



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

DAMODARA BARBOSA VIEIRA TEIXEIRA

**IDENTIFICAÇÃO DOS ALCALÓIDES PIPERIDÍNICOS DA *PROSOPIS*
JULIFLORA ORIUNDA DE PETROLINA - PE POR UPLC-QTOF-MS**

FORTALEZA

2018

DAMODARA BARBOSA VIEIRA TEIXEIRA

IDENTIFICAÇÃO DOS ALCALÓIDES PIPERIDÍNICOS DA *PROSOPIS*
JULIFLORA ORIUNDA DE PETROLINA - PE POR UPLC-QTOF-MS

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Analítica e Físico-química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação Industrial.

Orientador pedagógico: Jair Mafezoli

Orientador profissional: Edy Sousa de Brito

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

T265i Teixeira, Damodara Barbosa Vieira.
Identificação dos alcalóides piperidínicos da *Prosopis juliflora* oriunda de Petrolina - PE por UPCL-QTOF-MS / Damodara Barbosa Vieira Teixeira. – 2018.
61 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Química, Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Jair Mafezoli.

Coorientação: Prof. Dr. Edy Sousa de Brito.

1. Algaroba. 2. Alcalóides piperidínicos. 3. *Prosopis juliflora*. I. Título.

CDD 540

DAMODARA BARBOSA VIEIRA TEIXEIRA

IDENTIFICAÇÃO DOS ALCALÓIDES PIPERIDÍNICOS DA *PROSOPIS*
JULIFLORA ORIUNDA DE PETROLINA - PE POR UPLC-QTOF-MS

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Analítica e Físico-química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação Industrial.

Aprovada em: __/__/__

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jair Mafezoli (Orientador pedagógico)

Universidade Federal do Ceará

Dr. Edy Sousa de Brito (Orientador profissional)

Embrapa Agroindústria Tropical

Dr. Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro (Examinador)

Embrapa Agroindústria Tropical

A Krishna.

Aos meus pais Claudio e Cristiane e aos
meus irmãos Nityananda e Maharani.

A minha amada e querida companheira,
Beatriz.

AGRADECIMENTOS

A Suprema Personalidade de Deus, Krishna, pela minha vida e todas as bênçãos que tenho recebido.

Aos meus pais, Claudio e Cristiane, a quem sou grato por todo o esforço durante suas vidas para que eu estivesse sempre preparado para as oportunidades que surgiriam.

Aos meus irmãos, Nityananda e Maharani, pela companhia e apoio em todos os momentos de nossas vidas desde quando estivemos juntos.

À minha querida companheira, Beatriz, com quem divido esta caminhada mesmo antes dela começar e que certamente estará comigo durante tantas outras.

Ao meu orientador pedagógico, Prof. Dr. Jair Mafezoli, por ser um grande professor e pelo empenho em me auxiliar durante a realização deste trabalho.

Ao meu orientador profissional, Dr. Edy Sousa de Brito, pela oportunidade e por todo o aprendizado durante a realização deste trabalho.

Ao analista do Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais, Dr. Paulo Riceli, sempre paciente e disposto a me auxiliar em todos os momentos durante a realização deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais pela incrível companhia, além de serem sempre solícitos e dispostos a ajudar.

Ao Laboratório de Bioinorgânica da Universidade Federal do Ceará pela oportunidade de iniciar meus trabalhos em pesquisa acadêmica mesmo tão cedo, no começo da minha graduação.

Ao PET Química da Universidade Federal do Ceará, em especial a tutora Prof.^a Dra. Maria das Graças Gomes, por ter sido um local de convivência com pessoas maravilhosas e aprendizados grandiosos que ficarão sempre comigo.

Aos amigos Paulo Sérgio e Bruno Wilson, amigos presentes desde minha juventude e que certamente, apesar de não estarmos sempre juntos, estarão comigo sempre.

“Sir, I’m finishing this fight.”

Mr. Chief, Halo 2

RESUMO

A *Prosopis juliflora* ou algaroba, como é conhecida no Brasil, é uma planta pertencente à família *Leguminosae* e oriunda de países da América do Sul. Introduzida no nordeste brasileiro na década de 40 devido a sua alta resistência a estiagem, capacidade de reflorestamento e uso das suas vagens como suplemento para alimentação animal. Porém, apesar de suas características e seus diversos usos, a espécie também causa uma certa preocupação, pois a algaroba pode causar desequilíbrio ambiental por ser uma espécie exótica em outros ambientes, o que caracteriza invasão biológica. Além dos aspectos citados anteriormente, a *P. juliflora* contém uma classe de substâncias orgânicas que são metabólitos secundários das plantas: alcalóides. Os alcalóides piperidínicos da planta são os supostos causadores da doença da “cara torta” que preocupa os produtores bovinos na região do Nordeste do Brasil que alimentam o gado com as vagens da planta. Este trabalho buscou realizar a extração dessas substâncias a partir das folhas da planta por extração líquido-líquido. O extrato obtido foi analisado pela técnica UPLC-QTOF-MS e permitiu a identificação de seis alcalóides já reportados pela espécie, mas também quatro alcalóides até então não reportados para *P. juliflora*, mas presentes em uma espécie da mesma família (*Leguminosae*): *Cassia spectabilis*. Além disso, buscou-se isolar os alcalóides identificados por HPLC e realizar a identificação de cada fração. O cadastro do extrato para extratoteca também foi realizado para que os dados sejam de posterior utilidade para a Embrapa Agroindústria Tropical.

Palavras-chave: algaroba, alcalóides piperidínicos, *Prosopis juliflora*

ABSTRACT

The *Prosopis juliflora* or algaroba, as known in Brazil, is a plant that belongs to the *Leguminosae* family, and it comes from South America countries. It was introduced to Brazil's northeast, in the 40's, due its high resistance against the drought, capacity of reforestation, and use of its pods as animal's supplementary food. However, despite its characteristics and diverse uses, the species is also the cause of certain preoccupation, because it can cause environmental imbalance once it is an exotic species in a different environment; which characterizes it as an invasive species. Beside the previous aspects, the *P. juliflora* contains a type of organic substances that are plants' secondary metabolites: alkaloids. The plants' piperidine alkaloids are the supposed causers of the disease "cara torta". The disease worries cattle producers who, in Brazil's northeast, feed the cattle with the plants' pods. This paper tried to perform the extraction of such substances from the leaves of the plant through liquid-liquid extraction. The extract obtained was analyzed through the UPLC-QTOF-MS technique; it permitted not only the identification of six alkaloids that had already been reported of the species, but also four alkaloids that had not been reported of the *P. juliflora*. Although, they were present in one species of the same family (*Leguminosae*): *Cassia spectabilis*. Besides that, the paper sought to isolate the alkaloids identified by HPLC and to perform the identification of each fraction. The register of the extract to the extratotal was also done in order to make the data useful for Embrapa Agroindústria Tropical.

Keywords: algaroba, piperidine alkaloids, *Prosopis juliflora*

LISTRA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Exemplar de <i>Prosopis juliflora</i>	2
Figura 2. Folhas, flores, vagens e sementes da algaroba.....	3
Figura 3. Molécula de cocaína.....	7
Figura 4. Molécula de morfina	7
Figura 5. Quinina, alcalóide verdadeiro	7
Figura 6. Mescalina, protoalcaloide	7
Figura 7. Coniina, pseudoalcaloides.....	7
Figura 8. Núcleo de piperidina	8
Figura 9. Juliprosopina, prosopina e juliprosina.....	9
Figura 10. Alcalóide Prosopina	9
Figura 11. Aparato para realização de extração líquido-líquido	10
Figura 12. Catuchos para extração em fase sólida (SPE).....	11
Figura 13. Componentes de um HPLC.....	12
Figura 14. Componentes básicos de um espectrômetro de massas	13
Figura 15. Folha de algaroba moída	15
Figura 16. Amostra em hexano e solução metanólica ácida	16
Figura 17. Partição líquido-líquido.....	16
Figura 19. Extrato concentrado	17
Figura 20. Extrato seco.....	17
Figura 18. Fração alcaloídica alcalina	17
Figura 21. Seringa e filtro utilizados para UPLC-QTOF-MS	19
Figura 22. Seringa e filtro utilizados para HPLC	20
Figura 23. Aparato para SPE.....	22
Figura 24. Cartuchos utilizados para SPE	22
Figura 25. Cromatograma do extrato e branco por UPLC-QTOF-MS	25
Figura 26. Alcalóides presentes nas folhas de algaroba por DART-MS.....	26
Figura 27. Espectro de massa e fragmentos da juliprosopina no modo positivo	29
Figura 28. Espectro de massa e fragmentos da juliprosinina no modo positivo	30
Figura 29. Espectro de massa e fragmentos da prosopina no modo positivo.....	31
Figura 30. Perda de uma molécula de água pela prosopina	31
Figura 31. Espectro de massa e fragmentos da prosopina no modo positivo.....	32

Figura 32. Fragmentação de uma molécula de água pela prosopina.....	32
Figura 33. Espectro de massa e fragmentos da julifloridina no modo positivo	33
Figura 34. Fragmentações de água na molécula da julifloridina.....	33
Figura 35. Espectro de massa e fragmentos da prosafrinina no modo positivo	34
Figura 36. Perda de uma molécula de água da prosafrinina.....	34
Figura 37. Espectro de massa e fragmentos da benzamidina no modo positivo	35
Figura 38. Fragmentação da benzamidina.....	35
Figura 39. Espectro de massa e fragmentos da Spectalina no modo positivo.....	36
Figura 40. Fragmento de uma molécula de água da Spectalina	37
Figura 41. Espectro de massa e fragmentos da Hidroxispectalina no modo positivo ...	37
Figura 42. Fragmento de uma molécula de água da Hidroxispectalina	38
Figura 43. Espectro de massa e fragmentos da Spectalinina no modo positivo.....	38
Figura 44. Fragmento de uma molécula de água da Spectalinina	39
Figura 45. Branco do HPLC	39
Figura 46. Cromatograma da fração alcaloídica em HPLC	40
Figura 47. Cromatogramas das frações obtidas por HPLC analisadas por UPLC-QTOF-MS	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Massas e rendimentos obtidos nas extrações	24
Tabela 2. Alcalóides presentes nas vagens da <i>P. juliflora</i>	26
Tabela 3. Alcalóides presentes nas folhas da <i>P. juliflora</i>	27
Tabela 4. Alcalóides presentes nas flores da <i>P. juliflora</i>	27
Tabela 5. Identificação dos alcalóides das folhas de algaroba de Petrolina - PE	28
Tabela 6. Características dos picos obtidos do isolamento do extrato da <i>P. juliflora</i> ...	40

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1. Processo para extração dos alcalóides das folhas da <i>P. juliflora</i>	18
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 A <i>Prosopis juliflora</i>	2
2.2 Considerações botânicas	2
2.3 Origem da <i>Prosopis juliflora</i> e sua inserção em território brasileiro.....	3
2.4 Clima e solo	4
2.5 Invasão biológica da algaroba	5
2.6 Algaroba: árvore de múltiplos usos	6
2.7 Alcalóides.....	6
2.8 Alcalóides da <i>Prosopis juliflora</i>	8
2.9 Extração líquido-líquido (ELL).....	10
2.10 Extração em Fase Sólida (SPE)	11
2.11 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	11
2.12 Espectrometria de Massas (MS).....	12
3. OBJETIVOS	14
3.1 Objetivos Específicos	14
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	15
4.1 A amostra	15
4.2 Extração dos alcalóides das folhas da algaroba	15
4.3 Preparo do extrato para análises por UPLC-QTOF-MS e HPLC.....	19
4.3.1 Preparo do extrato para análise em UPLC-QTOF-MS	19
4.3.2 Preparo do extrato para análise em HPLC.....	20
4.4 Análise do extrato por UPLC-QTOF-MS	20
4.4.1 Análise cromatográfica	20
4.4.2 Condições do Massas de Alta resolução – XEVO/QToF.....	21
4.5.1 Condições do sistema de HPLC.....	21
4.5.2 Coleta das frações obtidas por HPLC.....	21
4.6 Eluição das frações por Extração em Fase Sólida (SPE)	22
4.7 Preparo das frações para análise por UPLC-QTOF-MS.....	23
4.8 Análise das frações por UPLC-QTOF-MS.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
5.1 Rendimento das extrações.....	24
5.2 Análise do extrato da <i>Prosopis juliflora</i>	25

5.3 Isolamento dos alcalóides da <i>Prosopis juliflora</i>	39
5.4 Análise das frações do extrato de <i>Prosopis juliflora</i>	41
6. CONCLUSÃO	43
7. REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

A *Prosopis juliflora* é uma planta da família *Leguminosae* bastante comum na região Nordeste do Brasil. No entanto, é oriunda de países da América do Sul. A sua introdução em território brasileiro ocorreu devido a sua resistência a longos períodos de estiagem, sua utilização para reflorestamento e produção de vagens, as quais podem ser utilizadas como suplementação alimentar para animais principalmente em períodos de seca. A manutenção da alta produtividade de vagens nestes períodos reforça sua importância nesse contexto (RIBASKI, 2009).

