

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

The logo of the Universidade Federal do Amazonas is a circular emblem. It features a central figure of a hand holding a torch, surrounded by a laurel wreath. The text "UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS" is written along the top inner edge of the circle, and "IN UNIVERSA SCIENTIA VERITAS" is written along the bottom inner edge. There are also some decorative elements like flowers and berries within the wreath.

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Xylopi* *excellens* E
Xylopi *benthamii* (ANNONACEAE)

DANIELLE CARDOSO DE ALENCAR

MANAUS

2015

DANIELLE CARDOSO DE ALENCAR



ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Xylopia excellens* E
Xylopia benthamii (ANNONACEAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química de Produtos Naturais.

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. MARIA LÚCIA BELÉM PINHEIRO

Co-ORIENTADOR: Prof. Dr. EMMANOEL VILAÇA COSTA

MANAUS

2015

Ficha Catalográfica

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

A368e Alencar, Danielle Cardoso
ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Xylopia excellens* E
Xylopia benthamii (ANNONACEAE) / Danielle Cardoso Alencar.
2015
194 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria Lúcia Belém Pinheiro
Coorientadora: Emmanoel Vilaça Costa
Tese (Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Annonaceae. 2. Alcaloides. 3. Atividade biológica. 4. Diterpeno.
I. Pinheiro, Maria Lúcia Belém II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

DANIELLE CARDOSO DE ALENCAR

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Xylopia excellens* E
Xylopia benthamii (ANNONACEAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química de Produtos Naturais.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Maria Lúcia Belém Pinheiro – Presidente

Prof. Dr. Geone Maia Correa – Membro Externo (UFAM-ICET)

Prof. Dr. Adrian Martin Pohlit- Membro (INPA)

Prof.^a Dr.^a Rita de Cássia Saraiva Nunomura – Membro (UFAM)

Prof. Dr. Anderson Cavalcante Guimarães - Membro Externo

A decorative scroll graphic with a black outline and rounded corners. The top and bottom edges are slightly curved, and there are two grey circular accents on the left side, one near the top and one near the bottom, suggesting the scroll is unrolled.

Dedico

Primeiramente à Deus, que sempre esteve presente em minha vida proporcionando-me muitas alegrias e sempre me dando força para superar as dificuldades;

Ao meu filho **Jonathan Jackson Cardoso Farias**, meu eterno companheiro que a cada sorriso me ilumina e me motiva a prosseguir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por iluminar meus caminhos e por esta sempre ao meu lado em todas as horas;

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela oportunidade do aprimoramento dos meus conhecimentos;

À Prof.^a Dra. Maria Lúcia Belém Pinheiro, pelo conhecimento transmitido, apoio, estímulo, paciência, amizade e orientação desde o PIBIC. Minha eterna gratidão e admiração;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro concedido através da bolsa de Doutorado;

Aos professores do Departamento de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas pelos conhecimentos adquiridos;

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Webber do Departamento de Biologia (UFAM) pela identificação botânica das espécies em estudo e ao Prof. Dr. Luiz Antônio Mendonça Alves da Costa da Universidade Federal de Roraima - UFRR pela colaboração nas análises dos óleos essenciais por CG-EM e CG-DIC;

Ao Doutorando Felipe Moura Araújo da Silva, pelas suas importantes contribuições nas minhas pesquisas em espectrometria de massas e de RMN e obtenção dos respectivos espectros.

Ao Prof. Dr. Andersson Barisson, da UFPR por disponibilizar a estrutura do seu laboratório para as nossas análises de RMN.

Ao Prof. Marcos José Salvador, da UNICAMP, pelos testes biológicos.

Aos colegas de laboratório pelo aprendizado mútuo e pelos bons momentos que passamos juntos;

À minha família, meus pais Mario Jorge e Fátima por me empurrarem para buscar o conhecimento sempre mais e por me apoiarem mesmo que à distância.

Ao meu filho Jonathan Jackson, pelo seu amor verdadeiro, por todos os momentos, difícil ou não, em que passamos juntos durante esse desafio e por tudo o que ele representa na minha vida.

Agradeço, enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade.

*" Fé e Esperança...
Onde encontro forças para olhar
Para as dificuldades e saber que Deus
Vê-me muito além do que eu posso imaginar
Nele respiro fundo e...
Começo tudo de novo
Só por Ele, N'ele e com Ele...*

RESUMO

As espécies da família Annonaceae são conhecidas por elaborar uma grande variedade de compostos, principalmente alcaloides, diterpenos e acetogeninas, os quais têm revelado importantes propriedades farmacológicas. Apesar da importância dos membros dessa família na medicina popular, o número de espécies investigadas é extremamente reduzido. O gênero *Xylopia* L. constitui um dos maiores da família Annonaceae, com cerca de 160 espécies com ampla distribuição pantropical, sendo que apenas seis das doze espécies encontradas na Amazônia, apresentam estudos químico e/ou biológicos. Visando contribuir para o conhecimento químico e biológico do gênero *Xylopia* e considerando a potencialidade químico-farmacológica das Annonaceae, este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil químico, realizar estudos fitoquímicos e investigar as atividades antimicrobiana, antitumoral e leishmanicida das espécies *X. excellens* e *X. benthamii*. Neste trabalho, são apresentados os resultados do estudo dos perfis químicos realizados por espectrometria de massas, análises cromatográficas dos óleos essenciais das espécies *X. excellens* e *X. benthamii*, assim como os resultados do estudo fitoquímico das espécies *X. excellens*. A análise de cromatografia gasosa (CG/EM) acoplada a espectrometria de massas dos óleos essenciais das folhas *X. excellens*, permitiu identificar 29 compostos, observando-se a predominância de sesquiterpenos, sendo o espatulenol o composto majoritário. Para a *X. benthamii* foram identificados 46 constituintes, verificando-se a predominância de monoterpenos, sendo o β -felandreno, o composto majoritário. A análise das frações alcaloídicas das folhas e galhos finos de *X. excellens* revelou a presença de uma variedade de estruturas de derivados isoquinolínicos, com predominância de oxoaporfínicos. Foram isolados 11 alcaloides, identificados como, reticulina (benziltetraidroisoquinolínico), anonáina e normantenina

(aporfínicos), liriidenina, lisicamina, isomochastolina, oxoglaucina, *O*-metilmoschatolina, lanuginosina, oxonantenina e oxofoebina (oxoaporfínicos). Do extrato hexânico de *X. excellens* foi isolado 1 diterpeno glicosilado inédito, identificado como 7 β -*O*- β -D-glucopiranosídeo *ent*-caur-16-eno. Os compostos isolados foram identificados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas (EM e RMN -1D e 2D) bem como a comparação com os dados descritos na literatura. Adicionalmente, os extratos, frações e óleo essencial das espécies *X. excellens* e *X. benthamii* revelaram promissoras atividades antimicrobiana e antitumoral. O diterpeno isolado apresentou atividade leishmanicida contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* com valores de IC₅₀ de 15.23 \pm 0.64 μ g/mL.

ABSTRACT

Species of the Annonaceae family are known for presenting a variety of compounds, particularly alkaloids, diterpenoids, and acetogenins which has proved valuable pharmacological properties. Despite the importance of members of this family in folk medicine, the number of species investigated is greatly reduced. The genus *Xylopia* L. is one of the largest Annonaceae family, with about 160 species with large pantropical distribution, with only six of the twelve species found in the Amazon, have chemical and biological studies. As a contribution to chemical and biological knowledge of *Xylopia* gender and considering the chemical and pharmacological potential of Annonaceae, this study aims to evaluate the chemical profile, phytochemical perform studies, and investigate the antioxidant, antimicrobial, and antitumor of the species *X. excellens* and *X. benthamii*. In this work we show results of the study activity of chemical profiles of mass spectrometry, GC analysis of essential oils of species *X. excellens* and *X. benthamii*, as well as, results of the phytochemical study of alkaloid fractions of the *X. excellens* species. Through gas chromatographic coupled with mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils from leaves of *X. excellens* were identified 29 compounds observing the predominance of sesquiterpenes, spathulenol being the major compound. For *X. benthamii* leaves, 46 constituents were identified, verifying the predominance of monoterpenes, being β - felandrene the major compound. The analysis of alkaloidal fractions of leaves and branches of *X. excellens* revealed the presence of a variety of isoquinoline derivatives, mainly oxoaporphine structures. Eleven alkaloids were isolated, and were characterized as reticuline (benzyltetrahydroisoquinoline), anonaine and nornantenine (aporphines), liriodenine, lysicamine, isomochastoline, oxoglucine, O-

methylmoschatoline, lanuginosine, oxonatenine and oxophoebine (oxoaporphines.). From leaf hexanic extracts of *X. excellens* was isolated one *ent*-cauren diterpene, identified as 7 β -O- β -D-glucopyranoside-*ent*-kaur-16-ene. The isolated compounds were identified by spectrometric techniques (MS and NMR 1D and 2D) and the comparison with the data with those reported in the literature. Additionally, extracts, fractions and essential oil of *X. excellens* and *X. benthamii* revealed promissory antimicrobial and antitumor activities. The diterpene isolated shows anti-leishmania activity against promastigote forms of *Leishmania amazonensis* with values of IC₅₀ of 15.23 \pm 0.64 μ g/mL.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição mundial da família Annonaceae.....	32
Figura 2. Flores de diferentes espécies de Annonaceae: (a) <i>Ylang-Ylang</i> , (b) <i>Uvaria ruffa</i> , (c) <i>Xylopia aromatica</i> , (d) <i>Annona coriacea</i> , (e) <i>Asimina triloba</i>	34
Figura 3. Frutos comestíveis pertencente à família Annonaceae: (a) <i>A. squamosa</i> (fruta-do-conde), (b) <i>A. muricata</i> (graviola), (c) <i>A. cherimolia</i> (cherimólia) e (d) <i>A. mucosa</i> (biribá).....	35
Figura 4. Principais núcleos estruturais de alcaloides isoquinolínicos encontrados em Annonaceae.....	41
Figura 5. Núcleos estruturais de alcaloides não derivado de benzilisoquinolínicos encontrados em Annonaceae.....	42
Figura 6. Alcaloides do tipo pirimidino- β -carbolínico e indólicos isolados do gênero <i>Annona</i>	42
Figura 7. Alcaloides mais frequentes encontrados na família Annonaceae.....	43
Figura 8. Alcaloides benzilisoquinolínicos com atividade biológica.....	44
Figura 9. Substâncias isoladas do gênero <i>Xylopia</i>	58
Figura 10. Espécie <i>X. benthamii</i> : (a) árvore; (b) flores e (c) fruto.....	62
Figura 11. Espécie <i>X. excellens</i> : (a) árvore; (b) frutos e (c) botão.....	64
Figura 12. Rota biossintética para a formação da estrutura benzilisoquinolínica a partir da L-tirosina.....	67
Figura13. Biossíntese dos alcaloides aporfínicos.....	68
Figura 14. Biossíntese geral para os alcaloides oxoaporfínicos.....	68
Figura 15. Cromatograma LC/MS da FAXE (F). (a) Detector MS, (b) Detector PDA.....	90
Figura 16. Cromatograma LC/MS da FAXE (GF). (a) Detector MS, (b) Detector PDA....	91

Figura 17. Espectros de massas de primeira ordem (<i>full scan</i>) em modo positivo das frações alcaloídicas de <i>X. excellens</i> . (a) FAXE (F), (b) FAXE (GF), (c) FAXE (CAS), (d) FAXE (CER).....	93
Figura 18. Espectros de massas de primeira ordem (<i>full scan</i>) em modo positivo das frações alcaloídicas de <i>X. benthamii</i> . (a) FAXB (F), (b) FAXB (GF), (c) FAXB (CAS), (d) FAXB (CER).....	94
Figura 19. Espectro de massas MS ² obtidos em modo positivo do íon <i>m/z</i> 338	95
Figura 20. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC do alcaloide Anonaína.....	100
Figura 21. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC do alcaloide nornantenina.....	103
Figura 22. Correlações observadas no mapa de contorno gHMBC da substância XeF3.....	111
Figura 23. Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>X. excellens</i>	124
Figura 24. Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>X. benthamii</i>	126

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rendimento dos extratos brutos	78
Tabela 2. Rendimento da extração ácido-base dos extratos metanólicos.....	80
Tabela 3. Substâncias obtidas na purificação da FAXE (F)	83
Tabela 4. Substâncias obtidas na purificação da FAXE (GF)	84
Tabela 5. Comparação dos dados de RMN de ^1H da substância XeF1 com a literatura.....	98
Tabela 6. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF2 com a literatura.	101
Tabela 7. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF9 com a literatura.	103
Tabela 8. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF4 com a literatura.	105
Tabela 9. Comparação dos dados de RMN ^1H e gHSQC da substância XeF5 com a literatura.....	107
Tabela 10. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF8 com a literatura.	109
Tabela 11. Comparação dos dados de ^1H , ^{13}C RMN de 1D e 2D da substância XeF3 com a literatura.....	112
Tabela 12. Comparação dos dados de ^1H RMN da substância XeF10 com a literatura.	114
Tabela 13. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF7 com a literatura.	116
Tabela 14. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF6 com a literatura.	117
Tabela 15. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF11 com a literatura.	119
Tabela 16. Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C da substância XeHF12 com a literatura.....	122
Tabela 17. Constituintes voláteis das folhas de <i>X. excellens</i>	124
Tabela 18. Constituintes voláteis das folhas de <i>X. benthamii</i>	126
Tabela 19. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de <i>X.benthamii</i> e <i>X. excellens</i> e substância pura.	129

Tabela 20. Atividade antiproliferativa dos extratos e frações de *X.benthamii* e *X. excellens* 131

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Exemplos de metabólitos isolados de espécies de Annonaceae.....	37
Quadro 2. Atividade biológica de alcaloides isoquinolínicos.	45
Quadro 3: Uso etnomedicinais e atividade farmacológica de espécies do gênero <i>Xylopi</i> a.	50
Quadro 4. Classe de metabólicos isolados do gênero <i>Xylopi</i> a	56

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1. Obtenção dos extratos brutos das espécies da família Annonaceae coletadas.....	78
Fluxograma 2. Fracionamento dos extratos metanólicos para obtenção de alcaloides.....	80
Fluxograma 3. Fracionamento da fração hidroalcoólica do extrato hexânico das folhas de <i>X. excellens</i>	81

LISTA DE ESPECTRO

Espectro 1. Espectro de massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo da substância XeF1.....	138
Espectro 2. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância XeF1.	138
Espectro 3. Ampliação da região alifática Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância XeF1.....	138
Espectro 4. Espectro de massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF2	138
Espectro 5. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância XeF2.	138
Espectro 6. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância XeF2.	138
Espectro 7. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância XeF2.	138
Espectro 8. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF2.	138
Espectro 9. Mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF 2.	138
Espectro 10. Expansão do espectro de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 160 a 20 ppm da substância XeF2.	138
Espectro 11. Expansão do espectro de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 145 a 20 ppm da substância XeF2.	138
Espectro 12. Espectro de massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo da substância XeF9.....	138

Espectro 13. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF9.....	138
Espectro 14. Ampliação da região 2,50 – 4,22 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF9.....	138
Espectro 15. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF9	138
Espectro 16. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 120 a 72 ppm da substância XeF9	138
Espectro 18. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 165 a 35 ppm da substância XeF9	138
Espectro 17. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 64 a 24 ppm da substância XeF9	138
Espectro 19. Expansão do espectro de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 150 a 20 ppm da substância XeF9.	138
Espectro 20. Espectro de massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF4	138
Espectro 21. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF4.....	138
Espectro 22. Ampliação da região 7,63 – 8,81 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF4.	138
Espectro 23. Ampliação da região 7,40 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF4.	138
Espectro 24. Espectro massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF5	138
Espectro 25. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.....	138
Espectro 26. Ampliação da região 8,59 – 9,20 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF5.	138

Espectro 27. Ampliação da região 7,57 – 7,83 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF5.	138
Espectro 28. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.	138
Espectro 29. Ampliação do Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.	138
Espectro 30. Ampliação do Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.	138
Espectro 31. Ampliação do Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.	138
Espectro 32. Espectro de massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF8	138
Espectro 33. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF8.	138
Espectro 34. Ampliação da região 8,58 – 9,10 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF8.	138
Espectro 35. Ampliação da região 7,32 – 7,69 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF8.	138
Espectro 36. Espectro de massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF3	138
Espectro 37. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.	138
Espectro 38. Ampliação da região 3,98 – 4,11 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.	138
Espectro 39. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.	138

Espectro 40. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 148 a 105 ppm da substância XeF3	138
Espectro 41. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 112 a 67 ppm da substância XeF3.	138
Espectro 42. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 100 a 20 ppm da substância XeF3.	138
Espectro 43. Mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.	138
Espectro 44. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 185 a 100 ppm da substância XeF3.	138
Espectro 45. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 162 a 120 ppm da substância XeF3.	138
Espectro 46. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 170 a 140 ppm da substância XeF3.	138
Espectro 47. Espectro de massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF10	138
Espectro 48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância XeF10.....	138
Espectro 49. Ampliação da região 7,52 – 9,12 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância XeF10.	138
Espectro 50. Espectro massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF7	138
Espectro 51. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância XeF7.	138
Espectro 52. Espectro massa <i>full</i> MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ substância XeF6	138

Espectro 53. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF_6	138
Espectro 54. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF_6	138
Espectro 55. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF_6	138
Espectro 56. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF_6	138
Espectro 56. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF_6	138
Espectro 57. Espectro massa <i>full MS</i> obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF_{11}	138
Espectro 58. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF_{11}	138
Espectro 59. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF_{11}	138
Espectro 60. Expansão do espectro de massa HR-APCIMS obtido em modo positivo $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeHF_{12}	138
Espectro 61. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF_{12}	138
Espectro 62. Ampliação da região 3,45 – 4,77 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF_{12}	138
Espectro 63. Ampliação da região 1,90 – 2,65 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF_{12}	138
Espectro 64. Ampliação da região 0,80 – 1,93 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF_{12}	138
Espectro 65. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) da substância XeHF_{12}	138

Espectro 66. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) na região de 107 a 45 ppm da substância XeHF12.....	138
Espectro 67. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) na região de 50 a 16 ppm da substância XeHF12.....	138
Espectro 68. Mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) da substância XeHF12.....	138
Espectro 69. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) na região de 150 a 50 ppm da substância XeHF12.....	138
Espectro 70. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) na região de 155 a 40 ppm da substância XeHF12.....	138

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AAPH	2,2'-Azobis (2-amidiopropane) dihydrochloride
δ	Deslocamento químico
μg	Micrograma
μM	Micromolar
1D	Uma dimensão
2D	Duas dimensões
CAS	Cascas
CER	Cerne
CC	Coluna cromatográfica
CCD	Cromatografia em camada delgada
CD_3OD	Metanol deuterado
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
CH_3OH	Metanol
CHCl_3	Clorofórmio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dubleto
DL_{50}	Dose letal para matar 50%
EH	Extrato hexânico
EM	Extrato metanólico
F	Folhas

FAL	Fração alcaloídica
FIA-ESI-IT-MS	<i>Flow injection analysis - Electrospray ionization - Ion trap - Mass spectrometry</i> (Espectrometria de massas acoplada a um <i>ion-trap</i> com interface de ionização por electrospray e inserção direta da amostra)
FN	Fração neutra
Fr.	Fração
GF	Galhos finos
HMBC	“Heteronuclear Multiple Bond Correlation”
HSQC	“Heteronuclear Single Quantum Coherence”
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
<i>m</i>	multipleteo
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
NH ₄ OH	Hidróxido de Amônio
Rf	Fator de retenção
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	singleto
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
XB	<i>Xylopiá benthamii</i>
XE _x	<i>Xylopiá excellens</i>

SUMÁRIO

1.	Introdução	30
2.	Revisão da Literatura.....	32
	2.1.Família Annonaceae Juss.	32
	2.2.Constituintes Químicos da Família Annonaceae.....	36
	2.3.Considerações sobre o gênero <i>Xylopia</i>	47
	2.4.Biossíntese dos alcaloides isoquinolínicos	64
3.	Objetivos.....	70
4.	Parte Experimental	72
	4.1. Técnicas cromatográficas.....	72
	4.1.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)	72
	4.1.2. Cromatografia em coluna (CC)	72
	4.2. Solventes e reagentes reveladores	73
	4.2.1 Solventes	73
	4.2.2. Reagentes reveladores.....	74
	4.3. Métodos espectroscópicos/espectrométricos	74
	4.4. Outros equipamentos	75
	4.5. Material botânico.....	75
	4.6. Secagem e moagem	76
	4.7. Seleção, secagem e pulverização das folhas de <i>X. excellens</i> e <i>X. benthamii</i> para extração dos óleos essenciais	76
	4.8. Obtenção dos óleos essenciais.....	76
	4.9. Análise por Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM).....	77
	4.10. Preparação dos extratos.....	77

4.11. Marcha química para a extração de alcaloides presentes nos extratos metanólicos	79
4.12. Fracionamento do extrato hexânico das folhas de <i>X. excellens</i> EHXEx (F)	81
4.13. Análise por ESI-IT-MS ⁿ das frações alcaloídicas das folhas, galhos finos, cascas e cerne de <i>X. excellens</i> e <i>X. benthamii</i>	82
4.14. Fracionamento e isolamento das frações alcaloídicas das folhas e galhos finos de <i>X. excellens</i>	82
4.14.1. CLAE-DAD em escala semipreparativa da FAXE (F)	83
4.14.2. CLAE-DAD em escala semipreparativa da FAXE (GF).....	83
4.15. Testes de atividades dos extratos brutos, frações alcaloídicas e dos óleos de <i>X. excellens</i> e <i>X. benthamii</i>	84
5. Resultados.....	90
5.1. Análise do perfil alcaloídico por espectrometria de massas das frações alcaloídicas de <i>X. excellens</i> e <i>X. benthamii</i>	91
5.2. Identificação das substâncias isoladas de <i>X. excellens</i>	95
5.2.1. Determinação estrutural da substância XeF1	97
5.2.2. Determinação estrutural da substância XeF2	99
5.2.3. Determinação estrutural da substância XeF9	101
5.2.4. Determinação estrutural da substância XeF4	104
5.2.5. Determinação estrutural da substância XeF5	105
5.2.6. Determinação estrutural da substância XeF8	107
5.2.7. Determinação estrutural da substância XeF3	109
5.2.8. Determinação estrutural da substância XeF10	112
5.2.9. Determinação estrutural da substância XeF7	114

5.2.10. Determinação estrutural da substância XeF6	116
5.2.11. Determinação estrutural da substância 11	118
5.2.12. Determinação estrutural da substância 12	120
5.3. Composição química dos óleos essenciais das folhas de <i>X. excellens</i>	123
5.4. Composição química dos óleos essenciais das folhas de <i>X. benthamii</i>	125
5.5. Atividade biológica.....	127
5.5.1 Atividade antimicrobiana	127
5.5.2 Atividade antiproliferativa	129
5.5.3 Atividade leishmanicida.....	132
6. Conclusões	134
7. Referências Bibliográficas.....	137

Introdução



1. Introdução

O uso de plantas medicinais para o tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das formas mais antigas de prática medicinal da humanidade (Balunas & Kinghorn, 2005). Tal conhecimento, acumulado durante séculos, pode ser considerado fator fundamental para descobrimento de substâncias tóxicas e medicamentosas ao longo do tempo.

Nos últimos anos, registrou-se um aumento expressivo no interesse em substâncias derivadas de espécies vegetais, isso pode ser evidenciado pelo crescimento de publicações nas principais revistas científicas das áreas de química e farmacologia. Esse crescente interesse em novas substâncias biologicamente ativas está diretamente relacionado à riqueza da biodiversidade. O Brasil apresenta cerca de 22% de toda a biodiversidade vegetal do mundo, o que faz da nossa flora nativa uma das mais ricas fontes de substâncias com potencial farmacológico. No entanto, essas plantas medicinais nativas do Brasil são pouco conhecidas e difundidas (Carvalho 2009).

A Amazônia é considerada como o maior ecossistema de florestas tropicais do mundo e maior reserva de plantas medicinais (Di Stasi et al., 2002). Apesar da potencialidade da flora amazônica, poucos estudos foram desenvolvidos sobre os alcaloides de plantas amazônicas, merecendo registro o trabalho pioneiro de Rocha e colaboradores (1979), sobre a descoberta de um novo esqueleto de alcaloides, os azafluorantenos, isolados de espécies do gênero *Abuta*, da família Menispermaceae. Data de 1968, o primeiro *screening* fitoquímico (Rocha et al., 1968), realizado em material de herbário, que apontou as famílias Annonaceae, Menispermaceae, Apocynaceae e Loganiaceae, como as mais promissoras em alcalóides na Amazônia.

Espécies de Annonaceae se destacam por sua importância no fornecimento de frutos comestíveis, produtos para cosméticos, material para perfumes e são usadas na medicina

popular para várias finalidades, por exemplo, como antitumoral, antiparasitária, inseticida, e como antidiarreica. Muitas espécies apresentam em sua composição substâncias das classes dos alcaloides, acetogeninas, terpenos, lignanas, neolignanas, chalconas, flavonoides e lactonas sesquiterpênicas, compostos descritos na literatura como bioativos (Leboeuf et al ., 1982).

A potencialidade químico-farmacológica da família Annonaceae referente às atividades biológicas justificam estudos químicos e biológicos de espécies dessa família, em especial, das ocorrentes no campus da Universidade Federal do Amazonas. Nesta tese, foi realizada a análise do perfil químico por técnicas espectrométricas, e investigados os aspectos botânicos, químicos e biológicos das espécies *Xylopia benthamii* R. E. Fr e *Xylopia excellens* R.E.Fr.

2. Revisão da Literatura

2.1. Família Annonaceae Juss.

A família Annonaceae pertence ao grupo das Eudicotiledôneas, classe Magnoliopsida, subclasse Magnoliidae e ordem Magnoliales. Essa família apresenta uma combinação de caracteres marcantes, sendo uma das mais uniformes tanto do ponto de vista anatômico como estrutural, e é uma das mais primitivas das Angiospermae (Cronquist, 1988; Fechine et al., 2002; Lorenzi & Souza, 2005).



Figura 1. Distribuição mundial da família Annonaceae

Fonte: www.mobot.org/.../orders/magnolialesweb.htm

Annonaceae compreende cerca de 108 gêneros e mais de 2.400 espécies, estando distribuída nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (Chatrou et al., 2012) (FIGURA 1). A família está classificada em quatro subfamílias: Ambavioideae, Anaxagoreoideae, Annonoideae e Malmeoideae (Chatrou et al., 2012). Anaxagoreoideae inclui apenas *Anaxagorea* A.St.-Hil., com 14 espécies no Brasil. Ambavioideae é composto por 9 gêneros, mas apenas *Tetrameranthus* R.E.Fr. ocorre no Brasil, com 3 espécies. Annonoideae é a maior subfamília, com 51 gêneros, dos quais 12 ocorrem no Brasil, sendo os

gêneros *Annona* R.E.Fr, *Duguetia* A.St.-Hil., *Guatteria* Ruiz & Pav. e *Xylopia* L. os mais representativos da família na flora brasileira. Malmeoideae inclui principalmente gêneros asiáticos, e apenas os representantes da tribo Malmeae, com 13 gêneros, ocorrem no Brasil (Maas et al., 2013).

A Amazônia abriga três quartos da diversidade de Annonaceae, com 27 gêneros e 280 espécies, e a Mata Atlântica, a maior parte restante: 15 gêneros e 91 espécies (Maas et al., 2013). Na Mata Atlântica, também são encontrados dois gêneros e cerca de 40 espécies endêmicas. No Cerrado, são encontrados 10 gêneros, nenhum dos quais endêmicos deste domínio, e 47 espécies de Annonaceae (Maas et al., 2013), algumas de ampla distribuição e bastante comuns, como *Annona crassiflora* Mart., *Duguetia furfuracea* (A.St.-Hil.) Saff. e *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart.

Os gêneros *Anaxagorea* A.St.-Hil., *Annona* R.E.Fr, *Cananga* Champ. ex Hook.f. & Thomson, *Duguetia* A.St.-Hil. e *Xylopia* L. possuem distribuição pantropical, enquanto que *Diclinanona* Diels, *Froesiodendron* A.St.-Hil., *Guatteriella*, *Guatteriopsis* (atualmente incorporado em *Guatteria* Ruiz & Pav. (Erkens et al., 2008), *Ruizodendron* R.E.Fr. e *Trigynaea* A.St.-Hil. são amazônicos, sendo os demais gêneros também neotropicais (Murillo-A et al., 2001).

A maioria dos representantes dessa família é composta por plantas arbóreas, arvoretas ou arbustos (Ribeiro et al., 1999). Vegetativamente, a família pode ser reconhecida pelas seguintes características particulares: odor forte e característico que exala do tronco cortado ou dos ramos; por apresentar fibras longas e resistentes na casca, conhecidas popularmente como envira; pela disposição simples alterna e dística de suas folhas com pecíolo reduzido (exceto em *Tetrameranthus* R.E. Fr, com folhas espiraladas) (Ribeiro et al., 1999). As flores variam grandemente em tamanho e podem ser esbranquiçadas, creme-amarelada, esverdeadas, alaranjadas e até vinho (Ribeiro et al., 1999) (FIGURA 2).

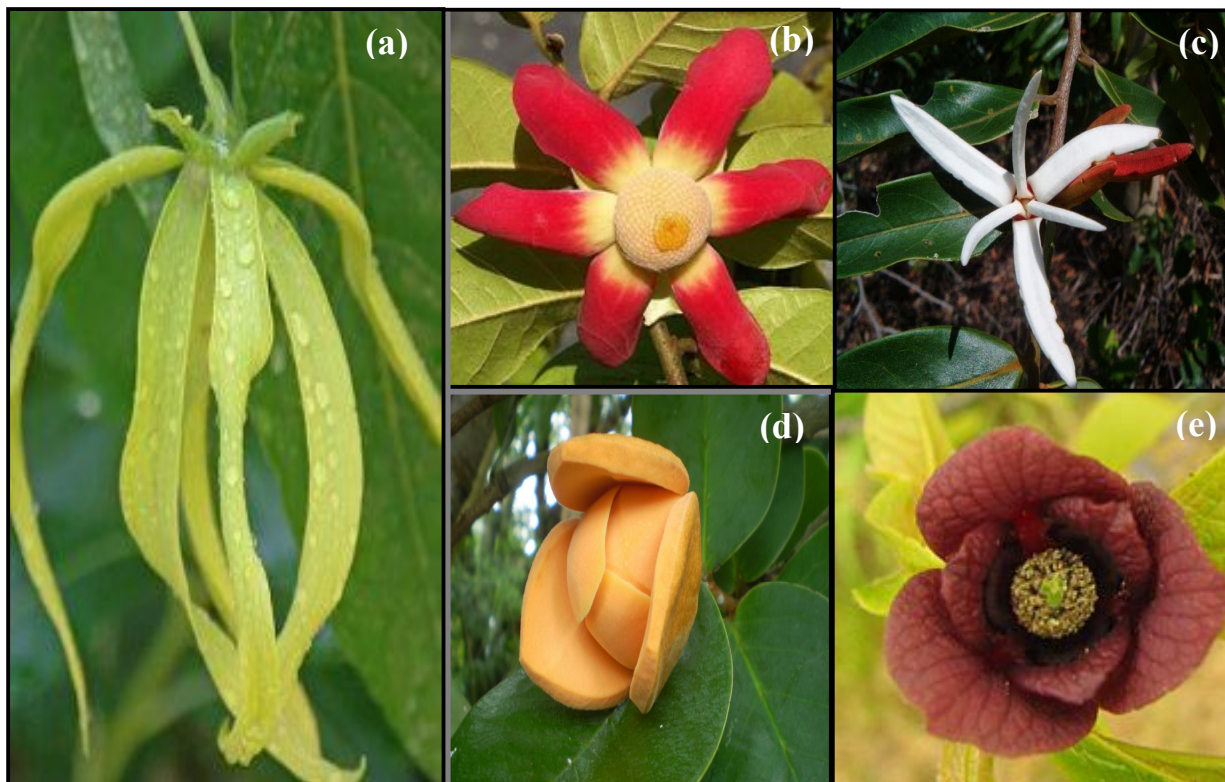


Figura 2. Flores de diferentes espécies de Annonaceae: (a) *Ylang-Ylang*, (b) *Uvaria ruffa*, (c) *Xylopia aromatica*, (d) *Annona coriacea*, (e) *Asimina triloba*. **Fonte:** <https://sites.google.com/site/florasbs/annonaceae>

Grande parte desta família é polinizada por besouros e moscas, variando de acordo com o tamanho das flores (Gottsberger, 1999; Webber, 1996, Maas et al., 2007).

No aspecto econômico, a família apresenta uma diversidade muito grande como fonte de frutos comestíveis, principalmente espécies pertencentes aos gêneros *Annona* R.E.Fr, tais como: *A. cherimolia* (cherimolia), *A. squamosa* Linnaeus (ata, fruta do conde ou pinha), *A. muricata* Linnaeus (guanabana, graviola) e *A. mucosa* (Jacquin) Baillon (biribá) (FIGURA 3), sendo seus frutos usados *in natura* ou na forma de sucos e sorvetes.

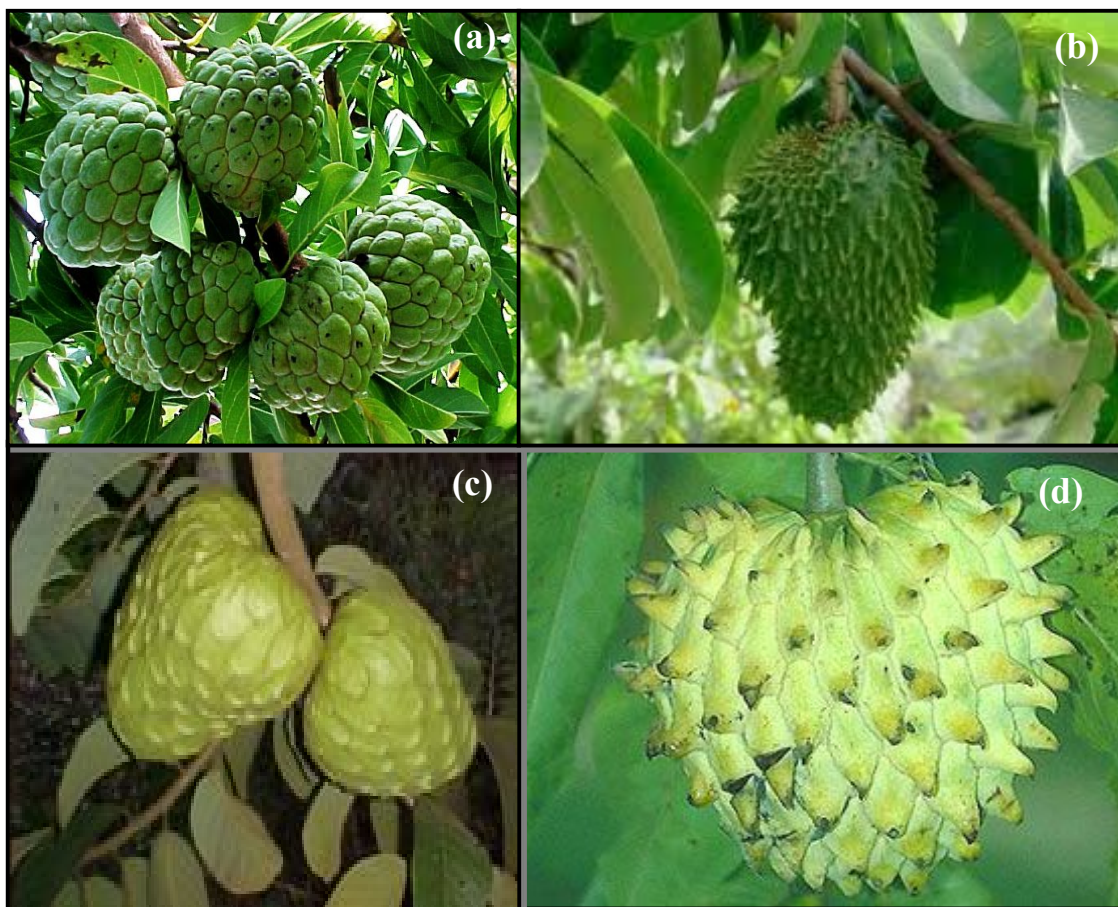


Figura 3. Frutos comestíveis pertencente à família Annonaceae: (a) *A. squamosa* (fruta-do-conde), (b) *A. muricata* (graviola), (c) *A. cherimolia* (cherimólia) e (d) *A. mucosa* (biribá) **Fonte:** <https://sites.google.com/site/frutos/annonaceae> (Data de acesso: 22/02/2014)

Algumas espécies como *Annona glabra* Linn, *Annona crassiflora* Mart., *Bocageopsis* spp, *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff., *Oxandra lanceolata*, *Oxandra laurifolia* (Sw.) Baill., *Guatteria megalophylla* Diels e *Guatteria stipitata* R.E. Fr. são de grande importância econômica em madeiras para confecção de utensílios (Lobão et al., 2005; Murillo-A., 2001; Bernardi e Spichiger, 1980).

Na Ásia, as flores de *Canangium odoratum* (Lam.) Baill. e *Artobotrys odoratissima* St. Hill. são cultivadas para obter a essência de ylang-ylang, sendo esta utilizada na fabricação de perfumes. Na África e Malásia, as sementes de *Xylopia* sp. são usadas como um substituto de pimenta (Bernardi e Spichiger, 1980). A casca de *X. frutescens* Aubl. fornece

fibras que são utilizada para cordoaria e para amarrar rapaduras e feixes de cana nas roças (Brandão et al., 2002).

Vários membros desta família são usados na medicina popular para tratar os mais diversos males. Na Amazônia foi identificado o uso de três espécies: *Annona muricata* (Jacquin) Baillon, no qual o suco do fruto é usado internamente como antitérmico, diurético e no combate a insônia; *Annona tenuiflora* Mart., que é usada contra dores de cabeça, tonturas e hipotensão; e *X. frutescens* cf. Aubl., cuja infusão das folhas é usada como analgésico e anti-inflamatório, ao passo que a decocção da casca é usada, na forma de inalação, para combater resfriados e dores de cabeça (Di Stasi et al., 2002). O chá das folhas de *Duguetia furfuracea* (A. ST.-HIL.) Benth. & Hook. é indicado para combater dismenorreia e, recentemente, teve atividade antioxidante comprovada (Farias et al., 2013).

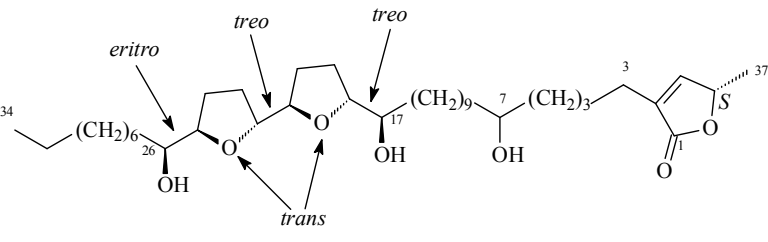
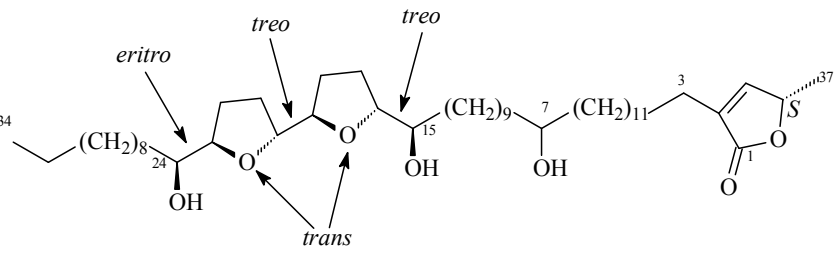
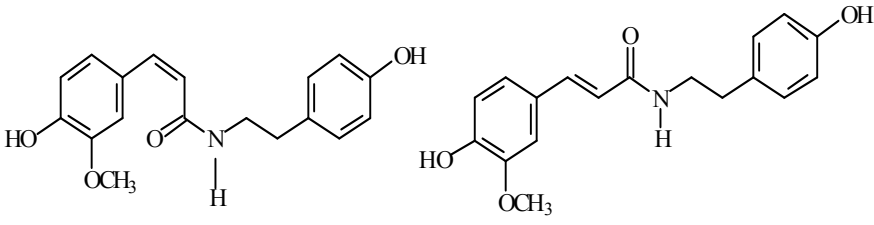
Decocção das raízes da espécie *Goniothalamus velutinus* Airy-Shaw é usada para dores de cabeça e casos de envenenamento, as folhas são usadas como repelente de mosquitos é outro exemplo importante do uso medicinal de espécies da família Annonaceae. Esta espécie tem comprovada atividade antibacteriana e antitumoral *in vitro* (Omar et al., 1992).

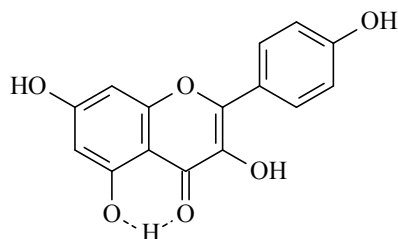
2.2. Constituintes Químicos da Família Annonaceae

A família Annonaceae é rica em compostos químicos, este fato é observado pela variedade diversidade estrutural de metabólitos secundários presentes nesta família que esta relacionado com a diversidade biogenética de Annonaceae. A família é caracterizada pela ocorrência de alcaloides e acetogeninas de anonáceas. Outras classes de compostos como polifenóis, terpenos, compostos aromáticos, neolignanas, flavonóides, lactonas e amidas também podem ser encontrados em espécies desta família (Leboeuf et al., 1982; Díaz, 1997;

Alali et al., 1999; Pinto et al., 2005). Embora menos frequentes, compostos de outras classes também foram isolados desta família, tais como carboidratos, lipídeos, aminoácidos e proteínas, vitaminas (Leboeuf et al., 1982). Na Quadro 1, encontram-se exemplos de moléculas já isoladas de espécies da família Annonaceae.

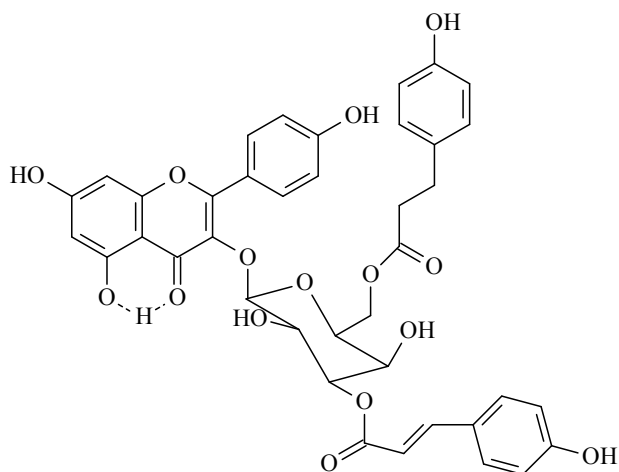
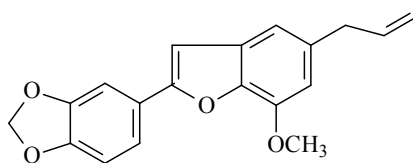
Quadro 1. Exemplos de metabólitos isolados de espécies de Annonaceae.

Espécie	Estrutura Química / Classe de composto
Acetogenina	
<p><i>Annona cornifolia</i> (Lima et al., 2010)</p>	
	<p style="text-align: center;">Cornifolina (1)</p>  <p style="text-align: center;">esquamacina L (2)</p>
Amidas	
<p><i>Xylopiia benthamii</i> (Pimenta et al., 2012)</p>	 <p style="text-align: center;">N-trans- e N-cis-feruloiltiramina (3) e (4)</p>

Quadro 1. Exemplos de metabólitos isolados de espécies de Annonaceae. (Continuação)**Flavonóides**

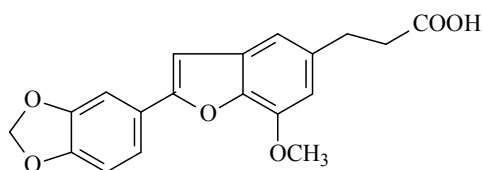
kaempferol (5)

Annona dioica
(Vega et al., 2007).

3-O-[3'',6''-di-O-*p*-hidroxicinamoil]-β-galactopiranosil-kaempferol (6)**Neolignanas**

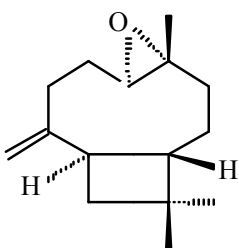
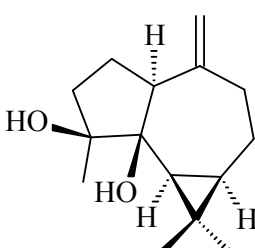
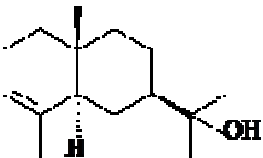
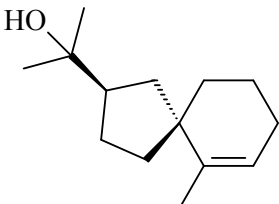
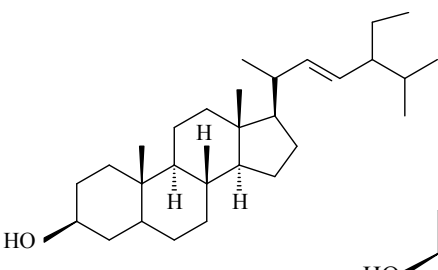
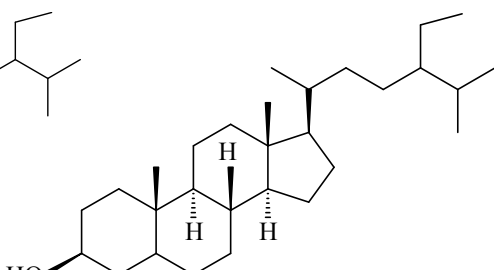
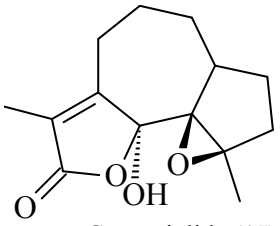
Anaxagorea clavata
(Díaz, 1997).

3'-metoxi-3,4-metilenodioxi-4',7-epoxi-9-nor-8,5'-neolignana-7,8'-dieno (7)

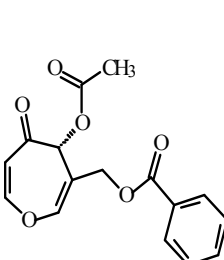
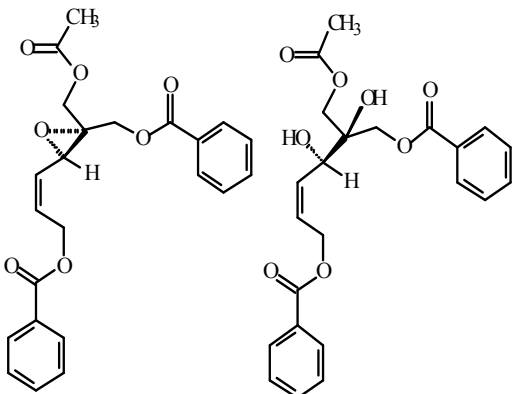
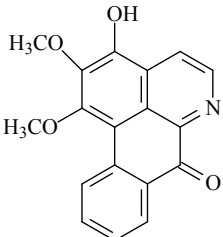
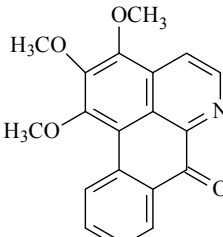


ácido-3'-metoxi-3,4-metilenodioxi-4',7-epoxi-9-nor-8,5'-neolignana-7-em-9'-oico (8)

Quadro 1. Exemplos de metabólitos isolados de espécies de Annonaceae. (Continuação)

Terpenos	
Sesquiterpenos	
	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>óxido de cariofileno (9)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>espatulenol (10)</p> </div> </div>
<p><i>Anaxagorea brevipes</i> (Alencar et al., 2012)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>α-eudesmol (11)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>agarospirol (12)</p> </div> </div>
Esteroides	
<p><i>Annona pulchra</i> (Oliveira, 2007)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>stigmasterol (13)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>β- sitosterol (14)</p> </div> </div>
Lactonas	
<p><i>Guatteria friesiana</i> (Costa, 2009)</p>	 <p>Guatteriolida (15)</p>

Quadro 1. Exemplos de metabólitos isolados de espécies de Annonaceae. (Continuação)

Compostos aromáticos	
<p><i>Uvaria grandiflora</i> (Ankisetty et al., 2006)</p>	 <p>grandiuvarona A (16)</p>
	 <p>grandiuvarinas A e B (17) e (18)</p>
Alcaloides	
<p><i>Ephedranthus amazonicus</i> (Alencar, 2010)</p>	 <p>Isomoschatolina (19)</p>
	 <p><i>o</i>-metilmoschatolina (20)</p>

2.2.1. Alcaloides em Annonaceae

Os alcaloides encontram-se presentes em um grupo restrito de famílias botânicas, sendo as principais Annonaceae, Apocynaceae, Fabaceae, Liliaceae, Loganiaceae, Menispermaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Rutaceae e Solanaceae (Krane, 1982; Menachery et al., 1986; Min, 1991).

A família Annonaceae é caracterizada pela ocorrência de alcalóides do tipo isoquinolínico (Leboeuf et al., 1982a). Considerando a origem biossintética desses alcalóides, os núcleos principais encontrados na família Annonaceae foram: isoquinolínico simples, proaporfínico, aporfínico, benzilisoquinolínico, protoberberínico e fenantrênos (Leboeuf et al., 1982a, Cavé, 1985; Chen et al., 1996) (FIGURA 4).

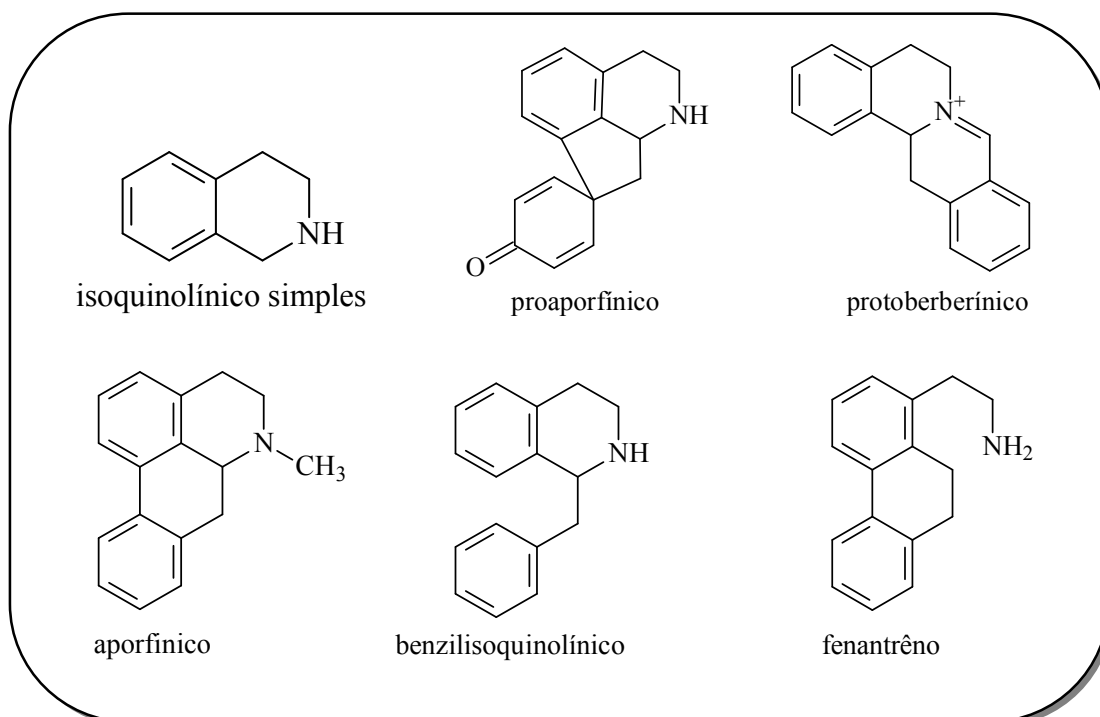


Figura 4. Principais núcleos estruturais de alcalóides isoquinolínicos encontrados em Annonaceae.

Poucos alcalóides relatados em Annonaceae não são derivados benzilisoquinolínicos, como a eupolauridina, a naftiridina, os pirimídicos- β -carbolínicos, e os indólicos (Cavé 1985). Nesse sentido, foi isolado das cascas de *A. impressivenia* o alcaloide metoxiannomontina (Santos, 2007) e das cascas de *A. foetida* foram isolados os alcalóides N-hidroxiannomontina e annomontina (Costa et al., 2006) todos do tipo pirimidino- β -carbonílico. Annomontina foi isolado pela primeira vez da espécie *A. montana* (Leboeuf et al., 1982a). Embora raros, os alcalóides indólicos foram encontrados em duas espécies do

gênero *Annona*, tais como: os alcaloides cheritamina e aperlolidina isolados partir da *A. cherimola* (Chen et al., 1998) e *A. squamosa* (Kuo et al., 2001), respectivamente.

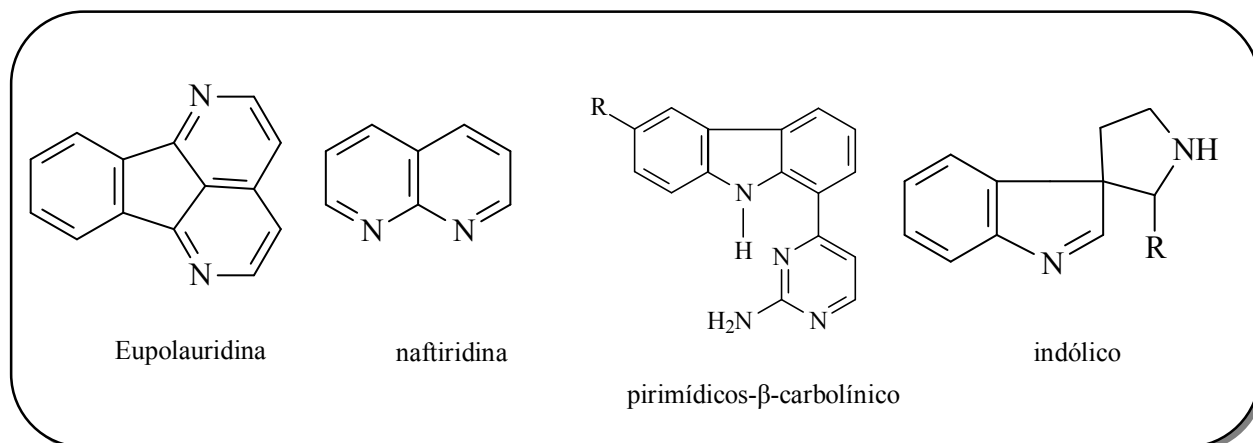


Figura 5. Núcleos estruturais de alcaloides não derivado de benzilisoquinolínicos encontrados em Annonaceae.

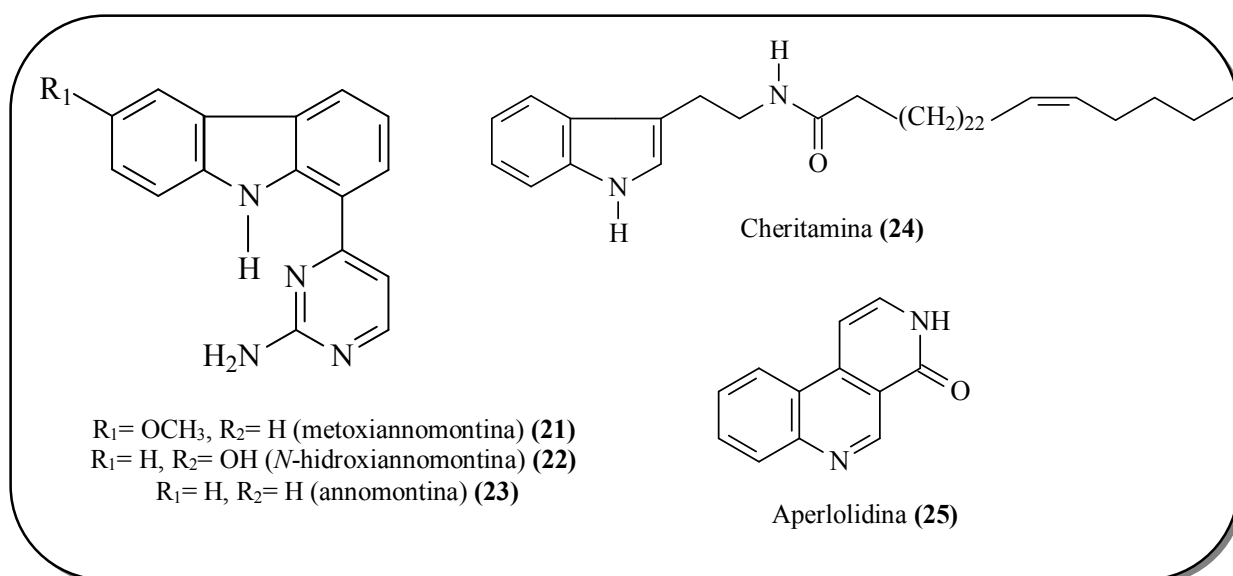


Figura 6. Alcaloides do tipo pirimidino-β-carbolínico e indólicos isolados do gênero *Annona*

Os alcaloides liriodenina (oxoaporfínico) (Siqueira et al., 1998), reticulina (benziltetraidroisoquinolínico) (Kanokmedhakul et al., 2007) e anonaina (aporfínico) (Costa et al., 2008) são frequentemente encontrados em varias espécies da família Annonaceae,

sendo considerados marcadores quimiotaxonômicos desta família (Leboeut et al., 1982) (Figura 7).

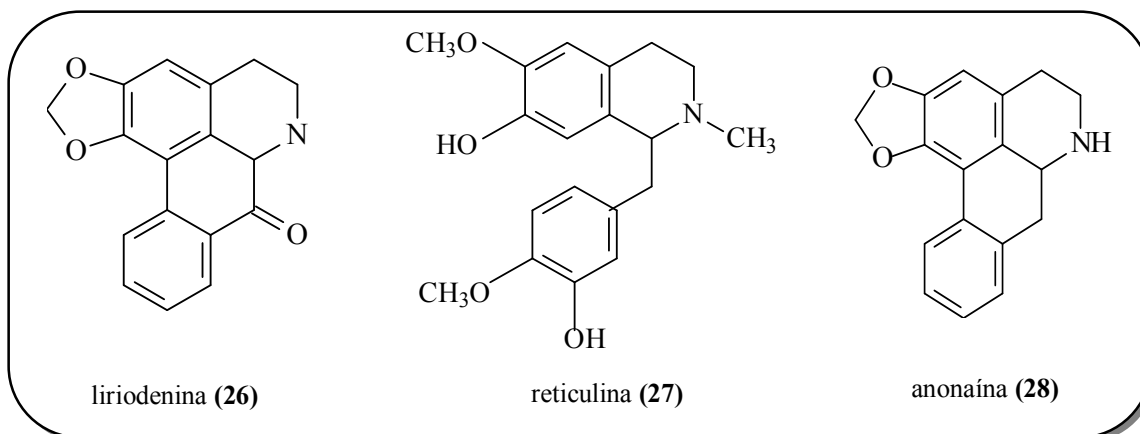


Figura 7. Alcaloides mais frequentes encontrados na família Annonaceae

Diversas atividades biológicas têm sido atribuídas à classe dos alcaloides benzilisoquinolínicos, tais como: citotóxica, antiespasmódico, antitumoral, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiviral, antioxidante e pode atuar como os inibidores da enzima (Aniszewski, 2007).

Os alcaloides isoquinolínicos mostram afinidade natural para alguns dos receptores de dopamina envolvidos nos principais transtornos do humor como esquizofrenia, doença de Huntington, déficit de atenção e hiperatividade e doença de Parkinson. Precisamente, o (R) – apomorfina, um aporfínico semisintetizado a partir da morfina, têm sido utilizado clinicamente para o tratamento da doença de Parkinson (Cortes et al., 2014). O aporfínico (R)-anonaína isolado das sementes da espécie asiática *X. papuana* e abundante em muitas espécies de anonáceas apresenta uma atividade dopaminérgica indireta, uma vez que é capaz de inibir a recaptção dopamina (Bermejo et al., 1995) (FIGURA 8).

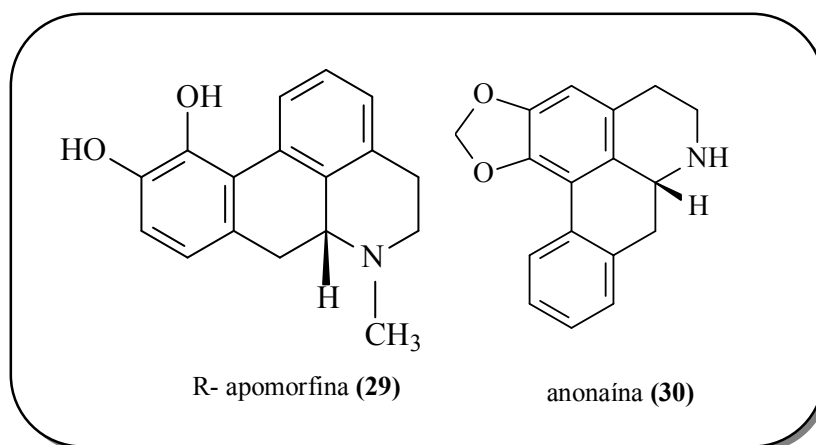
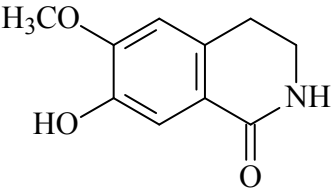
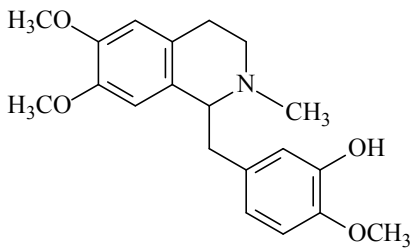
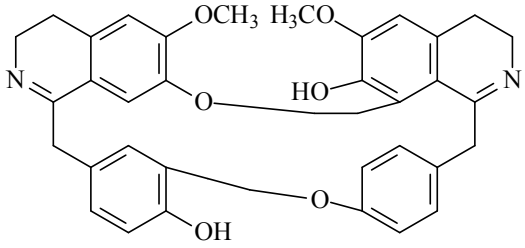
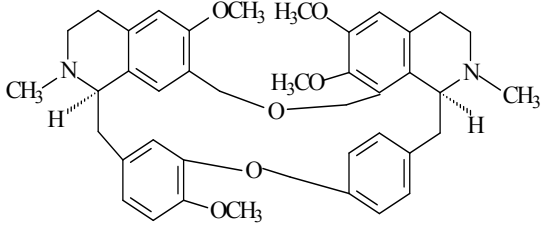


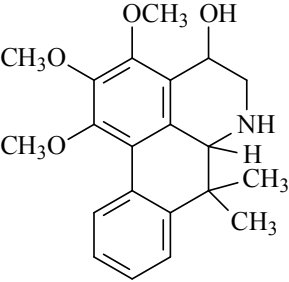
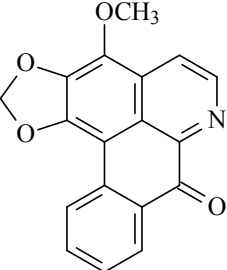
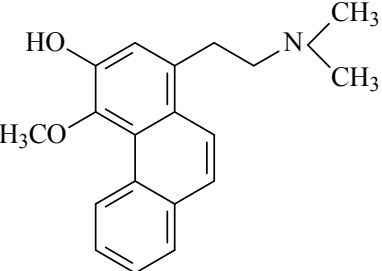
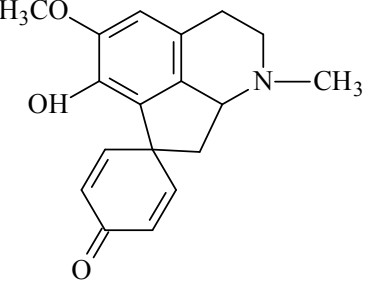
Figura 8. Alcaloides benzilisoquinolínicos com atividade biológica

No Quadro 2 são apresentados exemplos de alcaloides isolados de diversas espécies pertencentes à família Annonaceae derivados do esqueleto benzilisoquinolínico de interesse farmacológico.

