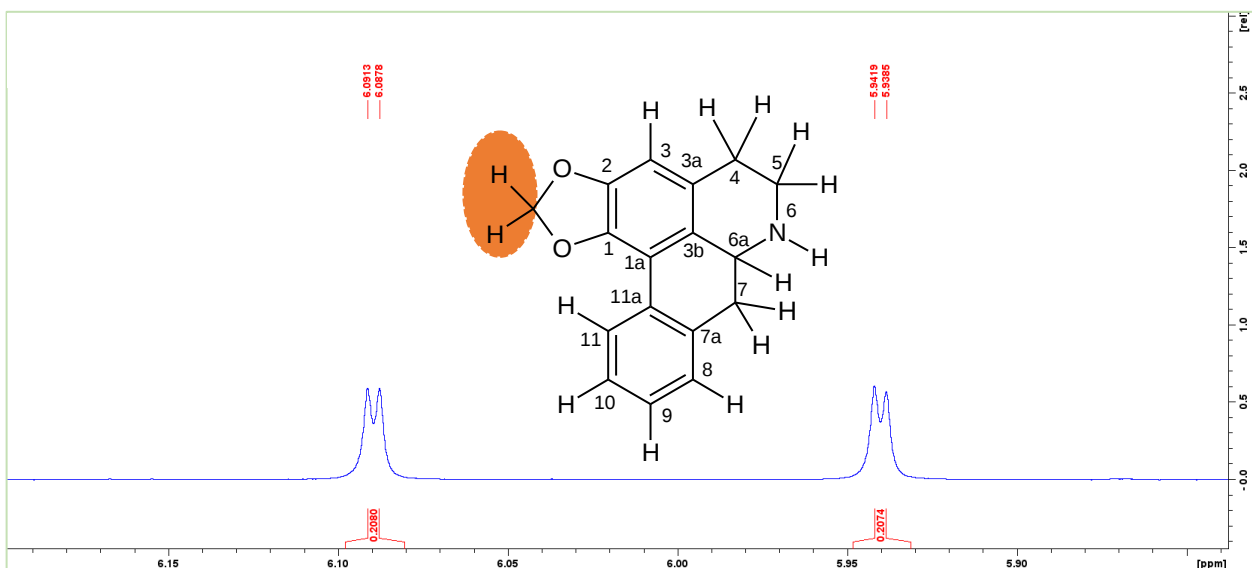


Figura 40. Ampliação (δ 6,2-5,8 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **AN-3b**.

A correta atribuição dos hidrogênios aromáticos H-11 e H-3 de ambos os compostos (**AN-3a** e **AN-3b**), foi possível devido aos diferentes deslocamentos químicos observados, fator fundamental para a distinção de ambos os compostos. Dessa forma, para **AN-3b**, os sinais em δ 8,08 (1H, *d*, $J = 7,7$ Hz) e δ 6,57 (1H, *s*) foram atribuídos a H-11 e H-3, sendo estes sinais correlacionados a 1J com os sinais de carbonos em δ 127,2 e δ 107,9 (Figuras 41 e 43), respectivamente, enquanto que, os sinais de H-11 e H-3 para **AN-3a** foram observados em δ 8,39 e δ 6,65, como discutido anteriormente. Ainda, os sinais atribuídos ao H-3/C-3 são indicativos de uma substituição em C-1 e C-2, típico de grupo metilenodióxi dissustituído no anel A de um esqueleto isoquinolino. Os demais sinais apresentaram deslocamentos químicos muito próximos, além de sobreposições, os quais foram diferenciados a partir dos mapas de correlação HSQC e HMBC.

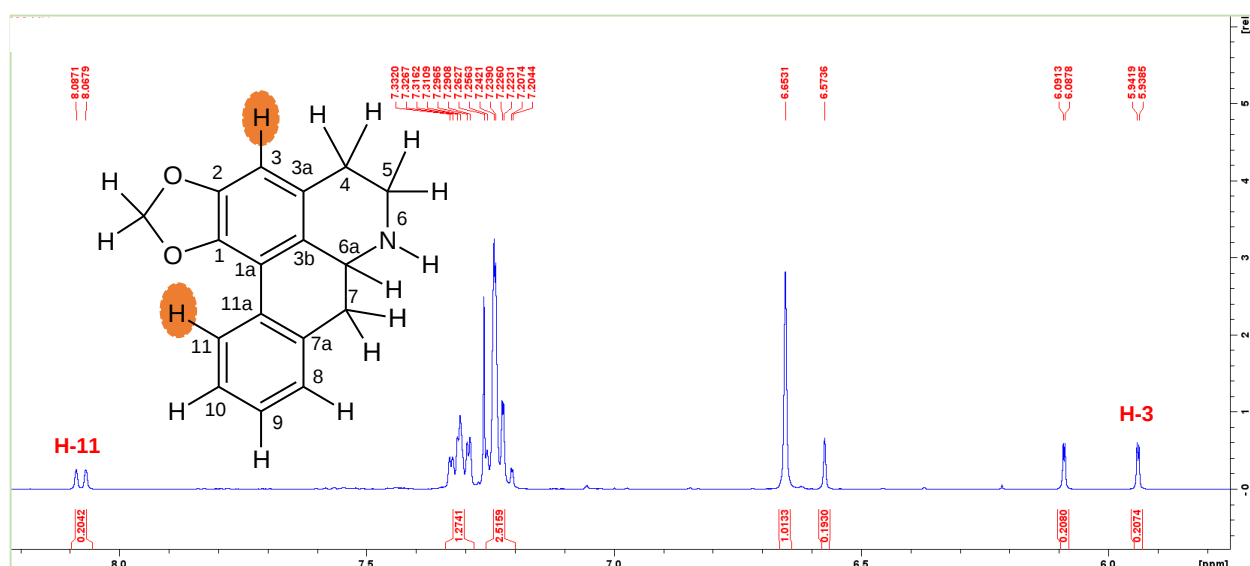


Figura 41. Ampliação (δ 8,2-5,7 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **AN-3b**.

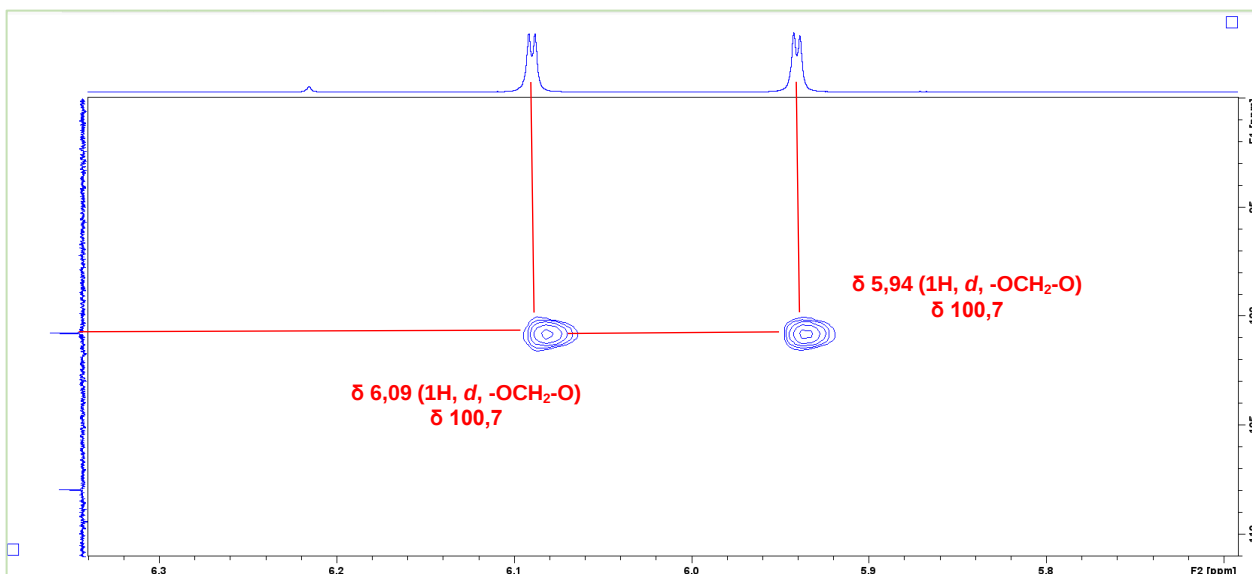


Figura 42. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3b**.

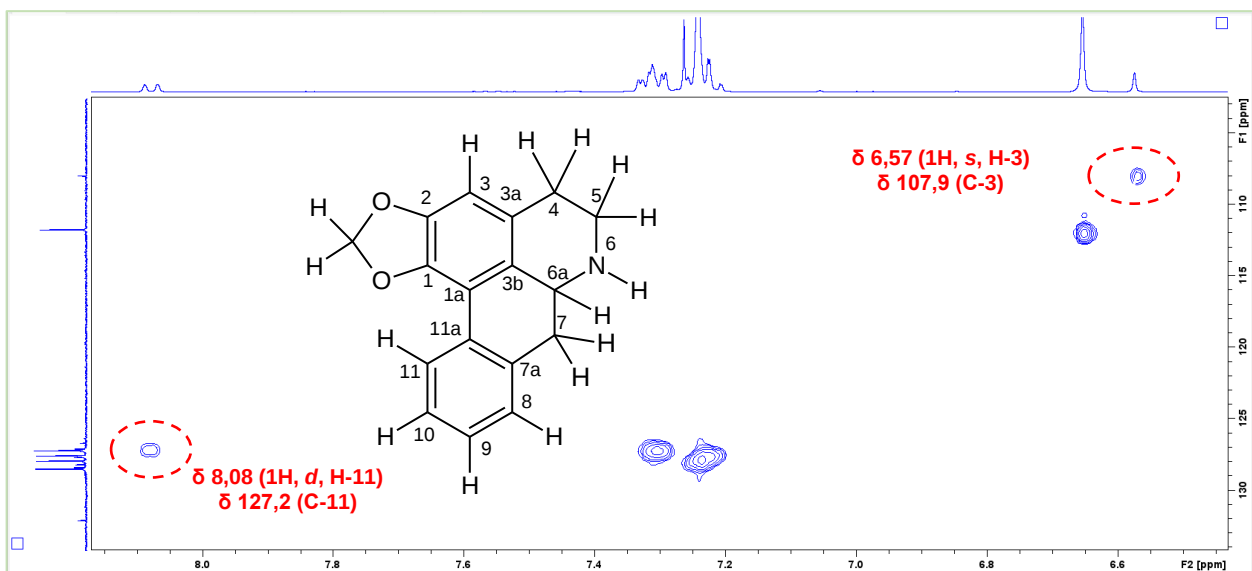


Figura 43. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3b**.

Ainda, o mapa de correlação HMBC (Apêndice 6) permitiu a correta atribuição das substituições no anel A do esqueleto aporfino. Para **AN-3b**, o sinal em δ 6,57 (H-3) apresentou forte correlação com os sinais de carbonos oxigenados em δ 142,6 (3J) e δ 146,9 (2J), confirmando o grupo metilenodióxi substituído em C-1 e C-2 de **AN-3b** (Figura 44), enquanto que para **AN-3a**, observou-se que o sinal em δ 6,65 apresentava correlação com o sinal dos carbonos oxigenados em 145,4 (3J) e 152,4 (2J) (Figura 39). Também, este mesmo sinal (δ 6,57), apresentou correlação a 3J com os sinais de carbono em δ 28,8 (C-4) e em δ 127,2 (C-3b), confirmando assim a conectividade do anel A (Tabela 13). A Figura 45 apresenta as demais correlações observadas.

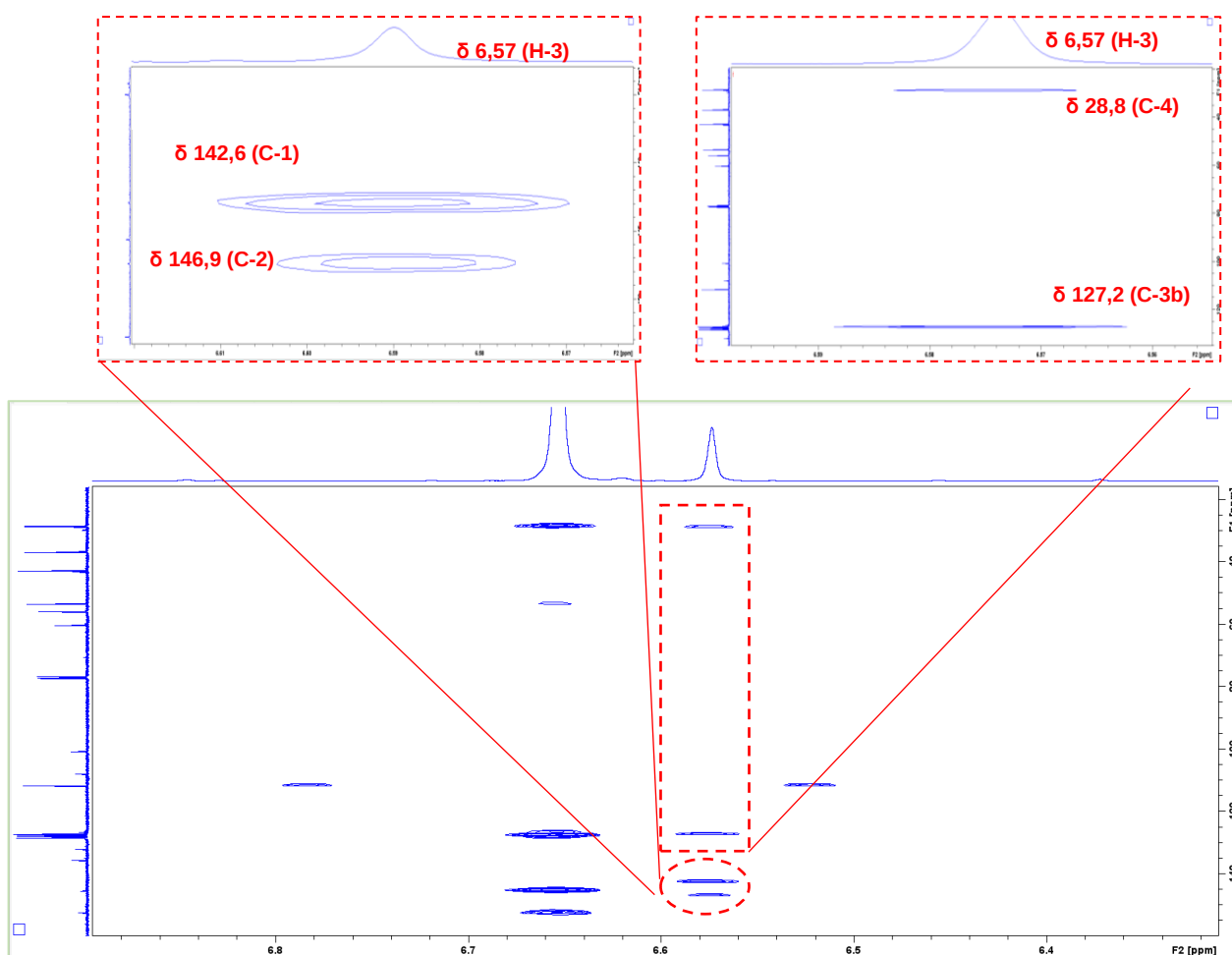
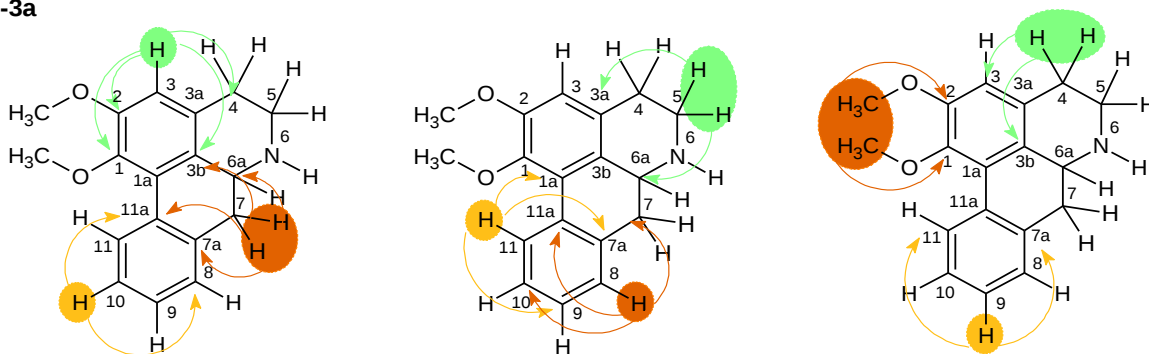


Figura 44. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3b**.

AN-3a



AN-3b

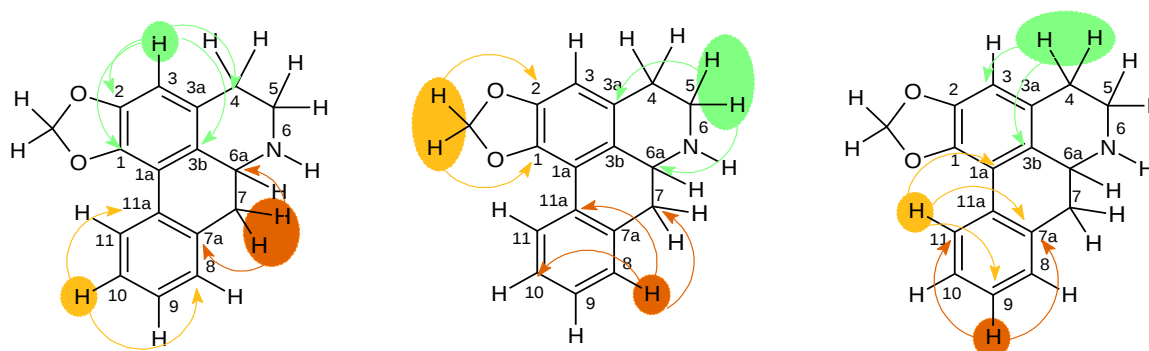


Figura 45. Demais correlações no mapa de correlação HMBC para **AN-3a** e **AN-3b**.

As Tabelas 11 e 12 apresentam os corretos valores de ^1H , ^{13}C e correlação ^1H - ^{13}C para **AN-3a** e **AN-3b** os quais foram atribuídos de acordo com dados obtidos pelo espectro de ^1H e mapas de correlação HSQC e HMBC, assim como os dados da literatura, indicando tratar-se de uma mistura de alcaloides aporfínicos *sensu stricto* nornuciferina e anonaina, respectivamente. Estas substâncias são frequentemente relatadas em espécies da família Annonaceae, podendo ser consideradas marcadores quimiofenéticos.

Tabela 12. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **AN-3a**.

Posição	AN-3a			nornuciferina	
	^1H δ (multi., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	HMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (multi., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^d
1	-	145,4 C	-	-	145,3 C
1a	-	126,6 C	-	-	126,5 C
2	-	152,4 C	-	-	152,4 C
3	6,65 (1H, s)	111,7 CH	28,5 (C-4), 127,5 (C-3b), 145,4 (C-1) e 152,8 (C-2)	6,65 (1H, s)	111,9 CH
3a	-	128,4 C	-	-	127,8 C
3b	-	127,5 C	-	-	126,8 C
4 peq	2,74 (1H, m)	28,5 CH ₂	111,7 (C-3) e 128,4 (C-3b)	2,75 (1H, m)	28,1 CH ₂
4 pax	3,13 (1H, m)			3,10 (1H, m)	
5 peq	3,47 (1H, m)	42,8 CH ₂	53,5 (C-6a) e 128,4 (C-3a)	3,48 (1H, m)	43,0 CH ₂
5 pax	3,08 (1H, m)			3,05 (1H, m)	
6a	4,02 (1H, m)	53,5 CH	-	4,03 (1H, dd, 13,9 e 4,8)	53,5 CH
7 peq	2,94 (1H, m)	36,9 CH ₂	53,5 (C-6a), 127,5 (C-3b), 132,0 (C-11a) e 135,6 (C-7a)	3,01 (1H, m)	36,8 CH ₂
7 pax	2,83 (1H, m)			2,96 (1H, m)	
7a	-	135,6 C	-	-	135,3 C
8	7,25 (1H, m)	127,9 CH	127,2 (C-10), 128,4 (C-11), 135,6 (C-7a) e 132,0 (C-11a)	7,22 (1H, m)	127,9 CH
9	7,25 (1H, m)	127,9 CH	127,9 (C-8) e 132,0 (C-11a)	7,22 (1H, m)	127,9 CH
10	7,31 (1H, m)	127,2 CH	126,6 (C-1a), 127,2 (C-9) e 135,6 (C-7a)	7,31 (1H, m)	127,4 CH
11	8,39 (1H, dl, 7,8)	128,4 CH	-	8,39 (1H, d, 7,7)	128,6 CH
11a	-	132,0 C	-	-	131,5 C
1-OCH₃	3,67 (3H, s)	60,3 CH ₃	145,4 (C-1)	3,66 (3H, s)	60,6 CH ₃
2-OCH₃	3,89 (3H, s)	55,9 CH ₃	152,4 (C-2)	3,89 (3H, s)	56,0 CH ₃

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno; ^bMultiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C , HSQC e HMBC; ^cÁtomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios; ^dCosta., 2009 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 +gotas CD_3OD); (δ) Deslocamentos em ppm.

Tabela 13. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **AN-3b**.

Posição	AN-3b			anonaina	
	^1H δ (multi., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	HMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (multi., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^d
1	-	142,6 C	-	-	142,6 C
1a	-	116,1 C	-	-	116,1 C
2	-	146,9 C	-	-	147,1 C
3	6,57 (1H, s)	107,9 CH	28,8 (C-4), 127,2 (C-3b), 142,6 (C-1) e 146,9 (C-2)	6,57 (1H, s)	108,0 CH
3a	-	128,3 C	-	-	127,8 C
3b	-	127,2 C	-	-	126,6 C
4 peq	2,71 (1H, m)	28,8 CH ₂	107,9 (C-3) e 127,2 (C-3b)	2,70 (1H, m)	28,5 CH ₂
4 pax	3,05 (1H, m)			3,05 (1H, m)	
5 peq	3,44 (1H, m)	43,1 CH ₂	53,4 (C-6a) e 128,3 (C-3a)	3,46 (1H, m)	43,0 CH ₂
5 pax	3,04 (1H, m)			3,06 (1H, m)	
6a	3,92 (1H, m)	53,4 CH	-	3,92 (1H, dd, 14,0 e 4,9)	53,5 CH
7 peq	2,97 (1H, m)	36,6 CH ₂	53,4 (C-6a), 127,2 (C-3b), 132,0 (C-11a) e 134,8 (C-7a)	2,99 (1H, m)	36,8 CH ₂
7 pax	2,88 (1H, m)			2,87 (1H, m)	
7a	-	134,8 C	-	-	134,5 C
8	7,23 (1H, m)	127,6 CH	127,2 (C-10), 134,8 (C-7a) e 132,0 (C-11a)	7,22 (1H, m)	127,7 CH
9	7,23 (1H, m)	127,6 CH		7,22 (1H, m)	127,7 CH
10	7,31 (1H, m)	127,2 CH	127,6 (C-8) e 132,0 (C-11a)	7,31 (1H, m)	127,2 CH
11	8,08 (1H, d, 7,7 Hz)	127,2 CH	116,1 (C-1a), 134,8 (C-7a) e 127,6 (C-9)	8,08 (1H, d, 7,6)	127,1 CH
11a	-	132,0 C	-	-	131,5 C
(1,2)-OCH₂O	δ 6,09 (1H, d, J = 1,4 Hz)	100,7 CH ₂	142,6 (C-1) e 146,9 (C-2)	6,09 (1H, d, 1,4)	100,8 CH ₂
	δ 5,94 (1H, d, J = 1,4 Hz)			5,94 (1H, d, 1,4)	

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno; ^bMultiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C , HSQC e HMBC; ^cÁtomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios; ^dCosta., 2009 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 +gotas CD_3OD); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas (Figura 46), obtida através de ionização por *eletrospray* em modo positivo de aquisição de dados (ESI+), indicou tratar-se de duas moléculas majoritárias protonadas $[\text{M}+\text{H}]^+$ de íon molecular m/z 282 e 266 Da, compatível com as fórmulas moleculares $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ e $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2$, respectivamente.

Quando submetido à fragmentação, o íon com m/z 282 apresentou uma perda inicial de 17 Da, característica do grupo $-\text{NH}_3$, seguido de perdas competitivas de 15 (m/z 265→250) e 31 (m/z 265→234) Da, as quais indicam perdas radiculares de grupos $-\text{CH}_3\cdot$ e $-\text{OCH}_3\cdot$ (Figura 47), respectivamente. Esta via de fragmentação mista é consistente com um alcaloide aporfino substituído com grupos metoxila no anel A,

além de indicar ausência de grupo N-metil (De Lima et al, 2020; De Almeida et al., 2025), possibilitando uma proposta de fragmentação para a molécula (Figura 49). Estes dados estão coerentes com a proposta para o alcaloide aporfino descrito a partir das análises de RMN.

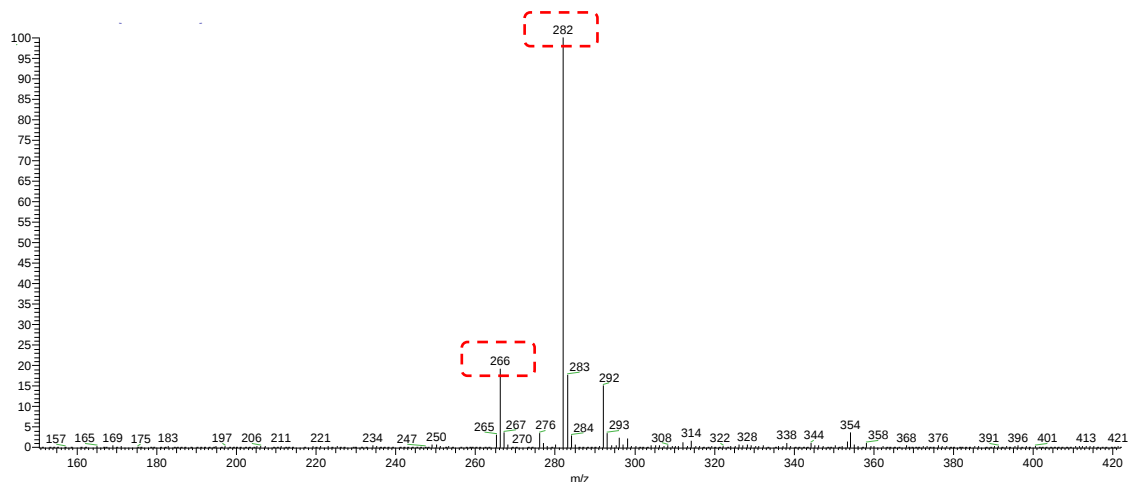


Figura 46. Espectro MS (ESI+) da AN-3.

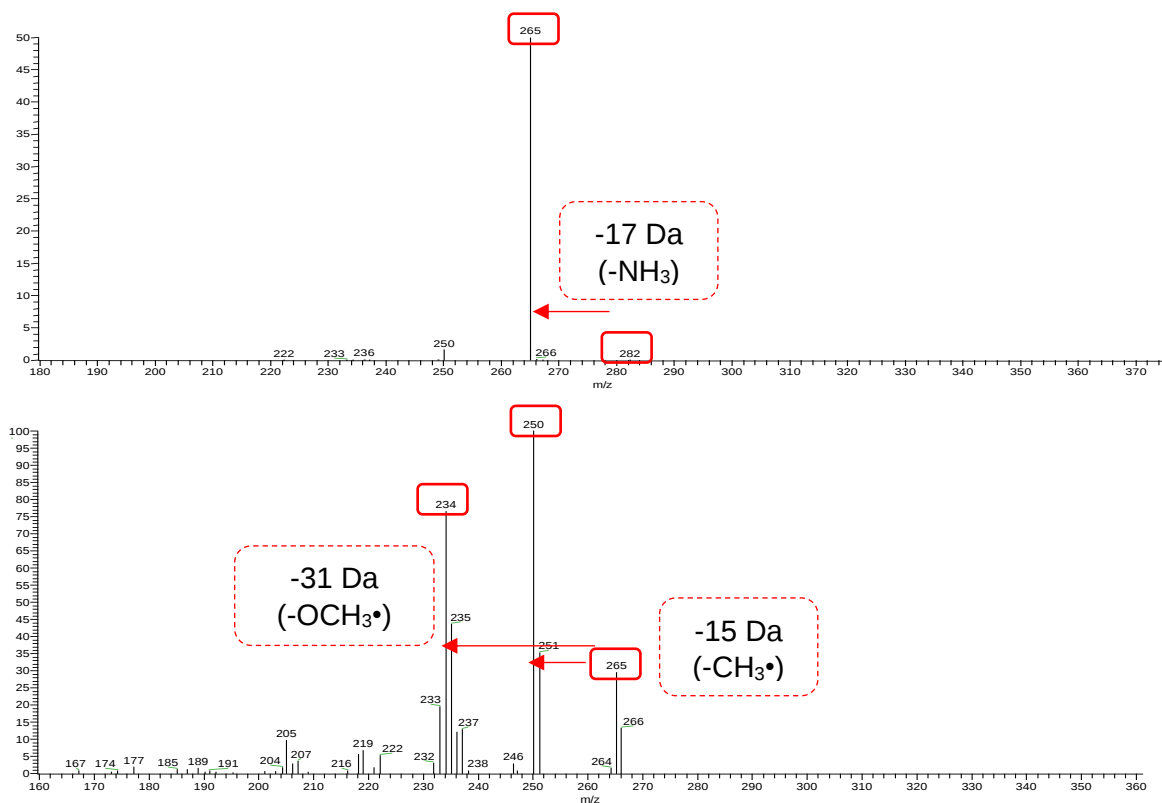


Figura 47. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-3a.

Já para fragmentação do íon com m/z 266 (referente a AN-3b) também foi constatado uma perda inicial de 17 Da, característica do grupo $-\text{NH}_3$, seguido de perdas consecutivas de 30 e 28 Da, características de perdas de grupos $-\text{CH}_2\text{O}$ e $-\text{CH}_2$.

CO (Figura 48) (Da Silva et al, 2024; De Lima et al, 2020), possibilitando uma proposta de fragmentação para a molécula (Figura 50). Estes dados estão coerentes com a proposta para o alcaloide aporfino descrito a partir das análises de RMN.

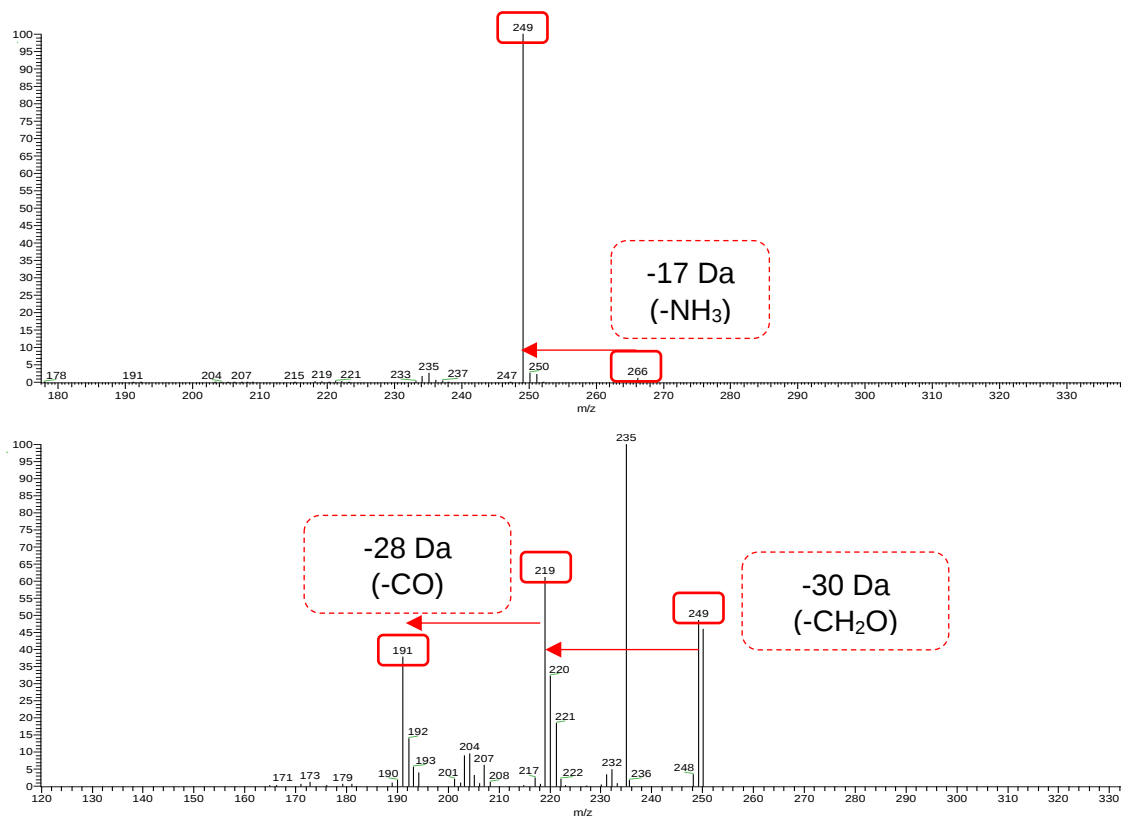


Figura 48. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-3b.

