



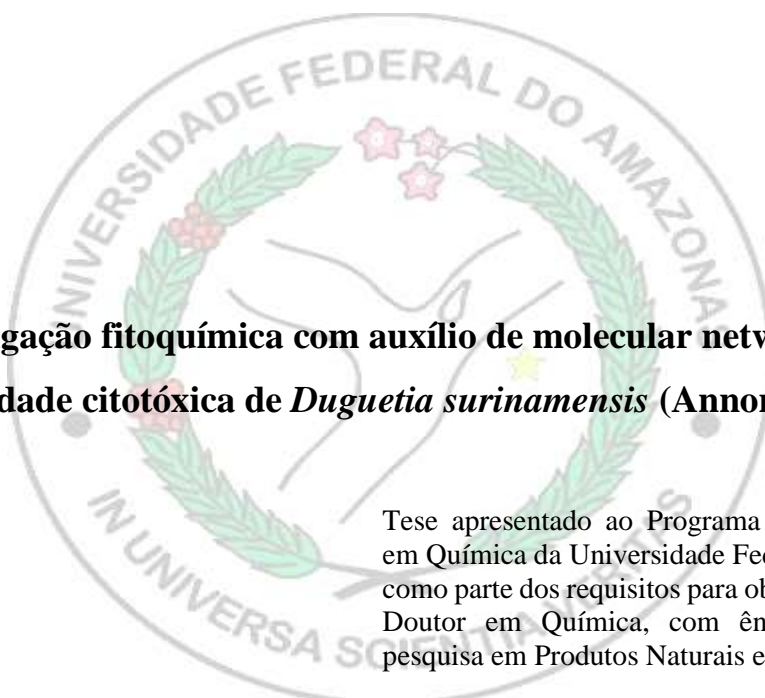
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS – ICE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ  
LINHA DE PESQUISA: PRODUTOS NATURAIS E BIOMOLÉCULAS

**Investigação fitoquímica com auxílio de molecular networking e  
atividade citotóxica de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae)**

**WEIDER HENRIQUE PINHEIRO PAZ  
DOUTORADO**

Manaus - AM  
Março / 2022

WEIDER HENRIQUE PINHEIRO PAZ



**Investigação fitoquímica com auxílio de molecular networking e  
atividade citotóxica de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae)**

Tese apresentado ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química, com ênfase na linha de pesquisa em Produtos Naturais e Biomoléculas.

**ORIENTADOR:**

Prof. Dr. Hector Henrique Ferreira Koolen

**CO-ORIENTADOR:**

Prof. Dr. Emmanoel Vilaça Costa

Manaus - AM

Março / 2022

## Ficha Catalográfica

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

P348i Paz, Weider Henrique Pinheiro  
Investigação fitoquímica com auxílio de molecular networking e atividade citotóxica de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae) / Weider Henrique Pinheiro Paz . 2022  
212 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Hector Henrique Ferreira Koolen  
Coorientador: Emmanoel Vilaça Costa  
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Cromatografia. 2. Alcaloides. 3. Espectrometria . 4. Molecular Networking. 5. Citotoxicidade. I. Koolen, Hector Henrique Ferreira. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Investigação fitoquímica com auxílio de molecular networking e atividade citotóxica de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae)

**WEIDER HENRIQUE PINHEIRO PAZ**

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em, 04 de março de 2022.



HECTOR HENRIQUE FERREIRA KOOLEN (PPGQ/UFAM)

Presidente/Orientador



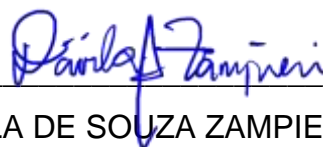
MARIA LUCIA BELÉM PINHEIRO (PPGQ/UFAM)

Membro Interno



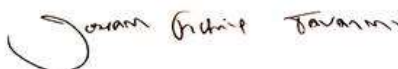
MARCOS BATISTA MACHADO (PPGQ/UFAM)

Membro Interno



DÁVILA DE SOUZA ZAMPIERI (UFC)

Membro Externo



JOSEAN FECHINE TAVARES (UFPB)

Membro Externo

Universidade Federal do Amazonas  
Manaus, 04 de março de 2022.

[...] Aos meus pais (Sandro e Tatiara – *In memoriam*) que encerraram seus ciclos no início do meu doutorado, minha dedicação por todos os seus esforços pela minha educação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus por ter me proporcionado saúde, persistência e força em prosseguir com a caminhada do doutorado. Aos meus pais (*In memoriam*) que sempre batalharam e incentivaram meus estudos e constuíram minha educação. Essa trajetória não seria possível sem vocês. Ao meu irmão Victor Henrique pelo apoio e acompanhamento nesses anos, sendo meu torcedor.

Agradecer ao meu orientador Hector Henrique Ferreira Koolen pela contribuição, direcionamento, incentivo para crescer cada vez na carreira acadêmica. Os quase sete anos de orientação foram essenciais para aprimorar meus conhecimentos e melhorar cada vez mais. Meu sincero agradecimento por todas as contribuições, conselhos para a vida e apoio em geral.

Ao meu co-orientador Prof. Dr Emmanoel Vilaça Costa pela confiança e pelo conhecimento adquirido nas técnicas clássicas de cromatografia e RMN, bem como a grande experiência no manuseio e práticas de laboratório da fitoquímica de bancada.

Ao restante da família (tios(as) e primos(as)) que sempre me deram apoio e constante ajuda e incentivo. Também aos meus amigos de Teresina-PI, em especial a Eliemy Fernandes, Herbert Gonzaga, Ruana Paiva, Gerlane Costa que foram presentes constantemente em muitos momentos difíceis. Aos demais amigos (não citei nomes para não ser injusto) que de perto e de longe acompanharam minha trajetória e deram força.

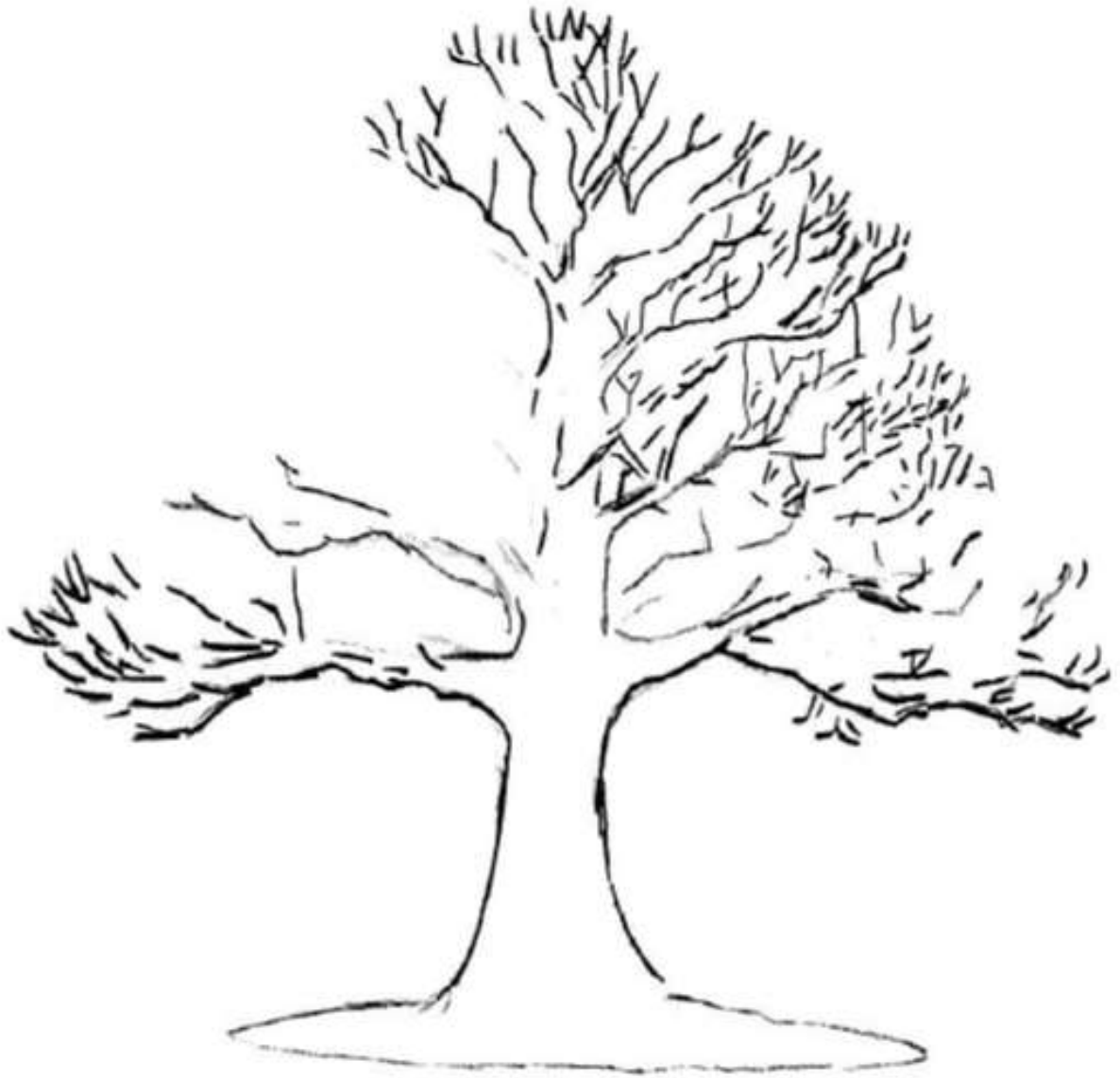
Agradeço também aos meus colegas e amigos de Manaus pela ajuda em algumas etapas do processo do doutorado e pelo apoio em alguns momentos difíceis que passei desde o início do doutorado até presente momento, em especial a Paula Paz, Elzalina Soares, Bruna Ribeiro, Yara Lins, Rafael Xavier, Atila Ferreira, André Thiago e Jackeline Viana. Também a minha colega fera da Central Analítica da UFAM Ingrid Suellen pela amizade, ajuda e contribuição em alguns processos do doutorado.

As meninas do laboratório de produtos naturais pela parceria, amizade e ajuda nas atividades Alaíde Larissa, Thais Sampaio, Sarah Flores, Milena Campelo e Isadora Moita.

Aos colegas e amigos do laboratório do grupo de pesquisa em Metabolômica e Espectrometria de Massas (MMSRG-UEA), pela parceria dentro e fora do laboratório, em especial a Asenate Aline, Débora Raposo, Emily Juliana, Aline Oliveira, Carlos Vinícius. Aos ex-alunos da UFAM e UEA pela parceria no período de laboratório e pela torcida - Richelly Andrade César Souza, Liviane Andrade, Francisco Alberto, Thiago Damasceno,

Morgana Souza, Nathalia Dorzani, Kathiane Rebouças, Kalynne Rodrigues e Gustavo Vinícius.

Aos professores da vida (educação básica, graduação e pós-graduação) que ofereceram direcionamento e conhecimento necessário para alcançar muitas etapas e concretizar este projeto. A equipe dos laboratórios da central analítica-UFAM (integrantes Felipe Silva e Kidney Neves) e MMSRG-UEA pela disponibilização do espaço e supervisão em alguns procedimentos e análises. Agradecer também pela colaboração do prof. Dr Daniel Pereira Bezerra, pela parceria nas análises realizadas no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - Fiocruz Bahia. À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro e a equipe do Programa de Pós-Graduação em Química da UFAM (professores, secretário e coordenadores) pela organização e apoio ao aluno.



“Se não puder destacar-se pelo talento, vença pelo esforço”.

**Dave Weinbaum**



## RESUMO

A perspectiva da descoberta de novas substâncias bioativas oriundas de plantas do bioma Amazônia se faz necessário podendo ser eficientes e seletivas para o tratamento e cura do câncer, uma vez que a família Annonaceae é destacada por apresentar metabólitos bioativos com ação citotóxica. Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo realizar o estudo fitoquímico e avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos extratos, frações, subfrações e substâncias isoladas das cascas do caule de *Duguetia surinamensis*. Inicialmente, utilizou-se a ferramenta Molecular Networking (MN) para o tratamento de dados obtidas das análises de Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS/MS) da fração alcaloídica (FA) e subfrações de *D. surinamensis*, a fim de examinar seu perfil químico. Os constituintes químicos isolados da FA foram identificados por técnicas espectroscópicas (RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  1D/2D) e espectrométrica (MS). Também foi realizado a determinação da estereoquímica de duas substâncias isoladas cedidas (obtidas no estudo anterior) desta espécie empregando o método espectroscópico de Dicroísmo Circular Eletrônico (ECD). Adicionalmente, os extratos, frações, subfrações e as substâncias purificadas foram submetidas a análise biológicas *in vitro* frente a células tumorais e não tumorais. Foram isoladas cinco substâncias: dois alcaloides aporfínicos [dicentrinona (**S1**), duguetina *N*-óxido (**S2**)], uma morfíndienona (pallidina (**S3**)) e dois novos alcaloides [11-metoxiduguesuramina (**S4**) e duguesuramina (**S5**)]. As substâncias **S6** (duguetinina) e **S7** (surinasarona) cedidas (obtidas no estudo anterior) apresentaram configuração “S” e “R”, respectivamente, bem como apresentaram rotação específica no sentido dextrógiro. Através da análise MN da FA sugeriu-se a identificação de 26 substâncias na FA e 20 substâncias provenientes do conjunto de amostras do 1º fracionamento, totalizando 11 metabólitos inéditos no gênero *Duguetia*. A duguetina *N*-óxido (**S2**) foi mais ativa exibindo  $\text{IC}_{50}$  10,41  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 7,92  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 3,58  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 3,42  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para as células tumorais HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano), HL-60 (leucemia promielocítica humana), HCT116 (carcinoma de cólon humano), respectivamente. Para a célula saudável MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano) apresentou citotoxicidade acima da concentração de 12,07  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Através dos resultados obtidos, foi possível comprovar que a espécie *D. surinamensis* é uma fonte promissora de alcaloides bioativos com potencial citotóxico.

**Palavras-chave:** Cromatografia; alcaloides; espectrometria; molecular networking; citotoxicidade.

## ABSTRACT

The prospect of the discovery of new bioactive substances from plants of the Amazon biome is necessary and may be efficient and selective for the treatment and cure of cancer, once the Annonaceae family is highlighted for presenting bioactive metabolites with cytotoxic action. In this sense, the present work aims to perform the phytochemical study and evaluate the *in vitro* cytotoxicity of the extracts, fractions, subfractions and substances isolated from the stem bark of *D. surinamensis*. Initially, the Molecular Networking (MN) tool was used to process data obtained from the Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry (LC-MS/MS) analyses of the alkaloid fraction (FA) and subfractions of *D. surinamensis* in order to examine its chemical profile. The chemical constituents isolated from the FA were identified by spectroscopic ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  1D/2D NMR) and spectrometric (MS) techniques. It was also performed the stereochemical determination of two ceded isolates (obtained in the previous study) of this species employing the spectroscopic method of Electronic Circular Dichroism (ECD). Additionally, the extracts, fractions, subfractions and purified substances were submitted to *in vitro* biological analysis against tumor and non-tumor cells. Five substances were isolated: two aporphinic alkaloids [dicentrinone (**S1**), duguetine *N*-oxide (**S2**)], one morphinanedienone [pallidine (**S3**)] and two new alkaloids [11-methoxiduguesuramine (**S4**) and duguesuramine (**S5**)]. The ceded substances **S6** (duguetinine) and **S7** (surinasarone) (obtained in the previous study) showed "S" and "R" configuration, respectively, as well as showing specific rotation in the dextrogyre direction. Through the MN analysis of the FA, it was suggested the identification of 26 substances in the FA and 20 substances from the set of samples of the 1st fractionation, totaling 11 unpublished metabolites in the genus *Duguetia*. Duguetine *N*-oxide (**S2**) was most active exhibiting  $\text{IC}_{50}$   $10.41 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $7.92 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $3.58 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $3.42 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  for HepG2 (human hepatocellular carcinoma), MCF-7 (human breast adenocarcinoma), HL-60 (human promyelocytic leukemia), HCT116 (human colon carcinoma) tumor cells, respectively. For the healthy cell MRC-5 (human lung fibroblast) showed cytotoxicity above the concentration of  $12,07 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Through the results obtained, it was possible to prove that the species *D. surinamensis* is a promising source of bioactive alkaloids with cytotoxic potential.

**Keywords:** Chromatography; alkaloids; spectrometry; molecular networking; cytotoxicity.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	8
<b>ABSTRACT</b> .....	9
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	22
2.1. Objetivo geral .....	22
2.2. Objetivos específicos .....	22
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	23
3.1. Câncer: Problematização e contexto geral.....	23
3.1.1. Quimioterápicos derivados de plantas.....	24
3.2. Família Annonaceae .....	26
3.2.1. Fitoquímica da família Annonaceae.....	29
3.3. Considerações gerais do gênero <i>Duguetia</i> .....	30
3.3.1. Fitoquímica do gênero <i>Duguetia</i> e suas propriedades farmacológicas .....	30
3.3.1.1. Alcaloides do gênero <i>Duguetia</i> .....	35
3.1. Molecular Networking.....	41
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	43
4.1. Equipamentos .....	44
4.2. Coleta e preparo de extratos de <i>D. surinamensis</i> .....	44
4.2.1. Tratamento ácido-base do extrato metanólico.....	45
4.3. Análise por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas sequencial (LC-MS/MS) e Molecular Networking (MN).....	47
4.3.1. Análise por Espectrometria de Massas sequencial (MS/MS) .....	47
4.3.2. Análise por Molecular Networking (MN).....	48
4.4. Cromatografia em coluna aberta (CCA).....	50
4.5. Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) e Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP).....	50
4.5.1. Reveladores e solventes.....	51
4.6. Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica de <i>D. surinamensis</i> .....	52
4.6.1. Primeiro fracionamento cromatográfico .....	52
4.6.2. Segundo fracionamento cromatográfico e isolamento das substâncias de <i>D. surinamensis</i> .....	53
4.6.3. Terceiro fracionamento cromatográfico e isolamento das substâncias de <i>D. surinamensis</i> .....	54

4.7. Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	57
4.8. Determinação da estereoquímica das substâncias de <i>D. surinamensis</i> .....	57
4.9. Análise <i>full scan</i> e fragmentação das substâncias isoladas de <i>D. surinamensis</i> .....	58
4.10. Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	58
4.10.1. Preparo das amostras.....	59
4.10.1.1. Linhagens celulares: crescimento .....	59
4.10.1.2. Procedimento para o teste <i>in vitro</i> .....	60
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	61
5.1. Análise por meio da ferramenta Molecular Networking (MN). .....	61
5.1.1. Análise e desreplicação de substâncias da fração alcaloídica de <i>D. surinamensis</i> .....	61
5.1.2. Análise das substâncias presentes nas frações provenientes do 1º procedimento cromatográfico de <i>D. surinamensis</i> .....	73
5.2. Elucidação estrutural das substâncias de <i>D. surinamensis</i> .....	86
5.2.1. Elucidação estrutural da substância 1 ( <b>S1</b> ).....	87
5.2.2. Elucidação estrutural da substância 2 ( <b>S2</b> ).....	91
5.2.3. Elucidação estrutural da substância 3 ( <b>S3</b> ).....	95
5.2.4. Elucidação estrutural da substância 4 ( <b>S4</b> ) e 5 ( <b>S5</b> ). .....	99
5.3. Determinação da estereoquímica de duas substâncias previamente isoladas de <i>D. surinamensis</i> .....	120
5.4. Investigação da citotoxicidade <i>in vitro</i> dos extratos, frações e substâncias isoladas de <i>D. surinamensis</i> . .....	123
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	128
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	129
<b>APÊNDICE</b> .....	143

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Substâncias isoladas de plantas e fármacos semissintéticos utilizadas no tratamento do câncer.....	25
<b>Figura 2.</b> Distribuição geográfica mundial de espécies da família Annonaceae.....	26
<b>Figura 3.</b> Espécies frutíferas mais conhecidas do gênero <i>Annona</i> . ....	27
<b>Figura 4.</b> Classes de substâncias presentes na família Annonaceae.....	29
<b>Figura 5.</b> Asaronas isoladas de espécies de <i>Duguetia</i> . ....	33
<b>Figura 6.</b> Algumas substâncias fenólicas isolados do gênero <i>Duguetia</i> .....	34
<b>Figura 7.</b> Alguns alcaloides do tipo isoquinolinos e do subtipo-proberberinos presentes nas espécies do gênero <i>Duguetia</i> . ....	36
<b>Figura 8.</b> Alguns alcaloides aporfinos e seus derivados encontrados nas espécies do gênero <i>Duguetia</i> . ....	36
<b>Figura 9.</b> Alguns alcaloides copirina e outros tipos distintos encontrados nas espécies do gênero <i>Duguetia</i> .....	37
<b>Figura 10.</b> Partes da espécie <i>Duguetia surinamensis</i> .....	39
<b>Figura 11.</b> Neolignana isolada da <i>D. surinamensis</i> . ....	40
<b>Figura 12.</b> Substâncias isoladas das cascas do caule de <i>D. surinamensis</i> .. ....	40
<b>Figura 13.</b> Esquema representativo do processamento de misturas de substância para obtenção da rede molecular dos espectros de LC-MS/MS, tendo como exemplo os aminoácidos triptofano e seus derivados, biotina e destiobitina (biblioteca espectral do GNPS).....	42
<b>Figura 14.</b> Fluxograma dos procedimentos metodológicos utilizados nesta pesquisa.. ....	43
<b>Figura 15.</b> Fluxograma do procedimento para obtenção dos extratos das cascas do caule de <i>D. surinamensis</i> .. ....	45
<b>Figura 16.</b> Fluxograma do tratamento ácido-base do extrato metanólico das cascas do caule de <i>D. surinamensis</i> . ....	47
<b>Figura 17.</b> Procedimento para a obtenção dos clusters da rede molecular da frações de <i>D. surinamensis</i> .....	49
<b>Figura 18.</b> Primeiro fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica de <i>D. surinamensis</i> .....	52

<b>Figura 19.</b> Segundo fracionamento cromatográfico da fração de <i>D. surinamensis</i> .....	53
<b>Figura 20.</b> Terceiro fracionamento cromatográfico.....	55
<b>Figura 21.</b> Esquema detalhado do procedimento realizado para a purificação e isolamento das substâncias de <i>D. surinamensis</i> .....	56
<b>Figura 22.</b> Equações para a determinação do $R_o$ e a porcentagem de proliferação celular.....	60
<b>Figura 23.</b> Rede molecular da fração alcaloídica das cascas do caule de <i>D. surinamensis</i> : cluster 1 - aporfinoides (nós azuis), cluster 2 - benzilisoquinolinos (nós laranjas), cluster 3 - oxoaporfinos (nós vermelhos) e cluster 4 - tetraidroisoquinolinos (nós azul claro). .....	62
<b>Figura 24.</b> Cromatograma obtido da FACDS através da análise de HPLC-MS/MS .....	65
<b>Figura 25.</b> Mecanismos de fragmentação para a eliminação do grupo nitrogenado de alcaloides aporfinos ( <b>1a –10a</b> ).....	67
<b>Figura 26.</b> Mecanismos de fragmentação para demais perdas de alguns grupos dos aporfinoides ( <b>1a –10a</b> ).....	68
<b>Figura 27.</b> Principais mecanismos de fragmentação de alcaloides derivados <i>N</i> -óxido ( <b>7b, 8b, 11a, 12a e S2</b> ).....	69
<b>Figura 28.</b> Principais mecanismos de fragmentação do alcaloide proaporfino stefarina ( <b>13a</b> ).....	70
<b>Figura 29.</b> Mecanismos de fragmentação para a substância duguetinina ( <b>25a</b> ) .....	70
<b>Figura 30.</b> Principais mecanismos de fragmentação de alcaloides benzilisoquinolinos ( <b>1a - 6a</b> ).....	71
<b>Figura 31.</b> Principais mecanismos de fragmentação de alcaloides oxoaporfinos ( <b>1c e 2c</b> ).....	72
<b>Figura 32.</b> Principais mecanismos de fragmentação da heliamina ( <b>1d</b> ), um alcaloide tetraidroisoquinolino.....	74
<b>Figura 33.</b> Rede molecular das frações das cascas do caule de <i>D. surinamensis</i> : cluster 1 - aporfinos, cluster 2 - benzilisoquinolinos, cluster 3 - tetraidroprotoberberinos, cluster 4 - protoberberinos .....	74
<b>Figura 34.</b> Cromatograma obtido das frações 1FACDS_1, 2 e 4 de <i>D. surinamensis</i> através da análise de HPLC-MS/MS. ....	76
<b>Figura 35.</b> Cromatograma obtido das frações 1, 6 e 7 de <i>D. surinamensis</i> através da análise de HPLC-MS/MS. ....	77
<b>Figura 36.</b> Principais mecanismos de fragmentação de alcaloides derivados <i>N</i> -óxido ( <b>11a-18a</b> ).....	79

<b>Figura 37.</b> Principais mecanismos de fragmentação da substância pachiconfina <i>N</i> -óxido (18a) .....	80
<b>Figura 38.</b> Principais mecanismos de fragmentação de duguetina (19a), <i>N</i> -formil duguevanina (20a) e dicentrina (22a).....	81
<b>Figura 39.</b> Mecanismos de fragmentação para a substância oliveridina (22a).....	82
<b>Figura 40.</b> Mecanismos de fragmentação para a substância 9-metoxi - nornuciferidina (24a).. ..	82
<b>Figura 41.</b> Mecanismos de fragmentação para a reticulina <i>N</i> -óxido (8b).....	83
<b>Figura 42.</b> Mecanismos de fragmentação para a alocriptopina (3e).....	84
<b>Figura 43.</b> Mecanismos de fragmentação para a palmatina (4e).....	84
<b>Figura 44.</b> Mecanismos de fragmentação para a staudina (5e) .....	85
<b>Figura 45.</b> Esqueletos dos alcaloides identificados nas cascas de <i>D. surinamensis</i> .....	86
<b>Figura 46.</b> Estruturas químicas dos alcaloides isolados de <i>D. surinamensis</i> . .....	86
<b>Figura 47.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (500 MHz, em CDCl <sub>3</sub> ) da S1. ....	87
<b>Figura 48.</b> Espectro de massas da substância S1 .....	89
<b>Figura 49.</b> Espectro de fragmentação com a proposta mecanística para a substância S1. .	90
<b>Figura 50.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (500 MHz, em CDCl <sub>3</sub> ) da S2 .....	91
<b>Figura 51.</b> Espectro de massas da substância S2.....	93
<b>Figura 52.</b> Espectro de fragmentação com a proposta mecanística da substância S2 .....	94
<b>Figura 53.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (500 MHz, em CDCl <sub>3</sub> ) da S3.....	95
<b>Figura 54.</b> Espectro de massas da substância S3 .....	97
<b>Figura 55.</b> Espectro de fragmentação da substância S3. ....	98
<b>Figura 56.</b> Proposta de fragmentação para a substância S3.....	98
<b>Figura 57.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (500 MHz, em CDCl <sub>3</sub> ) da S4.....	100
<b>Figura 58.</b> Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup> H indicando sinais de hidrogênios metilênicos H-4 e H-5 e hidrogênios metílicos ( <i>N</i> -CH <sub>3</sub> ) da S4.....	100
<b>Figura 59.</b> Mapa de correlação COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H e ampliação dos sinais H-4 e H-5 (500 MHz em CDCl <sub>3</sub> ) da S4.....	101

<b>Figura 60.</b> Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ indicando sinais de hidrogênios aromáticos (H-3, *H-8 e *H-11), metoxílicos (*H-9' e *H-10) e da ponte metilenodioxi (H-1,2) da <b>S4</b> .....	102
<b>Figura 61.</b> Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ indicando sinais de hidrogênios aromáticos corrigidos (H-3, H-9 e H-12), metoxílicos (H-10' e H-11), ponte metilenodioxi (H-1,2) e o hidrogênio metínico do anel C (H-7) da <b>S4</b> .....	103
<b>Figura 62.</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) e DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da <b>S4</b> .....	103
<b>Figura 63.</b> Mapa de correlação HSQC ( $^1\text{H}$ - 500 MHz; $^{13}\text{C}$ - 125 MHz, em $\text{CDCl}_3$ ) da <b>S4</b> .....	104
<b>Figura 64.</b> Mapa de correlação HMBC ( $^1\text{H}$ - 500 MHz; $^{13}\text{C}$ - 125 MHz, em $\text{CDCl}_3$ ) da <b>S4</b> .....	105
<b>Figura 65.</b> Ampliação do mapa de correlação HMBC indicando as correlações do hidrogênio H-3, das metoxilas (H-10' e H-11'), metilênicos (H-4 e H-5), do grupo <i>N</i> - $\text{CH}_3$ (H-6) e dos hidrogênios da ponte metilenodioxi da <b>S4</b> .....	107
<b>Figura 66.</b> Ampliação do mapa de HMBC indicando as correlações dos hidrogênios H-7, H-9 e H-12 da <b>S4</b> .....	108
<b>Figura 67.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da <b>S4</b> e <b>S5</b> para fins comparativos .....	110
<b>Figura 68.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da <b>S4</b> e <b>S5</b> para fins comparativos .....	111
<b>Figura 69.</b> Ampliação dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ indicando sinais de hidrogênios aromáticos corrigidos (H-9, H-11 e H-12) e o hidrogênio metínico do anel C (H-7) para fins comparativos da <b>S4</b> e <b>S5</b> .....	112
<b>Figura 70.</b> Ampliação dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ indicando sinais de hidrogênios metilênicos (H-4 e H-5), metoxílico (H-10'), aromático (H-3), ponte metilenodioxi (H-1,2) e do grupo <i>N</i> - $\text{CH}_3$ (H-6) para fins comparativos da <b>S4</b> e <b>S5</b> .....	113
<b>Figura 71.</b> Mapa de correlação HSQC ( $^1\text{H}$ - 500 MHz; $^{13}\text{C}$ - 125 MHz, em $\text{CDCl}_3$ ) da <b>S5</b> .....	114
<b>Figura 72.</b> Mapa de correlação HMBC ( $^1\text{H}$ - 500 MHz; $^{13}\text{C}$ - 125 MHz, em $\text{CDCl}_3$ ) da <b>S5</b> .....	115
<b>Figura 73.</b> Ampliação do mapa de correlação HMBC indicando as correlações do hidrogênios aromáticos (H-3, H-9 e H-11), metínico (H-7) e da ponte metilenodioxi (1,2) da <b>S5</b> .....	116
<b>Figura 74.</b> Ampliação do mapa de HMBC indicando as correlações de H-4, H-5, H-6 e H-10' da <b>S5</b> .....	117
<b>Figura 75.</b> Espectro de massas das substâncias <b>S4</b> e <b>S5</b> .....	118



<b>Figura 76.</b> Espectro de fragmentação juntamente com a proposta de fragmentação da <b>S5</b> .....	119
<b>Figura 77.</b> Espectro de fragmentação juntamente com a proposta de fragmentação da <b>S4</b> .....	120
<b>Figura 78.</b> Substâncias inéditas de <i>D. surinamensis</i> submetidas a análise para identificação da configuração absoluta .....	120
<b>Figura 79.</b> ECD experimental e espectros de ECD calculados da substância duguetinina ( <b>S6</b> ) .....	121
<b>Figura 80.</b> Configuração do C-6a da substância 6 e sua rotação específica.....	122
<b>Figura 81.</b> Estruturas dos enantiômeros 7R e 7S e rotações específicas calculadas da substância <b>S7</b> .....	122

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Usos populares e atividades farmacológicas comprovadas de algumas espécies da família Annonaceae .....	28
<b>Quadro 2.</b> Espécies do gênero <i>Duguetia</i> que foram exploradas quimicamente e biologicamente. ....	31
<b>Quadro 3.</b> Alcaloides isolados das espécies do gênero <i>Duguetia</i> e suas atividades farmacológicas comprovadas .....	38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Reunião das frações obtidas do 1º fracionamento cromatográfico.....	53
<b>Tabela 2.</b> Reunião das frações obtidas do 2º fracionamento cromatográfico.....	54
<b>Tabela 3.</b> Reunião das frações obtidas do 3º fracionamento cromatográfico.....	55
<b>Tabela 4.</b> Recodificação das substâncias isoladas de <i>D. surinamensis</i> . ....	56
<b>Tabela 5.</b> Substâncias identificadas através da análise da rede molecular da fração de <i>D. surinamensis</i> . ....	63
<b>Tabela 6.</b> Substâncias identificadas através da análise da rede molecular das frações do 1º procedimento cromatográfico de <i>D. surinamensis</i> . ....	75
<b>Tabela 7.</b> Substâncias identificadas pela GNPS e MN presentes em outras espécies do gênero <i>Duguetia</i> . ....	78
<b>Tabela 8.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C da substância 1 ( <b>S1</b> ). ....	88
<b>Tabela 9.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C da substância 2 ( <b>S2</b> ). ....	92
<b>Tabela 10.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C da substância 3 ( <b>S3</b> ). ....	96
<b>Tabela 11.</b> Dados espectroscópicos de RMN ( <sup>1</sup> H 500 MHz, <sup>13</sup> C 125 MHz) para as substâncias 4 e 5 de <i>D. surinamensis</i> . ....	104
<b>Tabela 12.</b> Inibição da atividade citotóxica <i>in vitro</i> em linhagens de células tumorais e não tumorais dos extratos e das frações das cascas de <i>D. surinamensis</i> . ....	124
<b>Tabela 13.</b> Inibição da atividade citotóxica <i>in vitro</i> em linhagens de células tumorais e não tumorais das substâncias isoladas das cascas de <i>D. surinamensis</i> . ....	125

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\delta$	Deslocamento químico
$\phi$	Diâmetro
A <sub>HW</sub>	Absorbância de maior comprimento
A <sub>LW</sub>	Absorbância de menor comprimento
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado
CD <sub>3</sub> OD	Metanol deuterado
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
CH <sub>3</sub> OH	Metanol
CI <sub>50</sub>	Concentração inibitória em 50% (do inglês “ <i>inhibition concentration</i> ”);
COSY	Espectroscopia de correlação (do inglês “ <i>homonuclear Correlated Spectroscopy</i> ”)
CPqGM	Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dupleto
Da	Dalton
DEPT	Aprimoramento sem distorção por transferência de polarização (“do inglês “ <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i> ”)
<i>dd</i>	Duplo dupleto
Dox	Doxorrubicina
DMSO	Dimetilsulfóxido
ECD	Dicroísmo Circular Eletrônico (do inglês “ <i>Electronic Circular Dichroism</i> ”)
EHCDs	Extrato Hexânico das cascas de <i>Duguetia surinamensis</i>
EMCDs	Extrato Metanólico das cascas de <i>Duguetia surinamensis</i>
ESI (+)	Eletrospray modo positivo (do inglês “ <i>Electrospray ionization</i> ”)
FACDS	Fração Alcalóidica das cascas de <i>Duguetia surinamensis</i>
FE	Fase estacionária
FM	Fase móvel
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FNCDS	Fração Neutra das cascas de <i>Duguetia surinamensis</i>
HCT116	Carcinoma de cólon humano
HepG2	Linhagem celular de Carcinoma Hepatocelular Humano (do inglês “ <i>human hepatocellular carcinoma cell line</i> ”)
HL-60	Linhagem de células de Leucemia Promielocítica Humana (do inglês “ <i>human promyelocytic leukemia cell line</i> ”)
HMBC	Correlação heteronuclear de ligações múltiplas (do inglês “ <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> ”)

HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês “High Performance Liquid Chromatography”)
HSQC	Correlação simples de ligações heteronucleares (do inglês “Heteronuclear Single Quantum Coherence”)
IGM	Instituto Gonçalo Moniz;
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
$J$	Constante de acoplamento
K562	Linhagem celular de leucemia eritromieloblastóide humana (do inglês “ <i>human erythromyeloblastoid leucemia cell line</i> ”).
LETI	Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia
$m$	Metro
$m$	Multiplete
MCF-7	Linhagem celular de Carcinoma de Mamário Humano (do inglês “ <i>Michigan Cancer Foundation-7</i> ”)
MCR-5	Linhagem de células diplóides de pulmão de feto humano (do inglês “ <i>Cells Normal human lung fibroblastos</i> ”)
MHz	Megahertz
MRC-5	Linha diplóide de células humanas composta por fibroblastos de pulmão saudável (do inglês “ <i>Medical Research Council cell strain 5</i> ”)
MS	Espectrometria de massas (do inglês “ <i>mass spectrometry</i> ”);
MS/MS	Espectrometria de massas sequencial (do inglês “ <i>tandem mass spectrometry</i> ”);
$m/z$	Razão massa/carga
NH <sub>4</sub> OH	Hidróxido de amônio
PBMC	Célula mononuclear de sangue periférico (do inglês “ <i>peripheral blood mononuclear cells</i> ”)
PN	Produtos Naturais
$R_f$	Fator de retenção
RMN <sup>1</sup> H	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (do inglês “ <i>Nuclear magnetic resonance</i> ”)
RMN <sup>13</sup> C	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de carbono (do inglês “ <i>Nuclear magnetic resonance of carbon</i> ”)
RMN 1D/2D	Ressonância magnética nuclear unidimensional e bidimensional
$s$	Simpleto
$t$	Triplete
TD-DFT	Teoria Funcional da Densidade Dependente do Tempo (do inglês “ <i>Time-dependent Density Functional Theory</i> ”)
TMS	tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

## 1. INTRODUÇÃO

Produtos naturais (PN), substâncias produzidas por organismos vivos têm desempenhado um papel central na descoberta de novos fármacos desde o início do século passado (DIAS *et al.*, 2012). Atualmente, inúmeros medicamentos empregados rotineiramente são derivados de plantas e microrganismos (MAITRA, STEPHEN & CIESLA, 2022).

Ao longo da era de ouro dos antibióticos (1940 - 1970), a química de PN teve sua melhor fase, na qual milhares de substâncias orgânicas foram descritas, e centenas delas selecionadas para as mais diversas finalidades terapêuticas, além daquelas relacionadas à infecções (NICOLAOU & CRIGOL, 2017; UJVARI & ADONI, 2014). As pesquisas com PN mostram que os metabólitos naturais possuem enorme potencial para o combate a outras doenças, em especial o câncer (BUTLER *et al.*, 2015; DIAS *et al.*, 2012; AMINOV, 2010).

O câncer é configurado como uma das principais causas de mortalidade mundial, sendo ocasionado por condições multifatoriais consistindo em um conjunto de mais de 100 tipos diferentes associados ao crescimento de células anormais com potencial invasivo, e é considerado um importante problema global de saúde pública (WCRF, 2018). Estudos apontam um impacto cada vez maior da carga dos tipos de câncer nas próximas décadas (LOPES-JÚNIOR & LIMA, 2019; INCA, 2019). Os desafios envolvidos no seu tratamento, tais como a resistência às terapias tradicionais com o tempo de uso de medicamentos, exigem que a pesquisa contínua por novas drogas seja cada vez mais eficiente e seletiva no tratamento e, conseqüentemente a cura do câncer (HOUSMAN *et al.*, 2014).

Nesse sentido, é possível isolar novas substâncias de espécies vegetais que não foram exploradas quimicamente e farmacologicamente, uma vez que o número de plantas contidas em farmacopeias, representa apenas uma pequena porcentagem da diversidade usada nos medicamentos tradicionais à base de plantas (ALLKIN, 2017). Vale ressaltar também que, das espécies vegetais nativas brasileiras apenas 1% foi utilizada em pesquisas quanto ao seu potencial uso fitoterápico (RODRIGUES, 2016).

Neste contexto, a floresta Amazônica exerce um papel de destaque, pois abriga uma das maiores biodiversidades do planeta com inúmeras substâncias ainda inexploradas onde incentiva a busca por novos metabólitos secundários (MARCOVITCH & PINKY, 2020). É válido ressaltar que a química de PN tem grande importância, uma vez que existe uma urgência em investigar a flora deste ecossistema, e a mesma vem sofrendo com sua devastação (VALLI, RUSSO & BOLZANI, 2019).

Com isto, tendo em vista a crescente demanda do mundo por novos medicamentos, o presente trabalho justifica-se na constante necessidade de se encontrar novos metabólitos bioativos oriundos de plantas do bioma Amazônico. Adicionalmente, estudar plantas endêmicas dessa região pode contribuir para a preservação da mesma, uma vez que os olhos do mundo se voltam para a floresta e a necessidade de sua preservação.

O interesse da investigação fitoquímica de plantas da família Annonaceae, provêm da variedade de substâncias com amplo potencial farmacológico (antimicrobiana, antioxidante, inseticida, antiviral, citotóxica, antileishmania, tripanocida, dentre outras) relatado em muitas espécies dessa família (LUCIO *et al.*, 2015; SILVA<sup>a</sup> *et al.*, 2015; COSTA<sup>a</sup> *et al.*, 2011; ACIOLE *et al.*, 2011; BRITTO *et al.*, 2012). Nesse sentido, a espécie *Duguetia surinamensis* foi objeto de estudo para a presente pesquisa.

---

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Investigar a composição química das cascas do caule de *Duguetia surinamensis* por meio de abordagens fitoquímicas clássicas e modernas, e avaliar o seu potencial citotóxico *in vitro*.

### 2.2. Objetivos específicos

- Analisar por Espectrometria de massas (LC-MS/MS) e redes moleculares a composição química preliminar das frações das cascas do caule de *D. surinamensis*;
- Realizar o isolamento das substâncias presentes nas cascas do caule de *D. surinamensis* através de métodos cromatográficos clássicos;
- Elucidar as estruturas das substâncias isoladas pela análise de seus dados espectroscópicos (RMN - 1D/2D) e espectrométricos (MS);
- Determinar a estereoquímica das substâncias de *D. surinamensis*; através de métodos computacionais e pela técnica de espectroscopia de Dicroísmo Circular Eletrônico (ECD);
- Ensaiar as amostras de *D. surinamensis* quanto a sua atividade citotóxica *in vitro*.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Câncer: Problematização e contexto geral

O câncer consiste em um conjunto de mais de 100 enfermidades que têm em comum o crescimento desordenado e descontrolado de algumas células, que invadem tecidos e órgãos (BRANDÃO *et al.*, 2010). O câncer é uma das principais causas de mortalidade mundial, sendo considerado um importante problema global de saúde pública devido às dificuldades encontradas no tratamento e pelos alarmantes dados estatísticos (LOPES-JÚNIOR & LIMA, 2019). A incidência e a mortalidade desta enfermidade vêm crescendo mundialmente, decorrente dos fatores ambientais, estilos de vida ou costumes (transmissão de hábitos), com destaque a incorporação do tabagismo, sedentarismo, maus hábitos alimentares, fatores genéticos e o próprio processo de envelhecimento (INCA, 2019).

A estimativa recente dos novos tipos de câncer no mundo mostrou que o câncer de pulmão é o mais incidente no mundo (2,1 M), seguido pelo câncer de mama (2,1 M), cólon e reto (1,8 M) e próstata (1,3 M) (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2018). Além disso, as transições epidemiológicas e demográficas globais apontam um impacto cada vez maior do índice de diversos tipos de câncer nas próximas décadas (LOPES-JÚNIOR & LIMA, 2019).

Para o Brasil, a estimativa é que ocorrerão de 625 a 685 mil casos novos de câncer (450 mil, excluindo os casos de câncer de pele não melanoma (ausência de células produtoras de melanina)) para cada ano do triênio 2020-2022 (BRAY *et al.*, 2018). De acordo com o INCA (2019), a estimativa da frequência dos principais tipos de câncer para o triênio 2020-2022 em homens será maior para o de próstata (29,2%), cólon e reto (9,1%), pulmão (7,9%), estômago (5,9%) e cavidade oral (5,0%). Nas mulheres, os cânceres de mama (29,7%), cólon e reto (9,2%), colo do útero (7,4%), pulmão (5,6%) e tireoide (5,4%) serão os principais.

A realização do tratamento da maioria dos casos de câncer faz o uso da combinação de diferentes técnicas como, cirurgias, radioterapias e quimioterapias. Entretanto, o custo do tratamento é alto e necessita do uso de medicamentos que podem causar a redução no crescimento do tumor, que em alguns casos não completa a inativação ou destruição (LI *et al.*, 2011).

Dessa forma, a pesquisa por novas substâncias de origem natural com potencial citotóxico se faz necessário para o desenvolvimento de drogas anticancerígenas e outros medicamentos promotoras de saúde, a fim de aumentar o arsenal terapêutico para o combate e tratamento dos tipos de câncer (FRIDLENDER, KAPULNIK & KOLTAI, 2015; BRANDÃO *et al.*, 2010).



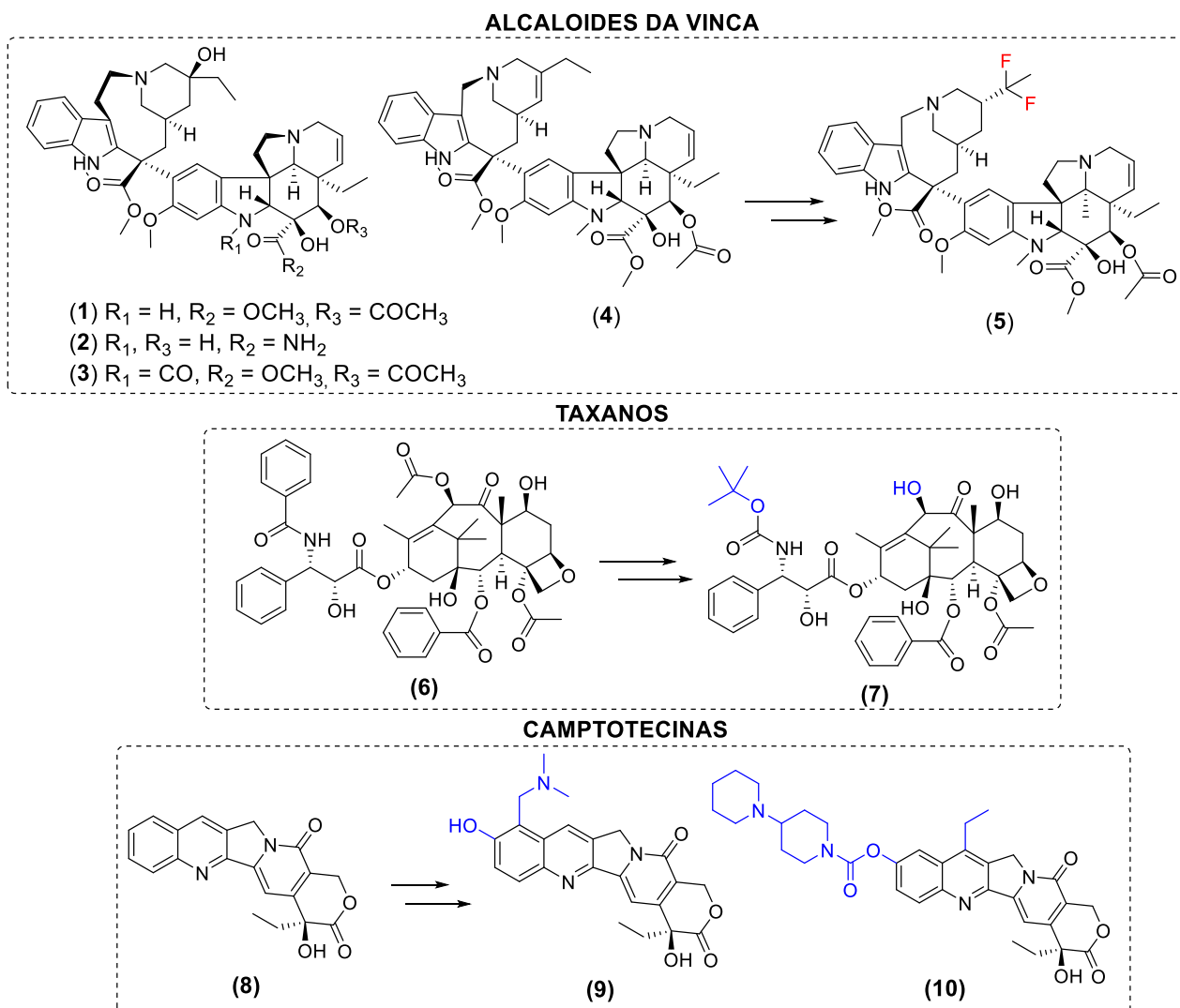
### 3.1.1. Quimioterápicos derivados de plantas

Devido à importância no combate aos tipos de câncer e à variedade de possíveis metabólitos secundários oferecidos pelas plantas, mais de 70% dos medicamentos anticâncer são derivados direta ou indiretamente desse reino (ÍSAOĞLU, GÜLLÜCE & KARADAYI, 2020). Evidências demonstram que as atividades biológicas de plantas se devem aos seus metabólitos, em especial os alcaloides (AKHTAR *et al.*, 2018).

Um grupo de alcaloides utilizados na terapia do câncer consiste em substâncias extraídas da planta vinca denominadas de alcaloides da vinca (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010), sendo os quatro principais com propriedades anticâncer: vimblastina (1) (velban<sup>®</sup>), vindesina (2) (eldisine<sup>®</sup>), vincristina (3) (oncovin<sup>®</sup>) e vinorelbina (4) (navelbine<sup>®</sup>) (MOUDI *et al.*, 2013). Em 2008, foi sintetizado um novo alcaloide da vinca, a vinflunina (5) que compõe o fármaco javlor<sup>®</sup> aprovado na Europa para tratamento de câncer urotelial avançado (GERULLIS *et al.*, 2017).

Após estas descobertas, foi iniciado um programa de coleta e triagem de plantas pelo Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (NCI) para agentes anticancerígenos, com mais de 35.000 amostras vegetais representando 12 -13 mil espécies testadas (BRANDÃO *et al.*, 2010). Dentre as espécies utilizadas, o resultado mais importante foi a descoberta do paclitaxel (6), um alcaloide diterpênico isolado da casca do teixo (*Taxus brevifolia* - Taxaceae) em 1971, sendo efetivo na regressão do câncer de mama e de ovário, resistentes à terapia tradicional (BRANDÃO *et al.*, 2010). Em consequência da sua eficiência em diversos ensaios biológicos, em 1992 foi aprovado o taxol<sup>®</sup>, um dos medicamentos mais empregado na quimioterapia atualmente. Devido à escassez inicial do paclitaxel e da sua baixa solubilidade em água, desenvolveu-se o docetaxel (7) (taxotere<sup>®</sup>) em 1996, um agente semissintético mais ativo que o taxol (DURAK *et al.*, 2014).

Outra descoberta importante do NCI, foi o alcaloide 20-(S)-camptotecina (8), princípio ativo isolado da casca de *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae), amplamente utilizada na medicina tradicional chinesa (AKHTAR *et al.*, 2018). Dez anos depois, foram aprovados dois novos fármacos derivados, sendo o topotecano (9) (hycamptin<sup>®</sup>) e irinotecan (10) (camptosar<sup>®</sup>) solúveis em água, com maior estabilidade e maior índice terapêutico no tratamento de vários tumores (câncer cervical, ovário e pulmão) (LI & COREY, 2013).



**FIGURA 2.** SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE PLANTAS E FÁRMACOS SEMISSINTÉTICOS UTILIZADAS NO TRATAMENTO DO CÂNCER. FONTE: AKHTAR *ET AL.*, 2018; BRANDÃO *ET AL.*, 2010.

Com isso, a busca continuada para descoberta de novas substâncias evidencia a importância da investigação fitoquímica de espécies vegetais da flora brasileira impulsionando pesquisas visando metabólitos voltados para a análise de citotoxicidade *in vitro*, sendo esta, uma alternativa na descoberta de substâncias bioativas para inserir na terapia do câncer, problematização em destaque nesse estudo (COSTA *et al.*, 2020; SANTOS<sup>a</sup> *et al.*, 2018; DIAS *et al.*, 2012).

### 3.2. Família Annonaceae

A ordem Magnoliales é uma das mais primitivas das angiospermas, constituída de seis famílias lenhosas (Degeneriaceae, Eupomatiaceae, Himantandraceae, Myristicaceae, Magnoliaceae e Annonaceae) (DOYLE *et al.*, 2004). A família Annonaceae foi catalogada por Antoine Laurent de Jussieu em 1789, sendo a maior da ordem (CHATROU *et al.*, 2012).

Atualmente, essa família apresenta cerca de 2.400 espécies distribuídas em 110 gêneros e estão classificadas em quatro subfamílias (XUE *et al.*, 2020). Duas dessas subfamílias (Anaxagoroideae e Ambavioideae) são pobres em espécies e formam os dois primeiros ramos basais da família. As duas subfamílias restantes (Annonoideae e Malmeoideae) possuem cerca de 1.500 e 800 espécies, respectivamente (HOEKSTRA *et al.*, 2017). Os representantes desta família estão distribuídos quase uniformemente nas regiões tropicais e subtropicais pelos trópicos (CHATROU *et al.*, 2012; COSTA<sup>a</sup> *et al.*, 2009) (Figura 2).



**Legenda:** Área destacada em vermelho corresponde a distribuição da família

**FIGURA 3.** DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA MUNDIAL DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA ANNONACEAE. FONTE: ADAPTADO DE WORD ANNONACEAE, 2019).

No Brasil, estão catalogados 29 gêneros, compreendendo 392 espécies, constituindo 162 espécies endêmicas, ocorrendo a maior parte em florestas, com alguns representantes em áreas abertas (MAAS *et al.*, 2015). Dentre todos os gêneros no território brasileiro, 19 gêneros e aproximadamente 153 espécies foram encontrados na região Centro-leste do Brasil (Distrito Federal e os Estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Tocantins) (MAAS *et al.*, 2001).

A família apresenta maior diversidade na Amazônia brasileira, compreendendo 27 gêneros e distribuídas em 280 espécies (FORZZA, 2010; MAAS *et al.*, 2007), com ocorrência

**Investigação fitoquímica com auxílio de molecular networking e atividade citotóxica de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae).**

no estado do Amazonas de 16 gêneros com distribuição de 60 espécies na Reserva florestal Adolpho Ducke - Manaus (MAAS *et al.*, 2007). A maior parte restante é encontrada na mata Atlântica com 15 gêneros e 91 espécies. No Cerrado são encontrados 10 gêneros não endêmicos distribuídos em 47 espécies (LOPES & MELLO-SILVA, 2014).

Praticamente um terço das espécies são distribuídas em cinco gêneros (HEYWOOD, 1978), *Guatteria* com 307 espécies (LOBÃO *et al.*, 2012), seguida de *Uvaria* (210 espécies) (MACABEO *et al.*, 2017), *Xylopia* (157 espécies) (SANTOS *et al.*, 2015; COSTA *et al.*, 2013), *Polyalthia* (120 espécies) (YU *et al.*, 2016) e *Annona* (175 espécies) (VENDRAMIN *et al.*, 2013). A família apresenta algumas espécies frutíferas com grande importância econômica alimentícia (RODRIGUES, SILVA & BRITO, 2018; LOBÃO *et al.*, 2016), sendo as mais conhecidas aquelas que constituem o gênero *Annona* l (KESSLER, 1993) (Figura 3).



**FIGURA 4.** ESPÉCIES FRUTÍFERAS MAIS CONHECIDAS DO GÊNERO *ANNONA*.

<sup>1</sup>Fonte: (A) <http://www.stylecraze.com/articles/amazing-benefits-of-sugar-apples/>  
(B) <https://www.etsy.com/listing/477979565/guana-bana-annon-a-muricata-soursop-live>  
(C) <http://www.frutosativosdocerrado.bio.br/76-especies/32-frutos-grandes/87-annon-a-crassiflora>  
(D) <https://picclick.com/COROSSOL-ZOMBIE-Annona-montana-FRUIT-TREE-WILD-CUSTARD-141365859352.html>  
(E) <http://www.torrevivai.com/prodotti/detail/id/95/annon-a-cherimola/>;  
(F) <http://www.alamy.com/stock-photo-annon-a-reticulata-red-custard-apple-61107731.html>;  
(G) <https://www.tokopedia.com/rancupid/biriba>;  
(H) <http://www.tradewindsfruit.com/content/rollinia-sylvatica.htm>;  
(I) <https://br.pinterest.com/pin/422634746266160690/>

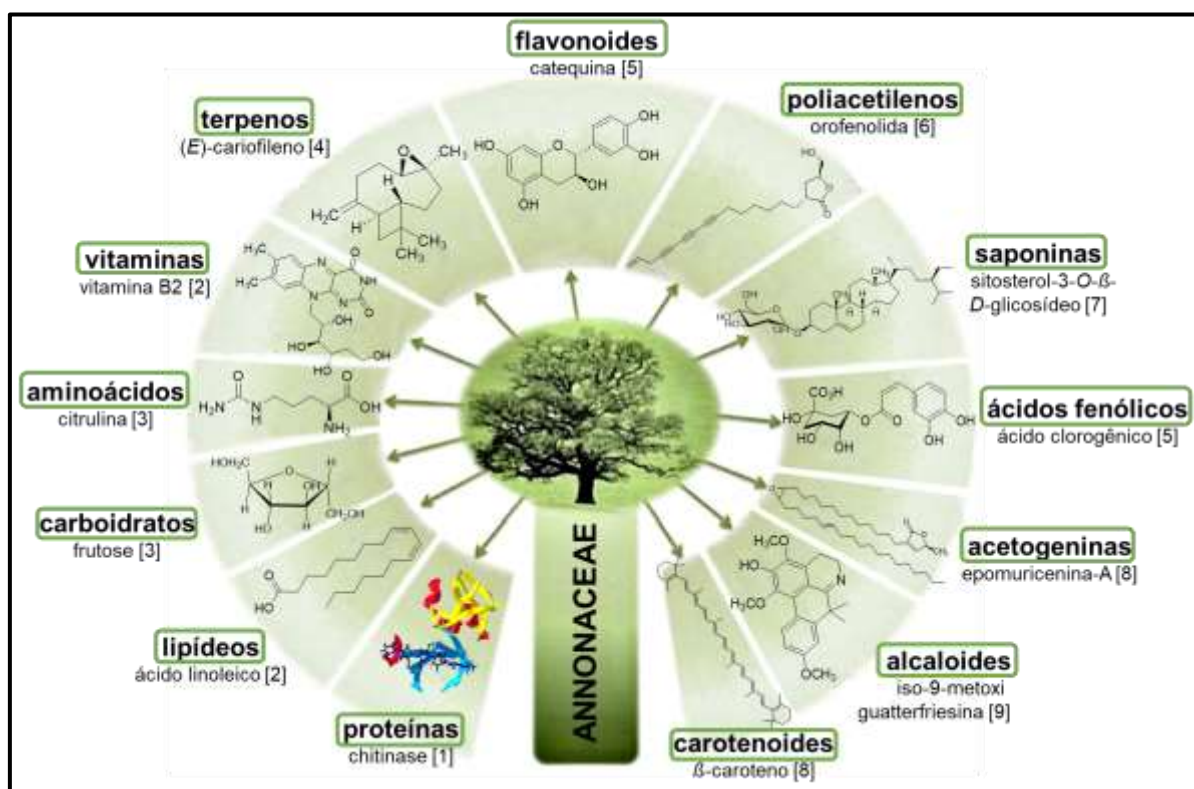
Além de se destacar pelo amplo número de espécies utilizadas na medicina tradicional (SILVA, RABELO & ENOQUE, 2015), as espécies dessa família possuem relevante papel econômico, em especial, nas indústrias madeireiras (SOARES *et al.*, 2017; KESSLER, 1993), farmacêuticas (RODRIGUES, SILVA & BRITO, 2018) e cosméticas (TAN *et al.*, 2015; KESSLER, 1993). Algumas espécies se destacam pelo uso dos óleos extraídos das sementes para a produção de sabão e óleos comestíveis (BIBA *et al.*, 2014), e pelo emprego da madeira para produção de álcool e papel (LEBOEUF *et al.*, 1982). Dentre as espécies da família, cerca de 7% em 41 gêneros têm sido investigadas (CASTEDO *et al.*, 1991), necessitando a realização do estudo fitoquímico e biológico de algumas espécies, podendo servir como recurso terapêutico. A escolha de plantas da família Annonaceae para o estudo de seus compostos bioativos, provêm da diversidade das propriedades farmacológicas comprovadas em diversas espécies (Quadro 1).

**Quadro 1.** Usos populares e atividades farmacológicas comprovadas de algumas espécies da família Annonaceae. **Fonte:** [1] COSTA<sup>a</sup> *et al.*, 2011; [2] PAREDES *et al.*, 2001; [3] MÊSQUITA *et al.*, 2005; [4] SILVA<sup>a</sup> *et al.*, 2015; [5] ACIOLE *et al.*, 2011; [6] BRITTO *et al.*, 2012; [7] COSTA *et al.*, 2008.

Espécie (nome popular)	Uso popular	Atividades farmacológicas
<i>Annona salzmanii</i> - folhas (araticum-da-mata, araticum-apé) [1]	As folhas e cascas são utilizadas para o tratamento da diabetes, tumores e inflamações.	antimicrobiana, antioxidante e inseticida
<i>Annona pickelii</i> - folhas (araticum-bravo, jussara) [1]	-	
<i>Guatteria cardoniana</i> - folhas e galhos (envira preta) [2]	Suas partes são usadas como repelente de insetos	antiviral e citotóxica
<i>Annona crassiflora</i> - caule e raiz (marôlo, araticum-do-Cerrado) [3]	Usada contra a doença de Chagas e picadas de cobra (sementes)	leishmanicida e tripanocida
<i>Unonopsis duckei</i> (envira-preta, envira surucucu) [4]	Usada no tratamento das leishmanioses	antibacteriana
<i>Unonopsis floribunda</i> (icoja) [4]	Cascas do caule são empregadas no tratamento de artrites, bronquites, reumatismo e diarreia, além de ser utilizada no tratamento da malária.	
<i>Unonopsis rufescens</i> e <i>U. stipitata</i> (envira, envireira) [4]	<i>U. stipitata</i> - usada em distúrbios cerebrais.	
<i>Bocageopsis pleiosperma</i> (envira preta, jurueira sangue) [4]	Seus óleos são usados no tratamento de picadas de cobra.	
<i>Onychopetalum amazonicum</i> (envira cajú, envira casca rocha) [4]	-	inseticida ( <i>Aedes aegypti</i> ), citotóxica e antimicrobiana
<i>Guateria friesiana</i> – folhas (envira, envireira) [5-7]	Usada como fonte de matéria-prima nas indústrias farmacêutica e cosmética	

### 3.2.1. Fitoquímica da família Annonaceae

Quimicamente, as espécies de Annonaceae têm sido alvo de pesquisas devido à sua ampla diversidade estrutural de metabólitos secundários, principalmente vários tipos de alcaloides (COSTA *et al.*, 2018; LUCIO *et al.*, 2015). Embora menos frequentes, substâncias de outras classes do metabolismo primário têm sido reportadas nesta família, tais como carboidratos, vitaminas (PADMANABHAN & PALIYATH, 2016), proteínas (GOÑI *et al.*, 2009), aminoácidos, lipídeos (LEBOEUF *et al.*, 1982) e os metabólitos secundários, como poliacetilenos (NEGRI, 2015), ácidos fenólicos, flavonoides (GARCÍA-SALAS *et al.*, 2015), terpenoides (COSTA *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2008), saponinas (NGANTCHOU *et al.*, 2009), carotenoides (DEMBITSKY *et al.*, 2011) e acetogeninas (policetídeos lipofílicos exclusivos de plantas pertencentes à família Annonaceae) (DEMBITSKY *et al.*, 2011; ALALI, LIU & McLAUGHLIN, 1999).



**FIGURA 5.** CLASSES DE SUBSTÂNCIAS PRESENTES NA FAMÍLIA ANNONACEAE.

**FONTE:** GOÑI *ET AL.*, 2009 [1]; PADMANABHAN & PALIYATH, 2016 [2]; LEBOEUF *ET AL.*, 1980 [3]; COSTA *ET AL.*, 2008 [4]; GARCÍA-SALAS *ET AL.*, 2015 [5]; NEGRI, 2015 [6]; NGANTCHOU *ET AL.*, 2009 [7]; DEMBITSKY *ET AL.*, 2011 [8]; COSTA *ET AL.*, 2018 [9].

### 3.3. Considerações gerais do gênero *Duguetia*

O gênero *Duguetia* pertence à tribo Duguetieae (SOUZA *et al.*, 2020) e compreende cerca de 100 espécies (arbustos e árvores), considerando a inclusão recente de táxons africanos anteriormente conhecido como *Pachypodanthium* Engler & Diels (NARDELLI *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2020). É um dos gêneros mais numerosos da família Annonaceae e o terceiro maior da região Neotropical da família após *Guatteria* e *Annona* (TEICHERT *et al.*, 2012; PÉREZ & CASSELS, 2010).

As espécies desse gênero são encontradas predominantemente nas Américas tropicais, tendo como centro de diversidade na bacia Amazônica (principalmente no Brasil, sendo 89 espécies presentes na região neotropical, da Nicarágua ao sudeste do Brasil e norte do Paraguai e apenas 4 espécies no centro-oeste da África) e nas três Guianas contendo 28 espécies, incluindo 6 endêmicas) (ALMEIDA<sup>b</sup> *et al.*, 2011; CAROLLO, HELLMANN & SIQUEIRA, 2005).

O Brasil é de longe o país mais rico em ocorrência de espécies de *Duguetia*, nas quais são encontradas 66 espécies, sendo 29 endêmicas (GONÇALVES *et al.*, 2019). Na Amazônia brasileira consta-se 47 espécies distribuídas e na mata Atlântica 17 espécies, constituindo esse bioma como segundo centro de distribuição, sendo 9 espécies encontradas em apenas um estado (BAZANTE & ALVES, 2017; LOPES & MELLO-SILVA, 2014).

As espécies neotropicais de *Duguetia* são árvores que medem cerca de 35 m de altura. A maioria das espécies deste gênero estão presentes em florestas não inundadas (> 40 espécies) e pequenas ocorrências em florestas inundadas (apenas 6 espécies) (MAAS, WESTRA & CHATROU, 2003).

#### 3.3.1. Fitoquímica do gênero *Duguetia* e suas propriedades farmacológicas

Muitos estudos com as espécies de *Duguetia* têm sido conduzidos a cerca de seus metabólitos secundários presentes em diferentes partes aéreas reportando benzenoides (ALMEIDA *et al.*, 2012; SIQUEIRA *et al.*, 2001), terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos e triterpenos) (NGOUONPE *et al.*, 2019; ALMEIDA<sup>a</sup> *et al.*, 2011), flavonoides (NGOUONPE *et al.*, 2019; CAROLLO<sup>a</sup> *et al.*, 2006) e, mais tipicamente, alcaloides foram isolados e caracterizados (SANTOS<sup>b</sup> *et al.*, 2018; PÉREZ & CASSELS, 2010). Além disso, muitas espécies do gênero apresentam diversas propriedades farmacológicas comprovadas (SALDANHA *et al.*, 2019; GONÇALVES *et al.*, 2017). Apenas 27 espécies deste gênero foram estudadas quanto a sua composição química (Quadro 2).

**QUADRO 2.** ESPÉCIES DO GÊNERO *DUGUETIA* QUE FORAM EXPLORADAS QUIMICAMENTE E BIOLÓGICAMENTE.

Espécies	Substâncias	Atividades biológicas
<i>D. asterotricha</i>	hidrocarbonetos, terpenos e benzenoides <sup>[1]</sup>	-
<i>D. bahiensis</i>	flavonoides <sup>[2]</sup>	-
<i>D. cadavérica</i>	hidrocarbonetos oxigenados e terpenos <sup>[3]</sup>	-
<i>D. calycina</i>	alcaloides <sup>[4]</sup>	-
<i>D. chrysocarpa</i>	flavonoides <sup>[2]</sup> e um benzenoide <sup>[35]</sup>	antinociceptiva <sup>[35]</sup> , antioxidante <sup>[36]</sup> e citotóxica <sup>[37]</sup>
<i>D. confinis</i>	alcaloides, terpenos e um fenilpropanoide <sup>[5]</sup>	-
<i>D. colombiana</i>	alcaloides <sup>[6]</sup>	-
<i>D. echinophora</i>	terpenos <sup>[7]</sup>	toxicidade <sup>[7]</sup> e antimicrobiana <sup>[38]</sup>
<i>D. eximia</i>	alcaloides <sup>[8]</sup> , um benzenoide <sup>[8]</sup> e terpenos <sup>[9]</sup>	-
<i>D. flagellaris</i>	alcaloides <sup>[10,11]</sup> e terpenos <sup>[9,10]</sup>	antimicrobiana e citotóxica <sup>[39]</sup>
<i>D. furfuracea</i>	flavonoides <sup>[12,55]</sup> , ácidos fenólicos <sup>[55]</sup> , alcaloides <sup>[12,13,14,51]</sup> e terpenos <sup>[40,51,56]</sup>	citotóxica <sup>[13]</sup> , tripanocida <sup>[12,13]</sup> , antioxidante, antireumática <sup>[14]</sup> , antimicrobiana <sup>[22]</sup> , anti-inflamatória, antinociceptiva <sup>[41]</sup> , citotóxica <sup>[42,54]</sup> , antimalárica <sup>[43]</sup> e antiparasitária <sup>[13,54]</sup>
<i>D. gardneriana</i>	alcaloides <sup>[15,58]</sup> , um metilcinamato <sup>[15]</sup> e terpenos <sup>[22,44]</sup>	antimicrobiana <sup>[22]</sup> , citotóxica <sup>[44]</sup> e atividade protetora <sup>[58]</sup>
<i>D. glabriúscula</i>	alcaloides, benzenoides <sup>[16]</sup> , terpenos <sup>[16,46,50,53]</sup>	toxicidade <sup>[16]</sup> , antineoplásica <sup>[53]</sup> e antimicrobiana <sup>[45]</sup>
<i>D. hadrantha</i>	alcaloides <sup>[17]</sup>	antimalárica, citotóxica e antifúngica <sup>[17]</sup>
<i>D. lanceolata</i>	terpenos <sup>[18,19]</sup> , fenilpropanoides <sup>[34]</sup> , asarona <sup>[47]</sup> e alcaloides <sup>[48,65]</sup>	antimicrobiana <sup>[18]</sup> , antinociceptiva, anti-inflamatório, antioxidante <sup>[19]</sup> , inseticida <sup>[47]</sup> , antimalárica <sup>[48]</sup> , antiparasitária <sup>[54,65]</sup> e citotóxica <sup>[54]</sup>
<i>D. magnolioidea</i>	alcaloides <sup>[20]</sup>	anti-hipertensivo <sup>[20]</sup>

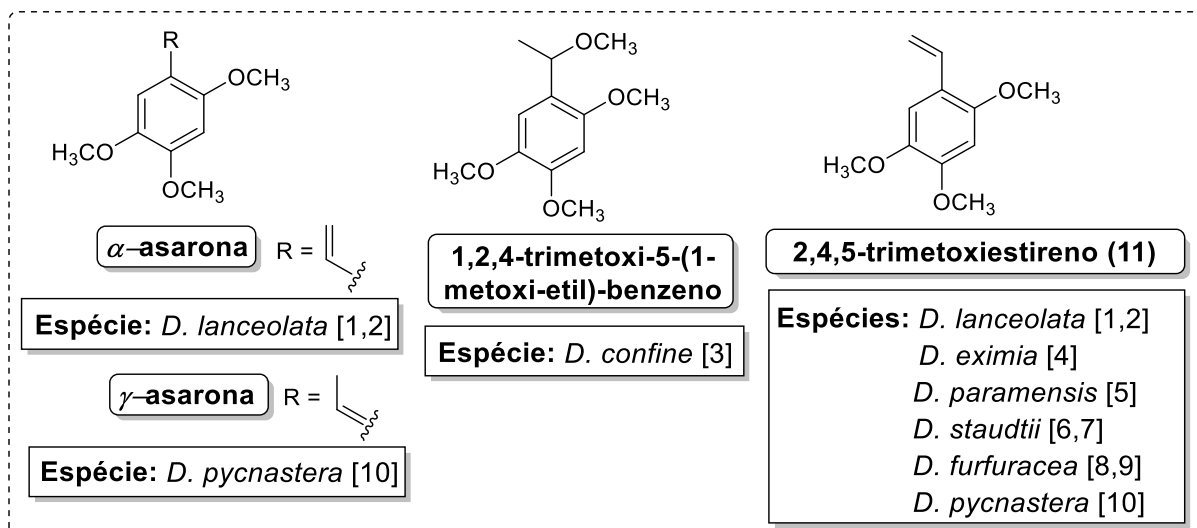
continuação...



<i>Espécies</i>	<b>substâncias</b>	<b>Atividades biológicas</b>
<i>D. moricandiana</i>	alcaloides <sup>[21]</sup> , terpenos <sup>[22]</sup>	antinociceptiva <sup>[21]</sup> , antimicrobiana <sup>[22]</sup> e anti-inflamatória <sup>[57]</sup>
<i>D. obovata</i>	alcaloides <sup>[23]</sup>	-
<i>D. odorata</i>	alcaloides <sup>[24]</sup>	inibidor de DNA - fase G2 <sup>[49]</sup>
<i>D. panamensis</i>	benzenoide <sup>[25]</sup>	-
<i>D. pycnastera</i>	terpenos <sup>[9,64]</sup> , alcaloides <sup>[26,63,64]</sup> e asaronas <sup>[63]</sup>	citotoxicidade <sup>[63]</sup>
<i>D. riparia</i>	terpenos <sup>[7,9]</sup> e alcaloides <sup>[27]</sup>	citotoxicidade <sup>[7]</sup> , antileishmania, antioxidante <sup>[27]</sup> e antimicrobiana <sup>[38]</sup>
<i>D. spixiana</i>	alcaloides <sup>[28,29]</sup>	-
<i>D. staudtii</i>	alcaloides <sup>[30,61,62]</sup> , flavonoides, triterpenos <sup>[30]</sup> , benzenoide <sup>[52]</sup> e lignanas <sup>[30,66]</sup>	anti-inflamatória <sup>[30]</sup>
<i>D. stelechantha</i>	alcaloides e um esteroide <sup>[31]</sup>	-
<i>D. trunciflora</i>	alcaloides <sup>[32]</sup> e um terpeno <sup>[9]</sup>	-
<i>D. vallicola</i>	alcaloides <sup>[33,59,60]</sup>	antimalárica <sup>[33]</sup> e antioxidante <sup>[60]</sup>

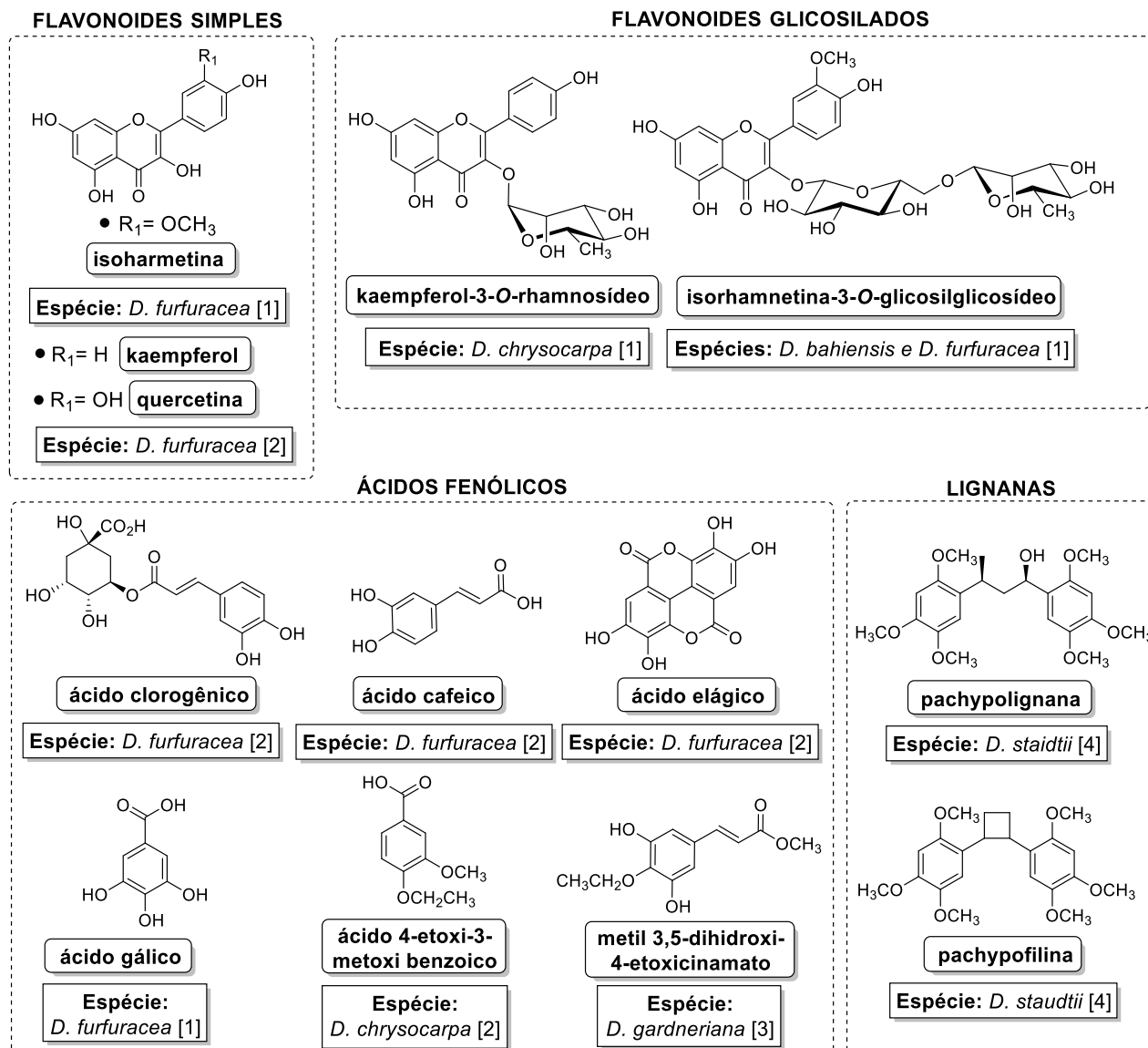
**FONTE:** [1] JÜRGENS, WEBBER & GOTTSBERGER, 2000; [2] SANTOS & SALATINO, 2000; [3] TEICHERT *et al.*, 2012; [4] ROBLLOT, HOCQUEMILLER & CAVE, 1981; [5] MATHOUET *et al.*, 2007; [6] PÉREZ & CASSELS, 2010; [7] GOELDI, 2019; [8] GOTTLIEB<sup>b</sup> *et al.*, 1978; [9] MAIA *et al.*, 2006; [10] FECHINE<sup>b</sup> *et al.*, 2002; [11] NAVARRO *et al.*, 2001; [12] CAROLLO<sup>a</sup> *et al.*, 2006; [13] SILVA<sup>a</sup> *et al.*, 2009; [14] SANTOS<sup>b</sup> *et al.*, 2018; [15] ALMEIDA *et al.*, 2007; [16] SIQUEIRA *et al.*, 2001; [17] MUHAMMAD *et al.*, 2001; [18] SOUSA *et al.*, 2012; [19] SOUSA *et al.*, 2016; [20] SILVA<sup>b</sup> *et al.*, 2009<sup>a</sup>; [21] ALMEIDA<sup>a</sup> *et al.*, 2011; [22] ALMEIDA *et al.*, 2010; [23] ROBLLOT, HOCQUEMILLER & CAVÉ, 1983; [24] BRASTIANOS *et al.*, 2007; [25] WANG *et al.*, 1988; [26] SILVEIRA, 1994; [27] CUNHA, 2009; [28] DEBOURGES<sup>a</sup> *et al.*, 1987; [29] RASAMIZAFY *et al.*, 1987; [30] NGOUONPE *et al.*, 2019; [31] DIAZ, DIAZ & JOSEPH-NATHAN, 1985; [32] FECHINE<sup>a</sup> *et al.*, 2002; [33] PÉREZ *et al.*, 2004; [34] ALVES *et al.*, 2020; [35] ALMEIDA *et al.*, 2012; [36] ALMEIDA<sup>b</sup> *et al.*, 2011; [37] PINHEIRO *et al.*, 2016; [38] ARAÚJO, 2011; [39] OLIVEIRA *et al.*, 2016; [40] VALTER *et al.*, 2008; [41] SALDANHA *et al.*, 2019; [42] SILVA<sup>a</sup> *et al.*, 2012; [43] FISCHER *et al.*, 2004; [44] RODRIGUES *et al.*, 2015; [45] SIQUEIRA *et al.*, 1997; [46] SIQUEIRA *et al.*, 2003; [47] GONÇALVES *et al.*, 2017; [48] FISCHER *et al.*, 2004; [49] BRASTIANOS *et al.*, 2007; [50] GARCEZ *et al.*, 2003; [51] SILVA *et al.*, 2007; [52] KONNA & BOUDA, 2006; [53] MATOS *et al.*, 2006; [54] TEMPONE *et al.*, 2005; [55] PINHO *et al.*, 2016; [56] FAVARETO *et al.*, 2019; [57] LEMOS *et al.*, 2017; [58] GÓES *et al.*, 2008; [59] PÉREZ, SÁEZ & CASSELS, 2005; [60] ARANGO *et al.*, 2004; [61] CAVE *et al.*, 1980; [62] BEVALOT, LEBOEUF & CAVE, 1977; [63] SOUZA *et al.*, 2020, [64] NARDELLI *et al.*, 2021; [65] DANTAS *et al.*, 2020; [66] NGADJUI *et al.*, 1989.

Os primeiros estudos fitoquímicos com as espécies deste gênero iniciaram na década de 70, na qual um derivado fenólico 2,4,5-trimetoxiestireno (**11**) (asaron/ fenilpropanoide) foi isolado em 1978 (GOTTLIEB<sup>b</sup> *et al.*, 1978). Outras asaronas foram isoladas de algumas espécies de *Duguetia* como mostra a figura 5.



**FIGURA 6.** ASARONAS ISOLADAS DE ESPÉCIES DE *DUGUETIA*. FONTE: [1] ALVES *ET AL.*, 2015, [2] GONÇALVES *ET AL.*, 2017; [3] MATHOUET *ET AL.*, 2007; [4] GOTTLIEB<sup>b</sup> *ET AL.*, 1978; [5] WANG *ET AL.*, 1988; [6] YAPI *ET AL.*, 2012; [7] KOONA & BOUDA, 2006); [8] SILVA *ET AL.*, 2007; [9] SALDANHA *ET AL.*, 2019; [10] SOUZA *ET AL.*, 2020).

Com base na composição fenólica, apenas três espécies do gênero *Duguetia* apresentam flavonoides glicosilados em sua composição (*D. furfuracea*, *D. bahiensi* e *D. chrysocarpa*) (NUNES *et al.*, 2012; SANTOS & SALATINO, 2000). Na espécie *D. furfuracea* foram identificadas outras classes de compostos fenólicos tais como os flavonoides simples e ácidos fenólicos (NUNES *et al.*, 2012; CAROLLO<sup>a</sup> *et al.*, 2006; PINHO *et al.*, 2016). Além disso, os ácidos fenólicos foram relatados em outras espécies, tais como as espécies *D. chrysocarpa* (ALMEIDA *et al.*, 2012) e *D. gardneriana* (ALMEIDA *et al.*, 2007), bem como a presença de lignanas na espécie *D. staudtii* (NGOUONPE *et al.*, 2019; NGADJUI *et al.*, 1989).



**FIGURA 7.** ALGUMAS SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS ISOLADOS DO GÊNERO *DUGUETIA*. FONTE: [1] SANTOS & SALATINO, 2000; [2] PINHO *ET AL.*, 2016; [2] ALMEIDA *ET AL.*, 2012; [3] ALMEIDA *ET AL.*, 2007; [4] NGOUONPE *ET AL.*, 2019.

As folhas, cascas do caule, hastes e flores são algumas das diferentes partes vegetais das espécies de *Duguetia* que produzem óleo essencial (RODRIGUES *et al.*, 2015; TEICHERT *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2012; MAIA *et al.*, 2006). Apenas doze espécies do gênero foram estudadas quanto a sua composição química dos seus óleos. Dentre terpenos, os sesquiterpenos e monoterpenos são os constituintes preponderantes no gênero (GOELDI, 2019; MAIA *et al.*, 2006). Embora menos frequentes, algumas espécies apresentam hidrocarbonetos sesquiterpênicos e oxigenados (YAPI *et al.*, 2012; MAIA *et al.*, 2006). Os óleos essenciais de algumas espécies desse gênero apresentaram atividade antimicrobiana (ALMEIDA *et al.*, 2010; SOUSA *et al.*, 2012), citotóxica (RODRIGUES *et al.*, 2015) e toxicidade frente à *Artemia salina* (GOELDI, 2019; SILVA *et al.*, 2007; SOUSA *et al.*, 2012).

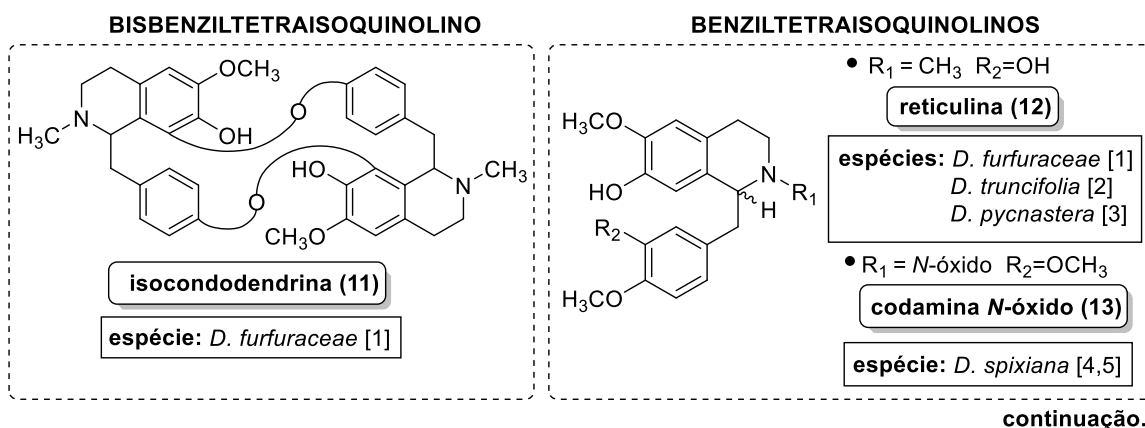
### 3.3.1.1. Alcaloides do gênero *Duguetia*

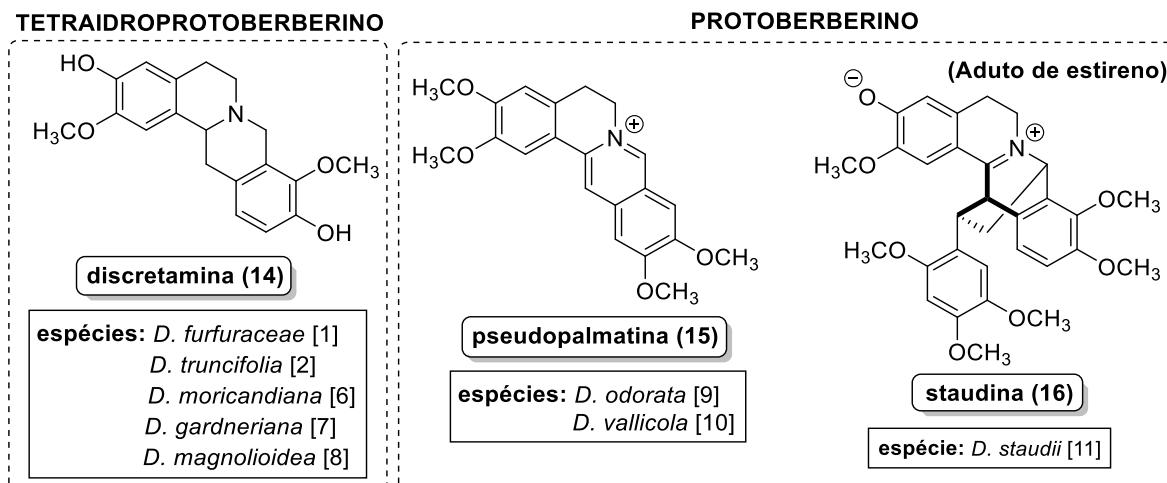
Em comum a outras angiospermas primitivas, as espécies desse gênero acumulam alcaloides isoquinolinos e, mais especificamente, benzilisoquinolinos e seus derivados. A literatura relata a composição alcaloídica em 18 espécies de *Duguetia*, resultando no isolamento e caracterização de aproximadamente 105 alcaloides diferentes. Embora muitos desses alcaloides sejam amplamente distribuídos, alguns grupos incomuns de alcaloides são específicos desse gênero *Duguetia* (PÉREZ & CASSELS, 2010).

Os primeiros alcaloides isolados do gênero são consideradas substâncias exclusivas e características do gênero, tais como a staudina (Figura 8) (CAVE *et al.*, 1980), duguecalina (Figura 9) (ROBLOT *et al.*, 1978), espiguetina (RASAMIZAFY *et al.*, 1987), 3-metoxi-sampangina e hadrantina A (Figura 10) (MUHAMMAD *et al.*, 2001).

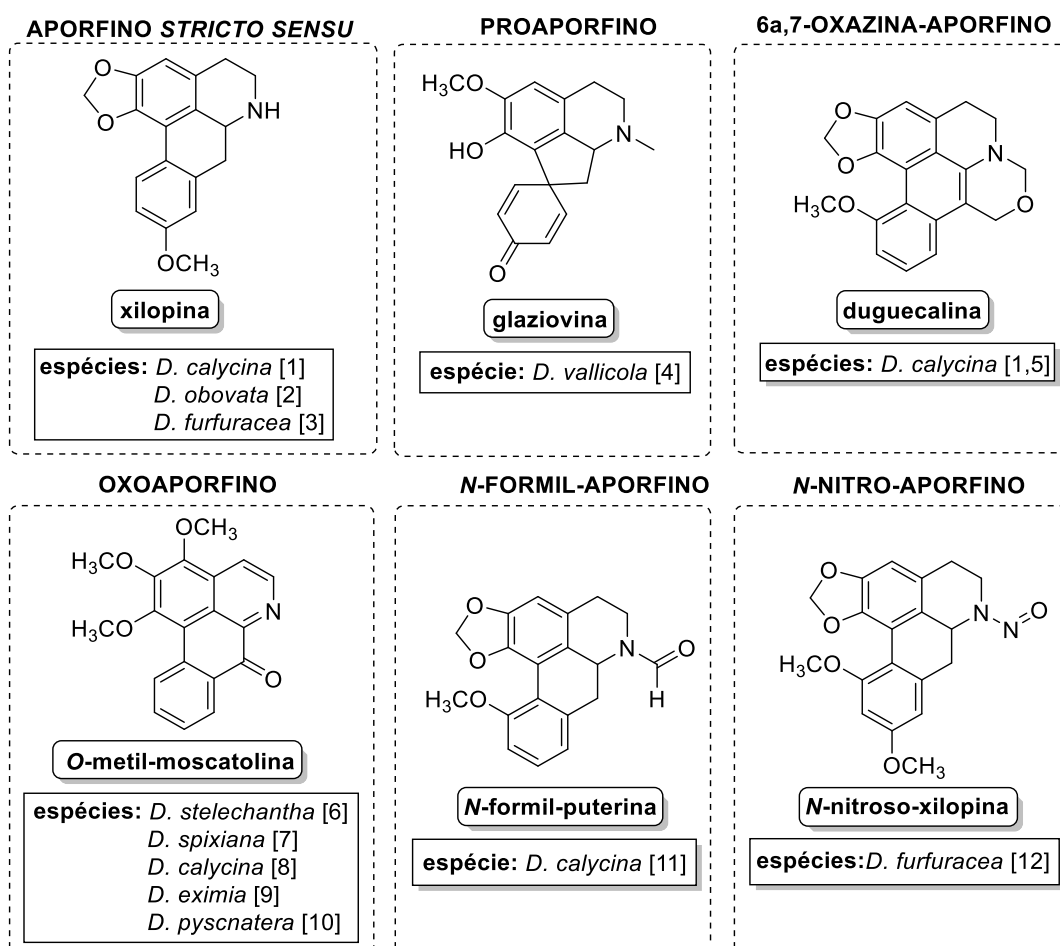
A maioria dos alcaloides isolados no gênero são providas do esqueleto isoquinolino (PÉREZ & CASSELS, 2010). Dentre essa classe, foi isolado um alcaloide do tipo bisbenziltetrahydroisoquinolino (isocondodendrina (**11**)) (CAROLLO<sup>a</sup> *et al.*, 2006) e dois alcaloides benziltetrahydroisoquinolinos (reticulina (**12**)) (SOUZA *et al.*, 2020) e codamina *N*-óxido (**13**)) (FECHINE<sup>a</sup> *et al.*, 2002; DEBOURGES<sup>b</sup> *et al.*, 1987). Os alcaloides do tipo tetrahydroprotoberberino (discretamina (**14**)) (ALMEIDA<sup>a</sup> *et al.*, 2011) e protoberberino (pseudopalmatina (**15**)) (BRASTIANOS *et al.*, 2007; PÉREZ, SÁEZ & CASSELS, 2005) e staudina (**16**) (CAVE *et al.*, 1980)) também foram relatadas no gênero (Figura 7).

Dentre os alcaloides isoquinolinos, os aporfinos representam um grupo grande de substâncias no gênero *Duguetia* (Figura 8), sendo encontrado alcaloides aporfinos *stricto sensu* (CAROLLO<sup>a</sup> *et al.*, 2006; ROBLOT *et al.*, 1978; 1983), proaporfino (PÉREZ *et al.*, 2005), 6a7-oxazina-aporfino (DEBOURGES *et al.*, 1985; ROBLOT *et al.*, 1983), oxoaporfino (DIAZ, DIAZ & JOSEPH-NATHAN, 1985; PÉREZ *et al.*, 2004), *N*-formilaporfino (ROBLOT, HOCQUEMILLER & CAVÉ, 1981) e *N*-nitroaporfino (CAROLLO<sup>b</sup> *et al.*, 2006).



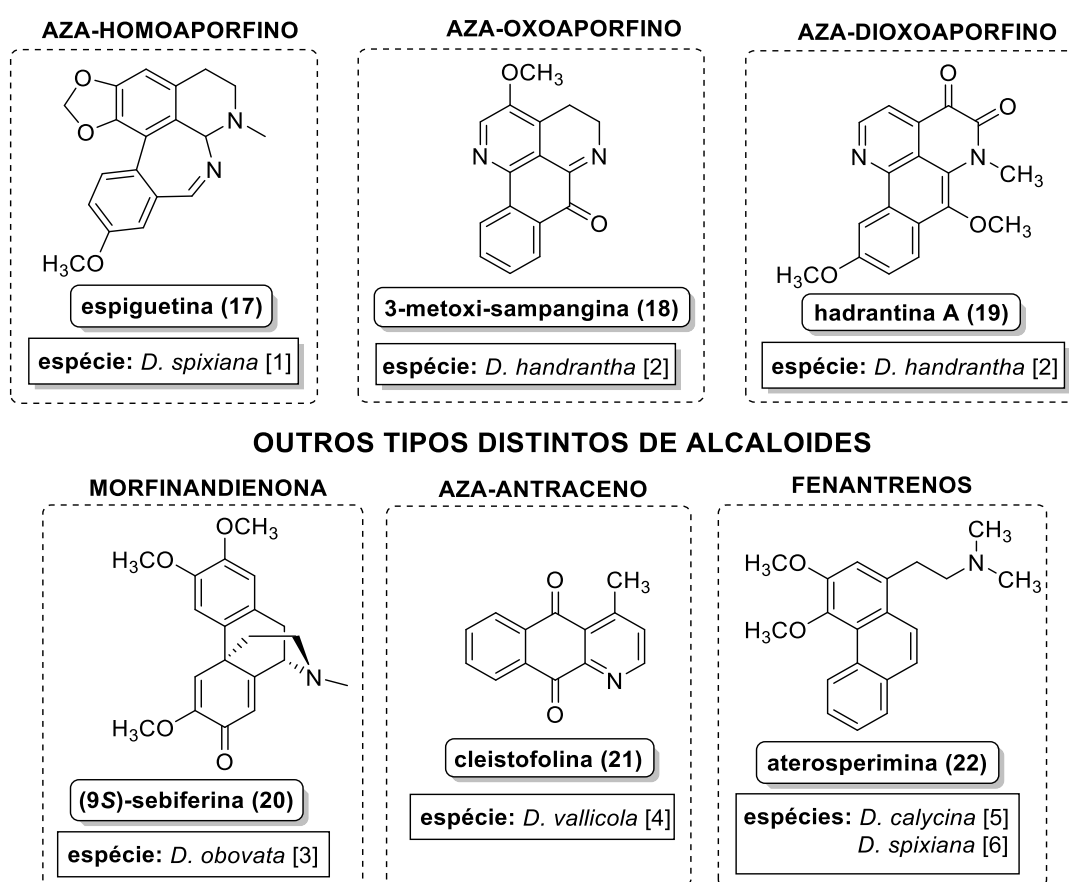


**FIGURA 8.** ALGUNS ALCALOIDES DO TIPO ISOQUINOLINOS E DO SUBTIPO-PROBERBERINOS PRESENTES NAS ESPÉCIES DO GÊNERO *DUGUETIA*. FONTE: [1] CAROLLO<sup>A</sup> ET AL., 2006; [2] FECHINE<sup>A</sup> ET AL., 2002; [3] SOUZA ET AL., 2020; [4] DEBOURGÉS<sup>A</sup> ET AL., 1987; [5] DEBOURGÉS<sup>B</sup> ET AL., 1987; [6] ALMEIDA<sup>A</sup> ET AL., 2011; [7] GÓES ET AL., 2008; [8] SILVA<sup>B</sup> ET AL., 2009; [9] BRASTIANOS ET AL., 2007; [10] PÉREZ, SÁEZ & CASSELS, 2005; [11] CAVE ET AL., 1980).