Há diversos relatos dos produtores bovinos do nordeste brasileiro sobre o acometimento no gado da doença da “cara torta”. Esta enfermidade é assim conhecida por causar desvio lateral na boca do animal e ter alta taxa de mortalidade. A suposta causa é a presença de alcalóides piperidínicos que estão presentes em diferentes partes da planta, principalmente folhas e vagens (CÂMARA et al., 2009).

A presença de alcalóides piperidínicos é reportada em diversos estudos de espécies do gênero *Prosopis* (SINGH; VERMA, 2012). Os alcalóides piperidínicos presentes na *Prosopis juliflora* são divididos em dois grupos: alcalóides que contêm dois anéis piperidínicos ligados por um anel indolizidínico no centro da molécula e os alcalóides que contêm um anel piperidínico, mas sem a presença de um anel indolizidínico (NAKANO et al., 2004).

O fato dos alcalóides da *P. juliflora* apresentarem atividades inibidora de crescimento de plantas (NAKANO et al., 2004), antibacteriana (SINGH; SWARNIL; VERMA, 2011; DOS SANTOS et al., 2013), antitumoral (MANI; KRISHNASWAMY, 2011), antifúngica (IBRAHIM et al., 2013) reforça a importância do estudo destes compostos nesta espécie.

Objetivou-se, neste trabalho, extrair alcalóides presentes nas folhas da *P. juliflora* a partir da extração líquido-líquido. Além disso, realizar a identificação destas substâncias no extrato obtido e das frações isoladas por HPLC através do UPLC-QTOF-MS. A utilização desta técnica permitiu a identificação de alcalóides já reportados na espécie, mas também outros alcalóides presentes em espécies da mesma família da *P. juliflora*, a família *Leguminosae*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A *Prosopis juliflora*

A *Prosopis juliflora* (Sw) D.C. é pertencente à família das leguminosas (*Leguminosae*), subfamília *Mimosoideae* e do gênero *Prosopis*, é conhecida no Brasil como algobora ou algarobeira, “mesquite” no México, “cuji” na Venezuela, “nacacol” em El Salvador e na Guatemala, entre outros. São conhecidas mais de 40 espécies do gênero *Prosopis* para os continentes Americano, Asiático e Africano. (RIBASKI, 2009)

Figura 1. Exemplar de *Prosopis juliflora*



Fonte: <<https://aprisconet.blogspot.com/2016/12/vagens-de-algaroba-na-alimentacao-animal.html>> Acessado em 25/04/2018

2.2 Considerações botânicas

A algarobeira pode ter, em média, de 6 a 15 metros de altura. Costuma apresentar espinhos, porém pode em raras vezes não os possuir. O diâmetro da árvore varia entre 40 e 80 centímetros e sua copa varia entre 8 e 12 metros de diâmetro. As folhas da algaroba são bipinadas, ou seja, a partir da raque principal da folha existem ramificações em que se encontram os filíolos. O fruto da algaroba é indeiscente, isto é, ao atingir sua maturação não se abrem para liberação das sementes. Além disso, apresenta compartimentos em que cada um contém uma semente. As sementes são ovoides, duras, achatadas e de coloração marrom. Suas

flores são actinomorfas, apresentam simetria radial, hermafroditas e apresentam coloração branca-esverdeada, porém passam a apresentar coloração amarelada com o envelhecimento da planta. (RIBASKI, 2009)

Figura 2. Folhas, flores, vagens e sementes da algaroba



Fonte: <<https://appverde.wordpress.com/2015/09/30/algaroba-prosopis-juliflora/>> Acessado em 03/06/2018 (ADAPTADO)

2.3 Origem da *Prosopis juliflora* e sua inserção em território brasileiro

O gênero *Prosopis* é oriundo da África e se espalhou a partir da porção tropical deste continente para o continente americano quando estes ainda eram unificados (BURKART, 1920). É difícil afirmar com exatidão a origem da *P. juliflora*, pois as publicações existentes não são conclusivas em relação ao tema. (PEGADO et al., 2006). No entanto, algumas publicações indicam como sua possível origem o Chile, com a propagação da espécie para o Peru, México, Sudoeste dos Estados Unidos, Nordeste do Brasil, Índia, África do Sul e

Austrália. Silva (1997) também afirma a possibilidade de surgimento da algaroba no Peru, Chile e Argentina, com evidências da utilização das vagens da planta na alimentação dos nativos por parte dos colonizadores espanhóis.

Apesar do continente africano ser a origem do gênero *Prosopis*, o continente americano, mais precisamente a América do Sul, detém o maior número das espécies do gênero *Prosopis*. Das quarenta espécies conhecidas, vinte e oito são encontradas na América do Sul, sendo 26 espécies nativas da Argentina (RIBASKI, 2009).

No Brasil, a algaroba é facilmente encontrada no Nordeste brasileiro, tendo sua introdução nessa região ocorrida no ano de 1942, em Serra Talhada no estado de Pernambuco. Há também registros da inserção da espécie em Angicos-RN no ano de 1946, com sementes oriundas do Peru, e em 1948 com sementes provenientes do Sudão (RIBASKI, 2009). A expansão da planta na região ocorreu, principalmente, por incentivos governamentais. Estes incentivos ocorreram devido a sua viabilidade econômica, pois servia como fonte alimentar para os animais em períodos de seca, e por sua capacidade de recuperação de áreas degradadas na localidade em que foi inserida pela primeira vez (BURNETT, 2007).

2.4 Clima e solo

A *P. juliflora* suporta longos períodos de estiagem, o que justifica o grande interesse pela espécie na região Nordeste, onde há um baixo índice pluviométrico. A espécie é capaz de sobreviver por até nove meses de seca, sendo capaz de se desenvolver em localidades com índice pluviométrico anual entre 150 e 1200 mm. A eficiência máxima da produção de suas vagens ocorre com precipitação entre 300 e 500 mm (RIBASKI, 2009). A algaroba apresenta melhor crescimento em regiões com alta temperatura média anual, mais especificamente temperaturas superiores a 25 °C. Além disso, é capaz de se desenvolver em altitudes de até 1500 metros em relação ao nível do mar (SHIRKE; PATHRE, 2004).

A algarobeira é capaz de vegetar em diferentes tipos de solos: rochosos, arenosos e salinos (GEORGE et al., 2017). Devido a sua versatilidade, é sugerido que esta espécie seja plantada em solos de pior qualidade a fim de conferi-lo alguma atividade econômica, o que dificilmente seria possível com outras espécies comerciais convencionais (SANTOS, 2015). A planta é moderadamente tolerante a solos alcalinos. No entanto, em pH muito alcalino (pH >

10) ocorre a inibição do seu crescimento. Mudas da *P. juliflora* plantadas em solo com pH maior que 10 são capazes de sobreviver por até 3 anos após seu plantio (FELKER, 2015).

Ademais, outra característica destacável da algaroba é sua tolerância a metais pesados. Esta propriedade justifica seu uso como uma solução ecologicamente correta para tratar solos contaminados com cádmio, cromo e cobre (SENTHILKUMAR et al., 2005).

2.5 Invasão biológica da algaroba

A invasão biológica é um fenômeno caracterizado pela inserção de uma espécie exótica em um ecossistema e esta se dispersa, passando a alterar o ecossistema ao qual foi inserida. A caatinga é um ecossistema vulnerável a invasão biológica. As atividades como a pecuária extensiva, agricultura itinerante e produção de lenha promovem a perda da flora original, sendo uma oportunidade para que outras espécies invadam seu espaço e dificultem a sua regeneração (ANDRADE; FABRICANTE; OLIVEIRA, 2009). Alguns exemplos dos impactos causados em decorrência da invasão de espécies exóticas são: mortalidade, alterações no crescimento e reprodução, alteração de padrões gênicos, hibridização entre espécies nativas e invasoras, diminuição da abundância de espécies nativas e possível extinção, alteração na disponibilidade de nutrientes, entre outros (PARKER et al., 1999).

Como exemplo, tem-se o caso da algaroba no Nordeste brasileiro. A planta tem invadido diversas áreas do bioma caatinga devido ao seu manejo inadequado, grande adequação da espécie na região e dispersão de sementes através das fezes dos animais (bovinos, caprinos e muare), pois estes não são capazes de digeri-las. Além da sua alta capacidade de reprodução e regeneração. Apesar de ser uma solução para a seca e um incentivo econômico para a região, a presença da *P. juliflora* também configura-se como um problema (PEGADO et al., 2006).

Possíveis soluções para o problema da invasão biológica da algaroba são: poda das algarobeiras, capina, coleta manual das vagens maduras da árvore, isolamento das áreas acometidas pela invasão da algaroba, afim de evitar o pastoreio de animais e processamento das vagens para servir de alimento. Apesar da difícil erradicação do problema, a invasão da algaroba não ocorre indiscriminadamente. Sua presença ocorre principalmente em áreas degradadas de planícies e terraços aluviais, onde há maior disponibilidade de água (RIBASKI, 2009). Outros métodos utilizados para o impedimento da invasão desta espécie podem ser o anelamento do tronco e a utilização de fogo (GONÇALVES et al., 2015).

2.6 Algaroba: árvore de múltiplos usos

A espécie pode ser utilizada na alimentação humana na substituição da farinha de trigo, café e rapadura a partir da produção de melados e farinhas feitos a partir da planta (RIBASKI, 2009). A utilização da algaroba como fonte de nutrientes para humanos é antiga sendo utilizada na alimentação dos povos nativos do Peru, Chile, Argentina, México e sul dos Estados Unidos. O uso da *P. juliflora* na alimentação é feita como uma alternativa alimentar em regiões pobres acometidas pelas secas e em países subdesenvolvidos, e não por suas características nutricionais (MIRA, 2001).

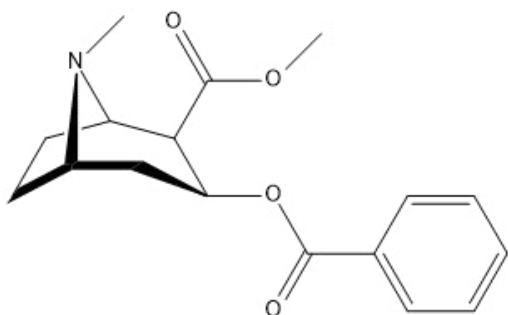
A algarobeira é um recurso importante principalmente durante o período de seca no semi-árido nordestino. Os produtores rurais utilizam a planta como suplemento alimentar para os seus rebanhos (RIBASKI, 2009). A maioria das espécies de plantas utilizadas como base da suplementação alimentar dos animais não são adaptadas ao semi-árido nordestino, o que acarreta maiores despesas aos produtores (PAULA et al., 2010). Há estudos da utilização da algarobeira na alimentação de ovinos e caprinos (PAULA et al., 2010), abelhas africanizadas (APIS et al., 2016), tilápia do Nilo (SILVA et al., 2015), bovinos (ALMEIDA et al., 2017), entre outras culturas de animais. Além disso, a madeira da algarobeira é bastante utilizada por sua boa densidade e durabilidade. Pode ser usada na fabricação de mourões, tábuas, dormentes, estacas para cercas, lenha e carvão (RIBASKI, 2009). A algaroba, assim, desempenha um papel de grande importância na região Nordeste do Brasil, recebendo a denominação de árvore de múltiplo uso.