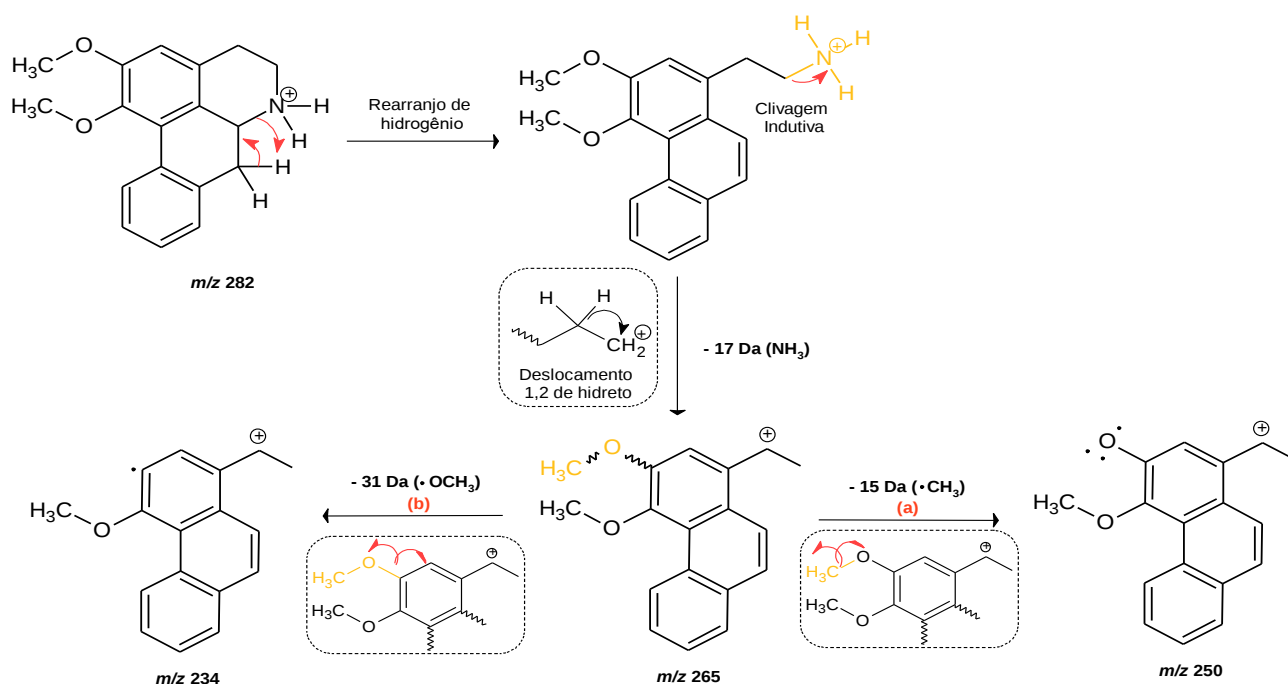


Figura 49. Proposta de fragmentação para o alcaloide aporfino *sensu stricto* norciferina adaptada de De Lima et al., 2020.

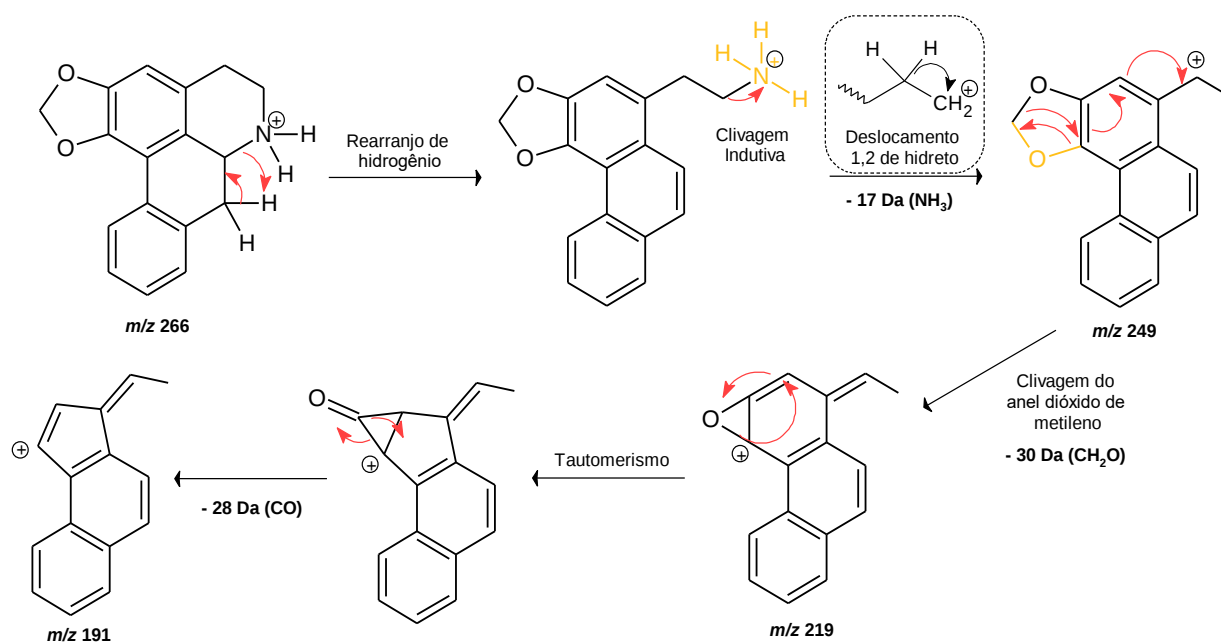


Figura 50. Proposta de fragmentação para o alcaloide aporfino *sensu stricto* anonaina adaptada de De Lima et al., 2020.

Assim, após a dedução da fórmula molecular pelo espectro de massas sendo $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ e $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ e as fragmentações indicarem a presença de dois alcaloides aporfinos *sensu stricto*, também tendo como base os dados espectrais obtidos e os dados descritos na literatura (Tabelas 12 e 13) (Blanchfield et al., 2003; Guinaudeau; Leboeuf; Cavé, 1975, 1979, 1983, 1988, 1994; De Lima et al, 2020; De Almeida et al., 2025; Costa, 2009; Da Silva et al, 2024), foi possível confirmar as substâncias de código **AN-3a** e **AN-3b** como sendo a nornuciferina e anonaina, respectivamente (Figura 51).

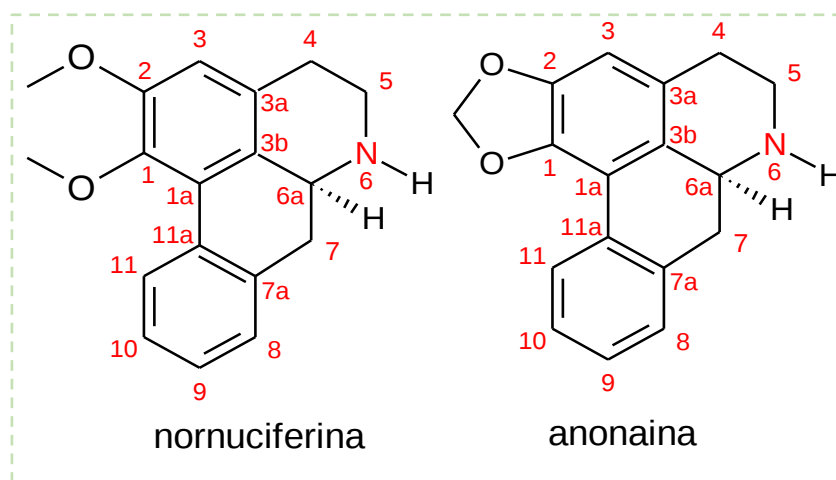


Figura 51. Estrutura dos alcaloides nornuciferina e anonaina.

5.1.2.2. Identificação estrutural de AN-5

A substância **AN-5** foi isolada como um sólido marrom amorfo e a análise por CCDA utilizando o reagente Dragendorff revelou uma coloração laranja, confirmando a presença de nitrogênio na molécula.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 52) verificou-se a presença de cinco sinais de hidrogênios aromáticos entre δ 8,31 – 6,68, três hidrogênios metilênicos entre δ 3,36 - 2,70 e um hidrogênio metínico em δ 3,81, indicando a presença de um alcaloide do tipo aporfino *sensu stricto* (Guinaudeau; Leboeuf; Cavé, 1975, 1979, 1983, 1988, 1994).

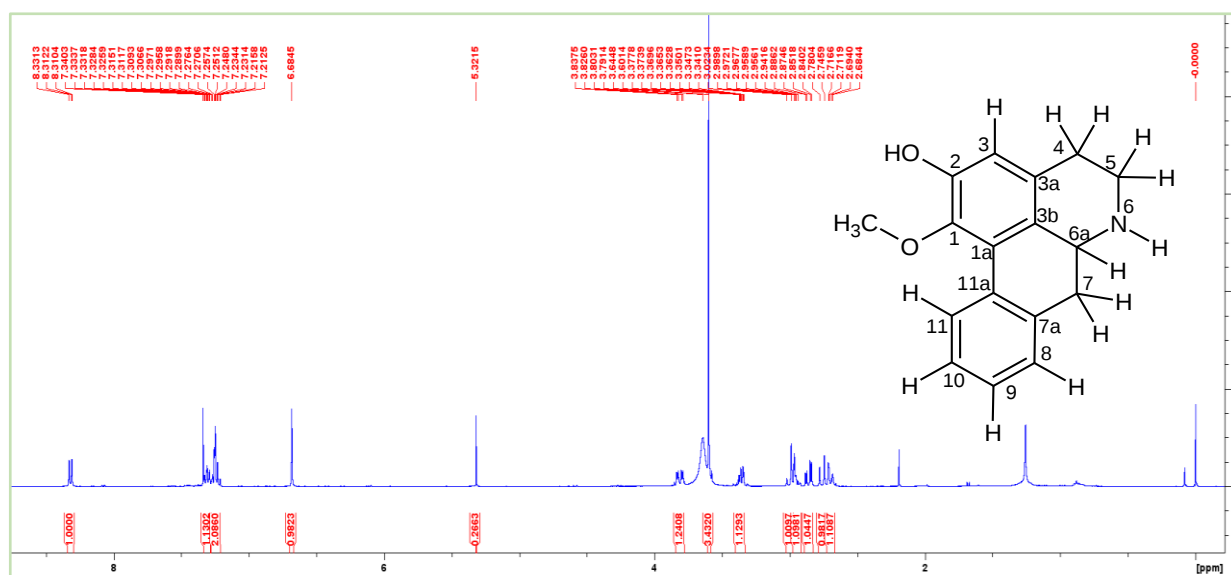


Figura 52. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-5**.

Os quatro sinais de hidrogênios aromáticos em δ 7,24 (1H, *m*), δ 7,34 (1H, *m*) e δ 8,31 (1H, *dd*, *J* = 8,3 e 0,7 Hz), típicos de H-9, H-10, H-8 e H-11, estão correlacionados no HSQC com os sinais de carbonos em δ 127,6, δ 128,0, δ 127,3 e δ 127,6, respectivamente, sendo assim, atribuídos a C-9, C-10, C-8 e C-11, os quais são indicativos do anel D do esqueleto aporfínico não substituído. Ainda, o simpleto em δ 6,68 (1H, *s*) ligado ao carbono em δ 115,1, apresentou deslocamento típico do anel A do sistema aporfínico dissustituído, sendo estes sinais atribuídos ao H-3 e C-3, respectivamente (Figuras 53 e 56).

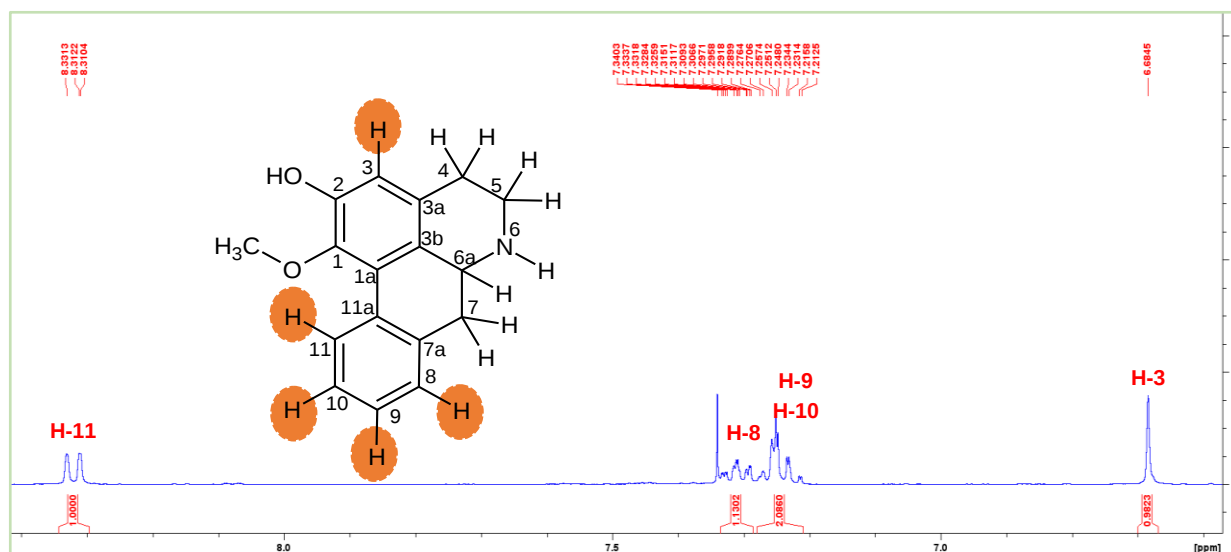


Figura 53. Ampliação da região aromática (δ 8,5-6,6 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-5**.

Ademais, observou-se a presença de hidrogênios diastereotópicos em δ 2,95 (1H, *m*), δ 2,70 (1H, *m*), δ 3,36 (1H, *m*) e δ 3,01 (1H, *m*), típicos dos sinais de hidrogênios H-4peq/H-4pax e H-5peq/H-5pax, respectivamente, os quais encontram-se correlacionados a 1J com os sinais dos carbonos em δ 28,3 (C-4) e δ 42,8 (C-5), característicos do anel B do esqueleto aporfino. Os sinais em δ 2,95 (1H, *m*) e δ 2,86 (1H, *dd*, $J = 13,7$ e $4,5$ Hz) ligados ao carbono em δ 36,9, foram atribuídos aos hidrogênios H-7peq, H-7pax e ao carbono C-7, respectivamente, assim como o sinal de hidrogênio metínico em δ 3,81 (1H, *dd*, $J = 13,7$ e $4,5$ Hz) relativo a posição H-6a correlacionando a 1J com o carbono em δ 53,4 (C-6a). Também, foi possível verificar um simpleto em δ 3,60 (3H, *s*), integrando para três hidrogênios, o qual apresentou correlação a 1J com o carbono em δ 60,2, característico de grupo metoxila (Figuras 54 e 57).

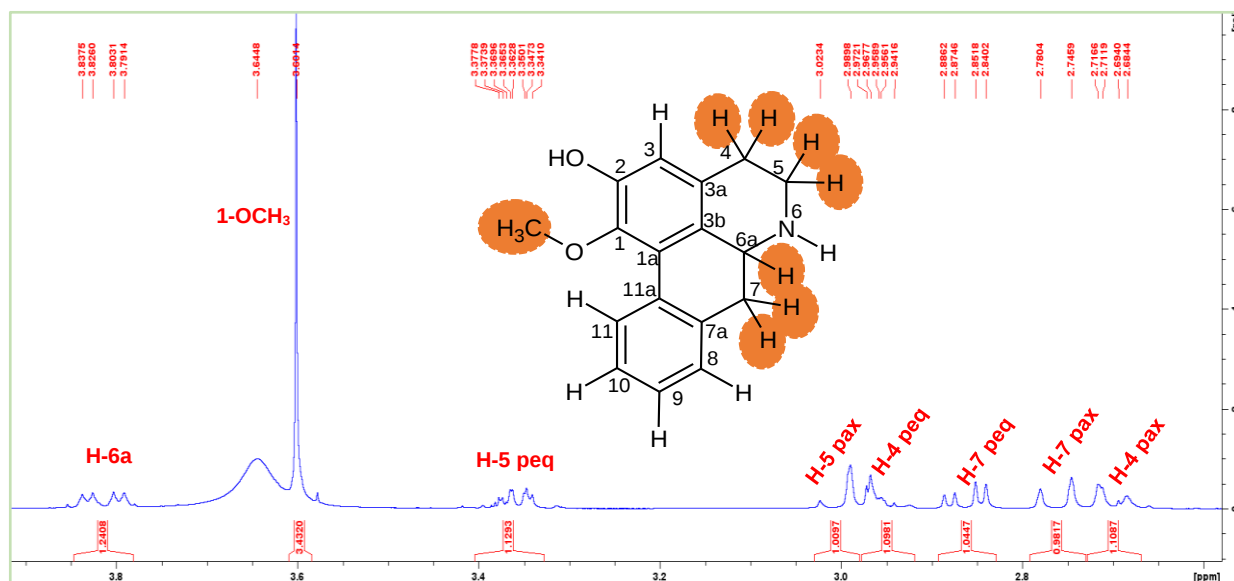


Figura 54. Ampliação da região alifática (δ 5,5-2,5 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5.

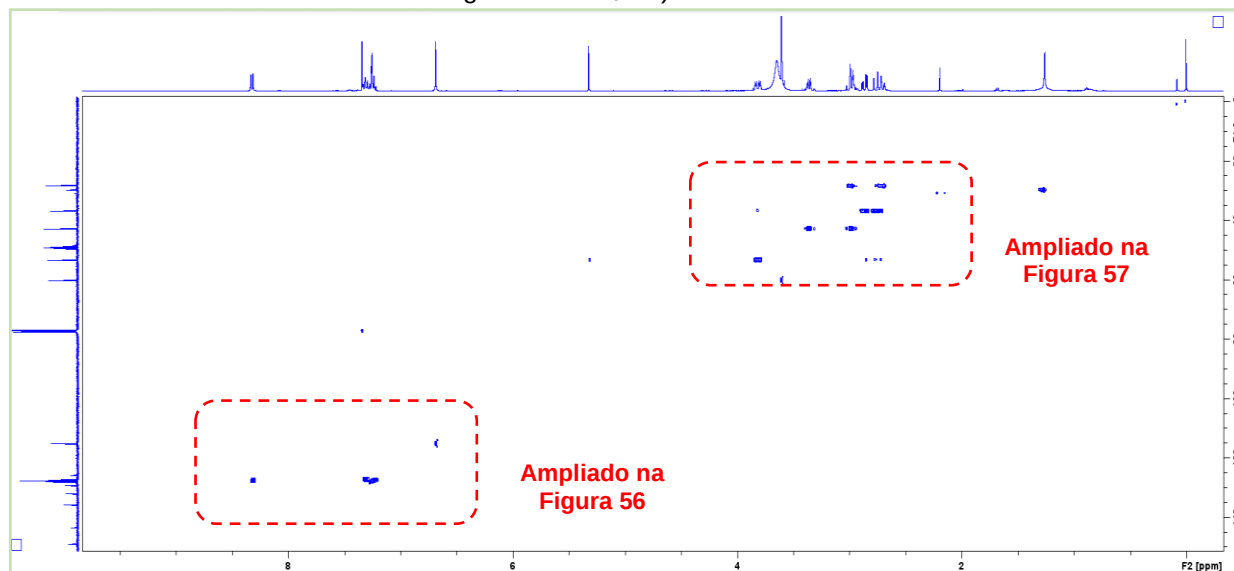


Figura 55. Mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de AN-5.

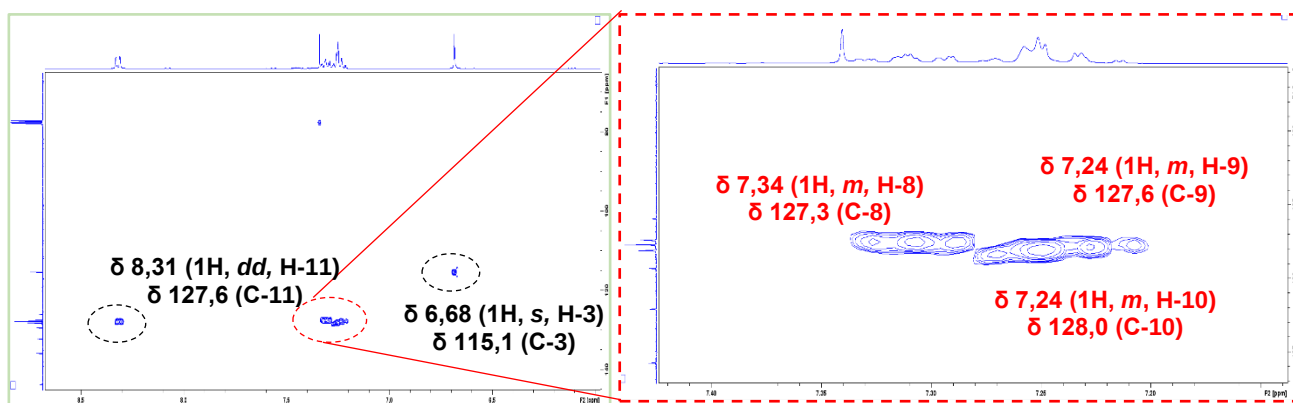


Figura 56. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os sinais na região dos aromáticos de AN-5.

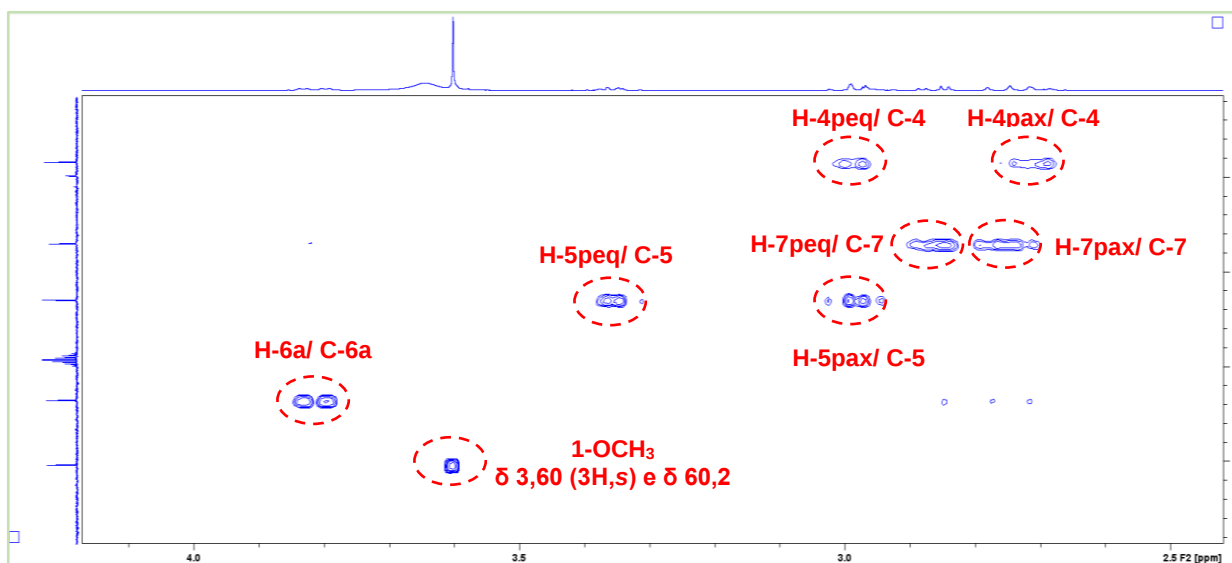


Figura 57. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os sinais na região dos hidrogênios diastereotópicos de **AN-5**.

Pela análise do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) (Figura 55) foi verificado a presença de 17 carbonos, sendo 12 aromáticos entre δ 148,9 – 115,1, além de um sinal em δ 148,9, característico de carbono aromático oxigenado. As posições corretas foram determinadas conforme os mapas de correlação HSQC (Figura 55) e HMBC (Figura 59), de acordo com a tabela 6.

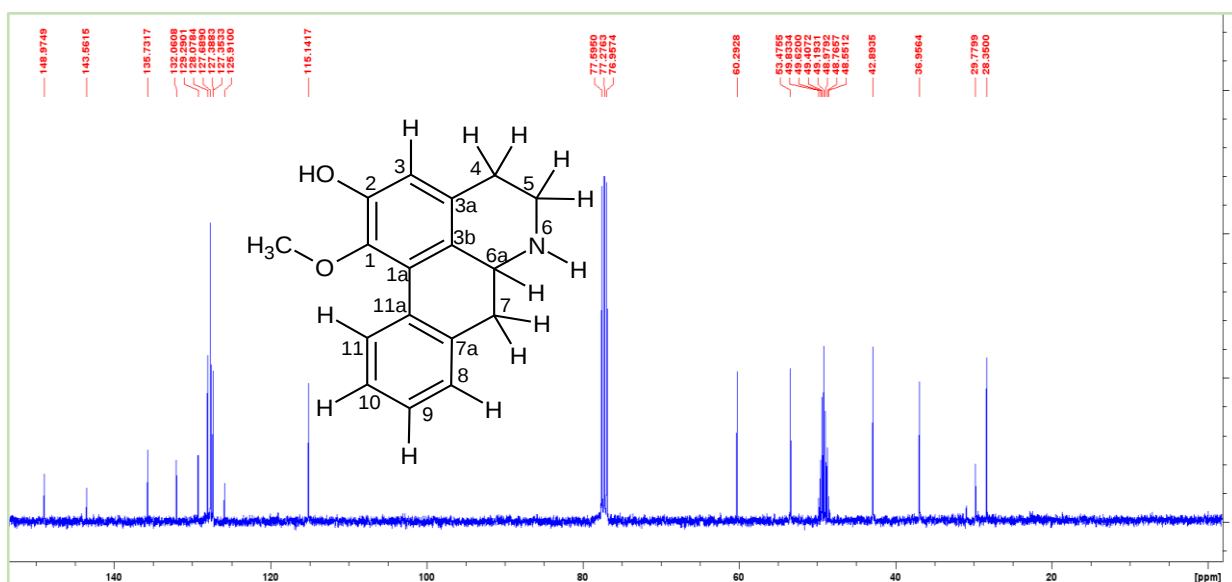


Figura 58. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-5**.

O mapa de correlação HMBC (Figuras 59 e 60) permitiu a correta atribuição das posições dos grupos hidroxila e metoxílico no anel A do esqueleto aporfino. O sinal em δ 3,60 (3H, s) apresentou forte correlação a 3J com o sinal de carbono em δ 143,5 (C-1), permitindo a atribuição do grupo metoxílico na posição C-1, enquanto

que, o sinal em δ 6,68 (H-3) apresentou correlação a 2J com o sinal de carbono em δ 148,9, típico de carbono aromático oxigenado, o qual foi atribuído a posição C-2, o qual também não apresentou nenhuma correlação com o sinal de hidrogênio do grupo metoxílico. Ainda, esse mesmo sinal de hidrogênio (δ 6,68), mostrou forte correlação a 3J com os sinais de carbono em δ 28,3 (C-4), δ 127,3 (C-3b) e δ 143,5 (C-1), confirmando assim a conectividade do anel A. A Figura 61 apresenta as demais correlações observadas.

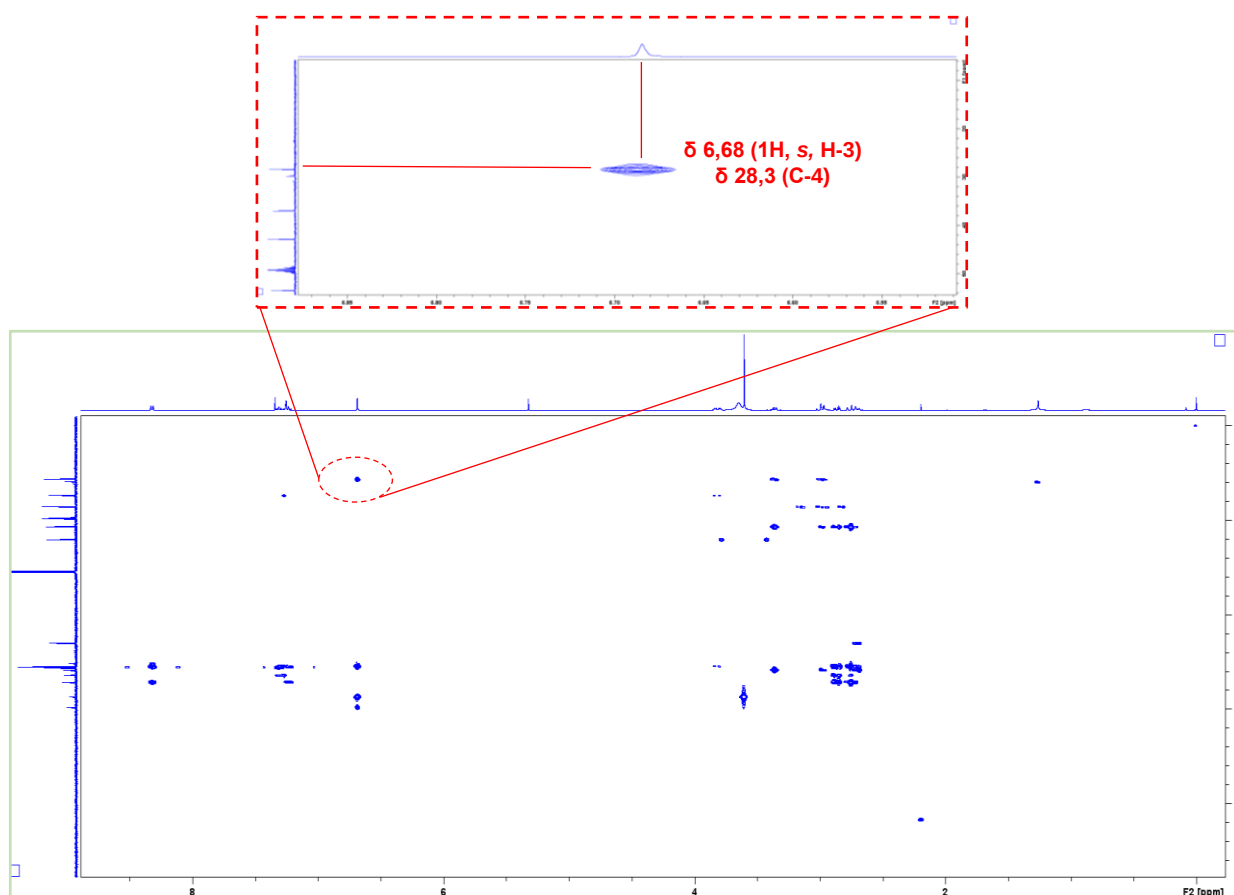


Figura 59. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-5**.

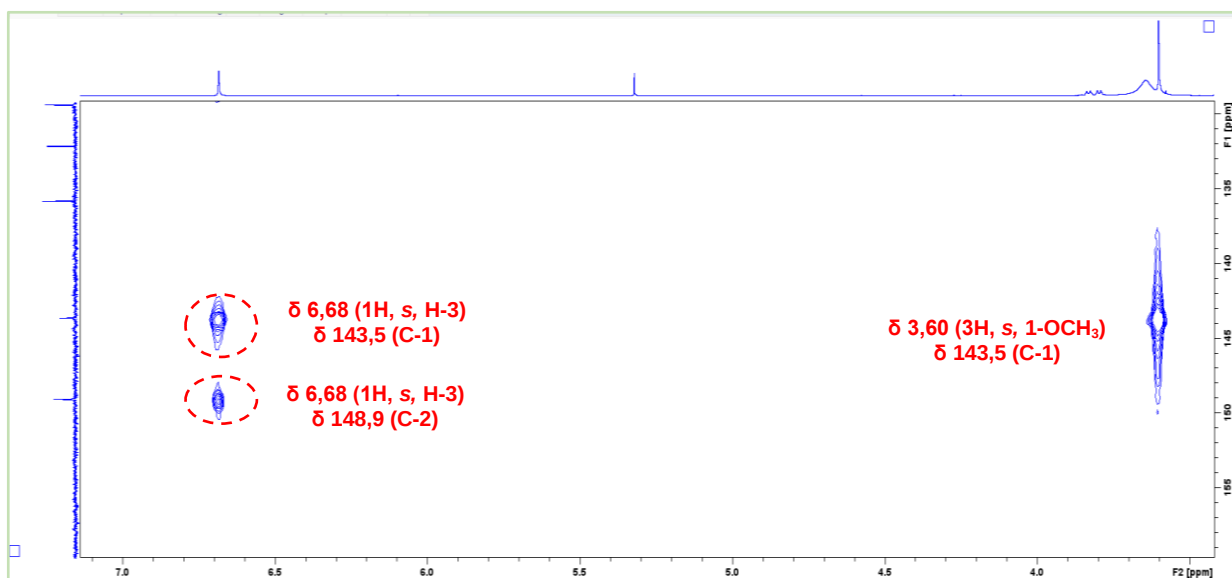


Figura 60. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-5**.