**FIGURA 9.** ALGUNS ALCALOIDES APORFINOS E SEUS DERIVADOS ENCONTRADOS NAS ESPÉCIES DO GÊNERO *DUGUETIA*. FONTE: [1] ROBLLOT ET AL., 1978; [2] ROBLLOT ET AL., 1983; [3] CAROLLO<sup>A</sup> ET AL., 2006; [4] PÉREZ ET AL., 2005; [5] DEBOURGÉS ET AL., 1985; [6] DIAZ, DIAZ & JOSEPH-NATHAN, 1985; [7] RASAMIZAFY ET AL., 1987; [8] PÉREZ ET AL., 2004; [9] GOTTLIEB<sup>B</sup> ET AL., 1978; [10] SOUZA ET AL., 2020; [11] ROBLLOT, HOCQUEMILLER & CAVÉ, 1981; [12] CAROLLO<sup>B</sup> ET AL., 2006].

Dentre os alcaloides considerados raros, foram isolados alcaloides do subtipo azahomoaporfino (espiguetina (**17**)), e os alcaloides não isoquinolinos aza-7-oxoaporfins (3-metoxi-sampangina (**18**)) e aza-4,5-dioxo-aporfins (hadranta A (**19**)) em algumas espécies do gênero (Figura 11). Outros tipos distintos de alcaloides não isoquinolinos também foram encontrados nesse gênero, tais como a morfinandienona (9*S*)-sebiferina (**20**) (ROBLOT *et al.*,1983), sendo a primeira e única substância dessa classe isolada no gênero (1 espécie). Adicionalmente, os aza-antraceno (cleistofolina (**21**)) (PÉREZ *et al.*, 2004) e fenantreno (aterosperimina (**22**)) são exemplos de alcaloides não isoquinolinos identificados em *Duguetia* (ROBLOT *et al.*,1978; DEBOURGES<sup>a</sup> *et al.*, 1987) (Figura 10).



**FIGURA 10.** ALGUNS ALCALOIDES COPIRINA E OUTROS TIPOS DISTINTOS ENCONTRADOS NAS ESPÉCIES DO GÊNERO *DUGUETIA*. FONTE: [1] RASAMIZAFY *ET AL.*, 1987; [2] MUHAMMAD *ET AL.*, 2001; [3] ROBLOT *ET AL.*, 1983; [4] PÉREZ *ET AL.*, 2004; [5] ROBLOT *ET AL.*, 1978; [6] DEBOURGES<sup>A</sup> *ET AL.*, 1987).

Semelhante aos demais gêneros da família, o estudo sobre a composição alcaloídica das espécies de *Duguetia* apresentaram constituintes com algumas propriedades farmacológicas relacionadas conforme os trabalhos das mesmas (Quadro 3).

Apesar da literatura apresentar estudos com várias espécies desse gênero, apenas 25% foram exploradas quimicamente (27 espécies) e farmacologicamente (15 espécies, fato que

reforça a importância de novos estudos do gênero, tais como a *D. surinamensis*, espécie alvo desse estudo.

**QUADRO 3.** ALCALOIDES ISOLADOS DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *DUGUETIA* E SUAS ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS COMPROVADAS. FONTE: [1] CAROLLO<sup>B</sup> ET AL., 2006; [2] PÉREZ ET AL., 2004; [3] SILVA<sup>A</sup> ET AL., 2009; [4] SANTOS<sup>B</sup> ET AL., 2018; [5] ALMEIDA<sup>B</sup> ET AL., 2011; [6] GÓES ET AL., 2008; [7] SOUZA ET AL., 2020; [8] SOUZA ET AL., 2020. [9] MUHAMMAD ET AL., 2001; [10] SIQUEIRA ET AL., 2001; [11] ARANGO ET AL., 2004).

Alcaloides	Atividades farmacológicas	Referência
(-)-assimilobina	tripanocida	[1]
cleistofolina	antiplasmódica	[2]
dicentrinona	citotóxica, antinociceptiva, tripanocida e	[3]
	antioxidante	[4]
discretamina	tripanocida	[1]
	antinociceptiva	[5]
	atividade protetora	[6]
duguetina	leishmanicida, citotóxica e tripanocida	[3]
duguetina <i>N</i> -óxido	leishmanicida, citotóxica e tripanocida	[3]
guatterina <i>N</i> -óxido	citotóxica	[7,8]
hadranthina A	antimalárica e antifúngica	[9]
hadrantina B	citotóxica e antimicrobiana	[9]
lanuginosina	toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	[9]
lisicamina	citotóxica	[7,8]
imbilina	antifúngica e citotóxica	[9]
isocondendrina	tripanocida	[1]
isocoridina	tripanocida	[1]
3-metoxi-sampangina	antifúngica e antimalárica	[9]
<i>N</i> -metil-tetrahidropalmatina	leishmanicida	[3]
<i>N</i> -metil-glaucina	tripanocida e leishmanicida	[3]
<i>N</i> -metil-laurotetanina	antioxidante	[11]
reticulina	tripanocida	[1]
	citotóxica	[7,8]
(-)-oliveridina	antiplasmódica	[2]
oxobuxifolia	toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	[10]
<i>O</i> -metil-moscatolina	citotóxica	[7,8]
sampangina	antifúngica, antimalárica e citotóxica	[8]

### 3.3.2. *Duguetia surinamensis* R. E. Fries

*Duguetia surinamensis* (Figura 10) é uma espécie pouca conhecida, denominada pelos mesmos nomes populares de outras espécies de Annonaceae, devido a semelhança de seus frutos. No Brasil, essa espécie é conhecida popularmente como “envira”, “envireira”, “araticum”, “ata-brava”, “biribarana”, “envira-amargosa” e “surucucu” (GRANDTNER & CHEVRETE, 2014). Essa espécie apresenta como uma sinonímia botânica a *D. caudata* R.E. Fries, pouco explorada quimicamente e biologicamente (MAAS, WESTRA & CHATROU, 2003). *D. surinamensis* consiste em uma árvore ou raramente um arbusto, com cerca de 10-30 m de altura e 40 cm de diâmetro (RIJKERS, PONS & BONGER, 2000).



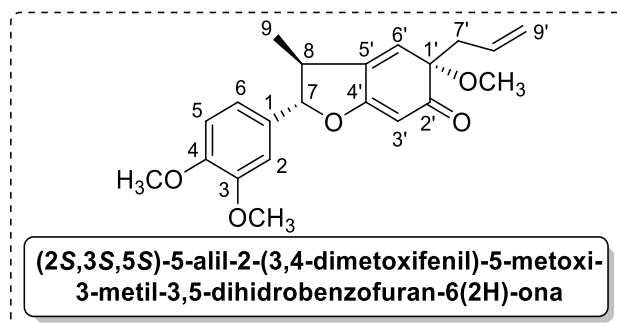
**FIGURA 11.** PARTES DA ESPÉCIE *DUGUETIA SURINAMENSIS*. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

A espécie *D. surinamensis* é distribuída restritamente na bacia Amazônica, com ocorrência na Colômbia, Guiana, Equador, Suriname, Peru e Guiana Francesa. O centro de distribuição dessa espécie é no Norte do Brasil (Acre, Amapá, Rondônia, Pará e Amazonas) (MAAS, WESTRA & CHATROU, 2003; GRANDTNER & CHEVRETE, 2014). Também há relatos prévios da sua distribuição no estado do Maranhão (SERRA, LIMA & ALMEIDA JR, 2016) e Mato Grosso do Sul (BORGES, SILVEIRA & VENDRAMIN, 2014).

No Amazonas, essa espécie está localizada nas margens do Rio Nhamundá (divisa entre o Amazonas e Pará), no lago de Juruti (região de Parintins), Porto Urucu (município de Coari), Lago de Januari (Iranduba), Reserva Florestal Adolpho Ducke (Manaus), fazenda Dimona (a 72 km de Manaus), e nos Km's 204 (distância entre Manaus e Itacoatiara) e 330 (distância entre Porto Velho e Manaus) (MAAS, WESTRA & CHATROU, 2003).

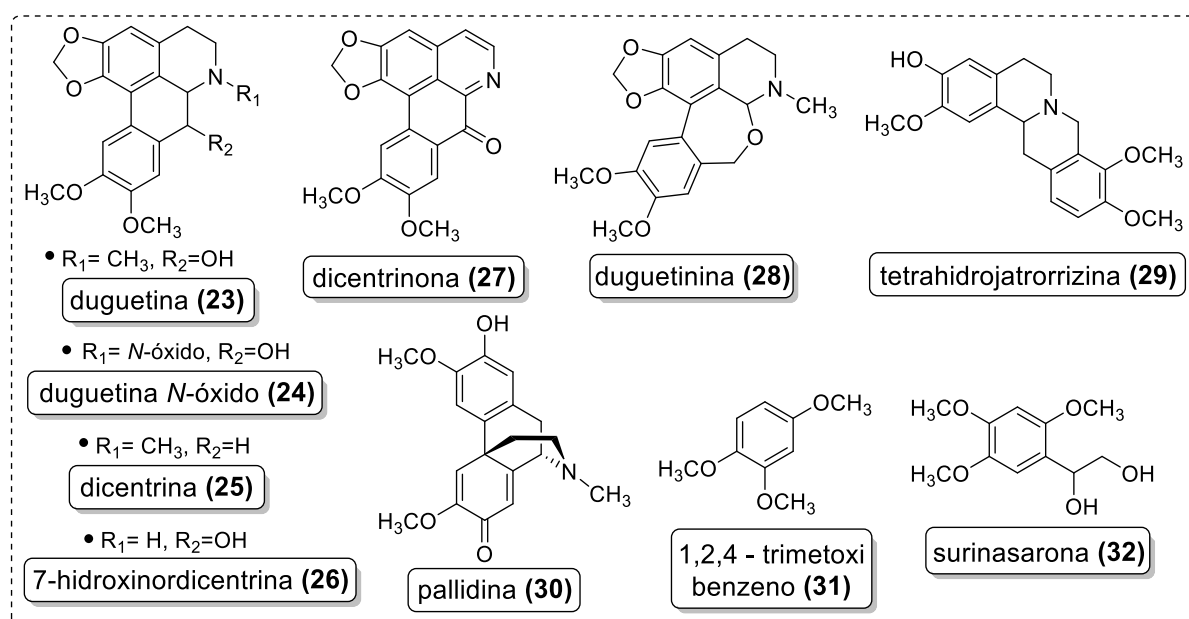
Com base nas plataformas de buscas científicas, um estudo relatou a presença de uma neolignana (sem denominação) (Figura 11) na espécie *D. surinamensis*, relatada em 1975, sendo a primeira neolignana em Annonaceae (MAAS, WESTRA & CHATROU, 2003).





**FIGURA 12.** NEOLIGNANA ISOLADA DA *D. SURINAMENSIS*. FONTE: MAAS, WESTRA & CHATROU, 2003.

Através do estudo químico dos óleos essenciais das folhas e cascas do caule da espécie da *D. surinamensis* (Guiana Francesa), foi identificado a presença de sesquiterpenos, monoterpenos, compostos aromáticos, ésteres e cetona (COURTOIS *et al.*, 2009). Oliveira e colaboradores (2018) realizaram o estudo da composição química das cascas do caule, na qual foram isolados os alcaloides isoquinolinos (sem estereoquímica definida): duguetina (**23**), duguetina *N*-óxido (**24**), dicentrina (**25**), 7-hidroxinordicentrina (**26**) (reportado pela primeira vez na família), dicentrinona (**27**), duguetinina (**28**) (inédito - esqueleto oxahomoaporfino) e tetrahydrojatrorrizina (**29**); e um alcaloide não isoquinolino pallidina (**30**). Nesse mesmo estudo foram isoladas duas asaronas inéditas, sendo o 1,2,4-trimetoxibenzeno (**31**) e 1-(2,4,5-trimetoxifenil) etano-1,2-diol (**32**) (descrito somente como produto sintético). Todos os alcaloides (exceto **27**, **29** e **31**) apresentaram atividade citotóxica *in vitro* (OLIVEIRA, 2017).



**FIGURA 13.** SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DO CAULE DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: OLIVEIRA *ET AL.*, 2018.

---

Dessa forma, os relatos fitoquímicos dessa espécie incentivam a continuação da investigação dos constituintes das cascas do caule, bem como avaliar sua propriedade citotóxica.

### 3.1. Molecular Networking

A técnica Molecular Networking (MN) foi empregada no presente trabalho como abordagem integrativa. Essa ferramenta foi desenvolvida para o tratamento de dados obtidos em análises de LC-MS/MS (YANG *et al.*, 2013; NGUYEN *et al.*, 2013). Essa ferramenta é alimentada por dados de uma rede social global de pesquisadores de PN chamada GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking) (ALLARD *et al.*, 2016), na qual contêm mais de 70.000 espectros MS/MS de metabólitos anotados, e em constante crescimento, juntamente com outras bibliotecas (ReSpec, MassBank e NIST) (RAMOS *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2016).

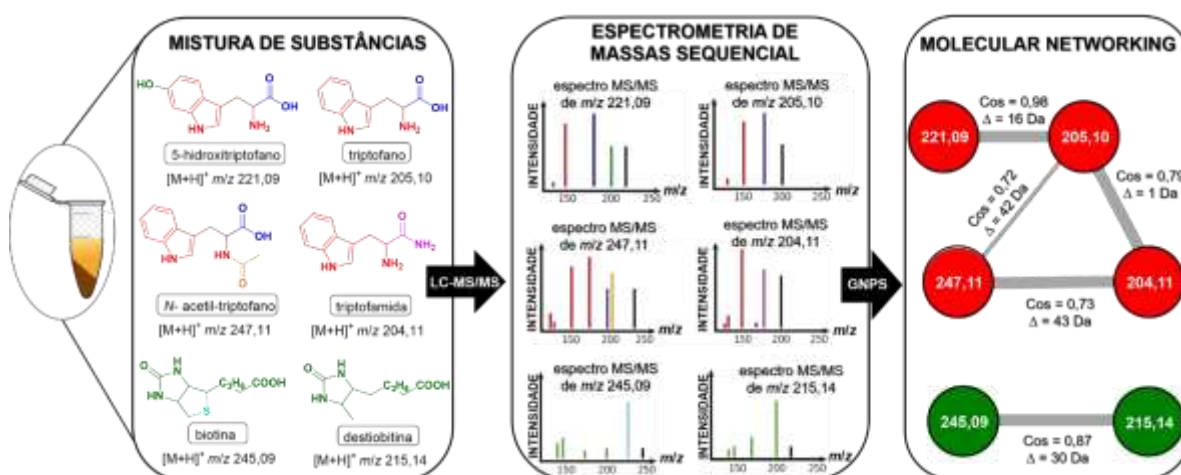
Aliado aos experimentos de LC-MS/MS, essa ferramenta de bioinformática GNPS auxilia no tratamento de dados, tais como a obtenção da visão geral de todos os íons oriundos de substâncias detectadas, interpretação de um conjunto de espectros de fragmentação dos metabólitos contidos na amostra e o agrupamento desses é resultante da similaridade química (semelhanças nos padrões de fragmentação MS/MS), sendo organizados em clusters para facilitar a busca por substâncias estruturalmente análogas (RAHEEM *et al.*, 2019).

Os clusters consistem em vários agrupamentos de substâncias relacionadas devido a sua estrutura química em fase gasosa sob condições de ionização idênticas, sendo elas já convertidas em espectros MS<sup>2</sup> (denominados espectros de consenso). Cada espectro de consenso da substância individual é representado por um nó (círculos unitários) no qual é consultado nos bancos de dados da biblioteca espectral para atribuir moléculas conhecidas dentro da rede molecular. A comparação é feita através do padrão de massa idêntica dos íons precursores junta mente com seus fragmentos (WANG *et al.*, 2016).

Além disso, os clusters apresentam os alinhamentos que correlacionam espectro a espectro, sendo representados como arestas (conexões) entre os nós. Essas linhas são provenientes de um coeficiente matemático que estabelece uma relação entre o íon precursor e íons fragmentos. Esse índice denominado cosseno (cos), determina o grau de similaridade espectral entre os nós, variando de 0 a 1, sendo 1 o valor indicativo da semelhança total dos espectros e 0 nenhuma semelhança. Esse valor leva em consideração o íon precursor, os íons fragmentados e as intensidades de pico. Visivelmente, a espessura da linha está relacionada ao

cosseno, ou seja, na similaridade química. É importante ressaltar que o valor de delta ( $\Delta$ ) é correspondente a diferença de massa entre os dois íons precursores (que possuem fragmentos semelhantes) (ARON *et al.*, 2020; QUINN *et al.*, 2017). A figura 14 apresenta a representação da análise da rede molecular.

Desta forma é possível analisar de forma rápida dados complexos e desrepicar diversas substâncias simultaneamente (QUINN *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2016). Com isso, a abordagem integrativa, onde diversas técnicas são combinadas para responder um questionamento, permite uma melhor resposta do problema a ser abordado. Desta forma, a integração das metodologias de investigação química proposta neste trabalho representa uma nova possibilidade para avaliar e dar uma visão da composição química da espécie da flora Amazônica em estudo.



**FIGURA 14.** ESQUEMA REPRESENTATIVO DO PROCESSAMENTO DE MISTURAS DE SUBSTÂNCIA PARA OBTENÇÃO DA REDE MOLECULAR DOS ESPECTROS DE LC-MS/MS, TENDO COMO EXEMPLO OS AMINOÁCIDOS TRIPTOFANO E SEUS DERIVADOS, BIOTINA E DESTIOBITINA (BIBLIOTECA ESPECTRAL DO GNPS). FONTE: ADAPTADO DE QUINN *ET AL.*, 2017.

#### 4. METODOLOGIA

Na figura 14 estão descritos os procedimentos metodológicos utilizados para obtenção dos resultados deste projeto.

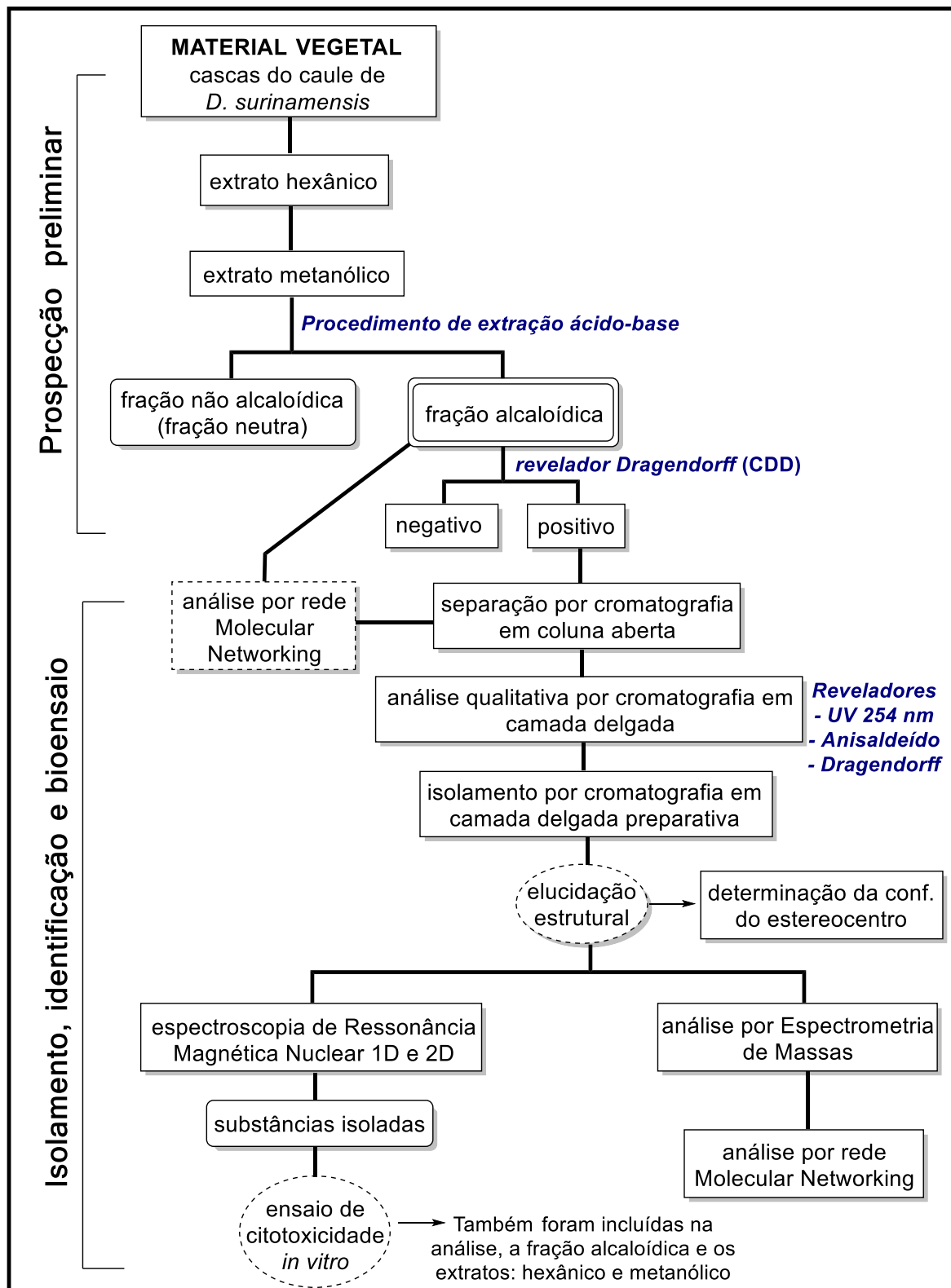


FIGURA 15. FLUXOGRAMA DOS PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS UTILIZADOS NESTA PESQUISA. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

#### 4.1. Equipamentos

Utilizou-se para a realização dos procedimentos de bancada: um evaporador rotativo com banho-maria com temperatura controlada da marca Fisatom<sup>®</sup> Brasil, uma bomba de vácuo Tecnal<sup>®</sup>, duas estufas incubadora das marcas De Leo<sup>®</sup> e Med Clave<sup>®</sup>, balança analítica ARC 120 e balança semi-analítica AR 2140, ambas da marca Adventure Ohaus<sup>®</sup> e um pHmetro digital da Quimis<sup>®</sup> (modelo Q400AS).

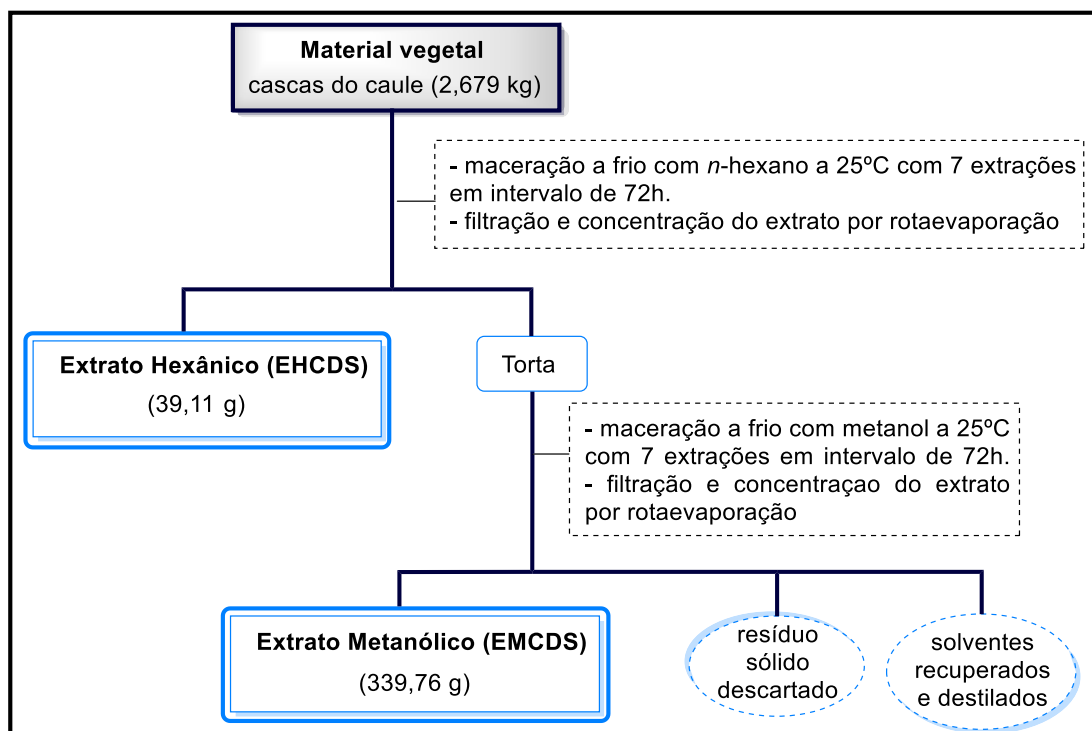
#### 4.2. Coleta e preparo de extratos de *D. surinamensis*

O procedimento para o preparo dos extratos das cascas do caule da espécie *D. surinamensis* foi realizada por Oliveira (2015) (ex-integrante do grupo de pesquisa GEQBiom-UFAM). As cascas do caule foram coletadas no mês de junho de 2015 na Reserva Florestal Adolpho Ducke de indivíduos previamente marcados e identificados (coordenadas S2°55'37.4" e W59°58'36.0"), localizada dentro do Museu da Amazônia (MUSA) na cidade de Manaus - Amazonas. A identificação do espécime foi realizada pelos botânicos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), no qual foi depositada a sua exsicata sob o n° de registro 267893 no Herbário da própria instituição. O acesso (espécime) foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob os registros ACAA36 e A70EDCD.

Os extratos e frações de *D. surinamensis* foram preparados no Laboratório de Abertura de Amostras e Ensaio Químico (LAEQ) da central analítica da UFAM. Inicialmente o material vegetal foi submetido à secagem a sombra em temperatura ambiente por 7 dias, e logo após transferidas para estufas com circulação e renovação de ar a 45°C. Posteriormente, o material seco foi triturado em um moinho Modelo Marconi<sup>®</sup> com quatro facas, obtendo 2,679 kg (massa pulverizada aferida em balança semi-analítica).

O material pulverizado foi transferido para um Mariotte e submetido à extração por maceração à temperatura ambiente utilizando solventes grau P.A em ordem crescente de polaridade (*n*-hexano e metanol), com renovação de solvente a cada 72 horas (sete repetições cada). A cada fase de maceração, os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida e temperatura entre 40 e 50 °C. Por fim, o resíduo final de cada extrato foi seco em capela e conservado em freezer até o procedimento do tratamento ácido-base. Após a secagem, obteve-se 39,11 g e 339,76 g do Extrato Hexânico das Cascas de *D. surinamensis* (EHCDS) e Extrato Metanólico das Cascas (EMCDS), respectivamente. O resíduo vegetal final da extração foi desprezado e guardado em recipientes para posterior

descarte. Além disso, os solventes provenientes da rotaevaporação dos extratos foram recuperados e destilados para o uso posterior (Figura 15).



**FIGURA 16.** FLUXOGRAMA DO PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DAS CASCAS DO CAULE DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ADAPTADO DE OLIVEIRA, 2017.

Os solventes evaporados foram reutilizados na fase seguinte da maceração, no qual foram gastos inicialmente 6 L de solvente, e a cada renovação foi necessário adicionar aproximadamente mais 500 mL, totalizando um gasto de 9 L para cada solvente (*n*-hexano e metanol). Uma alíquota do extrato hexânico (30,8 mg) e do extrato metanólico (27,8 mg) foram separados e enviados para a realização dos ensaios de atividade citotóxica no Instituto Gonçalo Moniz (IGM) da Fundação Oswaldo Cruz do estado da Bahia (Fiocruz), sob coordenação do Dr. Daniel Pereira Bezerra.

#### 4.2.1. Tratamento ácido-base do extrato metanólico

O EMCDS foi dividido em duas porções (321,76 g e 18 g), a quantidade menor foi reservada para análises futuras, a porção majoritária foi submetida ao tratamento ácido-base convencional, conforme a metodologia proposta por Costa (*et al.*, 2006).

Inicialmente o extrato foi transferido para um erlenmeyer de 1 L e suspenso em 600 mL de clorofórmio com auxílio do equipamento ultrassom. Após a observação de certa solubilização, adicionou-se 300 mL de ácido clorídrico 3% sob agitação por 3 minutos e em

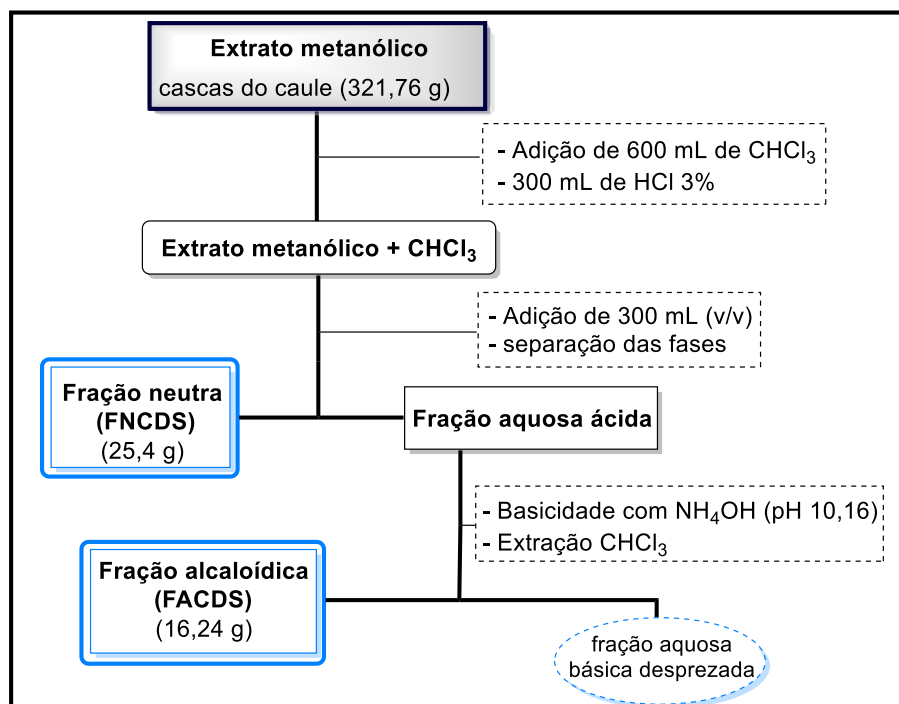
---

seguida deixou-se em repouso. Posteriormente, observou-se a formação de três fases: fração clorofórmica neutra, fração aquosa ácida (presença de alcaloides protonados) e uma fração insolúvel (emulsão de coloração vermelha-tijolo). A fração aquosa ácida e a fração clorofórmica neutra (contendo também a fração insolúvel) foram apartadas em um funil de separação. Repetiu o mesmo procedimento com a fração neutra (adição novamente de 300 mL de HCl).

A fase aquosa ácida foi transferida cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta Pasteur para um outro Erlenmeyer de 3 L. Foram realizadas mais cinco adições de 300 mL de HCl 3%, sendo que na última adição de ácido foi verificado que a fase aquosa apresentava coloração mais clara, quase incolor. A fase aquosa apresentou pH igual a 2,56 e foi basificada com  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1,700 mL) até atingir o pH 10 (foi acrescentado a base gradativamente até que não houvesse variação significativa de pH (10,16)) aferido através de um pHmetro.

A cada adição de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (100 mL), observou-se a formação de um precipitado amarelo, que posteriormente foi descartado. Utilizando um funil de separação, a fase aquosa foi particionada com  $\text{CHCl}_3$  (3x), gerando uma fase aquosa básica e uma fase orgânica, a Fração Alcaloídica (FACDS).

Após a partição, adicionou-se mais 1 L de  $\text{CHCl}_3$  à fase aquosa básica, que foi extraída no dia seguinte e unida a fase orgânica. A FACDS apresentou coloração amarela intensa e foi concentrada em evaporador rotativo, enquanto a fase aquosa foi conservada para o descarte. Após a secagem em dessecador, obteve-se 16,24 g da FACDS, apresentando rendimento de 4,8%. Uma alíquota das frações FACDS (38,6 mg) e FNCDS (36,6 mg) foram enviadas para a realização dos ensaios de atividade citotóxica pela Fiocruz-Ba.



**FIGURA 17.** FLUXOGRAMA DO TRATAMENTO ÁCIDO-BASE DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DO CAULE DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ADAPTADO DE OLIVEIRA, 2017.

#### 4.3. Análise por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas sequencial (LC-MS/MS) e Molecular Networking (MN)

##### 4.3.1. Análise por Espectrometria de Massas sequencial (MS/MS)

Inicialmente foi realizada uma análise exploratória da FACDS por LC-MS/MS (em conjunto), a fim de priorizar o isolamento de novas substâncias por métodos cromatográficos clássicos. Adicionalmente, as subfrações obtidas no 1º fracionamento cromatográfico (1FACDS-1, 2, 4, 5, 6 e 7) que será mostrada a seguir (item 3.2), foram submetidas a análise LC-MS/MS e Molecular Networking.

As análises foram realizadas no Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) - SP, sob coordenação do Prof. Dr. Célio Fernando Figueiredo Angolini. Os espectros de massas das substâncias foram adquiridos em um espectrômetro do modelo iFunnel 6550 (Agilent®), equipado por um analisador do tipo quadrupolo-tempo-de-vôo (Q-TOF), com uma interface de ionização electrospray de alta resolução (HRESI), operando no modo positivo, usando os seguintes parâmetros: gás nebulizador N<sub>2</sub>; faixa de massa de aquisição de 100-1000 Da; energia de colisão variando de 15 - 50 eV; voltagem do capilar 3500 V; temp. da fonte 120°C; quantidade íons precursores por ciclo: 5.



---

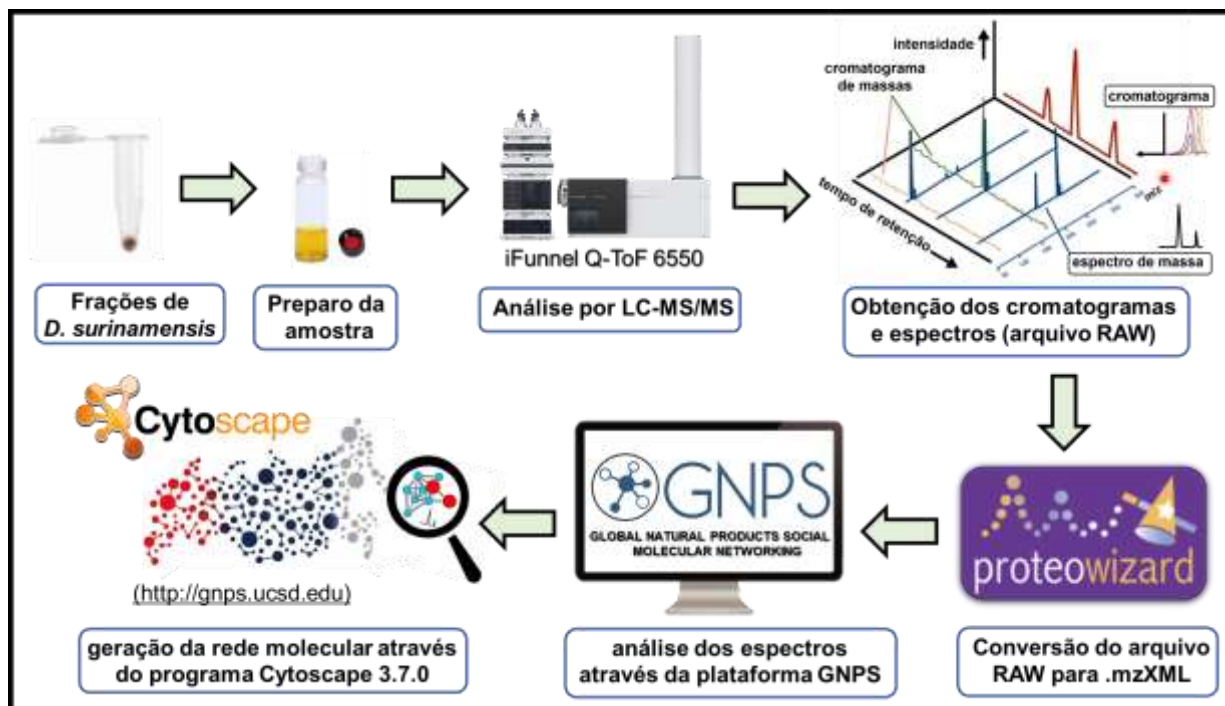
O analito foi solubilizado em 1 mL de CH<sub>3</sub>OH grau HPLC (conc. 1 mg.mL<sup>-1</sup>), sendo 5 µL da amostra injetada no equipamento. Para a separação cromatográfica utilizou-se uma coluna analítica C<sub>18</sub> (modelo Poroshell 120 SB-Aq dimensões 2,1 x 100 mm, diâmetro da partícula 2,7 µm). A eluição foi conduzida com uma fase móvel binária (Solução A: ácido fórmico a 0,1%; solução B: CH<sub>3</sub>OH + ácido fórmico a 0,1%) para a separação. A eluição em gradiente consistiu em 5% de B mantido por 3 min, 5% a 100% (v/v) de B por 17 min, mantendo-se 100% B por 3 min (não adquirido) em 35°C a um volume de injeção de 350 µL.min<sup>-1</sup>. O reequilíbrio da coluna foi realizado em 5% de B por 3 min.

#### 4.3.2. Análise por Molecular Networking (MN)

Os espectros dos íons produtos resultantes da análise LC-HRESI-MS/MS da FACDS e subfrações da 1ª separação cromatográfica (em conjunto) de *D. surinamensis* foram analisadas e organizadas em redes moleculares usando a plataforma GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>) (WANG *et al.*, 2016).

Os arquivos dos espectros de MS (formato RAW) foram convertidos para o formato .mzXML (compatível com GNPS) com o auxílio do software Proteowizard e depois carregados na plataforma do GNPS. Os parâmetros adotados para a geração da rede molecular foram definidos da seguinte forma: considerados a massa dos íons precursores com tolerância de 0,05 Da, e para os íons fragmentos de 0,5 Da, íons abaixo de 10 contagens foram removidos dos espectros MS/MS. As redes moleculares foram geradas usando quatro picos mínimos correspondentes e uma pontuação de cosseno acima de 0,65. Os dados foram visualizados no software Cytoscape 3.7.0. A desreplicação dos alcaloides conhecidos foi realizada pela interpretação manual dos espectros de MS/MS em comparação com o banco de dados interno dos alcaloides de Annonaceae (trabalhos publicados pelo grupo de pesquisa), e pela biblioteca da plataforma (SILVA<sup>a</sup> *et al.*, 2016).

O esquema do processo para a obtenção da rede molecular encontra-se na figura 17.



**FIGURA 18.** PROCEDIMENTO PARA A OBTENÇÃO DOS CLUSTERS DA REDE MOLECULAR DA FRAÇÕES DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

As redes moleculares obtidas das frações de *D. surinamensis* FACDS estão disponíveis no site GNPS através do link: <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=b1820c8d49ba4ff8bfbf55825d195088> / <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=fb5e44eac454144b815ab1751ab5d38>, respectivamente.

#### 4.4. Cromatografia em coluna aberta (CCA).

Após a análise da rede molecular, 11 g da FACDS foi submetida ao fracionamento cromatográfico em coluna aberta analítica e obtidas suas subfrações. A separação das substâncias contidas nas amostras de *D. surinamensis* foram realizadas em colunas cromatográficas de vidro, utilizando como fase estacionária, sílica gel 60 com partículas entre 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM) da Macherey-Nagel<sup>®</sup>. A sílica utilizada na CCA foi tratada previamente com uma solução de bicarbonato de sódio a 10% (NaHCO<sub>3</sub>) (COSTA *et al.*, 2006).

O comprimento e diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades das frações das amostras a serem cromatografadas. A quantidade de sílica utilizada nos fracionamentos cromatográficos foi cerca de 20 vezes a massa do analito a ser purificado, e 2 vezes a quantidade da amostra para o preparo das pastilhas (MATOS, 2009). Foi utilizado a combinação de eluentes (solventes grau P.A) para a separação cromatográfica de modo a se obter uma polaridade média em relação à polaridade dos componentes da amostra, seguindo ordem crescente de polaridade (*n*-hexano > diclorometano > acetato de etila > metanol).

#### 4.5. Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) e Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP)

As análises em camada delgada analítica foram realizadas em cromatofolhas Merck<sup>®</sup>, pré-fabricadas de sílica gel 60 TLC, com indicador de fluorescência F254, com suporte em alumínio 20 x 20 cm e 0,2 mm de espessura. As análises em camada delgada preparativa foram desenvolvidas em cromatoplasmas de vidro de tamanho 20 x 20 cm com espessura de 1 mm. As placas foram preparadas usando água destilada com certas quantidades de sílica gel 60 da Macherey-Nagel<sup>®</sup>, dependendo da quantidade de amostra. Após evaporação da água à temperatura ambiente por 48 horas, foram ativadas em estufa a 110 °C. Em todas as análises CCDP, foi realizada a ativação da placa a 105-110°C por 60-90 minutos, na qual o tempo de ativação dependeu da quantidade de sílica presente na placa.

A visualização das faixas de CCDA e CCDP foi efetuada com auxílio do equipamento CAMAG<sup>®</sup> TLC VISUALIZER (sistema profissional de geração de imagens e documentação para placas de cromatografia em camada fina (TLC/HPTLC)) equipado com lâmpada ultravioleta ( $\lambda = 254$  e 366 nm).

A eluição das amostras para CCDA e CCDP foi efetuada em cubeta de vidro óptico (46 x 85 mm) e cuba de vidro (25 x 25 cm), respectivamente, utilizando os solventes (fase móvel):

---

diclorometano e metanol em proporções adotadas (geralmente 9,5:0,5 mL, v/v) conforme o comportamento das substâncias presentes nas amostras. Posteriormente, as substâncias separadas por CCDP foram retiradas das placas de sílica e solubilizadas com a mistura de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e  $\text{CH}_3\text{OH}$  (9:1) (v/v, respectivamente), filtradas com auxílio de um funil de Büchner com sistema a vácuo e posteriormente rotaevaporadas.

#### 4.5.1. Reveladores e solventes

As faixas (*spots*) nas placas CCDA foram testadas frente ao revelador físico - luz ultravioleta 254 e 366 nm e pelos reveladores químicos: solução de anisaldeído sob aquecimento, e reagente Dragendorff. Entretanto, para as placas CCDP foi utilizada apenas a luz ultravioleta em 254 nm, e quando necessário, o reagente Dragendorff foi utilizado nas laterais das placas em caso de falso positivo pelo revelador físico.

O preparo das soluções de anisaldeído e Dragendorff é mostrado a seguir:

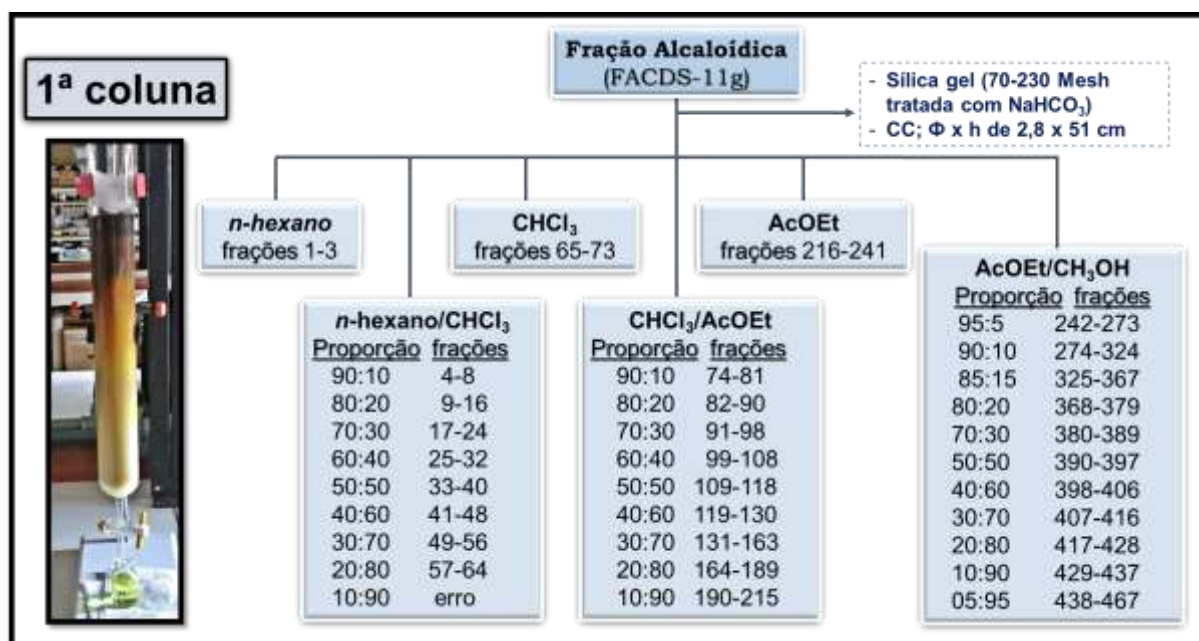
- Solução de anisaldeído: Solução preparada pela adição de 5 mL de anisaldeído ( $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$ ) em 90 mL de álcool etílico, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1 mL de ácido acético glacial. As colorações roxa e azul surgem na placa após a borrifação com solução de anisaldeído sob aquecimento.
- Reagente de Dragendorff com modificação de Munier: (MUNIER, 1953 *apud* MERCK, 1971). Solução A: 1,7 g de nitrato de bismuto III e 20 g de ácido tartárico dissolvidos em 80 mL de água destilada. Solução B: 16 g de iodeto de potássio dissolvidos em 40 mL de água destilada. A mistura de partes iguais (1:1, v/v) destas soluções constitui a solução estoque. Para borrifação das placas, 5 mL da solução estoque é adicionado a 10 g de ácido tartárico dissolvido em 50 mL de água destilada. Após a borrifação na placa cromatográfica, os *spots* das substâncias alcaloídicas revelaram manchas com coloração diversas (laranja, amarela e marron) indicativas da identificação de alcaloides.

Foram utilizados em todas as técnicas cromatográficas clássicas, solventes das marcas Merck<sup>®</sup> Hexis<sup>®</sup>. Baker<sup>®</sup>, Qhemis<sup>®</sup>, Vetec<sup>®</sup> e Aldrich<sup>®</sup>. Nos experimentos de RMN, utilizou-se clorofórmio deuterado e quando necessário utilizou pequenas quantidades de metanol deuterado da marca Tédia<sup>®</sup>, Merck<sup>®</sup> e Aldrich<sup>®</sup> para homogeneização das amostras. Como padrão de referência interno utilizou-se o tetrametilsilano (TMS). Para a obtenção dos espectros de massas foram utilizados solventes grau HPLC marca Tedia<sup>®</sup> nas análises.

#### 4.6. Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica de *D. surinamensis*.

##### 4.6.1. Primeiro fracionamento cromatográfico

Com o propósito de prosseguir com a investigação fitoquímica da FACDS obtida por Oliveira (2017), a porção separada (11 g) foi novamente submetida ao fracionamento por meio de uma coluna cromatográfica aberta sob as condições descritas anteriormente, obtendo-se 467 frações (Figura 18). Após a secagem, as frações oriundas do fracionamento foram agrupadas de acordo com a similaridade do perfil químico (mesmo  $R_f$ ) através da análise em CCDA, conforme a tabela 1. O eluente utilizado para a análise CCDA foi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :  $\text{CH}_3\text{OH}$  na proporção 9,5:5 (v/v) para as frações de 1 a 193 e na proporção 9:1 (v/v) para as frações de 194 a 467. A verificação do perfil químico das placas foi realizada com os reveladores do item 3.3.1.



**FIGURA 19.** PRIMEIRO FRACIONAMENTO CROMATOGRAFICO DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Não foi possível obter a purificação das frações nesse fracionamento, ou seja, direcionar as frações para o isolamento das substâncias para análise em CCDP, devido a grande quantidade de substâncias presentes nas mesmas. Com isso, foi necessário realizar um novo fracionamento cromatográfico das amostras obtidas.

TABELA 1. REUNIÃO DAS FRAÇÕES OBTIDAS DO 1º FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO.

Grupo de frações	Frações	Massa (g)	Procedimento cromatográfico
1FACDS-1	1-3	0,0198	Não utilizada
1FACDS-2	4-16	1,513	Não utilizada
1FACDS-3	17-308	4,50	2ª coluna cromatográfica
1FACDS-4	309-356	0,811	Não utilizada
1FACDS-5	357-393	0,3461	Não utilizada
1FACDS-6	394-449	1,083	Não utilizada
1FACDS-7	450-467	0,3830	Não utilizada

4.6.2. Segundo fracionamento cromatográfico e isolamento das substâncias de *D. surinamensis*.

Foi realizado a segunda análise por CCDA empregando a fração 1FACDS-3 (4,5 g), na qual foi submetida para separação cromatográfica sob as mesmas condições da análise anterior. Foram obtidas 572 frações (Figura 19) e realizado o agrupamento das mesmas (Tabela 2) com base no seu perfil químico através da análise CCDA empregando os reveladores do item 4.4. O eluente utilizado para a análise CCDA foi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH na proporção 9,5:0,5 (v/v) para as frações de 1 a 403 e na proporção 9:1 (v/v) para a frações de 404 a 573.

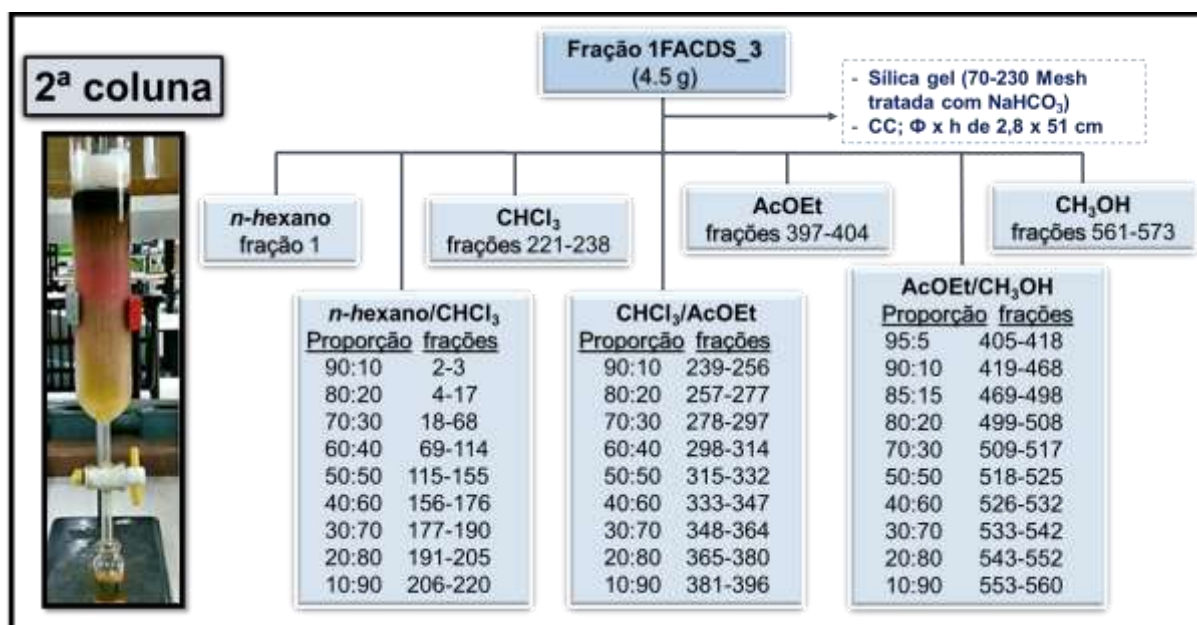


FIGURA 20. SEGUNDO FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Os grupos de frações destacados na tabela 2 foram selecionados para isolamento de acordo com o perfil observado nas CCDA's frente ao revelador Dragendorff. As amostras 2FACDS-3, 4, 5, 6, 11 e 12 apresentaram visualmente poucas manchas com fatores de retenção distintos e boa resolução, foram selecionadas e submetidas para purificação e isolamento empregando a análise em CCDP. As placas cromatográficas foram eluídas por 3 a 4 vezes com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  (9,5:0,5) (v/v) e as substâncias foram extraídas da sílica com a mistura de solventes na mesma proporção, seguindo os procedimentos do item 3.4.

**TABELA 2.** REUNIÃO DAS FRAÇÕES OBTIDAS DO 2º FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO.

Grupo de frações	Frações	CCD's	Massa (mg)	Procedimento cromatográfico
2FACDS-1	1-2	1	25,1	Não utilizada
2FACDS-2	3-41	2-3	576,6	Não utilizada
2FACDS-3	42-65	4	340,8	Análise CCDP
2FACDS-4	66-79	5	93,5	Análise CCDP
2FACDS-5	80-130	6-8	424,9	Análise CCDP
2FACDS-6	131-223	9-10	589,4	Análise CCDP
2FACDS-7	224-265	11	991,6	3ª coluna cromatográfica
2FACDS-8	266-285	12	78,4	3ª coluna cromatográfica
2FACDS-9	286-367	13-15	83,3	Não utilizada
2FACDS-10	368-409	16	78,4	Não utilizada
2FACDS-11	410-431	17-18	28,05	Análise CCDP
2FACDS-12	432-463	19-20	70,1	Análise CCDP
2FACDS-13	464-513	21-22	68,7	Não utilizada
2FACDS-14	514-573	23-25	3.535,9	Não utilizada

4.6.3. Terceiro fracionamento cromatográfico e isolamento das substâncias de *D. surinamensis*.

Foi realizado um terceiro fracionamento empregando as frações 2FACDS-7 e 8 (junção) (1,07 g), sob as mesmas condições das análises anteriores. Foram obtidas 236 frações (Figura 20) e realizado o agrupamento das mesmas (Tabela 3) com base no seu perfil químico através da análise CCDA. O eluente utilizado para a análise CCDA foi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  na proporção 9,5:0,5 (v/v) para as frações de 1 a 148 e na proporção 9:1 (v/v) para as frações de 149 a 236.

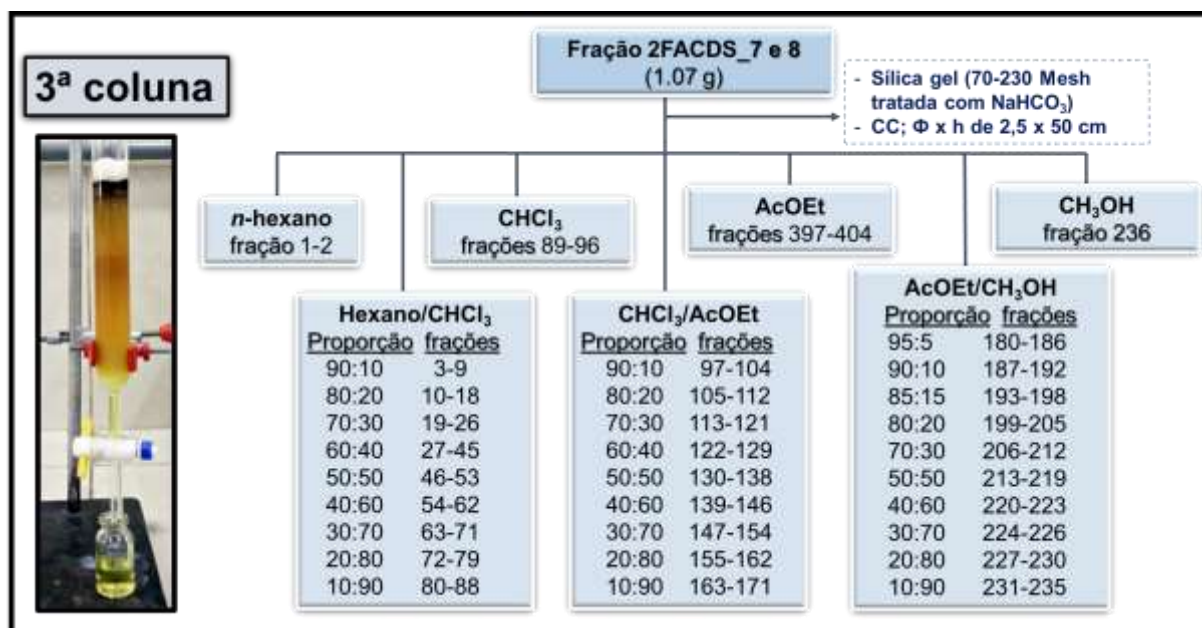


FIGURA 21. TERCEIRO FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

TABELA 3. REUNIÃO DAS FRAÇÕES OBTIDAS DO 3º FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO.

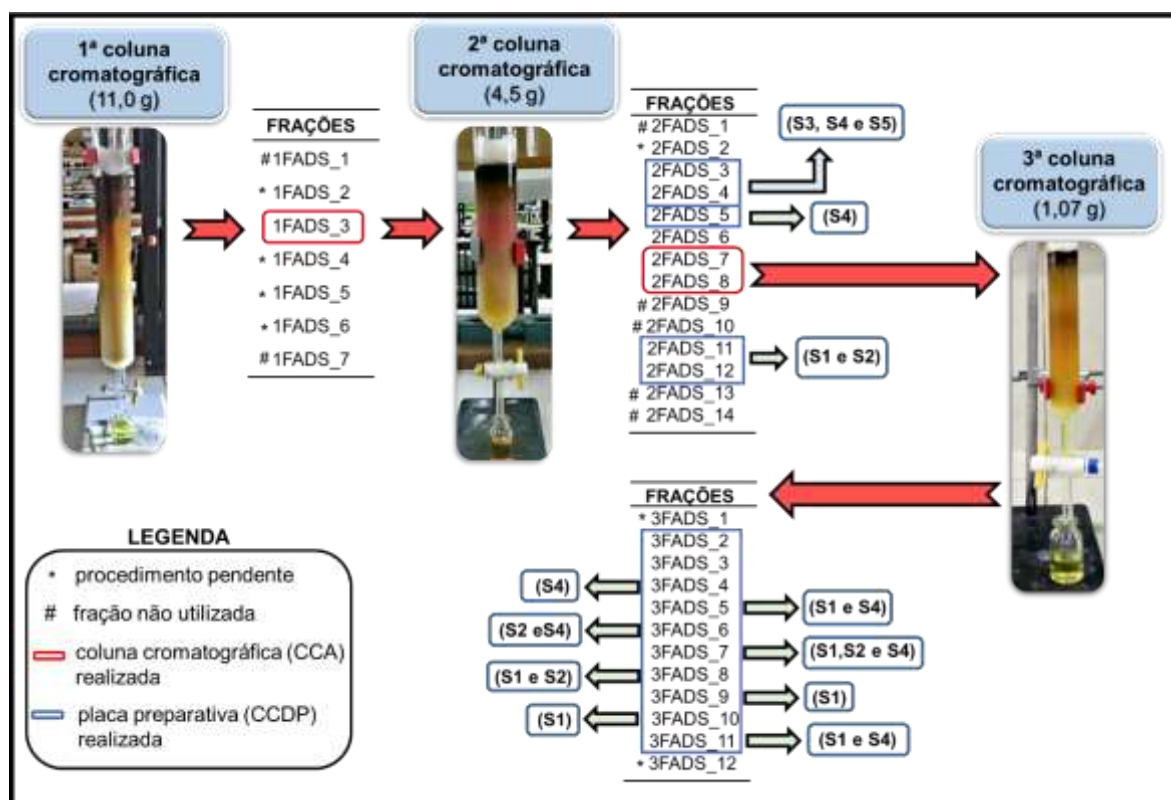
Grupo de frações	Frações	CCD's	Massa (mg)	Procedimento cromatográfico
3FACDS-1	1-3	1	5,6	Não utilizada
3FACDS-2	4-19	2-3	30,4	Análise CCDP
3FACDS-3	20-31	4-5	102,5	Análise CCDP
3FACDS-4	32-37	6	31,2	Análise CCDP
3FACDS-5	38-41	7	53,2	Análise CCDP
3FACDS-6	42-47	8	119,5	Análise CCDP
3FACDS-7	48-79	9-10	100,1	Análise CCDP
3FACDS-8	80-183	11-14	23,6	Análise CCDP
3FACDS-9	184-191	15-16	22,6	Análise CCDP
3FACDS-10	192-211	17-20	75,1	Análise CCDP
3FACDS-11	212-219	21-22	101,2	Análise CCDP
3FACDS-12	220-235	23	132,5	Não utilizada

Todas as amostras, com exceção das frações 3FACDS-1 e 12, apresentaram visualmente  $R_f$  distintos e boa resolução observada nas CCDA's, foram submetidas para purificação e isolamento empregando a análise em CCDP. As placas cromatográficas foram eluídas por 3 a 4 vezes com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (9,5:0,5) (v/v) e as substâncias foram extraídas da sílica com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (9,5:0,5) (v/v), seguindo os procedimentos do item 4.4. Logo após, as possíveis substâncias isoladas obtidas nos itens anteriores foram submetidas para análise por RMN. Para melhor visualização e compreensão do procedimento empregado, as substâncias identificadas por RMN foram recodificadas (tabela 4 / figura 21), sendo explanado o esquema ilustrativo do isolamento e purificação.



Tabela 4. Recodificação das substâncias isoladas de *D. surinamensis*.

Substância	Novo código	Fracionamento cromatográfico - códigos antigos	Massa
01	S1	<b>2º fracionamento cromatográfico</b> 2FACDS-11.3 / 2FACDS-12.1 / 2FACDS-12.2 / 2FACDS-12.4 <b>3º fracionamento cromatográfico</b> 3FACDS-5.5 / 3FACDS-7.6b / 3FACDS-8.2 / 3FACDS-9.2 / 3FACDS-10.2 / 3FACDS-10.3 / 3FACDS-10.4b / 3FACDS-11.3 / 3FACDS-11.4	76,4 mg
02	S2	<b>2º fracionamento cromatográfico</b> 2FACDS-4.7 / 2FACDS-11.5 / 2FACDS-12.5 / <b>3º fracionamento cromatográfico</b> 3FACDS-6.7 / 3FACDS-7.5 / 3FACDS-8.4 /	35,1 mg
03	S3	<b>2º fracionamento cromatográfico</b> 2FACDS-4.7 /	3,9 mg
04	S4	<b>2º fracionamento cromatográfico</b> 2FACDS-3.3 / 2FACDS-3.4 / 2FACDS-4.3 / 2FACDS-4.4 / 2FACDS-5.2 / 2FACDS-5.3 / <b>3º fracionamento cromatográfico</b> 3FACDS-5.5 / 3FACDS-5.3 / 3FACDS-6.2 / 3FACDS-7.2 / 3FACDS-7.3 / 3FACDS-8.2 / 3FACDS-11.1	183,5 mg
05	S5	<b>2º fracionamento cromatográfico</b> 2FACDS-3.2	4,0 mg

FIGURA 22. ESQUEMA DETALHADO DO PROCEDIMENTO REALIZADO PARA A PURIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

#### 4.7. Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Todas as substâncias isoladas de *D. surinamensis* foram analisadas no equipamento de ressonância magnética nuclear (RMN) da Central Analítica da UFAM. Os espectros unidimensionais (1D -  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135) e bidimensionais (2D - COSY, HSQC e HMBC) foram registrados em um aparelho Bruker Avance III DRX 500 operando a 11,75 Tesla, (500,13 MHz para RMN de  $^1\text{H}$  e 125,76 MHz para RMN de  $^{13}\text{C}$ ). Foi utilizado como padrão de referência interno o tetrametilsilano (TMS). As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), e quando necessário utilizou-se pequenas quantidades de metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (gotas) para homogeneização das mesmas.

As constantes de acoplamento ( $J$ ) foram registradas em Hertz (Hz) e os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) e as multiplicidades dos sinais foram indicadas conforme a convenção:  $s$  (simpleto),  $d$  (duplete),  $dd$  (duplo duplete),  $ddd$  (duplo duplo duplete),  $t$  (triplete) e  $m$  (multiplete).

Todos os espectros uni e bidimensionais foram processados pelo software ACD/NMR Processor Academic Edition, versão 12.01 (2010) da ACD Labs®.

#### 4.8. Determinação da estereoquímica das substâncias de *D. surinamensis*

As amostras das substâncias previamente purificadas e elucidadas por Oliveira (2017), foram disponibilizadas para a identificação da configuração absoluta dos carbonos estereogênicos (procedimento não realizado pelo colaborador), empregando a técnica de espectroscopia de Dicroísmo Circular Eletrônico (ECD).

Os cálculos computacionais para a determinação da estereoquímica das substâncias de *D. surinamensis* foi realizado pelo Prof. Dr. Nelson Henrique Morgon do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (IQM - UNICAMP) e pelo Prof. Dr. Gabriel Gabriel Heerdts da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Foi utilizada a Teoria do Funcional Densidade (Density Functional Theory – DFT) para a realização dos cálculos teóricos referente a otimização geométrica, cálculos de energias e dos ângulos de rotação óptica de duas estruturas: duguetinina (oxahomoaporfino) e surinasarona (asarona).

As configurações R e S foram totalmente otimizadas sem restrições com o funcional de correlação de longo alcance B3LYP, denominado CAM-B3LYP (YANAI, TEW & CHANDY, 2004). O funcional CAM-B3LYP foi selecionado por ser um funcional amplamente utilizado em estudos teóricos sobre a atribuição da configuração absoluta de substâncias quirais através do ângulo de rotação óptica. Foi utilizada a função de base Pople triplo zeta [6-311++ G (d, p)]

para a realização dos cálculos acima citados, sendo usado para representar os átomos de carbono, oxigênio, nitrogênio e hidrogênio. Os efeitos do solvente para o metanol foram introduzidos em todos os cálculos (MARENICH, CRAMER & TRUHLAR, 2009). Todos os valores de energia final para as estruturas otimizadas foram calculados considerando as condições ambiente, ou seja, 300 K e 1 atm. Todos os cálculos foram realizados usando o software computacional Gaussian 09 (revisão D1) (FRISCH *et al.*, 1994).

Os espectros de ECD das substâncias duguetinina ( $0,58 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , MeOH) e surinasarona ( $0,30 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) (condições  $25^\circ\text{C}$  e utilizando linha D de sódio) foram obtidos calculando as energias de excitação e as forças rotatórias (intensidades) de cada estado excitado. As forças rotatórias calculadas foram simuladas em uma curva ECD usando formatos de banda gaussiana com meia largura em  $0,67 \text{ eV}$  (FRISCH *et al.*, 1994).

#### 4.9. Análise *full scan* e fragmentação das substâncias isoladas de *D. surinamensis*

As análises espectrométricas foram realizadas no laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM) da Central analítica da UFAM. Soluções de estoque ( $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) das amostras de *D. surinamensis* foram preparadas com metanol grau HPLC. Alíquotas ( $5 \mu\text{L}$ ) das soluções foram diluídas para  $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e analisadas no espectrômetro de massas por inserção direta para os experimentos *full scan* (MS) e fragmentação dos íons ( $\text{MS}^n$ ). Os espectros de massas das substâncias isoladas foram adquiridos em um espectrômetro do modelo LQC Fleet (Thermo Scientific), equipado por um analisador do tipo íon trap (armadilha de íons) com uma interface de ionização electrospray (ESI) e operando no modo positivo.

As amostras foram inseridas diretamente na fonte de íons através da bomba de seringa ( $10 \mu\text{L.min}^{-1}$ ). As condições analíticas da MS foram: tensão de pulverização, 5 kV; temp. do capilar,  $200^\circ\text{C}$ ; tensão do capilar, 40 V; faixa de massa,  $m/z$  200-400. O hélio foi usado como gás de colisão e os espectros ESI- $\text{MS}^n$  foram obtidos usando energias de colisão de 20 a 30%.

#### 4.10. Ensaio de citotoxicidade *in vitro*

A análise citotóxica *in vitro* das amostras (fração alcaloídica, fração neutra, amostras do 1º fracionamento, substâncias isoladas e os extratos: hexânico e metanólico) da espécie de *D. surinamensis* foi realizada no Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia (LETI) do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador-BA, sob a colaboração e supervisão do Prof. Dr. Daniel Pereira Bezerra.

#### 4.10.1. Preparo das amostras

Os extratos, frações ( $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e substâncias isoladas ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) foram diluídas em DMSO puro estéril. Foram realizadas as microdiluições de todas as amostras e testadas em concentrações que variam de  $0,19\text{-}50 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

##### 4.10.1.1. Linhagens celulares: crescimento

As linhagens celulares utilizadas nesse ensaio foram doadas pelo Hospital A.C. Camargo, São Paulo-SP. Foram utilizadas células tumorais: MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano), HCT-116 (carcinoma de cólon humano), HepG-2 (carcinoma hepatocelular humano), HL-60 (leucemia promielocítica humana), K562 (linhagem celular de leucemia eritromieloblastóide humana, e células não tumorais: MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano)) e PBMC (célula mononuclear de sangue periférico) obtidas da ATCC.).

As células foram cultivadas conforme recomendado pelas diretrizes da ATCC, mantidas em recipientes para cultura de células ( $75 \text{ cm}^3$ , volume de 250 mL). Os meios utilizados foram RPMI-1640 (sistema de tamponamento com bicarbonato e concentrações modificadas de aminoácidos essenciais e vitaminas) e suplementados com 10% de soro bovino fetal para estimular o crescimento celular. As células foram mantidas em incubadora com atmosfera de 5% de  $\text{CO}_2$  a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , sendo feito o acompanhamento diário do crescimento das células com o auxílio de um microscópio de inversão (SANTOS *et al.*, 2018).

O meio de cultura foi trocado sempre que o crescimento celular atingia confluência (ocupação das células em todo o suporte da cultura) necessária para renovação de nutrientes. A tripsina a 0,25% foi utilizada na manutenção de células aderidas para que se desprendessem das paredes do recipiente. Todas as linhagens celulares foram contadas em microscópio e testadas para micoplasma utilizando o kit Mycoplasma Stain (Sigma-Aldrich®), as quais estavam isentas de contaminação. A viabilidade celular foi quantificada utilizando o indicador resazurina (Alamar Blue®), baseado na metodologia Ahmed e colaboradores (1994) com pequenas modificações. O ensaio foi realizado após 72 horas de exposição com os reagentes em teste. O experimento foi realizado em triplicata.

#### 4.10.1.2. Procedimento para o teste *in vitro*

Inicialmente, foram pipetados em placas de Elisa (placa de 96 poços) 100  $\mu\text{L}$ .poço<sup>-1</sup> das soluções das células, sendo  $0,3 \times 10^6$  células.mL<sup>-1</sup> para células em suspensão e  $0,7 \times 10^5$  células.mL<sup>-1</sup> para células aderidas. Após 24 horas de incubação, as amostras foram diluídas e adicionadas em cada poço e incubadas por 72 horas. Como controle positivo foi utilizado o cloridrato de doxorrubicina pureza  $\geq 95\%$ , (fabricante: laboratórios IMAS.A.I.C.) e a mesma quantidade de DMSO (diluyente das das amostras) foi usado como controle negativo.

Quatro horas antes do final do período de incubação, 20  $\mu\text{L}$  da solução estoque (0,312 mg.mL<sup>-1</sup>) do indicador foram adicionados a cada poço. A redução do reagente resazurina reflete a proliferação celular com o aparecimento da coloração rósea, todavia a cor azul fluorescente é indicativa de células não viáveis (forma oxidada - células mortas). As absorbâncias foram mensuradas nos comprimentos de onda de 570 nm (forma reduzida) e 595 nm (forma oxidada) em um detector espectrofotométrico multimodo (DTX 800, Beckman). A porcentagem de inibição foi calculada e registrada a porcentagem de inibição x log da concentração e determinado a sua diminuição da proliferação celular em 50% (IC<sub>50</sub>) com seus intervalos de confiança de 95%, realizado a partir de regressão não linear utilizando o programa Prisma 5.0 (Graphpad Prism Software).

Para determinar a porcentagem da proliferação celular, inicialmente foi calculado o fator de correção ( $R_0$ ) do controle negativo (eq. 1), através das absorbâncias do meio junto ao indicador reazurina ( $AO_{LW}$  e  $AO_{HW}$ ). Os valores de  $AO_{LW}$  e  $AO_{HW}$  foram subtraídos com as absorbâncias do meio isolado nos comprimentos de onda menor ( $A_{LW}$ ) e maior ( $A_{HW}$ ), respectivamente. O  $R_0$  consiste no parâmetro para eliminar a absorção do meio puro, que possui uma coloração levemente rósea. A equação da porcentagem da proliferação celular (eq. 2) foi calculada, utilizando os valores da  $A_{LW}$  e  $A_{HW}$  do meio reacional.

<b>equação 1:</b>	$R_0 = AO_{LW} / AO_{HW}$
<b>equação 2:</b>	<b>% proliferação</b> = $A_{LW} - (A_{HW} \times R_0) \times 100$

**FIGURA 23.** EQUAÇÕES PARA A DETERMINAÇÃO DO  $R_0$  E A PORCENTAGEM DE PROLIFERAÇÃO CELULAR. FONTE: AHMED, GOGAL & WALSH, 1994.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

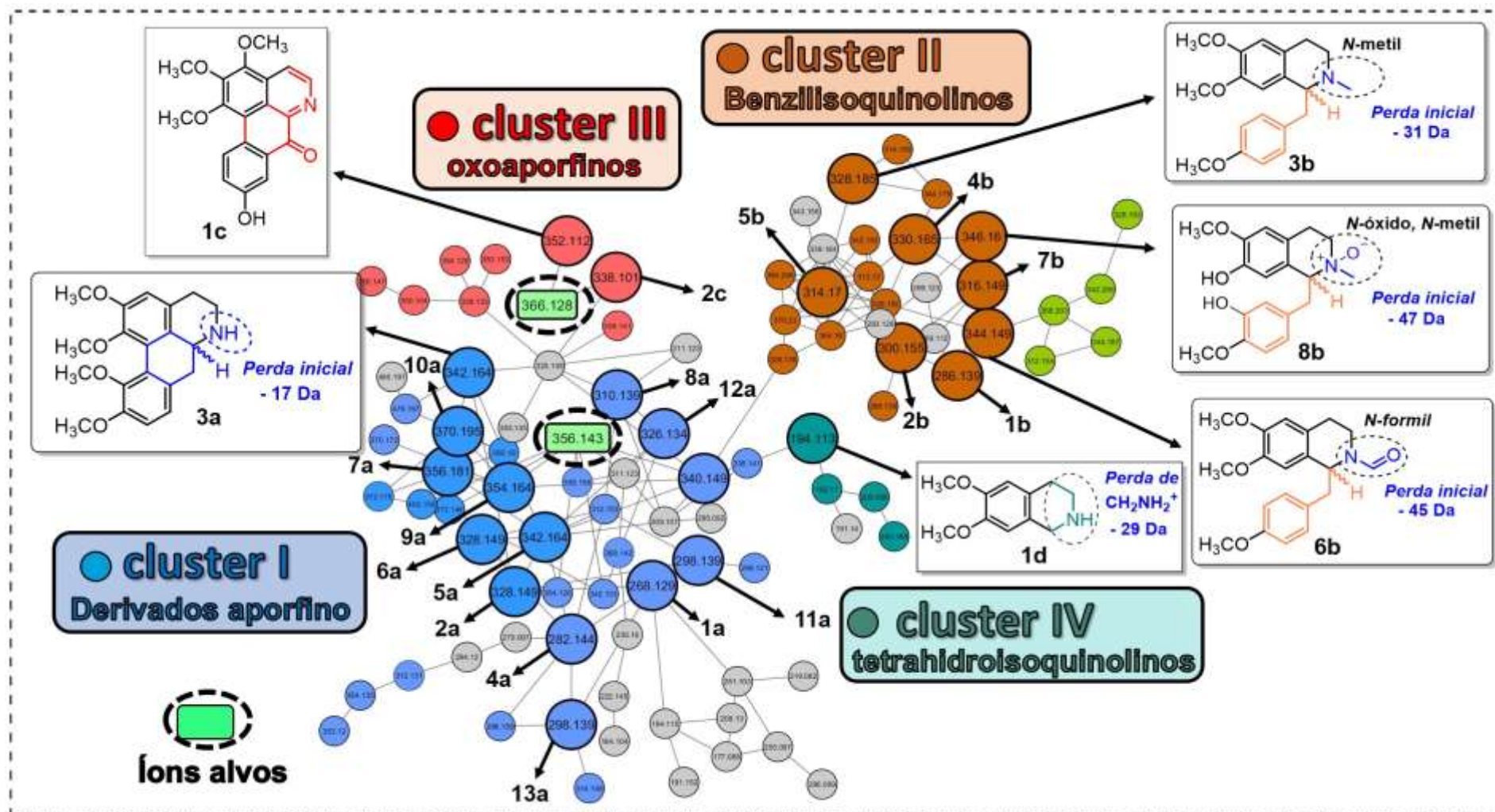
### 5.1. Análise por meio da ferramenta Molecular Networking (MN).

#### 5.1.1. Análise e desreplicação de substâncias da fração alcaloídica de *D. surinamensis*.

Com o propósito de prosseguir com a investigação dos metabólitos presentes nas cascas do caule da espécie *D. surinamensis* realizada anteriormente por Oliveira (2015), a FACDS foi submetida inicialmente à análise por LC-MS/MS para obter seus respectivos espectros. Os espectros MS/MS foram agrupados e carregados na plataforma GNPS e posteriormente visualizados pela rede molecular, a fim de priorizar o isolamento de novas substâncias.

Subsequentemente, foi realizada a desreplicação por comparação com os dados espectrais de fragmentação de alcaloides através de artigos publicados (SILVA *et al.*, 2017; SCHMIDT *et al.*, 2005; STÉVIGNY *et al.*, 2004) e por meio dos espectros do banco de dados de alcaloides interno de Annonaceae dos grupos de Pesquisa em Metabolômica e Espectrometria de Massas - UEA (MMSRG), GEQBioma-UFAM e LABCEM - UFAM.

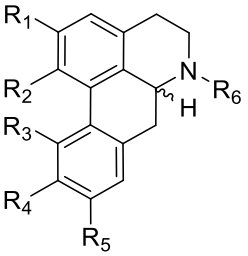
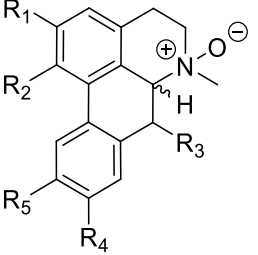
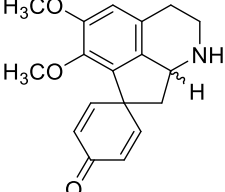
A rede molecular da FACDS (Figura 23) consistiu na conexão de vários nós conectados, sendo selecionado o maior (95 nós), e considerado o conjunto de interesse principal consistindo na presença de combinações com alcaloides conhecidos. A análise da rede molecular revelou quatro clusters indicando as diferentes classes de alcaloides isoquinolinos: aporfinos (cluster 1, grupo preponderante), benzilisoquinolinos (cluster 2), oxoaporfinos (cluster 3) e tetrahydroisoquinolinos (cluster 4). Dentro da subclasse dos aporfinos, o íon em  $m/z$  366,1 (destacado em linha pontilhada) foi considerado a substância de maior interesse (possível substância inédita) para realizar posteriormente, o isolamento por métodos cromatográficos clássicos. O espectro MS/MS desse íon não apresentou dados semelhantes no banco de informações do grupo de pesquisa, bem como não foi corroborante com os espectros de fragmentação dos alcaloides da literatura e das bibliotecas disponíveis no GNPS. Análises posteriores permitiram sugerir a identificação de 26 alcaloides conhecidos (Tabela 5) por meio dos seus perfis de fragmentação típica já descrita para os aporfinos, benzilisoquinolinos e oxoaporfinos encontradas nas espécies da família Annonaceae e também de outras famílias contendo os mesmos metabólitos (SILVA *et al.*, 2017; JEONG<sup>a</sup> *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2005; STÉVIGNY *et al.*, 2004). O cromatograma da FACDS obtido pela análise LC-MS/MS é mostrado na figura 24.



**Legenda:** Os nós menores de cor prata representam íons de substâncias não alcalóidicas e/ou inexistentes; Nós verde claro são de substâncias do tipo tetrahidroprotoberberino; Possíveis alcalóides inéditos estão representados nos círculos em linha pontilhada.

**FIGURA 24.** REDE MOLECULAR DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA DAS CASCAS DO CAULE DE *D. SURINAMENSIS*: CLUSTER 1 - APORFINOIDES (NÓS AZUIS), CLUSTER 2 - BENZILISOQUINOLINOS (NÓS LARANJAS), CLUSTER 3 - OXOAPORFINOS (NÓS VERMELHOS) E CLUSTER 4 - TETRAIDROISOQUINOLINOS (NÓS AZUL CLARO). **FONTE:** ARQUIVO PESSOAL, 2022.

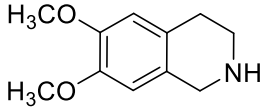
**TABELA 5.** SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS ATRAVÉS DA ANÁLISE DA REDE MOLECULAR DA FRAÇÃO DE *D. SURINAMENSIS*.

Substância	Estrutura química	<i>m/z</i>	Referências																																																													
<u>Aporfinos (cluster 1)</u>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> <th>R<sub>4</sub></th> <th>R<sub>5</sub></th> <th>R<sub>6</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>OH</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OH</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>-O-CH<sub>2</sub>-O-</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>-O-CH<sub>2</sub>-O-</td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>CHO</td> <td>CHO</td> </tr> </tbody> </table>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	-O-CH <sub>2</sub> -O-	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	-O-CH <sub>2</sub> -O-	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CHO	CHO		
R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>																																																										
OH		OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H																																																										
OCH <sub>3</sub>		OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H																																																										
OCH <sub>3</sub>		OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H																																																										
OH		OCH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>																																																										
OCH <sub>3</sub>		OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>																																																										
OCH <sub>3</sub>		OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>																																																										
OCH <sub>3</sub>		OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>																																																										
-O-CH <sub>2</sub> -O-		H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>																																																										
-O-CH <sub>2</sub> -O-	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CHO	CHO																																																											
assimilobina ( <b>1a</b> )		268,129	[1-8]																																																													
laurotetanina ( <b>2a</b> )		328,149	[1]																																																													
norglaucina ( <b>3a</b> )		342,164	[1]																																																													
<i>N</i> -metil assimilobina ( <b>4a</b> )		282,144	[1]																																																													
<i>N</i> -metil laurotetanina ( <b>5a</b> )		342,169	[1]																																																													
isoboldina ( <b>6a</b> )		328,149	[1]																																																													
glaucina ( <b>7a</b> )		356,181	[1]																																																													
isolaurelina ( <b>8a</b> )		310,139	[1]																																																													
arcabucoína ( <b>9a</b> )		354,164	[9]																																																													
<i>N</i> -formil glaucina ( <b>10a</b> )		370,195	[10]																																																													
<u>aporfinas <i>N</i>-óxido</u>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> <th>R<sub>4</sub></th> <th>R<sub>5</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>OH</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>-O-CH<sub>2</sub>-O-</td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>-O-CH<sub>2</sub>-O-</td> <td>OH</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>OCH<sub>3</sub></td> </tr> </tbody> </table>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	-O-CH <sub>2</sub> -O-	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	-O-CH <sub>2</sub> -O-	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>																																										
R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>																																																											
OH		OCH <sub>3</sub>	H	H	H																																																											
-O-CH <sub>2</sub> -O-	H	OCH <sub>3</sub>	H	H																																																												
-O-CH <sub>2</sub> -O-	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>																																																												
<i>N</i> -metil assimilobina <i>N</i> -óxido ( <b>11a</b> )		298,139	[11]																																																													
isolaurelina <i>N</i> -óxido ( <b>12a</b> )		326,134	[12]																																																													
duguetina <i>N</i> -óxido ( <b>S2</b> )		372,175	[12]																																																													
<u>proapofino</u>																																																																
stefarina ( <b>13a</b> )		298,139	[13]																																																													

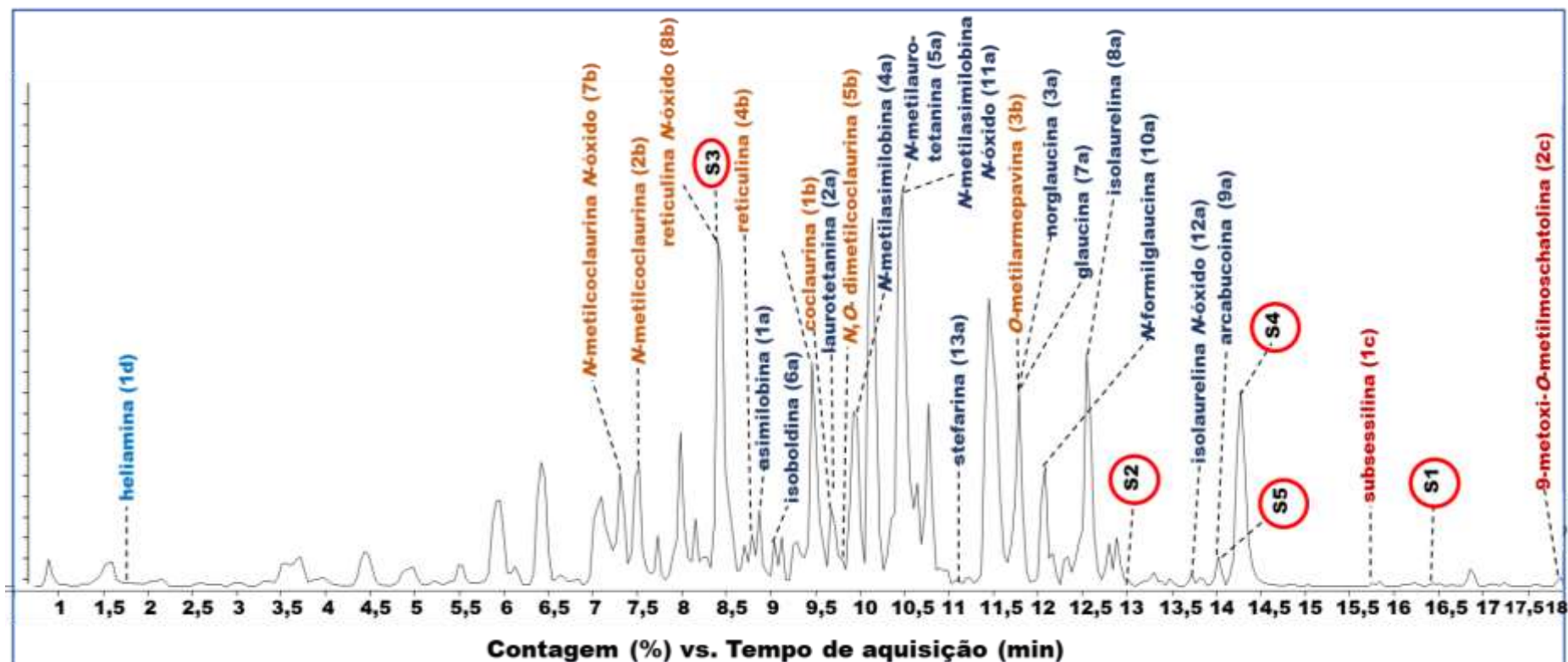


Substância	Estrutura química	substituintes	<i>m/z</i>	Referência																												
<u>oxahomoaporfino</u>																																
duguetinina ( <b>14a</b> )			356,143	-																												
<u>Benzilisoquinolinos (cluster 2)</u>																																
coclaurina ( <b>1b</b> )		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> <th>R<sub>4</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>OH</td> <td>H</td> <td>OH</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>H</td> <td>OH</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> <td>CHO</td> </tr> </tbody> </table>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	OH	H	OH	H	OH	H	OH	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	CHO	286,139	[4]
R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>																												
OH		H	OH	H																												
OH		H	OH	CH <sub>3</sub>																												
OCH <sub>3</sub>		H	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>																												
OH		OH	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>																												
OH	H	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>																													
OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	CHO																													
<i>N</i> -metil coclaurina ( <b>2b</b> )		OH	H	OH	CH <sub>3</sub>	300,155	[4]																									
<i>O</i> -metil arnepavina ( <b>3b</b> )		OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	328,185	[5]																									
reticulina ( <b>4b</b> )		OH	OH	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	330,165	[4]																									
<i>N,O</i> -dimetil coclaurina ( <b>5b</b> )		OH	H	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	314,170	[4]																									
<i>N</i> -formil reticulina ( <b>6b</b> )		OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	CHO	344,149	[6]																									
<i>N</i> -metil coclaurina <i>N</i> -óxido ( <b>7b</b> )		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>H</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>OCH<sub>3</sub></td> </tr> </tbody> </table>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	H	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	316,149	[7]																						
R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>																														
H	OH																															
OH	OCH <sub>3</sub>																															
reticulina <i>N</i> -óxido ( <b>8b</b> )		OH	OCH <sub>3</sub>			346,160	[7]																									
<u>Oxoaporfinos (cluster 3)</u>																																
subsessilina ( <b>1c</b> )		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R<sub>1</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>OCH<sub>3</sub></td> </tr> </tbody> </table>	R <sub>1</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	338,101	[3]																									
R <sub>1</sub>																																
OH																																
OCH <sub>3</sub>																																
9-metóxi- <i>O</i> -metil moschatolina ( <b>2c</b> )			352,1196	[3]																												

continuação...

Tetrahydroisoquinolino (cluster 4)			
heliamina (1d)		194,113	[14]

**FONTE:** [1] STÉVIGNY *et al.*, 2004; [2] JEONG<sup>a</sup> *et al.*, 2012; [3] SILVA *et al.*, 2017; [4] SCHMIDT *et al.*, 2005; [5] YADAV *et al.*, 2011; [6] RICE *et al.*, 1980; [7] WU *et al.*, 1989; [8] ZARGA & SHAMMA, 1982; [9] BARINAS & SUÁREZ, 2011; [10] SILVA<sup>c</sup> *et al.*, 2016; [11] NAKAMURA *et al.*, 2013; [12] BENTLEY, 2011; [13] GUINAUDEAU, FREYER & SHAMMA, 1987; [14] PUMMANGURA *et al.*, 1982.



**Legenda:** Substâncias em cor vermelha representam os oxoaporfinos; substâncias em cor azul escuro as aporfinos; substâncias em cor laranja as benzilisoquinolinos; substância em azul claro, um tetrahydroisoquinolinos; Siglas S1-S5 correspondem aos íons precursores das 5 substâncias isoladas por métodos cromatográficos clássicos.

**FIGURA 25.** CROMATOGRAMA OBTIDO DA FACDS ATRAVÉS DA ANÁLISE DE HPLC-MS/MS. **FONTE:** ARQUIVO PESSOAL, 2022.

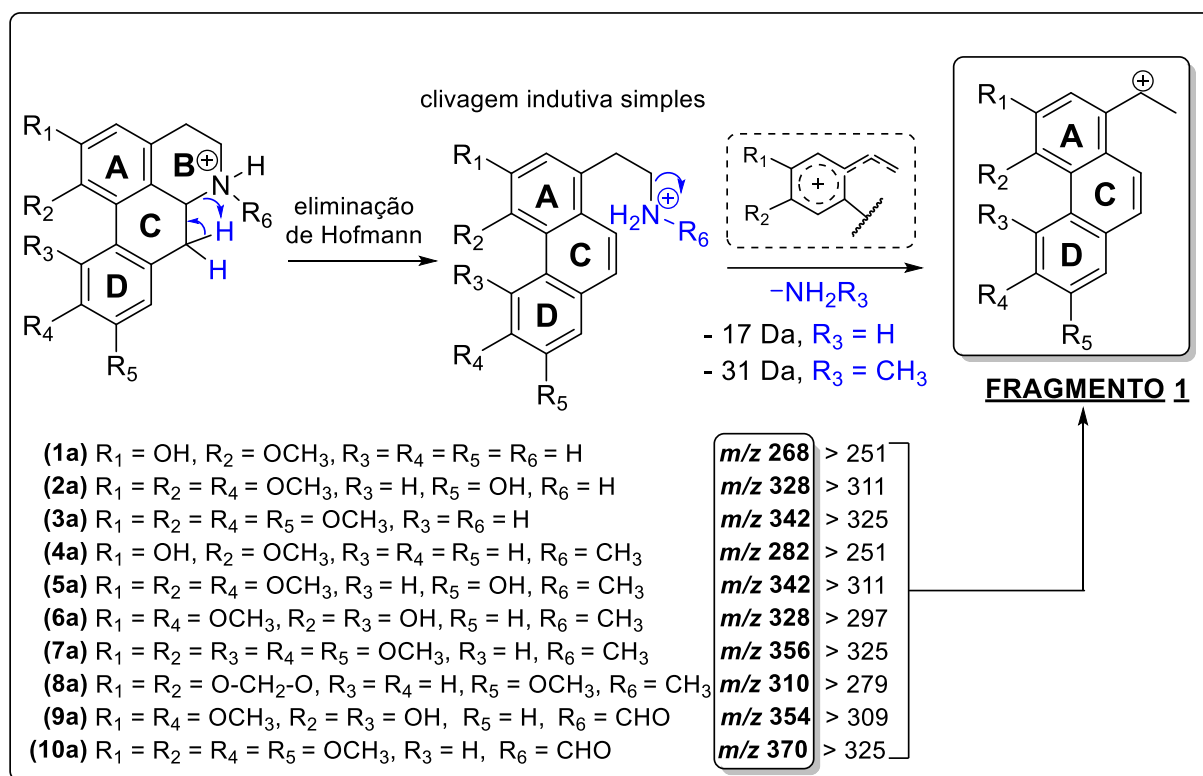
Dessa forma, a rede molecular da espécie alvo auxiliou na identificação de seus constituintes por meio da interpretação manual dos espectros MS/MS (em apêndice: A1 a A-26), permitindo a análise visual e simultânea do arranjo em grupos (clusters - agrupamentos) pela qual foram representados os metabólitos idênticos e análogos que correspondem aos alcaloides, acelerando sua identificação.

Vale ressaltar que os íons circulados em vermelhos no cromatograma (Figura 24), indicam as substâncias isoladas por meio dos métodos cromatográficos clássicos que será mostrada no tópico a seguir (item 4.2). A ausência da representação dessas substâncias (nós) (com exceção da substância S2) na rede molecular principal se deve pela seleção do estudo do maior conjunto de nós, excluindo os demais devido a grande quantidade de contaminantes e íons com padrão de fragmentação incomuns (substâncias não identificadas). Além disso, os espectros MS/MS dessas substâncias não se encontram disponíveis nas bibliotecas do GNPS. Com isso, é possível justificar a ausência das mesmas na rede molecular.