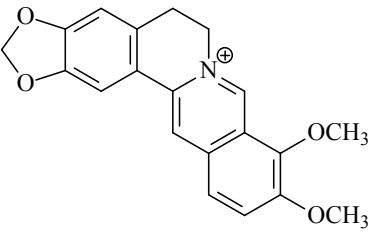
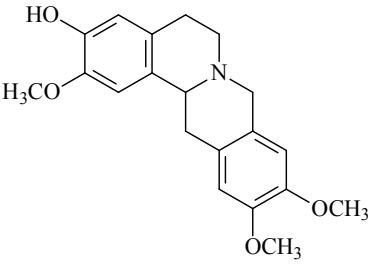
Quadro 2. Atividade biológica de alcaloides isoquinolínicos.

Alcaloides	Atividade biológica	Isolada da espécie	Referência
Isoquinolínico simples			
 <p>talifolina (31)</p>	Antifúngica	<i>Annona squamosa</i>	Yang et al., 2004
Benziltetrahydroisoquinolínico			
 <p>(+)-laudanidina (32)</p>	Atividade antioxidante	<i>Xylopia championii</i>	Puvanendran et al., 2008
Bisbenzilisoquinolínico			
 <p>puertogalina A (33)</p>	Antiprotozoário	<i>Guatteria boliviana</i>	Mahiou et al., 2000; Chan-Bacab et al., 2001
Bisbenziltetraisoquinolínico			
 <p>obaberina (34)</p>	Leishmanicida	<i>Pseudoxandra sclerocarpa</i>	Mishra et al., 2008

Quadro 2. Atividade biológica de alcaloides isoquinolínicos. (Continuação)

<p style="text-align: center;">Aporfinico</p>  <p style="text-align: center;">guatteriopsicina (35)</p>	Antimicrobiana	<i>Guatteriopsis friesiana</i>	Costa, 2009
<p style="text-align: center;">Oxoaporfinico</p>  <p style="text-align: center;">atherospermidina (36)</p>	Antifúngica antiproliferativa	<i>Guatteriopsis friesiana</i>	Costa et al., 2011
<p style="text-align: center;">Fenantreno</p>  <p style="text-align: center;">argentinina (37)</p>	Antitumoral	<i>Annona montana</i>	Wu et al., 1993
<p style="text-align: center;">Proaporfinico</p>  <p style="text-align: center;">glaziovina (38)</p>	Citotóxica	<i>Annona purpurea</i>	Stévigny et al., 2005

Quadro 2. Atividade biológica de alcaloides isoquinolínicos. (*Continuação*)

Protoberberínico			
	Leishmanicida	<i>Annona spinescens</i>	Queiroz et al., 1996
berberina (39)			
Tetrahidroprotoberberínico			
	Antimicrobiana	<i>Guatterioopsis friesiana</i>	Costa, 2009
coripalmina (40)			

2.3. Considerações sobre o gênero *Xylopia*

O gênero *Xylopia*, da tribo Xylopieae, com cerca de 157 espécies, possui distribuição pantropical e constitui um dos maiores gêneros dentro da família Annonaceae (Chatrou et al., 2012). Há 70 espécies na África, 40 na Ásia e Oceania e 50 nas Américas, das quais 32 no Brasil (Lopes et al., 2014; Maas et al., 2013). São árvores ou arbustos, seus frutos possuem carpídios livres como os de *Guatteria*, mas têm geralmente mais de uma semente, e os carpídios são deiscentes. Ocorrem do Amazonas ao Paraná, no Cerrado e, nas matas, geralmente em ambientes arenosos, como capoeiras, campinas, igarapés e orla de matas ciliares (Dias, 1988).

Espécies deste gênero possuem diversos nomes populares, entre os quais açoita-cavalo, bananinha, begerecum, cedro-do-campo, envireira, imbiriba, pimenta-de-macaco, pimenteira, pindaíba, pindaíba-de-macaco e pindaíba-do-campo (Dias, 1988). São facilmente reconhecidas pela copa piramidal com ramos, folhas e flores pendentes, quando vistas de cima, lembrando uma estrela de seis pontas. Algumas espécies possuem distribuição bastante limitada, como *X. decorticans* D.M.Johnson & Lobão, restrita à região serrana do Espírito Santo e *X. involucrata* M.C.Dias e L.S.Kinosh., restrita à Zona de Tabuleiros, na Bahia (Dias, 1998; Lobão, 2007).

Fries (1959) cita o valor das fibras de algumas espécies pertencentes ao gênero *Xylopi*a para a fabricação de cordas muito resistentes. Segundo Dias (1988), as madeiras das espécies *X. brasiliensis* Sprengel. e *X. emarginata* Mart., são utilizadas na fabricação de postes e cabos para ferramentas.

Os frutos de algumas espécies do gênero *Xylopi*a são utilizados popularmente como condimento por apresentarem odor semelhante ao da pimenta-do-reino, e empregados por esse motivo como seu substituto (Bernardi e Spichiger, 1980). Várias de suas espécies são conhecidas por seu uso etnomedicinal e atividade farmacológica (QUADRO 3).

Quadro 3. Usos etnomedicinais e atividade farmacológica de espécies do gênero *Xylopia*.

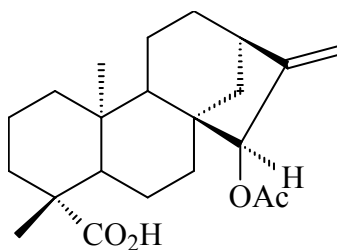
Espécie	Uso popular	Atividade comprovada
<i>X. aromatica</i> (Lam.) Mart.	O cozimento das cascas e folhas são utilizados no tratamento de doenças parasitárias (Vergara et al., 2006). Os frutos são relatados como vermífugos e tônicos para o estômago e intestino (Gemtchújnicov, 1976).	Antiprotozoário <i>in vitro</i> (Osorio et al., 2007); Citotóxica (Suffredini et al., 2007); Larvicida (Rodrigues et al., 2006).
<i>X. emarginata</i>	Usada no tratamento de cólicas digestivas, contra vermes e picadas de cobras (Chiesorin & Silva (2000).	<i>X. emarginata</i> , inibe o crescimento de <i>Plasmodium falciparum</i> (De Mesquita et al., 2007)
<i>X. cf. frutescens</i>	A fusão das folhas é usada como analgésico e anti-inflamatório, ao passo que a decocção da casca é usada, na forma de inalação, para combater resfriados e dores de cabeça (Di Stasi et al., 2002).	Atividade antimicrobiana (Marcêdo & Ferreira, 2004); Anti-inflamatória (Braga et al., 2000); Atividade moluscicida contra o caramujo <i>B. glabrata</i> (Santos et al., 1998)
<i>X. aethiopica</i>	A decocção das cascas é utilizada para tratar bronquites e diarreia (Hasan et al., 1982).	Ação anti-anafilática e anti-inflamatória (Obiri et al., 2013)
<i>X. vielana</i>	Suas sementes são utilizadas na medicina popular como estimulante da bexiga e contra reumatismo (Do, 2001)	Atividade antiplasmodica (Nguyen-Pouplin et al., 2007)

Quadro 3. Usos etnomedicinais e atividade farmacológica de espécies do gênero *Xylopi*a. (Continuação)

<i>X. laevigata</i>	Suas folhas e as flores são usadas para o tratamento de doenças dolorosas e doenças do coração (Quintans et al., 2013).	-
<i>X. sericea</i>	A infusão de seus frutos é usada popularmente no tratamento de perturbações gástricas (Corrêa, 1987)	Atividade Acaricida (Pontes et al., 2007)
<i>X. discreta</i>	-	Atividade antileishmania e imunomodulatória (López, 2009)
<i>X. ferruginea</i>	A decoção das cascas do caule desta planta é usada para parar o vômito (Burkill e Haniff, 1930) e para tratar a doença antiespasmódico (Mat-Salleh And Latiff, 1989).	Atividade inseticida contra <i>Aedes aegypti</i> (Krinsk et al., 2014)
<i>X. parviflora</i>	Sua casca é usado para fins analgésicos e anti-espasmódicos (Nishiyama et al., 2006)	<i>X. parviflora</i> é um agente antinociceptivo (Nishiyama et al., 2009)

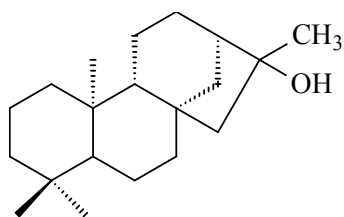
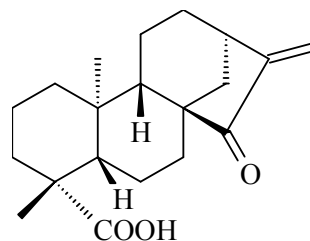
Estudos químicos com espécies do gênero *Xylopi*a revelaram uma grande variedade de metabolitos secundários, particularmente alcaloides do tipo benzilisoquinolinos e aporfínicos, e diterpenos do tipo caurano e traquilobânico.

O primeiro estudo sobre a química do gênero *Xylopi*a foi publicado por Fahim, Shimi e colaboradores em 1953, sendo descrito o isolamento do diterpenoide ácido xilópico a partir de *X. aethiopica* (Dunal) A. Rich .

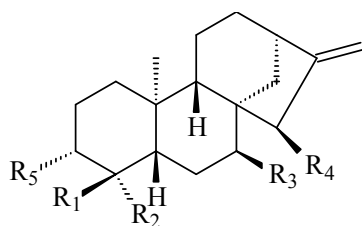


ácido xilópico (41)

Diterpenoides representa a segunda classe de metabólitos mais abundantes nas espécies de *Xylopi*a (Moreira et al 2013). Diterpenos do tipo caurano são os principais nas espécies desse gênero (Moreira et al., 2013). O estudo fitoquímico dos extratos das frutas de *X. aethiopica* levou ao isolamento de ent-cauran-16 β -ol, ácido xilópico, ácido caurenóico, e o ácido ent-15-oxocaur-16-en-19-óico.

ent-cauran-16 β -ol (42)

ácido ent-15-oxocaur-16-en-19-óico (43)

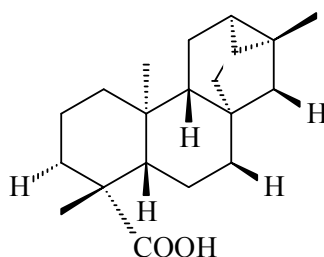


R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	
Me	COOH	AcO	H	H	ácido ent-7 α -acetoxicaur-16-en-19-óico (45)
Me	COOH	H	H	H	ácido caurenóico (46)

Compostos antibacterianos foram identificados por *screening* de extratos de algumas espécies do gênero *Xylopia* (Takahashi et al., 2006), como por exemplo: o ácido ent-15 α -acetoxicaur-16-en-19-oico (Takahashi et al., 1995) isolado dos frutos de *X. frutescens* mostrou atividade inibitória contra *B. subtilis*.

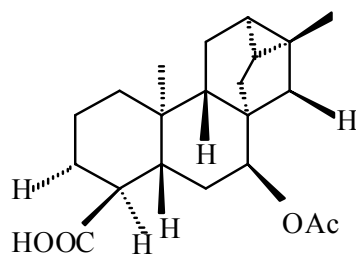
Em estudo químico biomonitorado com *X. aethiopica* levou ao isolamento do composto ácido ent-15 α -acetoxicaur-16-en-19-óico que exibiu um efeito hipotensor significativo sobre a pressão arterial sistólica e diastólica, enquanto que o ácido caurenóico e o ácido ent-15-oxocaur-16-en-19-óico levaram a uma diminuição imediata da pressão arterial sistólica, mas nenhuma mudança na diastólica pressão arterial (Lajide et al., 1995).

Os diterpenóides do tipo traquilobânicos também são amplamente descritos nas espécies encontradas no Brasil e na África, sendo raros em outras plantas, por este motivo tem sido considerado seu potencial como marcadores quimiotaxonômicos do gênero (Moreira et al., 2013). O estudo químico das sementes de *X. sericea* levou ao isolamento do ácido ent-trachiloban-19-óico (Takahashi et al., 2001) qual mostrou-se ativo contra *B. subtilis* e *S. aureus*.



ácido ent-trachiloban-19-oico (47)

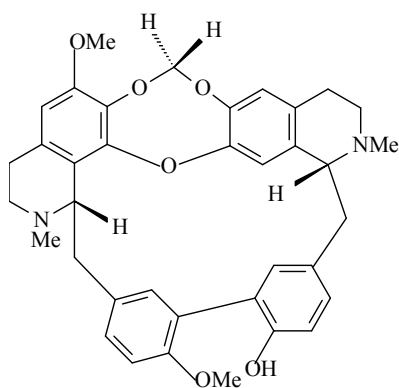
O diterpenóide do tipo traquilobano, ácido ent-7 α -acetoxitraquilobano-18-óico obtido das sementes de *X. langsdorffiana*, apresentou atividade citotóxica *in vitro* (IC_{50} 224 para V79 fibroblasts e 231 μ m para hepatócitos de rato (Tavares et al., 2006).



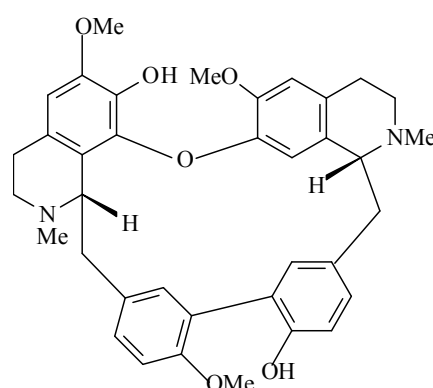
ácido *ent*-7 α -acetoxitraqulobano-18-óico (**48**)

Em contraste, diterpenos do tipo atisanos foram apenas encontrados nas espécies *X. aromatica* (Moraes et al., 1988), *X. langsdorffiana* (Tavares et al., 2007; Silva et al., 2009), e *X. sericea* (Takahashi et al., 2001). Ao passo que, os diterpenoides do tipo labdano são encontrados nas espécies *X. acutiflora* (Hasan et al., 1985), *X. frutescens* (Takahashi et al., 1995), *X. amazonica* (Vilegas et al., 1991), e *X. emarginata* (Vilegas et al., 1991; Moreira et al., 2006).

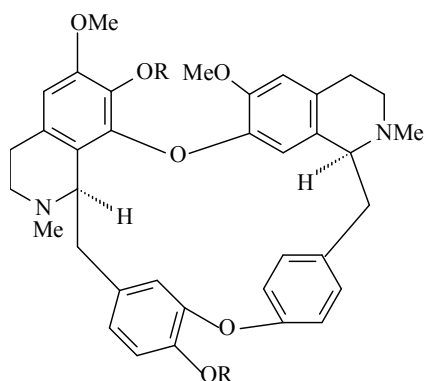
Os alcaloides são os compostos mais frequentemente isolados de espécies do gênero *Xylopia*. Os benzilisoquinolínicos são os mais predominantes, sendo os aporfínicos os segundos compostos mais abundantes (Moreira et al., 2013). Os dímeros benzilisoquinolínicos (-)-medellina, (+)- antioquina, (+)- obamegina e (+)-isotetrandrina foram isolados a partir dos frutos de *X. Columbiana* (Granell et al., 2004) e lindoldamina a partir das cascas de *X. parviflora* (Nishiyama et al., 2006).



(-)-medellina (**49**)

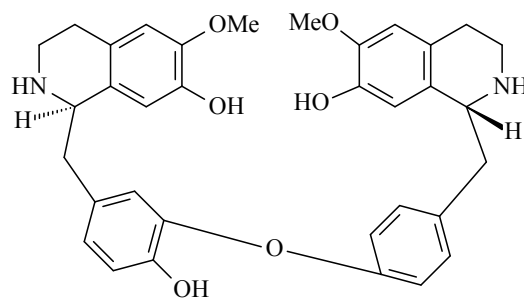


(+)- antioquina (**50**)



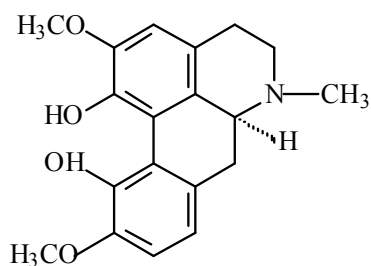
R = H (+)- obamegina (51)

R = Me (+)-isotetrandrina (52)

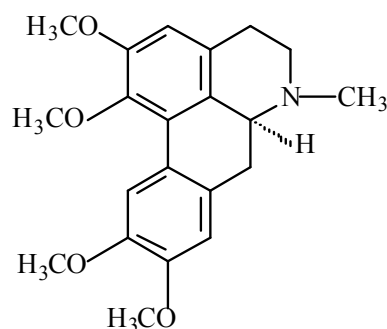


lindoldamina (53)

O estudo fitoquímico das cascas de *X. parviflora* levou o isolamento dos alcaloides aporfina (+)-corituberina e (+)-glaucina. Ambos os compostos mostraram atividade antinociceptiva, ou seja, apresentaram fortes efeitos analgésicos (Nishiyama et al., 2010).

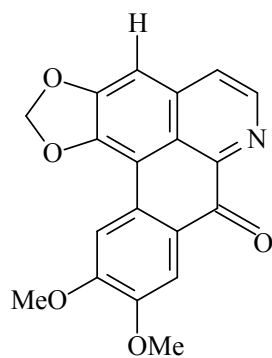


(+)- corituberina (54)

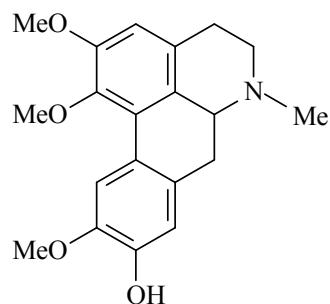


(+)-glaucina (55)

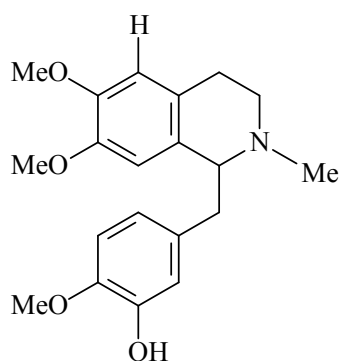
Os alcaloides dicentrinona ($IC_{50} > 150 \mu\text{M}$) e N-metil laurotetanina (IC_{50} de $90,6 \mu\text{M}$), obtido das folhas de *X. amazonica*; e os alcaloides (+)-laudanidina e (-)-discretina das cascas de *X. championii* exibiram atividade antioxidante (Arango et al., 2004 ; Puvanendran et al., 2008).



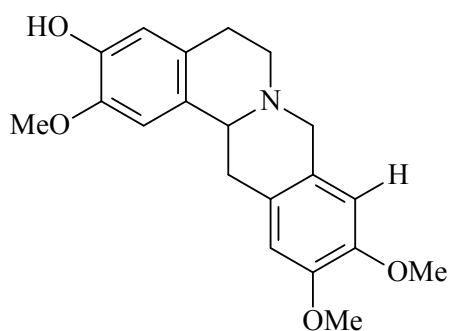
dicentrinona (56)



N-metil laurotetanina (57)



(+) - laudanidina (58)



(-) - discretina (59)

Outras classes de compostos foram relatadas na literatura para o gênero *Xylopia*, dentre estas se encontram as acetogeninas, aminoácidos, terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos), chalconas, carboidratos, esteroides, flavonoides, derivados de ácido benzóico, lignanas e amidas (QUADRO 4).

Quadro 4. Classe de metabólicos isolados do gênero *Xylopia*

Classe de composto	Substância isolada	Espécie vegetal
Monoterpenoides	3β,6β-dihidroxi- <i>p</i> -menti-1-eno (60)	<i>X. sericea</i> (Takahashi et al., 2001)
	α-pineno (61)	<i>X. cayennensis</i> (Andrade et al., 2004)
	β-pineno (62)	
	1,8-cineol (63)	
Sesquiterpenoides	óxido cariofileno (64)	<i>X. emarginata</i> (Moreira et al., 2007)
	(<i>E</i>)-cariofileno (65)	<i>X. laevigata</i> (Ferraz et al., 2013)
	biciclogermacreno (66)	
Diterpenos	ácido (-)-caur-16-en-19-óico (67)	<i>X. sericeae</i> (Cavalcanti et al., 2010)
	14-hidroxi-caurana (68)	
	ácido xilópico (69)	
	ácido 16,17-epoxi-15-oxo- <i>ent</i> -cauran-19-óico (70)	<i>X. aethiopica</i> (Soh et al., 2013)
	ácido 15-oxo- <i>ent</i> -caur-16-en-19-óico (71)	
	ácido <i>ent</i> -7α-acetoxitrachiloban-18-óico (72)	<i>X. langsdorffiana</i> (Santos et al., 2012)
	ácido <i>ent</i> -7α-hidroxitrachiloban-18-óico (73)	
	emarginatina A (74)	<i>X. emarginata</i> (Moreira et al., 2006)
Acetogeninas	ximarginatina (75)	<i>X. emarginata</i> (Colman-Saizarbitoria et al., 2009)
	annonacina (76)	<i>X. aromatica</i> (Colman-Saizarbitoria et al., 1994)
	annomontacina (77)	
Lignanas	4-hidroxi-2,6-di-(3',4'-dimetoxifenil)-3,7dioxabicyclo-(3.3.0)octana (78)	<i>X. aethiopica</i> (Kuede et al., 2013)
	xilobuxina (79)	
Derivados de Ácido Benzóico	metil 3,4-dimetoxibenzoato (80)	<i>X. buxifolia</i> (Wahl et al., 1995)
Carboidratos	mio-inositol (81)	<i>X. poilanei</i> (Thang et al., 2009)
	sucrose (82)	
Amidas	<i>N-trans</i> -cafeoiltramina (83)	<i>X. aromatica</i> (Silva et al., 2010)
	canabisina B (84)	
	(<i>E</i>)-3-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)etil]- 2-propenamida (85)	<i>X. aethiopica</i> (LaJide et al., 1995)
	(<i>E</i>)-3-(3,4-dihidroxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)etil]- 2- propenamida (86)	
Aminoácidos	arginina (87)	<i>X. longifolia</i> (Touché et al., 1981)
	histidina (88)	

Quadro 4. Classe de metabólicos isolados do gênero *Xylopi* (Continuação)

Flavonoides	quercetina-3- α -raminosídeo (89)	<i>X. emarginata</i> (Silva et al., 2009)
	xilopoillina A (90)	<i>X. poilanei</i> (Thang et al., 2009)
	luteolina-7-O-rutinosídeo (91)	<i>X. ochrantha</i> (Albuquerque, 2013)
	caempferol (92)	<i>X. ferruginea</i> (Zawawi et al., 2012)
	afzelina (93)	<i>X. ferruginea</i> (Zawawi et al., 2012)
Chalcona	candidona (94)	<i>X. aethiopica</i> (Kueete et al., 2013)
	dihidrochalcona (95)	<i>X. africana</i> (Anam et al., 1994)
Hidrocarbonetos e acetona alifática	nonadecana (96)	<i>X. emarginata</i> (Moreira et al., 2007)
	hentriacontan-16-ona (97)	<i>X. emarginata</i> (Moreira et al., 2007)
Esteroides	campesterol (98)	<i>X. ochrantha</i> (Albuquerque, 2013)
	sitosterol (99)	<i>X. brasiliensis</i> (Moreira et al., 2003)
	estigmasterol (100)	<i>X. brasiliensis</i> (Moreira et al., 2003)
Alcaloides	liriodenina (101)	<i>X. laevigata</i> (Costa et al., 2013)
	lanuginosina (102)	
	norisoboldina (103)	
	laurotetanina (104)	
	norbaldina (105)	
	lisicamina (106)	
	<i>o</i> -metilmoschatolina (107)	<i>X. ferruginea</i> (Zawawi et al., 2012)
	atherospermidina (108)	
	oxostefanina (109)	
	nornantenina (110)	<i>X. benthamii</i> (Pimenta et al., 2012)
	(-)-discretina (111)	<i>X. parvifolia</i> (Puvanendran, et al., 2010)
	dehidrocoritenchina (112)	<i>X. nigricans</i> (Puvanendran, et al., 2010)
	(+)-S-reticulina (113)	

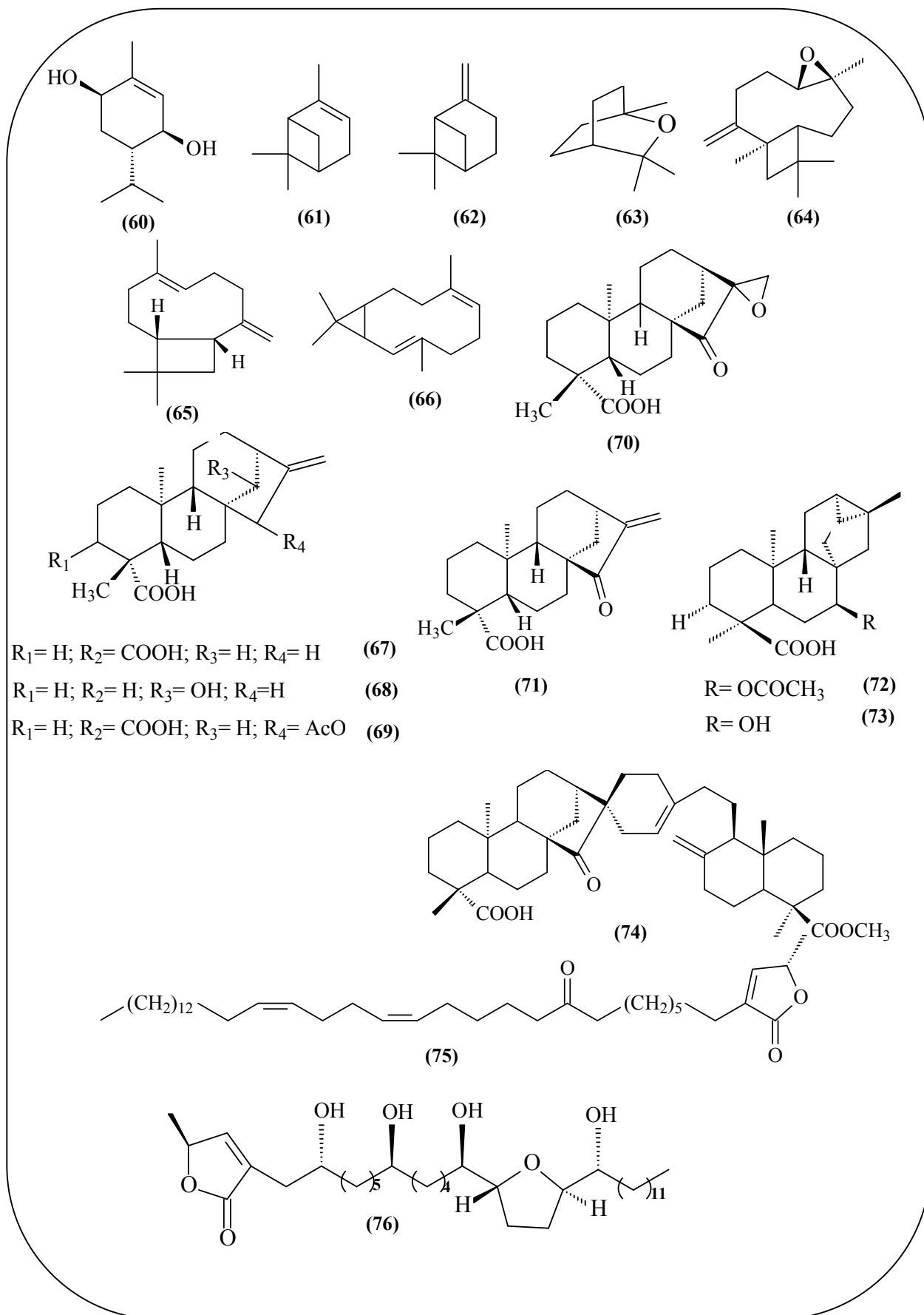


Figura 9. Substâncias isoladas do gênero *Xylopiia*

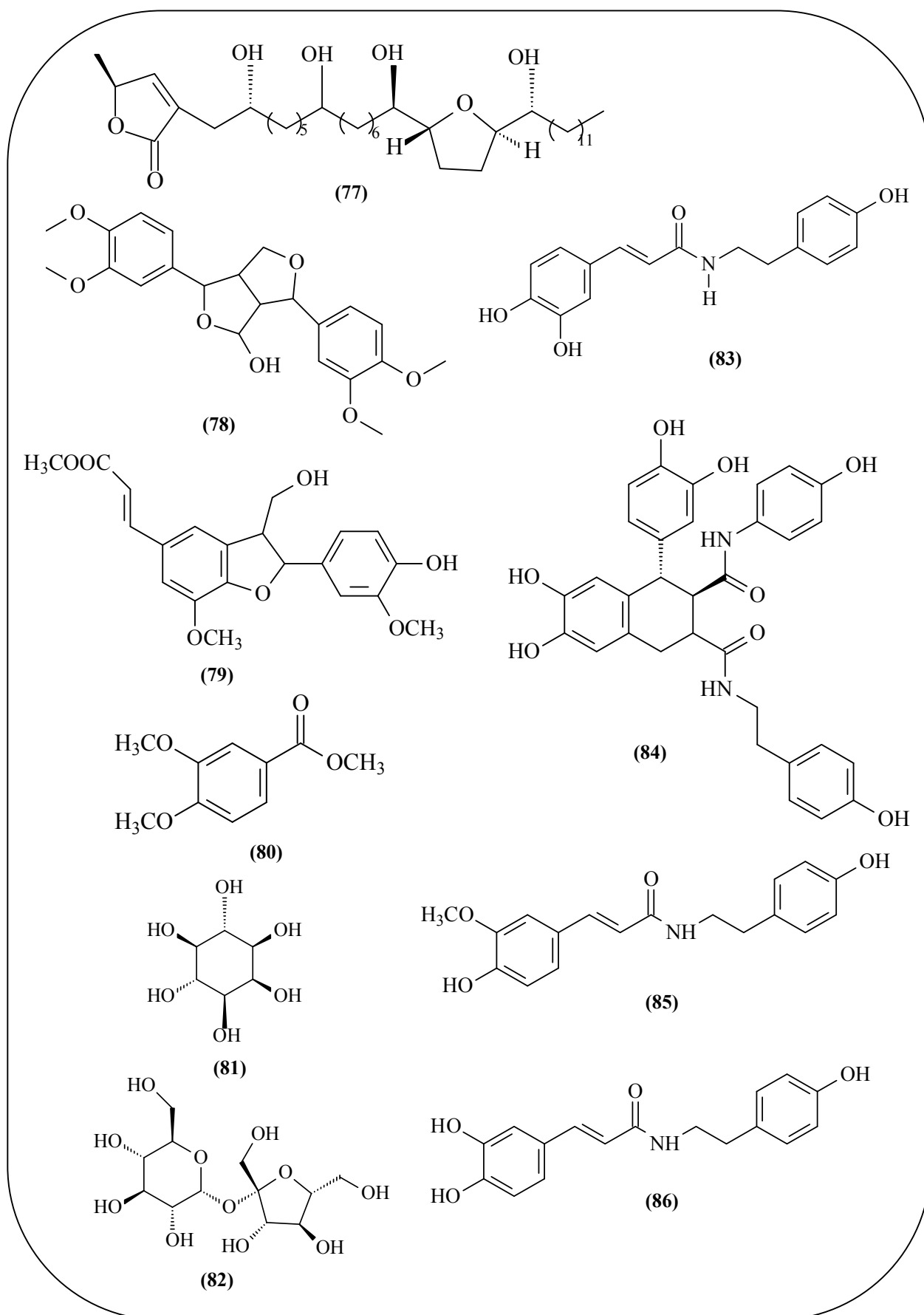


Figura 9. Substâncias isoladas do gênero *Xylopiopsis* (Continuação)

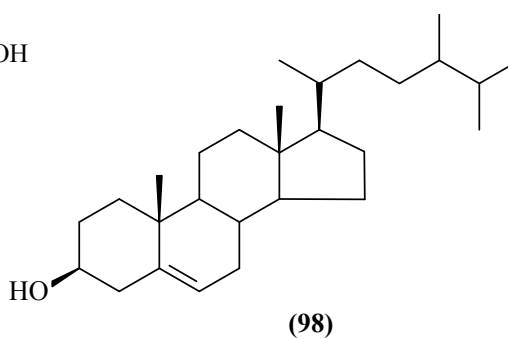
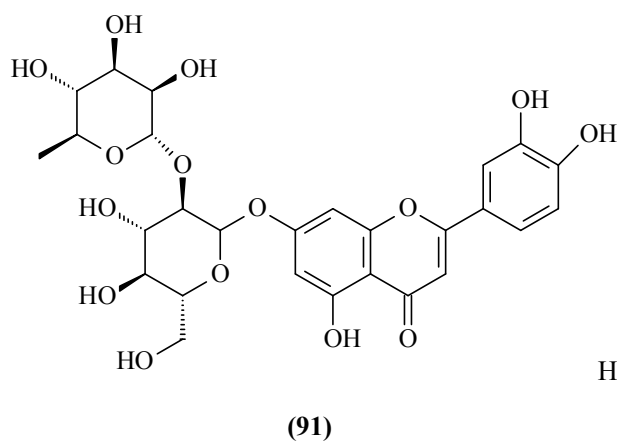
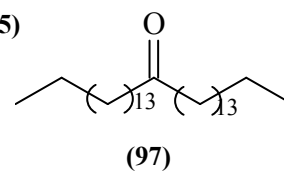
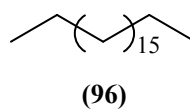
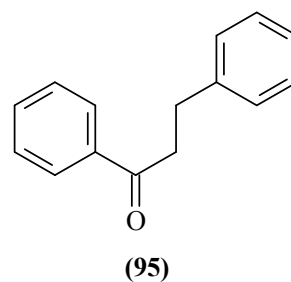
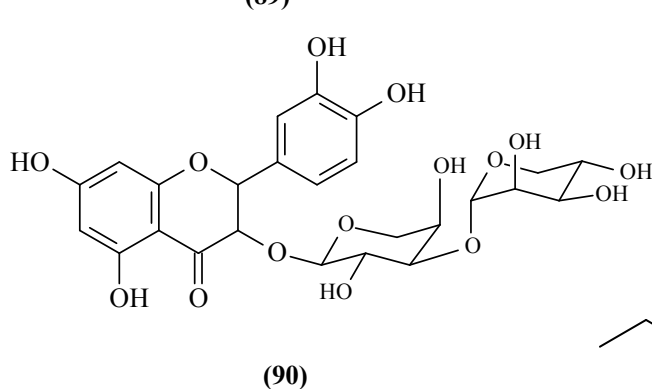
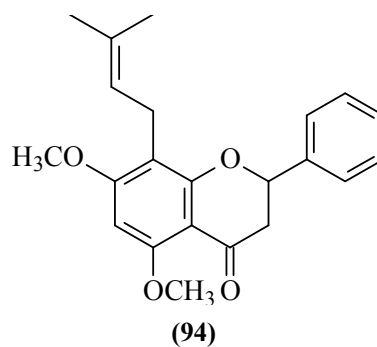
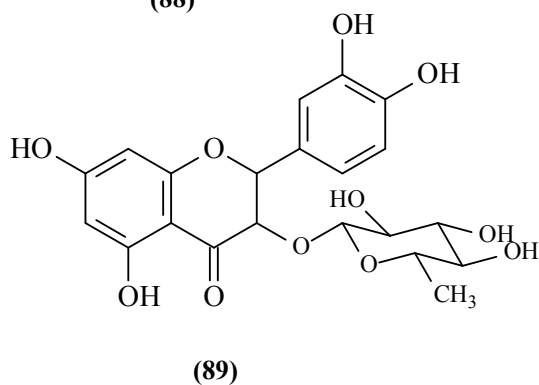
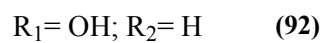
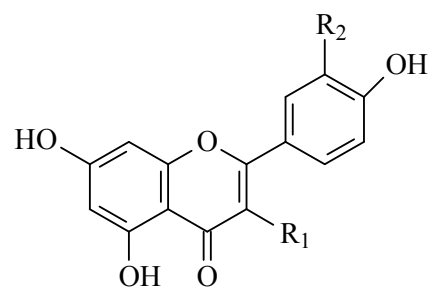
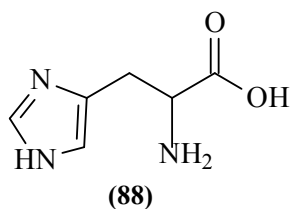
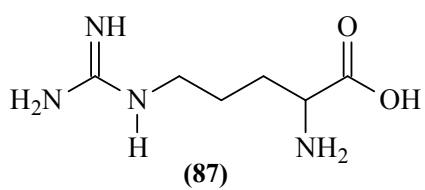


Figura 9. Substâncias isoladas do gênero *Xylopi* (Continuação)

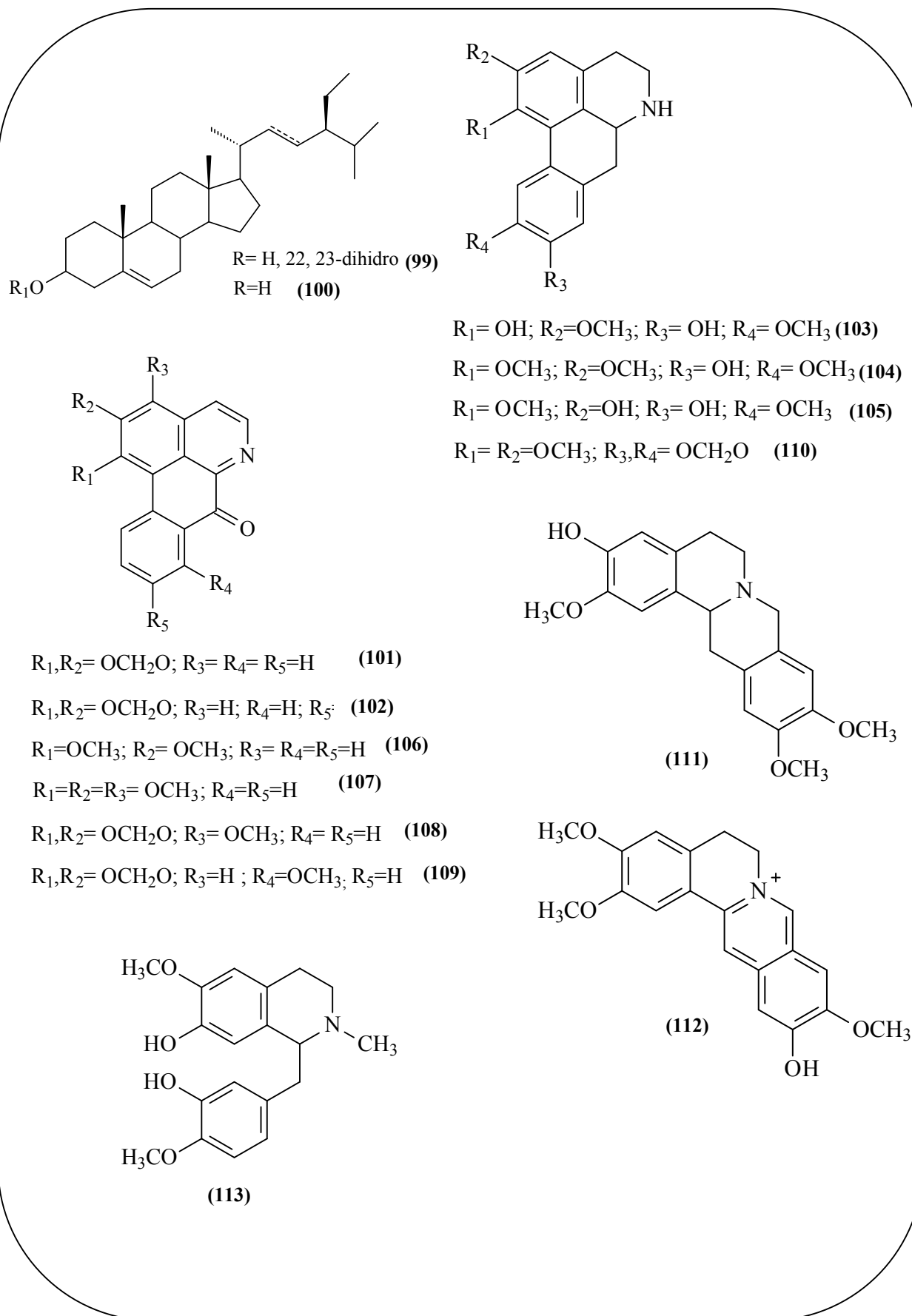


Figura 9. Substâncias isoladas do gênero *Xylopiia* (Continuação)

2.3.1. *Xylopia benthamii* R. E. Fries

A espécie *Xylopia benthamii* R. E. Fries (FIGURA 10) é uma árvore vulgarmente conhecida como imbieiro, embiriba, envira, envira-amarela, envira-imbiriba e pacovi, com ocorrência em floresta não-inundada, principalmente em solo arenoso. Apresenta flores amarelo cremoso para laranja e seus frutos são monocárpicos de coloração avermelhada quando maduros em forma de foice, constrito entre cada semente, fortemente sulcado (Webber, 1996). A espécie *X. benthamii* é de origem amazônica (Jurgens et al., 2000; Revilla, 2002). Os índios Taiwanos do rio Kananaré administram um chá das folhas como tranquilizante para pessoas que tenham passado por situações de grande susto. Esta indução como tranquilizante requer ainda mais investigações químicas e farmacológicas (Schultes & Raffauf, 1990). O chá dos frutos desta espécie são úteis para dores estomacais (Berg, 1978).

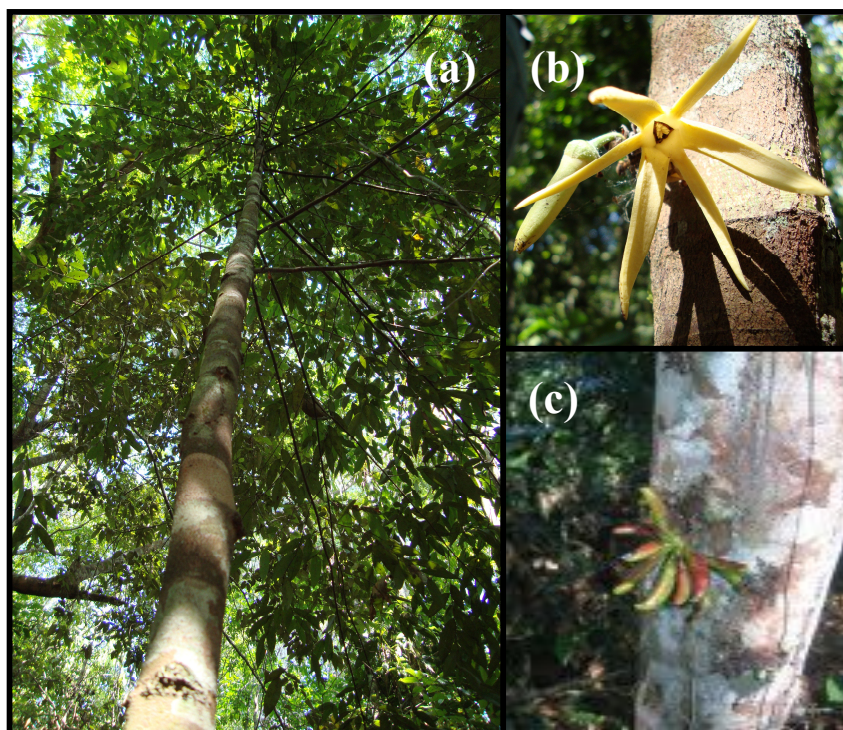
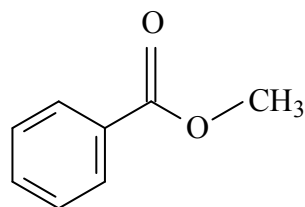
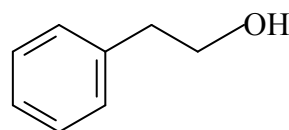


Figura 10. Espécie *X. benthamii*: (a) árvore; (b) flores e (c) fruto.
Fonte: ALENCAR, D. C.; <http://www.kew.org/science/tropamerica>

Em estudo realizado por Jurgens et al. (2000), foi observado que o odor das flores de *X. benthamii* deve-se em grande parte à quantidade elevada de benzenoides (metilbenzoato e 2-feniletanol).

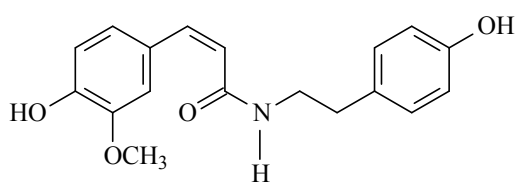
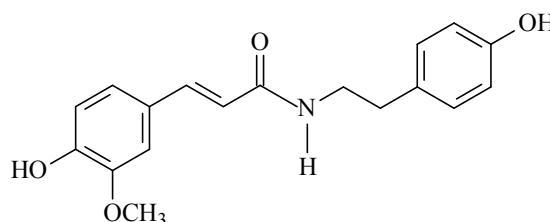


metilbenzoato (114)



2-feniletanol (115)

Da madeira desta espécie evidenciou a presença de duas amidas fenólicas estereoisômeros *cis* e *trans*-feruloiltiramina (Pimenta et al., 2009).

*cis*- feruloiltiramina (116)*trans*-feruloiltiramina (117)

Das cascas de *X. benthamii* foram isolados dois alcaloides aporfínicos, normantenina (110) e lauretantina (104) (Pimenta et al., 2012).

2.3.2. *Xylopi* *excellens* R. E. Fries

A espécie *Xylopi excellens* R. E. Fries (FIGURA 11) é uma árvore com flores de coloração marrom amarelado (Webber, 1981). Tem ocorrência em vegetação secundária e em solo arenoso (Webber et al., 1999). Essa espécie não apresenta registros na literatura de estudos etnofarmacológicos e biológicos ou das suas composições químicas.



Figura 11. Espécie *X. excellens*: (a) árvore; (b) frutos e (c) botão.
Fonte: ALENCAR, D. C.

2.4. Biossíntese dos alcaloides isoquinolínicos

Os alcaloides são bases orgânicas nitrogenadas na maioria das vezes farmacologicamente ativas encontradas predominantemente nas angiospermas, no entanto, estes compostos básicos também ocorrem, em menor quantidade, em microrganismos e animais. São classificados de acordo com o aminoácido precursor, que podem ser ornitina, lisina, ácido nicotínico, tirosina, histidina, ácido antranílico, triptofano e reações de aminação (Dewick, 2009, Wink, 2010).

Os alcaloides são classificados em três grupos amplamente aceitos: alcaloides verdadeiros, protoalcalóides e pseudoalcalóides. Os alcaloides verdadeiros são derivados dos aminoácidos e mostram uma ampla variedade de atividades fisiológicas. Os protoalcalóides são aminas simples onde o grupo nitrogênio do aminoácido não faz parte de um anel

heterocíclico. E os compostos nitrogenados, com e sem anéis heterocíclicos, que não são derivados de aminoácidos, são chamados de pseudoalcalóides (Dewick, 2009).

Os alcaloides verdadeiros compreendem um enorme grupo de produtos naturais, que incluem cerca de 2500 estruturas conhecidas (Hangel et al., 2013). Apesar dessa grande diversidade estrutural, os benzilisoquinolínicos compartilham de uma origem biossintética comum começando pelo primeiro intermediário (S)-norcoclaurina. A biossíntese envolve a descarboxilação da *L*-tirosina formando-se a tiramina. Esta amina sofre hidroxilação, originando a dopamina. Em seguida a transaminação de *L*-tirosina dá origem ao ácido 4-hidroxifenil pirúvico, que por sua vez sofre uma descarboxilação, transformando-se no 4-hidroxifenil acetaldeído (4-HPAA). A partir da condensação do resultado dessas duas etapas pela reação tipo Mannich, dá origem aos alcaloides benzilisoquinolínicos (Dewick, 2009; Hangel et al., 2013) (FIGURA 12).

A porção do tetrahydroisoquinolínico do núcleo (S) -norcoclaurina é derivado a partir da dopamina, enquanto 4-HPAA compreende a porção benzilo ligada no -C1 (Hangel et al., 2013).

A (S)-reticulina é citada como uma das moléculas mais versáteis do metabolismo secundário em plantas, uma vez que o seu padrão de substituição torna-a adequada para acoplamento intramolecular, o que conduz a uma variedade de tipos de alcaloide, como morfínicos, protoberberínicos, benzofenantrenos, isoquinolínicos, aporfínicos e protopinos (Schmidt et al., 2005).

Os alcaloides aporfínicos são derivados dos benzilisoquinolínicos pelo acoplamento oxidativo dos dois anéis aromáticos (FIGURA 13). Esse processo se dá pelo acoplamento oxidativo intramolecular direto da (S)-reticulina, *orto* ao grupo fenólico no tetrahydroisoquinolínico e *para* ao fenol do substituinte benzílico ou através de acoplamento oxidativo intramolecular *orto-orto*, a partir da forma radical bisdienona (Stévigny et al.,

2005). Eles formam um grupo que inclui os aporfínicos propriamente dito e os alcaloides biologicamente relacionados, como os proaporfínicos, oxoaporfínicos e os fenantrenos (Stévigny et al., 2005).

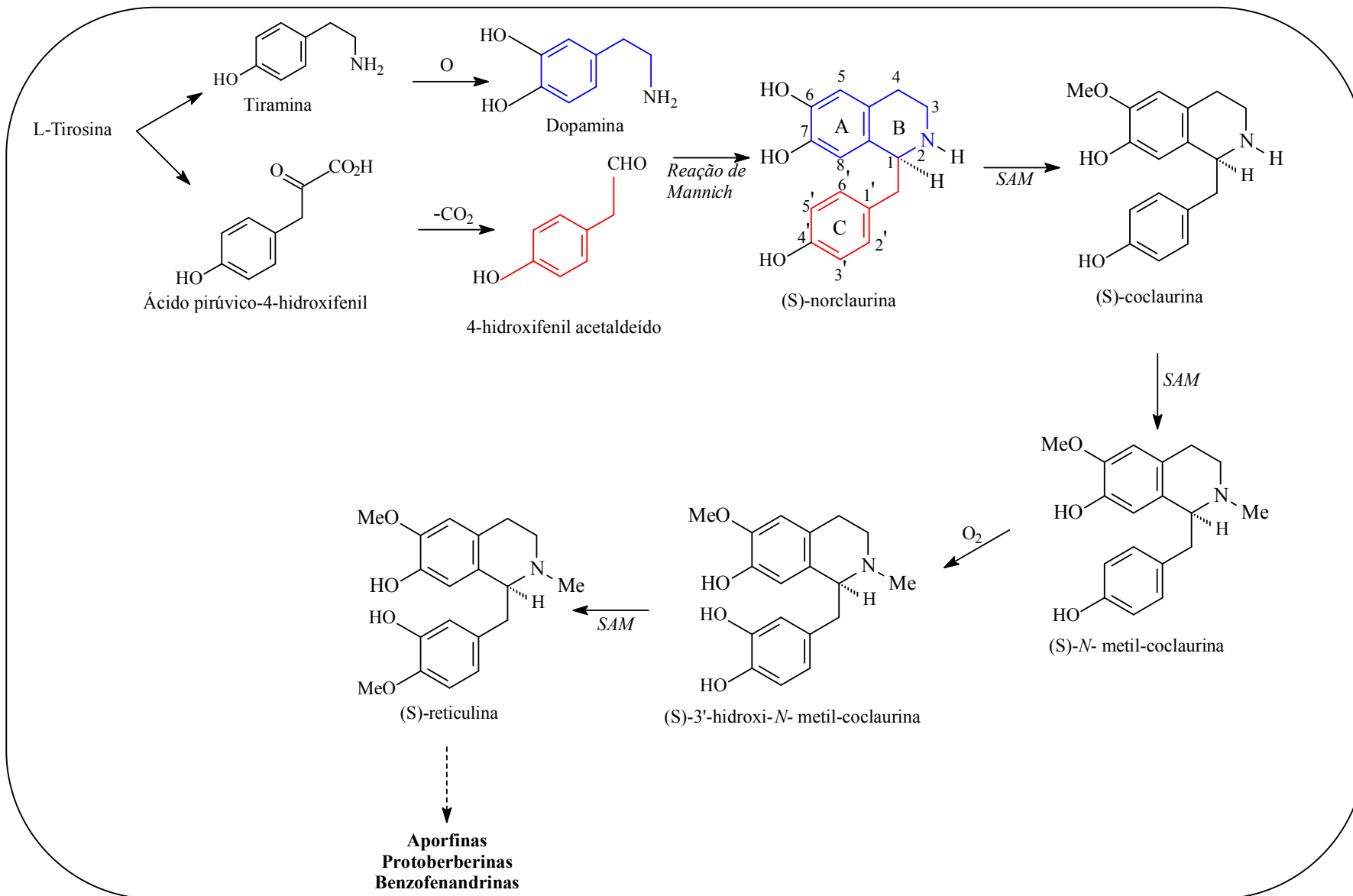


Figura 12. Rota biosintética para a formação da estrutura benzilisoquinolínica a partir da L-tirosina.

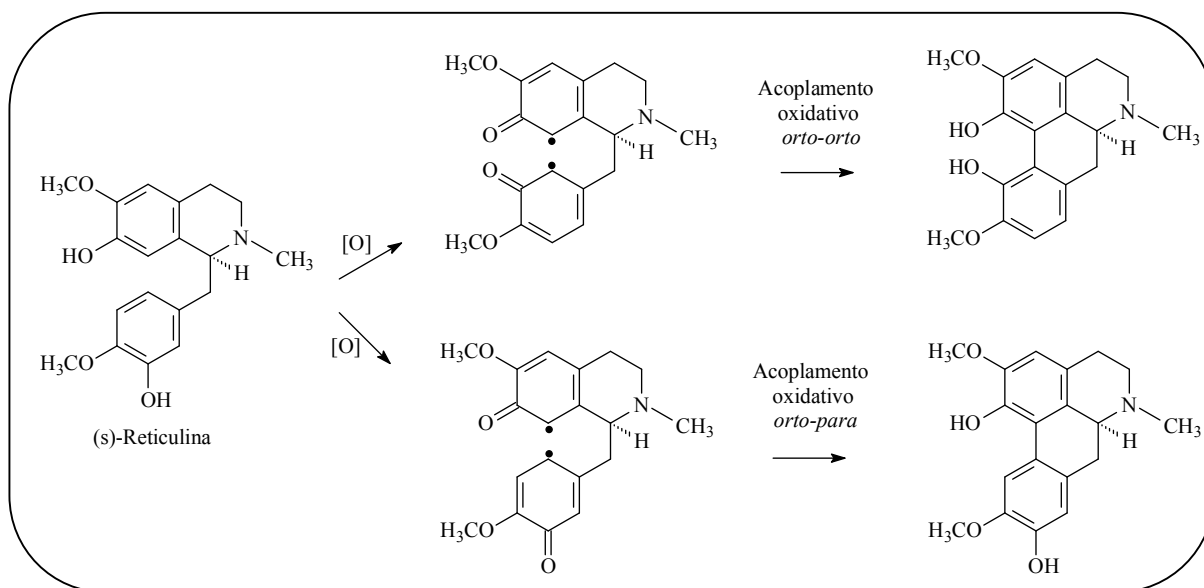


Figura 13. Biossíntese dos alcaloides aporfínicos

Para os alcaloides oxoaporfínicos, Shamma & Guinaudeau (1984) sugere a seguinte sequência de oxidação (FIGURA 14).

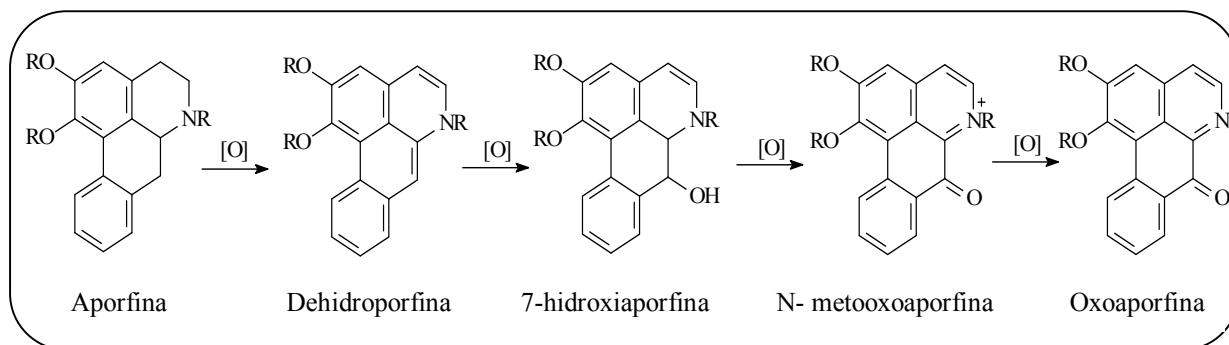


Figura 14. Biossíntese geral para os alcaloides oxoaporfínicos

Objetivos



3. Objetivos

Geral:

Realizar estudo fitoquímico de *Xylopi* *excellens* e avaliar o perfil alcaloidico e atividades biológicas de *Xylopi* *bentharii* e *Xylopi* *excellens* visando contribuir para o conhecimento químico e biológico da família Annonaceae da Região Amazônica.

Específicos

- Avaliar o perfil químico das frações alcaloidicas através de Cromatografia Líquida acoplada à Espectrômetria de Massa (CL/EM/EM) das espécies *Xylopi* *bentharii* e *Xylopi* *excellens*;
- Realizar estudo fitoquímico das frações alcaloídicas e hexânica da espécie *Xylopi* *excellens*;
- Caracterizar os componentes químicos dos óleos essenciais das espécies de *Xylopi* *bentharii* e *Xylopi* *excellens* por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e submetê-los a ensaios biológicos antiproliferativo e antimicrobiano;
- Submeter as substâncias isoladas aos ensaios antimicrobiano, antiproliferativo e leishmanicida, em busca das substâncias biologicamente ativas presentes nos extratos ou frações.

Parte Experimental



4. Parte Experimental

4.1. Técnicas cromatográficas

4.1.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises foram realizadas em cromatoplasas pré-fabricadas de sílica gel de 0,2 mm de espessura e indicador de fluorescência F₂₅₄, da Sorbent Technologies. A detecção dos compostos foi feita por irradiação com lâmpada de ultravioleta (UV) (254 e 365 nm), revelação com reagente de Dragendorff e vanilina sulfúrica.

4.1.2. Cromatografia em coluna (CC)

Foram utilizadas colunas de vidro, cujo comprimento e diâmetro variaram de acordo com a quantidade de amostras a serem analisadas. As separações cromatográficas foram realizadas utilizando-se como suporte sílica gel 60 de 0,060-0,200 mm, da (Acros Organics). As fases móveis usadas foram hexano, acetato de etila e metanol.

4.1.3. Cromatografia líquida de alta eficiência analítica (CLAE)

A análise por CLAE foi efetuada utilizando-se um cromatógrafo Surveyor® (Thermo Scientific), operando simultaneamente com um detector PDA e um detector de MS (LCQ Fleet, ESI-IT-MSⁿ, Thermo Scientific). O método cromatográfico foi ajustado com

uma coluna analítica C18 de 150 x 4.6 mm (100Å, 5µm) da marca Phenomenex. As fases móveis utilizadas foram metanol e água.

4.1.4. Cromatografia líquida de alta eficiência semipreparativa (CLAE)

O fracionamento e posterior purificação dos compostos químicos foi realizado em cromatógrafo marca Shimadzu®, composto por um sistema binário de solventes LC-6AD, degaseificador DGU-20A, equipado com detector de UV SPD-20A, ligados a uma interface CBM – 20A. As análises foram registradas através do software LC solution.

Para o fracionamento foi utilizada uma coluna preparativa C18 de 250 x 15,00 mm (100Å, 5 µm) da marca Phenomenex com um *loop* de 100µL. Para a purificação foi usada uma coluna Fenil-Hexil de 250 x 10,00 mm (5µm) da marca Phenomenex com um *loop* de 10µL.

4.2. Solventes e reagentes reveladores

4.2.1 Solventes

Todos os solventes utilizados nos procedimentos cromatográficos e em experimentos de MS eram grau de pureza HPLC da Tedia. Solventes deuterados da marca Merck foram utilizados para obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear (NMR). Água deionizada foi obtida a partir de equipamento Milli-Q.

4.2.2. Reagentes reveladores

Reagente de Dragendorff com modificação de Munier (Munier, 1953 *apud* Merck, 1971): Solução A: 1,7 g de nitrato de bismuto III e 20,0 g de ácido tartárico dissolvidos em 80 mL de água destilada. Solução B: 16,0g de iodeto de potássio dissolvidos em 40 mL de água destilada. A mistura de partes iguais dessas soluções constitui a solução estoque. Para borrifação das cromatoplas, adicionou-se 10,0 g de ácido tartárico, dissolvidos em 50 mL de água destilada. Após aplicação nas placas os alcaloides apresentaram coloração laranja.

Vanilina Sulfúrica (Mattos, 1997). Solução A: 5-10% de ácido sulfúrico em etanol. Solução B: Solução a 1% de vanilina em etanol. Através da aplicação em placa cromatográfica os *spots* das amostras apresentaram colorações características dos seus cromóforos, a frio ou após aquecimento em estufa a 110°C, por aproximadamente dois minutos.

4.3. Métodos espectroscópicos/espectrométricos

Os espectros de ressonância magnética nuclear 1D e 2D foram registrados em equipamentos Bruker, modelo Avance 400 e Avance III 600 NMR, operando a 9,4 e 14,1 Tesla (T), respectivamente, observando ^1H a 400,13 MHz e 600,13 MHz, e ^{13}C a 100,62 e 150,90 MHz, respectivamente. As correlações ^1H - ^{13}C (HSQC) e (HMBC) foram otimizadas para a média da constante de acoplamento $^1J_{\text{H,C}}$ e $^3J_{\text{H,C}}$ de 150 e 8 Hz. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e metanol deuterado (CD_3OD). Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (δ) e as constantes de acoplamento (J) foram registradas em Hertz (Hz). Os experimentos obtidos foram realizados no Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná.