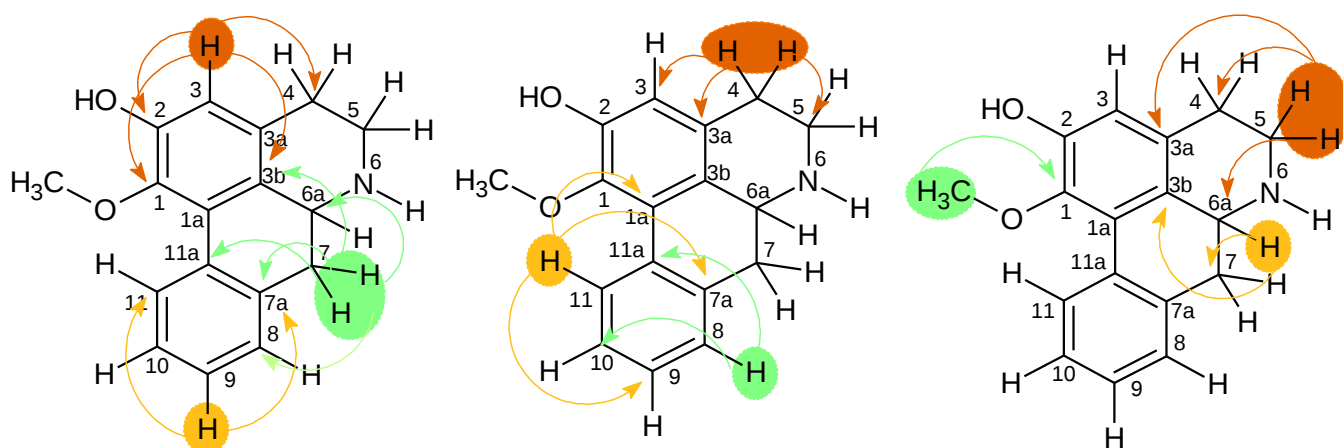


Figura 61. Demais correlações observadas no mapa de correlação HMBC para **AN-5**.

A Tabela 14 apresenta os corretos valores de ^1H , ^{13}C e correlação ^1H - ^{13}C para **AN-5**, os quais foram atribuídos de acordo com dados obtidos pelo espectro de ^1H , ^{13}C e mapas de correlação HSQC e HMBC, assim como os dados da literatura, indicando tratar-se do alcaloide aporfino assimilobina.

Tabela 14. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **AN-5**.

Posição	AN-5			asimilobina	
	^1H δ (multi., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	HMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (multi., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^d
1	-	143,5 C	-	-	143,5 C
1a	-	125,9 C	-	-	125,9 C
2	-	148,9 C	-	-	148,9 C
3	6,68 (1H, s)	115,1 CH	28,3 (C-4); 127,3 (C-3b); 143,5 (C-1) e 148,9 (C-2)	6,68 (1H, s)	115,1 CH
3a	-	129,2 C	-	-	129,2 C
3b	-	127,3 C	-	-	127,4 C
4 peq	2,95 (1H, m)	28,3 CH ₂	42,8 (C-5) e 129,2 (C-3a)	3,01 (1H, m)	28,3 CH ₂
4 pax	2,70 (1H, m)		115,1 (C-3)	2,70 (1H, m)	
5 peq	3,36 (1H, m)	42,8 CH ₂	28,3 (C-4); 53,4 (C-6a) e	3,35 (1H, m)	42,8 CH ₂
5 pax	3,01 (1H, m)		129,2 (C-3a)	3,02 (1H, m)	
6a	3,81 (1H, dd, 13,7 e 4,5)	53,4 CH	36,9 (C-7) e 127,3 (C-3b)	3,81 (1H, dd, 13,8 e 4,6)	53,4 CH
7 peq	2,86 (1H, dd, 13,7 e 4,5)	36,9 CH ₂	53,4 (C-6a); 127,3 (C-8 e C-3b); 132,0 (C-11a) e	2,86 (1H, dd, 13,8 e 4,6)	36,9 CH ₂
7 pax	2,76 (1H, dl, 13,7)		135,7 (C-7a)	2,76 (1H, dl, 13,8)	
7a	-	135,7 C	-	-	135,7 C
8	7,34 (1H, m)	127,3 CH	128,0 (C-10) e 132,0 (C-11a)	7,31 (1H, ddd, 6,7, 2,0 e 0,6)	127,3 CH
9	7,24 (1H, m)	127,6 CH	127,6 (C-11) e 135,7 (C-7a)	7,22 (1H, m)	127,6 CH
10	7,24 (1H, m)	128,0 CH	127,3 (C-8) e 127,6 (C-11a)	7,22 (1H, m)	128,0 CH
11	8,31 (1H, dd, 8,3 e 0,7)	127,6 CH	125,9 (C1a); 127,6 (C-9) e 135,7 (C-7a)	8,32 (1H, dd, 8,1 e 0,6)	127,6 CH
11a	-	132,0 C	-	-	132,9 C
1-OCH₃	3,60 (3H, s)	60,2 CH ₃	143,5 (C-1)	3,60 (3H, s)	60,2 CH ₃

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 + gotas de CD_3OD , utilizando o TMS como padrão interno; ^bMultiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C , HSQC e HMBC; ^cÁtomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios; ^dCosta et al., 2015 (^1H : 400 MHz e ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas (Figura 62), obtida através de ionização por *eletrospray* em modo positivo de aquisição de dados (ESI+), indicou tratar-se de uma molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ de íon molecular m/z 268 Da, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_2$. Quando submetido à fragmentação este íon com m/z 268 apresentou uma perda inicial de 17 Da, seguido de perdas de 32 e 28 Da, as quais são perdas características dos grupos $-\text{NH}_3$, $-\text{CH}_3\text{OH}$ e $-\text{CO}$, respectivamente (Figura 63) (Da Silva et al, 2024; De Lima et al, 2020), possibilitando uma proposta de fragmentação para a molécula (Figura 64). Estes dados estão coerentes com a proposta para o alcaloide aporfino descrito a partir das análises de RMN.

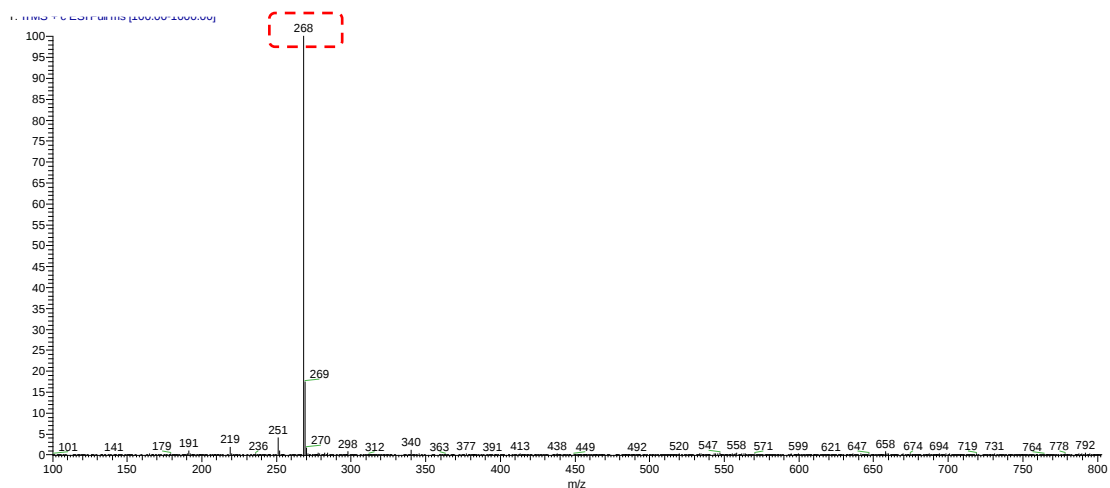


Figura 62. Espectro MS (ESI+) da AN-5.

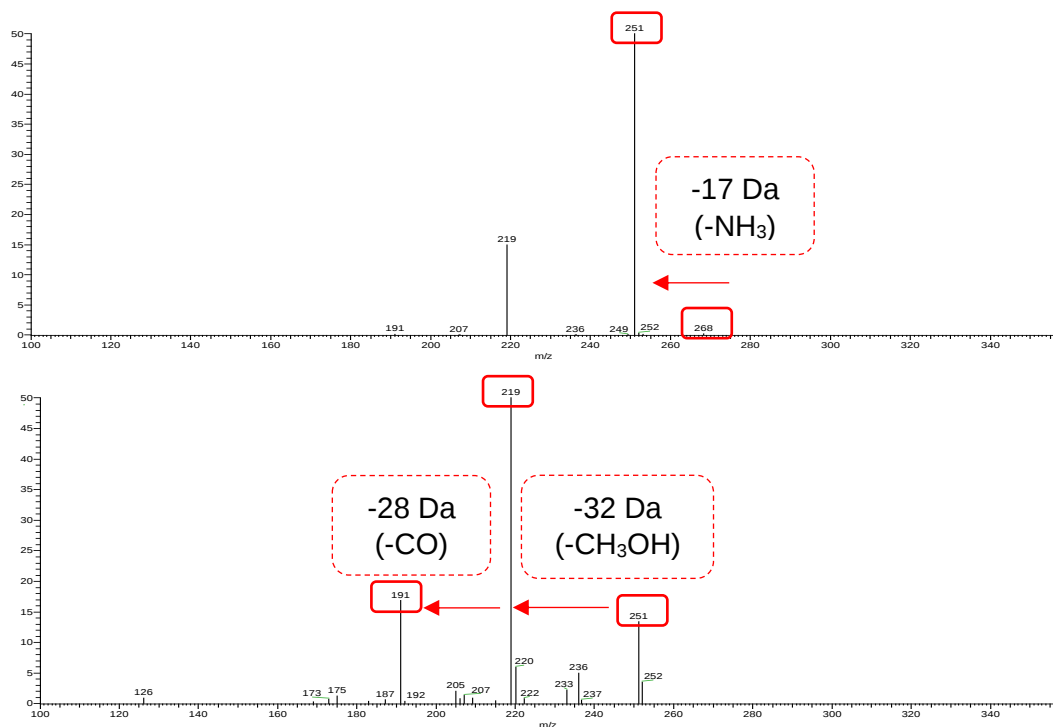


Figura 63. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-5.

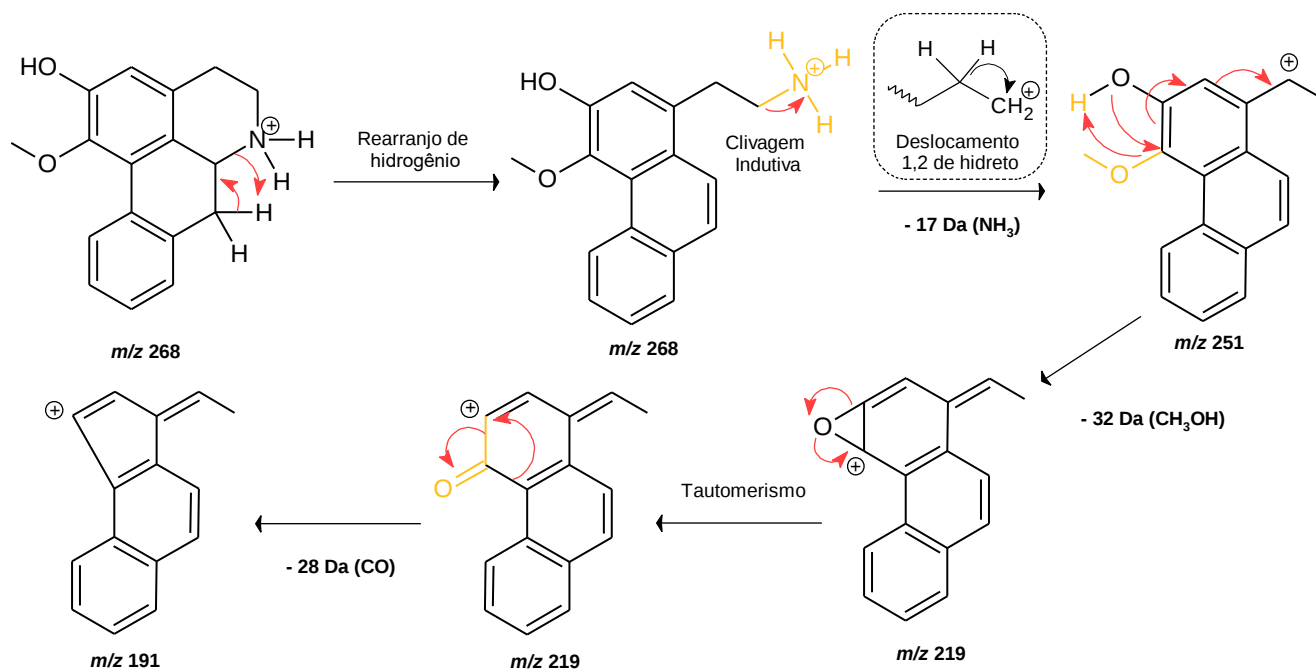


Figura 64. Proposta de fragmentação para o alcaloide aporfino *sensu stricto* asimilobina adaptada de De Lima et al., 2020.

Assim, após a dedução da fórmula molecular pelo espectro de massas sendo $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ e as fragmentações indicarem a presença de um alcaloide aporfino *sensu stricto*, também tendo como base os dados espectrais obtidos e os dados descritos na literatura (Tabela 14) (Da Silva et al., 2017; De Lima et al, 2020; Costa et al., 2015; Guinaudeau; Leboeuf; Cavé, 1975, 1979, 1983, 1988, 1994), foi possível confirmar a substância de código **AN-5** como sendo a asimilobina (Figura 65).

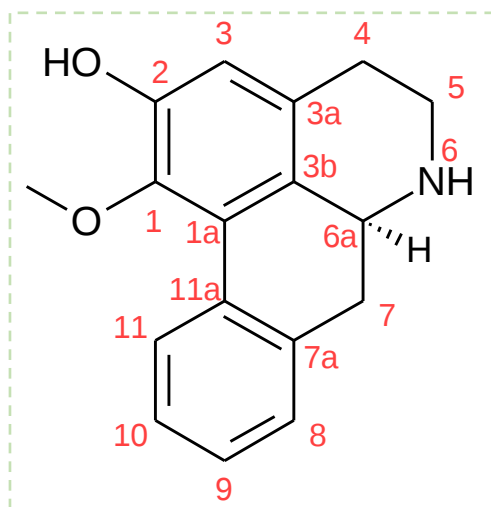


Figura 65. Estrutura do alcaloide asimilobina.

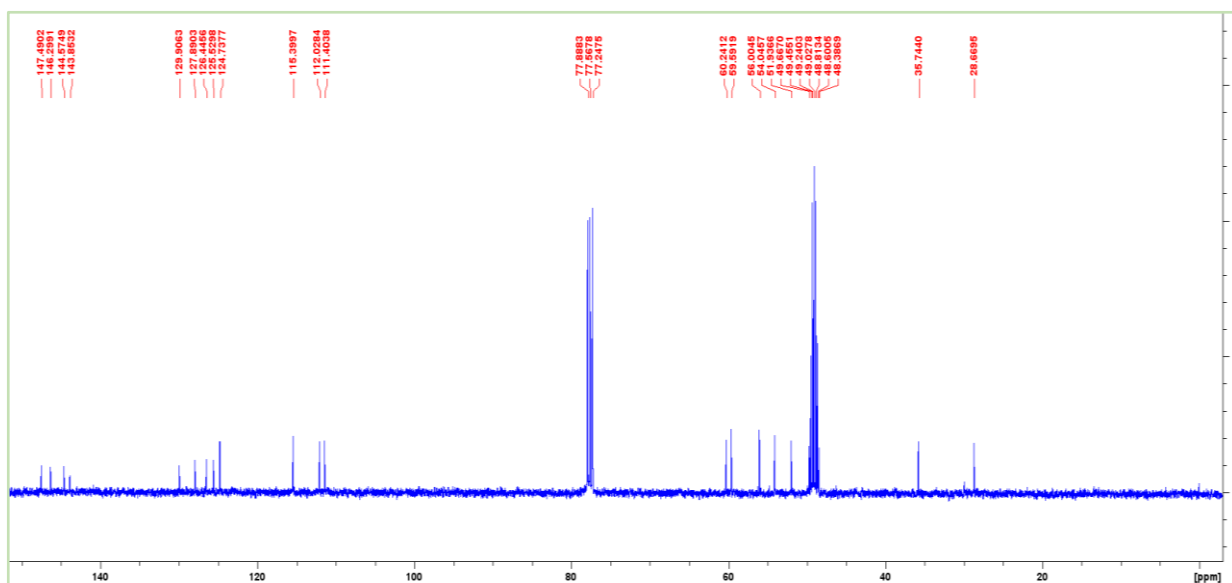


Figura 67. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

As corretas posições dos hidrogênios aromáticos foram estabelecidas pelas análises do espectro de ^1H (Figura 68) junto aos mapas de correlação HSQC (Figuras 70 e 71) e HMBC (Figuras 74 a 75). Dessa forma, os sinais de hidrogênios em δ 6,76 ligado ao carbono em δ 115,3 e o sinal em δ 6,80 ligado ao carbono em δ 124,7, foram atribuídos a H-11/C-11 e H-12/C-12, respectivamente, definindo o sistema *orto* no anel D, enquanto os sinais em δ 6,61 e δ 6,76, ligados aos carbonos em δ 111,4 e δ 112,0, respectivamente, foram atribuídos a H-4/C-4 e H-1/C-1, definindo o sistema *para* no anel A.

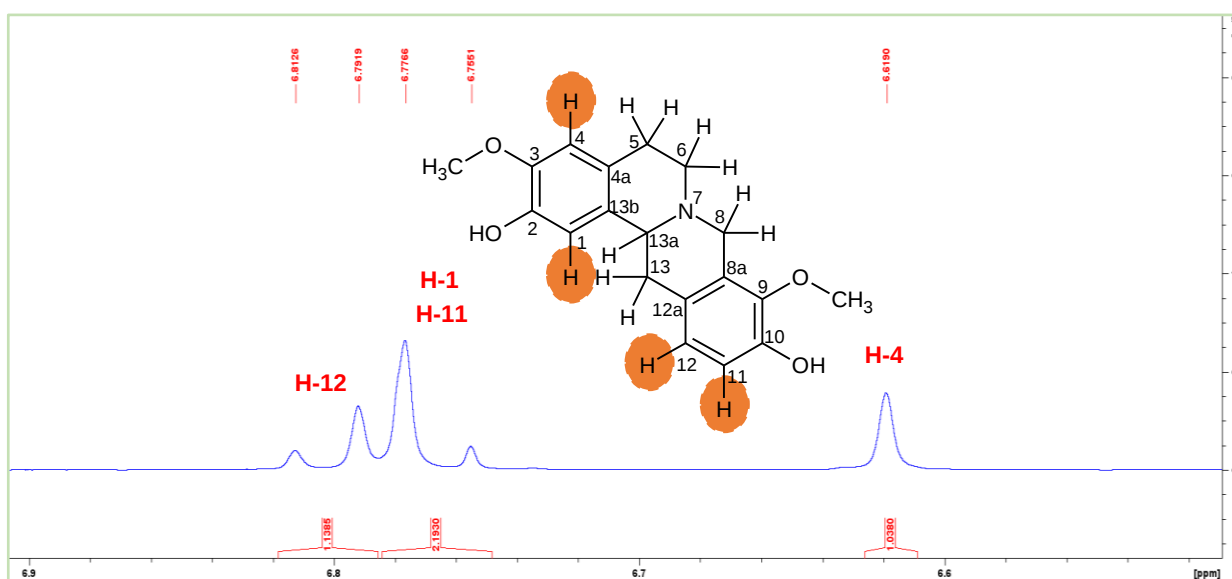


Figura 68. Ampliação da região aromática (δ 7,0-6,5 ppm) do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

Ainda, a partir do mapa HMBC, a correlação do sinal δ 6,61 (H-4) a 3J com o sinal do carbono em δ 28,6 (C-5), e do sinal em δ 6,76 (H-1) com o sinal do carbono em δ 59,5 (C-13a) confirma a posição dos hidrogênios aromáticos do anel A (Figura 75). Por consequência, a correlação do sinal em δ 6,80 (H-12) a 3J com os sinais dos carbonos em δ 35,7 (C-13), δ 127,8 (C-8a) e δ 147,4 (C-10), e do sinal em δ 6,76 (H-11) a 3J com os sinais dos carbonos em δ 126,4 (C-12a) e δ 143,8 (C-9), confirmam as posições definidas dos hidrogênios e carbonos do sistema *orto* no anel D (Figuras 75 e 76).

Na região alifática do espectro de RMN de 1H (Figura 69), foi observado a presença de sinais de hidrogênios diastereotópicos para quatro grupos metilênicos em δ 3,11 (1H, *m*)/ δ 2,69 (1H, *m*), δ 3,21 (1H, *m*)/ 2,67 (1H, *m*), δ 4,20 (1H, *d*, $J = 15,6$ Hz)/ δ 3,55 (1H, *d*, $J = 15,6$ Hz) e δ 3,28 (1H, *dd*, $J = 16,0$ e 3,9 Hz)/ δ 2,78 (1H, *dd*, $J = 16,0$ e 11,4 Hz) típicos dos hidrogênios, H- 5peq/H-5pax, H-6peq/H-6pax, H-8peq/H-8pax, e H- 13peq/H-13pax, correlacionados a J^1 aos sinais dos carbonos em δ 28,6 (C-5), δ 51,9 (C-6), δ 54,0 (C-8) e δ 36,7 (C-13), respectivamente (Figura 72). Também foi observado um sinal de hidrogênio metínico em δ 3,57 (1H, *dd*, $J = 11,4$ e 3,9 Hz) correlacionando no HSQC com o carbono em δ 59,5 (Figura 73) e no HMBC com os sinais em δ 51,9 (C-6) e 144,5 (C-1) (Figura 74), sendo estes sinais atribuídos a H- 13a e C-13a. Estes sinais de hidrogênios metilênicos e metínicos sustentam o pressuposto da presença de um alcaloide da classe dos tetraidroprotoberberinos.

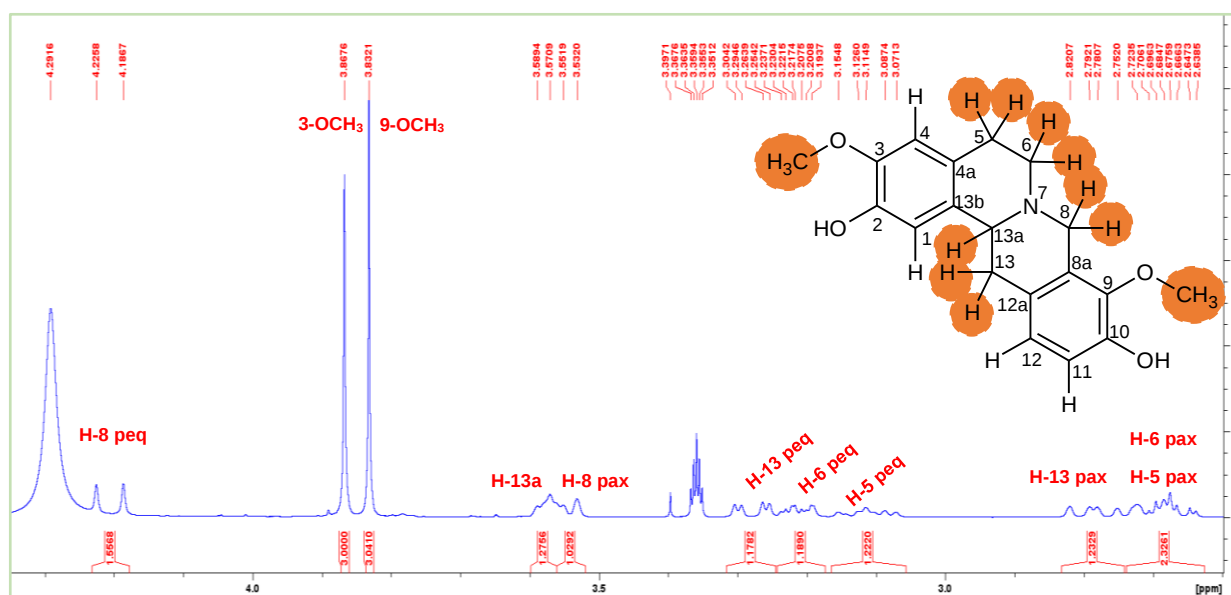


Figura 69. Ampliação da região não aromática (δ 4,5-2,5 ppm) do espectro de RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$ + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

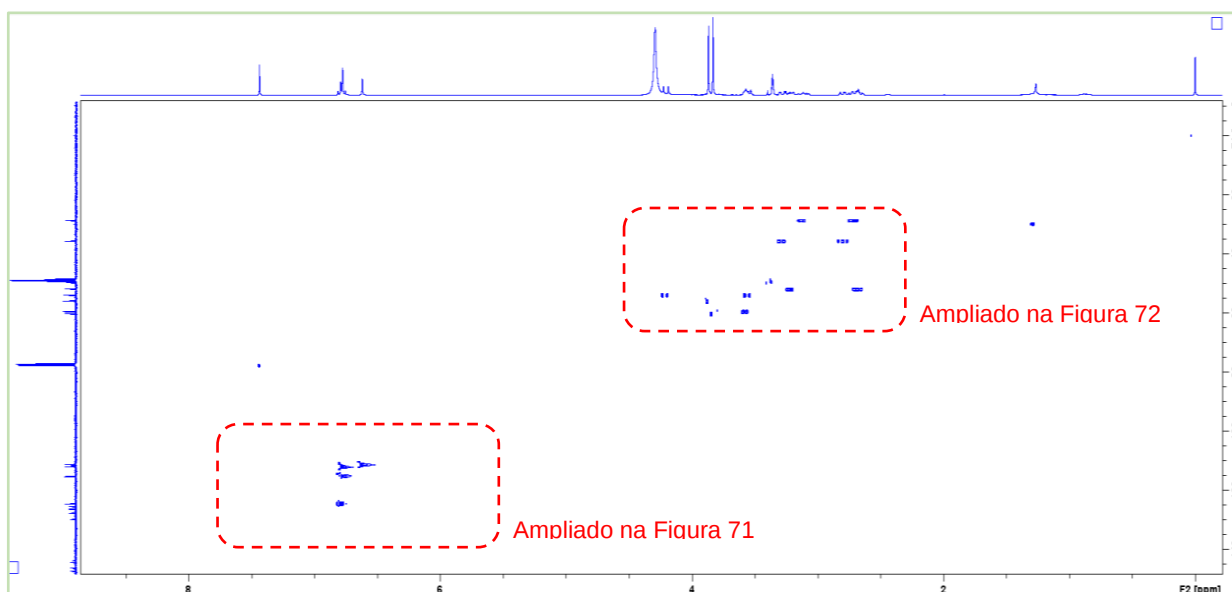


Figura 70. Mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

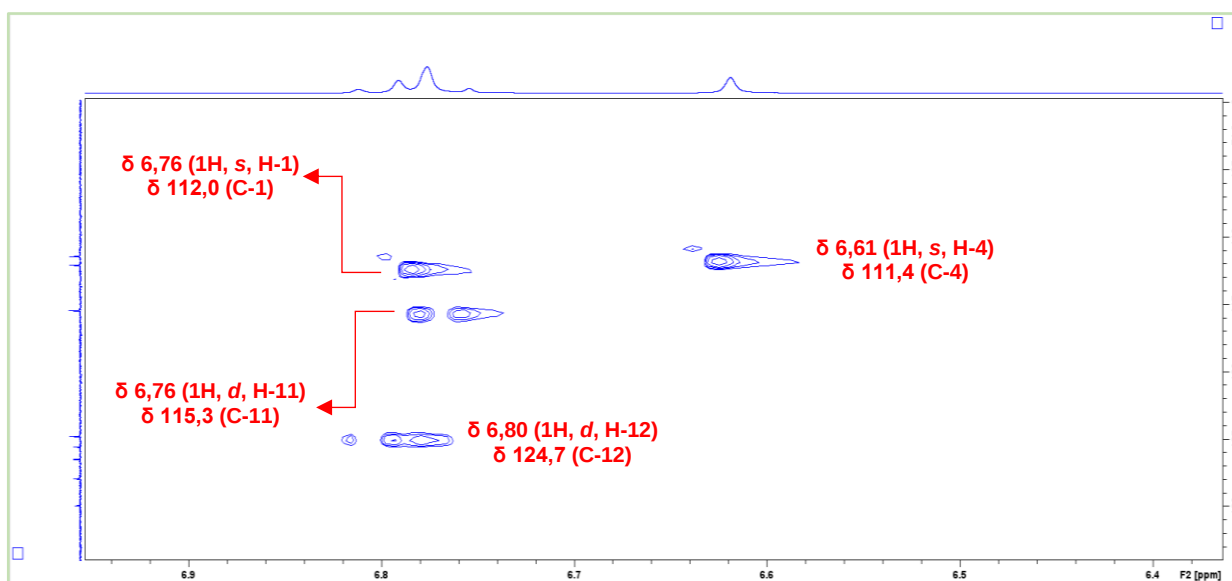


Figura 71. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os grupos aromáticos de **AN-6**.

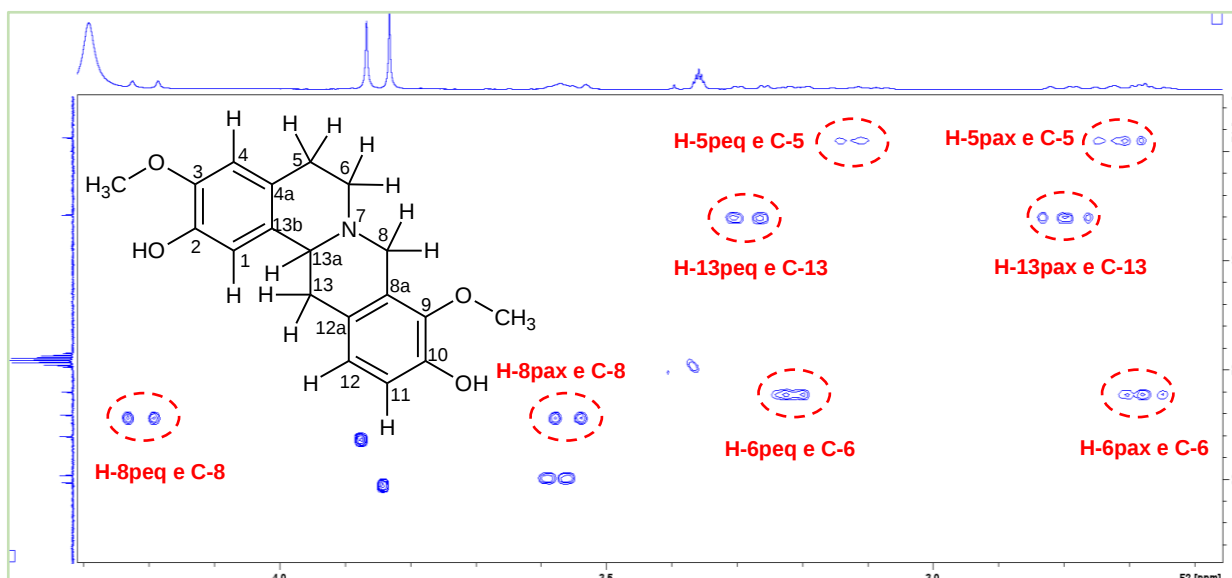


Figura 72. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

Também, foi possível verificar dois simpletos em δ 3,86 (3H, s) e δ 3,83 (3H, s), ambos integrando para três hidrogênios, correlacionado no HSQC com o sinal de carbono em δ 56,0 e em δ 60,2 (Figura 73), respectivamente, os quais são característicos de grupos metoxila. Ademais, foi observado a presença de dois sinais de carbonos quaternários em δ 144,5 e δ 147,4, indicativos de carbono aromático oxigenado.

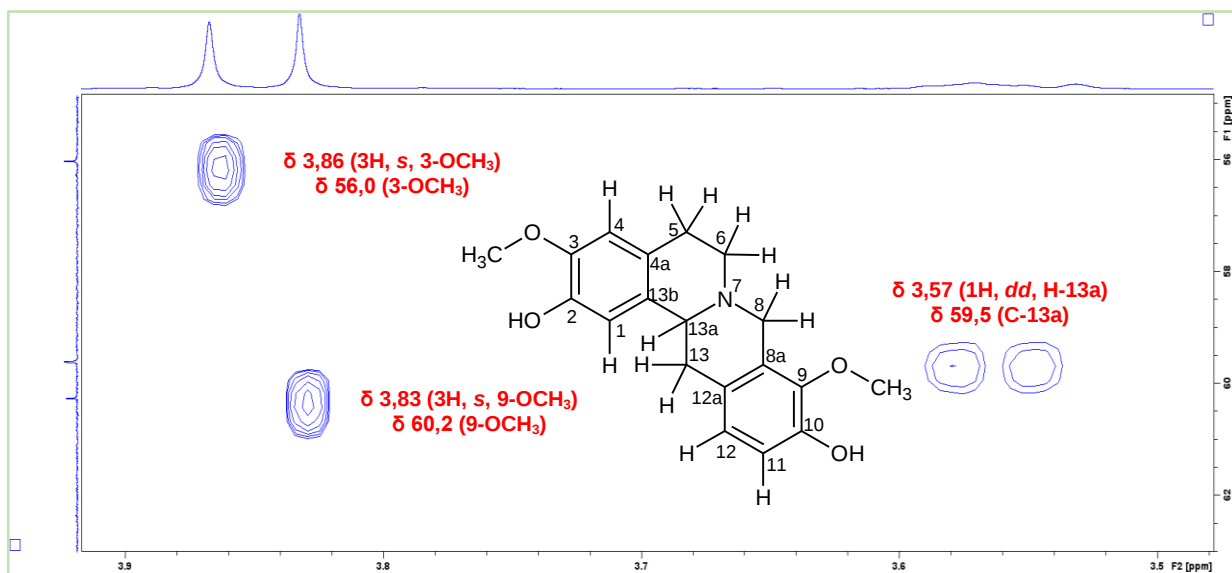


Figura 73. Ampliação do mapa de correlação HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) para os grupos metoxílicos e metínicos de **AN-6**.