Dentre as substâncias identificadas na espécie *D. surinamensis*, apenas quatro alcaloides encontram-se presentes na composição química de outras espécies do gênero, tais como assimilobina (**1a**) em *D. furfuracea* (CAROLLO<sup>a</sup> *et al.*, 2006), a *N*-metil assimilobina (**4a**) presente na espécie *D. spixiana* (DEBOURGES<sup>a</sup> *et al.*, 1987), isolarelina (**8a**) em *D. obovata* (ROBLOT, HOCQUEMILLER & CAVÉ, 1983), e a reticulina (**4b**) presente nas espécies *D. pycnastera* (SOUZA *et al.*, 2020), *D. trunciflora* (FECHINE<sup>a</sup> *et al.*, 2006) e *D. furfuracea* (CAROLLO<sup>a</sup> *et al.*, 2006). A substância duguetinina foi isolada das cascas do caule de *D. surinamensis* no estudo anterior (OLIVEIRA, 2017). As demais substâncias sugeridas a partir dos dados de LC-MS/MS com auxílio da ferramenta MN são contribuições inéditas para a espécie alvo desse trabalho e para o gênero *Duguetia*.

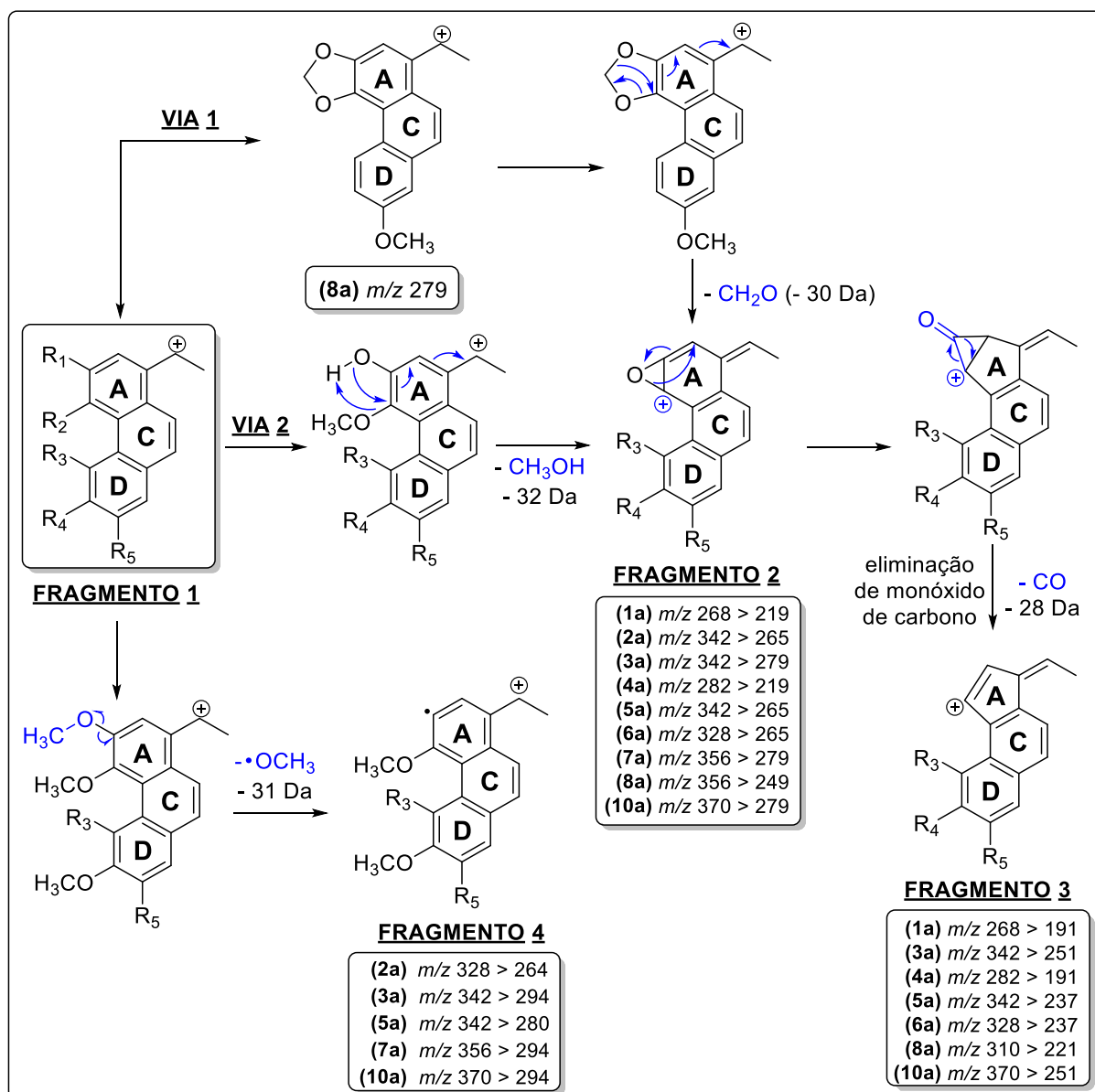
Os principais fragmentos presentes nos espectros das substâncias identificadas da FACDS (A1 - A26) foram avaliados a fim de correlacioná-los com suas respectivas perdas e explicar o padrão de substituição de cada subclasse.

A subclasse dos alcaloides aporfínicos *stricto sensu* apresenta o mesmo padrão de fragmentação (Figura 25), consistindo na eliminação do grupo nitrogenado do anel B isoquinolino, ou seja, na perda de seus respectivos grupos *N*-H (**1a** - **3a**), *N*-metil (**4a** - **8a**), e *N*-formil (**9a** - **10a**), sendo um dos principais fragmentos para essa classe (fragmento 1) (LIMA *et al.*, 2020).



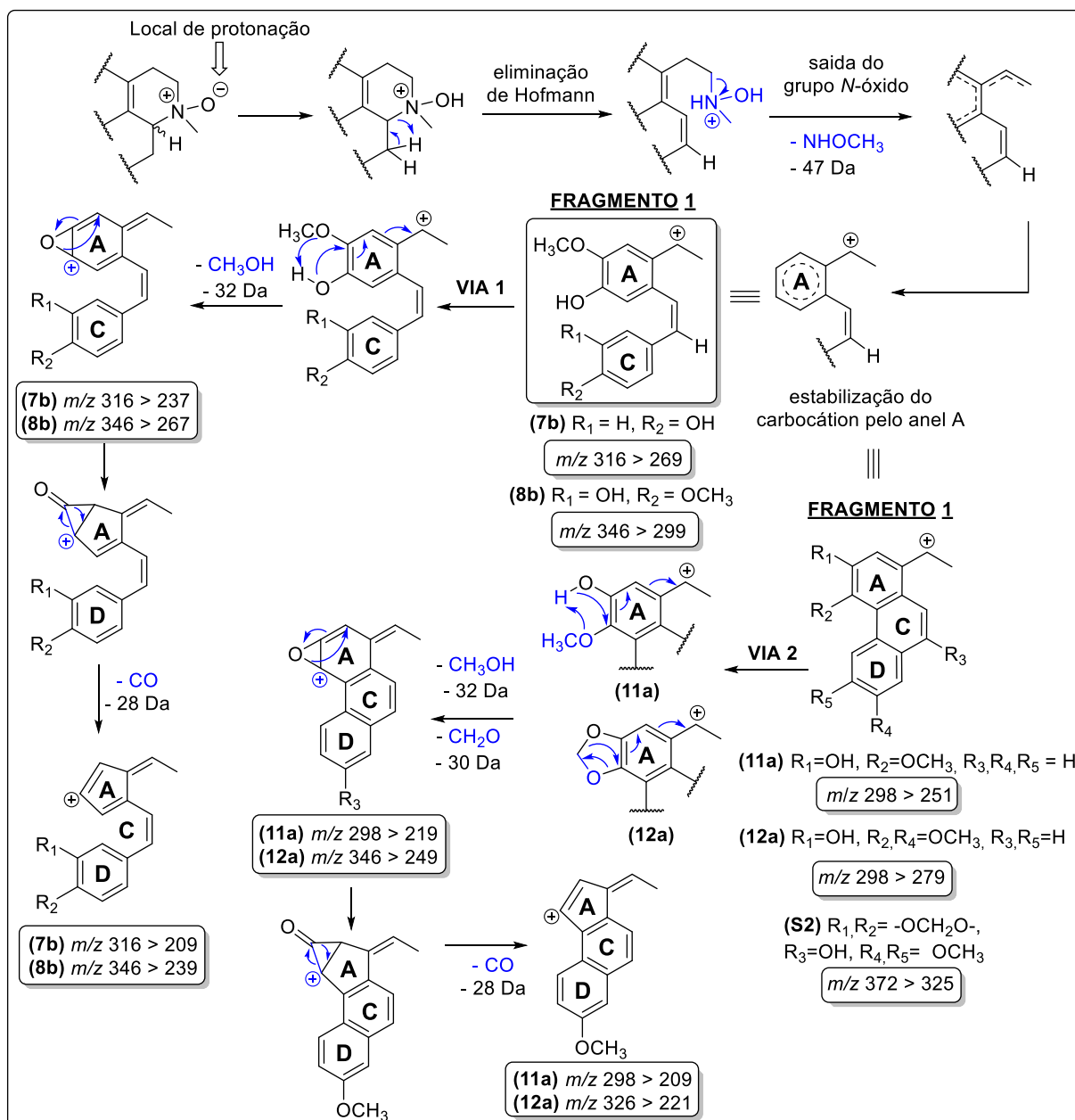
**FIGURA 26.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A ELIMINAÇÃO DO GRUPO NITROGENADO DE ALCALOIDES APORFINOS (1A –10A). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

A figura 26 expõe as demais perdas para alguns aporfinos provenientes do fragmento 1 (via 1), para a eliminação do grupo CH<sub>3</sub>OH (-32 Da, fragmento 2), CO (-28 Da, fragmento 3) e OCH<sub>3</sub> (-15 Da) (fragmento 4 - via radicalar). Entretanto, as substâncias isolaulerina (8a) e arcabucoina (9a) seguem a mesma proposta mecanística para a perda do grupo do nitrogenado, todavia, essas substâncias apresentam a ponte metilenodioxí no anel A em sua estrutura. Com isso, há outra via mecanística (via 2) fornecendo a estabilização do carbocátion (proveniente da eliminação do grupo nitrogenado) por meio da eliminação do grupo CH<sub>2</sub>O (-30 Da) que concomitantemente forma um epóxi e efetua a deslocalização de elétrons pelo anel heterocíclico.



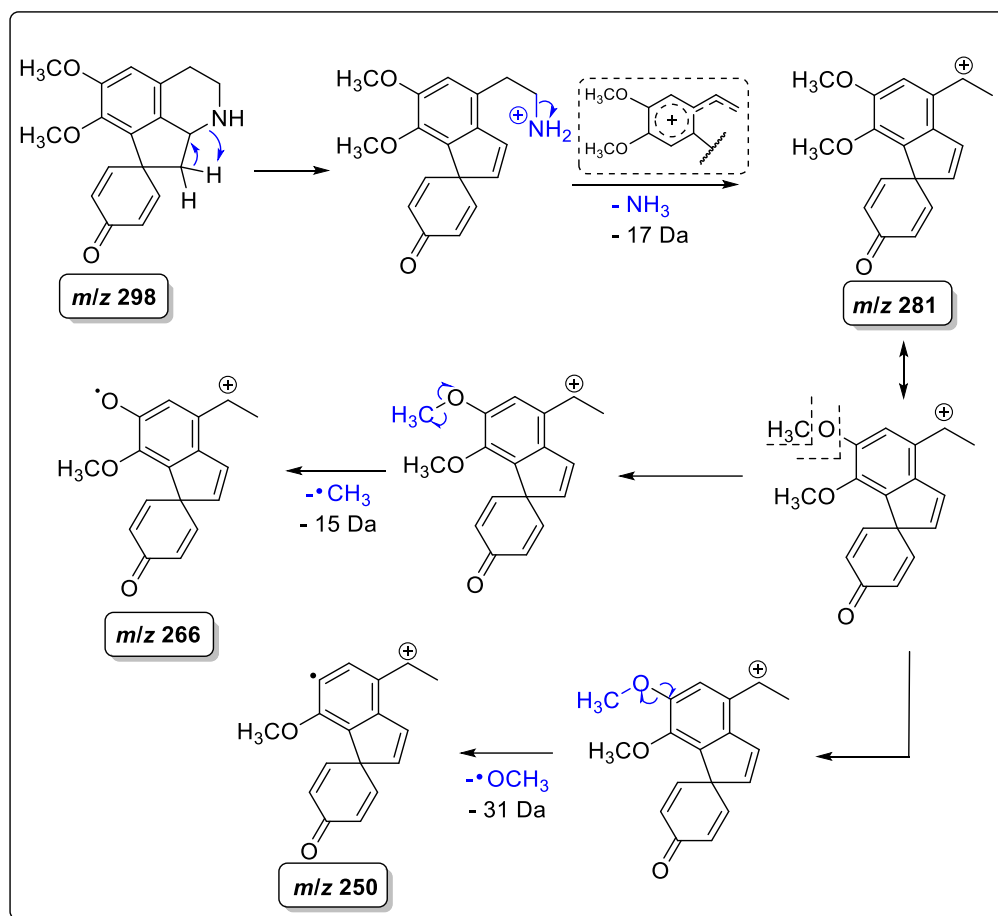
**FIGURA 27.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA DEMAIS PERDAS DE ALGUNS GRUPOS DOS APORFINOIDES (1A –10A). FONTE: ADAPTADO DE LIMA ET AL., 2020.

Os alcaloides derivados *N*-óxido fragmentam-se da mesma forma que os aporfinos *stricto sensu* (perda do grupo nitrogenado), tendo a principal perda de massa de 47 Da (fragmento 1) equivalente ao grupo -NHOCH<sub>3</sub> (Figura 27). Os alcaloides benzilisoquinolinos **7b** e **8b** (via 1) e os aporfinos **11a** e **12a** (via 2) apresentam os mesmos mecanismos e perdas de massa (CH<sub>3</sub>OH > CO), com exceção da substância **12a**, um aporfino contendo ponte metilenodioxí que sofre perda de 30 Da para formação do epóxi e estabilização do carbocátion. A substância **S2** apresentou perda equivalente do grupo *N*-óxido 47 Da.

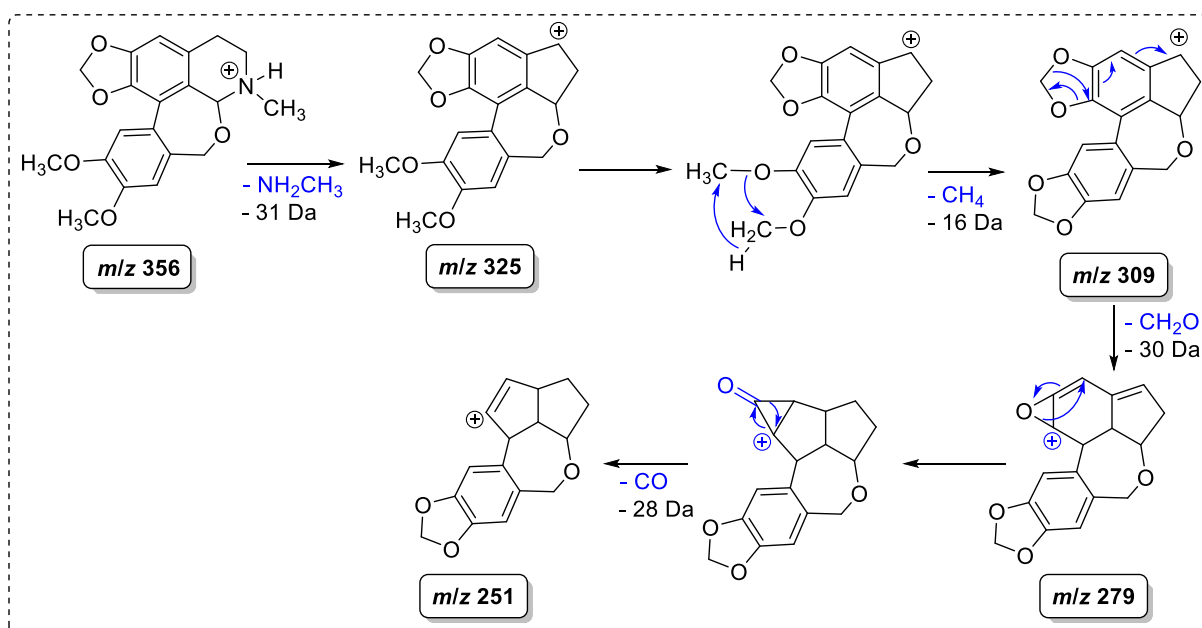


**FIGURA 28.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DE ALCALOIDES DERIVADOS *N*-ÓXIDO (**7B**, **8B**, **11A**, **12A** E **S2**). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

A fragmentação do único alcaloide propoaporfino (**13a**) identificado apresenta fragmentos em  $m/z$  281 (-17 Da), 266 (-15 Da) e 250 (-31 Da) indicativas da perda de -NH<sub>3</sub> (grupo responsável pelo fragmento principal dessa classe),  $\bullet$ CH<sub>3</sub> e  $\bullet$ OCH<sub>3</sub>, respectivamente (Figura 28). A substância **14a** foi isolada anteriormente por Oliveira (2017), entretanto não foi apresentada sua proposta de fragmentação. Os mecanismos dos íons fragmentados mostrados na figura 29 são indicativos da perda inicial do grupo NH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> ( $m/z$  325), seguida da formação da ponte metilenodioxi (perda de CH<sub>4</sub> -  $m/z$  309). Posteriormente, a eliminação do grupo CH<sub>2</sub>O (30 Da) e de monóxido de carbono (28 Da) são indicativas dos fragmentos em  $m/z$  279 e 251, respectivamente.

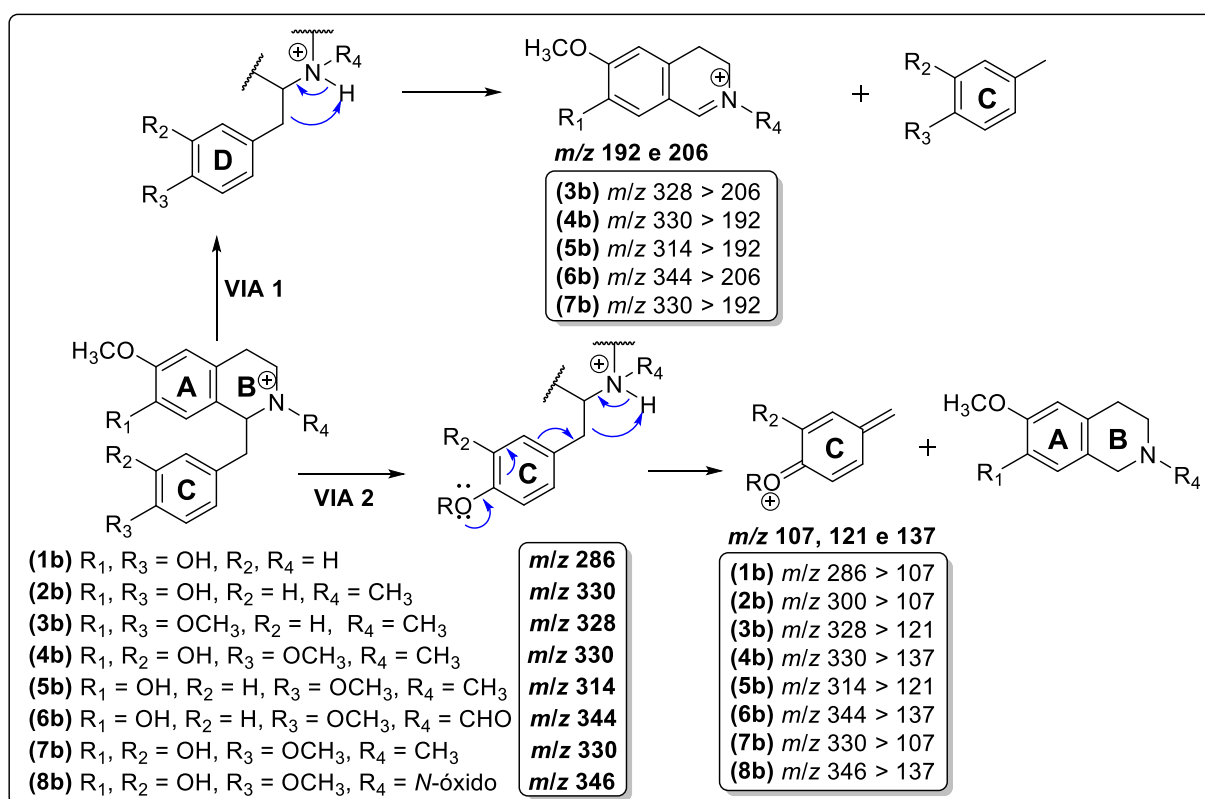


**FIGURA 29.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DO ALCALOIDE PROAPORFINO STEFARINA (13A). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.



**FIGURA 30.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A SUBSTÂNCIA DUGUETININA (25A). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

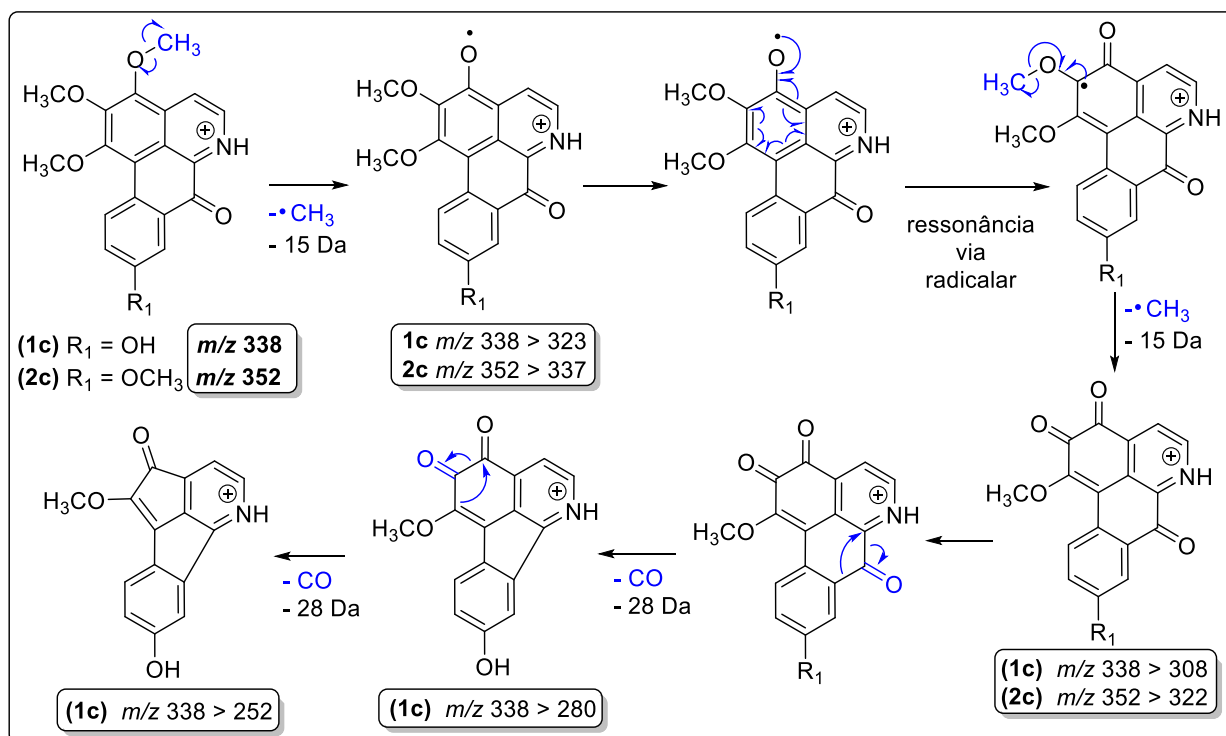
Dentre os alcaloides benzilisoquinolinos identificados (**1b** - **8b**), alguns se fragmentam através de uma eliminação de Hoffmann (via 1) formando a estrutura tetrahydroisoquinolino (fragmentos com  $m/z$  em 192 e 206) (Figura 30). Adicionalmente, o grupo OH/OCH<sub>3</sub> na posição R<sub>3</sub> dos alcaloides benzilisoquinolinos conforme a figura 30, indica que o oxigênio é responsável pela deslocalização de elétrons que conseqüentemente efetua a eliminação da fração tetrahydroisoquinolino resultando na formação do fragmento em  $m/z$  107, 121 e 137 (dependendo do substituinte no anel C).



**FIGURA 31.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DE ALCALOIDES BENZILISOQUINOLINOS (**1A** - **6A**). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

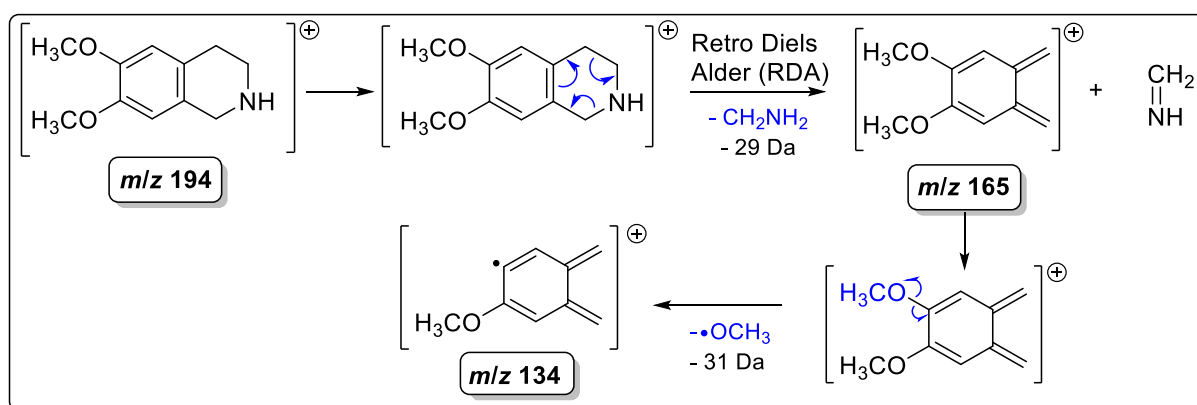
Os oxoaporfinos (**1C** - **2C**) apresentaram íons fragmentos em  $m/z$  323 e 337, respectivamente, correspondente a ruptura homolítica da ligação O-CH<sub>3</sub> promovendo a perda de metila (-15 Da). A ressonância via radicalar mostrada na figura 31 favorece a segunda perda de CH<sub>3</sub>, formando os fragmentos em  $m/z$  308 e 322 para os alcaloides **1c** e **2c**, respectivamente. Além disso, o alcaloide **1c** sofre perdas sucessivas do grupo CO (- 28 Da).





**FIGURA 32.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DE ALCALOIDES OXOAPORFINOS (1c e 2c). FONTE: ADAPTAÇÃO DE CARNEVALE NETO *ET AL.*, 2019; SILVA *ET AL.*, 2017).

O único alcaloide tetrahydroisoquinolino (1d) identificado na FACDS apresentou fragmento em 165 [M + H]<sup>+</sup> sendo indicativa da reação de Retro Diels Alder (RDA), na qual foi responsável pela perda do grupo <sup>+</sup>NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- (29 Da). Além disso, a proposta mecanística de fragmentação para o íon em 134 [M + H]<sup>+</sup> foi mostrado na figura 32, sendo este resultante da perda de -•OCH<sub>3</sub> (31 Da).



**FIGURA 33.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DA HELIAMINA (1d), UM ALCALOIDE TETRAHIDROISOQUINOLINO. FONTE: ADAPTAÇÃO DE WUA E HUANG, 2006.

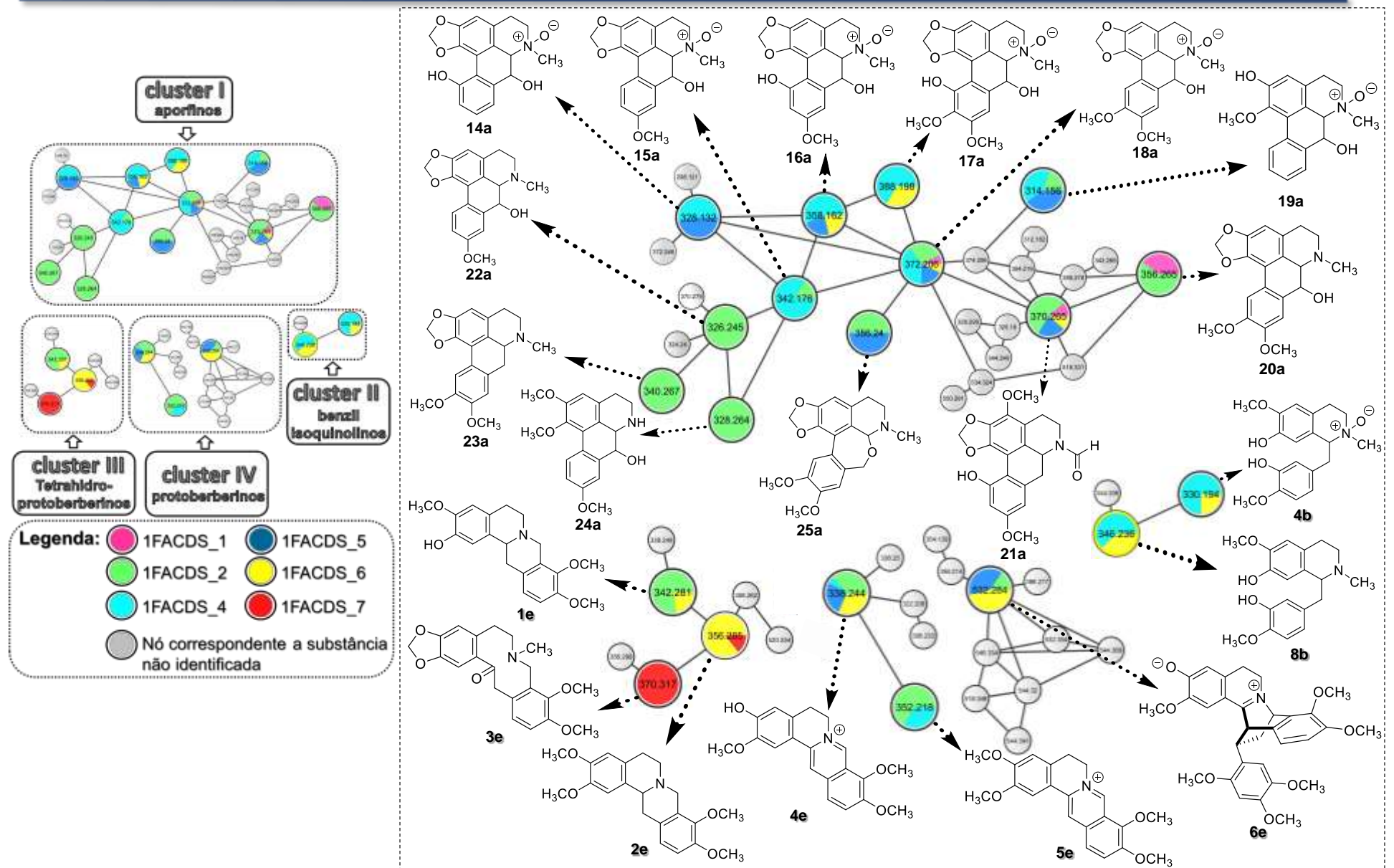
5.1.2. Análise das substâncias presentes nas frações provenientes do 1º procedimento cromatográfico de *D. surinamensis*

Seguindo o mesmo protocolo do item anterior, seis frações obtidas no 1º fracionamento cromatográfico da FACDS bruta foram submetidas na plataforma GNPS em conjunto, sendo elas as frações 1FACDS-1, 2, 4, 5, 6 e 7. A rede molecular dessas frações revelou quatro conjuntos de clusteres indicando alcaloides derivados isoquinolinos: alcaloides aporfinos (cluster 1), benzilisoquinolinos (cluster 2), tetrahidroprotoberberinos (cluster 3) e protoberberinos (cluster 4) (Figura 33).

Foram identificados 18 alcaloides conhecidos através dos seus espectros de fragmentação já descritos para as principais isoquinolinos encontrados nas espécies da família Annonaceae, como os aporfinos, benzilisoquinolinos, tetrahidroprotoberberinos e protoberberinos (QING *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2017; SUN *et al.*, 2014; SCHMIDT *et al.*, 2005; STÉVIGNY *et al.*, 2004). Adicionalmente, foi realizado duas propostas de 2 alcaloides inéditos (**17a** e **23a**) com base no padrão de fragmentação e denominadas levando em consideração as substâncias contidas no gênero *Duguetia* (PÉREZ & CASSELS, 2010).

As 20 substâncias identificadas pela rede MN e suas informações ( $m/z$  e dados comparativos com a literatura) são mostradas na tabela 6 e os cromatogramas das frações obtidas pela análise HPLC-MS/MS são mostradas na figura 34 e 35.

As substâncias isoladas por meio dos métodos cromatográficos clássicos (item 4.2), não foram identificados na rede molecular (com exceção da duguetina *N*-óxido) devido a exclusão dos demais conjuntos de clusteres por apresentarem grandes quantidade de contaminantes e substâncias com fragmentações incomuns. Adicionalmente, os espectros MS/MS dessas substâncias não se encontram no banco de dados das bibliotecas do GNPS, sendo possível justificar a ausência das mesmas na rede molecular.



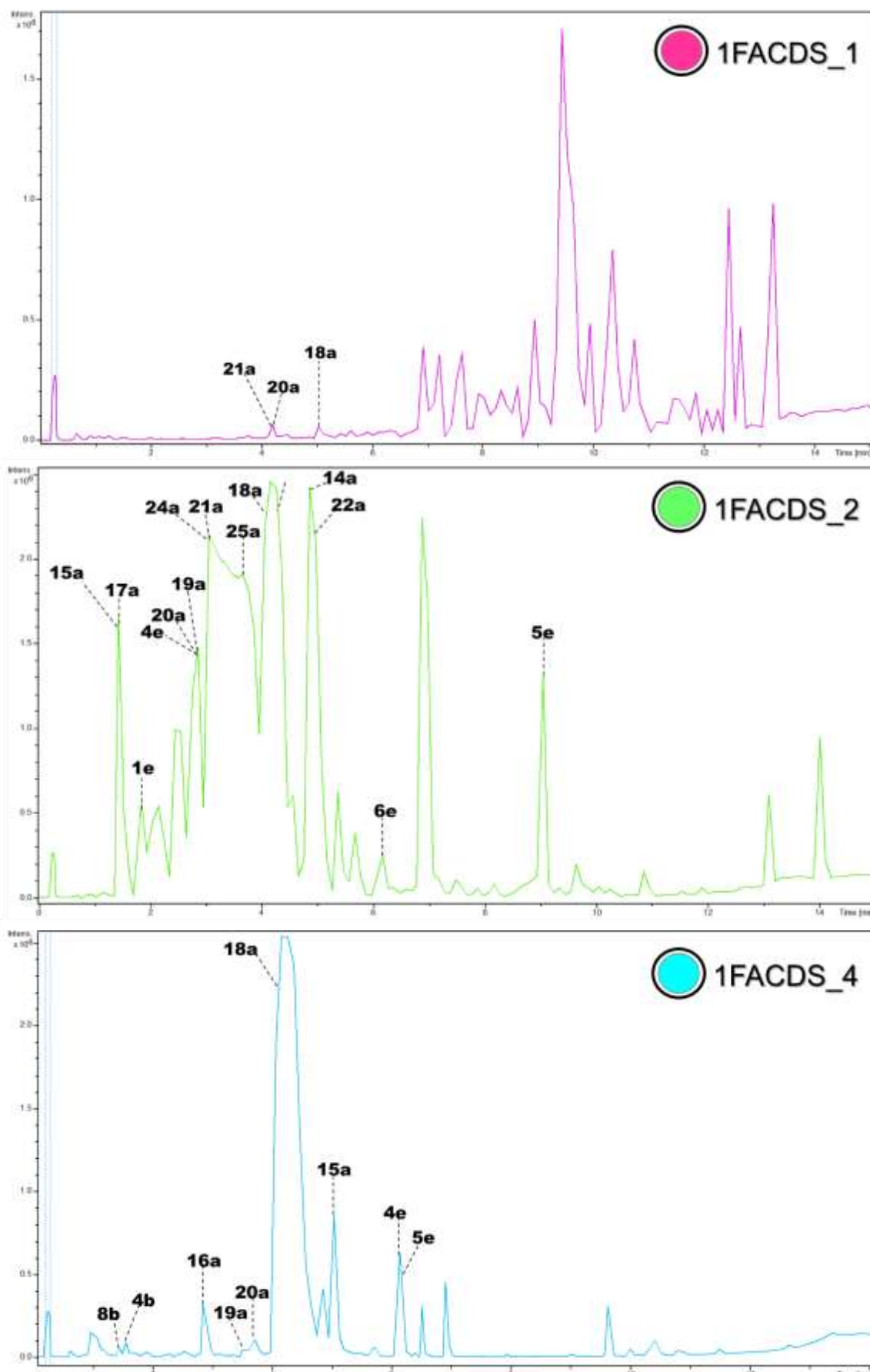
**FIGURA 34.** REDE MOLECULAR DAS FRAÇÕES DAS CASCAS DO CAULE DE *D. SURINENSIS*: CLUSTER 1 - APORFINOS, CLUSTER 2 - BENZILISOQUINOLINOS, CLUSTER 3 - TETRAHIDROPROTOBERBERINOS, CLUSTER 4 - PROTOBERBERINOS. **FONTE:** ARQUIVO PESSOAL, 2022.

**TABELA 6.** SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS ATRAVÉS DA ANÁLISE DA REDE MN DAS FRAÇÕES DO 1º PROCEDIMENTO CROMATOGRÁFICO DE *D. SURINAMENSIS*.

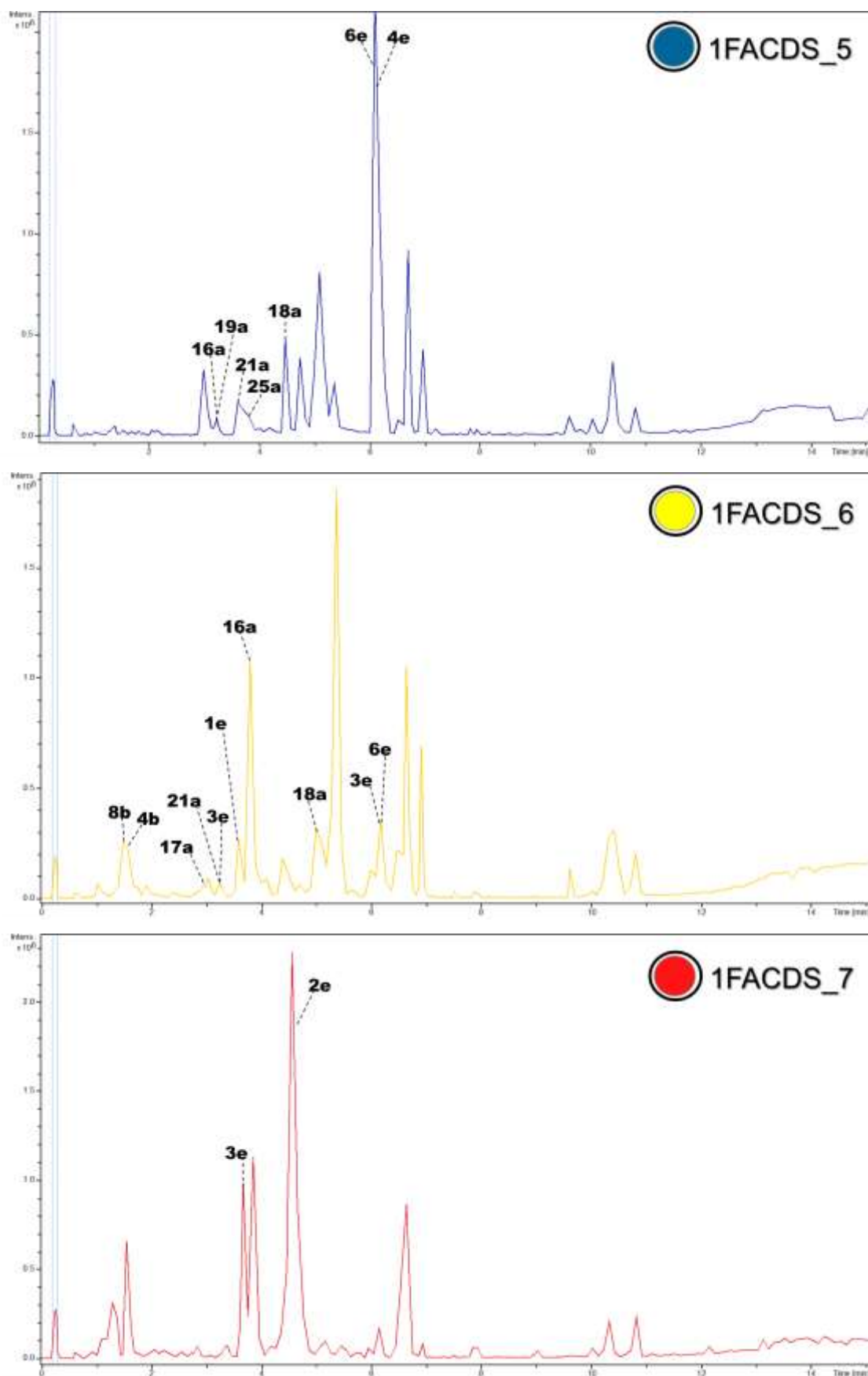
Substância	Frações	m/z	Referência
<u>Aporfinos (cluster 1)</u>			
duguetina <i>N</i> -óxido ( <b>S2</b> )	1FACDS_1, 2, 4, 5 e 6	372,1455	[1-4]
duguxina <i>N</i> -óxido ( <b>14a</b> )	1FACDS_2	328,1174	[1-3]
oliveridina <i>N</i> -óxido ( <b>15a</b> )	1FACDS_2 e 4	342,1739	[1-3]
spixianina <i>N</i> -óxido ( <b>16a</b> )	1FACDS_4, 5 e 6	358,1267	[1-3]
10-metoxi duguetina <i>N</i> -óxido ( <b>17a</b> )	1FACDS_2 e 6	388,1408	[1-3]
pachiconfina <i>N</i> -óxido ( <b>18a</b> )	1FACDS_2, 4 e 5	314,1374	[1-2]
duguetina ( <b>19a</b> )	1FACDS_1 e 2	356,1525	[1, 2, 4]
<i>N</i> -formilduguevanina ( <b>20a</b> )	1FACDS_1, 2, 4, 5 e 6	370,1696	[1]
oliveridina ( <b>21a</b> )	1FACDS_2	326,1112	[1]
dicentrina ( <b>22a</b> )	1FACDS_2	340,1563	[1, 2, 5, 6]
9-metoxi normuciferidina ( <b>23a</b> )	1FACDS_2	328,1550	[1]
duguetinina ( <b>24a</b> )	1FACDS_2 e 5	356,1348	[1]
<u>Benzilisoquinolinos (cluster 2)</u>			
reticulina ( <b>4b</b> )	1FACDS_4 e 6	330,1714	[1, 7]
reticulina <i>N</i> -óxido ( <b>8b</b> )	1FACDS_4 e 6	346,1691	[1, 8]
<u>tetrahidroprotoberberinos / protopino (cluster 3)</u>			
coripalmina / tetrahydrojatrorrizina ( <b>1e</b> )	1FACDS_2 e 6	342,1693	[9, 10]
tetrahidropalmatina ( <b>2e</b> )	1FACDS_6 e 7	356,1832	[9, 10]
alocriptopina ( <b>3e</b> )	1FACDS_7	370,2893	[9-12]
<u>protoberberinos (cluster 4)</u>			
jatrorrizina ( <b>4e</b> )	1FACDS_2, 4, 5 e 6	338,1415	[9]
palmatina ( <b>5e</b> )	1FACDS_2 e 4	352,1164	[9]
staudina ( <b>6e</b> )	1FACDS_2, 5 e 6	532,2106	[9]

**FONTE:** [1] QING *et al.*, 2020; [2] STÉVIGNY *et al.*, 2004; [3] LIMA *et al.*, 2019; [4] PAZ *et al.*, 2019; [5] SCHMIDT *et al.*, 2005; [6] SRIPRANG, KHORANA & INGKANINAN, 2006; [7] JEONG<sup>a</sup> *et al.*, 2012; [8] WU *et al.*, 1989; [9] SUN *et al.*, 2014; [10] WANG *et al.*, 2017; [11] SINGH *et al.*, 2017; [12] JEONG<sup>b</sup> *et al.*, 2012.

Com base na análise da rede molecular das frações de *D. surinamensis*, comprovou-se que a 1FACDS\_2 compõe a fração mais rica em constituintes químicos, sendo sugeridos 15 alcaloides identificados anteriormente (Tabela 6). Todavia, as frações 1FACDS\_1 e 7 apresentaram quantidades menores de substâncias identificadas pela rede molecular contendo apenas 2 e 3 metabólitos, respectivamente.



**FIGURA 35.** CROMATOGRAMA OBTIDO DAS FRAÇÕES 1FACDS\_1, 2 E 4 DE *D. SURINAMENSIS* ATRAVÉS DA ANÁLISE DE HPLC-MS/MS. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**FIGURA 36.** CROMATOGRAMA OBTIDO DAS FRAÇÕES L, 6 E 7 DE *D. SURINAMENSIS* ATRAVÉS DA ANÁLISE DE HPLC-MS/MS. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

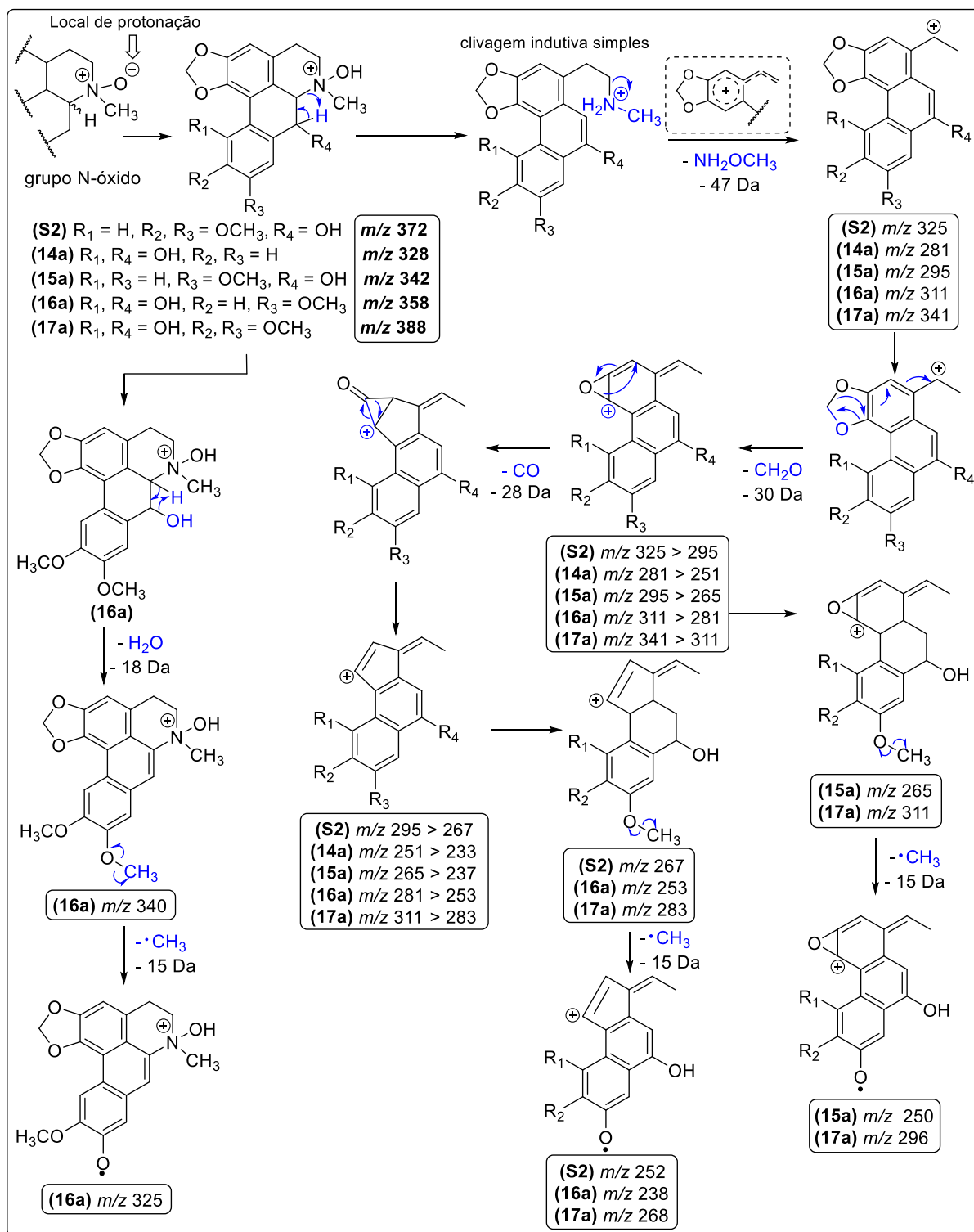
Dentre os constituintes identificados nas seis frações, 14 substâncias encontram-se na composição química de outras espécies do gênero *Duguetia* como mostra a tabela 7.

**TABELA 7.** SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS PELA GNPS E MN PRESENTES EM OUTRAS ESPÉCIES DO GÊNERO *DUGUETIA*.

Substâncias	Espécies [Referência]
duguetina <i>N</i> -óxido ( <b>S2</b> )	<i>D. furfuraceae</i> [1]
duguexina <i>N</i> -óxido ( <b>14a</b> )	<i>D. spixiana</i> [2]
oliveridina <i>N</i> -óxido ( <b>15a</b> )	<i>D. spixiana</i> [2,3]
spixianina <i>N</i> -óxido ( <b>16a</b> )	<i>D. spixiana</i> [2]
pachiconfina <i>N</i> -óxido ( <b>18a</b> )	<i>D. spixiana</i> [2]
duguetina ( <b>19a</b> )	<i>D. flagellaris</i> [4, 5], <i>D. furfuracea</i> [3,6,7] e <i>Duguetia</i> sp [8]
<i>N</i> -formilduguevanina ( <b>20a</b> )	<i>D. obovata</i> [9] e <i>D. flagellaris</i> [5]
oliveridina ( <b>21a</b> )	<i>D. spixiana</i> [1,2], <i>D. glabriuscula</i> [10], <i>D. flagellaris</i> [4, 5] e <i>D. vallicola</i> [11]
dicentrina ( <b>22a</b> )	<i>Duguetia</i> sp [8]
reticulina ( <b>4b</b> )	<i>D. pycnastera</i> [12], <i>D. furfuracea</i> [13] e <i>D. trunciflora</i> [14]
coripalmina ( <b>1e</b> )	<i>D. trunciflora</i> [14], <i>D. confinis</i> [15], <i>D. staudtii</i> [16], <i>D. stelechantha</i> [17] e <i>D. gardneriana</i> [18]
tetrahidropalmatina ( <b>3e</b> )	<i>D. spixiana</i> [2], <i>D. trunciflora</i> [14], <i>D. confinis</i> [15,19] e <i>D. gardneriana</i> [18]
jatrorrizina ( <b>4e</b> )	<i>D. trunciflora</i> [14]
staudina ( <b>6e</b> )	<i>D. staudtii</i> [20]

**FONTE:** [1] SILVA *et al.*, 2007; [2] DEBOURGES<sup>a</sup> *et al.*, 1987; [3] RASAMIZAFY *et al.*, 1987; [4] FECHINE<sup>b</sup> *et al.*, 2002; [5] NAVARRO *et al.*, 2001; [6] SANTOS<sup>b</sup> *et al.*, 2018; [7] SILVA<sup>a</sup> *et al.*, 2009; [8] CASAGRANDE & FERRARO, 1970; [9] ROBLLOT, HOCQUEMILLER & CAVÉ, 1983; [10] SIQUEIRA *et al.*, 2001; [11] PÉREZ *et al.*, 2004; [12] SOUZA *et al.*, 2020; [13] CAROLLO *et al.*, 2006; [14] FECHINE<sup>a</sup> *et al.*, 2002; [15] BEVALOT *et al.*, 1977; [16] NGOUONPE *et al.*, 2019; [17] DIAZ, DIAZ & JOSEPH-NATHAN, 1985; [18] ALMEIDA *et al.*, 2007; [19] MATHOUET *et al.*, 2007; [20] CAVE *et al.*, 1980.

Também foi realizado o estudo de fragmentação dos espectros MS/MS das substâncias contidas nas frações (em apêndice: A17 – A45) a fim de correlacioná-los com suas respectivas perdas. Como foi relatado anteriormente, os aporfinos derivados *N*-óxido (**S2**, **14a** - **17a**) (Figura 35) apresentaram o mesmo padrão de fragmentação consistindo na eliminação do grupo nitrogenado da fração isoquinolino, seguido da perda de CH<sub>2</sub>O (**14a-17a**) / CH<sub>3</sub>OH (**18a**) e perda de CO. Algumas substâncias apresentaram fragmentos distintos tais como perdas de metilas via radical (- 15 Da) e perda de água (- 18 Da).



**FIGURA 37.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DE ALCALOIDES DERIVADOS *N*-ÓXIDO (11A-18A). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

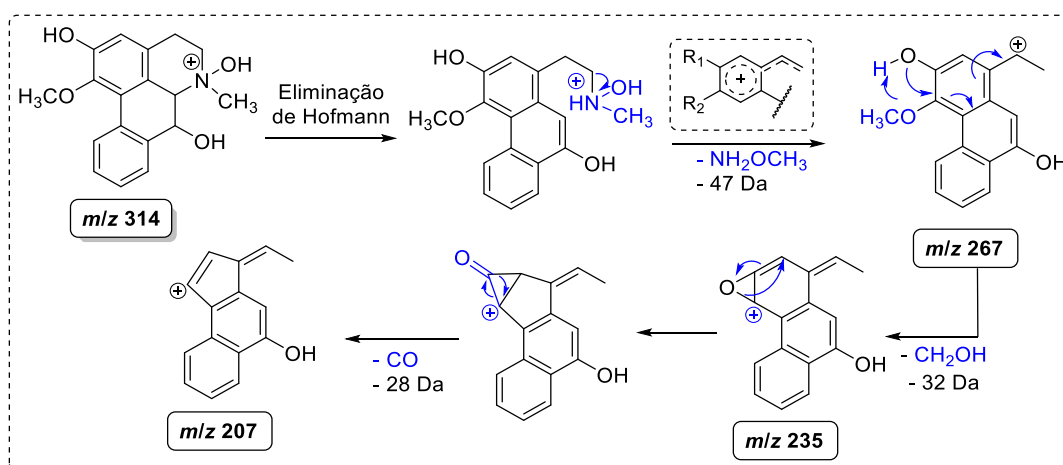
Em relação às duas substâncias inéditas (17a e 23a) indicadas pela MN, verificou-se que ambas apresentavam o mesmo perfil de fragmentação da classe dos aporfinos, todavia com  $m/z$  diferentes daquelas contidas em *Duguetia* (PÉREZ & CASSELS, 2010). Baseado nas



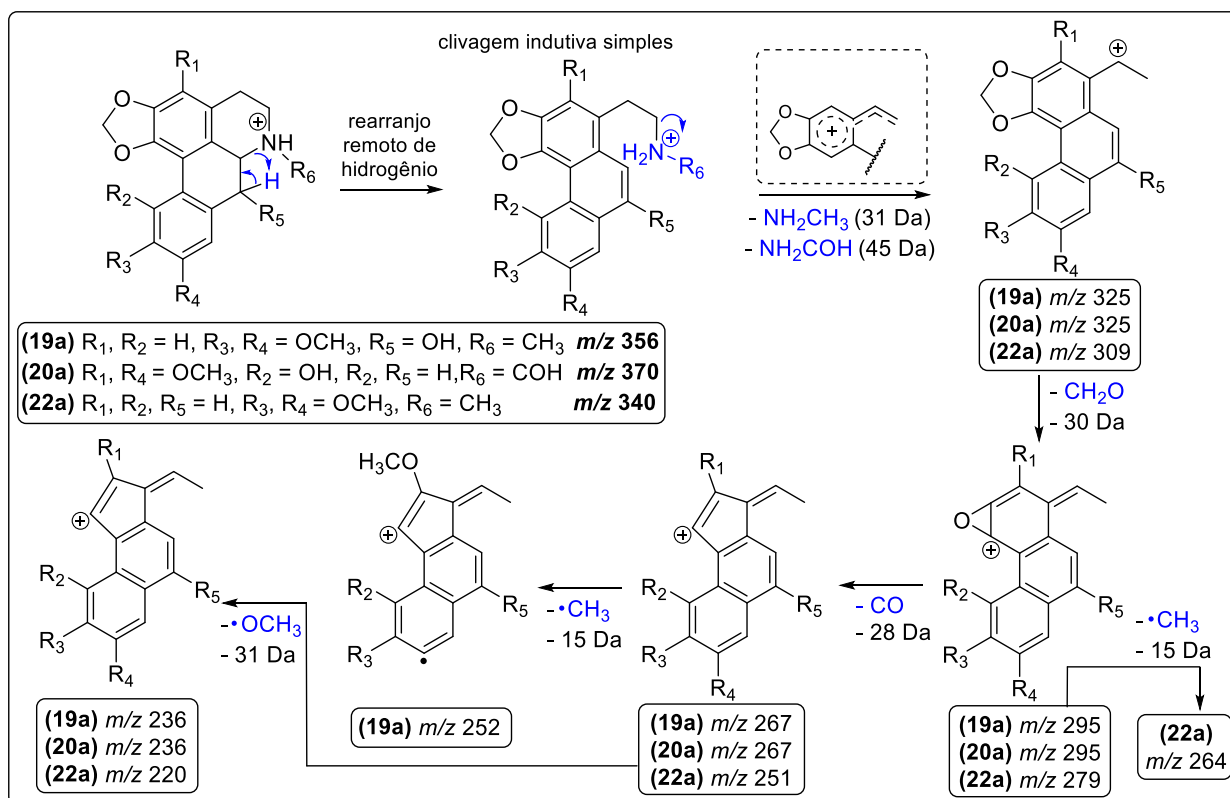
estruturas químicas (posição dos substituintes) das substâncias presente no gênero, no padrão de fragmentação de metabólitos análogos, e levando em consideração o erro de massa do íon molecular (tolerância de 0,05 Da) e dos fragmentos (0,5 Da), foi feita uma proposta de um novo derivado dos aporfinos *N*-óxido e um 7-hidroxi aporfino denominados de 10-metoxi-duguetina *N*-óxido (**17a**) e 9-metoxi-nornuciferidina (**23a**), respectivamente. Adicionalmente, a substância **24a** foi reportada em *D. surinamensis* por Oliveira (2017). Dessa forma, a sugestão de identificação das substâncias **17a**, **23a**, **8b**, **2e** e **5e** pela rede MN são contribuições inéditas para a espécie alvo desse trabalho e para o gênero *Duguetia*.

A substância **18a** apresentou o mesmo padrão de fragmentação (Figura 37) que os demais aporfinos *N*-óxido (perda de  $\text{NH}_2\text{OCH}_3 > \text{CH}_3\text{OH} > \text{CO}$ ), tendo como diferença apenas a ausência da ponte metilenodioxí em sua estrutura.

Todavia, as substâncias **19a**, **20a** e **22a** seguem o mesmo esquema de fragmentação dos *N*-óxidos contendo ponte metilenodioxí com as perdas sequenciais de:  $-\text{NH}_2\text{CH}_3 / \text{NH}_2\text{COH}$  (**19a** e **22a** / **20a**)  $> \text{CH}_2\text{O} > \text{CO} > \text{-OCH}_3$  (Figura 38) (QING *et al.*, 2020; LIMA *et al.*, 2020; STÉVIGNY *et al.*, 2004).



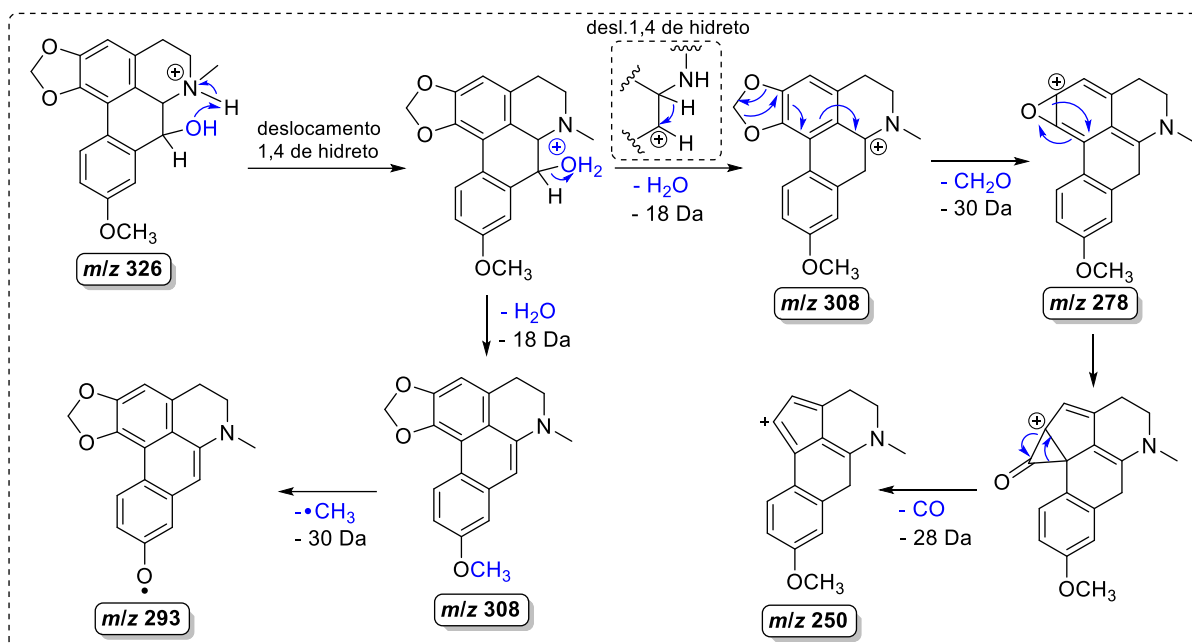
**FIGURA 38.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DA SUBSTÂNCIA PACHICONFINA *N*-ÓXIDO (**18a**). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.



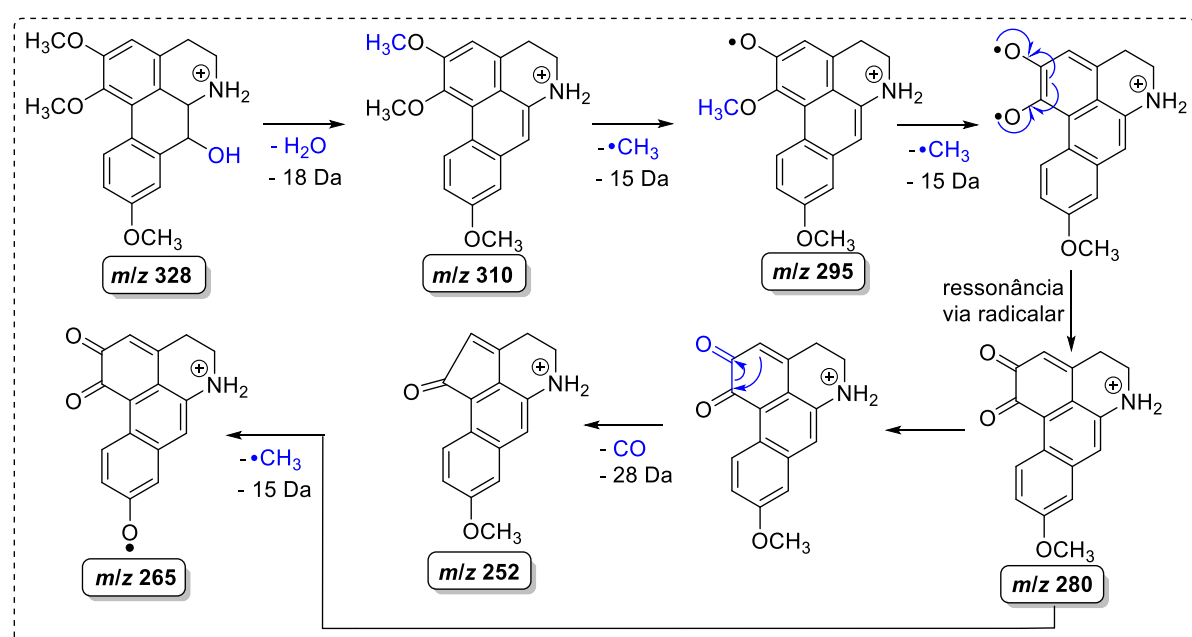
**FIGURA 39.** PRINCIPAIS MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO DE DUGUETINA (**19a**), *N*-FORMIL DUGUEVANINA (**20a**) E DICENTRINA (**22a**). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2019.

O espectro de fragmentação da substância **21a**, um aporfino 7-hidroxi apresentou íons indicativos de um mecanismo diferente quando comparado as demais substâncias (**14a-22a**). O espectro indicou perda inicial de 18 Da, resultante de uma desidratação (Figura 39) com formação de carbocátion na posição C-6a. Possivelmente, essa carga é estabilizada pela deslocalização de elétrons promovida pela perda de CH<sub>2</sub>O e eliminação posterior de CO.

A proposta de fragmentação para a substância inédita **23a** é mostrada na figura 39 a seguir. Essa substância foi denominada 9-metoxi normuciferidina devido a estrutura ser análoga a normuciferidina. Foi sugerida a posição da metoxila na posição 9 devido a similaridade química com as substâncias adjacentes (**15a** e **22a**), como pode ser vista na rede molecular (Figura 40).



**FIGURA 40.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A SUBSTÂNCIA OLIVERIDINA (**22A**).  
**FONTE:** ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

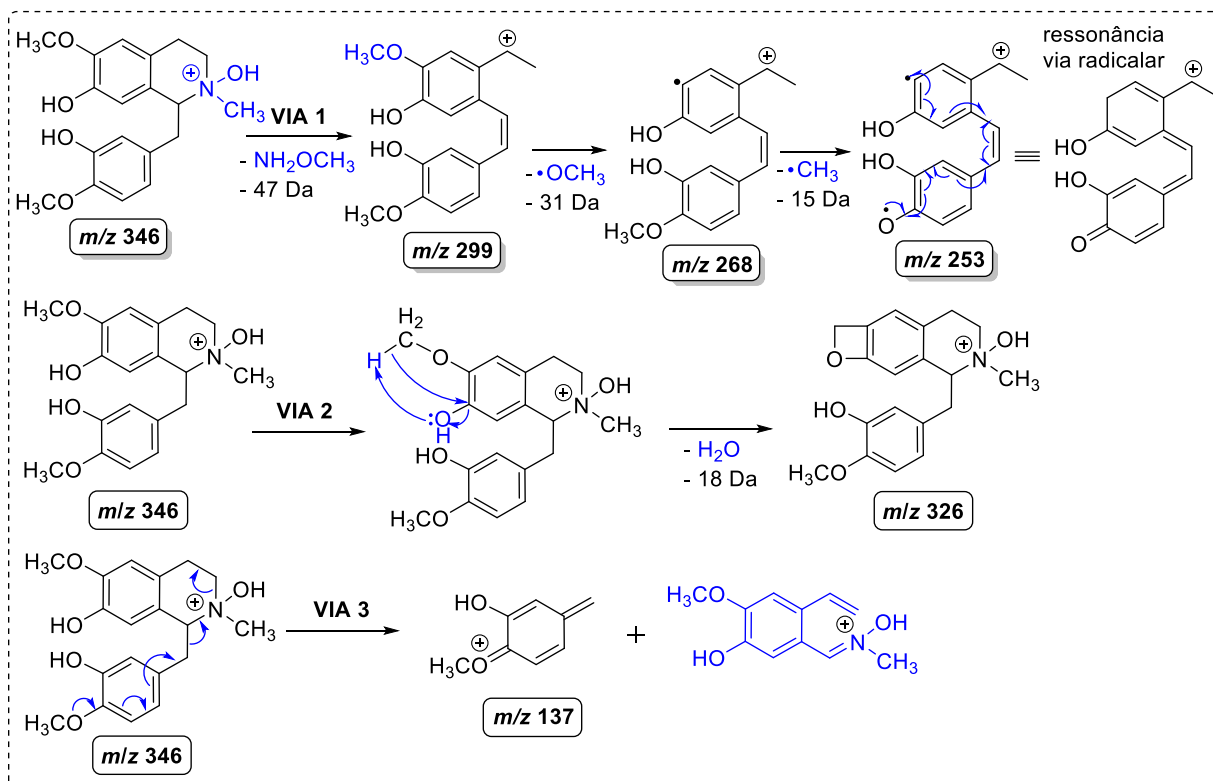


**FIGURA 41.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A SUBSTÂNCIA 9-METOXI -  
 NORNUCIFERIDINA (**24A**). **FONTE:** ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

Em relação aos benzilisoquinolinos, a substância reticulina (**4b**) também foi identificada na FACDS bruta, bem como foi apresentada a proposta de fragmentação (via 2) descrita no item anterior.

Com base no espectro MS/MS da substância reticulina *N*-óxido (**8b**) (em apêndice: A23) apresentou íons na qual suas propostas de fragmentação foram indicadas por três vias (Figura 41). Os mecanismos de fragmentação para essas vias consistiram nas seguintes etapas:

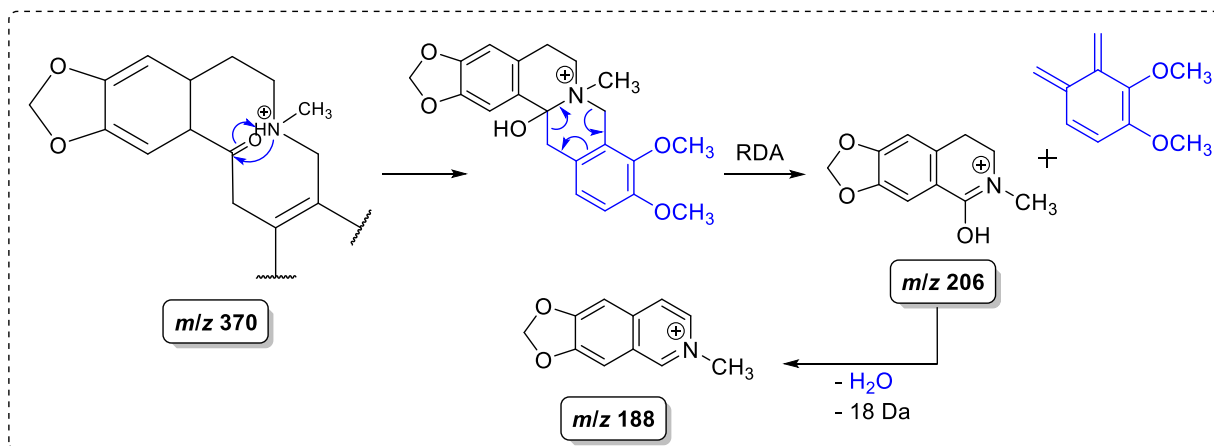
- 1ª via - eliminação do grupo  $\text{NH}_2\text{OCH}_3$  (47 Da) >  $\bullet\text{OCH}_3$  (31 Da) >  $\bullet\text{CH}_3$  (28 Da);
- 2ª via - eliminação de água (18 Da);
- 3ª via - eliminação da fração tetraidroisoquinolino através da deslocalização de elétrons do oxigênio da metoxila no anel.



**FIGURA 42.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A RETICULINA *N*-ÓXIDO (8B). FONTE: ADAPTADO DE LIMA *ET AL.*, 2020.

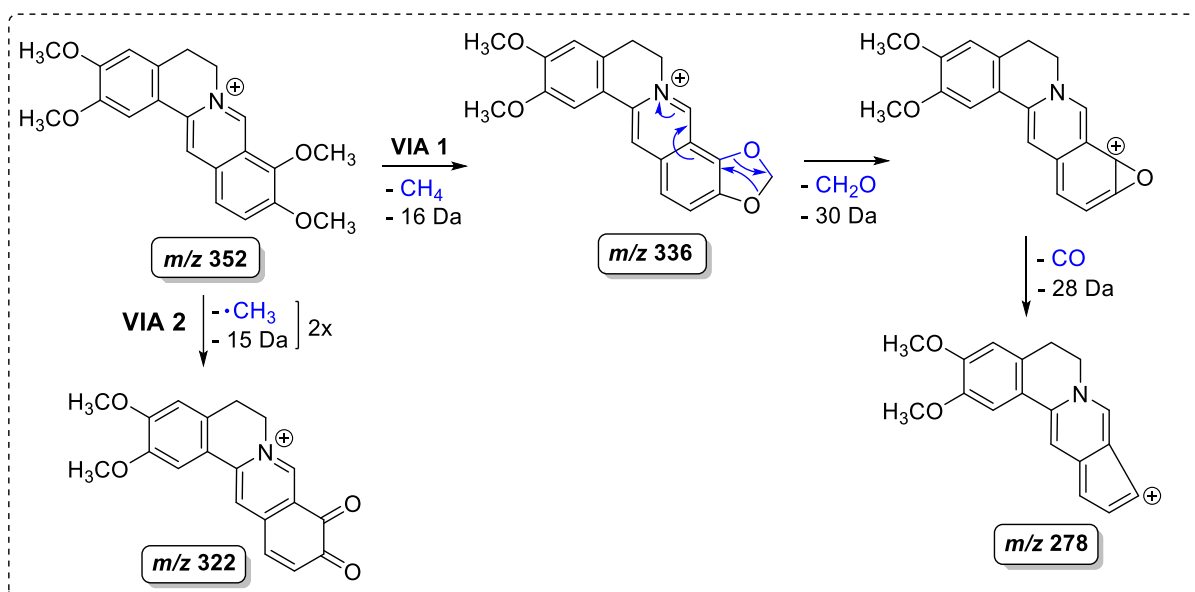
Diferente da fração FACDS bruta, foi possível realizar a identificação das substâncias do grupo dos tetraidroprotoberberinos (**1e - 3e**) e protoberberinos (**4e - 5e**) presente nas frações 1FACDS\_2, 4, 5, 6 e 7. Com base no perfil químico dos espectros MS/MS das substâncias **1e**, **2e**, **3e** e **5e**, constatou-se a presença dos principais íons fragmentos característicos dessas subclasses, sendo eles provenientes da reação RDA (WANG *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2017; SUN *et al.*, 2014; JEONG<sup>b</sup> *et al.*, 2012).

Por se tratar de um metabólito não contido no gênero *Duguetia*, o espectro MS/MS da substância **3e** foi comparado com as perdas características de alcaloide do tipo protopina (SHIM *et al.*, 2013; JEONG<sup>b</sup> *et al.*, 2012). O íon fragmento  $m/z$  206 é coerente com o produto formado via reação RDA, seguido da perda neutra de 18 Da ( $-\text{H}_2\text{O}$ ) resultando na formação do íon em  $m/z$  188 (Figura 42). Estes fragmentos evidenciam a formação do alcaloide alocriptopina (substância sugerida), reação muito comum em alcaloides do tipo protopina (MANOSALVA *et al.*, 2014; SHIM *et al.*, 2013; JEONG<sup>b</sup> *et al.*, 2012).



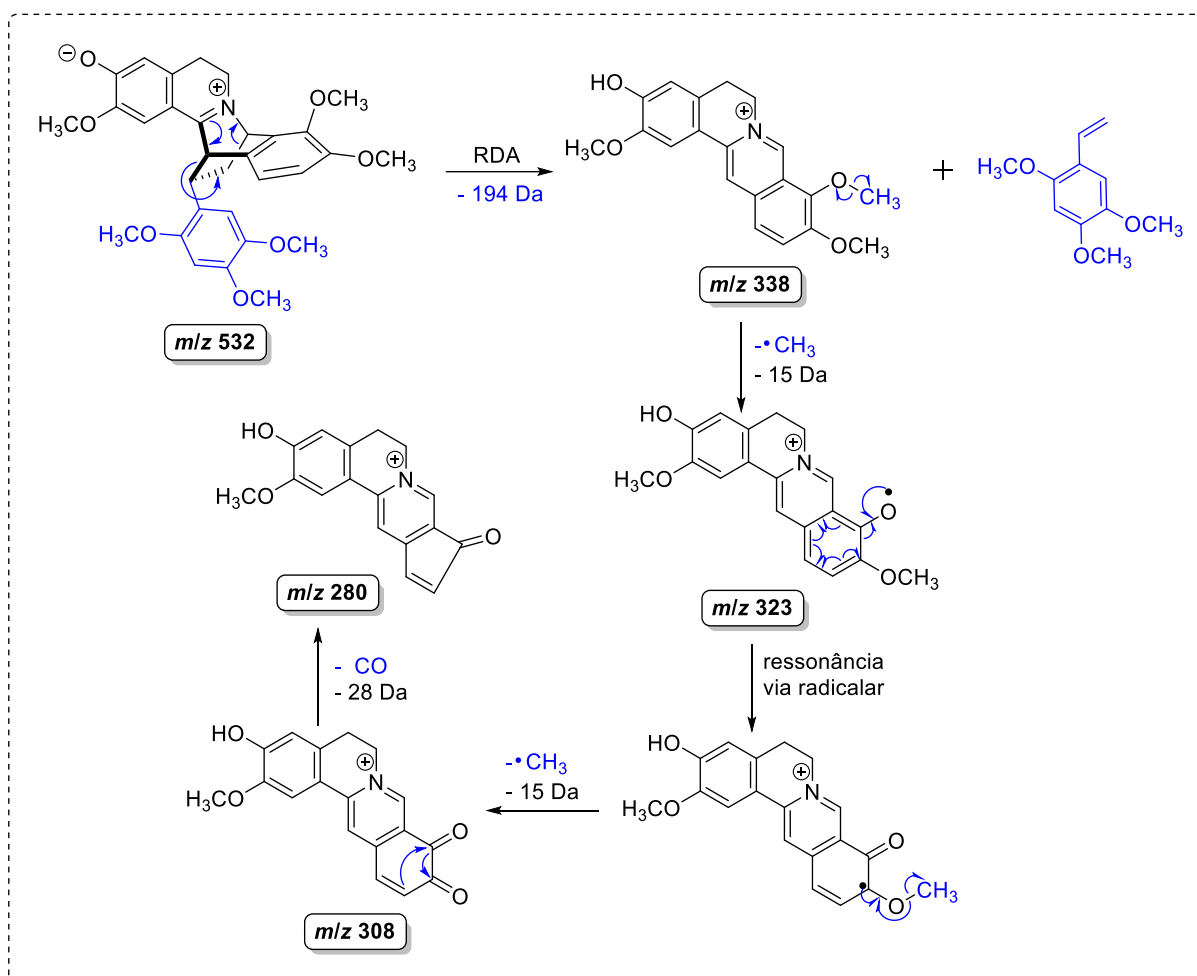
**FIGURA 43.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A ALOCRIPTOPINA (**3E**). FONTE: ADAPTADO DE WANG *ET AL.*, 2017; SINGH *ET AL.*, 2017; SUN *ET AL.*, 2014.

O alcaloide protoberberino **4e** não sofre uma reação de RDA devido as insaturações no anel C. Diante disso, os fragmentos indicaram perdas iniciais de grupo  $\text{CH}_2\text{O}$  (via 1) e  $\cdot\text{CH}_3$  (via 2), e posteriormente perda de  $\text{CO}$  (Via 1) e  $\cdot\text{CH}_3$  (via 2) (Figura 43).



**FIGURA 44.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A PALMATINA (**4E**). FONTE: ADAPTADO DE SUN *ET AL.*, 2014.

O espectro da staudina (**5e**) apresentou íons fragmentos provenientes de uma RDA (194 Da) resultante da formação de uma unidade da jatrorrizina ( $m/z$  338) e de 2,4,5-trimetoxiestireno, ambas presente em espécies do gênero (PÉREZ & CASSELS, 2010). Sugere-se que o acoplamento dessas duas substâncias (biossíntese) tenha sido responsável pela formação desse alcaloide. Os demais fragmentos ( $m/z$  323, 308 e 280) foram íons indicativos da eliminação de duas metilas e perda de  $\text{CO}$ , respectivamente (Figura 44).



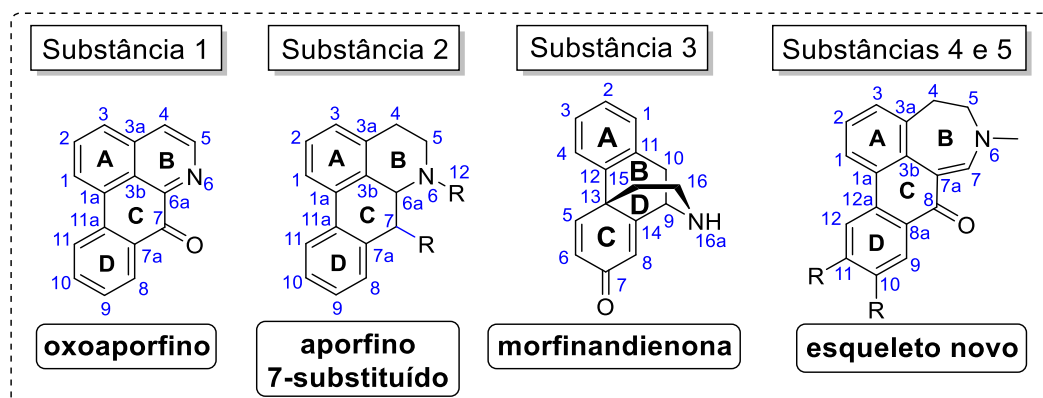
**FIGURA 45.** MECANISMOS DE FRAGMENTAÇÃO PARA A STAUDINA (5E). FONTE: ADAPTADO DE SUN *ET AL.*, 2014.

As substâncias sugeridas na rede molecular das subfrações não constaram na rede da FACDS devido o presente estudo abranger somente o conjunto de nós principal (maior). Dessa forma, foi realizado a exclusão dos demais agrupamentos devido a grande quantidade de contaminantes juntamente com outros íons com padrão de fragmentação discrepantes.

## 5.2. Elucidação estrutural das substâncias de *D. surinamensis*

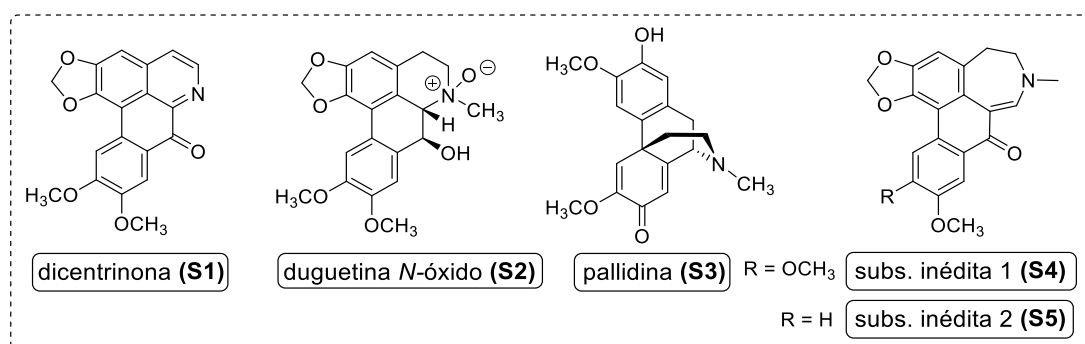
A investigação fitoquímica das cascas do caule de *D. surinamensis* empregando os métodos cromatográficos clássicos usuais (CCA, CCDA e CCDP) resultou no isolamento de cinco substâncias alcaloídicas, sendo três estruturas conhecidas e duas inéditas. Para a caracterização química das substâncias foram empregadas técnicas modernas de elucidação estrutural, tais como a espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (1D/2D) e MS, bem como a comparação dos dados espectrais obtidos com os descritos na literatura.

Dentre os alcaloides isolados, duas pertencem a subclasses dos aporfinos (subdivididos em aporfino 7-substituído e oxoaporfino) e três alcaloides não isoquinolinos, sendo um pertencente à subclasse morfandienona e duas substâncias com esqueleto novo (Figura 45).



**FIGURA 46.** ESQUELETOS DOS ALCALOIDES IDENTIFICADOS NAS CASCAS DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Por meio dos métodos de caracterização (RMN e MS) das substâncias foram elucidadas: a dicentrinona (**S1**), duguetina *N*-óxido (**S2**), pallidina (**S3**), e as substâncias inéditas 1 e 2 (**S4** e **S5**) (Figura 46). Foi realizado o reisolamento das substâncias pelas etapas de separação em diferentes amostras, sendo a dicentrinona (**S1**) e a substância inédita 1 (**S4**), os metabólitos majoritários na composição química dessa espécie.

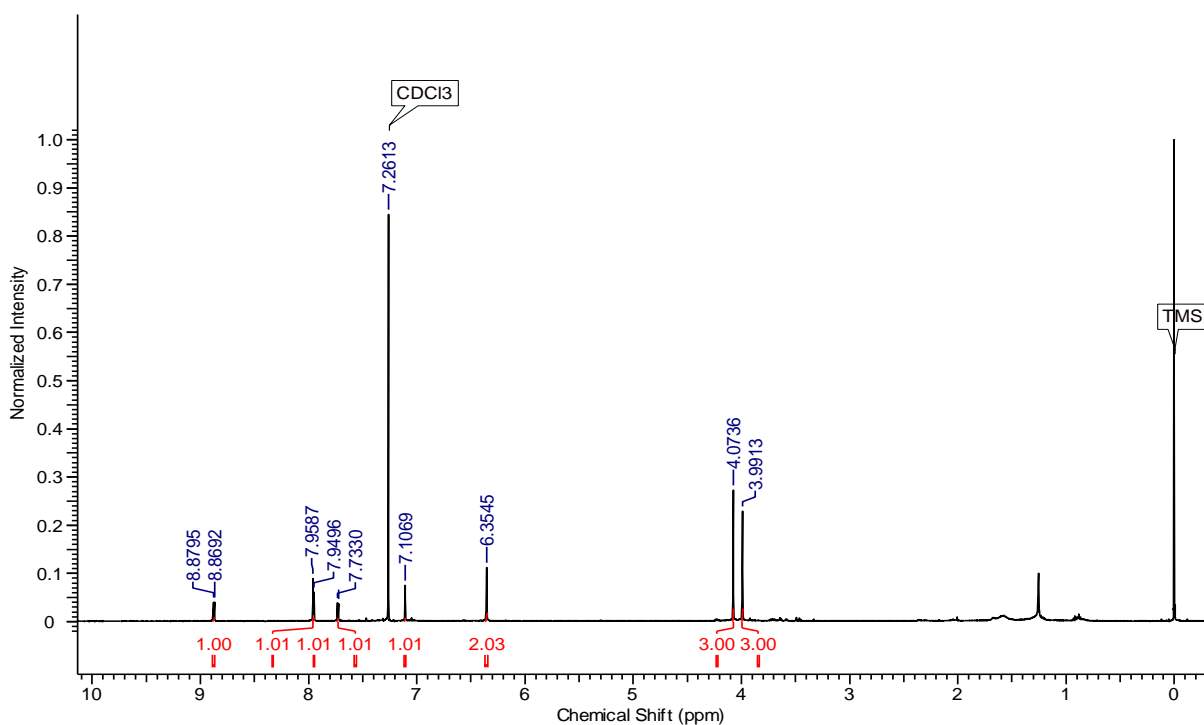


**FIGURA 47.** ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS ALCALOIDES ISOLADOS DE *D. SURINAMENSIS*. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

### 5.2.1. Elucidação estrutural da substância 1 (S1)

A substância 1 (S1) isolada pelas técnicas clássicas de cromatografia foi obtida com característica de um sólido amorfo com coloração alaranjada, tendo como massa total 58,1 mg. Após a revelação com o reagente Dragendorff, essa substância apresentou resultado positivo para alcaloide.

Com base na análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, + gotas de  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Figura 47), constatou-se a ausência de hidrogênios metilênicos (região mais blindada entre 0,7 - 3,0 ppm), e no espectro de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) apresentou sinais atribuídos a carbonos (em apêndice) não hydrogenados (posições 1, 1a, 2, 3a, 3b, 6a, 7, 7a, 11a), e um carbono carbonílico em  $\delta\text{C}$  181.2 (posição 7 - aporfinos), sendo este um padrão característico da subclasse de alcaloides oxoaporfinos (TAVARES *et al.*, 2005; GUINAUDEAU, LEBOUÉF e CAVÉ, 1983, 1988, 1994). Além disso, quando isolado, esse alcaloide apresentou coloração alaranjada, possivelmente pelo alto grau de insaturação.



**FIGURA 48.** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (500 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S1. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Constatou-se a presença de 13 hidrogênios, sendo 5 sinais na região aromática: 1 par de hidrogênios piridínicos adjacentes em  $\delta$  8.87 ( $f$  1H,  $d$ ) e 7.73 ( $f$  1H,  $d$ ) ( $J = 5,2$  Hz), 3 sinais não adjacentes,  $\delta\text{H}$  7.96 ( $f$  1H,  $s$ ), 7.95 ( $f$  1H,  $s$ ) e 7.11 ( $f$  1H,  $s$ ), sendo os simpletos correspondentes aos hidrogênios do anel D na posição H-11 ( $\delta\text{H}$  7.96 /  $\delta\text{C}$  108.8), H-8 ( $\delta\text{H}$  7.95 /  $\delta\text{C}$  109.5), e



H-3 ( $\delta$ H 7.11 ( $f$  1H,  $s$ ) /  $\delta$ C 102.7) típicos da estrutura aporfinica (GUINAUDEAU, LEBOUF e CAVÉ, 1983, 1988, 1994).

Além disso, foi identificado o sinal correspondente a ponte metilenodioxi (-OCH<sub>2</sub>O-), em  $\delta$ H 6.36 ( $f$  2H,  $s$  /  $\delta$ C 102.4), bem como os hidrogênios metoxílicos do anel D (C-9' ( $\delta$  56.29) e C-10' ( $\delta$  56.14). As corretas atribuições dos sinais de hidrogênio e carbono foram determinadas pela análise do mapa de correlação HMBC, bem como os espectros de <sup>13</sup>C, DEPT 135, COSY e HSQC (em apêndice: A46 - A52) (Tabela 8).

A análise por MS<sup>n</sup> utilizando a ionização por electrospray operado no modo positivo (ESI<sup>+</sup>) do alcaloide oxoaporfino (S1) resultou em substância protonada com  $m/z$  336 Da [M+H]<sup>+</sup> (Figura 48), compatível com os dados de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C (1D/2D) que indicam fórmula molecular C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub> (calc. 335.31 Da). Dessa forma, foi possível concluir que a substância S1 é a dicentrinona, sendo corroborante com os dados da literatura (ZHOU *et al.*, 2000).

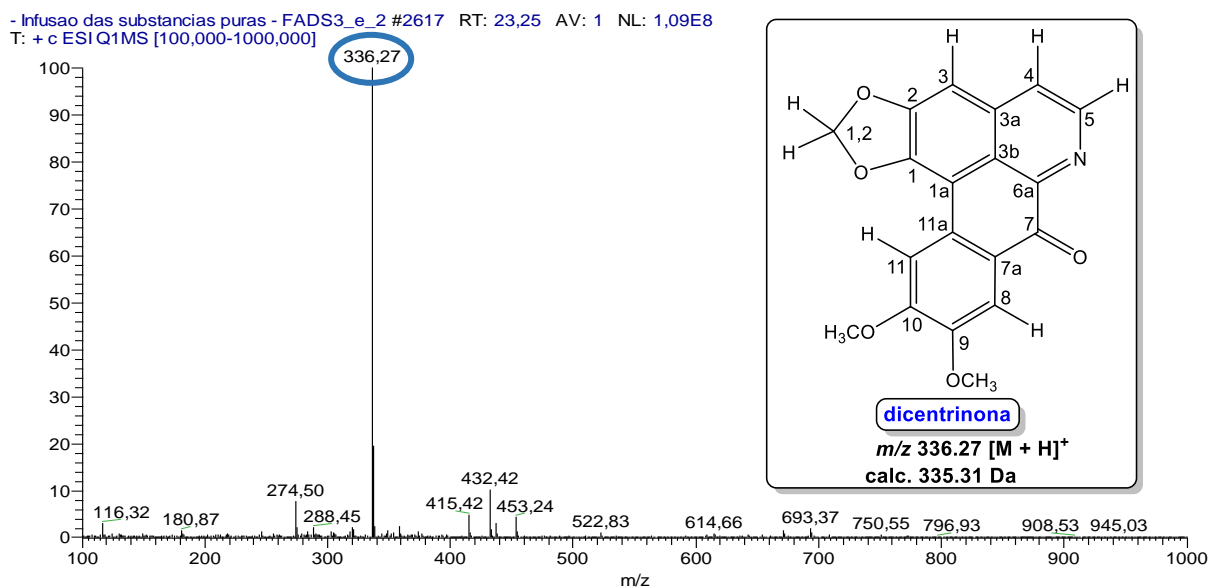
**TABELA 8.** DADOS DE RMN DE <sup>1</sup>H E <sup>13</sup>C DA SUBSTÂNCIA 1 (S1).

carbono / posição	SUBSTÂNCIA 1 (S1)			Dicentrinona <sup>d</sup>	
	<sup>1</sup> H ( $\delta$ ) (mult., $J$ em Hz) <sup>a</sup>	<sup>13</sup> C ( $\delta$ ) <sup>a,b</sup>	HMBC <sup>a,c</sup> ( <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C)	<sup>1</sup> H $\delta$ (mult., $J$ em Hz)	<sup>13</sup> C ( $\delta$ )
<b>1</b>	-	147.0, C	-	-	147.58, C
<b>1a</b>	-	108.2, C	-	-	107.52, C
<b>2</b>	-	151.5 C	-	-	152.17, C
<b>3</b>	7.11 (1H, $s$ )	102.7, CH	147.0 ( <b>1</b> ), 108.2 ( <b>1a</b> ), 151.5 ( <b>2</b> ), 136.6 ( <b>3a</b> ) e 123.9 ( <b>4</b> )	6.14 (1H, $s$ )	102.48, CH
<b>3a</b>	-	135.5, C	-	-	-
<b>3b</b>	-	122.6, C	-	-	122.17, C
<b>4</b>	7.73 (1H, $d$ , 5.2 Hz)	124.9, CH	102.7 ( <b>3</b> ), 122.6 ( <b>3b</b> ) e 144.8 ( <b>5</b> )	7.54 (1H, $d$ , 5.2, Hz)	124.8, CH
<b>5</b>	8.87 (1H, $d$ , 5.2 Hz)	144.8, CH	135.4 ( <b>3a</b> ), 123.9 ( <b>4</b> ) e 145.4 ( <b>6a</b> )	8.48 (1H, $d$ , 5.2, Hz)	142.91, CH
<b>6a</b>	-	145.4, CH	-	-	143.74, CH
<b>7</b>	-	181.2, CO	-	-	180.36, CO
<b>7a</b>	-	125.9, C	-	-	124.99, C
<b>8</b>	7.95 (1H, $s$ )	109.5, CH	181.2 ( <b>7</b> ), 153.8 ( <b>10</b> ) e 127.7 ( <b>11a</b> )	7.58 (1H, $s$ )	108.78, CH
<b>9</b>	-	149.5, C	-	-	149.38 C
<b>10</b>	-	153.8, C	-	-	154.12, C
<b>11</b>	7.96 (1H, $s$ )	108.8, CH	108.2 ( <b>1a</b> ), 125.9 ( <b>7a</b> ), 149.5 ( <b>9</b> )	7.59 (1H, $s$ )	108.78, CH
<b>11a</b>	-	127.7, C	-	-	124.8, C
<b>1,2 (OCH<sub>2</sub>O)</b>	6.36 (2H, $s$ )	102.4, CH <sub>2</sub>	147.0 ( <b>1</b> ) e 151.5 ( <b>2</b> )	6.14 (2H, $s$ )	102.67, CH <sub>2</sub>
<b>9' - OCH<sub>3</sub></b>	4.06 (3H, $s$ )	56.29, CH <sub>3</sub>	149.5 ( <b>9</b> )	3.74 (3H, $s$ )	55.62, CH <sub>3</sub>
<b>10' - OCH<sub>3</sub></b>	4.00 (3H, $s$ )	56.14, CH <sub>3</sub>	153.8 ( <b>10</b> )	3.81 (3H, $s$ )	55.71, CH <sub>3</sub>

<sup>a</sup>Experimento a 500 MHz para <sup>1</sup>H em CDCl<sub>3</sub>, utilizando o TMS como padrão interno (mapas de correlação COSY);

<sup>b</sup>Multiplicidades determinadas pelos espectros de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT 135 e pelos mapas de correlação COSY, HSQC e HMBC.