As análises de MS foram realizadas no laboratório de espectrometria de massas da Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Os espectros foram registrados em equipamento do tipo *Íon-trap*, modelo LCQ Fleet[®] (Thermo scientific), ou Triplo Quadrupolo, modelo TSQ Quantum Access Thermo scientific), operando com fonte de *electrospray* (ESI) ou com fonte de ionização química à pressão atmosférica (APCI).

4.4. Outros equipamentos

- Evaporador rotatório: Heidolph, tipo Heizbad OB;
- Moinho: Modelo Willey com quatro facas;
- Estufa de circulação de ar: Deleo, tipo A6 sefaf;
- Ultravioleta (UV): Lâmpada de 254-365 nm, da Solab;
- Balança analítica: Tecnal, classe 1 (máx. 210 g – mín. 100 mg);
- Pipeta automática: Gilson, P 5000, P 1000 e P 100;
- Ultrasson: Unique, modelo USC-2800.

4.5. Material botânico

O material botânico (folhas, galhos finos, casca e cerne) das espécies *X. excellens* e *X. benthamii*, foram coletados no Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), no mês de julho de 2011. O material botânico foi identificado pelo Prof. Dr. Antonio Carlos Webber do Departamento de Biologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFAM e as exsiccatas das espécies com material fértil foram depositadas no herbário da UFAM sob os seguintes números: 8279 (*X. excellens*) e 8280 (*X. benthamii*).

4.6. Secagem e moagem

Depois de coletadas, as diferentes partes (folhas, galhos finos, casca e cerne) das espécies *X. excellens* e *X. benthamii* foram secas em estufa de circulação de ar a 50 °C, sendo em seguida trituradas em moinho de quatro facas, e pesadas.

4.7. Seleção, secagem e pulverização das folhas de *X. excellens* e *X. benthamii* para extração dos óleos essenciais

As folhas de *X. excellens* foram primeiramente selecionadas, limpas e secas em estufa com ar circulante a uma temperatura de 45°C, e em seguida pulverizadas em liquidificador com palheta de aço inoxidável.

4.8. Obtenção dos óleos essenciais

Para a obtenção dos óleos essenciais das folhas de *X. excellens* e *X. benthamii* (300 g) foram submetidos aos processo de extração por hidrodestilação adaptado com um aparelho tipo Clevenger, usando uma proporção 1:10 de material vegetal/ água destilada, por cerca de 3 horas. Posteriormente, os óleos coletados, separados por diferença de densidade foram secos por meio de percolação em sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄). Determinou-se o rendimento (m/m) e armazenou-se em frasco de vidro de coloração âmbar sob refrigeração, para que não houvesse a perda dos constituintes voláteis.

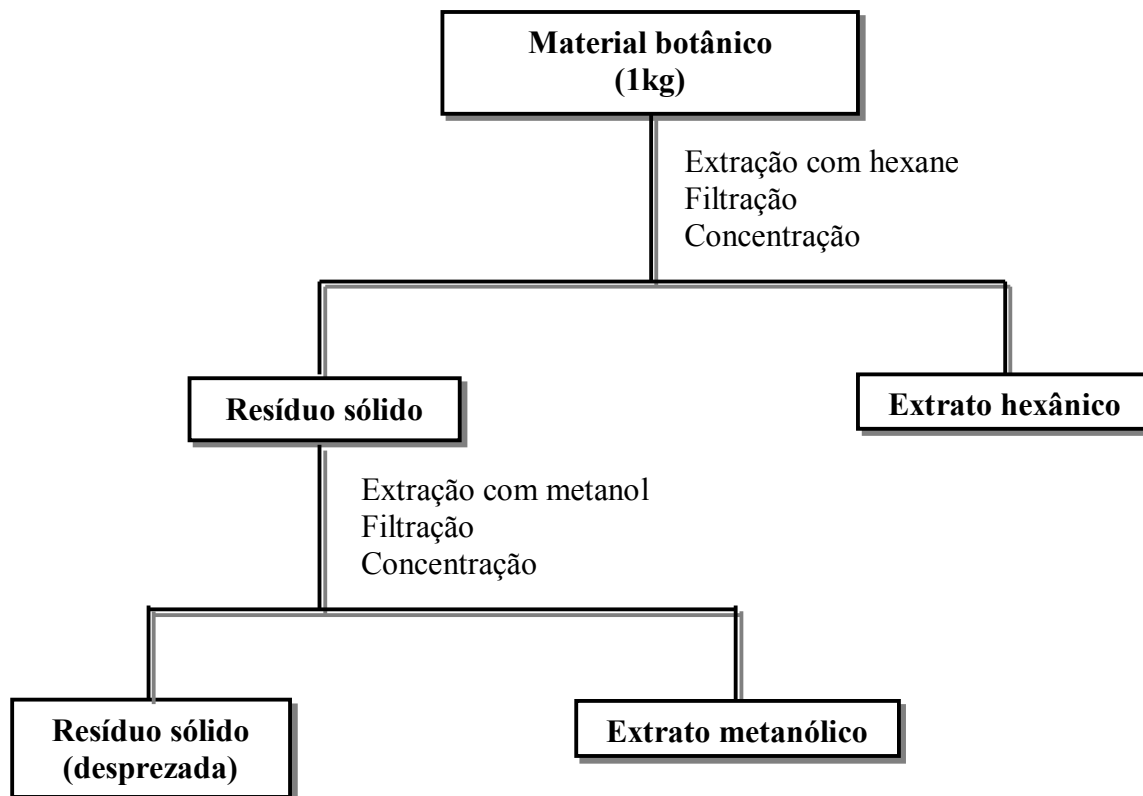
4.9. Análise por Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM)

A análise dos constituintes voláteis foi realizada no Laboratório de Biotecnologia e Química Fina do Departamento de Química da Universidade Federal de Roraima. A análise foi realizada em um cromatógrafo a gás fabricado pela Shimadzu, modelo GC 2010, acoplado ao espectrômetro de massa do mesmo fabricante, modelo QP2010 Plus com fonte de ionização por impacto eletrônico de 70 eV, para identificação e obtenção dos espectros de massas. Foi utilizada uma coluna RTX5MS (5% fenil e 95% dimetilpolisiloxano), gás de arraste hélio com fluxo de 1,02 mL/min. A injeção em modo split 1:50 e temperatura do injetor a 220 °C e a temperatura do detector foi de 260 °C. A programação do forno foi de 50 a 260 °C com taxa de elevação de 3°C/min. A identificação dos constituintes foi obtida através da comparação dos espectros de massas obtidos com dados da biblioteca Wiley 7.0 e os índices de retenção dos componentes com a literatura (Adams, 2007).

4.10. Preparação dos extratos

Todo material pulverizado (1,0 Kg) foi individualmente submetido à extração por maceração com solvente em ordem crescente de polaridade, hexano e metanol, com remoção em intervalo de 3 dias, totalizando 30 dias. O material remanescente foi desprezado. Os extratos obtidos foram filtrados e evaporados sob pressão reduzida a temperatura de 50 °C e, em seguida, secos em dessecador (FLUXOGRAMA 1).

Após completa secagem foi calculado o rendimento dos extratos das espécies *X. excellens* e *X. benthamii* (TABELA 1) e, em seguida, retirada uma pequena quantidade dos extratos (1,0 g) para a realização dos testes biológicos.



Fluxograma 1. Obtenção dos extratos brutos das espécies da família Annonaceae coletadas.

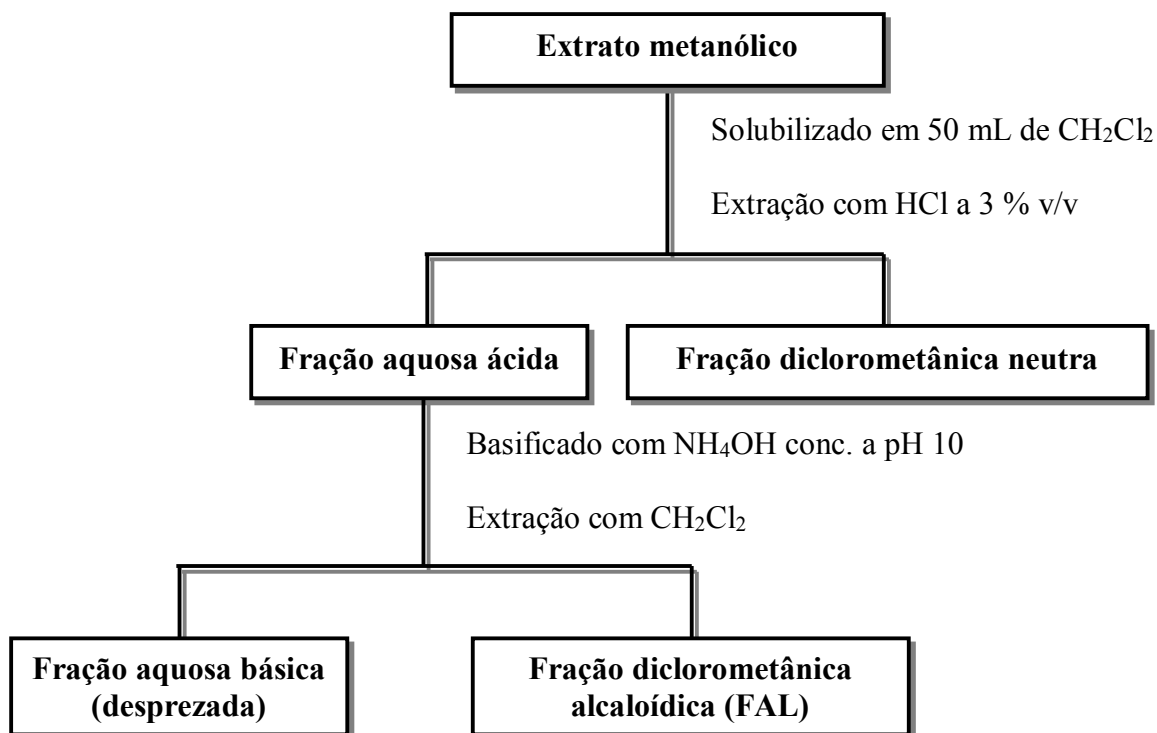
Tabela 1. Rendimento dos extratos brutos

Espécie	Parte da planta	Extratos hexânicos	Rendimento (g)	Extratos metanólicos	Rendimento (g)
<i>X. excellens</i>	Folha	EHXEx (F)	13,2026	EMXEx (F)	90,3558
	Galhos finos	EHXEx (GF)	6,0117	EMXEx (GF)	136,2150
	Casca	EHXEx (CAS)	14,9501	EMXEx (CAS)	117,2925
	Cerne	EHXEx (CER)	2,1602	EMXEx (CER)	31,6142
<i>X. benthamii</i>	Folha	EHXb (F)	33,120	EMXb (F)	51,5000
	Galhos finos	EHXb (GF)	2,0900	EMXb (GF)	34,6000
	Casca	EHXb (CAS)	0,7100	EMXb (CAS)	12,3015
	Cerne	EHXb (CER)	0,8300	EMXb (CER)	8,023

4.11. Marcha química para a extração de alcaloides presentes nos extratos metanólicos

Por meio de análise em CCD, os extratos metanólicos da espécie *X. excellens* e *X. benthamii* evidenciaram a presença de alcaloides quando revelado com o reagente Dragendorff (indicativo de alcaloide). Então, esses extratos foram submetidos à extração ácido-base convencional, de acordo com o trabalho de Chang et al (1998), e adaptação de metodologia descrita por Costa, 2004.

Para cada extrato metanólico procedeu-se da seguinte forma: o extrato bruto foi solubilizado em diclorometano e extraído três vezes com solução de ácido clorídrico a 3% v/v, obtendo-se duas frações de cada extrato: a fração aquosa ácida e a fração diclorometânica neutra. A fração aquosa ácida foi basificada com hidróxido de amônio concentrado (NH₄OH) até pH 10, em seguida, foi extraída sucessivamente com diclorometano, levando a duas novas frações: a fração diclorometânica alcaloídica, que foi concentrada em evaporador rotatório à pressão reduzida, e a fração aquosa básica que foi desprezada (FLUXOGRAMA 2).



Fluxograma 2. Fracionamento dos extratos metanólicos para obtenção de alcaloides.

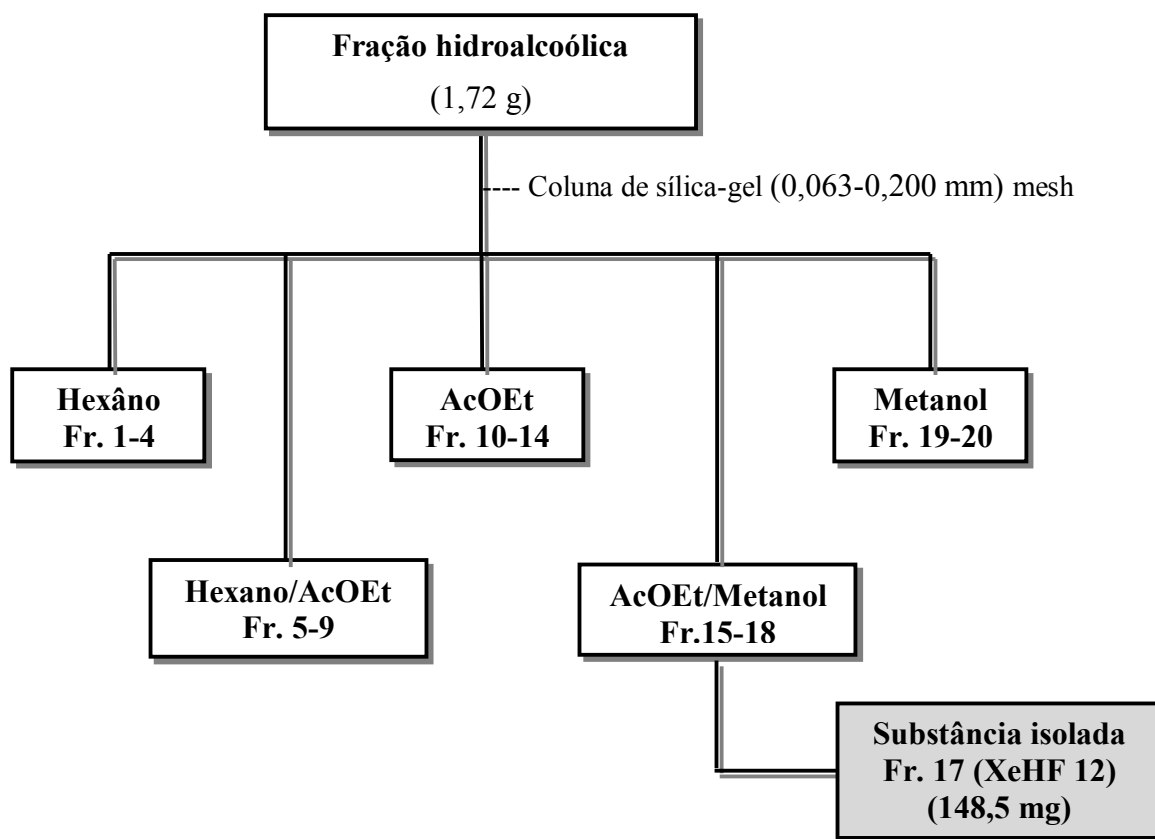
Os solventes de todas as frações foram evaporados sob pressão reduzida em temperatura inferior a 40 °C, e após secas foi obtido rendimento em gramas (TABELA 2).

Tabela 2. Rendimento da extração ácido-base dos extratos metanólicos.

Espécies	Extratos metanólicos	Frações Alcaloídicas	Rendimento (mg)	Frações neutras	Rendimento (mg)
<i>X. excellens</i>	EMXEx (F)	FALXEx (F)	119,71	FNEMXEx (F)	11,50
	EMXEx (GF)	FALXEx (GF)	259,50	FNEMXEx (GF)	2,10
	EMXEx (CAS)	FALXEx (CAS)	135,52	FNEMXEx (CAS)	4,19
	EMXEx (CER)	FALXEx (CER)	150,85	FNEMXEx (CER)	6,25
<i>X. benthamii</i>	EMXb (F)	FALXb (F)	284,64	FNEMXb (F)	15,11
	EMXb (GF)	FALXb(GF)	445,91	FNEMXb (GF)	9,45
	EMXb (CAS)	FALXb (CAS)	191,30	FNEMXb (CAS)	5,76
	EMXb (CER)	FALXb (CER)	132,50	FNEMXb (CER)	2,95

4.12. Fracionamento do extrato hexânico das folhas de *X. excellens* EHXE_x (F)

O EHXE_x (F) (5 g) foi submetido à partição com hexano/metanol aquoso (10%) na proporção 1:1, fornecendo as frações hexânica (3,25g) e hidroalcoólica (1,72g). A fração hidroalcoólica foi submetida à coluna cromatográfica de sílica gel (0,063-0,200 mm), eluída com hexano, acetato de etila e metanol em misturas de polaridades crescente, fornecendo 20 frações. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus respectivos R_f s (FLUXOGRAMA 3).



Fluxograma 3. Fracionamento da fração hidroalcoólica do extrato hexânico das folhas de *X. excellens*.

4.13. Análise por ESI-IT-MSⁿ das frações alcaloídicas das folhas, galhos finos, cascas e cerne de *X. excellens* e *X. benthamii*

Os espectros de massas das frações alcaloídicas de *X. benthamii* e *X. excellens* foram adquiridos usando um espectrômetro *ion trap* LCQ FleetTM (Thermo Scientific) equipado com uma fonte de *eletrospray* e operando no modo positivo. Programado para monitorar a faixa de *m/z* 100-600, adequada aos alcaloides descritos no gênero *Xylopi*a. Foi preparada uma solução de 10 ppm em metanol grau HPLC e aplicadas por inserção direta através da bomba seringa do próprio equipamento. Para analisar as frações alcaloídicas utilizaram-se os seguintes parâmetros de operação: *spray voltage*: 5,20 kV; *sheath gas*: 8 arb; *auxiliary gas*: 6 arb; *sweep gas*: 0 arb; *capillary temp*: 175 °C; *capillary voltage*: 50 V e *tube lens*: 120 V. Hélio foi utilizado como gás de colisão, onde as energias de colisão variaram de 20 a 30%.

As soluções *stock* (1 mg/ml) das frações alcaloídicas das folhas, galhos finos, cascas, cerne e dos compostos purificados foram preparadas com MeOH grau HPLC. Alíquotas (5 µL) das soluções *stock* foram ainda diluídas para 5 µg/mL e analisadas por infusão direta através da bomba de seringa instrumento (8 µL/min).

4.14. Fracionamento e isolamento das frações alcaloídicas das folhas e galhos finos de *X. excellens*

As frações alcaloídicas das folhas (FAXe (F)) e galhos finos (FAXe (GF)) *X. excellens* foram submetidas à análise por LC-MS em escala analítica, de modo a traçar o perfil cromatográfico alcaloídico e auxiliar o desenvolvimento do método de purificação para posterior escalonamento para CLAE semi-preparativo. As análises foram otimizadas em modo isocrático 80:20, MeOH/H₂O acidificada a 0,01% de TFA, com fluxo de 1 mL/min.

Operou-se simultaneamente com um detector PDA, sendo a detecção feita nos comprimentos de onda fixos de (280 a 305 nm) e um detector de MS (LCQ Fleet), utilizando a coluna analítica C18 de 150 x 4.6 mm (100Å, 5µm) Phenomenex.

4.14.1. CLAE-DAD em escala semipreparativa da FAXE (F)

A fração alcaloídica das folhas (100 mg) foi submetida à purificação por CLAE-DAD em escala semipreparativa para isolamento dos alcaloides majoritários. Utilizou-se uma coluna C18 semipreparativa, eluição com metanol/água com 5% (v/v) de ácido trifluoroacético, na proporção de 80:20, fluxo de 5 mL/min e detecção em UV₁= 280nm e UV₂= 305 nm.

A amostra foi preparada através da solubilização da amostra em metanol grau HPLC com o auxílio de banho de ultrassom. Em seguida a amostra solubilizada foi centrifugada por 10 min e o sobrenadante retirado foi filtrado e imediatamente injetado no cromatógrafo líquido. O volume de injeção foi de 1,0 mL, sendo obtidos 30 subfrações, as quais foram secas sob uma corrente de nitrogênio gasoso. Após a análise por IES-EM, as subfrações 12, 23 e 25 (TABELA 3), codificadas como XeF1, XeF2 e XeF3, foram submetidas a análises de RMN 1D e 2D para determinação estrutural.

Tabela 3. Substâncias obtidas na purificação da FAXE (F)

Fração	Código	Tempo de Retenção (min)	m/z
12	XeF1	14.51	330
23	XeF2	22.00	266
25	XeF3	23.20	352

4.14.2. CLAE-DAD em escala semipreparativa da FAXE (GF)

A fração alcaloídica dos galhos finos de *X. excellens* (100 mg) foi submetida ao mesmo processo de separação cromatográfica citado no item 4.14.1. Nesse processo de

isolamento foram obtidos 34 subfrações. Todas as amostras obtidas na purificação por CLAE-DAD semipreparativo foram analisadas em IES-EM e as subfrações 15, 21, 24, 26, 29 e 31 (TABELA 4). Foram submetidas a uma nova separação cromatográfica para a purificação por CLAE-DAD, usando-se uma coluna fenil-hexil semipreparativa, eluição com metanol/água com 0,01% (v/v) de ácido trifluoroacético, na proporção de 60:40, fluxo de 5 mL/min e detecção em $UV_1 = 280\text{nm}$ e $UV_2 = 305\text{ nm}$.

Tabela 4. Substâncias obtidas na purificação da FAXE (GF)

Fração	Tempo de Retenção (min)	m/z	Substância isolada/ código
15	18.57	276 e 338	276 / XeF4
21	21.59	292 e 336	292 / XeF5 336 / XeF6
24	23.10	306 e 356	306 / XeF7
26	24.10	308 e 352	308 / XeF8
29	26.76	292 e 326	326 / XeF9
31	27.84	322 e 366	322 / XeF10 366 /XeF11

4.15. Testes de atividades dos extratos brutos, frações alcaloídicas e dos óleos de *X. excellens* e *X. benthamii*.

4.15.1 Ensaio para avaliar atividade antiproliferativa frente a linhagens tumorais humanas e células não tumorais:

As drogas testes (extratos e frações) foram avaliadas quanto a sua atividade antiproliferativa em painel de células tumorais humanas sendo a inibição de crescimento calculada a partir da dosagem de proteínas utilizando-se o ensaio da sulforrodamina B (SBR). A sulforrodamina B (SBR) é um corante aniônico de coloração rosa brilhante, capaz de se ligar às terminações básicas de aminoácidos de células vivas, sendo assim um ensaio

independente do metabolismo celular (Skehan *et al.*, 1990). Para a realização dos experimentos são utilizadas as seguintes linhagens celulares: a = NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos); 7 = 786-0 (rim); 4 = NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); o = OVCAR-3 (ovário); h = HT-29 (cólon); k = K562 (leucemia); e HAcat (keratinocito), esta última linhagem de célula não cancerígena. As células foram cultivadas em meio de cultura RPMI 1640, com 5% de soro fetal bovino a 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂. Foram inoculados 100 µL de células em RPMI 1640/SFB 10% gentamicina 50 µg/mL, nas suas respectivas densidades de inoculação, em placas de 96 poços e incubadas à 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂. Após 24 horas, as amostras foram adicionadas em concentrações crescentes de 0,25 a 250 µg/mL. Após 48 horas as células foram fixadas com 50 µL de ácido tricloroacético a 50%, a 4° C e incubadas por 1 hora a 4° C. Em seguida as placas foram lavadas com água destilada e mantidas em temperatura ambiente até a secagem. A coloração foi então observada pela adição de 50 µL de sulforrodamina B a 0,4 % dissolvido em ácido acético a 1%, durante um período de 30 minutos. As placas foram incubadas a 4 °C, lavadas 4 vezes com ácido acético a 1% e secas novamente em temperatura ambiente. O corante foi solubilizado com solução de Trizma base (10µM, pH 10,5) e a leitura espectrofotométrica realizada a 540 nm em um leitor de microplacas. Como controle positivo utilizou-se o quimioterápico doxorrubicina nas mesmas concentrações das amostras em teste e como controle negativo o diluente DMSO/RPMI-1640 (0.1%). Foram analisados também em cada placa teste um branco do meio de cultura (sem células), um branco da suspensão celular (controle do inóculo) e o branco das amostras teste. Cada droga-teste foi analisada em triplicata. Com os dados de absorbância foram elaborados gráficos relacionando a porcentagem de inibição ou morte celular com a concentração de extratos e das frações. Além disso, foram calculadas as médias das absorbâncias descontadas de seus respectivos brancos.

Através das fórmulas a seguir, foi determinada a inibição de crescimento (IC) de cada amostra testada.

Para realização dos cálculos considerou-se o seguinte:

Se $T > C$ a droga estimula o crescimento, não apresenta IC. Se $T \geq T^0$ e $< C$, a droga é citostática e a fórmula utilizada é $100 \times [(T-T^0) / (C-T^0)]$.

Se $T < T_0$ a droga é citocida e a fórmula utilizada é $100 \times [(T-T^0) / (T^0)]$

Sendo que T é a média da absorbância da célula tratada; C é o controle de célula; T^0 é o controle das células no dia da adição das drogas.

O resultado obtido é subtraído de 100%, obtendo-se então a porcentagem de crescimento. Com esses resultados são produzidos gráficos relacionando a concentração da amostra e seu efeito. As amostras são consideradas ativas quando apresentarem inibição de crescimento maior que 50% e ainda de forma dose dependente, preferencialmente apresentando seletividade para os tipos celulares. Através da regressão sigmóide das curvas obtidas com as médias da porcentagem de crescimento, serão calculados os valores TGI (*total growth inhibition*), ou seja, concentração necessária para inibir totalmente o crescimento celular.

Este ensaio foi realizado no laboratório de Produtos Naturais e de Bioensaios do Curso de Farmácia/DBV-IB-UNICAMP, em colaboração com o Prof. Dr. Marcos José Salvador.

4.15.2 Ensaio para avaliar atividade antimicrobiana

Os óleos essenciais de *X. excellens* e *X. bentharii* e as substâncias isoladas foram avaliadas quanto à atividade antimicrobiana, utilizando o método de micro diluição em caldo (placas de 96 poços), como descrito anteriormente (SALVADOR et al., 2002; COSTA et al.,

2010). Vinte microlitros de soluções de amostra-teste e de soluções-controle (positivo e negativo) foram aplicadas em poços de 5 mm de diâmetro para dar uma concentração entre 10 a 500 µg/ml. As soluções foram preparadas em DMSO, em concentração de 5000 µg/mL. Como controles positivos foram utilizados discos de cloranfenicol (100 µg/mL) e cetoconazol (100 µg/mL) enquanto como controle negativo foi usada uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO)-esterilizado e água destilada (5:95, v / v). A concentração inibitória mínima (CIM) foi calculada como a concentração mais baixa que mostra completa inibição de uma estirpe testada (SALVADOR et al., 2002). Cada teste de sensibilidade foi realizado em duplicata para cada micro-organismo avaliado e repetido três vezes. As estirpes de micro-organismos utilizados foram *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341), *Staphylococcus aureus* (ATCC14458), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Escherichia coli* (ATCC 10538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Candida tropicalis* (ATCC 157), *Candida glabrata* (ATCC 30070) e *Candida dubliniensis* (ATCC 778157). Os resultados são mostrados na Tabela 19.

Este ensaio foi realizado no laboratório de Produtos Naturais e de Bioensaios do Curso de Farmácia/DBV-IB-UNICAMP, em colaboração com o Prof. Dr. Marcos José Salvador.

4.15.3 Ensaio para avaliar atividade leishmanicida

Ensaio antiprotozoário

O ensaio foi realizado com formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (WHOM/BR/75/JOSEFA) utilizando o ensaio de viabilidade celular do XTT. Para isso, formas promastigotas (1×10^6 parasitos/mL) com cultivo de 48 h foram adicionadas em placa de 96 poços, na presença e ausência de diferentes concentrações dos compostos e em seguida incubadas por 72 h a 25 °C. Após tratamentos as células foram incubadas com XTT (0,5

mg/mL) e ativador PMS (0,06 mg/mL) por 4 h a 25 °C. A anfotericina B foi utilizada como controle positivo. A leitura da absorbância foi realizada a 450 nm em um espectrofotômetro de placas (Bio Tek – Power Wave XS). Atividade leishmanicida foi determinada pela contagem direta dos parasitas vivos na câmara de Neubauer, e a concentração de inibição de 50% (IC₅₀) foi avaliada graficamente traçando a concentração versus a inibição do crescimento percentual (Britta, 2012).

Ensaio de citotoxicidade

A citotoxicidade foi avaliada em macrófagos J774A1 utilizando o ensaio de viabilidade celular através da redução do MTT. Para isso, macrófagos (5×10^5 células/mL) foram plaqueadas em lamelas em meio RPMI 1640 suplementado 10% de SFB e cultivados em placas de 96 poços e mantidos a 37°C e 5% de CO₂ por 24 h. Após 24 h diferentes concentrações dos compostos foram adicionados e a placa foi incubada durante 48 h. Após o tratamento as células foram lavadas com PBS e incubadas na presença de MTT (2 mg/mL). Após 4 h foi adicionado DMSO e a leitura da absorbância realizada a 492 nm em um espectrofotômetro de placas (Bio Tek – Power Wave XS). A percentagem de células viáveis foi calculada em relação ao controle com intuito de determinar o CC₅₀ (concentração citotóxica em 50%) (Britta, 2012).

Este ensaio foi realizado no laboratório de Ciências farmacêuticas da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, em colaboração com o Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura.

Resultados

5. Resultados

De acordo como descrito no item 4.14, a análise do perfil alcaloídico das frações FAXE (F) e FAXE (GF) de *X. excellens* por LC-MS em escala analítica evidenciou a presença de diversos alcaloides (FIGURA 15 e 16). A análise do perfil em DAD dos picos majoritário das frações FAXE (F) e FAXE (GF) evidenciou a presença de bandas na região do UV (200-400 nm) características de alcaloides aporfinicos e oxoaporfinicos (FIGURA 15 (b) e 16 (b)).

Para a amostra FAXE (F) observou-se 7 picos cromatográficos majoritários correspondendo as substâncias protonadas de m/z 276, 372, 266, 352, 336 e 382 $[M+H]^+$, respectivamente (FIGURA 15 (a)). Enquanto para a amostra FAXE (GF) foi observado 8 picos majoritários correspondendo as substâncias protonadas de m/z 276, 314, 338, 298, 336, 306, 292, 326 e 354 $[M+H]^+$ (FIGURA 16 (a)).

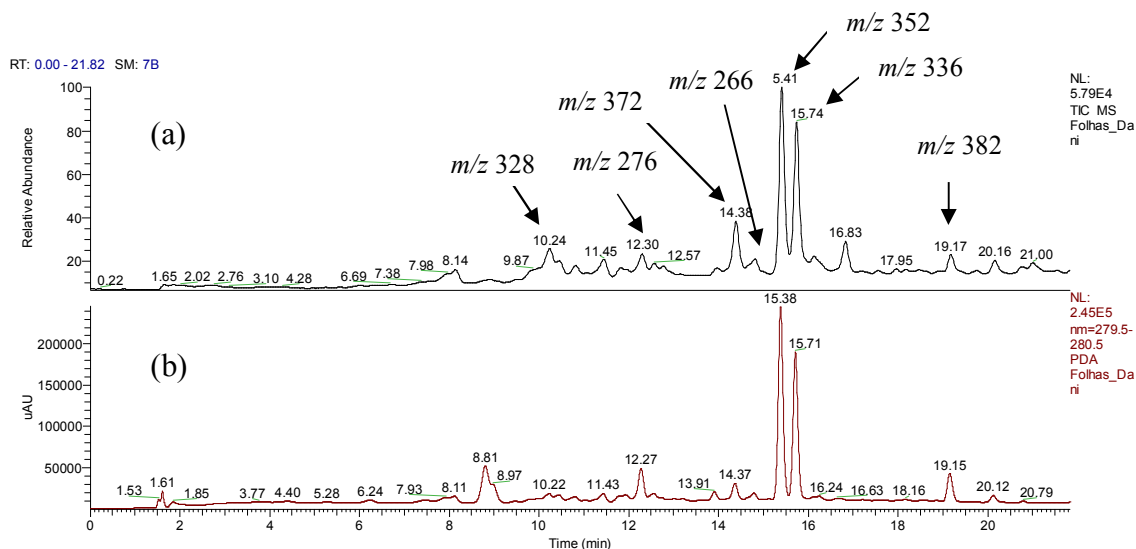


Figura 15. Cromatograma LC/MS da FAXE (F). (a) Detector MS, (b) Detector PDA

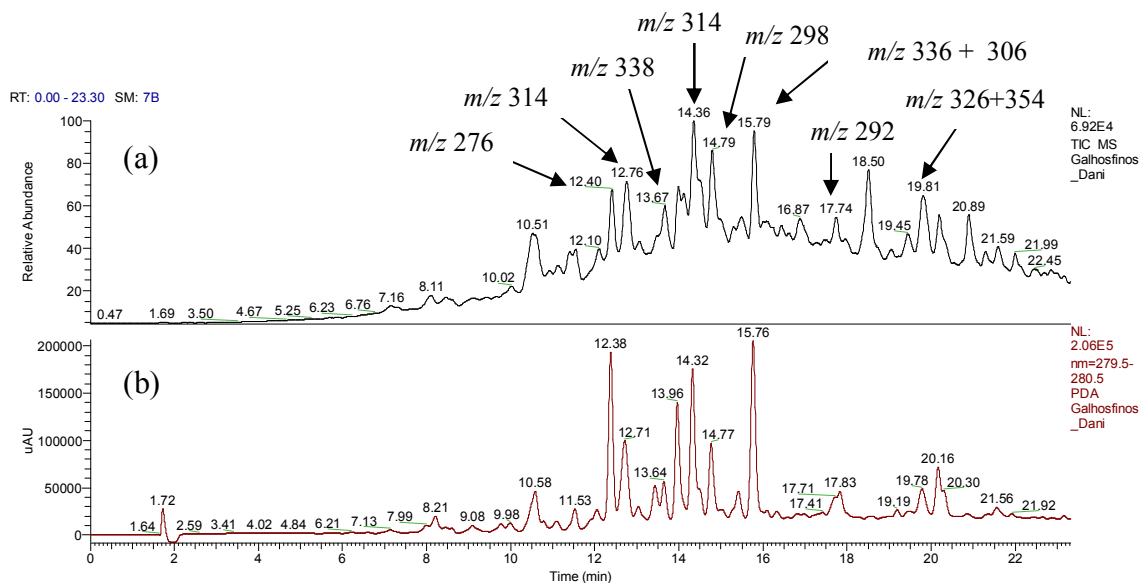


Figura 16. Cromatograma LC/MS da FAXE (GF). (a) Detector MS, (b) Detector PDA

5.1. Análise do perfil alcaloídico por espectrometria de massas das frações alcaloídicas de *X. excellens* e *X. benthamii*

As frações alcaloídicas das folhas, galhos finos, casca e cerne de *X. excellens* e *X. benthamii* foram avaliados quanto ao seu perfil alcaloídico por espectrometria de massas. Foram obtidos espectros de massas em modo *full-scan* apresentando os íons precursores das moléculas protonadas $[M+H]^+$ (FIGURAS 17 e 18). No espectro de íons totais, foram verificados diversos íons de m/z par, sugerindo a existência de alcaloides de esqueleto isoquinolínico, comuns na família Annonaceae.

No perfil alcaloídico das espécies pôde-se perceber a existência de íons com m/z comuns nas amostras analisadas. A presença do íon m/z 352 foi predominante nas folhas, galhos finos e cascas de *X. excellens* e *X. benthamii*. Ao passo que os íons m/z 358 e 338 puderam ser observados nos galhos finos, casca e cerne das respectivas espécies.

O íon mais intenso e frequente nas espécies com m/z 338 foi submetido à fragmentação (MS^2) (FIGURA 19), apresentando fortes evidências da presença de um esqueleto oxoaporfínico. Assim, observou-se a perda inicial do grupo metila seguido da concorrência entre a perda de CH_3 (-15 Da) ou CH_3O (- 31 Da) e das subsequentes perdas do grupo CO (-28 Da), sugerindo a presença de grupos hidroxilas e metoxil vicinais (Stévigny et al., 2004, Da Silva et al., 2012).

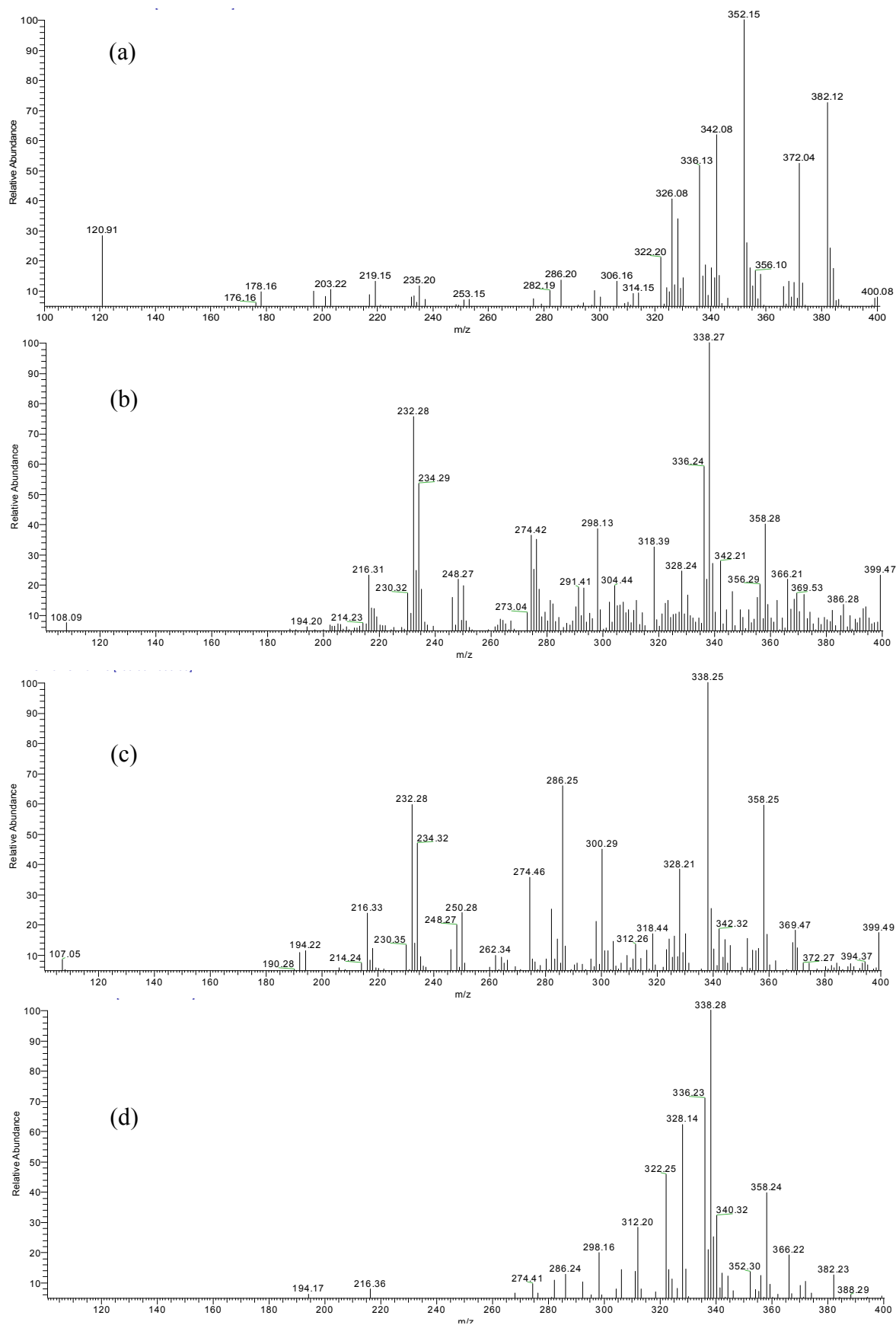


Figura 17. Espectros de massas de primeira ordem (*full scan*) em modo positivo das frações alcalóidicas de *X. excellens*. (a) FAXE (F), (b) FAXE (GF), (c) FAXE (CAS), (d) FAXE (CER)

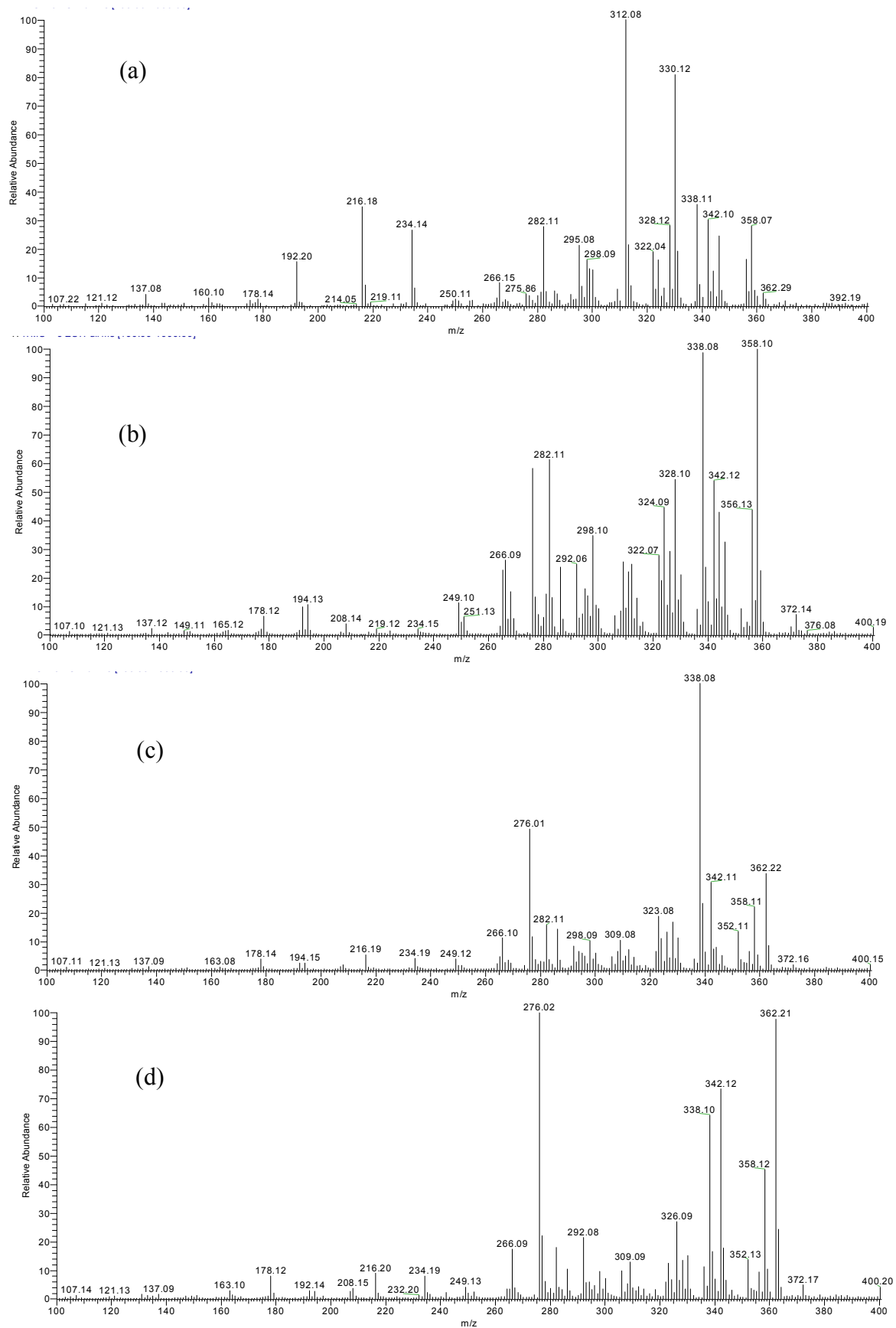


Figura 18. Espectros de massas de primeira ordem (*full scan*) em modo positivo das frações alcalóidicas de *X. benthamii*. (a) FAXB (F), (b) FAXB (GF), (c) FAXB (CAS), (d) FAXB (CER)

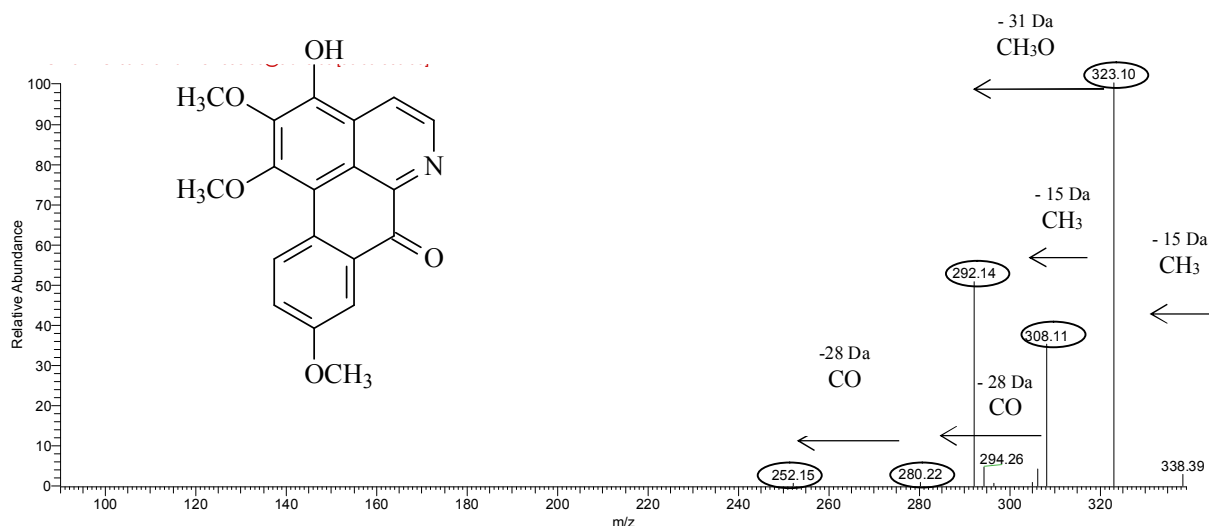
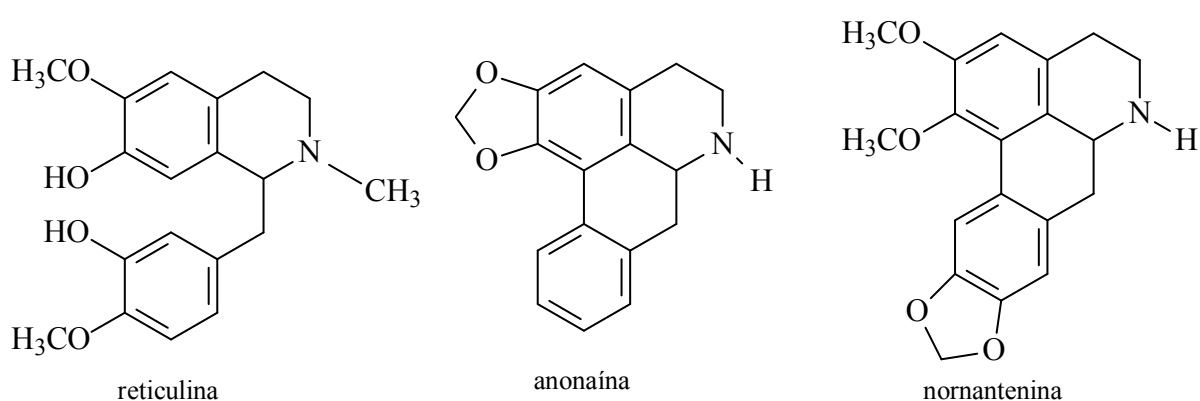
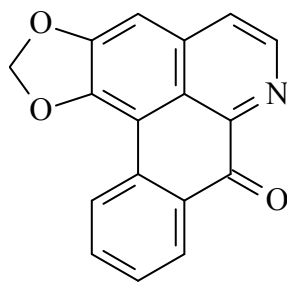


Figura 19. Espectro de massas MS² obtidos em modo positivo do íon m/z 338

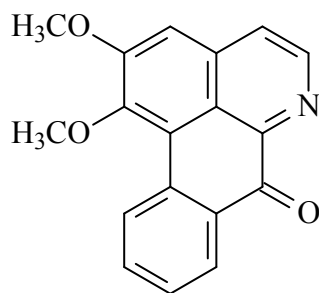
5.2. Identificação das substâncias isoladas de *X. excellens*

A análise por LC-semi-preparativo das frações alcalóidicas das folhas e galhos finos de *X. excellens* levou ao isolamento de 11 alcaloides, sendo 1 benzilisoquinolínico, 2 aporfínicos e 8 oxoaporfínicos. Da análise dos extratos hexânicos das folhas de *X. excellens* foi possível o isolamento de 1 diterpenos do tipo *ent*-caurano. As substâncias isoladas foram identificadas por técnicas de elucidação estrutural tais como RMN de 1D, 2D e EM, bem como a comparação dos dados com os descritos na literatura.

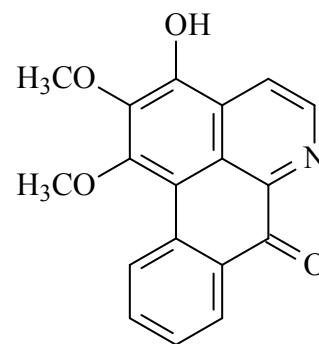




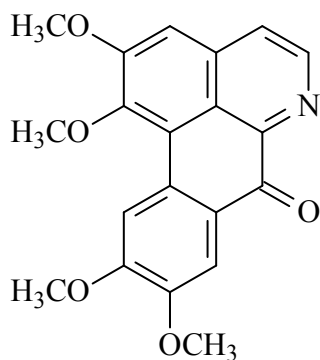
liriodenina



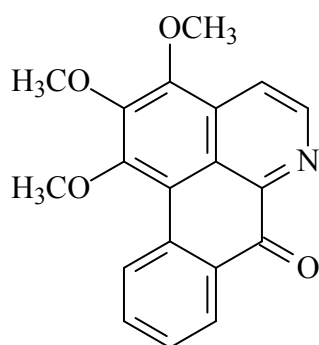
lisicamina



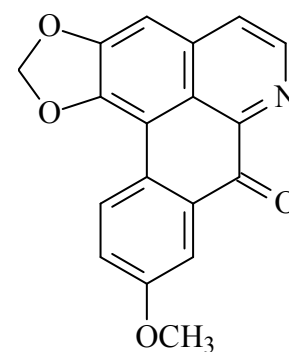
isomoschatolina



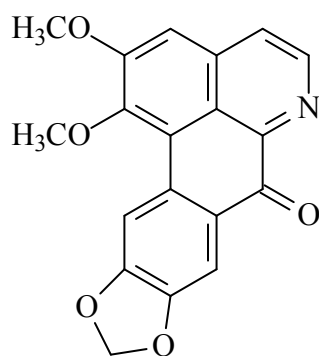
oxoglaucina



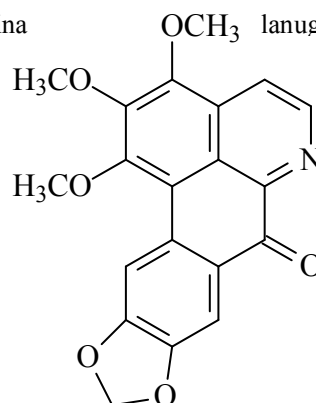
o-metilmoschatolina



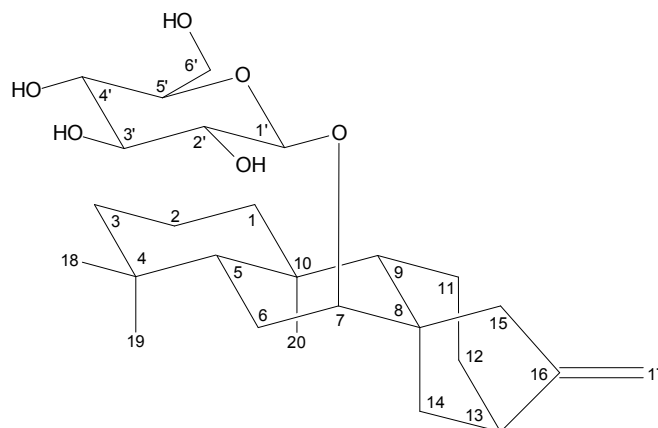
lanuginosina



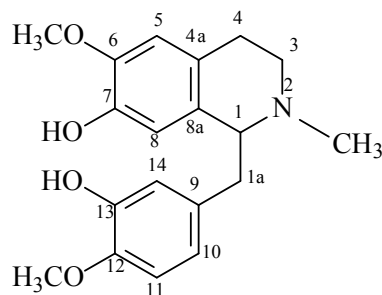
oxonantenina



oxofoebina

*ent*-caur-16-en-7 β -O- β -D-glucopiranosideo

5.2.1. Determinação estrutural da substância XeF1



XeF1

A substância XeF1 (3,0 mg) foi isolada como um sólido amorfo, com reação positiva para alcaloide no reagente de Dragendorff, em CCD. A análise por EM apontou a presença da molécula protonada $[M+H]^+$ em m/z 330 (ESPECTRO 1 – ANEXO I), a qual aliado aos dados de espectro de RMN de 1H foi compatível com a fórmula molecular $C_{19}H_{23}NO_4$.

A análise do espectro de RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$ + gotas de CD_3OD) evidenciou a presença de um conjunto de sinais característicos de alcaloides do tipo benziltetraidroisoquinolínico (ESPECTRO 2 – ANEXO I). Foram observados cinco átomos de hidrogênio aromáticos constituindo dois diferentes conjuntos de hidrogênios. O primeiro foi caracterizado pela presença de dois simpletos, em δ 6,19 (1H, *s*) e δ 6,57 (1H, *s*), típico de um sistema 1,2,4,5-tetrassubstituído, compatíveis com os hidrogênio H-5 e H-8 do anel A. O segundo evidenciou um sistema 1,3,4-trissubstituído, com hidrogênio em δ 6,70 (1H, *d*, $J= 2,0$ Hz), δ 6,75 (1H, *d*, $J= 8,4$ Hz), δ 6,53 (1H, *dd*, $J= 8,0$ e 2,0 Hz), os quais foram atribuídos, respectivamente, aos hidrogênio, H-14, H-11e H10, do anel C. Sinais de hidrogênio metilênicos em δ 3,20 (1H, *m*) / δ 2,75 (1H, *m*); δ 2,87 (1H, *m*) / δ 2,58 (1H, *m*) foram atribuídos aos hidrogênio H-3 e H-4 do anel B, enquanto o sinal de um hidrogênio metínico em δ 3,79 (1H, *dd*, 1H, *dd*, $J= 7,0$ e 5,2 Hz) acoplado aos sinais de um metileno em δ 3,12 (1H, *dd*, $J= 13,6$ e 5,2 Hz) / δ 2,77 (1H, *dd*, $J= 13,6$ e 7,6 Hz) indicou os

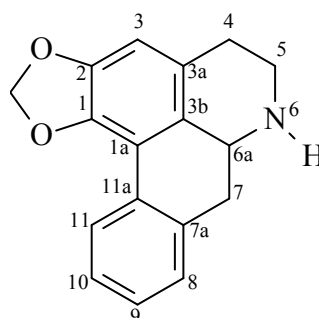
hidrogênio H -1 e H-1a. Adicionalmente, foram evidenciados sinais de dois grupos metoxílicos em δ 3,84 (3H, *s*) e δ 3,85 (3H, *s*), assim como de um grupo metila ligado a nitrogênio, observado em δ 2,51 (3H, *s*). Com base na composição da fórmula molecular foi admitida a presença de duas hidroxilas. Os dados espectrais de EM e RMN de ^1H e comparação com os dados da literatura (Leboeuf et al., 1982; Cruz, et al., 2011) (TABELA 5) permitiram concluir que a substância XeF1 trata-se do alcaloide benziltetraidroisoquinolínico conhecido como reticulina, já isolado de outras espécies de *Xylopi*a (Costa et al., 2013).

Tabela 5. Comparação dos dados de RMN de ^1H da substância XeF1 com a literatura.

Posição	^1H (δ) (mult., <i>J</i> em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., <i>J</i> em Hz) ^b
1	3,79 (1H, <i>dd</i> , 7,0 e 5,2)	3,72 (1H, <i>dd</i> , 7,0 e 5,2)
1a	3,12 (1H, <i>dd</i> , 13,6 e 5,2)	3,07 (1H, <i>dd</i> , 13,8 e 5,2)
	2,77 (1H, <i>dd</i> , 13,6 e 7,6)	2,74 (1H, <i>dd</i> , 13,8 e 5,2)
3	3,20 (1H, <i>m</i>)	3,17 (1H, <i>m</i>)
	2,75 (1H, <i>m</i>)	2,80 (1H, <i>m</i>)
4	2,87 (1H, <i>m</i>)	2,86 (1H, <i>m</i>)
	2,58 (1H, <i>m</i>)	2,64 (1H, <i>m</i>)
4a	-	-
5	6,57 (1H, <i>s</i>)	6,55 (1H, <i>s</i>)
6	-	-
7	-	-
8	6,19 (1H, <i>s</i>)	6,20 (1H, <i>s</i>)
8a	-	-
9	-	-
10	6,53 (1H, <i>dd</i> , 8,0 e 2,0)	6,54 (1H, <i>dd</i> , 8,2 e 2,0)
11	6,75 (1H, <i>d</i> , 8,4)	6,74 (1H, <i>d</i> , 8,2)
12	-	-
13	-	-
14	6,70 (1H, <i>d</i> , 2,0)	6,70 (1H, <i>d</i> , 2,0)
6 -OMe	3,84 (3H, <i>s</i>)	3,83 (3H, <i>s</i>)
12 -OMe	3,85 (3H, <i>s</i>)	3,84 (3H, <i>s</i>)
N-Me	2,51 (3H, <i>s</i>)	2,47 (3H, <i>s</i>)

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H em CDCl_3 + gotas de CD_3OD , utilizando o TMS como referência interna. ^b Dados da literatura com Cruz et al., 2011.

5.2.2. Determinação estrutural da substância XeF2



XeF2

A substância XeF2 (4,0 mg) foi isolada como um sólido amorfo marrom e seu espectro de massas indicou a presença do pico base correspondente a molécula protonada em m/z 266 (ESPECTRO 4 – ANEXO I), o qual, aliado às análises de RMN, 1D e 2D foi compatível com a fórmula molecular $C_{17}H_{15}NO_2$.

A análise do espectro de RMN de 1H (600 MHz, $CDCl_3$) (ESPECTRO 5 – ANEXO I) e as informações dos mapas de correlação gHSQC e gHMBC (ESPECTROS 8 e 9 – ANEXO I) sugeriram tratar-se de um alcaloide do tipo aporfínico. Verificou-se na região de δ 8,09– 6,00 do espectro de RMN de 1H , a presença de sinais para sete hidrogênio, sendo cinco referentes aos hidrogênios aromáticos em δ 6,61 (1H, s); δ 7,28 (1H, *m*); δ 7,24 (1H, *m*); δ 7,34 (1H, *m*); δ 8,09 (1H, *d*, $J= 7,8$ Hz) e dois, atribuídos ao grupo metilenodioxi. A presença do grupo metilenodioxi na molécula foi confirmada pelo registro de sinais em dupletos δ 6,15 (1H, *d*, 1,4 Hz) e 6,00 (1H, *d*, 1,4 Hz), correlacionados ao sinal do carbono em δ 102,27 no mapa de contorno gHSQC e com os carbonos oxigenados em δ 143,80 e δ 148,77 no mapa de correlação gHMBC. Foram também observados dois grupos de hidrogênios característicos dos hidrogênio metilênicos H-4 e H-5 em: δ 2,89 (1H, *m*) / δ 3,38 (1H, *m*) e em δ 3,27 (1H, *m*) / δ 3,75 (1H, *m*), correlacionados aos respectivos sinais dos carbonos em δ 26,15 e δ 42,24 no mapa de correlação gHSQC. O simpleto em δ 6,61 correlacionado a um carbono em δ 108,57 no gHSQC, e com os sinais dos carbonos em δ

143,80, δ 148,77 e δ 26,15 no gHMBC, foi atribuído ao H-3 do anel A da estrutura aporfínica, definindo assim o grupo metilenodioxi em C-1 e C-2 deste anel. Os quatro hidrogênio aromáticos em δ 7,28, 7,24, 7,34 e 8,09 correlacionados aos átomos de carbono em δ 129,16, 128,82, 129,22 e 128,26, respectivamente, no mapa de contorno gHSQC foram associados às posições H-8, H-9, H-10 e H-11. O sinal de um hidrogênio metínico em δ 4,39 (1H, *dd*, $J = 14,0$ e 4,6 Hz) correlacionado com o sinal de carbono em δ 53,93 no HSQC, foi atribuído a H-6a / C- 6a. Este hidrogênio esta acoplado aos prótons metilênicos em δ 3,25 (1H, *dd*, $J = 14,0$ e 4,6 Hz) / δ 3,19 1H, *d*, $J = 14,0$ Hz), os quais estão correlacionados com o carbono em δ 34,26, justificando o segmento N- CH(6a)-CH₂ (7), característico deste tipo de estrutura.

Na Tabela 6 são apresentados os valores de ¹H e ¹³C da substância XeF2 atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC. Estes dados comparados com os dados da literatura (Ortiz et al., 2007) confirmaram a substância XeF2 como o alcaloide do tipo aporfínico *sensu stricto* anonaína (FIGURA 20).

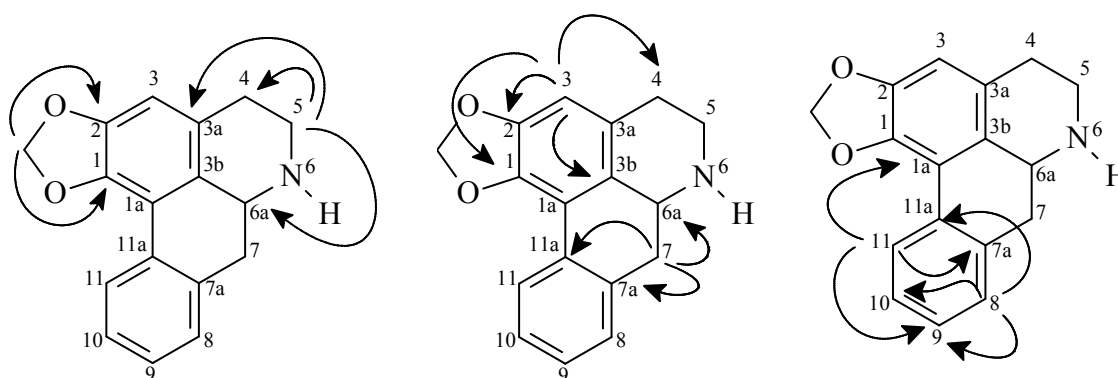


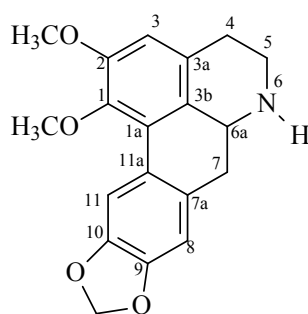
Figura 20. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC do alcaloide Anonaína

Tabela 6. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF2 com a literatura.