O mapa de correlação HMBC (Figuras 74 a 75) permitiu a correta atribuição das posições dos grupos hidroxila e metoxila no anel A e D. Nesse sentido, o sinal em δ 6,61 (H-4) apresentou forte correlação a 3J com o sinal de carbono em δ 144,5, indicando a localização do grupo hidroxila na posição C-2. Da mesma forma, o sinal em δ 6,80 (H-12) correlacionou a 3J com o sinal de carbono em δ 147,4, indicando a localização do grupo hidroxila em C-10 (Figura 76). A Figura 77 apresenta as demais correlações observadas para a estrutura em questão.

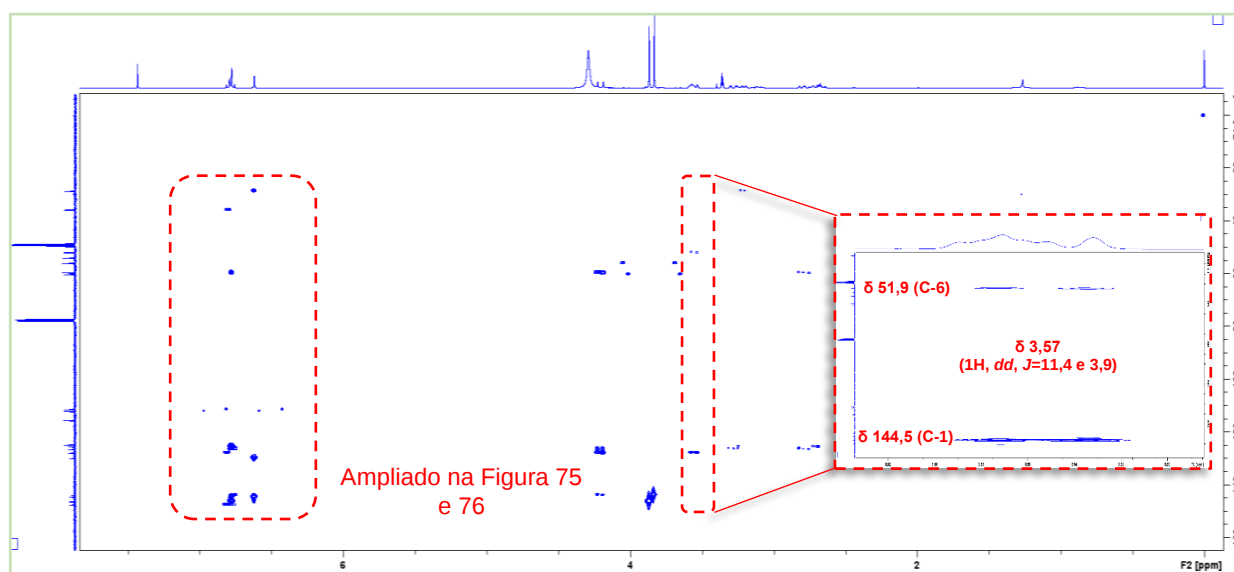


Figura 74. Mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

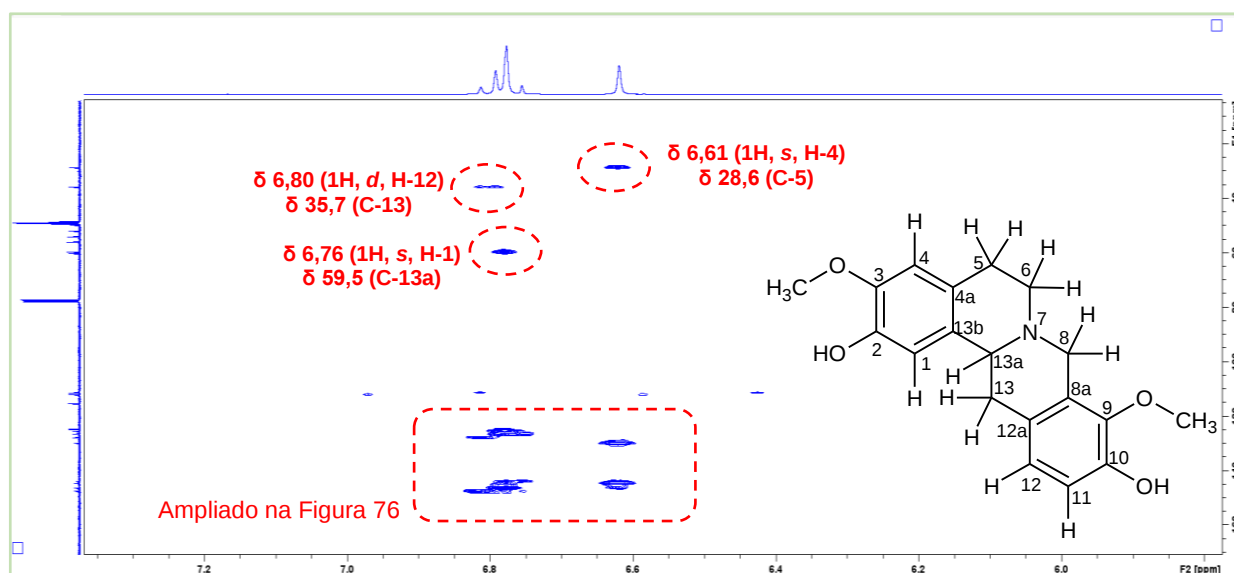


Figura 75. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

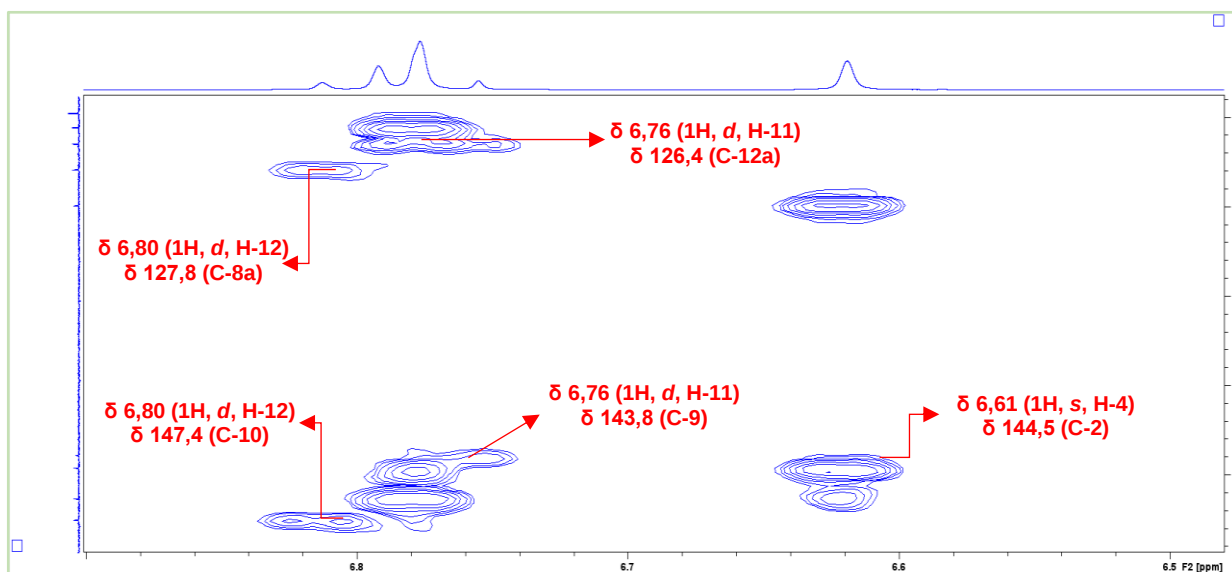


Figura 76. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) de **AN-6**.

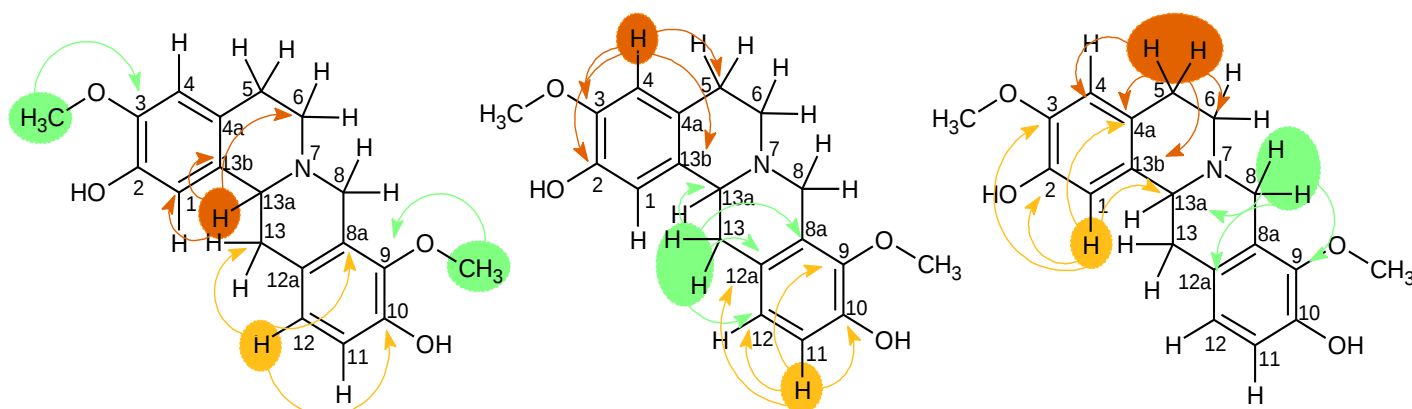


Figura 77. Demais correlações no mapa de correlação HMBC para **AN-6**.

A Tabela 15 apresenta os corretos valores de ^1H , ^{13}C e correlação ^1H - ^{13}C para **AN-6**, os quais foram atribuídos de acordo com dados obtidos pelo espectro de ^1H , ^{13}C e os mapas de correlação HSQC e HMBC, assim como os dados da literatura, indicam tratar-se do alcaloide estefolidina.

Tabela 15. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **AN-6**.

Posição	AN-6			estefolidina	
	^1H δ (multi., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	HMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (multi., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^d
1	6,76 (1H, s)	112,0 CH	59,5 (C-13a); 125,5 (C-4a); 144,5 (C-2) e 146,2 (C-3)	6,77 (1H, s)	112,0 CH
2	-	144,5 C	-	-	144,6 C
3	-	146,2 C	-	-	146,3 C
4	6,61 (1H, s)	111,4 CH	28,6 (C-5); 129,9 (C-13b); 144,5 (C-2) e 146,2 (C-3)	6,61 (1H, s)	111,4 CH
4a	-	125,5 C	-	-	125,5 C
5 peq	3,11 (1H, <i>m</i>)	28,6 CH ₂	51,9 (C-6) e 125,5 (C-4a)	3,11 (1H, <i>m</i>)	28,7 CH ₂
5 pax	2,69 (1H, <i>m</i>)		125,5 (C-4a); 111,4 (C-4) e 129,9 (C-13b)	2,69 (1H, <i>m</i>)	
6 peq	3,21 (1H, <i>m</i>)	51,9 CH ₂	28,6 (C-5) e 125,5 (C-4a)	3,21 (1H, <i>m</i>)	52,0 CH ₂
6 pax	2,67 (1H, <i>m</i>)		59,5 (C-13a) e 125,5 (C-4a)	2,67 (1H, <i>m</i>)	
8 peq	4,20 (1H, <i>d</i> , 15,6)	54,0 CH ₂	59,5 (C-13a); 126,4 (C-12a); 127,8 (C-8a) e 143,8 (C-9)	4,20 (1H, <i>d</i> , 15,6)	54,1 CH ₂
8 pax	3,55 (1H, <i>d</i> , 15,6)		51,9 (C-6); 59,5 (C-13a) e 127,8 (C-8a)	3,55 (1H, <i>d</i> , 15,6)	
8a	-	127,8 C	-	-	127,9 C
9	-	143,8 C	-	-	143,8 C
10	-	147,4 C	-	-	147,5 C
11	6,76 (1H, <i>d</i> , 8,3)	115,3 CH	124,7 (C-12); 126,4 (C-12a); 143,8 (C-9) e 147,4 (C-10)	6,76 (1H, <i>d</i> , 8,3)	115,4 CH
12	6,80 (1H, <i>d</i> , 8,3)	124,7 CH	35,7 (C-13); 127,8 (C-8a) e 147,4 (C-10)	6,80 (1H, <i>d</i> , 8,3)	124,7 CH
12a	-	126,4 C	-	-	126,4 C
13 peq	3,28 (1H, <i>dd</i> , 16,0 e 3,9)	35,7 CH ₂	59,5 (C-13a); 124,7 (C-12); 126,4 (C-12a); 127,8 (C-8a)	3,28 (1H, <i>dd</i> , 16,0 e 3,9)	35,8 CH ₂
13 pax	2,78 (1H, <i>dd</i> , 16,0 e 11,4)		59,5 (C-13a); 126,4 (C-12a);	2,78 (1H, <i>dd</i> , 16,0 e 11,4)	
13a	3,57 (1H, <i>dd</i> , 11,4 e 3,9)	59,5 CH	51,9 (C-6); 129,9 (C-13b) e 144,5 (C-1)	3,57 (1H, <i>dd</i> , 11,4 e 3,9)	59,6 CH
13b	-	129,9 C	-	-	129,9 C
3-OCH₃	3,86 (3H, s)	56,0 CH ₃	146,2 (C-3)	3,86 (3H, s)	56,0 CH ₃
9-OCH₃	3,83 (3H, s)	60,2 CH ₃	143,8 (C-9)	3,83 (3H, s)	60,2 CH ₃

^aExperimento realizado a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno; ^bMultiplicidades determinadas pelos espectros de HSQC e HMBC; ^cÁtomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios; ^dCosta et al., 2015 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas, obtida através de ionização por eletrospray em modo positivo de aquisição de dados (ESI+), indicou tratar-se de uma molécula protonada $[M+H]^+$ de íon molecular m/z 328 Da, compatível com a fórmula molecular $C_{19}H_{21}NO_4$. A fragmentação deste íon molecular mostrou uma alta perda de massa de 150 Da, típica de alcaloides tetraidroprotoberberino contendo metoxila e hidroxila como substituintes no anel A (De Lima et al., 2020) (Figura 78), possibilitando uma proposta de fragmentação para a molécula (Figura 79). Estes dados estão coerentes com a proposta para o alcaloide tetraidroprotoberberino descrito a partir das análises de RMN.

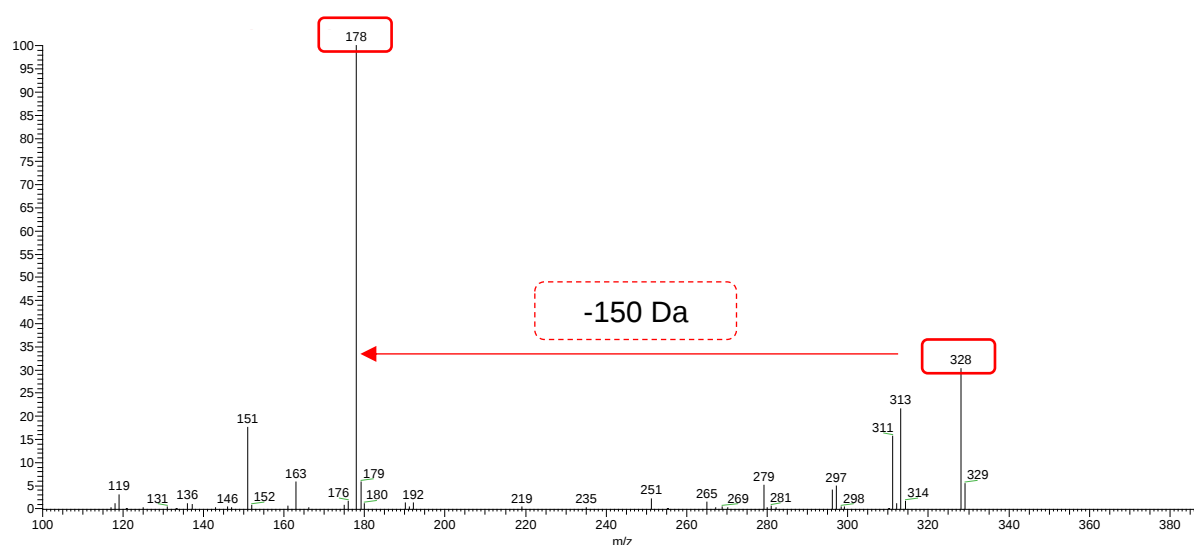


Figura 78. Espectro MS/MS (ESI+) da AN-6.

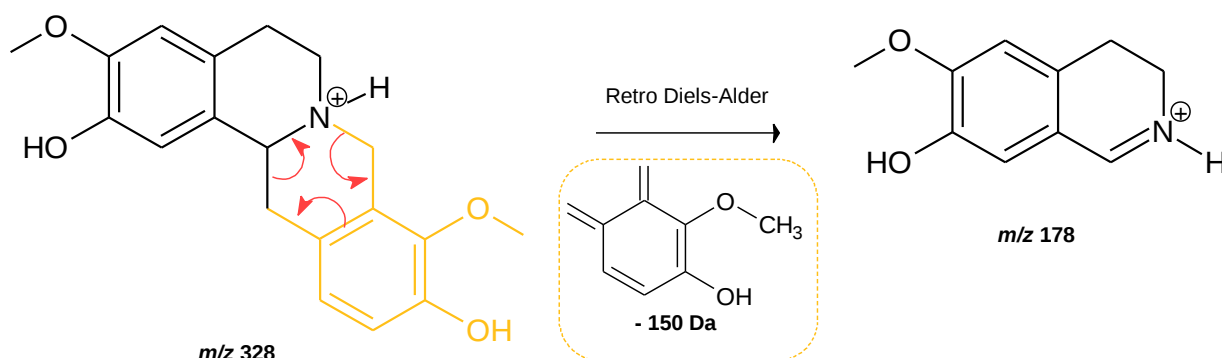


Figura 79. Proposta de fragmentação para o alcaloide tetraidroprotoberberino estefolidina adaptada de De Lima et al., 2020.

Assim, após a dedução da fórmula molecular pelo espectro de massas e as fragmentações indicarem a presença de um alcaloide tetraidroprotoberberino, também tendo como base os dados espectrais obtidos e os dados descritos na literatura (Tabela 15) (De Lima et al., 2020; Costa et al., 2015), foi possível confirmar a substância de código **AN-6** como sendo a estefolidina (Figura 80).

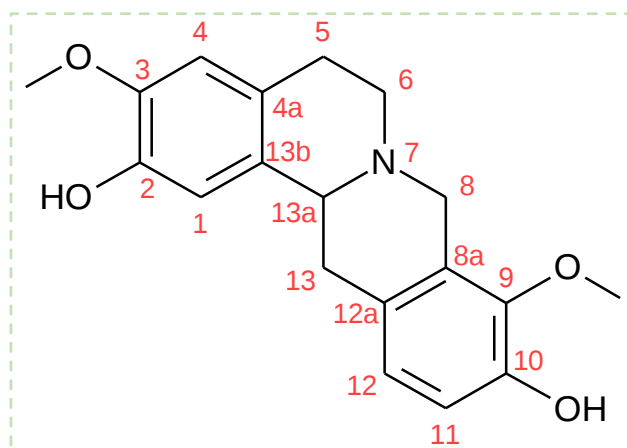


Figura 80. Estrutura do alcaloide estefolidina.

5.1.4. Identificação estrutural da lactona

5.1.4.1. Identificação estrutural de **AN-4**

A substância **AN-4** foi isolada como um sólido amorfo marrom e a análise por CCDA utilizando o anisaldeído sulfúrico revelou uma coloração azul e, posteriormente roxo, devido ao aquecimento contínuo, enquanto que, a revelação com o reagente Dragendorff não revelou coloração alaranjada, indicando a ausência de nitrogênio na molécula, logo, sugere não se tratar de um alcaloide.

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 81) mostrou sinais característicos de hidrogênios metilênicos em δ 2,46 (1H, *ddd*, $J = 14,5, 2,9$ e $0,4$ Hz), δ 1,97 (1H, *ddd*, $J = 14,6, 2,8$ e $2,4$ Hz), 1,79 (1H, *m*) e 1,54 (1H, *dd*, $J = 14,6$ e $3,7$), os quais foram atribuídos a H-4, H-2, H-4' e H-2', respectivamente. Ainda, foi possível observar três sinais integrando para três hidrogênios, sendo eles em δ 1,47 (3H, *s*), δ 1,27 (3H, *s*) e 1,78 (3H, *d*, $J = 0,8$), caracterizando os hidrogênios metílicos H-9, H-10 e H-11, respectivamente (Figura 82).

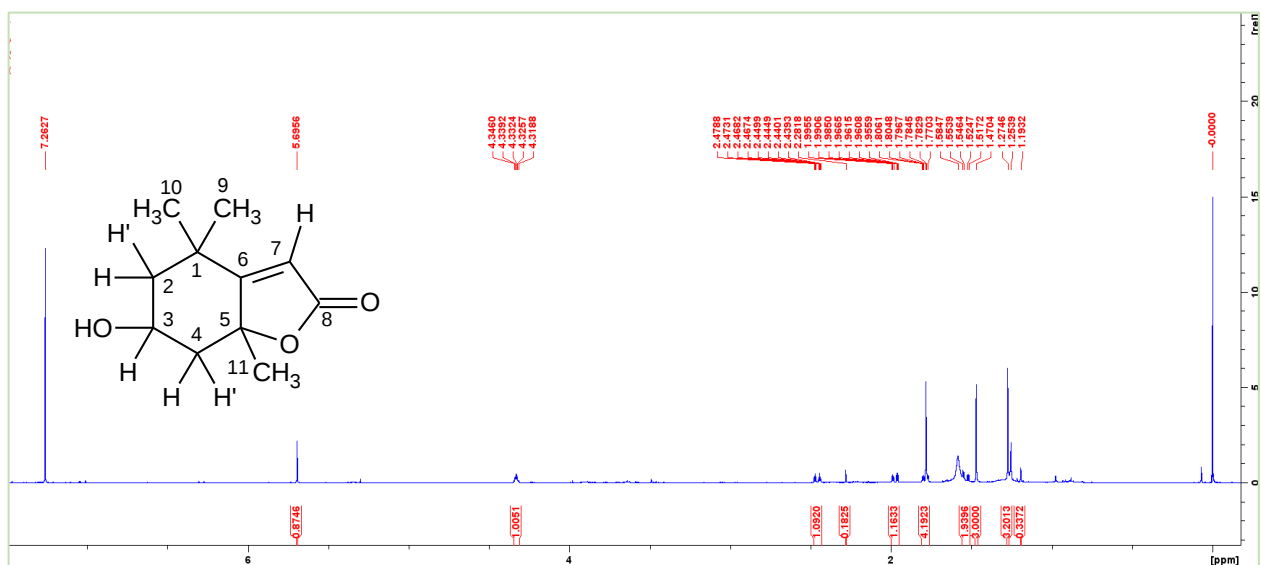


Figura 81. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

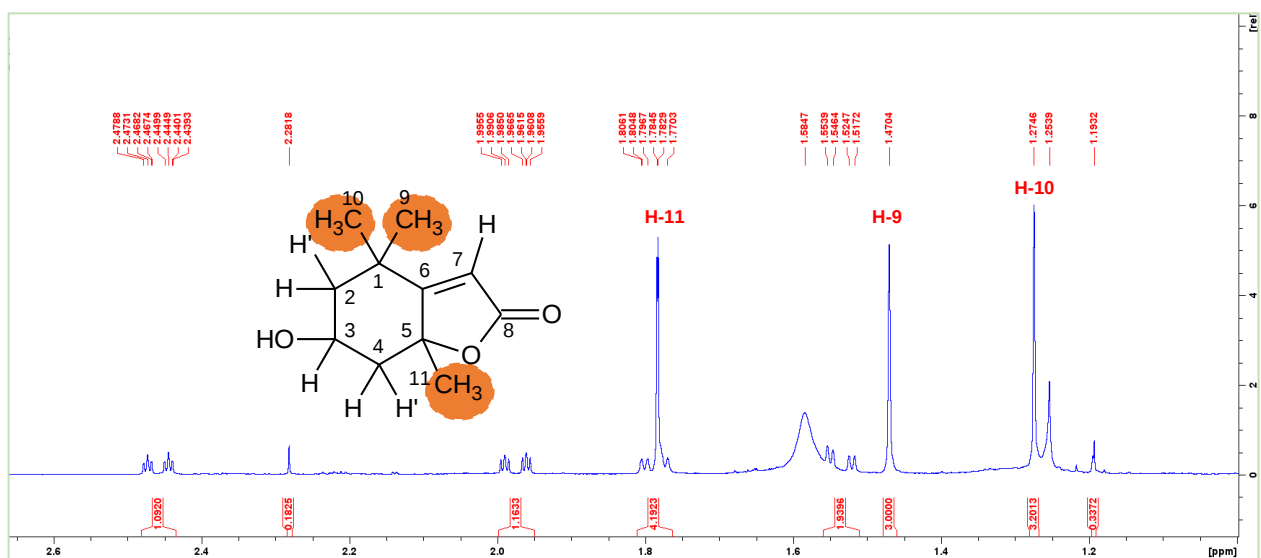


Figura 82. Ampliação (δ 2,6-1,0 ppm) do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

Também, foi observado um sinal em δ 5,70 (1H, s), característico de hidrogênio olefínico, sendo atribuído a H-7 e outro sinal em δ 4,33 (1H, quinteto, $J = 3,4$ Hz), típico de hidrogênio oximetínico, sendo este atribuído a H-3 (Figura 83).

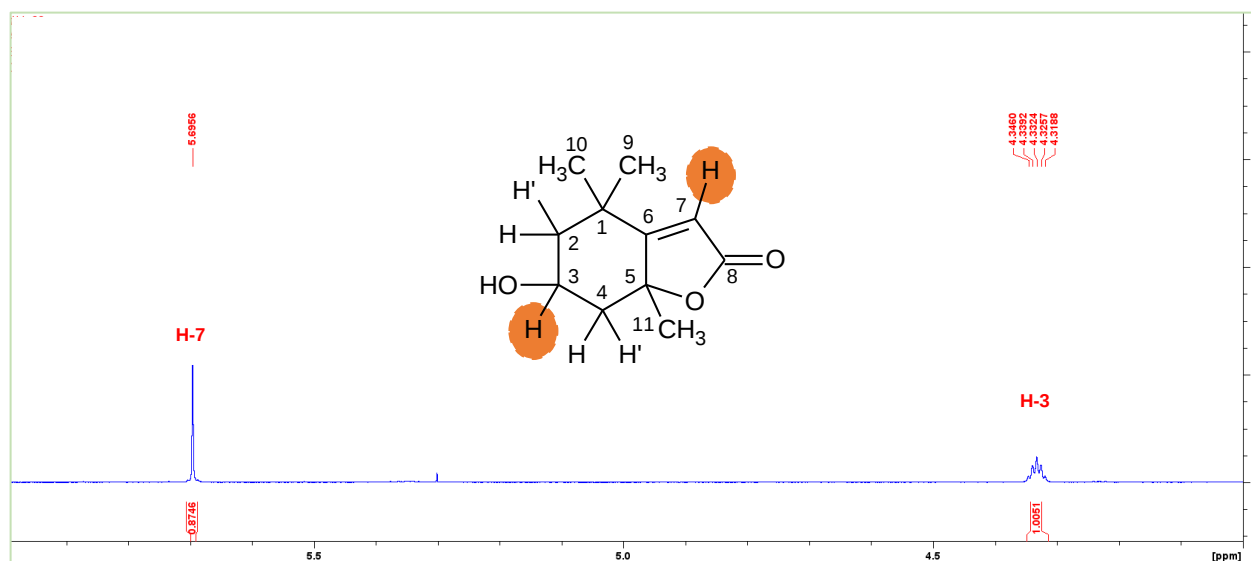


Figura 83. Ampliação em (δ 6,0-4,0 ppm) do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

Pela análise do espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) (Figura 84), DEPT-135 (Figura 85), HSQC (Figura 86) e HMBC (Figura 87) foi verificado a presença de 11 carbonos, sendo três sinais característicos de grupos metila em δ 26,5 (C-9), δ 27,0 (C-11) e δ 30,7 (C-10), um sinal em δ 171,9 característico de carbono carbonílico relativo a C-8, além de um sinal em δ 66,9 característico de carbono oxigenado portador de grupo hidroxila secundária em C-3. Também, foi constatado dois sinais referentes a carbonos olefínicos, sendo eles em δ 182,3 (C-6) e δ 113,0 (C-7). Ademais, foi constatado sinais em δ 45,6, δ 47,3 e δ 35,9, os quais foram atribuídos ao C-4, C-2 e C-1, respectivamente.

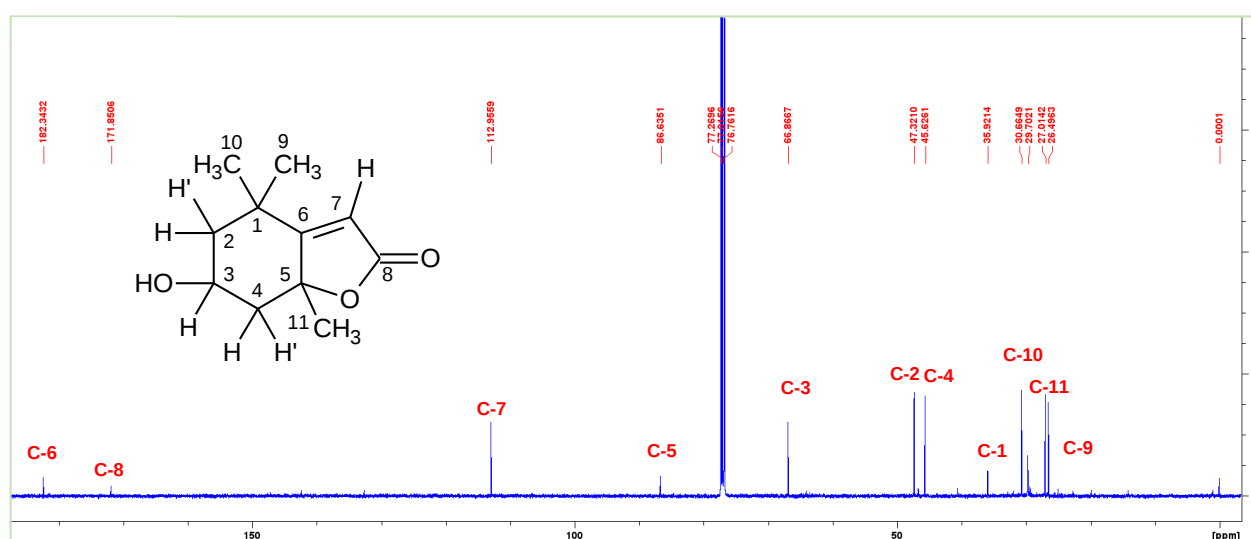


Figura 84. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

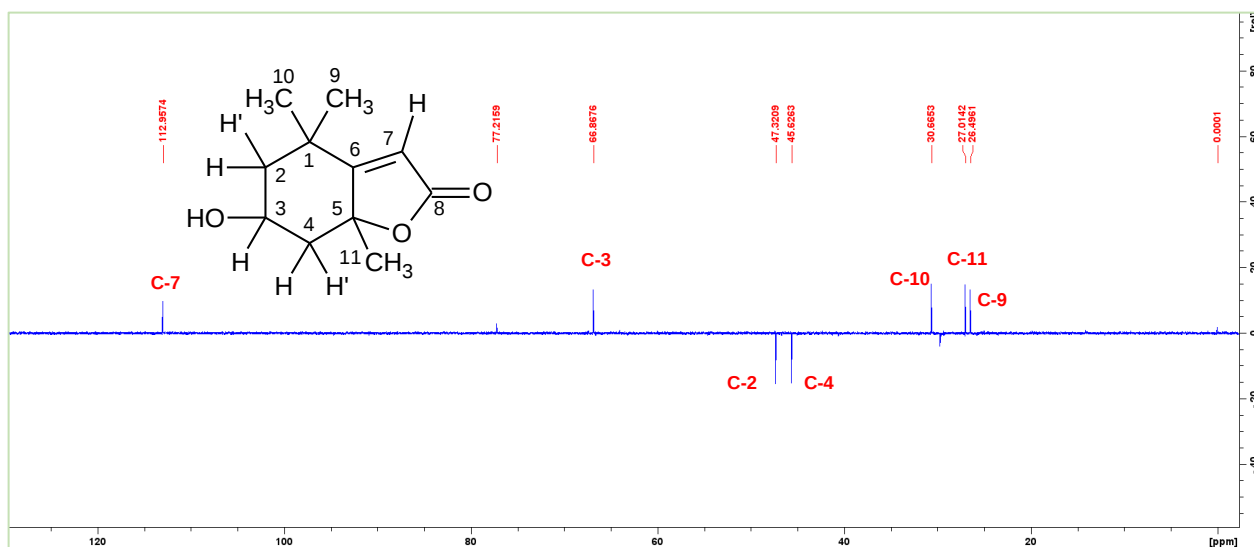


Figura 85. Espectro de DEPT-135 de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

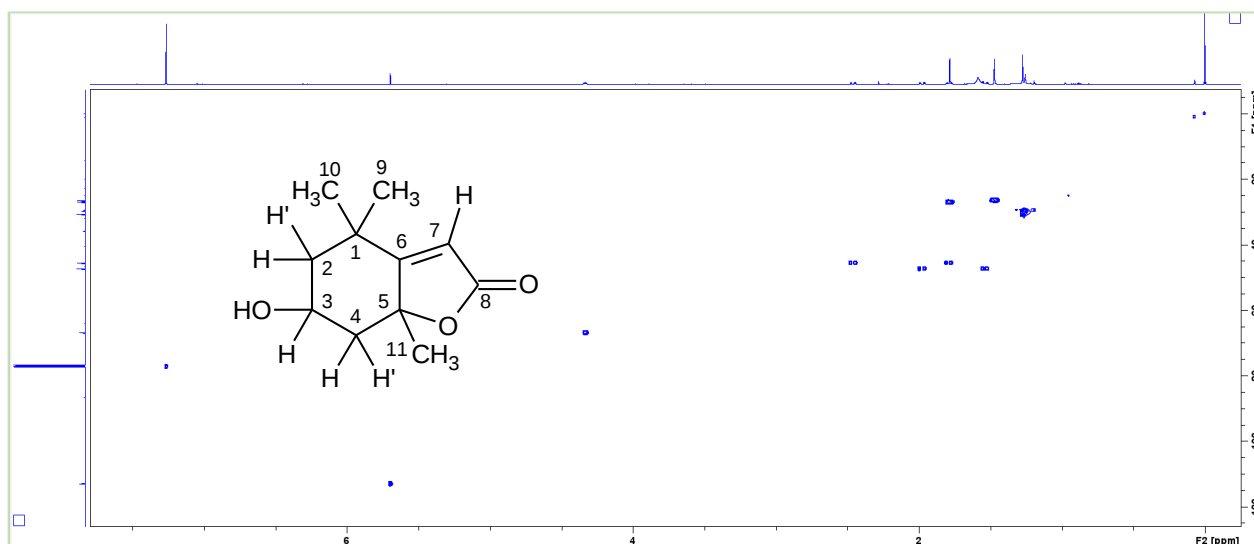


Figura 86. Mapa de correlação HSQC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

O mapa de correlação HMBC (Figuras 87 a 89) mostrou a correlação a 3J do sinal em δ 1,78 (H-11) com o sinal de carbono metilênico em δ 45,6 (C-4) e o sinal de carbono em δ 182,3 (C-6), assim como, a correlação a 2J com o carbono em δ 86,6 (C-5) (Figura 87). Ademais, também foi possível constatar o sinal em δ 1,47 (H-9) correlacionando a 3J com os sinais de carbono em δ 30,7 (C-10), δ 47,3 (C-2) e δ 182,3 (C-6) e 2J com o sinal em δ 35,9 (C-1) (Figura 88) e o sinal em δ 1,27 (H-10) correlacionando a 3J com os sinais de carbono em δ 26,5 (C-9), δ 47,3 (C-2) e δ 182,3 (C-6) e a 2J com o sinal em δ 35,9 (C-1) (Figuras 89).