<sup>c</sup>Correlações dos átomos de hidrogênios com os carbonos vizinhos (HMBC). <sup>d</sup>ZHOU *et al.*, 2000 (<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz; <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD, 75.5 MHz)).



**FIGURA 49.** ESPECTRO DE MASSAS DA SUBSTÂNCIA S1. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

A fragmentação dessa substância (Figura 48) é condizente com a estrutura elucidada, na qual mostra perda inicial de -15 Da ( $m/z$  321) resultante de perda de metila de alguma das metoxilas (C-9' ou C-10'), seguida da perda de -28 Da ( $m/z$  293) ocasionado pela eliminação do grupo CO (possivelmente o grupo carbonílico em C-7) (SILVA *et al.*, 2017). Possivelmente, o fragmento em  $m/z$  321 sofreu novamente uma perda de metila via radicalar (-15 Da) da segunda metoxila formando o íon em  $m/z$  306. Através da eliminação dessa metila, provavelmente favoreceu a eliminação posterior de mais um grupo CO (-28 Da), formando o fragmento em  $m/z$  278 (CARNEVALE NETO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2017). A proposta mecanística de fragmentação é mostrada na figura 45.

A substância dicentrinona foi reportada em *D. surinamensis* por Oliveira (2017), bem como está presente na composição de apenas duas espécies do gênero *Duguetia*, sendo elas a *D. furfuraceae* (SANTOS<sup>b</sup> *et al.*, 2018; SILVA<sup>a</sup> *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2007) e *D. vallicola* (ARANGO *et al.*, 2004). Na família Annonaceae, esse metabólito encontra-se na composição dos seguintes gêneros (quantidade de espécies): *Polyalthia* (1) (NANTAPAP *et al.*, 2015), *Dasymaschalon* (3) (CHOKCHAISIRI *et al.*, 2015; HONGTHONG *et al.*, 2014; CHANAKUL *et al.*, 2011), *Guatteria* (1) (RODRIGUEZ *et al.*, 2008), *Mitrephora* (1) (YU *et al.*, 2005), *Desmos* (1) (ASARUDDIN, KIUCHI e HONDA, 2001) e *Xylopi*a (2) (ARANGO *et al.*, 2004; WIJERATINE *et al.*, 1996).

- Fragmentação das substâncias puras - FADS3\_e\_2 #769 RT: 6,98 AV: 1 NL: 1,16E6  
T: + c ESI Full ms2 336,000 [50,000-338,000]

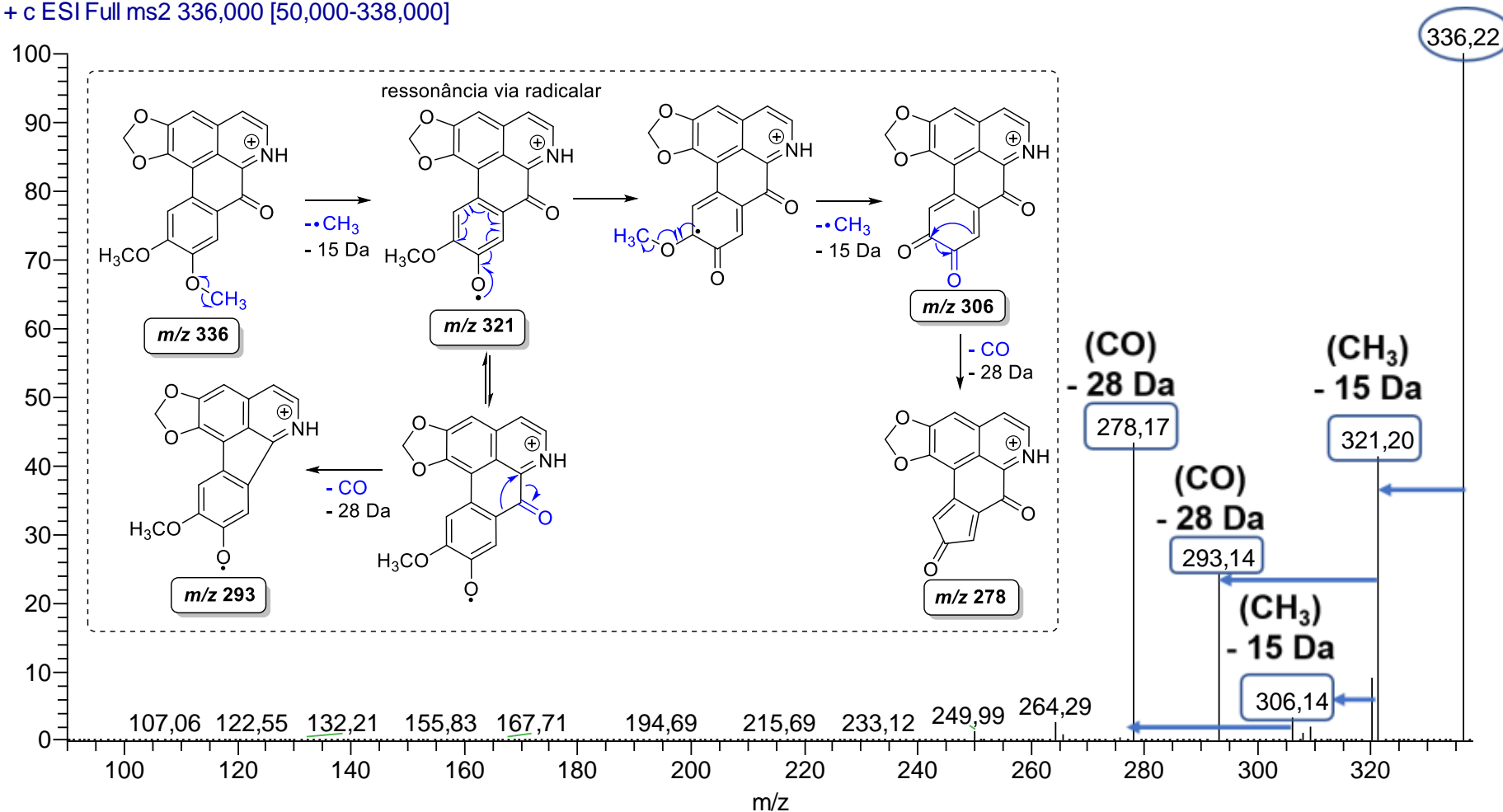
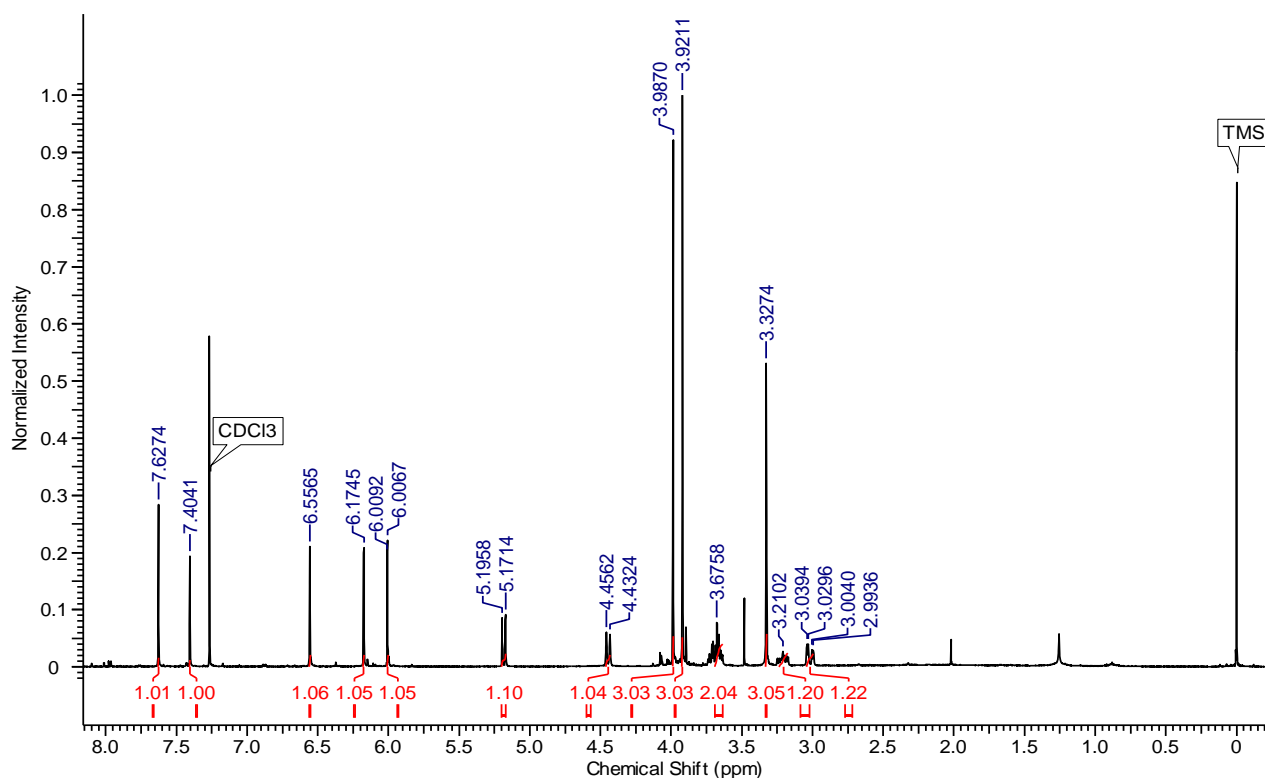


FIGURA 50. ESPECTRO DE FRAGMENTAÇÃO COM A PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A SUBSTÂNCIA S1. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

### 5.2.2. Elucidação estrutural da substância 2 (S2)

A amostra codificada como **S2** (massa total de 35,1 mg) apresentou-se como sólido amorfo com coloração castanho escuro. Essa substância apresentou resultado positivo frente ao reagente de Dragendorff. De acordo com a análise preliminar do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 50), constatou-se a presença de sinais típicos de alcaloide aporfino *stricto sensu*, sendo eles, os sinais de hidrogênios aromáticos entre  $\delta\text{H}$  7.63 -  $\delta$  6.56, metilênicos entre  $\delta\text{H}$  3,68 -  $\delta$  3.02, bem como sinais de carbonos metilênicos (região entre 25 a 48 ppm) do anel B do sistema aporfino (GUINAUDEAU, LEBOUF & CAVÉ, 1979, 1983, 1988, 1994).



**FIGURA 51.** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (500 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S2. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Semelhante aos sinais da substância anterior (**S1**), o espectro revelou a presença dos 2 hidrogênios aromáticos em  $\delta\text{H}$  7.40 ( $f$  1H,  $s$ ) /  $\delta\text{C}$  107.5 e 7.63 ( $f$  1H,  $s$ ) /  $\delta\text{C}$  110.0, atribuídos aos carbonos C-8 e C-11 do anel D. Além disso, o espectro apresentou um sinal de hidrogênio aromático, típico no anel A do sistema aporfino dissustituído (H-3) em  $\delta$  6.52 ( $f$  1H,  $s$ ) /  $\delta\text{C}$  106.4, (GUINAUDEAU, LEBOUF e CAVÉ, 1983, 1988, 1994).

Os hidrogênios em  $\delta$  6.01 e  $\delta$  6.18 ( $d$ ,  $J = 1,2$  Hz) correlacionados com o sinal em  $\delta\text{C}$  101.4, (conforme o mapa de HSQC) (em apêndice), indicou a presença do grupo metilenodióxi.

Os sinais de hidrogênios metilênicos característico do anel B aporfino ( $\text{H}_{\alpha, \beta}$ -4 e H-5), em  $\delta$  3.02  $\text{H}_{\alpha}$  ( $f$  1H,  $dd$ ,  $J = 17.9, 5.0$  Hz) e  $\delta$  3.21  $\text{H}_{\beta}$  ( $f$  1H,  $m$ ) e em  $\delta$  3.68 ( $f$  2H,  $m$ ) foram

correlacionados com o carbono em  $\delta$  27.3 e  $\delta$  67.1. Os hidrogênios metínicos em  $\delta$  4.45 (*f* 1H, *d*) e  $\delta$  5.19 (*f* 1H, *d*) adjacentes ( $J = 12,1$  Hz), estão correlacionados em  $\delta$ C 76.6 e  $\delta$  68.6, respectivamente, sendo característico das posições 6a e 7 (GUINAUDEAU, LEBOUF e CAVÉ, 1983). Constatou-se a presença de metoxilas características do anel D nas posições C-9' ( $\delta$ H 3.92 (*f* 3H) / ( $\delta$ C 56.17) e C-10' (3.99 (*f* 3H) / ( $\delta$ C 56.03), bem como os sinais característicos de H e C do grupo metil do alcaloide aporfino *N*-óxido ( $\delta$ H 3.31 (*f* 3H, *s* /  $\delta$ C 48.9 – posição 6a) (BARBOSA *et al.*, 2011; GUINAUDEAU, LEBOUF e CAVÉ, 1983, 1988, 1994).

As corretas atribuições dos sinais de hidrogênio e carbono foram determinadas pela análise do mapa de correlação HMBC, bem como os espectros de COSY, e HSQC (em apêndice: A53 - A59) (Tabela 9).

**TABELA 9.** DADOS DE RMN DE  $^1\text{H}$  E  $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA 2 (S2).

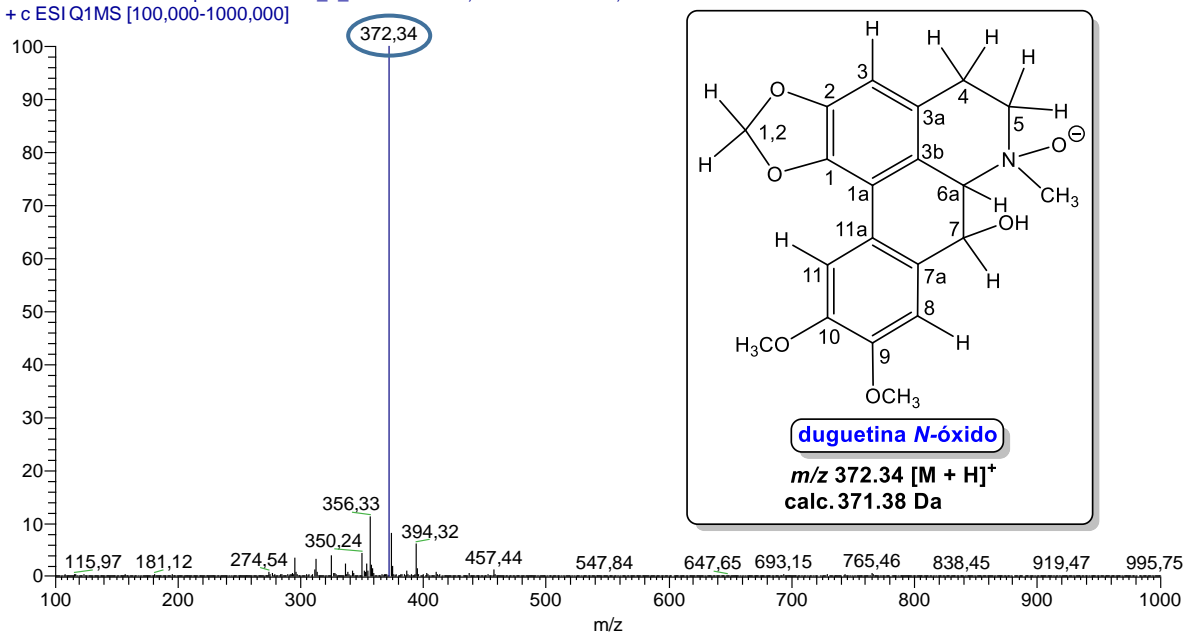
carbono/ posição	SUBSTÂNCIA 2 (S2)			duguetina <i>N</i> -óxido <sup>d</sup>	
	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) (mult., <i>J</i> em Hz) <sup>a</sup>	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>a,b</sup>	HMBC <sup>a,c</sup> ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ )	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) (mult., <i>J</i> )	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ )
<b>1</b>	-	142.9, C	-	-	142.7, C
<b>1a</b>	-	116.2, C	-	-	115.9, C
<b>2</b>	-	148.8 C	-	-	148.6, C
<b>3</b>	6.56 (1H, <i>s</i> )	106.4, CH	142.9 (1), 116.2 (1a), 148.8 (2), 119.1 (3b) e 27.7 (4)	6.47 (1H, <i>s</i> )	106.3, CH
<b>3a</b>	-	123.1, C	-	-	122.9, C
<b>3b</b>	-	119.1, C	-	-	118.8, C
<b>4</b>	$\text{H}_\alpha$ 3.02 (1H, <i>dd</i> , 17.9 e 5.0 Hz) $\text{H}_\beta$ 3.21 (1H, <i>m</i> )	27.3, CH <sub>2</sub>	106.4 (3), 123.1 (3a), 119.1 (3b), 67.1 (5) 123.1 (3a), 119.1 (3b), 67.1 (5) e 48.9 (6)	2.91 (2H, <i>m</i> )	27.0, CH <sub>2</sub>
<b>5</b>	3.68 (2H, <i>m</i> )	67.1, CH <sub>2</sub>	27.3 (4), 123.1 (3a), 76.6 (6a) e 48.9 (6)	3.59 (2H, <i>m</i> )	66.8, CH <sub>2</sub>
<b>6 (N-CH<sub>3</sub>)</b>	3.33 (3H, <i>s</i> )	48.9, CH <sub>3</sub>	27.7 (4), 67.1 (5) e 76.6 (6a)	3.24 (3H, <i>s</i> )	48.8, CH <sub>3</sub>
<b>6a</b>	4.45 (1H, <i>d</i> , 12.1 Hz)	76.6, CH	116.2 (1a), 123.1 (3a), 119.1 (3b), 48.9 (6), 68.5 (7) e 130.7 (7a)	4.34 ( <i>d</i> , 12.1)	76.4, CH
<b>7</b>	5.19 (1H, <i>d</i> , 12.1 Hz)	68.5, CH	119.1 (3b), 76.6 (6a), 130.7 (7a), 107.5 (8), 149.6 (9) 148.1 (10), 110.0 (11) e 119.6 (11a)	5.08 ( <i>d</i> , 12.1)	68.3, CH
<b>7a</b>	-	130.7, C	-	-	130.4, C
<b>8</b>	7.40 (1H, <i>s</i> )	107.5, CH	68.5 (7), 130.7 (7a) e 149.6 (9), 148.1 (10) e 119.6 (11a)	7.30 (1H, <i>s</i> )	107.3, CH
<b>9</b>	-	149.6, C	-	-	147.9 C
<b>10</b>	-	148.1, C	-	-	149.3, C
<b>11</b>	7.63 (1H, <i>s</i> )	110.0, CH	116.2 (1a), 119.1 (3b), 68.5 (7), 130.7 (7a), 149.6 (9) e 148.1 (10)	7.53 (1H, <i>s</i> )	109.8, CH
<b>11a</b>	-	119.6, C	-	-	119.5, C
<b>1,2 (OCH<sub>2</sub>O)</b>	$\text{H}_\alpha$ 6.01 (1H, <i>d</i> , 1.2 Hz) $\text{H}_\beta$ 6.18 (1 H, <i>d</i> , 1.2 Hz)	101.4, CH <sub>2</sub>	142.9 (1) e 148.8 (2)	5.93 (1H, <i>d</i> , 1.1 Hz) 6.10 (1H, <i>d</i> , 1.1 Hz)	101.3, CH <sub>2</sub>
<b>9'-OCH<sub>3</sub></b>	3.92 (3H, <i>s</i> )	56.2, CH <sub>3</sub>	148.1 (10)	3.84 (3H, <i>s</i> )	55.9, CH <sub>3</sub>
<b>10'-OCH<sub>3</sub></b>	3.99 (3H, <i>s</i> )	56.0, CH <sub>3</sub>	149.6 (9)	3.90 (3H, <i>s</i> )	55.8, CH <sub>3</sub>

<sup>a</sup>Experimento a 500 MHz para  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$ , utilizando o TMS como padrão interno (mapas de correlação COSY);  
<sup>b</sup>Multiplicidades determinadas pelos espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135 e pelos mapas de correlação COSY, HSQC e HMBC.  
<sup>c</sup>Correlações dos átomos de hidrogênios com os carbonos vizinhos (HMBC). <sup>d</sup>SILVA *et al.*, 2007 ( $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz);  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz).

Os dados obtidos pela análise de MS<sup>n</sup> por inserção direta da **S2** isolada, apresentou  $m/z$  372 Da [M+H]<sup>+</sup> (Figura 51), sendo compatível com os dados de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, que indicam a fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>6</sub> (calc. 371.39 Da). Portanto, a **S2** é a duguetina *N*-óxido, sendo também corroborante com os dados da literatura (SILVA *et al*, 2007).

Essa substância também foi isolada em *D. surinamensis* no estudo de Oliveira (2017). É válido ressaltar que esse metabólito foi descrito somente no gênero *Duguetia*, sendo relatado na espécie a *D. furfuraceae* (SILVA *et al*, 2007), a duguetina *N*-óxido em sua composição química.

- Infusão das substâncias puras - FADS3\_e\_2 #397 RT: 3,52 AV: 1 NL: 3,38E8  
T: + c ESI Q1MS [100,000-1000,000]



**FIGURA 52.** ESPECTRO DE MASSAS DA SUBSTÂNCIA **S2**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Foi realizado o estudo de fragmentação para a **S2** (Figura 52), sendo condizente com a estrutura com a duguetina *N*-óxido com perdas iniciais de -18 Da ( $m/z$  354) e -47 Da ( $m/z$  325) (íons destacados em asterisco) que sugere a eliminação de água proveniente da protonação do grupo OH em C-7 e da perda do grupo NHOCH<sub>3</sub> do anel B respectivamente.

Possivelmente, o fragmento em  $m/z$  325 sofre uma perda de massa de 15 Da (íon de baixa resolução) resultante da perda de metila ( $m/z$  310) de alguma metoxila (C-9' ou C-10'), seguida de outra desmetilação do grupo metoxi ( $m/z$  295).

Adicionalmente, foi possível associar a perda de 28 Da a partir do fragmento  $m/z$  295, sendo resultante da perda do grupo carbonila (CO). O espectro e a proposta mecanística dos fragmentos da duguetina *N*-óxido é mostrada na figura 52.

- Fragmentação das substâncias puras - FADS3\_e\_2 #2044 RT: 18,28 AV: 1 NL: 3,48E7  
T: + c ESI Full ms2 372,000 [50,000-374,000]

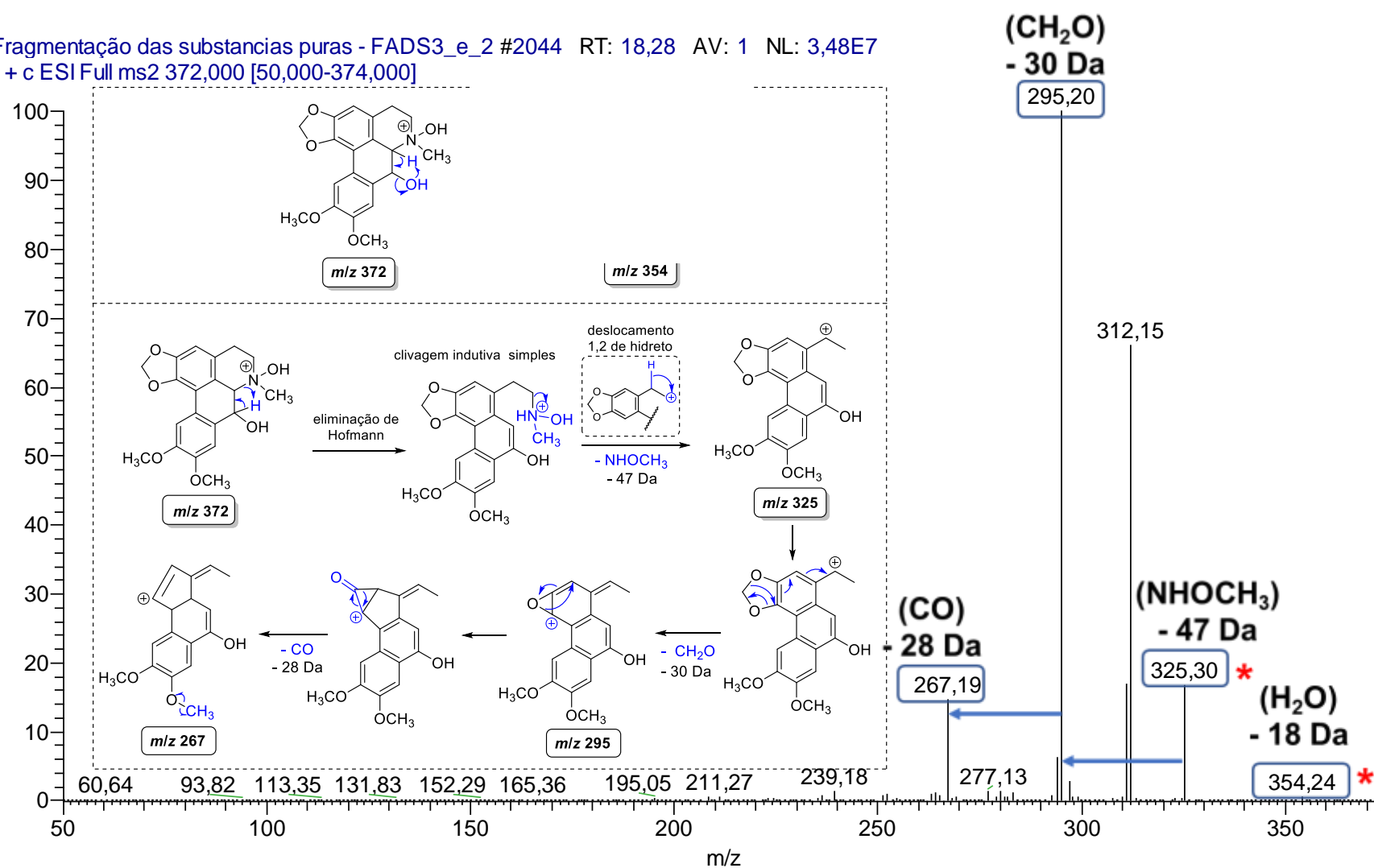
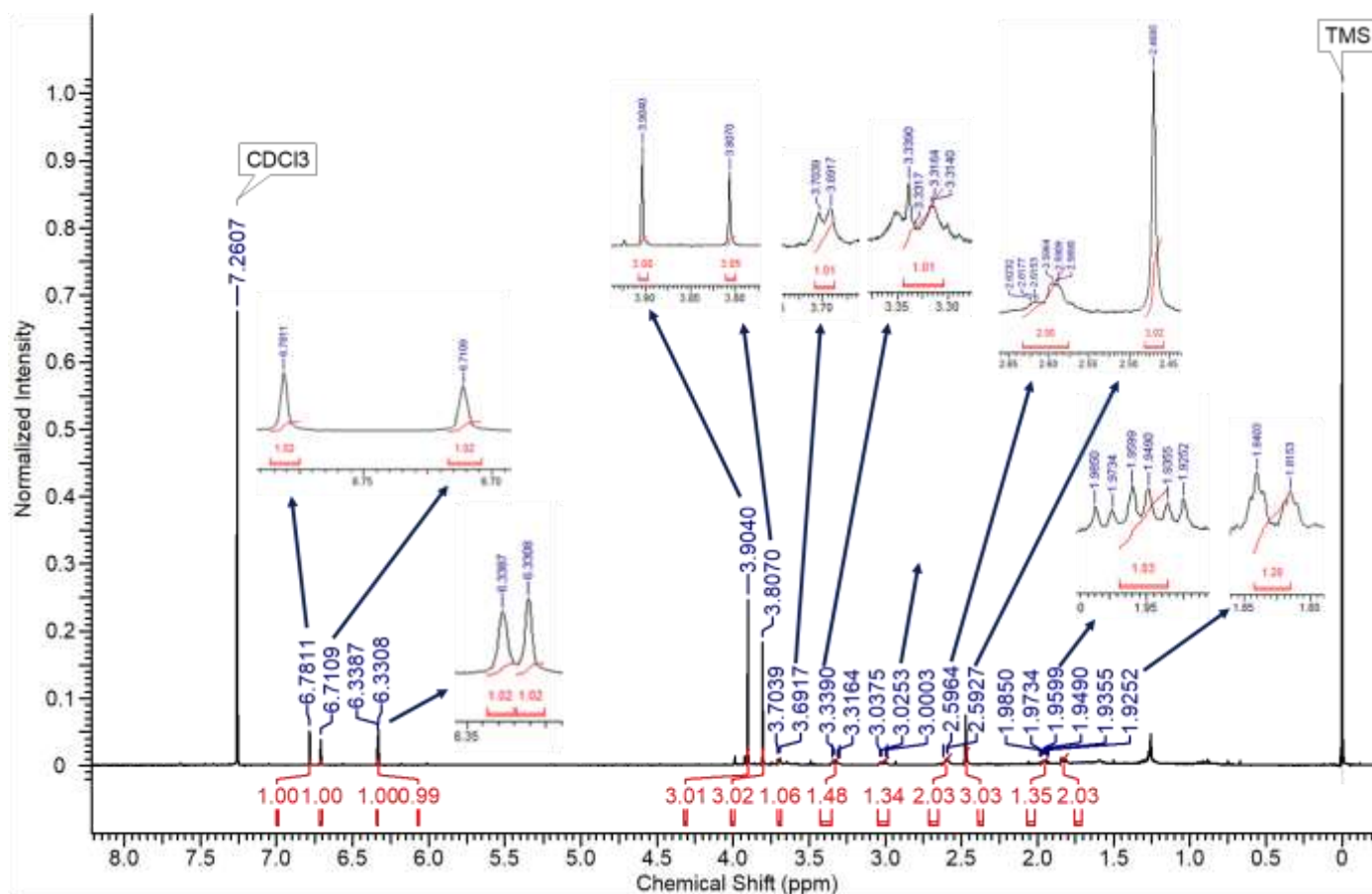


FIGURA 53. ESPECTRO DE FRAGMENTAÇÃO COM A PROPOSTA MECANÍSTICA DA SUBSTÂNCIA S2. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

### 5.2.3. Elucidação estrutural da substância 3 (S3)

A substância **S3** foi obtida com característica de um sólido amorfo com coloração castanha, tendo como massa total 3,9 mg. Após aplicação do reagente Dragendorff na amostra, a substância apresentou resultado positivo para alcaloide.

A partir da análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , (Figura ) e de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (em apêndice) constatou a presença de quatro simpletos ( $f$  1H) correspondente aos hidrogênios aromáticos em  $\delta\text{H}$  6,71 /  $\delta\text{C}$  113.6 (C-1),  $\delta\text{H}$  6,78 /  $\delta\text{C}$  107.5 (C-4),  $\delta\text{H}$  6,34 /  $\delta\text{C}$  119.1 (C-5) e  $\delta\text{H}$  6,33 /  $\delta\text{C}$  122.2 (C-8), sendo concordantes com os sinais dos anéis A e D de alcaloides morfínicos (JI *et al.*, 2019; LEE & YANG, 1992).



**FIGURA 54.** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (500 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Além disso, a hipótese da identificação de um alcaloide do tipo morfínico foi sustentada pela presença de um sistema ABX representado pelos acoplamentos de hidrogênios metilênicos ( $\delta$  3.34 ( $f$  1H, *m*),  $\delta$  3.03 ( $f$  1H, *dd*,  $J = 18.5, 6.1$  Hz), adjacentes ao hidrogênio metínico ( $\delta$  3.69 ( $f$  2H, *d*,  $J = 6.1$  Hz) com  $\delta$  *N*- $\text{CH}_3$  em  $\delta$  2.47 ( $f$  3H, *s*), sendo consistente com o segmento C-



10 - ( $\delta$ C 32.4), C-9 - ( $\delta$ C 60.8) - C-16a ( $\delta$ C 45.6), respectivamente, de estruturas do tipo morfinandienonas (MUKHTAR *et al.*, 2004).

Adicionalmente, foram identificados sinais metilênicos em  $\delta$ H $_{\alpha}$  2.60 (*f* 2H, *m*),  $\delta$ H $_{\beta}$  1.95 (*f* 1H, *td*, *J* = 12.2, 12.2, 5.5 Hz) e  $\delta$  1.82 (*f* 1H, *d*, 12.5 Hz), sendo corroborante com o seguimento em C-15 ( $\delta$ C 41.3) e C-16 ( $\delta$ C 45.6) do anel D do morfinano (mapa HSQC - em apêndice: A62 - 63).

Através das corretas atribuições do mapa de HMBC, bem como os espectros de carbono, HSQC e COSY (em apêndice: A64-A66) foi possível confirmar a estrutura pallidina (Tabela 10).

**TABELA 10.** DADOS DE RMN DE  $^1\text{H}$  E  $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA 3 (S3).

carbono / posição	SUBSTÂNCIA 3 (S3)			Pallidina <sup>d</sup>	
	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) (mult., <i>J</i> em Hz) <sup>a</sup>	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>a,b</sup>	HMBC <sup>a,c</sup> ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ )	$^1\text{H}$ $\delta$ (mult., <i>J</i> em Hz)	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ )
1	6.71 (1H, s)	113.6, CH	144.3 (3), 32.4 (10) e 129.4 (12)	6.70 (1H, s)	113.7, C
2	-	144.9 C	-	-	145.1, C
3	-	145.3, C	-	-	146.0, C
4	6.78 (1H, s)	107.7, CH	113.5 (1), 144.9 (2), 129.2 (11) e 42.3 (13)	6.78 (1H, s)	107.6, CH
5	6.34 (1H, s)	119.1, CH	151.3 (6), 181.0 (7), 129.4 (12) e 161.9 (14)	6.34 (1H, s)	118.8, CH
6	-	151.3, C	-	-	151.6, C
7	-	181.0, C=O	-	-	180.8, C=O
8	6.33 (1H, s)	122.2, CH	151.3 (6), 60.8 (9) e 42.3 (13)	6.33 (1H, s)	122.9, C
9	3.69 (1H, <i>d</i> , 6.1 Hz)	60.8, CH	122.3 (8), 129.2 (11), 42.3 (13), 161.9 (14), 45.6 (16)	3.73 (1H, <i>d</i> , 6.0 Hz)	61.0, CH
10	H $_{\alpha}$ 3.34 (1H, <i>m</i> ) H $_{\beta}$ 3.03 (1H <i>dd</i> , 18.5, 6.1 Hz)	32.4, CH <sub>2</sub>	- 129.4 (12)	H $_{\alpha}$ 3.36 (1H, <i>d</i> , 18.0 Hz) H $_{\beta}$ 3.04 (1H, <i>dd</i> , 18.0, 6.4 Hz)	32.6, C
11	-	129.4, C	-	-	129.0, C
12	-	129.2, C	-	-	129.5, C
13	-	42.3, C	-	-	42.3, C
14	-	161.9, C	-	-	160.1, C
15	H $_{\alpha}$ 1.95 (1 H, <i>td</i> , 12.2, 12.2, 5.5 Hz) H $_{\beta}$ 1.82 (1H, <i>d</i> , 12.5 Hz)	41.3, C	129.2 (11), 129.2 (12), 42.3 (13) e 45.6 (16) 42.3 (13)	H $_{\alpha}$ 1.96 (1H, <i>dt</i> , 6.0, 12.8 Hz) H $_{\beta}$ 1.83 (1H, <i>dt</i> , 12.8, 2.0 Hz)	40.8, C
16	2.60 (2H, <i>m</i> )	45.7, CH <sub>2</sub>	41.6 (16a)	2.67-2.62 (2H, <i>m</i> )	45.8, CH <sub>2</sub>
16 (N-CH <sub>3</sub> )	2.47 (3H, s)	41.6, CH <sub>3</sub>	60.8 (9) e 45.6 (16)	2.49 (3H, s)	41.6, CH <sub>3</sub>
3' - OCH <sub>3</sub>	3.90 (3H, s)	56.1, CH <sub>3</sub>	145.3 (3)	3.90 (3H, s)	56.3, CH <sub>3</sub>
6' - OCH <sub>3</sub>	3.81 (3H, s)	55.1, CH <sub>3</sub>	118.8 (5) e 151.3 (6)	3.80 (3H, s)	55.3, CH <sub>3</sub>

<sup>a</sup>Experimento a 500 MHz para  $^1\text{H}$  em CDCl<sub>3</sub>, utilizando o TMS como padrão interno (mapas de correlação COSY);

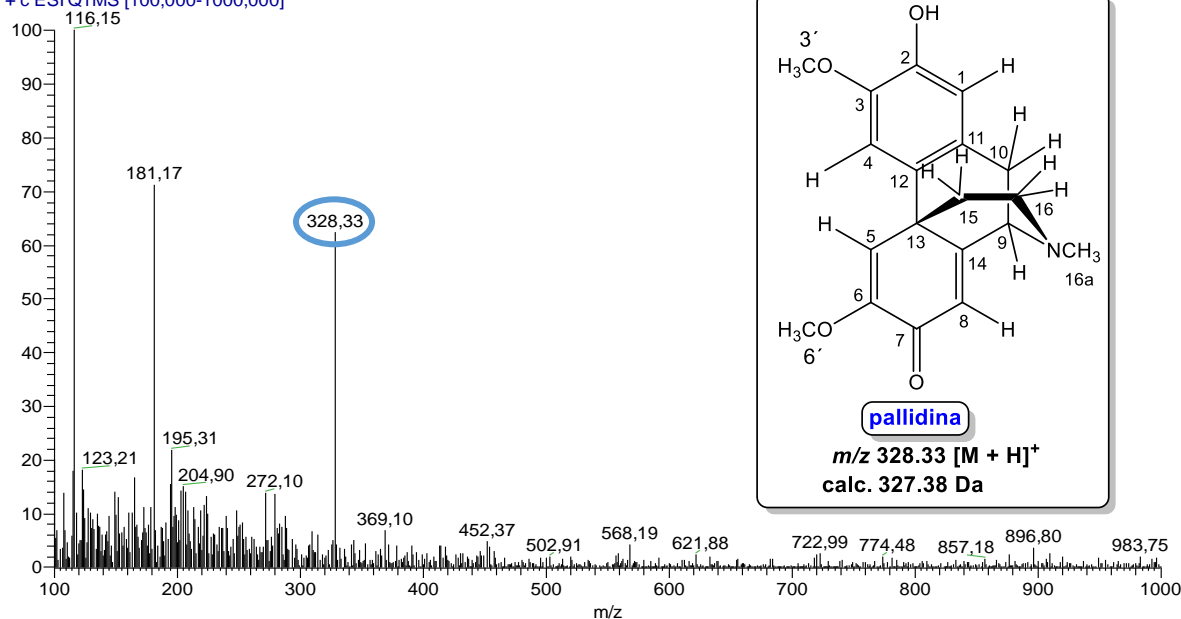
<sup>b</sup>Multiplicidades determinadas pelos espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135 e pelos mapas de correlação COSY, HSQC e HMBC.

<sup>c</sup>Correlações dos átomos de hidrogênios com os carbonos vizinhos (HMBC). <sup>d</sup>HERREIRA *et al.*, 2018 ( $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz);

$^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).

Através da análise por MS<sup>n</sup> no modo positivo por inserção direta, o alcaloide **S3** isolado apresentou  $m/z$  328 Da  $[M+H]^+$  (Figura 54), sendo compatível com os dados de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (1D/2D), que indicam a fórmula molecular C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub> (calc. 327.38 Da). Dessa forma, foi possível confirmar que a substância **S3** é a pallidina, sendo concordante com os dados da literatura (HERRERA *et al.*, 2018; ROBLOT, HOCQUEMILLER & CAVE, 1984).

- Infusao das substancias puras - FADS3\_e\_2 #117 RT: 1,03 AV: 1 NL: 5,92E6  
T: + c ESI Q1MS [100,000-1000,000]

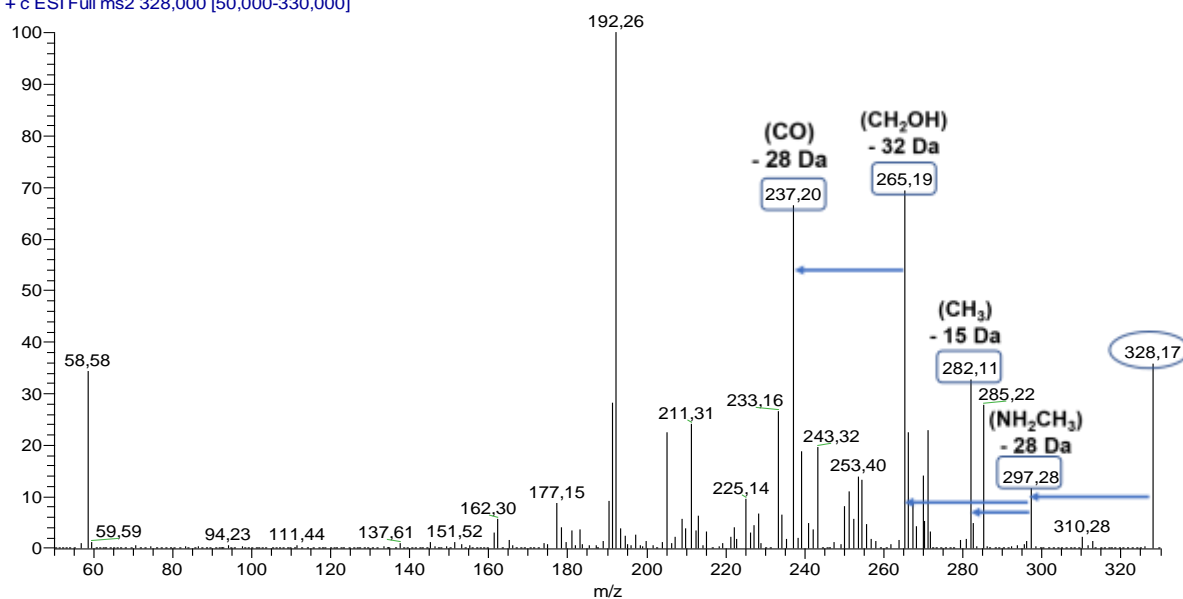


**FIGURA 55.** ESPECTRO DE MASSAS DA SUBSTÂNCIA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

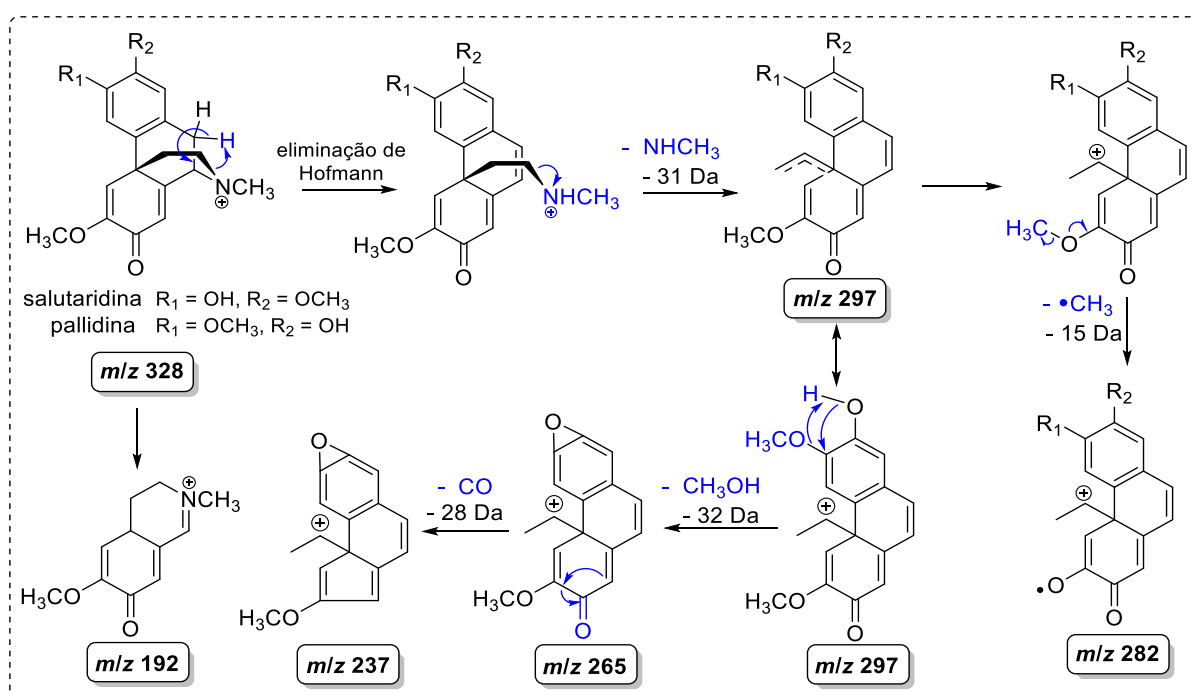
Além disso, o espectro de fragmentação da S3 (Figura 51) é condizente com o isômero da pallidina (salutaridina) (SOUZA, MELLO & LOPES, 2011; RAITH *et al.*, 2003), sendo concordante o padrão de fragmentação. Possivelmente, a eliminação do grupo NH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> é indicativa da presença do íon fragmento em  $m/z$  297  $[M+H-31]^+$ . Em seguida, este íon fragmenta-se gerando os íons em  $m/z$  265  $[M+H-31]^+$  e 237  $[M+H-28]^+$  resultante da eliminação de CH<sub>3</sub>OH (grupo presente no anel A) e CO (grupo carbonila que compõe o anel D), respectivamente. Adicionalmente, o íon em  $m/z$  297, possivelmente sofreu uma reação radicalar resultando na eliminação da metila da metoxila do anel D gerando o fragmento em  $m/z$  282 (Figura 52). Além disso, baseando-se no estudo Raith e colaboradores (2003), a substância salutaridina (isômero) apresentou fragmento em comum com a pallidina em  $m/z$  192, sendo resultante da formação do esqueleto isoquinolino.

Esse metabólito é exclusivo na espécie em estudo, sendo reportada no estudo de Oliveira (2017). É importante ressaltar que essa substância consiste no segundo alcaloide da subclasse morfinandienona isolado, sendo o alcaloide (9S)-sebiferina, o primeiro relato na família (ROBLOT *et al.*, 1983).

- Fragmentação das substâncias puras - FADS3\_e\_2 #125 RT: 1,12 AV: 1 NL: 4,59E6  
T: + c ESI Full ms2 328,000 [50,000-330,000]



**FIGURA 56.** ESPECTRO DE FRAGMENTAÇÃO DA SUBSTÂNCIA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**FIGURA 57.** PROPOSTA DE FRAGMENTAÇÃO PARA A SUBSTÂNCIA **S3**. FONTE: ADAPTADO DE SHIM *ET AL.*, 2013; RAITH *ET AL.*, 2003.

#### 5.2.4. Elucidação estrutural da substância 4 (**S4**) e 5 (**S5**).

As substâncias 4 (183,5 mg) e 5 (4,0 mg) foram obtidas como sólidos amorfos de coloração laranja (ambas semelhantes), com teste positivo para alcaloides frente ao reagente de Dragendorff. Inicialmente será realizado uma discussão completa a cerca dos dados espectroscópicos da substância 4, para posteriormente efetuar a comparação dos dados espectrais da S5, visto que os dados espectroscópicos das duas estruturas são semelhantes.

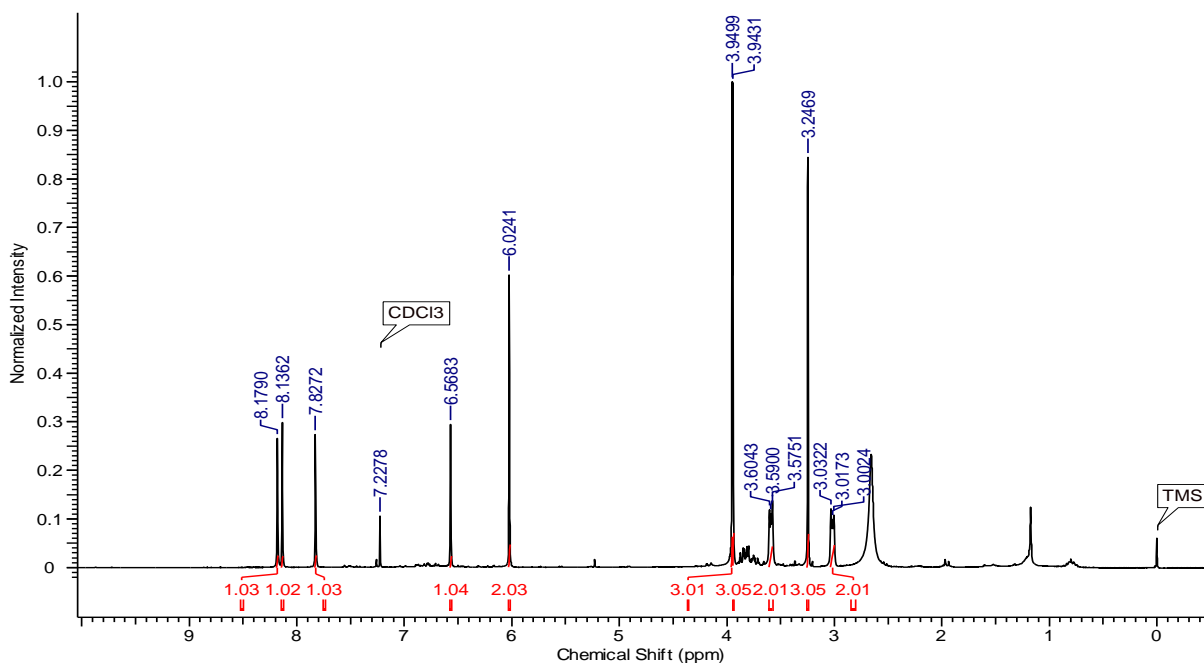
Através da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) foi possível observar a similaridade nos deslocamentos químicos para as duas substâncias, pelas quais apresentaram sinais correspondentes a hidrogênios aromáticos, metílicos, metilênicos, grupo metilenodióxi e sinais de metoxilas, sendo alguns sinais semelhantes de alcaloides aporfinos (COSTA *et al.*, 2016) que será discutido a seguir.

A análise preliminar dos dados de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dessas duas substâncias, revelou alguns sinais incomuns dos demais alcaloides já elucidados. Dessa forma, foi descartada a possibilidade das duas substâncias serem alcaloides oxoaporfinos devido a presença de hidrogênios metilênicos, e pela integração dos seus sinais.

Constatou-se a presença 21 sinais de carbono (Figura 62), sendo um dos sinais correspondentes a um carbono carbonílico adicional no espectro das substâncias em análise. Com isso, foi cogitada a possibilidade de ser um alcaloide morfinano pela presença do grupo  $\text{C}=\text{O}$  (região em  $\delta 183.0$ ), todavia, essa hipótese foi eliminada devido a quantidade de hidrogênios metilênicos ser inferior à das substâncias S4 e S5 quando comparado a essa subclasse. Com isso, as substâncias trata-se de um novo alcaloide com esqueleto modificado.

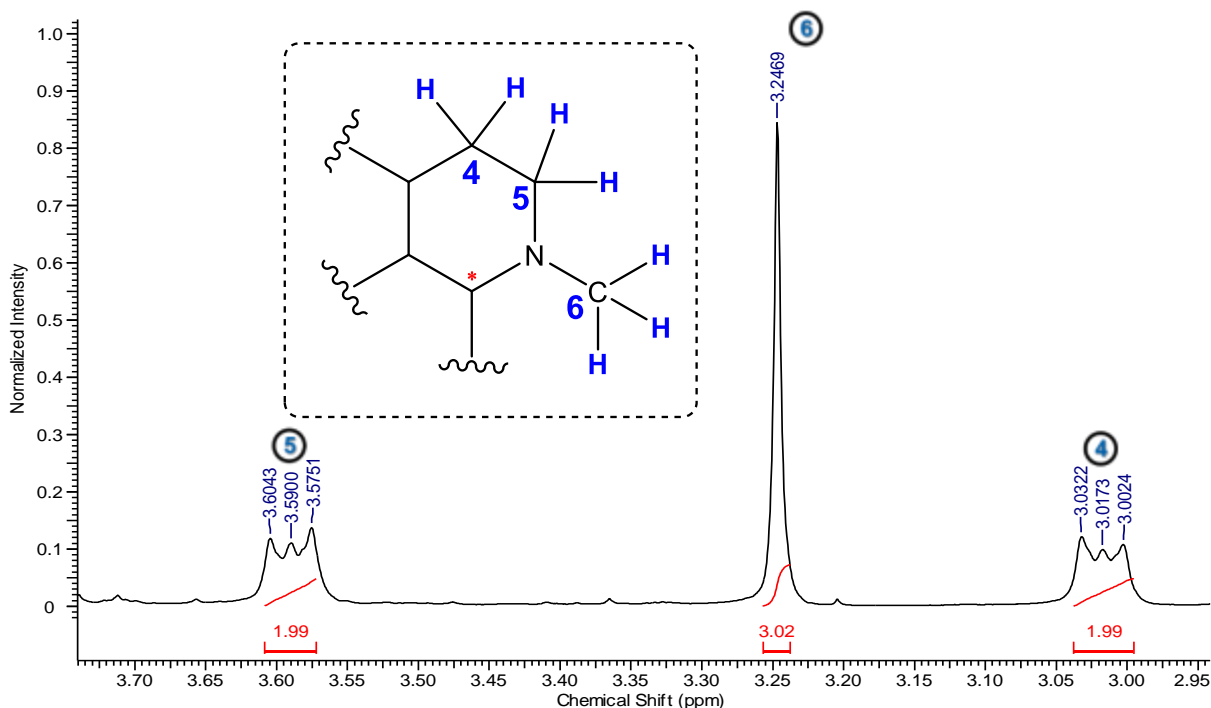
A partir da análise do espectro de  $^1\text{H}$  da **S4** (Figura 57) foi identificado a presença de sinais típicos de um derivado alcaloide isoquinolino, sendo eles, os sinais de hidrogênios aromáticos entre  $\delta 8.18 - \delta 6.56$ , metilênicos entre  $\delta 3.59 - \delta 3.02$ , bem como sinais de carbonos metilênicos (região entre 25 a 55 ppm) (Figura 57) indicativas de hidrogênios do anel B de alcaloides isoquinolinos (GUINAUDEAU, LEBOUÉF & CAVÉ, 1979, 1983, 1988, 1994).

Através da ampliação do espectro de  $^1\text{H}$  (Figura 58) constatou-se a presença de hidrogênios metilênicos em  $\delta 3.02$  ( $f^2\text{H}$ ,  $m$ ) e  $\delta 3.59$  ( $f^2\text{H}$ ,  $m$ ) indicando a ausência da ligação dupla. Esses sinais foram correlacionados com os carbonos em  $\delta 34.9$  e  $54.6$ , respectivamente, sendo característicos das posições H-4 e H-5 do anel B isoquinolino (GUINAUDEAU, LEBOUÉF & CAVÉ, 1975). O espectro de COSY da **S4** (Figura 59) sustenta essa correlação, e o mapa de HMBC (Figura 64) confirmam a posição desses hidrogênios.

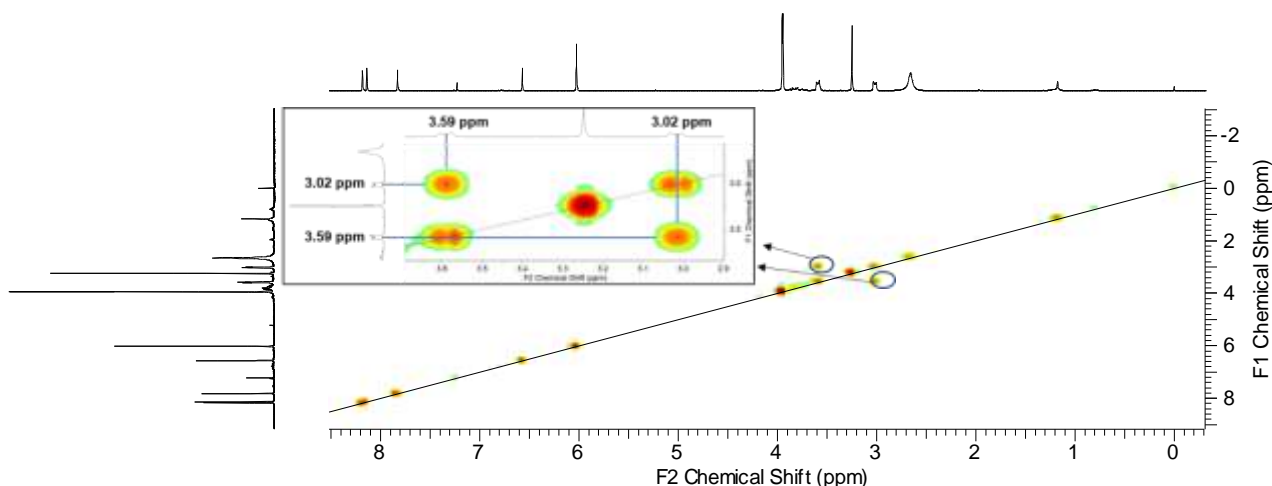


**FIGURA 58.** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (500 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S4. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Também foi possível observar a presença de um sinal referente ao grupo metila em  $\delta$  3.25 (Figura 58) correlacionado com o carbono em  $\delta$  46.5 ( $N\text{-CH}_3$ ), sendo este sinal característico de H-6a/C-6a de alcaloides isoquinolinos (BLANCHFIELD *et al.*, 2003; GLASER & BERNSTEIN, 1991).



**FIGURA 59.** AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  INDICANDO SINAIS DE HIDROGÊNIOS METILÊNICOS H-4 E H-5 E HIDROGÊNIOS METÍLICOS ( $N\text{-CH}_3$ ) DA S4. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

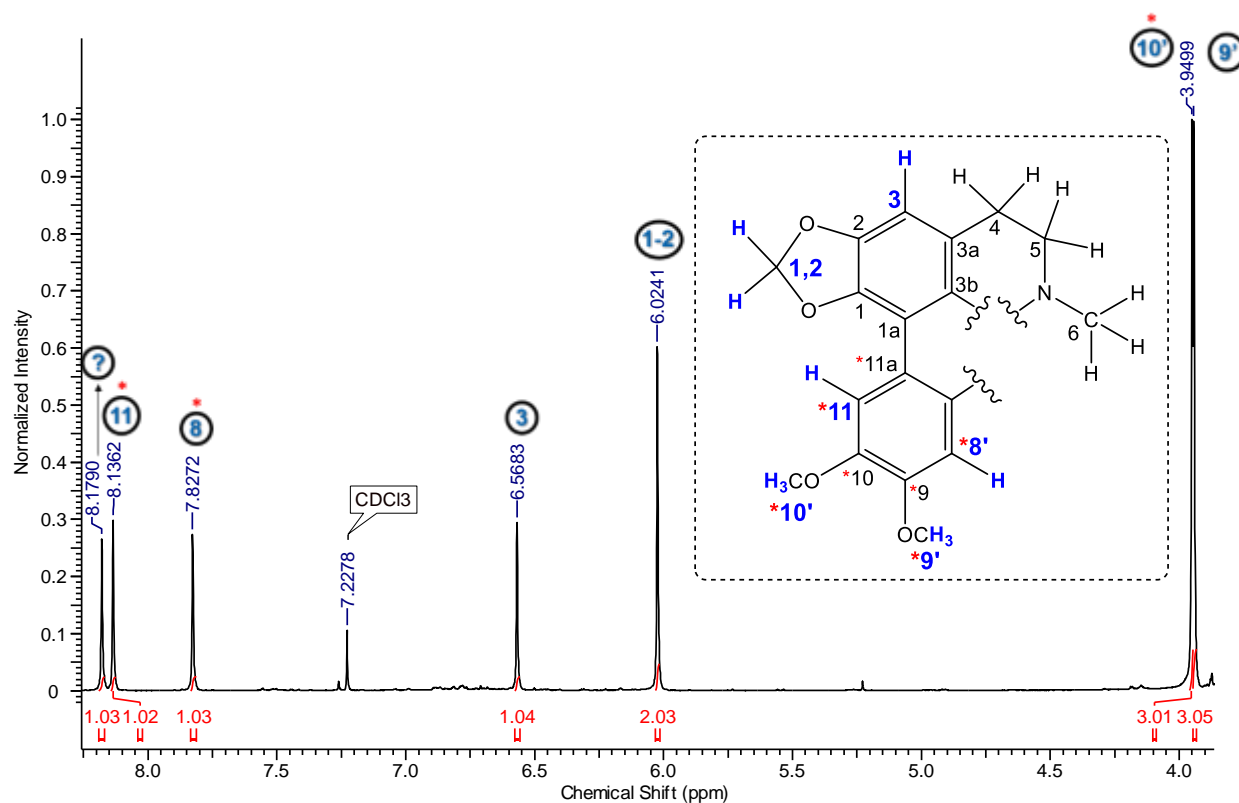


**FIGURA 60.** MAPA DE CORRELAÇÃO COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  E AMPLIAÇÃO DOS SINAIS H-4 E H-5 (500 MHz EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S4**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Com base na ampliação do espectro de  $^1\text{H}$  na região entre  $\delta$  3.8 - 8.3 apresentada na figura 60, constatou-se sinal característico da ponte metilenodioxí em  $\delta\text{H}$  6.02 ( $f$  2H,  $s$ ) /  $\delta\text{C}$  99.7 (confirmado por HSQC) com a presença de hidrogênios equivalentes entre C-1 ( $\delta$  141.9) e C-2 (142.7), conforme o mapa de correlação HMBC.

Na região aromática identificaram-se três simpletos ( $\delta$  6.56, 7.83 e 8.14), sendo o primeiro sinal típico do anel A (H-3) de um sistema isoquinolino dissubstituído (ponte metilenodioxí). Os sinais  $\delta\text{H}$  7.83 /  $\delta\text{C}$  106.7 e  $\delta\text{H}$  8.14 /  $\delta\text{C}$  107.7 são indicativas das posições H-8 e H-11, respectivamente (sinais semelhantes aos deslocamentos químicos de alcaloides aporfínicos) (levou em consideração a enumeração equivalente a essa classe) (GUINAUDEAU, LÉBOUEF & CAVÉ, 1975). Além disso, a posição desses hidrogênios é coerente com a ausência na multiplicidade de seus sinais, bem como justifica o mesmo ambiente químico dos sinais metoxílicos entre os carbonos C-8 e C-11.

Os sinais de hidrogênios metoxílicos foram indicados pela presença de dois sinais em  $\delta$  3.95 e 3.94 ( $f$  3H,  $s$ ), correlacionados com os carbonos em  $\delta$  54.89 e 55.97, respectivamente, evidenciando dois substituintes equivalentes na estrutura. As correlações por HMBC indicaram a posição dos sinais metoxílicos em H-9 ( $\delta$  55.97) e H-10 ( $\delta$  54.89), tendo como base o esqueleto aporfino *stricto sensu*.



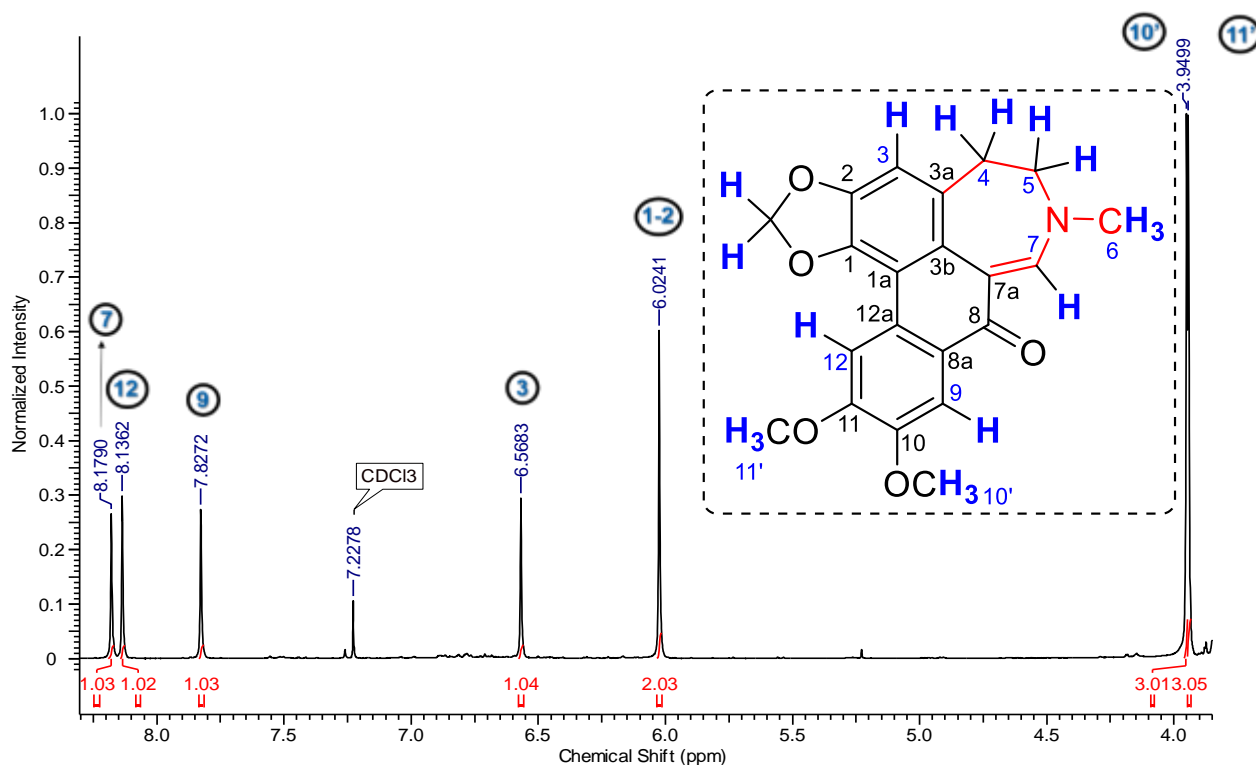
**Legenda:** \* Enumeração atribuída inicialmente para esqueleto modificado, tendo como referência a estrutura da classe dos aporfinos.

**FIGURA 61.** AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  INDICANDO SINAIS DE HIDROGÊNIOS AROMÁTICOS (H-3, \*H-8 E \*H-11), METOXÍLICOS (\*H-9' E \*H-10) E DA PONTE METILENODIOXI (H-1,2) DA **S4**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

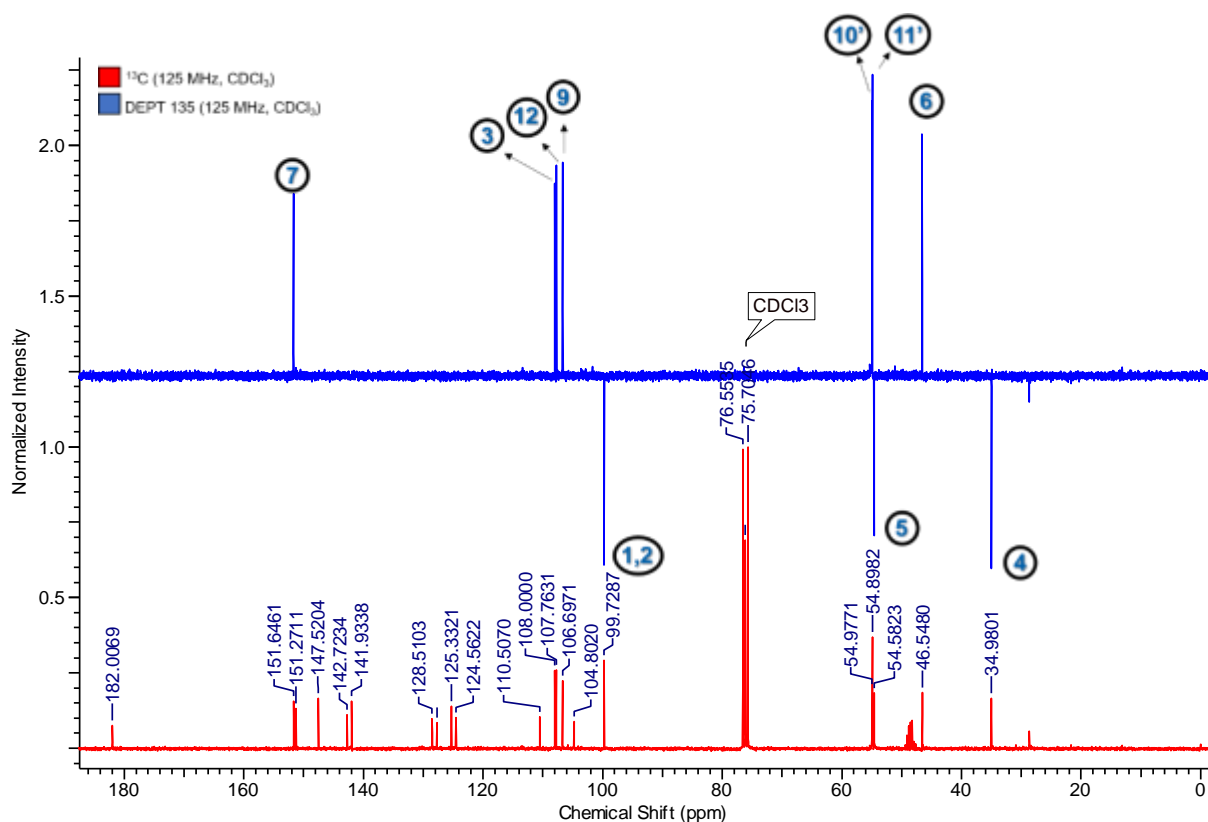
Subtende-se que o hidrogênio mais desblindado em  $\delta$  8.18 (1H, s) /  $\delta$  151.6 é indicativo de um sinal oleofínico adjacente ao grupo nitrogenado. Essa ideia foi confirmada através do mapa de HMBC, onde o hidrogênio em  $\delta$  8.18 apresenta correlação com o carbono C-3b ( $\delta$  125.3) e com o sinal carbonílico em  $\delta$  182.0 (Figura 61).

Além disso, o conjunto de dados de HMBC do hidrogenio em H-9, levou a indicação do anel C contendo o grupo oxo (Figura 61). Com base nos dados obtidos levou a propor um subtipo sem precedentes de alcaloide similar com a estrutura do tipo aporfino (substância com núcleo tetracíclico com um anel B de 6 membros). Dessa forma, a posição dos sinais em  $\delta$  7.82 e 8.14 foi atribuída em H-9 e H-12, bem com as metoxilas encontram-se nas posições H-10 ( $\delta$  3.95) e H-11 ( $\delta$  3.94). A posição do grupo carbonila em C-8 (conforme as correlações pelo HMBC), confirmam a formação do anel C com o grupo oxo.

As corretas atribuições dos sinais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram determinadas pela análise do mapa HMBC (Figura 64) (Tabela 11). Todas as correlações foram detalhadas nas figuras 65-66.



**FIGURA 62.** AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  INDICANDO SINAIS DE HIDROGÊNIOS AROMÁTICOS CORRIGIDOS (H-3, H-9 e H-12), METOXÍLICOS (H-10' e H-11), PONTE METILENODIOXI (H-1,2) E O HIDROGÊNIO METÍNICO DO ANEL C (H-7) DA **S4**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**FIGURA 63.** ESPECTROS DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) E DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S4**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



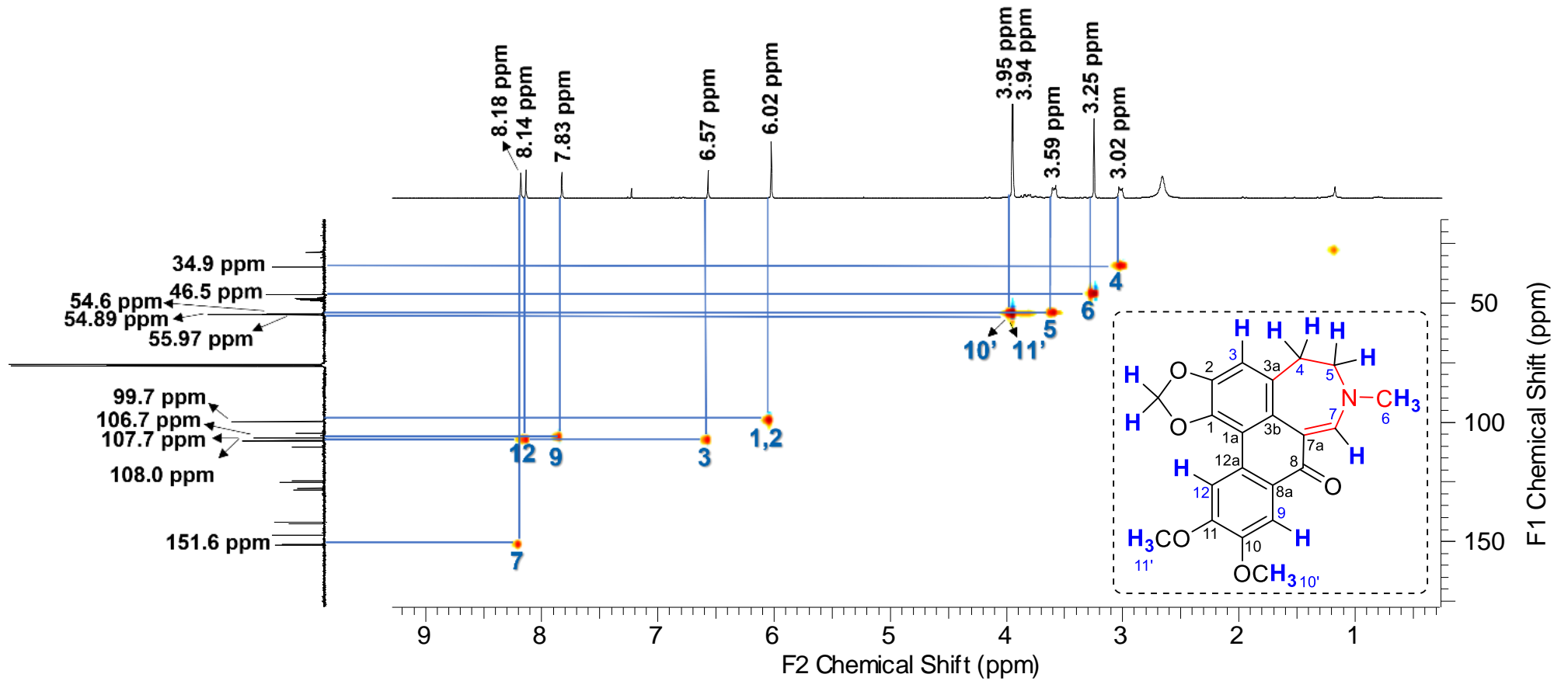
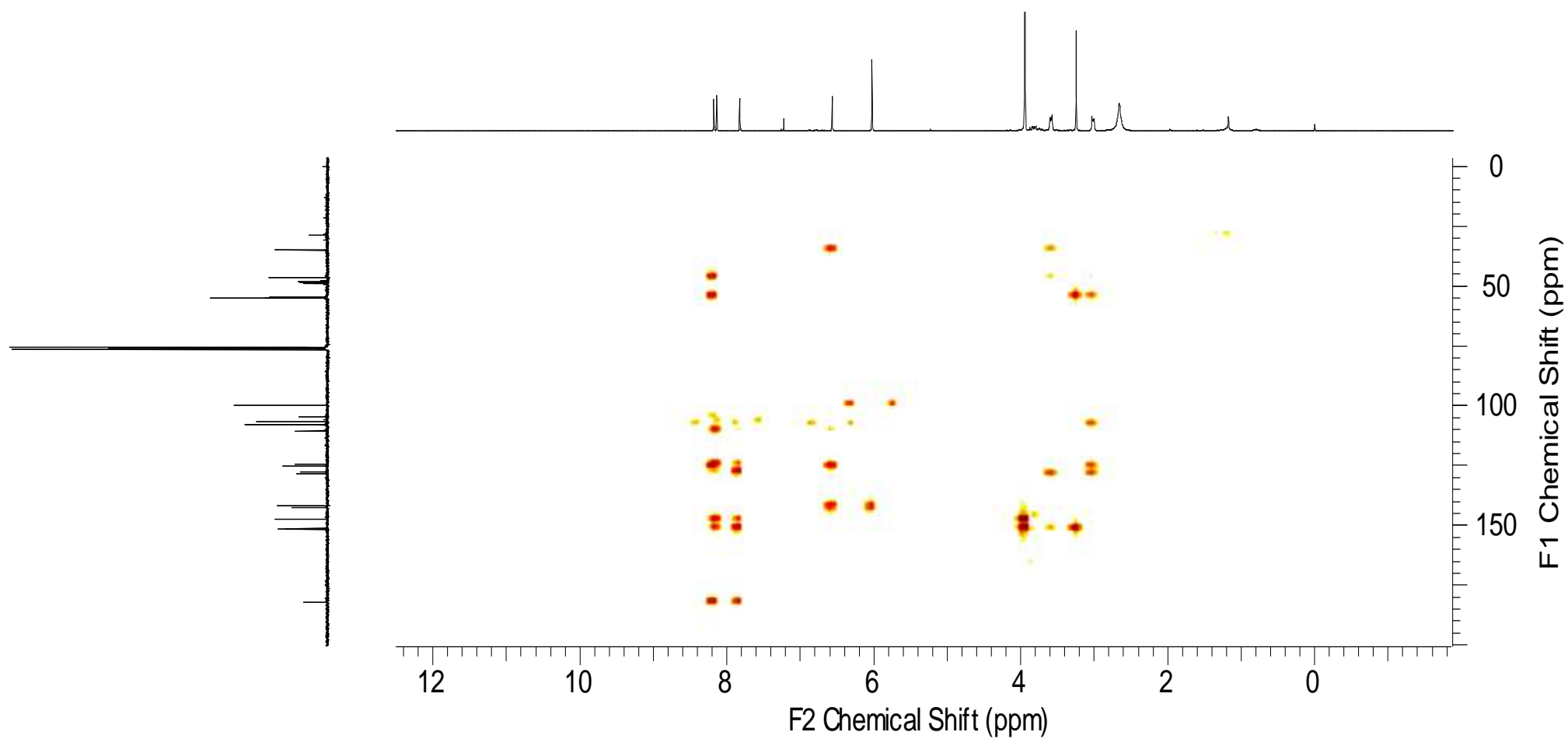


FIGURA 64. MAPA DE CORRELAÇÃO HSQC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S4. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

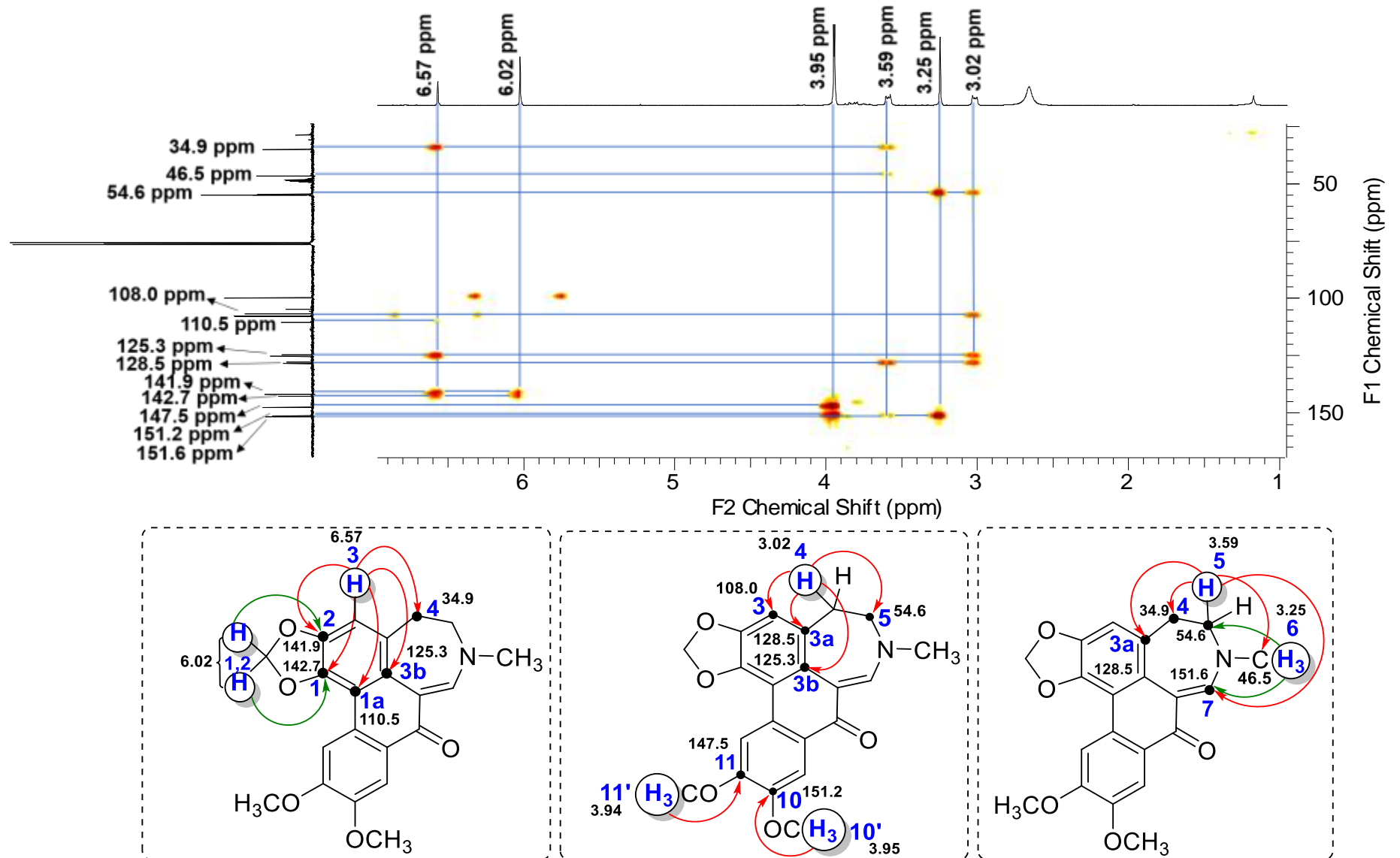


**FIGURA 65.** MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S4. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

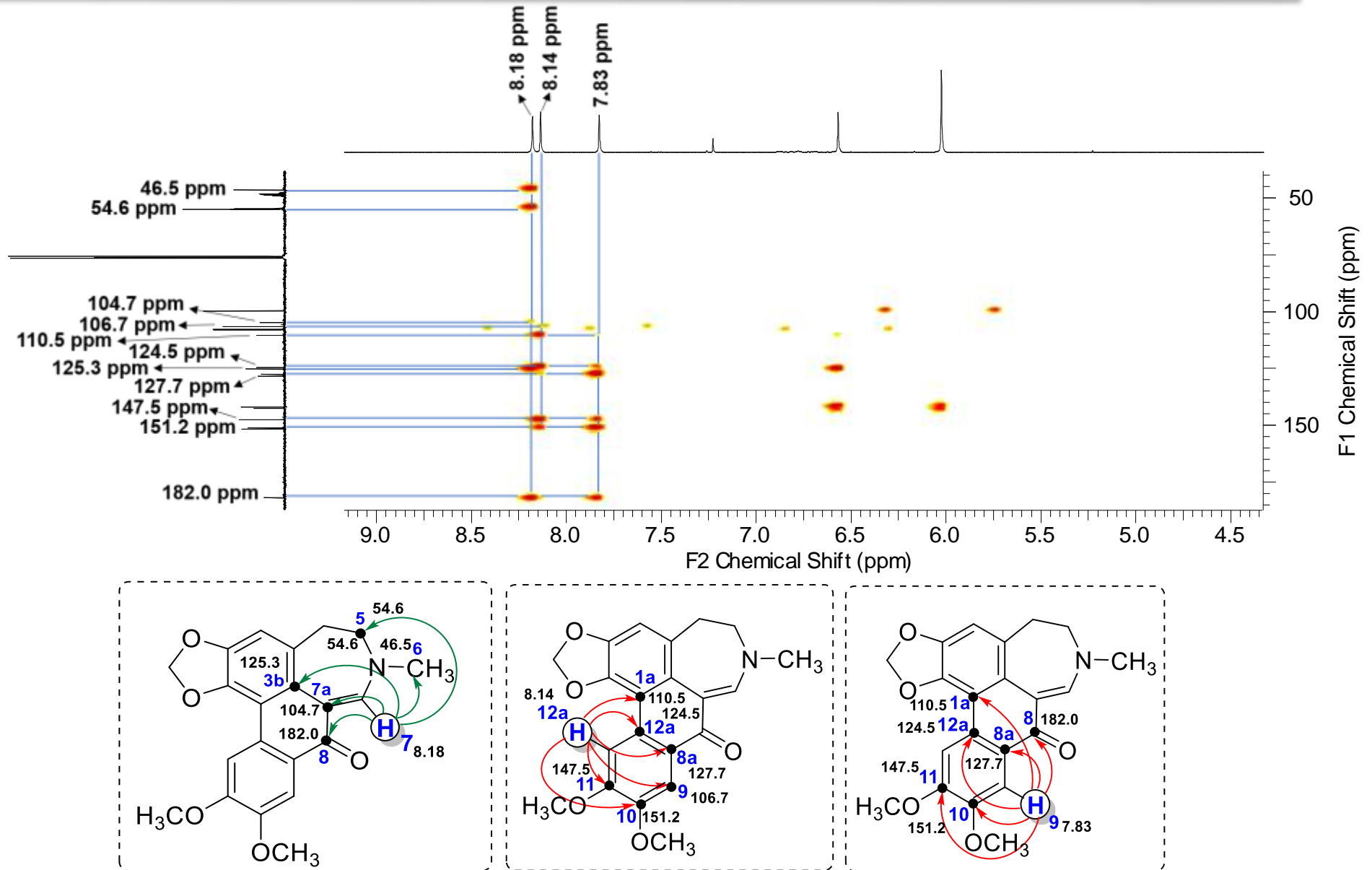
**TABELA 11.** DADOS ESPECTROSCÓPICOS DE RMN ( $^1\text{H}$  500 MHz,  $^{13}\text{C}$  125 MHz) PARA AS SUBSTÂNCIAS 4 E 5 DE *D. SURINAMENSIS*.

carbono / posição	SUBSTÂNCIA 4 (S4)			SUBSTÂNCIA 5 (S5)		
	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) (mult., <i>J</i> em Hz) <sup>a</sup>	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>a,b</sup>	HMBC <sup>a,c</sup> ( $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ )	$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) (mult., <i>J</i> em Hz) <sup>a</sup>	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>a,b</sup>	HMBC <sup>a,c</sup> ( $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ )
<b>1</b>	-	141.9, C	-	-	143.0, C	-
<b>1a</b>	-	110.5, C	-	-	111.6, C	-
<b>2</b>	-	142.7, C	-	-	143.9, C	-
<b>3</b>	6.57 (1H, <i>s</i> )	108.0, CH	141.9 ( <b>1</b> ), 110.5 ( <b>1a</b> ), 142.7 ( <b>2</b> ), 125.3 ( <b>3b</b> ) e 35.9 ( <b>4</b> )	6.64 (1H, <i>s</i> )	108.6, CH	143.0 ( <b>1</b> ), 125.9 ( <b>3b</b> ) e 36.0 ( <b>4</b> )
<b>3a</b>	-	128.5, C	-	-	129.4, C	-
<b>3b</b>	-	125.3, C	-	-	125.9, C	-
<b>4</b>	3.02 (2H, <i>m</i> )	34.9, CH <sub>2</sub>	108.0 ( <b>3</b> ), 128.5 ( <b>3a</b> ), 125.3 ( <b>3b</b> ) e 54.6 ( <b>5</b> )	3.12 (2H, <i>m</i> )	36.0, CH <sub>2</sub>	108.6 ( <b>3</b> ), 129.4 ( <b>3a</b> ), 125.9 ( <b>3b</b> ) e 55.7 ( <b>5</b> )
<b>5</b>	3.59 (2H, <i>m</i> )	54.6 CH <sub>2</sub>	128.5 ( <b>3a</b> ), 34.9 ( <b>4</b> ), 46.5 ( <b>6</b> ) e 151.6 ( <b>7</b> )	3.68 (2H, <i>m</i> )	55.7 CH <sub>2</sub>	129.5 ( <b>3a</b> ), 36.0 ( <b>4</b> ), 47.4 ( <b>6</b> ) e 152.4 ( <b>7</b> )
<b>6 (N-CH<sub>3</sub>)</b>	3.25 (3H, <i>s</i> )	46.5, CH <sub>3</sub>	54.6 ( <b>5</b> ) e 151.6 ( <b>7</b> )	3.32 (3H, <i>s</i> )	47.4, CH <sub>3</sub>	55.8 ( <b>5</b> ) e 152.4 ( <b>7</b> )
<b>7</b>	8.18 (1H, <i>s</i> )	151.6, CH	125.3 ( <b>3b</b> ), 54.6 ( <b>5</b> ), 46.5 ( <b>6</b> ), 104.7 ( <b>6a</b> ) e 182.0 ( <b>8</b> )	8.24 (1H, <i>s</i> )	152.4, CH	125.9 ( <b>3b</b> ), 55.9 ( <b>5</b> ), 47.4 ( <b>6</b> ) e 183.5 ( <b>8</b> )
<b>7a</b>	-	104.7, C	-	-	106.3, C	-
<b>8</b>	-	182.0, C=O	-	-	183.5, C=O	-
<b>8a</b>	-	127.7, C	-	-	133.0, C	-
<b>9</b>	7.83 (1H, <i>s</i> )	106.7, CH	110.5 ( <b>1a</b> ), 182.0 ( <b>8</b> ), 127.7 ( <b>8a</b> ), 151.2 ( <b>10</b> ), 147.5 ( <b>11</b> ) e 124.5 ( <b>12a</b> )	7.94 (1H, <i>d</i> , 2.9 Hz)	108.1, CH	183.5 ( <b>8</b> ), 120.6 ( <b>11</b> ) e 127.4 ( <b>12a</b> )
<b>10</b>	-	151.2, C	-	-	158.7, C	-
<b>11</b>	-	147.5, C	-	7.21 (1H, <i>dd</i> , 2.9 e 8.9 Hz)	120.6, C	-
<b>12</b>	8.14 (1H, <i>s</i> )	107.7, CH	110.5 ( <b>1a</b> ), 127.7 ( <b>8a</b> ), 106.7 ( <b>9</b> ), 151.2 ( <b>10</b> ), 147.5 ( <b>11</b> ) e 124.5 ( <b>12a</b> )	8.64 (1H, <i>d</i> , 8.9 Hz)	128.8, CH	111.8 ( <b>1a</b> ), 133.0 ( <b>8a</b> ) e 158.7 ( <b>10</b> )
<b>12a</b>	-	124.5, C	-	-	127.4, C	-
<b>1,2 (OCH<sub>2</sub>O)</b>	6.02, 2H, <i>s</i> )	99.7, CH <sub>2</sub>	141.9 ( <b>1</b> ) e 142.7 ( <b>2</b> )	6.09, 2H, <i>s</i> )	100.6, CH <sub>2</sub>	143.9 ( <b>2</b> )
<b>10' - OCH<sub>3</sub></b>	3.95 (3H, <i>s</i> )	54.89, CH <sub>3</sub>	147.5 ( <b>10</b> )	3.94 (3H, <i>s</i> )	55.4, CH <sub>3</sub>	147.5 ( <b>10</b> )
<b>11' - OCH<sub>3</sub></b>	3.94 (3H, <i>s</i> )	55.97, CH <sub>3</sub>	151.2 ( <b>9</b> )			151.2 ( <b>9</b> )

<sup>a</sup>Experimento a 500 MHz para  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$ , utilizando o TMS como padrão interno (mapas de correlação COSY); <sup>b</sup>Multiplicidades determinadas pelos espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135 e pelos mapas de correlação COSY, HSQC e HMBC. <sup>c</sup>Correlações dos átomos de hidrogênios com os carbonos vizinhos (HMBC).



**FIGURA 66.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC INDICANDO AS CORRELAÇÕES DO HIDROGÊNIO H-3, DAS METOXILAS (H-10' E H-11'), METILÊNICOS (H-4 E H-5), DO GRUPO N-CH<sub>3</sub> (H-6) E DOS HIDROGÊNIOS DA PONTE METILENODIOXI DA S4. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

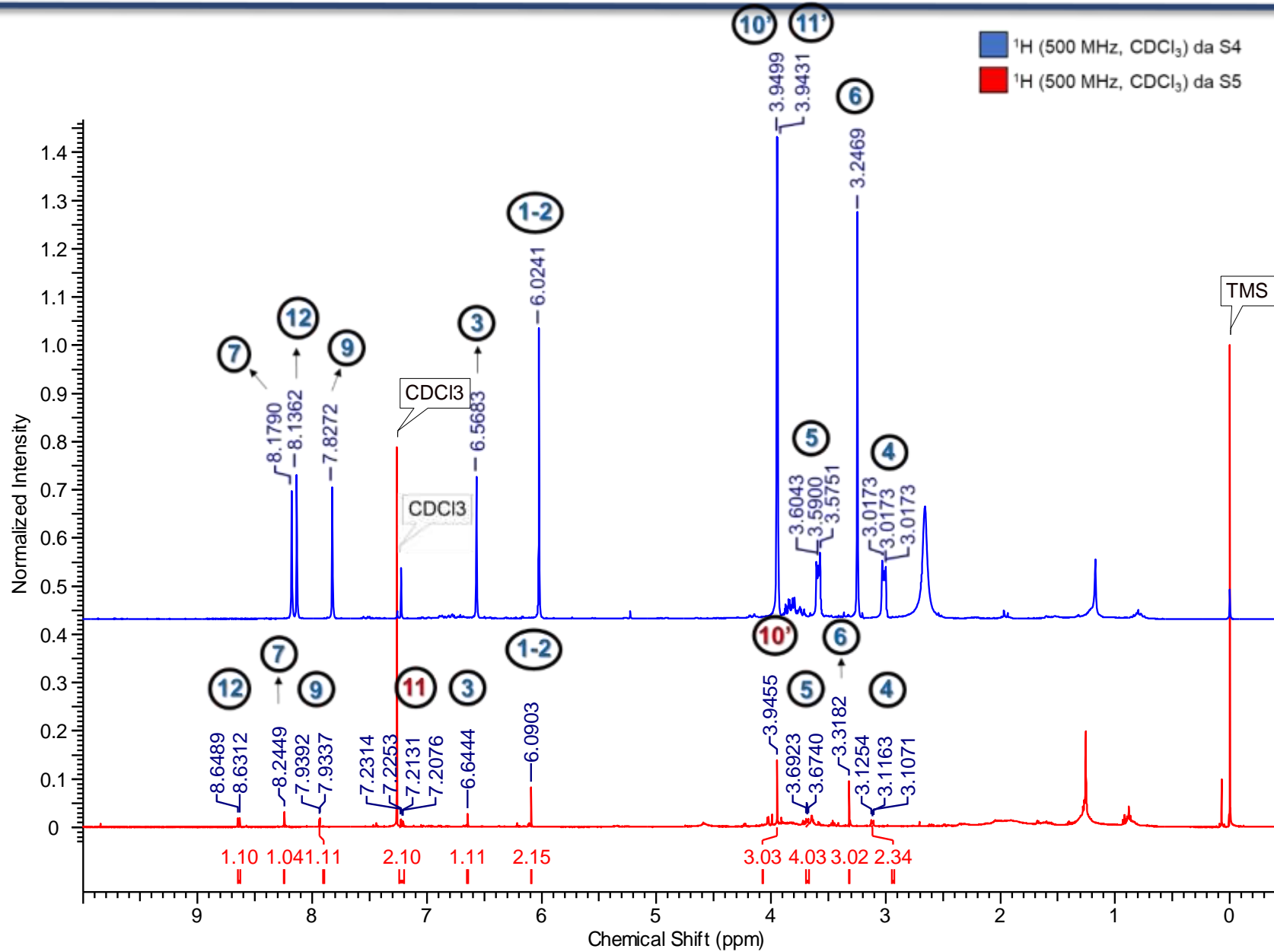


**FIGURA 67.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE HMBC INDICANDO AS CORRELAÇÕES DOS HIDROGÊNIOS H-7, H-9 E H-12 DA S4. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

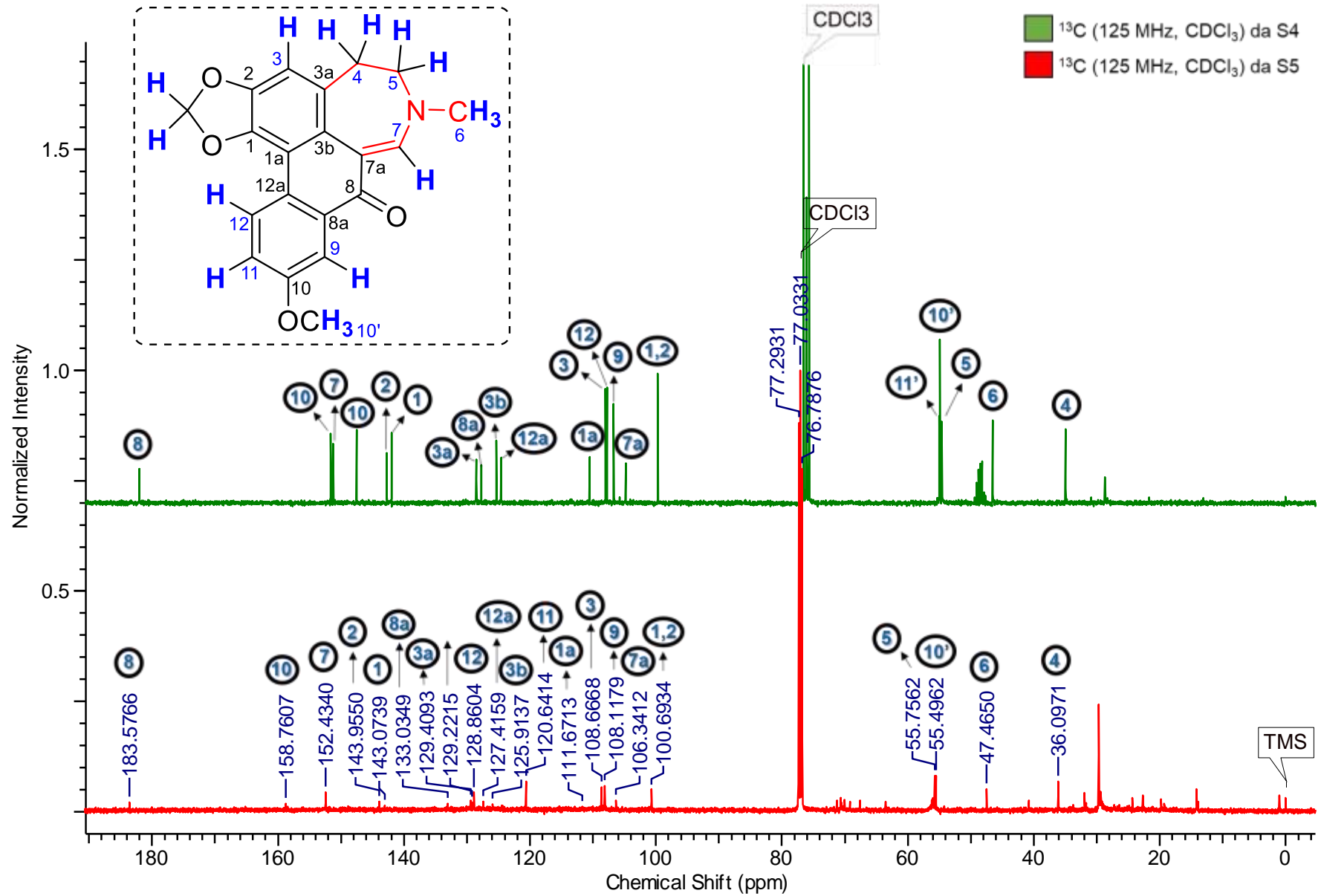
Os perfis dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da **S4** foram semelhantes ao da substância **S5** (Figura 57 e 62, respectivamente), com exceção da multiplicidade do sinal em  $\delta$  8.64 ( $1\text{H}$ ,  $d$ ) (Figura 67), na qual foi correlacionado com o carbono na posição C-12 ( $\delta$  128.8), conforme o mapa de HSQC (Figura 68). Além disso, observou-se apenas um sinal metoxílico em  $\delta$  3.94 ( $3\text{H}$ ,  $s$ ) quando comparado a **S4** (Figura 67), indicando a presença de apenas uma metoxila no anel D. Com isso, o sinal duplo duplete em  $\delta$  7.21 (H-11) é concordante com a ausência da metoxila na posição C-11.