2.7 Alcalóides

Alcalóides são uma classe de substâncias orgânicas obtidos principalmente de plantas, que contém em sua composição basicamente hidrogênio, carbono, oxigênio e nitrogênio. São substâncias de caráter alcalino devido a presença de átomos de nitrogênio como parte de uma amina primária, secundária ou terciária (DEWICK, 2002). Esta classe de substância pode ser encontrada como sais, óxidos ou até mesmo em seu estado livre. Os alcalóides apresentam atividades terapêuticas com ação anestésica (cocaína, Fig. 3), analgésica

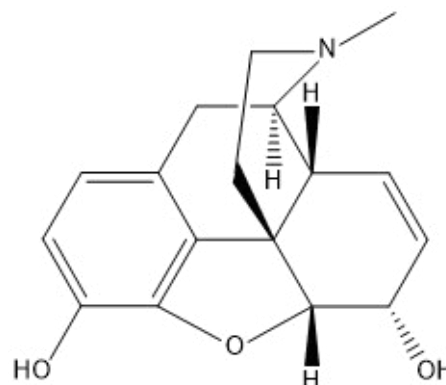
(morfina, Fig. 4), psico-estimulante, neurodepressora, assim como atividade, anti-hipertensiva, anticâncer (SILVA, 2013; ROBERTS; WINK, 1998).

Figura 3. Molécula de cocaína



Fonte: Autor

Figura 4. Molécula de morfina



Fonte: Autor

Os alcalóides podem ser divididos em três grupos: verdadeiros, protoalcaloides e pseudoalcaloides. Os alcalóides verdadeiros são aqueles derivados de aminoácidos e que contém um nitrogênio no anel heterocíclico (Fig. 5). Os protoalcaloides são derivados de aminoácidos, porém não apresentam nitrogênio em anel heterocíclico (Fig. 6). Por sua vez os pseudoalcaloides são derivados de terpenos ou esteróides e não de aminoácidos (Fig. 7) (PHILLIPSON, 1982; JÚNIOR, 2015).

Figura 5. Quinina, alcalóide verdadeiro

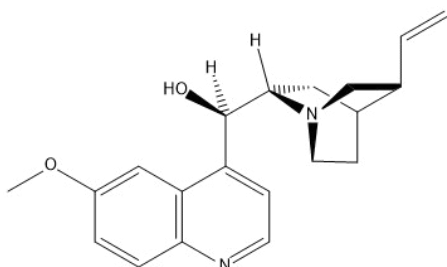
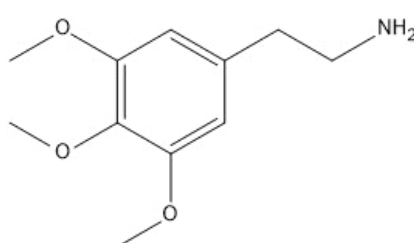
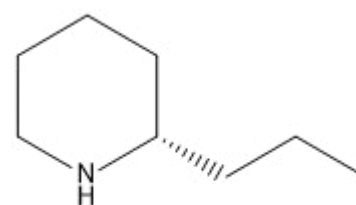


Figura 6. Mescalina, protoalcaloide



Fonte: Autor

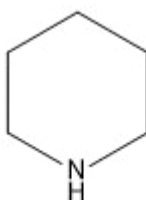
Figura 7. Coniina, pseudoalcaloides



2.8 Alcalóides da *Prosopis juliflora*

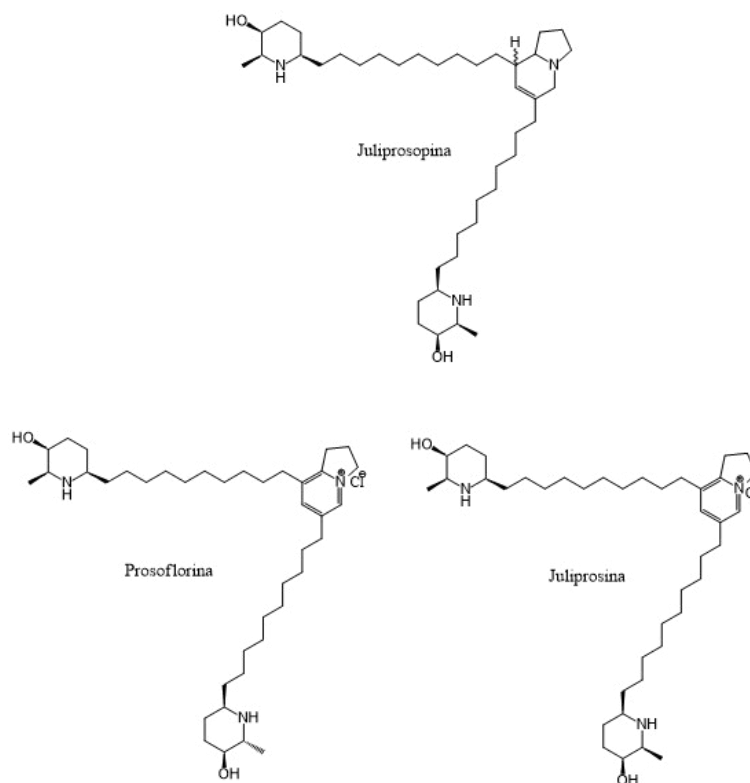
A *P. juliflora* também é bastante estudada pela presença de alcalóides piperidínicos, os quais apresentam um núcleo de piperidina (**Figura 8**) em sua molécula (MEDEIROS et al., 2014).

Figura 8. Núcleo de piperidina



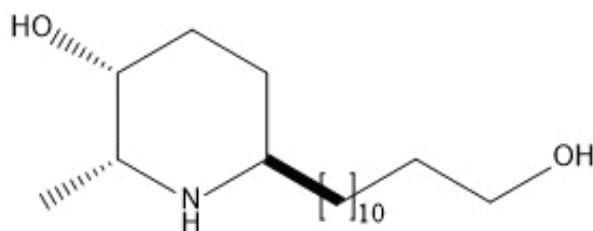
Fonte: Autor

Os alcalóides da algarobeira estão presentes nas folhas, raízes, vagens e flores. As folhas e vagens da *P. juliflora* apresentam maior variedade de alcalóides quando comparado as flores da planta. A abundância dos alcalóides também varia em cada parte da planta (SINGH; VERMA, 2012). Estes alcalóides podem ser divididos em dois grupos. O primeiro grupo composto por alcalóides com dois anéis piperidínicos ligados por um anel indolizidínico no centro da molécula e o segundo grupo composto por alcalóides com um núcleo piperidínico sem a presença de um anel indolizidínico. Seguindo esta classificação, os alcalóides piperidínicos da *P. juliflora* podem ser reunidos em dois grupos distintos: o primeiro grupo seria composto por juliprosopina, juliprosina, prosopina, juliprosinina, 3-oxo-juliprosina, 3''''-oxo-juliprosopina e o segundo grupo por julifloridina, N-metil-julifloridina, prosopina, prosopinina, projulina e prosafrinina (NAKANO et al., 2004). Os alcalóides piperidínicos presentes na algaroba são apontados como a causa de um problema que atinge diversas populações de diferentes rebanhos bovinos no Nordeste do Brasil, é a condição conhecida popularmente por “cara torta”. A doença é assim conhecida por causar um desvio lateral da cabeça que o animal realiza a fim de manter o alimento na boca durante a mastigação (CÂMARA et al., 2009). Além disso, os alcalóides piperidínicos também estão presentes em espécies como a *Nicotina tabacum* (FELPIN et al., 2001), *Cassia spectabilis* (VIEGAS et al., 2004) e espécies dos gêneros *Pinus* e *Picea* (TAWARA et al., 1993).

Figura 9. Juliprosopina, prosoflorina e juliprosina

Fonte: Autor

Observa-se também relaxamento da mandíbula, movimentos mastigatórios não coordenados, salivação demasiada, emagrecimento progressivo, entre outros. Indica-se que a alimentação de bovinos com vagens ou farelo de algaroba não deve ultrapassar 30 % do percentual da ração e deve ocorrer por um período máximo de seis meses (CÂMARA et al., 2009). Há diversos estudos quanto as atividades que os alcalóides piperidínicos da algarobeira podem apresentar, alguns deles: atividade inibidora de crescimento de plantas (NAKANO et al., 2004), atividade antibacteriana (SINGH; SWAPNIL; VERMA, 2011; DOS SANTOS et al., 2013), potencial antitumoral (MANI; KRISHNASWAMY, 2011), atividade antifúngica (IBRAHIM et al., 2013).

Figura 10. Alcalóide Prosopinina

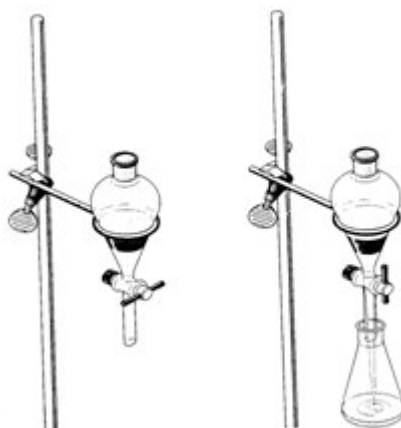
Fonte: Autor

2.9 Extração líquido-líquido (ELL)

O método extração líquido-líquido consiste no fracionamento das substâncias de interesse por solventes de diferentes polaridades, trabalhando geralmente com uma fase orgânica e outra aquosa. A eficiência do método está relacionada a afinidade do soluto pelo solvente e até mesmo o número de extrações realizadas (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001). O método também pode ser realizado manualmente ou de forma mecanizada, automática, buscando separar a substância de interesse de outros compostos majoritários da matriz utilizada. Para isto, costuma-se transferir o soluto presente na fase aquosa para a fase orgânica por meio de contato entre os dois solventes imiscíveis (FACCHIN; PASQUINI, 1998).

Entre as vantagens da técnica estão: a utilização de sistema simples (suporte universal, garras e funil de separação, além de erlenmeyers para coleta de diferentes fases), possibilidade de utilização de diferentes solventes que podem fornecer diversas opções de solubilidade e seletividade. As desvantagens da técnica são: extração parcial de substâncias com alta afinidade por água e pelos solventes orgânicos, concentração de impurezas juntamente com a amostra, toxicidade de alguns solventes, formação de emulsões e outras (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

Figura 11. Aparato para realização de extração líquido-líquido

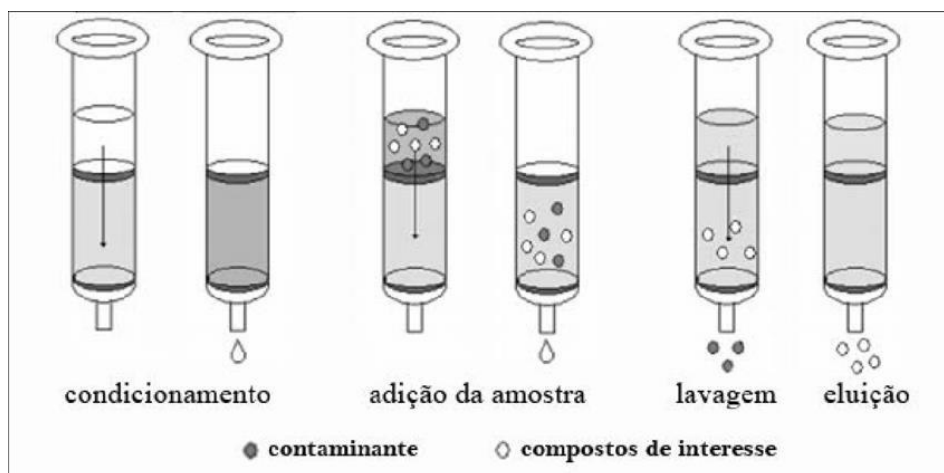


Fonte: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAEiicAC/relatorio-separacao-extracao-reativa-pf-recristalizacao-cromatografia>> Acessado em 06/05/2018

2.10 Extração em Fase Sólida (SPE)

A Extração em Fase Sólida é uma técnica de utilização recorrente a fim de extrair compostos de interesse presentes em uma matriz aquosa após sua retenção em um cartucho sorvente para posterior eluição dos compostos retidos pela utilização de solventes orgânicos (BARRIONUEVO; LAÇAS, 2001). O método pode ser utilizado para extrair, concentrar ou pré-purificar as substâncias de interesse. Além disso, requer pequenos volumes de solvente e pouca manipulação da amostra (CAVALCANTE et al., 2007).