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^b	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (mult., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^d
1	-	143,80		-	142,5
1a	-	116,46		-	116,1
2	-	148,77		-	146,9
3	6,61 (1H, s)	108,57	1,4, 3b, 2	6,56 (s)	107,8
3a	-	123,82		-	126,3
3b	-	120,90		-	127,3
4	2,89 (1H, m) 3,38 (1H, m)	26,15	3, 3a, 3b, 5	2,67 (m) 3,03 (m)	28,8
5	3,75 (1H, m) 3,27 (1H, m)	42,24	3a, 4, 6a	3,42 (m) 3,03 (m)	43,0
6				3,51 (sl)	
6a	4,39 (1H, dd, 14,0 e 4,6)	53,93		4,00 (dd, 4,7 e 14,1)	53,2
7	3,25 (1H, dd 14,0 e 4,6) 3,19 (1H, d, 14,0)	34,26	6a, 3b, 7a, 8, 11a	2,84 (m, 14,0) 2,97 (dd, 4,8 e 14,2)	36,6
7a	-	132,12		-	134,8
8	7,28 (1H, m)	129,16	11a, 9	7,23 (dd, 7,9 e 0,7)	128,1
9	7,24 (1H, m)	128,82	11, 7a	7,23 (dd, 7,7 e 7,4)	127,5
10	7,34 (1H, m)	129,22	11, 11a	7,31 (dt, 8,2 e 1,2)	127,0
11	8,09 (1H, d, 7,8)	128,26	1a, 7a, 9	8,07 (d, 8,1)	127,0
11a	-	132,17		--	131,0
(1-2) OCH ₂ O	6,00 (1H, d, 1,4) 6,15 (1H, d, 1,4)	102,27	1, 2	6,08 (d, 1,2) 5,93 (d, 1,2)	100,7

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como referência interna. ^b Sinais determinados pelo espectro de gHSQC e g HMBC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênio. ^d Dados da literatura de acordo com Ortiz et al., 2007.

5.2.3. Determinação estrutural da substância XeF9



XeF9

A substância XeF9 (5,0 mg) foi isolada como um sólido amorfo marrom. O espectro de ESI-MS mostrou um pico base referente à molécula protonada em m/z 326 correspondendo à fórmula molecular de $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ (ESPECTRO 12 – ANEXO I).

A análise do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) (ESPECTRO 13– ANEXO I) e os dados dos mapas de correlação gHSQC e gHMBC (ESPECTROS 15 e 18 – ANEXO I) sugeriram tratar-se de um esqueleto do tipo aporfínico. Verificou-se na região de δ 8,09– 6,00 do espectro de RMN de ^1H , a presença de três simpletos correspondentes a hidrogênio aromáticos, em δ 6,63 (1H, s), 6,71 (1H, s) e 7,95 (1H, s), revelando tratar-se de uma estrutura altamente substituída. Na região de hidrogênio alifáticos observou-se a presença de sinais em 2,92 (1H, *m*) / 3,40 (1H, *m*) e 3,24 (1H, *m*) / 3,73 (1H, *m*) típicos de hidrogênio metilênicos H-4 e H-5, o primeiro correlacionado no gHMBC, ao hidrogênio em δ 6,63, atribuído ao H-3 do anel A. O sinal do hidrogênio metínico evidenciado em δ 4,21 (1H, *dd*, $J = 12,6$ e $4,2$ Hz) correlacionado no HSQC com o sinal de carbono em δ 53,09, característicos de H-6a / C- 6a e os prótons metilênicos em δ 3,04 (2H, *m*), correlacionados a um carbono atribuído ao C-7, em δ 34,0, confirmaram a presença do segmento N-CH(6a)-CH₂(7), compatível com um alcaloide aporfínico. Foram também observados simpletos referentes às metoxilas em δ 3,68 (3H, s) e δ 3,89 (3H, s), correlacionadas no gHSQC aos carbono em δ 60,37 e 56,01, e no gHMBC, aos carbono em δ 145,68 e 153,73. As correlações do hidrogênio em δ 6,63 (H-3), com os carbonos em δ 145,68 e 153,73, definiram a posição das metoxilas nos carbonos C-1 e C-2 no anel A. O grupo metilenodióxi foi evidenciado pela presença dos sinais de hidrogênio em δ 5,99 (1H, *d*, 1,2) e δ 5,98 (1H, *d*, 1,2), os quais estavam correlacionados no gHSQC com o carbono em 101,28 e no gHMBC com os sinais dos carbono oxigenados em δ 145,63 e δ 147,28, respectivamente. Os sinais em δ 6,71 (1H,s) e 7,95(1H,s), acoplados no gHSQC com carbono em δ 108,42 e 109,29, foram atribuídos aos carbono C-8 e C-11, sendo confirmados pelas correlações dos hidrogênio em δ 3,07 (1H, *m*) / δ 2,02 (1H, *m*) ligados ao C-7 com o carbono em δ 108,42 (C-8). Assim, as correlações no gHMBC δ 6,71 / δ 127,46 e 145,63 e δ 7,95/ 127,46 e 147,28, definiram a posição do grupo metilenodióxi em C-9 e C-10.

Na tabela 7 são apresentados os valores de ^1H e ^{13}C atribuídos de acordo com as análises dos mapas de contorno gHSQC e gHMBC. Estes dados, aliados aos descritos da literatura (JOHNS et al., 1967), permitiram identificar a substância XeF9 como sendo o alcaloide aporfínico normantenina, com atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de seus carbono e hidrogênio.

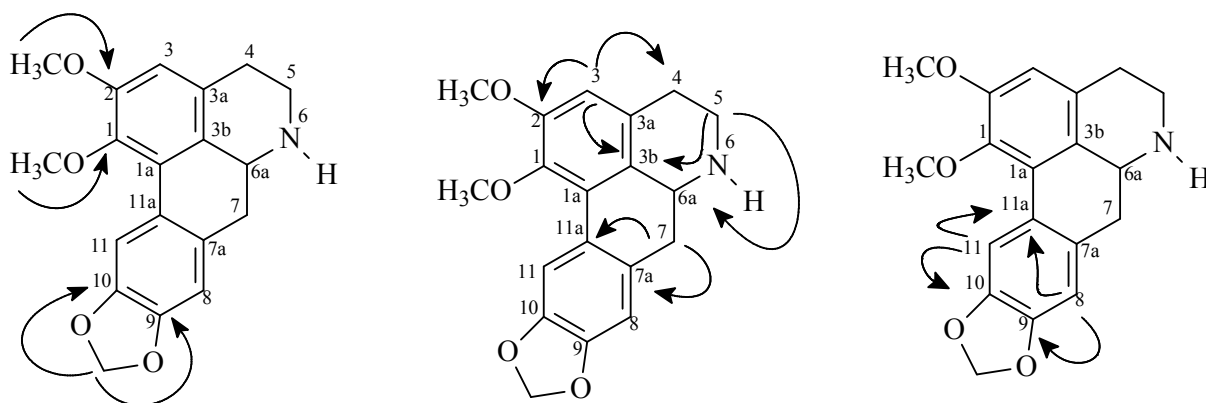


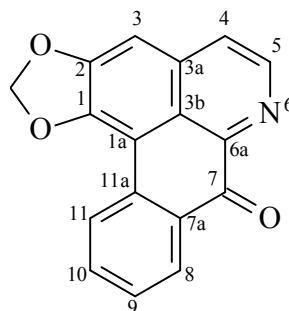
Figura 21. Principais correlações observadas no mapa de contorno gHMBC do alcaloide normantenina

Tabela 7. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF9 com a literatura.

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^b	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (mult., J em Hz) ^d
1	-	145,68	-	-
1a	-	125,08	-	-
2	-	153,73	-	-
3	6,63 (1H, s)	110,90	1,4, 3b, 2	6,57 (s)
3a	-	121,00	-	-
3b	-	125,00	-	-
4	2,92 (1H, dd, 17,2 e 3,9) 3,40 (1H, m)	25,49	3, 3a, 3b	-
5	3,24 (1H, m) 3,73 (1H, m)	41,42	3b, 6a	-
6	-	-	-	-
6a	4,21 (1H, dd, 12,8 e 4,2)	53,09	-	-
7	3,04 (2H, m)	34,07	6a, 3b, 7a, 8, 11a	-
7a	-	128,96	-	-
8	6,71 (1H, s)	108,42	11a, 9	6,69 (1H, s)
9	-	145,63	11, 7a	-
10	-	147,28	11, 11a	-
11	7,95 (1H, s)	109,20	10, 11a	7,92 (1H, s)
11a	-	127,46	-	-
1 - OCH ₃	3,68 (3H, s)	60,37	1	3,67 (3H, s)
2 - OCH ₃	3,89 (3H, s)	56,01	2	3,86 (3H, s)
(9-10) OCH ₂ O	5,99 (1H, d, 1,2) 5,98 (1H, d, 1,2)	101,28	9, 10	5,92 (2H, s)

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como referência interna. ^b Sinais determinados pelo espectro de gHSQC e gHMBC. ^c Átomos de carbono que mostraram correlação com os respectivos hidrogênio. ^d Dados da literatura de acordo com JOHNS et al., 1967 (60 MHz)

5.2.4. Determinação estrutural da substância XeF4



XeF4

A substância XeF4 (4,0 mg) foi caracterizada como um sólido cristalino amarelo. O espectro de massa indicou a presença de um pico base referente à molécula protonada em m/z 276 (ESPECTRO 20– ANEXO I), o qual aliado ao espectro de RMN foi compatível com a fórmula molecular $C_{17}H_9NO_3$.

Pela análise do espectro de RMN 1H a 600 MHz da substância 4 (ESPECTRO 21– ANEXO I), em CD_3OD , foi constatada a presença de uma estrutura aporfinoide. O sinal de hidrogênio aromático em δ 7,43 (1H, *s*, H-3) juntamente com o sinal em δ 6,47 (2H, *s*) típico de um grupo metilendioxi, indicou a presença do anel benzênico pentassubstituído, compatível com o anel A de alcaloides aporfínicos portadores deste grupo, nas posições C-1 e C-2. A observação de quatro hidrogênio em δ 8,80 (1H, *d*, $J=7,8$ Hz, H-11), δ 7,86 (1H, *ddd*, $J=7,8, 7,2$ e $1,2$ Hz, H-10), δ 7,64 (1H, *ddd*, $J=7,8, 7,2$ e $0,6$ Hz, H-9) e δ 8,48 (1H, *ddd*, $J=7,8$ e $1,2$ Hz, H-8) indicou a presença do anel D, não substituído, do esqueleto aporfínico. Os sinais em δ 8,03 e 8,76 (1H, *d* e $J=5,2$ Hz) foram atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-4 e H-5 do anel B. Não foi observado qualquer sinal referente a hidrogênios alifáticos do C-7, típicos de alcaloides aporfínicos *sensu stricto*, sendo deduzida a presença da carbonila característica de alcaloides oxoaporfínicos, com base na composição da fórmula molecular.

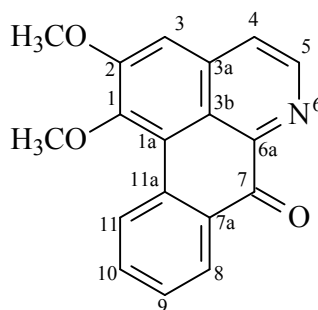
A partir dos dados obtidos dos espectros de RMN ^1H e MS comparados com os da literatura (Ortiz et al., 2007; Costa et al., 2009) (TABELA 8) foi possível identificar a substância XeF4 como sendo o alcaloide oxoaporfínico liriodenina. Esta substância é amplamente encontrada na família Annonaceae.

Tabela 8. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF4 com a literatura.

Posição	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^b
1	-	-
1a	-	-
2	-	-
3	7,43 (1H, <i>s</i>)	7,44 (1H, <i>s</i>)
3a	-	-
3b	-	-
4	8,03 (1H, <i>d</i> , 5,2)	8,04 (1H, <i>d</i> , 5,2)
5	8,76 (1H, <i>d</i> , 5,2)	8,75 (1H, <i>d</i> , 5,2)
6a	-	-
7	-	-
7a	-	-
8	8,48 (1H, <i>dd</i> , 7,8 e 1,2)	8,48 (1H, <i>ddd</i> , 7,8 e 1,5)
9	7,64 (1H, <i>ddd</i> , 7,8, 7,2 e 0,6)	7,64 (1H, <i>ddd</i> , 7,8, 7,4 e 1,1)
10	7,86 (1H, <i>ddd</i> , 7,8, 7,2 e 1,2)	7,88 (1H, <i>ddd</i> , 8,3, 7,4 e 1,5)
11	8,80 (1H, <i>d</i> , 7,8)	8,78 (1H, <i>ddd</i> , 8,3 e 1,1)
11a	-	-
OCH ₂ O	6,47 (2H, <i>s</i>)	6,49 (2H, <i>s</i>)

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CD₃OD, utilizando o TMS como referência interna. ^b Dados da literatura de acordo com Rabelo, 2014.

5.2.5. Determinação estrutural da substância XeF5



XeF5

A substância 5 (5,5 mg), codificada como XeF5, foi isolado como um sólido amarelo cristalizado em forma de agulha. A análise por espectrometria de massas (ESPECTRO 24– ANEXO I) evidenciou uma molécula protonada em m/z 292, correspondendo à fórmula molecular $C_{18}H_{13}NO_3$.

Pela análise do espectro de RMN 1H (600 MHz, $CDCl_3$) (ESPECTRO 25– ANEXO I) verificou-se a presença dos sinais em δ 9,19 (1H, *d*, $J= 8,5$), δ 7,79 (1H, *ddd*, 8,5, 7,0 e 1,2), δ 7,60 (1H, *t*, 7,0) e δ 8,60 (1H, *dd*, $J= 7,7$ e 1,2), atribuídos a H-11, H-10, H-9 e H-8, respectivamente, típicos de anel benzênico do anel D, análogo ao da estrutura da liriodenina, descrita anteriormente. Pelo mapa de correlação gHSQC (ESPECTRO 28– ANEXO I) observou-se que estes sinais estavam correlacionados aos respectivos sinais dos carbonos em δ 127,38 (C-11), δ 134,50 (C-10), δ 129,07 (C-9) e δ 127,93 (C-8). A similaridade com a liriodenina também foi observada pela presença de um sinal em δ 7,43 (1H, *s*) característico de H-3 do anel A pentassubstituído. Assim, a ausência do sinal de hidrogênio característico do grupo metilenodioxí, aliada à presença de dois simpletos em δ 4,03 e δ 4,11 com integração para três hidrogênio, correlacionados aos sinais de carbonos em δ 60,46 e δ 56,17 pelo mapa de contorno gHSQC, indicou os grupos metoxílicos, como substituintes em C-1 e C-2. Os sinais em δ 8,94 (1H, *d*, $J=5,3$) e δ 7,83 (1H, *d*, $J= 5,3$) mostraram características de um sistema piridínico compatível com o anel B, referentes ao hidrogênio H-5 e H-4, respectivamente. Pelo mapa de correlação gHSQC estes sinais estavam correlacionados aos respectivos sinais dos carbonos em δ 144,32 (C-5) e δ 122,81 (C-4).

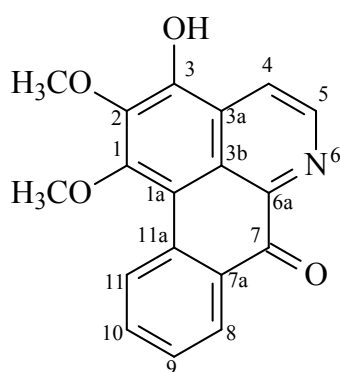
Estes dados comparados com os registros na literatura permitiram identificar a substância XeF5 como o alcaloide oxoaporfínico lisicamina, já isolado de outras espécies do gênero *Xylophia* (Zawawi et al., 2012) (TABELA 9).

Tabela 9. Comparação dos dados de RMN ^1H e gHSQC da substância XeF5 com a literatura.

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^b	^1H δ (mult., J em Hz) ^c	^{13}C (δ) ^c
1	-	-	-	-
1a	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	7,43 (1H, <i>s</i>)	106,02	7,23 (1H, <i>s</i>)	106,48
3a	-	-	-	-
3b	-	-	-	-
4	7,83 (1H, <i>d</i> , 5,3)	122,81	7,81 (1H, <i>d</i> , 5,2)	123,62
5	8,94 (1H, <i>d</i> , 5,3)	144,32	8,91 (1H, <i>d</i> , 5,2)	145,01
6	-	-	-	-
6a	-	-	-	-
7	-	-	-	-
7a	-	-	-	-
8	8,60 (1H, <i>dd</i> , 7,7 e 1,2)	127,93	8,58 (1H, <i>ddd</i> , 7,9, 1,6 e 0,5)	128,91
9	7,60 (1H, <i>t</i> , 7,0)	129,07	7,58 (1H, <i>ddd</i> , 7,9, 7,2 e 1,1)	128,82
10	7,79 (1H, <i>ddd</i> , 8,5, 7,0 e 1,2)	134,50	7,77 (1H, <i>ddd</i> , 8,4, 7,2 e 1,6)	134,35
11	9,19 (1H, <i>d</i> , 8,5)	127,38	9,18 (1H, <i>ddd</i> , 8,4, 1,1 e 0,5)	128,46
11a	-	-	-	-
1 -OMe	4,03 (3H, <i>s</i>)	60,46	4,02 (3H, <i>s</i>)	60,67
2 -OMe	4,11 (3H, <i>s</i>)	56,17	4,10 (3H, <i>s</i>)	56,23

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como referência interna. ^b Sinais determinados pelo espectro de HSQC. ^c Dados da literatura de acordo com Costa et al., 2009 b (400MHz, CDCl_3).

5.2.6. Determinação estrutural da substância XeF8

**XeF8**

A substância XeF8 (2,0 mg) foi isolada como um sólido azul. O espectro de massas mostrou um íon referente à molécula protonada em m/z 308 (ESPECTRO 32– ANEXO I), correspondendo a fórmula $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{NO}_4$.

O espectro de RMN ^1H a 400 MHz em CD_3OD (ESPECTRO 33– ANEXO I), da substância XeF8 apresentou similaridade com a estrutura da substância XeF5, exceto pela ausência de um simpleto correspondente a um hidrogênio, atribuído ao H-3. Verificou-se a presença de sinais para quatro hidrogênio aromáticos em δ 9,10 (1H, *d*, $J= 8,6$ Hz), δ 7,76 (1H, *ddd*, $J= 8,6, 7,0$ e $1,5$ Hz), δ 7,35 (1H, *ddd*, $J= 8,0, 7,0$ e $1,0$ Hz) e δ 8,43 (1H, *ddd*, $J= 8,0, 7,0$ e $1,5$ Hz) característicos do anel D não substituído do núcleo aporfinico, atribuídos a H-11, H-10, H-9 e H-8, respectivamente. Os dois sinais aromáticos restantes observados em δ 8,73 e δ 8,61 como dupletos e com constante de acoplamento do tipo piridínico ($J= 5,0$ Hz) compatíveis com o hidrogênio do anel B, foram atribuídos a H-5 e H-4. Observaram-se ainda dois sinais em δ 4,08 e δ 3,96, ambos singletos com integração para três hidrogênios, atribuídos aos grupos metoxílicos, que foram posicionadas em C-1 e C-2. Com base na composição da fórmula molecular e considerando a ausência de sinal para H-3, foi admitida a presença de uma hidroxila, que foi localizada em C-3.

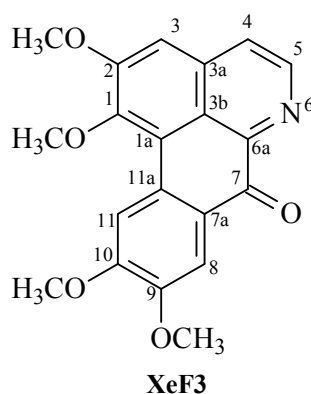
Os dados obtidos dos experimentos de RMN de ^1H e EM comparados com dados da literatura (Costa et al, 2011) (TABELA 10) confirmaram a estrutura do alcaloide oxoaporfinico isomoschatolina. Este alcaloide foi isolado, inicialmente, da espécie *Guatteria melosma* (Atti et al., 1982) e mais recentemente de *Ephedranthus amazonicus* (Alencar, 2010) e *Guatteria blepharophylla* (Costa et al., 2011).

Tabela 10. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF8 com a literatura.

Posição	^1H δ (mult., <i>J</i> em Hz) ^a	^1H δ (mult., <i>J</i> em Hz) ^b
1	-	-
1a	-	-
2	-	-
3	-	-
3a	-	-
3b	-	-
4	8,59 (1H, <i>d</i> , 5,0)	8,60(1H, <i>d</i> , 5,1)
5	8,73 (1H, <i>d</i> , 5,0)	9,12 (1H, <i>d</i> , 5,1)
6	-	-
6a	-	-
7	-	-
7a	-	-
8	8,43 (1H, <i>dd</i> , 8,0 e 1,5)	8,41 (1H, <i>ddd</i> , 8,0; 1,6 e 0,5)
9	7,35 (1H, <i>ddd</i> , 8,0, 7,0 e 1,0)	7,33 (1H, <i>ddd</i> , 8,0; 7,0 e 1,0)
10	7,68 (1H, <i>ddd</i> , 8,6, 7,0 e 1,5)	7,72 (1H, <i>ddd</i> , 8,6; 7,0 e 1,6)
11	9,10 (1H, <i>d</i> , 8,6)	9,08 (1H, <i>ddd</i> , 8,6; 1,0 e 0,5)
11a	-	-
1-OCH ₃	4,08 (3H, <i>s</i>)	4,08 (3H, <i>s</i>)
2-OCH ₃	3,96 (3H, <i>s</i>)	3,97 (3H, <i>s</i>)

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H em CD_3OD , utilizando o TMS como referência interna. ^bDados da literatura de acordo com Costa et al., 2011 (400MHz, CD_3OD).

5.2.7. Determinação estrutural da substância XeF3



A substância XeF3 (5,0 mg) foi isolada como um sólido amorfo, indicando no espectro de massa um íon base referente à molécula protonada em m/z 352 (ESPECTRO 36– ANEXO I), compatível com a fórmula molecular $C_{20}H_{17}NO_5$.

Pela análise do espectro de RMN de 1H (600 MHz, $CDCl_3$) (ESPECTRO 37– ANEXO I), verificou-se a presença de cinco sinais relativos aos hidrogênio aromáticos entre δ 8,93 e 7,20 e quatro sinais em torno de δ 4,0, característicos de grupos metoxilas. Foi observado um sinal para um hidrogênio em δ 7,20 (1H, s) correlacionado ao carbono δ 105,70 compatível com a presença do anel A pentassubstituído, semelhante ao da lisicamina. Dois sinais em δ 8,81 (1H, s) e δ 8,03 (1H, s,) caracterizaram a presença de um anel benzênico 1,2,4,5- tetrasubstituído do núcleo aporfínico, sendo atribuídos aos hidrogênio H-11 e H-8. Pelo mapa de correlação gHSQC (ESPECTRO 39– ANEXO I) observou-se que estes sinais estavam correlacionados aos respectivos sinais dos carbonos em δ 110,20 e δ 110,09. Os sinais em δ 7,79 (1H, *d*, H-4) e δ 8,93 (1H, *d*, H-5) com constante de acoplamento (*J*) igual a 4,0 Hz foram atribuídos aos hidrogênios H-4 e H-5 do anel piridínico correlacionados aos carbonos δ 123,62 e 144,18. A presença dos sinais em δ 4,04, 4,11, 4,07 e 4,08, cada um com integração para 3 hidrogênios, correlacionados aos carbono δ 60,40, 55,56, 56,01 e 56,01 no HSQC, confirmaram a presença das metoxilas, cujos hidrogênios se correlacionam no HMBC com os carbono em δ 151,24, 156,69, 149,59 e 153,71, os quais foram atribuídos, respectivamente ao C-1, C-2, C-9 e C-10. As correlações do carbono hydrogenado e não hydrogenado foram determinadas por intermédio dos acoplamentos $^nJ_{C-H}$ apresentados no mapa de correlação heteronuclear de 1H , ^{13}C - HMBC (ESPECTRO 43– ANEXO I). No mapa de contorno HMBC foi observado que o sinal em δ 7,79 (1H, *d*), pertencente ao H-4 do anel piridínico, esta correlacionado com os sinal em δ 105,70 relativo ao carbono C-3 e o sinal em δ 121,15, atribuído ao C-3b. Do mesmo modo, foram observadas as correlações dos sinais em δ 8,93 (1H, *d*), relativo ao H-5 do anel

piridínico com os sinais em 135,62 e 145,63 referentes, respectivamente, aos carbonos C-3a e C-6a. Pelo mapa de contorno HBMC pôde-se verificar a presença do grupo carbonílico na molécula devido à correlação do sinal em δ 8,03 (1H, s) atribuído ao H-8 com o sinal em δ 181,29 (C-7).

Comparando os dados obtidos de ^1H , ^{13}C RMN de 1D e 2D com os da literatura verificou-se que a substância XeF3 trata-se do alcaloide oxoaporfínico oxoglaucina, substância isolada das espécies *A. purpurea* (Chang et al., 1998a), *A. glabra* (Tian et al., 2001), *A. cherimolia* (Chen et al., 1997) e *X. aethiopica* (Harriga, et al., 1994) (TABELA 11).

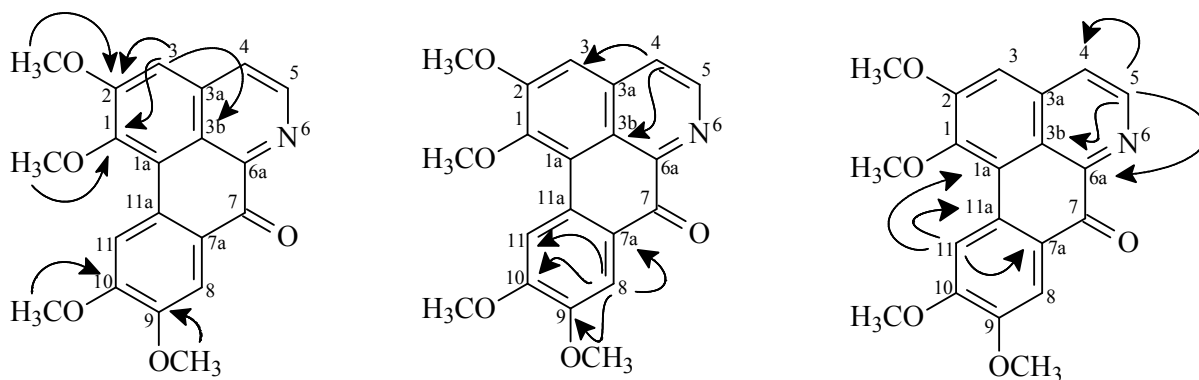


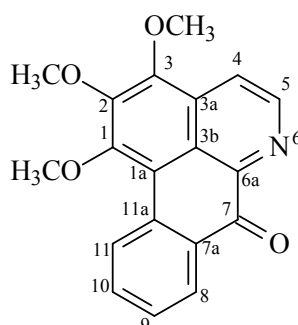
Figura 22. Correlações observadas no mapa de contorno gHMBC da substância XeF3.

Tabela 11. Comparação dos dados de ^1H , ^{13}C RMN de 1D e 2D da substância XeF3 com a literatura.

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^b	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^1H δ (mult., J em Hz) ^d	^{13}C (δ) ^e
1	-	151,24	-	-	155,5
1a	-	120,1	-	-	119,8
2	-	156,69	2	-	151,0
3	7,20 (1H, s)	105,7	1, 2, 3b, 4	7,21 (1H, s)	106,5
3a	-	135,62	-	-	135,3
3b	-	121,15	-	-	121,7
4	7,79 (1H, d, 4,0)	123,62	3, 3b	7,79 (1H, d, 5,3)	123,2
5	8,93 (1H, d, 4,0)	144,18	3a, 4, 6a	8,92 (1H, d, 5,3)	145,0
6	-	-	-	-	-
6a	-	145,63	-	-	156,7
7	-	181,29	-	-	181,2
7a	-	126,81	-	-	126,9
8	8,03 (1H, s)	110,09	1a, 7, 7a, 9, 10, 11, 11a	8,03 (1H, s)	109,9
9	-	149,59	9	-	149,5
10	-	153,71	10	-	153,8
11	8,81 (1H, s)	110,20	1a, 7a, 11a	8,83 (1H, s)	110,3
11a	-	129,23	-	-	129,1
1 – OCH ₃	4,04 (3H, s)	60,40	1	4,03 (3H, s)	60,5
2 – OCH ₃	4,11 (3H, s)	55,56	2	4,11 (3H, s)	56,2
9 – OCH ₃	4,07 (3H, s)	56,01	9		56,2
10 – OCH ₃	4,08 (3H, s)	56,01	10	4,08 (6H, s)	56,2

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como referência interna. ^b Sinais determinados pelo espectro de gHSQC e g HMBC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Dados da literatura de RMN ^1H de acordo com Harriga et al., 1994. ^e Dados da literatura de RMN ^{13}C de acordo com Guinaudeau et al., 1983.

5.2.8. Determinação estrutural da substância XeF10

**XeF10**

A substância XeF10 (2,0 mg) foi isolada na forma de um sólido alaranjado, apresentando teste positivo para alcaloide frente ao reagente de Dragendorff em placa CCD.

O espectro de massa indicou a presença um íon correspondendo à molécula protonada em m/z 322 (ESPECTRO 47– ANEXO I), o qual aliado ao espectro de RMN, foi compatível com a fórmula molecular $C_{19}H_{15}NO_4$.

Esta substância apresentou similaridade com a estrutura lisicamina, exceto pela presença adicional de uma metoxila, em substituição a um hidrogênio atribuído ao H-3. No espectro de RMN 1H a 400 MHz em $CDCl_3$ (ESPECTRO 48– ANEXO I), mostrou a presença de quatro sinais relativos aos hidrogênio aromáticos em δ 9,11 (1H, *dd*, $J= 8,6$ e $0,5$ Hz, H-11), δ 7,75 (1H, *ddd*, $J= 8,6$, $6,9$ e $1,5$ Hz, H-10), δ 7,54 (1H, *ddd*, $J= 7,9$, $6,9$ e $0,9$ Hz, H-9) e δ 8,56 (1H, *dd*, $J= 7,9$ e $1,3$ Hz, H-8) o que caracteriza a presença do anel D não substituído do núcleo aporfínico. Os sinais em δ 8,22 (1H, *d*, H-4) e δ 8,96 (1H, *d*, H-5) com constante de acoplamento, J , igual a $5,3$ Hz são atribuídos aos hidrogênio α e β do anel piridínico presente no anel B. Os sinais dos simpletos em δ 4,08, 4,10 e 4,19 com integração para três hidrogênio caracterizaram a presença das três metoxilas, que foram posicionadas nos carbono C-1, C-2 e C-3 do anel A.

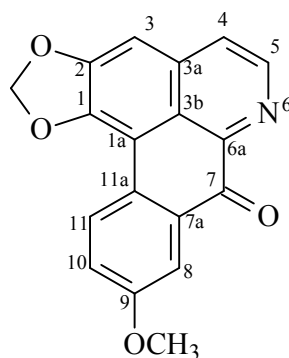
Os dados obtidos de 1H , ^{13}C RMN de 1D e 2D obtidos foram compatíveis com os descritos na literatura para o alcaloide oxoaporfínico O-metilmoschatolina. Essa substância é bastante difundida em Annonaceae, podendo ser encontrada em *A. ambotay* (BRAVO et al., 2002), *A. foetida* (COSTA, 2004), *Oxandra longipetala* (ORTIZ et al., 2007), *Rollinia pittieri* (TORRES et al., 2007) e *G. blepharophylla* (COSTA, 2009).

Tabela 12. Comparação dos dados de ^1H RMN da substância XeF10 com a literatura.

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^1H δ (mult., J em Hz) ^b
1	-	-
1a	-	-
2	-	-
3	-	-
3a	-	-
3b	-	-
4	8,22 (1H, <i>d</i> , 5,3)	8,24 (1H, <i>d</i> , 5,3)
5	8,96 (1H, <i>d</i> , 5,3)	9,00 (1H, <i>d</i> , 5,3)
6	-	-
6a	-	-
7	-	-
7a	-	-
8	8,56 (1H, <i>dd</i> , 7,9 e 1,3)	8,57 (1H, <i>dd</i> , 7,9 e 1,4)
9	7,54 (1H, <i>ddd</i> , 7,9, 6,9 e 0,9)	7,54 (1H, <i>ddd</i> , 7,9, 7,2 e 1,1)
10	7,75 (1H, <i>ddd</i> , 8,6, 6,9 e 1,5)	7,75 (1H, <i>ddd</i> , 8,4, 7,2 e 1,5)
11	9,11 (1H, <i>dd</i> , 8,6 e 0,5)	9,11 (1H, <i>ddd</i> , 8,4, 1,1 e 0,6)
11a	-	-
1-OCH ₃	4,08 (3H, <i>s</i>)	4,08 (3H, <i>s</i>)
2-OCH ₃	4,10 (3H, <i>s</i>)	4,11 (3H, <i>s</i>)
3-OCH ₃	4,19 (3H, <i>s</i>)	4,20 (3H, <i>s</i>)

^a Experimento realizado a 400 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como referência interna. ^b Dados da literatura de RMN ^1H de acordo com Costa, 2009.

5.2.9. Determinação estrutural da substância XeF7

**XeF7**

A substância XeF7 (2,0 mg) foi isolada na forma de um sólido alaranjado, apresentando teste positivo para alcaloide frente ao reagente de Dragendorff em placa CCD. Em análise por ESI-MS em modo positivo foi observado um íon correspondendo à molécula protonada em m/z 306 (ESPECTRO 50– ANEXO I), o qual aliado ao espectro de RMN de ^1H , foi compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{NO}_4$.

Pela análise do espectro de RMN ^1H a 600 MHz da substância 9 em CDCl_3 (ESPECTRO 51– ANEXO I), foi evidenciada a presença de oito sinais entre δ 8,84 e 6,37 com integração para oito hidrogênio. A presença de um hidrogênio aromático em δ 7,14 (1H, *s*) e de sinal δ 6,37 com integração para dois hidrogênio compatível com um grupo metilenodioxí, evidenciaram a existência de um anel benzênico pentassubstituído, semelhante ao apresentado pelo anel A da liriodenina. Os sinais em δ 7,83 e δ 8,84, ambos com acoplamento em $J= 5,0$ Hz, com integração para dois hidrogênio, indicaram a presença de hidrogênio do anel piridínico (anel B) em H-4 e H-5, respectivamente. Os sinais correspondentes a três hidrogênio aromáticos em δ H 8,63 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-11), δ H 7,19 (1H, *s*, H-10) e δ H 8,04 (1H, *d*, $J = 2,8$ Hz, H-8) indicaram a presença de um anel D 1,2,4- trissubstituído do sistema aporfinico. Estes dados aliados a presença de um sinal em δ H 4,00, com integração para três hidrogênio, referente ao grupo metoxila sugeriram a presença de um derivado da liriodenina substituído com um grupo metoxila em C9.

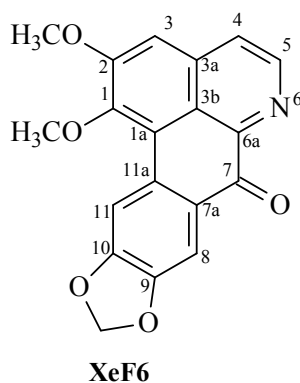
A partir dos dados obtidos dos espectros de RMN ^1H e EM comparados com os descritos na literatura (Nascimento, 2008) (TABELA 13) foi possível identificar a substância XeF7 como sendo o alcaloide oxoaporfinico lanuginosina (FIGURA 92). Esta substância tem sido evidenciada no gênero *Guatterriopsis* (Costa, 2009).

Tabela 13. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF7 com a literatura.

Posição	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., J em Hz) ^b
1	-	-
1a	-	-
2	-	-
3	7,14 (1H, s)	7,14 (1H, s)
3a	-	-
3b	-	-
4	7,83 (1H, d, 5,0)	7,80 (1H, d, 5,0)
5	8,84 (1H, d, 5,0)	8,89 (1H, d, 5,0)
6a	-	-
7	-	-
7a	-	-
8	8,03 (1H, d, 2,8)	8,03 (1H, d, 3,0)
9	-	-
10	7,19 (1H, s)	7,17 (1H, dd, 9,0, 3,0)
11	8,63 (1H, d, 8,4)	8,62 (1H, d, 8,4)
11a	-	-
1-2- OCH ₂ O	6,37 (2H, s)	6,38 (2H, s)
9- OCH ₃	4,00 (3H, s)	3,99 (3H, s)

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como referência interna. ^b Dados da literatura de acordo com Nascimento, 2008.

5.2.10. Determinação estrutural da substância XeF6



A substância XeF6 (2,3 mg) foi isolada como um sólido amorfo. No espectro de massa foi observado um íon correspondendo à molécula protonada em m/z 336 (ESPECTRO 52–ANEXO I), o qual aliado ao espectro de RMN de ^1H , foi compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}_5$.

O espectro de RMN ^1H a 600 MHz desse composto, em CD_3OD (ESPECTRO 53 – ANEXO I) apresentou grande semelhança com a nornantenina, exceto pela ausência do sinal

referente aos hidrogênios do C-7 aporfínico. Foram observados sinais referentes a apenas 3 hidrogênios aromáticos: em δ 7,22 (1H, *s*) referente ao H-3 do anel benzênico A pentassubstituído e em δ 8,67 (1H, *s*) e δ 7,99 (1H, *s*), característicos do anel D dos sistemas aporfínicos substituídos com uma ponte metilenodioxí em C-10 e C-9, compatíveis com os sinais de H-11 e H-8. A presença do grupo metilenodioxí foi confirmada pelo sinal em δ 6,15 (2H, *s*). Os sinais em δ 4,03 (3H, *s*) e δ 4,12 (3H, *s*) evidenciaram a presença de grupos metoxilas que foram localizadas em C-1 e C-2. Dois sinais em δ 8,99 (1H, *d*, 4,8, H-4) e δ 7,87 (1H, *d*, 4,8, H-5) confirmaram o anel B do núcleo isoquinolínico.

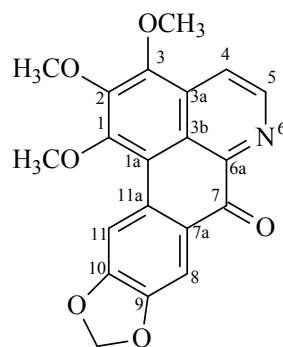
Os dados de RMN de ^1H e EM descritos acima aliados aos dados registrados em literatura (Tales et al., 2015) (TABELA 14) levaram a identificação de XeF6 como o alcaloide oxonantenina, isolado anteriormente de *Annona cherimola* (Chen et al., 2001) e *Annona reticulata* (Chang et al 1995).

Tabela 14. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF6 com a literatura.

Posição	^1H (δ) (mult., <i>J</i> em Hz) ^a	^1H (δ) (mult., <i>J</i> em Hz) ^a
1	-	-
1a	-	-
2	-	-
3	7,22 (1H, <i>s</i>)	7,23 (1H, <i>s</i>)
3a	-	-
3b	-	-
4	7,87 (1H, <i>d</i> , 4,8)	7,82 (1H, <i>d</i> , 5,2)
5	8,99 (1H, <i>d</i> , 4,8)	8,81 (1H, <i>d</i> , 5,2)
6a	-	-
7	-	-
7a	-	-
8	7,99 (1H, <i>s</i>)	7,94 (1H, <i>s</i>)
9	-	-
10	-	-
11	8,67 (1H, <i>s</i>)	8,67 (1H, <i>s</i>)
11a	-	-
1 - OCH ₃	4,03 (3H, <i>s</i>)	4,02 (3H, <i>s</i>)
2- OCH ₃	4,12 (3H, <i>s</i>)	4,10 (3H, <i>s</i>)
9,10- OCH ₂ O	6,15 (2H, <i>s</i>)	6,15 (2H, <i>s</i>)

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CD₃OD, utilizando o TMS como referência interna. ^b Dados da literatura de acordo com Tales et al., 2015.

5.2.11. Determinação estrutural da substância 11



XeF11

A substância XeF11 (2,0 mg) apresentou como sólido cristalino, com teste positivo para alcaloides frente ao reagente de Dragendorff em CCD. O espectro de massas mostrou um sinal de um íon correspondendo à molécula protonada em m/z 366 (ESPECTRO 57 – ANEXO I), correspondendo à fórmula $C_{20}H_{15}NO_6$, deduzida com base no espectro de RMN de 1H .

O espectro de RMN 1H a 600 MHz desse composto, em $CDCl_3$ (ESPECTRO 58 – ANEXO I), revelou grande similaridade com a estrutura da oxonantenina (substância XeF6), observando-se a ausência de um sinal para um hidrogênio, em substituição ao C-3. Foram ainda observados três simpletos com integração para três hidrogênio em δ 4,06, δ 4,17 e δ 4,09, atribuídos à presença dos grupos metoxílicos substituintes em C-1, C-2 e C-3, evidenciando a presença adicional de uma metoxila em substituição ao H-3. Foram observados dois hidrogênio aromáticos, em δ 7,99 (1H, s) e δ 8,61 (1H, s), atribuídos, respectivamente, ao H-8 e H-11, confirmando a presença da ponte metilenodioxí nos carbonos C-10 e C-9 do anel D. O grupo metilenodioxí foi evidenciado pelo simpleto em δ 6,13 (2H, s). Os dois sinais aromáticos restantes observados em δ 8,18 e δ 8,96, compatíveis com os hidrogênio do tipo piridínico do anel B, foram atribuídos a H-5 e H-4, respectivamente.

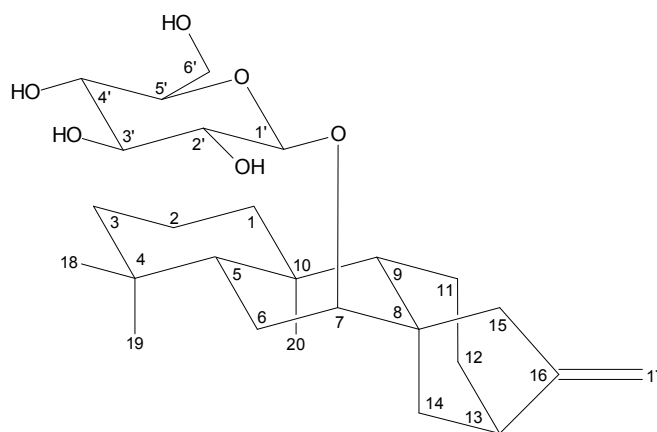
Os dados espectrais de RMN de ^1H e EM, foram compatíveis com os descritos na literatura para o alcaloide oxofoebina (Guinaudeau et al., 1988) (TABELA 15). O isolamento desse alcaloide já foi relatado na espécie *Xylopiya aethiopica* (Harrigan et al., 1994)

Tabela 15. Comparação dos dados de RMN ^1H da substância XeF11 com a literatura.

Posição	$^1\text{H} \delta$ (mult., J em Hz) ^a	$^1\text{H} \delta$ (mult., J em Hz) ^b
1	-	-
1a	-	-
2	-	-
3	-	-
3a	-	-
3b	-	-
4	8,19 (1H, m)	8,18 (1H, d, 5,3)
5	8,96 (1H, m)	8,95 (1H, d, 5,3)
6	-	-
6a	-	-
7	-	-
7a	-	-
8	7,99 (1H, s)	7,97 (1H, s)
9	-	-
10	-	-
11	8,61 (1H, s)	8,59 (1H, s)
11a	-	-
1 – OCH ₃	4,06 (3H, s)	4,06 (3H, s)
2 – OCH ₃	4,17 (3H, s)	4,18 (3H, s)
3 – OCH ₃	4,09 (3H, s)	4,10 (3H, s)
9,10- CH ₂ O	6,13 (2H, s)	6,13 (2H, s)

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CDCl_3 , utilizando o TMS como referência interna. ^b Dados da literatura de acordo com Guinaudeau et

5.2.12. Determinação estrutural da substância 12



XeHF 12

A substância XeHF 12 (148,5 mg) foi obtida como cristal branco com fórmula molecular $C_{26}H_{43}O_6$, com determinação pelo HR-APCIMS (m/z 451,3049 $[M+H]^+$) (ESPECTRO 60 – ANEXO I). A natureza terpênica dessa substância foi deduzida pela análise em CCD (*spot* azul) e o espectro de NMR de ^{13}C , mostrou evidência de 26 átomos de carbono, incluindo seis simpletos assinalados ao grupo glicose (δ 106,6, 72,1, 78,4, 77,9, 76,1 e 63,2) (ESPECTRO 71 – ANEXO I).

Com base nos dados de RMN e no padrão de isolamento de diterpenos do gênero *Xylopi*a (Moreira et al., 2013), a substância XeHF12 foi prevista como sendo um diterpeno *ent*-caureno, sendo reforçado pelo valor negativo $[\alpha]_D^{25} = -156,1^\circ$ (c 0,001 em CD_3OD) observado (Yamasaki et al., 1976). Os dados de RMN sugeriram que XeHF12 é um derivado glicosilado de *ent*-caur-16-en-7 β -ol. O espectro de RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) (ESPECTRO 61– ANEXO I) revelou sinais típicos de grupos metilas em δ 0.83 (H-19), 0.87 (H-18), e 1.07 (H-20), dois sinais em δ 4,77 (1H, s, |H-17b) e 4,74 (1H, s, H-17a) indicando um grupo CH_2 terminal, característico de diterpenos com dupla exocíclica. Os dados do mapa de contorno gHMBC (ESPECTRO 68 – ANEXO I) mostra correlações dos sinais de hidrogênio na δ 4,74 (H-17a) e 4,77 (H-17b), com os carbono δ 34,8 (C-12), δ 45,3 (C-13), δ 46,7 (C-15), e δ 157,3 (C16), e a correlação dos sinais de hidrogênio na δ 2,37 (H-15) com

sinais de carbono no δ 40,0 (C-14), δ 45,3 (C-13), δ 89,7 (C-7), δ 103,6 (C-17), e δ 157,3 (C-16), confirmando o esqueleto *ent*-caureno e sugerindo a presença de glucose na posição C-7. A posição da glucose foi ratificada pela correlação 1H-13C de longo alcance entre H-1' (δ 4,28) e C-7 (δ 89,7), e as correlações entre H-7 (δ 3,47) e C-5 (δ 47,8), C-9 (δ 52,5), e C-1' (δ 106,6).

A estereoquímica relativa da porção diterpenica foi baseada em experiências NOE NMR 1D, obtido em CDCl₃ (ESPECTRO 72– ANEXO I). A irradiação seletiva da frequência de ressonância do hidrogênio metilênico em δ 1,02 (H-20ax) mostra dos sinais a δ 1,90 (H-14ax), 1,71 (H-12ax) e 0,81 (H-19ax), que é compatível com esqueleto *ent*-kaurane. A posição 7 β para a unidade de glucose foi estabelecida pela irradiação seletiva da frequência de ressonância do hidrogênio a δ 3,44 (H-7), que correlacionou com o sinal em δ 1,52 (H-6ax), δ 1,99 (H-6 eq), δ 1,16 (H-14eq), e δ 2,26 (H-15), na porção aglicona.

Na tabela 16 são apresentados os dados de RMN de ¹H e ¹³C atribuídos de acordo com as análises dos mapas de correlações HSQC e HMBC. Desta forma a substância XeHF12 foi identificada como 7 β -O- β -D-glucopiranosídeo *ent*-caur-16-eno. Este é primeiro registro dessa substância na literatura.

Tabela 16. Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C da substância XeHF12 com a literatura.

Posição	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^b	gHMBC (^1H - ^{13}C) ^c	^{13}C (δ) ^d
1	0,80 (1H, <i>m</i>) 1,81(1H, <i>m</i>)	41,7	C-2, C-3,C-10	41,3
2	1,40 (1H, <i>m</i>) 1,19 (1H, <i>m</i>)	20,0	C-3, C-10	18,7
3	1,68 (1H, <i>m</i>) 1,38 (1H, <i>m</i>)	43,5	C-1, C-5	42,0
4	-	34,2		33,3
5	1,60 (1H, <i>m</i>)	47,8		56,1
6	1,52 (1H, <i>dt</i> , 13,0 e 1,8) 2,10 (1H, <i>dd</i> , 12,9 e 3,0)	26,7		20,3
7	3,47 (1H, <i>m</i>)	89,7	C-5, C-6, C-9, C-2', C-1'	40,4
8	-	50,1		44,2
9	1,47 (1H, <i>m</i>)	52,5		56,1
10	-	40,4		39,3
11	1,58 (2H, <i>m</i>)	18,9		18,1
12	1,45 (1H, <i>m</i>) 1,74 (1H, <i>d</i> , 11,9)	34,8		33,3
13	2,62 (1H, <i>m</i>)	45,3	C-8,C-11, C-12	44,2
14	1,16 (1H, <i>m</i>) 1,93(1H, <i>d</i> , 11,1)	40,0	C-12, C13, C-15, C-16	39,9
15	2,37 (2H, <i>m</i>)	46,7		49,2
16	-	157,3		156,0
17	4,77 (1H, <i>s</i>) 4,74 (1H, <i>s</i>)	106,6	C-12, C13, C-15, C-16	102,8
18	0,87 (3H, <i>s</i>)	34,2	C-19, C-4, C-3, C-5	33,7
19	0,83 (3H, <i>s</i>)	22,5	C-4, C-3, C-5	21,7
20	1,07 (3H, <i>s</i>)	18,4	C-1, C-5, C-9,C-10	17,6
1'	4,28 (1H, <i>dd</i> , 9,7 e 7,7)	106,6		-
2'	3,87 (1H, <i>m</i>)	72,1		-
3'	3,46 (1H, <i>m</i>)	78,4		-
4'	3,44 (1H, <i>m</i>)	77,9		-
5'	3,53 (1H, <i>dd</i> , 9,7 e 7,7)	76,1		-
6'	3,65 (1H, <i>m</i>) 3,72 (1H, <i>m</i>)	63,2		-

^a Experimento realizado a 600 MHz para ^1H em CD_3OD , utilizando o TMS como referência interna. ^b Sinais determinados pelo espectro de gHSQC e g HMBC. ^c Átomos de carbonos que mostraram correlação com os respectivos hidrogênios. ^d Dados da literatura de RMN ^{13}C de acordo com Pacheco et al., 2009.

5.3. Composição química dos óleos essenciais das folhas de *X. excellens*

O rendimento de óleo volátil das folhas de *X. excellens* foi de 0,87%. Os constituintes químicos voláteis foram identificados através dos espectros de massas, índices de retenção (IR) comparados com espectros de massa de substâncias armazenadas em banco de dados da literatura (Adams, 2007). As porcentagens dos constituintes voláteis e seus respectivos (IR) estão listados na TABELA 17.

Através da análise por CG-EM (FIGURA 23) foi possível identificar 29 compostos, sendo os sesquiterpenos os constituintes majoritários, destacando-se a presença do componente majoritário espatulenol (24,10%), o qual tem revelado possuir múltiplas atividade biológica, tais como inseticida, citotóxica e antimicrobiana (Cantrell, et al 2005; Matos, 2006; Bolzan, 2007). A presença desse sesquiterpeno oxigenado tem se mostrado como possível marcador quimiotaxônomico, estando presente em quase todas as espécies de *Xylopia* que foram estudadas (Maia, et al., 2005).

As substâncias β -(Z)-ocimeno (8,65%), β -copaeno (9,00%) e biciclogermacreno (9,00%) também foram consideradas representativas quantitativamente. A presença de monoterpenos também é coerente com outras espécies do gênero, que também apresentam o α -pineno e β -pineno como substâncias presente no óleo essencial (Fournier et al., 1993; Pontes et al., 2007).

O germacreno D um dos componentes do óleo essencial das folhas de *X. excellens* também foi identificado em outras espécies do gênero, *X. langsdorffiana* e *X. aethiopica* (Tavares et al., 2007; Karioti et al., 2004). Esta substância é citada na literatura como um simulador de feromônios de insetos, estando envolvido também em outros mecanismos importantes na relação inseto-planta (Nishino et al., 1977; Rostelien et al., 2000).

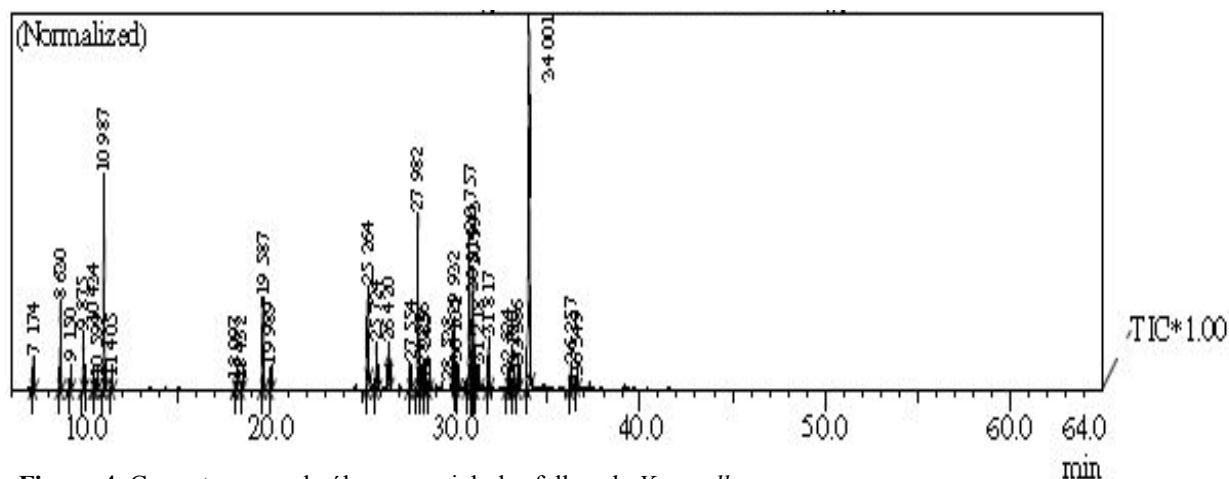


Figura 4. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *X. excellens*

Tabela 17. Constituintes voláteis das folhas de *X. excellens*

Pico	Componentes	IR	Porcentagem (%)
1	α -pineno	932	1,17
2	β -pineno	972	3,37
3	Mirceno	990	0,41
4	δ -3-careno	1010	2,29
5	<i>p</i> -cimeno	1023	0,27
6	Limoneno	1027	0,40
7	β -(Z)-ocimeno	1037	8,65
8	β -(E)-ocimeno	1047	0,43
9	metil-eter-timol	1235	4,38
10	metil-eter- carvacrol	1244	1,01
11	Isoledeno	1365	4,80
12	α -copaeno	1376	2,18
13	(E)-cariofileno	1419	1,28
14	β -copaeno	1430	9,00
15	α -trans-bergamoteno	1436	1,18
16	Z-cariofileno	1439	0,52
17	Sesquisabineno	1443	0,37
18	γ -muuroleno	1477	2,39
19	Germacreno D	1481	1,49
20	Biciclogermacreno	1497	9,00
21	α -muuroleno	1501	5,48
22	(Z)- α -bisaboleno	1503	5,84
23	β -bisaboleno	1509	1,49
24	δ -cadineno	1524	2,60
25	Elemol	1551	0,88
26	Germacreno B	1558	0,61
27	(E)-nerolidol	1565	1,22
28	Espatuleno	1580	24,10
29	α -muurdol (Torreyol)	1648	0,50
Monotepenos identificados			22,38
Sesquiterpenos identificados			77,62
Total identificados			100

5.4. Composição química dos óleos essenciais das folhas de *X. benthamii*

O teor de óleo volátil das folhas de *X. benthamii* foi de 1,70%. Pela análise dos constituintes químicos, realizada no CG/MS (FIGURA 24), do óleo essencial das folhas de *X. benthamii* foi possível detectar a presença de 57 substâncias, das quais 46 foram identificadas. O óleo essencial é constituído por monoterpenos e sesquiterpenos, sendo os monoterpenos os constituintes majoritários com 61,74% do total do óleo. O resultado do óleo essencial de *X. benthamii* está disposto na tabela 18.

Os principais componentes identificados foram β -felandreno (21,54%), β -pineno (17,94%), silvestreno (10,61%), γ - amorfeno (4,39%), biciclogermacreno (7,05%) e β -udesmol (9,98%) (TABELA 18). A presença do β -felandreno como componente principal no óleo essencial das folhas de *X. benthamii* sugere a existência de um interessante potencial biológico para a espécie, um vez que, alguns estudos relatam o papel do β -felandreno como agente inseticida (Nguemtchouin et al., 2010). A proporção significativa de β -felandreno também foi relatada nas espécies *X. longifolia*, *X. aromatica* e *X. ochrantha*. A predominância de monoterpenos hidrocarbonetos também é coerente com outras espécies do gênero, que também apresentam o β -pineno como principais substância presente no óleo essencial (Fournier et al., 1993; Pontes et al., 2007; Karioti et al., 2004; Stashenko et al., 2004; Albuquerque, 2013).

A presença significativa silvestreno também é evidenciado na composição do óleo essencial foliar de *X. ochrantha* (Albuquerque, 2013). A ocorrência majoritária do sesquiterpeno biciclogermacreno no óleo essencial foliar também é observada nas espécies *X. aromatica* e *X. sericea* (Lago et al., 2003; Pontes et al., 2007). Os constituintes encontrados neste óleo foram identificados em outras espécies de Annonaceae como, por exemplo, *Guatterriopsis*, *Annona*, *Duguetia* (Costa 2009; Valter et al., 2008; Araújo, 2013).

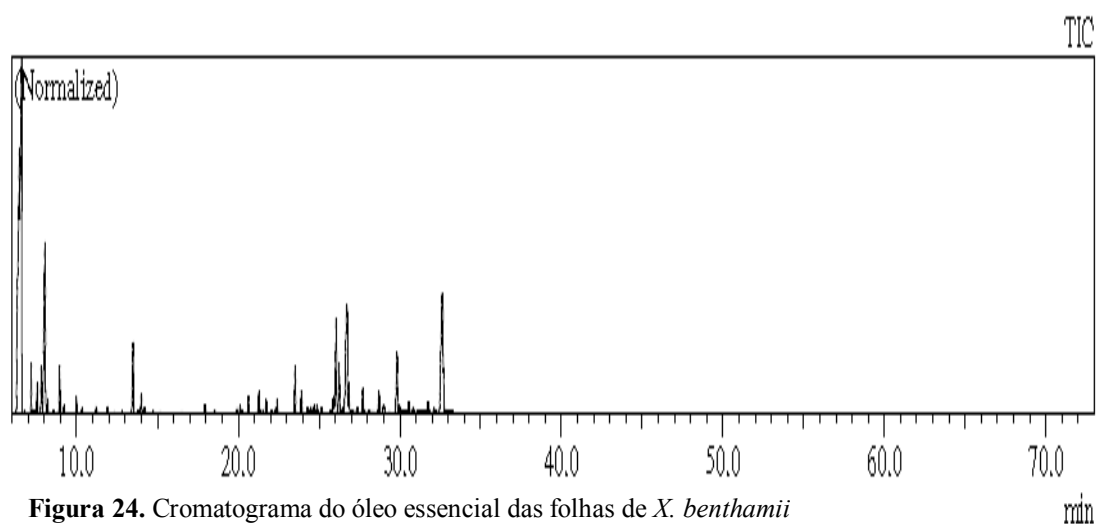


Figura 24. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *X. benthamii*

Tabela 18. Constituintes voláteis das folhas de *X. benthamii*

Pico	Componentes	IR	Porcentagem (%)
1	β -felandreno	1002	21,54
2	<i>p</i> - menta 1, 7, 8 dieno	1005	17,94
3	Mirceno	1010	0,04
4	α -felandreno	1020	1,21
5	β -(Z)-ocimeno	1024	0,09
6	α - terpineno	1029	0,75
7	<i>o</i> -cimeno	1036	1,80
8	Silvestreno	1041	10,61
9	Trans- α - ocimeno	1046	0,31
10	γ -terpineno	1064	1,30
11	<i>cis</i> - hidratado sabineno	1071	0,17
12	Terpineno	1090	0,46
13	<i>trans</i> - hidratado sabineno	1098	0,11
14	NI	1121	0,18
15	NI	1138	1,18
16	Terpineno-4-ol	1178	2,92
17	NI	1185	0,04
18	α -terpineol	1190	0,60
19	NI	1195	0,21
20	<i>trans</i> - hidratado acetato sabineno	1284	0,28
21	NI	1332	0,10
22	δ - elemeno	1337	0,22
23	NI	1348	0,57
24	α -cubebeno	1364	0,76
25	Cicloisosativeno	1366	0,06
26	α -ylangeno	1370	0,08
27	α -copaeno	1375	0,45
28	β -bourboneno	1383	0,10
29	Sibireno	1389	0,13
30	β -elemeno	1391	0,40
32	β -copaeno	1428	0,77
33	Aromadendreno	1437	0,17
34	6,9-guaiadieno	1442	0,21
35	Allo- aromadendreno	1447	0,26
36	α -humuleno	1452	0,28
37	9-epi-(E)-cariofileno	1459	0,19

Tabela 18. Constituintes voláteis das folhas de *X. benthamii* (continuação)

Pico	Componentes	IR	Porcentagem (%)
38	γ -muuroleno	1477	0,65
39	γ - amorfeno	1481	4,39
40	β -selineno	1486	1,85
41	<i>trans</i> -4-(14),5-dieno muurola	1491	0,14
42	Biciclogermacreno	1497	7,05
43	α -muuroleno	1500	1,33
44	Cubebol	1514	0,19
45	δ -cadineno	1523	0,95
46	NI	1549	0,73
47	Germacreno B	1556	0,29
48	Elemicino	1557	0,18
49	Espatulenol	1578	2,67
50	NI	1582	0,35
51	Guaiol	1597	0,38
52	NI	1604	0,17
53	Hinesol	1628	0,45
54	NI	1631	0,07
55	NI	1639	0,15
56	β -eudesmol	1652	9,98
57	α -eudesmol	1654	0,80
Monotepenos identificados			61,74
Sesquiterpenos identificados			34,66
Total identificados			96,40
Não identificados			3,60

5.5. Atividade biológica

5.5.1 Atividade antimicrobiana

Segundo Duarte (2006), para a atividade antimicrobiana, ainda não existe um consenso sobre o nível de inibição aceitável para produtos naturais quando comparados com antibióticos padrões, visto que alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos, enquanto outros consideram com bom potencial mesmo aqueles com níveis de inibições superiores. Para materiais vegetais com base nos resultados de MIC, a atividade antimicrobiana é considerada como: forte inibição - MIC até 500 $\mu\text{g/mL}$; inibição moderada - MIC entre 600 e 1500 $\mu\text{g/mL}$ e como fraca inibição - MIC acima de 1600 $\mu\text{g/mL}$ (Aligianis et al., 2001)

O óleo essencial de *X. benthamii* (OXBF) mostrou efeito inibidor antibacteriano, contra as bactérias gram positivas e três tipos de leveduras com valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) equivalentes a 31,2 µg/mL. Em relação *Kocuria rhizophila* o OXBF demonstrou ser mais efetivo que o respectivo controle cloranfenicol.

A atividade antibacteriana do óleo essencial das folhas de *X. excellens* (OXEF) também foi avaliada. Em geral, OXEF apresentou atividade contra as bactérias *Kocuria rhizophila*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* com CIM 62,5 µg/mL. Entretanto, os resultados obtidos mostram que a levedura *Candida parapsilosis* foi a mais sensível à ação desse óleo essencial com CIM 31,5 µg/mL. Todos os resultados acerca da atividade antibacteriana dos óleos essenciais das espécies de *Xylopia* estudadas estão apresentados na Tabela 19.