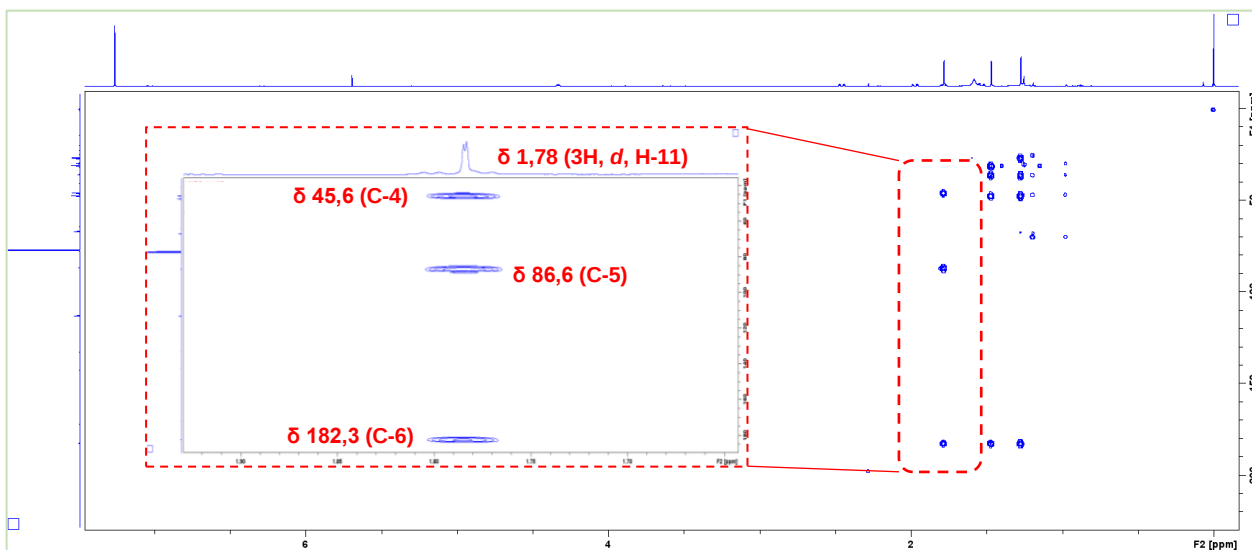


Figura 87. Mapa de correlação HMBC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

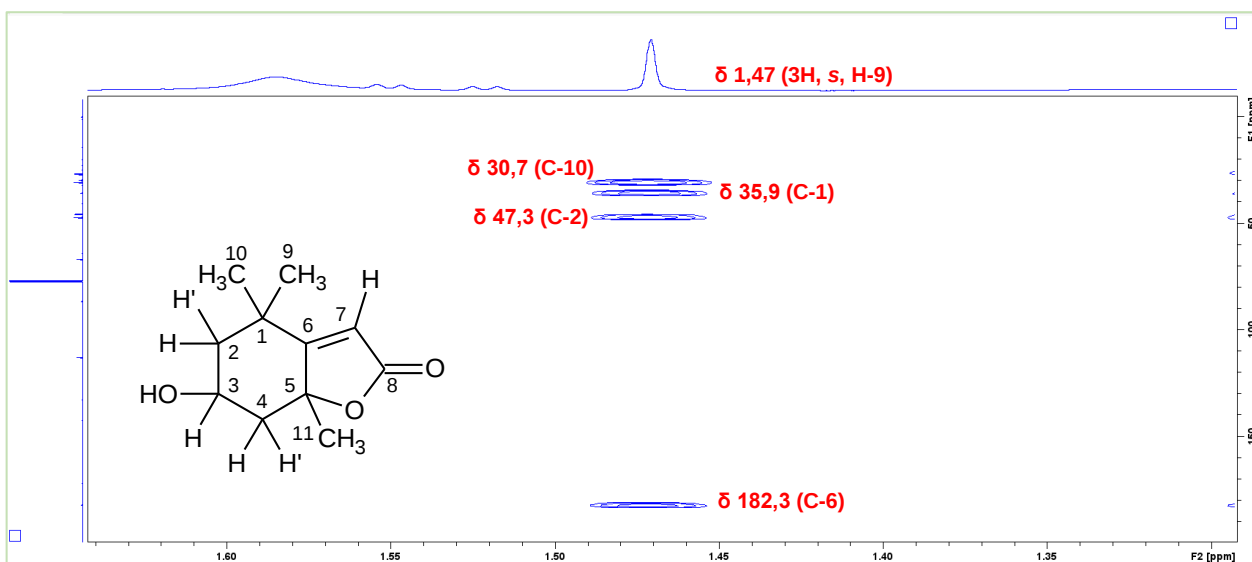


Figura 88. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

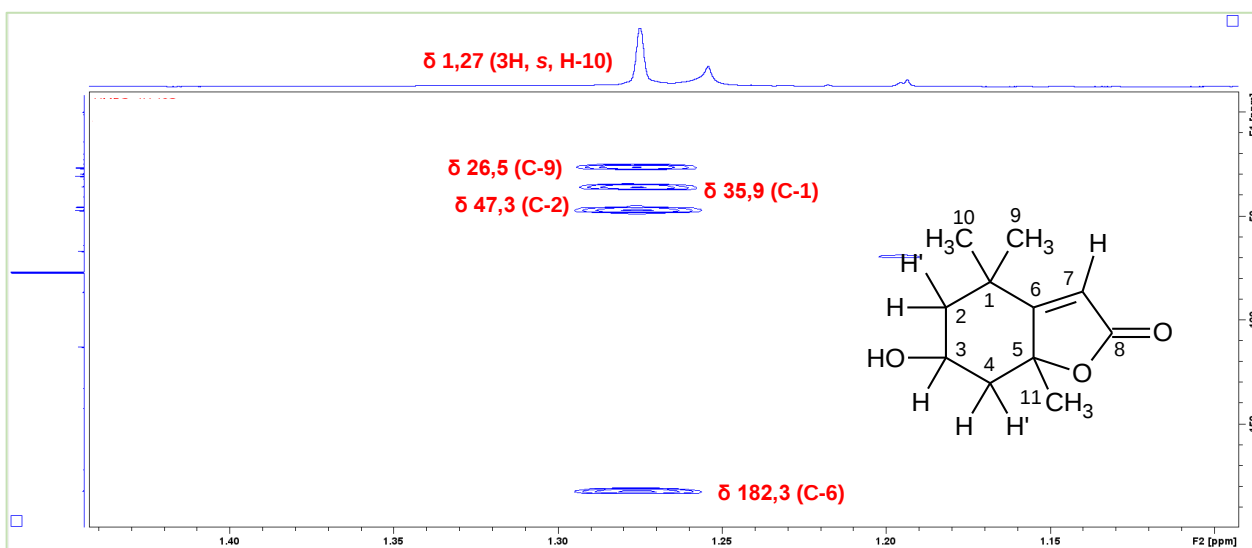


Figura 89. Ampliação do mapa de correlação HMBC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de **AN-4**.

A Tabela 16 apresenta os corretos valores de ^1H , ^{13}C e correlação ^1H - ^{13}C para **AN-7**, os quais foram atribuídos de acordo com dados obtidos pelo espectro de ^1H , ^{13}C , DEPT-135 e os mapas de correlação HSQC e HMBC, assim como os dados da literatura, indicam tratar-se da lactona loliolida.

Tabela 16. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **AN-4**.

Posição	AN-4			loliolida	
	^1H δ (multi., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^{a,b}	HMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (multi., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^d
1	-	35,9 C	-	-	36,0 C
2	1,97 (1H, <i>ddd</i> , 14,6, 2,8 e 2,4)	47,3 CH ₂	-	1,98 (1H, <i>dt</i> , 14,4 e 2,7)	47,2 CH ₂
2'	1,54 (1H, <i>dd</i> , 14,6 e 3,7)		-	1,53 (1H, <i>dd</i> , 14,4 e 3,5)	
3	4,33 (1H, <i>quint.</i> , 3,4)	66,9 CH	-	4,33 (1H, <i>quint.</i> , J = 3,5)	66,8 CH
4	2,46 (1H, <i>ddd</i> , 14,5, 2,9 e 0,4)	45,6 CH ₂	-	2,46 (1H, <i>dt</i> , 14,0 e 2,7)	45,5 CH ₂
4'	1,79 (1H, <i>m</i>)		-	1,79 (1H, <i>dd</i> , 14,0 e 3,5)	
5	-	86,6 C	-	-	86,9 C
6	-	182,3 C	-	-	182,6 C
7	5,70 (1H, <i>s</i>)	113,0 CH	35,9 (C-1), 86,6 (C-5), 171,9 (C-8) e 182,3 (C-6)	5,70 (1H, <i>s</i>)	113,0 CH
8	-	171,9 CO	-	-	171,0 C
9	1,47 (3H, <i>s</i>)	26,5 CH ₃	30,7 (C-10), 35,9 (C-1), 47,3 (C-2) e 182,3 (C-6)	1,47 (3H, <i>s</i>)	26,4 CH ₃
10	1,27 (3H, <i>s</i>)	30,7 CH ₃	26,5 (C-9), 35,9 (C-1), 47,3 (C-2) e 182,3 (C-6)	1,27 (3H, <i>s</i>)	30,6 CH ₃
11	1,78 (3H, <i>d</i> , 0,8)	27,0 CH ₃	45,6 (C-4), 86,6 (C-5) e 182,3 (C-6)	1,78 (3H, <i>s</i>)	27,0 CH ₃

^aExperimento realizado a 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno; ^bMultiplicidades determinadas pelos espectros de ^{13}C , HSQC e HMBC; ^cÁtomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios; ^dConegero et al., 2003 (^1H : 300 MHz; ^{13}C : 75,5 MHz; CDCl_3); (δ) Deslocamentos em ppm.

Assim, após a análise dos dados espectrais obtidos e os dados descritos na literatura (Tabela 16) (Conegero et al., 2003), foi possível confirmar a substância de código **AN-4** como sendo a lactona terpênica conhecida como loliolida (Figura 90).

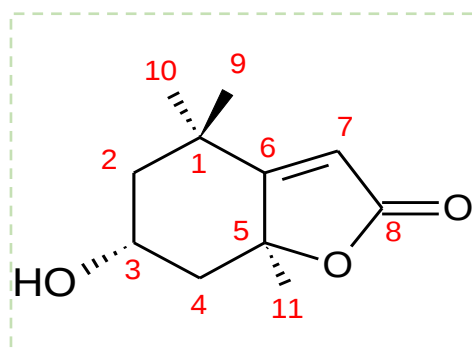


Figura 90. Estrutura da lactona terpênica loliolida.

5.2. Estudo dos constituintes voláteis das folhas de *A. neoinsignis*

A determinação e quantificação dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* foi realizado por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e detector por ionização de chama (CG-DIC). Os compostos voláteis foram identificados por meio de seus respectivos espectros de massas e índices de retenção, sendo comparados com os dados disponíveis na literatura.

O óleo apresentou coloração esverdeada e rendimento de 0,05% para o período de jun/23, 0,18% para jul/24 e 0,07% para out/24, jan/25 e abr/25 e de 0,11% para jul/25, em relação ao peso do material seco. De modo geral, a avaliação da composição química do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*, obtido em diferentes períodos, mostrou variações no que concerne as substâncias identificadas e suas respectivas abundâncias relativas, o qual pode ser observado pelos perfis cromatográficos (Apêndices 7 a 12).

O óleo essencial é constituído majoritariamente por hidrocarbonetos pertencentes as classes dos monoterpenos e sesquiterpenos, como também, seus derivados. Foram identificadas um total de 49 substâncias correspondendo a 98,31% do óleo referente ao período de junho/23, 44 substâncias correspondendo a 99,84% para julho/24, 43 substâncias correspondendo a 96,71% para outubro/24, 31 substâncias correspondendo a 93,23% para janeiro/25, 35 substâncias correspondendo a 92,68% para abril/25 e 44 substâncias correspondendo a 97,46% para julho/25. Ao comparar tais resultados, observa-se que, no geral, os principais constituintes químicos presentes são os mesmos, no entanto, apresentam abundâncias relativas variáveis, tal como o β -elemeno, (*E*)-cariofileno, γ -elemeno, germacreno D e δ -elemeno (Figura 91). Além disso, foi possível verificar a ausência de algumas substâncias, assim como, o aparecimento de outras, variando conforme a época de coleta e da extração do óleo, como pode ser observado na Tabela 17.

A variação nos teores dos constituintes presentes no óleo obtido em épocas diferentes pode estar relacionada ao estágio de desenvolvimento da planta, pois o material vegetal coletado em junho/23 não apresentou botões de flor, os quais são indicadores do período fértil da planta e que foi possível constatar para as folhas coletadas em julho/24, já em relação aos outros períodos, foram observados poucos

botões de flor quando comparado a julho/24. Outros fatores que também podem influenciar na composição química do óleo, mesmo em espécies diferentes pertencentes ao mesmo gênero, referem-se a temperatura, sazonalidade, disponibilidade de água, nutrientes presentes no solo, ritmo circadiano e idade da planta (Soares et al., 2022).

Tais resultados corroboram com aqueles descritos na literatura para os óleos essenciais de espécies de Annonaceae, em especial, aos do gênero *Annona*. A predominância de hidrocarbonetos sesquiterpênicos é frequente para óleos extraído das folhas de plantas pertencentes a esta família (Souza et al., 2021) e os compostos majoritários identificados para o óleo essencial de *A. neoinsignis* são semelhantes aos caracterizados para diferentes espécies do gênero *Annona*, como para o óleo das folhas de *A. coriacea* (Siqueira et al., 2011), *A. vepretorum* (Costa et al., 2012), *A. squamosa* L. (Verma et al., 2016). Ainda, a presença do germacreno D, biciclogermacreno e (*E*)-cariofileno como substâncias mais abundantes, são similarmente relatados na composição química do óleo das folhas de *A. atemoya*, *A. senegalensis*, *A. pickelii*, *A. glabra* e *A. foetida* (Joseph; Dev; Kanchana, 2023).

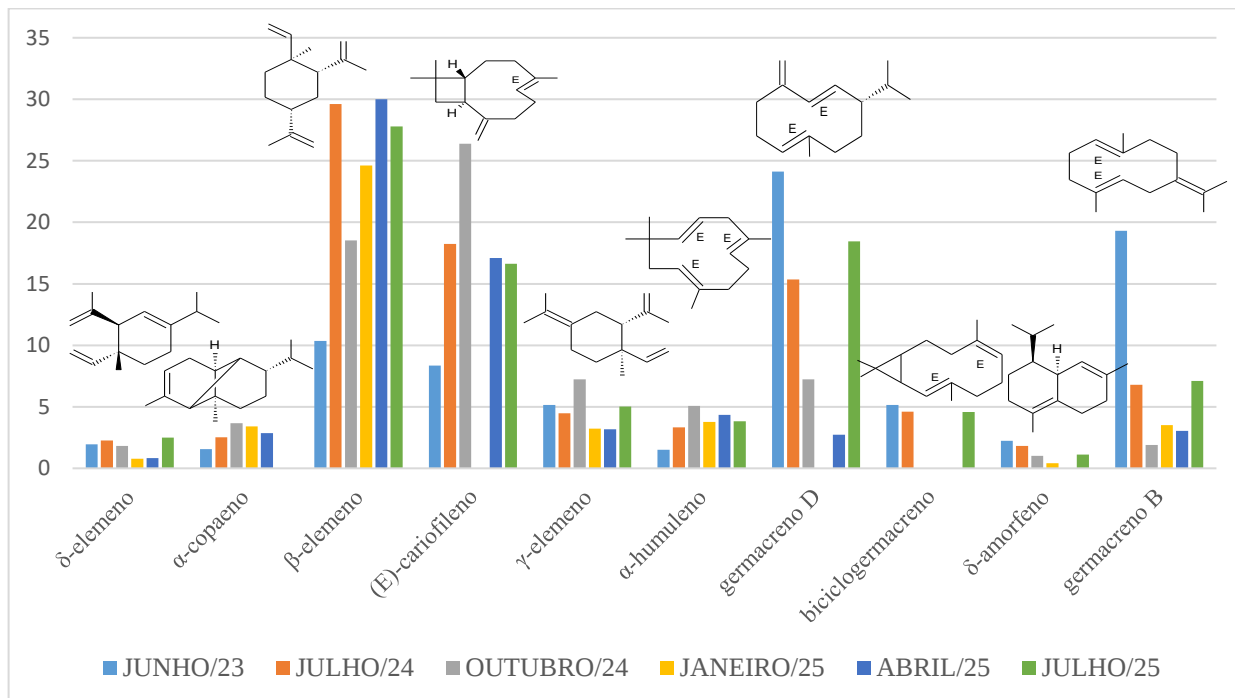


Figura 91. Teor dos principais constituintes voláteis presentes no óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*.
Fonte: Autora (2025).

Tabela 17. Constituintes presentes no óleo essencial das folhas de *Annona neoinsignis* colhidas em diferentes épocas.

Classe	Substância	IR ^a	IR ^b	Jun/2023	Jul/2024*	Out/2024	Jan/2025	Abr/2025	Jul/2025
				%	%	%	%	%	%
Hidrocarboneto Monoterpeno	α-tujeno	925	924	0,05±0,01	-	-	-	-	-
	α-pineno	932	932	0,13±0,04	-	0,15±0,01	-	-	-
	sabineno	971	969	0,20±0,07	-	0,02±0,01	-	-	0,04±0,01
	β-pineno	975	974	0,10±0,02	0,04±0,00	0,17±0,07	-	-	-
	3-ρ-Metene	982	984	-	-	-	-	0,11±0,01	-
	mirceno	989	988	1,01±0,14	0,11±0,01	0,36±0,20	-	0,05±0,00	0,05±0,01
	α-felandreno	1004	1002	0,06±0,01	-	-	-	-	-
	ρ-mentha-1(7),8-diene	999	1003	-	-	-	-	0,02±0,00	-
	α-terpineno	1015	1014	0,08±0,01	-	-	-	-	-
	o-cimeno	1023	1022	0,26±0,07	-	0,08±0,06	0,04±0,01	0,08±0,00	-
	limoneno	1028	1024	0,79±0,12	0,07±0,01	0,26±0,14	0,20±0,03	0,35±0,01	0,06±0,01
	(Z)-β-ocimeno	1036	1032	0,28±0,02	0,04±0,00	0,04±0,01	-	-	0,05±0,01
	(E)-β-ocimeno	1046	1044	0,55±0,06	0,20±0,02	0,06±0,03	0,01±0,00	-	0,47±0,11
	γ-terpineno	1057	1054	0,11±0,01	-	-	-	-	0,02±0,01
	terpinoleno	1084	1086	0,23±0,06	0,02±0,00	-	-	0,05±0,00	0,03±0,01
Monoterpenos oxigenados	óxido cis-linalool (furanoide)	1069	1067	-	-	-	-	0,02±0,00	-
	terpinen-4-ol	1179	1174	0,17±0,07	0,05±0,00	0,04±0,03	0,13±0,01	0,14±0,01	0,04±0,01
	α-terpineol	1194	1186	1,49±0,19	0,24±0,05	0,46±0,33	0,67±0,08	0,39±0,02	0,22±0,05
	linalool	1100	1095	3,04±0,10	0,39±0,02	1,88±0,93	0,84±0,22	0,86±0,04	0,47±0,10
	trans-óxido de limoneno (Me vs. IPP)	1133	1137	-	-	-	-	0,01±0,00	-
	nerol	1224	1227	0,22±0,11	0,01±0,00	-	-	-	-
	geraniol	1250	1249	0,63±0,34	0,04±0,00	0,06±0,03	-	-	-
	perilla aldeído	1274	1269	0,10±0,04	-	-	-	-	-
	acetato de óxido de trans-Linalool (piranoide)	1280	1287	0,17±0,07	-	-	-	-	0,01±0,00
	α-cubebeno	1346	1348	0,40±0,09	0,64±0,07	0,39±0,11	0,39±0,10	0,71±0,02	0,43±0,08
	ciclosativeno	1364	1369	-	-	-	-	-	0,25±0,04
	isolede	1364	1374	-	-	-	0,69±0,16	-	1,87±0,25
	α-ylangeno	1368	1373	0,23±0,03	0,41±0,10	0,68±0,17	-	0,51±0,13	-
	α-copaeno	1375	1374	1,57±0,24	2,52±0,25	3,67±0,48	3,42±1,31	2,87±0,04	-
	β-elemeneno	1390	1389	10,35±0,80	29,61±3,80	18,52±2,46	24,61±8,03	30,00±0,57	27,8±0,70
	α-gurjuneno	1406	1409	0,35±0,07	-	-	-	-	-
	α-cis-bergamoteno	1411	1411	-	-	0,19±0,03	-	-	0,05±0,00
	(Z)-cariofileno	1417	1408	-	-	-	16,63±4,04	-	-
	(E)-cariofileno	1420	1417	8,35±1,00	18,23±0,43	26,38±4,36	-	17,09±0,31	16,63±0,28
	α-trans-bergamoteno	1433	1432	0,49±0,08	0,87±0,02	1,61±0,30	2,32±0,12	0,84±0,04	0,56±0,03

	γ-elemeno	1429	1434	5,16±0,31	4,47±0,04	7,23±0,95	3,23±1,44	3,18±0,06	5,02±0,05
	(Z)-β-Farneseno	1450	1440	-	-	0,05±0,01	-	-	-
	aromadendreno	1449	1439	0,31±0,09	0,05±0,00	0,16±0,05	-	-	0,03±0,01
	6,9-guaiadieno	1444	1442	-	-	-	-	-	0,11±0,08
	cis- muurola-3,5-dieno	1448	1448	-	0,10±0,00	-	-	-	-
	α-humuleno	1455	1452	1,51±0,18	3,33±0,06	5,07±0,23	3,76±0,43	4,35±0,09	3,82±0,02
	allo-aromadendreno	1458	1458	-	-	-	-	-	0,03±0,01
	cis-cadina-1(6),4-dieno	1461	1461	-	0,05±0,00	-	-	-	-
	9-epi-(E)-cariofileno	1471	1464	-	-	-	0,22±0,01	0,57±0,04	-
	γ-muuroleno	1476	1478	0,92±0,20	0,73±0,02	0,87±0,29	5,06±0,59	0,89±0,04	-
	germacreno D	1484	1480	24,11±1,97	15,34±2,13	7,24±3,31	-	2,73±0,11	18,44±0,68
	β-selineno	1489	1489	0,91±0,14	1,69±0,07	2,81±1,16	3,70±0,56	3,10±0,18	0,79±0,06
	γ-amorfenol	1488	1495	-	-	-	-	-	0,10±0,01
	viridifloreol	1492	1496	-	-	-	-	2,36±0,04	-
	α-selineno	1493	1498	-	-	3,20±0,59	3,00±0,19	-	-
	biciclogermacreno	1496	1500	5,15±0,18	4,61±0,15	-	-	-	4,57±0,10
	α-muuroleno	1497	1500	-	0,20±0,01	0,26±0,18	-	0,20±0,05	0,10±0,01
	trans-β-guaieno	1498	1502	-	-	-	-	-	0,11±0,08
	β-bisaboleno	1505	1505	-	-	0,425±0,14	0,87±0,06	0,28±0,02	-
	germacreno A	1507	1508	1,27±0,03	0,82±0,08	-	-	-	-
	δ-amorfenol	1518	1511	2,23±0,33	1,81±0,06	1,02±0,27	0,42±0,03	-	1,12±0,07
	γ-cadineno	1513	1513	0,72±0,09	0,28±0,00	0,31±0,24	0,41±0,08	0,28±0,04	0,14±0,01
	trans-calameneno	1519	1521	-	0,12±0,04	0,05±0,01	0,20±0,04	0,36±0,06	0,16±0,04
	β-sesquifelandreno	1521	1521	-	-	0,01±0,01	-	-	-
	(E)-γ-bisaboleno	1525	1529	-	0,57±0,01	-	-	-	0,40±0,02
	γ-cupreneno	1532	1532	0,23±0,04	-	-	-	-	-
	trans-cadina-1,4-dieno	1529	1533	-	0,21±0,01	0,02±0,02	-	-	0,06±0,01
	α-cadineno	1536	1537	0,55±0,01	0,32±0,01	0,14±0,08	0,82±0,08	-	-
	selina-3,7(11)-dieno	1538	1545	-	0,15±0,00	0,11±0,08	1,33±0,07	-	-
	germacreno B	1561	1559	19,30±0,88	6,80±0,39	1,90±1,06	3,50±0,64	3,05±0,02	7,11±0,18
Sesquiterpeno oxigenado	hedicariol	1543	1546	-	-	-	-	-	0,16±0,01
	(E)-nerolidol	1558	1561	-	-	-	-	0,39±0,08	-
	espatulenol	1576	1577	0,32±0,12	0,28±0,02	0,24±0,08	3,30±1,02	1,69±0,00	0,40±0,02
	óxido de cariofileno	1581	1582	0,19±0,03	0,65±0,02	7,32±3,22	10,00±0,05	11,20±0,17	1,53±0,03
	globulol	1584	1590	-	0,10±0,00	-	-	-	-
	epóxido de humuleno II	1606	1608	-	-	0,88±0,58	1,44±0,40	1,40±0,12	0,07±0,01
	1-epi-cubenol	1626	1627	-	0,33±0,00	-	-	-	-
	cis-Cadin-4-en-7-ol	1628	1635	0,34±0,16	-	-	-	-	-
	epi-α-cadinol	1638	1638	-	-	-	-	-	0,29±0,03

	cubenol	1647	1645	0,25±0,07	0,25±0,01	-	-	-	-
	α-cadinol	1655	1652	0,67±0,18	0,27±0,01	0,06±0,03	0,30±0,05	-	0,59±0,01
	neo-intermedeol	1657	1658	-	0,55±0,01	-	-	-	-
	selin-11-en-4-α-ol	1658	1658	0,27±0,09	-	0,21±0,06	-	1,73±0,09	0,68±0,01
	eudesm-7(11)-en-4-ol	1697	1700	0,09±0,01	-	-	-	-	-
Outros	benzoato de cis-3-hexenila	1570	1565	0,43±0,09	-	-	-	-	-
	(3Z)-benzoato de hexenil	1567	1565	-	-	-	-	-	0,10±0,02
MONOTERPERNOS (%)				9,68	1,22	3,57	1,87	2,07	1,45
SESQUITERPENOS (%)				88,63	98,63	93,14	91,36	90,61	96,00
TOTAL NÃO IDENTIFICADO (%)				1,79	0,15	3,33	6,78	6,94	2,66
TOTAL IDENTIFICADO (%)				98,31	99,84	96,71	93,23	92,68	97,46

IR^a (média dos índices de retenção) calculados na coluna capilar TR-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963), com base em uma série homóloga de alcanos normais. IR^b (índices de retenção) segundo Adams (2007). *Dados retirados de Souza et al. (2025). Na tabela são apresentados os teores e seus respectivos desvio padrão. Em vermelho está o composto majoritário para cada período.

O estudo das variações é importante para entender as interações ecológicas que ocorrem entre a planta e o ambiente. Nesse sentido, os dados meteorológicos foram coletados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) com o intuito de correlacionar tais informações com o teor do óleo essencial obtido em diferentes períodos.

Tabela 18. Dados meteorológicos dos períodos de coleta das folhas de *A. neoinsignis*.

Período - Data	Precipitação (mm)	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Umidade relativa do ar (%)
Junho/23 – 12/06/23	0,0	33,3	24,7	54,0
Julho/24 – 30/07/24	0,0	34,6	27,1	39,0
Outubro/24 – 31/10/24	8,0	31,0	24,8	64,0
Janeiro/25 – 27/01/25	80,0	32,0	23,5	62,0
Abril/25 – 14/04/25	0,0	31,7	23,5	61,0
Julho/25 – 18/07/25	0,0	34,6	26,5	45,0

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em 21 ago. 2025.

Estudos indicam que no verão, onde é observado maior média da temperatura máxima associada a um baixo nível de precipitação média, há uma maior produção de óleo essencial pela maioria dos espécimes, o que pode ser constatado para os óleos essenciais extraídos em julho de 2024 e julho de 2025, os quais exibiram maior rendimento quando comparado aos demais períodos. Ainda, pode-se observar uma relação entre o maior nível de umidade do ar e menores rendimentos de óleo essencial (outubro, janeiro e abril), mesmo ainda que o mês de janeiro tenha apresentado maior precipitação média, indicando assim, que um dos principais fatores que afetam o teor de óleo essencial produzido é a umidade do ar (Tabela 18) (Godinho, 2011). No entanto, não foi possível relacionar de forma convicta os dados climáticos com o composto majoritário produzido pela planta, tendo em vista que o β -elemeno foi o constituinte principal identificado nos óleos essenciais de julho/24, janeiro/25, abril/25 e jul/25.

5.3. Investigação da atividade citotóxica *in vitro* pelo Método Alamar Blue

Os estudos de viabilidade celular e citotoxicidade utilizando o método Alamar Blue (tópico 4.14), tem sido empregue em uma variedade de sistemas biológicos e ambientais nas últimas décadas, sendo considerado uma importante referência para o estudo com substâncias. O produto ativo (resazurina), possui alta sensibilidade e linearidade, flexibilidade (pode ser usado com diferentes tipos de células), escalável,

podendo ser usado com programas instrumentais baseados em fluorescência e/ou absorvância, além de ser solúvel em água, não tóxico e não radioativo, justificando a sua grande aplicabilidade devido, principalmente, a segurança, tanto para o usuário como para o meio ambiente (Baharum et al., 2016; Rampersad, 2012, O'Brien et al., 2000).