Figura 12. Catuchos para extração em fase sólida (SPE)



Fonte: LANÇAS, 2004

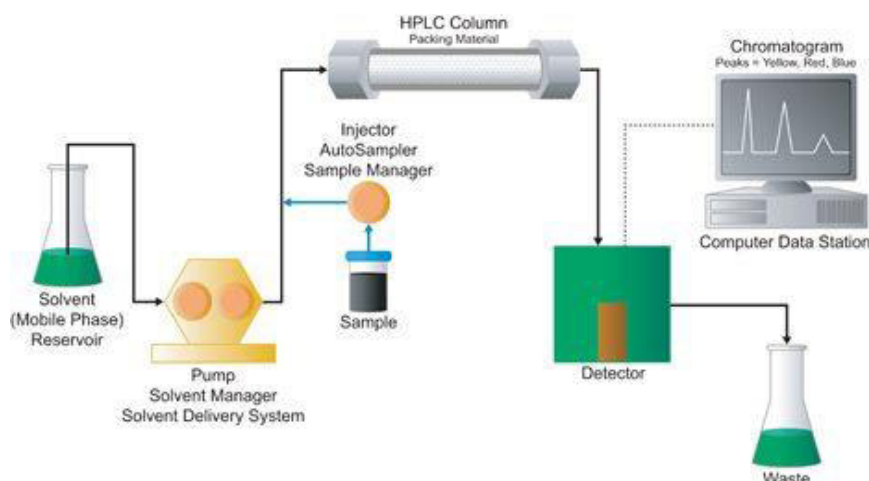
Alguns fatores são importantes para realização e otimização da técnica como o tipo de fase sólida, o volume utilizado de amostra, o volume e o tipo de solvente utilizado para a eluição, quantidade de sais dissolvidos, temperatura durante o processo e o pH (GIROTTI et al., 2007).

2.11 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC ou CLAE em português) é uma técnica utilizada para fracionamento e isolamento rápido de compostos, além de fornecer informações relacionadas ao espectro de UV (CHANG et al., 2008). O esquema de um equipamento moderno de HPLC é mostrado na **Figura 13**.

O método consiste na inserção da amostra no equipamento para injeção na coluna. A amostra é, então, eluída por solventes que são continuamente bombeadas pelo equipamento, é a fase móvel. Os compostos presentes na amostra são separados pela diferença interação com a fase móvel utilizada no procedimento e a fase estacionária da coluna. Todo o procedimento é controlado por um computador sendo a única intervenção do operador a introdução da amostra no equipamento (SNYDER, 2011).

Figura 13. Componentes de um HPLC



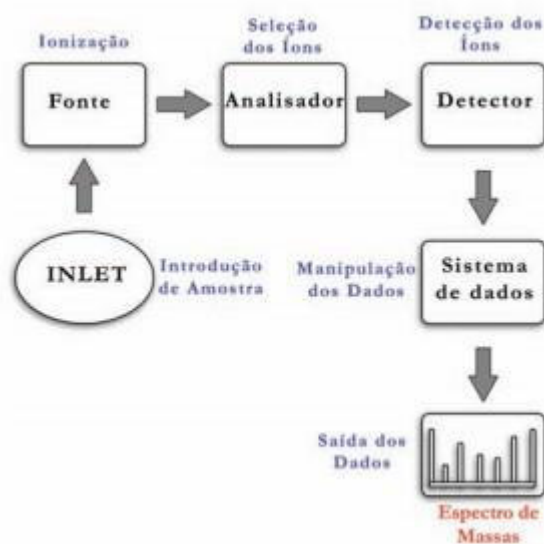
Fonte: <<http://chemicalinstrumentation.weebly.com/hplc.html>> Acessado em 06/05/2018

2.12 Espectrometria de Massas (MS)

A técnica Espectrometria de Massas é de grande interesse para identificação de substâncias químicas. Para utilização do método é feito o uso de um equipamento conhecido como Espectômetro de Massas, o qual possui constituição básica de cinco componentes: “inlet”, fonte, analisador, detector. A função de cada um dos componentes é, respectivamente, inserir a amostra na fonte do equipamento, ionizar as moléculas presentes na amostra, dividir os íons resultantes da ionização da molécula por sua razão massa/carga (m/z), registrar a carga induzida ou corrente produzida pelo íon que atinge sua superfície o que vai gerar os espectros de massa (LANÇAS, 2009).

Para cada componente do equipamento citado anteriormente há diferentes tipos. Fontes de ionização: impacto eletrônico (EI) e ionização química (CI) para CG-MS; ionização por Electrospray (ESI), ionização química à pressão atmosférica (APCI) e fotoionização à pressão atmosférica (APPI) para LC-MS. Analisadores: baseados em setores elétricos ou magnéticos, quadrupolo, “ion trap”, tempo de voo. Detectores: chapas fotográficas, detector de Faraday, multiplicação de elétrons.

Figura 14. Componentes básicos de um espectrômetro de massas



Fonte: LANÇAS, 2009 (ADAPTADO)

A Cromatográfica Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS) surgiu como uma evolução da Espectrometria de Massas, agregando a capacidade de identificação desta e de separação daquela (LANÇAS, 2009).

3. OBJETIVOS

Identificação dos alcalóides presentes nas folhas da *Prosopis juliflora* de Petrolina – PE.

3.1 Objetivos Específicos

- Obter o extrato alcaloídico a partir das folhas da algaroba por meio de extração líquido-líquido.
- Identificar os alcalóides presentes no extrato alcaloídico por UPLC-QTOF-MS.
- Isolar frações diferentes do extrato alcaloídico por HPLC.
- Identificar os alcalóides isolados por HPLC através de UPLC-QTOF-MS.
- Incluir o extrato obtido na extratoteca do LMQPN.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 A amostra

A amostra da *P. juliflora* contendo 298 g de folhas da planta foi fornecida pela unidade da Embrapa Semiárido, localizada em Petrolina – PE. As folhas chegaram a unidade Embrapa Agroindústria Tropical já moídas.

Figura 15. Folha de algaroba moída



Fonte: Autor

4.2 Extração dos alcalóides das folhas da algaroba

2,5 g da amostra foram adicionadas em um tubo de ensaio de forma a utilizar dois tubos de ensaio totalizando 5 g da amostra. 40 mL de hexano foram adicionados em cada um dos tubos que foram submetidos a banho ultrassom no equipamento Eco-Sonics Ultronique Q 3.0 por 20 min.

Posteriormente, adicionou-se 40 mL da solução MeOH/H₂O/H₂SO₄ (89:10:1) em cada os dos tubos. O tubo foi resubmetido a banho ultrassom por 20 min.

Figura 16. Amostra em hexano e solução metanólica ácida



Fonte: Autor

O hexano foi retirado após o fim deste processo e descartado. Realizou-se a filtração da amostra com a utilização de papel de filtro e bomba à vácuo para separar a solução metanólica ácida das folhas. A fração aquosa foi particionada em funil de separação com 40 mL de clorofórmio e 15 mL de água a fim de facilitar a separação das fases. A operação de adição de clorofórmio foi repetida mais duas vezes. A fração clorofórmica (inferior) foi descartada.

Figura 17. Partição líquido-líquido



Fonte: Autor

Alcalinizou-se a fração aquosa ácida utilizando NH_4OH até pH 10. Realizou-se mais uma partição em funil de separação com a adição de 40 mL de clorofórmio. Repetiu-se este procedimento mais duas vezes. A fração clorofórmica (inferior), contendo os alcalóides, foi recolhida. A fração metanólica (superior) foi descartada.

Adicionou-se sulfato de sódio para retirar água da fração alcaloídica em clorofórmio. Filtrou-se esta fração utilizando algodão para retirar o sulfato de sódio.

A fração de interesse foi, então, concentrada evaporação rotativa sob pressão reduzida na temperatura de 40 °C e com rotação de 30 rpm. O concentrado foi transferido para um frasco de penicilina e então secado também por evaporação rotativa. Foram feitas sucessivas extrações até obter um total de 132,25 mg de extrato alcaloídico seco.

Figura 20. Fração alcaloídica alcalina

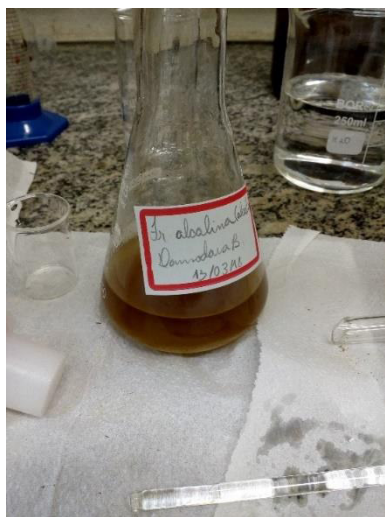
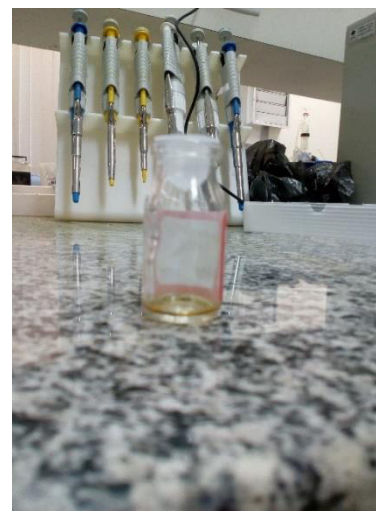