Os resultados da análise dos óleos são muito semelhantes aos estudos recentes realizados com óleos essenciais de espécies de Annonaceae. Vários autores enfatizam essa ação antimicrobiana, podendo destacar os estudos óleo essencial obtido das folhas de *Annona foetida* o qual evidenciou atividade contra *Staphylococcus aureus* com CIM de 200 µg/mL (Costa et al., 2009). Os óleos essenciais de *X. parviflora* foram ativos contra *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* possuindo um halo de inibição do crescimento variando de 10 a 14 mm (Woguem et al., 2014)

Referente aos resultados obtidos para a substância XeHF 12 (*ent-caur-16-en-7-O-glucopiranosideo*) as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* foram mais susceptíveis a ação desta substância apresentando MIC de 62,5 µg/mL.

Diversas atividades biológicas foram descritas para os diterpenos cauranos e muitos deles, incluindo antiparasitária, antimicrobiana, citotóxica, antitumoral, hipotensores e atividades anti-inflamatórias (Ghisalberti et al., 1997). Pode-se dizer que os cauranos

glicosilados assumiram mais importância e têm sido investigados com maior profundidade, uma vez que muitos compostos biologicamente ativos são glicosídeos (Kren et al., 2001)

Tabela 19. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *X.benthamii* e *X. excellens* e substância pura.

Microorganismos	^a CIM (µg/mL)				
	O X E F	O X B F	XeHF 12	Controles Positivos ^b	
Bactérias	<i>Kocuria rhizophila</i> (ATCC 9341) ^d	62,5	31,2	125,0	50,0
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC14458) ^c	62,5	31,2	62,5	25,0
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228) ^d	62,5	31,2	62,5	50,0
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10538) ^d	500,0	500,0	62,5	50,0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) ^d	-	-	-	>500,0
	Leveduras	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) ^c	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i> (ATCC 22019) ^c		31,5	31,5	250,0	12,5
<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 157) ^c		250,0	31,5	125,0	12,5
<i>Candida glabrata</i> (ATCC 30070) ^c		250,0	250,0	250,0	12,5
<i>Candida dubliniensis</i> (ATCC 778157) ^c		125,0	31,5	250,0	12,5

^a CIM Concentração Inibitória Mínima ^b Controle positivo: cloranfenicol para cepas de bactérias e cetoconazol para cepas de leveduras. ^cCepas padrão. ^dCepa de campo. (-) nenhuma inibição no desenvolvimento

5.5.2 Atividade antiproliferativa

Os extratos de *X. excellens* e *X. benthamii* foram avaliados quanto à atividade citotóxica *in vitro* frente a diferentes linhagens de células humanas tumorais e não tumorais (TABELA 19).

Segundo Calderon et al., 2003, compostos com forte atividade citotóxica apresentam valores de CI₅₀ menores que 25 µg/mL e com fraca atividade valores maiores que 25 µg/mL. Para extratos inativos são observados valores acima de 100 µg/mL.

Desta forma, de acordo com os resultados descritos na Tabela 20, pôde-se observar que o extrato das folhas de *X. benthamii* apresentou atividade antiproliferativa apenas contra a linhagem de células tumorais dos rins (786-0, TGI 32,47 mg/mL), bem inferior ao valor de TGI do controle. Os demais extratos da espécie apresentaram baixa atividade para as demais linhagens, uma vez que apresentaram valor de TGI (concentração necessária para inibição de 100 % do crescimento celular) > 250,00 µg/mL.

Os extratos hexânicos de *X. excellens* mostraram-se ativos frente a todas as linhagens de células tumorais testadas. A linhagem K-562 mostrou-se mais susceptível aos extratos hexanos das folhas, galhos finhos e cerne, com TGI 87,38 µg/mL, 50,69 µg/mL, 73,48 µg/mL, respectivamente. No entanto, o EHXEx (CAS) demonstrou baixa atividade frente as linhagens NCI/ADR/RES, NCI-H-460, 786-0, OVCAR-3 e HT29.

O EMXEx (CER) apresentou promissora atividade antiproliferativa, inibindo o crescimento da linhagem tumoral OVCAR-3 (ovário) com valor de TGI 28,50 µg/mL, portanto com valores de TGI inferiores ao controle.

Os extratos hexânicos e as frações alcaloídicas de *X. excellens* apresentaram atividade antiproliferativa, inibindo o crescimento das linhagens de células tumorais e também da linhagem HaCat (célula normal).

Os resultados da atividade antiproliferativa indicam que os extratos e frações alcaloídicas das espécies de *Xylopia* estudada são similares ao que é relatado na literatura, visto que, a família Annonaceae é conhecida por possuir espécies que apresentam atividade citotóxica relevante. Estudos realizados por Ahmed e colaboradores (2010), avaliou o efeito citotóxico do óleo essencial e frações obtidas das folhas de *A. senegalensis* frente a linhagens de células tumorais, constatando que as amostras apresentaram moderada atividade citotóxica. O extrato das cascas de *G. blepharophylla* apresentou notável atividade citotóxica.

in vitro em células NCI-H 460 e K-562 com TGI 9,05 $\mu\text{g/mL}$ e 7,23 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Costa et al., 2011).

Os estudos com o extrato etanólico dos frutos da espécie *X. aethiopica* apresentaram atividade frente as células HCT116 (colon), U937 e KG1 (leucemia) com IC_{50} de 12 $\mu\text{g/mL}$, 7,5 $\mu\text{g/mL}$ e $> 25 \mu\text{g/mL}$, respectivamente (Choumessi et al., 2012).

Tabela 20. Atividade antiproliferativa dos extratos e frações de *X.benthamii* e *X. excellens*

Amostras (TGI (ug/mL))	NCI/ADR/RES	NCI-H-460	786-0	OVCAR-3	HT29	K-562	HaCat
EHXb (F)	-	-	32,47	>250	>250	>250	>250
EHXb (GF)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
EHXb (CAS)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
EHXb (CER)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
EMXb (F)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
EMXb (GF)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
EMXb (CAS)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
EMXb (CER)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
FALXb (F)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
FALXb(GF)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
FALXb (CAS)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
FALXb (CER)	-	-	>250	>250	>250	>250	>250
EHXEx (F)	200,96	>250	100,45	93,61	>250	87,38	121,73
EHXEx (GF)	120,87	166,35	87,98	106,53	102,75	50,69	129,57
EHXEx (CAS)	>250	>250	>250	>250	>250	106,62	152,86
EHXEx (CER)	125,14	178,48	120,55	104,89	100,04	73,48	148,28
EMXEx (F)	215,6	>250	180,94	>250	>250	188,15	>250
EMXEx (GF)	>250	>250	>250	>250	>250	151,55	>250
EMXEx (CAS)	>250	216,24	>250	>250	>250	66,72	235,63
EMXEx (CER)	>250	>250	>250	28,50	>250	>250	>250
FALXEx (F)	218,86	>250	>250	>250	>250	>250	>250
FALXEx (GF)	125,69	83,65	68,22	169,47	>250	>250	93,65
FALXEx (CAS)	109,91	46,52	79,74	185,85	241,54	114,58	77,02
FALXEx (CER)	207,64	116,87	98,85	140,62	150,86	>250	139,90
Doxorubicina	-	-	50,73	>250	39,33	>250	124,34

*TGI: *Inibição total do crescimento* – concentração que promove a inibição 100 % do crescimento celular. Os valores foram determinados por análise de regressão não linear (sigmoidal), utilizando o programa Origin 7.5 ($r^2 > 0,9$).

Células tumorais: NCI/ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos); NCI-H-460 (pulmão, tipo não pequenas células); 786-0 (rim); OVCAR-3 (ovário); HT29 (côlon); K-562 (leucemia); Célula normal: HaCat (keratinocito)

5.5.3 Atividade leishmanicida

A substância XeHF 12 foi submetida a ensaio de atividade leishmanicida contra a forma promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Por causa de pequeno rendimento as demais substâncias não foram testadas. A avaliação da atividade é feita dentro dos seguintes critérios: as substâncias são classificadas como altamente ativas quando $IC_{50} < 10 \mu\text{g.mL}^{-1}$; ativas quando $10 < IC_{50} < 50 \mu\text{g.mL}^{-1}$; moderadamente ativas, quando $50 < IC_{50} < 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e não-ativas se $IC_{50} > 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (De Lima et al., 2012)

O composto *ent*-caur-16-en-7-O-glucopiranosideo (substância XeHF12) apresentou consideradas ativas frente formas promastigotas de *L. amazonensis*, sendo observado valores de IC_{50} de $15.23 \pm 0.64 \mu\text{g/mL}$. Além disso, foi observado baixa citotoxicidade contra os macrófagos J774A1, apresentando valores de CC_{50} e SI de $29.97 \pm 2.72 \mu\text{g/mL}$ e 1.96, respectivamente (De Lima et al., 2012).

E estudos realizados por Batista e colaboradores (2007) evidenciaram a atividade tripanossomicida de derivados de ácidos caurenóico glicosilado. Em trabalho recentes, foi demonstrado a capacidade leishmanicida do diterpeno ácido caurenóico contra *L. amazonensis* em cultura de macrófagos (Miranda et al., 2015).

Conclusão

6. Conclusões

O uso da técnica FIA-ESI-IT-MS forneceu dados preliminares sobre a análise do perfil químico, evidenciando similaridades entre a composição alcaloídica de partes da mesma planta e entre as espécies de *X. excellens* e *X. benthamii*.

O estudo fitoquímico dos extratos metanólicos das folhas e dos galhos finos da espécie *X. excellens* conduziu ao isolamento de onze alcaloides identificados como, reticulina (benziltetraidroisoquinolínico), anonaína e nornantenina (aporfínicos), liriodenina, lisicamina, isomochastolina, *O*-metilmoschatolina, oxonantenina, laniginosina, oxoglaucina e oxofoebina (oxoaporfínicos). Da análise dos extratos hexânicos de *X. excellens* foi isolados 1 diterpeno, identificado como 7 β -O- β -D-glucopiranosídeo *ent*-caur-16-eno. Estes resultados são compatíveis a quimiotaxonomia da família Annonaceae, em particular do gênero *Xylopia*. A espécie estudada confirmou a potencialidade do gênero como produtora de alcaloides isoquinolínicos, apresentando uma variedade de estruturas que confirmam as rotas biogénéticas anteriormente descritas, que têm como precursor os alcalóides tetraidrobenzilisquinolínicos. Tais alcaloides dão origem aos alcaloides aporfínicos *sensu stricto*, que por sua vez originam os alcaloides oxoaporfínicos, predominantes em *X. excellens*. Outra característica do gênero evidenciada pela espécie foi a produção de diterpenos de esqueleto *ent*-caurano, frequentes na família, também considerados prováveis marcadores do gênero.

A partir das análises, por CG/MS, dos óleos essenciais obtidos das folhas *X. excellens* foram observados como constituintes predominantes os sesquiterpenos, sendo espatulenol o composto majoritário. Na análise dos óleos essenciais das folhas de *X. benthamii* foram identificados principalmente os monoterpenos sendo o β -felandreno composto majoritário.

A composição química dos óleos essenciais das espécies estudadas estão de acordo

com o perfil dos constituintes voláteis encontrados na família Annonaceae e no gênero *Xylopia*.

Os extratos, frações e óleo essencial das espécies *X. excellens* e *X. benthamii* revelaram atividades antimicrobiana e antitumoral. O diterpeno isolado apresentou atividade leishmanicida contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Este estudo revelou a espécie *X. excellens* como uma fonte promissora de alcaloides isoquinolínicos e de diterpenos biologicamente ativos, em acordo com a potencialidade químico-farmacológica de espécies do gênero *Xylopia*, da família Annonaceae.

Referências

7. Referências Bibliográficas

- ADAMS, R. P. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation. 2001.
- ADAMS, R. P. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4 ed. Carol Stream: Allred, 804p. 2007.
- AHMAD, F. B., SALLEHUDDIN, N. K. N. M., ASSIM, Z. Chemical constituents and antiviral study of *Goniothalamus velutinus*. *Journal of Fundamental Sciences*. v. 6, n. 1, p. 72-75, 2010.
- AHMED, A. L.; BASSEM, S. E. M.; MOHAMED, Y. H.; GAMILA, M. W. Cytotoxic essential oil from *Annona sengalensis* Pers. leaves. *Pharmacognosy Research*, v. 2, n. 4, p. 211-214, 2010.
- ALALI, F. Q.; LIU, X.-X.; McLAUGHLIN, J. L. Annonaceus acetogenins: Recent progress. *Journal of Natural Products*, v. 62, n. 3, p. 504-540, 1999.
- ALENCAR, D. C. Perfil alcaloídico de Anonáceas do Campus da Ufam e estudo fitoquímico e biológico de *Ephedranthus Amazonicus* R. E. Fries (Annonaceae). 2010. 139p. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.
- ALIGIANIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ALBUQUERQUE, R. D. G. Estudo fitoquímico e biológico de folhas da espécie vegetal *Xylopiya ochrantha* (Mart.). 2013. 81p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ.
- ANAM, E. M. 7-O-Methylbenzylflavanones and 4'-O-methylbenzylidihydrochalcone from *Xylopiya africana*. *Indian J. Chem.*, v. 33, p. 870-873, 1994.
- ANDRADE, N. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DA-CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S. Terpenoids of the Annonaceae: Distribution and compilation of ¹³C NRM data. *Recent. Res. Devel. Phytochem.*, v. 7, p. 1-85, 2003.
- ANDRADE, N. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L. Diterpenes and volatile constituents from the leaves of *Xylopiya cayennensis* Maas. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 32, p. 1055-1058, 2004.

- 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.
- ANKISETTY, S.; ELSOHLI, H. N.; LI, X.-C.; KHAN, S. I.; TEKWANI, B. L.; SMILLIE, T.; WALKER, L. Aromatic constituents of *Uvaria grandiflora*. Journal of Natural Products, v. 69, n. 4, p. 692-694, 2006.
- ARANGO, O.; PÉREZ, E.; GRANADOS, H.; ROJANO, B.; SÁEZ, J. Inhibición de la peroxidación lipídica y capacidad atrapadora de radicales libres de alcaloides aislados de dos annonaceae, *Xylopiya amazonica* cf. y *Duguetia vallicola*. Actual Biol, v. 26, n. 81, p. 105-110, 2004.
- ARAUJO, C. S. Estudo Fitoquímico e Atividade Biológica *In Vitro* de *Annona Vepretorum* Mart. (Annonaceae) 2013. 198p. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina- PE.
- ASEKUN, O. T.; ADENIYI, B. A. Antimicrobial and cytotoxic activities of the fruit essential oil of *Xylopiya aethiopica* from Nigeria. Fitoterapia, v. 75, p. 368-370, 2004.
- ATTI, S. A. E.; AMMAR, H. A.; PHOEBE, C. H.; SCHIFF, P. L.; SLATKIN, D. J. Alkaloids of *Guatteria melosma* and *Cleistopholis patens*. Journal of Natural Products, v. 45, n. 4, p. 476-480, 1982.
- BALUNAS, MJ & KINGHORN, AD. Drug discovery from medicinal plants. Life Sciences, v.8, n.5, p. 431-41, 2005.
- BATISTA, R.; CHIARI, E.; DE OLIVEIRA, A. B.; Trypanosomicidal Kaurane Diterpenes from *Wedelia paludosa*. Planta Medica, v. 65, n. 3, p. 283-284, 1999.
- BATISTA, R.; HUMBERTO, J. L.; CHIARI, E.; de OLIVEIRA, A. B. Synthesis and trypanocidal activity of ent-kaurane glycosides. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 15, n. 1, p. 381-391, 2007
- BERMEJO, A.; PROTAIS, P.; BLÁZQUEZ, M. A.; RAO, K. S.; ZAFRA-POLO, M. C.; CORTES, D. Dopaminergic isoquinoline alkaloids from roots of *Xylopiya papuana*. Natural Products Letter, Cambridge, v. 6, p. 57-62, 1995.
- BERMEJO, A.; FIGADERE, B.; ZAFRA-POLO, M.C.; BARRACHINA, I.; ESTORNELL, E.; CORTES, D. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. Natural Products Reports, v. 22, p. 269–303, 2005.

- BERNARDI, L.; SPICHIGER, R. Las Anonáceas del Arbo­rétum Jenaro Herrera. Conservatore et Jardins Botaniques de Genere, Provincial de Requena, Departamento de Loreto, Péru, v. 35, n. 2, p. 341-383, 1980.
- BERG, M. E. van den. Contribuição ao conhecimento da flora medicinal da Amazônia brasileira. 1978. 206 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociencias, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo.
- BRAGA, F. C. et al. Screening Brazilian plant species for *in vitro* inhibition of 5-lipoxygenase. *Phytomedicine*, v. 6, p. 447-452, 2000.
- BRANDÃO, M; LACA-BUENDIA, J. P.; MACEDO, J.F. Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 528p.
- BRAS FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.
- BRITTA, E.A.; SILVA, A.P.B.; VEDA-NAKAMURA, T.; DIAS-FILHO, B.P.; SILVA, C.C.; SERNAGLIA, R. L.; NAKAMURA, C. V. Benzaldehyde Thiosemicarbazone Derived from Limonene Complexed with Copper Induced Mitochondrial Dysfunction in *Leishmania amazonensis*. *Plos One*, v. 7, n. 8, 2012.
- BOLZAN, A. A. Silva, C.M; Francescato, L.N; Murari, A.L; Silva, G.N.S; Heldwein, C.G; Heinzmann, B. Espécies de *Seneciona* medicina popular da América latina e toxicidade relacionada a sua utilização. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, v. 26, n. 4, p. 619-625, 2007.
- BURKILL I. H, HANIFF M. Malay village medicine. *Gard. Bull. Straits Settl.* 6: 165-321. 1930.
- CALDERON, A. I.; TERREAUX, C.; GUPTA, M. P. In vitro cytotoxicity of 11 Panamanian plants. *Fitoterapia*, v. 74, p. 378, 2003.
- CANTRELL, C. L.; KLUN, J. A.; BRYSON, C. T.; KOBASISY, M.; DUKE, S. O. Isolation and identification of mosquito bite deterrent terpenoids from leaves of American (*Callicarpa americana*) and Japanese (*Callicarpa Japonica*) beautyberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, p.5948-5952, 2005.
- CARVALHO, P. L. "A proteção da biodiversidade brasileira: o caso das plantas medicinais." 2009.
- CAVALCANTI, B.C.; FERREIRA, J.R.O.; MOURA, D.J.; ROSA, R.M.; FURTADO, G.V.; BURBANO, R.R.; SILVEIRA, E.R.; LIMA, M.A.S.; CAMARA, C.A.G.; SAFFI, J.; HENRIQUES, J.A.P.; RAO, V.S.N.; COSTA-

- LOTUFO, L.V.; MORAES, M.O.; PESSOA, C. Structure–mutagenicity relationship of kaurenoic acid from *Xylopiia sericeae* (Annonaceae). Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, v. 701, p. 153–163, 2010.
- CAVÉ, A. Annonaceae Alkaloids. In : PHILLIPSON, J. D.; ROBERTS, M. F.; ZENK, M. H.. eds. The chemistry and biology of isoquinoline alkaloids. Berlin and New York: Springer- Verlag, p. 79-101, 1985.
- CHAN-BACAB, M. J.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L. M. Plant natural products with leishmanicidal activity. Natural Products Reports, v. 18, p. 674-688, 2001.
- CHANG, F.-R.; WEI, J.-L.; TENG, C.-M.; WU, Y.-C. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. Phytochemistry 49, 2015-2018, 1998.
- CHATROU, L. W.; RAINER, H.; MAAS, P. J. M. In: Annonaceae (Soursop Family): Smith N. *et al.* (eds.). Flowering Plants of the Geotropism, New York Botanical Garden, New York, 2004. 18-20 p.
- CHATROU, L.W.; PIRIE, M.D.; ERKENS, R.H.J.; COUVREUR, T.L.P.; NEUBIG, K.M.J.; ABBOTT, R.; MOLS, J.B.; MAAS, J.W.; SAUNDERS, R.M.K.; CHASE, M.W. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. Botanical Journal of the Linnean Society, London, v. 169, n. 1, p. 5-40, 2012.
- CHEN, C.-Y.; CHANG, F.-R.; WU, Y.-C. The constituents from the stems of *Annona cherimola*. Journal of the Chinese Chemical Society, v. 44, p. 313-319, 1997.
- CHEN, C.Y.; CHANG, F.R.; YEN, H.F.; WU, Y.C. Amides from stems of *Annona cherimola*. Phytochemistry v. 49, p. 1443-1447, 1998
- CHEN, Y.; CHANG, F.; WU, Y. Isoquinoline Alkaloids and Lignans from *Rollinia mucosa*. Journal Natural Product, v. 59 p. 904-906, 1999.
- CHIESORIN, J.F.A.; SILVA, M.S. Estudo químico de *Xylopiia emarginata*. In: Encontro De Iniciação Científica da UFPB, 8, 2000.
- CHOUMESSI, A. T.; DANIEL, M.; CHASSAING, S.; TRUCHET, I.; PENLAP, V. B.; PIEME, A. C.; ASONGANYI, T.; DUCOMMUN, B.; VALETTE, A. Characterization of the antiproliferative activity of *Xylopiia aethiopica*. Cell Division, v. 7, n. 8, 2012

- COLMAN-SAIZARBITORIA, T.; GU, Z. M.; MCLAUGHLIN, J. L. Two new bioactive monotetrahydrofuran Annonaceous acetogenins from the bark of *Xylopia aromatic*. *Journal of Natural Products*, v.57, p. 1661-1669, 1994.
- COLMAN-SAIZARBITORIA, T.; MONTILLA, L.; RODRIGUEZ, M.; CASTILLO, A.; HASEGAWA, M. Xymarginatin: a new acetogenin inhibitor of mitochondrial electron transport from *Xylopia emarginata* Mart., Annonaceae . *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, n.4, p. 871-875, 2009.
- CORRÊA, M. P.; *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, v. 5. 1987.
- CORTES, D.; MORENO, L.; PÁRRAGA, J.; GALÁN, A.; CABEDO, N. Nuevos Fármacos Inspirados En Annonáceas. *Revista Brasileira de Fruticultura*.v. 36, n. 1, p22-31, 2014
- COSTA, E. V. Contribuição ao Estudo Químico e Biológico de *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). 2004. 166p. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.
- 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, n. 2, p. 292-294, 2006.
- COSTA, E. V.; TEIXEIRA, S. D.; MARQUES, F. A.; DUARTE, M. C. T.; DELARMELINA, C.; PINHEIRO, M. L. B.; TRIGO, J. R.; MAIA, B. H. L. N. S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of the Amazon *Guatterriopsis* species. *Phytochemistry*, v. 69, n. 9, p. 1895-1899, 2008.
- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; MARQUES, F. A.; BRAGA, R. M.; MAIA, B. H. L. N. S. First report of alkaloids in the genus *Guatterriopsis* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v.37, n. 1, p. 43-45, 2009.
- COSTA, E. V. Estudo fitoquímico e atividades biológicas de *Guatterriopsis blepharophylla*, *Guatterriopsis friesiana* e *Guatterriopsis hispida* (Annonaceae). 2009. 354 p. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- COSTA, E.V.; MARQUES, F. A.; PINHEIRO, M.L. B.; BRAGA, R. M.; MAIA, B.H.L.N.S. First report of alkaloids in the genus *Guatterriopsis* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 37, 43–45, 2009b.

- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; SALVADOR, M. J.; MAIA, B. H. L. N. S.; CABRAL, E. C.; EBERLIN, M. N. Alkaloids from the bark of *Guatteria hispida* and their evaluation as antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Natural Products*, v. 73, p. 1180-1183, 2010.
- COSTA, E. V.; MARQUES, F. A.; PINHEIRO, M. L. B.; BRAGA, R. M.; DELARMELINA, C.; DUARTE, M.C.T.; RUIZ, A.L.T. G.; CARVALHO, J.E.; MAIA, B. H. L. N. S. Chemical Constituents Isolated from the Bark of *Guatteria blepharophylla* (Annonaceae) and their Antiproliferative and Antimicrobial Activities. *Journal of The Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 6, p. 1111-1117, 2011.
- COSTA, E. V.; DUTRA, L. M.; NEPEL, A.; BARISON, A. Isoquinoline alkaloids from the leaves of *Xylopia laevigata* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 51, p. 331-334, 2013.
- COUVREUR, T.L.P.; MAAS, P.J.M.; MEINKE, S.; JOHNSON, D.M.; KESSLER, P.J.A. Keys to the genera of Annonaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society, London*, v. 169, n. 1, p.74-83, 2012.
- CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press, New York, 1981.
- CRONQUIST, A. The Evolution and Classification of Flowering Plants. New York Botanical Garden, New York, 1988. 555 p.
- CRUZ, P. E. O. Estudo Fitoquímico e Investigação das Atividades Antioxidantes, Antimicrobiana e Larvicida das Cascas de *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae). 2011. 158p. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Sergipe, São Cristóvão- SE.
- CUNHA, M. M.; NASCIMENTO, F. C.; SANTOS PIMENTA, L. P.; BOAVENTURA, M. A. D.; SALAS, C. E.; LOPES, M. T. P. Screening of cytotoxic activity in hexanic and ethanolic extracts of *Rollinia laurifolia*. *Latin American Journal of Pharmacy*, v.28, n. 2, p. 234-240, 2009.
- DABRAH, T.; SNEDEN, A. Oxoaporphine Alkaloids from *Rollinia Papilionella*. *American Cancer Society*, 1982
- DA SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F.; DE ALMEIDA, R. A.; DE SOUZA, A. D. L.; PINHEIRO, M. L. B.; COSTA, E. V. Desreplicação de alcaloides aporfínicos e oexoaporfínicos de *Unonopsis guatterioides* por ESI-IT-MS. *Química Nova*, v. 35, n. 5, p. 944-947, 2012.

- DEWICK, P. M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. Chichester: 2^a ed. John Wiley & Sons, LTD, 507p. 2002.
- DEWICK, P. M. Mesicinal Natural Product: a biosynthetic approach. Chichester 3^a ed. John Wiley & Sons, LTD, 509p, 2009.
- DE MESQUITA, M. L.; GRELLIER, P.; MAMBU, L.; DE PAULA, J. E.; ESPINDOLA, L. S. *In vitro* antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. Jounal Ethnopharmacol, v.110, p. 165-170, 2007.
- DE LIMA, J. P.S.; PINHEIRO, M. L. B.; SANTOS, A. M.G.; PEREIRA, J. L.S.; SANTOS, D. M. F.; BARISON, A.; SILVA-JARDIM, I.; COSTA, E. V. *In Vitro* Antileishmanial and Cytotoxic Activities of *Annona mucosa* (Annonaceae). Revista Virtual de Química, v. 4, n. 6, 2012.
- DIAS, M.C. Estudos taxonômicos do gênero *Xylopia* L. (Annonaceae) no Brasil extra-amazônico. 1988. Tese (Mestrado em Botânica). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- DIAS, M.C.; KINOSHITA, L.S. A new species of *Xylopia* L. (Annonaceae) from Bahia, Brazil. Kew Bulletin, Surrey, v. 53, n. 2, 471-474, 1998.
- DÍAZ, A. M. P. Neolignans from *Anaxagorea clavata*. Phytochemistry, v. 44, n. 2, p. 345-346, 1997.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. As plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. Ed. Unesp. São Paulo, 2002.
- DO, T. L. Nhung cay thuoc va vi thuoc Viet Nam (Medicinal plants and herbal medicaments of Vietnam) Hanoi, Vietnam, p. 521, 2001.
- DUARTE, M. C. T. Atividade Antimicrobiana de Plantas Mediciniais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. Revista Multiciência, Campinas, v. 7, 2006.
- ERKENS, R. H. J.; MAAS, P. J. M. The *Guatteria* Group Disentangled: Sinking *Guatterriopsis*, *Guatterriella*, And *Heteropetalum* Into *Guatteria*. Rodriguésia, v.59, n. 2, p. 401-406, 2008
- ESPINEL-INGROFF, A.; DAWSON, K.; PFALLER, M.; ANAISSIE, E.; BRESLIN, B.; DIXON, D.; FOTHERGILL, A.; PAETZNICK, V.; PETER, J.; RINALDI, M.; WALSH, T. Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. Antimicrob. Agents Chemother., v. 39, p. 314-319, 1995.

- FALL, D.; BADIANE, M.; BA, D.; LOISEAU, P.; BORIES, C.; GLEYE, C.; LAURENS, A.; HOCQUEMILLER, R. Antiparasitic effect of Senegalese Annonaceae used in tradicional medicine. *Dakar Medical*, v. 48, p. 112-116, 2003.
- FARIAS, K. S. et al. Antioxidant properties of species from the Brazilian cerrado by different assays. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. v. 15, n. 4, p. 520-528, 2013.
- FECHINE, I. M.; LIMA, M. A.; NAVARRO, V. R.; DA CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MAIA, J. G. S. Alcalóides de *Duguetia trunciflora* Maas (Annonaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 12, p. 17-19, 2002.
- FRIES, R. E. 1959. Annonaceae. Pp. 1-171 in: Engler, A. & Prantl, K. (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, 2nd ed., vol. 17a II. Duncker & Humblot, Berlin.
- FERRAZ, R. P. C.; CARDOSO, GABRIELLA, M. B.; SILVA, T. B.; FONTES, J. E. N.; PRATA, A. P. N.; CARVALHO, A. A.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. Antitumour properties of the leaf essential oil of *Xylopiya frutescens* Aubl. (Annonaceae). *Food Chemistry*, v. 141, p. 196-200, 2013.
- FRURNIER, G.; HADJAKHOONDI, A.; LEBEOUF, M.; CAVE, A.; FOURNIAT, J.; CHARLES, B. Chemical and biological studies of *Xylopiya longifolia* A. DC. Essential oilas. *Jouranal of Essential Oil Research*, v. 5, n. 4, p. 310-315, 1993.
- GARCÍA, P. A.; DE OLIVEIRA, A. B.; BATISTA, R. Occurrence, Biological Activities and Synthesis of kaurene Diterpenes and their Glycosides. *Molecules*, v. 12, p. 455-483, 2007.
- GEMTCHÚJNICOV, I. D. 1976. *Manual de Taxonomia Vegetal: plantas de interesse econômico*. São Paulo-SP, Ed. Agronômica Ceres, 368 p. il.
- GHISALBERTI, E.L. The biological activity of naturally occuring kaurane diterpenes. *Fitoterapia*, v. 68, n. 4, p. 303-325, 1997.
- GRANELL, S.; ANDREU, I.; MARTÍ, D.; CAVÉ, A.; ARAGÓN, R.; ESTORNELL, E.; CORTES, D.; ZAFRA-POLO, M. C. Bisbenzyltetrahydroisoquinolines, a new Jass of inhibitors of the mitochondrial respiratory chain complex I. *Planta medica*. V. 70, p. 266-268, 2004.
- GROVE, D. C.; RANDALL, W. A. *Assay methods of antibiotics: a laboratory manual* (Antibiotics monographs, 2). New York: Medical Encyclopedia Inc., 1955.
- GOTTSBERGER, G. Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. *Plant Species Biology*, v. 14, n. 2, p. 143-152, 1999.

- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphine alkaloids III. *Journal of Natural Products*, v. 46, p. 761-835, 1983.
- HAGEL, J. M.; FACCHINI, P. J. Benzyloquinoline Alkaloid Metabolism: A Century of Discovery and a Brave New World Plant Cell Physiology, v. 54, n. 5, p. 647–672, 2013.
- HASAN, C. M.; HEALEY, T. M.; WATERMAN, P. G. 7b-acetoxytrachyloban-18- oic acid from the steam bark of *Xylopi* *quintasii*. *Phytochemistry*, v. 21, p. 177, 1982.
- HARRIGAN, G. G.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. I.; CHAN, G. W.; JOHNSON, R. K. Isolation of bioactive and other oxoaporphine alkaloids from two annonaceous plants, *Xylopi* *aethiopica* and *Milliusa cf. banacea*. *Journal of Natural Products*, v. 57, p. 68 -73, 1994.
- JOHNS, S. R.; LAMBERTON, J. A.; SIOUMIS, A. A. CASSYTHA ALKALOIDS. IV. The alkaloids of *Cassytha racemosa* Nees (family Lauraceae). *V. 20*, p.1457- 1462, 1967.
- JURGENS, A.; WEBBER, A. C.; GOTTSBERGER, G. Floral scent compounds of Amazonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips. *Phytochemistry*, v. 55, p. 551-558, 2000.
- KANOKMEDHKUL, S. KANOKMEDHAKUL, K. LEKPHROM, R. Bioactive constituents of the roots of *Polyalthia cerasoides*. *Journal of Natural Products*, v. 70, n. 9, p. 1536-1538, 2007.
- KARIOTI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; MENSAH, M. L.; FLEISCHER, T. C.; SKALTSA, H. Composition and antioxidant activity of the essential oils of *Xylopi* *aethiopica* (Dun) A. Rich (Annonaceae) leaves, stem bark, root bark, and fresh and fried fruits, growing in Ghana. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 52, p. 8094-8098, 2004.
- KREN, V.; MARTÍNKOVÁ, L. Glycosides in Medicine: “The Role of Glycosidic Residue in Biological Activity”. *Current Medicinal Chemistry*, v. 8, p. 1303-1328, 2001.
- KRANE, B. D.; SHAMMA, M. The isoquinoline alkaloids. *Journal of Natural Products*, v. 45, n. 4, p. 377-384, 1982.
- KREN, V.; MARTINKORA, L. Glycosides in Medicine:”The role of glycosidic residue in biological activity”. *Current Medicinal Chemistry*, v. 8, n. 11, p. 1303-1328, 2001.
- KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae. Botucatu-SP, v. 36, edição especial, p. 225-242, 2014.

- KUETE, V.; SANDJO, L. P.; WIENCH, B.; EFFERTH, T. Cytotoxicity and modes of action of four Cameroonian dietary spices ethno-medically used totreat Cancers: *Echinops giganteus*, *Xylopi aethiopica*, *Imperata cylindrica* and *Piper capense*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 149, p. 245–253, 2013.
- KUO, REEN-YEN; CHANG, FANG-RONG; WU, YANG-CHANG. A new propentdyopent derivative, rollipyrrole, from *Rollinia mucosa* Baill, v. 42, n. 44, p. 7907-7909, 2001.
- LAGO, J. H. G.; ÁVILA Jr., P. A.; MORENO, P. H. R.; LIMBERGER, R. P.; APEL, M. A. Analysis, comparison and variation on the chemical composition from the leaf volatile oil of *Xylopi aomatica*. *Biochemical systematic and ecology*, v. 31, p. 669-672, 2003.
- LAJIDE, V.; ESCOUBAS, P.; MIZUTANI, J. Termite antifeedant activity in *Xylopi aethiopica*, *Phytochemistry*, v. 40, p. 1105-1112, 1995.
- LEBOEUF, M; CAVÉ, A.; BHAUMIK, P. K.; MUKHERJEE, R. The phytochemistry of Annonaceae. *Phytochemistry*, v. 21, n.12, p. 2873-2813, 1982.
- LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; FORGACS, A.; PROVOST, J.; CHIARONI, A.; RICHE, C. Alkaloids of the Annoanceae. Part 33. annomontine and methoxyannomontine, two new pyrimidine- β -carboline-type alkaloids from *Annona montana*. *Journal of the Chemical Society. Perkin Trans 1*, p 1205-1208, 1982a.
- LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Biodiversidade Brasileira: Síntese do Estado Atual do Conhecimento. Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais e Instituto de Biologia Unicamp, Campinas, SP. 2000, 127 p.
- LI, N.; SHI, Z.; TANG, Y.; CHEN, J.; LI, X. Recent progress on the total synthesis of acetogenins from Annonaceae. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, v. 4, n. 48, 2008.
- LIMA, L. A. R. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 122, 1129–1138, 2010.
- LOBÃO, A. Q.; DE ARAUJO, D. S. D.; KURTZ, B. C. Annonaceae das restingas do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, v. 56, n. 87, p. 85-96, 2005.
- LOPES, J. DE C.; MELLO-SILVA, R. Diversidade e Caracterização das Annonaceae Do Brasil. *Palestra Anonáceas - V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação (19 a 23 de Agosto de 2013)*. Botucatu-SP. v. 36, edição especial, p. 125-131, 2014
- LÓPEZ, R.; CUCA, L. E.; DELGADO, G. Antileishmanial and immunomodulatory activity of *Xylopi discreta*. *Parasite Immunol.*, v. 31, p. 623-630, 2009.

- LORENZI, H.; SOUZA, V. C. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 82-84, 2005.
- MACÊDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso-Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 14, n. 1, p. 45-47, 2004.
- MAAS, P. J. M.; DE KAMER, H. M.- V.; JUNIKKA, L.; DE MELLO-SILVA, R.; RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. *Rodriguésia*, v. 52, n. 80, p. 65-98, 2001.
- MAAS, P. J. M.; MAAS, H.; MIRALHA, J. M. S.; JUNIKKA, L. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Annonaceae. *Rodriguésia*, v. 58, n. 3, p. 617-662, 2007.
- MAAS, P.J.M.; RAINER, H.; LOBÃO, A.Q. Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/Jabot/floradobrasil/FB110572>>. Acesso em: 30 maio. 2013.
- MACÊDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Baía do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso- Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 14, p. 45-47, 2004.
- MAHIOU, V.; ROBLLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; DE ARIA, A.R.; INCHAUSTI, A.; YALUFF, G.; FOURNET, A.; ANGELO, A. Alkaloids of the Annonaceae. 98. New aporphine alkaloids from *Guatteria foliosa*. *Journal of Natural Products*, v. 57, p. 890-895, 1994.
- MAHIOU, V.; ROBLLOT, F.; FOURNET, A.; HOCQUEMILLER, R. Bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Guatteria boliviana* (Annonaceae). *Phytochemistry*, v. 54, n. 7, p. 709-716, 2000.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H.A.; CARREIRA, L. M. M.; OLIVEIRA, J.; ARAÚJO, J. S. Essential oils of the Amazon *Guatteria and Guatteropsis* species. *Flavour Fragrance Journal*, v. 20, p. 478-480, 2005.
- MARTINS, D.; ALVARENGA, M. A.; ROQUE, N. F.; FELÍCIO, J. D'ARC. Diterpenes and alkaloids from Brazilian *Xylopi* species. *Química Nova*, v. 18, n. 1, p. 14-16, 1995.
- MATTOS, F. J. A. Introdução a fitoquímica experimental. 2a ed. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, p. 141, 1997.
- MATOS, M. F. C.; LEITE, L.I.S.P.; BRUSTOLIM, D.; DE SIQUEIRA, J.M.; CAROLLO, C.A. ; HELLMANN, A.R. ; PEREIRA, N.F.G. ; DA SILVA, D.B. Antineoplastic

- activity of selected constituents of *Duguetia glabriuscula*. *Fitoterapia*, v. 77, n. 3, p. 227-229, 2006
- MAT SALLEH, K.; AKIN, S.; IBRAHIM, H.; NAIS, J.; IBRAHIM, A. Z.; LATIFF, A.. On the plants collected in Tabin Wildlife Reserve, Lahad Datu, Sabah. *Sabah Museum Monograph 3*: p. 27-47. 1989.
- MENACHERY, M. D.; LAVANIER, G. L.; WETHERLY, M. L.; GUINAUDEAU, H.; SHAMMA, M. Simple isoquinoline alkaloids. *Journal of Natural Products*, v. 49, n. 5, p. 745-778, 1986.
- MERCK. Dyeing reagents for thin layer and paper chromatography. Germany: E. Merck, 118 p. 1971.
- MILLIKAN, B.H. Zoneamento sócioeconômicoecológico no Estado de Rondônia. Análise de um instrumento de Ordenamento Territorial na Fronteira Amazônica. Departamento de Geografia. Universidade de Berkeley, EUA. PNUD/PLANAFLORO. p 158. 1998.
- MIN, Z.; PEI-GEN, X. Distribution of benzylisoquinolines in magnoliidae and other taxa. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, v. 29, n. 2, p. 142-155, 1991.
- MIRANDA, M. M.; PANIS, C.; DA SILVA, S. S.; MACRI, J. A.; KAWAKAMI, N. Y.; HAYASHIDA, T. H.; MADEIRA, T. B.; ACQUARO JR., V. R.; NIXDORF, S. L.; PIZZATTI, L.; AMBRÓSIO, S. R.; CECCHINI, R.; ARAKAWA, N. S.; VERRI JR., W. A.; COSTA, I. C.; PAVANELLI, W. R. Kaurenoic Acid Possesses Leishmanicidal Activity by Triggering a NLRP12/IL-1 β /cNOS/NO Pathway. *Mediators of Inflammation*, Article ID 392918, p.1-10, 2015.
- MISHRA, B. B.; KALE, R.R.; SINGH, R. K.; TIWARI, V. K. Alkaloids: Future prospective to combat leishmaniasis. *Fitoterapia*, v. 79, n.8, p. 598-601, 2008.
- MONTANARI, C. A. Contribuição e perspectiva no desenvolvimento da farmacoterapia. *Química Nova*, v. 18, n. 1, 1995.
- MORAES, M. P. L.; ROQUE, N. F. Diterpenes from fruits of *Xylopiia aromatica*, *Phytochemistry*, v. 27, p. 3205-3208, 1988.
- MOREIRA, I. C.; LAGO, J. H. G.; YOUNG, M. C. M.; ROQUE, N. F. Antifungal aromadendrane sesquiterpenoids from the leaves of *Xylopiia brasiliensis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 14, p. 828-831, 2003.
- MOREIRA, I. C.; LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. Diterpene adducts from branches of *Xylopiia emarginata*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 34, p. 837-883, 2006.

- MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; CONTINI, K.; LAGO, J. H. G. Sesquiterpenos e hidrocarbonetos dos frutos de *Xylopiya emarginata* (Annonaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 55-58, 2007.
- MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; VILEGAS, W. ZALEWSKI, C. A.; LAGO, J. H. G.; FUNASAKI, M. Genus *Xylopiya* (Annonaceae): Chemical and biological aspects. *Chemistry & Biodiversity*, v. 10, 2013.
- MUNIER, R., *apud* MERCK, 1971. Dyeing reagents for thin layer and paper chromatography. *E. Merck*, Darmstadt, Germany, p. 118, 1953.
- MURILLO-A, J. Las Annonaceae de Colombia. *Biota Colombiana*, v.2, n. 1, p. 49-58, 2001.
- NASCIMENTO, F. DAS C.; BOAVENTURA, M. A. D.; ASSUNÇÃO, A. C. S.; PIMENTA, L. P. S. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. *Química Nova*, v. 26, n. 3, p. 319-322, 2003.
- NGUEMTCHOUIN, M. M. G.; NGASSOUM, M. B.; NGAMO, L. S. T.; GAUDU, X.; CRETIN, M. Insecticidal formulation based on *Xylopiya aethiopica* essential oil and kaolinite clay for maize protection. *Crop Protection*, v. 29, p. 985- 991, 2010.
- NGUYEN-POUPLIN, P.; TRAN, H.; TRAN, H.; PHAN, T. A.; DOLECEK, C.; FARRAR, J.; TRAN, T. H.; CARON, P.; BODO, B.; GRELLIER, P. Antimalarial and cytotoxic of ethnopharmacologically selected medicinal plant from South Vietnam. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, p. 417-427, 2007.
- NISHINO, C.; TOBIN, T. R.; BOWERS, W. S. Electroantennogram responses of the American cockroach to germacrene D sex pheromone mimic. *Journal of Insect Physiology*, v. 1910, n. 77, p. 90282-90287, 1977.
- NISHIYAMA, Y.; MORIYASU, M.; ICHIMARU, M.; IWASA, K.; KATO, A.; MATHENGE, S. G.; CHALO-MUTISO, P. B.; JUMA, F. D. Secondary and tertiary isoquinoline alkaloids from *Xylopiya parviflora*. *Phytochemistry*, v. 67, p. 2671-2675, 2006.
- NISHIYAMA, Y.; MORIYASU, M.; ICHIMARU, M.; IWASA, K.; IWASA, K.; KATO, A.; MATHENGE, S. G.; CHALO MUTISO, P. B.; JUMA, F. D. Antinociceptive effects of the extracts of *Xylopiya parviflora* bark and its alkaloidal components in experimental animals. *Natural Medical*, v. 64, p. 9-15, 2009.
- NISHIYAMA, Y.; MORIYASU, M.; ICHIMARU, M.; IWASA, K.; KATO, A.; MATHENGE, S. G.; MUTISO, P. B. C.; JUMA, F. D. Antinociceptive effects of the

- extracts of *Xylopia parviflora* bark and its alkaloidal components in experimental animals. *Journal Natural Medicin*, v. 64, p. 9–15, 2010.
- OBIRI, D.D.; OSAFO, N. Aqueous ethanol extract of the fruit of *Xylopia aethiopica* (Annonaceae) exhibits anti-anaphylactic and anti-inflammatory actions in mice. *Journal Ethnopharmacol*, v. 148, n. 3, p. 940-945, 2013.
- OKEKE, M.J.; IROEGBU, C.U.; EZE, E.N.; OKOLI, A.S.; ESIMONE, C.O. Evaluation of extracts of the root of *Landolphia owerrience* for antibacterial activity. *Journal Ethnopharmacology*, v. 78, p. 119-127, 2001.
- OLIVEIRA, A. P.; FURTADO, F.F.; SILVA, M.S.; TAVARES, J.F.; MAFRA, R.A.; ARAÚJO, D. A. M.; CRUZ, J.S.; MEDEIROS, I.A. Calcium channel blockade as a target for the cardiovascular effects induced by the 8 (17), 12E, 14-labdatrien-18-oic acid (labdane-302). *Vasc Pharmacol*, v. 44, p. 338-344, 2006.
- OLIVEIRA, V. M. Contribuição ao estudo químico e biológico de *Annona pulchra* H. Rainer. 2007. 112p. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.
- OMAR, S. et al. Phenanthrene lactans from *Goniothalamus velutinus*. *Phytopchemistry*, v. 31, n. 12, p. 4395-4397, 1992.
- ORTIZ, A. A.; SUAREZ, L. E. C.; PATIÑO, G. S. Aporfinoídes en hojas de *Oxandra longipetala* R. E. FR. (Annonaceae). *Scientia et Technica*, vol. XIII, n. 33, p. 19-22, 2007.
- OSORIO, E.; ARANGO, G. J.; JIMÉNEZ, N.; ALZATE, F.; RUIZ, G.; GUTIÉRREZ, D.; PACO, M. A.; GIMÉNEZ, A.; ROBLEDO, S. Antiprotozoal and cytotoxic activities in vitro of Colombian Annonaceae. *Journal Ethnopharmacol*, v. 111, p. 630–635, 2007.
- PIMENTA, L. P. S.; TAKAHASHI, J. A.; MENDONÇA, D. D.; SILVA, M. X. N-*trans*- e N-*cis*-feruloiltiramina isolada da madeira de *Xylopia benthamii* R.E. Fries. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009.
- PIMENTA, L. P.; MENDONÇA, D.D. Aporphine alkaloids and feruloylamides from the bark of *Xylopia benthamii* R.E. Fries (Annonaceae). *Natural Product Research*, v. 26, n. 20, p. 1948-1950, 2012.
- PINTO, A. C. DE Q.; CORDEIRO, M. C. R.; DE ANDRADE, S. R. M.; FERREIRA, F. R.; FILGUEIRAS, H. A. DE C.; ALVES, R. E.; KINPARA, D. I. *Annona* species. International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, UK. 2005.
- PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CÂMARA, C. A. G.; GONDIM-JÚNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; SCHWARTZ, M. O. E. Acaricidal activity of the essential oils

- leaves and fruits of *Xylopiia sericea* St. Hill. on the two spotted spide mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Química Nova*, v. 30, p. 838-841, 2007.
- PROTAIS, P.; ARBAOUI, J.; BAKKALI, E. H.; BERMEJO, A.; CORTES, D. Effects of various isoquinoline alkaloids on in vitro 3H-dopamine uptake by rat striatal synaptosomes. *Journal of Natural Products*, Cincinnati, v. 58, p. 1475-1484, 1995.
- PUJOL, I.; GUARRO, J.; LLOP, C.; SOLER, L.; FERNÁNDEZ-BALLART, J. Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests for the filamentous fungi. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 40, p. 2106-2110, 1996.
- PUVANENDRAN, S.; WICKRAMASINGHE, A.; KARUNARATNE, D. N.; CARR, G.; WLJESUNDARA, D. S. A.; ANDERSEN, R.; KARUNARATNE, V. Antioxidant constituents from *Xylopiia championii*. *Pharmaceutical Biology*, v. 46, n. 5, p. 352-355, 2008.
- PUVANENDRAN, S.; MANORANJAN, T.; WICKRAMASINGHE, A.; KARUNARATNE, D.N.; KUMAR, V.; WLJESUNDARA, S.; CARR, G.; ANDERSEN, R.; KARUNARATNE, V. Alkaloids from *Xylopiia parvifolia* and *Xylopiia nigricans* (Annonaceae). *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, v. 38, n. 1, p. 75-76, 2010.
- QUEIROZ, E. F.; ROBLLOT, F.; CAVÉ, A.; PAULO, M. Q.; FOURNET, A. Pseudoephedrine and spinosine, two catecholic berbines from *Annona spinescens*. *Journal of Natural Products*, v. 59, n. 4, p. 438-440, 1996.
- QUEIROZ, E. F.; ROBLLOT, F.; FIGADÈRE, B.; LAURENS, A.; DURET, P.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. Three new bistetrahydrofuran acetogenins from the seeds of *Annona spinescens*. *Journal of Natural Products*, v. 61, n. 1, p. 34-39, 1998.
- QUINTANS, J. S. S.; SOARES, B.; FERRAZ, R. C.; OLIVEIRA, A. A.; DA SILVA, T.; MENEZES, L. A.; SAMPAIO, M. C.; PRATA, A. D. N.; MORAES, M.; PESSOA, C.; ANTONIOLLI, A.; COSTA, E.; BEZERRA, D. Chemical constituents and anticancer effects of the essential oil from leaves of *Xylopiia laevigata*. *Planta Medica*, v.79, n. 2, p. 123-130, 2013.
- RABELO, D. de M. Estudo fitoquímico e biológico de *Guatteria citriodora* Ducke. 2008. 98f. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

- RABELO, D. M. Avaliação das Atividades Antibacteriana e Antiplasmódica de Espécies de Annonaceae da Amazônia: Estudo Fitoquímico Bioguiado de *Guatteria citriodora*. 2014. 142p. Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus- AM.
- REVILLA, J. Plantas úteis da Bacia Amazônica. Manaus: INPA, v.2, 2002.
- RIBEIRO, J. E. L. DA S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.C.L.; PEREIRA, E. DA C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCOPIO, L.C. Flora da Reserva Ducke Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. DFID (Departamento for International Development), Manaus – AM. 1999.
- RODRIGUES, A.M.S.; PAULA, J.E.; DEGALLIER, N.; MOLEZ, J.F.; ESPÍNDOLA, L.S. Larvicidal activity of some cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*. *J. Am. Mosq. Control Ass.*, v.22, n.2, p.314-317, 2006.
- ROSTELIEN, T.; BORG-KARLSON, A.K.; FÄLDT, J.; JACOBSSON, U.; MUSTAPARTA, H. The plant sesquiterpene germacrene D specifically activates a major type of antennal receptor neuron of the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*. *Chem Senses*, v.25, p. 141-148, 2000.
- SALVADOR, M. J.; FERREIRA, E. O.; PRAL, E. M. F.; ALFIERI, S. C.; ALBUQUERQUE, S.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. Bioactivity of crude extracts and some constituents of *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae). *Pytomedicine*, v. 9, p. 566-571, 2002.
- SALVADOR, M.J.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; CANDIDO, R.C.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. Comparative study of antibacterial and antifungal activity of callus culture and adults plants extracts from *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, p. 131-136, 2003_b.
- SALVADOR, M.J.; ZUCCHI, O.L.A.D.; CANDIDO, R.C.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. *In vitro* antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents of *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). *Pharmaceutical Biology*, v. 42, p. 138-148, 2004_b.
- SANTOS, A.F.; DIAS, R.C.; CARVALHO, J.M.; NASCIMENTO, R.R.; LIMA, I.S.; SANT'ANA, A.E.G. Atividade moluscicida de plantas da família Annonaceae. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS BRASIL, 15., 1998, Águas de Lindóia. Programa e resumos. Águas de Lindóia: [s.n.], 1998. p.118.


- SANTOS, A. G.; Contribuição ao estudo químico e biológico de *Annona impressivenia*. 2007. 101p. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.
- SANTOS, R. F.; MARTINS I. R. R.; TRAVASSOS, R. A.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; PAREDES-GAMERO, E. J.; FERREIRA, A. T.; NOUAILHETAS, V. L. A.; ABOULAFIA, J.; RIGONI, V. L. S.; SILVA, B. A. Ent-7 α -acetoxylachyloban-18-oic acid and ent-7 α -hydroxylachyloban-18-oic acid from *Xylopiya langsdorffiana* A. St-Hil. & Tul. modulate K⁺ and Ca²⁺ channels to reduce cytosolic calcium concentration on guinea pig ileum. *European Journal of Pharmacology*, v. 678, p. 39–47, 2012.
- SCHMIDT, J.; RAITH, K.; BOETTCHER, C.; ZENK, M. H. Analysis of benzyloquinoline-type alkaloids by electrospray tandem mass spectrometry and atmospheric pressure photoionization. *European Journal Mass Spectrom*, v. 11, p. 325-333, 2005.
- SCHULTES, R.E.; RAFFAUF, R.F. The healing forest: medicinal and toxic plants of the north west Amazonia. Portland: Dioscorides Press, 1990. 483p. (Historical, Ethno & Economic Botany Series. v.2).
- SHAMMA M.; H. GUINAUDEAU. Biogenetic pathways for the aporphinoid alkaloids. *Tetrahedron*, v. 40, p. 4795-4822, 1984.
- SHIM, H. J.; LEE, J. Y.; KIM, B.; HONG, J. General Fragmentations of Alkaloids in Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Mass Spectrometry Letters*, v. 4, n. 4, 2013.
- SILVA, M. S.; TAVARES, J. F.; QUEIROGA, K. F.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Alcaloides e outros constituintes de *Xylopiya langsdorffiana* (Annonaceae). *Química Nova*, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.
- SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F.; ALMEIDA, R. A.; SOUZA, A. D. L.; PINHEIRO, M. L. B.; COSTA, E. V. Desreplicação de alcaloides aporfínicos e oxoaporfínicos de *Unonopsis guatterioides* por ESI-IT-MS. *Química Nova*, v. 35, n. 5, p. 944-947, 2012.
- SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J.T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M.R.,. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal Natural Cancer Institut*, v. 82, p. 1107-1118, 1990.
- SILVA, V. C.; VALLADÃO, D. M. S.; FERREIRA, J. N.; DALL’OGLIO, E. L.; SILVA, M. S.; SOUSA, P. T. Amidas das sementes de *Xylopiya aromatica* (Lam.) Mart.. In: Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2010 , Fortaleza.

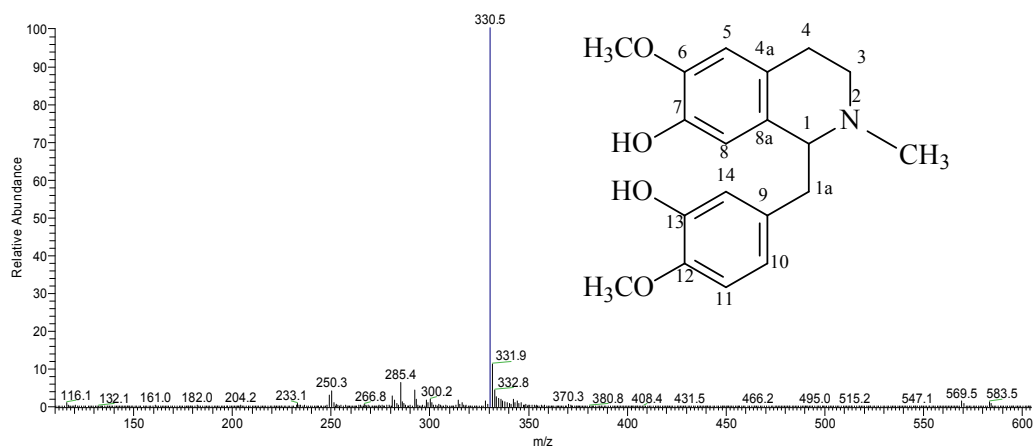
- SIQUEIRA, J. M.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* leach. *Química Nova*, v. 21, n. 5, p. 557-559, 1998.
- STASKENKO, E. E.; JARAMILLO, B. E.; MARTINEZ, J. R. Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiya aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *Journal of Chromatography A.*, v. 1024, p. 105- 113, 2004.
- STÉVIGNY, C.; JIWAN, J.L. H.; ROZENBERG R.; HOFFMANN, E.; QUETIN-LECLERCQ, J. Key fragmentation patterns of aporphine alkaloids by electrospray ionization with multistage mass spectrometry. *RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY*, v. 18, p. 523–528, 2004.
- STÉVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUETIN-LACLERCQ, J. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, v. 5, n.2, p. 173-182, 2005.
- STEFANELLO, D.; IVANAUSKAS, N. M.; MARTINS, S. V.; SILVA, E.; KUNZ, S. H. Síndromes de dispersão de diásporos das espécies de trechos de vegetação ciliar do rio das Pacas, Querência – MT. *Ciências Florestais*, 2009.
- SOH, D.; NKWENGOUA, E.; NGANTCHOU, I.; NYASSE, B.; DENIER, C. Xylopioxyde and other bioactive kaurane-diterpenes from *Xylopiya aethiopica* Dunal (Annonaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 3, n. 12, p. 013-019, 2013.
- SOMOVA, L. I.; SHODE, F. O.; MOODLEY, K.; GOVENDER, Y. Cardiovascular and diuretic activity of kaurene derivatives of *Xylopiya aethiopica* and *alepidea amatymbica*. *Journal Ethnopharmacological*, v. 77, p. 165-174, 2001.
- SUFFREDINI, I. B.; PACIENCIA, M. L.; VARELLA, A. D.; YOUNES, R. N. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leukemia. *Fitoterapia*, v. 78, p. 223-226, 2007.
- THANG, T. D.; KUO, P. C.; LOUNG, N. X.; VAN HAC, L.; KUO, Y. H.; YANG, M. L.; WU, T. S. Chemical constituents from the leaves of *Xylopiya poilanei* and their bioactivity. *Heterocycles*, v. 78, n. 3, p. 783-790, 2009.
- TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D.; BAYMA, J. C.; OLIVEIRA, A. B. Frutoic acid, a dimeric kaurane diterpene from *Xylopiya frutescens*. *Phytochemistry*, v. 40, p. 607-609, 1995.

- TAKAHASHI, J. A.; VIEIRA, H. S.; HANSON, J. R.; HITCHCOCK, P. B.; OLIVEIRA, A. B.; BOAVENTURA, M. A. D. Mono and diterpenes from seeds of *Xylopia sericea*. Química Nova, v. 24, p. 616-618, 2001.
- TAKAHASHI, J. A.; PEREIRA, C. R.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D.; SILVA, L. G. F. E. Antibacterial activity of eight Brazilian Annonaceae plants. Natural Product Research, v. 20, n. 1, p. 21-26, 2006.
- TATSADJIEU, L. N.; ESSIA NGANG, J. J.; NGASSOUM, M. B.; ETOA, F. X. Antibacterial and antifungal activity of *Xylopia aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. Fitoterapia, v. 74, p. 469-472, 2003.
- TAVARES, J. F.; QUEIROGA, K. F.; SILVA, M. V. B.; DINIZ, M. F. F. M.; FILHO, J. M. B.; DA CUNHA, E. V. L.; SIMONE, C. A.; ARAÚJO JÚNIOR, J. X.; MELO, P. S.; HAUN, M.; SILVA, M. S. ent-traquilobane diterpenoids from *Xylopia langsdorffiana*, Journal Natural Product, v. 69, p. 960-962, 2006.
- TAVARES, J. F.; QUEIROGA, K. F.; MARTINS, R. M.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. S.; MARCELO, S. Composition and molluscicidal properties of essential from leaves of *Xylopia langsdorffiana* A. St. Hil. et Tul (Annonaceae). Journal of Essential oil Research, v. 19, n. 3, p. 282-284, 2007.
- TAVARES, J. F.; SILVA, M. V. B.; QUEIROGA, K. F.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; HAUN, M.; MELO, P. S.; SILVA, M. S. Xylodiol, a new atisane diterpenoid from *Xylopia langsdorffiana* St.-Hil. & Tul. (Annonaceae). Z. Naturforsch., v. 62b, p. 742-744, 2007 a.
- TIAN, L.; HAN, Y.; MENG, Z.; XIA, C.; ZHANG, J. Study on chemical constituents of *Annona glabra*. Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao, v. 32, n. 1, p. 10-12, 2001.
- TOUCHÉ, A.; DESCONCLOIS, J. F.; JACQUEMIN, H. LELIEVRE, Y.; FORGACS, P. Some constituents of Annonaceae from Guiana. Qualitative and quantitative analysis of basic free amino acids. Presence of a triterpene polycarpol, Planta Med. Phytother., v. 15, p. 4-9, 1981.
- VALTER, J. L.; ALENCAR, K. M. C.; SARTORI, A. L. B.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R.; MORAIS, S. A. L.; LAURA, V. A.; YOSHIDA, N. C.; CAROLLO, C. A.; SILVA, D. B.; GRASSI, R. F.; FABRI, J. R.; SIQUEIRA, J. M. Variação química no óleo essencial das folhas de seis indivíduos de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 3, p. 373-378, 2008.