Adicionalmente, a multiplicidade desse sinal ( $dd$ ) é justificada pela constante de acoplamento ( $J = 2.9, 8.9$  Hz) em comum com os hidrogênios H-9 ( $\delta$  7.21,  $J = 2.9$  Hz) e H-12 ( $\delta$  8.63,  $J = 8.9$  Hz), na qual suas posições geométricas (H-9 e H-12) estão favoráveis (no mesmo plano) em relação ao H-11. Da mesma forma, que a multiplicidade do sinal em  $\delta$  7.21,  $d$  (H-9) é influenciada pela posição geométrica da presença de um sistema trissubstituído dioxigenado. Esse fenômeno é justificado através do campo magnético do H-11 está na mesma direção do campo, ou seja, alinhado a favor do campo magnético do H-9 e do H-12. Com isso, o sinal correspondente ao H-11 vai se somar ao campo magnético de H-9 e H-12, gerando uma multiplicidade característica ( $dd$ ).

Os espectros unidimensionais foram processados e comparados juntamente com os espectros da **S4** (Figura 68 a 71). Todas as posições dos hidrogênios da **S5** foram confirmadas por meio do mapa de correlação HMBC (Figura 72-74).

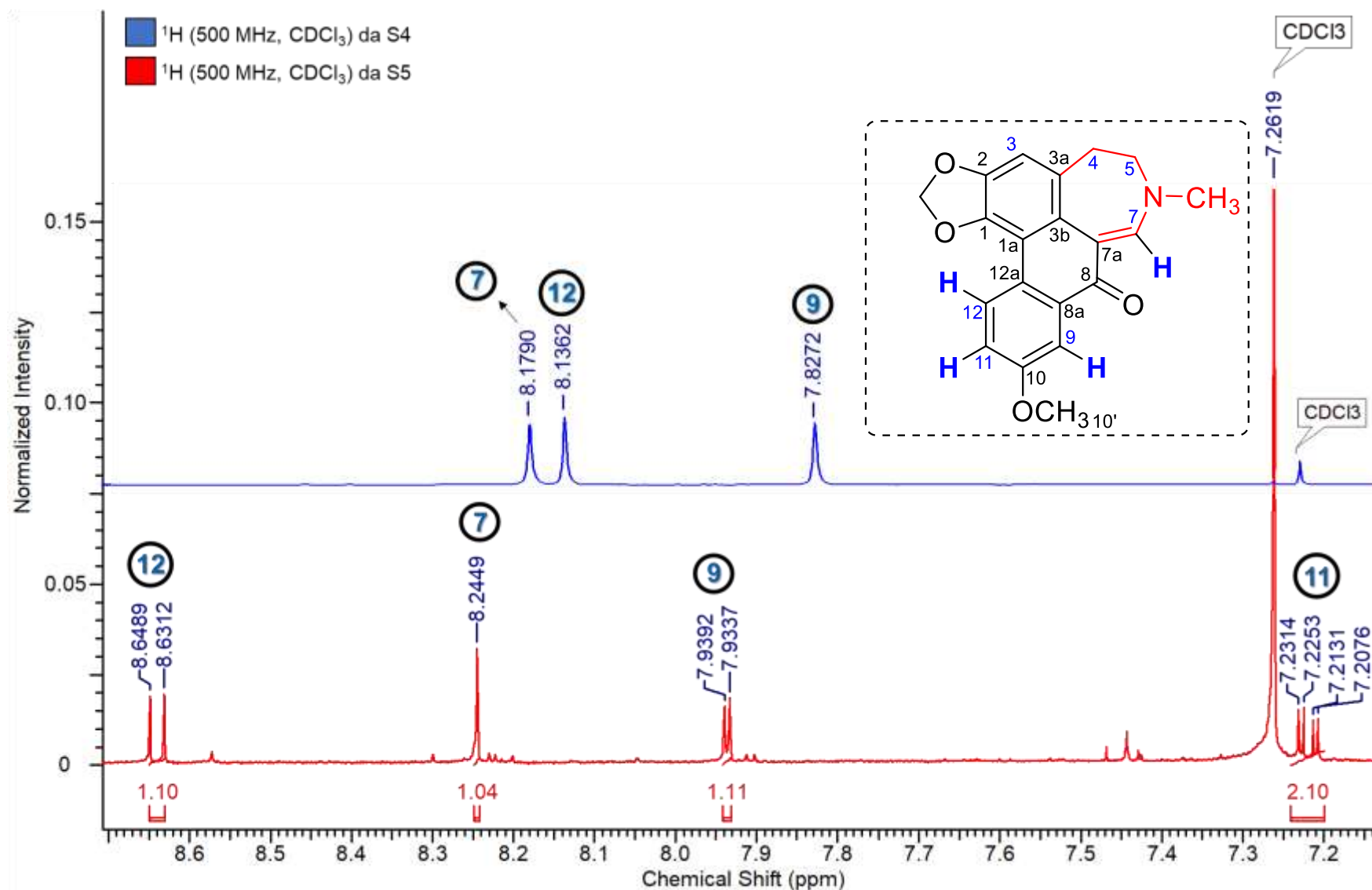


**FIGURA 68.** ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DA S4 E S5 PARA FINS COMPARATIVOS. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

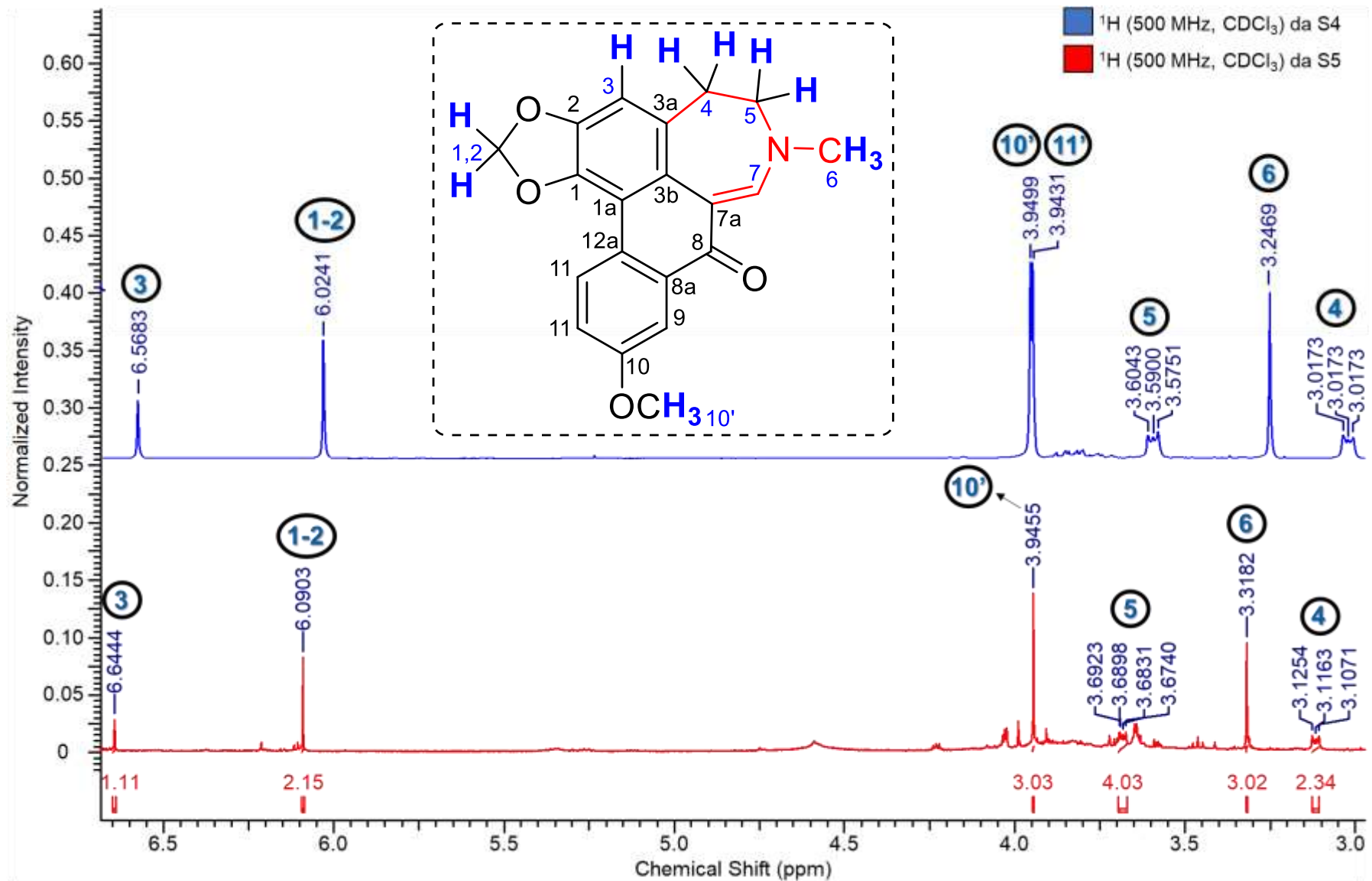


**FIGURA 69.** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DA S4 E S5 PARA FINS COMPARATIVOS. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.





**FIGURA 70.** AMPLIAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE  $^1\text{H}$  INDICANDO SINAIS DE HIDROGÊNIO AROMÁTICOS CORRIGIDOS (H-9, H-11 E H-12) E O HIDROGÊNIO METÍNICO DO ANEL C (H-7) PARA FINS COMPARATIVOS DA S4 E S5. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**FIGURA 71.** AMPLIAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE  $^1\text{H}$  INDICANDO SINAIS DE HIDROGÊNIOS METILÊNICOS (H-4 e H-5), METOXÍLICO (H-10'), AROMÁTICO (H-3), PONTE METILENODIOXI (H-1,2) E DO GRUPO  $N\text{-CH}_3$  (H-6) PARA FINS COMPARATIVOS DA S4 E S5. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

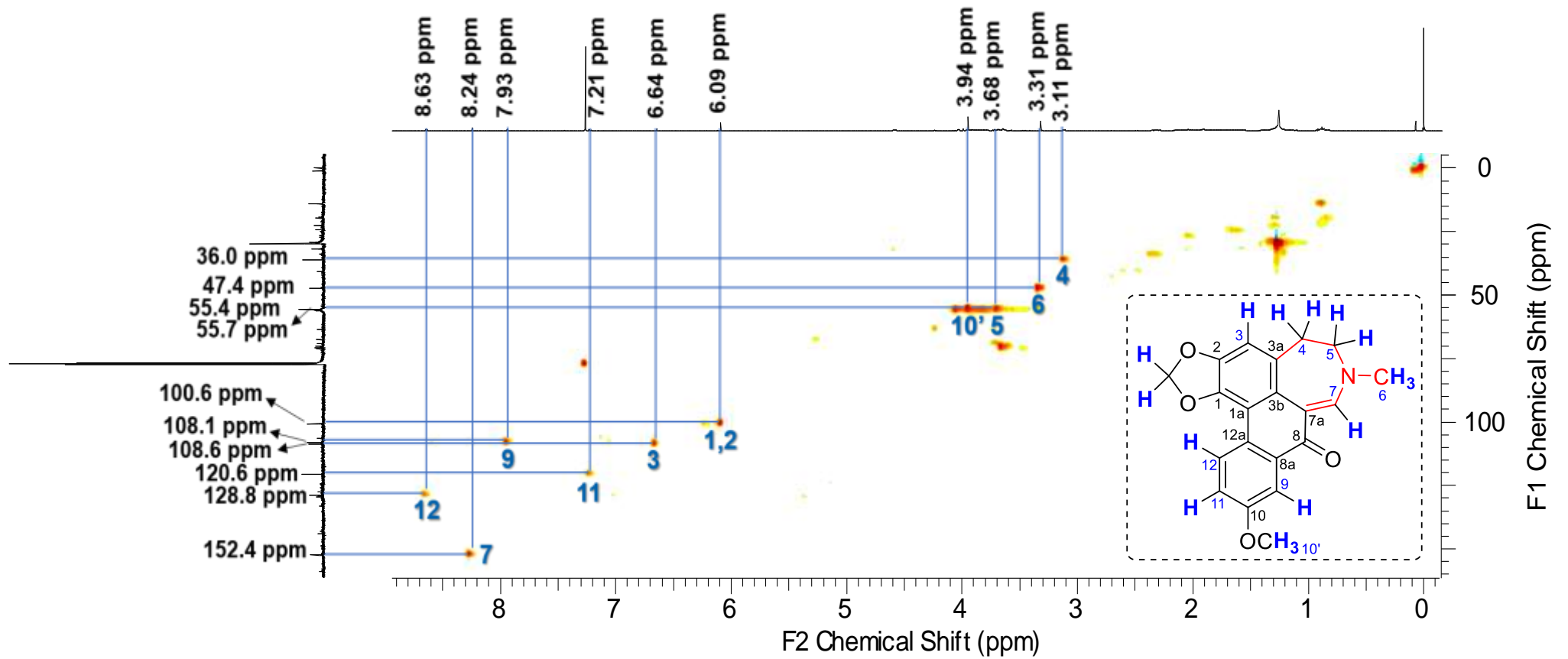
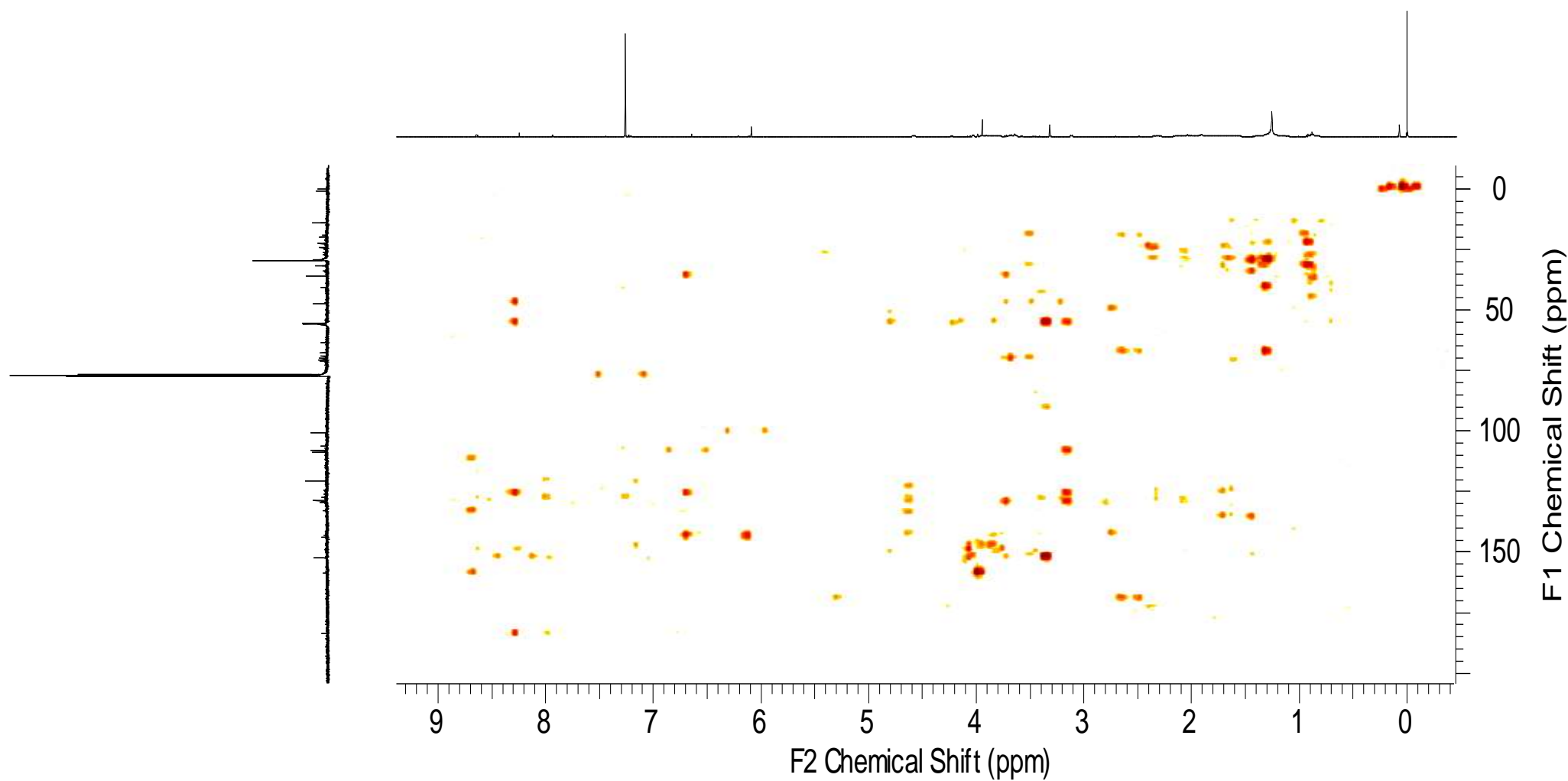
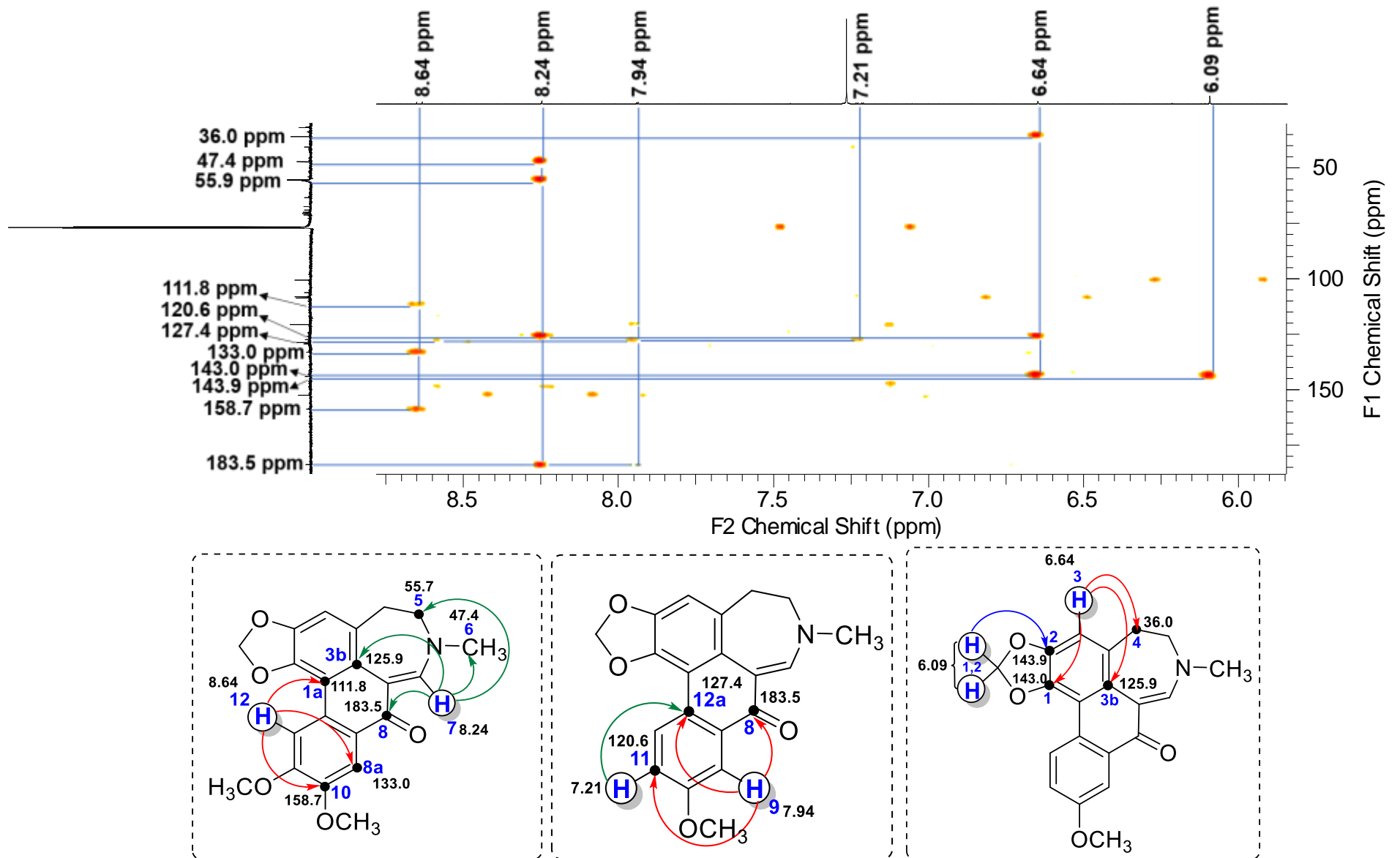


FIGURA 72. MAPA DE CORRELAÇÃO HSQC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S5. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**FIGURA 73.** MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S5. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**FIGURA 74.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC INDICANDO AS CORRELAÇÕES DO HIDROGÊNIO AROMÁTICO (H-3, H-9 E H-11), METÍNICO (H-7) E DA PONTE METILENODIOXI (1,2) DA S5. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

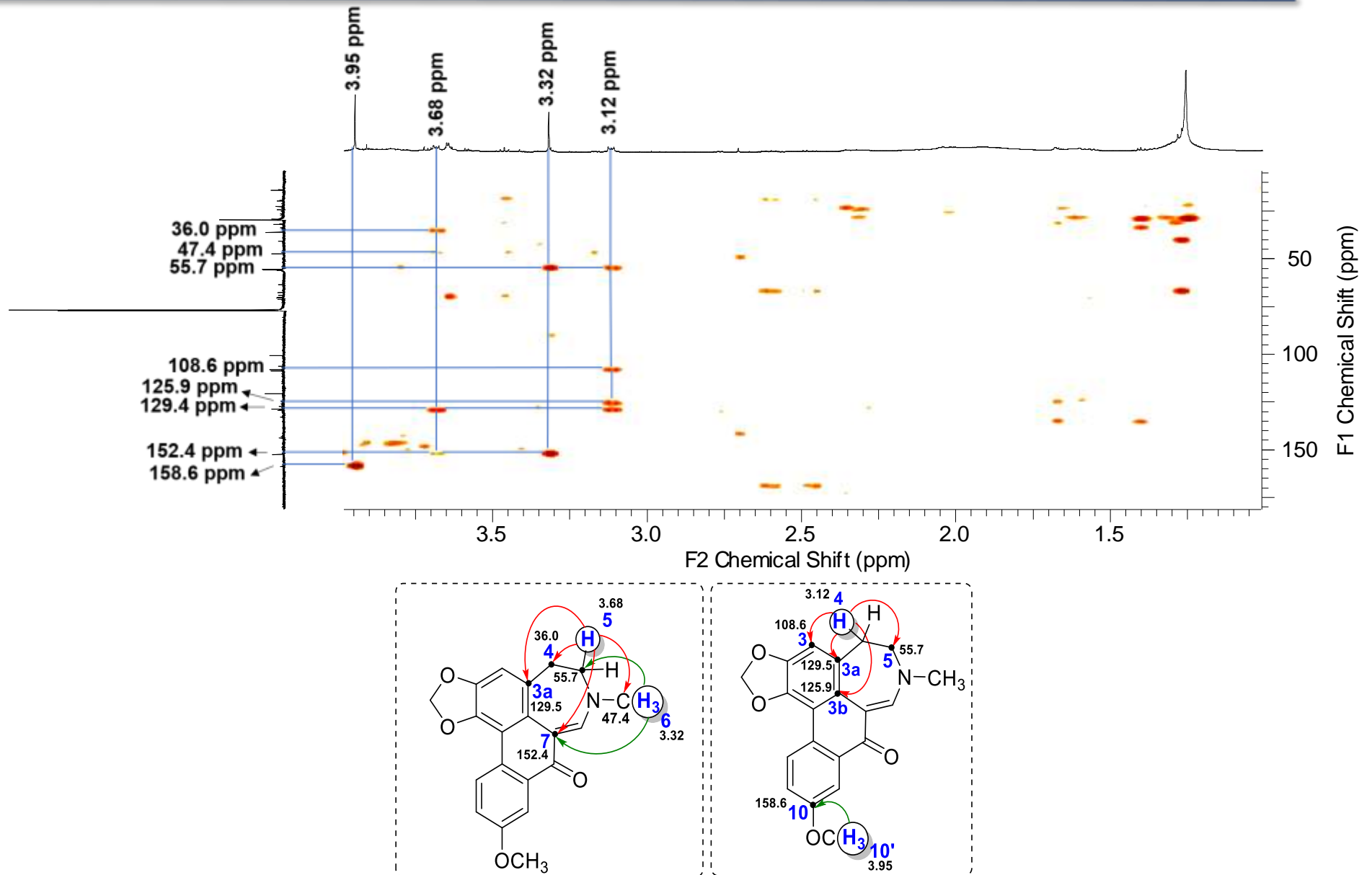


FIGURA 75. AMPLIAÇÃO DO MAPA DE HMBC INDICANDO AS CORRELAÇÕES DE H-4, H-5, H-6 E H-10' DA S5. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Os novos alcaloides S4 e S5 apresentaram um sistema tetracíclico com anel B incomum (anel insaturado piridínico de 6 membros), evidenciando a formação de novo esqueleto (a definir). Levando em consideração as estruturas incomuns no gênero *Duguetia*, as substâncias são designadas com o prefixo “dugue” (PÉREZ & CASSELS, 2010). Partindo disso, as substâncias S4 e S5 foram denominados de 11-metoxiduguesuramina (S4) e duguesuramina (S5).

Através da análise por MS<sup>n</sup> no modo positivo por inserção direta, os alcaloides S4 e S5 isolados apresentaram  $m/z$  366 Da [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>, calculado 335.37) e  $m/z$  336 Da [M+H]<sup>+</sup> (C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>, calculado 335.35), respectivamente (Figura 75).

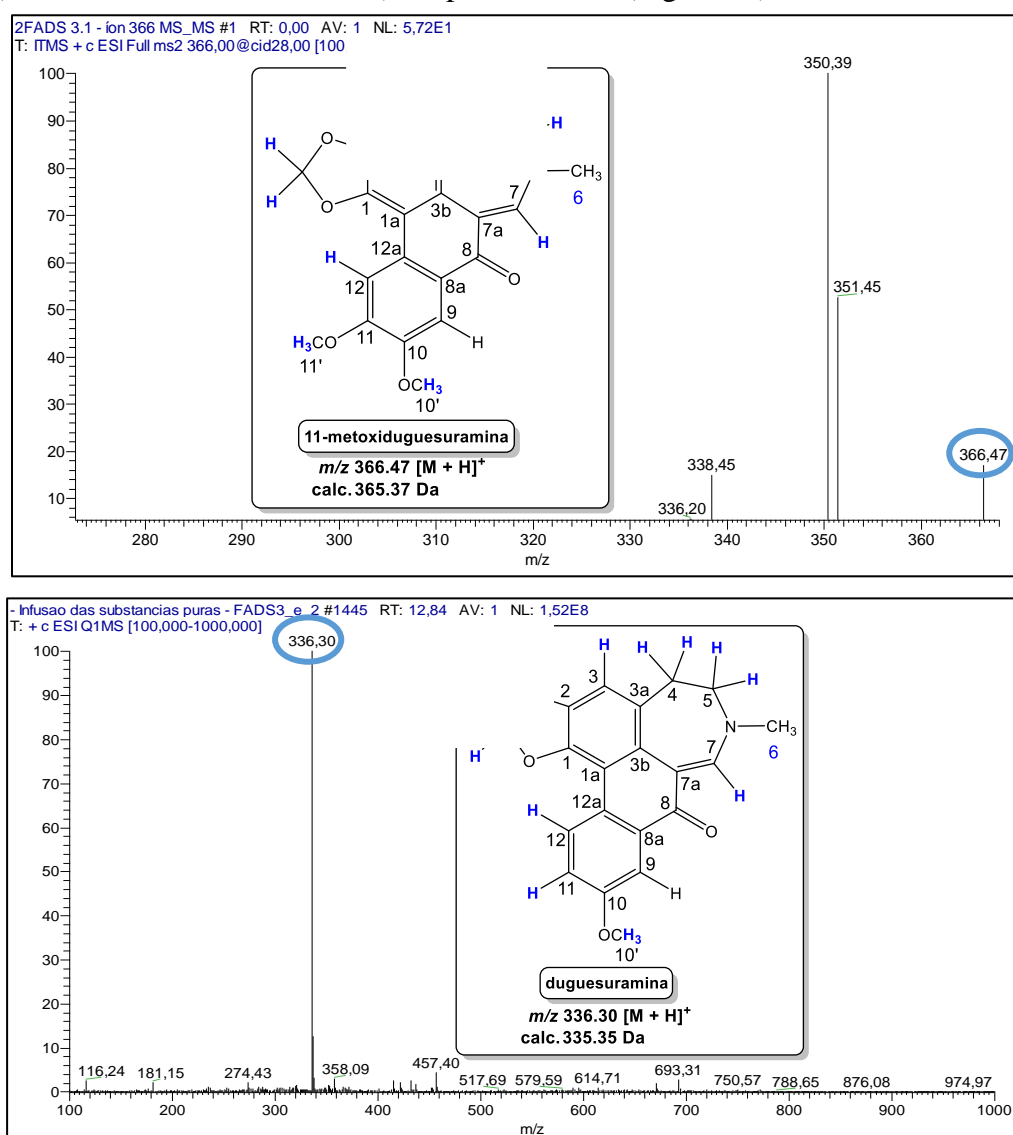
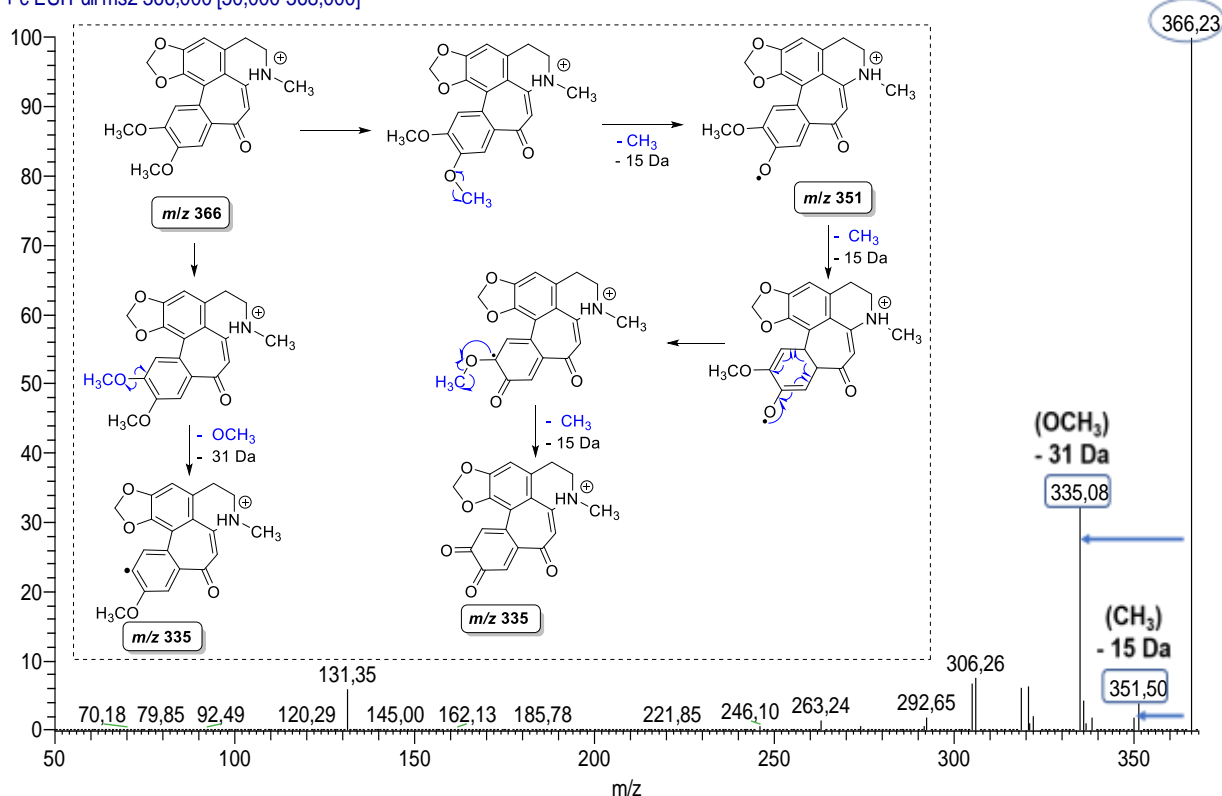


FIGURA 76. ESPECTRO DE MASSAS DAS SUBSTÂNCIAS S4 E S5. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Através dos espectros de fragmentação da **S4** e **S5** (Figura 76 e 77) foi possível propor algumas perdas de massa. Possivelmente o íon 366 (**S4**) sofreu uma desmetilação via radicalar resultando no fragmento em  $m/z$  351. O íon formado em  $m/z$  335, possivelmente está envolvida na perda direta do grupo  $\bullet\text{OCH}_3$  (31 Da) via radicalar partindo do íon molecular, ou formado através da perda consecutiva de outra metila partindo do fragmento  $m/z$  351. A fragmentação da **S5**, possivelmente está associada com a eliminação do grupo  $-\bullet\text{CH}_3$  e  $-\bullet\text{OCH}_3$  gerando os fragmentos em  $m/z$  321  $[\text{M}+\text{H}-15]^+$  e  $m/z$  305  $[\text{M}+\text{H}-31]^+$ .

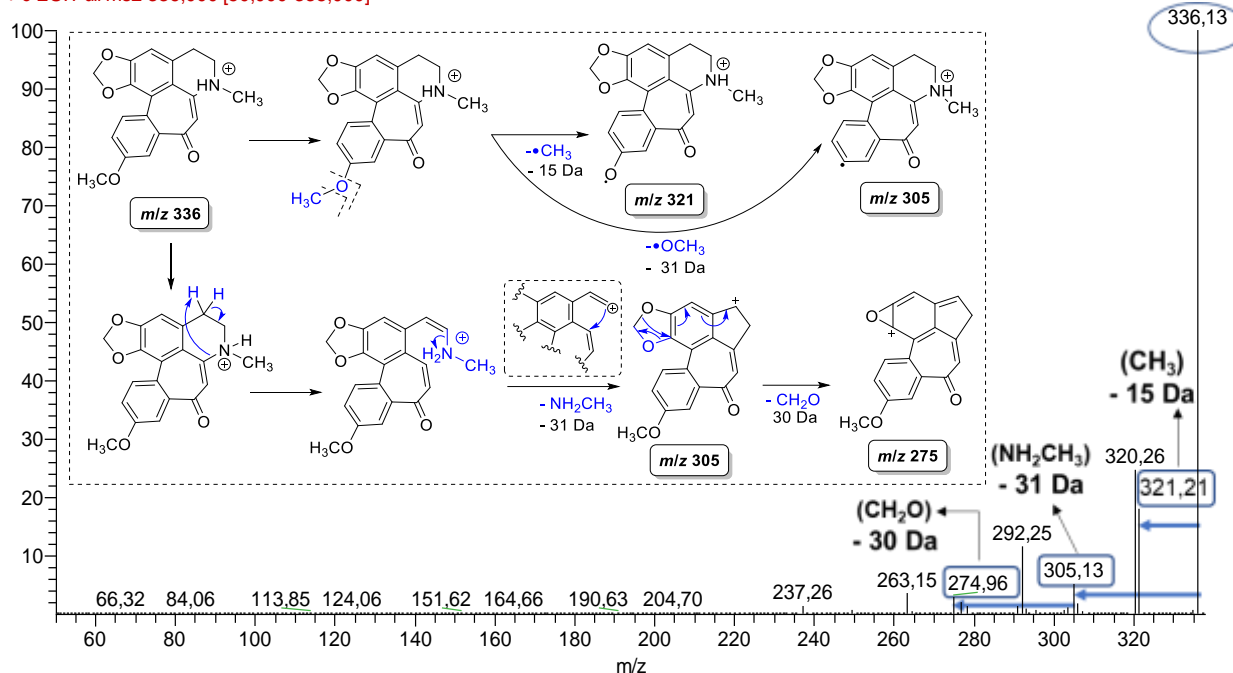
- Fragmentação das substancias puras - FADS3\_e\_2 #567 RT: 5,17 AV: 1 NL: 2,41E5  
T: + c ESI Full ms2 366,000 [50,000-368,000]



**FIGURA 77.** ESPECTRO DE FRAGMENTAÇÃO JUNTAMENTE COM A PROPOSTA DE FRAGMENTAÇÃO DA **S5**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



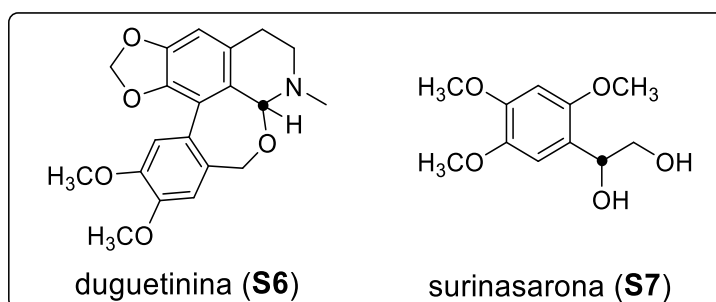
- Fragmentação das substâncias puras - FADS3\_e\_2 #585 RT: 5,34 AV: 1 NL: 1,90E6  
F: + c ESI Full ms2 336,000 [50,000-338,000]



**FIGURA 78.** ESPECTRO DE FRAGMENTAÇÃO JUNTAMENTE COM A PROPOSTA DE FRAGMENTAÇÃO DA S4. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

### 5.3. Determinação da estereoquímica de duas substâncias previamente isoladas de *D. surinamensis*

As amostras das substâncias previamente purificadas e elucidadas por Oliveira (2017) utilizando técnicas clássicas de cromatografia, RMN (1D/2D) e MS, foram disponibilizadas para a identificação da estereoquímica das substâncias isoladas (procedimento não realizado pelo colaborador). No presente estudo, foi possível determinar a configuração absoluta de duas substâncias inéditas, um oxahomoaporfino e uma asarona, sendo denominadas de duguetinina (S6) e a surinasarona (S7) (Figura 78).

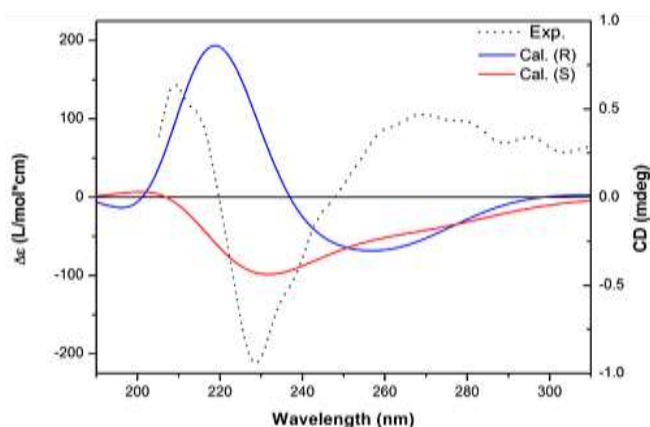


**FIGURA 79.** SUBSTÂNCIAS INÉDITAS DE *D. SURINAMENSIS* SUBMETIDAS A ANÁLISE PARA IDENTIFICAÇÃO DA CONFIGURAÇÃO ABSOLUTA. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Para a determinação da configuração da substância **S6** foi utilizado o método de espectroscopia de dicroísmo circular eletrônico – ECD (medida da absorbância diferencial entre as duas rotações da luz do plano polarizado). Baseado na construção das estruturas enantioméricas, foi realizado a otimização da geometria por um método semi-empírico (Tabela 14 e 15, em apêndice), através dos cálculos computacionais de primeiros princípios (*ab initio*) sendo o TD-DFT com a função de base estendida denominada Pople triplo zeta [6-311++ G (d, p)] (MARENICH, CRAMER & TRUHLAR, 2009). Dessa forma, a configuração computacional (funcional + função de duas funções difusas e duas funções polarizadas = CAM-B3LYP / 6-311++ G (d, p)) pode prever com precisão o sentido e o valor do ângulo de rotação óptica de estruturas assimétricas desconhecidas.

Uma triagem de duas possibilidades das estruturas enantioméricas foram construídas por meio do método de cálculos de estados excitados TD-DFT devido à indisponibilidade de dados ECD para oxahomoaporfínicos. Dessa forma os dois enantiômeros produzem curvas de ECD, sendo que o sinal do efeito Cotton no espectro auxilia na determinação absoluta da substância (KARNIK & HASAN, 2021), como pode ser visto na figura 77.

O espectro de ECD para a substância **S6** exibiu um efeito Cotton negativo no comprimento de onda ( $\lambda$ ) 229 nm ( $\Delta\epsilon = -204^\circ$ ) (Conc= 0.58  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (Figura 77).

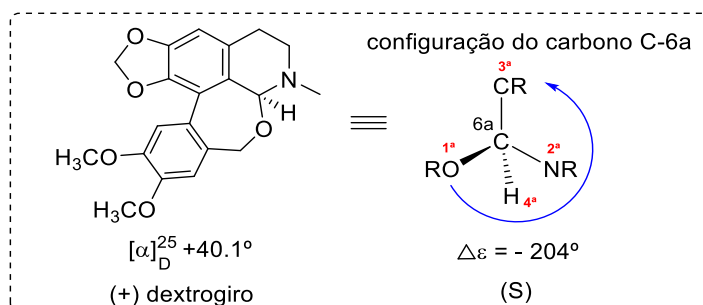


**FIGURA 80.** ECD EXPERIMENTAL E ESPECTROS DE ECD CALCULADOS DA SUBSTÂNCIA DUGUETININA (**S6**). FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

A concordância entre o espectro experimental e os espectros calculado R (linha azul) e S (linha vermelha) (Figura 79) no comprimento de onda em 229 nm indicou a configuração absoluta do único carbono assimétrico da estrutura da duguetinina, sendo o C-6a como S.

Identificar a configuração do carbono assimétrico da estrutura química em estudo não nos diz em que direção a substância gira o plano de polarização, devido muitas substâncias com configuração R ou S podem girar o plano para a direita (dextrorrotatória) ou para a esquerda (levorrotatória). Com isso, o único meio de determinar o sentido do desvio da luz no plano

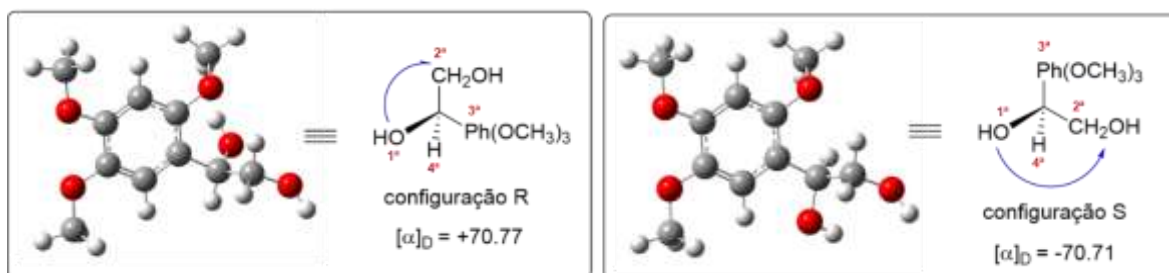
polarizado de substâncias assimétricas é através da análise de rotação específica ( $\alpha$ ). O valor de  $\alpha$  da substância **S6** apresentou valor de  $[\alpha]_D^{25} +40.1^\circ$  (Conc = 0,58  $\mu\text{g}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Dessa forma, a rotação específica para essa substância apresentou valor positivo sendo característico do sentido dextrógiro (Figura 80).



**FIGURA 81.** CONFIGURAÇÃO DO C-6A DA SUBSTÂNCIA 6 E SUA ROTAÇÃO ESPECÍFICA. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

Para a determinação da estereoquímica da substância **S7**, foram construídas estruturas enantioméricas (R e S) e otimizadas através dos cálculos computacionais (Figura 81) (Tabela 16 e 17, em apêndice) usando funcional e conjunto de base CAM-B3LYP / 6-311++ G (d, p).

Baseado nos valores da rotação específica dos enantiômeros construídos R ( $+70,77^\circ$ ) e S ( $-70,71^\circ$ ), o valor real medido apresentou valor de  $[\alpha]_D^{25} +71,6^\circ$  ( $\Delta = 0,83$ ), sendo concordante com o isômero R teórico. Dessa forma, a rotação específica de **S7** foi dextrógiro, e a orientação do grupo C-7-hidroxi apresenta configuração R.



**FIGURA 82.** ESTRUTURAS DOS ENANTIÔMEROS 7R E 7S E ROTAÇÕES ESPECÍFICAS CALCULADAS DA SUBSTÂNCIA **S7**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

#### 5.4. Investigação da citotoxicidade *in vitro* dos extratos, frações e substâncias isoladas de *D. surinamensis*.

A análise da inibição do crescimento celular *in vitro* consistiu na reação redox do indicador resazurina ocasionado pelos extratos, frações e substâncias isoladas que estão sendo avaliados quanto à atividade citotóxica. O resultado do ensaio expresso pelo parâmetro do IC<sub>50</sub> do extrato hexânico (EHCDS), extrato metanólico (EMCDS) e das frações (fração alcaloídica (FACDS), fração neutra (FNCDS) e as subfrações 1FACDS\_1, 2, 4, 5, 6, e 7, bem como as substâncias isoladas (**S1-S5**) oriundas das cascas de *D. surinamensis*, encontram-se na tabela 11 e 12, respectivamente.

Com base no programa de triagem de substâncias citotóxicas utilizado pelo LETI-CPqGM-FIOCRUZ e com os dados da literatura (BOIK, 2001; SUFFNESS & PEZZUTO, 1990), extratos ou frações que apresentam valores de IC<sub>50</sub> < 30 µg.mL<sup>-1</sup> e substâncias isoladas com valores de IC<sub>50</sub> < 4 µg.mL<sup>-1</sup> são consideradas promissoras na investigação de citotoxicidade. Vale ressaltar que foram utilizadas linhagens de células saudias, sendo o PBMC empregado para extratos brutos e MRC-5 para frações e substâncias isoladas.

Através dos valores obtidos para a citotoxicidade *in vitro*, observou-se que o EMCDS foi ativo frente as linhagens de células tumorais humanas HepG2 e K562 com IC<sub>50</sub> de 46,86 e 35,58 µg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Em relação ao potencial citotóxico frente as células saudias, os extratos EHCDS e EMCDS apresentaram valores de IC<sub>50</sub> > 50 µg.mL<sup>-1</sup>, sendo considerados atividades não promissoras. É importante ressaltar que quanto maior o valor IC<sub>50</sub>, melhor é o resultado para as células saudáveis. Com isso, fica evidente que é importante encontrar resultados eficientes com amostras que apresentem potencial citotóxico para as células tumorais e não tóxica para células saudias.

O EMCDS submetido ao tratamento ácido-base resultou nas frações FNCDS e FACDS, foram analisados em concentração única (50 µg.mL<sup>-1</sup>). A FNCDC apresentou citotoxicidade tanto para as células tumorais quanto para as células normais humanas com valores de IC<sub>50</sub> de 22,48, 30,59 e 36,60 µg.mL<sup>-1</sup> para HL60, HCT116 e PBMC, respectivamente. Possivelmente, a citotoxicidade dessa fração deve estar associada à presença de alcaloides e outras substâncias nessa fração, tendo em vista que o tratamento ácido-base não foi totalmente efetivo (Tabela 12).

**TABELA 12.** INIBIÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA *IN VITRO* EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS E NÃO TUMORAIS DOS EXTRATOS E DAS FRAÇÕES DAS CASCAS DE *D. SURINAMENSIS*.

AMOSTRAS	VALORES DE $IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )						
<u>Extratos e frações</u>	HepG2	HL60	K562	MCF7	HCT116	PBMC	MRC5
EHCDS	> 50	ND	> 50	-	-	> 50	-
EMCDS	46,86 43,21 – 50,82	ND	35,58 25,27 – 50,10	-	-	> 50	-
FNCDS	> 50	22,48 17,45 – 28,15	-	> 50	30,59 23,59 – 39,68	-	36,60 17,83 – 75,14
FACDS	15,81 13,12 – 19,06	8,66 6,68 – 11,24	-	8,00 5,98 – 10,72	5,59 4,77 – 6,54	-	9,38 7,76 – 11,35
1FACDS_1	> 50	-	-	> 50	> 50	-	> 50
1FACDS_2	6,03 4,36 – 8,35	-	-	3,90 2,79 – 5,45	11,47 8,85 – 14,47	-	6,32 5,59 – 7,15
1FACDS_4	17,21 17,77 – 25,15	-	-	5,05 3,88 – 6,57	20,31 15,63 – 26,37	-	10,55 8,59 – 12,96
1FACDS_5	26,29 14,15 – 48,85	-	-	8,23 7,48–9,06	33,22 25,97 – 49,08	-	47,93 37,74 – 59,50
1FACDS_6	> 50	-	-	36,22 24,05 – 54,54	> 50	-	-
1FACDS_7	> 50	-	-	> 50	> 50	-	-

**Legenda:** Os dados são apresentados como valores de  $IC_{50}$  em  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e seus respectivos intervalos de confiança de 95% obtidos por regressão não linear de pelo menos três experimentos independentes realizados em duplicata, conforme medido pelo ensaio de Alamar blue após 72 h de incubação. HepG2: células de carcinoma hepatocelular humano; HL-60: células de leucemia promielocítica aguda humana; K562: Leucemia mielocítica Crônica humana; MCF-7: células de adenocarcinoma da mama humana; HCT116: células de carcinoma do cólon humano; PBMC: Célula mononuclear de sangue periférico; MRC-5: fibroblastos de pulmão humano; EHCDS: Extrato Hexânico das Cascas de *D. surinamensis*; EMCDS: Extrato Metanólico das Cascas de *D. surinamensis*; FACDS: Fração Alcaloídica das Cascas de *D. surinamensis*; FNCDS: Fração Neutra das Cascas de *D. surinamensis*.

**TABELA 13.** INIBIÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA *IN VITRO* EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS E NÃO TUMORAIS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS CASCAS DE *D. SURINAMENSIS*.

AMOSTRAS	VALORES DE $IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ( $\mu\text{M}$ ))				
	HepG2	HL60	MCF7	HCT116	MRC5
dicentrinona (S1)	> 25 (74,56)	21,30 (63,52) 13,76 – 32,96	> 25 (74,56)	> 25 (74,56)	> 25 (74,56)
duguetina <i>N</i> -óxido (S2)	10,41 (28,03) 6,76 – 16,04	3,58 (9,64) 2,58 – 4,97	7,92 (21,33) 5,23 – 12,01	3,42 (9,91) 2,78 – 4,20	12,07 (32,52) 8,90 – 17,30
pallidina (S3)	>25 (76,36)	>25 (76,36)	> 25 (76,36)	> 25 (76,36)	> 25 (76,36)
11-metoxiduguesuramina (S4)	> 25 (74,55)	-	> 25 (74,55)	> 25 (74,55)	> 25 (74,55)
duguesuramina (S5)	11,57 (31,66) 8,98 – 14,92	-	12,73 (34,84) 11,73 – 13,82	21,97 (60,13) 11,10 – 33,48	> 25 (68,42)
Doxorrubicina <sup>b</sup> (mol = 543,46)	0,02 (0,04) 0,01 – 0,13	0,02 (0,04) 0,01 – 0,07	0,86 (1,58) 0,53 – 1,42	0,14 (0,26) 0,09 – 0,36	1,28 (2,36) 0,13 – 2,57

**Legenda:** Os dados são apresentados como valores de  $IC_{50}$  em  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  ( $\mu\text{M}$ ) e seus respectivos intervalos de confiança de 95% obtidos por regressão não linear de pelo menos três experimentos independentes realizados em duplicata, conforme medido pelo ensaio de Alamar blue® após 72 h de incubação. HepG2: células de carcinoma hepatocelular humano; HL-60: células de leucemia promielocítica aguda humana; MCF-7: células de adenocarcinoma da mama humana; HCT116: células de carcinoma do cólon humano; MRC-5: fibroblastos de pulmão humano. Subs. S1, S3-S5 foram inativas ( $IC_{50} < 4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

Verificou-se que a atividade citotóxica se concentrou na FACDS com atividade pronunciada frente as células: HCT116 (5,59  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), MCF7 (8,00  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), HL60 (8,66  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), HepG2 (15,81  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). A FACDS também apresentou ação citotóxica frente a célula saudável (MCR5 9,38  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), entretanto não apresentou índices significativos para essa célula quando comparado às demais células tumorais. Com isso, torna-se um fator relevante para a continuidade da espécie em estudo.

Adicionalmente, as subfrações obtidas da 1ª separação cromatográfica apresentaram potencial citotóxico. As frações 1FACDS\_2, 4 e 5 apresentaram ação citotóxica para as células tumorais HepG2, HL60, MCF7 e HCT116. As demais frações (1FACDS\_1, 6 e 7) exibiram valores de  $\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , sendo inativas para as células testadas. A ação citotóxica das frações é concordante com os dados obtidos da análise por MN, sendo a 1FACDS\_2 contendo maior quantidade de substâncias identificadas (15 substâncias) quando comparada a 1FACDS\_4 (9 substâncias) e 1FACDS\_5 (7 substâncias). Possivelmente, as quantidades e as concentrações das substâncias contidas nas frações são indicativas da ação citotóxica.

Levando em consideração que a ação citotóxica das cascas de *D. surinamensis* se concentrou na FACDS, foi realizado o isolamento de substâncias pertencentes à classe dos alcaloides descritos anteriormente e submetido ao ensaio de citotoxicidade.

Das substâncias isoladas, a duguetina *N*-óxido (**S2**) foi mais ativa, exibindo atividade mais pronunciada, com valores de  $\text{IC}_{50}$  de 3,42 (9,21  $\mu\text{M}$ ) e 3,58  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (9,64  $\mu\text{M}$ ) contra linhagens de células de carcinoma de cólon humano HCT116 e leucemia promielocítica aguda humana HL-60, respectivamente. Essa substância mostrou uma ação citotóxica menos ativa para as células MCF7 (7,92  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  / 21,33  $\mu\text{M}$ ) e HepG2 (10,41  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  / 28,03  $\mu\text{M}$ ) quando comparado com as demais células testadas. Além disso, a **S2** apresentou toxicidade para a célula sadia - MCR5 (12,07  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  / 32,50  $\mu\text{M}$ ), indicando baixa seletividade.

O alcaloide duguesuramina (**S4**) apresentou toxicidade para as células em concentrações moderadas (HepG2 - 11,57; MCF7 - 12,73; HCT116 - 21,97  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Todavia, as demais substâncias dicentrinona (**S1**), pallidina (**S3**) e 11-metoxiduguesuramina (**S5**) apresentaram toxicidade nas células testadas em concentrações acima de 25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , caracterizando uma baixa ação citotóxica. É possível observar que a ação citotóxica para o alcaloide **S5** foi mais ativa quando comparado a **S4**. Possivelmente a presença da segunda metoxila no anel D (posição C-11) de **S4** teve influência na diminuição da ação citotóxica, visto que a **S5** apresenta apenas um grupo metoxi em sua estrutura.

É possível correlacionar o efeito citotóxico da substância **S2** para as células testadas em estudo. No trabalho de Silva<sup>a</sup> e colaboradores (2009), essa substância isolada da espécie *D.*

---

*furfuracea* apresentou atividade citotóxica promissora frente algumas linhagens celulares, expresso em IC<sub>50</sub>: linhagem de câncer de cólon (HCT-8 - 0,7 µg.mL<sup>-1</sup>), glioblastoma humano (SF-295 - 0,6 µg.mL<sup>-1</sup>) e câncer de mama (MDA/ MB435 - 2,7 µg.mL<sup>-1</sup>). Dessa forma, é possível sustentar a eficiência dessa substância com os resultados obtidos nesse estudo.

As demais substâncias (com exceção de **S5**) apresentaram-se inativas em testes de citotoxicidade conforme a literatura. Nesse sentido, a substância duguetina *N*-óxido (**S2**) é considerada um dos constituintes presentes na espécie *D. surinamensis* responsáveis pela ação citotóxica do extrato EMCDS e da FACDS. Portanto, os resultados da análise citotóxica obtida neste estudo confirmam que a espécie em estudo é uma fonte de substâncias biologicamente ativas, e conseqüentemente evidencia a importância na continuidade da investigação e isolamento de novas substâncias para a viabilização da produção de novos fármacos com ação citotóxica.



## 6. CONCLUSÃO

Através dos dados obtidos por meio da análise de LC-MS/MS com auxílio da ferramenta Molecular Networking foram sugeridas a identificação 25 alcaloides aporfinos (**1a-25a**), oito benzilisoquinolinos (**1b-8b**), dois oxoaporfinos (**1c-2c**), um tetrahydroisoquinolino (**1d**), três alcaloides tetrahydroprotoberberinos (**1e-3a**) e três protoberberinos (**4e-6e**). Foram isoladas e identificadas cinco substâncias, sendo dois alcaloides aporfinos (dicentrinona (**S1**) e duguetina *N*-óxido (**S2**)), uma morfinandienona (pallidina (**S3**)) e dois novos alcaloides 8-oxohomoaporfinos (11-metoxiduguesuramina (**S4**) e duguesuramina (**S5**)). As substâncias **S6** (duguetinina) e **S7** (surinasarona) apresentaram configuração “S” e “R”, respectivamente, bem como apresentaram rotação específica no sentido dextrógiro. Através dos resultados obtidos na análise de citotoxicidade *in vitro*, a substância **S2** apresentou atividade pronunciada com valores de IC<sub>50</sub> de 3,42, 3,58 µg.mL<sup>-1</sup> para linhagens de células de carcinoma de cólon humano HCT116 e leucemia promielocítica aguda humana HL-60, respectivamente. Com isso, essa substância é considerada um dos principais constituintes presentes na espécie *D. surinamensis* responsáveis pela ação citotóxica do extrato EMCDS (35,58 - 46,86 µg.mL<sup>-1</sup>), FACDS (5,59 - 15,81 µg.mL<sup>-1</sup>) e das frações da 1ª separação cromatográfica (3,90 - 47,93 µg.mL<sup>-1</sup>). Através dos resultados obtidos, é possível comprovar que a espécie *D. surinamensis* é uma fonte promissora de substâncias bioativas com potencial atividade citotóxica ativas, e conseqüentemente evidencia a importância na continuidade da investigação e isolamento de novas substâncias para a viabilização da produção de novos fármacos com ação citotóxica. Além disso, o presente estudo mostra grande importância quimiotaxônomica para a família Annonaceae e, em especial, para o gênero *Duguetia*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACIOLE, S. D. G.; PICCOLI, C. F.; DUQUE, L. J. E.; COSTA, E. V.; NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; MAIA, B. H. L. N. S.; PINHEIRO, M. L. B.; REBELO, M. T. Insecticidal activity of three species of *Guatteria* (Annonaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **The Revista Colombiana de Entomología**, v. 37 p. 262-268, 2011.
- AHMED, S. A.; GOGAL, R. M.; WALSH, J. E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes an alternative to [<sup>3</sup>H] thymidine incorporation assay. **Journal of Immunological Methods**. v. 170, n. 2, p. 211-224, 1994.
- AKHTAR, M. S.; SWAMY, M. K. **Anticancer Plants: Anticancer Plants: Properties and Application. vol. 1.** Singapore: Springer, 2018, 582 p.
- ALALI, F. Q.; LIU, X. X.; McLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 3, p.504-40, 1999.
- ALLARD, P. M.; PÉRESSE, T.; BISSON, J.; GINDRO, K.; MARCOURT, L.; PHAM, V. C.; ROUSSE, F.; LITAUDON, M.; WOLFENDER, J. L. Integration of Molecular Networking and *In-silico* MS/MS fragmentation for Natural Products Dereplication. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 6, p. 3317–3323, 2016.
- ALMEIDA, J. R. G. S.; ARAUJO, E. C. C.; RIBEIRO, L. A. A.; LIMA, J. T.; NUNES, X. P.; LUCIO, A. S. S. C.; BARBOSA FILHO, J. M. Antinociceptive Activity of Ethanol Extract From *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World Journal**, n. 859210, p. 1-6, 2012.
- ALMEIDA, J. R. G. S.; FACANALI, R.; VIEIRA, M. A. R.; MARQUES, M. O. M.; LÚCIO, A. S. S. C.; LIMA, E. O.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Composition and antimicrobial activity of the leaf essential oils of *Duguetia gardneriana* Mart. And *Duguetia moricandiana* Mart. (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 3, p. 275-278, 2010.
- ALMEIDA<sup>a</sup>, J. G. S.; LIMA, J. T.; OLIVEIRA, H. R.; OLIVEIRA, M. R.; MEIRA, P. R.; LÚCIO, A. S.; BARBOSA FILHO, J. M.; QUINTANS JÚNIOR, L. J. Antinociceptive activity of discretamine isolated from *Duguetia moricandiana*. **Natural Product Research**, v. 25, n. 20, p. 1908-1915, 2011.
- ALMEIDA, J. R. G. S.; LÚCIO, A. S. S. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; ANDRADE UCHOA, D. E.; BRAZ-FILHO, R. Alkaloids and a new cinnamate derivative from *Duguetia gardneriana*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 7, p. 456–458, 2007.
- ALMEIDA<sup>b</sup>, J. R. G. S.; OLIVEIRA, M. R.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; RIBEIRO, L. A. A.; LÚCIO, A. S. S. C.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 2, n. 4, p. 367-374, 2011.
- ALVES, D. S.; COSTA, V. A.; MACHADO, A. R. T.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A. *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. Stem bark produces phenylpropanoids lethal to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 127, p.1-9, 2020.
- ALVES, D. S.; MOREJÓN, R. C.; MACHADO, A. R. T.; CARVALHO, G. A.; PINA, O.; OLIVEIRA, D. F. Acaricidal activity of Annonaceae fractions against *Tetranychus tumidus* and *Tetranychus urticae* (Acari: tetranychidae) and the metabolite profile of *Duguetia lanceolata* (Annonaceae) using GC–MS. **Semina Ciências agrárias**. v. 36, n. 6, p. 4119-4132, 2015.
- AMINOV, R. I. A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. **Frontiers in microbiology**, v. 1, n. 134, p. 1-7, 2010.
- 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 *Xylopia amazonica* y *Duguetia vallicola*. **Actualidades Biológicas**, v. 26, p. 11-16, 2004.
- ARAÚJO, I. S. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no estado do Pará.** 2011. Dissertação (mestrado em biotecnologia), Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia-BA. 2011, 103 p.
- ARON, A. T.; GENTRY, E. C.; MCPHAIL, K. L.; NOTHIAS, L. F.; NOTHIAS-ESPOSITO, M.; BOUSLIMANI, A.; PETRAS, D.; GAUGLITZ, J. M.; SIKORA, N.; VARGAS, F.; VAN DER HOOFT, J. J. J.; ERNST, M.; KANG, K. B.;

ACEVES, C. M.; CARABALLO-RODRÍGUEZ, A. M.; KOESTER, I.; WELDON, K. C.; BERTRAND, S.; ROULLIER, C.; SUN, K.; TEHAN, R. M.; BOYA, P. C. A.; CHRISTIAN, M. H.; GUTIÉRREZ, M.; ULLOA, A. M.; MORA, J. Á T.; MOJICA-FLORES, R.; LAKEY-BEITIA, J.; VÁSQUEZ-CHAVES, V.; ZHANG, Y.; CALDERÓN, A. I.; TAYLER, N.; KEYZERS, R. A.; TUGIZIMANA, F.; NDLOVU, N.; AKSENOV, A. A.; JARMUSCH, A. K.; SCHMID, R.; TRUMAN, A. W.; BANDEIRA, N.; WANG, M. Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. **Nature protocols**, v. 15, p. 1954-1991, 2020.

ASARUDDIN, M. R.; KIUCHI, F.; HONDA, G. Trypanocidal constituents of *Desmos dasymachalus*. **Natural Medicines**, v. 55, n. 3, p. 149-151, 2001.

BARINAS, J. A. C.; SUÁREZ, L. E. C. Chemical constituents of *Talauma arcabucoana* (Magnoliaceae): their brine shrimp lethality and antimicrobial activity. **Natural Product Research**, v. 25, n. 16, p. 1497-1504, 2011.

BAZANTE, M.; ALVES, M. A new species of *Duguetia* (Annonaceae) from the Atlantic Forest of northeastern Brazil. **Phytotaxa**, v. 314, n. 2, p. 266-272, 2017.

BENTLEY, K. W. **beta-Phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids**. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 148-170, 2011.

BEVALOT, F.; LEBOEUF, M.; CAVE, A. Alkaloids of the annonaceae part 21 alkaloids of *pachypodanthium staudtii*. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**, v. 11, n. 4, p. 315-322, 1977.

BEVALOT, F.; LEBOEUF, M.; BOUQUET, A.; CAVE, A. Alkaloids of Annonaceae: alkaloids from stem- and root-barks of *Pachypodanthium confine* Engl. and Diels. **Annales Pharmaceutiques Francaises**, v. 35, n. 1-2, p. 65-72, 1977.

BIBA, V. S.; AMILY, A.; SANGEETHA, S.; REMANI, P. Anticancer, antioxidant and antimicrobial activity of Annonaceae family. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 3, p. 1595-1604, 2014.

BLANCHFIELD, J. T.; SANDS, D. P. A.; KENNARD, C. H. L.; BYRIEL, K. A.; KITCHING, W. Characterisation of alkaloids from some Australian *Stephania* (Menispermaceae) species. **Phytochemistry**, v. 63, p. 711-20, 2003.

BOIK, J. **Natural compounds in cancer therapy**. Oregon Medical Press, Minnesota, USA, 1st ed. 2001, 536 p.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BRASTIANOS, H. C.; STURGEON, C. M.; ROBERGE, M.; ANDERSEN, R. J. Inhibition of the G2 DNA damage checkpoint by oliveroline isolated from *Duguetia odorata*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 2, p. 287-288, 2007.

BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, p. 394-424, 2018.

BRITTO, A. C. S.; OLIVEIRA, A. C. A.; HENRIQUES, R. M.; CARDOSO, G. M. B.; BOMFIM, D. S.; CARVALHO, A. A.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; PINHEIRO, M. L. B.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. *In vitro* and *in vivo* antitumor effects of the essential oil from the leaves of *Guatteria friesiana*. **Planta Medica**, v. 78, p. 409-414, 2012.

BUTLER, M. S.; BLASKOVICH, M. A. R.; COOPER, M. A. Antibiotics in the clinical pipeline at the end of 2015. **The Journal of Antibiotics**, v. 70, p. 1-22, 2016.

CARNEVALE NETO, F.; ANDREO, M. A.; RAFTERY, D.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P.; CASTRO-GAMBOA, I., MAIA, B. H. L. N. S.; COSTA, E. V.; VESSECCI, R. Characterization of aporphine alkaloids by electrospray ionization tandem mass spectrometry and DFT calculations. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 2019, p. 1-11, 2019.

CAROLLO, C. A.; HELLMANN, A. R.; SIQUEIRA, J. M. Sesquiterpenoids from the essential oil from leaves of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 647-649, 2005.

CAROLLO<sup>a</sup>, C. A.; HELLMANN-CAROLLO, A. R.; SIQUEIRA, J. M.; ALBUQUERQUE, S. Alkaloids and a flavonoid from aerial parts (leaves and twigs) of *Duguetia furfuracea* – annonaceae. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 51, n. 2, p. 837-841, 2006.

- CAROLLO<sup>b</sup>, C. A.; SIQUEIRA, M.; GARCEZ, W. S.; DINIZ, R.; FERNANDES, N. G. *N*-Nitrosoanonaine and *N*-Nitrosoxylophine, Aporphine Alkaloids from *Duguetia furfuracea*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1222–1224, 2006.
- CASAGRANDE, C.; FERRARI, G. Aporphine alkaloids. I. Alkaloids of a Brazilian *Duguetia*. **Farmaco, Edizione Scientifica**, v. 25, n. 6, p. 442-428, 1970.
- CASTEDO, L.; GRANJA, J. A.; DE LERA, A. R.; VILLAVERDE, M. C. Alkaloids from *Guatteria Goudotiana*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 2781-2783, 1991.
- CAVE, A.; KUNESCH, N.; LEOEUF, M.; BEVALOT, F. Alkaloids of Annonaceae. XXV. Staudine, a new isoquinolic alkaloid of *Pachyopodanthium staudtii* Engl. and Diels. **Journal of Natural Products**, v. 43, p. 203, 1980.
- CAVÉ, A.; LEOEUF, M.; CASSELS, B. K. Chapter 1 Alkaloids from *Guatteria*. **The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology**, v. 35, p. 1-76, 1989.
- CHANAKUL, W.; TUCHINDA, P.; ANANTACHOKE, N.; POHMAKOTR, M.; PIYACHATURAWAT, P.; JARIYAWAT, S.; SUKSEN, K.; JAIPETCH, T.; NUNTASAEN, N.; REUTRAKUL, V. Cytotoxic alkaloids from stems, leaves and twigs of *Dasymaschalon blumei*. **Fitoterapia**, v. 82, n. 7, p. 964-968, 2011.
- CHATROU, L. W.; ROY, F. L. S.; ERKENS, H. J.; RICHARDSON, J. E.; SAUNDERS, R. M. K.; FAY, M. F. The natural history of Annonaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, p. 1-4, 2012.
- CHOKCHAISIRI, R.; CHAICHOMPOO, W.; CHALERMGLIN, R.; SUKSAMRARN, A. Potent antiplasmodial alkaloids and flavonoids from *Dasymaschalon acuminatum*. **Records of Natural Products**, v. 9, n. 2, p. 243-246, 2015.
- COURTOIS, E. A.; PAINE, C. E. T.; BLANDINIÈRES, P. A.; STIEN, D.; BESSIERE, J. M.; HOUEL, E.; BARALOTO, C.; CHAVE, J. Diversity of the Volatile Organic Compounds Emitted by 55 Species of Tropical Trees: a Survey in French Guiana. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 11, p. 1349-1362, 2009.
- COSTA<sup>a</sup>, E. V.; DUTRA, L. M.; JESUS, H. C.; NOGUEIRA, P. C.; MORAES, V. R.; SALVADOR, M. J.; CAVALCANTI, S. C.; SANTOS, R. L.; PRATA, A. P. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oils of *Annona salzmannii* and *A. pickelii* (Annonaceae). **Natural Product Communications**, v. 6, n. 6, p. 907-912, 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.
- COSTA<sup>a</sup>, E. V.; MARQUES, F. A.; PINHEIRO, M. L.; VAZ, N. P.; DUARTE, M. C.; DELARMELENA, C.; BRAGA, R. M.; MAIA, B. H. 7,7-Dimethylaporphine alkaloids from the stem of *Guatteriaopsis friesiana*. **Journal of Natural Products**, v. 72 p. 1516-1519, 2009.
- 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- $\beta$ -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.; PINHEIRO, M. L. B.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; SALVADOR, M. J.; MAIA, B. H. L. N. S.; CABRAL, E. C.; EBERLIN, M. N. Alkaloids from the bark of *Guatteria hispida* and their evaluation as antioxidant and antimicrobial agents. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 6, p. 1180-1183, 2010.
- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; MAIA, B. H. L. N. S.; MARQUES, F. A.; RUIZ, A. L. T. G.; MARCHETTI, G. M.; CARBALHO, J. E.; SOARES, M. B. P.; COSTA, C. O. S.; GALVÃO, A. F. C.; LOPES, N. P.; KOOLEN, H. H. F.; BEZERRA, D. P.; BARISON, A. 7,7-Dimethylaporphine and Other Alkaloids from the Bark of *Guatteria friesiana*. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 1524-1531, 2016.
- COSTA, E. V.; SAMPAIO, M. F. C.; SALVADOR, M. J.; NEPEL, A.; BARISON, A. Chemical constituents from the stem bark of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 769-776, 2015.
- COSTA, E. V.; SOARES, L.N.; PINHEIRO, M. L. B.; MAIA, B. H. L. N. S.; MARQUES, F. A.; BARISON, A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; SOUSA, I. L.; GALAVERNA, R.S.; HEERDT, G.; MORGON, N. H.; ACHO, L. D. R.; LIMA, E. S.; SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F. Guaianolide sesquiterpene lactones and aporphine alkaloids from the stem bark of *Guatteria friesiana*. **Phytochemistry**, v. 145, p. 18-25, 2018.

COSTA, E. V.; TEIXEIRA, S. D.; MARQUES, F. A.; DUARTE, M. C. T.; DELARMELINA, C.; PINHEIRO, M. L. B.; TRIGO, J. R.; MAIA, B. H. L. N. S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of the Amazon *Guatteria* species. **Phytochemistry**, v. 69, n. 9, p. 1895-1899, 2008.

COSTA, R. G. A.; ANUNCIACAO, T. A.; ARAUJO, M. S.; SOUZA, C. A. S.; SALES, C. B. S.; ROCHA, C. A. G.; SOARES, M. B. P.; SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. *In vitro* and *in vivo* growth inhibition of human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells by *Guatteria megalophylla* Diels (Annonaceae) leaf essential oil. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 122, n. 109713, p. 1- 10, 2020.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no laboratório nacional de oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

CUNHA, L. M. A. **Estudo Fitoquímico e Biológico de *Duguetia riparia* (Annonaceae)**. Dissertação (mestrado em Química). Universidade Federal Do Amazonas, Manaus-AM, 2009, 156 p.

DANTAS, E. P.; MONTEIRO, J.; MEDEIROS, L. S.; ROMANELLI, M. M.; AMARAL, M.; TEMPONE, A. G.; LAGO, J. H. G.; SOARES, M. G.; SARTORELL, P. Dereplication of Aporphine Alkaloids by UHPLC-HR-ESI-MS/MS and NMR from *Duguetia lanceolata* St. -Hil (Annonaceae) and Antiparasitic Activity Evaluation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 9, p. 1908-1916, 2020.

DEBOURGES, D.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. LEVY, J. Duguespexine, an *N*-formyl 7-methyl 6a,7-dehydro-aporphine isomeric with duguenaine. **Journal of Natural Products**, v. 48, n. 2, p. 310-312, 1985.

DEBOURGES<sup>a</sup>, D.; ROBLLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVE, A. Alcaloïdes des Annonacees, 77'. Alcaloïdes de *Duguetia spixiana*. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 4, p. 664-673, 1987.

DEBOURGES<sup>b</sup>, D.; ROBLLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. *N*-oxycodamine, alcaloïde de *Duguetia spixiana*, synthèse et RMN de <sup>1</sup>H *N*-oxydes de benzyltétrahydroisoquinoléïnes. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 5, p.852-859, 1987.

DEMBITSKY, V. M.; POOVARODOM, S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; VEARASILP, S.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. The Multiple Nutrition Properties of Some Exotic Fruits: Biological Activity and Active Metabolites. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1671-1701, 2011.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

DIAZ, P. P. D.; DIAZ, A. M. P.; JOSEPH-NATHAN, P. Constituents of *Duguetia stelichantha* Diels. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 16, n. 2, p. 107-108, 1985.

DINIZ, T. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. G.; MEDEIROS, M. A. M. B.; SILVA, M. G.; ALMEIDA, J. R. G. S. Anticonvulsant, sedative, anxiolytic and antidepressant activities of the essential oil of *Annona vepretorum* in mice: Involvement of GABAergic and serotonergic systems. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 1074-1087, 2019.

DORRESTEIN, P. C. Mass spectrometry of small molecules and natural products. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 6, p. 704-705, 2014.

DOYLE, J. A.; SAUQUET, H.; SCHARASCHKIN, T.; THOMAS, A. L. Phylogeny, Molecular and Fossil Dating, and Biogeographic History of Annonaceae and Myristicaceae (Magnoliales). **International Journal of Plant Sciences**, v. 165, n. S4, p. 55-67, 2004.

DURAK, Z. E.; BÜBER, S.; DEVRIM, E.; KOCAOĞLU, H.; DURAK, I. Aqueous extract from *taxus baccata* inhibits adenosine deaminase activity significantly in cancerous and noncancerous human gastric and colon tissues. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10, p. 214-216, 2014.

FAVARETO, R.; TEIXEIRA, M. B.; SOARES, F. A. L.; BELISÁRIO, C. M.; CABRAL, J. F.; SILVA, E. A.; MOIA, T. A.; CARDOZO-FILHO, L. Extraction of bioactive compounds of leaves of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae) using green and organic solvents. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 1, p. 549-556, 2019.

FECHINE<sup>a</sup>, I. M.; LIMA, M. A.; NAVARRO, V. R.; SILVA, M. S.; BARBOSA FILHO, J. M.; MAIA, J. G. S. Alcaloïdes de *Duguetia trunciflora* Maas (Annonaceae). **Revista Brasileira De Farmacognosia**, v. 12, p. 17-19, 2002.

FECHINE<sup>b</sup>, I. M.; NAVARRO, V. R.; CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; GUILHERME S. MAIA, J.; BARBOSA-FILHO, J. M. Alkaloids and volatile constituents from *Duguetia flagellaris*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 3, p. 267–269, 2002.

FERLAY, J.; COLOMBET, M.; SOERJOMATARAM, I.; MATHERS, C.; PARKIN, D. M.; PIÑEROS, M.; ZNAOR, A.; BRAY, F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. **International Journal of Cancer**, v. 00, p. 1–13, 2018.

FISCHER, D.C.H.; GUALDA, N.C.A.; BACHIEGA, D.; CARVALHO, C.S.; LUPO, F.N.; BONOTTO, S.V.; ALVES, M.O.; YOGI, A.; DI SANTI, S.M.; AVILA, P.E.; KIRCHGATTER, K.; HRIHOROWITSCH, P.R.M. *In vitro* screening for antiplasmodial activity of isoquinoline alkaloids from Brazilian plant species. **Acta Tropica**, v. 92, n. 3, p. 261–266, 2004.

FORZZA, R. C. **Catálogo de fungos e plantas do Brasil**. 1 ed. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 1, p. 603–614, 2010.

FRIDLENDER, M.; KAPULNIK, Y.; KOLTAI, H. Plant derived substances with anti-cancer activity: from folklore to practice. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 799, p. 1–9, 2015.

FRIES, R. E. **Annonaceae. In Die Natürlichen Pflanzenfamilien** (A. Engler & K. Prantl, eds.) 2 ed. Berlin, Dunker & Humblot. v. 17, p. 171–171, 1959.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H. P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J. L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; FARKAS, Ö.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOSŁOWSKI, J.; FOX, D. J. Gaussian 09, revision D.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 1994.

GARCEZ, W. S.; SIQUEIRA, J. M.; PEREIRA, N. F. G.; CAROLLO, C. A. Novel santalane sesquiterpenoids from the bark of *Duguetia glabriuscula* - Annonaceae. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 512–516, 2003.

GARCÍA-SALAS, P.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; MORALES-SOTO, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Identification and quantification of phenolic and other polar compounds in the edible part of *Annona cherimola* and its by-products by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. **Food Research International**, v. 78, p. 246–257, 2015.

GERULLIS, H.; WAWROSCHEK, F.; KOHNE, C. H.; ECKE, T. H. (2017) Vinflunine in the treatment of advanced urothelial cancer: clinical evidence and experience. **Therapeutic Advances in Urology**, v. 9, p. 28–35, 2017.

GLASER, R.; BERNSTEIN, M. A. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR studies on the conformation of *N*-methyl diastereomers of (+)-glaucine hydrotrifluoroacetate, an aporphine alkaloid salt. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**, v. 2, n. 12, p. 2047–2053, 1991.

GOELDI, M. E. P. Livro de resumos do Seminário de Iniciação Científica do Museu Paraense Emílio Goeldi. Costa Amazônica: conhecer para preservar – XXVII PIBIC e III PIBITI. In: MORAES, A. A. B.; ANDRADE, E. H. A. Composição química e avaliação da atividade antioxidante e toxicidade do óleo essencial de espécies de *Duguetia* e *Guatteria* (Annonaceae). **Seminário de Iniciação Científica do MPEG – XXVII PIBIC e III PIBITI**. 24 a 27 de junho de 2019. Belém-PA– Belém, v. 27, p. 97, 2019. Disponível em <<https://www.museu-goeldi.br/assuntos/pesquisa-e-inovacao/bolsas-1/pibic-1/livro-de-resumos-pibic-2019.pdf>>. Acesso em 21 de out. de 2019.

GÓES, L. M.; ALMEIDA, J. R. G. S.; COSTA, M. F. D.; COSTA, S. L.; LUCIO, A. S. S. C.; CAMARA, C. A.; EL-BACHÁ, R. S. **Protective effects of the alkaloid discretamine and a diplotropin derivative on catechol-induced toxicity to SH-SY5Y cells**. In: XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq), Águas de Lindóia, 2008.

GONÇALVES, G. L. P.; DOMINGUES, V. C.; RIBEIRO, L. P.; FERNANDES, J. B.; FERNANDES, M. F. G.; FORIM, M. R.; VENDRAMIMA, J. D. Compounds from *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae) bioactive against **Investigação fitoquímica com auxílio de molecular networking e atividade citotóxica de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae)**

*Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 360–367, 2017.

GONÍ, O.; SANCHEZ-BALLESTA, M. T.; MERODIO, C.; ESCRIBANO, M. I. Ripening related defense proteins in *Annona* fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, p. 169–173, 2009.

GOTTLIEB<sup>b</sup>, O. R.; MAGALHÃES, A. F.; MAGALHÃES, E. G.; MAIA, J. G. S.; MARSAIOLI, A. J. Oxoaporphine alkaloids from *Duguetia eximia*. **Phytochemistry**, v. 17, p. 837–838, 1978.

GRANDTNER, M. M.; CHEVRETE, J. **Dictionary of trees, Volume 2. South America Nomenclature, Taxonomy and Ecology**. Quebec, Canada: Elsevier, 2014, 1128 p.

GUINAUDEAU, H.; FREYER, A. J.; SHAMMA, M. The stereochemistry of reduced proaporphines. **Tetrahedron**, v. 43, p.1759-1764, 1987.

GUINAUDEAU, H.; LEOEUF, M.; CAVE, A. Aporphine Alkaloids. **Lloydia**, v. 38, p. 275-339, 1975.

GUINAUDEAU, H.; LEOEUF, M. CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, II. **Journal of Natural Products**, v. 42, p. 325-360, 1979.

GUINAUDEAU, H.; LEOEUF, M. CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, III. **Journal of Natural Products**, v. 46, p. 761-835, 1983.

GUINAUDEAU, H.; LEOEUF, M. CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, IV. **Journal of Natural Products**, v. 51, p. 389-474, 1988.

GUINAUDEAU, H.; LEOEUF, M. CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids, V. **Journal of Natural Products**, v. 57, p. 1033-1135, 1994.

HAGGERTY, R.; MARTI, E.; ARGERICH, A.; SCHILLER, D. V.; GRIMM, N. B. Resazurin as a “smart” tracer for quantifying metabolically active transient storage in stream ecosystems. **Journal of geophysical research**, v. 114, n. 3014, p. 1-14, 2009.

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants of the World**. University Press, Oxford, p 30-31, 1978.

HOEKSTRA, P. H.; WIERINGA, J. J.; SMETS, E.; BRANDÃO, R. D.; LOPES, J. C.; ERKENS, R. H. J.; CHATROU, L. W. Correlated evolutionary rates across genomic compartments in Annonaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 114, p. 63-72, 2017.

HONGTHONG, S.; KUHAKARN, C.; REUTRAKUL, V.; JARIYAWAT, S.; PIYACHATURAWAT, P.; NUNTASAEN, N.; JAIPETCH, T. Cytotoxic alkaloids from leaves and twigs of *Dasymaschalon sootepense*. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 7, p. 929-932, 2014.

HOUSMAN, G.; BYLER, S.; HEERBOTH, S.; LAPINSKA, K.; LONGACRE, M.; SNYDER, N.; SARKAR, S. Drug Resistance in Cancer: An Overview. **Cancers**, v. 6, p. 1769-1792, 2014.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2019, 120 p.

IRITI, M.; FAORO, F. Chemical Diversity and Defence Metabolism: How Plants Cope with Pathogens and Ozone Pollution. **International Journal of Molecular Sciences**, v.10, n. 8, p. 3371–3399, 2009.

İSAOĞLU, M.; GÜLLÜCE, M.; KARADAYI, M. Plant-Derived Natural Products as Multidrug Resistance Modulators in Cancer Therapy. **Anatolian Journal of Biology**, v. 2, p. 1-51, 2020.

JEONG<sup>a</sup>, E. K.; LEE, S. Y.; YU, S. M.; PARK, N. H.; LEE, H. S.; YIM, Y. H.; HWANG, G. S.; CHEONG, C.; JUNG, J.; HONG, J. Identification of structurally diverse alkaloids in *Corydalis* species by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 26, p. 1661-1674, 2012.

JEONG<sup>b</sup>, E. K.; LEE, S. Y.; YU, S. M.; PARK, N. H.; LEE, H. S.; YIM, Y. H.; HWANG, G. S.; CHEONG, C.; JUNG, J. H.; HONG, J. Identification of structurally diverse alkaloids in *Corydalis* species by liquid chromatography / electro spray ionization tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 26, p. 1661–1674, 2012.

- JI, Y.; WANG, C.; ZHANG, Y.; ZHANG, C.; ZHANG, X. Glutinosine A: A New Morphinandienone Alkaloid from *Litsea glutinosa*. **Record Natural Products**, v. 13, n. 4, p. 363-366, 2019.
- JIMENEZ, P. C.; WILKE, D. V.; COSTA-LOTUFO, L. V. Marine drugs for cancer: surfacing biotechnological innovations from the oceans. **Clinics**, v. 73, p. 1-7, 2018.
- JÜRGENS, 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.
- KARNIK, A. V.; HASAN, M. Chapter 11 - Chiral analytical chemistry. **Stereochemistry**, p. 465-513, 2021.
- KESSLER, P.J.A. Annonaceae. In: KUBITZKI, K.; ROHWER, J.G.; BITTRICH, V. (Ed.). **The families and genera of vascular plants. II. Flowering plants. Dicotyledons. Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families**. Berlin: Springer Verlag, p. 93-129, 1993.
- KOONA, P.; BOUDA, H. Activity of 2,4,5-trimethoxystyrene from *Pachypodanthium staudtii* against two stored product pests. **Tropical Science**, v. 44, n. 3, p. 120-123, 2006.
- LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; BHAUMIK, P.K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. The phytochemistry of the Annonaceae. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2783-2813, 1982.
- LEE, S. S.; YANG, H. C. Isoquinoline Alkaloids from *Neolitsea Konishii*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 39, p. 189-194, 1992.
- LEMOS, D. E. C. V.; CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; LIMA, E. A.; ALVES, A. F.; LUCIO, A. S. S. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MASCARENHAS, S. R. Anti-inflammatory Effect of Discretamine, a Protoberberine Alkaloid Isolated from *Duguetia moricandiana*. **Natural Product Communications**, v. 12, n. 10, p. 1595-1597, 2017.
- LIMA, B. R.; SILVA, F. M. A.; SOARES, E. R.; ALMEIDA, R. A.; SILVA-FILHO, F. A.; BARISON, A.; COSTA, E. V.; KOOLEN, H. H. F.; SOUZA, A. D. L.; PINHEIRO, M. L. B. Integrative Approach Based on Leaf Spray Mass Spectrometry, HPLC-DAD-MS/MS, and NMR for Comprehensive Characterization of Isoquinoline-Derived Alkaloids in Leaves of *Onychopetalum amazonicum* R. E. Fr. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 31, n. 1, p. 79-89, 2020.
- LOBÃO, A. Q. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Annonaceae. **Rodriguésia**, v. 67, n. 5, p. 1205-1209, 2016.
- LOBÃO, A. Q.; MELLO-SILVA, R.; FORZZA, R. C. *Gutteria* (Annonaceae) da Floresta Atlântica brasileira. **Rodriguésia**, v. 63, n. 4, p. 1039-1064, 2012.
- LOPES, J. C.; MELLO-SILVA, R. Diversidade e caracterização das Annonaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 125-131, 2014.
- LOPES-JÚNIOR, L. C.; LIMA, R. A. G. Cuidado ao câncer e a prática interdisciplinar. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 35 n. 1, p. 1-3, 2019.
- LÚCIO, A. S. S. C.; ALMEIDA, J. R. G. S.; CUNHA, E. V. L.; TAVARES, J. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Chapter Five: Alkaloids of the Annonaceae: Occurrence and a Compilation of Their Biological Activities. **The Alkaloids: Chemistry and Biology**, v. 74, p. 233-409, 2015.
- MAAS, P.; LOBÃO, A.; RAINER, H. 2015. Annonaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110219>>. Acesso em: 05 Set. 2018.
- MAAS, P. J. M.; KAMER, H. M.; JUNIKKA, L.; 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. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Annonaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 617-662, 2007.
- MAAS, P. J. M.; WESTRA, L. Y. T. ARIAS-GUERRERO, S.; LOBÃO, A. Q.; SCHARF, U.; ZAMORA, N. A.; ERKENS, R. H. J. Confronting a morphological nightmare: revision of the neotropical genus *Gutteria* (Annonaceae). **Blumea**, v. 60, p. 211-219, 2015.



- MAAS, P. J. M.; WESTRA, L. Y. T.; CHATROU, L. W. **Flora Neotropica Monograph 88: "Duguetia (Annonaceae)"**. New York: Jardim botânico de New York. v. 88, 2003. 275 p.
- MACABEO, A. P. G.; RUBIOA, P. Y. M.; HIGUCHI, T.; UMEZAWA, N.; FADERL, C.; BUDDE, S.; BANGCAYA, P. S.; ALEJANDRO, G. J. D. Highly oxygenated antiausterity agents from the leaves of *Uvaria* sp. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, p. 1967-1971, 2017.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; CARREIRA, L. M. M.; OLIVEIRA, J. Essential Oil Composition from *Duguetia* Species (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, p. 60-63, 2006.
- MAITRA, U.; STEPHEN, C.; CIESLA, L. M. Drug discovery from natural products – Old problems and novel solutions for the treatment of neurodegenerative diseases. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 210, p. 1-14, 2022.
- MANOSALVA, L.; MUTIS, A.; QUIROZ, A.; DÍAZ, J.; URZÚA, A.; FAJARDO, V. Identification of isoquinoline alkaloids from berberis microphylla by HPLC ESI-MS/MS. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, p. 324–335, 2014.
- MARCOVITCH, J.; PINSKY, V. Bioma Amazônia: atos e fatos. **Estudos avançados**, v. 34 n. 100, p. 83-106, 2020.
- MARENICH, A. V.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. J. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, p. 6378-6396, 2009.
- MARSAIOLI, A. J.; MAGALHÃES, A. F.; RÚVEDA, E. A.; REIS, F. A. M. <sup>13</sup>C NMR analysis of some oxoaporphine alkaloids. **Phytochemistry**, v. 19, n. 5, p. 995–997, 1980.
- MATHOUET, H.; ELOMRI, A.; LAMEIRAS, P.; DAÏCH, A.; VÉRITÉ, P. An alkaloid, two conjugate sesquiterpenes and a phenylpropanoid from *Pachypodanthium confine* Engl. and Diels. **Phytochemistry**, v. 68, n. 13, p. 1813-1818, 2007.
- MATOS, M. F. C.; LEITE, L. I. S. P.; BRUSTOLIM, D.; SIQUEIRA, J. M.; CAROLLO, C. A.; HELLMANN, A. R.; SILVA, D. B. Antineoplastic activity of selected constituents of *Duguetia glabriuscula*. **Fitoterapia**, v. 77, n. 3, p. 227–229, 2006.
- MELLO-SILVA, R.; LOPES, J.C.; PIRANI, J.R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Annonaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 30, n. 1, p. 37-56, 2012.
- MOUDI, M.; GO, R.; YIEN, C. Y. S.; NAZRE, M. Vinca Alkaloids, **International Journal of Preventive Medicine**, v. 4, n. 11, p. 1231–1235, 2013.
- MUNIER, R., *apud* MERCK. 1971. **Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography**. E. Merck, Darmstadt, Germany, 118p, 1953.
- MUHAMMAD, I.; DUNBAR, D. C.; TAKAMATSU, S.; WALKER, L. A.; CLARK, A. M. Antimalarial, Cytotoxic, and Antifungal Alkaloids from *Duguetia hadrantha*. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 559–562, 2001.
- MUKHTAR, M. R.; HADI, A. H.; LITAUDON, M.; AWANG, K. Morphinandienone alkaloids from *Dehaasia longipedicellata*. **Fitoterapia**, v. 75, n. 7-8, p. 792-794, 2004.
- NAKAMURA, S.; NAKASHIMA, S.; TANABE, G.; ODA, Y.; YOKOTA, N.; FUJIMOTO, K.; MATSUMOTO, T.; SAKUMA, R.; OHTA, T.; OGAWA, K.; NISHIDA, S.; MIKI, H.; MATSUDA, H.; MURAOKA, O.; YOSHIKAWA, M. Alkaloid constituents from flower buds and leaves of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*, Nymphaeaceae) with melanogenesis inhibitory activity in B16 melanoma cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 779-787, 2013.
- NARDELLI, V. B.; SOUZA, C. A. S.; CHAAR, J. S.; KOOLEN, H. F. K.; SILVA, F. M. A.; COSTA, E. V. Isoquinoline-derived alkaloids and one terpene lactone from the leaves of *Duguetia pycnastera* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 94, n. 104206, p. 1-4, 2021.