Figura 18. Extrato concentrado

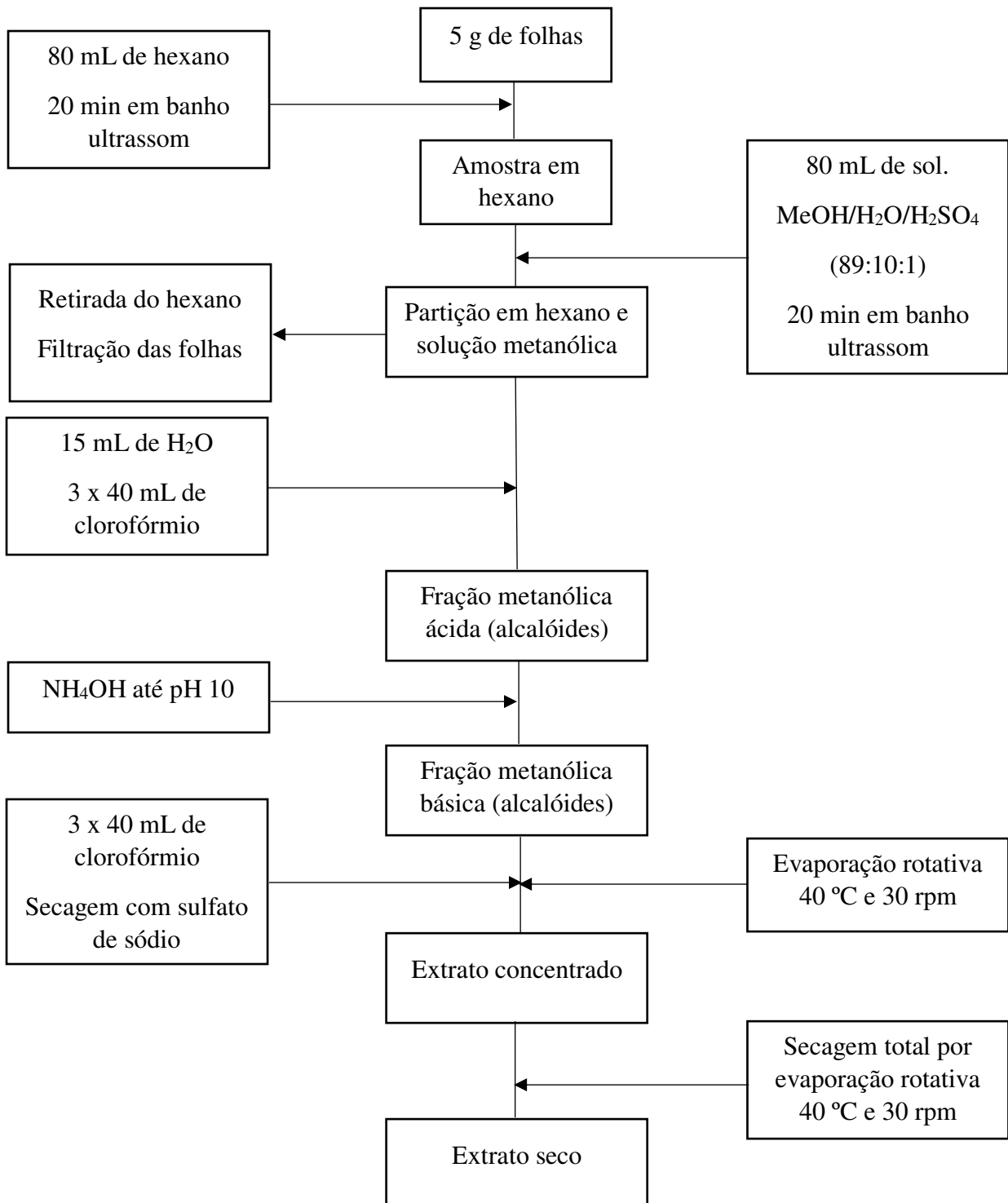


Figura 19. Extrato seco



Fonte: Autor

Fluxograma 1. Processo para extração dos alcalóides das folhas da *P. juliflora*



Fonte: Autor

4.3 Preparo do extrato para análises por UPLC-QTOF-MS e HPLC

4.3.1 Preparo do extrato para análise em UPLC-QTOF-MS

10 mg do extrato seco obtido através das extrações segundo o item 4.2, foi dissolvido em 1 mL de metanol grau LC/MS para a preparação de uma solução com concentração de 10 mg/mL.

Diluiu-se o extrato em 1,5 mL de metanol grau LC/MS para obtenção de solução com concentração de 1 mg/mL. A solução contendo o extrato foi filtrada com a utilização de uma seringa e filtro seringa PTFE da Allcrom, tamanho do poro de 0,22 μm e com 13 mm de diâmetro, e colocado em tubo Vial de 1,5 mL para realização da análise.

Figura 21. Seringa e filtro utilizados para UPLC-QTOF-MS



Fonte: Autor

4.3.2 Preparo do extrato para análise em HPLC

30 mg do extrato seco que foi dissolvido em 1,5 mL de metanol grau HPLC para a preparação de uma solução com concentração de 20 mg/mL. A solução contendo o extrato foi filtrada com a utilização de uma seringa e filtro seringa PTFE da Allcrom, tamanho do poro de 0,22 μm e com 25 mm de diâmetro colocado em um tubo Vial de 1,5 mL para injeção no equipamento.

Figura 22. Seringa e filtro utilizados para HPLC



Fonte: Autor

4.4 Análise do extrato por UPLC-QTOF-MS

4.4.1 Análise cromatográfica

A análise foi feita utilizando o sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo/Tempo de Vôo (Qtof, Waters). O equipamento é pertencente a Embrapa Agroindústria Tropical. As corridas cromatográficas foram realizadas utilizando coluna Waters Acquity UPLC BEH com dimensões de 150 mm x 2,1 mm, 1,7 μm . A temperatura fixa de 40 $^{\circ}\text{C}$ e fases móveis sendo água com 0,1 % de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1 % de ácido

fórmico (B), com gradiente variando de 2 % a 95 % de B. O tempo de corrida foi de 15 minutos, fluxo de 0,4 mL/min e volume de injeção de 5 μ L.

4.4.2 Condições do Massas de Alta resolução – XEVO/QToF

O modo ESI⁺ foi obtido na faixa de 110 a 1180 Da com temperatura da fonte fixa de 120 °C, temperatura de dessolvatação de 350 °C e fluxo do gás dessolvatado de 500 L/h e voltagem do capilar de 3,2 kV.

Leucina encefalina foi utilizada como lock mass. O modo de aquisição foi MS^E. O instrumento foi controlado pelo *software* Masslynx 4.1 da Waters Corporation.

4.5 Isolamento das frações por Ultra Fast Liquid Chromatograph (HPLC)

4.5.1 Condições do sistema de HPLC

A obtenção das frações foi realizada utilizando o sistema UFLC Shimadzu com bombas LC-20AD, forno do tipo CTO-20A a 30 °C, detector do tipo SPD-M20A foto de ouro Diode Array Detector (DAD) UV-Vis e coluna Zorbax SB-C18 de 4,6 x 150 mm 3,5 micron. A corrida cromatográfica tinha como fases móveis água Milli-Q (Millipore) com 0,1 % de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1 % de ácido fórmico (B), com duração de 24,3 minutos. Esta ocorreu com gradiente variando de 2 % a 40 % de B do tempo 0 a 18,3 minutos retornando a 2 % de B a partir desse momento até o fim da corrida aos 24,3 minutos.

4.5.2 Coleta das frações obtidas por HPLC

Foram realizadas 50 injeções, cada injeção com volume de 20 μ L. Como citado no item 4.3.2, a concentração da solução do extrato foi de 20 mg/mL. Portanto, a massa injetada do extrato foi de 20 mg. Sete erlenmeyers foram utilizados para coleta dos picos e blocos de picos que foram coletados manualmente.

4.6 Eluição das frações por Extração em Fase Sólida (SPE)

Utilizou-se a extração em fase sólida (SPE) para eluir as frações em metanol facilitando a posterior secagem do material por evaporação rotativa. As frações obtidas conforme descrito no item 4.5.2 possuíam maior volume de água. Portanto, a evaporação sob pressão reduzida não seria suficiente para secagem das frações visto que esta deve ocorrer em temperatura de até 40 °C para não degradar as substâncias orgânicas presentes na amostra.

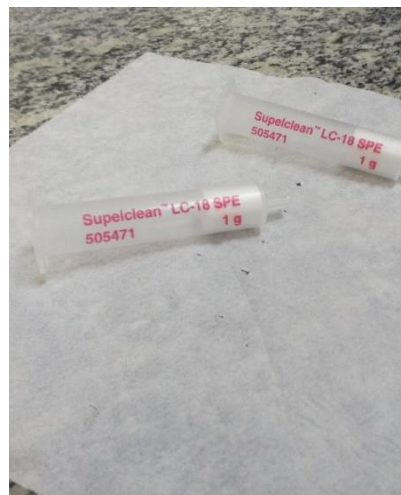
A **Figura 23** mostra o Manifold. Inseriu-se os cartuchos neste equipamento e com a utilização de uma bomba à vácuo o solvente passa pelos cartuchos. Foram utilizados sete cartuchos Supelclean™ LC-18 SPE Tube. Os cartuchos foram condicionados com 5 mL de metanol grau HPLC e depois 5 mL de água Milli-Q. Estes volumes foram coletados em tubos de ensaio e descartados.

Figura 24. Aparato para SPE



Fonte: Autor

Figura 23. Cartuchos utilizados para SPE



Fonte: Autor

Adicionou-se 5 mL de cada uma das sete frações em seus respectivos cartuchos, após o condicionamento das mesmas. O material de interesse ficou retido em cada um dos cartuchos e foi eluído com a utilização de 5 mL de metanol grau HPLC. As frações eluídas foram coletadas em tubos de ensaio com tampa de rosca e armazenados em refrigerador. Este procedimento foi repetido até que todo o volume das sete frações fosse eluído em metanol.

Concentrou-se cada uma das frações eluídas por evaporação rotativa sob pressão reduzida em balão de fundo redondo e após esta etapa as frações foram transferidas para frascos de penicilina tarados. Finalizou-se a secagem das frações utilizando nitrogênio líquido.

4.7 Preparo das frações para análise por UPLC-QTOF-MS

As frações foram pesadas após a secagem descrita no item 4.6 e dissolvidas em solução metanol grau LC/MS e água Milli-Q (1:1) de forma a obter a concentração de 1 mg do material fracionado em 1 mL de solvente (1 mg/mL). Após a dissolução as frações foram filtradas com a utilização de uma seringa e filtro seringa PTFE da Allcrom, tamanho do poro de 0,22 μm e com 13 mm de diâmetro, e colocado em tubo Vial de 1,5 mL para que o material fosse injetado no equipamento.

4.8 Análise das frações por UPLC-QTOF-MS

A análise das frações obtidas pelo procedimento descrito em 4.5 e 4.6 foram realizadas seguindo o mesmo procedimento para o modo ESI⁺ descrito pelo item 4.4 (tanto pela análise cromatográfica quanto pelas condições do Massas de Alta Resolução).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Rendimento das extrações

Foram feitas sucessivas extrações com metodologia descrita no item 4.2 e as massas e rendimentos obtidos estão descritas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Massas e rendimentos obtidos nas extrações

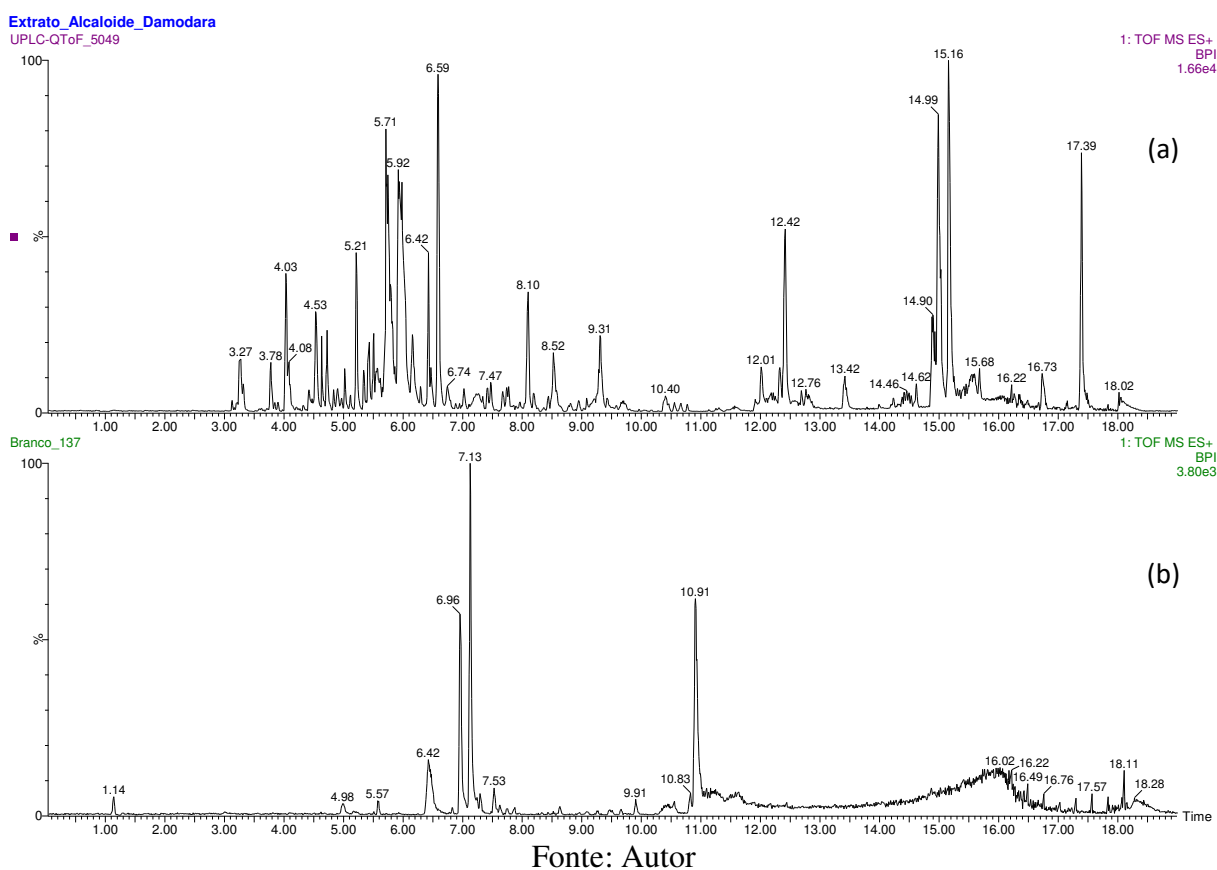
Extração	Massa obtida (mg)	Rendimento (%)
1	24,34	0,4868
2	22,56	0,4512
3	33,89	0,6778
4	30,21	0,6042
5	21,25	0,4250
Total	132,25	—

Fonte: Autor

5.2 Análise do extrato da *Prosopis juliflora*

O extrato de alcalóides foi injetado no equipamento UPLC-QTOF-MS no modo ESI⁺ a fim de realizar a identificação dos alcalóides presentes na folha da *P. juliflora*. A **Figura 25** mostra o cromatograma do extrato e o branco.