Conforme descrito na literatura, são considerados ativos óleos, extratos e frações capazes de inibir ao menos 75% da proliferação celular e que apresentam valores de CI_{50} inferiores a 30,0 $\mu\text{g/mL}$ (Suffness; Pezzuto, 1991; Boik, 2001). Ainda, de acordo com Badisa et al. (2009) e Monks et al. (1991), os critérios utilizados para avaliação da atividade citotóxica de substâncias puras, com base em valores de referência confiáveis na literatura científica, são: $CI_{50} \leq 10 \mu\text{g/mL}$ → Muito ativa, CI_{50} entre 10 e 20 $\mu\text{g/mL}$ → Atividade moderada e $CI_{50} > 20 \mu\text{g/mL}$ → Atividade fraca.

A partir disso, o protocolo estabelecido pelos pesquisadores do Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia (LETI) do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, Bahia, considera ativas as amostras que inibem cerca de 75% da proliferação das células tumorais, afim de dar continuidade a investigação do cálculo de CI_{50} para as células tumorais testadas.

5.3.1. Investigação da atividade citotóxica do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*

O resultado obtido da atividade citotóxica do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*, obtido no período de jun/23, está apresentado na Tabela 19. O óleo foi testado na concentração única de 50,0 $\mu\text{g/mL}$ frente as linhagens de células tumorais HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), HCT116 (carcinoma de cólon humano) e B16-F10 (melanoma murino) exibindo resultados significativos de atividade citotóxica, apresentando valores de CI_{50} próximos a 30,0 $\mu\text{g/mL}$ para as três células tumorais testadas. Além disso, o óleo apresentou baixa citotoxicidade frente a célula não tumoral testada.

Tabela 19. Índice de inibição da proliferação celular em linhagens de células tumorais para o óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*.

Amostra	CI ₅₀ (µg/mL) ^a			
	HCT116	HepG2	B16-F10	MRC-5
Junho/23	28,71 21,69 - 38,01	27,90 21,13 - 36,84	-	>50
Outubro/24	39,77 32,09 – 49,28	-	22,73 19,41 – 26,61	49,41 40,85 – 59,76
Janeiro/25	39,63 32,49 – 48,34	-	22,16 19,87 – 24,70	45,74 40,35 – 51,84
Abril/25	23,04 19,15 – 27,72	-	20,59 17,92 – 23,66	38,28 31,44 – 46,60
Doxorrubicina^b	0,05 0,03 - 0,07	0,02 0,001 - 1,11	-	1,96 1,37 - 2,80
	0,08	-	0,01	0,86
	0,04 – 0,15	-	0,13 – 0,05	0,61 – 1,21

^aA tabela apresenta os valores de CI₅₀ (concentração inibitória média) e o respectivo intervalo de confiança de 95% obtido a partir de três experimentos independentes realizados em duplicata pelo método do Alamar blue após 72 horas de exposição com as células HCT116 (carcinoma de colón humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), B16-F10 (melanoma murino) e MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano) obtidos por regressão não-linear através do programa GraphPad Prisma versão 5.0; ^bDoxorrubicina foi utilizada como controle positivo.

Pelos resultados obtidos, pode-se observar que os óleos essenciais mostraram ser mais citotóxicos frente à célula tumoral B16-F10, com valores muito abaixo de 30,0 µg/mL, apresentando como seus constituintes majoritários os sesquiterpenos (*E*)-cariofileno, β-elemeno e germacreno D. Nesse contexto, estudos prévios apontam que o germacreno-D, frequentemente encontrado nas folhas, foi considerado como sendo o responsável pela atividade citotóxica apresentada pelo óleo de *Pinus eldarica* Medw., como também, presume-se que o efeito sinérgico deste sesquiterpeno juntamente com o biciclogermacreno exibem efeito citotóxico. Além disso, os sesquiterpenos do tipo elemeno, são descritos como inibidores de proliferação e estimulantes de apoptose, sendo ainda, o β-elemeno associado a atividade anticancerígena frente as células do cérebro, laringe, pulmão, mama, próstata, colo do útero, cólon e do ovário (Lemes et al., 2017).

Ademais, o óleo essencial obtido em julho de 2024 foi submetido aos estudos *in vitro* e *in vivo* frente as linhagens tumorais HepG2 (câncer de fígado humano), HCT116 (câncer de cólon humano), MCF-7 (câncer de mama humano), MD-MB-231 (câncer de mama humano), 4T1 (câncer de mama em comundongos) e B16-F10 (melanoma de comundongo), além da célula não tumoral MRC-5 (fibroblasto de

pulmão humano), apresentando valores de IC₅₀ de 27,90, 24,35, 37,50, 31,78, 21,64 e 12,28 µg/mL, respectivamente. Os resultados obtidos indicam que o óleo essencial de *A. neoinsignis* foi capaz de causar a morte celular apoptótica em células de câncer de fígado, como também, reduziu o crescimento tumoral em um modelo de xenoenxerto de câncer de fígado humano, o que sugere esta espécie com uma fonte natural de fármacos com efeitos antitumorais (Souza et al., 2025).

Ressalta-se que estes constituintes sesquiterpênicos são comumente encontrados nos óleos essenciais de espécie de Annonaceae, os quais possuem relatos de atividade citotóxica comprovada, como para o óleo essencial das folhas de *Xylopia laevigata* (Mart.) R.E.Fr. (constituído de 43,6% de germacreno D), *Guatteria australis* A.St.-Hil. (constituído de 50,6% de germacreno B; 22,2% de germacreno D; 8,9% de (*E*)-cariofileno), *Annona atemoya* Mabb (constituído de 42,8% de germacreno D) e *A. squamosa* (constituído de 22,9% de (*E*)-cariofileno e 21,3% de germacreno D) (Cascaes et al., 2021; Joseph; Amala Dev; Kanchana, 2023).

5.3.2. Investigação da atividade citotóxica dos extratos das folhas de *A. neoinsignis*

O resultado obtido da atividade citotóxica dos extratos das folhas de *A. neoinsignis* está apresentado na Tabela 20. O extrato metanólico (EMFAN) e o extrato hexânico (EHFAN) foram testados na concentração única de 50,0 µg/mL frente as linhagens de células tumorais HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) e HCT116 (carcinoma de cólon humano), em que os resultados obtidos mostram que nenhum dos extratos inibiram pelo menos 75% da proliferação das células tumorais HepG2 e HCT116, indicando uma baixa atividade, podendo ser atribuída a alta concentração de clorofila presente em ambos os extratos. Por outro lado, a fração neutra e alcaloídica foram submetidas ao mesmo ensaio com a finalidade de se observar algum efeito citotóxico após o tratamento ácido-base, no entanto, os ensaios ainda não foram concluídos.

Tabela 20. Índice de inibição da proliferação celular em linhagens de células tumorais para os extratos das folhas de *A. neoinsignis*.

Amostra	Inibição da proliferação celular (%) ^a	
	HCT116	HepG2
EMFAN	14,86 ± 0,59	4,46 ± 0,53
EHFAN	1,76 ± 0,34	1,96 ± 0,89
Doxorrubicina ^b	83,74 ± 4,08	81,17 ± 0,85

^aA tabela apresenta os valores em porcentagem de inibição da proliferação celular e o respectivo intervalo de confiança de 95% obtido a partir de três experimentos independentes realizados em duplicata pelo método do Alamar blue após 72 horas de exposição com as células HCT116 (carcinoma de cólon humano) e HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) obtidos por regressão não-linear através do programa GraphPad Prisma versão 5.0; ^bDoxorrubicina foi utilizada como controle positivo.

5.3.3. Investigação da atividade citotóxica das substâncias isoladas de *A. neoinsignis*

Os alcaloides são conhecidos por possuírem uma variedade de atividades biológicas, tais como antioxidante, antidepressivo, antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica e, entre outras. Dentre as propriedades biológicas relatadas, a citotoxicidade contra células tumorais é a mais retratada, sendo amplamente investigada e tendo em vista futuras aplicações medicinais por meio do seu uso para eliminação e/ou regressão de células cancerosas (Aniszewski, 2007; Egydio-Brandão et al., 2017).

Os alcaloides e a lactona terpênica isolados das folhas de *A. neoinsignis* foram submetidos aos ensaios de atividade citotóxica contra três linhagens de células tumorais: HCT116 (carcinoma de cólon humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) e HL-60 (leucemia humana), além de uma linhagem não tumoral MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano), com o intuito de avaliar suas propriedades biológicas frente a células tumorais e não tumorais (Tabela 21).

Tabela 21. Índice de inibição da proliferação celular em linhagens de células tumorais para as substâncias isoladas das folhas de *A. neoinsignis*.

Substância	IC ₅₀ µg/mL (µmol/L) ^a			
	HCT116	HepG2	HL-60	MRC-5
Liriodenina (AN-1)	NA	2,33 (8,46) 1,90 – 2,86	1,65 (5,99) 1,20 – 2,43	10,11 (36,72) 8,12 –13,75
Lisicamina (AN-2)	6,82 (23,41) 5,57 – 8,95	8,41 (28,87) 4,80 – 14,71	7,11 (24,40) 4,43 –11,39	18,15 (62,30) 11,09 –29,76
Nornuciferina (AN-3a)	NA	>25 (88,87)	>25 (88,87)	>25 (88,87)
Anonaina (AN-3b)	NA	15,17 (57,17) 12,52 – 17,25	12,74 (48,02) 8,76 –14,82	>25 (94,22)
Asimilobina (AN-5)	>25 (93,52)	>25 (92,52)	>25 (93,52)	>25 (93,52)
Estefolidina (AN-6)	>25 (76,36)	>25 (76,36)	>25 (76,36)	>25 (76,36)
Loliolida (AN-4)	>25 (127,39)	>25 (127,39)	>25 (127,39)	>25
Doxorrubicina^b	0,50 (0,86) 0,31 – 0,82	0,23 (0,39) 0,12 – 0,44	0,03 (0,05) 0,01 – 1,07	1,42 (2,44) 0,22 – 2,12

^aA tabela apresenta os valores de CI₅₀ (concentração inibitória média) e o respectivo intervalo de confiança de 95% obtido a partir de três experimentos independentes realizados em duplicata pelo método do Alamar blue após 72 horas de exposição com as células HCT116 (carcinoma de colón humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), HL-60 (leucemia humana) e MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano) obtidos por regressão não-linear através do programa GraphPad Prisma versão 5.0; ^bDoxorrubicina foi utilizada como controle positivo. NA (não avaliado) devido a viabilidade da linhagem tumoral (contaminação).

Assim, os resultados obtidos mostram que os alcaloides liriodenina e lisicamina possuem forte atividade citotóxica (CI₅₀ < 10 µg/mL) mas também, apresentam citotoxicidade moderada frente as células não tumorais, enquanto o alcaloide anonaina exibiu moderada atividade citotóxica frente as células tumorais HepG2 e HL-60 e baixa citotoxicidade frente a células não tumorais.

O estudo realizado por Costa e colaboradores (2024) evidenciou que o alcaloide oxoaporfino lisicamina exibe forte atividade contra células HCT116 (carcinoma de colón humano), com um valor de CI₅₀ de 6,64 µg/mL (2,79 µmol/L), assim como, este alcaloide exibiu valor de CI₅₀ de 3,9 µg/mL (1,1 µmol/L) para células de MCF-7 (carcinoma de mama humano), sendo considerado ativo (Kwan et al., 2015). A lisicamina apresentou-se ativa frente as linhagens de células tumorais HL-60 (leucemia promielocítica humana), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) e K562 (leucemia mieloide crônica humana), com valores de CI₅₀ de 4,24, 28,86 e 38,75 µmol/L, respectivamente, demonstrando a promissora atividade citotóxica dessa substância (Souza et al., 2020). Em relação a liriodenina, a investigação da atividade

citotóxica deste alcaloide frente as células B16-F10 (melanoma de camundongo), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), HL-60 (leucemia promielocítica humana) e K562 (leucemia mielocítica crônica humana), mostrou valores de CI_{50} de 10, 8,3, 5,5 e 5,0 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Costa et al., 2016), podendo observar que os resultados obtidos para esses dois alcaloides estão de acordo com dados descritos na literatura.

Wu e colaboradores (1989) desenvolveram um estudo para avaliar a citotoxicidade de 53 alcaloides isoquinolinos e os seus *N*-óxidos frente as células tumorais A-549 (carcinoma de pulmão humano), HCT-8 (carcinoma de cólon humano), KB (carcinoma epidérmico de boca) e P-388 / L-1210 (leucemia promielocítica). Entre os vários esqueletos estruturais analisados, como tetraidroprotoberberinos, protoberberinos, aporfinos, morfinanodienonas, oxoaporfinos, fenantrenos e seus derivados *N*-óxidos, os oxoaporfinos se destacaram por apresentarem uma atividade mais significativa, sendo o alcaloide liriodenina o mais citotóxico contra todas as linhagens de células testadas. Devido a isso, as propriedades biológicas deste alcaloide têm sido amplamente investigadas, principalmente, em relação ao seu potencial citotóxico (Lúcio et al., 2015; Costa et al., 2016).

Considerando a relação estrutura-atividade dos alcaloides de esqueleto oxoaporfino, a promissora atividade citotóxica apresentada por eles, sugere uma forte contribuição da função *oxo*, a qual permite que a molécula assuma uma conformação plana devido a hiperconjugação na estrutura, tornando o efeito citotóxico mais pronunciado. Tal afirmação pode ser comprovada ao comparar a atividade citotóxica entre os oxoaporfinos e os aporfinos (não possuem a função *oxo*), onde é possível observar uma redução significativa da atividade. Entretanto, alcaloides aporfinos que continham um grupo 1,2-metilenodioxi, exibiram promissora atividade citotóxica frente as células tumorais testadas, propondo que esse grupo funcional é um componente essencial para sua bioatividade (Wu et al., 1989; Pang et al., 2014). Mas ainda, Menezes (2015) atestou que o grupo 1,2-metiledioxi não concede propriedades citotóxicas aos aporfinoides por si próprio, pois foi verificado que alcaloides que apresentaram ausência de substituinte metoxila na posição 9 do anel D do sistema aporfino, não exibiram citotoxicidade, apontando outro elemento crucial na atividade citotóxica apresentada pelos alcaloides aporfinos, fator que também foi relatado por Pang et al. (2014). Estas afirmações podem ser observadas quanto aos ensaios

citotóxicos realizados com os alcaloides aporfinos anonaina e nornuciferina, que exibem baixa ou moderada atividade citotóxica (Li et al., 2013; Li et al., 2014).

Ainda, Stévigny; Bailly; Quetin-Leclercq (2005) revelaram que a liriodenina apresentou valor de CI_{50} de 48 $\mu\text{g/mL}$, enquanto a lisicamina mostrou CI_{50} de 500 $\mu\text{g/mL}$ para as células Vero, mostrando que a liriodenina é mais ativa que a lisicamina. Levando em consideração a relação estrutura-atividade destes alcaloides, verifica-se novamente que a inativação da atividade citotóxica está relacionada de alguma forma ao grupo metilenodióxi.

Em relação aos alcaloides de esqueleto tetraidroprotoberberino, estudos precedentes da atividade antitumoral *in vitro*, tem indicado que estes apresentam baixa ou moderada citotoxicidade contra células tumorais (Kim et al., 2010; Costa et al., 2013; Menezes et al., 2016; Santos et al., 2018). A exemplo, o alcaloide estefolidina mostrou moderada atividade citotóxica contra as células de MCF-7 (câncer de mama), apresentando valor de IC_{50} de 16,56 $\mu\text{g/mL}$ (Chang et al., 2006).

As lactonas apresentam diversas propriedades biológicas, especialmente, aquelas relacionadas a atividade anti-inflamatória e anticâncer (Surowiak et al., 2021). Um estudo realizado por Grabarczyk et al. (2015) com a lactona loliolida, mostrou a sua capacidade em inibir o crescimento de células tumorais de carcinoma nasofaríngeo humano (KB) e leucemina linfocítica murina (P-388), indicando ser um eficiente agente anticancerígeno.

A partir disso, tendo como base os resultados obtidos dos ensaios citotóxicos e, também, os dados descritos na literatura, conclui-se que estas substâncias demonstram promissora atividade citotóxica, mostrando-se necessário realizar novas investigações, a fim de definir de maneira mais assertiva a toxidade dessas substâncias, em busca de novos fármacos com ação antitumoral e proveniente de fontes naturais.

5.4. Importância quimiofenética

O estudo fitoquímico da fração alcaloídica e do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*, utilizando as técnicas cromatográficas clássicas e, em conjunto com as técnicas espectroscópicas e espectrométricas, possibilitou a identificação e

quantificação de diferentes compostos voláteis (óleo essencial), como também, o isolamento e identificação de sete substâncias já descritas na literatura (fração alcaloídica), porém, vale ressaltar, que todos são descritos pela primeira vez na espécie.

A Tabela 22 apresenta os alcaloides e a lactona isolados e sua importante relevância quimiofenética para o gênero *Annona*, podendo ser encontrados em diversas espécies, contribuindo para o conhecimento botânico da espécie, gênero e família em estudo, como também a filogenia, levando também em consideração os constituintes químicos.

Tabela 22. Importância quimiofenética dos alcaloides e a lactona isolados das folhas da *A. neoinsignis*.

Alcaloide	Espécie de <i>Annona</i>	Referência
asimilobina	<i>A. salzmännii</i>	De Oliveira Teles et al., 2015
	<i>A. tomentosa</i>	Lima et al., 2024
	<i>A. muricata</i>	Riley-Saldaña et al., 2017
	<i>A. senegalensis</i>	Lall et al., 2017
	<i>A. pickellii</i>	Costa et al., 2015; Dutra et al., 2012
	<i>A. atemoya</i> (<i>Annona cherimola</i> × <i>Annona squamosa</i>)	Rabêlo et al., 2015
liriodenina	<i>A. salzmännii</i>	De Oliveira Teles et al., 2015
	<i>A. vepretorum</i>	De Oliveira Teles et al., 2015
	<i>A. pickellii</i>	Costa et al., 2015; Dutra et al., 2012
	<i>A. atemoya</i> (<i>Annona cherimola</i> × <i>Annona squamosa</i>)	Rabêlo et al., 2015
	<i>A. coriacea</i>	Rocha et al., 2021b
	<i>A. amazonica</i>	Pinheiro et al., 2009
lisicamina	<i>A. glabra</i> Linn	Enema et al., 2024
	<i>A. vepretorum</i>	De Oliveira Teles et al., 2015
	<i>A. emarginata</i>	Da Silva et al., 2024
	<i>A. atemoya</i>	Egydio-Brandão et al., 2017
	<i>A. pickellii</i>	Egydio-Brandão et al., 2017; Dutra et al., 2012
	<i>A. reticulata</i>	Egydio-Brandão et al., 2017
	<i>A. sericea</i>	Egydio-Brandão et al., 2017
	<i>A. squamosa</i>	Egydio-Brandão et al., 2017
	<i>A. tomentosa</i>	Pinheiro et al., 2024
estefolidina	<i>A. pickellii</i>	Costa et al., 2015
	<i>A. muricata</i>	
nornuciferina	<i>A. pickellii</i>	Lúcio et al., 2015
	<i>A. sericea</i>	
	<i>A. muricata</i>	
anonaina	<i>A. montana</i>	Lúcio et al., 2015
	<i>A. purpurea</i>	

Ioliolida	<i>A. senegalensis</i>	
	<i>A. salzmannii</i>	
	<i>A. squamosa</i>	
	<i>A. coriacea</i>	Rocha et al., 2021
	<i>A. muricata</i>	Swantara et al., 2022
	<i>A. reticulata</i>	Khatun et al., 2022

A estefolidina já foi relatada em outras espécies de Annonaceae, como em *Onychopetalum amazonicum* R.E. Fr. (Lima, 2015), *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff. (Tavares et al., 2005) e em *Polyalthia longifolia* (Sonn.) Thwaites (Dattatray; Baburao; Shivaji, 2021), assim como, a lactona terpênica loliolia foi identificada nas folhas de *Pseudroxandra leiophylla* (Diels) (Neto, 2021) e *Duguetia pycnastera* A. St.-Hil. (Nardelli et al., 2021). A identificação dos alcaloides asimilobina, liriodenina, lisicamina, anonaina e nornuciferina corroboram com a afirmação de que estas substâncias são marcadoras quimiofenéticas do gênero *Annona*, como também, da família Annonaceae (Corrêa et al., 2022; De Oliveira Teles et al., 2015; Brar et al., 2014; Anaya-Esparza et al., 2020; Rabêlo et al., 2015, Lúcio et al., 2015).

O estudo dos constituintes químicos voláteis do óleo essencial das folhas, também é uma forma de contribuir para o conhecimento quimiofenético do gênero, uma vez que a composição química deste óleo exibiu similaridades com estudos anteriores realizados em diferentes espécies do gênero *Annona* (Cascaes et al., 2021; Joseph; ya Dev; Kanchana, 2023; Campos et al., 2019; Souza et al., 2021). Estes resultados demonstram a importância do estudo fitoquímico de espécies de *Annona* ainda não estudadas, a fim de enriquecer o conhecimento químico e farmacológico do gênero, como também, da família.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo fitoquímico da fração alcaloídica (FAFAN) proveniente do extrato metanólico (EMFAN) das folhas de *A. neoinsignis*, levou ao isolamento de sete substâncias pertencentes a classe dos alcaloides e lactona terpênica, sendo o primeiro relato destas substâncias na espécie. As substâncias foram identificadas estruturalmente com base nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C 1D/2D e comparação com os dados da literatura. Assim, foram identificados dois alcaloides do tipo oxoaporfino: liriodenina (**AN-1**) e lisicamina (**AN-2**); três alcaloides do tipo aporfino *sensu stricto*: normuciferina (**AN-3a**), anonaina (**AN-3b**) e assimilobina (**AN-5**); um alcaloide tetraidroprotoberberino: estefolidina (**AN-6**) e uma lactona terpênica: lolilida (**AN-4**).

O estudo do óleo essencial das folhas por CG/EM, extraído em seis épocas diferentes, resultou na identificação e quantificação dos constituintes químicos voláteis, evidenciando a presença majoritária dos sesquiterpenos, sendo os principais o germacreno D, β -elemeno, (*E*)-cariofileno, γ -elemeno e δ -elemeno, variando em suas abundâncias relativas de acordo com a época de coleta. Ainda, de acordo com dados meteorológicos obtidos para as datas das coletas das folhas, pode-se observar uma relação do rendimento do óleo essencial produzido com a temperatura, umidade e precipitação.

O ensaio de citotoxicidade *in vitro* dos extratos e do óleo essencial, assim como, o estudo da citotoxicidade das substâncias isoladas com dados descritos na literatura, indica o potencial antitumoral da espécie em estudo. O óleo essencial de junho/23 apresentou pronunciada atividade citotóxica frente as linhagens tumorais HCT116 e HepG2, com valores de CI_{50} de 28,71 $\mu\text{g/mL}$ e HepG2 27,90 $\mu\text{g/mL}$, enquanto que o óleo de julho/24 apresentou promissora atividade citotóxica frente a linhagem tumoral B16-F10 (Souza et al., 2025) e, ambos não apresentaram toxicidade para as células saudáveis MRC-5 ($> 50,0 \mu\text{g/mL}$). Os alcaloides oxoaporfinos liriodenina e lisicamina apresentaram-se como fortemente ativos, enquanto a anonaina apresentou moderada atividade citotóxica contra as células tumorais e baixa citotoxicidade frente as células não tumorais, justificando a possibilidade em continuar o estudo fitoquímico da espécie.

Os resultados obtidos corroboram com as características químicas descritas para a família Annonaceae, indicando que a *A. neoinsignis* é uma espécie pertencente a ela, além de ser uma fonte promissora de substâncias bioativas, contribuindo assim, para o conhecimento quimiotaxonômico da família, assim como, do gênero, uma vez que as substâncias isoladas e identificadas são frequentemente encontradas no gênero *Annona*, bem como, na família Annonaceae.

Os resultados obtidos tanto do estudo fitoquímico como do estudo de atividade antitumoral para as folhas é descrito pela primeira vez para a espécie em estudo, o que nos sugere a continuação do estudo com essa espécie com outras partes da planta frente ao ensaio de atividade antitumoral proposto neste trabalho, bem como outras atividades como antiparasitária, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, entre outras.

Os resultados inéditos obtidos neste trabalho ainda contribuem para o conhecimento fitoquímico e farmacológico das espécies de Annonaceae do Amazonas, reconhecendo-as como novas fontes de substâncias bioativas a serem investigadas como modelos na busca por tratamentos alternativos frente a diversas doenças. Além disso, por possuir também frutos comestíveis geram também valor agregado para a espécie com base no seu potencial biológico, levando a sua preservação e a sua exploração sustentável, principalmente para a população de baixa renda.

7. PRODUÇÃO CIENTÍFICA 2023-2025

Aqui estão listadas as referências dos trabalhos desenvolvidos e publicados no período de 18 meses de mestrado, o que inclui um artigo publicado, uma apresentação em pôster referente aos resultados obtidos do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis*, e mais três trabalhos desenvolvidos em colaboração.

1. SOUZA, M.P.; CASTRO, M.V.L.; BARBOSA, G.A.C.; CARVALHO, S.G.; COELHO, A.M.R.M.; DIAS, R.B.; SOARES, M.B.P.; COSTA, E.V.; BEZERRA, D.P. Essential oil from the leaves of *Annona neoinsignis* H. Rainer (Annonaceae) against liver cancer: *In vitro* and *in vivo* studies. **Molecules**, v. 30, n. 14, p. 2971, 2025. DOI: 10.3390/molecules30142971 (**Trabalho da Dissertação**)
2. SOUZA, M.P.; SILVA, F.M.A.; KOOLEN, H.H.F.; CASTRO, M.V.L.; SOARES, M.B.P.; BEZERRA, D.P.; COSTA, E.V. **Composição química e investigação da atividade antitumoral *in vitro* do óleo essencial das folhas de *Annona neoinsignis* (Annonaceae).** In: XXVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Anais eletrônico Revista Brasileira de Plantas Medicinais. Fortaleza, Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais, Associação Brasileira de Farmácias Vivas, 2024. Disponível em: https://www.sbpmed.org.br/admin/files/book/book_kTPZBPrmKGbc.pdf (**Trabalho da Dissertação**)
3. MARQUES, E.M.; ANDRADE, L.G.S.; ALENCAR, L.M.R.; RATES, E.R.D.; RIBEIRO, R.M.; CARVALHO, R.C.; NUNES, G.C.S.; LERA-NONOSE, D.S.S.L.; GONÇALVES, M.J.S.; LONARDONI, M.V.C.; SOUZA, M.P.; COSTA, E.V.; GONÇALVES, R.S. Nanotechnological Formulation Incorporating *Pectis brevipedunculata* (Asteraceae) Essential Oil: An Ecofriendly Approach for Leishmanicidal and Anti-Inflammatory Therapy. **Polymers**, v. 17, n. 3, p. 379, 2025. DOI: 10.3390/polym17030379 (**Trabalho de Colaboração**)
4. MARQUES, E.M.; ROCHA, L.R.; BRANDÃO, C.M.; XAVIER, J.K.A.M.; CAMARA, M.B.P.; MENDONÇA, C.J.S.; LIMA, R.B.; SOUZA, M.P.; COSTA, E.V.; GONÇALVES, R.S. Development of an Eco-Friendly Nanogel Incorporating *Pectis brevipedunculata* Essential Oil as a Larvicidal Agent Against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 10, p. 1337, 2024. DOI: 10.3390/pharmaceutics16101337 (**Trabalho de Colaboração**)

5. BRANDÃO, C.M.; SANTOS, D.R.; SILVA, L.G.P.; FERREIRA, M.C.; MESQUITA, J.M.F.; SOUZA, M.P.; HOLANDA, C.A.; GONÇALVES, R.S.; COSTA, E.V.; MARQUES, G.E.C.; TELES, R.M.; CAVALCANTE, K.S.B. Influence of Polysorbate 80 on the Larvicidal and Ecotoxicological Profile of *Dizygostemon riparius* Essential Oil Nanoemulsion: Insights into Green Nanotechnology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 73, n, 31, p. 19327-19339, 2025. DOI: 10.1021/acs.jafc.5c04690 ([Trabalho de Colaboração](#))

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4.Ed. Carol Stream: Allured Publishing, Corp, 2007. 803p.
- AHMED, S.A.; GOGAL, R.M.; WALSH, J.E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes an alternative to [3H] thymidine incorporation assay. **Journal of immunological methods**, v. 170, p. 211 - 224, 1994.
- AL KAZMAN, B.S.M.; HARNETT, J.E.; HANRAHAN, J.R. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities of Annonaceae. **Molecules**, v. 27, n. 11, p. 3462, 2022. DOI: 10.3390/molecules27113462
- ALMEIDA, J.R.G.S.; ARAÚJO, E.C.C.; RIBEIRO, L.A.A.; LIMA, J.T.; NUNES, X.P.; LÚCIO, A.S.S.C.; AGRA, M.F.; FILHO, J.M.B. Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2012, n. 1, p. 859210, 2012.
- AMALA, DevA.R.; JOSEPH, S.M. Anticancer potential of *Annona* genus: A detailed review. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 98, n. 12, p. 100231, 2021. DOI: 10.1016/j.jics.2021.100231
- ANAYA-ESPARZA, L.M.; GARCÍA-MAGAÑA, M.L.; DOMÍNGUEZ-ÁVILA, J.A.; YAHIA, E.M.; SALAZAR-LÓPEZ, N.J.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E. *Annonas*: Underutilized species as a potential source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 138, p. 109775, 2020. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109775
- ANISZEWSKI, T. **Alkaloids- Secrets of life** (Alkaloid chemistry, biological, significance, applications and ecological role). 5 ed. Elsevier's Science & Technology Rights Department in Oxford, 2007.
- Annona neoinsignis*. **Colecionando frutas**. Disponível em: <<https://coleccionandofrutas.com.br/annonaneoinsignis.htm>>. Acesso em: 15 de abr. 2025.

Annonaceae in Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB110219>>. Acesso em: 02 Sep. 2024

AQEEL, U.; AFTAB, T.; KHAN, M.M.A.; NAEEM, M. Regulation of essential oil in aromatic plants under changing environment, **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 32, p. 100441, 2023. DOI: 10.1016/j.jarmap.2022.100441

ARAÚJO, M.S.; 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, p. 104105, 2020. DOI: 10.1016/j.bse.2020.104105

ATTIQ, A.; JALIL, J.; HUSAIN, K. Annonaceae: breaking the wall of inflammation. **Frontiers in pharmacology**, v. 8, 2017. DOI: 10.3389/fphar.2017.00752

BADISA, R.B.; DARLING-REED, S.F.; JOSEPH, P.; COOPERWOOD, J.S.; LATINWO, L.M.; GOODMAN, C.B. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. **Anticancer Research**, v. 29, n. 8, p. 2993–2996, 2009.

BAHARUM, Z.; AKIM, A.M.; HIN, T.Y.Y.; HAMID, R.A.; KASRAN, R. Theobroma cacao: review of the extraction, isolation, and bioassay of its potential anti-cancer compounds. **Tropical life sciences research**, v. 27, n. 1, p. 21-42, 2016.

BAILLY, C. A systematic review of proaporphine alkaloids and a pharmacological update. **Phytomedicine Plus**, p. 100689, 2024. DOI: 10.1016/j.phyplu.2024.100689

BAKARNGA-VIA, I.; Bessimbaye, N.; FOKOU, P.V.T.; TCHOKOUAHA, L.R.Y.; FOKOU, J.B.H.; RAOUL, K.; GARY-BOBO, M.; GALLUD, A.; GARCIA, M.; DONGMO, P.M.J.; BOYOM, F.F.; ABDELSALAM, T.; MENUT, C. Antifungal, antiradical, anti-inflammatory and antineoplastic activities of essential oils of some medicinal plants of the annonaceae family of Chad and Cameroon. **Journal of Phytomolecules and Pharmacology**, v. 1, n. 2, p. 75-87, 2022. DOI: 10.56717/jpp.2022.v01i02.010

- BARBALHO, S.M.; GOULART, R.A.; FARINAZZI-MACHADO, F.M.V.; SOUZA, M.S.S.; BUENO, P.C.S.; GUIGUER, E.L.; ARAÚJO, A.C.; GROPPA, M. *Annona* sp: Plants with Multiple Applications as Alternative Medicine-A Review. **Current Bioactive Compounds**, v.8, n. 3, p. 277-286, 2012.
- BARREIRO, E.J.; BOLZANI, V.S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química nova**, v. 32, p. 679-688, 2009.
- BELE, M.Y.; FOCHO, D.A.; EGBE, E.A.; CHUYONG, B.G. Ethnobotanical survey of the uses of Annonaceae around mount Cameroon. **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 4, p. 237-247, 2011.
- BEN MIRI, Y. Essential Oils: Chemical Composition and Diverse Biological Activities: A Comprehensive Review. **Natural Product Communications**, v. 20, n. 1, 2025. DOI: 10.1177/1934578X241311790
- BHATTACHARYA, A.; CHAKRAVERTY, R. The pharmacological properties of *Annona squamosa* Linn: A Review. **International Journal of Pharmacy and Engineering al Journal of Pharmacy and Engineering**, v. 4, n. 2, p. 692-699, 2016.
- BIBA, V.S.; AMILY, A.; SANGEETHA, S.; REMANI, P. Anticancer, antioxidant and antimicrobial activity of Annonaceae family. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 3, p. 1595-1604, 2014.
- BLANCHFIELD, J.T.; SANDS, D.P.A.; KENNARD, C.H.L.; BYRIEL, K.A.; KITCHING, W. Characterisation of alkaloids from some Australian *Stephania* (Menispermaceae) species. **Phytochemistry**, v. 63, n. 6, p. 711-720, 2003. DOI: 10.1016/S0031-9422(03)00240-1
- BOIK, J. **Natural compounds in cancer therapy- Promising Nontoxic Antitumor Agents from Plants & Other Natural Sources**. Oregon Medical Press, Minnesota, USA, 2001.
- BRAR, K.S.; KAUR, S.; DHILLON, G.S. **Nutraceuticals and Functional Foods: Natural Remedy**. New York: Nova Science Publishers, 2014.