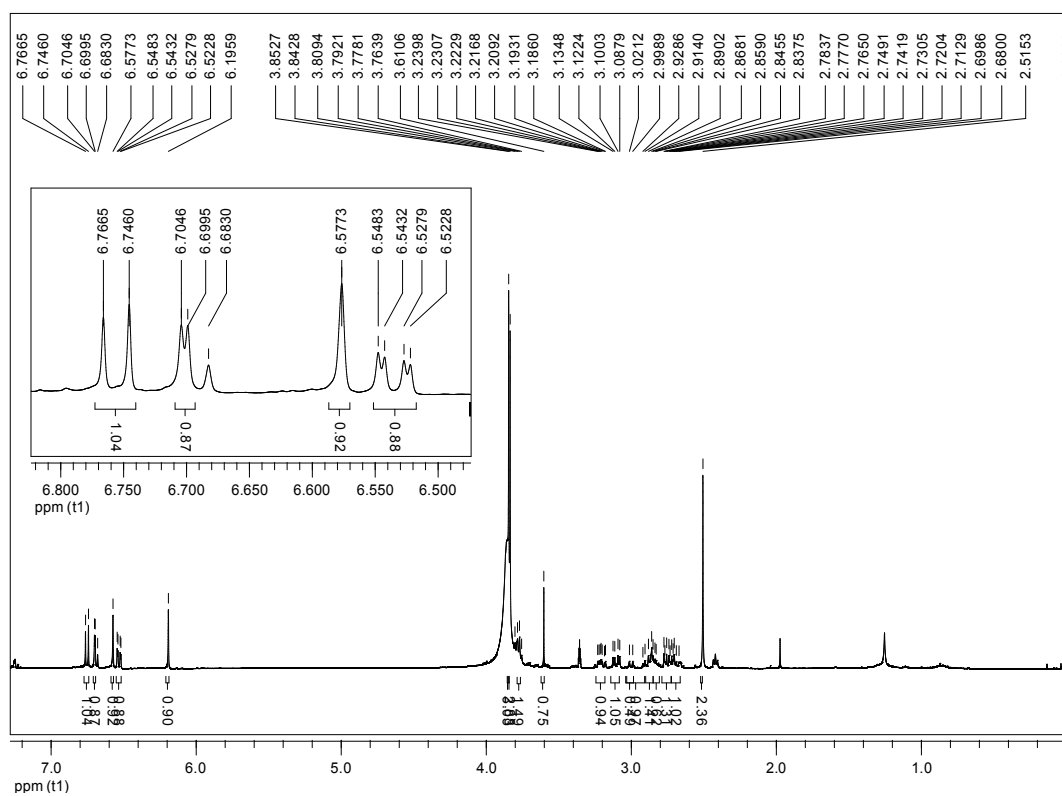
- VEGA, M. R. G.; ESTEVES-SOUZA, A.; VIEIRA, I. J. C.; MATHIAS, L.; BRAZ-FOLHO, R.; ECHEVARRIA, A. Flavonoids from *Annona dióica* leaves and their effects in ehrlich carcinoma cells, DNA-topoisomerase I and II. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 18, n. 8, 2007.
- VERGARA, J. L. T.; HERNÁNDEZ, J. E.; CARVAJAL, G. A. V.; RAMOS, J. D. Trypanomicidal activity of etanol extract from *Xylopiá aromática* on tripasonoma cruzi. *Revista Cubana de Farmacia*, v. 40, 2006.
- WAHL, A.; ROBLLOT, F.; CAVÉ, A. Isolation and structure elucidation of xylobuxin, a new neolignan from *Xylopiá bruxifolia*. *Journal Natural Product*, v. 58, p. 786-789, 1995.
- WEBBER, A. C. *Biologia floral de algumas Annonaceae na região de Manaus, AM*. 1981. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas, INPA, BR.
- WEBBER, A. C. *Biologia floral, polinização e fenologia de algumas Annonaceae na região de Manaus AM*. 1996. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas, INPA, Brasil.
- WEBBER, A. C.; GOTTSBERGER, G. Phenological Patterns of Six *Xylopiá* (Annonaceae) Species in Central Amazonia. *Phyton (Horn, Austria)*, v. 39, n. 2, p. 293-301, 1999.
- WINK, M. Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites”, en *Biochemistry of plant secondary metabolism*. Michael Wink (ed), *Annual plant reviews*, v. 40, p. 1-19, 2010.
- WOGUEM, V.; FOGANG, H. P.D.; MAGGI, F.; TAPONDJOU, L. A.; WOMENI, H. M.; QUASSINTI, L.; BRAMUCCI, M.; VITALI, L. A.; PETRELLI, D.; LUPIDI, G.; PAPA F.; VITTORI, S.; BARBONI, L. Volatile oil from striped African pepper (*Xylopiá parviflora*, Annonaceae) possesses notable chemopreventive, anti-inflammatory and antimicrobial potential. *Food Chemistry*, v. 149, p. 183–189, 2014.
- WU, Y.-C.; CHANG, G.-Y.; DUTH, C.-Y.; WANG, S.-K. Cytotoxic alkaloids of *Annona montana*. *Phytochemistry*, v. 33, n. 2, p. 497-500, 1993.
- YANG, Y. L.; CHANG, F. R.; WU, Y. C. Annosqualine: a novel alkaloid from the stems of *Annona squomosa*. *Helvetica Chimica Acta*, v. 87, n. 6, p. 1392-1399, 2004.
- ZAWAWI, N. K.A.; AHMAT, N.; AHMAD, R.; JAAFAR, F. M.; GHANI, N. A. Oxoaporphine alkaloids and flavonols from *Xylopiá ferruginea* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 43, p. 7-9, 2012.

Anexo I - Espectros

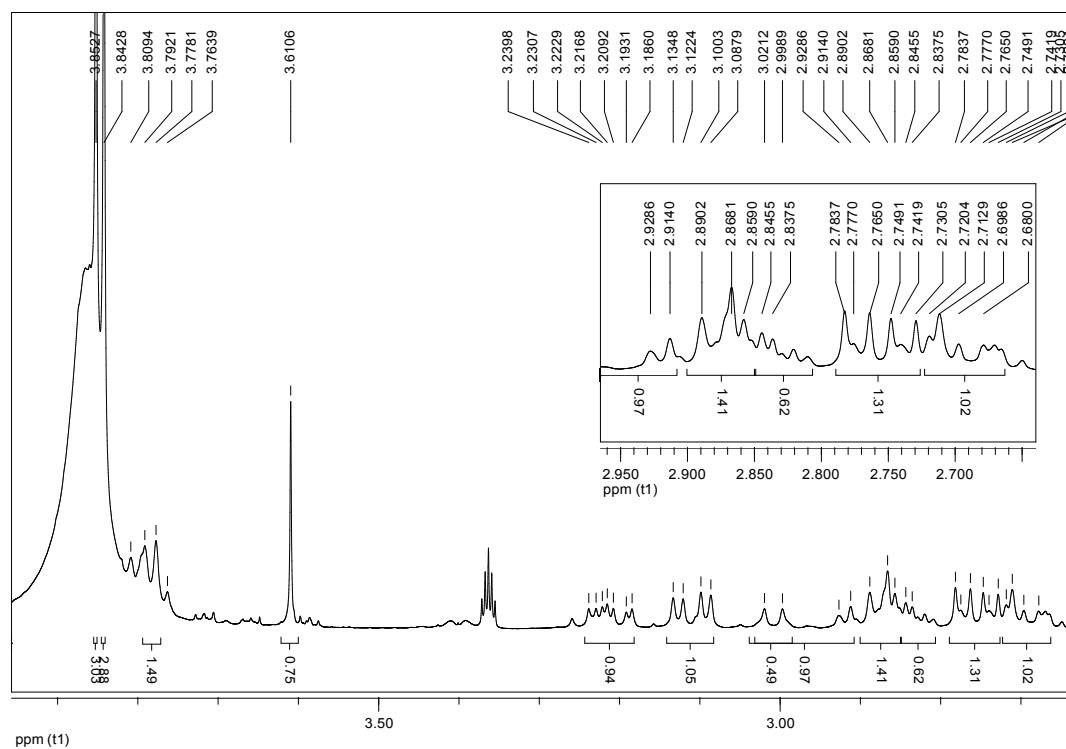




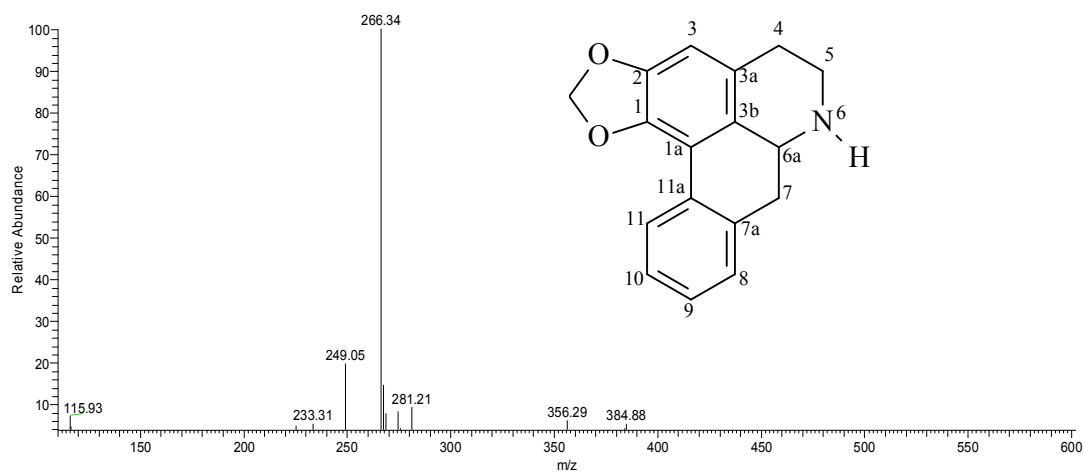
Espectro 1. Espectro de massa *full MS* obtido em modo positivo da substância Xef1.



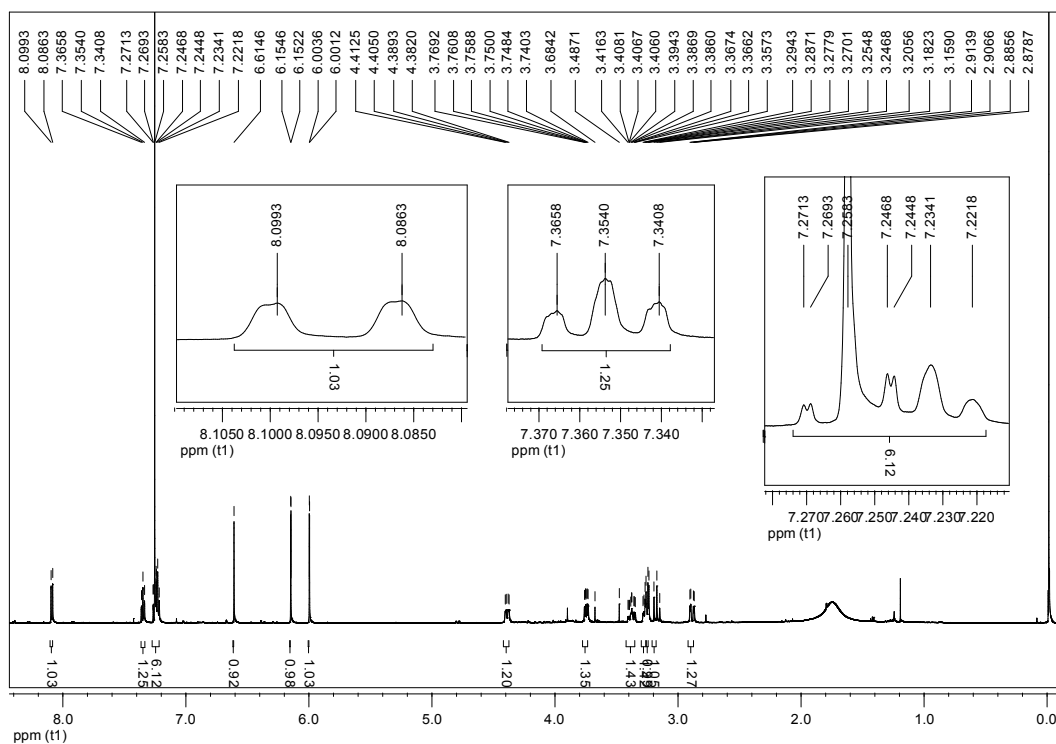
Espectro 2. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ + gotas de CD₃OD) da substância Xef1.



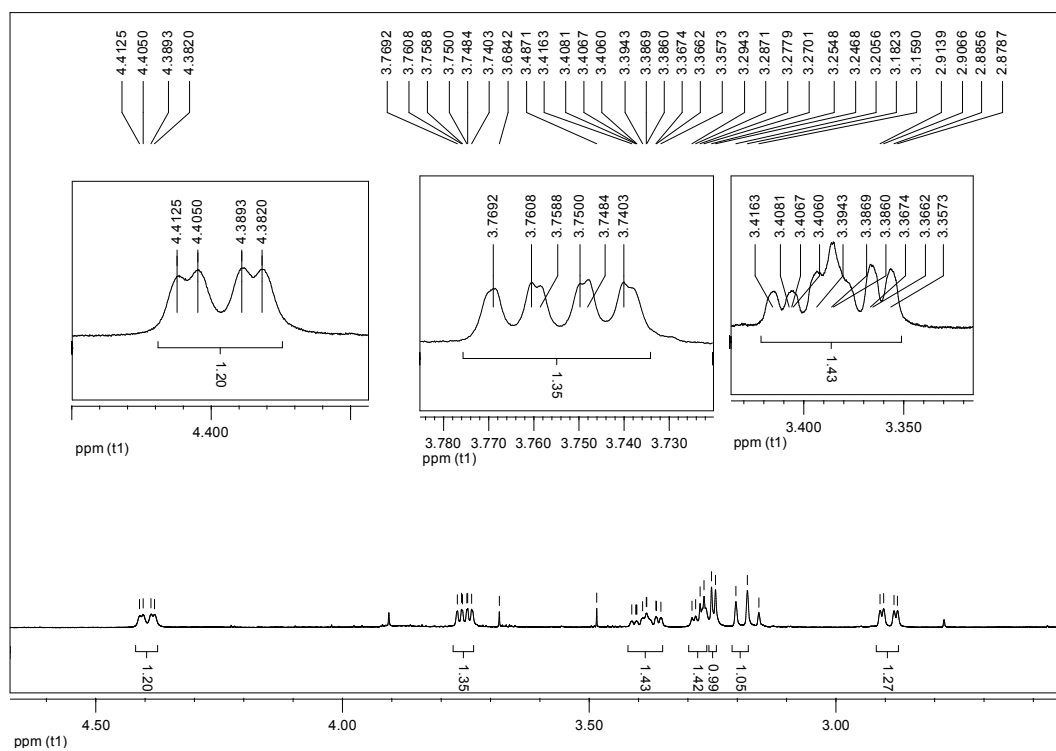
Espectro 3. Ampliação da região alifática Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância XeF1.



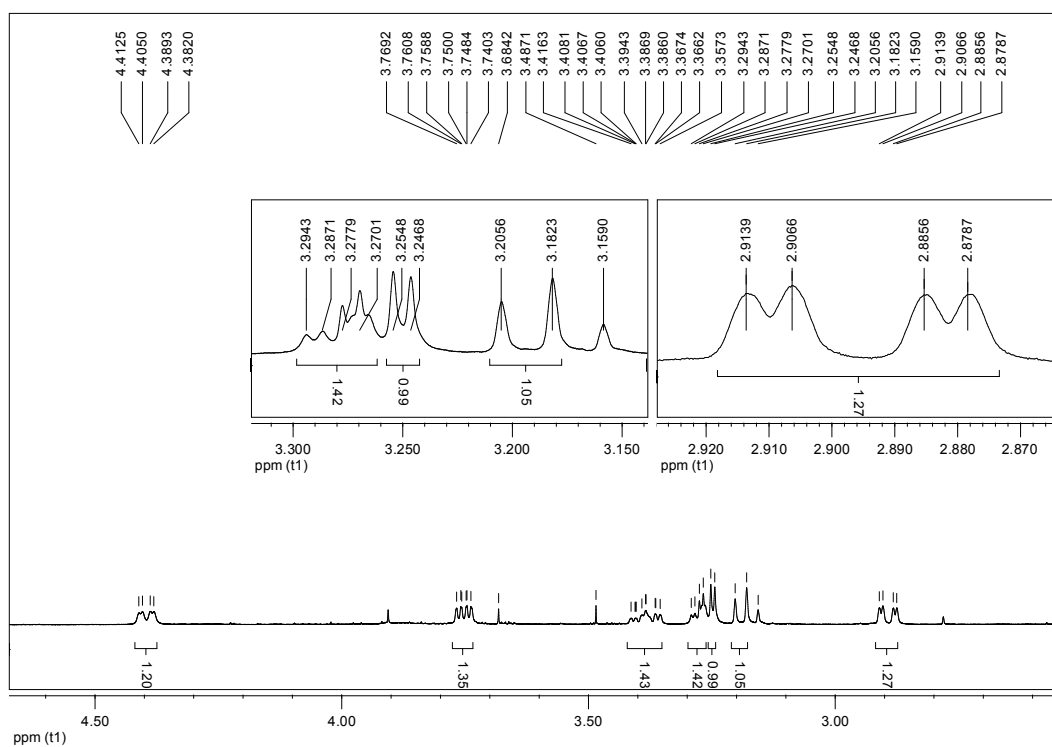
Espectro 4. Espectro de massa *full* MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF2



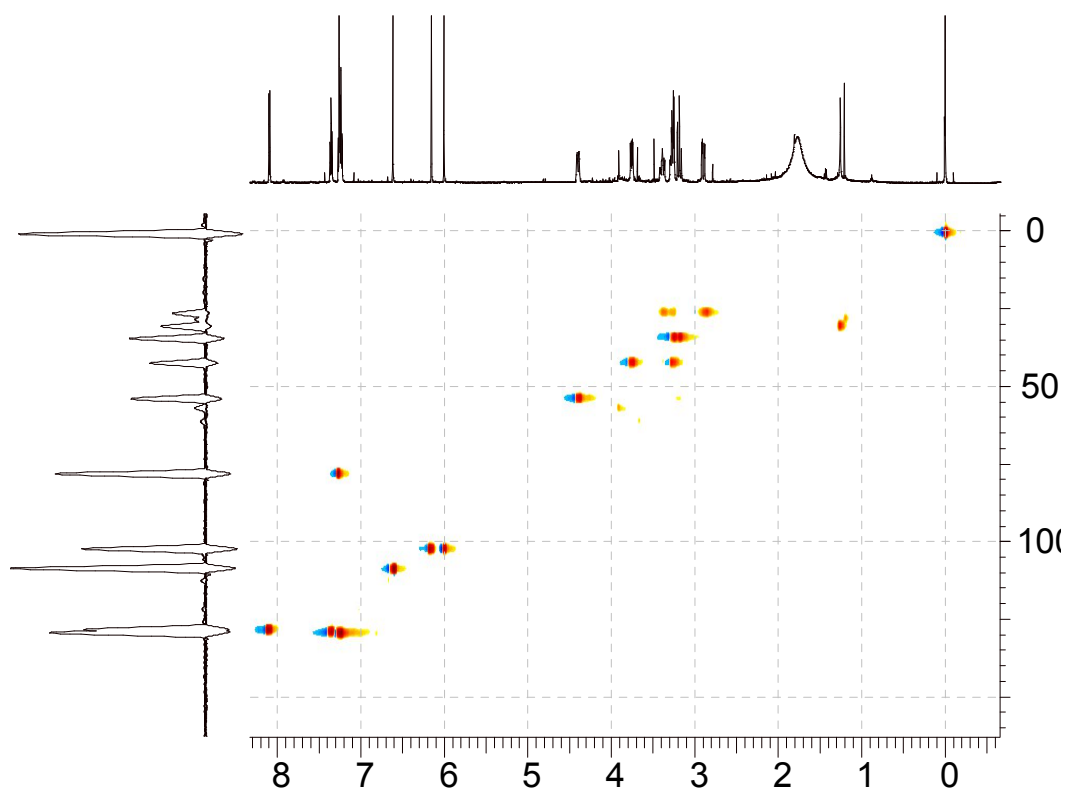
Espectro 5. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância Xef2.



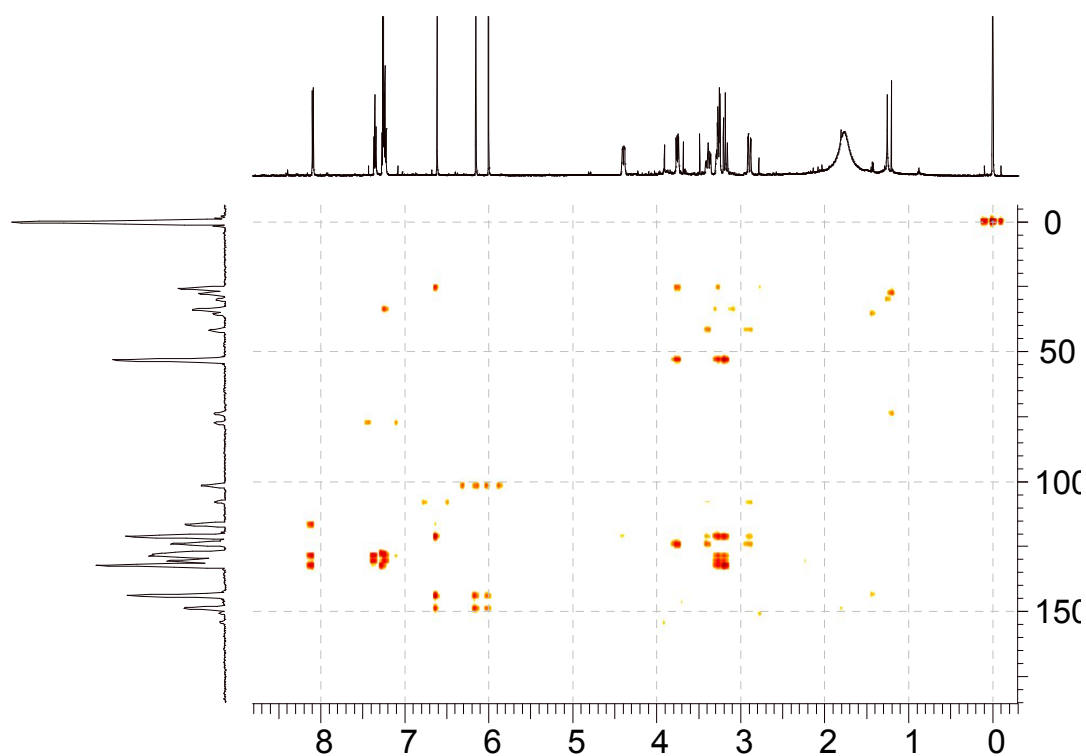
Espectro 6. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância Xef2.



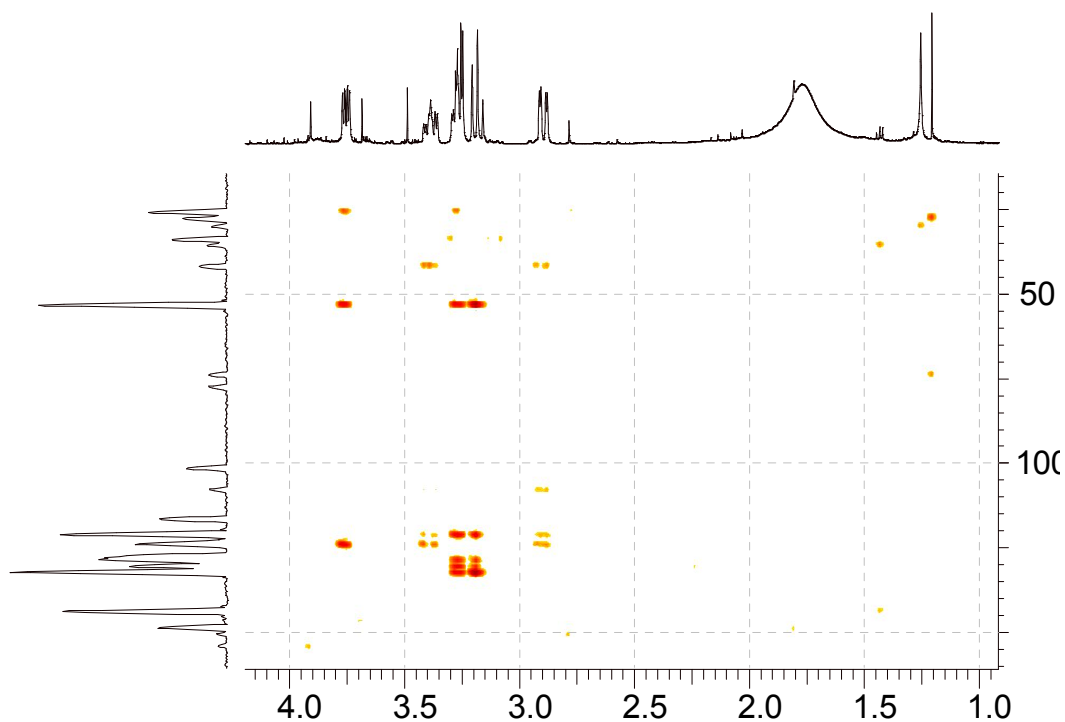
Espectro 7. Ampliação do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3 + gotas de CD_3OD) da substância XeF2.



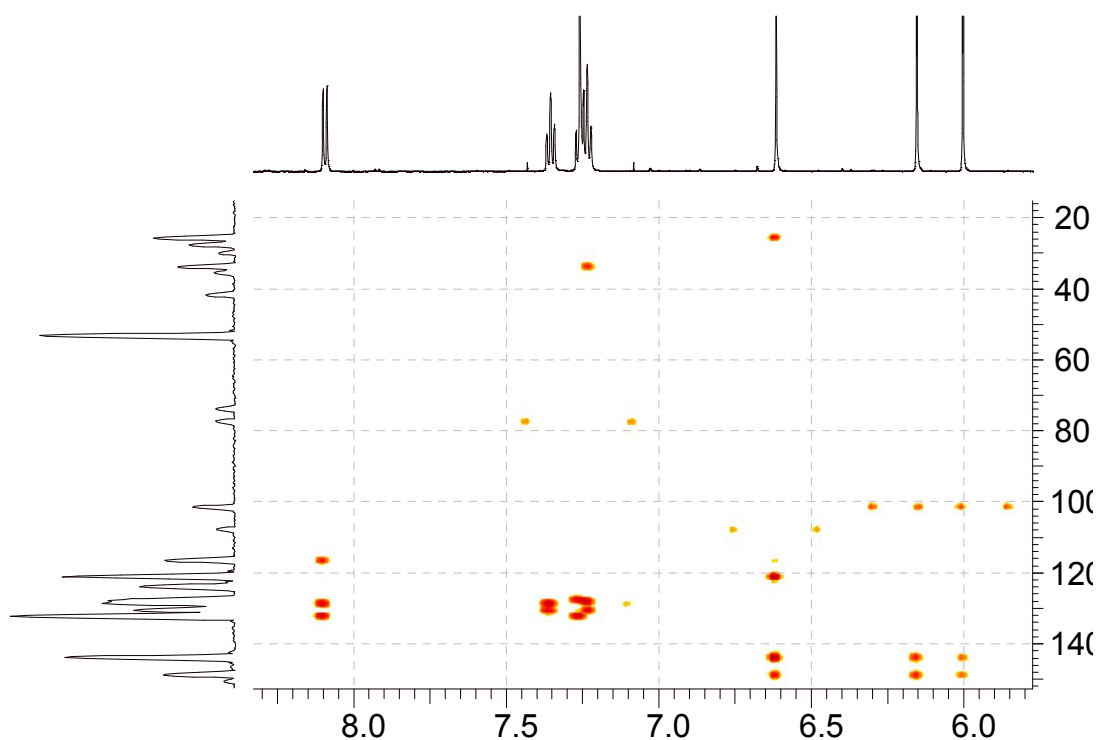
Espectro 8. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF2.



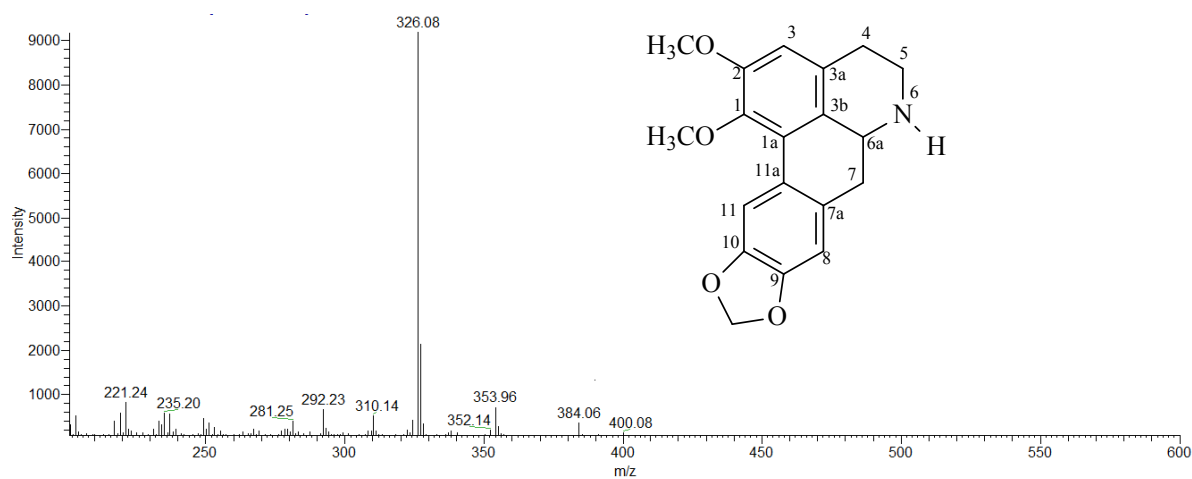
Espectro 9. Mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF 2.



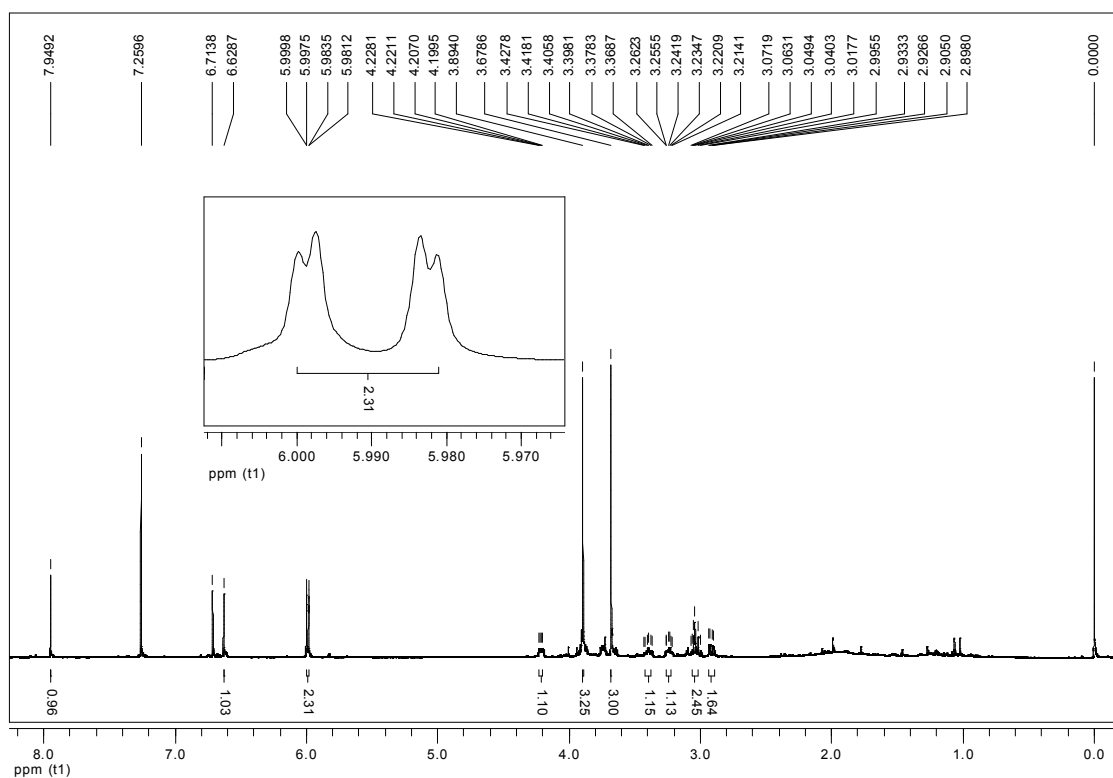
Espectro 10. Expansão do espectro de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 160 a 20 ppm da substância XeF2.



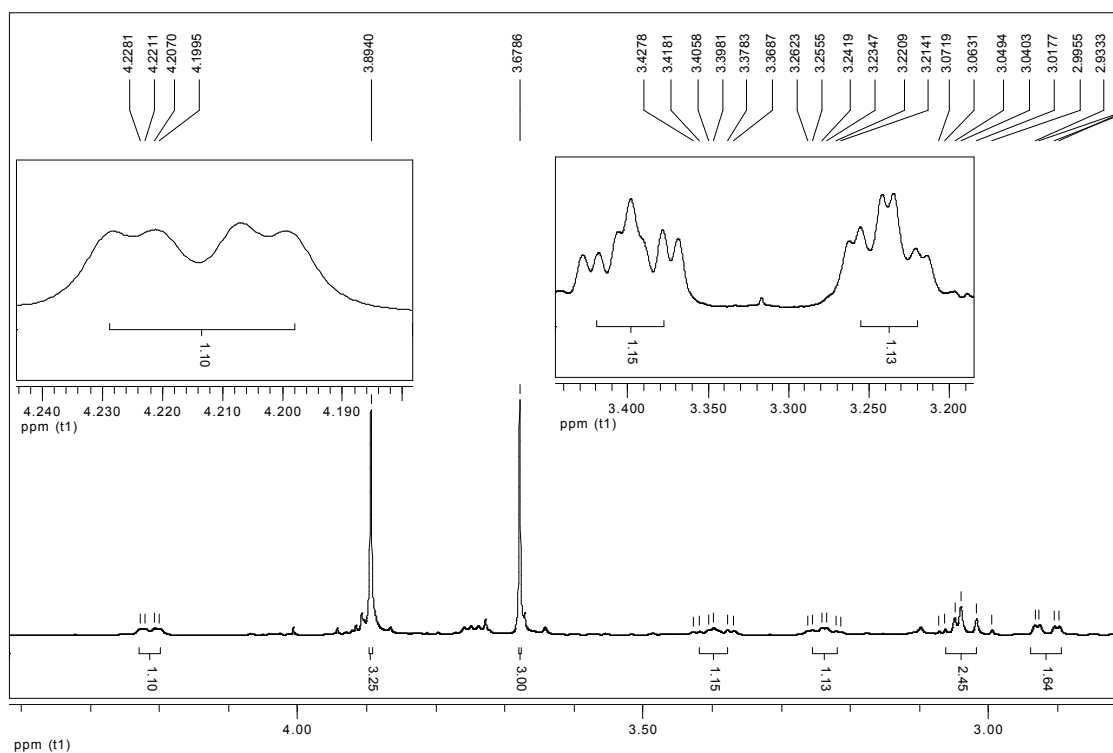
Espectro 11. Expansão do espectro de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 145 a 20 ppm da substância XeF2.



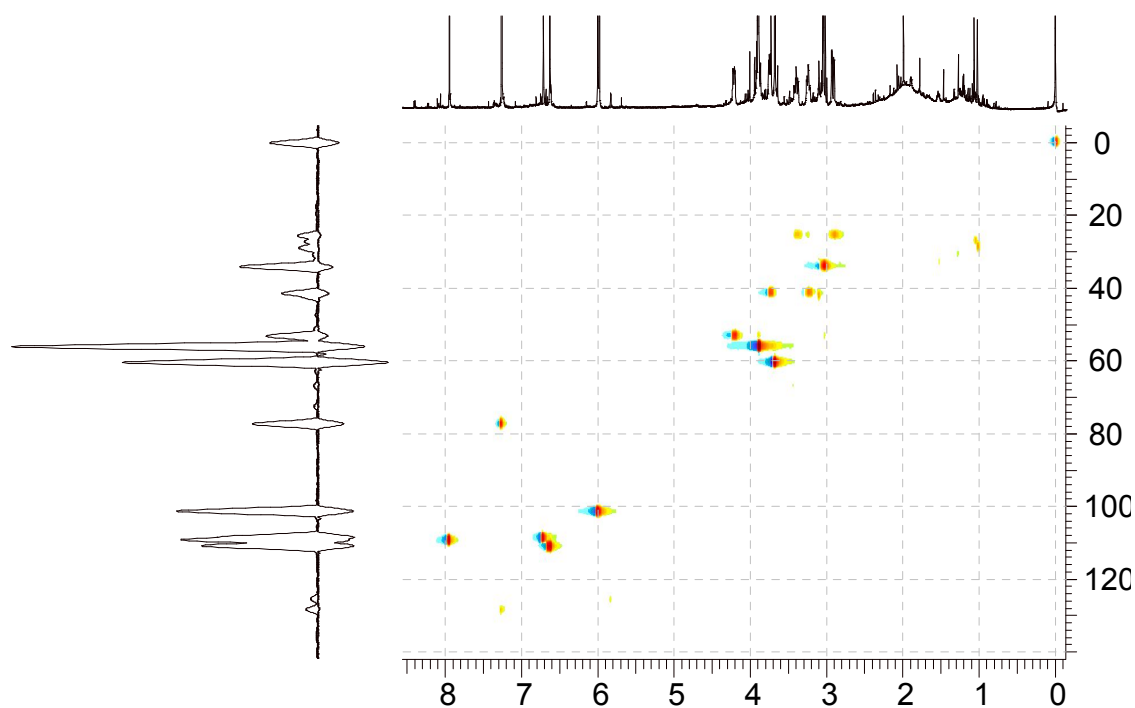
Espectro 12 . Espectro de massa *full* MS obtido em modo positivo da substância XeF9.



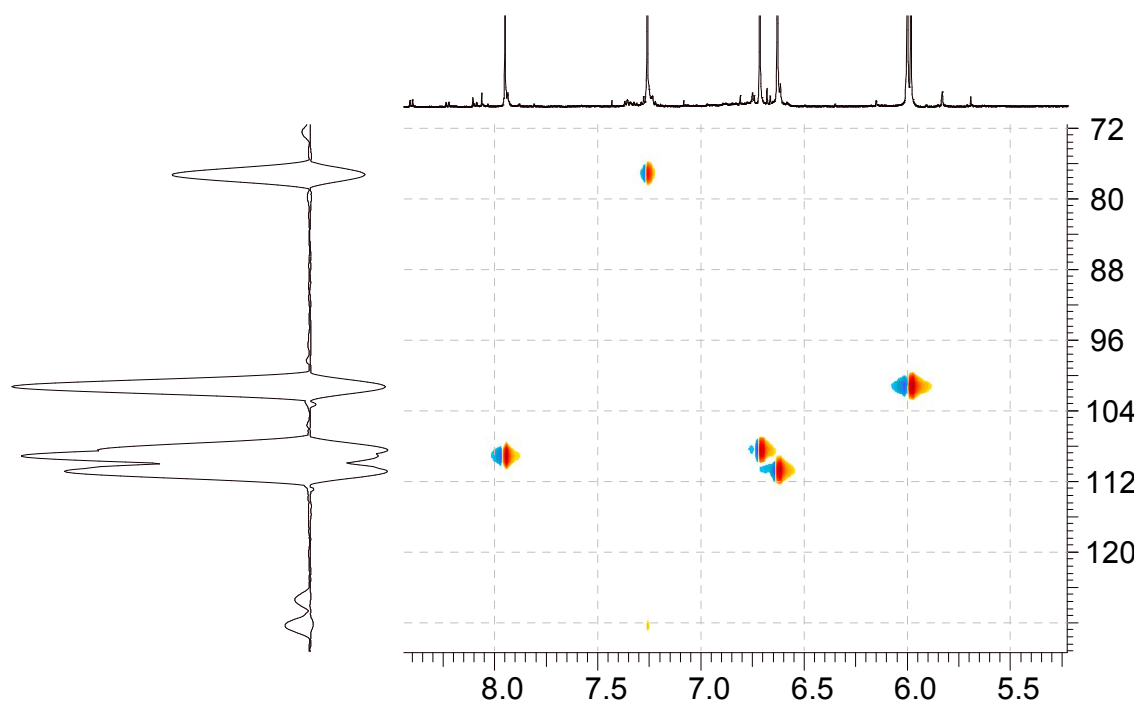
Espectro 13. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF9



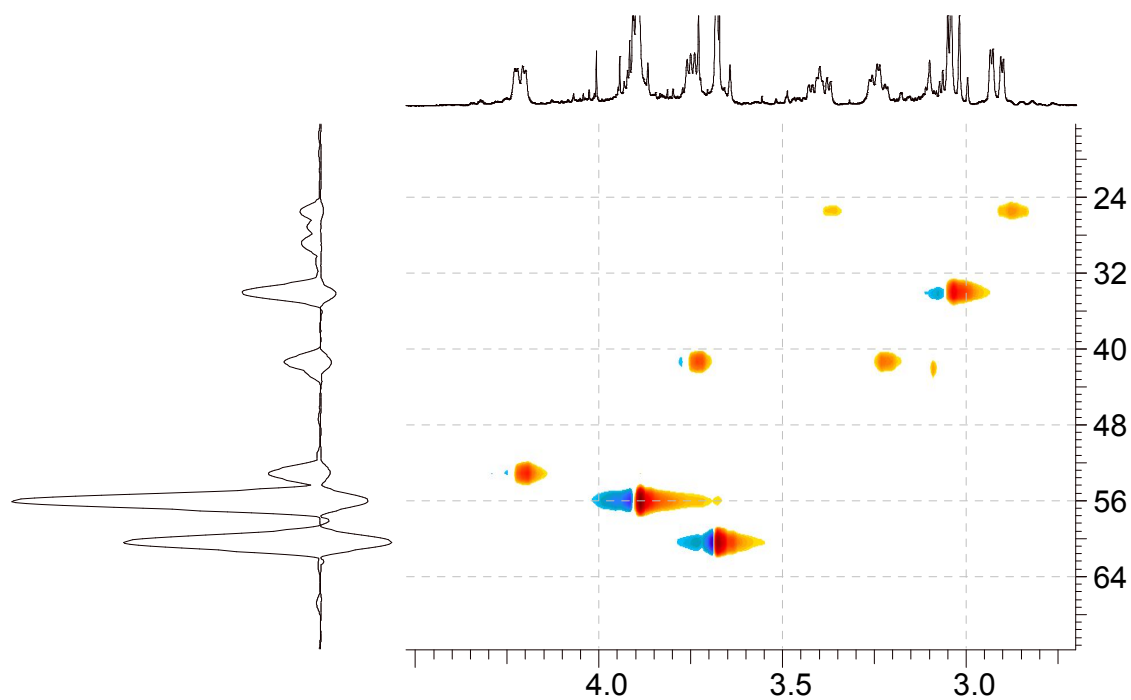
Espectro 14. Ampliação da região 2,50 – 4,22 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF9



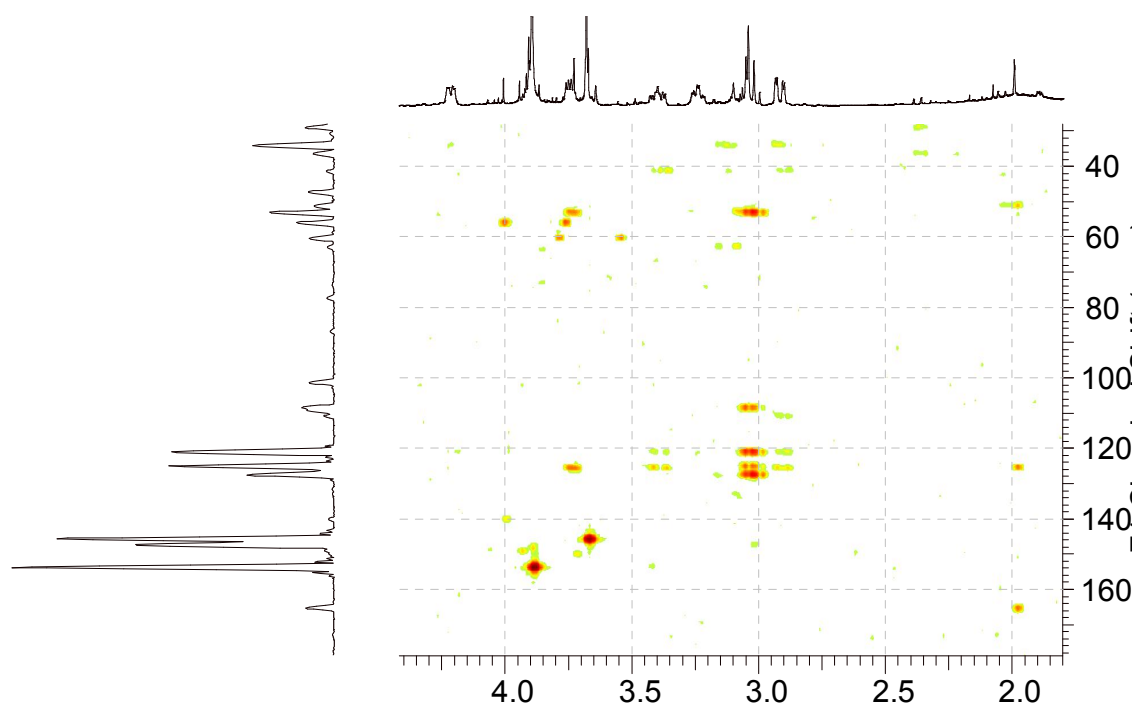
Espectro 15. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF9



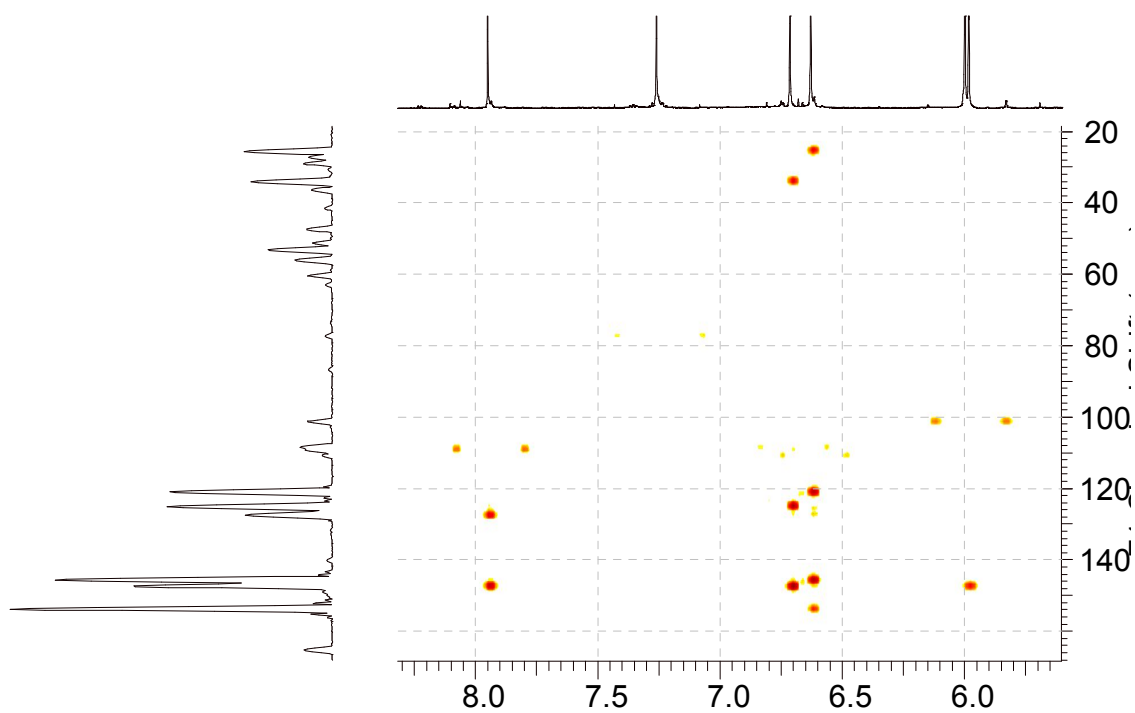
Espectro 16. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 120 a 72 ppm da substância XeF9



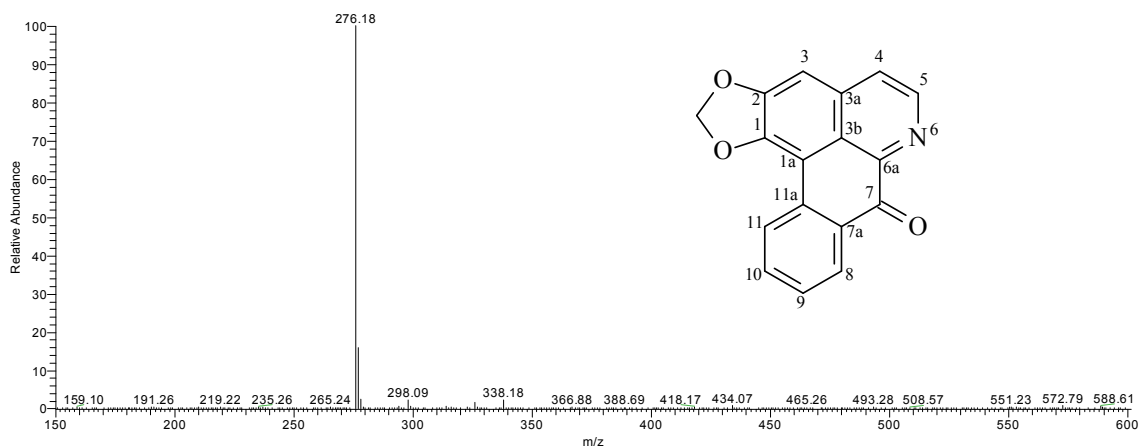
Espectro 17. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 64 a 24 ppm da substância XeF9



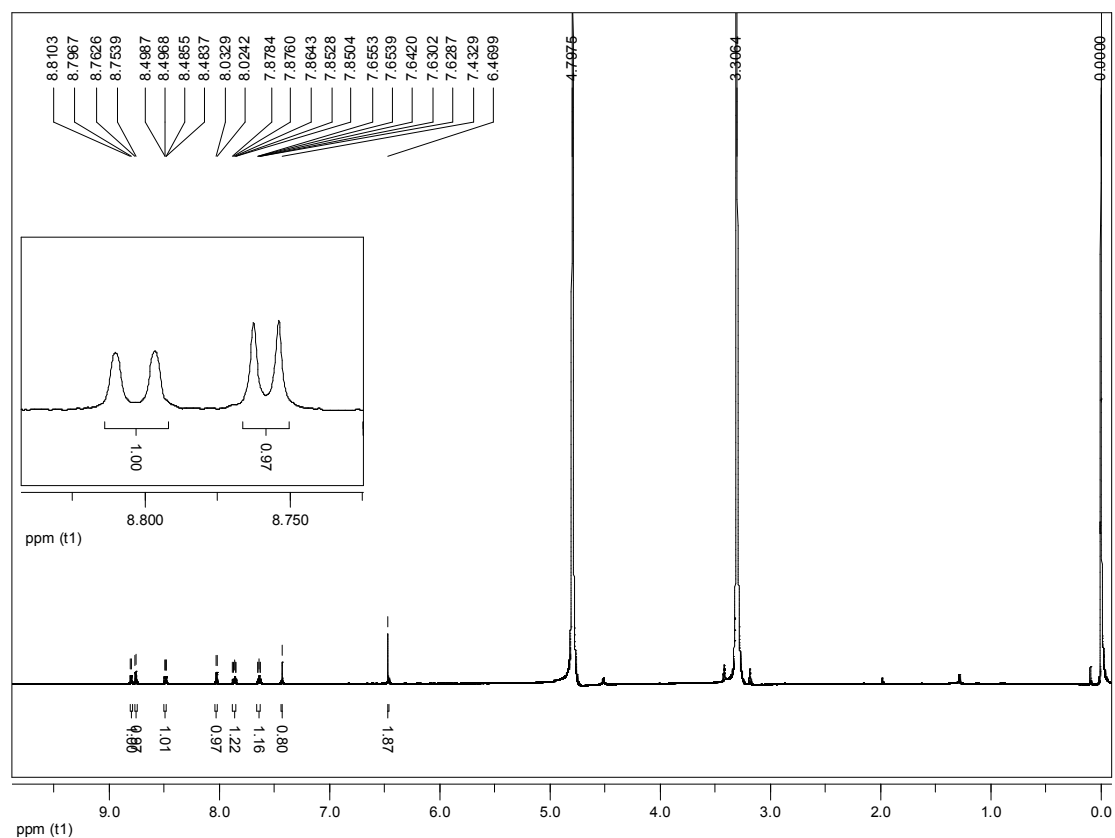
Espectro 18. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 165 a 35 ppm da substância XeF9



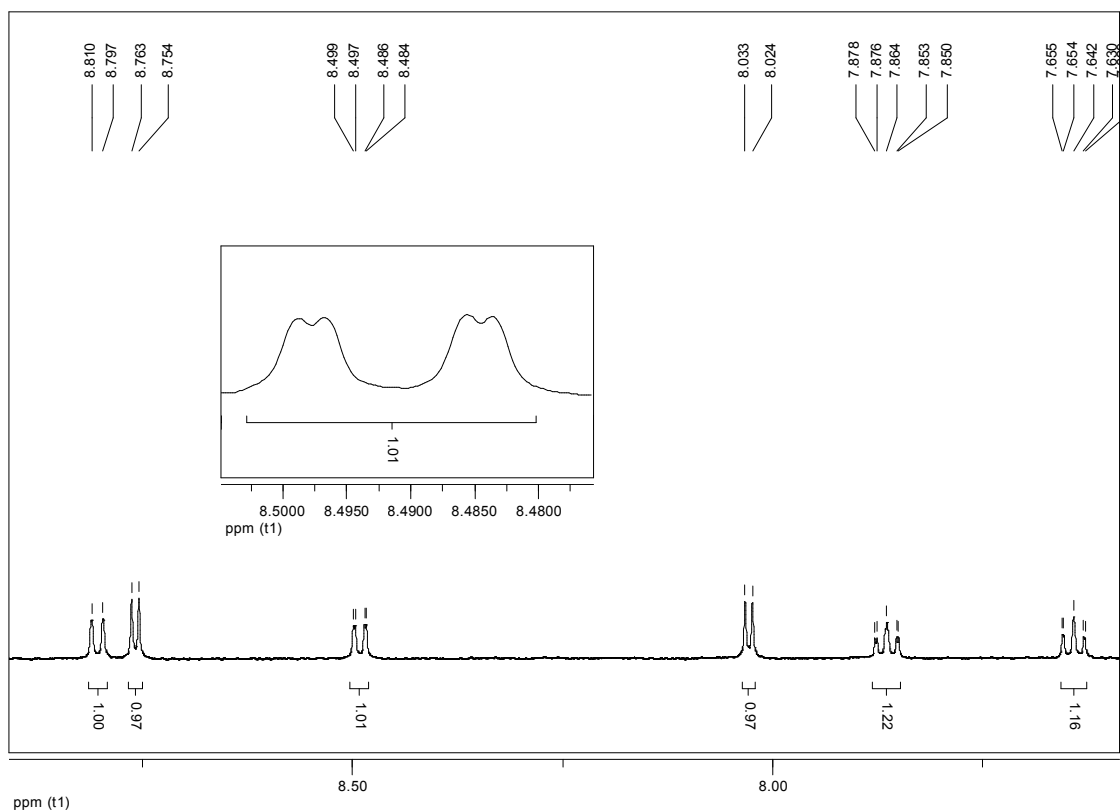
Espectro 19. Expansão do espectro de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 150 a 20 ppm da substância XeF9.



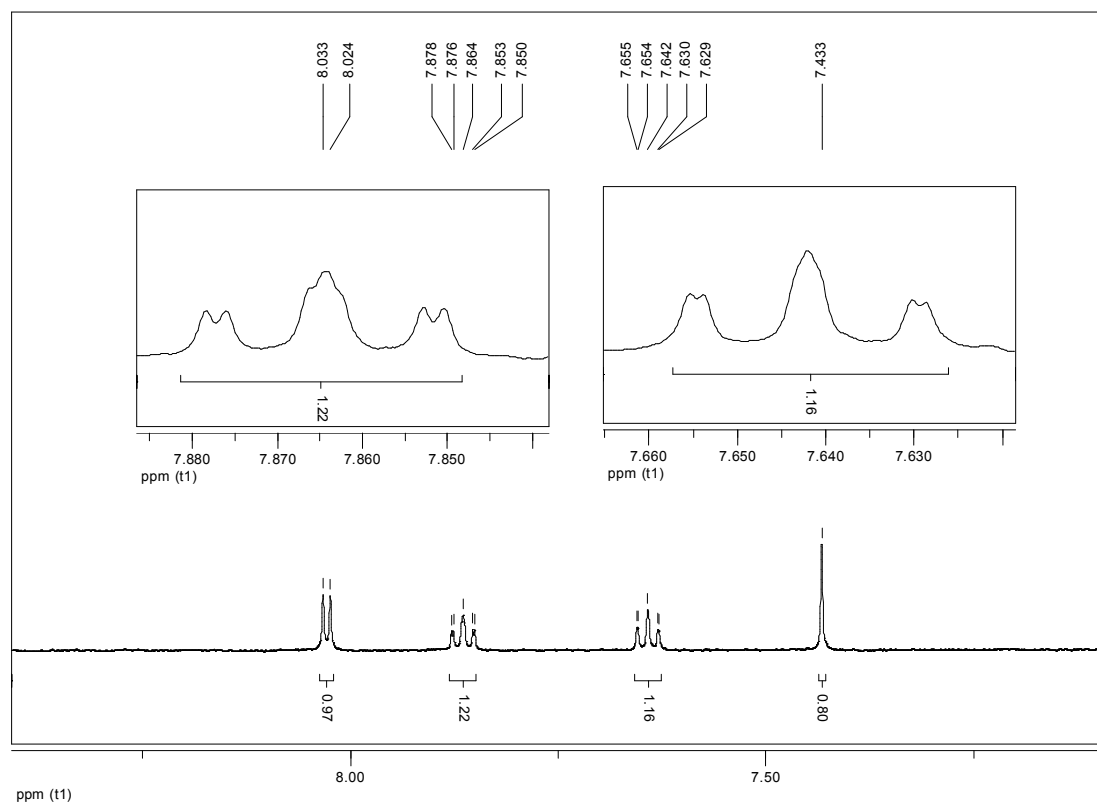
Espectro 20. Espectro de massa *full* MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF4



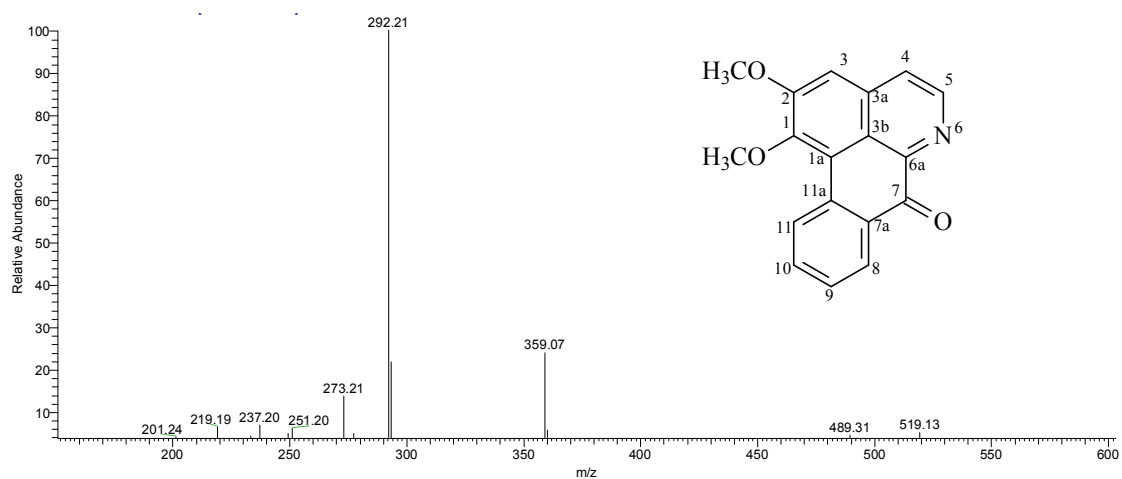
Espectro 21. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF4.



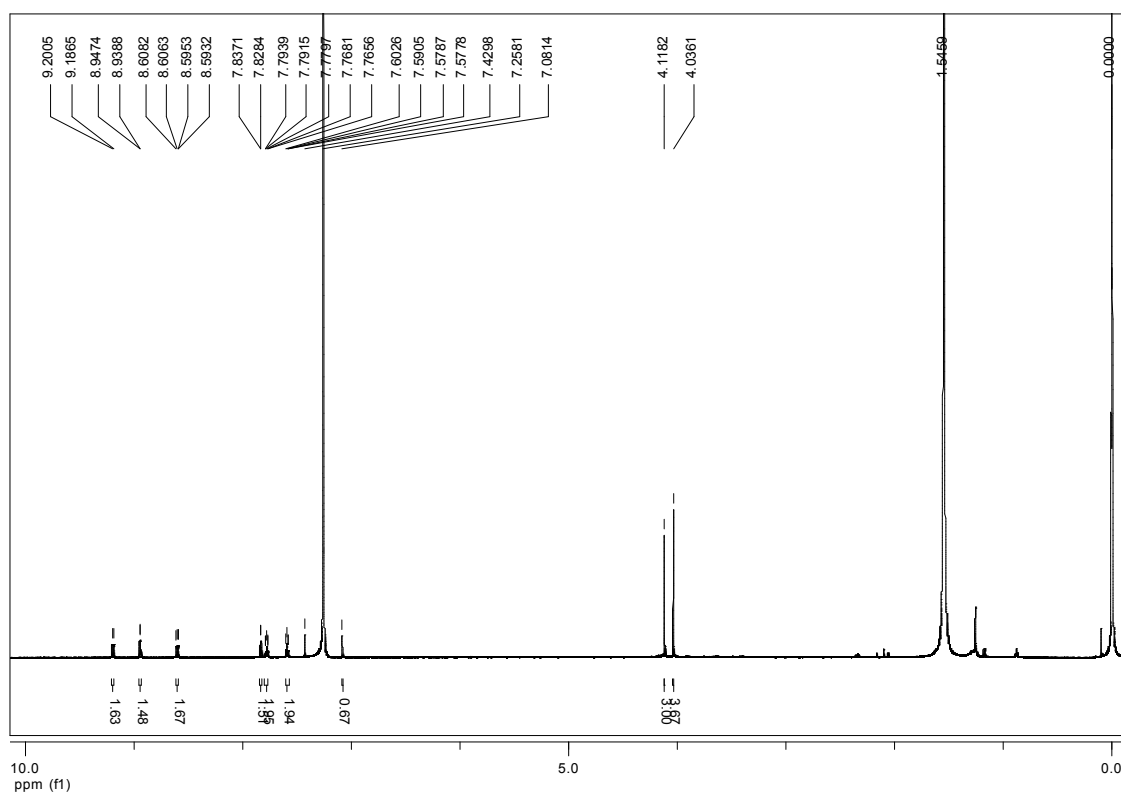
Espectro 22. Ampliação da região 7,63 – 8,81 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF4.



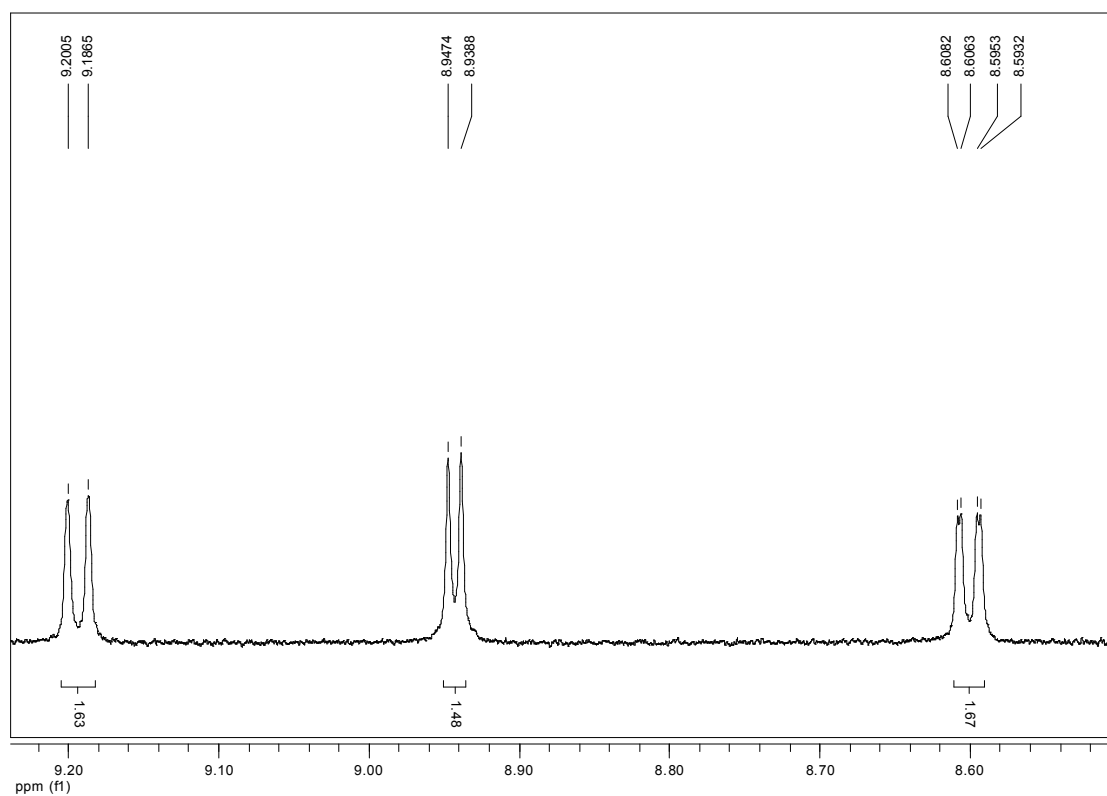
Espectro 23. Ampliação da região 7,40 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF4.