Figura 25. Cromatograma do extrato (a) e branco (b) por UPLC-QTOF-MS



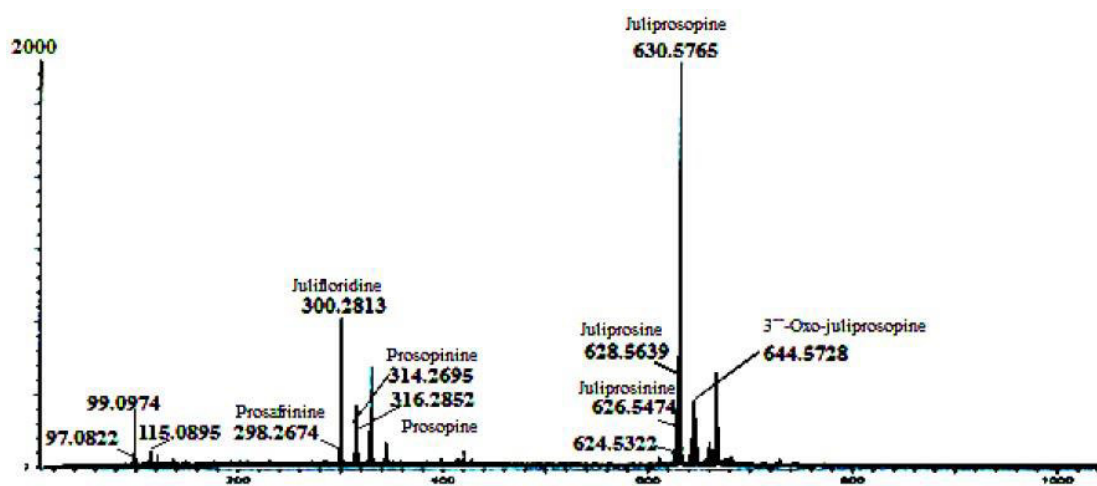
Foi realizado um levantamento buscando agrupar os alcalóides da espécie *P. juliflora* e do gênero *Prosopis*. As tabelas 2, 3 e 4 mostram os alcalóides reportados por Singh e Verma (2012) em diferentes partes da planta: folhas, vagens e flores.

Tabela 2. Alcalóides presentes nas vagens da *P. juliflora*

Composto	Massa medida [M + H] ⁺	Fórmula molecular	Abundância relativa (%)
Juliprosopina	630,5915	C ₄₀ H ₇₆ N ₃ O ₂	7,0
Juliprosina	628,5555	C ₄₀ H ₇₄ N ₃ O ₂	3,5
Prosoflorina	627,3280	C ₄₀ H ₇₃ N ₃ O ₂	3,0
Juliprosinina	626,5576	C ₄₀ H ₇₂ N ₃ O ₂	2,3
3-oxo-juliprosina	625,5163	C ₄₀ H ₇₁ N ₃ O ₂	1,6
3''''-oxo- juliprosopina	644,5636	C ₄₀ H ₇₄ N ₃ O ₃	1,4
Prosopinolina	381,3823	C ₂₃ H ₄₅ N ₂ O	10,0
Prosopina	316,2766	C ₁₈ H ₃₈ NO ₃	52,0
Prosopinina	314,2883	C ₁₈ H ₃₆ NO ₃	36,3
Julifloridina	300,2804	C ₁₈ H ₃₈ NO ₂	100,0
Projulina	421,3983	C ₂₆ H ₄₉ N ₂ O ₂	8,0
Prosafrinina	298,2674	C ₁₈ H ₃₆ NO ₂	12,0

Fonte: SINGH; VERMA, 2012

Figura 26. Alcalóides presentes nas folhas de algaroba por DART-MS



Fonte: SINGH; VERMA, 2012 (ADAPTADO)

Tabela 3. Alcalóides presentes nas folhas da *P. juliflora*

Composto	Massa medida [M + H]⁺	Fórmula molecular	Abundância relativa (%)
Juliprosopina	630,5915	C ₄₀ H ₇₆ N ₃ O ₂	100,0
Juliprosina	628,5555	C ₄₀ H ₇₄ N ₃ O ₂	36,6
Prosoflorina	627,3280	C ₄₀ H ₇₃ N ₃ O ₂	23,3
Juliprosinina	626,5576	C ₄₀ H ₇₂ N ₃ O ₂	26,0
3-oxo-juliprosina	625,5163	C ₄₀ H ₇₁ N ₃ O ₂	17,0
3''''-oxo- juliprosopina	644,5636	C ₄₀ H ₇₄ N ₃ O ₃	3,6
Prosopina	316,2766	C ₁₈ H ₃₈ NO ₃	35,0
Prosopinina	314,2883	C ₁₈ H ₃₆ NO ₃	35,0
Julifloridina	300,2804	C ₁₈ H ₃₈ NO ₂	20,0
Projulina	421,3983	C ₂₆ H ₄₉ N ₂ O ₂	4,6
Prosafrinina	298,2674	C ₁₈ H ₃₆ NO ₂	4,0
N-metil- julifloridina	313,7546	C ₁₉ H ₃₉ NO ₂	5,0

Fonte: SINGH; VERMA, 2012

Tabela 4. Alcalóides presentes nas flores da *P. juliflora*

Composto	Massa medida [M + H]⁺	Fórmula molecular	Abundância relativa (%)
Prosopina	316,2766	C ₁₈ H ₃₈ NO ₃	23,0
Prosopinina	314,2883	C ₁₈ H ₃₆ NO ₃	24,0
Julifloridina	300,2804	C ₁₈ H ₃₈ NO ₂	100,0
Prosafrinina	298,2674	C ₁₈ H ₃₆ NO ₂	16,6

Fonte: SINGH; VERMA, 2012

Singh e Verma (2012) reportaram ao todo 13 alcalóides diferentes presentes na algaroba e distribuídos em diferentes partes da planta.

Os alcalóides das folhas de algaroba da região de Petrolina – PE foram analisados a partir dos cromatogramas utilizando o *software* MassLynx. A **Tabela 5** mostra os alcalóides identificados utilizando o modo ESI⁺.

Tabela 5. Identificação dos alcalóides das folhas de algaroba de Petrolina - PE

Composto	Rt. time	[M + H] ⁺ observado	[M + H] ⁺ calculado	Erro (ppm)	Fragmentos	Fórmula Empírica	Substância	Referência
1	5,380	630,5934	630,5938	0,6	81, 70	C ₄₀ H ₇₆ N ₃ O ₂	Juliprosopina	(SINGH; VERMA, 2012)
2	5,246	626,5618	626,5625	1,1	81, 70	C ₄₀ H ₇₂ N ₃ O ₂	Juliprosinina	(SINGH; VERMA, 2012)
3	4,537	316,2856	316,2852	1,3	298, 280, 95, 70	C ₁₈ H ₃₈ NO ₃	Prosopina	(SINGH; VERMA, 2012)
4	6,417	314,2681	314,2695	4,5	296, 81, 70	C ₁₈ H ₃₆ NO ₃	Prosopinina	(SINGH; VERMA, 2012)
5	6,856	300,2906	300,2903	1,0	282, 109, 95, 70	C ₁₈ H ₃₈ NO ₂	Julifloridina	(HAQUE, 1978)
6	6,736	298,2752	298,2746	2,0	280, 81, 70	C ₁₈ H ₃₆ NO ₂	Prosafrinina	(KHUONG-HUU; RATLE; MONSEUR, 1972)
7	3,130	121,0756	121,0766	8,3	77	C ₇ H ₈ N ₂	Benzamidina	(NMR, 2017)
8	8,229	326,3063	326,3059	1,2	308, 81, 70	C ₂₀ H ₄₀ NO ₂	Espectralina	(FREITAS et al., 2018)
9	8,363	342,3016	342,3008	3,2	324, 70	C ₂₀ H ₄₀ NO ₃	Hidroxispectralina	(PIVATTO et al., 2005)
10	7,868	328,3227	328,3216	3,4	310, 95, 81, 70	C ₂₀ H ₄₂ NO ₂	Spectralinina	(PIVATTO et al., 2005)

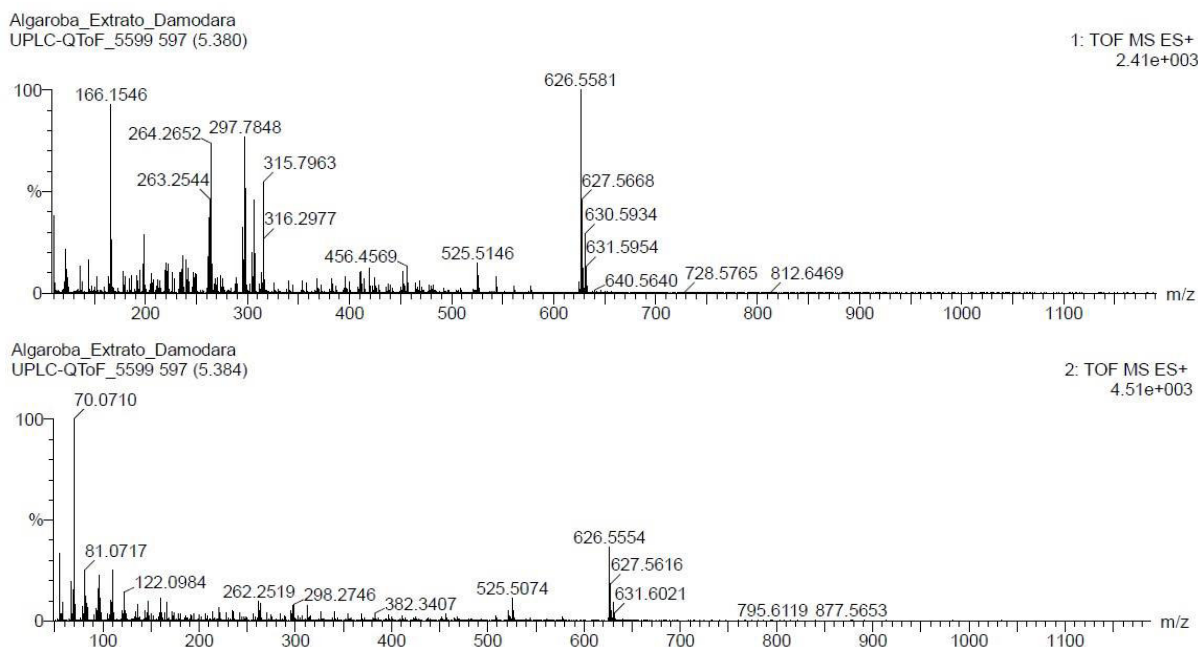
Fonte: Autor

Como visto na **Tabela 5** alguns fragmentos se repetem, é o caso dos fragmentos 70, 81, 95 e 109. Alguns trabalhos de identificação de alcalóides piperidínicos mostram que estes são recorrentes. Tais fragmentos não são conhecidos, mas são característicos deste tipo de alcalóides (FREITAS et al. 2018, ; PIVATTO et al., 2005).