NANTAPAP, S.; SANGRUENG, K.; NUNTASAEN, N.; MEEPOWPAN, P.; POMPIMON, W. Chemical constituents from aerial parts of *Polyalthia evecta* (Pierre) Finet & Gagnep. var. *attopeuensis*, **International Journal of Chemical Sciences**, v. 13, n. 4, p. 1705-1712, 2015.

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

NEGRI, R. Polyacetylenes from terrestrial plants and fungi: Recent phytochemical and biological advances. **Fitoterapia**, v. 106, p. 92-109, 2015.

NGADJUI, B. T.; LONTSI, D.; AYAFOR, J. F.; SONDEGAM, B. L. Pachypophyllin and pachypostaudins A and B: three bisnorlignans from *pachypodanthium staudtii*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 1, p. 231-234, 1989.

NGANTCHOU, I.; NKWENGOUA, E.; NGANSO, Y.; NYASSE, B.; DENIER, C.; HANNAERT, V.; SCHNEIDER, B. Antitrypanosomal activity of polycarpol from *Piptostigma preussi* (Annonaceae). **Fitoterapia**, v. 80, n. 3, p. 188-191, 2009.

NGOUONPE, A. W.; MBOBDA, A. S. W.; HAPPI, G. M.; MBIANTCHA, M.; TATUEDOM, O. K.; ALI, M. S.; LATEEF, M.; TCHOUANKEU, J. C.; KOUAM, S. F. Natural products from the medicinal plant *Duguetia staudtii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 83, p. 22-25, 2019.

NGUYEN, D. D.; WU, C. H.; MOREE, W. J.; LAMSA, M. A.; MEDEMA, M. H.; ZHAO, X.; GAVILAN, R. G.; APARICIO, M.; ARENCIO, L.; JACKSON, C.; BALLESTEROS, J.; SANCHEZ, J.; WATROUS, J. D.; MEHNAZ, S.; MOT, R.; SHANK, E. A.; CHARUSANTI, P.; NAGARAJAN, H.; DUGGAN, B. M.; MOORE, B. S.; BANDEIRA, N.; PALSSON, B.; POGLIANO, K.; GUTIÉRREZ, M.; DORRESTEIN, P. C. MS/MS networking guided analysis of molecule and gene cluster families. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 2611-2620, 2013.

NICOLAOU, K. C.; RIGOL, S. A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis. **The Journal of Antibiotics**, v. 71, n. 2, p. 153-184, 2017.

NUNES, C. R.; BERNARDES, N. R.; GLÓRIA, L. L.; OLIVEIRA, D. B. Flavonoides em Annonaceae: ocorrência e propriedades biológicas. **Vértices**, v. 14, n. 1, p. 39-57, 2012.

OLIVEIRA, D. R.; COSTA, A. L. M. A.; LEITÃO, G. G.; CASTRO, N. G.; SANTOS, J. O.; LEITÃO, S. G. Estudo etnofarmacognóstico da saracuramirá (*Ampelozizyphus amazonicus* Ducke), uma planta medicinal usada por comunidades quilombolas do Município de Oriximiná-PA, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, p. 383 – 392, 2011.

OLIVEIRA, J. G. S. **Estudo da Biodiversidade de Fungos Endofíticos, Potencial Citotóxico e Antimicrobiano de *Duguetia flagellaris* Huber**. Dissertação (mestrado em biotecnologia) Universidade do Estado do Amazonas, Manaus-AM. 2013. 69 p.

OLIVEIRA, R. N. **Estudo fitoquímico e investigação da atividade citotóxica das cascas do caule de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae)**. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 2017, 125 p.

OLIVEIRA, R. N.; OLIVEIRA, J. G. S.; MAIA, J. M. F.; WEBBER, A. C.; SOUZA, A. D. L.; LIMA, E. S.; SOUZA, A. Q. L. *Duguetia flagellaris* Huber: Cytotoxic and Antimicrobial Potential. Ln: **45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**: Natal-RN, 2016.

OLIVEIRA, R. N.; SILVA, F. M. A.; BALIZA, I. R. S.; BOMFIM, L. M.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P.; ALMEIDA, J. R. G. S.; KOOLEN, H. H. F.; COSTA, E. V. Duguetinine, an isoquinoline-derived alkaloid with na unprecedented skeleton from the bark of *Duguetia surinamensis* (Annonaceae). **41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: Construindo o Amanhã**: Foz do Iguaçu-PR, 2018.

PADMANABHAN, P.; PALIYATH, G. Annonaceous Fruits. **Encyclopedia of Food and Health**, p.169-173, 2016.

PAREDES, A.; HASEGAWA, M.; PRIETO, F.; MENDEZ, J.; RODRIGUEZORTEGA, M.; RODRIGUE-ORTEGA, M. Biological activity of *Guatteria cardoniana* fractions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 129-132, 2001.

PAZ, W. H. P.; ALMEIDA, R. A.; BRAGA, N. A.; SILVA, F. M. A.; ACHO, L. D. R.; LIMA, E. S.; BOLETI, A. P. A.; SANTOS, E. L.; ANGOLINI, C. F. F.; BATAGLION, G. A.; KOOLEN, H. H. F. Remela de cachorro (*Clavija*

*lancifolia* Desf.) fruits from South Amazon: Phenolic composition, biological potential, and aroma analysis. **Food Research International**, v. 109, p. 112-119, 2018.

PÉREZ, E. G.; CASSELS, B. K. Alkaloids from the Genus *Duguetia*. In: CORDELL, G. A. **The alkaloids: Chemistry and Biology**. Chennai: Academic Press v. 68, p. 83-156, 2010.

PÉREZ, E. G.; SÁEZ, J.; CASSELS, B. K. A convenient, renewable source of the anxiolytic proaporphine alkaloid glaziovine: *Duguetia vallicola* leaves. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 50, n. 3, p. 553-557, 2005.

PÉREZ, E.; SÁEZ, J.; BLAIR, S.; FRANCK, X.; FIGADÈRE, B. Isoquinoline Alkaloids from *Duguetia vallicola* stem bark with antiplasmodial activity. **Letters in Organic Chemistry**, v. 1, p. 102-104, 2004.

PINHEIRO, R. S.; RABELO, S. V.; OLIVEIRA, A. P.; GUIMARAES, A. L.; MORAES-FILHO, M. O.; COSTA, M. P.; PESSOA, C. O.; LÚCIO, A. S. S. C.; ALMEIDA, J. R. G. S. Phytochemical screening and evaluation of cytotoxicity of stem bark extracts of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 4, p. 793-798, 2016.

PINHO, F. V. S. A.; CRUZ, L. C.; RODRIGUES, N. R.; WACZUK, E. P.; SOUZA, C. E. S.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; ATHAYDE, M. L.; BOLIGON, A. A.; FRANCO, J. L. F.; POSSER, T.; MENEZES, I. R. A. Phytochemical Composition, Antifungal and Antioxidant Activity of *Duguetia furfuracea* A. St.-Hill. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, n. 7821051, p. 1-9, 2016.

PUMMANGURA, S.; MCLAUGHLIN, J. L.; DAVID, D. V.; COOKS, R. G. J. Cactus Alkaloids. XLIX. New Trace Alkaloids (Dehydrosalsolidine and Heliamine) From the Saguaro, *Carnegiea gigantea*, and Confirmation by Mikes (MS/MS). **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 277-282, 1982.

QING, Z.; XU, Y.; YU, L.; LIU, J.; HUANG, X.; TANG, Z.; CHENG, P.; ZENG, J. Investigation of fragmentation behaviours of isoquinoline alkaloids by mass spectrometry combined with computational chemistry. **Scientific Reports**, v. 10, n. 733, p. 1-13, 2020.

QUINN, R. A.; NOTHIAS, L. F.; VINING, O.; MEEHAN, M.; ESQUENAZI, E.; DORRESTEIN, P. C. Molecular Networking As a Drug Discovery, Drug Metabolism, and Precision Medicine Strategy. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 38, n. 2, p. 143-154, 2017.

RAHEEM, D. J.; RAWFIKE, A. F.; ABDELMOHSEN, U. R.; EDRADA-EBEL, R. A.; FITZSIMMONS-THOSS, V. Application of metabolomics and molecular networking in investigating the chemical profile and antitrypanosomal activity of British bluebells (*Hyacinthoides non-scripta*). **Scientific Reports**, v. 9, n. 2547, p. 1-13, 2019.

RAITH, K.; NEUBERT, R.; POEAKNAPO, C.; BOETTCHER, C.; ZENK, M. H.; SCHMIDT, J. Electrospray tandem mass spectrometric investigations of morphinans. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 14, n. 11, p. 1262-1269, 2003.

RAMOS, A. E. F.; LAURENT, E.; ERWAN, P.; PIERRE, C.; MEHDI, A. B. Natural products targeting strategies involving molecular networking: different manners, one goal. **Natural Product Reports**, v. 36, n. 7, p. 960-980, 2019.

RASAMIZAFY, S.; HOCQUEMILLER, R.; CAVE, A.; FOURNET, E. A. Alcaloïdes des Annonacées, 78. Alcaloïdes des écorces d'un *Duguetia spixiana* de Bolivie. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 4, p. 674-679, 1987.

RICE, K. C.; RIPKA, W. C.; REDEN, J.; BROSSI, A. Pavinan and isopavinan alkaloids. Synthesis of racemic and natural thalidine, bisnorargemonine, and congeners from *N*-norreticuline. **Journal of Organic Chemistry**, v. 45, p. 601-607, 1980.

RIJKERS, T.; PONS, T. L.; BONGER, F. The effect of tree height and light availability on photosynthetic leaf traits of four neotropical species differing in shade tolerance. **Functional Ecology**, v. 14, n. 1, p. 77-86, 2000.

ROBLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. Alcaloïdes des Annonacées, XLIV. Alcaloïdes de *Duguetia obovata*. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 6, p. 862-873, 1983.

ROBLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. Aporphinic alkaloids originally from *Duguetia calycina* Benoist, Annonacea. **Comptes Rendue L' Academie des Sciences Series II**, v. 293, n. 5, 1981.

ROBLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; JACQUEMIN, H.; CAVÉ, A. Alkaloids of the Annonaceae. XVIV. Alkaloids of *Duguetia calycina*. **Plantes medicinales et phytotherapie**, v. 12, p. 259-266, 1978.

RODRIGUES, A. C. B. C.; BOMFIM, L. M.; NEVES, S. P.; MENEZES, L. R. A.; DIAS, R. B.; SOARES, M. B. P.; PRATA, A. P. N.; ROCHA, C. A. G.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. Antitumor Properties of the Essential Oil From the Leaves of *Duguetia Gardneriana*. **PlantaMed**, v. 81, n. 10, p. 798-803, 2015.

RODRIGUES, S.; SILVA, E. O.; BRITO, E. S. **Exotic Fruits**. 1 ed. London: Elsevier, v. 1, 2018, 466 p.

RODRIGUES, W. Competitividade e mudança institucional na cadeia produtiva de plantas medicinais no Brasil. **Interações (Campo Grande)**, v. 17, n. 2, p. 267-277, 2016.

RODRIGUEZ, M.; BASTIDAS, E.; RODRIGUEZ, M.; LUCENA, E.; CASTILLO, A.; HASEGAWA, M. Aporphine alkaloids from *Guatteria stenopetala* (Annonaceae). **Natural Product Communications**, v. 3, n. 4, p. 515-518, 2008

SALDANHA, A. A.; VIEIRA, L.; RIBEIRO, R.; THOMÉ, R. G.; SANTOS, H. B. D.; SILVA, D. B.; CAROLLO, C. A.; OLIVEIRA, F. M.; LOPES, D. O.; SIQUEIRA, J. M.; SOARES, A. C. Chemical composition and evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Duguetia furfuracea* essential oil: Effect on edema, leukocyte recruitment, tumor necrosis factor alpha production, iNOS expression, and adenosinergic and opioidergic systems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, n.1, p. 325-336, 2019.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance, **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 567-573, 2000.

SANTOS, L. S.; SILVA, V. R.; MENEZES, L. R. A.; SOARES, M. B. P.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. Xylophine induces oxidative stress and causes G2/M phase arrest, triggering caspase-mediated apoptosis by p53-independent pathway in HCT116 cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1-13, 2018.

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

SANTOS<sup>a</sup>, M. F. C.; FONTES, J. E. N.; DUTRA, L. M.; BOMFIM, L. M.; COSTA, C. O. D.; MORAES, V. R. S.; BARISON, A.; SOARES, M. B. P.; SILVA, F. M. A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; KOOLEN, H. H. F.; BEZERRA, D. P.; COSTA, E. V. Alkaloids from leaves of *Guatteria pogonopus* (annonaceae) and their cytotoxicities. **Quimica nova**, v. 41, p. 884-890, 2018.

SANTOS<sup>b</sup>, R. C.; SOUZA, A. V.; ANDRADE-SILVA, M.; CRUZ, V.; APARECIDA, C.; KASSUYA, L.; ANDRÉA, C.; CARDOSO, L.; VIEIRA, C.; SAMARA, A.; FORMAGIO, N. Antioxidant, anti-rheumatic and anti-inflammatory investigation of extract and dicentrinone from *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil) Benth. & Hook. f. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 211, p. 9-16, 2018.

SCHMIDT, J.; RATH, K.; BOETTCHER, C.; ZENK, M. H. Analysis of Benzylisoquinoline-Type Alkaloids by Electrospray Tandem Mass Spectrometry and Atmospheric Pressure Photoionization. **European Journal of Mass Spectrometry**, v. 11, p. 325-333, 2005.

SERRA, F. C.; LIMA, P. B.; ALMEIDA JR, E. B. Species richness in restinga vegetation on the eastern Maranhão State, Northeastern Brazil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 3, p. 271 - 280, 2016.

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, p. 79-82, 2013.

SILVA, F. M. A.; BATAGLION, G. A.; ALMEIDA, R. A.; HEERDT, G.; SOUSA, I. L.; SILVA FILHO, F. A.; ALENCAR, D. A.; COSTA, E. V.; SOUZA, A. D. L.; PINHEIRA, M. L. B.; MORGON, N. H.; KOOLEN, H. F. Positive electrospray ionization ion trap mass spectrometry and *ab initio* computational studies of the multi-pathway fragmentation of oxoaporphine alkaloids. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 418, p. 30-36, 2017.

SILVA, A. F.; RABELO, M. F. R.; ENOQUE, M. M. Diversidade de angiospermas e espécies medicinais de uma área de Cerrado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1016-1030, 2015.

SILVA, C. R.; VIEIRA, P. M.; SANTOS, S. C.; CHEN-CHEN, L. Assessment of *Duguetia furfuracea* genotoxic and cytotoxic activity in bacteria and mice. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 1, p. 149-156, 2012.

SILVA<sup>a</sup>, D. B.; TULLI, E. C.; MILITÃO, G. C.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; ALBUQUERQUE, S.; SIQUEIRA, J. M. The antitumoral, trypanocidal and antileishmanial activities of extract and alkaloids isolated from *Duguetia furfuracea*. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 1059-1063, 2009.

SILVA, D. B.; TULLI, E. C. O.; GARCEZ, W. S.; NASCIMENTO, E. A.; SIQUEIRA, J. M. Chemical Constituents of the Underground Stem Bark of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1560-1565, 2007.

SILVA<sup>b</sup>, D. F.; PORTO, D. L.; ARAÚJO, I. G.; DIAS, K. L.; CAVALCANTE, K. V.; VERAS, R. C.; TAVARES, J. F.; CORREIA, N. A.; GUEDES, D. N.; SILVA, M. S.; MEDEIROS, I. A. Endothelium-derived nitric oxide is involved in the hypotensive and vasorelaxant effects induced by discretamine in rats. **Pharmazie**, v. 64, n. 5, p. 327-231, 2009.

SILVA<sup>a</sup>, F. M. A.; BATAGLION, A. G.; ALMEIDA, R. A.; HEERDT, G.; SOUSA, I. L.; SILVA FILHO, F. A.; ALENCAR, D. C.; COSTA, E. V.; SOUZA, A. D. L.; PINHEIRO, M. L. B.; MORGON, N. H.; KOOLEN, H. H.F. Positive electrospray ionization ion trap mass spectrometry and ab initio computational studies of the multi-pathway fragmentation of oxoaporphine alkaloids. **Internacional Journal of Mass Spectrometry**, v. 418, p. 30-36, 2016.

SILVA<sup>b</sup>, F. M. A.; SILVA FILHO, F. A.; LIMA, B. R.; ALMEIDA, R. A.; SOARES, E. R.; KOOLEN, H. H. F.; SOUZA, A. D. L.; PINHEIRO, M. L. B. Chemotaxonomy of the Amazonian *Unonopsis* Species Based on Leaf Alkaloid Fingerprint Direct Infusion ESI-MS and Chemometric Analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 599-604, 2016.

SILVA<sup>c</sup>, F. M. A.; SILVA FILHO, F. A.; DE LIMA, B. R.; DE ALMEIDA, R. A.; MENDONÇA, D. M.; PEREIRA JUNIOR, R. C.; DUTRA, L. M.; BARISON, A.; KOOLEN, H. H. F.; DE SOUZA, A. D. L.; PINHEIRO, M. L. B. (+)-N-Formylnorglaucone Rotamers from *Unonopsis stipitata* Diels. **Helvetica Chimica Acta**, v. 99, p. 494-498, 2016.

SILVA<sup>a</sup>, F. M. A.; LIMA, B. R.; SOARES, E. R.; ALMEIDA, R. A.; SILVA FILHO, F. A.; SOUZA, A. D.; PINHEIRO, M. L.; CORRÊA, W. R.; SALVADOR, M. J.; SOUZA, A. Q.; KOOLEN, H. H. Polycarpol in *Unonopsis*, *Bocageopsis* and *Onychopetalum* Amazonian species: chemosystematical implications and antimicrobial evaluation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n.1, p.11-15, 2015.

SILVA<sup>c</sup>, M. S.; TAVARES, J. F.; QUEIROGA, K. F.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ALMEIDA, J. R. G.; SILVA, S. A. S. Alcaloides e outros constituintes de *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.

SILVA<sup>b</sup>, L. R.; VALE, M. L.; CALOU, I. B. F.; DEUS, M. S. M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonoids: Chemical composition, medical actions and toxicity. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1 p. 36-43, 2015.

SILVEIRA, A. J. A. **Alcalóides isoquinolínicos de *Duguetia pycnastera***. 1994. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Pará, Belém-PA. 1994, 90 p.

SINGH, A.; BAJPAI, V.; KUMAR, S.; SINGH RAWAT, A. K.; KUMAR, B. Analysis of isoquinoline alkaloids from *Mahonia leschenaultia* and *Mahonia napaulensis* roots using UHPLC-Orbitrap-MS n and UHPLC-QqQ LIT -MS/MS. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 7, n. 2, p. 77-86, 2017.

SIQUEIRA, J. M.; ZIMINIANI, M. G.; RESENDE, U. M.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo fitoquímico das cascas do caule de *Duguetia glabriuscula* - Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente a *Artemia Salina* Leach. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 185-187, 2001.

SIQUEIRA, J. M.; OLIVEIRA, C. C.; GARCEZ, W. W.; GARCEZ, F. R.; BOAVENTURA, M. A. Bioactive sesquiterpene from *Duguetia glabriuscula* in Fitoterapia, v. 66, n. 1, p. 89-90, 1997.

SIQUEIRA, J. M.; GARCEZ, W. S.; CAROLLO, C. A.; BOAVENTURA, M. A. D.; MULLER, L. Aromadendrane sesquiterpenoids from the essential oil of leaves of *Duguetia glabriuscula* - Annonaceae. **Journal of the Chilean Chemical Society. Sociedad Chilena de Química**, v. 48, n. 4, p. 89-93, 2003.

SOARES, E. A. A.; KLOSTER, A. C.; GNAEDINGER, S. C.; RIKER, S. R.; LIMA, F. J. C.; MOTTA, M. B. First record of Annonaceae wood for the Neogene of South America, Amazon Basin, Brazil. **Brazilian Journal of Geology**, v. 47, n. 1, p. 95-108, 2017.

SOUZA, O. V.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; ALVES, M. S.; ARAÚJO, A. A.; PINTO, M. A.; AMARAL, M. P.; RODARTE, M. P.; KAPLAN, M. A. Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oils from *Duguetia lanceolata* St. Hil. Barks. **Molecules**, v. 17, p. 11056-11066, 2012.

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

SOUZA, C. A. S.; NARDELLI, V. B.; PAZ, W. H. P.; PINHEIRO, M. L. B.; BALIZA DIAS, I. R. S.; BOMFIM, L. M.; SILVA, V. R.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P.; KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; COSTA, E. V. Asarone-derived phenylpropanoids and isoquinoline-derived alkaloids from the bark of *Duguetia pycnastera* (Annonaceae) and their cytotoxicities. **Química nova**, v. 43, n. 10, p. 1397-1403, 2020.

SOUZA, M. P. **Estudo químico de fungos endofíticos associados a *Duguetia stelechantha* e *Rollinia* sp. (Annonaceae)**. Dissertação (mestrado em Química). Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM. 2012, 120 p.

SRIPRANG, S.; KHORANA, N.; INGKANINAN, K. Acetylcholinesterase Inhibitor from *Stephania suberosa* Forman. **NU Science Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2006.

STÉVIGNY, C.; JIWAN, J. L. H.; ROZENBERG, R.; HOFFMANN, E.; QUETINLECLERCQ, J. Key fragmentation patterns of aporphine alkaloids by electrospray ionization with multistage mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 18, n. 5, p. 523-528, 2004.

SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. M. **Assays related to cancer drug discovery**. In: Hostettmann K. Editor. *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity*. London: Academic Press; 1990, p. 71-133.

SUN, M.; LIU, J.; LIN, C.; MIAO, L.; LIN, L. Alkaloid profiling of the traditional Chinese medicine *Rhizoma corydalis* using high performance liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 4, n. 3, p. 208-216, 2014.

TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; MAIA, J. G. S.; CUNHA, E. V. L. Alkaloids and volatile constituents from the stem of *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 115-118, 2005.

TEICHERT, H.; DÖTTERL, S.; FRAME, D.; KIREJTSHUK, A.; GOTTSBERGER, G. A novel pollination mode, saprocanthrophily, in *Duguetia cadavérica* (Annonaceae): A stinkhorn (Phallales) flower mimic. **Flora**, v. 207, p. 522-529, 2012.

TEMPONE, A. G.; BORBOREMA, S. E. T.; ANDRADE JR, H. J.; GUALDA, N. C. A.; YOGI, A.; CARVALHO, C. S.; BACHIEGA, D.; LUPO, F. N.; BONOTTO, S. V.; FISCHER, D. C. H. Antiprotozoal activity of Brazilian plant extracts from isoquinoline alkaloid-producing families. **Phytomedicine**, v. 12 p. 382-390, 2005.

UJVARI, S. C.; ADONI, T. **A História do Século XX Pelas Descobertas da Medicina**. São Paulo: Editora Contexto Trade, 2014, 230 p.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S.; The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 1, p. 1-7, 2019.

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 *Duguetia furfuracea*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 373-378, 2008.

VENDRAMIN, M. E.; COSTA, E. V.; SANTOS, E. P.; PINHEIRO, M. L. B.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R. Chemical constituents from the leaves of *Annona rugulosa* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 49, p. 152-155, 2013.

WANG, M.; CARVER, J. J.; PHELAN, V. V.; SANCHEZ, L. M.; GARG, N.; PENG, Y.; NGUYEN, D. D.; WATROUS, J.; KAPONO, C. A.; LUZZATTO-KNAAN, T.; PORTO, C.; BOUSLIMANI, A.; MELNIK, A. V.; MEEHAN, M. J.; LIU, W. T.; CRÜSEMANN, M.; BOUDREAU, P. D.; ESQUENAZI, E.; SANDOVAL-CALDERON, M.; KERSTEN, R. D.; PACE, L. A.; QUINN, R. A.; DUNCAN, K. R.; HSU, C.-C.; FLOROS, D. J.; GAVILAN, R. G.; KLEIGREWE, K.; NORTEN, T.; DUTTON, R. J.; PARROT, D.; CARLSON, E. E.; AIGLE, B.; MICHELSEN, C. F.; JELSBAK, L.; SOHLENKAMP, C.; PEVZNER, P.; EDLUND, A.; MCLEAN, J.; PIEL, J.; MURPHY, B. T.; GERWICK, L.; LIAW, C.-C.; YANG, Y.-L.; HUMPF, H.-U.; MAANSSON, M.; KEYZERS, R. A.; SIMS, A. C.; JOHNSON, A. R.; SIDEBOTTOM, A. M.; SEDIO, B. E.; KLITGAARD, A.; LARSON, C. B.; BOYA, P. C. A.; TORRESMENDOZA, D.; GONZALEZ, D. J.; SILVA, D. B.; MARQUES, L. M.; DEMARQUE, D. P.; POCIUTE, E.; O'NEILL, E. C.; BRIAND, E.; HELFRICH, E. J. N.; GRANATOSKY, E. A.; GLUKHOV, E.; RYFFEL, F.; HOUSON, H.; MOHIMANI, H.; KHARBUSH, J. J.; ZENG, Y.; VORHOLT, J. A.; KURITA, K. L.; CHARUSANTI, P.; MCPHAIL, K. L.; NIELSEN, K. F.; VUONG, L.; ELFEKI, M.; TRAXLER, M. F.; ENGINE, N.; KOYAMA, N.; VINING, O. B.; BARIC, R.; SILVA, R. R.; MASCUCH, S. J.; TOMASI, S.; JENKINS, S.; MACHERLA, V.; HOFFMAN, T.; AGARWAL, V.; WILLIAMS, P. G.; DAI, J.; NEUPANE, R.; GURR, J.; RODRÍGUEZ, A. M. C.; LAMSA, A.; ZHANG, C.; DORRESTEIN, K.; DUGGAN, B. M.; ALMALITI, J.; ALLARD, P.-M.; PHAPALE, P.; NOUTHAS, L.-F.; ALEXANDROV, T.; LITAUDON, M.; WOLFENDER, J.-L.; KYLE, J. E.; METZ, T. O.; PEREYEA,

**Investigação fitoquímica com auxílio de molecular networking e atividade citotóxica de *Duguetia surinamensis* (Annonaceae)**

T.; NGUYEN, D.-T.; VANLEER, D.; SHINN, P.; JADHAV, A.; MÜLLER, R.; WATERS, K. M.; SHI, W.; LIU, X.; ZHANG, L.; KNIGHT, R.; JENSEN, P. R.; PALSSON, B. Ø.; POGLIANO, K.; LININGTON, R. G.; GUTIERREZ, M.; LOPES, N. P.; GERWICK, W. H.; MOORE, B. S.; DORRESTEIN, P. C.; BANDEIRA, N. Sharing and Community Curation of Mass Spectrometry Data With Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 828–837, 2016.

WANG, M.; LIU, Y.; FU, S.; ZHANG, Q.; WANG, Q.; GAO, X. Applying target data screening followed by characteristic fragment filtering for the comprehensive screening and identification of alkaloids in *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang by UPLC-Q-TOF/MSE. **RSC Advances**, v. 7, n. 84, p. 53545–53551, 2017.

WANG, Z. W.; MA, W. W.; MCLAUGHLIN, J. L.; GUPTA, M. P. 2,4,5-trimethoxystyrene, a bioactive component of the bark of *Duguetia panamensis*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 2, p. 382–384, 1988.

WIJERATNE, E. M. K.; HATANAKA, Y.; KIKUCHI, T.; TEZUKA, Y.; GUNATILAKA, A. A. L. A dioxoaporphine and other alkaloids of two annonaceous plants of Sri Lanka. **Phytochemistry**, v. 42, n. 6, p. 1703–1706, 1996.

WILKINS, M. R.; KENDALL, M. J.; WADE, O. L. William Withering and digitalis, 1785 to 1985. **British Medical Journal**, v. 290, p. 7–8, 1985.

WORD ANNONACEAE. **Annonaceae Juss.** <http://annonaceae.myspecies.info/category/african-annonaceae/annona-ceae>. Acesso em 06 fev 2019.

WORLD CANCER RESEARCH FUND (WCRF). **The cancer process**. Southampton: Continuous Update Project (CUP), p. 1–65, 2018.

WUA, W. N.; HUANG, C. H. Structural Elucidation of Isoquinoline, Isoquinolone, Benzyloisoquinoline, Aporphine, and Phenanthrene Alkaloids Using API-ionspray Tandem Mass Spectrometry. **The Chinese Pharmaceutical Journal**, v. 58, p. 41–55, 2006.

WU, Y. C.; LIOU, Y.-F.; LU, S.-T.; CHEN, C.-H.; CHANG, J.-J.; LEE, K.-H. Cytotoxicity of Isoquinoline Alkaloids and Their *N*-Oxides. **Planta Médica**, v. 55, p. 163–165, 1989.

XUE, B.; GUO, X.; LANDIS, J. B.; SUN, M.; TANG, C. C.; SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E.; SAUNDERS, R. M. K. Accelerated diversification correlated with functional traits shapes extant diversity of the early divergent angiosperm family Annonaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 142, p. 1–31, 2020.

YADAV, D. K.; SINGH, N.; DEV, K.; SHARMA, R.; SAHAI, M.; PALIT, G.; MAURYA, R. Anti-ulcer constituents of *Annona squamosa* Twigs. **Fitoterapia**, v. 82, p. 666–675, 2011.

YANAI, T.; TEW, D. P.; CHANDY, N. A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). **Chemical Physics Letters**, v. 393, p. 51–57, 2004.

YAPI, T. A.; BOTI, J. B.; ZANAI, F. T.; AHIBO, A. C.; TOMI, F.; BIGHELLI, A. *Pachypodanthium Staudtii* Engl & Diels from Côte d'Ivoire: Composition of Leaf, Stem Bark and Roots Oils. **European Journal of Scientific Research**, v. 69, n. 1, p. 137–142, 2012.

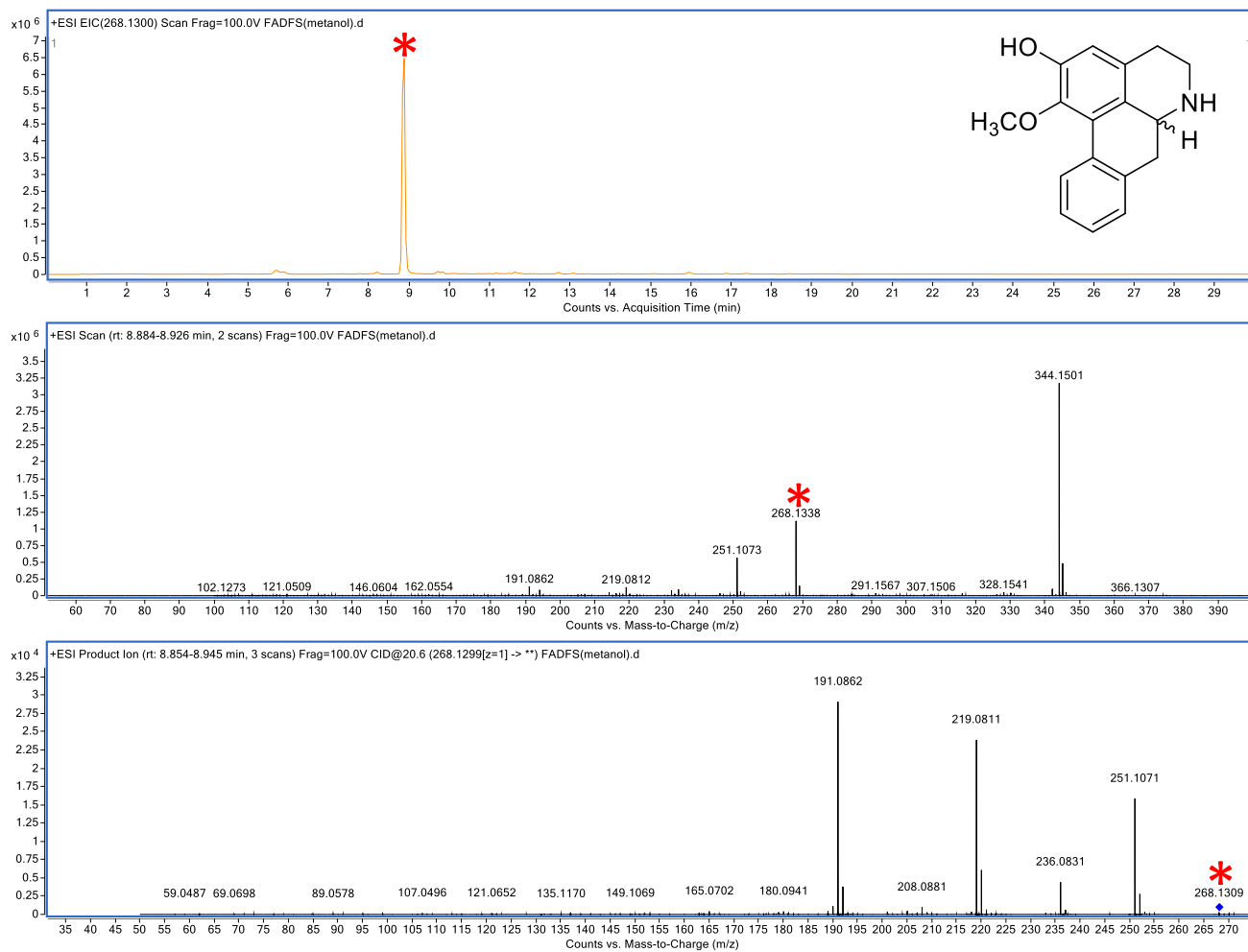
YU, R.; LI, B. G.; YE, Q.; ZHANG, G. L. A novel alkaloid from *Mitrephora maingayi*. **Natural Product Research**, v. 19, n. 4, p. 359–362, 2005.

YU, Z. X.; FU, Y. H.; CHEN, G. Y.; SONG, X. P.; HAN, C. R.; LI, X. B.; SONG, X. M.; WU, A. Z.; CHEN, S. C. New clerodane diterpenoids from the roots of *Polyalthia laui*. **Fitoterapia**, v. 111, p. 36–41, 2016.

ZARGA, M. H. A.; SHAMMA, M. A Spectral Method for the Determination of the Position of a Phenolic Group on Ring A of an Aporphine. Four New Aporphines from *Polyalthia acuminata*. **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 471–475, 1982.

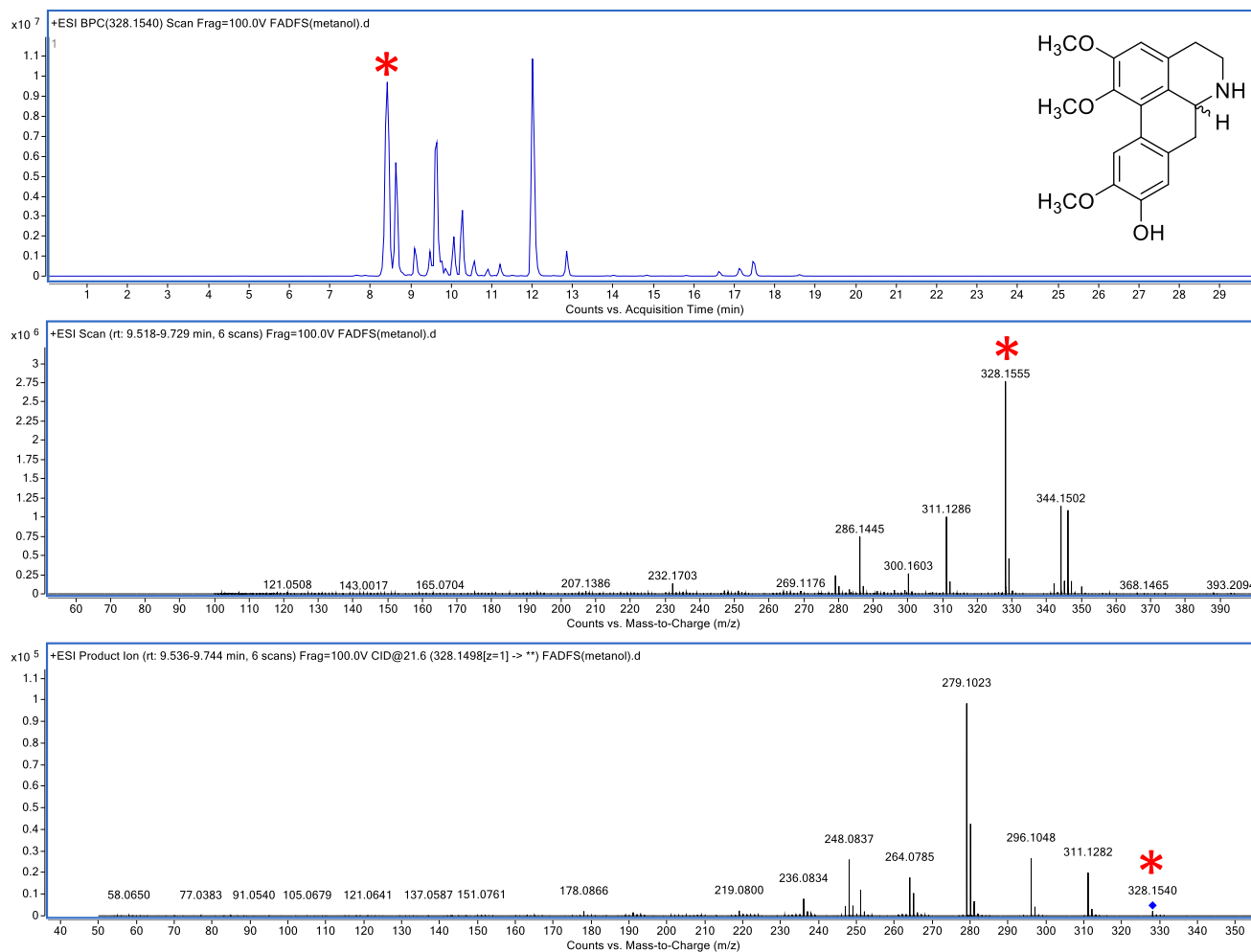
ZHOU, BING-NAN; JOHNSON, RANDALL K.; MATTERN, MICHAEL R.; WANG, XIANGYANG; HECHT, SIDNEY M.; BECK, HANS T.; ORTIZ, ALONZO; KINGSTON, DAVID G. I. *Isolation and Biochemical Characterization of a New Topoisomerase I Inhibitor from Ocotea eucoxylon*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 2, p. 217–221, 2000.

## APÊNDICE

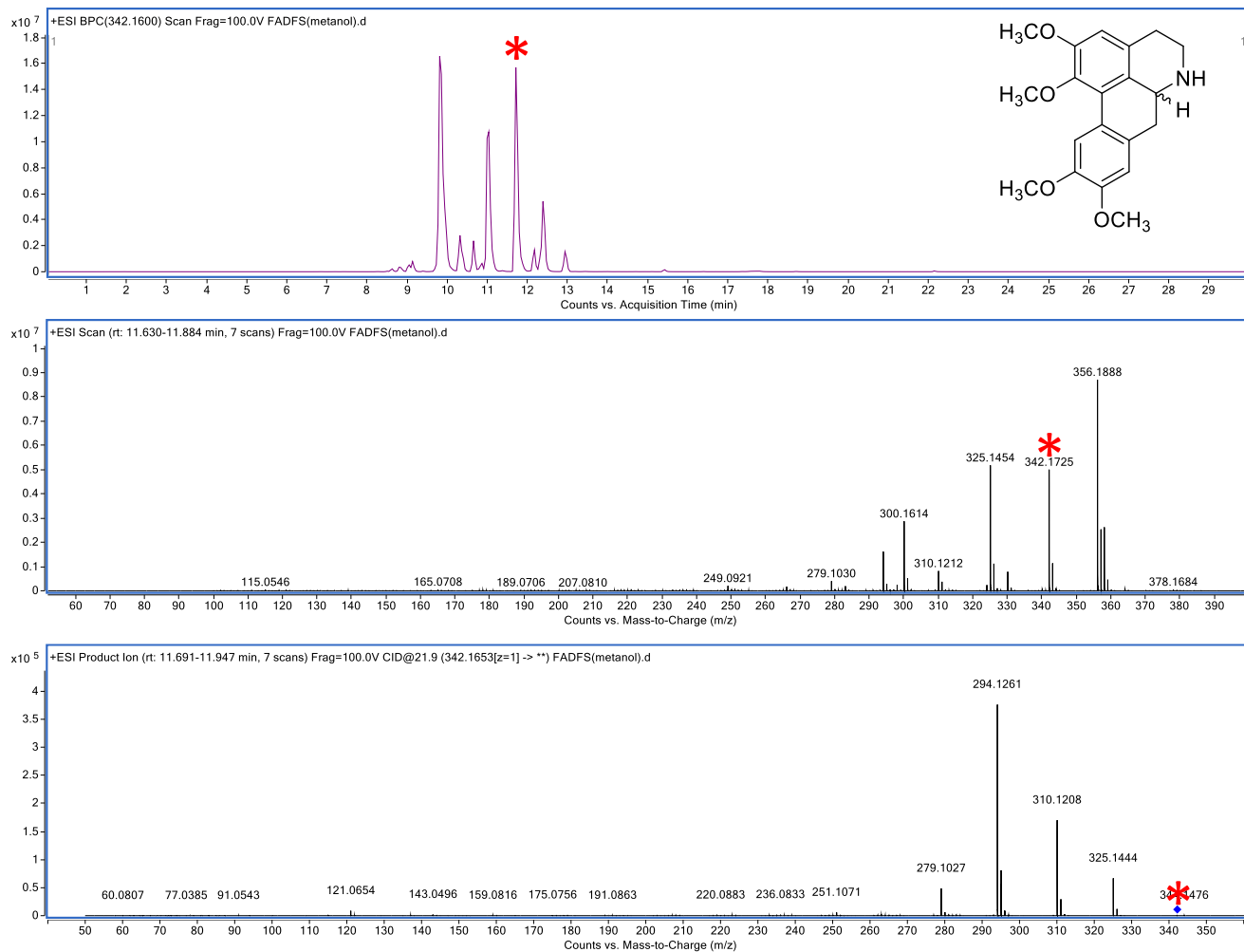


**A1.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA ASSIIOBINA (1A).

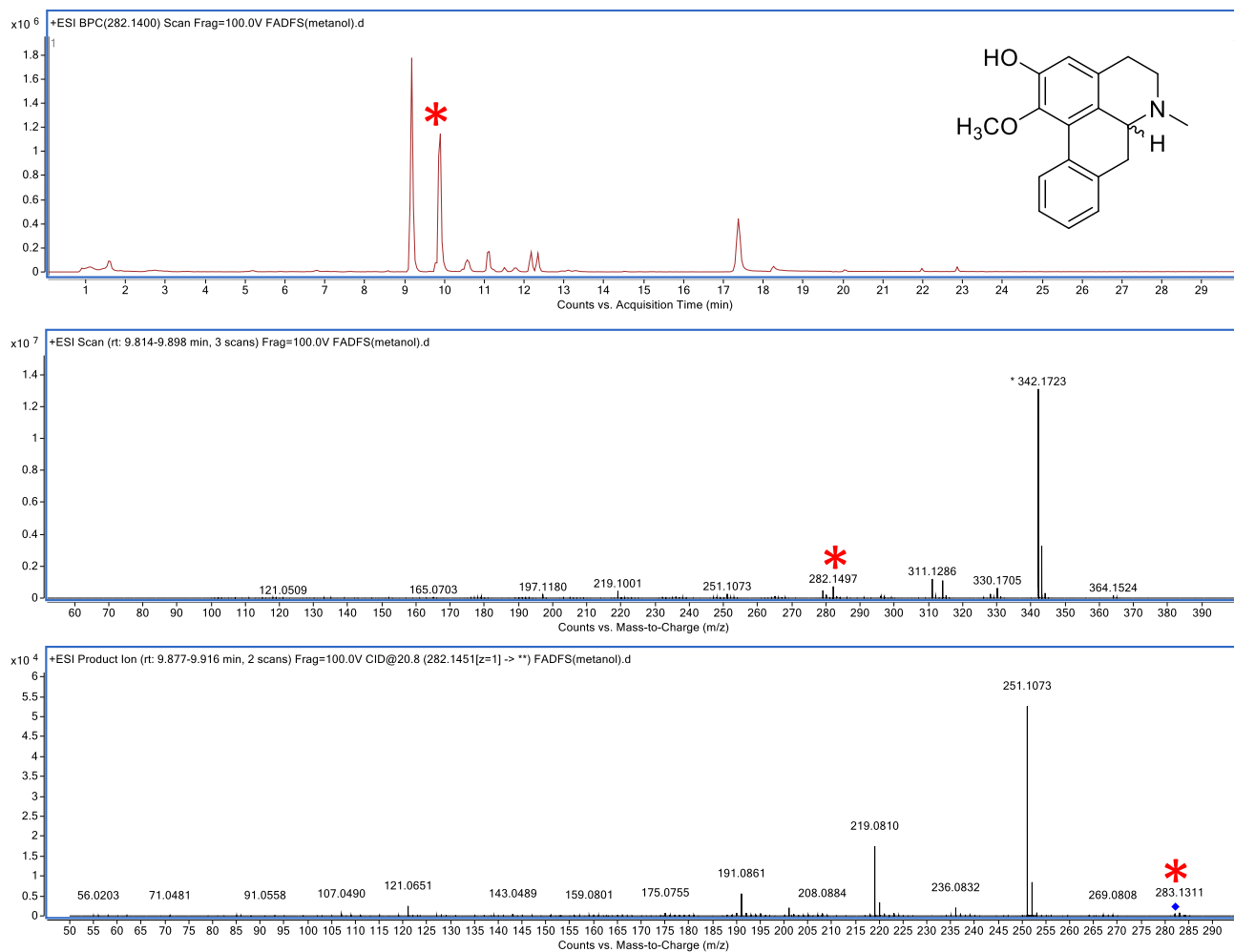




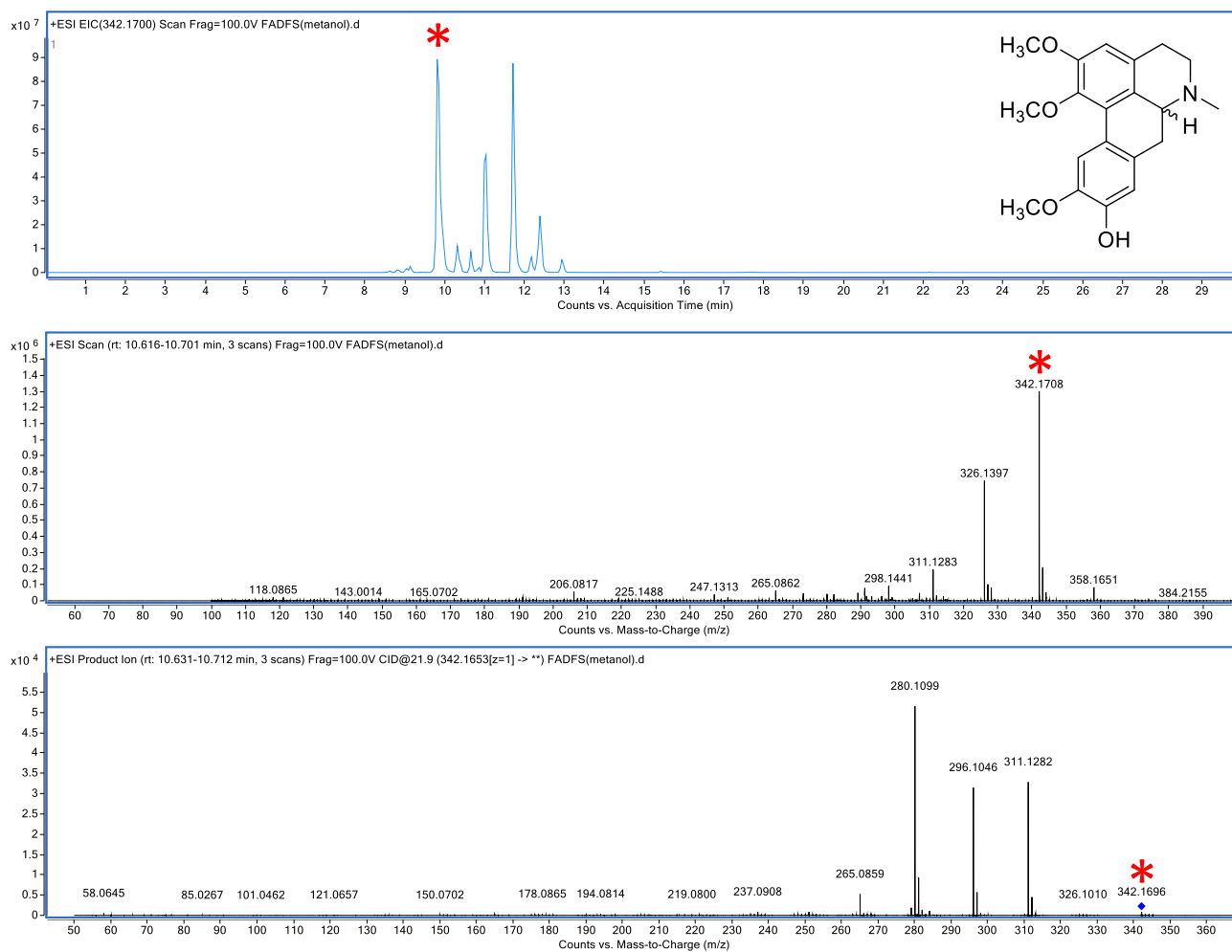
**A2. CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA LAUROTETANINA (2A).**



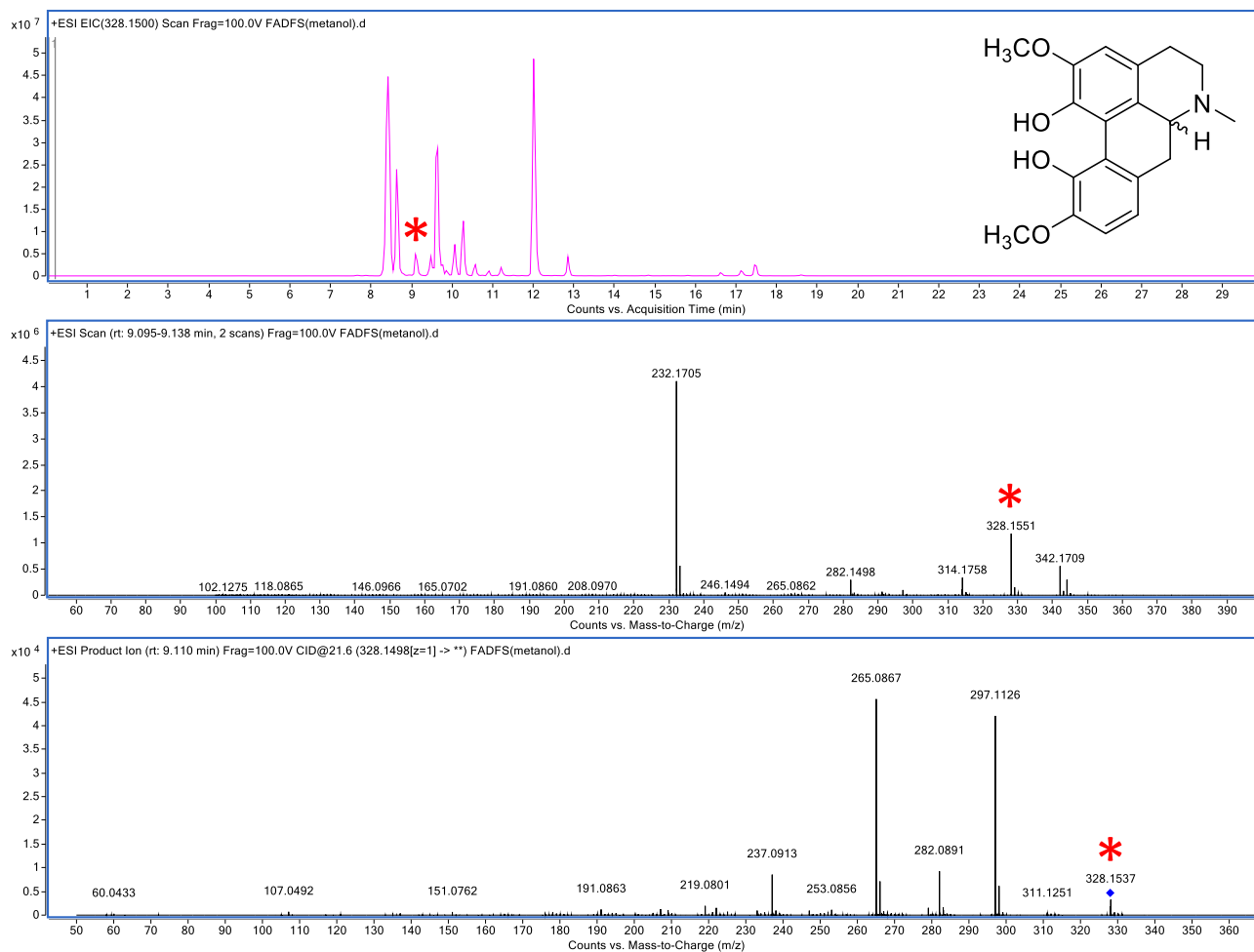
**A3.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA NORGLAUCINA (3A).



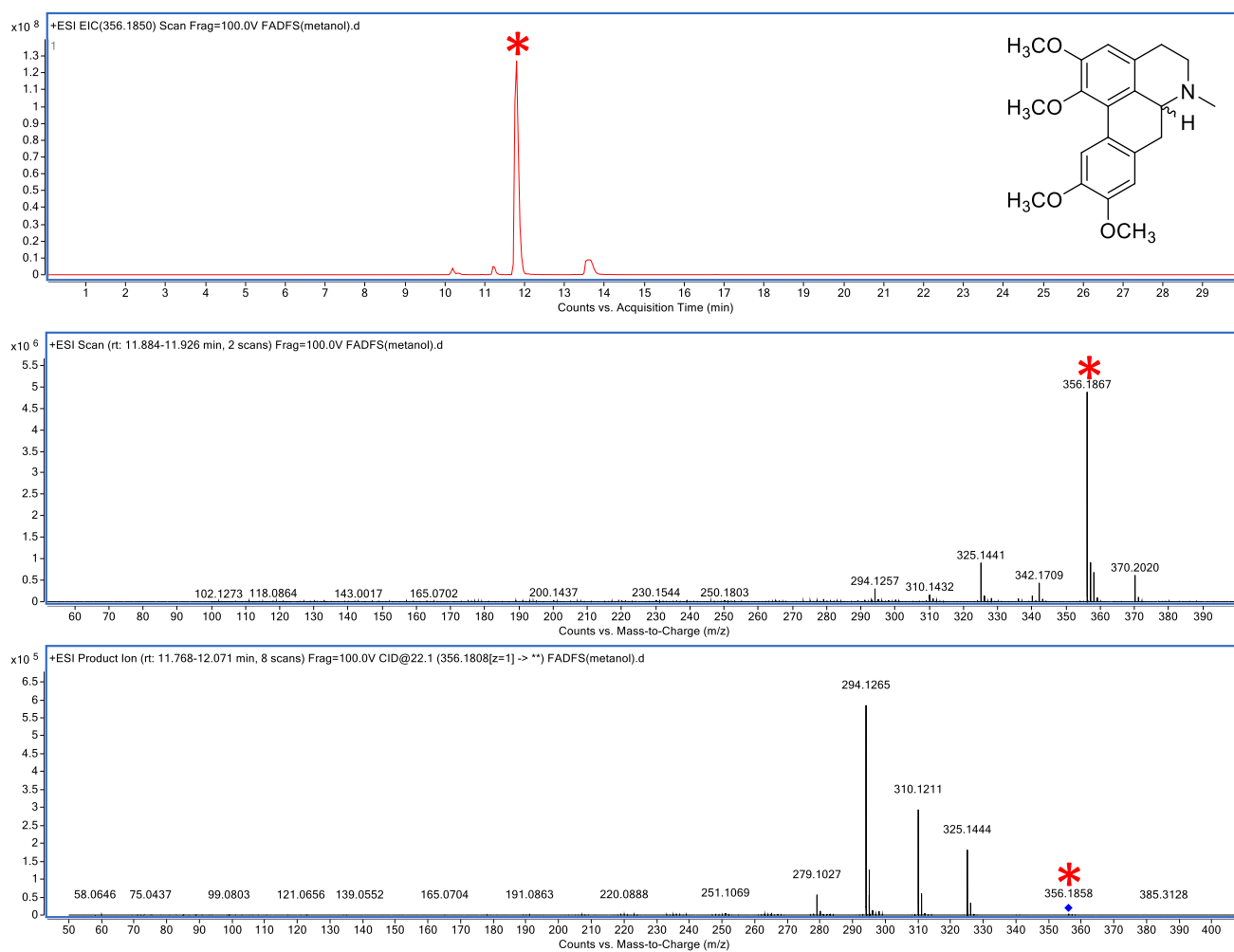
**A4.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N*-METIL ASSIMIOBINA (4A).



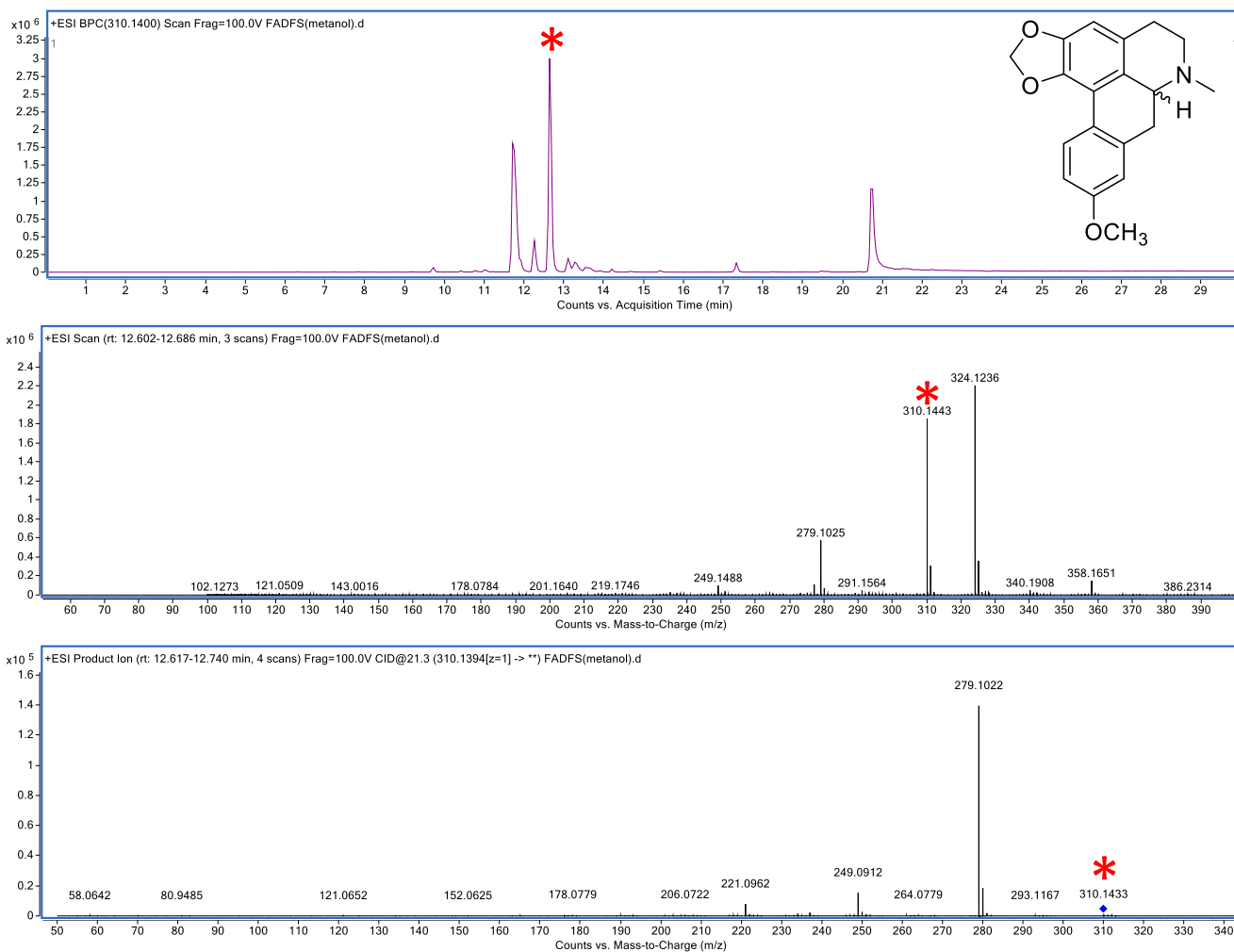
**A5.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N*-METILAUROTETANINA (5A).



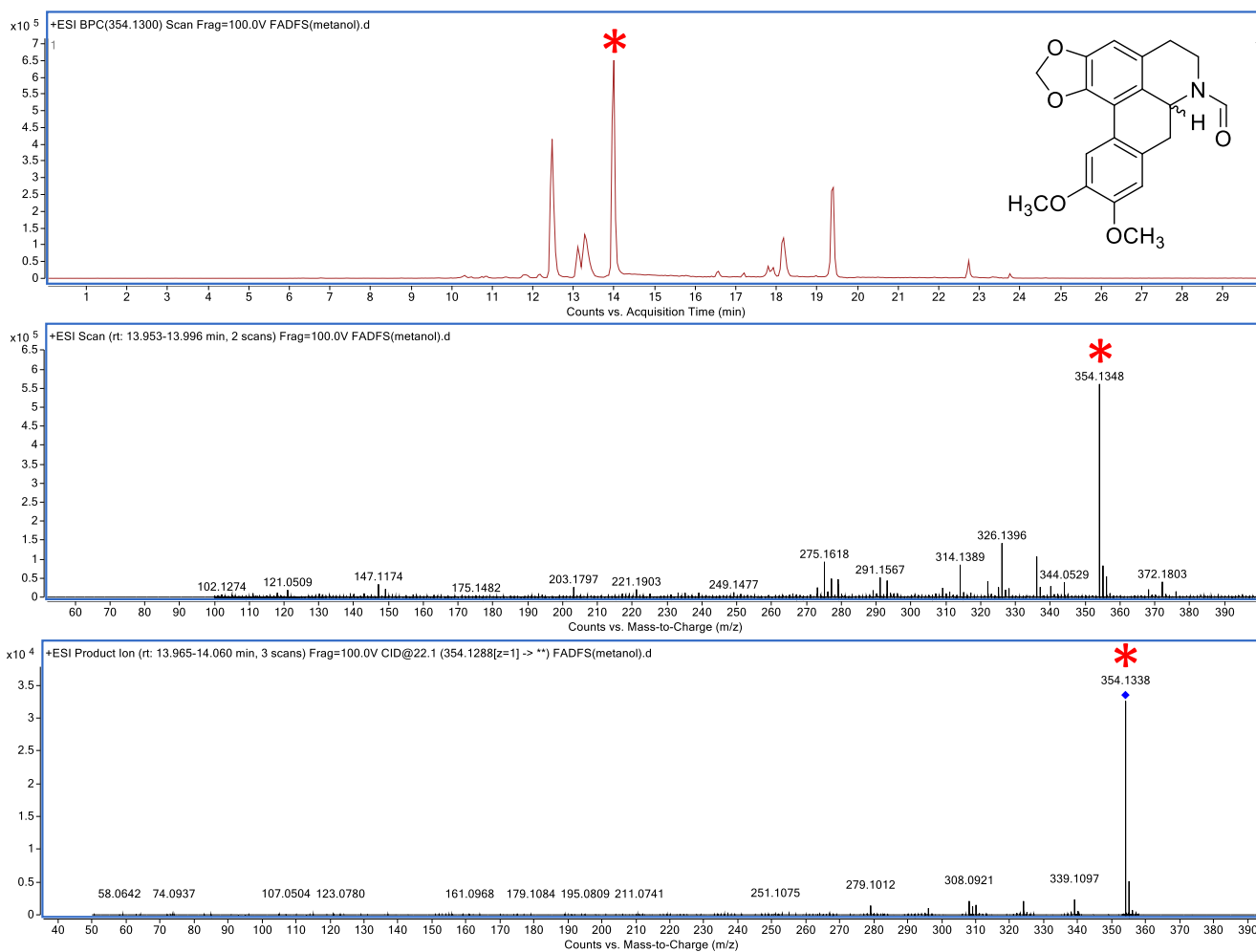
**A6.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA ISOBOLDINA (6A).



**A7.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA GLAUCINA (7A).

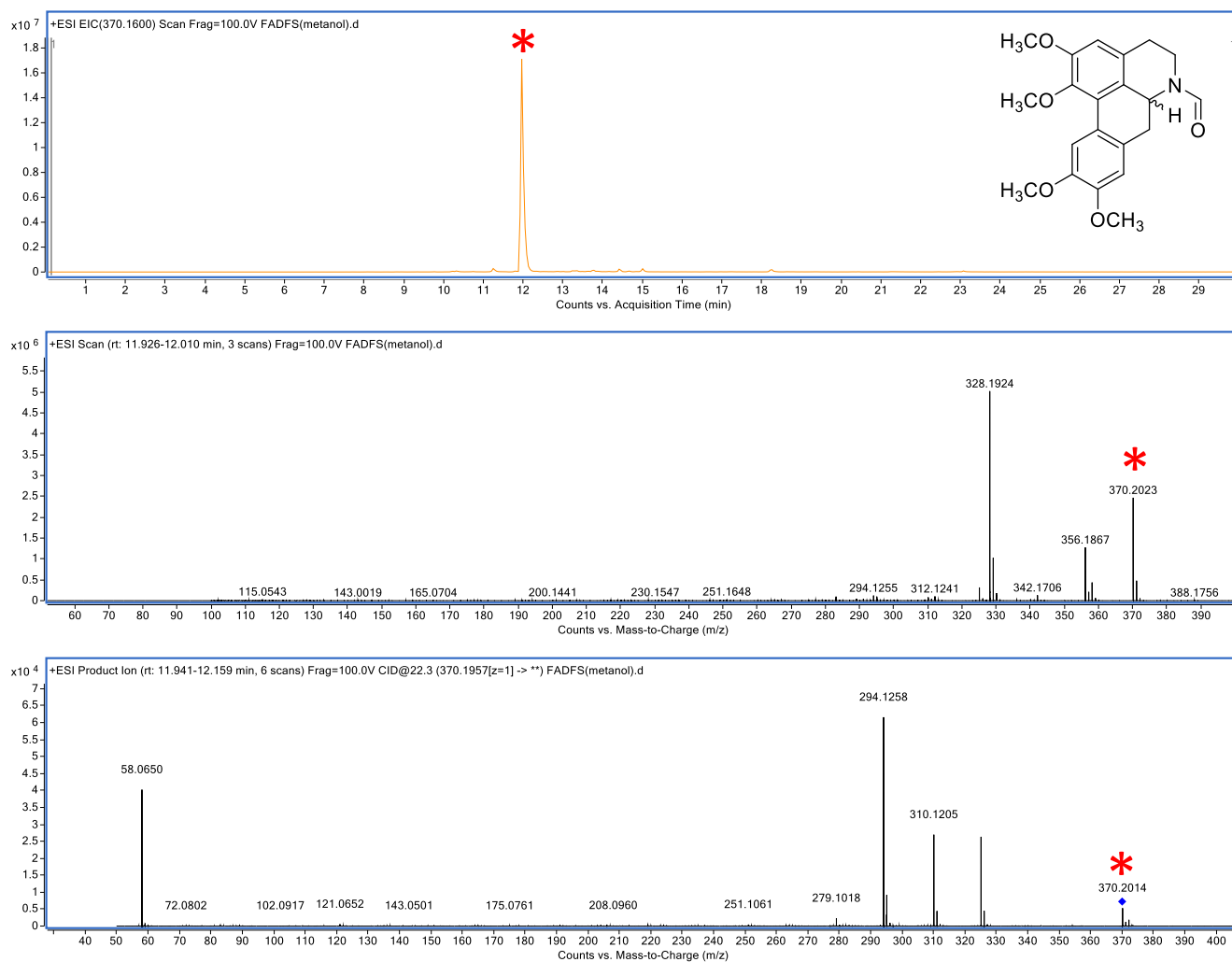


**A8.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA ISOLAULERINA (8A).

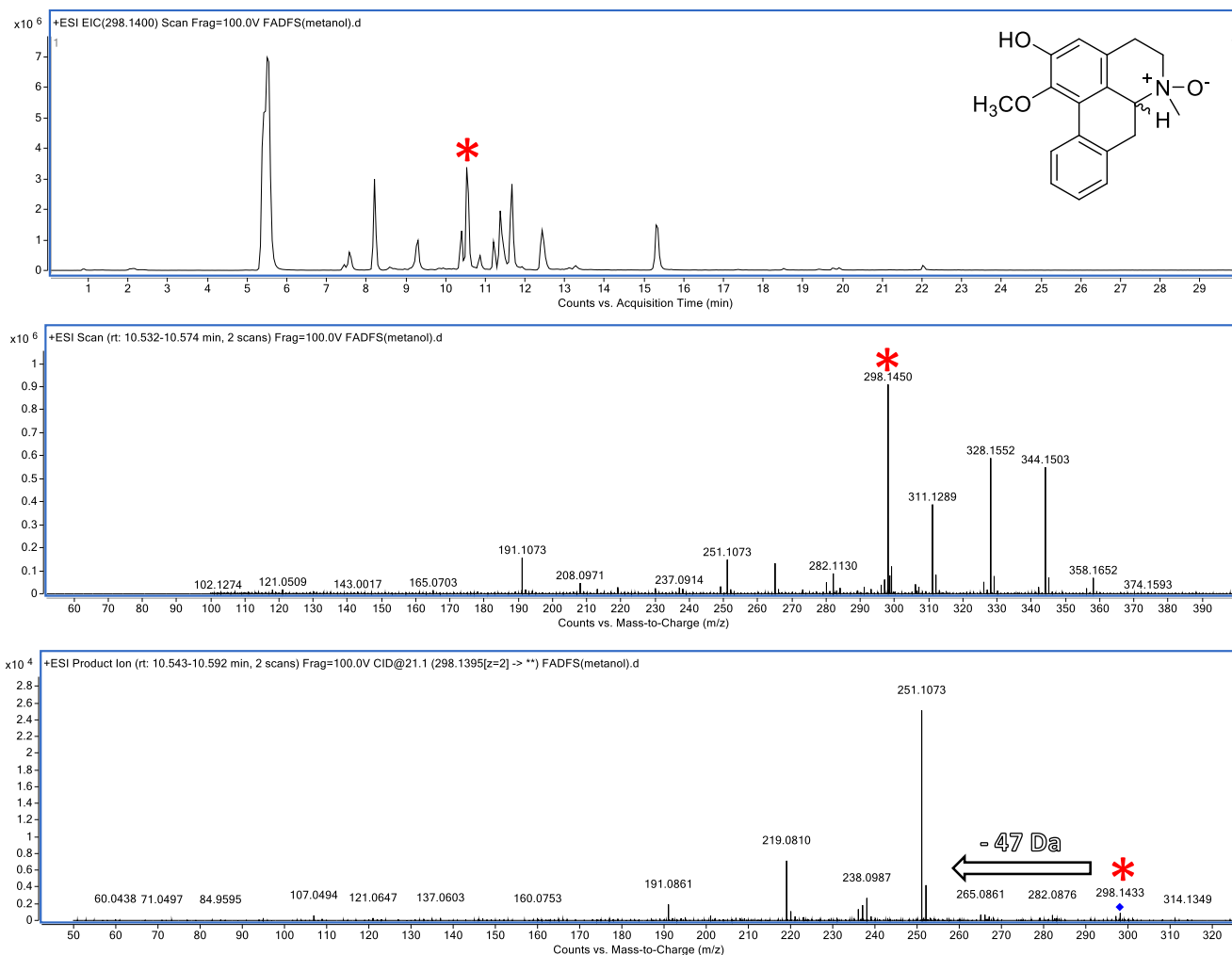


**A9.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA ARCABUCOÍNA (9A).

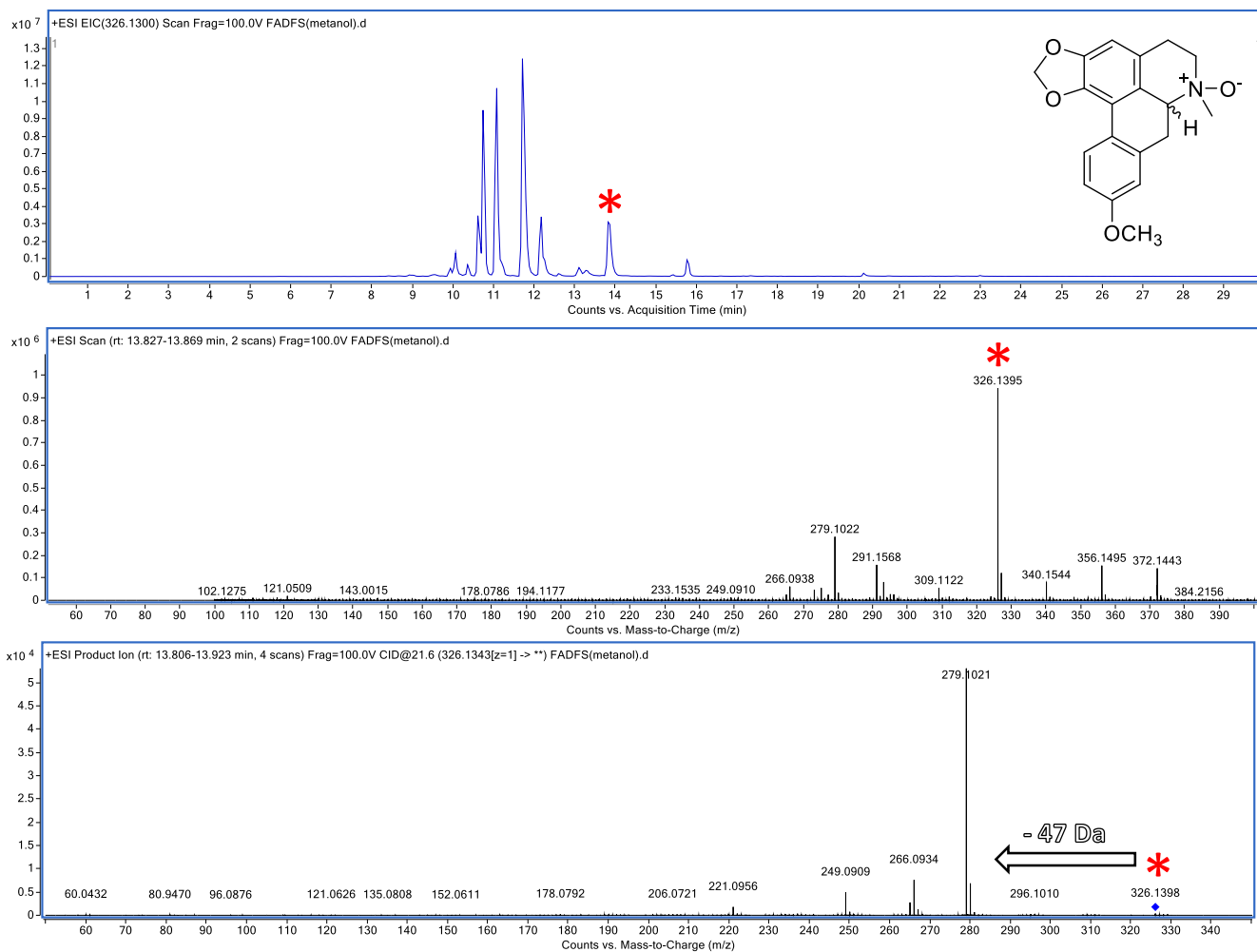




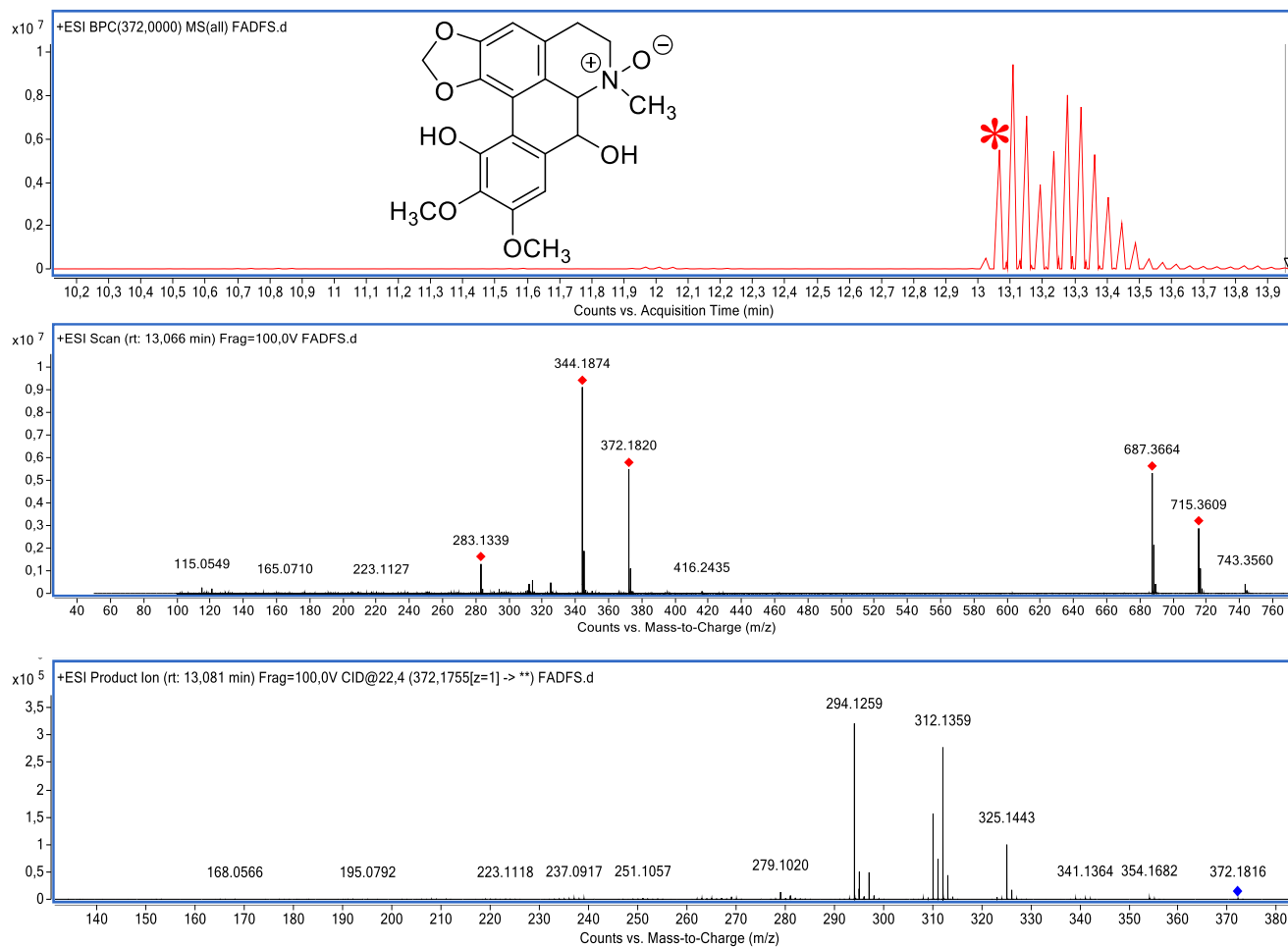
**A10.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N*-FORMIL GLAUCINA (10A).



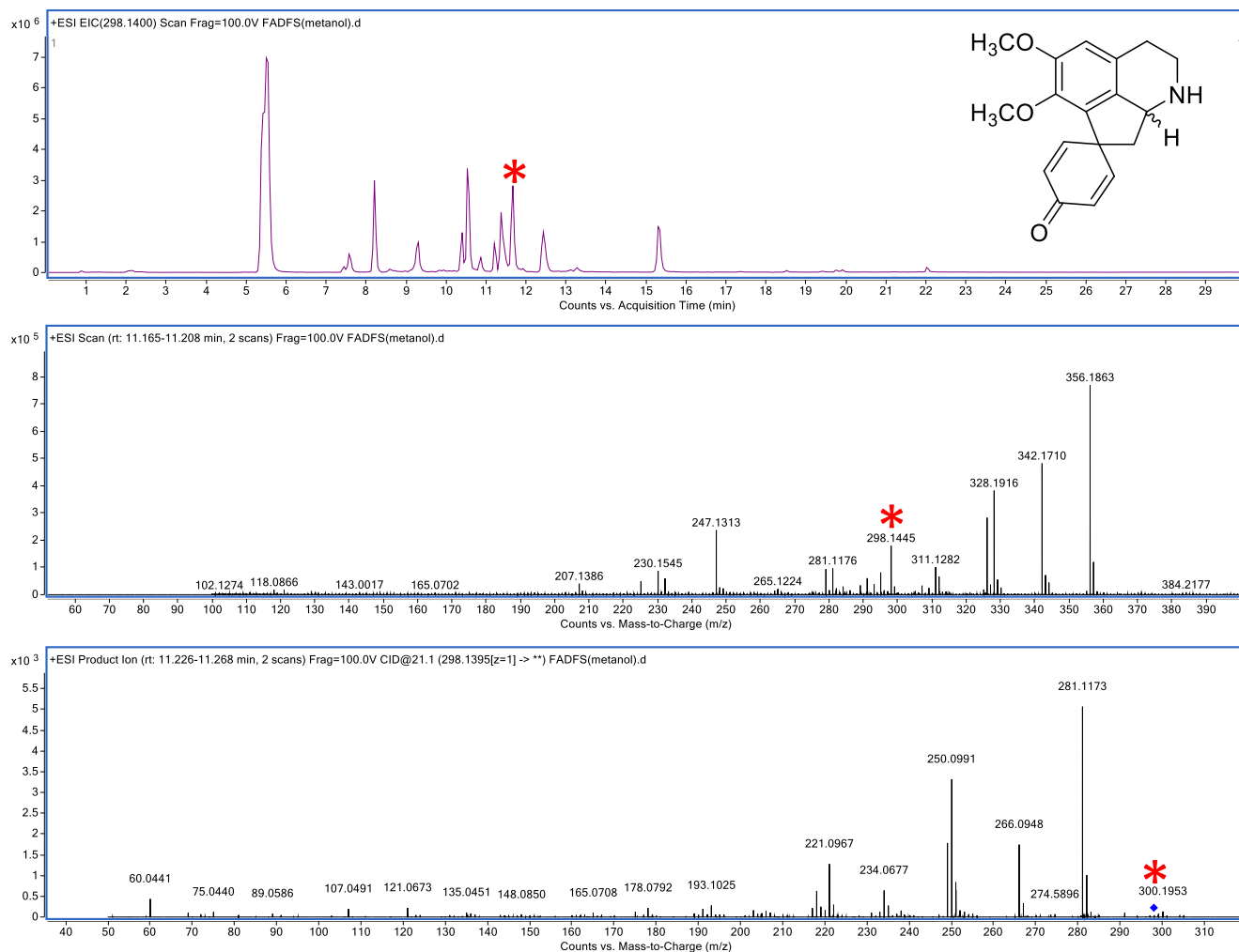
**A11.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N*-METIL, ASSIMIOLOBINA *N*-ÓXIDO (11A).



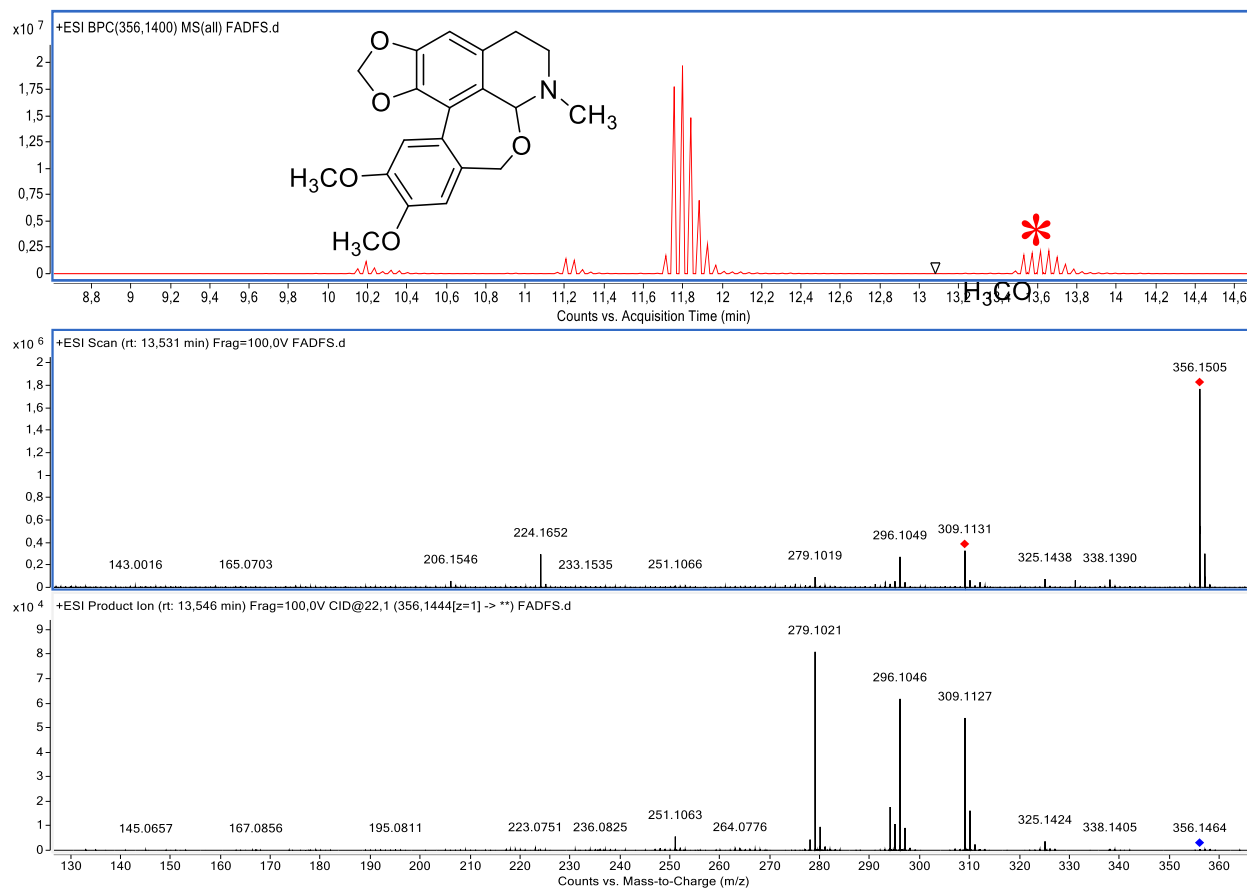
**A12.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA ISOLAURINA *N*-ÓXIDO (12A).



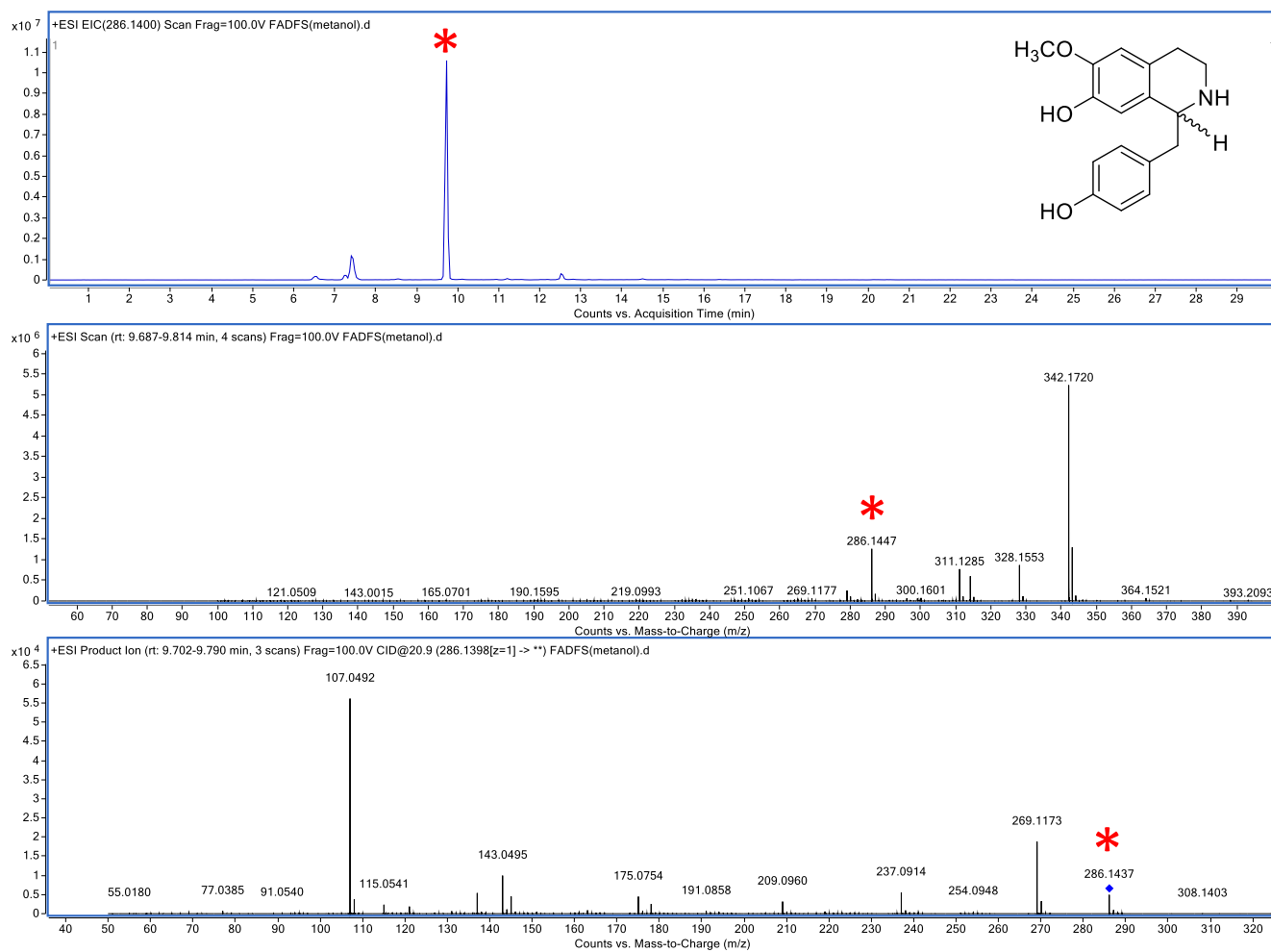
**A13.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA DUGUETINA *N*-ÓXIDO (S2).



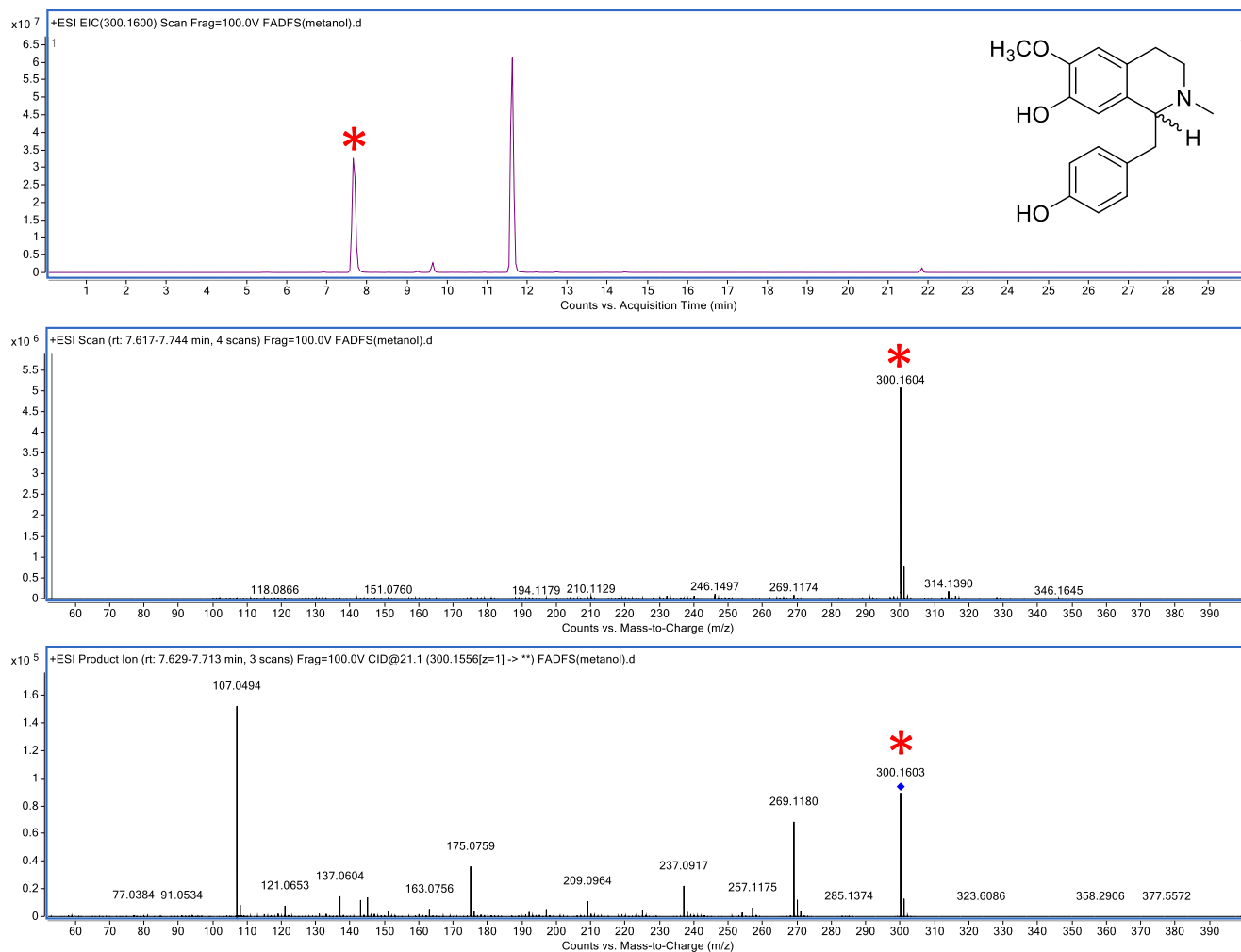
**A14.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA STEFARINA (13A).