- CAMPOS, F.G.; VIEIRA, M.A.R.; BARON, D.; MARQUES, M.O.M.; FERREIRA, G.; BOARO, C.S.F. Profile of Essential Oils From the Leaves of *Annona* Grafted. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, p. 210-216, 2019.
- CARNEVALE NETO, F.; ANDRÉO, M.A.; RAFTERY, D.; LOPES, J.L.C.; LOPES, N.P.; CASTRO-GAMBOA, I.; MAIA, B.H.L.N.S.; COSTA, E.V.; VESSECCHI, R. Characterization of aporphine alkaloids by electrospray ionization tandem mass spectrometry and density functional theory calculations. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 34, p. 1-11, 2020. DOI: doi.org/10.1002/rcm.8533
- CASCAES, M.M.; CARNEIRO, O.S.; NASCIMENTO, L.D.; MORAES, A.A.B.; OLIVEIRA, M.S.; CRUZ, J.N.; GUILHON, G.M.S.P.; ANDRADE, E.H.A. Essential oils from Annonaceae species from Brazil: a systematic review of their phytochemistry, and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 12140, 2021. DOI: 10.3390/ijms222212140
- CHANG, Fang-Rong; HWANG, Tsong-Long; YANG, Yu-Liang; LI, Chia-En; WU, Chin-Chung; ISSA, H.H.; HSIEH, Wen-Bin; WU, Yang-Chang. Anti-inflammatory and cytotoxic diterpenes from formosan *Polyalthia longifolia* var. *pendula*. **Planta medica**, v. 72, n. 14, p. 1344-1347, 2006. DOI: 10.1055/s-2006-951691
- CHEN, JIH-JUNG; TSAI, IAN-LIH; CHEN, IH-SHENG. New oxoaporphine alkaloids from *Hernandia nymphaeifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 2, p. 156-158, 1996.
- CHHIKARA, B. S.; PARANG, K. Chemical Biology LETTERS Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis. **Chemical Biology Letters**, v. 10, n. 1, p. 451, 2023.
- CHHIKARA, B.S. PARANG, K. Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis. **Chemical Biology Letters**, v. 10, n. 1, p. 451-451, 2023.
- CORRÊA, P.L.C.; De-la-Cruz-Chacón, I.; SOUSA, M.C.; VIEIRA, M.A.R.; CAMPOS, F.G.; MARQUES, M.O.M.; BOARO, C.S.F.; FERREIRA, G. Effect of nitrogen sources on photosynthesis and biosynthesis of alkaloids and leaf volatile compounds in *Annona sylvatica* A. St.-Hil. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 956-970, 2022. DOI: 10.1007/s42729-021-00705-8

- 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. DOI: 10.3390/molecules16119714
- 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 the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 788-796, 2013. DOI: 10.5935/0103-5053.20130103
- COSTA, E.V.; DUTRA, L.M.; NOGUEIRA, P.C.L.; MORAES, V.R.S.; SALVADOR, M.J.; RIBEIRO, L.H.G.; GADELHA, F.R. Essential oil from the leaves of *Annona vepretorum*: chemical composition and bioactivity. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 2, p. 265-266, 2012.
- COSTA, E.V.; FREITAS, J.G.C.; MANICKCHAND, S.P.; ARAÚJO, M.S.; SILVA, V.R.; SANTOS, L.S.; KOOLEN, H.H.F.; SILVA, F.M.A.; SOARES, M.B.P.; BEZERRA, D.P. Gouregine, an α -Gem-Dimethyltetrahydrocylarine Alkaloid, and Other Aporphinoid Alkaloids from the Bark of *Guatteria olivacea* (Annonaceae) and Their *In Vitro* Cytotoxic Activities. **Molecules**, v. 29, n. 16, p. 3834, 2024. DOI: 10.3390/molecules29163834
- 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, n. 6, p. 1524-1531, 2016. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b01037
- 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.; SAMPAIO, M.F.C.; SALVADOR, M.J.; NEPEL, A.; BARISON, A. Chemical constituents from the stem bark of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 38, n. 06, p. 769-776, 2015. DOI: 10.5935/0100-4042.20150069
- COSTA, Emmanoel Vilaça. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas de *Guatteriopsis blepharophylla*, *Guatteriopsis friesiana* e *Guatteriopsis hispida* (Annonaceae)**. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciências, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/21946>. Acesso em: 20 mar. 2025.
- Da SILVA, F.M.; BATAGLION, G.A.; ALMEIDA, R.A.; HEERDT, G.; SOUSA, I.L.; FILHO, F.A.S.; ALENCAR, D.C.; COSTA, E.V.; SOUZA, A.D.L.; PINHEIRO, M.L.B.; MORGON, N.H.; KOOLEN, H.H.F. Positive electrospray ionization ion trap mass spectrometry and *ab initio* computational studies of the multi-pathway fragmentation of oxoaporphine alkaloids. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 418, p. 30-36, 2017. DOI: 10.1016/j.ijms.2016.12.004
- Da SILVA, G.C.; DUTRA, L.M.; ALMEIDA, J.R.G.S.; SILVA, F.M.A.; HARAKAVA, R.; HONÓRIO, A.B.M.; De-la-Cruz-Chacón, I.; MARTÍNEZ-VÁSQUEZ, M.; FERREIRA, G. Alkaloid screening of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer rootstocks to increase fungal tolerance in *Annona atemoya* Mabb. crops revealed by MS and NMR chemical profiling. **Industrial Crops and Products**, v. 212, p. 118335, 2024. DOI: 10.1016/j.indcrop.2024.118335
- DATTATRAY, T.V.; BABURAO, S.P.; SHIVAJI, C.S. A comprehensive review on *Polalthia longifolia*. **Tradicional Medicine Research**, 2021. DOI: 10.12032/TMR20201218212
- De ALMEIDA, L.A.F.; Da SILVA, F.M.A.; De LIMA, B.R.; De SOUSA, A.B.B.; FILHO, F.A.S.; LEOCADIO, B.R.C.; CASTRO, A.P.A.; FRANÇA, R.S.; KOOLEN, H.H.F.; De SOUZA, A.D.L.; PINHEIRO, M.L.B. LC-MS/MS based dereplication of isoquinoline-derived alkaloids from the trunk bark of *Unonopsis rufescens* (Baill.) R.E.Fr. (Annonaceae). **Química Nova**, v. 48, n.6, 2025. DOI: 10.21577/0100-4042.20250159

- De LIMA, B.R.; SILVA, F.M.A; SOARES, E.R.; ALMEIDA, R.A.; SILVA-FILHO, F.A.; COSTA, E.V.; KOOLEN, H.H.F.; SOUZA, A.D.L.; PINHEIRO, M.L.B. 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* RE Fr. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 1, p. 79-89, 2020. DOI: 10.21577/0103-5053.20190125
- De OLIVEIRA TELES, M.N.; DUTRA, L.M.; BARISON, A.; COSTA, E.V. Alkaloids from leaves of *Annona salzmannii* and *Annona vepretorum* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 61, p. 465-469, 2015. DOI: 10.1016/j.bse.2015.07.016
- DEV, AR. A.; JOSEPH, S.M. Anticancer potential of *Annona* genus: A detailed review. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 98, n. 12, p. 100231, 2021. DOI: 10.1016/j.jics.2021.100231
- DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. Chichester: 3ª edição. **Editora John Wiley & Sons, LTD**, 509 p., 2009.
- DUTRA, L.M.; BOMFIM, L.M.; ROCHA, S.L.A.; NEPEL, A.; SOARES, M.B.P.; BARISON, A.; COSTA, E.V.; BEZERRA, D.P. *ent*-Kaurane diterpenes from the stem bark of *Annona vepretorum* (Annonaceae) and cytotoxic evaluation. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 24, n. 15, p. 3315-3320, 2014. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.06.005
- DUTRA, L.M.; COSTA, E.V.; MORAES, V.R.S.; NOGUEIRA, P.C.L.; VENDRAMIN, M.E.; BARISON, A.; PRATA, A.P.N. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 115-118, 2012. DOI: 10.1016/j.bse.2011.12.011
- EGYDIO-BRANDÃO, MONTEIRO, A.P.; NOVAES, P.; SANTOS, D.Y.A.C. Alkaloids from *Annona*: Review from 2005 to 2016. **JSM Biochemistry and Molecular Biology**, v. 4, n. 3, p. 1031, 2017.
- ENEMA, O.J.; UMOH, U.F.; JOHNNY, I.I.; IGWE, M.N. A review of the antiinflammatory and analgesic constituents of the family Annonaceae. **European Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v.11, n.7, p. 41-54, 2024.

- ERHIRHIE; E.O.; MOKE, G.E. *Xylopia Aethiopica*: A Review of its Ethnomedicinal, Chemical and Pharmacological Properties. **American Journal of PharmTech Research**, v. 4, p. 21-37, 2014.
- ERKENS, R.H.J.; BLANPAIN, L.M.P.; JARA, I.C.; RUNGE, K.; VERSPAGEN, N.; COSIAUX, A.; COUVREUR, T.L.P. Spatial distribution of Annonaceae across biomes and anthromes: Knowledge gaps in spatial and ecological data. **Plants, People, Planet**, v. 5, n. 4, p. 520-535, 2023. DOI: 10.1002/ppp3.10321
- FATTAHI, R.; MOHEBICHAMKHORAMI, F.; KHANI, M.M.; SOLEIMANI, M.; HOSSEINZADEH, S. Aspirin effect on bone remodeling and skeletal regeneration. **Tissue and Cell**, v. 76, p. 101753, 2022. DOI: 10.1016/j.tice.2022.101753
- FRANK, J. M. Special metabolites in relation to conditions of growth. **Chemical fungal taxonomy**, p. 321-344, 2020.
- FRAUSIN, G.; LIMA, R.B.S.; HIDALGO, A.F.; MAAS, P.; POHLIT, A.M. Plants of the Annonaceae traditionally used as antimalarials: a review. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 315-337, 2014.
- GODINHO, Wilson Muanis. **Estudo da variação sazonal e circadiana da composição química do óleo essencial de *Blepharocalyx salicifolius* (kunth) o. Berg**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011. Disponível em: <https://acervo.ufvjm.edu.br/server/api/core/bitstreams/7b023264-d536-462e-acfd-58619cec9eb9/content>. Acesso em: 21 ago 2025.
- GRABARCZYK, M.; WIŃSKA, K.; MACZKA, W.; POTANIEC, B.; ANIOL, M. Loliolide- the most ubiquitous lactone. Acta Universitatis Lodziensis. **Folia Biologica et Oecologica**, v. 11, p. 1-8, 2015. DOI: 10.1515/fobio-2015-0001
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M. CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, III. **Journal of Natural Products**, v. 46, p. 761-835, 1983.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M. CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, IV. **Journal of Natural Products**, v. 51, p. 389-474, 1988.

- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M. CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, V. **Journal of Natural Products**, v. 57, p. 1033-1135, 1994.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphine alkaloids II. **Journal of Natural Products**, v. 42, p. 325-360, 1979.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphine alkaloids. **Lloydia**, v. 38, p. 275- 338, 1975.
- GUO, X.; TANG, C.C.; THOMAS, D.C.; COUVREUR, T.L.P.; SAUNDERS, R.M.K. A mega-phylogeny of the Annonaceae: taxonomic placement of five enigmatic genera and support for a new tribe, Phoenicantheae. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-07252-2
- HANDAYANI, T.; YUZAMMI. The family of Annonaceae: the important role in forest ecosystems and human being life. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, v. 914, n. 1, p. 012062, 2021. DOI: 10.1088/1755-1315/914/1/012062
- HAO, T.; YANG, Y.; LI, N.; MI, Y.; ZHANG, G.; SONG, J.; LIANG, Y.; XIAO, J.; ZHOU, D.; HE, D.; HOU, Y. Inflammatory mechanism of cerebral ischemia-reperfusion injury with treatment of stepharine in rats. **Phytomedicine**, v. 79, p. 153353, 2020. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153353
- IBRAHIM, T.S.; KHONGORZUL, P.; MUYABA, M.; ALOLGA, R.N. *Ent*-kaurane diterpenoids from the Annonaceae family: a review of research progress and call for further research. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fphar.2023.1227574
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA.**
Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2022.
- JOSEPH, S.M.; DEV, A.R.A.; KANCHANA, A. Unveiling the chemical variations of *Annona* essential oils and its associated pharmacological activities. **Journal of Molecular Structure**, v.1292, p. 136082, 2023. DOI: 10.1016/j.molstruc.2023.136082

- JÜRGENS, Andreas; WEBBER, Antonio C.; GOTTSBERGER, Gerhard. Floral scent compounds of Amazonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 551-558, 2000.
- KACPRZAK, K.M. Chemistry and biology of Cinchona alkaloids. **Natural Products**, v. 1, p. 605-641, 2013. DOI: 10.1007/978-3-642-22144-6_22
- KATKAR, K.V.; SUTHAR, A.C.; CHAUHAN, V.S. The chemistry, pharmacologic, and therapeutic applications of *Polyalthia longifolia*. **Pharmacognosy reviews**, v. 4, n. 7, p. 62, 2010. DOI: 10.4103/0973-7847.65329
- KHATUN, M.R.; TOJO, S.; TERUYA, T.; KATO-NOGUCHI, H. Allelopathic activity of *Annona reticulata* L. leaf extracts and identification of three allelopathic compounds for the development of natural herbicides. **Agronomy**, v. 12, n. 11, 2022. DOI: 10.3390/agronomy12112883
- KIM, K.H.; PIAO, C.J.; CHOI, S.U.; SON, M.W.; LEE, K.R. New Cytotoxic Tetrahydroprotoberberine-Aporphine Dimeric and Aporphine Alkaloids from *Corydalis turtschaninovii*. **Planta Medica**, v. 76, p. 1732-1738, 2010.
- KUMAR, A.; KUMAR, S.; KOMAL; RAMCHIARY, N.; SINGH, P. Role of traditional ethnobotanical knowledge and indigenous communities in achieving sustainable development goals. **Sustainability**, v. 13, n. 6, p. 3062, 2021. DOI: 10.3390/su13063062
- KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P.D. Analysis of cell viability by the alamarBlue assay. **Cold Spring Harbor Protocols**, 2018. DOI:10.1101/pdb.prot095489
- KWAN, T.K.; SHIPTON, F.; AZMAN, N.S.N.; HOSSAN, S.; JIN, K.T.; WIART, C. Cytotoxic aporphines from *Artabotrys crassifolius*. **Natural product communications**, v. 11, n. 3, p. 389-392, 2016.
- LALL, N.; KISHORE, N.; BODIBA, D.; MORE, G.; TSHIKALANGE, E.; KIKUCHI, H.; OSHIMA, Y. Alkaloids from aerial parts of *Annona senegalensis* against *Streptococcus mutans*. **Natural Product Research**, v. 31, n. 16, p. 1944-1947, 2017. DOI: 10.1080/14786419.2016.1263847
- LEMES, R.S.; COSTA, G.C.S.; SILVA, D.C.S.; BECCENERI, A.B.; BICALHO, K.U.; MIRANDA, M.L.D.; DINIZ, V.S.S.; CAZAL, C.M. Óleos essenciais dos frutos e

folhas de *Kielmeyera coriacea*: atividade antitumoral e estudo químico. **Revista Virtual de Química**, v. 9, p. 1245-1257, 2017.

LI, Hsing-Tan; WU, Hui-Ming; CHEN, Hsin-Liang; LIU, Chi-Ming; CHEN, Chung-Yi. The pharmacological activities of (–)-anonaine. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8257-8263, 2013. DOI: 10.3390/molecules18078257

LIKHITWITTAYAWUID, K.; ANGERHOFER, C.K.; CHAI, H.; PEZZUTO, J.M.; CORDELL, G.A. Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Tubers of *Stephania Pierrei*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 9, p. 1468-1478, 1993.

LIKHITWITTAYAWUID, K.; ANGERHOFER, C.K.; CHAI, H.; PEZZUTO, J.M.; CORDELL, G.A. Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Tubers of *Stephania Pierrei*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 9, p. 1468-1478, 1993.

LIMA BARROS, A.; LIMA, E.J.S.P.; FARIA, J.V.; ACHO, L.R.D.; LIMA, E.S.; BEZERRA, D.P.; SOARES, E.R.; LIMA, B.R.; COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.B.; BATAGLION, G.A.; SILVA, F.M.A.; CARDOZO, N.M.D.; GONÇALVES, J.F.C.; KOOLEN, H.H.F. Cytotoxicity and lipase inhibition of essential oils from Amazon Annonaceae species. **Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 1208-1225, 2022. DOI: 10.3390/chemistry4040081

LIMA, Bruna Ribeiro. **Estudo Fitoquímico De *Onychopetalum amazonicum* R.E. Fr. (Annonaceae)**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal Do Amazonas, Manaus, 2015. Acesso em: 7 de abr. de 2025

LIMA, E.S.; PINHEIRO, A.A.; ROCHA, C.Q.; ROCHA e SILVA, C.; COSTA-JUNIOR, L.M.; ALENCAR, L.M.R.; SOARES, A.M.S. An alkaloidal fraction of *Annona tomentosa* possesses anthelmintic activity and induces surface modifications in *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 329, p. 110195, 2024. DOI: 10.1016/j.vetpar.2024.110195

LIU, Chi-Ming; KAO, Chiu-Li; WU, Hui-Ming; LI, Wei-Jen; HUANG, Cheng-Tsung; LI, Hsing-Tan; CHEN, Chung-Yi. Antioxidant and anticancer aporphine alkaloids from the leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. cv. *Rosa-plena*. **Molecules**, v. 19, n. 11, p. 17829-17838, 2014. DOI: 10.3390/molecules191117829

- MAHIOU, V., ROBLOT, F., HOCQUEMILLER, R., CAVÉ, A., ROJAS DE ARIAS, A., INCHAUSTI, A., YALUFF, G., FOURNET, A., ANGELO, A. New aporphine alkaloids from *Guatteria foliosa*. **Journal of Natural Products**, n.7, vol. 57, p.890–895, 1994.
- MAHIOU, V.; ROBLOT, F.; FOURNET, A.; HOCQUEMILLER, R. Bisbenzyl isoquinoline alkaloids from *Guatteria boliviana* (Annonaceae). **Phytochemistry**, v. 54, p. 709-716, 2000.
- MANGAL, M.; KHAN, M.I.; AGARWAL, S.M. Acetogenins as Potential Anticancer Agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 16, n. 2, p. 138-159, 2016.
- MARRELLI, M. Medicinal Plants. **Plants**, v. 10, n. 7, p. 1355, 2021. DOI: 10.3390/plants10071355
- MENDES-SILVA, I., LOPES, J.C., SILVA, L.V., OLIVEIRA, M.L.B. *Annona* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB110253>). Acesso em: 11 de abr. De 2025
- MENEZES, L. R. A. **Estudo fitoquímico e investigação da atividade citotóxica do caule de *Xylopia laevigata* (Annonaceae)**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2015. Acesso em: 7 abr. 2025.
- MENEZES, L.R.A.; COSTA, C.O.D.S.; RODRIGUES, A.C.B.C.; SANTO, F.R.E.; NEPEL, A.; DUTRA, L.M.; SILVA, F.M.A.; SOARES, M.B.P.; BARISON, A.; COSTA, E.V.; BEZERRA, D.P. Cytotoxic Alkaloids from the Stem of *Xylopia laevigata*. **Molecules**, v. 21, p. 890, 2016. DOI: 10.3390/molecules21070890
- MENEZES, R.P.B.; SESSIONS, Z.; MURATOV, E.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T. Secondary metabolites extracted from Annonaceae and chemotaxonomy study of terpenoids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 2061-2070, 2021. DOI: 10.21577/0103-5053.20210097
- MEZUI, C.; KUISSI, M.M.; FANTA, Y.S.; AMANG, P.A.; DAPTOUSIA, D.; EMAKOUA, J.; TAN, P.V. Analgesic, anti-inflammatory and non-ulcerogenic properties of *Annickia chlorantha* aqueous stem bark extract. **Discovery Phytomedicine-**

Journal of Natural Products Research and Ethnopharmacology, v.9, n.1, p. 184-192, 2022. DOI: 10.15562/phytomedicine.2022.186

MOHAMED, S. M.; HASSAN, E. M.; IBRAHIM, N. A. Cytotoxic and antiviral activities of aporphine alkaloids of *Magnolia grandiflora* L. **Natural Product Research**, v. 24, n. 15, p. 1395-1402, 2010. DOI: 10.1080/14786410902906959

MOHAMMADI, M.R.; NIARAKI, E.R. Antibacterial, antiviral, and antifungal activities of quinine and its derivatives: A narrative mini-review. **Micro Nano Bio Aspects**, v. 2, n. 3, p. 1-6, 2023. DOI: 10.22034/mnba.2023.399582.1034

MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D.; HOSE, C.; LANGLEY, J.; CRONISE, P.; VAIGRO-WOLFF, A.; GRAY-GOODRICH, M.; CAMPBELL, H.; MAYO, J.; BOYD, M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 83, n. 11, p. 757–766, 1991. DOI: 10.1093/jnci/83.11.757

MUHAMMED, D.; YETUNDE, H.A.; BERNARD O.O.; RAHMATALLAH A.A.; ABDULLATEEF L.; BANKE M.O., JONATHAN I.; EUSTACE B.B. *Dennettia tripetala* (Pepper Fruit), a review of its ethno-medicinal use, phyto-constituents, and biological properties. **GSC Advanced Research and Reviews**, v. 6, n. 3, p. 035-043, 2021. DOI: 10.30574/gscarr.2021.6.3.0024

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

NARDELLI, V.B; De Souza, C.A.S.; CHAAR, J.S.; KOOLEN, H.H.F.; Da SILVA, F.M.A.; COSTA, E.V. Isoquinoline-derived alkaloids and one terpene lactone from the leaves of *Duguetia pycnastera* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 94, 2021. DOI: 10.1016/j.bse.2020.104206

NASCIMENTO, M.N.G.; JUNQUEIRA, J.G.M.; TEREZAN, A.P.; SEVERINO, R.P.; SILVA, T.S.; MARTINS, C.H.G.; SEVERINO, V.G.P. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Xylopia aromatica* (Annonaceae) flowers and leaves. **Revista Virtual de Química**, v. 10, p. 1578-1590, 2018. DOI: 10.21577/1984-6835.20180107

- NESKE, A.; HIDALGO, J.R.; CABEDO, N.; CORTES, D. Acetogenins from Annonaceae family. Their potential biological applications. **Phytochemistry**, v. 174, p. 112332, 2020. DOI: 10.1016/j.phytochem.2020.112332
- NETO, Francisco Alberto Nascimento. **Estudo fitoquímico das folhas de *Pseudoxandra leiophylla* (Annonaceae) e investigação do seu efeito citotóxico**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2021. Disponível em: https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/8348/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o_FranciscoAlberto_PPGQ.pdf. Acesso em: 18 ago. 2025.
- NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285
- NUGRAHA, A.S.; DAMAYANTI, Y.D.; WANGCHUK, P.; KELLER, P.A. Anti-infective and anti-cancer properties of the *Annona* species: Their ethnomedicinal uses, alkaloid diversity, and pharmacological activities. **Molecules**, v. 24, n. 23, p. 4419, 2019. DOI: 10.3390/molecules24234419
- O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European journal of biochemistry**, v. 267, p. 5421 - 5426, 2000.
- OLIVEIRA, G.N.S.A.; DUTRA, L.M.; PAZ, W.H.P.; Da SILVA, F.M A.; COSTA, E.V.; ALMEIDA, J.R.G.S. Chemical constituents from the leaves and branches of *Annona coriacea* Mart.(Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 97, 2021. DOI: 10.1016/j.bse.2021.104297
- ORTIZ, A.A.; SUAREZ, L.E.C.; PATIÑO, G.S. Aporfinoides en hojas de *Oxandra longipetala* R. E. FR. (Annonaceae). **Scientia et technica**, v. 1, n. 33, 2007.
- PANG, S-Q; WANG, G-Q; LIN, J-S; DIAO, Y.; XU, R-A. Cytotoxic activity of the alkaloids from *Broussonetia papyrifera* fruits. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 10, p. 1315-1319, 2014. DOI: 10.3109/13880209.2014.891139
- PINHEIRO, M.L.B.; XAVIER, C.M.; De SOUZA, A.D.L.; RABELO, D..M.; BATISTA, C.L.; BATISTA, R.L.; COSTA, E.V.; CAMPOS, F.R.; BARISON, A.; VALDEZ, R.H.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C.V. Acanthoic acid and other

- constituents from the stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 1095-1102, 2009.
- PLAZAS, E.; AVILA M., M.C.; MUÑOZ, D.R.; CUCA S., L.E. Natural isoquinoline alkaloids: Pharmacological features and multi-target potential for complex diseases. **Pharmacological Research**, v. 177, p. 106126, 2022. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106126
- QUÍLEZ, A.M.; FERNÁNDEZ-ARCHE, M.A.; GARCÍA-GIMÉNEZ, M.D.; De la PUERTA, R. Potential therapeutic applications of the genus *Annona*: Local and traditional uses and pharmacology. **Journal of ethnopharmacology**, v. 225, p. 244-270, 2018. DOI: 10.1016/j.jep.2018.06.014
- RABELO, Diego de Moura. **Estudo fitoquímico e biológico de *Guatteria citriodora* Ducke**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/3332/1/Dissertacao-Diego%20de%20Moura%20Rabelo.pdf>. Acesso em: 11 fev. 2025.
- RABÊLO, S.V.; COSTA, E.V.; BARISON, A.; DUTRA, L.M.; NUNES, X.P.; TOMAZ, J.C.; OLIVEIRA, G.G.; LOPES, N.P.; SANTOS, M.F.C.; ALMEIDA, J.R.G.S. Alkaloids isolated from the leaves of *atemoya* (*Annona cherimola* × *Annona squamosa*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 419-421, 2015. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.07.006
- RAMAWAT, K.G. **Biodiversity and Chemotaxonomy**. Udaipur, India: Springer Nature Switzerland, 2019.
- RAMOS, A.L.C.C.; Mazzinghy, A.C.C.; Correia, V.T.V.; NUNES, B.V.; RIBEIRO, L.V.; SILVA, V.D.M.; Weichert, R.F.; De PAULA, A.C.C.F.F.; SOUSA, I.M.N.; FERREIRA, R.M.S.B.; BATISTA-SANTOS, P.; ARAÚJO, R.L.B.; MELO, J.O.F. An integrative approach to the flavonoid profile in some plants' parts of the *Annona* genus. **Plants**, v. 11, n. 21, p. 2855, 2022. DOI: 10.3390/plants11212855
- RAMPERSAD, S. N. Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. **Sensors**, v. 12, p. 12347-12360, 2012. DOI: 10.3390/s120912347

- RANGEL, J.; LIBERAL, A.; CATARINO, S.; COSTA, J.C.; ROMEIRAS, M.M.; FERNANDES, A. Phytochemical and bioactive potentials of African Annonaceae species. **Food Chemistry**, v.448, p.139048, 2024. DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.139048
- REHMAN, R.; HANIF, M.A.; MUSHTAQ, Z.; AL-SADI, A.M. Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. **Food Reviews International**, v. 32, n. 2, p. 117-160, 2016. DOI: 10.1080/87559129.2015.1057841
- RIBEIRO, Reginaldo Vicente. **Plantas medicinais e conhecimento tradicional ribeirinho: uma investigação etnobotânica e etnofarmacológica na microrregião do Norte Araguaia, Mato Grosso, Brasil**. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2016. Disponível em: https://ri.ufmt.br/bitstream/1/2477/1/TESE_2016_Reginaldo%20Vicente%20Ribeiro.pdf. Acesso em: 12 fev. 2025.
- RILEY-SALDAÑA, C.A.; CRUZ-ORTEGA, M.D.R.; VÁZQUEZ, M.M.; De-la-Cruz-Chacón, I.; CASTRO-MORENO, M.; González-Esquinca, A.R. Acetogenins and alkaloids during the initial development of *Annona muricata* L.(Annonaceae). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 72, n. 11-12, p. 497-506, 2017. DOI: 10.1515/znc-2017-0060
- ROCHA, G.N.S.A.O.; DUTRA, L.M.; LORENZO, V.P.; ALMEIDA, J.R.G.S. Phytochemicals and biological properties of *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae): a systematic review from 1971 to 2020. **Chemico-Biological Interactions**, v. 336, p. 109390, 2021a. DOI: 10.1016/j.cbi.2021.109390
- ROCHA, G.N.S.A.O.; DUTRA, L.M.; PAZ, W.H.P.; Da SILVA, F.M.A.; COSTA, E.V.; ALMEIDA, J.R.G.S. Chemical constituents from the leaves and branches of *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 97, p. 104297, 2021b. DOI: 10.1016/j.bse.2021.104297
- SANTOS, M.F.C.; FONTES, J.E.N.; DUTRA, L.M.; BOMFIM, 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.

SÃO JOSÉ, A. R.; PIRES, M.M.; FREITAS, A.L.G.E.; RIBEIRO, D.P.; PEREZ, L.A.A. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 86-93, 2014. DOI: 10.1590/S0100-29452014000500010

SARANRAJ, P.; SIVASAKTHI, S.; DEEPA, M.S. Phytochemistry of pharmacologically important medicinal plants—a review. **International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 11, p. 56-66, 2016. DOI: 10.22192/ijcpcps.2016.03.11.009

SILVA, T.B.; MENEZES, L.R.A.; SAMPAIO, M.F.C.; MEIRA, C.S.; GUIMARÃES, E.T., SOARES, M.B.P.; PRATA, A.P.N.; NOGUEIRA, P.C.L.; COSTA, E.M. Chemical composition and anti-Trypanosoma cruzi activity of essential oils obtained from leaves of *Xylopia frutescens* and *X. laevigata* (Annonaceae). **Natural Product Communications**, v.8, n.3, p. 403-406, 2013.

SINCHANA, R.; MANI, T.T.; PAVITHRA, T.; SHIJU, L. A review on a miracle plant *Annona glabra* Linn. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 11, n. 3, p. 65-77, 2024. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.11(3).65-77

SINGH, S.; PATHAK, N.; FATIMA, E.; NEGI, A.S. Plant isoquinoline alkaloids: Advances in the chemistry and biology of berberine. **European Jjournal of Mmedicinal Cchemistry**, v. 226, p. 113839, 2021. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113839

SIQUEIRA, C.A.T.; OLIANI, J.; SARTORATTO, A.; QUEIROGA, C.L.; MORENO, P.R.H.; REIMÃO, J.Q.; TEMPONE, A.G.; FISCHER, D.C.H. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and *in vitro* antiprotozoal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 33-40, 2011.

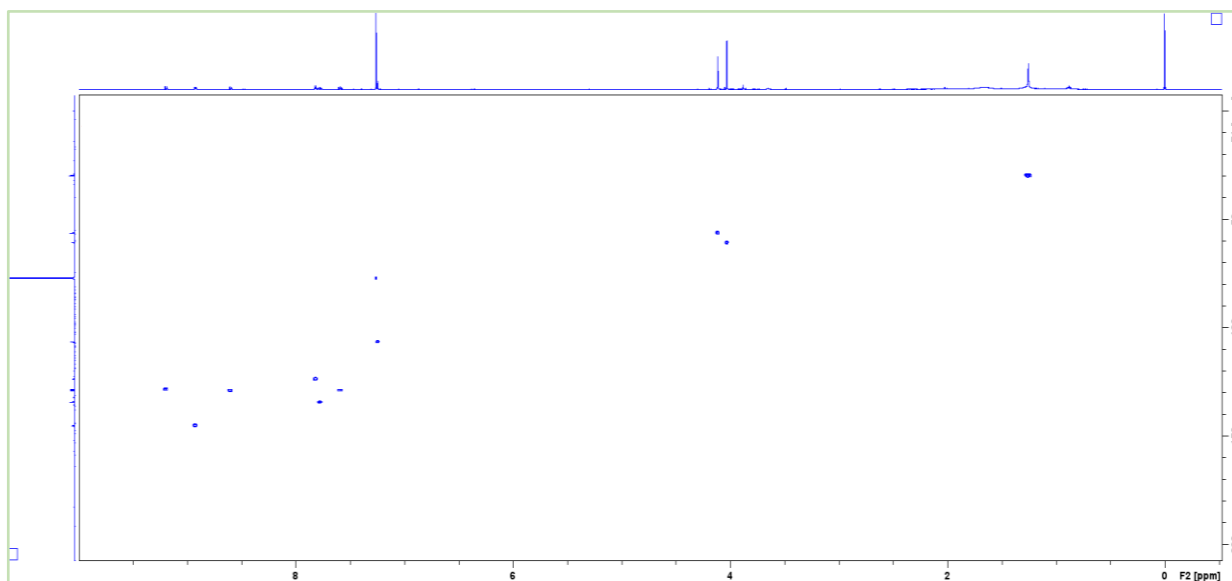
SOARES, E.R.; ALMEIDA, R.A.; LIMA, B.R.; PEREIRA JUNIOR, R.C.; FREITAS, F.A.; MAFRA, H.R.; ARAUJO, N.F.; MACIEL, J.B.; LEÃO, L.Q.S.; SOUZA, A.D.L.; SILVA, F.M.A.; PINHEIRO, M.L.B. Chemical Composition of Essential Oils of Three Species of the Genus *Bocageopsis* (Annonaceae) Amazon Region. **Revista Virtual de Química**, 2022.