O composto **1** apresenta íon precursor com m/z [M + H]⁺ 630,5934 e fórmula molecular C₄₀H₇₆N₃O₂ da molécula protonada e fórmula molecular real C₄₀H₇₅N₃O₂, a massa observada está de acordo com a massa reportada por Singh e Verma (2012). O espectro mostra

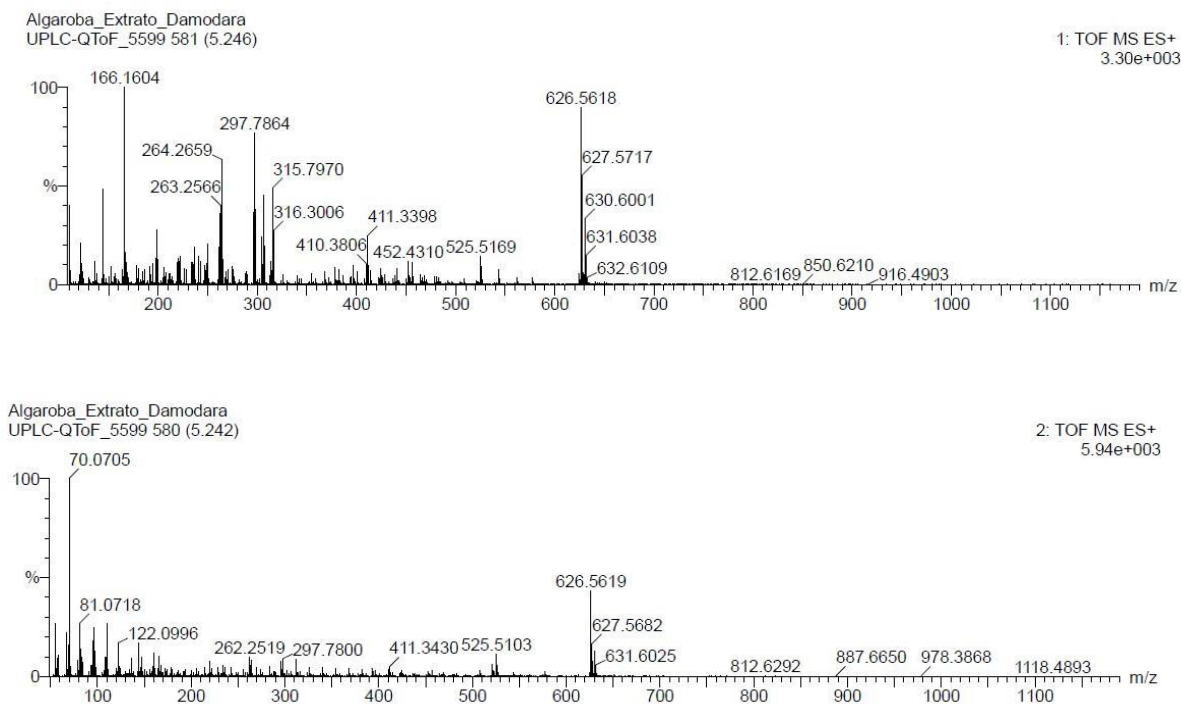
dois fragmentos (m/z 70, 81), que apesar de não determinados, mostram a presença de um anel piperidínico que está presente na molécula do alcalóide juliprosopina (PIVATTO et al., 2005).

Figura 27. Espectro de massa e fragmentos da juliprosopina no modo positivo



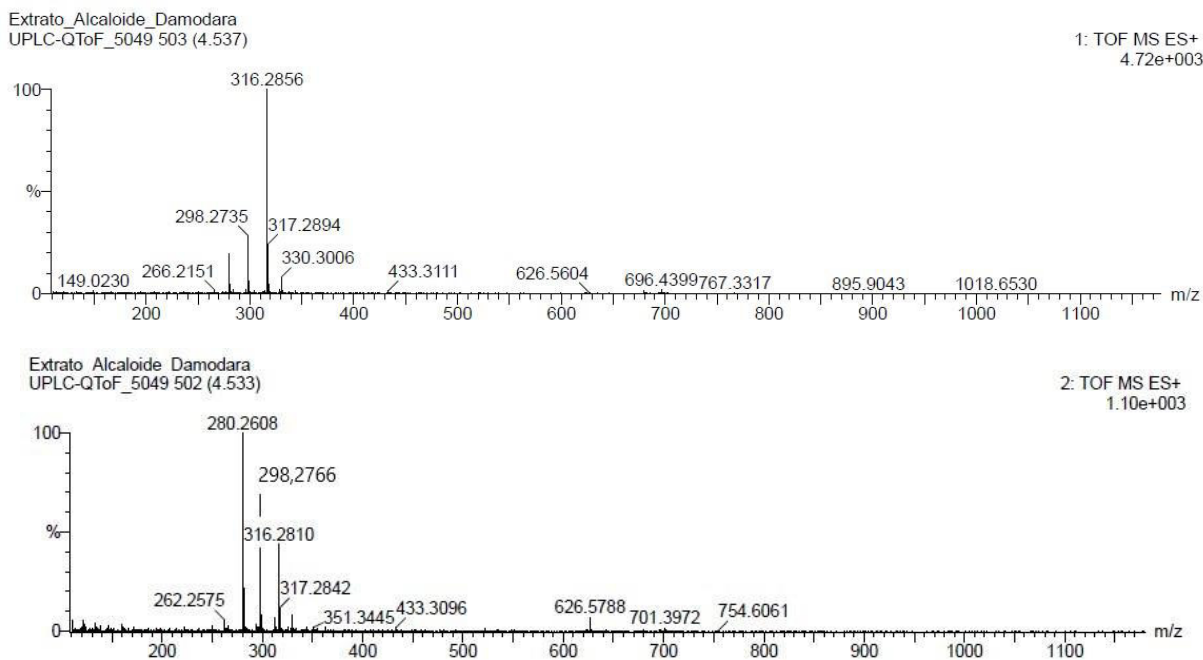
Fonte: Autor

O composto **2** apresenta íon precursor com m/z $[M + H]^+$ 626,5625 e fórmula molecular $C_{40}H_{72}N_3O_2$ da molécula protonada e fórmula molecular real $C_{40}H_{71}N_3O_2$, a massa observada está de acordo com a massa reportada por Singh e Verma (2012). Diferentemente deste trabalho em que o alcalóide juliprosopina é o mais abundante das folhas da *P. juliflora* provenientes da região do Rajastão (Índia), a amostra utilizada neste trabalho tem como alcalóide mais abundante a juliprosinina. Este espectro também contém os fragmentos m/z 70 e 81 que são característicos da fragmentação de moléculas contendo um anel piperidínico (PIVATTO et al., 2005).

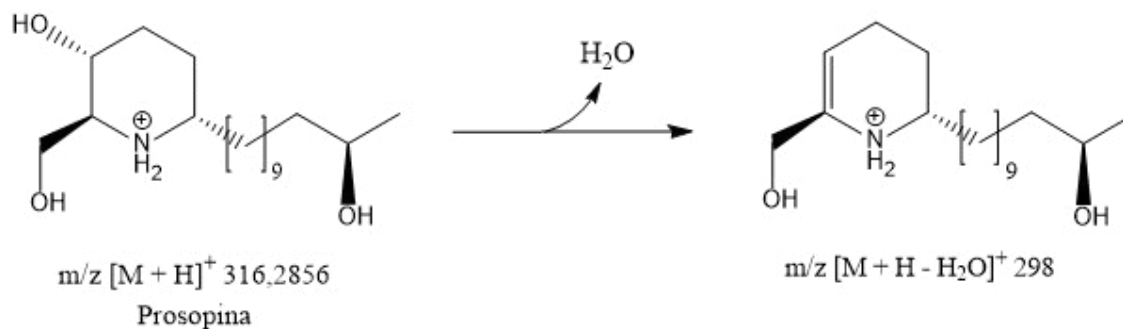
Figura 28. Espectro de massa e fragmentos da juliprosinina no modo positivo

Fonte: Autor

O composto **3** apresenta íon precursor com m/z $[M + H]^+$ 316,2856 e fórmula molecular $C_{18}H_{38}NO_3$ da molécula protonada e fórmula real de $C_{18}H_{37}NO_3$. Este composto apresenta os fragmentos 298, 280, 95, 70. O fragmento m/z 298 corresponde a perda de uma molécula de água do anel piperidínico (SINGH; VERMA, 2012). E o fragmento m/z 280 pode corresponder a perda de mais uma molécula de água. A fragmentação de uma molécula de água é um dos processos predominantes dos alcalóides piperidínicos protonados. Os fragmentos característicos da fragmentação do anel piperidínico (m/z 70, 81) estão presentes (PIVATTO et al., 2005).

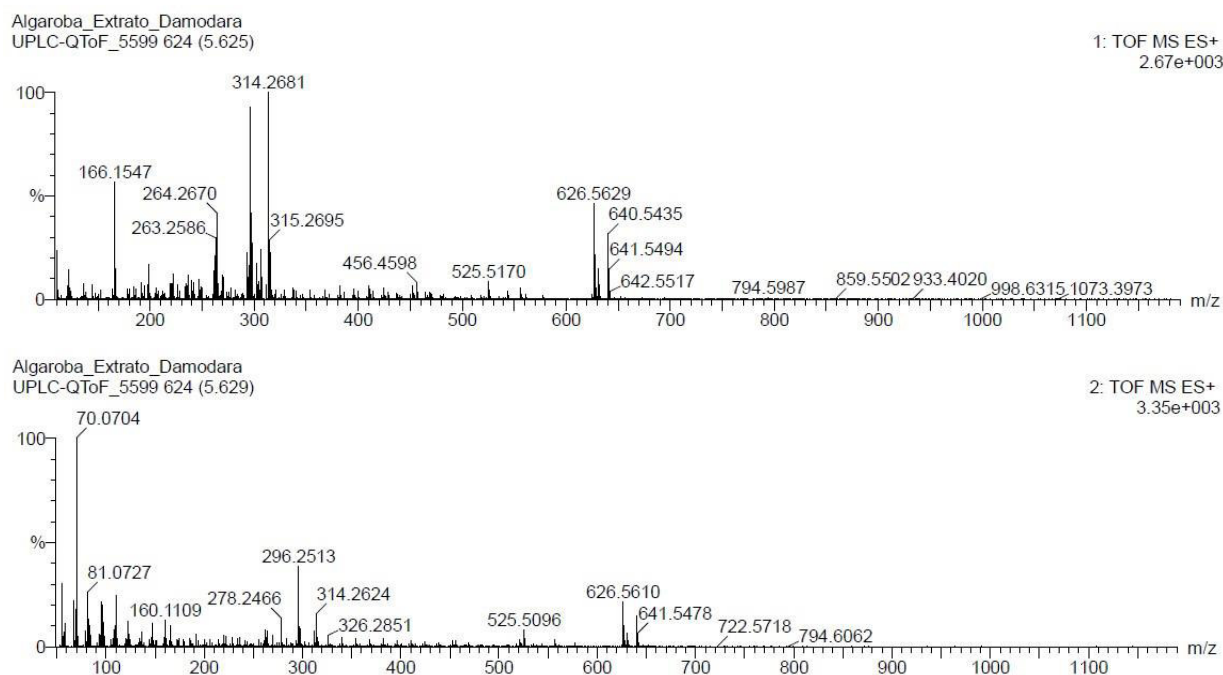
Figura 29. Espectro de massa e fragmentos da prosopina no modo positivo

Fonte: Autor

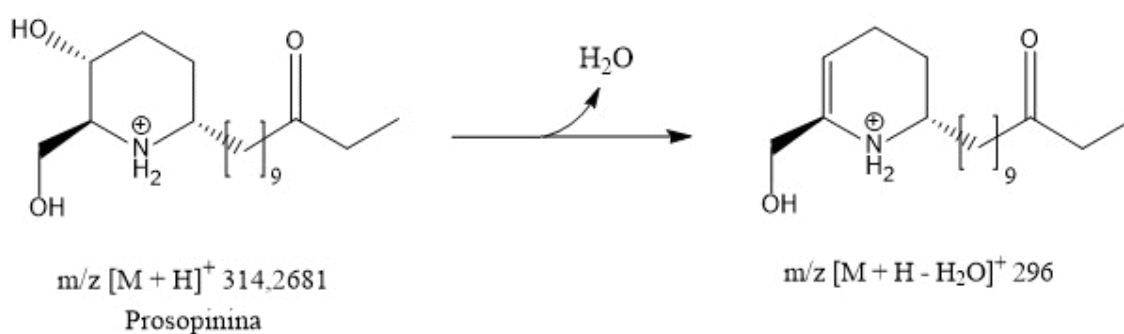
Figura 30. Perda de uma molécula de água pela prosopina

Fonte: Autor

O composto **4** apresenta apresenta íon precursor $m/z [M + H]^+ 314,2707$ com fórmula molecular $C_{18}H_{36}NO_3$ da molécula protonada e fórmula molecular real $C_{18}H_{35}NO_3$. O composto apresenta um fragmento majoritário de $m/z 296$ que corresponde a perda de uma molécula de água do anel peridínico (SINGH; VERMA, 2012). Os fragmentos de $m/z 70$ e 81 são característico da presença de um anel piperidínico e estão presentes no espectro da prosopina (PIVATTO et al., 2005).