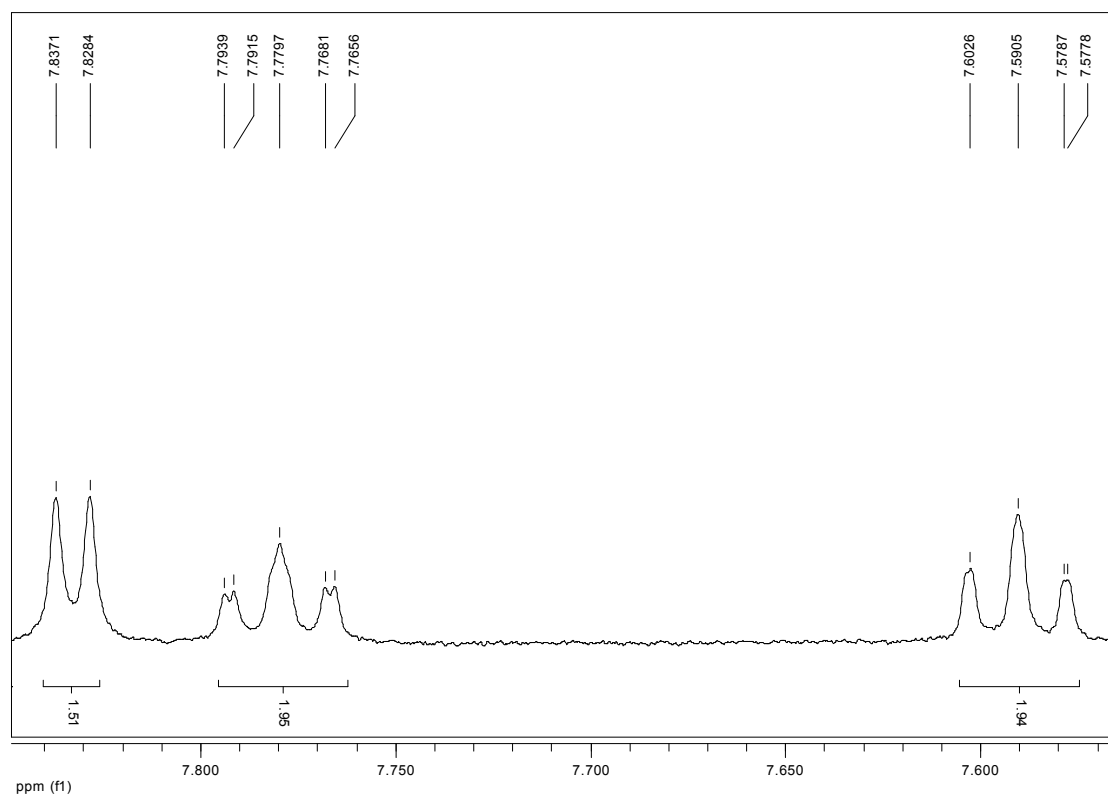
Espectro 24. Espectro massa *full MS* obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF5



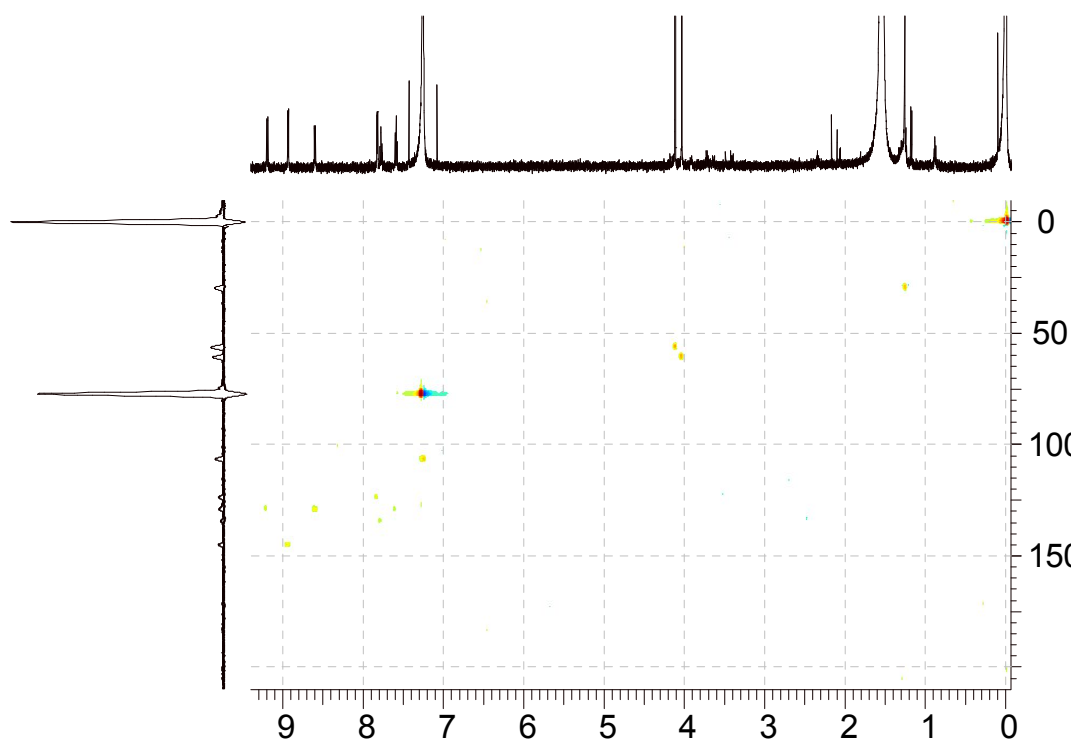
Espectro 25. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.



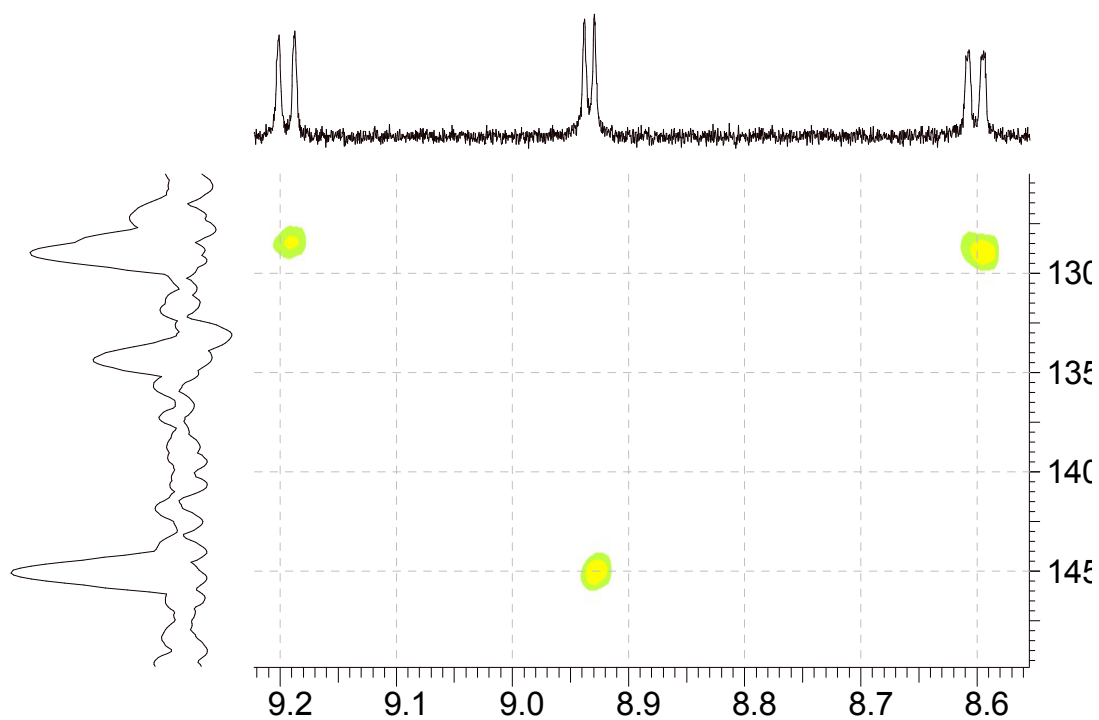
Espectro 26. Ampliação da região 8,59 – 9,20 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF5.



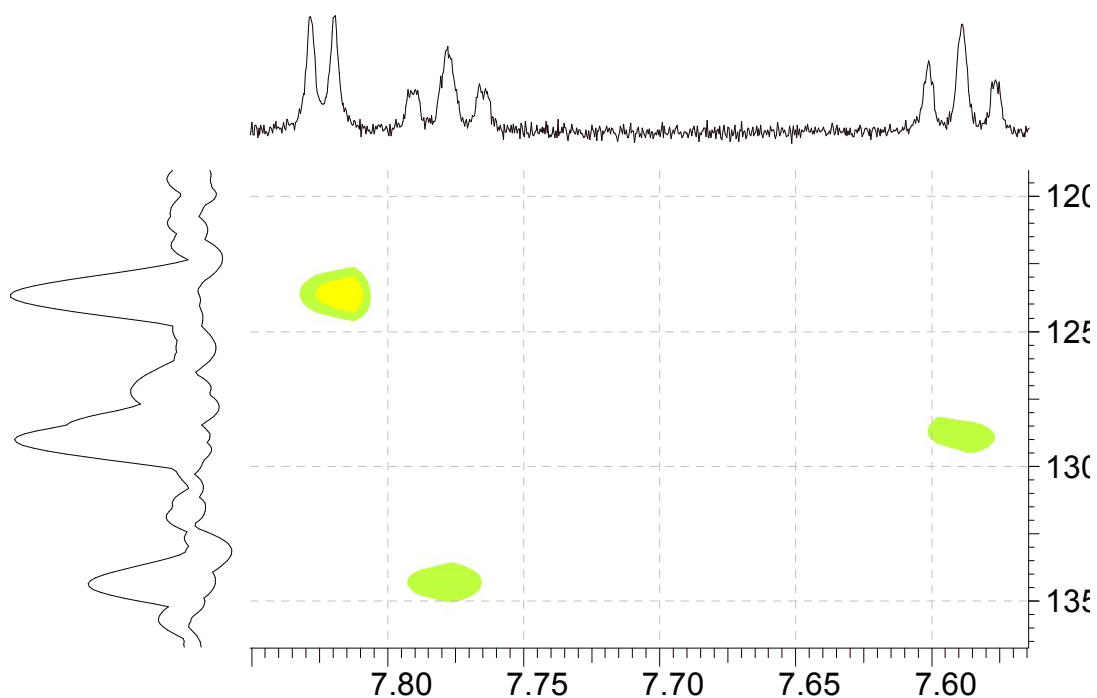
Espectro 27. Ampliação da região 7,57 – 7,83 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF5.



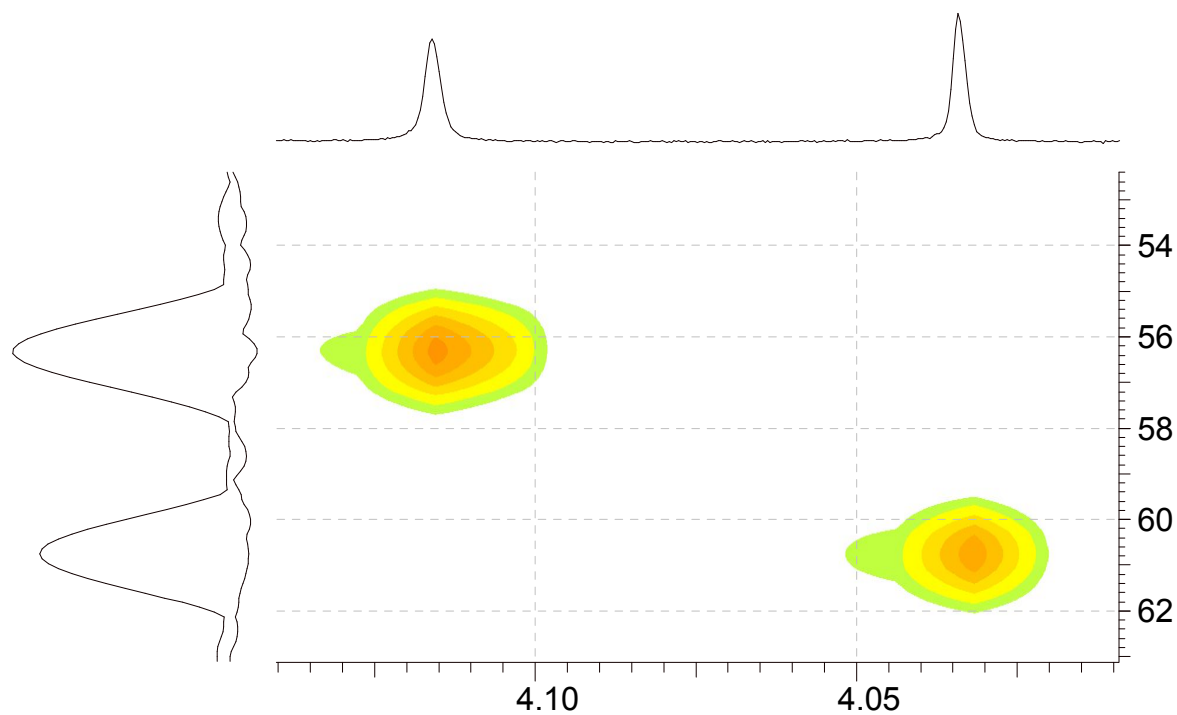
Espectro 28. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.



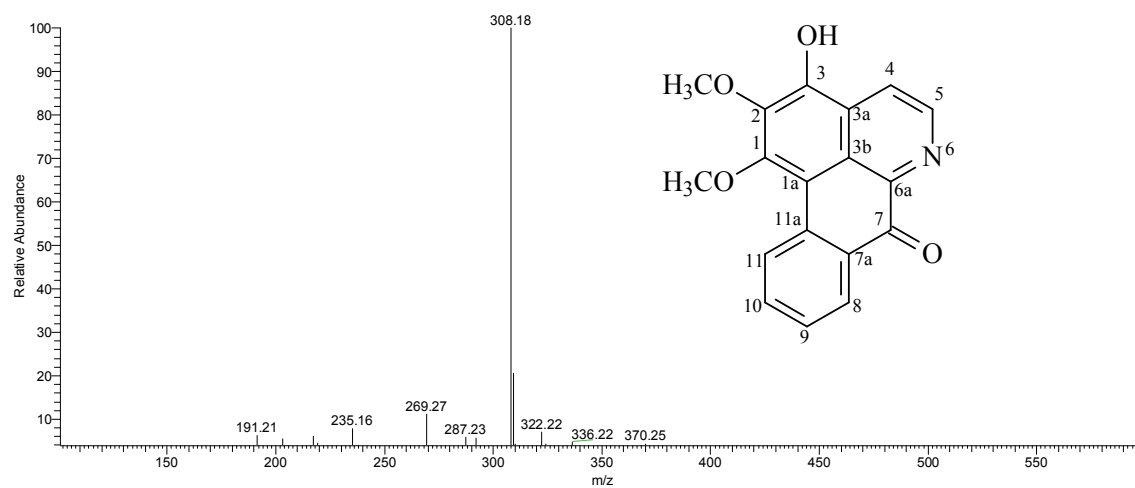
Espectro 29. Ampliação do Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.



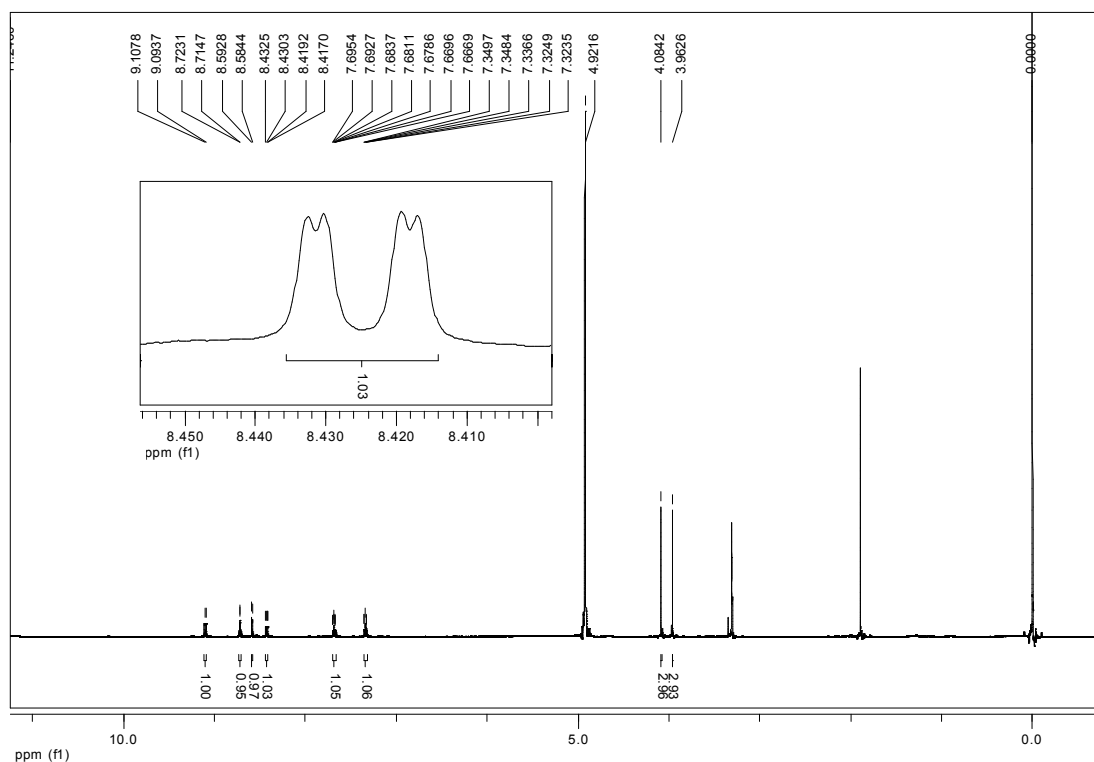
Espectro 30. Ampliação do Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.



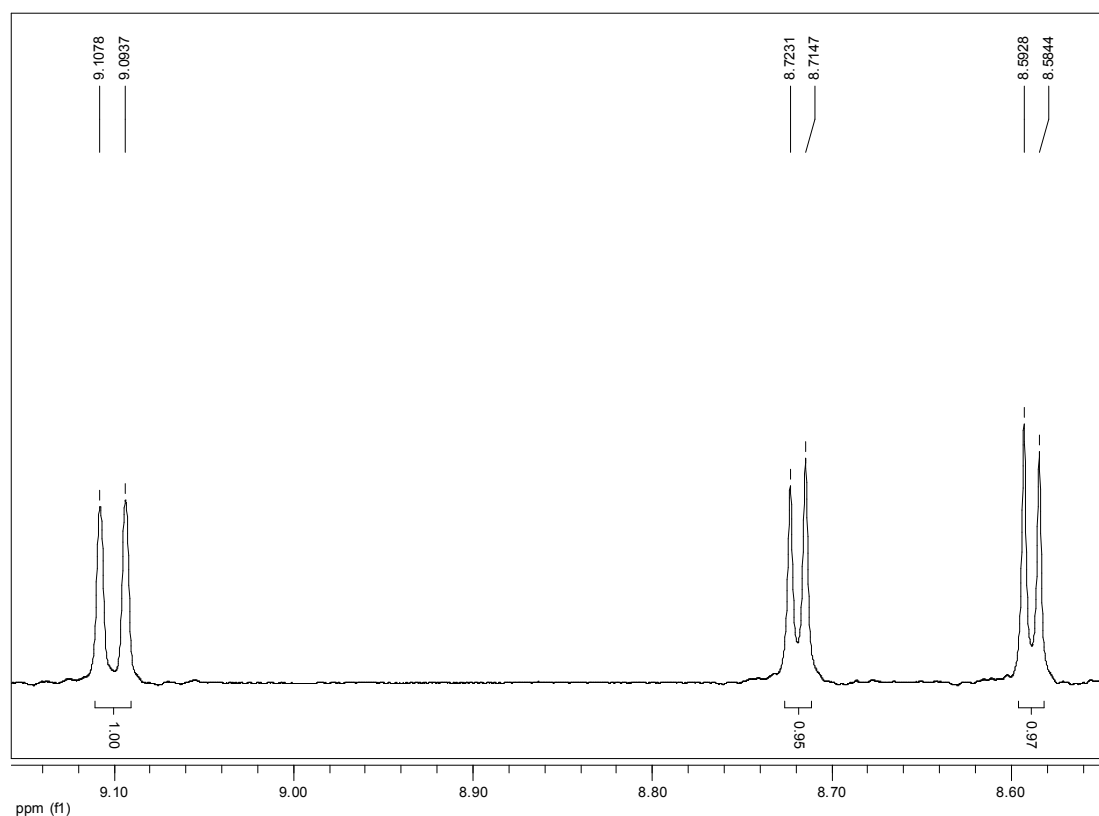
Espectro 31. Ampliação do Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF5.



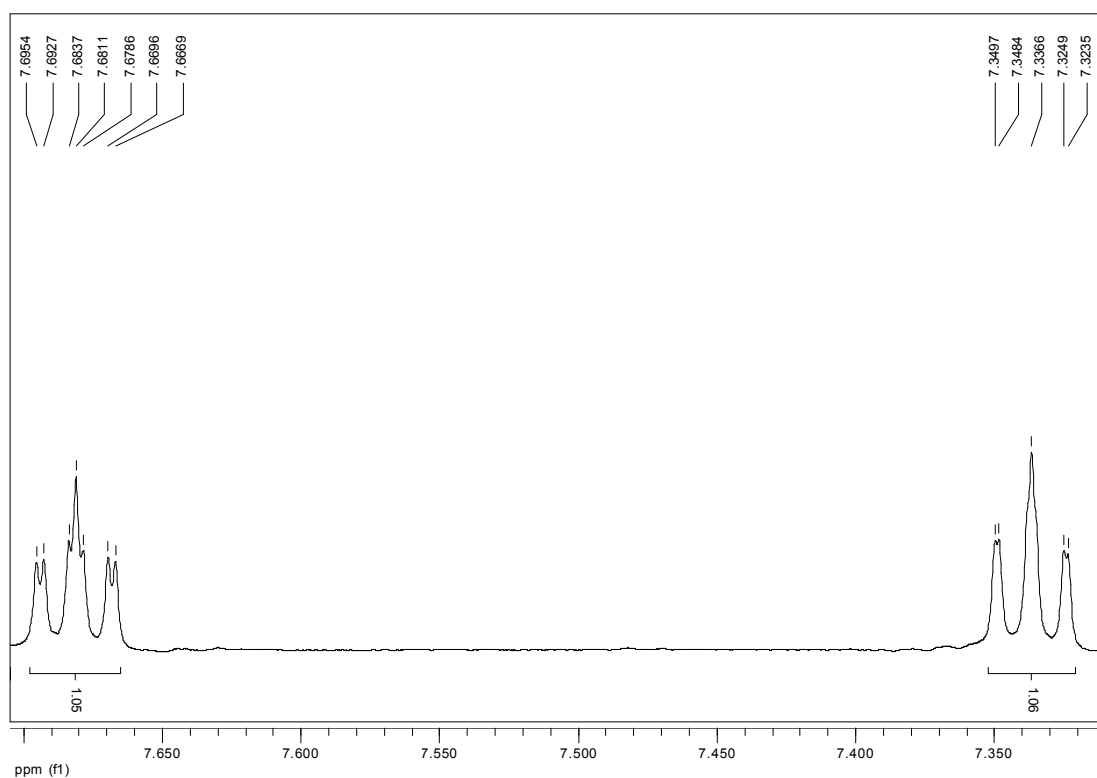
Espectro 32. Espectro de massa *full* MS obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF8



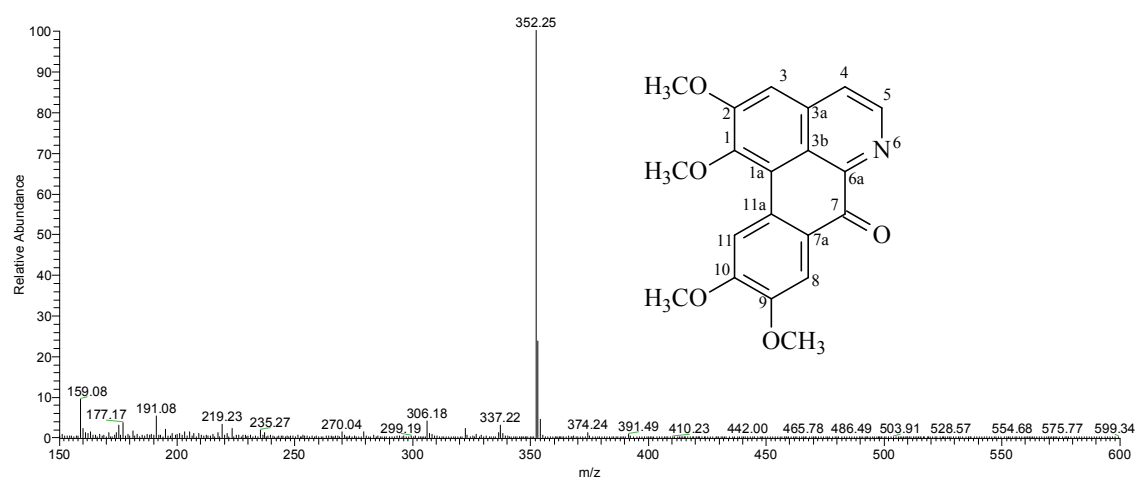
Espectro 33. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF8.



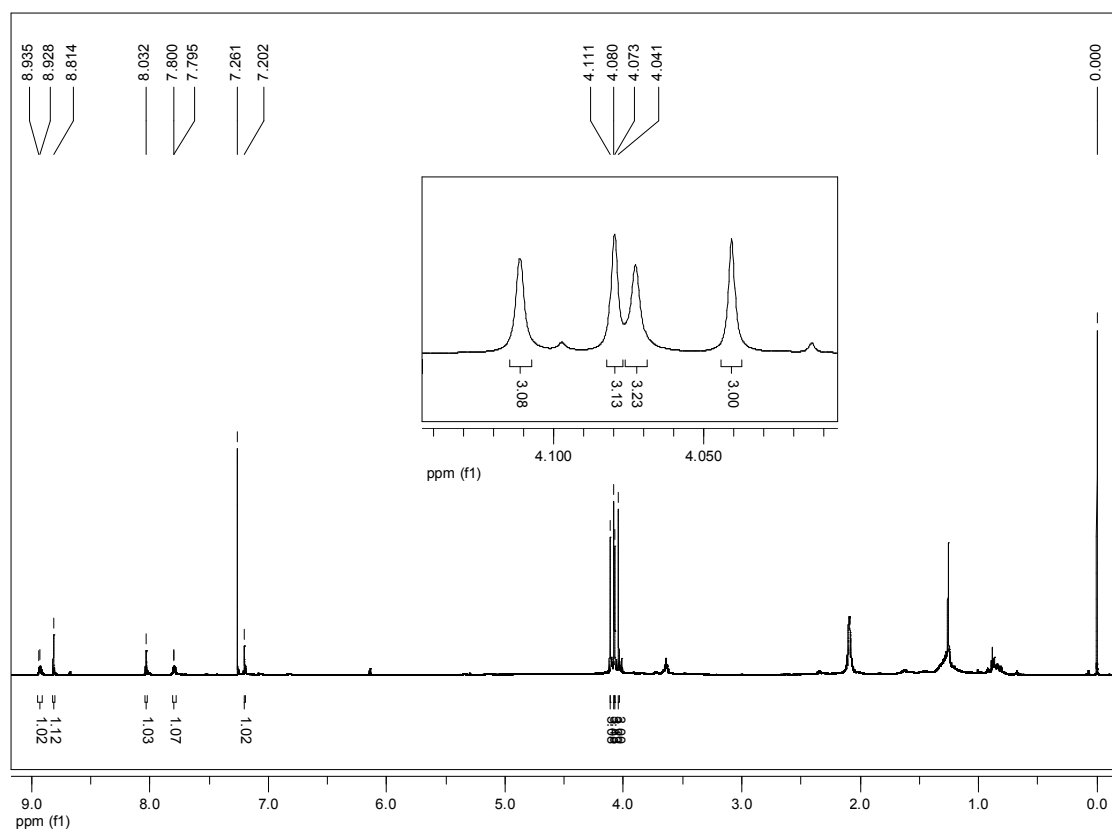
Espectro 34. Ampliação da região 8,58 – 9,10 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF8.



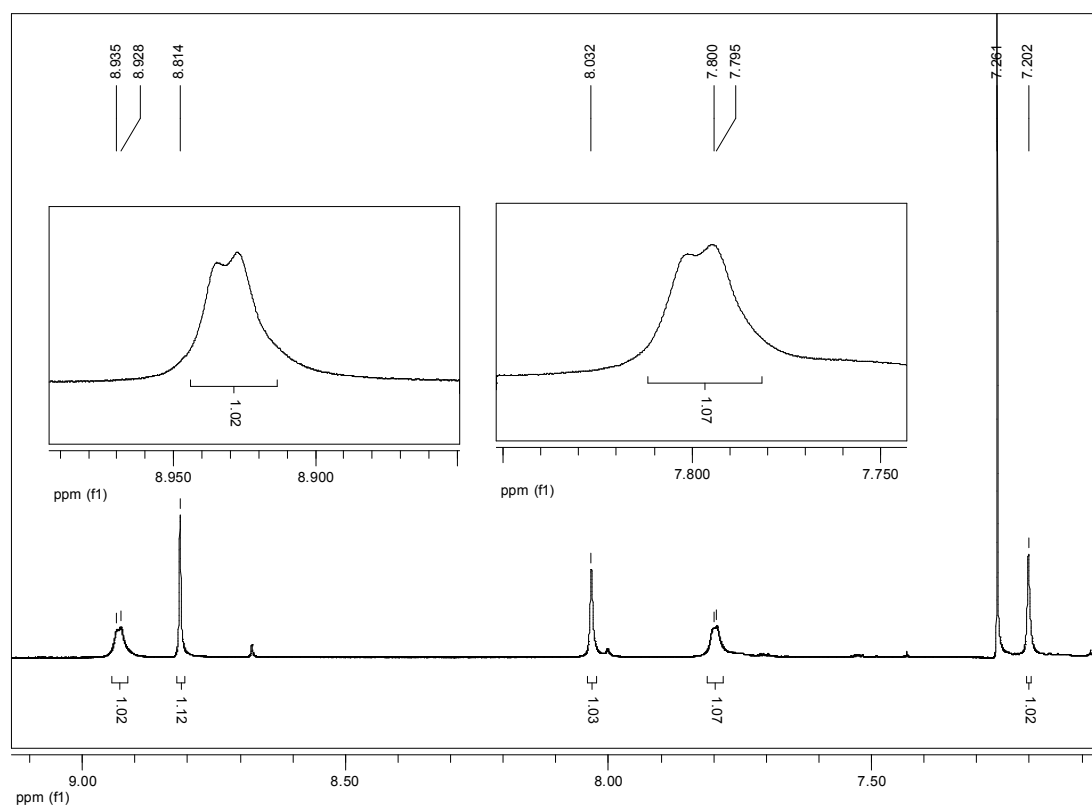
Espectro 35. Ampliação da região 7,32 – 7,69 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF8.



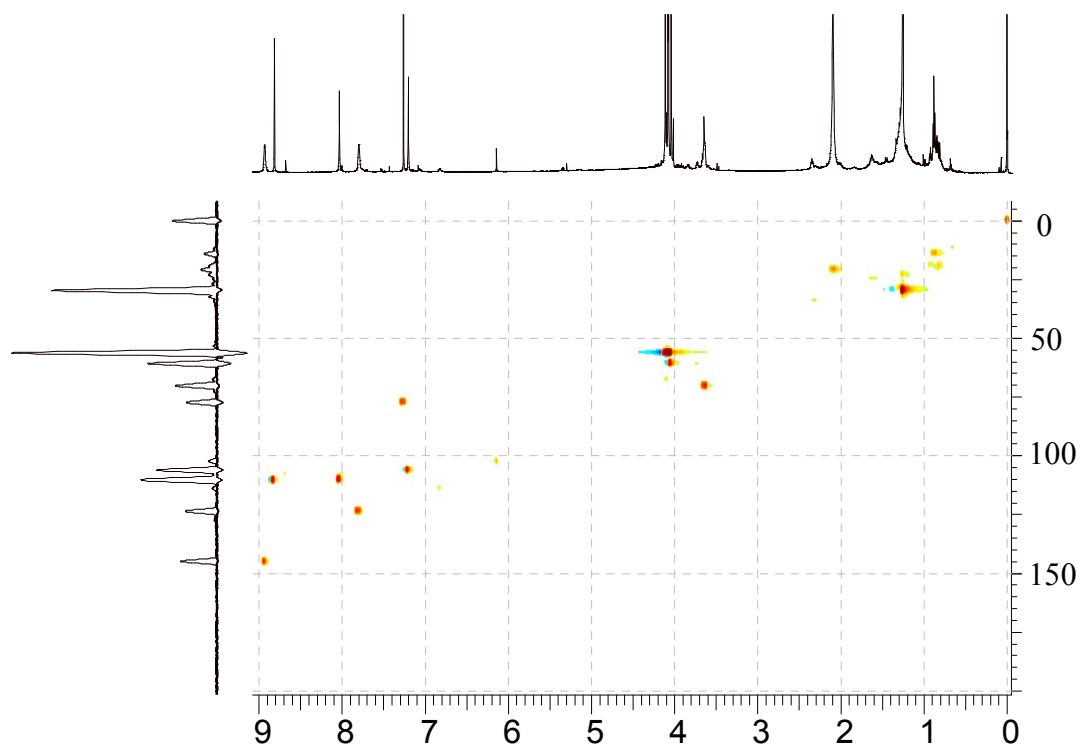
Espectro 36. Espectro de massa *full MS* obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF3



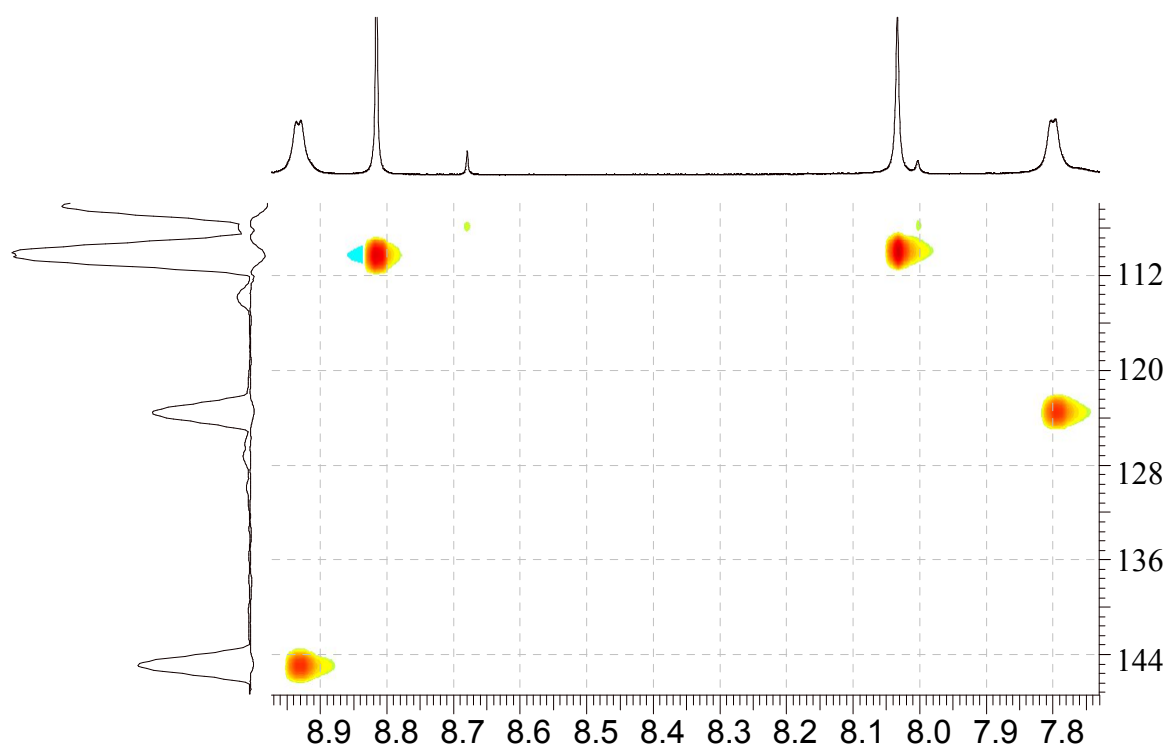
Espectro 37. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.



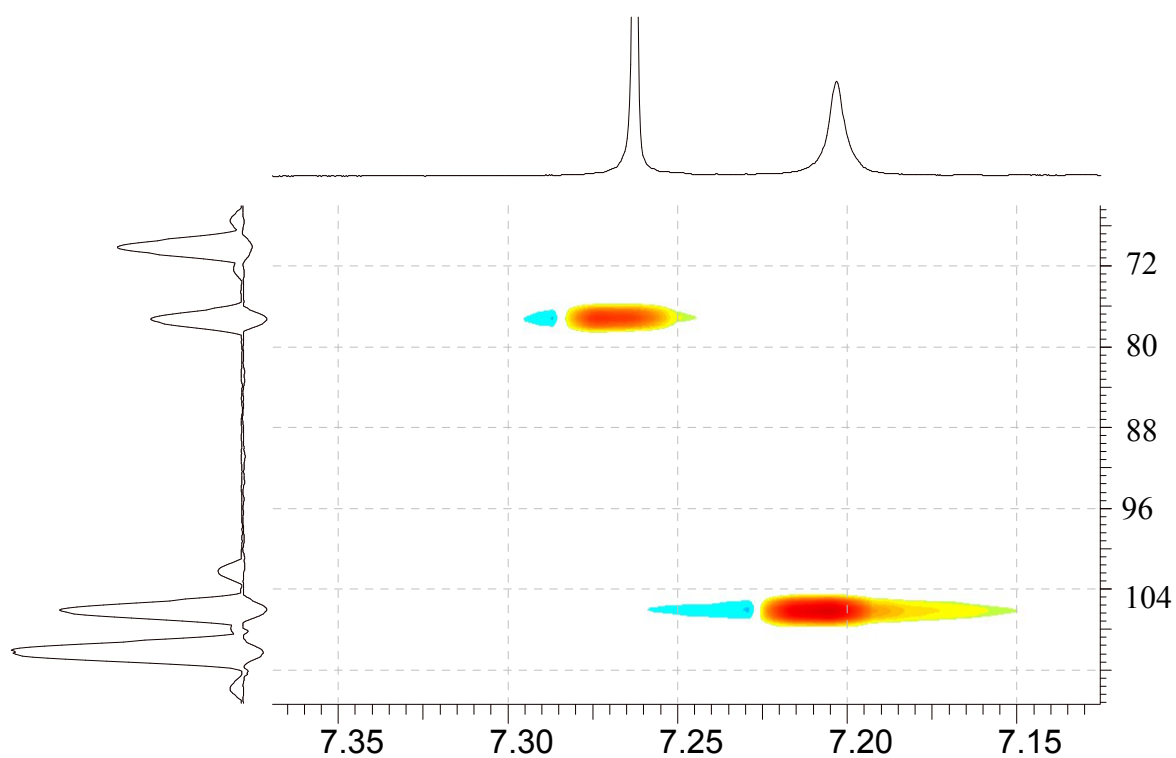
Espectro 38. Ampliação da região 3,98 – 4,11 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.



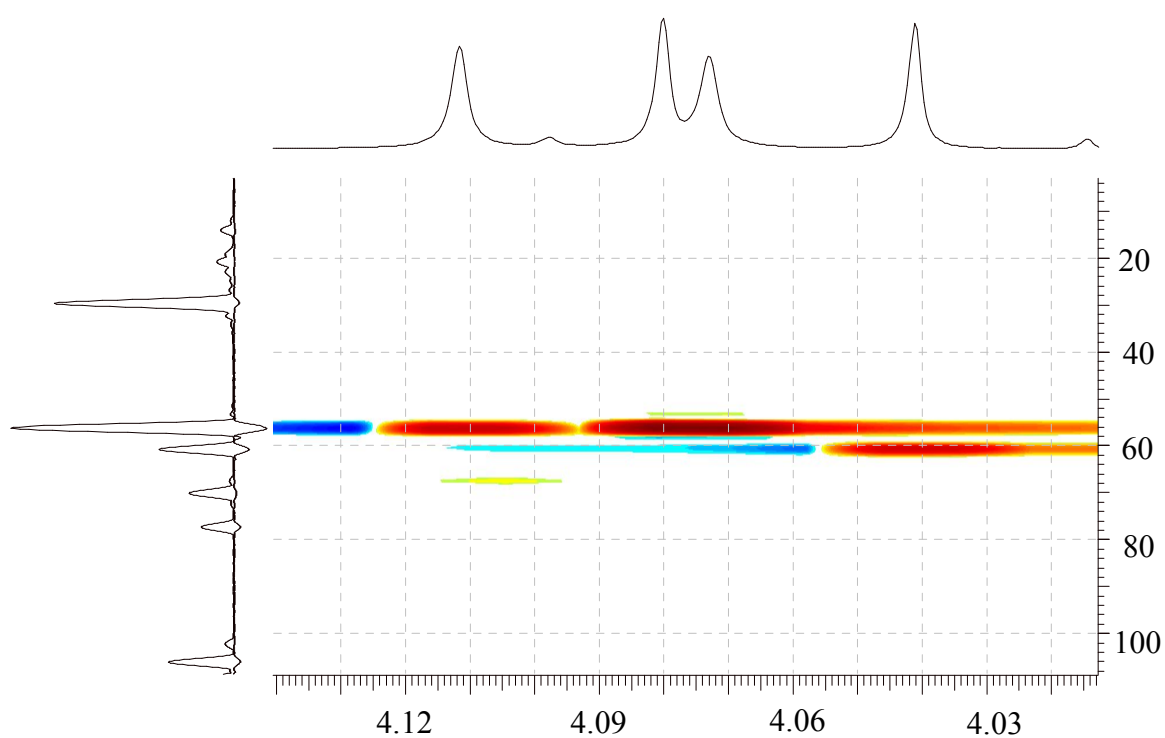
Espectro 39. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.



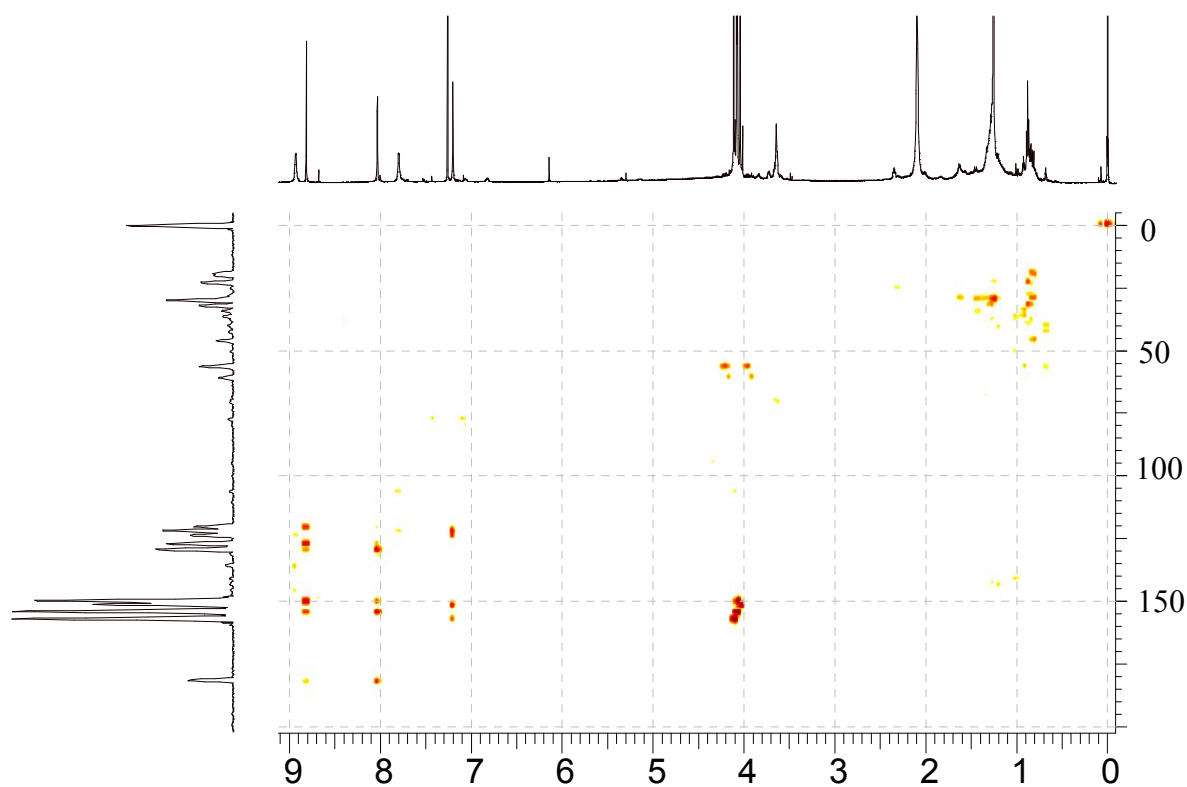
Espectro 40. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 148 a 105 ppm da substância XeF3



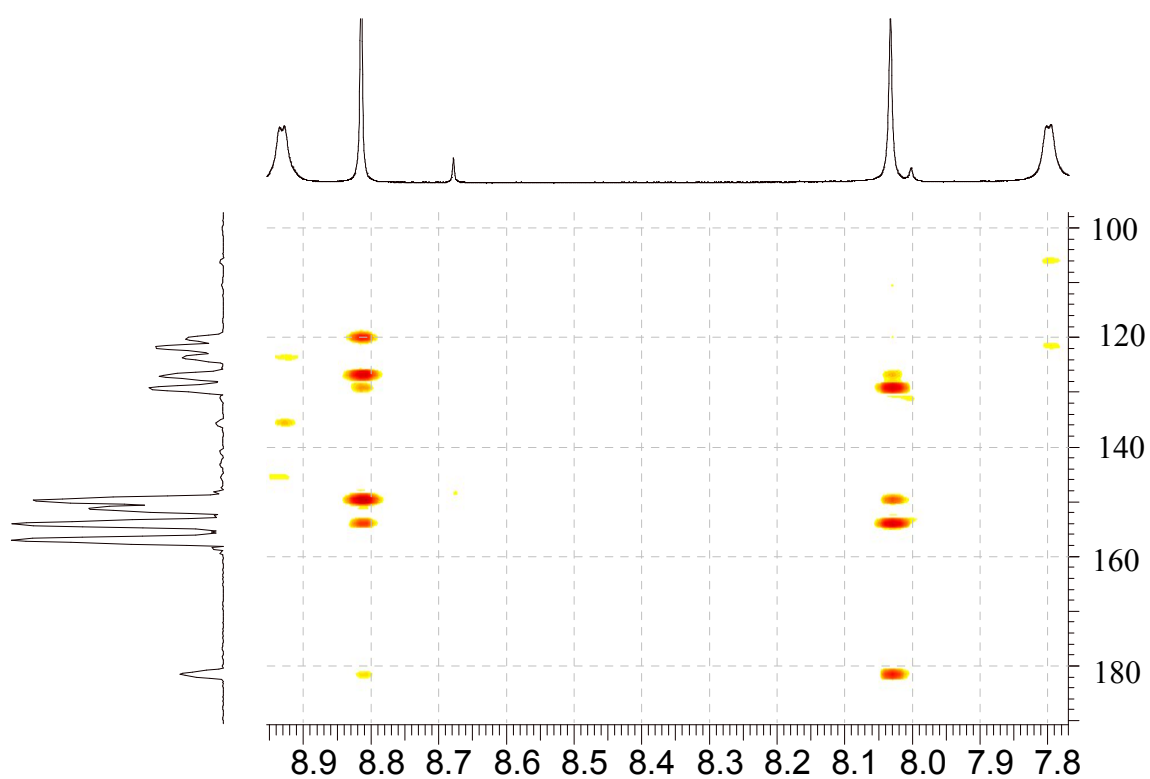
Espectro 41. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 112 a 67 ppm da substância XeF3.



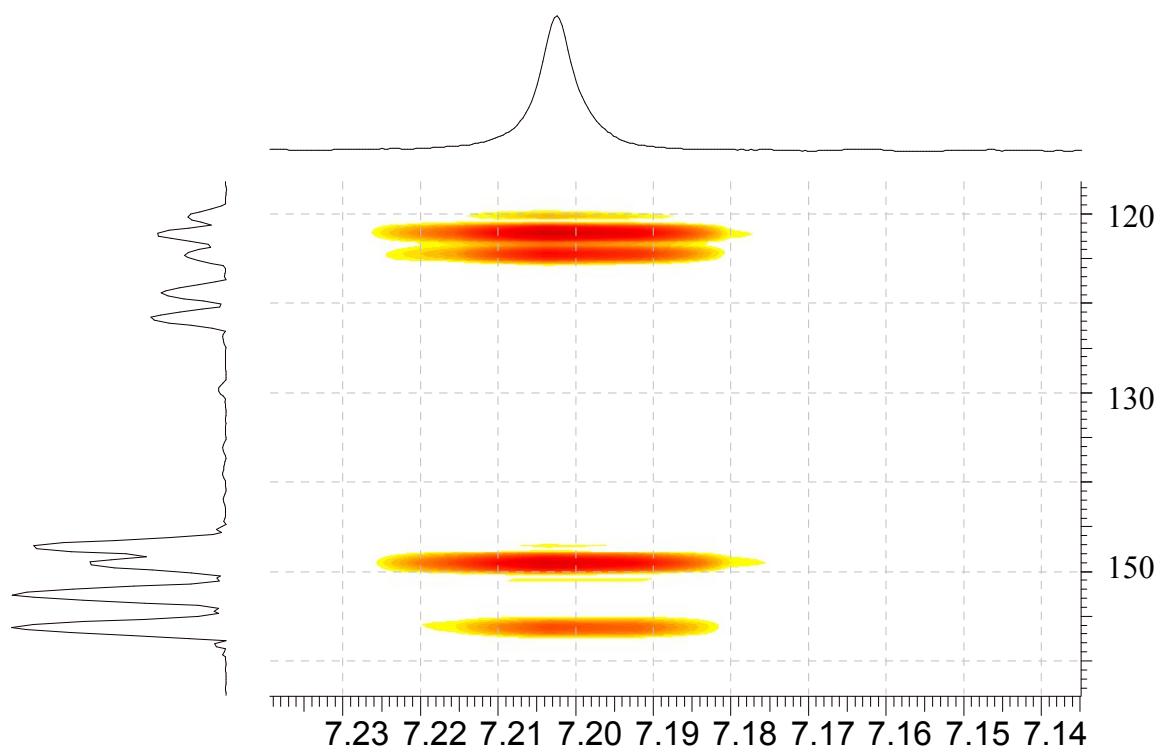
Espectro 42. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 100 a 20 ppm da substância XeF3.



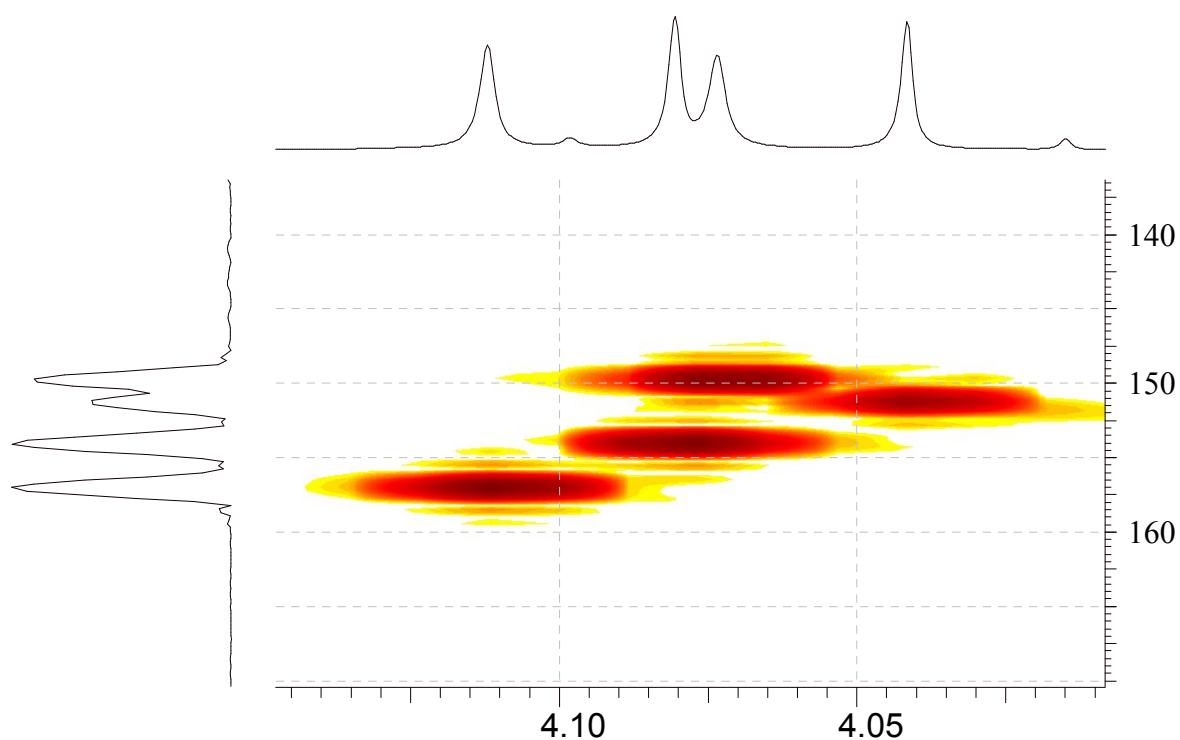
Espectro 43. Mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) da substância XeF3.



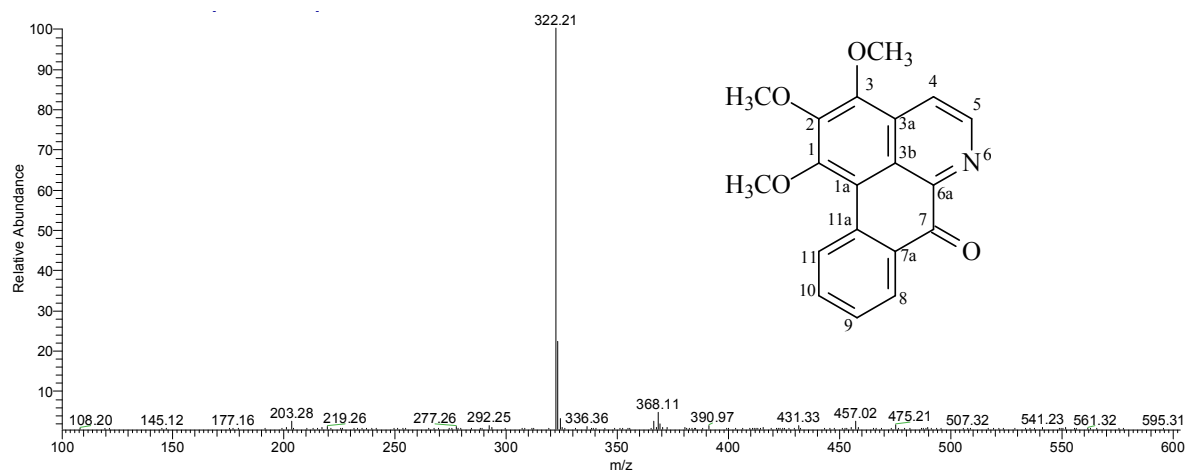
Espectro 44. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 185 a 100 ppm da substância XeF3.



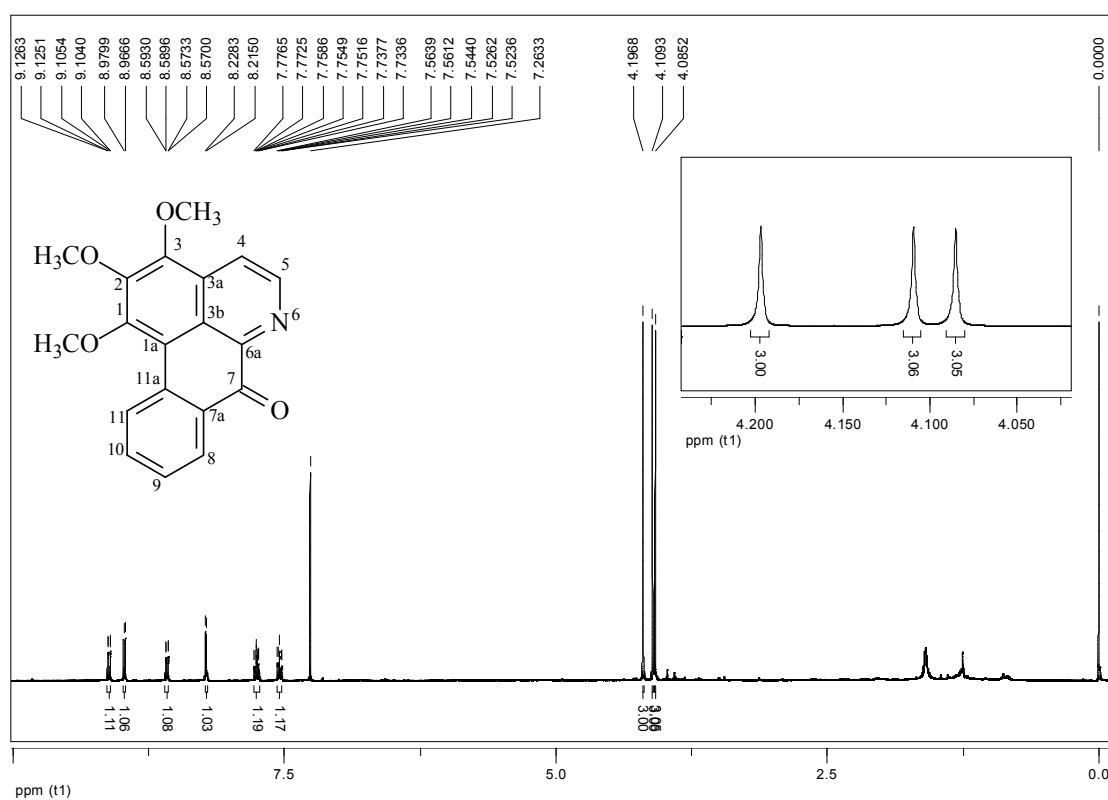
Espectro 45. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 162 a 120 ppm da substância XeF3.



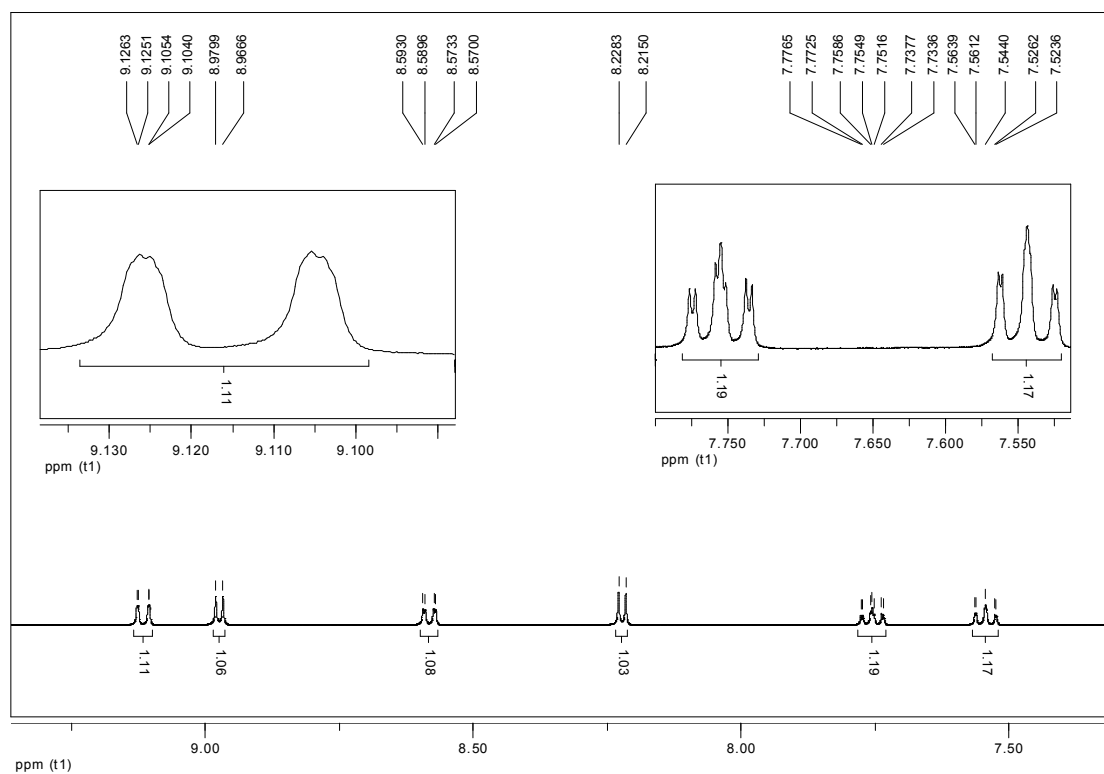
Espectro 46. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CDCl_3) na região de 170 a 140 ppm da substância XeF3.