- SOUZA, C.S.; NARDELLI, V.B.; PAZ, W.H.P.; PINHEIRO, M.L.B.; RODRIGUES, A.C.B.C.; BOMFIM, L.M.; SOARES, M.B.P.; BEZERRA, D.P.; CHAAR, J.S.; KOOLEN, H.H.F.; SILVA, F.M.A.; COSTA, E.V. Asarone-derived phenylpropanoids and isoquinoline-derived alkaloids from the bark of *Duguetia pycnastera* (Annonaceae) and their cytotoxicities. **Química Nova**, v. 43, n. 10, p. 1397-1403, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170617
- SOUZA, T.J.T.; ZANETTI, G.D.; APEL, M.A.; HENRIQUES, A.T.; MANFRON, M.P. Characterization of seasonal and chemotypical variability in the essential oil from leaves of *Annona neosalicifolia* H. Rainer (Annonaceae). **Natural Volatiles and Essential Oils**, v. 8, n. 3, p. 81-91, 2021.
- SPURR, I.B.; BROWN, C.D. Total Synthesis of Annonaceous Acetogenins Belonging to the Non-Adjacent Bis-THF and Non-Adjacent THF-THP Sub-Classes. **Molecules**, v. 15, n.1, p. 460-501, 2010. DOI: 10.3390/molecules15010460
- STEVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUETIN-LECLERCQ, J. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. **Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents**, v. 5, n. 2, p. 173-182, 2005.
- STEVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUETIN-LECLERCQ, J. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. **Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents**, v. 5, n. 2, p. 173-182, 2005.
- SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J.M. **Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity**. Hostettmann K. Editor: Academic Press; 1991. 360p.
- SUROWIAK, A.K.; BALCERZAK, L.; LOCHYNSKI, S.; STRUB, D.J. Biological activity of selected natural and synthetic terpenoid lactones. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 9, p. 5036, 2021. DOI: 10.3390/ijms22095036
- SWANTARA, M.D.; RITA, W.S.; DIRA, M.A.; AGUSTINA, K.K. Cervical anticancer activities of *Annona squamosa* Linn. leaf isolate. **Veterinary World**, v. 15, n. 1, p. 124-131, 2022. DOI: 10.14202/vetworld.2022.124-131
- TAHA, Hairin Binti. **Phytochemical and Biological studies of the extracts of *Pseudovaria monticola* and *Pseudovaria macrophylla***. Tese de doutorado – University of Malaya, Kuala Lumpur, 2016.

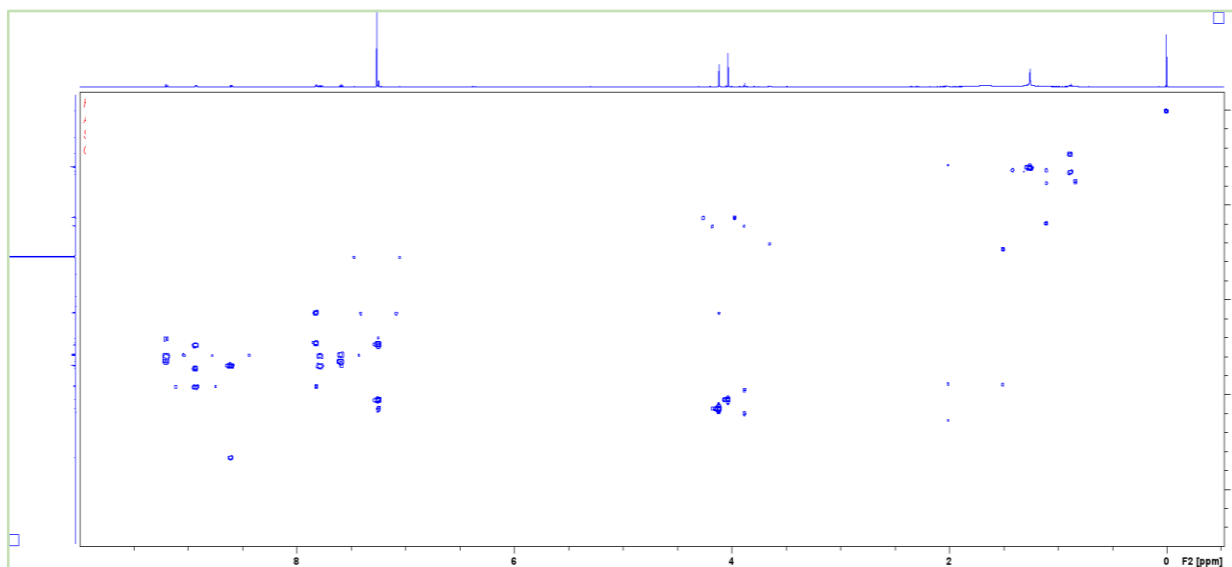
- TAVARES, J.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SILVA, M.S.; MAIAS, J.G.S.; Da-CUNHA, E.V.L. Alkaloids and volatile constituents from the stem of *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 115-118, 2005.
- VAN DEN DOOL, H.A.N.D.; KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.
- VERMA, R.S.; JOSHI, N.; PADALIA, R.C.; SINGH, V.R.; GOSWAMI, P.; CHAUHAN, A. Characterization of the leaf essential oil composition of *Annona squamosa* L. from foothills of north India. **Medicinal & Aromatic Plants (Los Angel)**, v. 5, n. 270, p. 1-5, 2016.
- VIEIRA, Suzanne Pinheiro. **Efeitos Cardiovasculares Induzidos pelas Annonaceas: Uma Revisão de Escopo**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2022. Disponível em:
<https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/123456789/12548/1/Efeitos%20cardiovasculares%20induzidos%20pelas%20annonaceas%3A%20uma%20revis%C3%A3o%20de%20escopo.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2025
- WU, Y-C.; LIOU, Y-F.; LU, S-T.; CHEN, C-H.; CHANG, J-J.; LEE, K-H. Cytotoxicity of Isoquinoline Alkaloids and Their *N*-Oxides. **Planta Medica**, v. 55, p. 163-165, 1989.
- YANG, Yu-Liang; CHANG, Fang-Rong; HWANG, Tsong-Long; CHANG, Wen-Te; WU, Yang-Chang. Inhibitory effects of *ent*-kauranes from the stems of *Annona squamosa* on superoxide anion generation by human neutrophils. **Planta Medica**, v. 70, n. 03, p. 256-258, 2004. DOI: 10.1055/s-2004-815544
- YASSIN, S.; ELSOHAFY, S.M.; EL-HAWIET, A.; ABDEL-KADER, M.S.; GHAREEB, D.A.; DARWISH, F.A.; AMER, M.E. Comparative phytochemical and pharmacological analysis of two cultivars of *Annona squamosa* L. cultivated in Egypt. **npj Science of Food**, v. 9, n. 1, p. 8, 2025. DOI: 10.1038/s41538-024-00368-6

ZHOU, Q.; ZHANG, Q.; LIAO, L.; LI, Q.; QU, H.; WANG, X.; ZHOU, Y.; ZHANG, G.; SUN, M.; ZHANG, K.; ZHANG, B. Isocorydine Exerts Anticancer Activity by Disrupting the Energy Metabolism and Filamentous Actin Structures of Oral Squamous Carcinoma Cells. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 46, n. 1, p. 650-662, 2024. DOI: 10.3390/cimb46010042

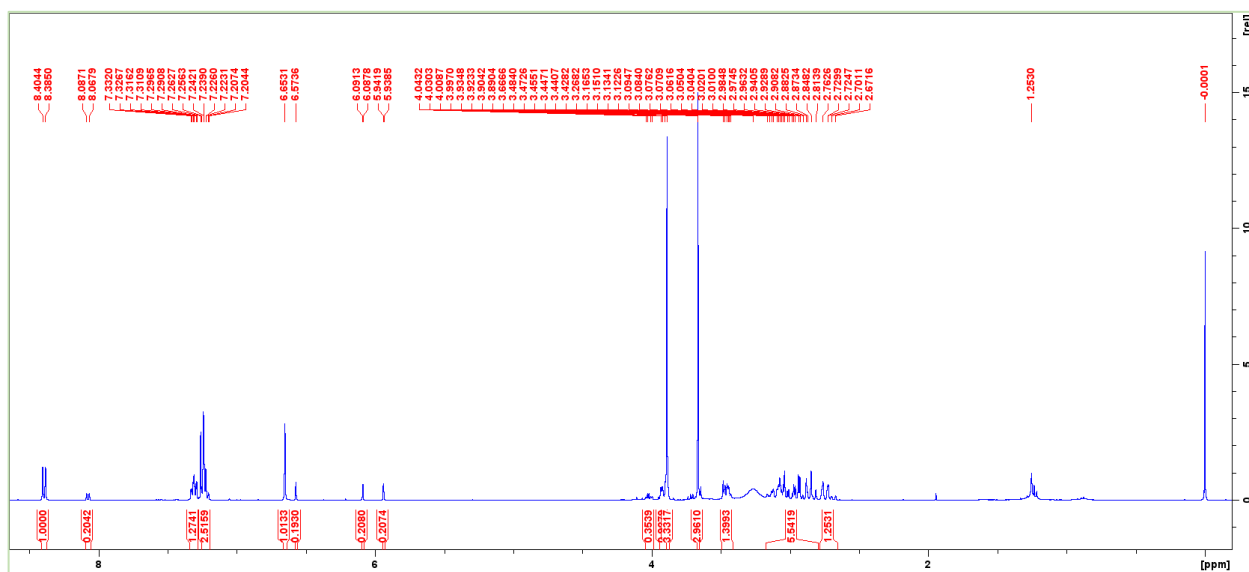
9. APÊNDICE



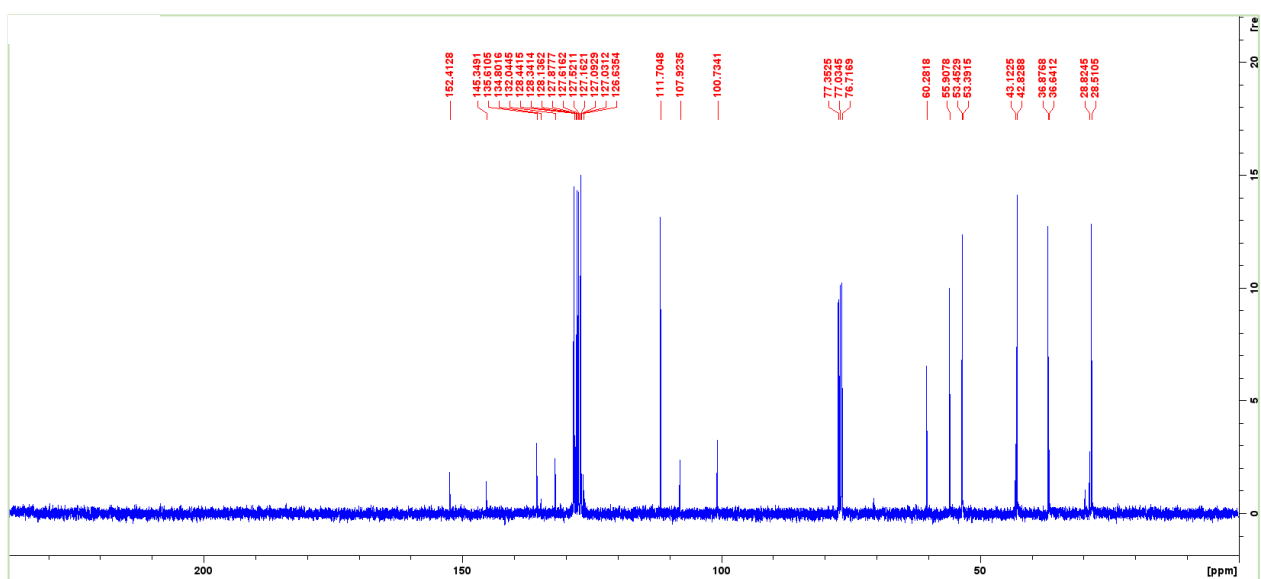
Apêndice 1. Mapa de correlação HSQC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de **AN-2** (lisicamina).



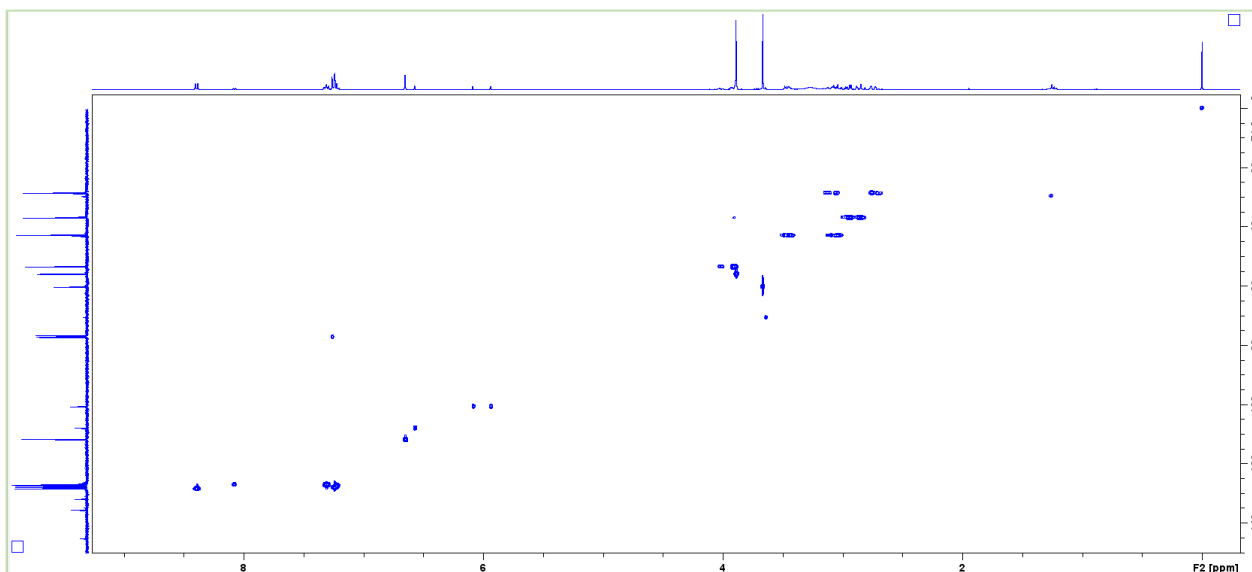
Apêndice 2. Mapa de correlação HMBC (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) de **AN-2** (lisicamina).



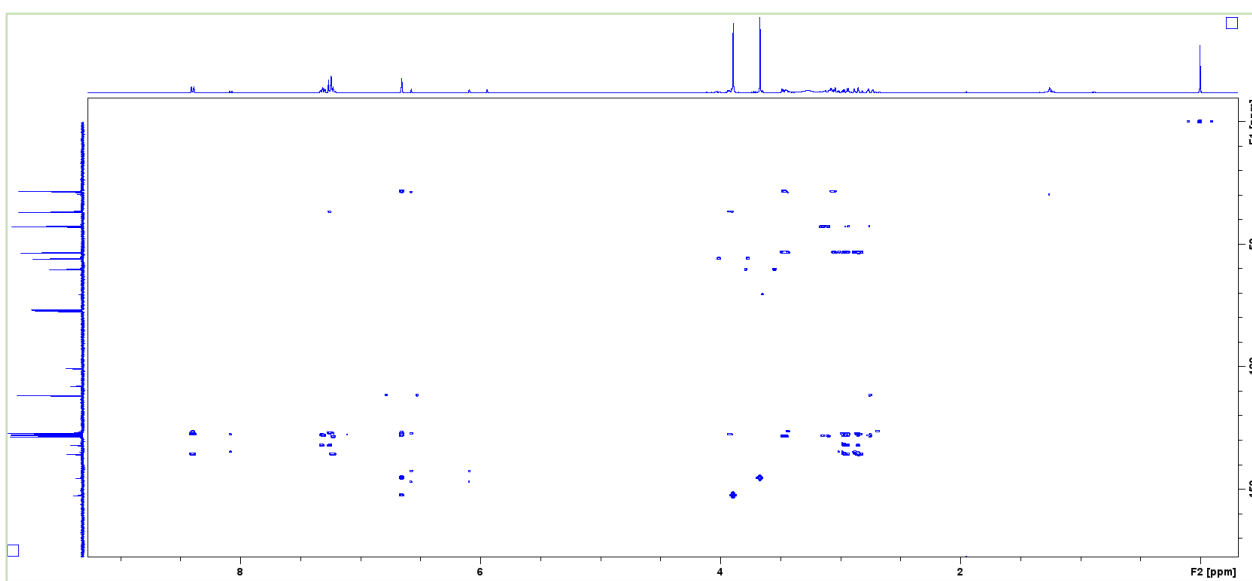
Apêndice 3. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de AN-3 (nornuciferina+anonaina).



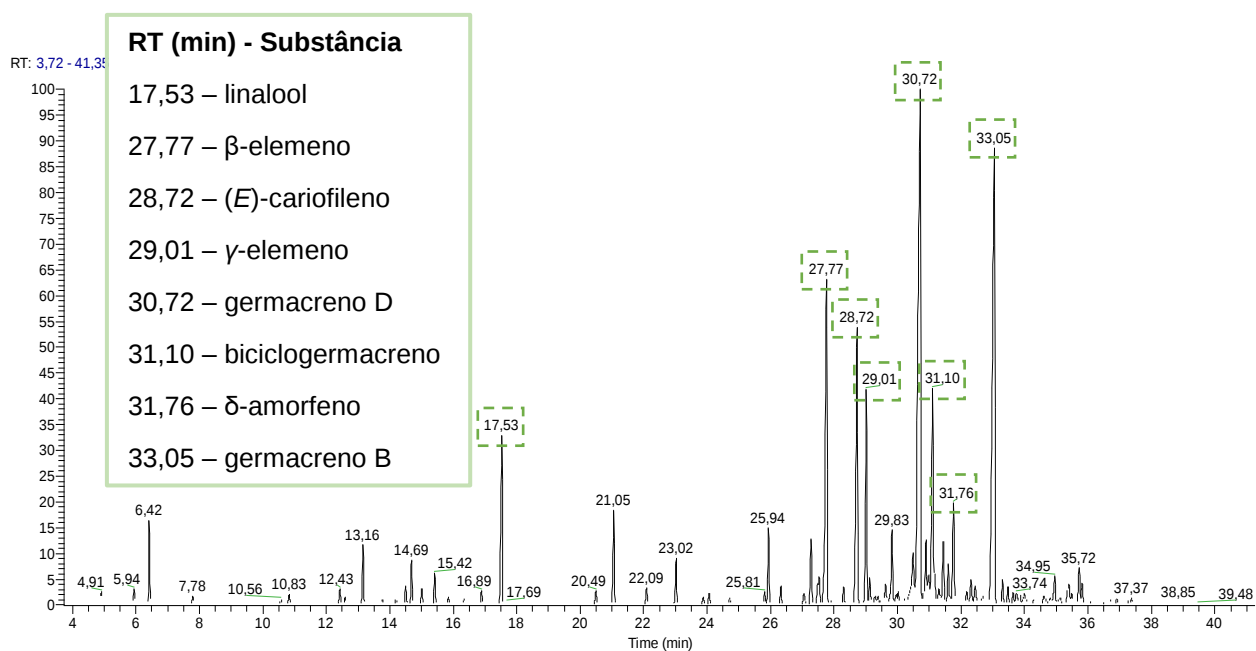
Apêndice 4. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de AN-3 (nornuciferina+anonaina).



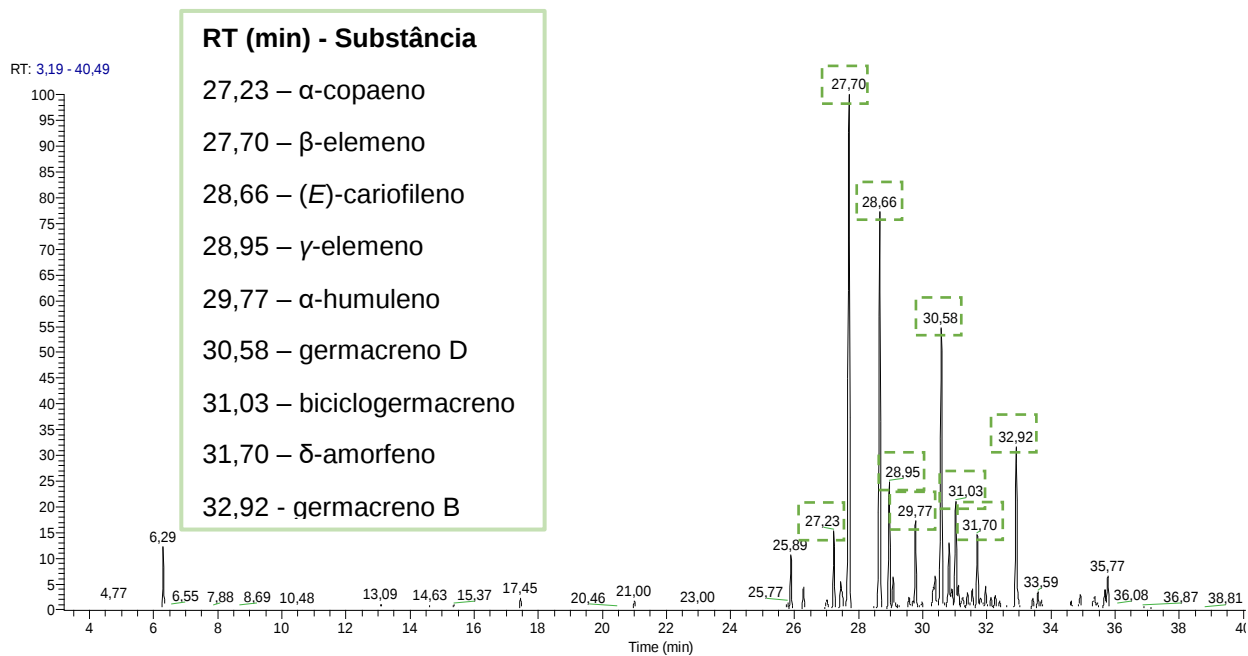
Apêndice 5. Mapa de correlação de HSQC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3** (nornuciferina+anonaina).



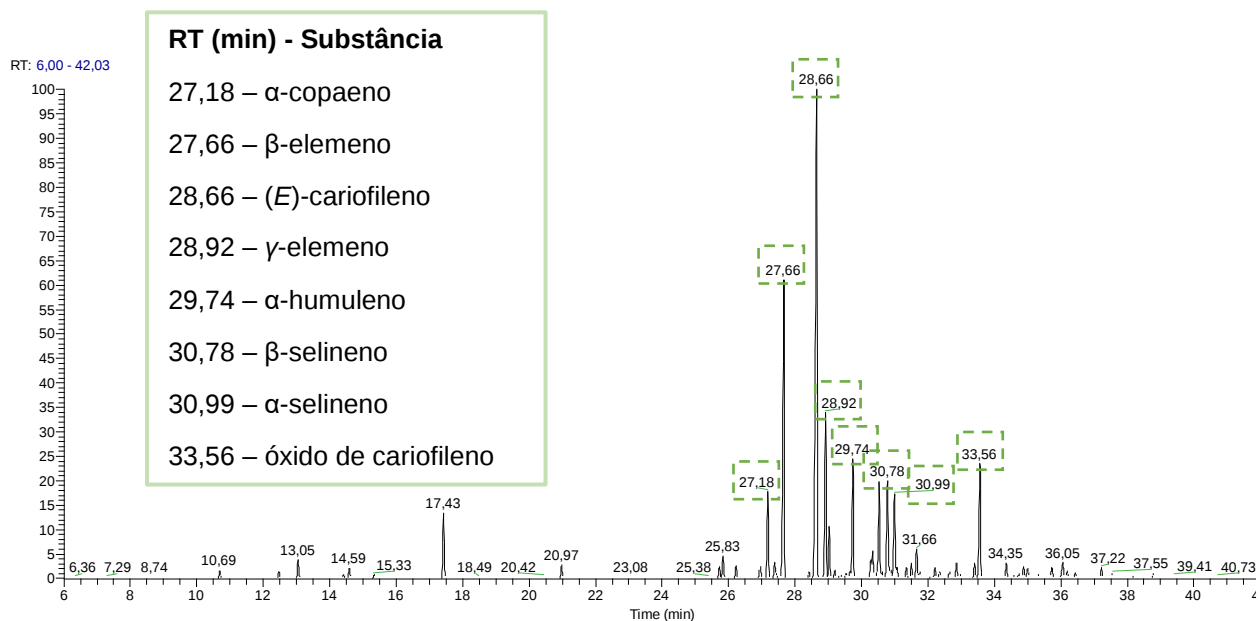
Apêndice 6. Mapa de correlação de HMBC (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) de **AN-3** (nornuciferina+anonaina).



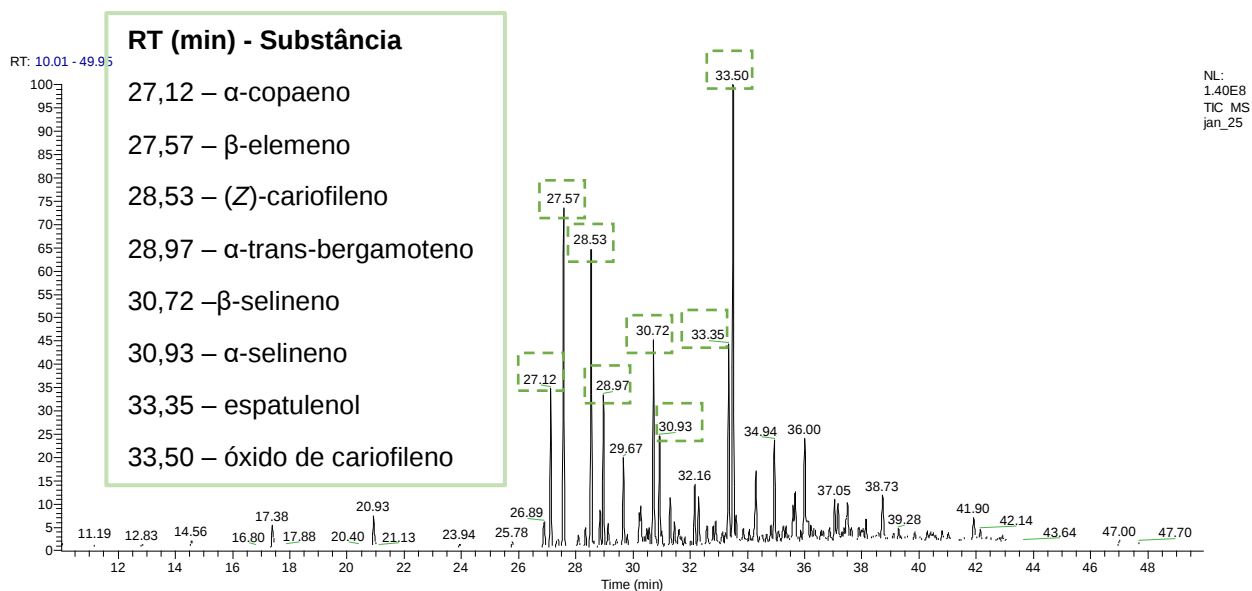
Apêndice 7. Cromatograma de íons totais do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* para junho de 2023.



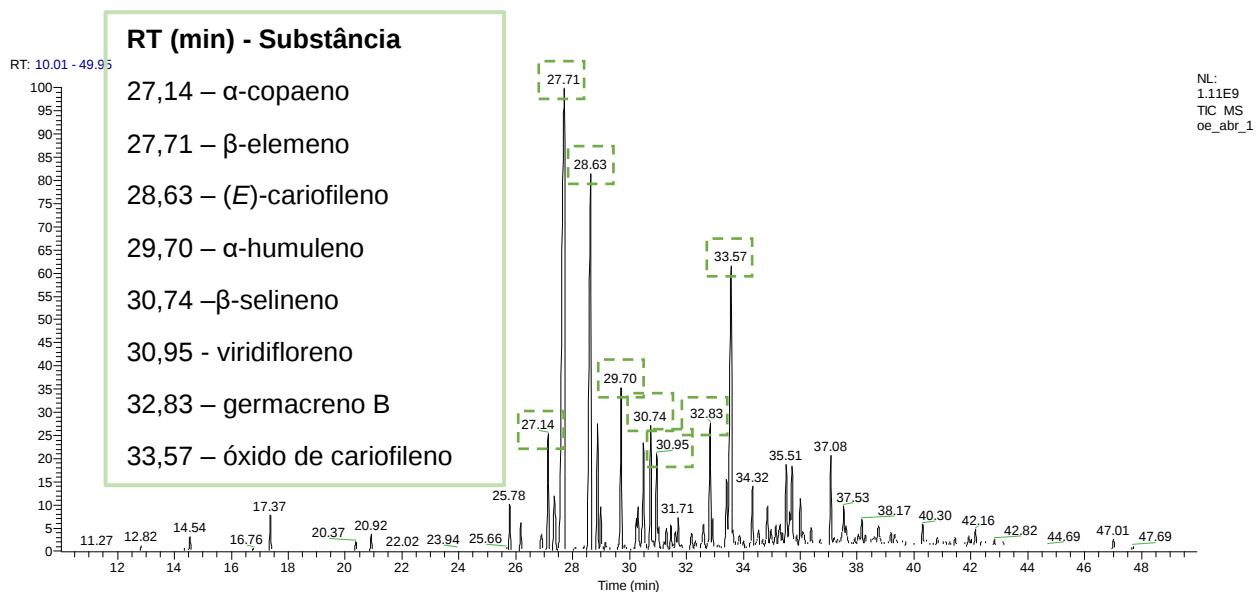
Apêndice 8. Cromatograma de íons totais do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* para julho de 2024.



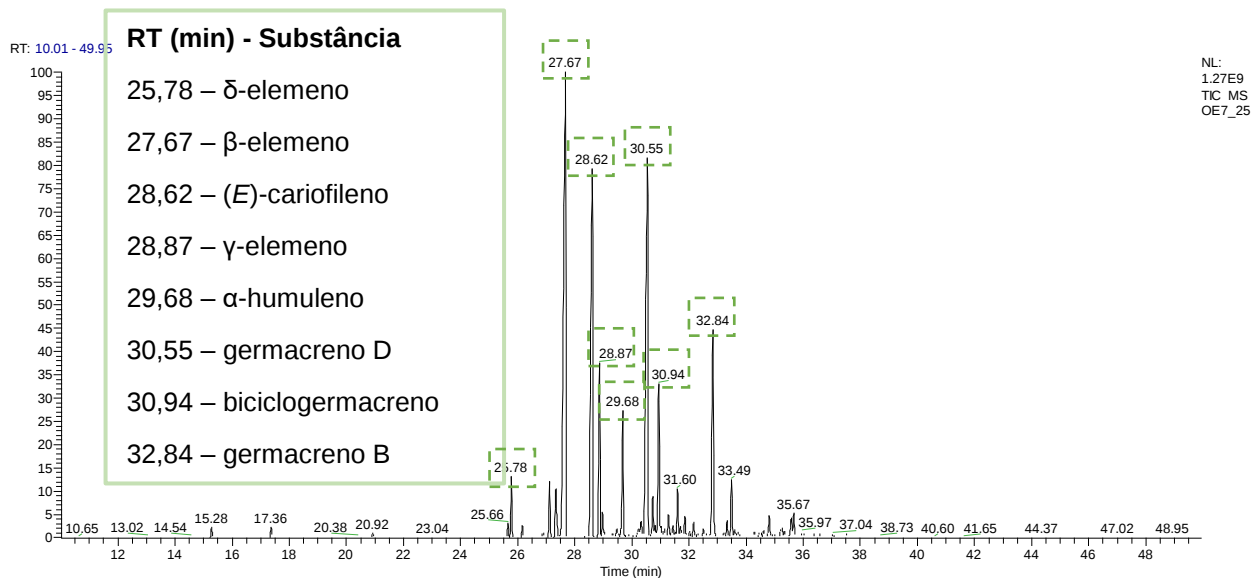
Apêndice 9. Cromatograma de íons totais do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* para outubro de 2024.



Apêndice 10. Cromatograma de íons totais do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* para janeiro de 2025.



Apêndice 11. Cromatograma de íons totais do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* para abril de 2025.



Apêndice 12. Cromatograma de íons totais do óleo essencial das folhas de *A. neoinsignis* para julho de 2025.