**A15.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA DUGUETININA (14A).

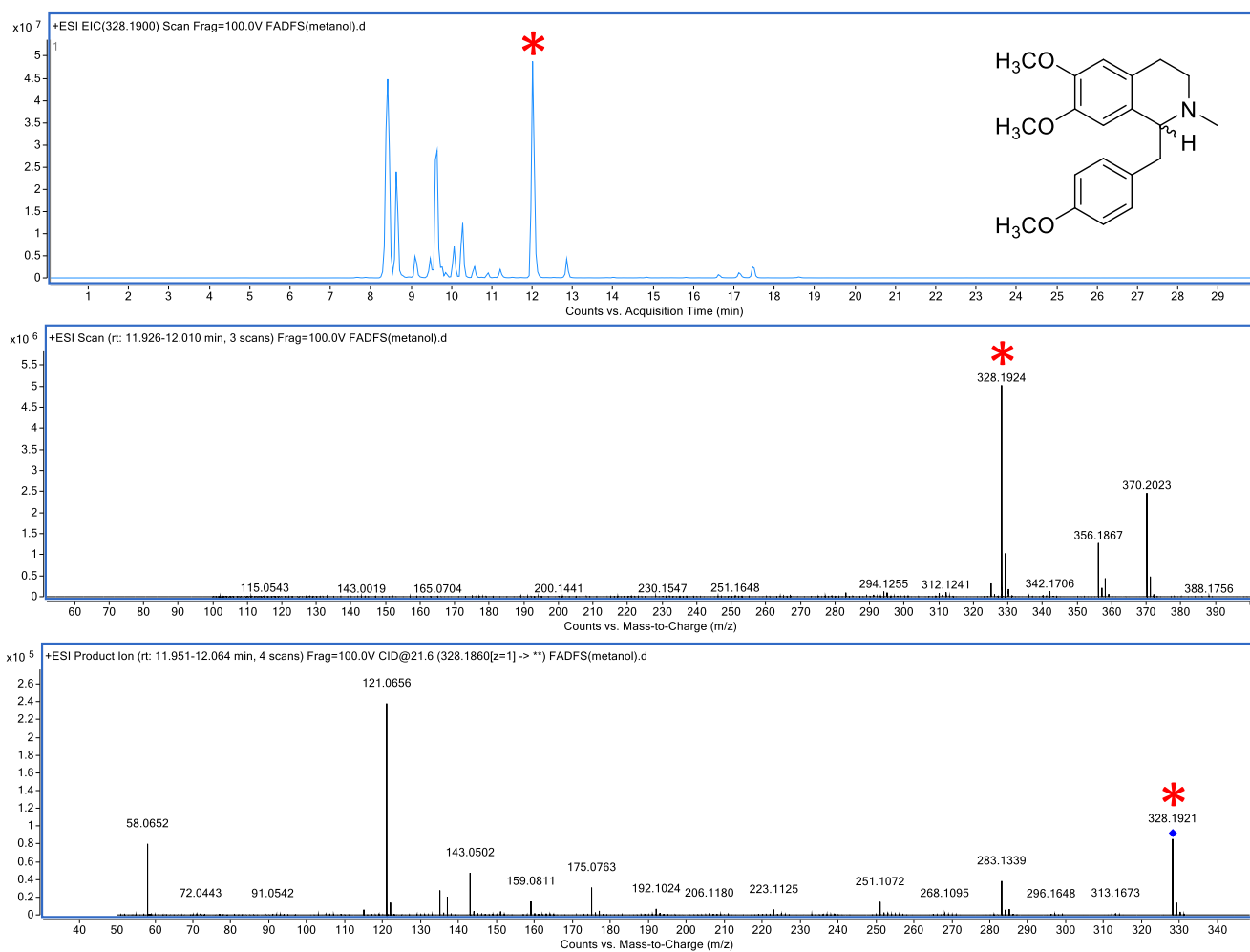


**A16.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA COCLAURINA (1B).

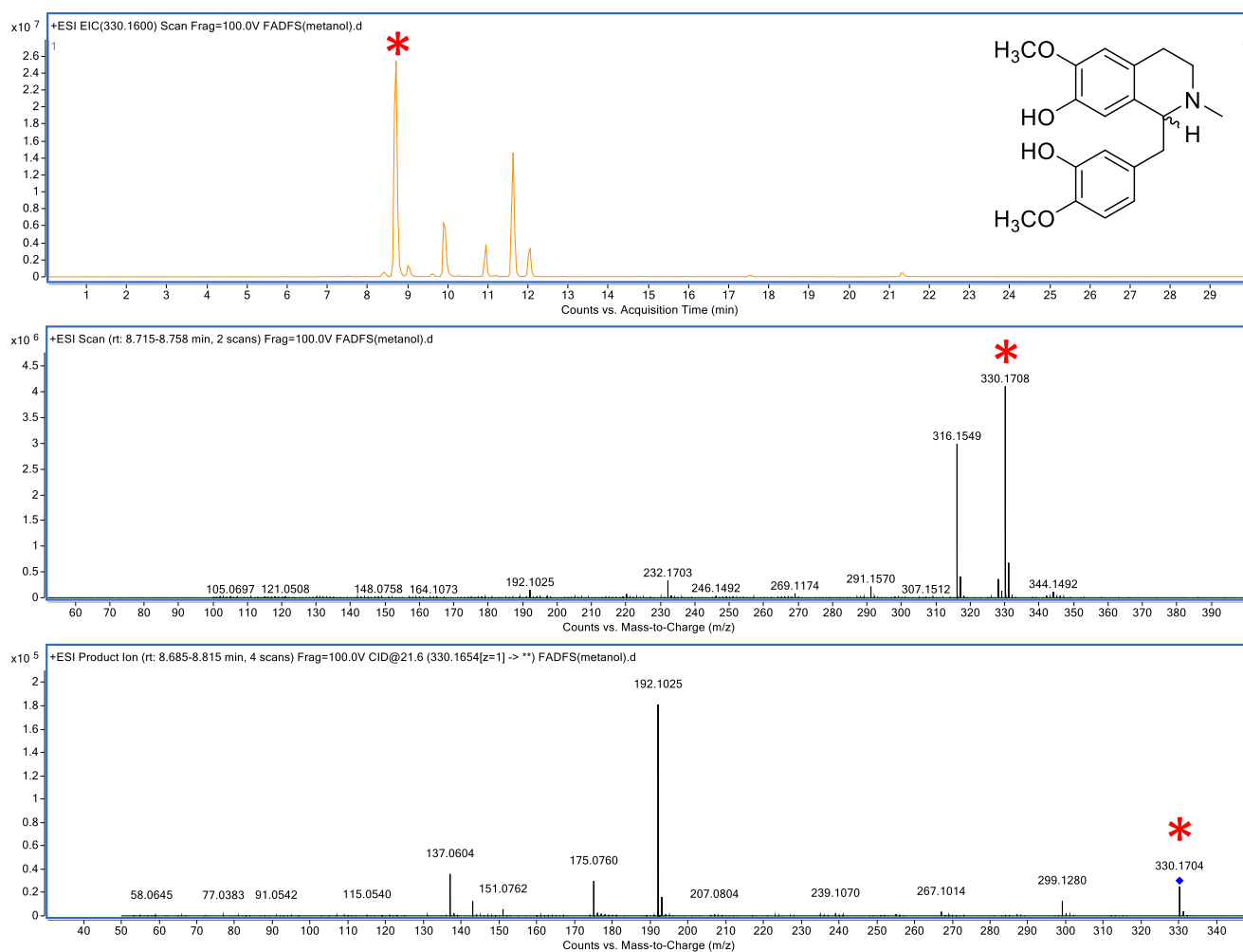


**A17.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N*-METILCOCLAURINA (2B)

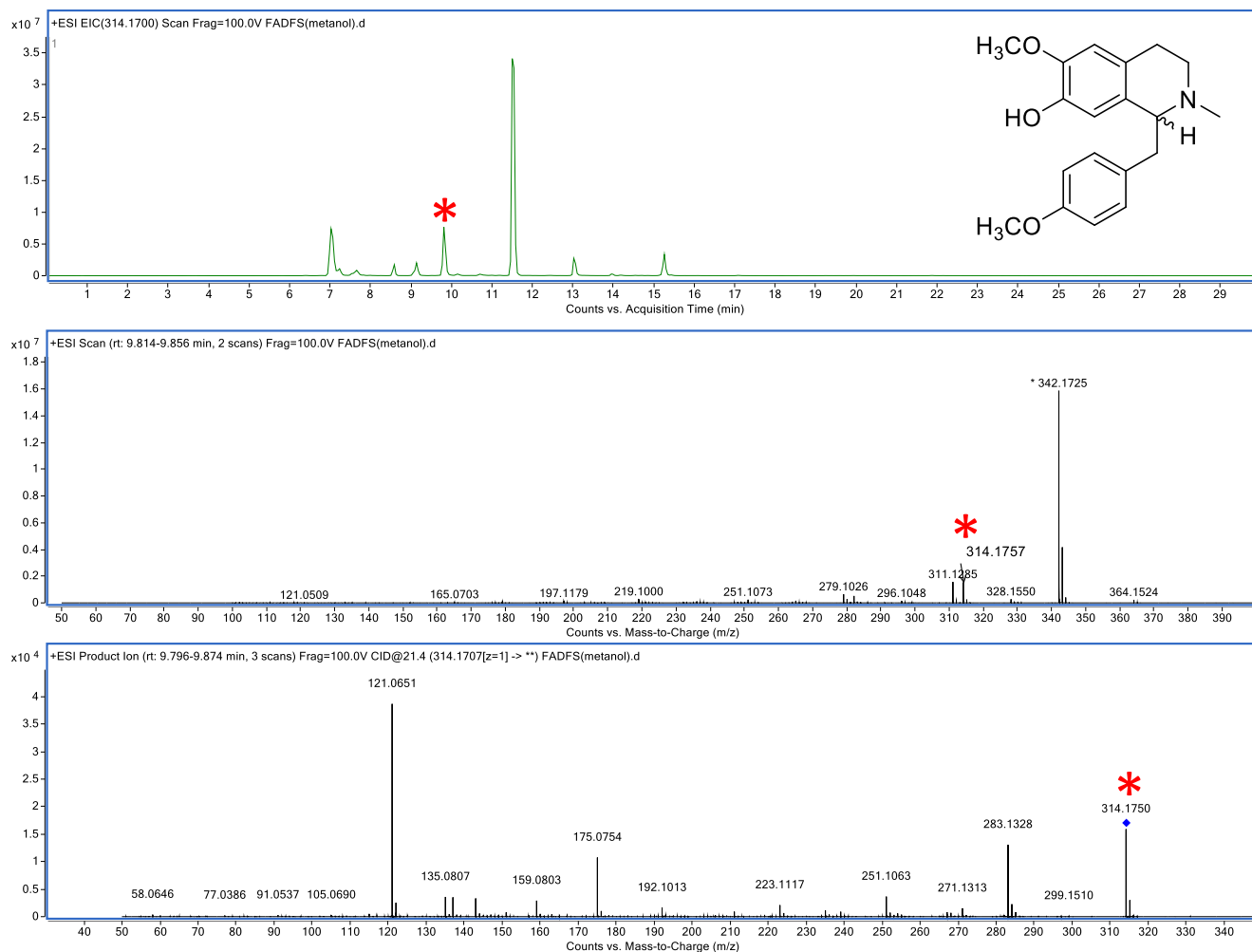




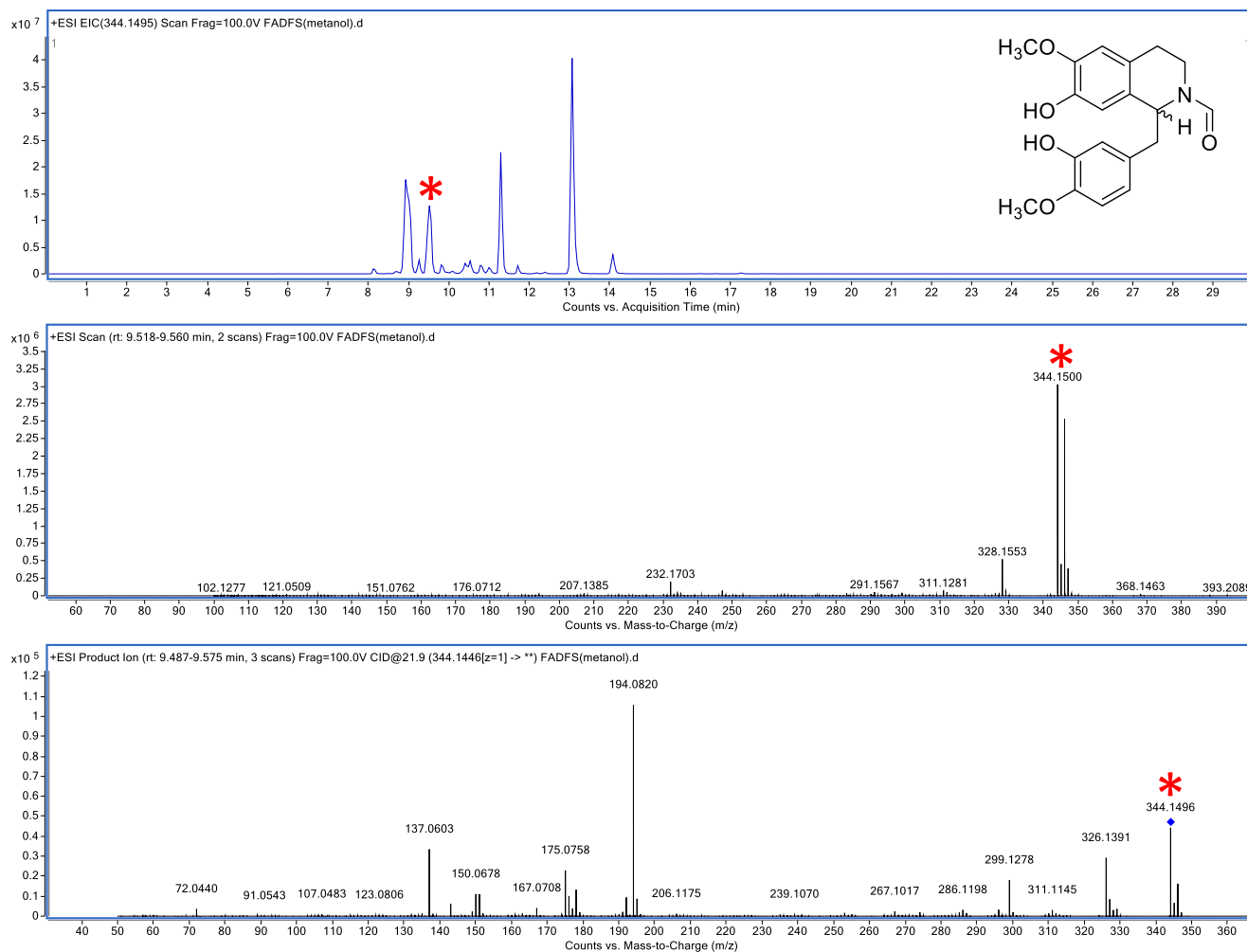
**A18.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *O*-METILARMEPAVINA (3B).



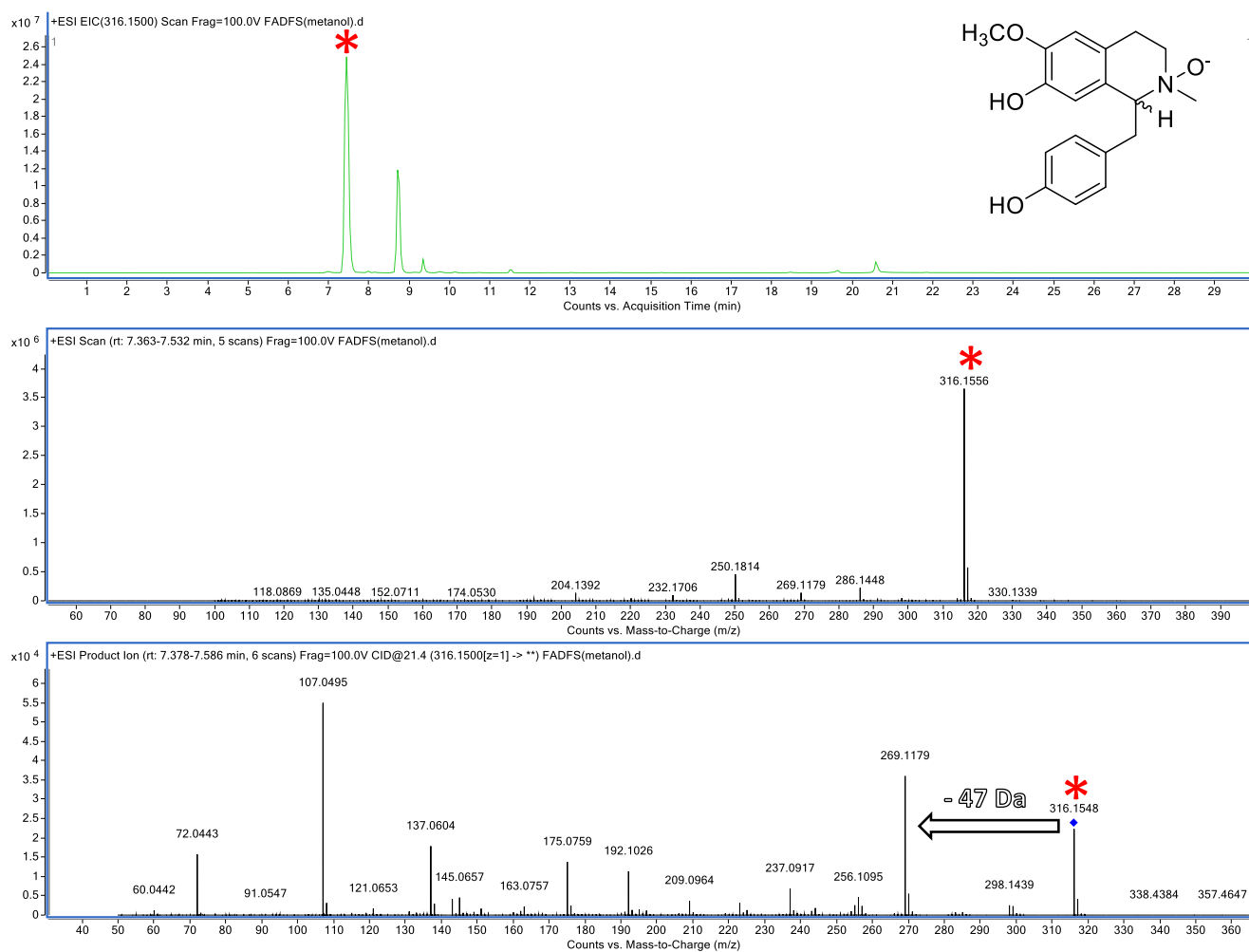
**A19.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA RETICULINA (4B).



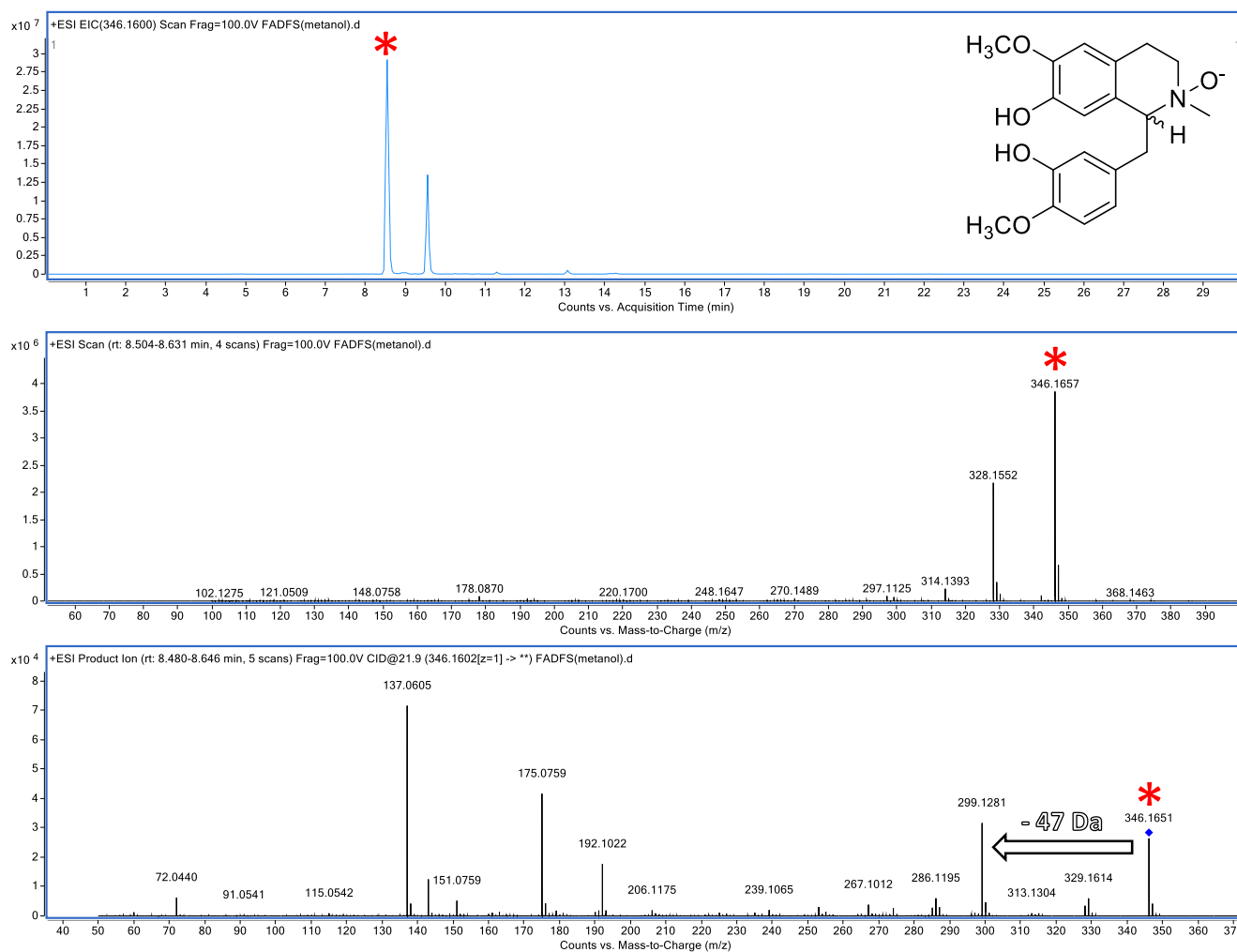
**A20.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N,O*-DIMETIL COCLAURINA (5B).



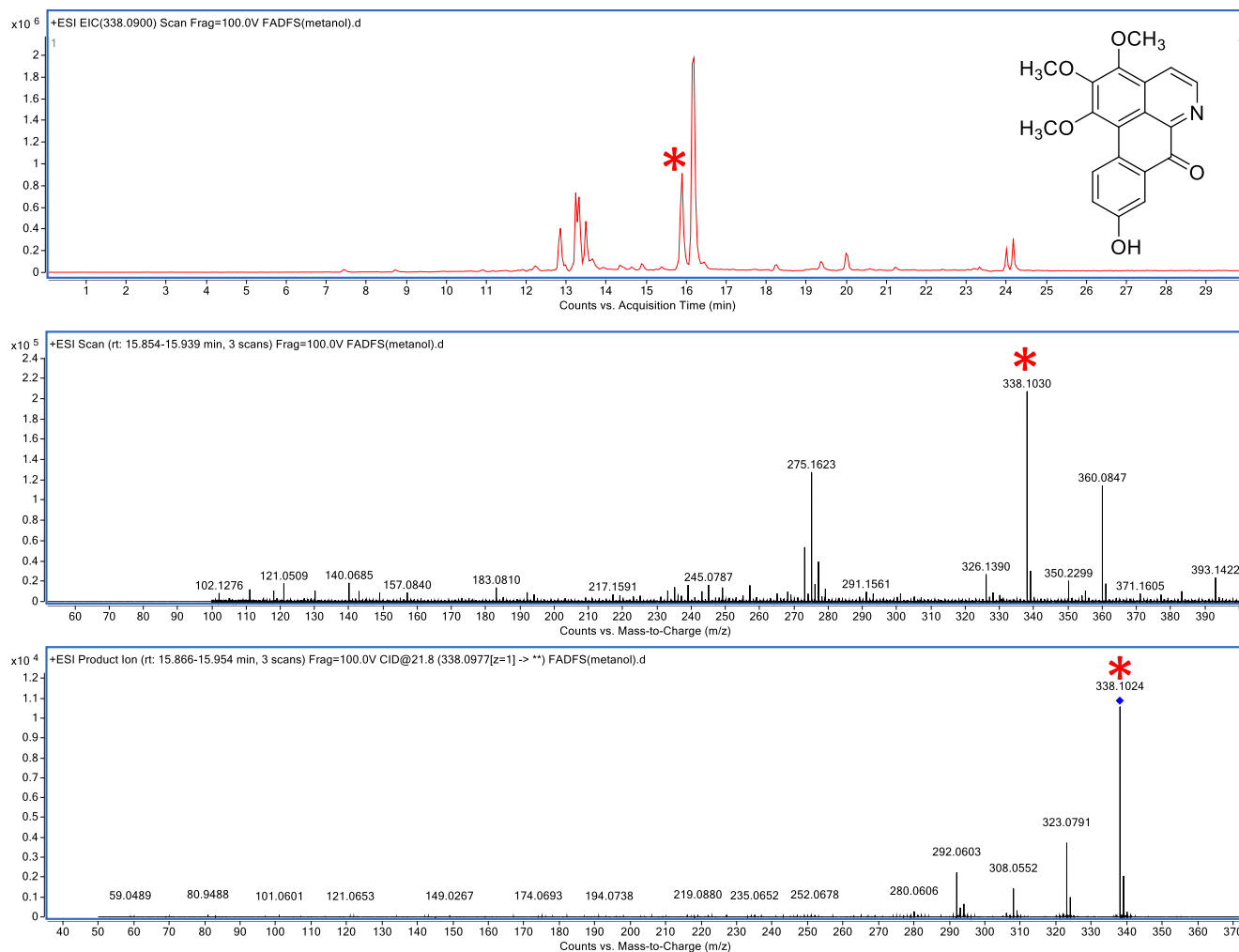
**A21.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N*-FORMILRETICULINA (6B).



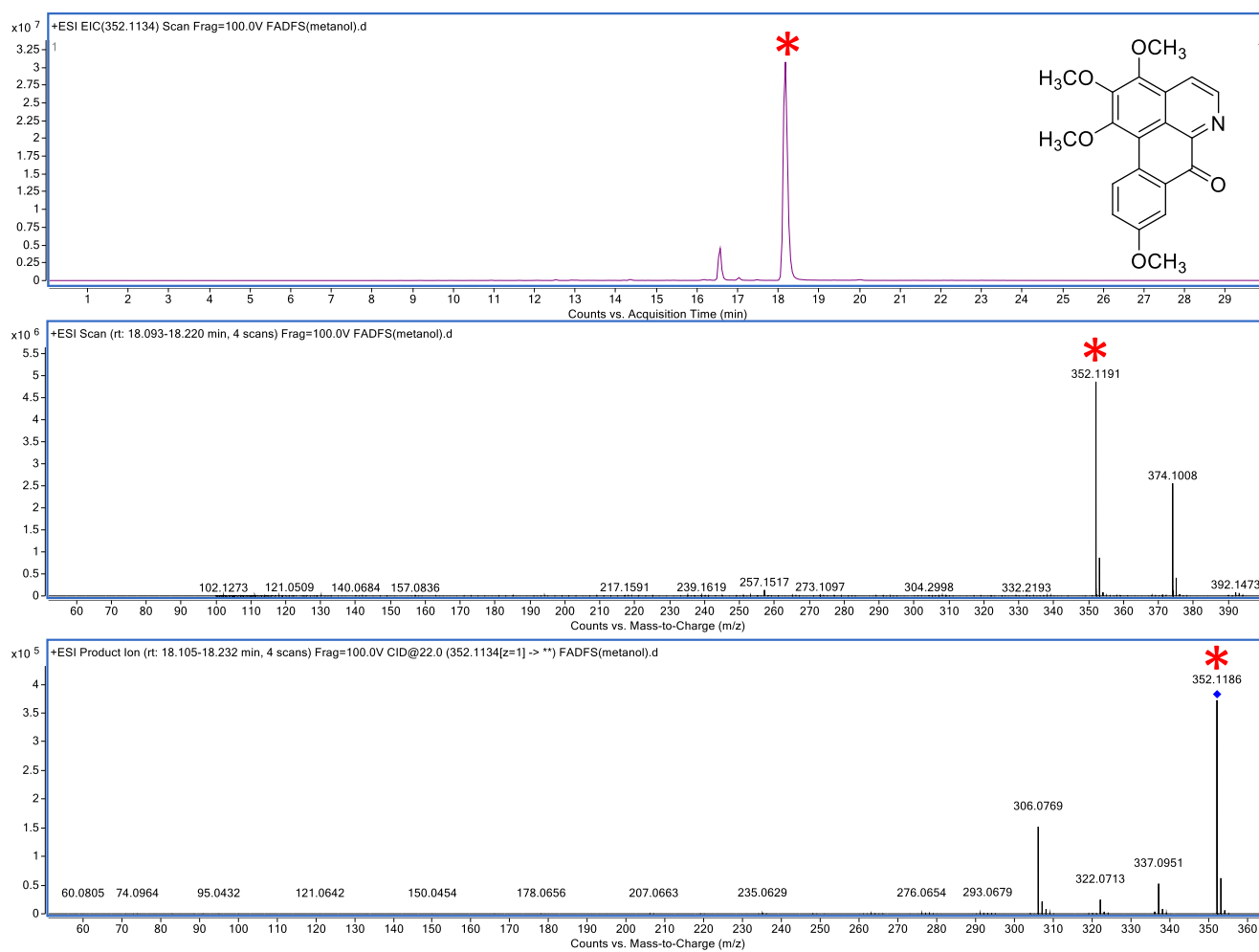
**A22.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA *N*-METIL, COCLAURINA *N*-ÓXIDO (7B).



**A 23.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA RETICULINA *N*-ÓXIDO (8B).

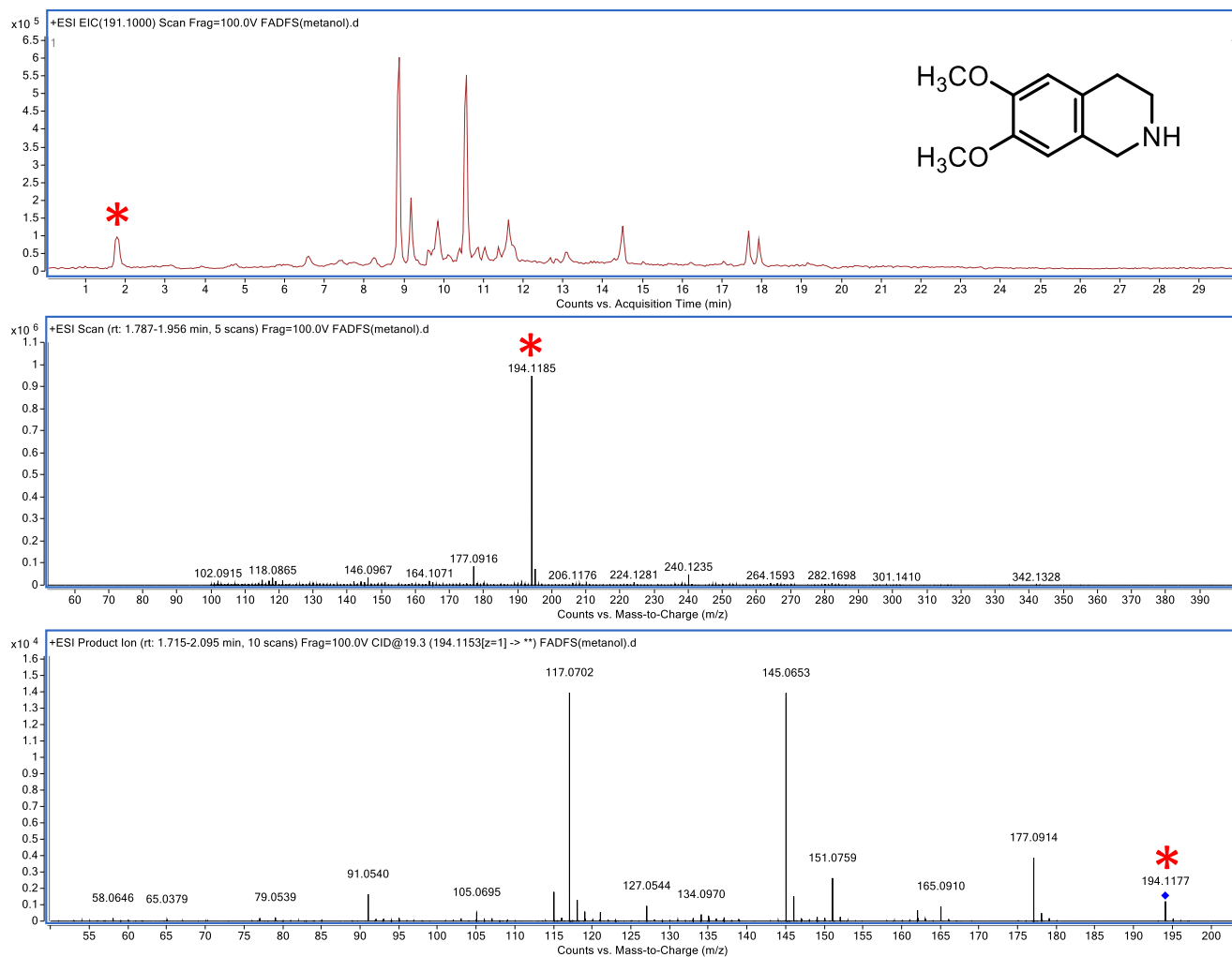


**A24.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA SUBSESSILINA (1C).



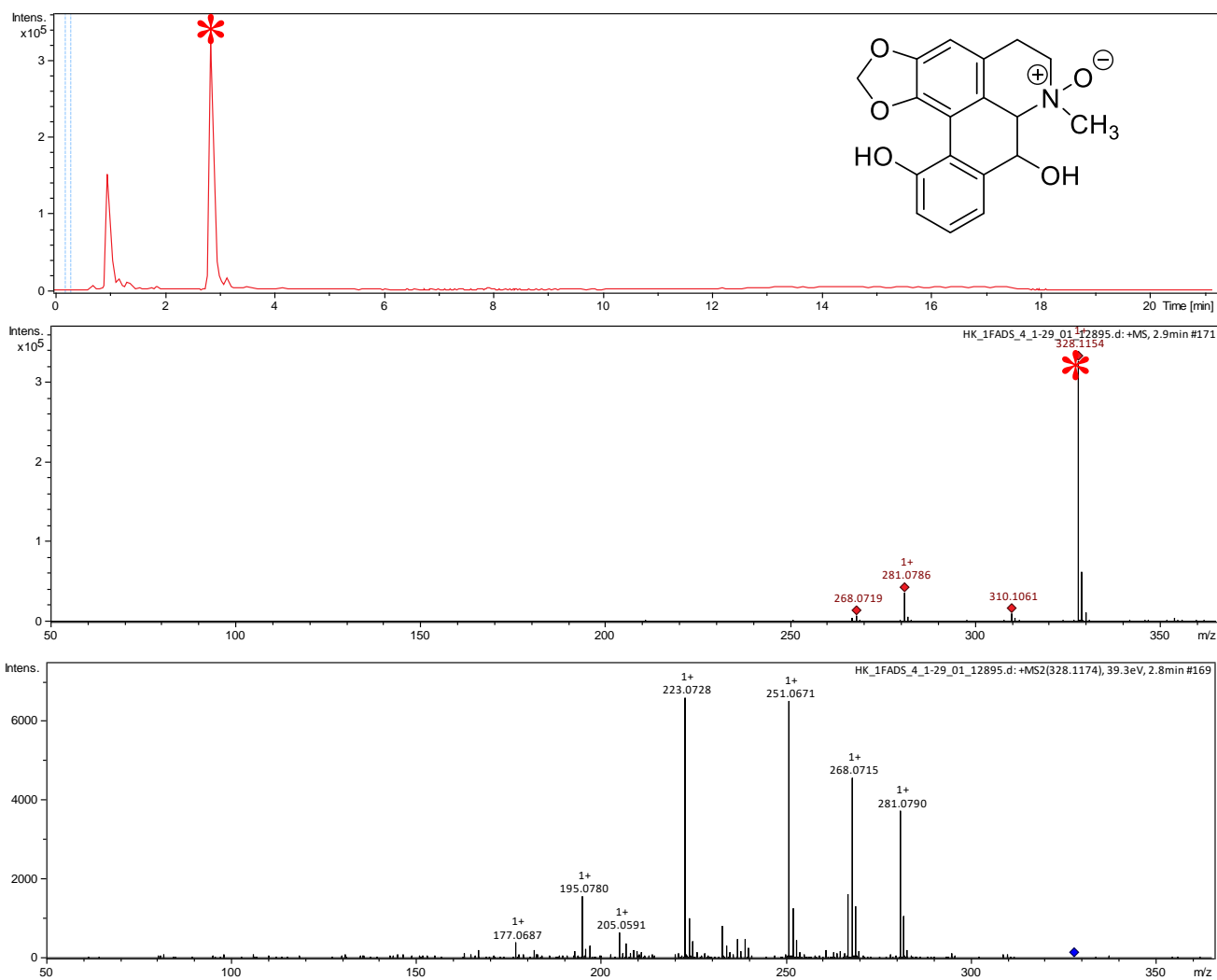
**A25.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA 9-METÓXI-O-METILMOSCHATOLINA (2C).



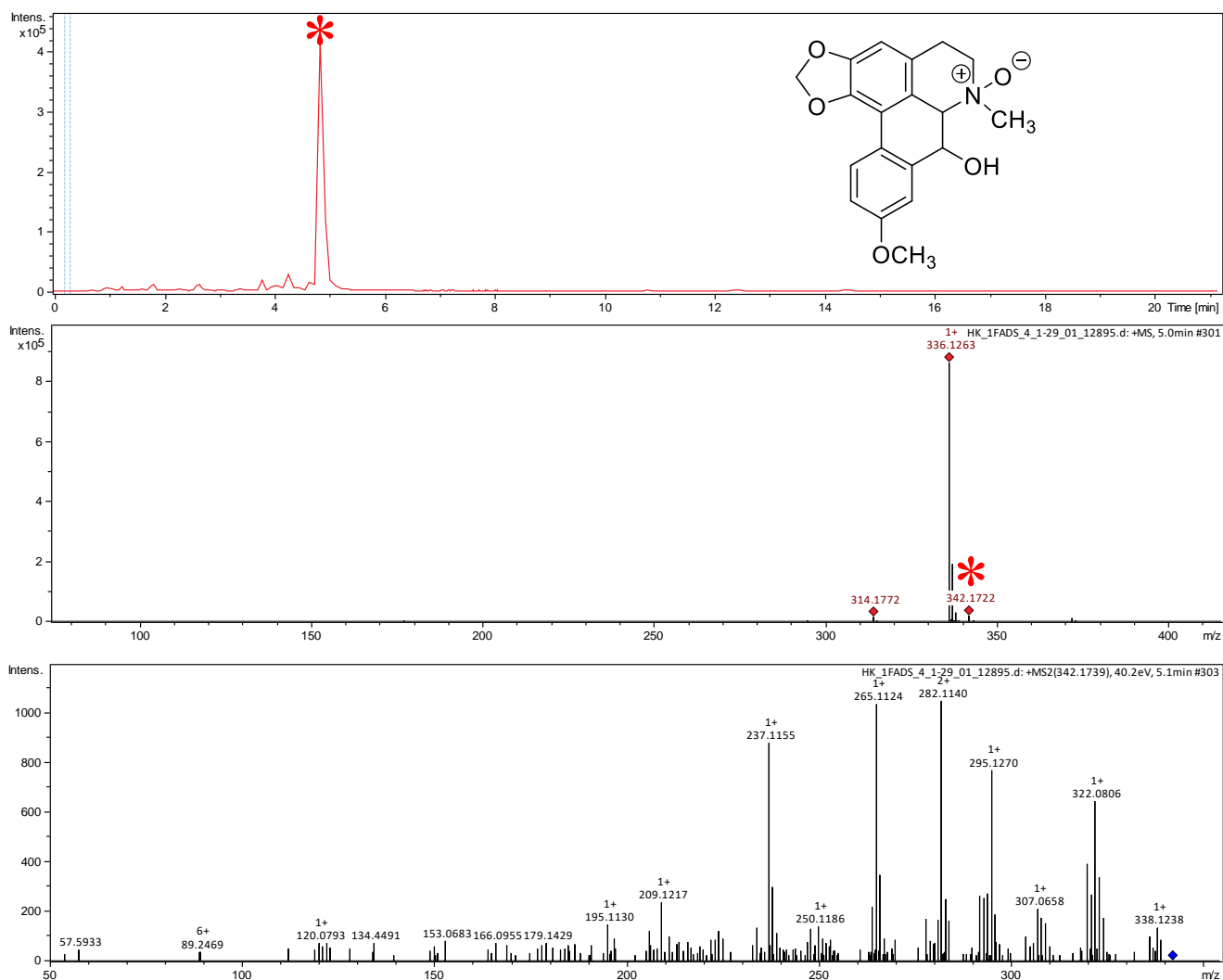


**A26.** CROMATOGRAMA DE ÍONS EXTRAÍDOS, ESPECTROS DE MS E MS/MS DA SUBSTÂNCIA HELIAMINA (1D).

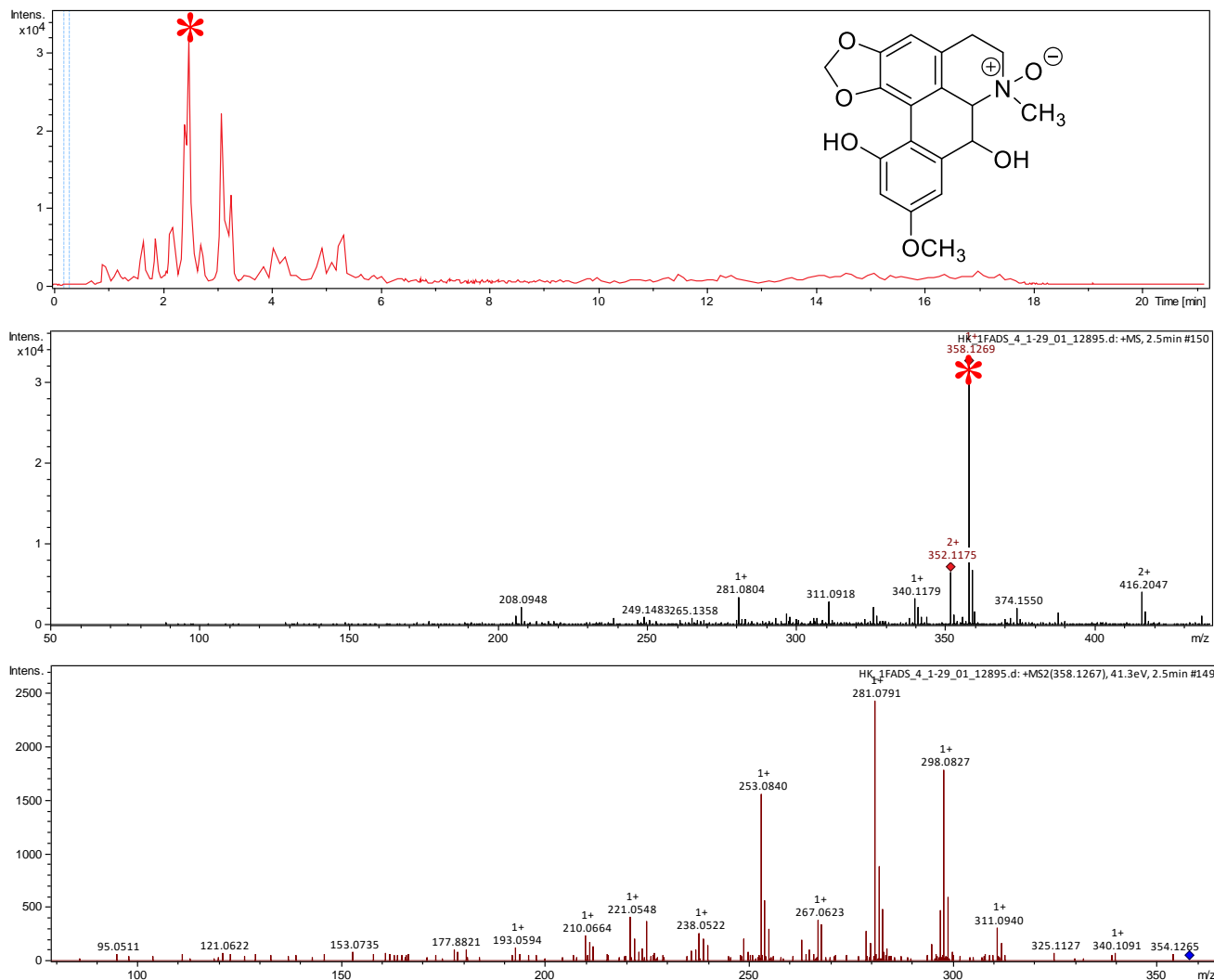
## APÊNDICE 26



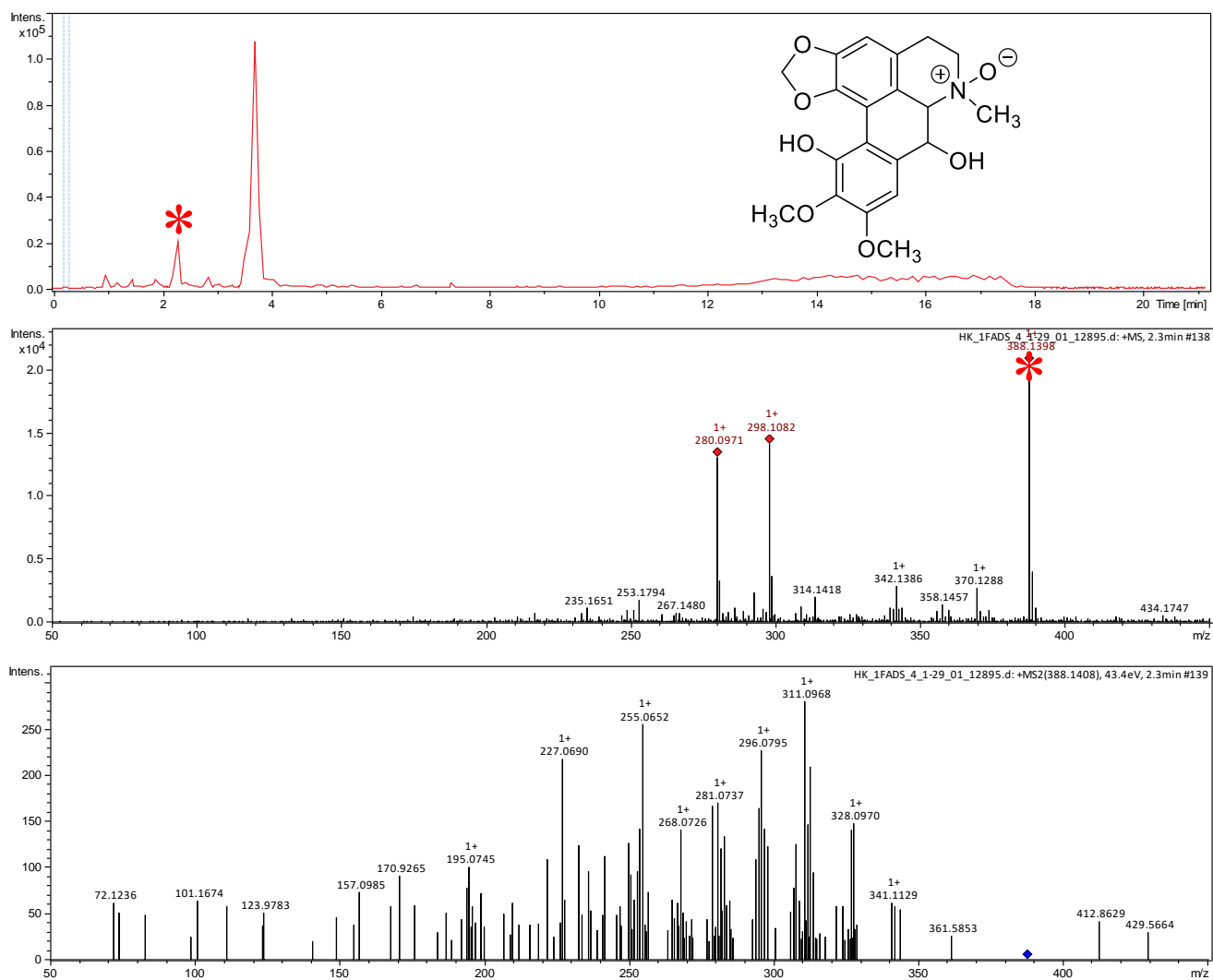
**A27.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_4 DA SUBSTÂNCIA DUGUETINA *N*-ÓXIDO (14A).



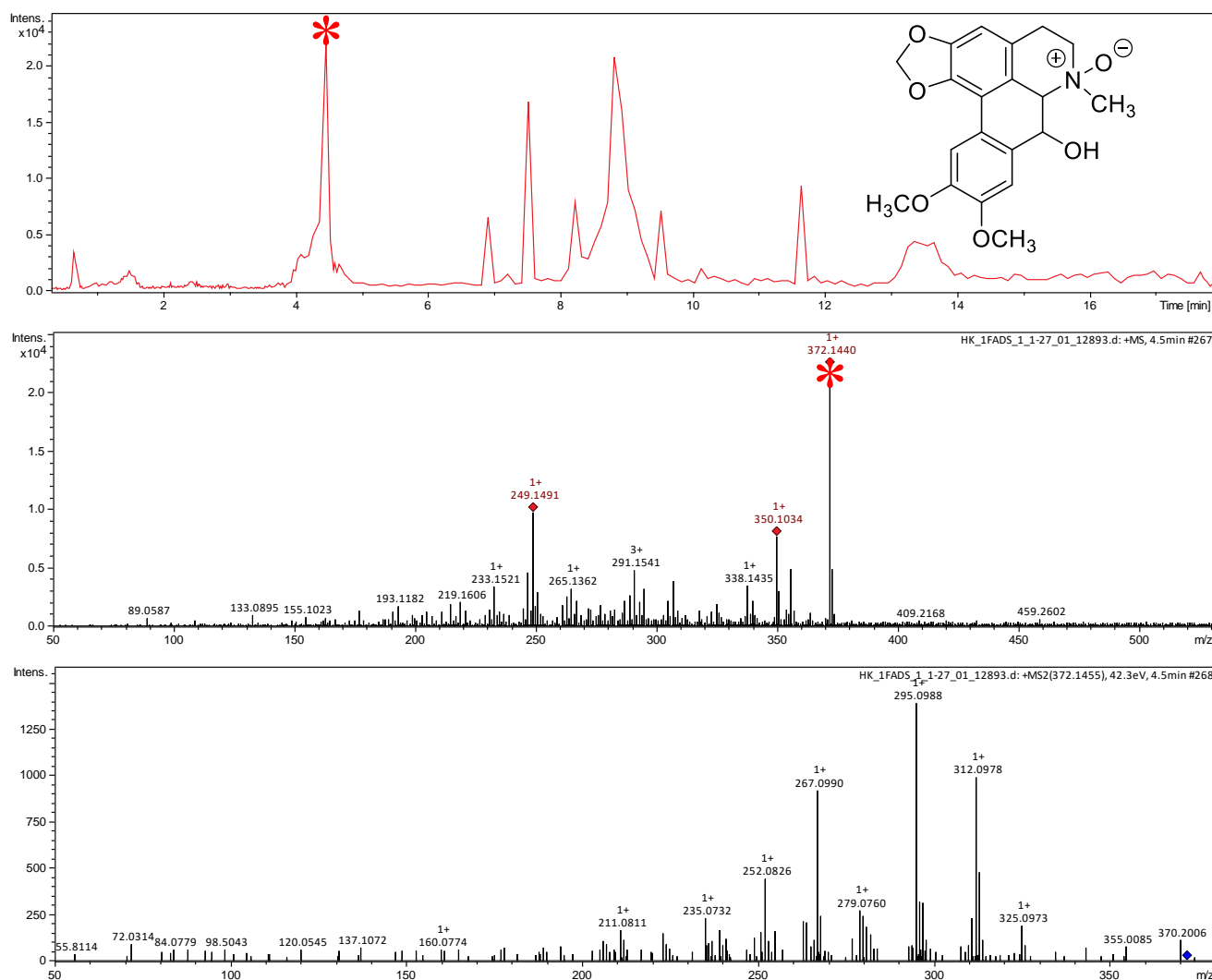
**A28.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_4 DA SUBSTÂNCIA OLIVERIDINA *N*-ÓXIDO (15A).



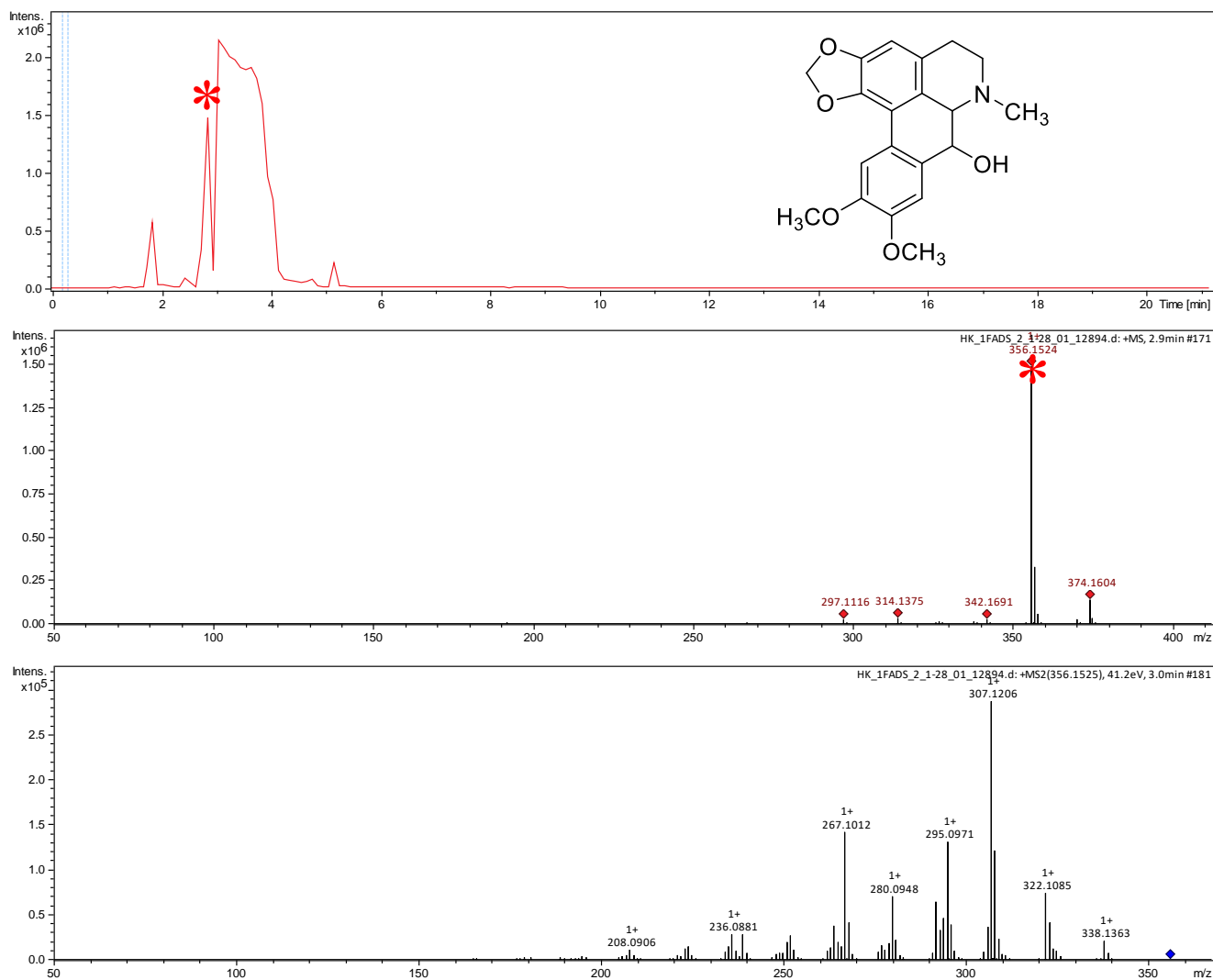
**A29.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_4 DA SUBSTÂNCIA SPIXIANINA *N*-ÓXIDO (16A).



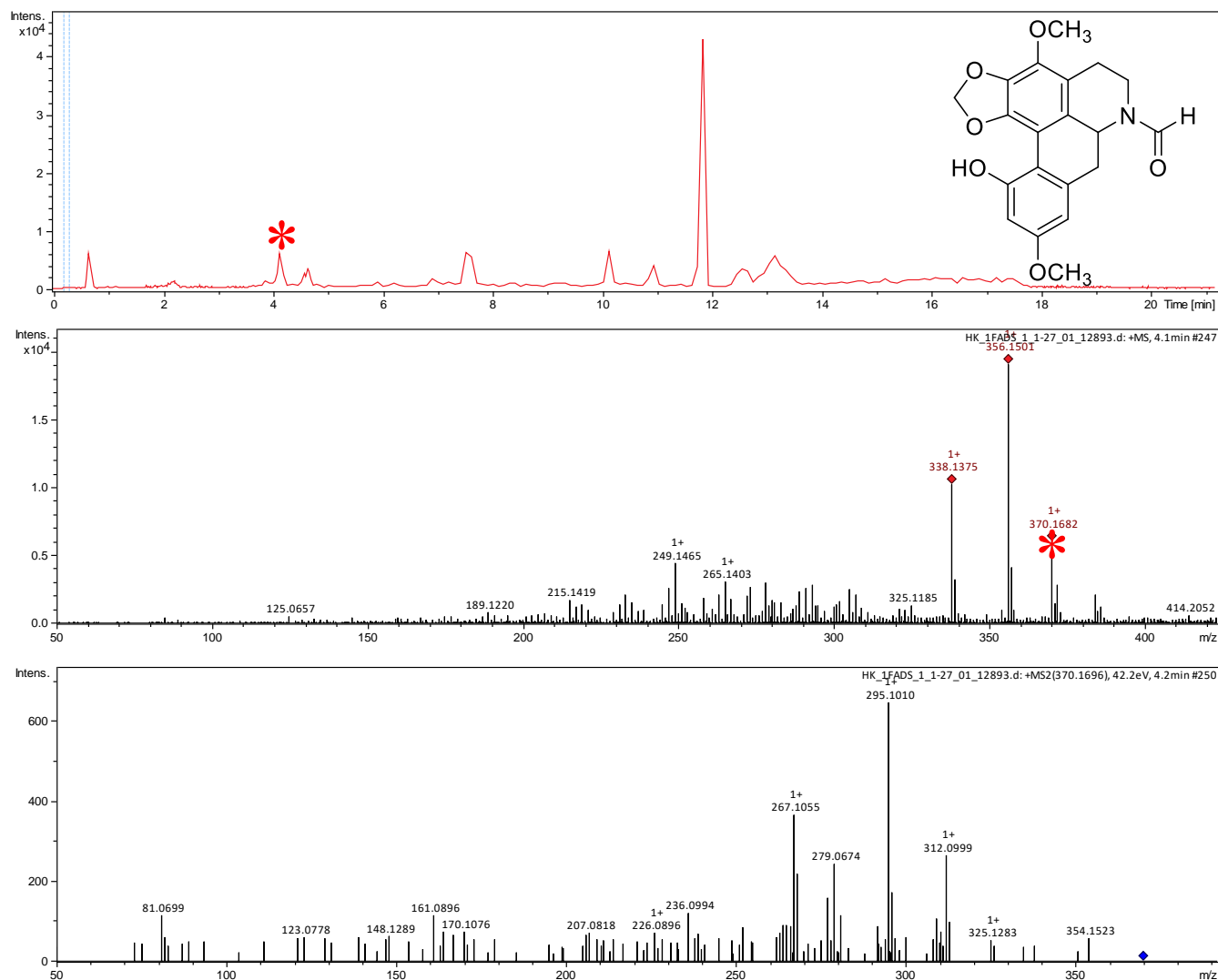
**A30.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_4 DA SUBSTÂNCIA 10-METOXI-DUGUETINA *N*-ÓXIDO (17A).



**A31.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_1 DA SUBSTÂNCIA DUGUETINA *N*-ÓXIDO (18A).

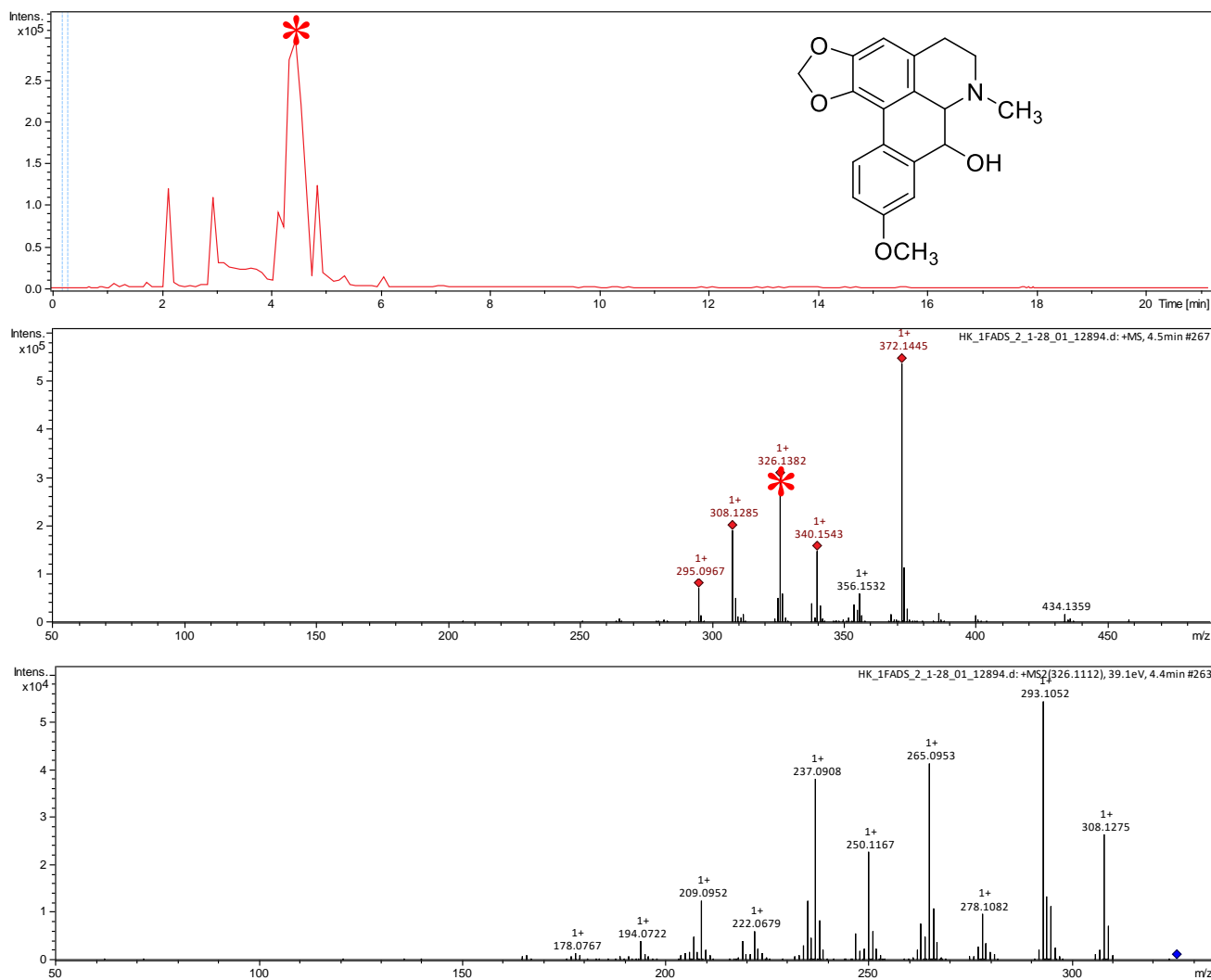


**A32.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA DUGUETINA (20A).

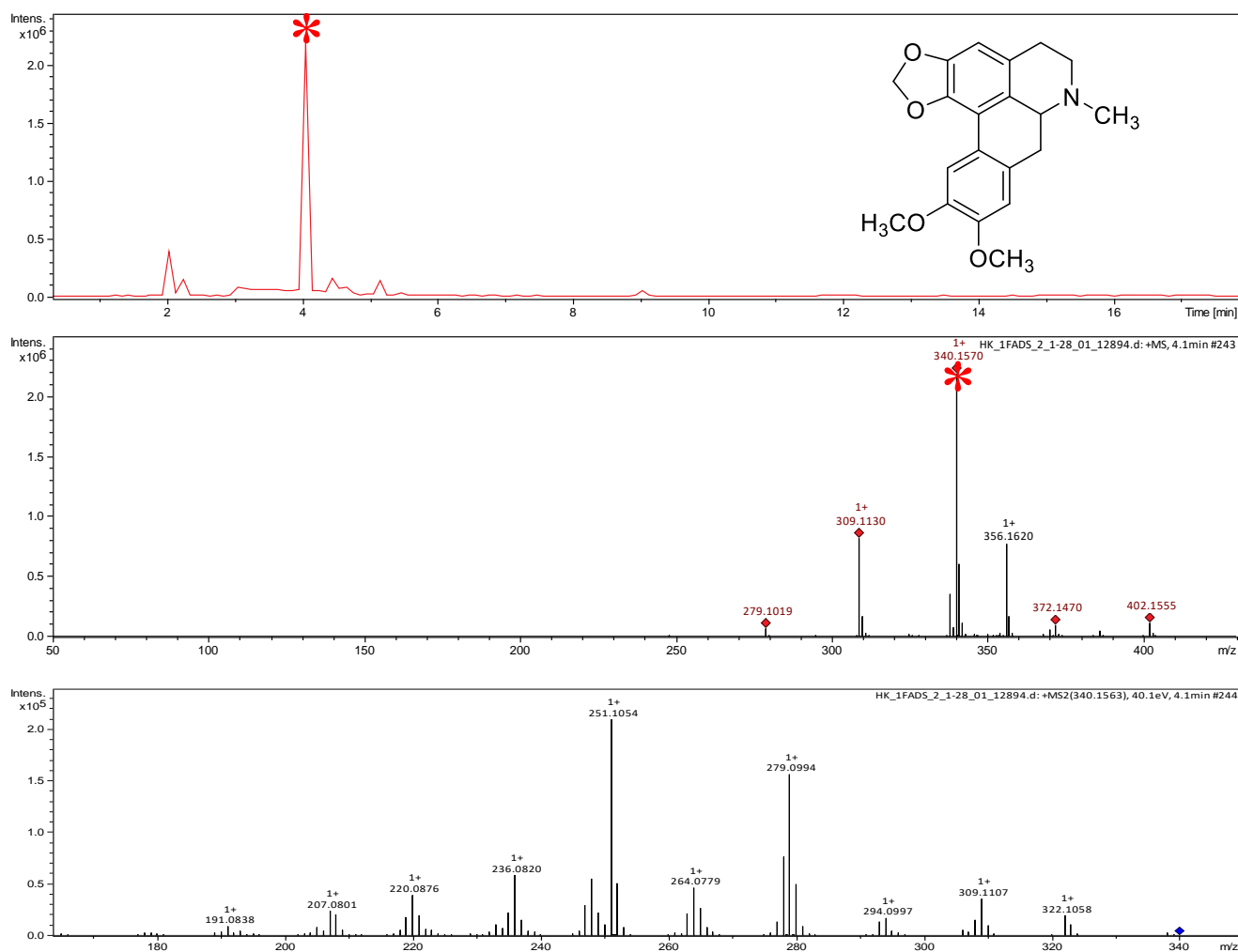


**A33.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_1 DA SUBSTÂNCIA *N*-FORMILDUGUEVANINA (21A).

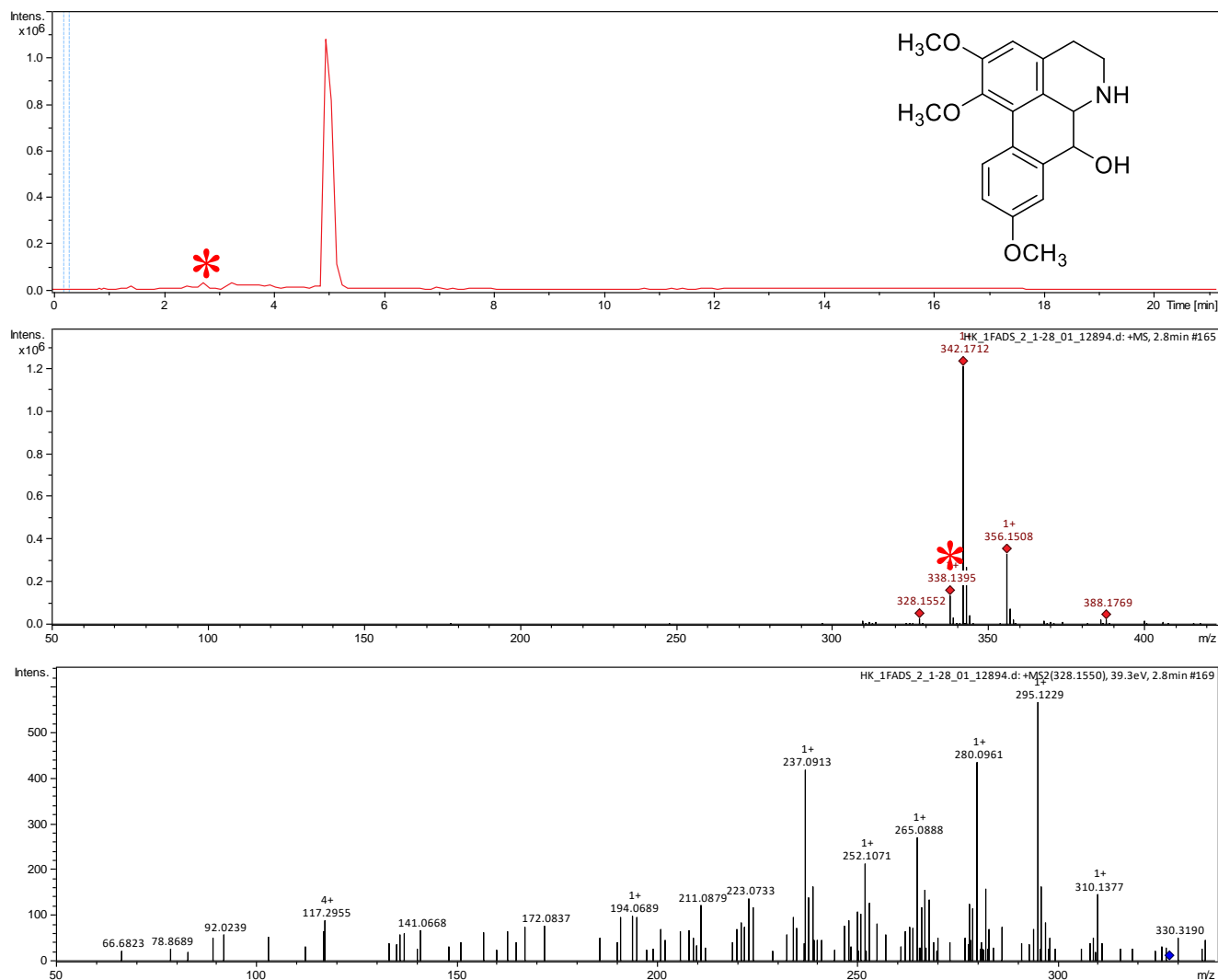




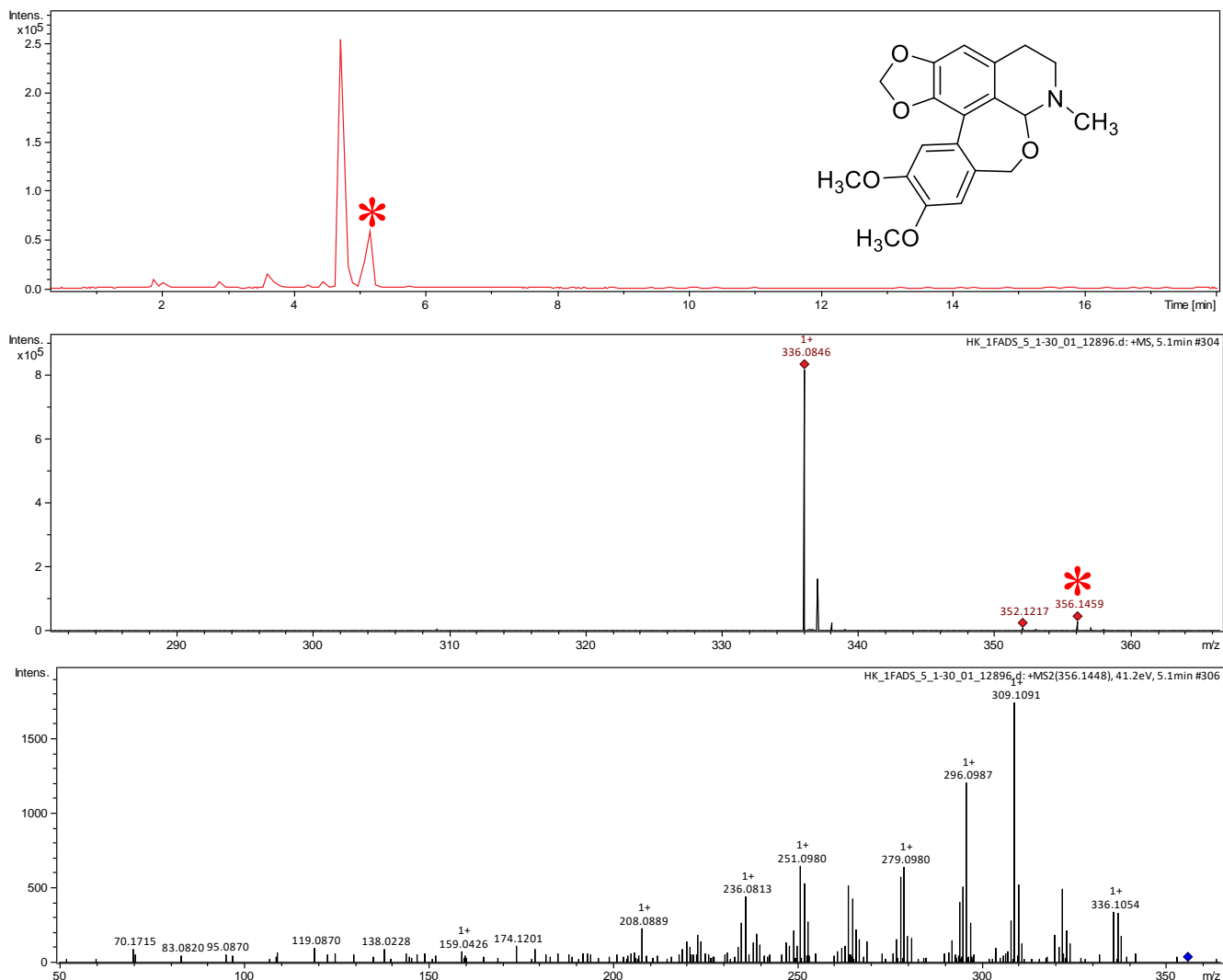
**A34.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA OLIVERIDINA (22A).



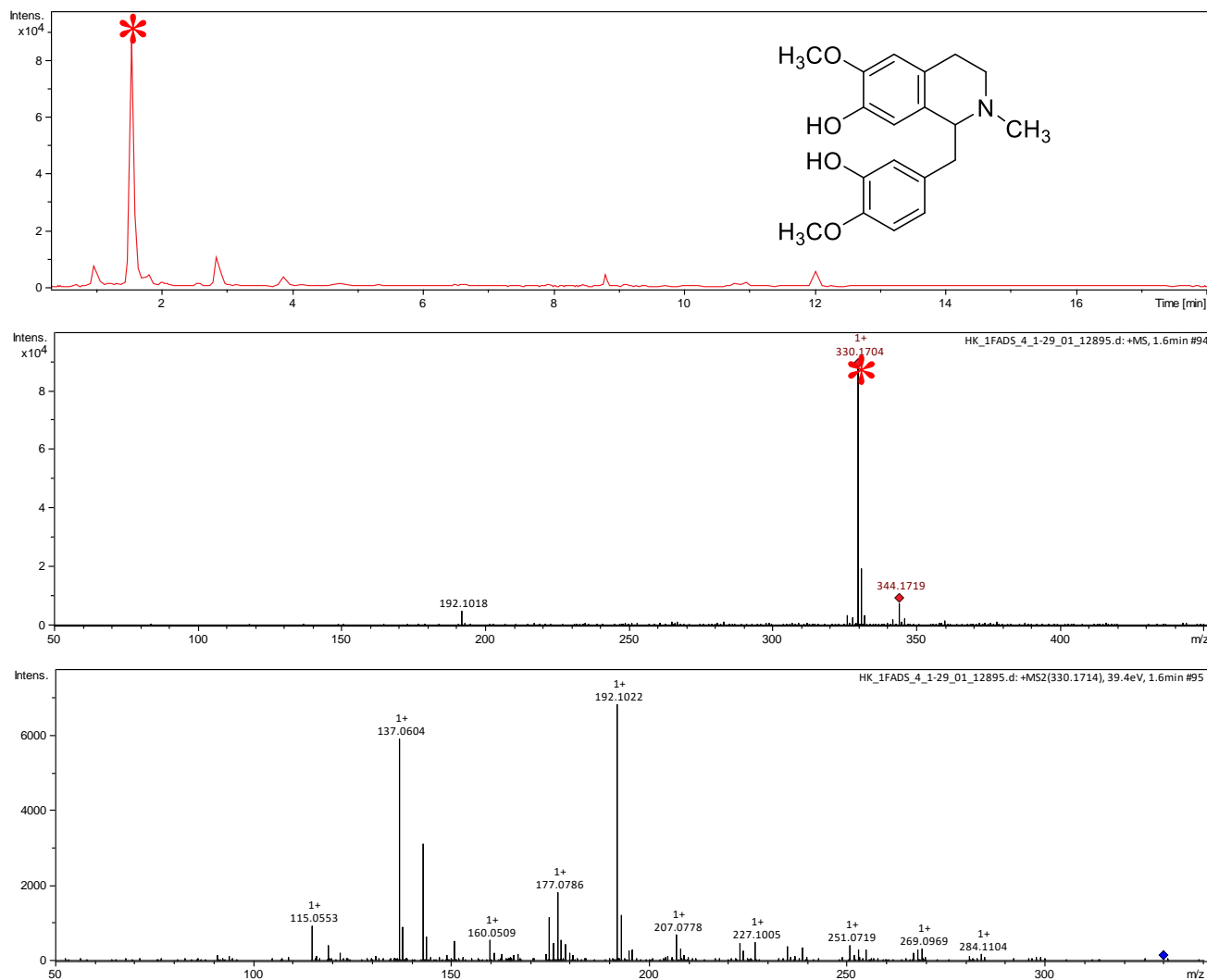
**A35.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA OLIVERIDINA (23A).



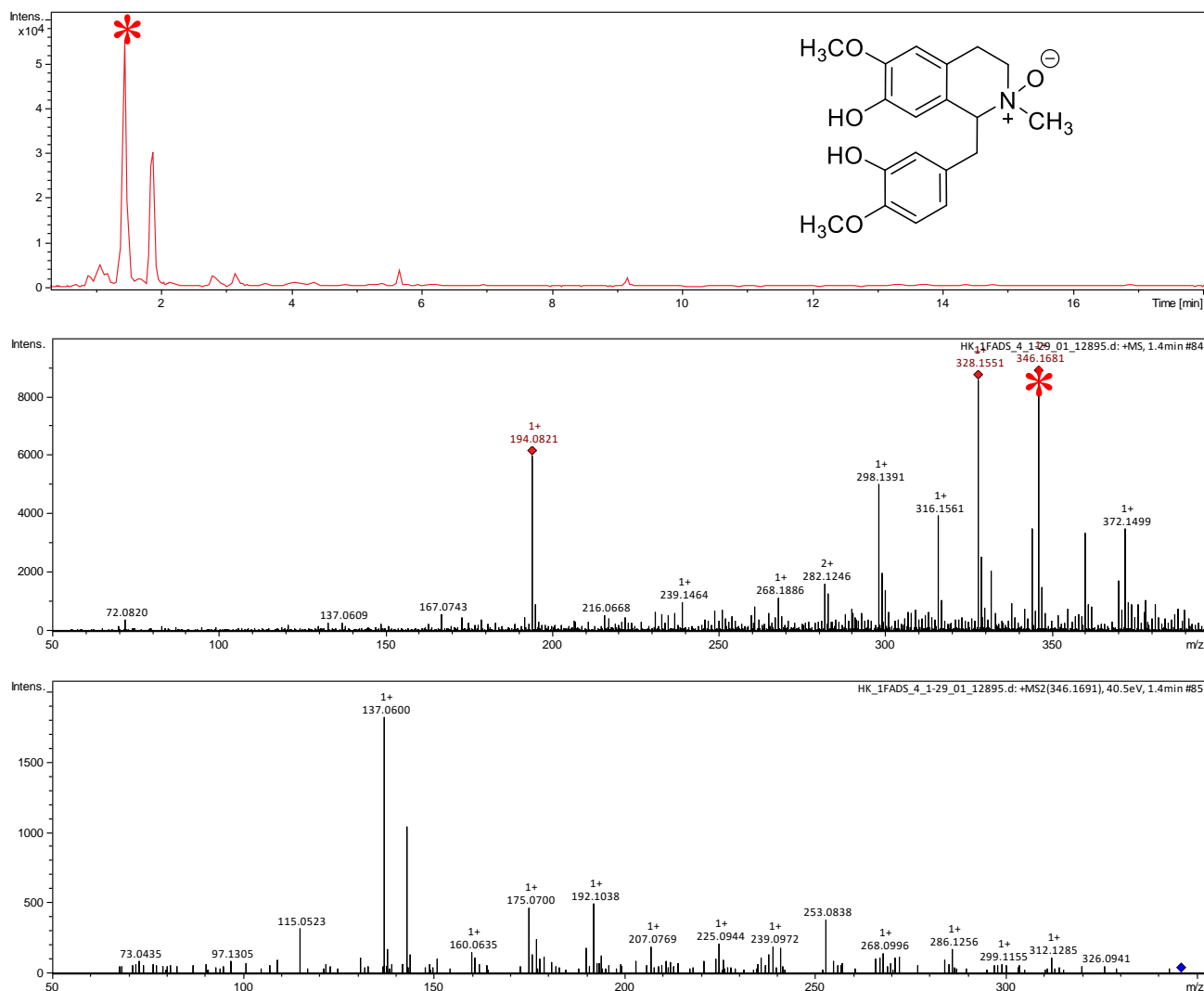
**A36.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA 9-METOXI - NORNUCIFERIDINA (24A).



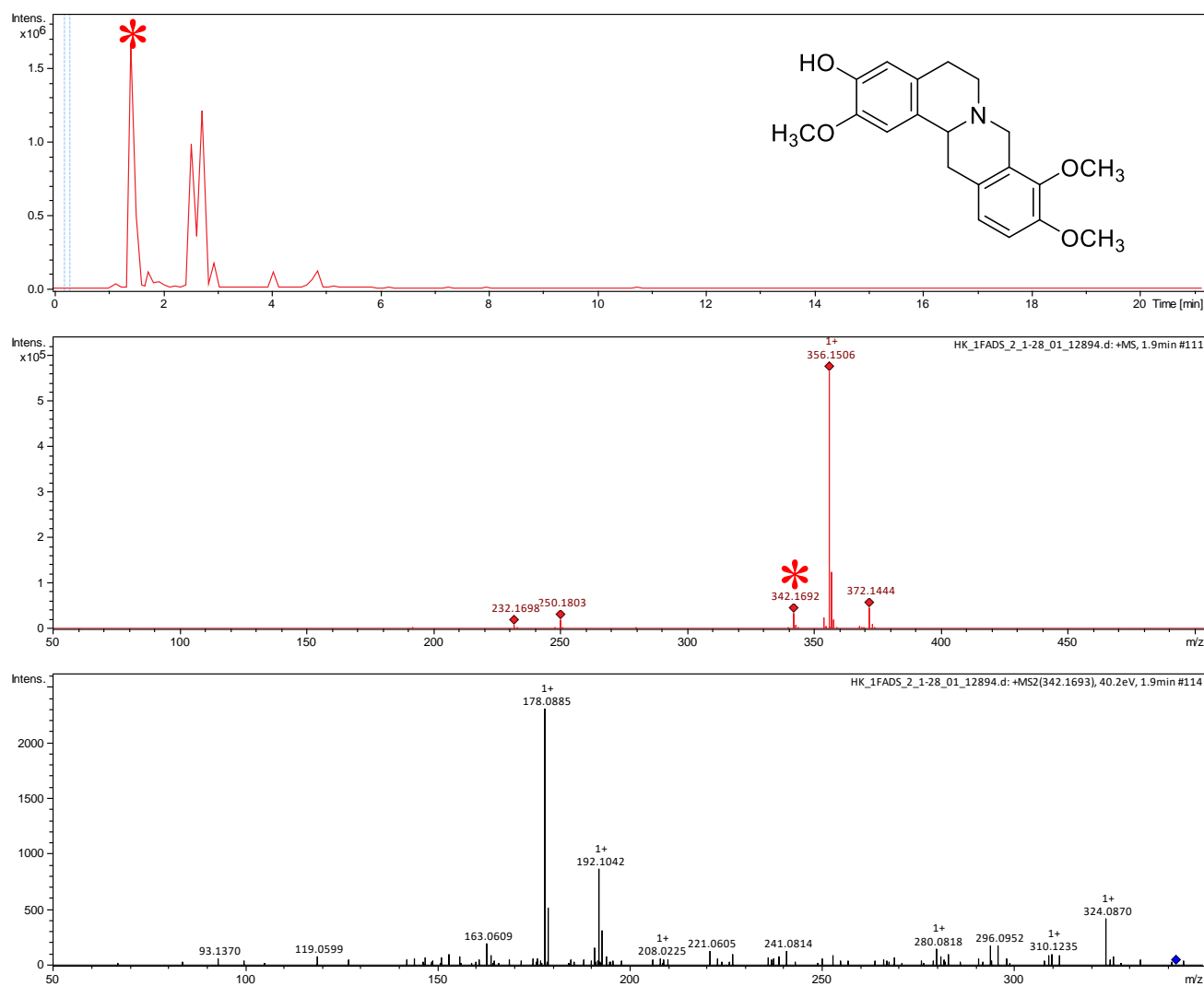
**A37.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_5 DA SUBSTÂNCIA DUGUETININA (25A).



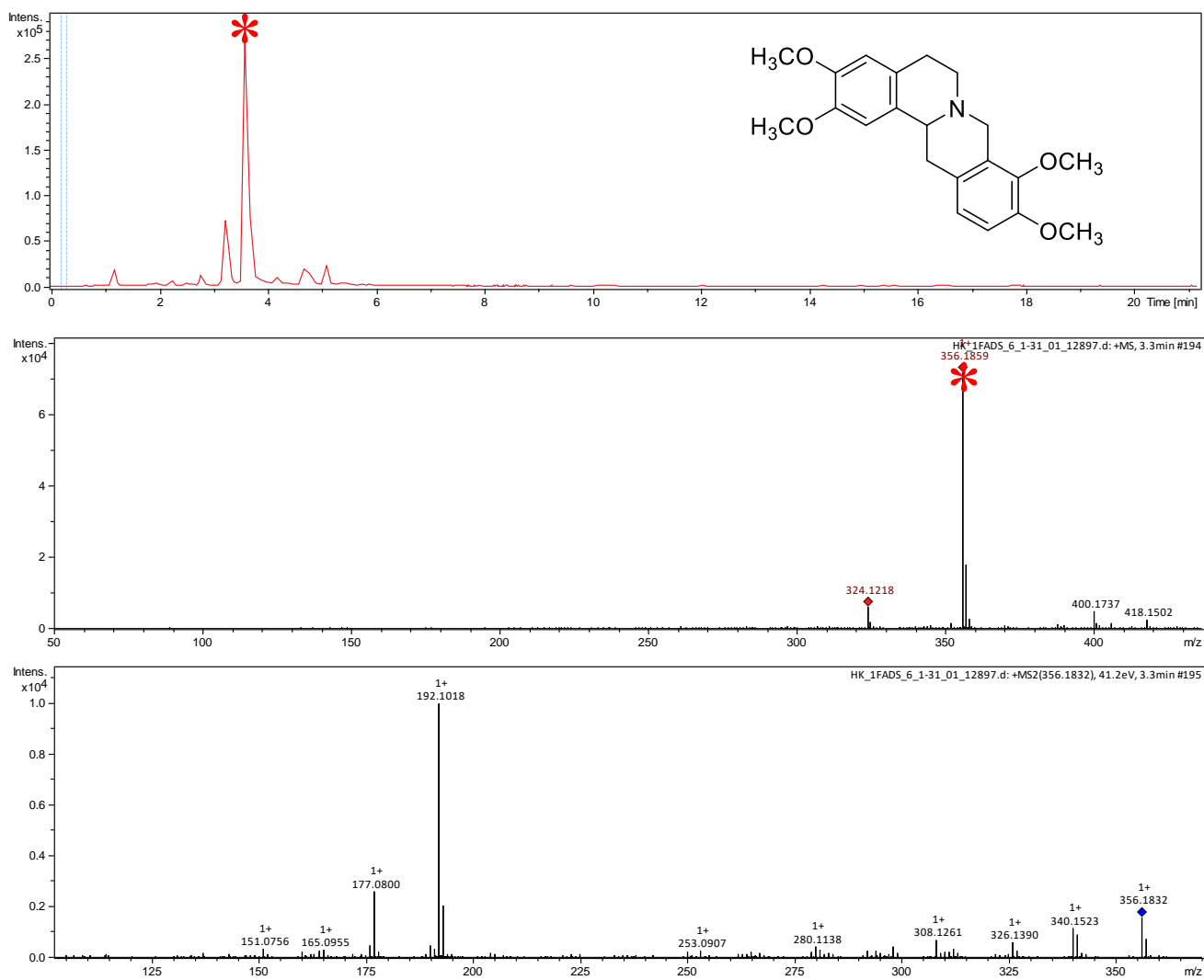
**A38.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_5 DA SUBSTÂNCIA RETICULINA (4B).