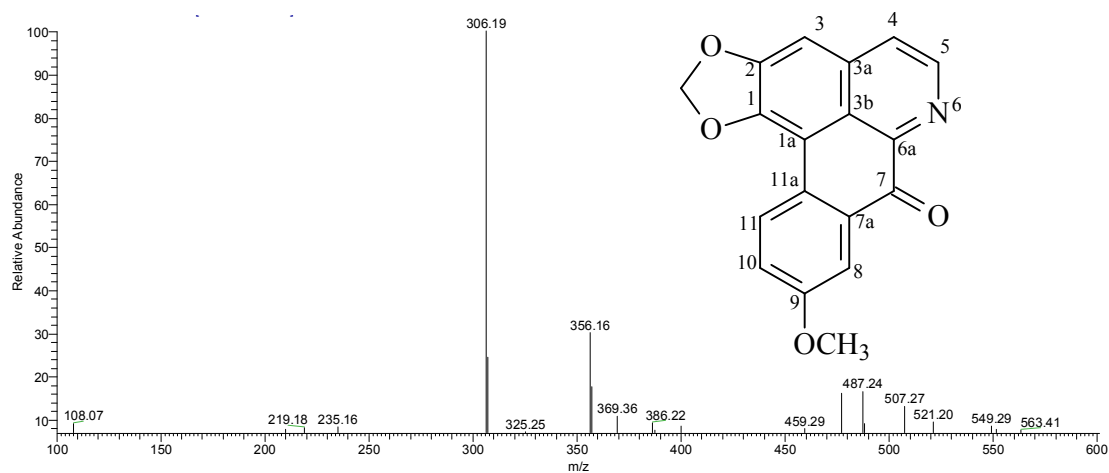
Espectro 47. Espectro de massa *full MS* obtido em modo positivo do $[M+H]^+$ da substância XeF10



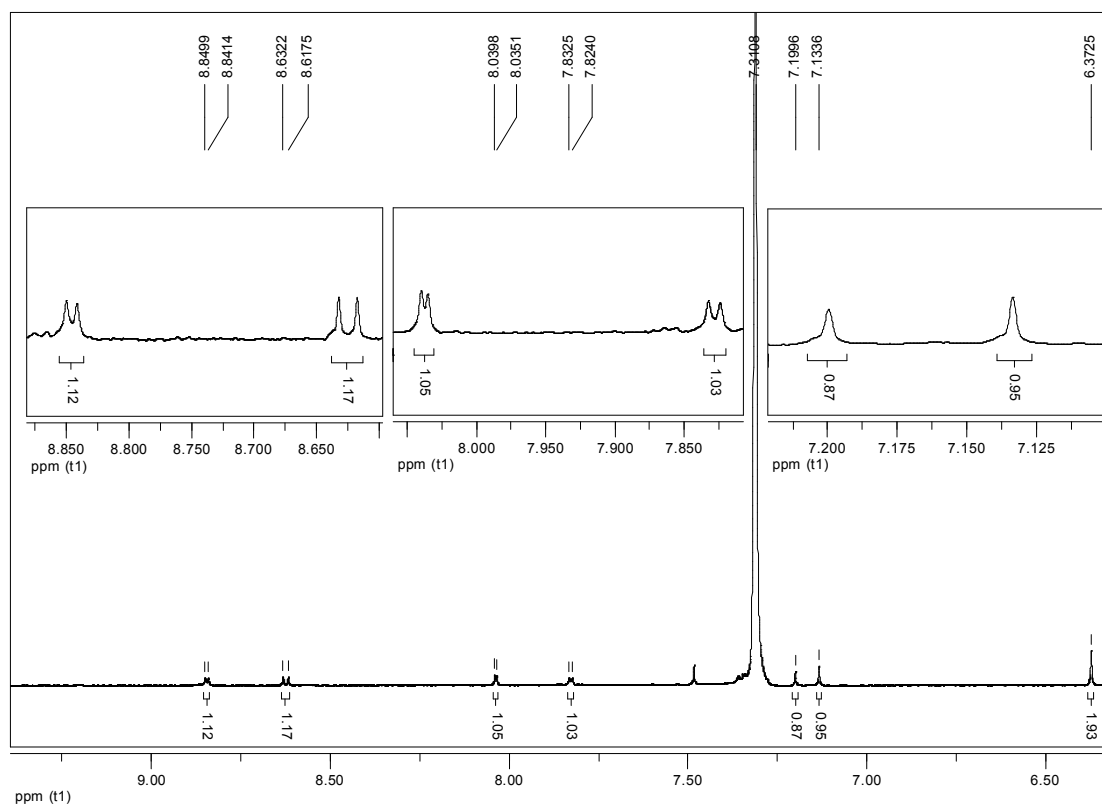
Espectro 48. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância XeF10.



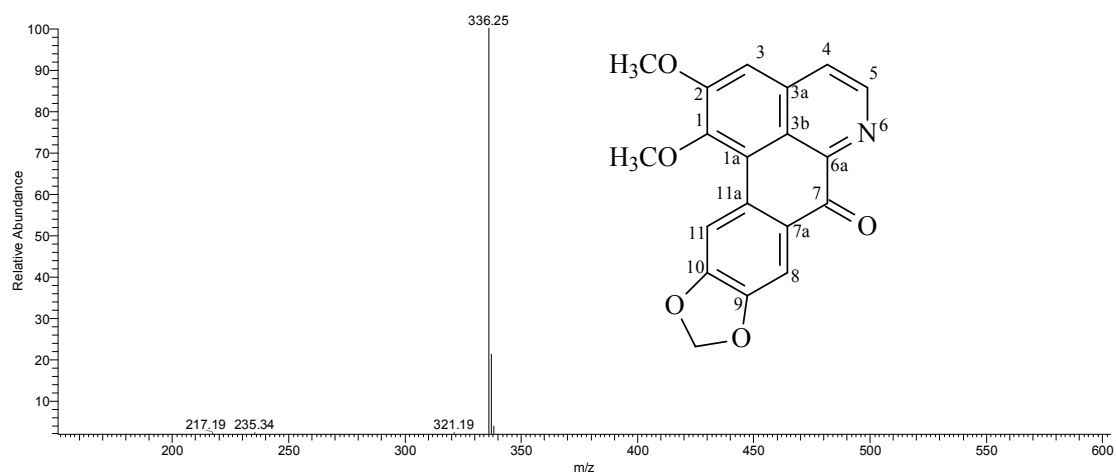
Espectro 49. Ampliação da região 7,52 – 9,12 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância XeF10.



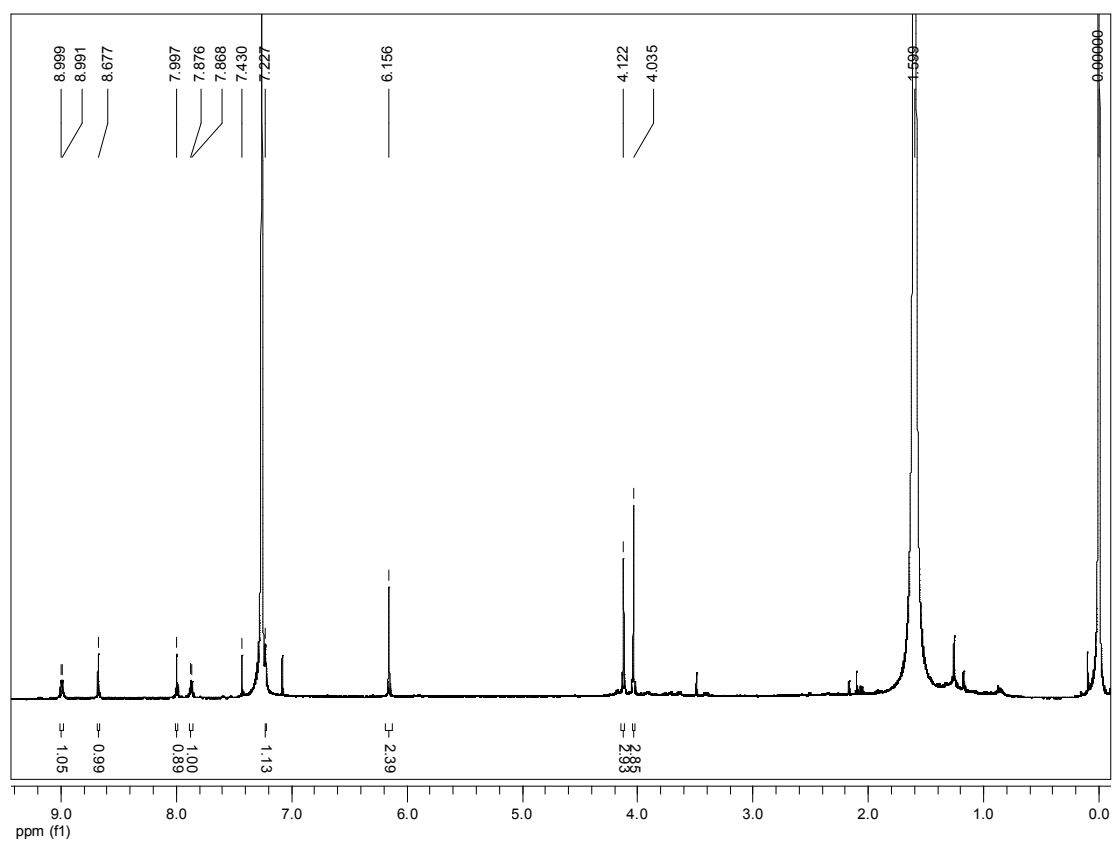
Espectro 50. Espectro massa *full MS* obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF7



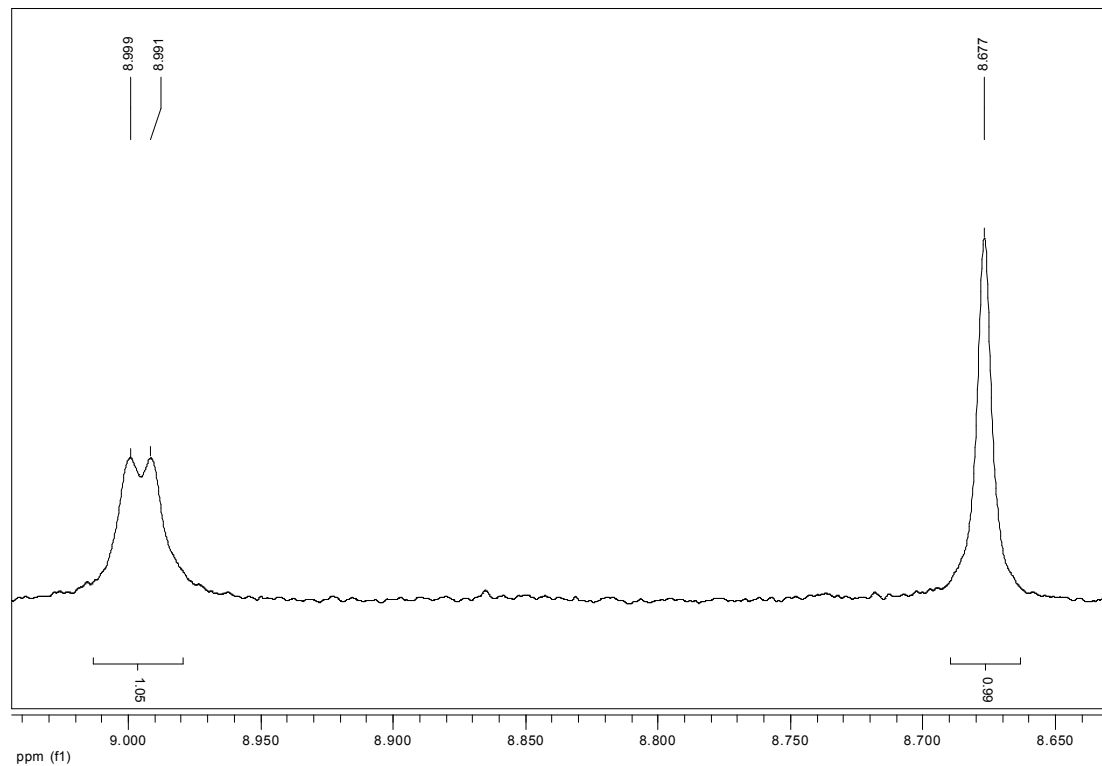
Espectro 51. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância XeF7.



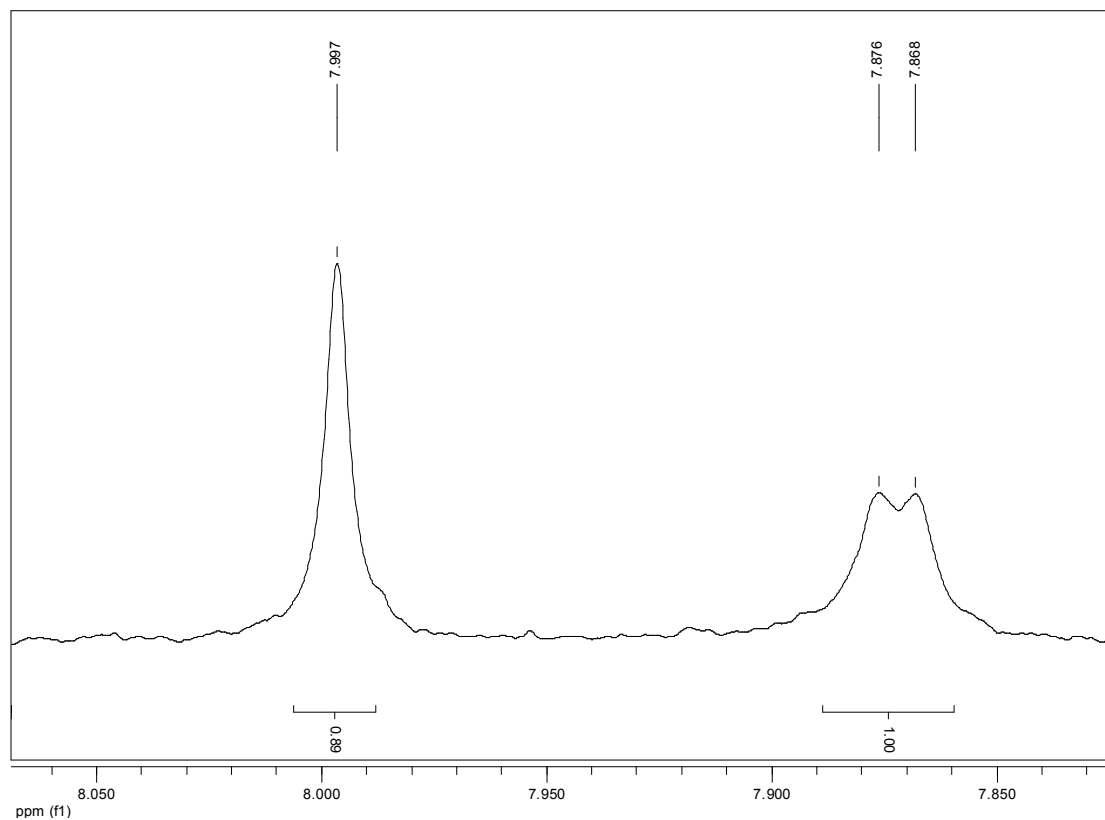
Espectro 52. Espectro massa *full MS* obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ substância XeF6



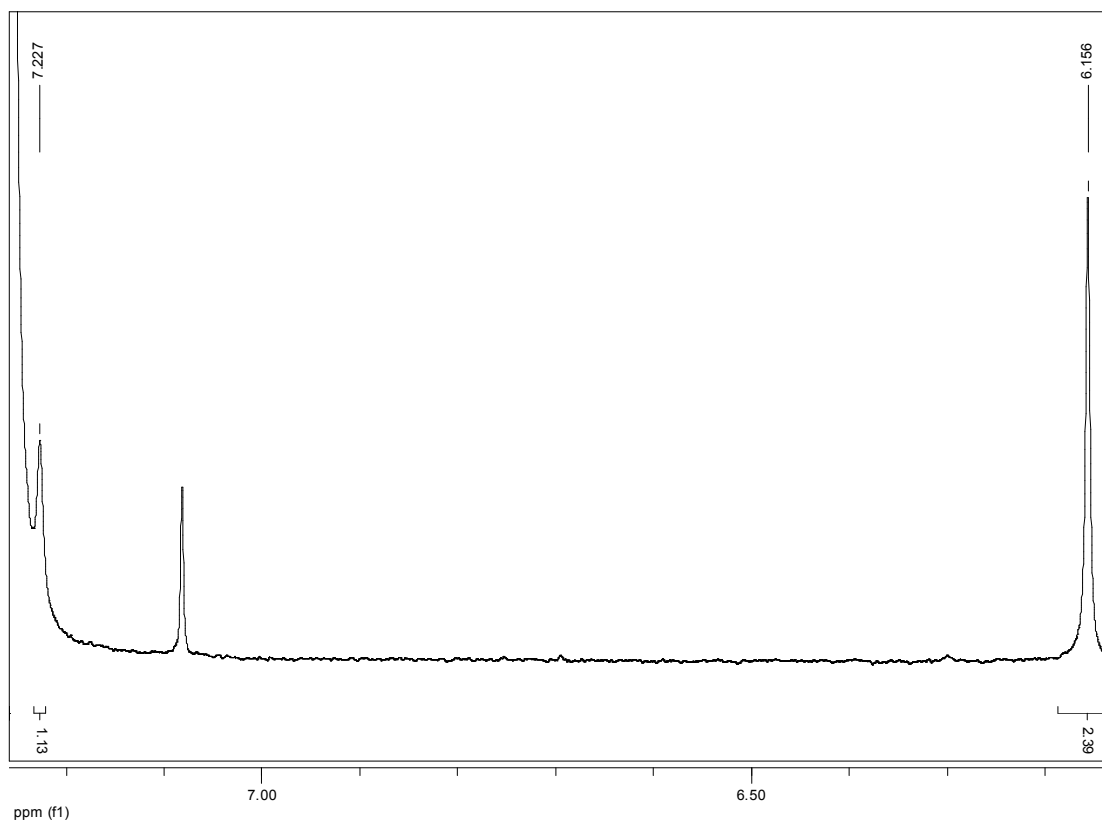
Espectro 53. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF6.



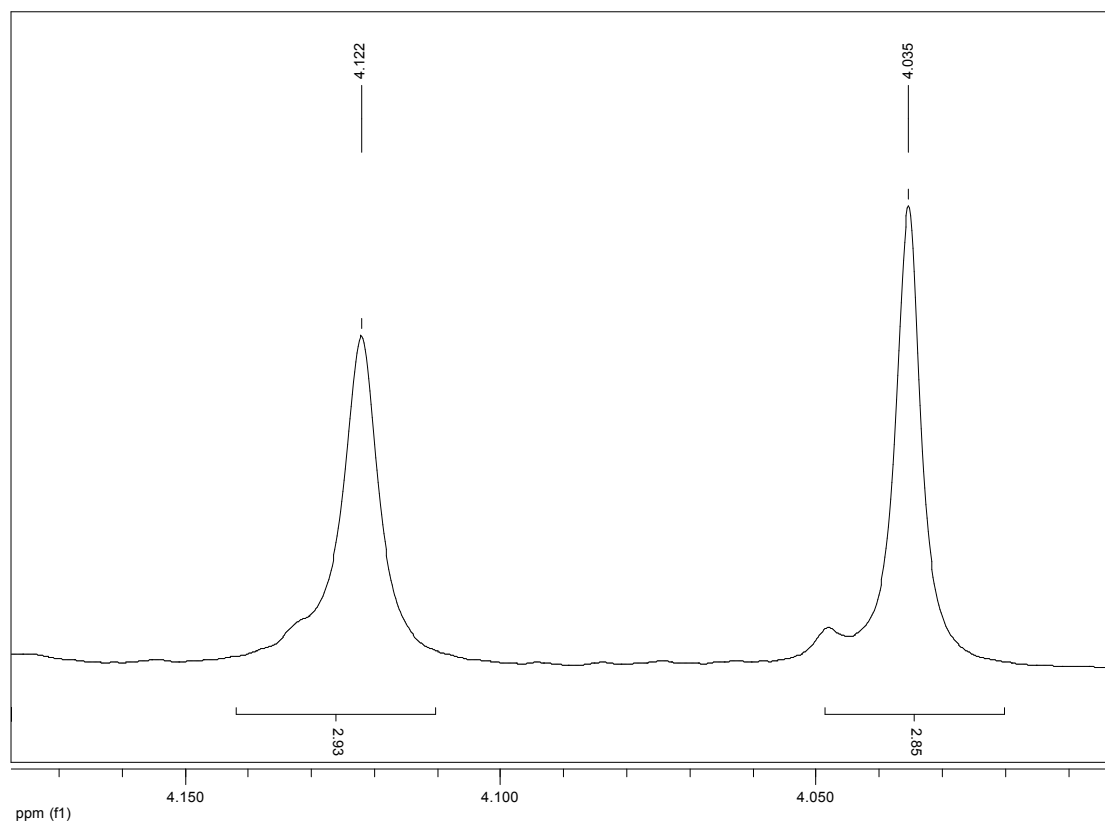
Espectro 54. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeF6



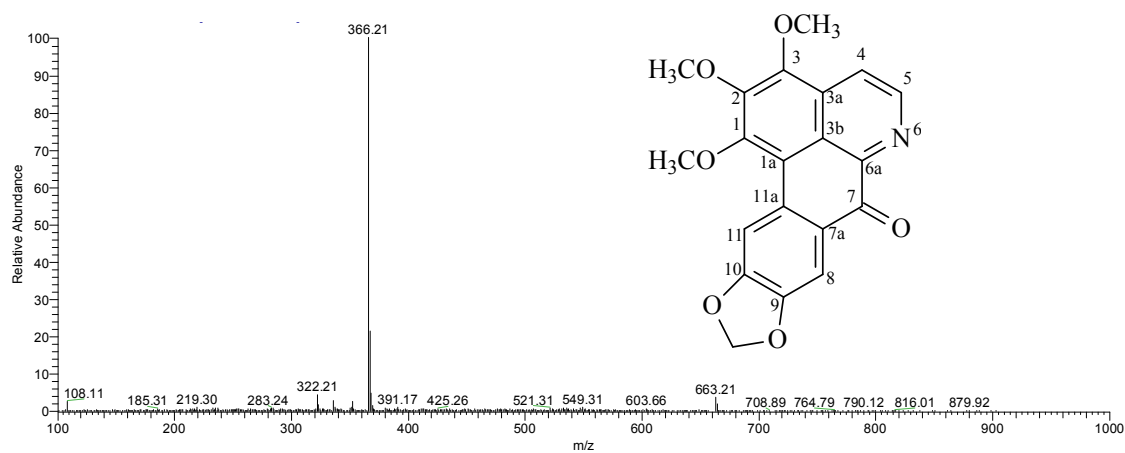
Espectro 55. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) da substância XeF6.



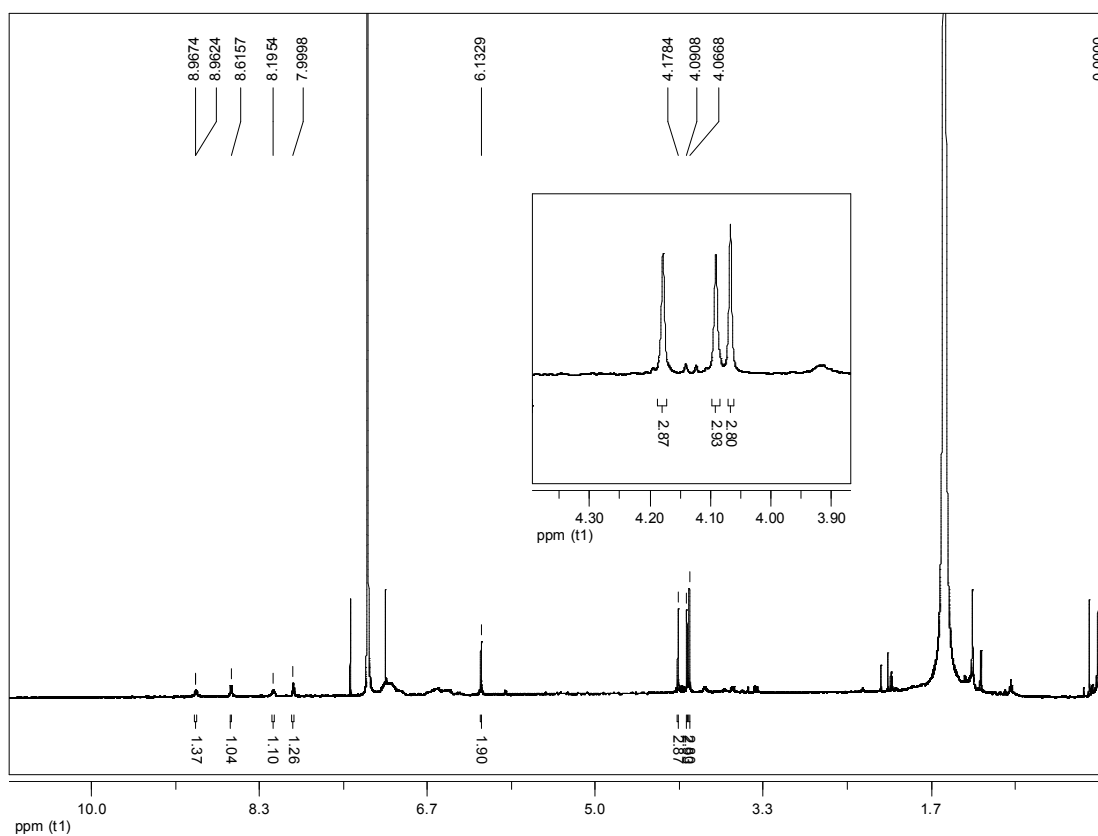
Espectro 56. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) da substância XeF6.



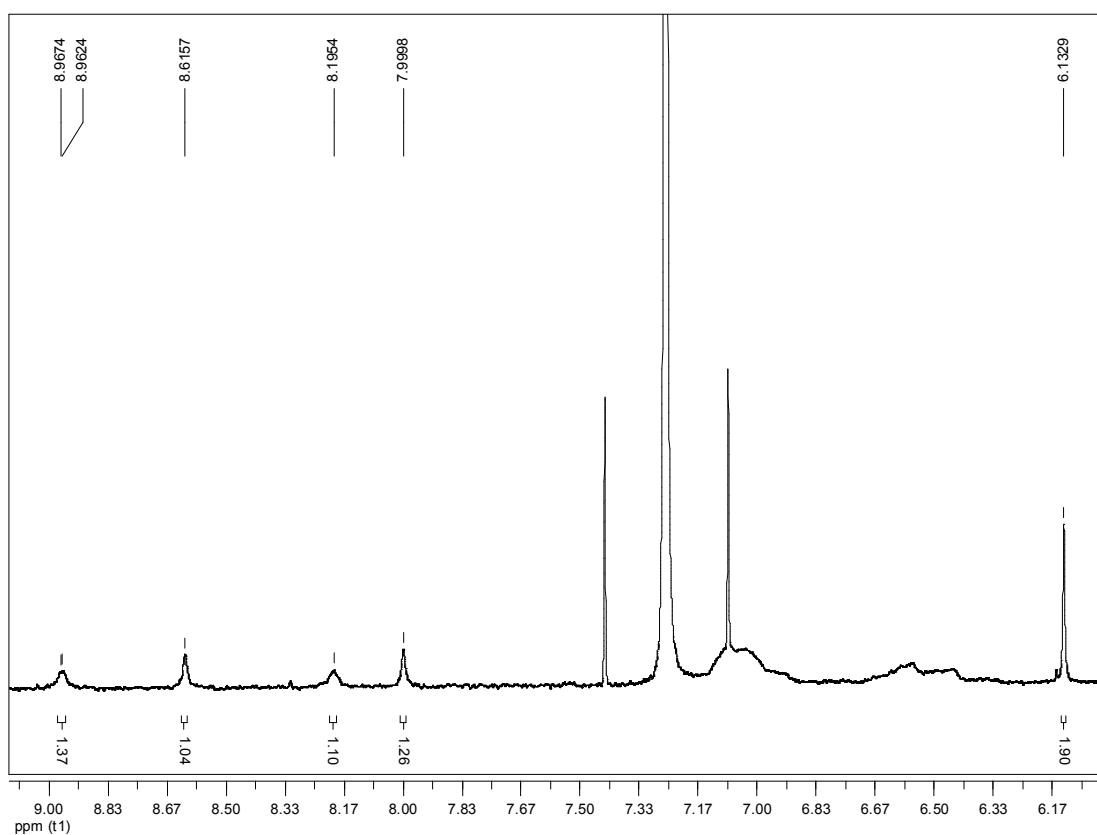
Espectro 56. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância XeF6.



Espectro 57. Espectro massa *full MS* obtido em modo positivo do $[\text{M}+\text{H}]^+$ da substância XeF11

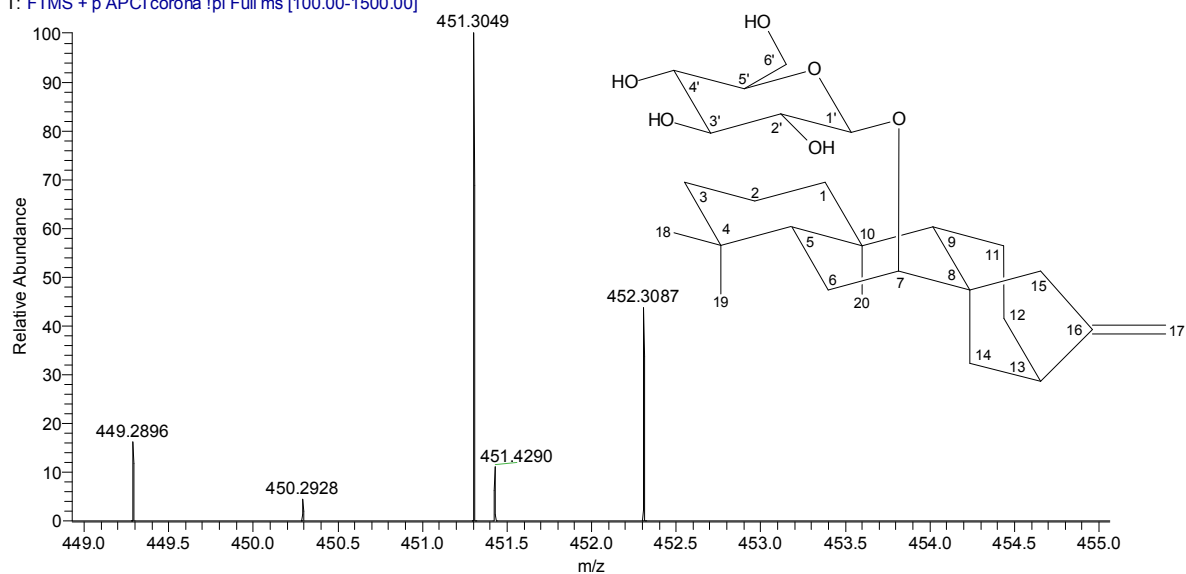


Espectro 58. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF11.

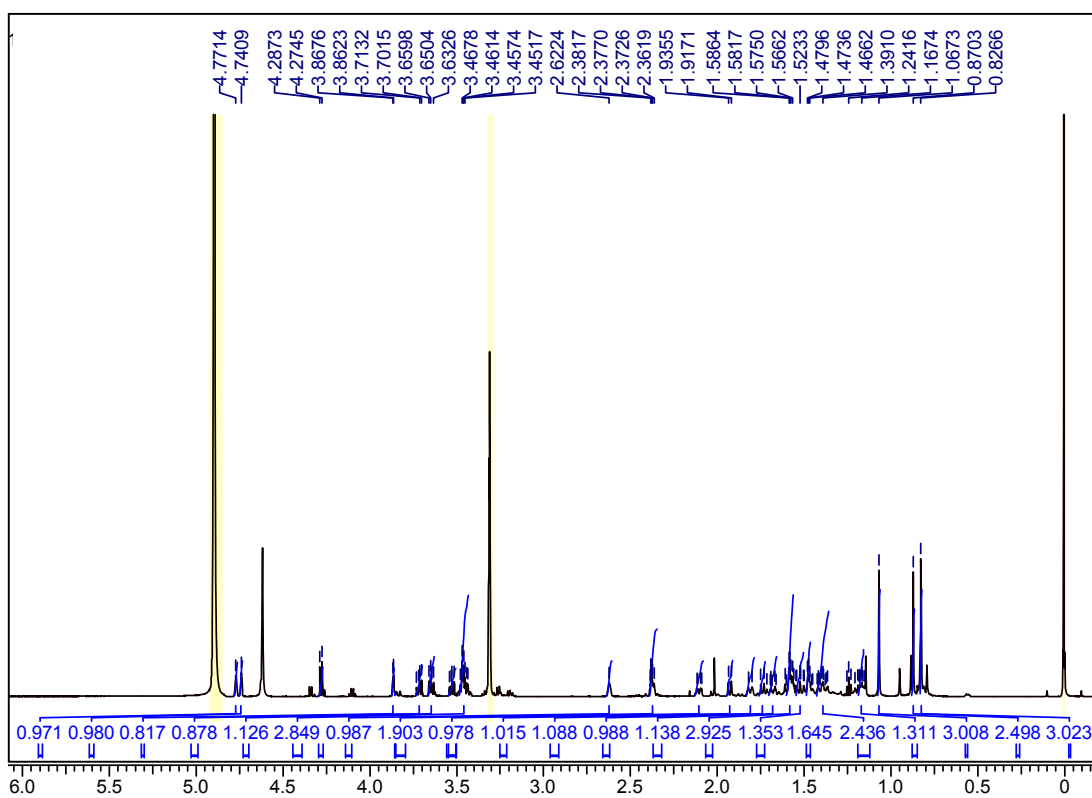


Espectro 59. Ampliação da região 6,37 – 9,00 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) da substância XeF11

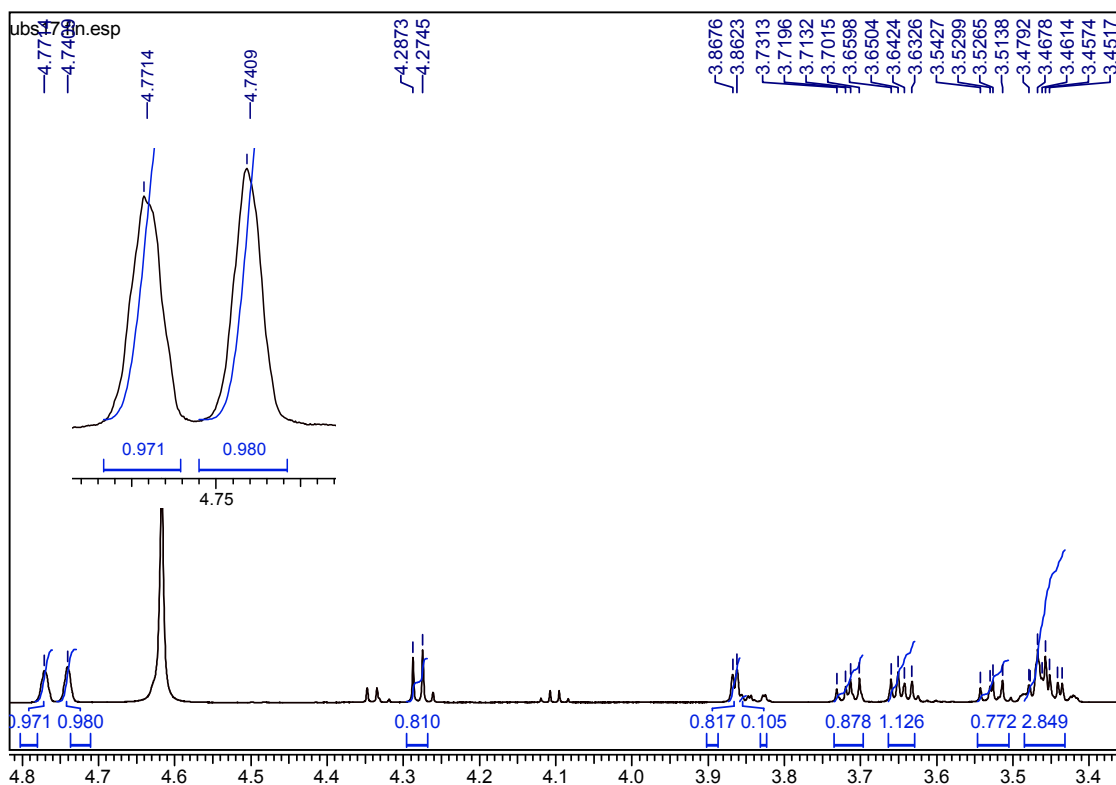
Hector_16_pos #1 RT: 0.01 AV: 1 NL: 7.68E6
T: FTMS + p APCI corona !pi Full ms [100.00-1500.00]



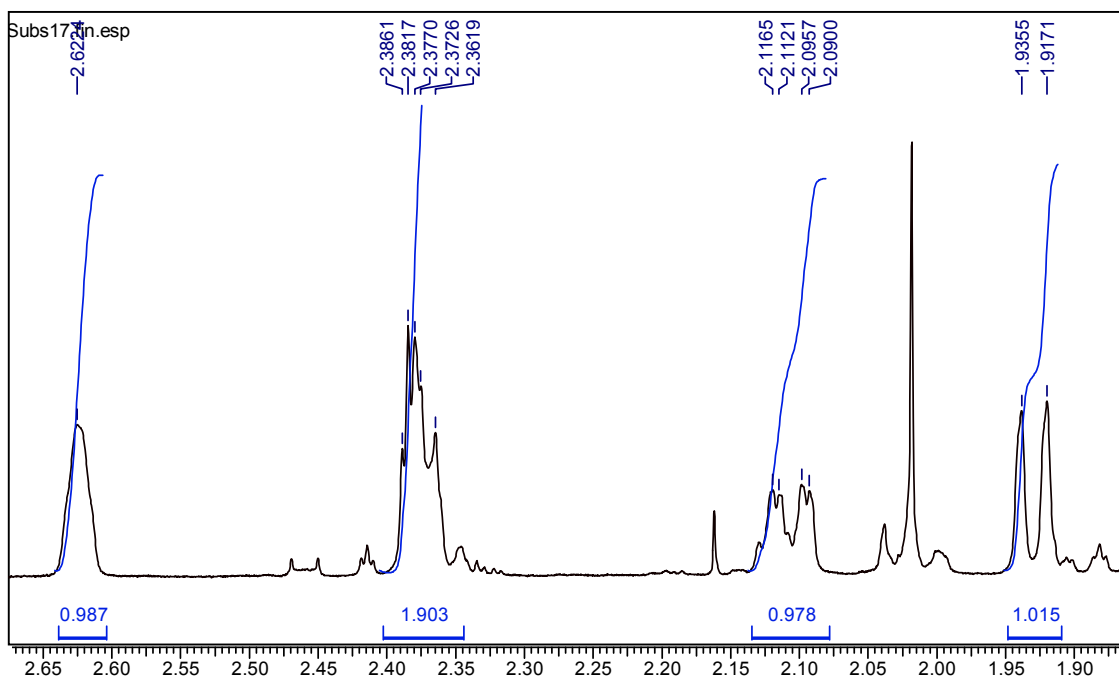
Espectro 60. Expansão do espectro de massa HR-APCIMS obtido em modo positivo $[M+H]^+$ da substância XeHF12



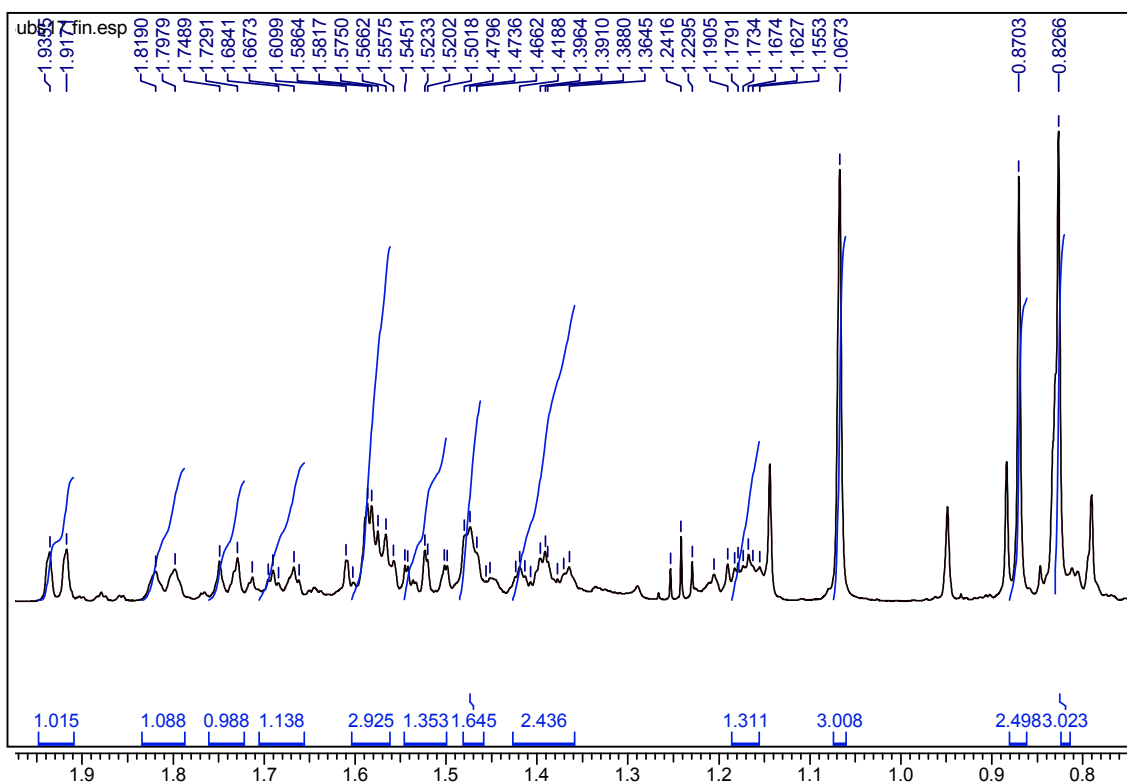
Espectro 61. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF12.



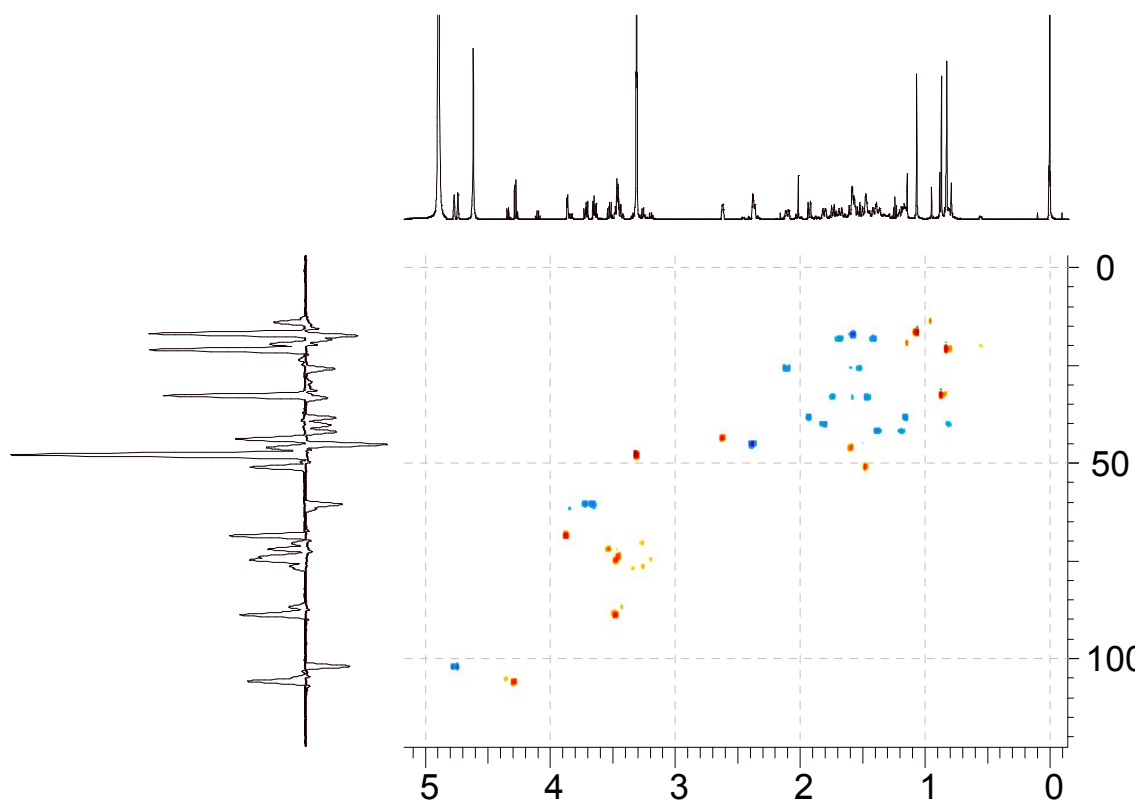
Espectro 62. Ampliação da região 3,45 – 4,77 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF12.



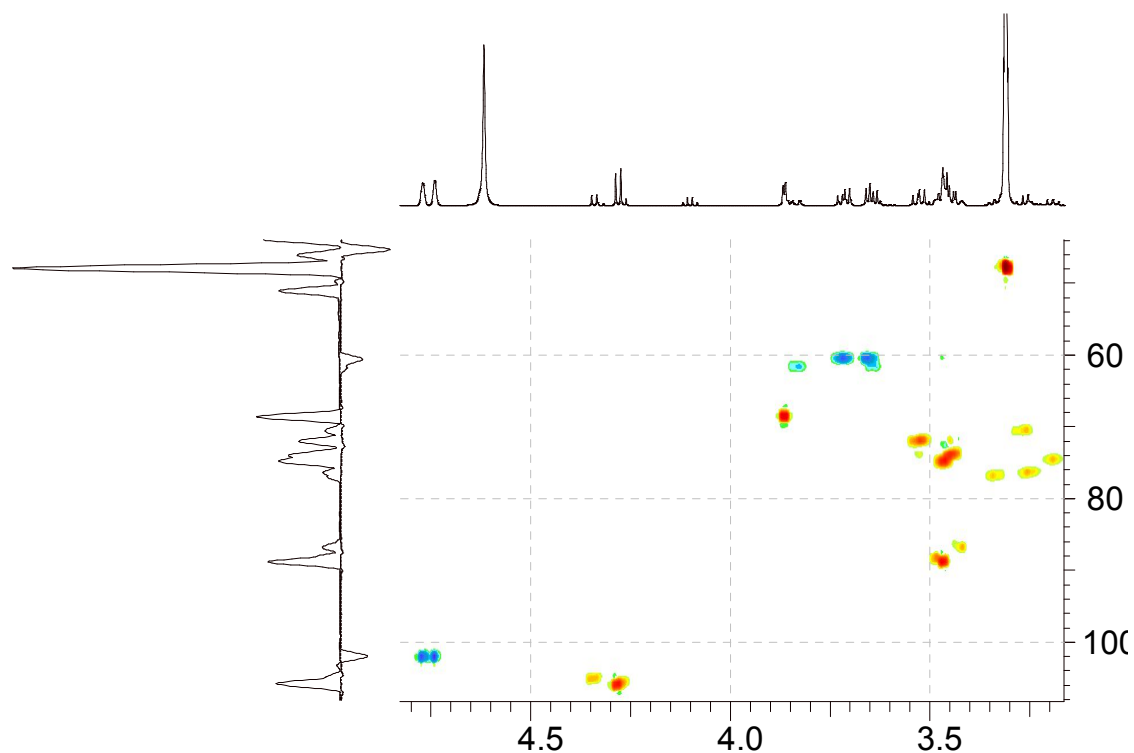
Espectro 63. Ampliação da região 1,90 – 2,65 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF12.



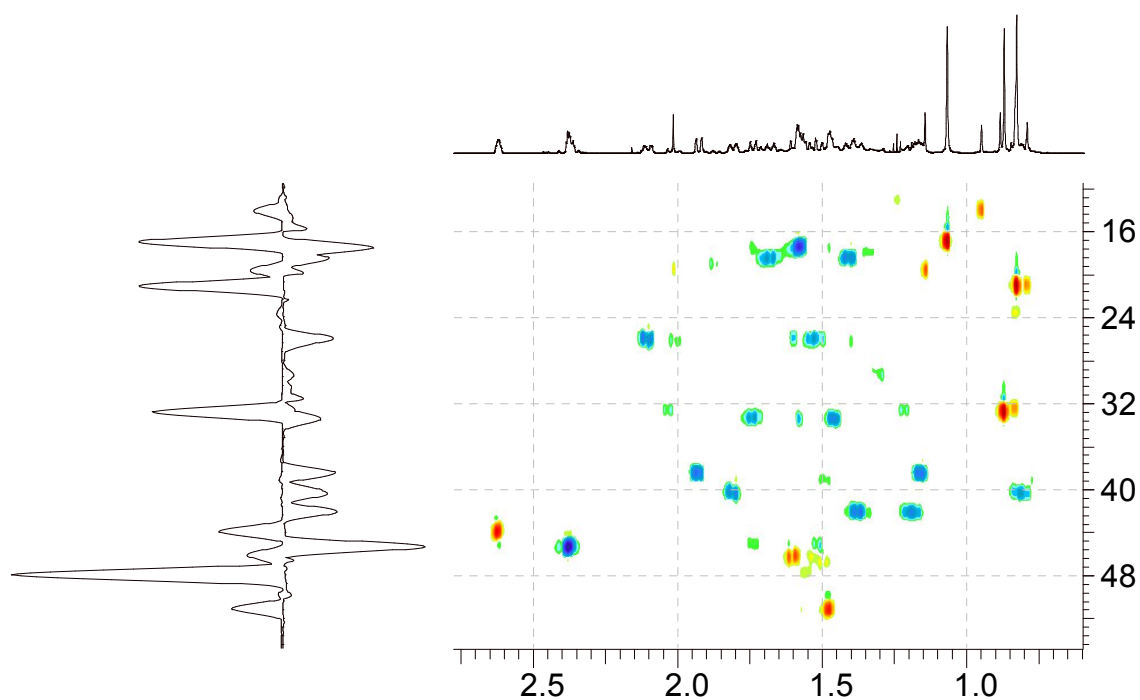
Espectro 64. Ampliação da região 0,80 – 1,93 do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) da substância XeHF12.



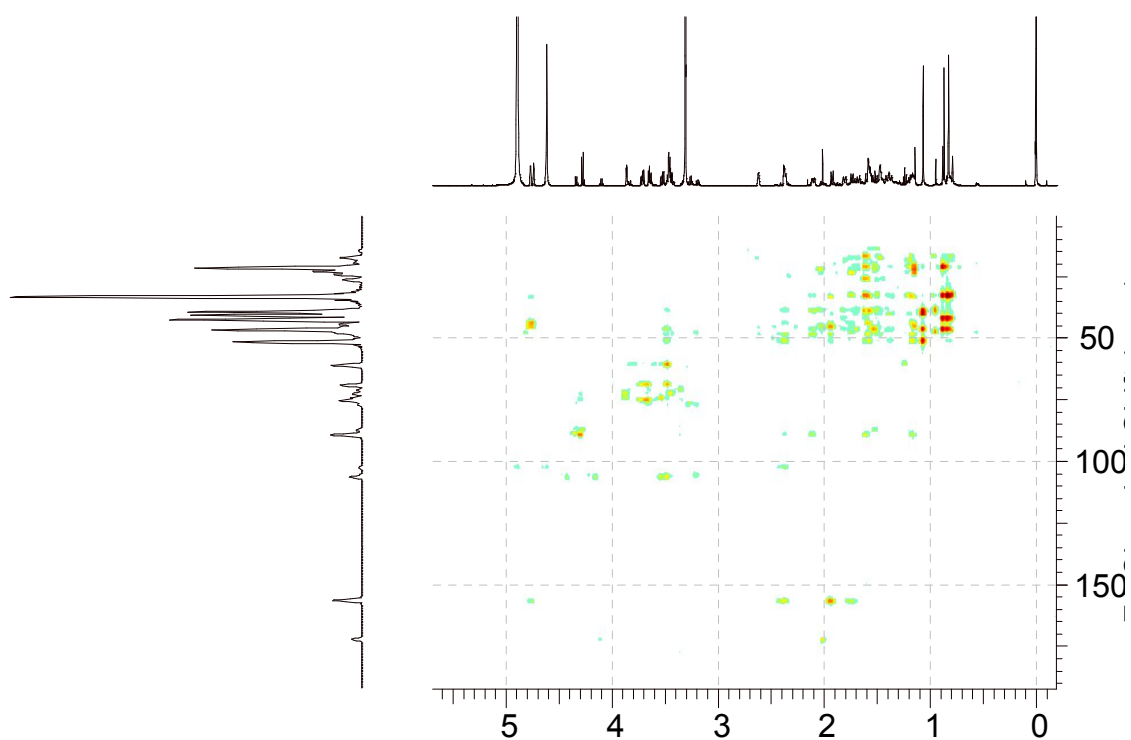
Espectro 65. Mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) da substância XeHF12.



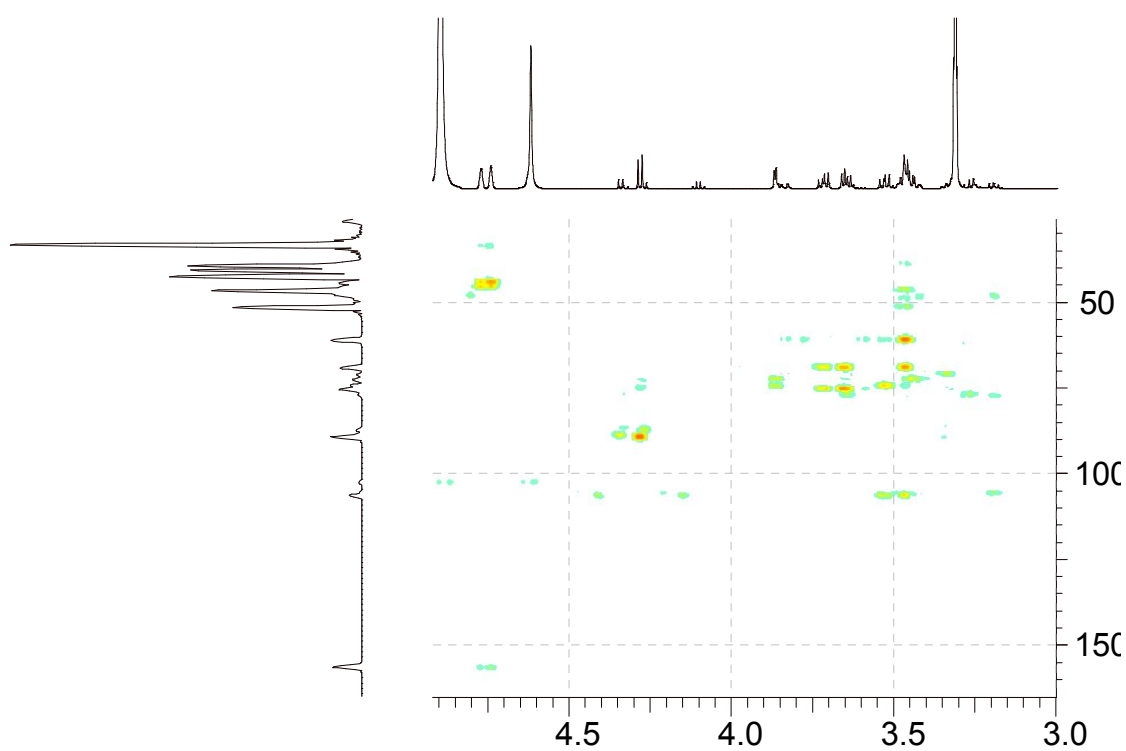
Espectro 66. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) na região de 107 a 45 ppm da substância XeHF12.



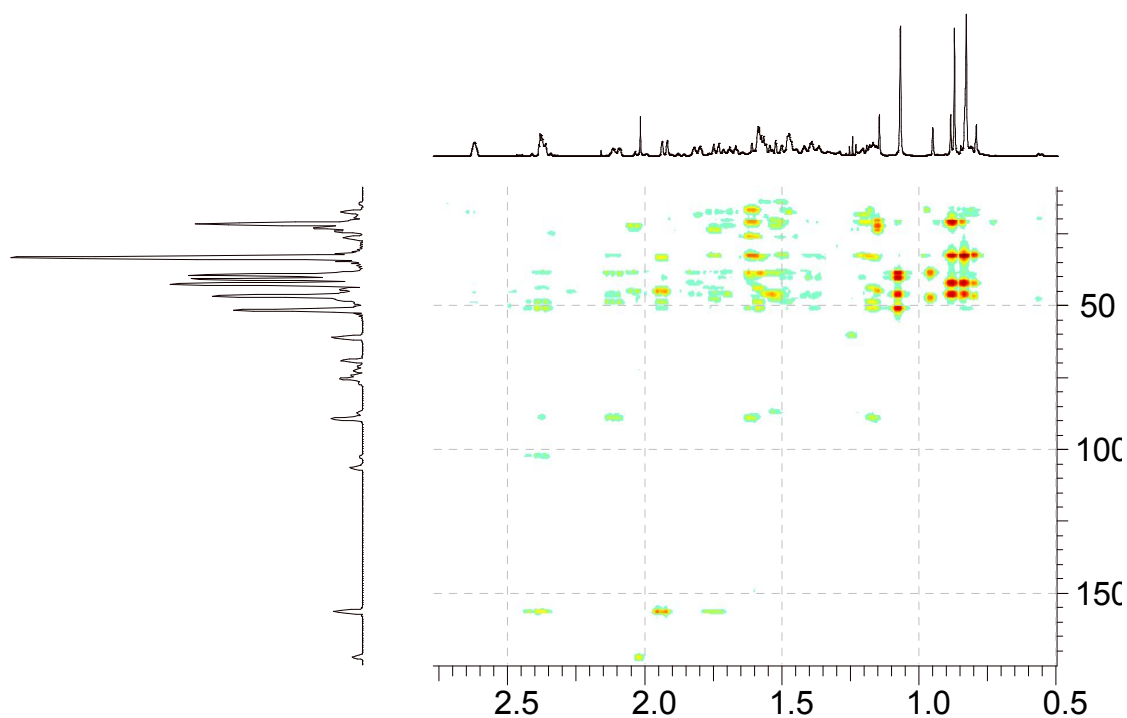
Espectro 67. Expansão do mapa de correlação gHSQC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) na região de 50 a 16 ppm da substância XeHF12.



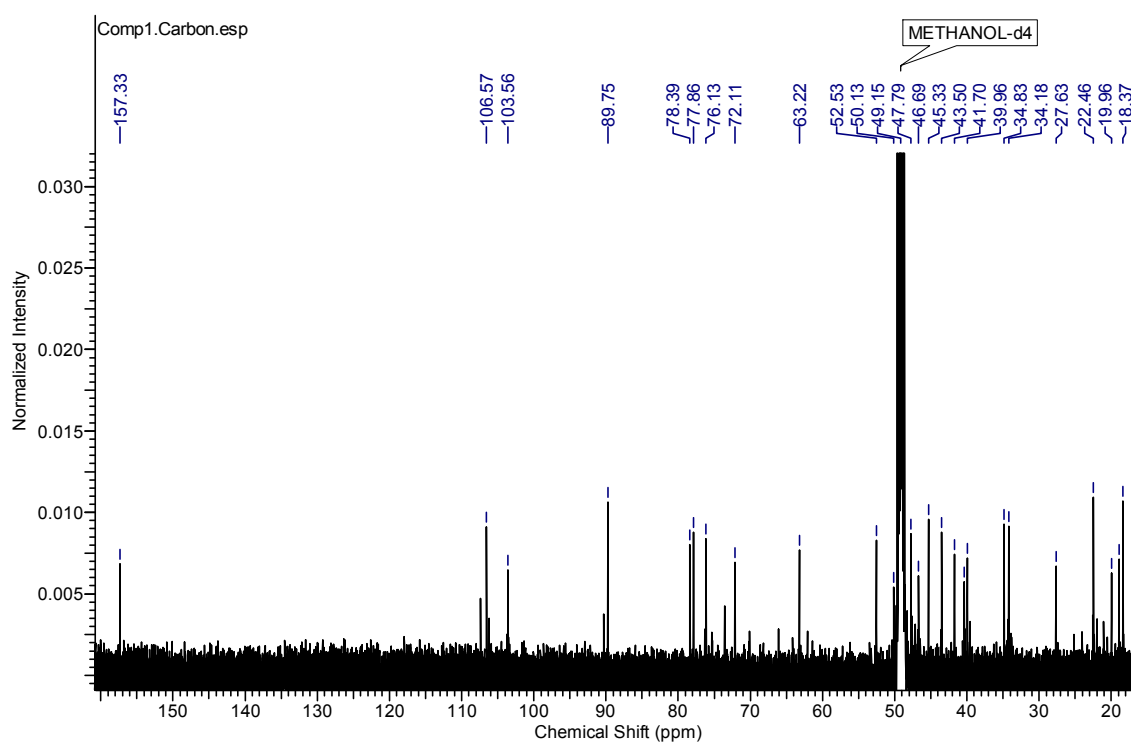
Espectro 68. Mapa de correlação gHMBC (¹H: 600 MHz, ¹³C: 150 MHz, CD₃OD) da substância XeHF12.



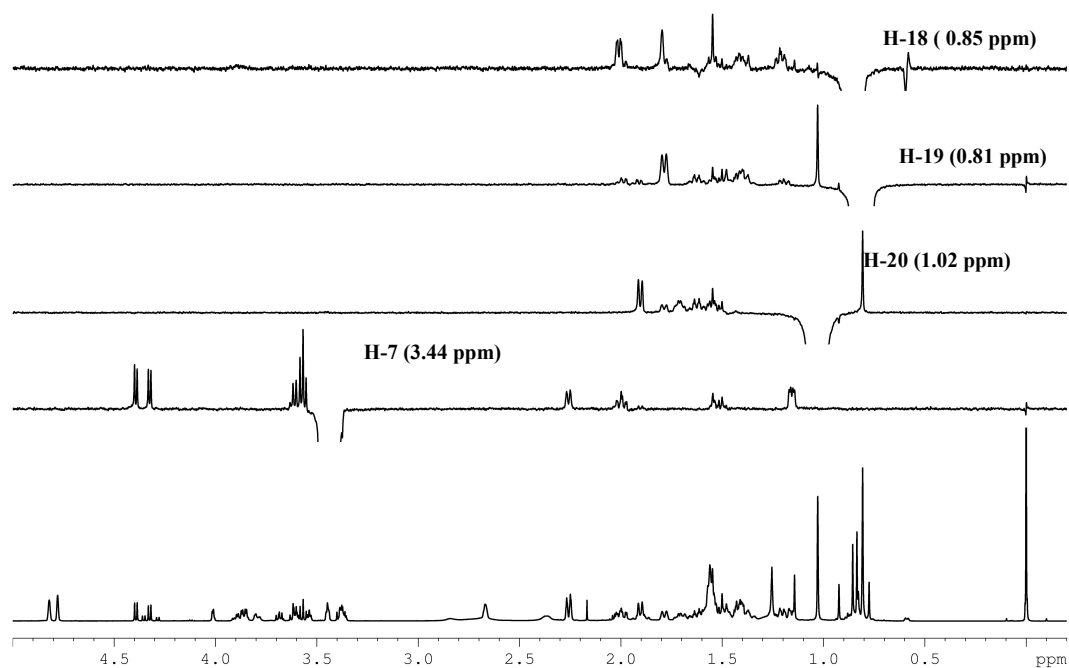
Espectro 69. Expansão do mapa de correlação gHMBC (¹H: 600 MHz, ¹³C: 150 MHz, CD₃OD) na região de 150 a 50 ppm da substância XeHF12.



Espectro 70. Expansão do mapa de correlação gHMBC (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz, CD_3OD) na região de 155 a 40 ppm da substância XeHF12.



Espectro 71. Espectro de RMN de ^{13}C em at 125 MHz da substância XeHF12



Espectro 72. Espectro de NMN de ^1H e experimento de NOE 1D em CDCl_3 em 600 MHz da substância XeHF12