**A39.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_4 DA SUBSTÂNCIA RETICULINA *N*-ÓXIDO (8B).

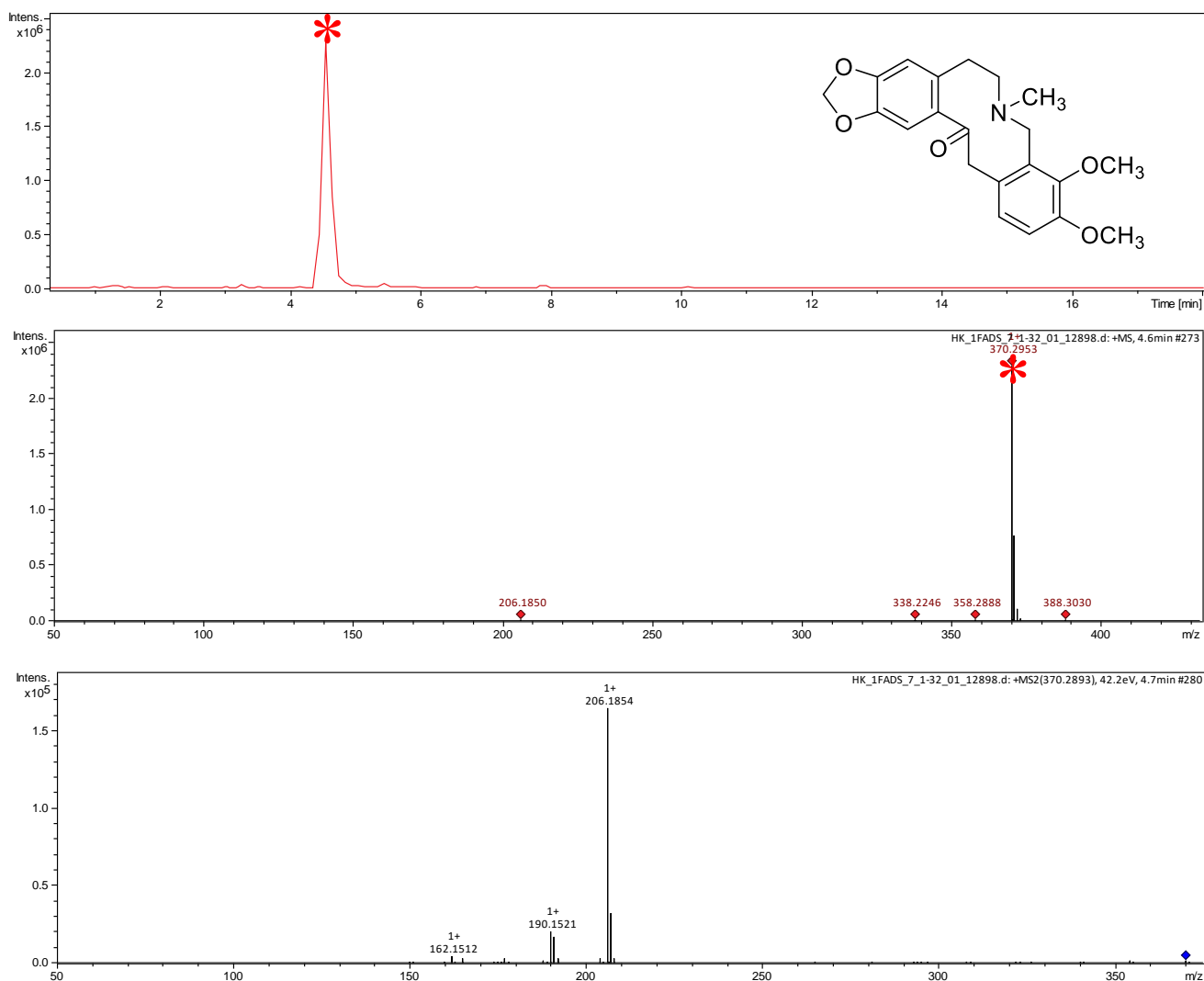


**A40.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA CORIPALMINA (1E).

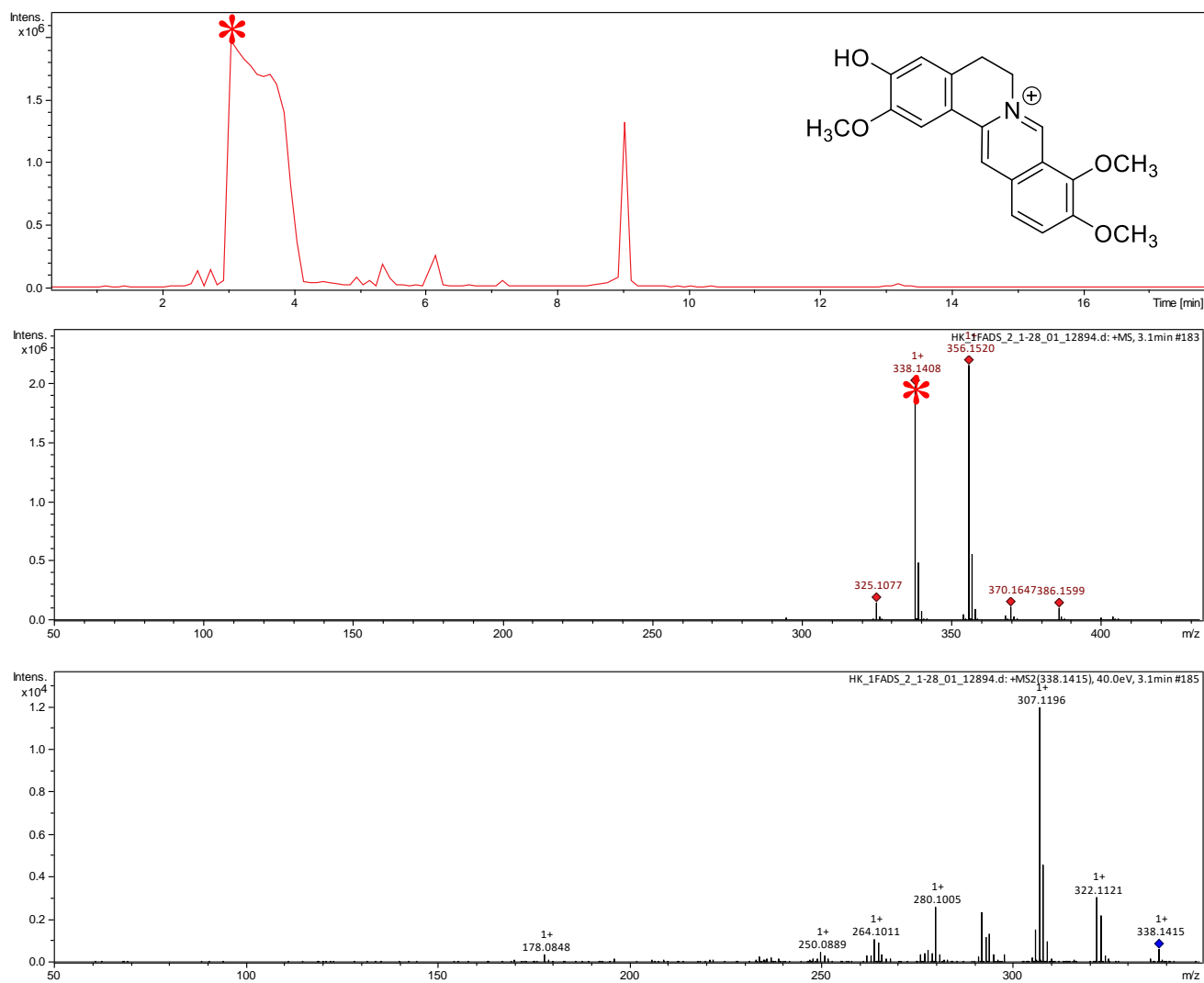


**A41.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_6 DA SUBSTÂNCIA TETRAHIDROPALMATINA (2E).

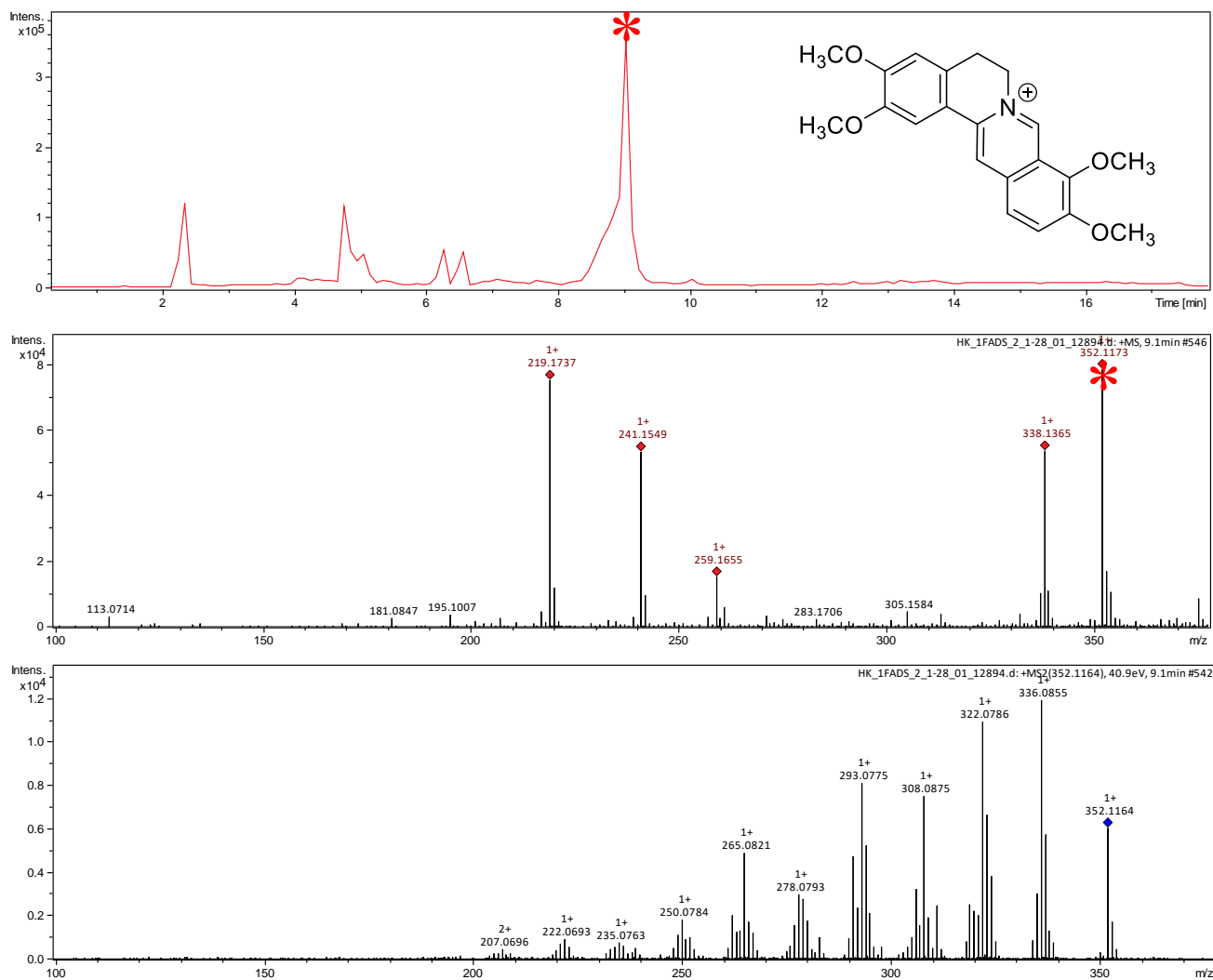




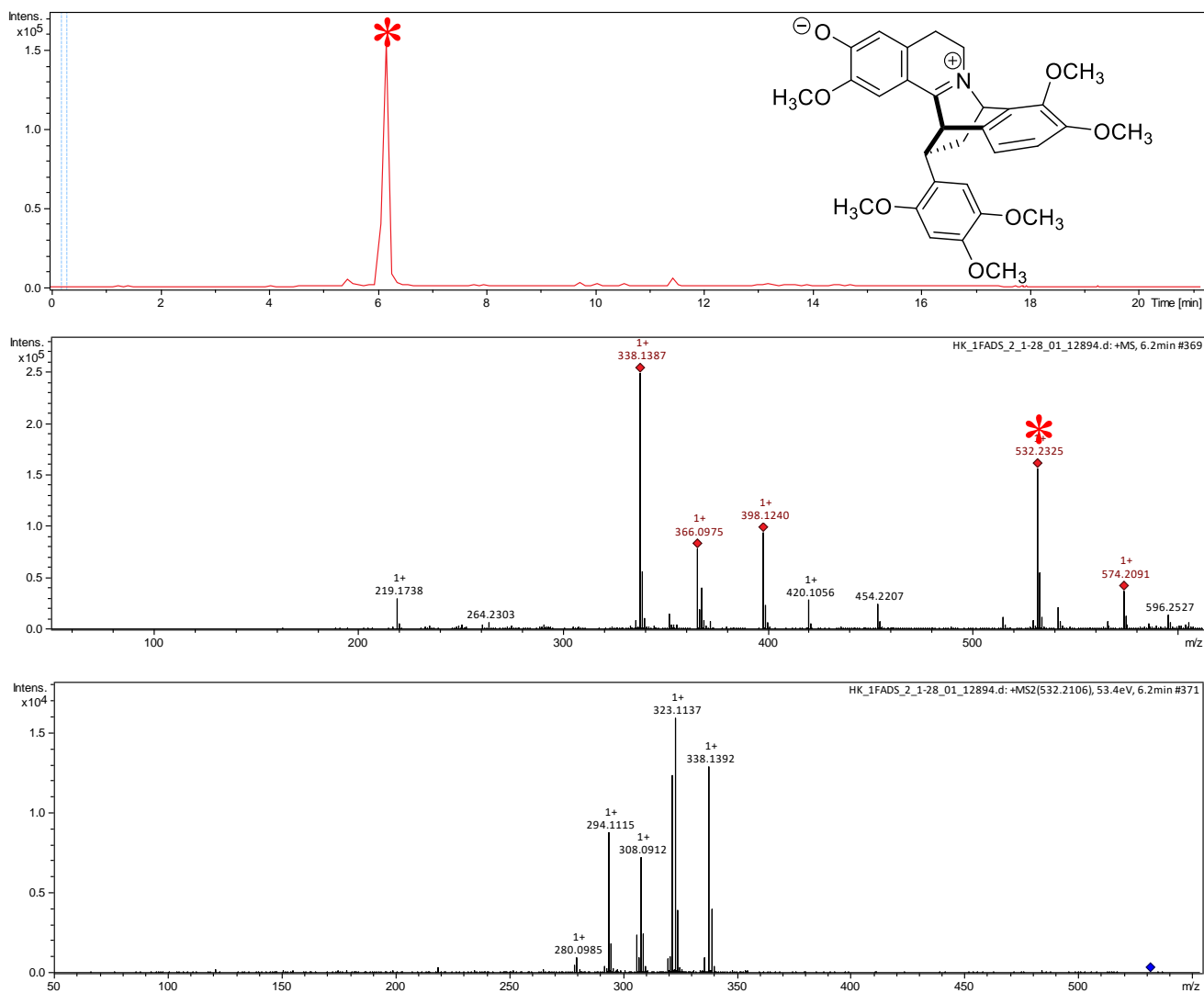
**A42.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_7 DA SUBSTÂNCIA ALOCRIPTOPINA (3E).



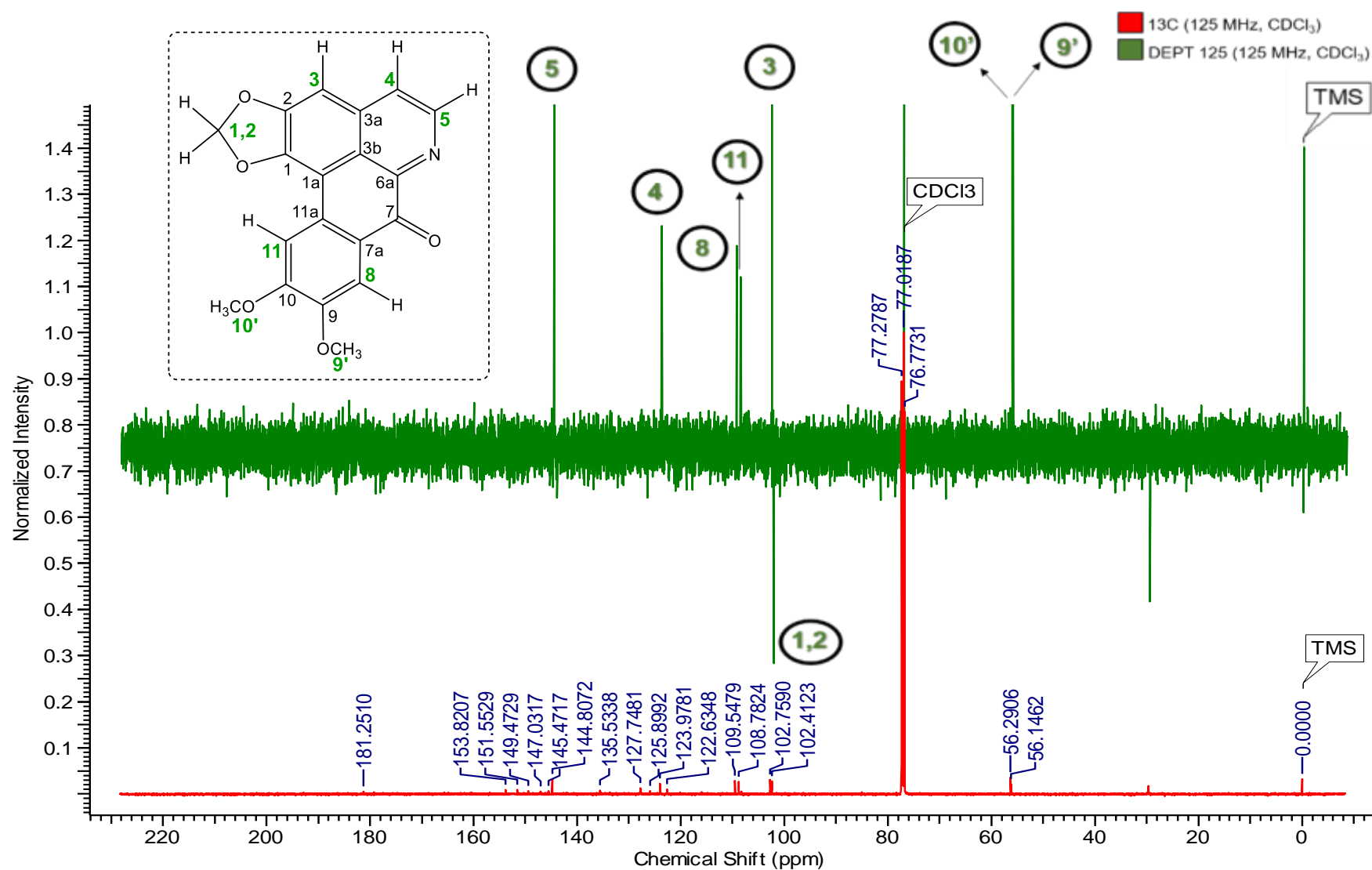
**A43.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA JATRORRIZINA (4E).



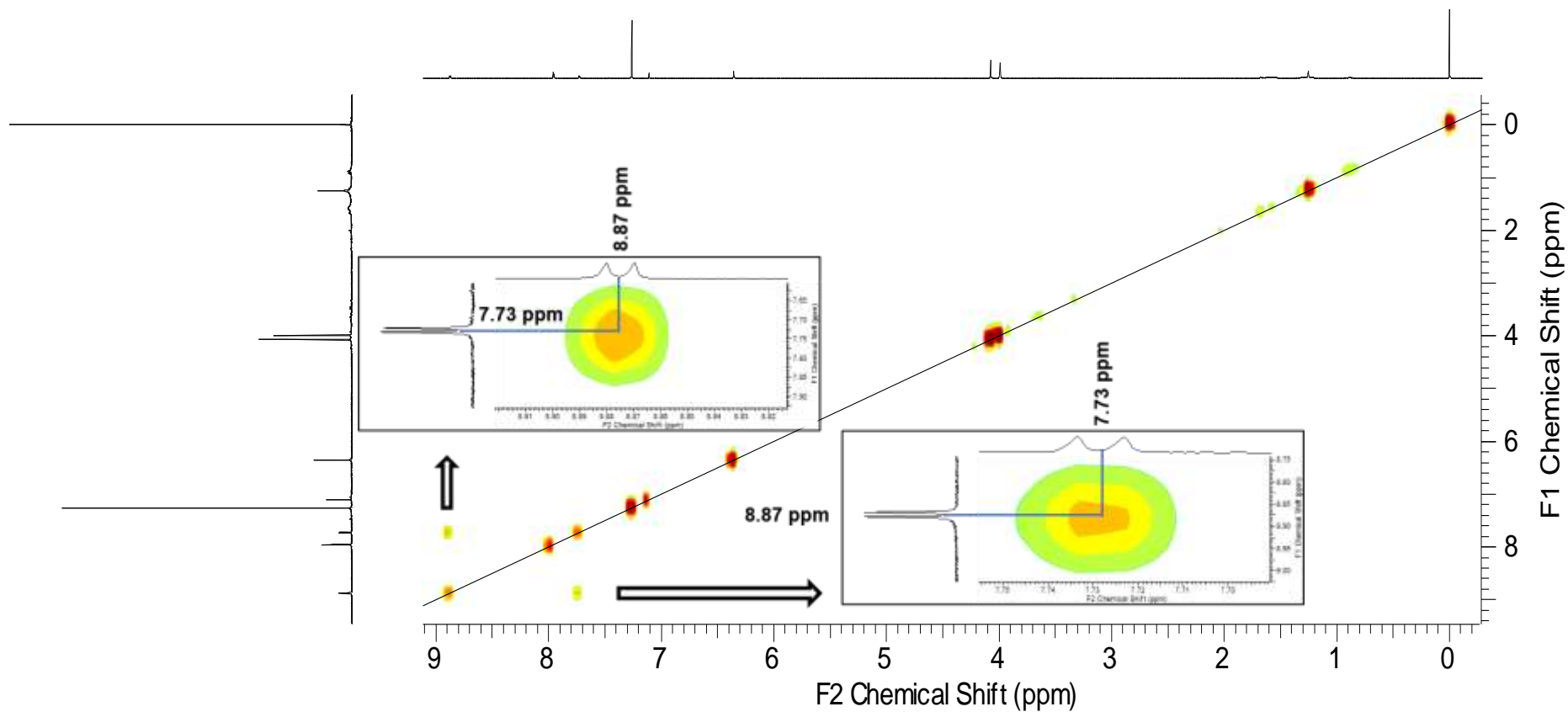
**A44.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA PALMATINA (5E).



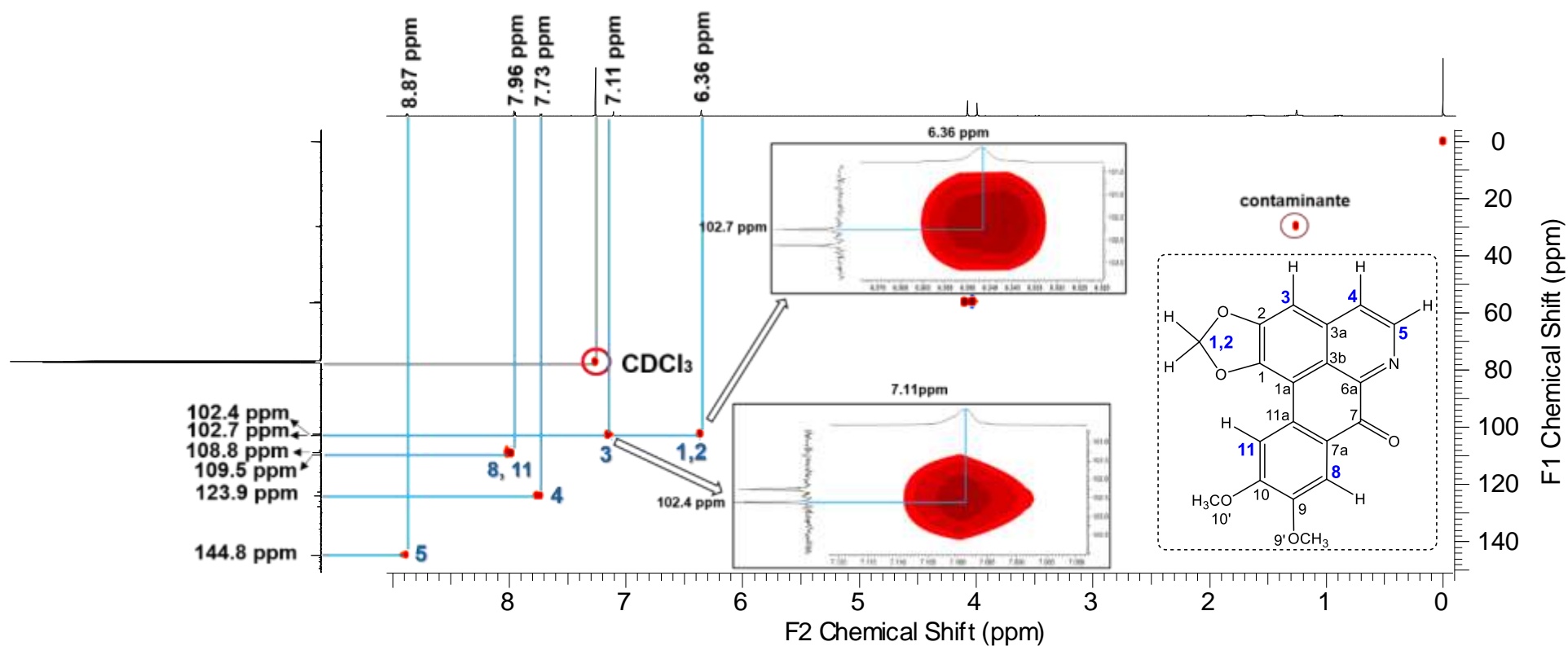
**A45.** CROMATOGRAMA DE ÍONS, ESPECTROS DE MS E MS/MS EXTRAÍDOS DA FRAÇÃO 1FACDS\_2 DA SUBSTÂNCIA STAUDINA (6E).



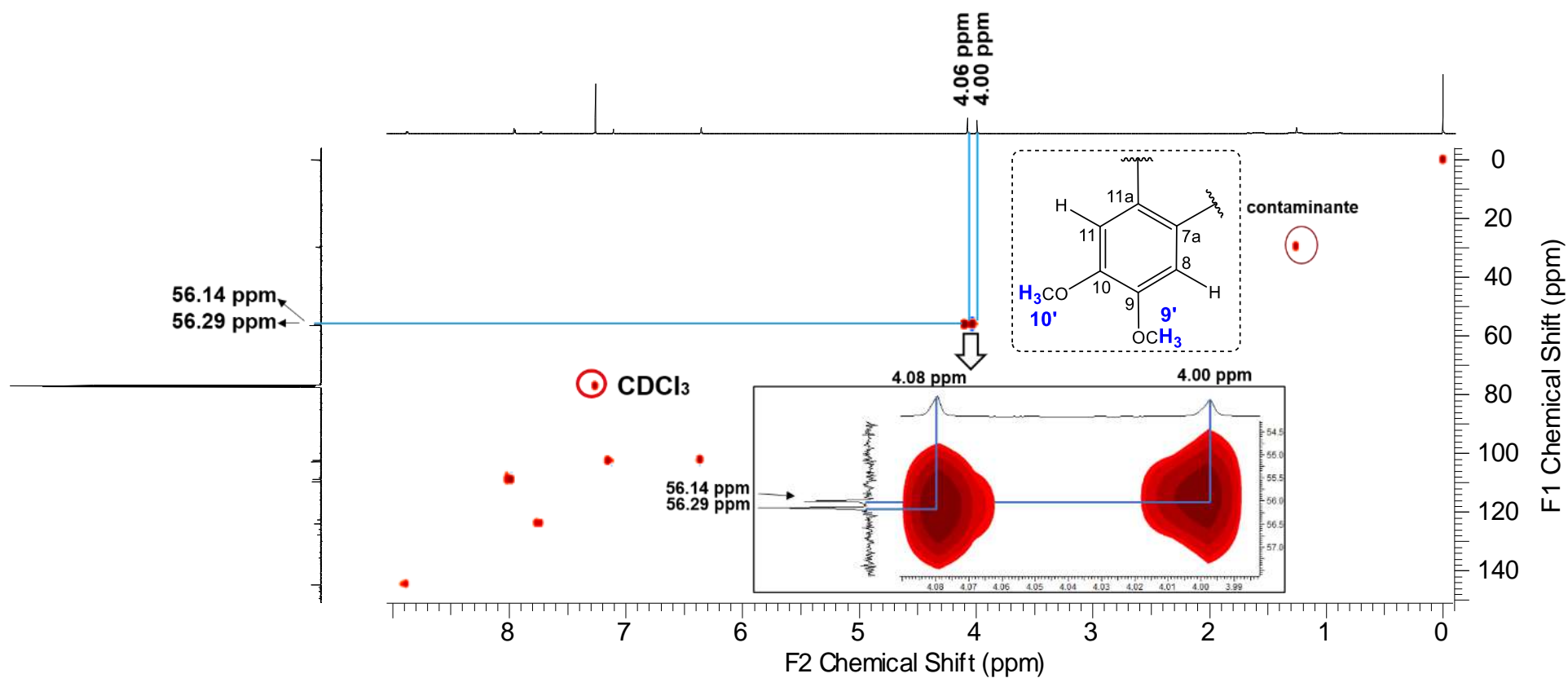
**A46.** ESPECTROS DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) E DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S1**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**A47.** MAPA DE CORRELAÇÃO COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  E AMPLIAÇÃO DOS SINAIS H-4 E H-5 (500 MHz EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S1**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

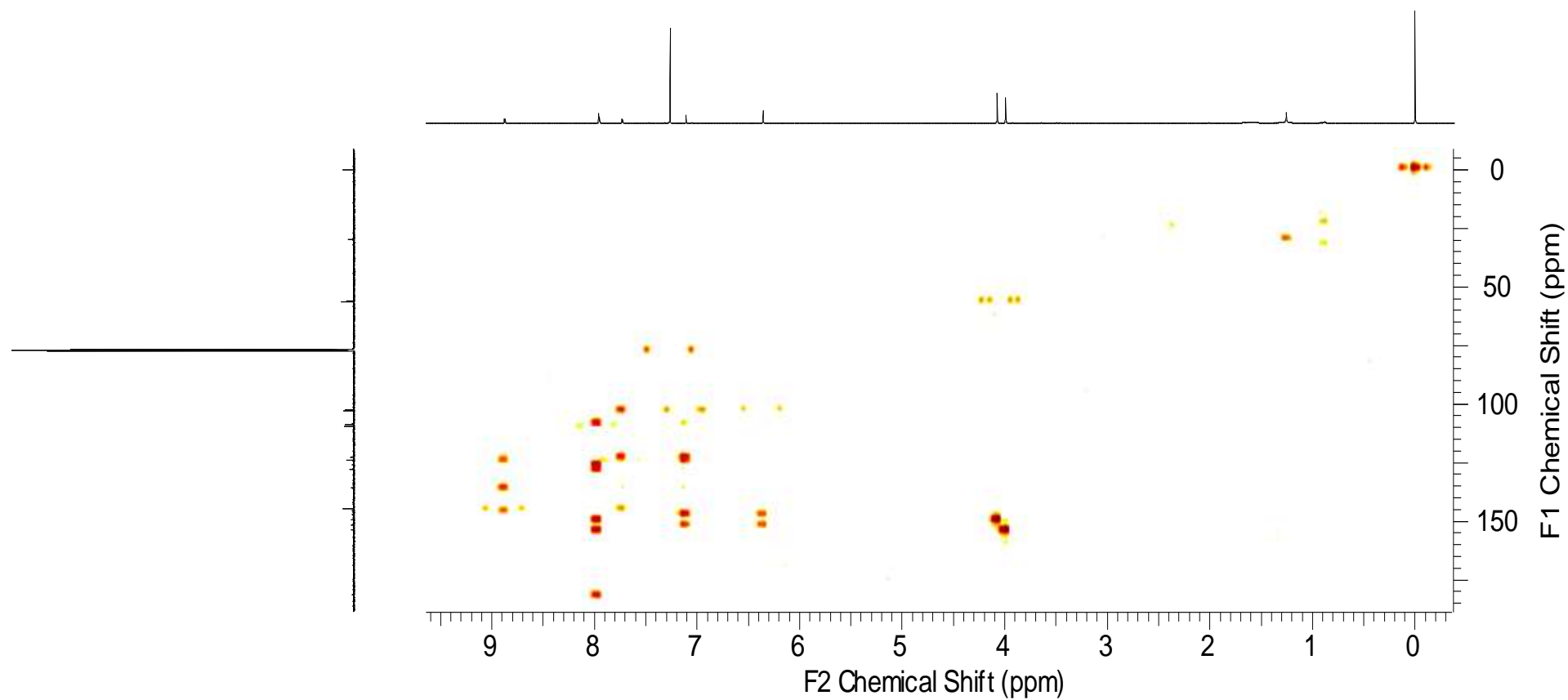


**A48.** MAPA DE CORRELAÇÃO HSQC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz EM  $\text{CDCl}_3$ ) INDICANDO OS SINAIS DA REGIÃO AROMÁTICA (H-3, H-4, H-5, H-8 E H-11 E DA PONTE METILENODIOXI COM AMPLIAÇÃO DE ALGUNS SINAIS DA **S1**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

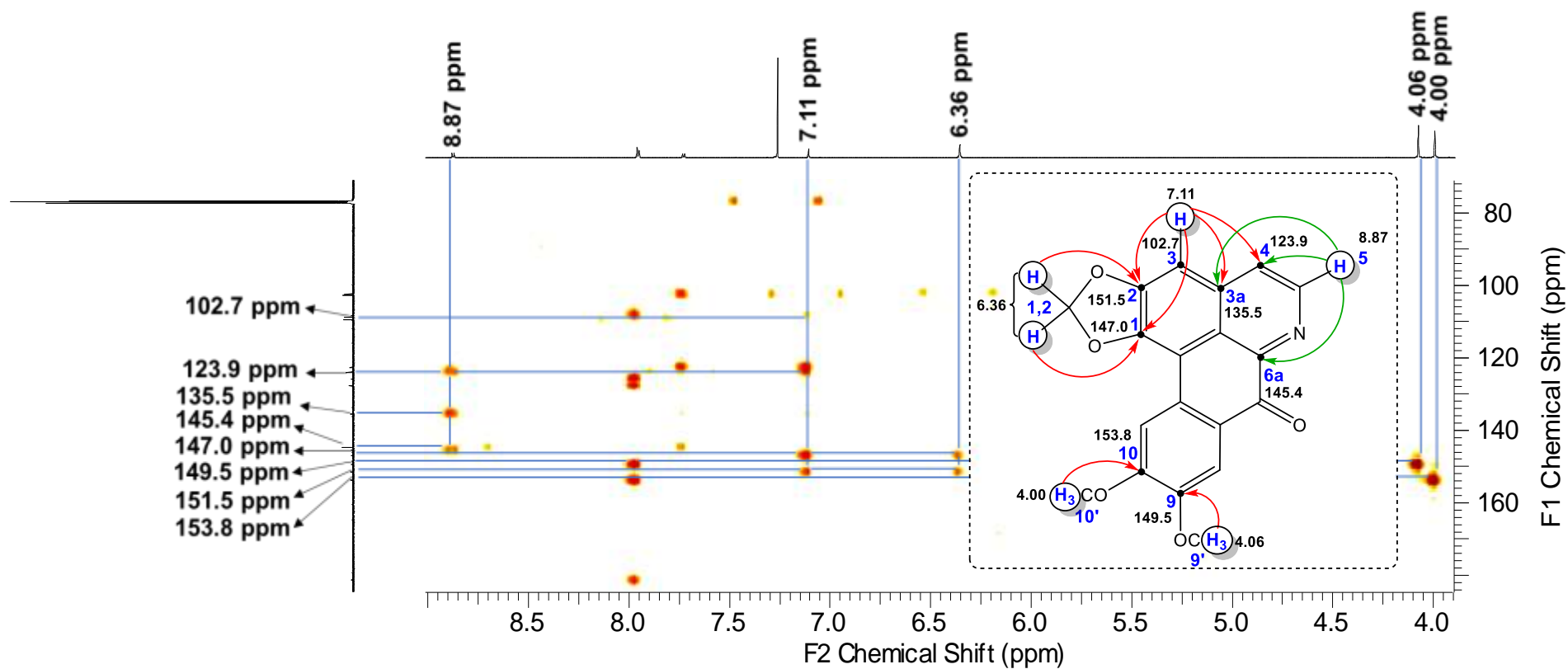


**A49.** MAPA DE CORRELAÇÃO HSQC (<sup>1</sup>H - 500 MHz; <sup>13</sup>C - 125 MHz EM CDCl<sub>3</sub>) INDICANDO OS SINAIS DA REGIÃO DAS METOXILAS (H-9' E H-10') E SUA AMPLIAÇÃO DA S1. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

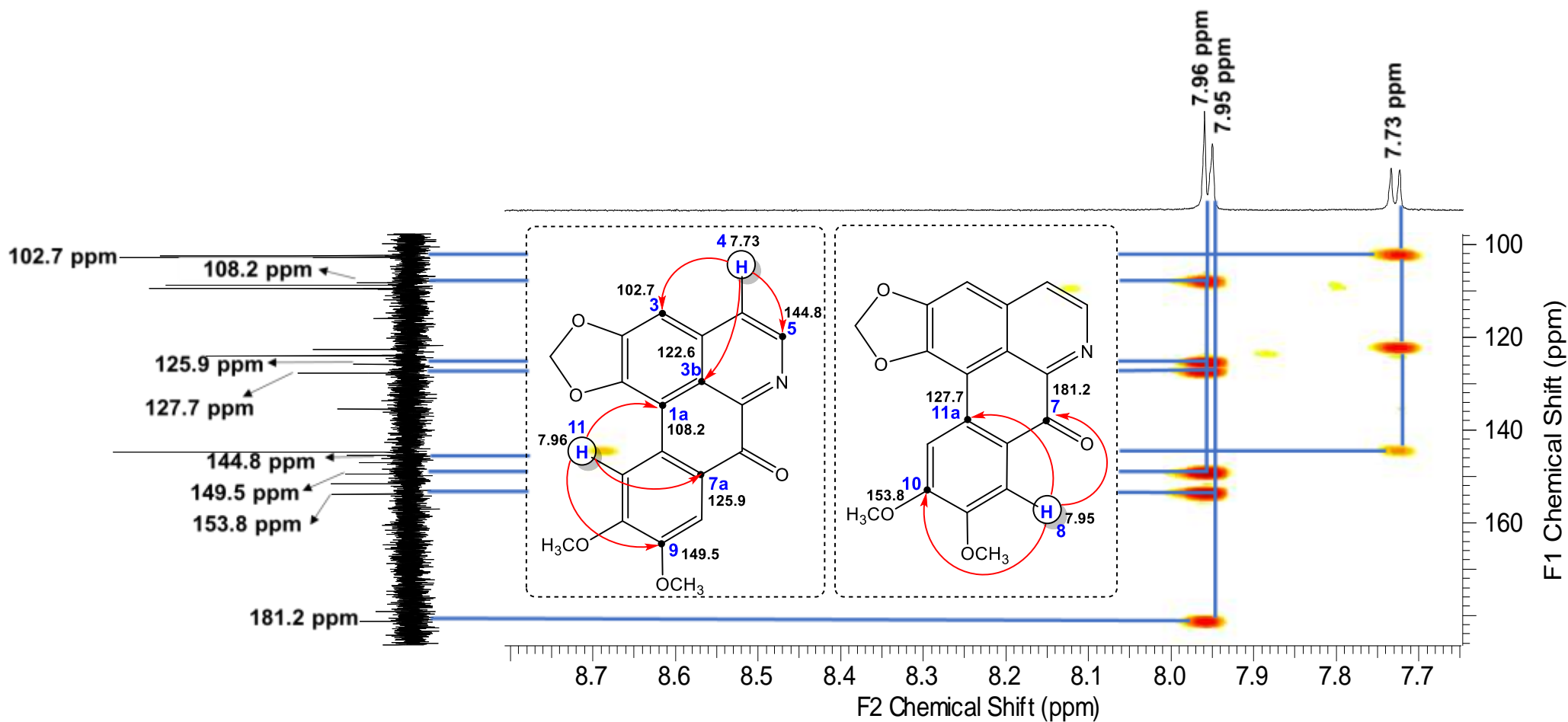




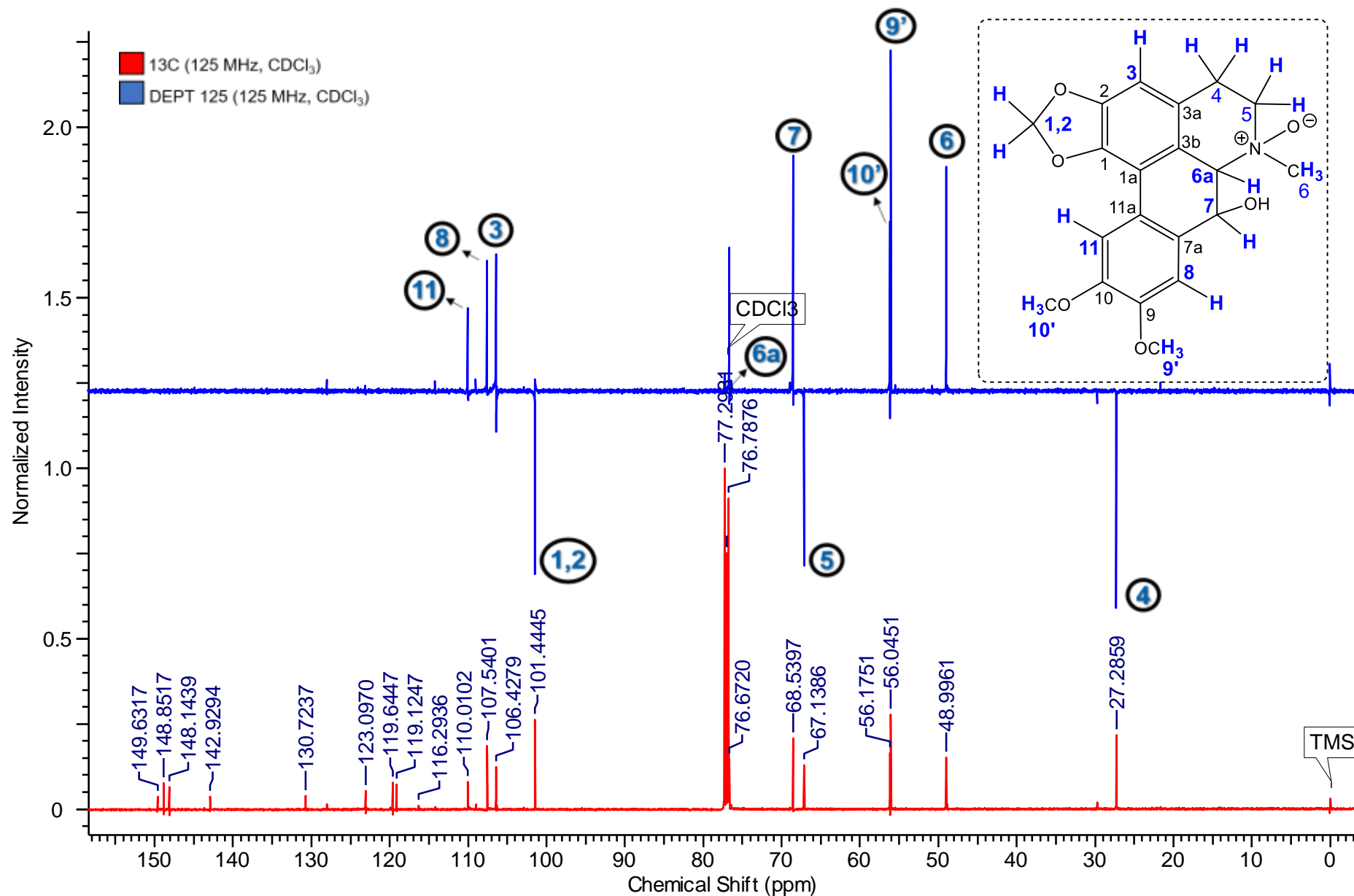
**A50.** MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S1**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



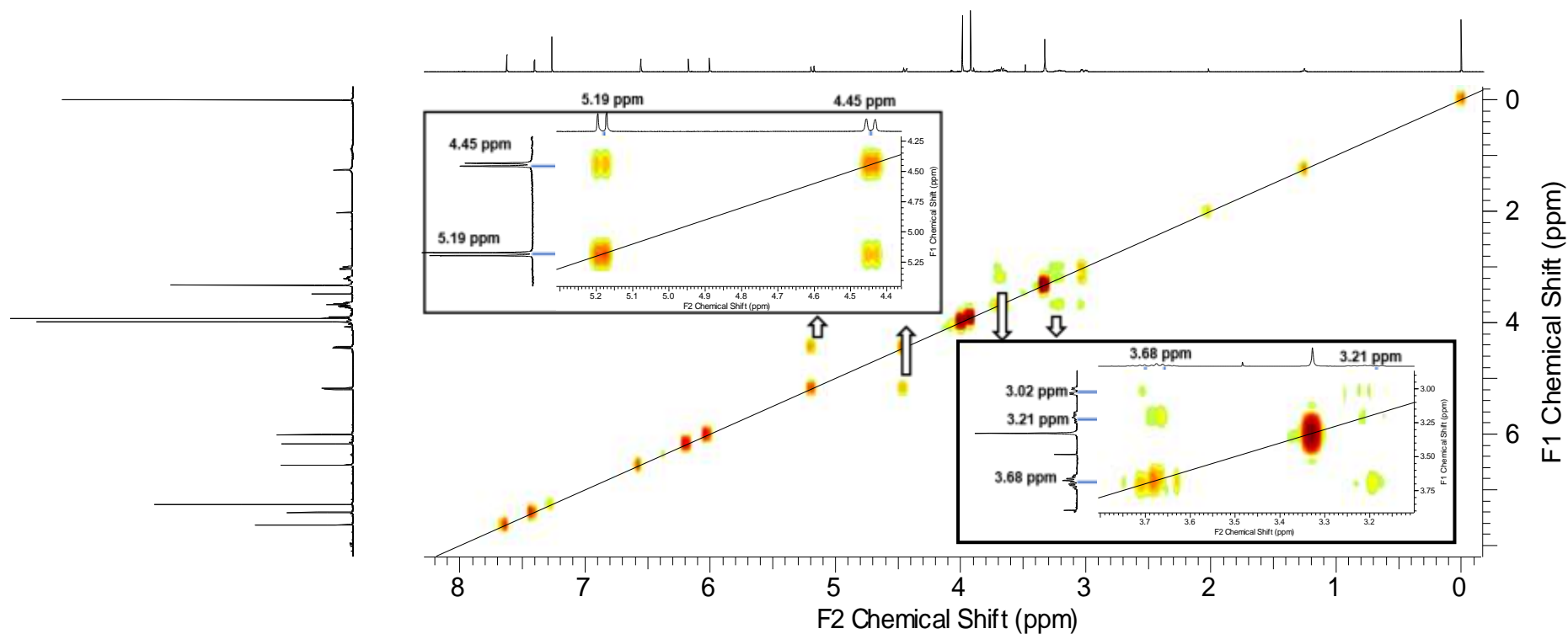
**A51.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) MOSTRANDO OS ACOPLAMENTOS DO HIDROGÊNIO DO H-3, H-5, H-9', H-10' E DO ANEL METILENODIOXI DA **S1**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



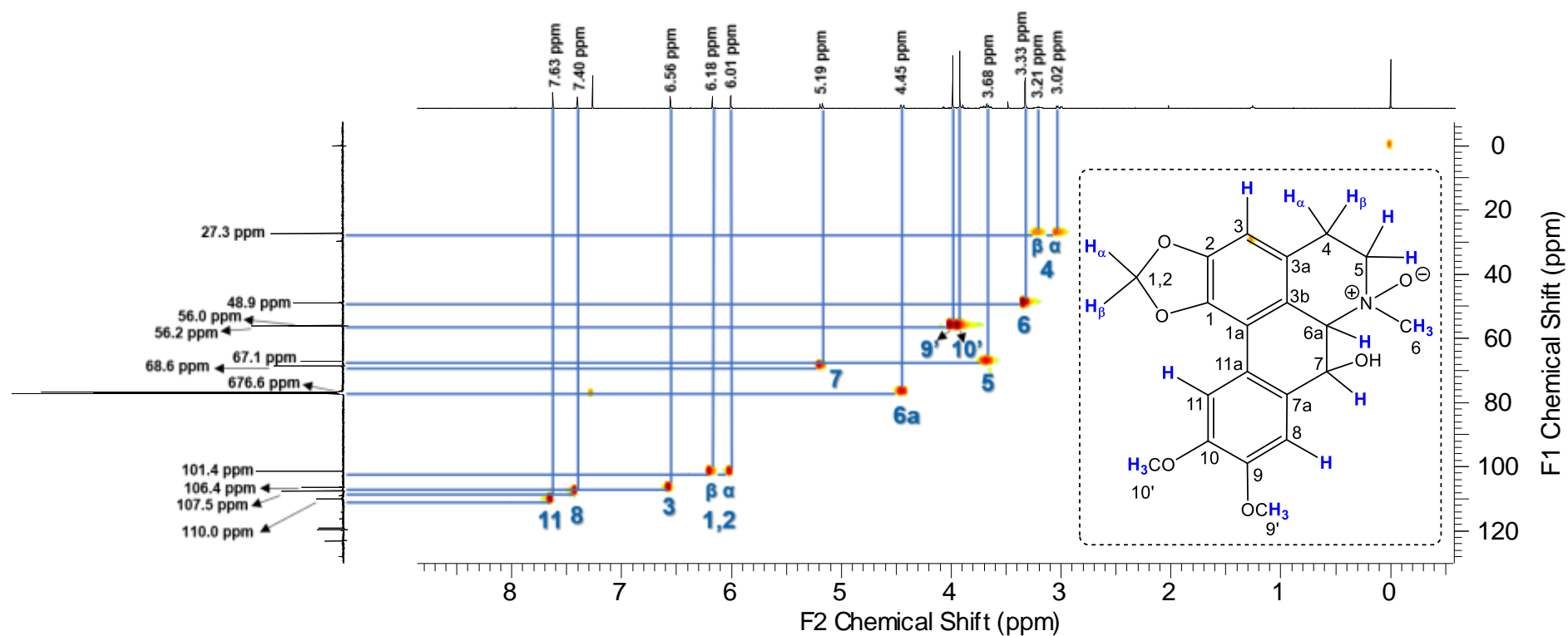
**A52.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) MOSTRANDO OS ACOPLAMENTOS DO H-4, H-8 E H-11 DA **S1**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



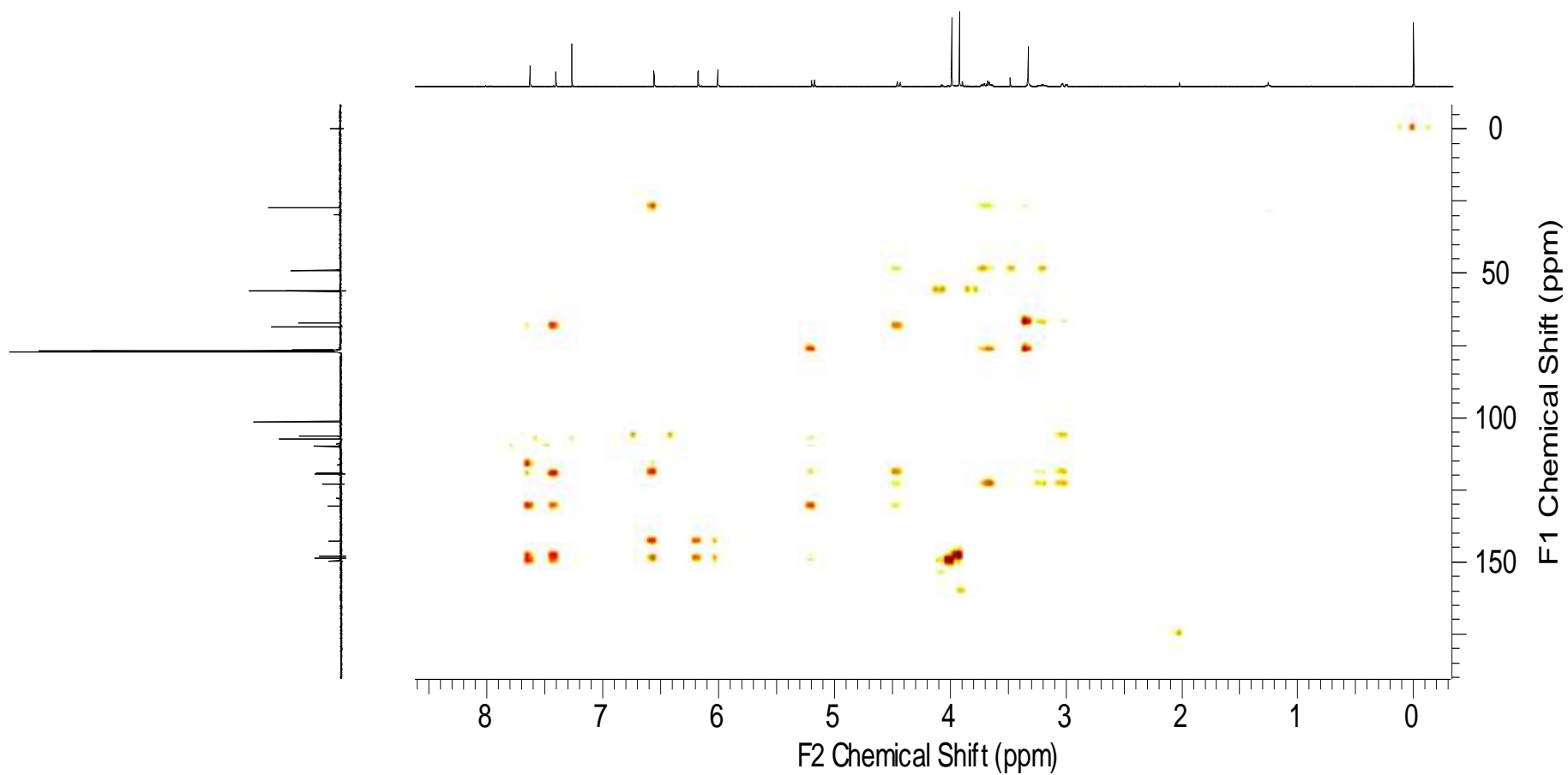
**A53.** ESPECTROS DE RMN DE <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) E DEPT 135 (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) DA **S2**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



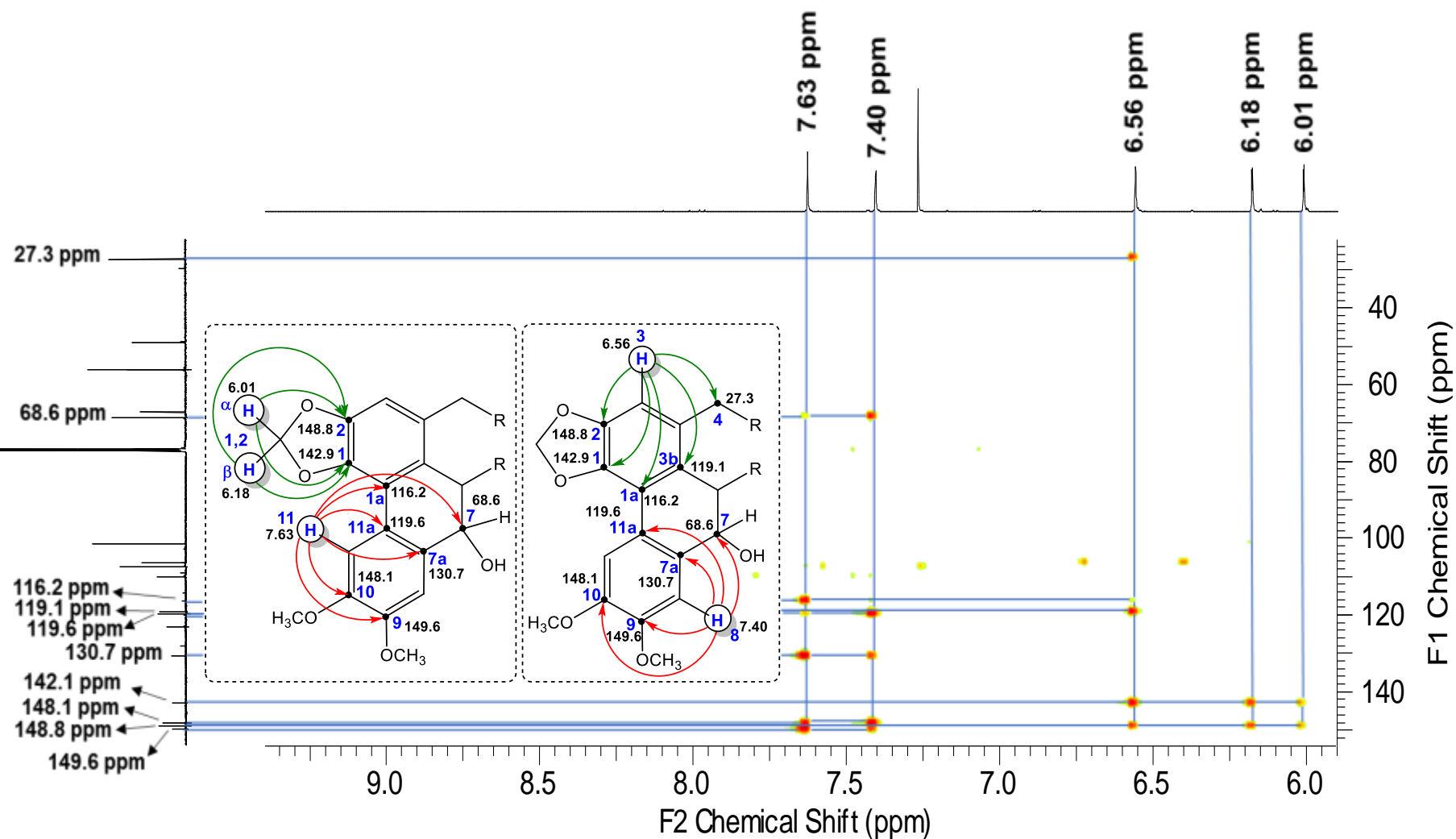
**A54.** MAPA DE CORRELAÇÃO COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  MOSTRANDO A CORRELAÇÃO ENTRE H-4 E H-5 (ANEL B) E H6A-H7 (ANEL C) (500 MHz EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S2. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**A55.** MAPA DE CORRELAÇÃO HSQC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S2. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

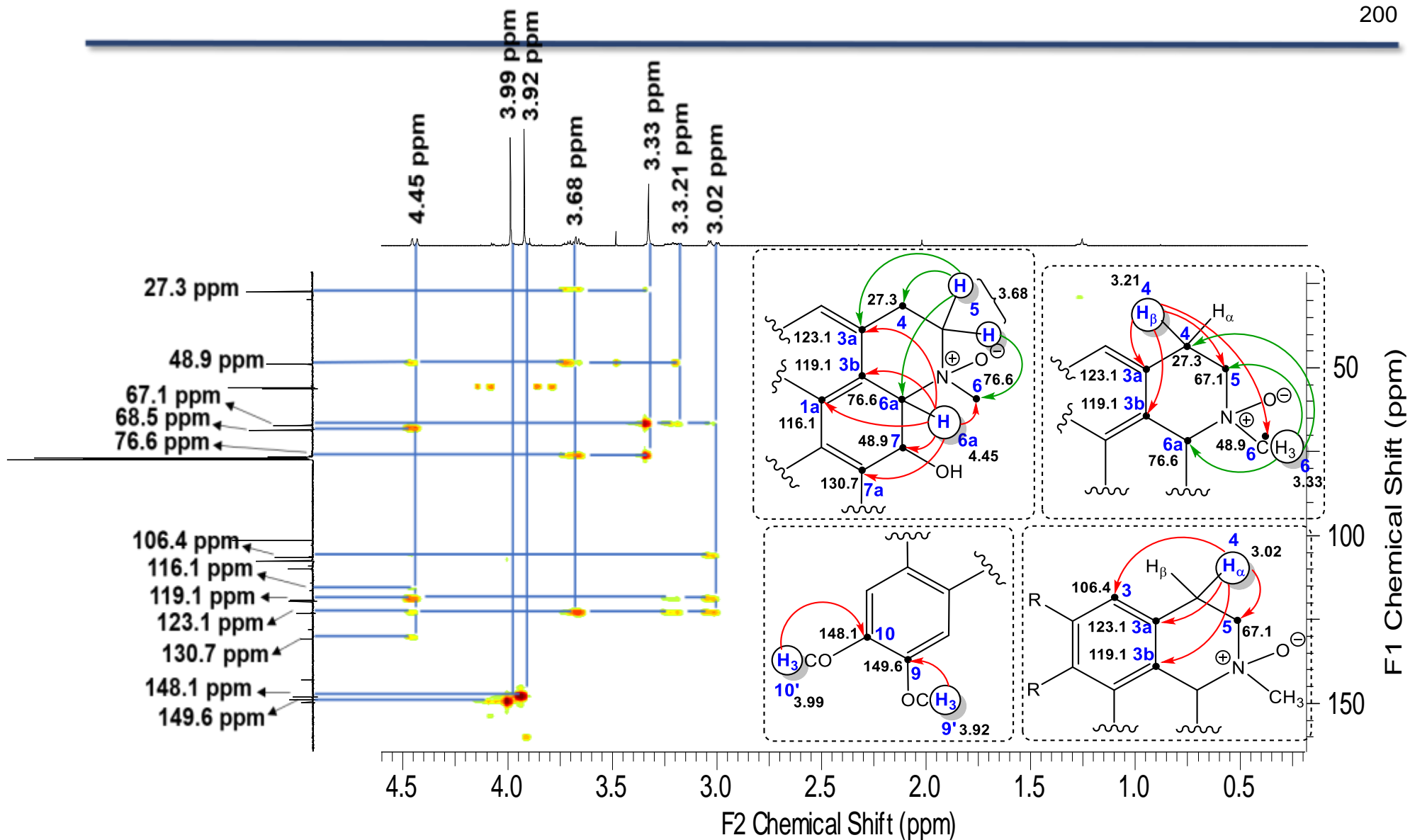


**A56.** MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA S2. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

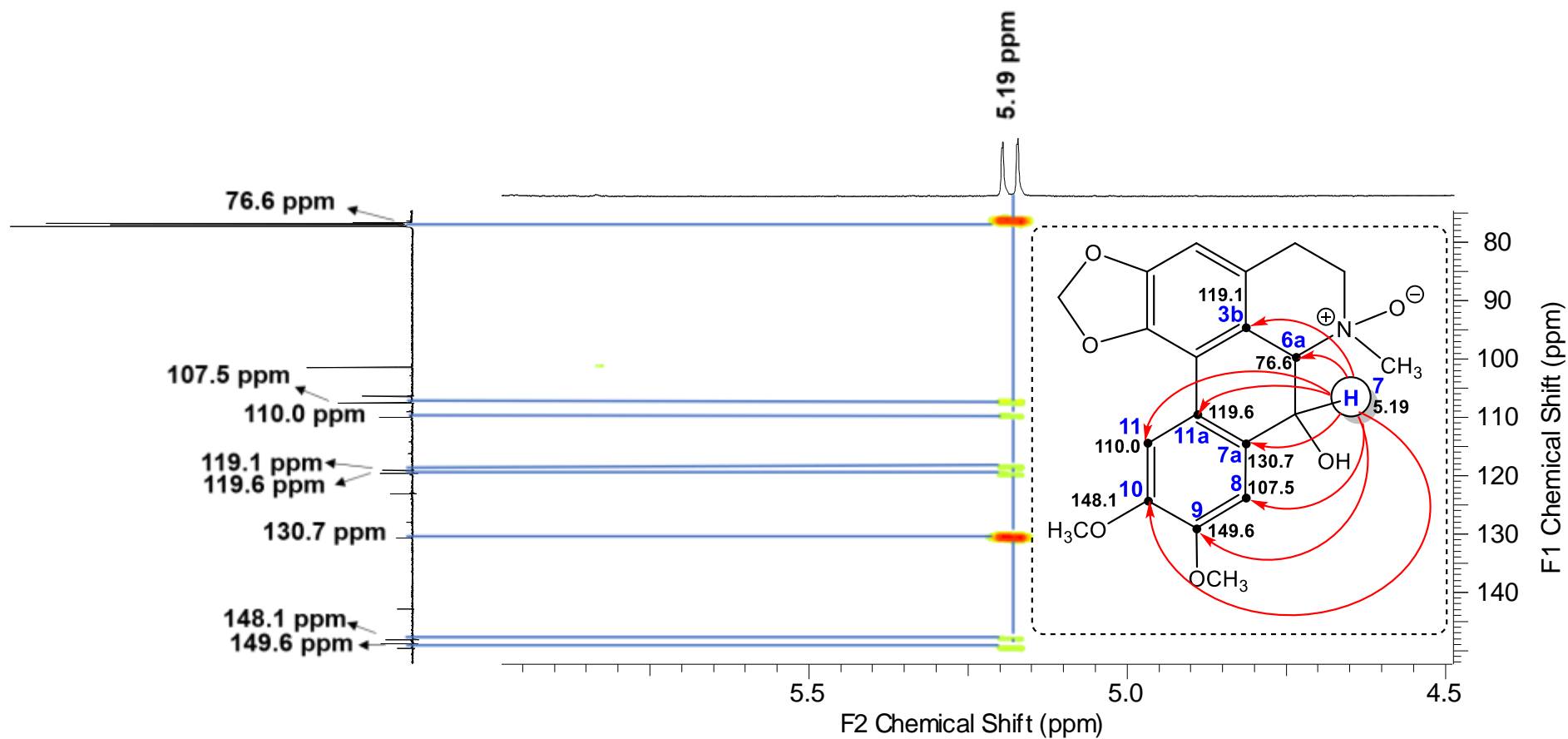


**A57.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC MOSTRANDO OS ACOPLAMENTOS DOS SINAIS H-3, H-8 E H-1,2 DA S2. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

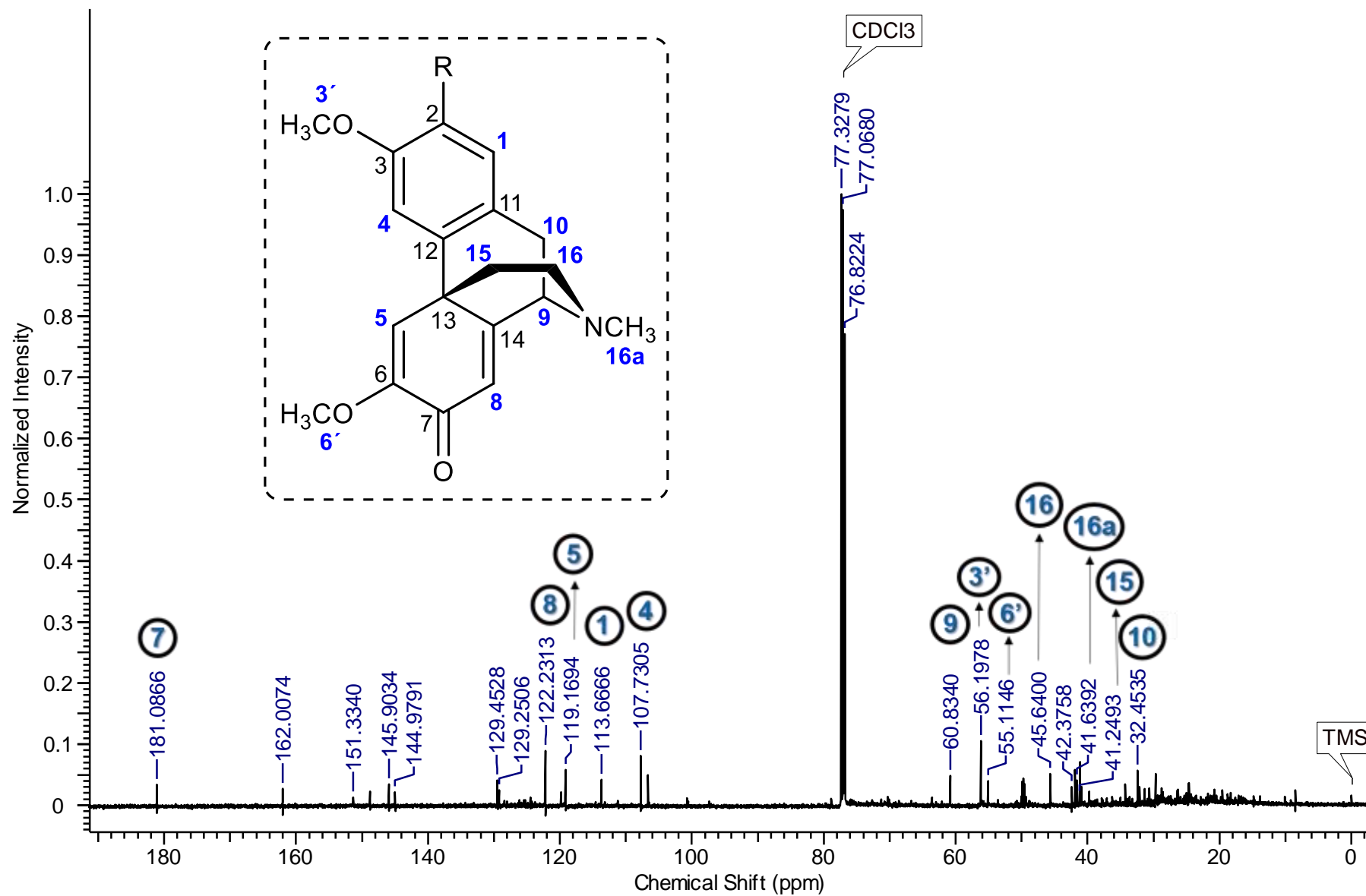




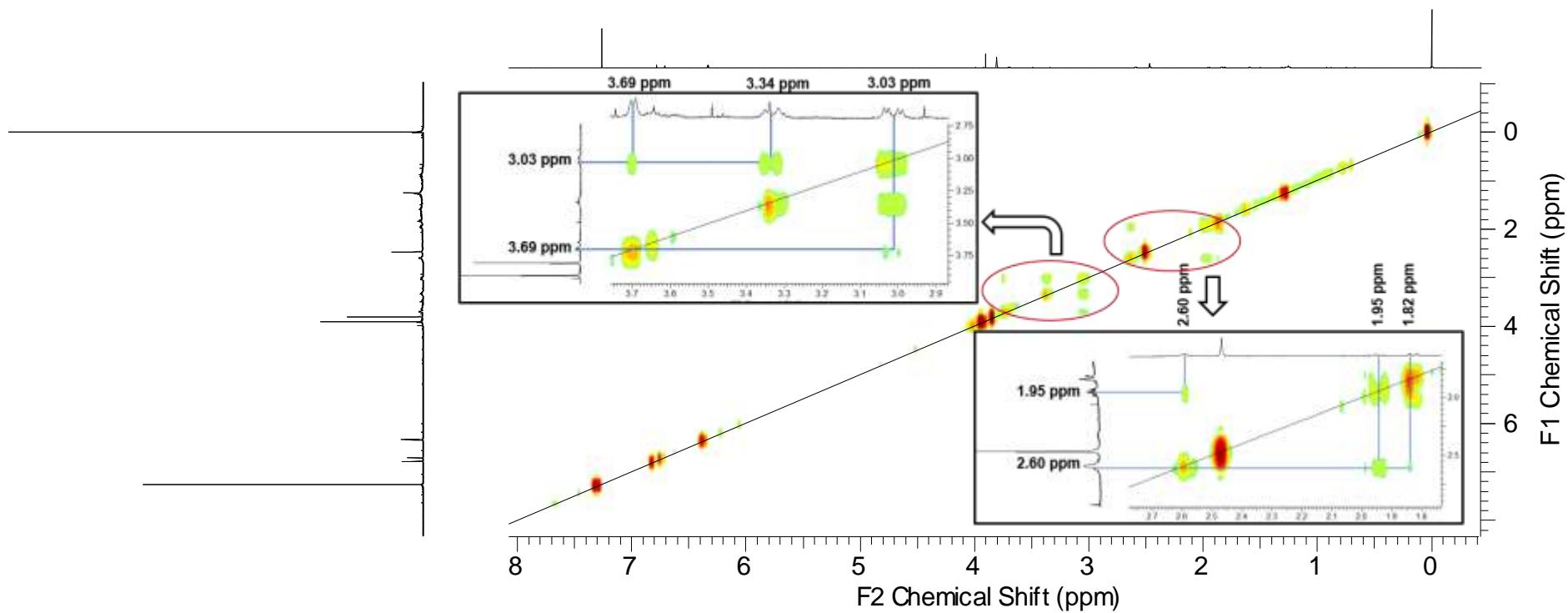
**A58.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC MOSTRANDO OS ACOPLAMENTOS DOS SINAIS H-4, H-5 E H-6, H-6A, H-9' E H-10'DA S2.  
FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



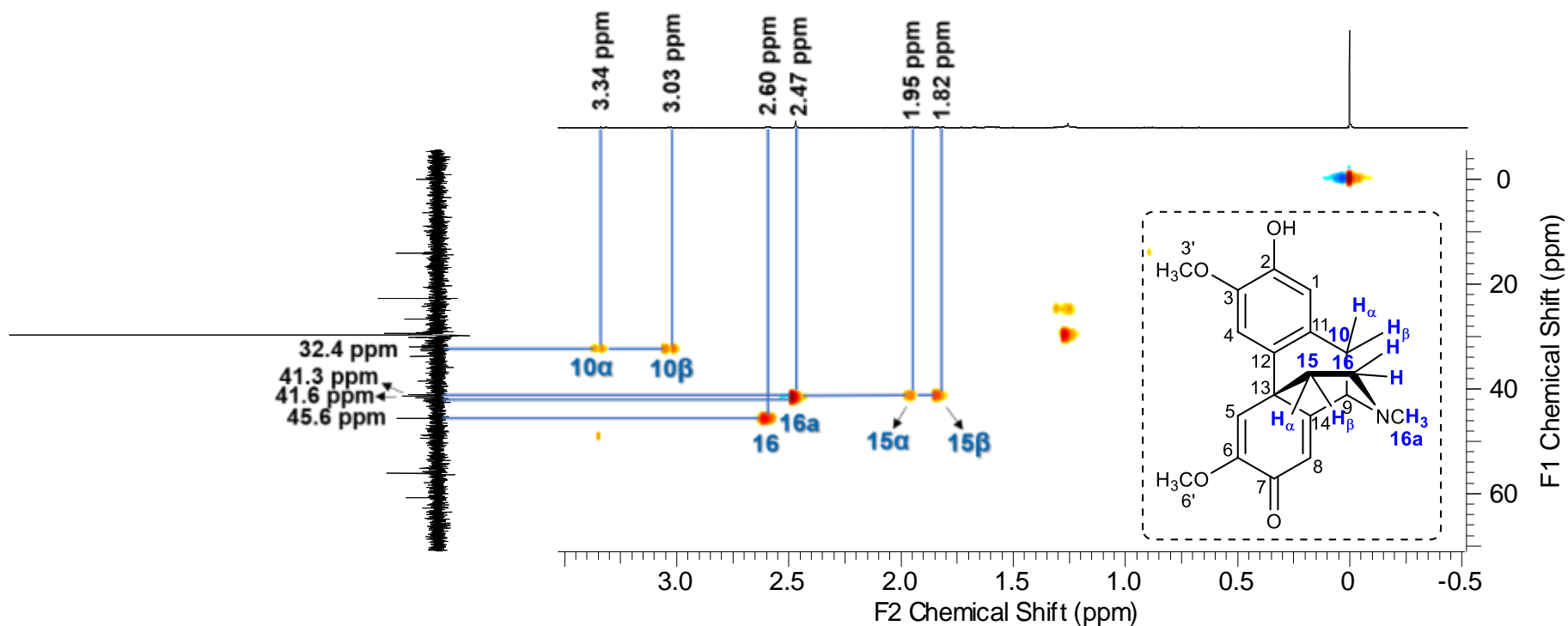
**A59.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC MOSTRANDO AS ACOPLAMENTOS DO SINAL H-7 DA S2. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



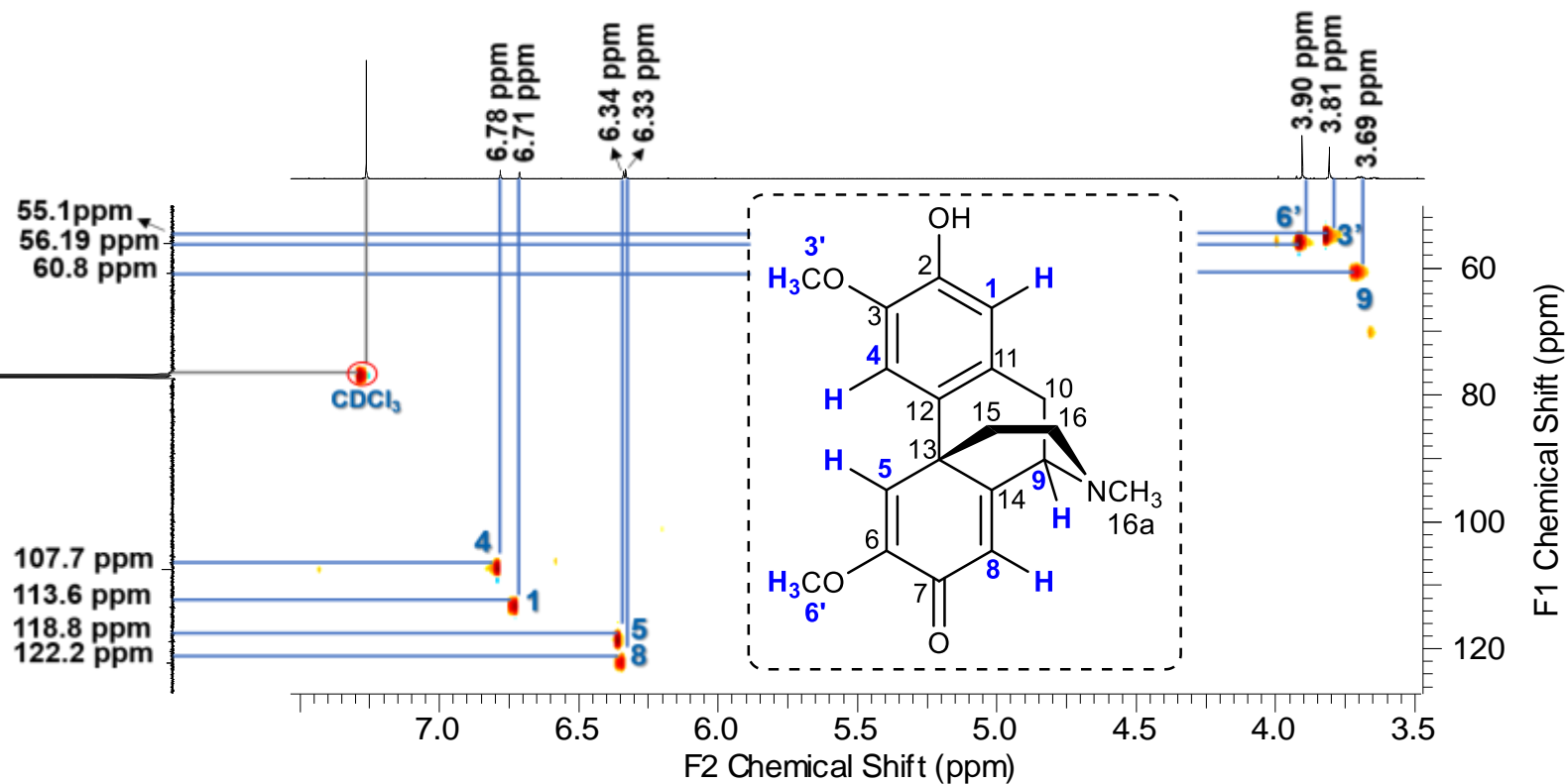
**A60.** ESPECTROS DE RMN DE <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) DA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



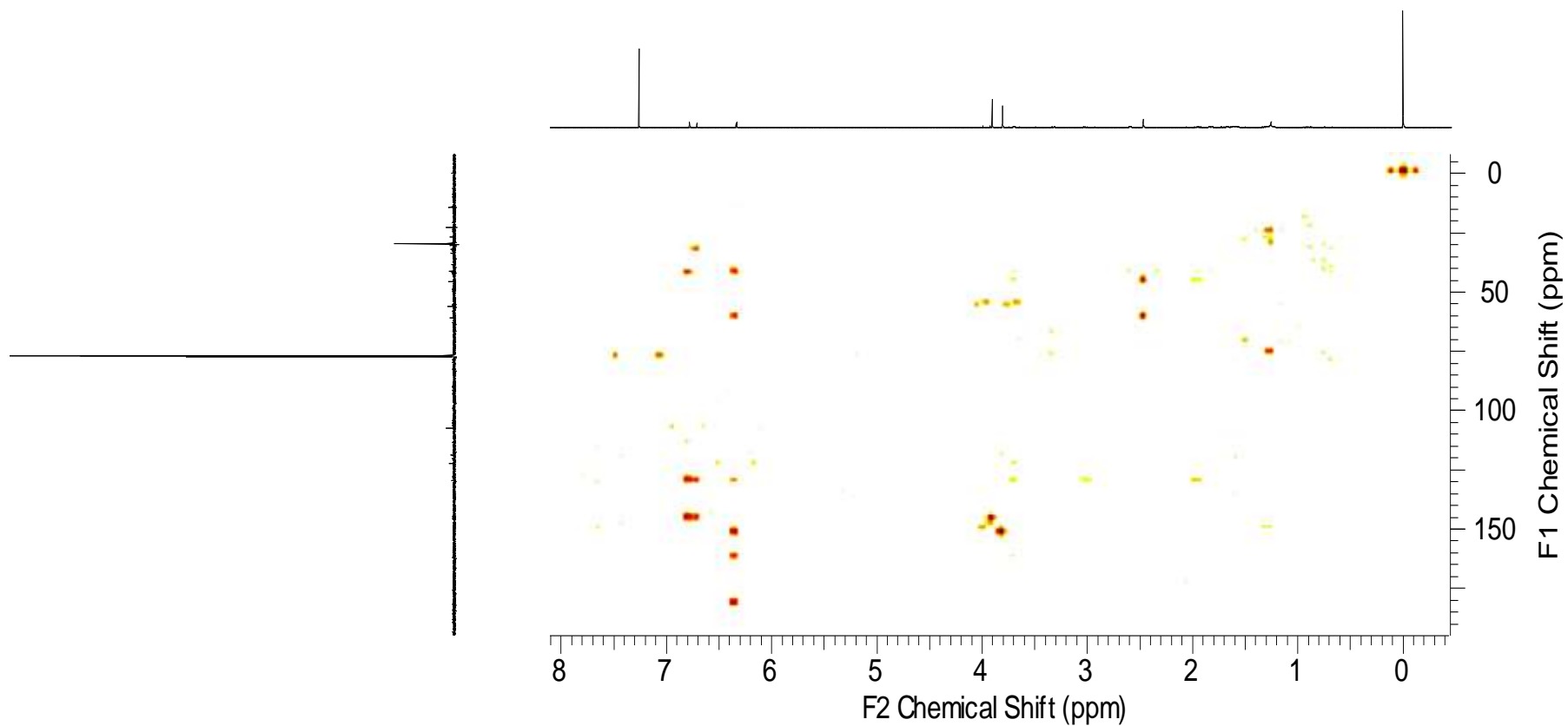
**A61.** MAPA DE CORRELAÇÃO COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  E AMPLIAÇÃO DOS SINAIS H-9, H-10, H-15 E H-16 (500 MHz EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



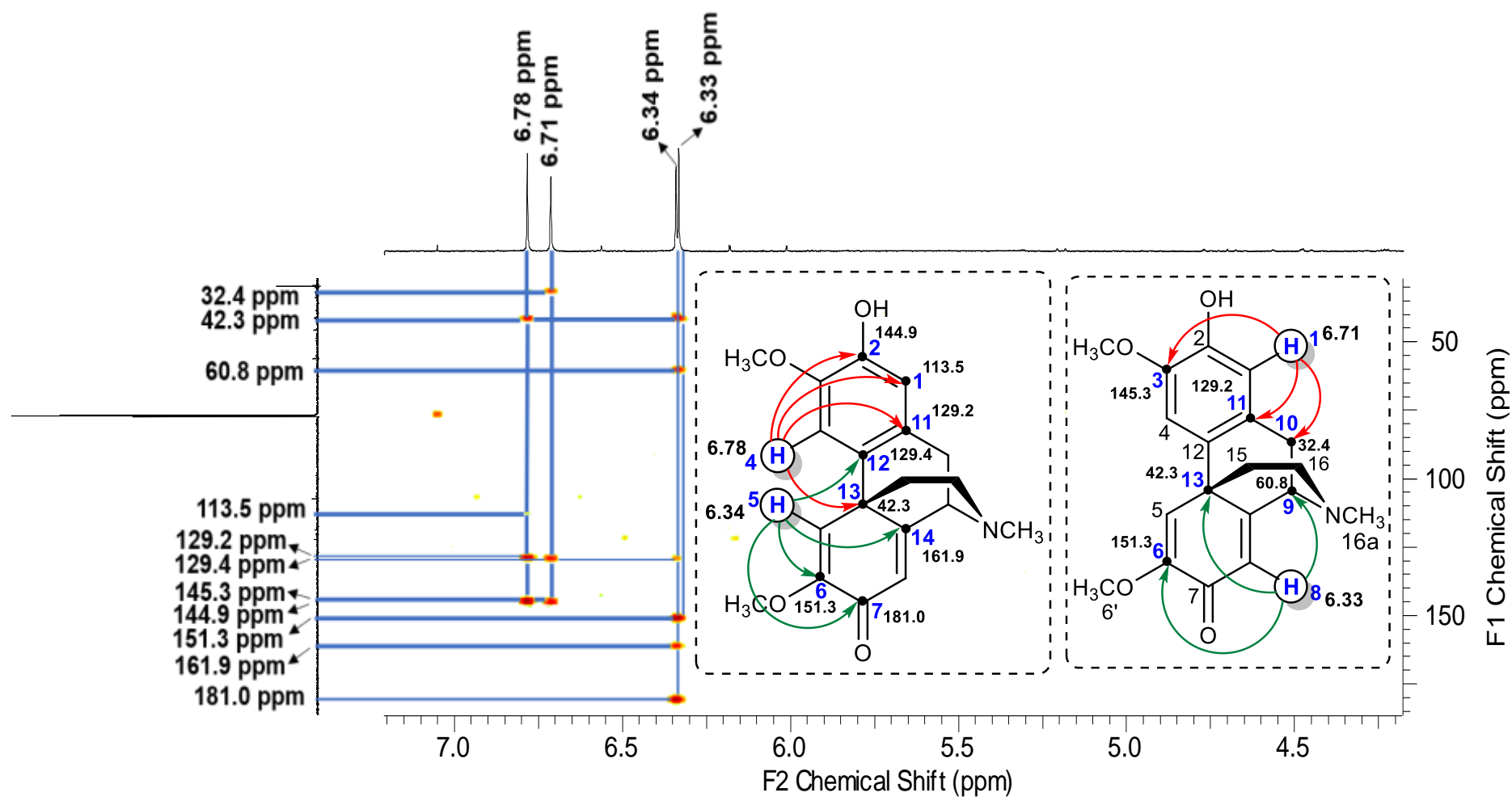
**A62.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HSQC MOSTRANDO HIDROGÊNIOS METILÊNICOS CORRESPONDENTE AOS SEUS CARBONOS EM C-10, C-15 E C-16 E DO GRUPO  $N\text{-CH}_3$  (6A) DA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**A63.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE CORRELAÇÃO HSQC MOSTRANDO OS HIDROGÊNIOS AROMÁTICOS CORRESPONDENTE AOS SEUS CARBONOS (C-1, C-4, C-5 e C-8), DOS HIDROGÊNIOS METOXÍLICOS (C-3' e C-6') E DO HIDROGÊNIO METÍNICO (C-9) DA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

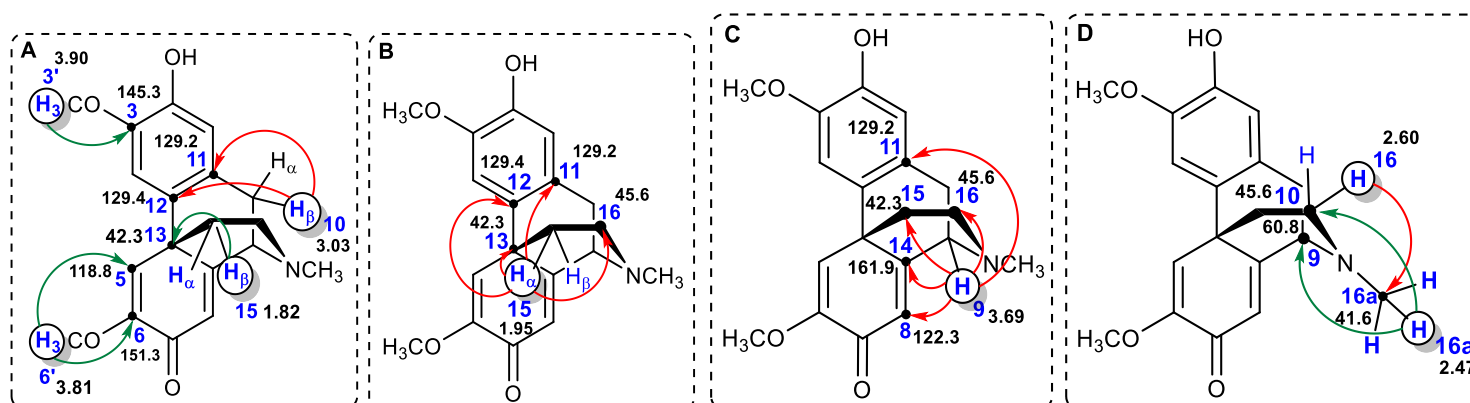
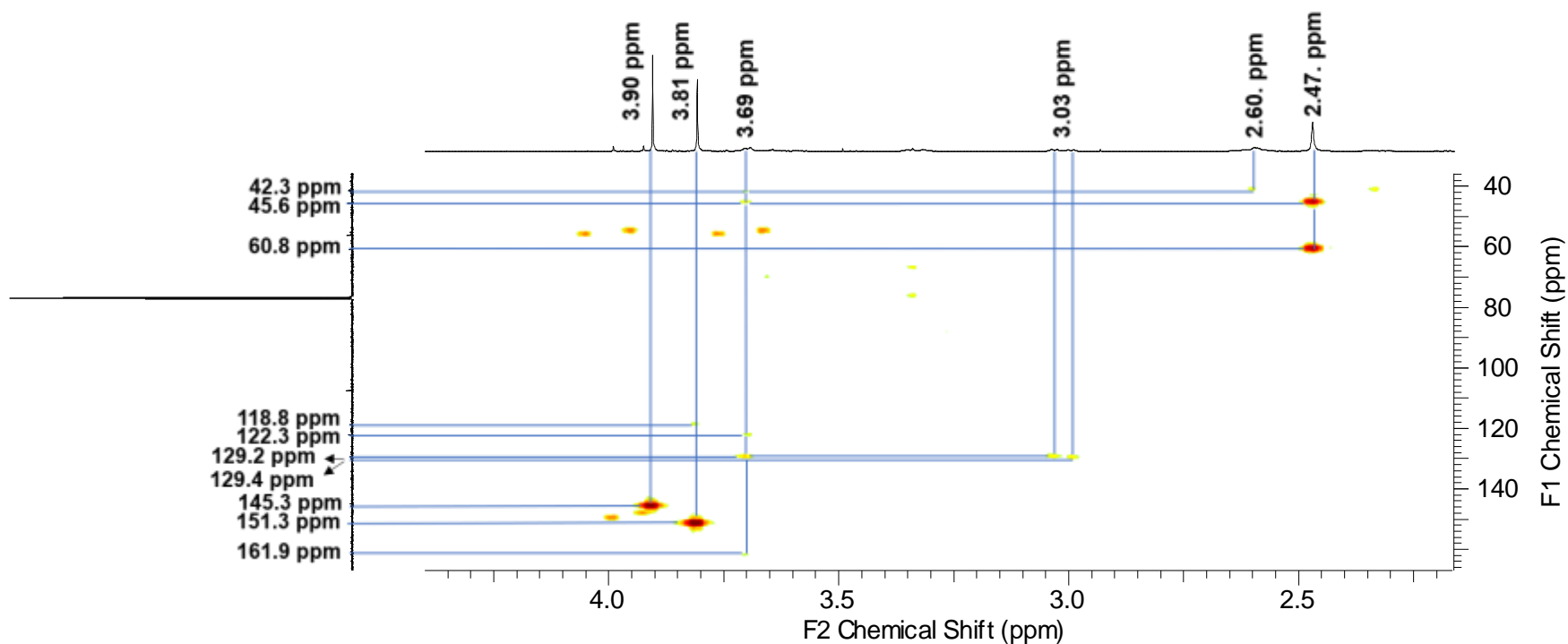


**A64.** MAPA DE CORRELAÇÃO HMBC ( $^1\text{H}$  - 500 MHz;  $^{13}\text{C}$  - 125 MHz, EM  $\text{CDCl}_3$ ) DA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.



**A65.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE HMBC MOSTRANDO OS ACOPLAMENTOS DOS HIDROGÊNIOS AROMÁTICOS (H-1, H-4, H-5 E H-8) DA S3. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.





**A66.** AMPLIAÇÃO DO MAPA DE HMBC COM OS ACOPLAMENTOS DOS HIDROGÊNIOS METOXÍLICOS (H-3' E H-6'), METILÊNICOS (H-10, H-15 E H-16) METÍNICOS (H-9) E DO GRUPO N-CH<sub>3</sub> (H-16A) DA **S3**. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2022.

**A67.** TABELA COM OS DADOS OBTIDOS DA OTIMIZAÇÃO DAS COORDENADAS CARTESIANAS COM BASE NOS CÁLCULOS ECD PARA A ESTRUTURA ENANTIOMÉRICA R DA SUBSTÂNCIA 6 (S6); ENERGIA = -1205.33806998 HARTREES.

	X	Y	Z
C	-0.017427	-2.310137	-1.317671
H	-0.518651	-1.877761	-2.189620
H	0.405124	-3.270426	-1.613843
O	-0.976855	-2.570566	-0.290950
C	-0.661143	0.422184	-0.272118
C	-3.129283	1.863148	-0.055055
H	-4.052326	2.415089	0.075304
C	1.046045	-1.417090	-0.767486
C	2.357554	-1.874610	-0.694416
C	0.707797	-0.183768	-0.205869
C	3.344207	-1.142860	-0.065949
H	2.620466	-2.837087	-1.119565
C	1.704564	0.528349	0.475278
C	3.010095	0.066574	0.550591
H	1.452028	1.453679	0.967417
O	4.621573	-1.642234	0.030568
O	4.013843	0.707111	1.205626
C	3.720562	1.940240	1.857227
H	2.977092	1.802110	2.646081
H	4.657998	2.272190	2.298913
H	3.370436	2.688261	1.141877
C	5.554170	-1.078768	-0.900176
H	5.626879	0.003699	-0.774684
H	6.519517	-1.535859	-0.687647
H	5.256414	-1.314069	-1.925635
C	-2.128511	-1.766403	-0.382973
C	-1.915050	-0.255270	-0.173869
C	-4.420111	-1.736552	0.140368
C	-3.108893	0.463378	-0.013952
C	-4.429514	-0.216549	0.301317
H	-5.195961	-2.186214	0.762636
H	-4.641811	-2.004375	-0.895850
H	-5.221922	0.209185	-0.319022
H	-4.683209	0.044046	1.334332
N	-3.134509	-2.340165	0.483416
C	-2.813257	-2.247854	1.904564
H	-3.596758	-2.750765	2.474348
H	-1.871724	-2.760384	2.102208
H	-2.725424	-1.218065	2.276314
C	-1.942483	2.497687	-0.276189
C	-0.750465	1.803967	-0.368271
C	-0.372669	3.945047	-0.861704
H	0.141067	4.775272	-0.384416
H	-0.403332	4.045322	-1.951393
O	0.272191	2.720099	-0.516059
O	-1.704793	3.847154	-0.359234
H	-2.519139	-1.869476	-1.403157

**A68.** TABELA COM OS DADOS OBTIDOS DA OTIMIZAÇÃO DAS COORDENADAS CARTESIANAS COM BASE NOS CÁLCULOS ECD PARA A ESTRUTURA ENANTIOMÉRICA S DA SUBSTÂNCIA 6 (S6); ENERGIA = -1205.35405890 HARTREES.

	X	Y	Z
C	-0.101871	-1.765888	-1.707343
H	-0.610018	-1.007581	-2.312117
H	0.312116	-2.513128	-2.383233
O	-1.070560	-2.464529	-0.918594
C	-0.650239	0.563452	-0.122545
C	-3.300815	1.596029	-0.170068
H	-4.305738	2.000464	-0.189953
C	0.992029	-1.128628	-0.895149
C	2.283723	-1.648009	-0.899691
C	0.725833	0.016482	-0.139547
C	3.296960	-1.047883	-0.179853
H	2.516850	-2.535911	-1.477328
C	1.748051	0.623950	0.594069
C	3.032754	0.099877	0.580878
H	1.525605	1.498082	1.189123
O	4.554733	-1.603916	-0.165400
O	4.080579	0.612958	1.273134
C	3.869813	1.787425	2.053405
H	3.133832	1.609971	2.841307
H	4.832777	2.018462	2.504239
H	3.551046	2.623260	1.425970
C	5.484243	-0.995911	-1.070741
H	5.615400	0.064426	-0.843331
H	6.431557	-1.516802	-0.939448
H	5.141453	-1.112746	-2.102411
C	-1.530845	-1.772667	0.253737
C	-1.779425	-0.290285	-0.004390
C	-3.879036	-2.165534	-0.029562
C	-3.077028	0.214962	-0.034889
C	-4.269113	-0.700441	0.109329
H	-4.693480	-2.813511	0.299382
H	-3.683204	-2.398952	-1.078510
H	-5.018641	-0.448676	-0.645441
H	-4.740801	-0.520402	1.080983
H	-0.752354	-1.855337	1.017492
N	-2.675252	-2.504055	0.730900
C	-2.849445	-2.392338	2.175330
H	-3.713650	-2.987191	2.476599
H	-1.969629	-2.794638	2.681244
H	-3.004181	-1.364154	2.530930
C	-2.205006	2.405897	-0.274252
C	-0.913338	1.907275	-0.252040
C	-0.815257	4.072592	-0.762017
H	-0.479439	4.963638	-0.238032
H	-0.760381	4.182860	-1.849138
O	-0.024282	2.951705	-0.358952
O	-2.162256	3.773046	-0.386763

**A69.** TABELA COM OS DADOS OBTIDOS DA OTIMIZAÇÃO DAS COORDENADAS CARTESIANAS COM BASE NOS CÁLCULOS DE ROTAÇÃO ESPECÍFICA PARA A ESTRUTURA ENANTIOMÉRICA R DA SUBSTÂNCIA 7 (**S7**); ENERGIA = -804.760737768 HARTREES

	<b>X</b>	<b>Y</b>	<b>Z</b>
O	-2.316722	-2.094520	0.082770
C	-1.423281	-1.070368	-0.002085
C	-1.955444	0.226931	0.071459
C	-1.110486	1.324703	-0.014598
C	0.264100	1.144294	-0.175238
C	0.802902	-0.134885	-0.248506
C	-0.057584	-1.228299	-0.158043
O	-3.299952	0.316030	0.222057
H	-1.521084	2.320319	0.042906
O	1.145842	2.184184	-0.261581
C	2.289862	-0.328797	-0.403765
H	0.373280	-2.215583	-0.234081
C	-3.884424	1.604621	0.313839
H	-4.953303	1.439561	0.435208
H	-3.504907	2.152566	1.181366
H	-3.712450	2.187483	-0.595793
C	-1.818985	-3.417045	-0.022544
H	-2.685602	-4.070827	0.059119
H	-1.330310	-3.585422	-0.986984
H	-1.118694	-3.647328	0.786249
C	0.639343	3.506547	-0.330819
H	-0.026957	3.634434	-1.189061
H	0.114247	3.784120	0.587993
H	1.506251	4.153495	-0.452887
O	2.544645	-1.621639	-0.940809
H	3.494738	-1.771094	-0.857970
C	3.012480	-0.179057	0.924380
H	2.843457	0.822576	1.328579
H	2.634576	-0.925522	1.630997
O	4.399614	-0.396179	0.663715
H	4.867489	-0.506911	1.497348
H	2.680948	0.433256	-1.086676

**A70.** DETALHES DA TABELA COM OS DADOS OBTIDOS DA ESPECÍFICA PARA A ESTRUTURA ENANTIOMÉRICA S DA SUBSTÂNCIA 7 (**S7**); ENERGIA = -804.760737766 HARTREES.

	<b>X</b>	<b>Y</b>	<b>Z</b>
O	2.316457	-2.094672	0.082858
C	1.423105	-1.070459	-0.002100
C	1.955431	0.226820	0.071294
C	1.110599	1.324659	-0.014914
C	-0.264035	1.144362	-0.175484
C	-0.802964	-0.134737	-0.248626
C	0.057415	-1.228250	-0.158067
O	3.299944	0.315755	0.221800
H	1.521275	2.320259	0.042321
O	-1.145618	2.184379	-0.262032
C	-2.289882	-0.328629	-0.403778
H	-0.373642	-2.215467	-0.234003
C	3.884522	1.604277	0.314095
H	4.953291	1.439065	0.436225
H	3.713211	2.187197	-0.595622
H	3.504495	2.152191	1.181413
C	1.818587	-3.417175	-0.022409
H	2.685145	-4.071024	0.059348
H	1.118234	-3.647333	0.786362
H	1.329960	-3.585533	-0.986872
C	-0.638906	3.506685	-0.330282
H	0.027653	3.635049	-1.188255
H	-1.505674	4.153851	-0.452224
H	-0.114025	3.783589	0.588858
H	-2.681067	0.433502	-1.086583
C	-3.012375	-0.178911	0.924412
H	-2.634360	-0.925204	1.631170
H	-2.843444	0.822763	1.328558
O	-4.399501	-0.396229	0.663861
H	-4.867429	-0.506553	1.497521
O	-2.544749	-1.621413	-0.940864
H	-3.494862	-1.770768	-0.858056