Figura 31. Espectro de massa e fragmentos da prosopinina no modo positivo

Fonte: Autor

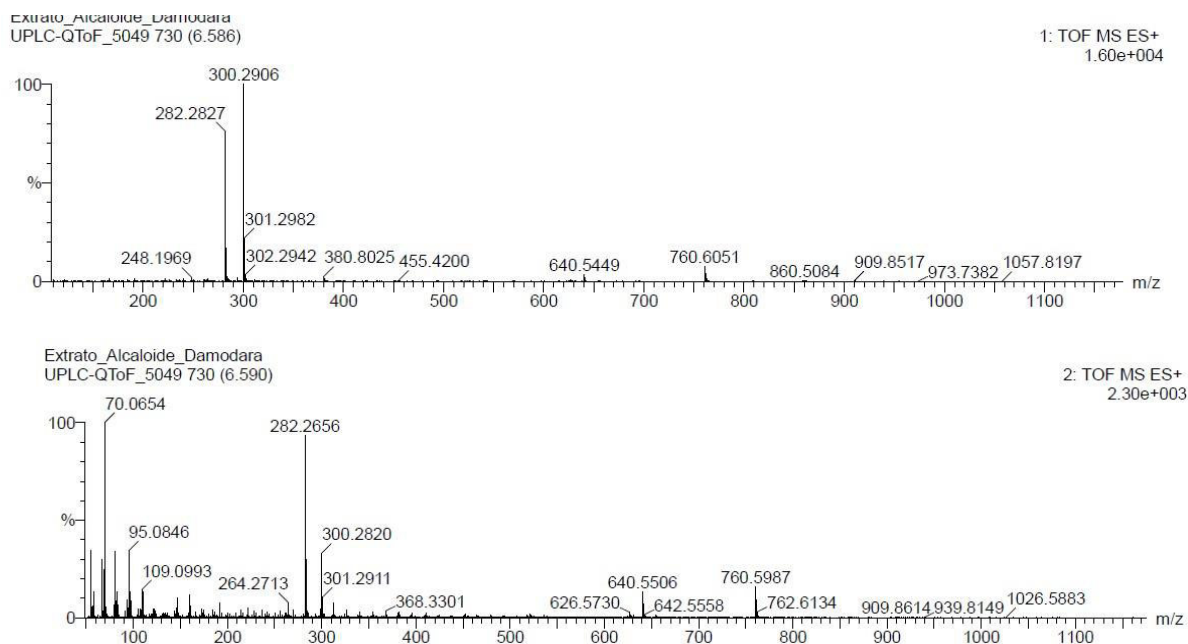
Figura 32. Fragmentação de uma molécula de água pela prosopinina

Fonte: Autor

O composto **5** apresenta íon precursor $m/z [M + H]^+ 300,2906$ e tem fórmula molecular $C_{18}H_{38}NO_2$ da molécula protonada com fórmula real $C_{18}H_{37}NO_2$. O espectro 2 TOF MS ES⁺ mostra o fragmento majoritário $m/z 282$ que corresponde a perda de uma molécula de água do anel piperidínico e outro menor de $m/z 264$ que corresponde a perda de mais uma molécula de água da sua cadeia alifática saturada. Como citado anteriormente estas fragmentações são comuns nesse tipo de molécula. Também estão presentes fragmentos

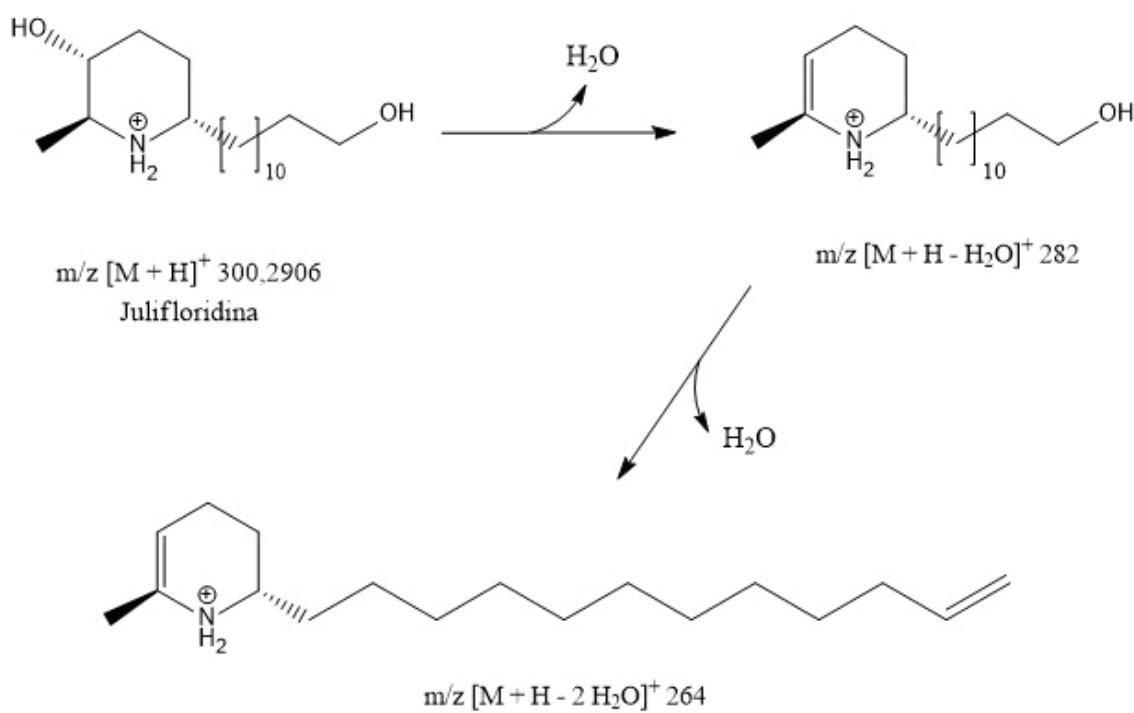
característicos da fragmentação de anéis piperídínicos, são estes m/z 109, 95 e 70 (PIVATTO et al., 2005).

Figura 33. Espectro de massa e fragmentos da julifloridina no modo positivo



Fonte: Autor

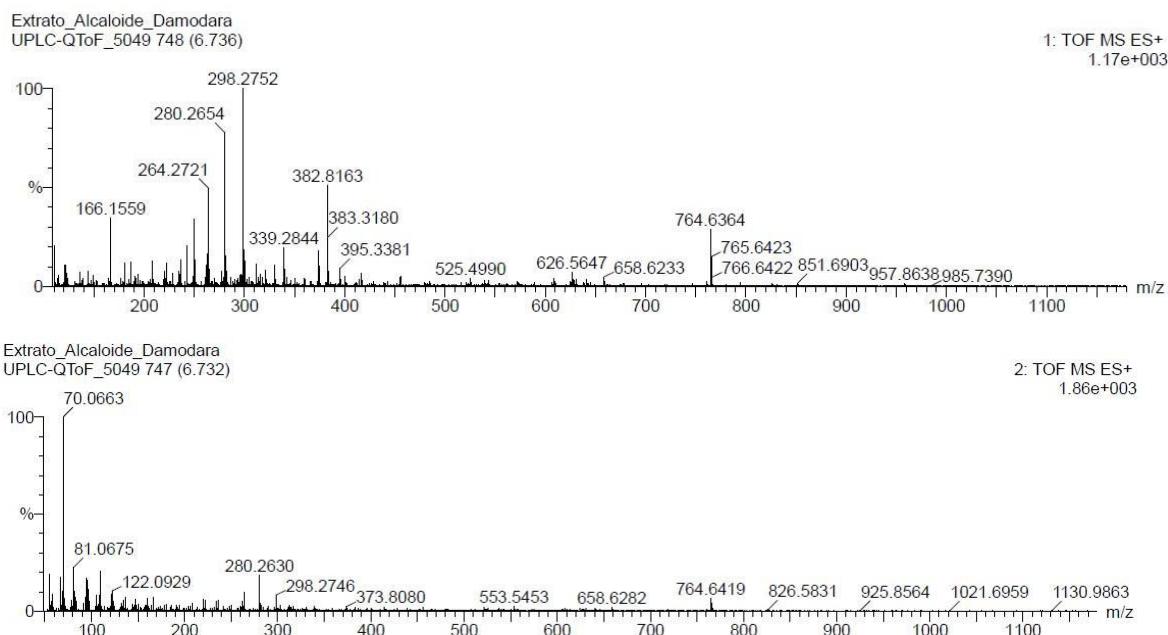
Figura 34. Fragmentações de água na molécula da julifloridina



Fonte: Autor

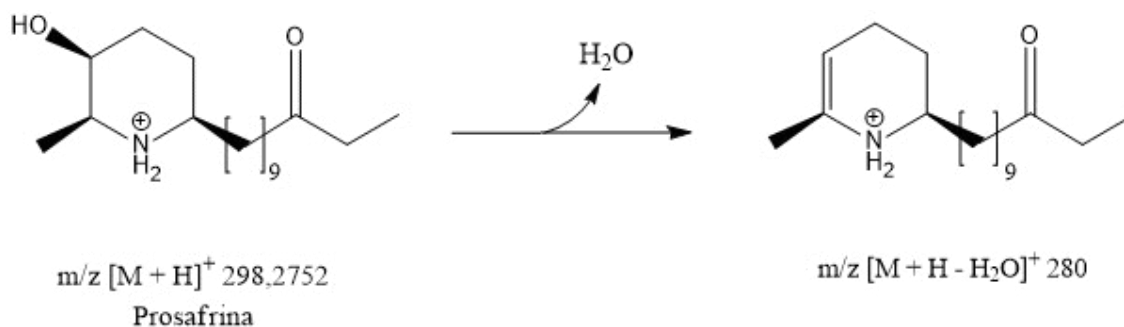
O composto **6** apresenta íon precursor com m/z $[M + H]^+$ 298,2752 e fórmula molecular $C_{18}H_{36}NO_2$ da molécula protonada e fórmula real $C_{18}H_{35}NO_2$. O espectro 2 TOF MS ES⁺ mostra o fragmento majoritário m/z 280 que assim como em outras moléculas citadas anteriormente corresponde a perda de uma molécula de água do anel piperidínico. Os fragmentos característicos do anel piperidínico também estão presentes com m/z 70 e 81 (PIVATTO et al., 2005).

Figura 35. Espectro de massa e fragmentos da prosafrinina no modo positivo



Fonte: Autor

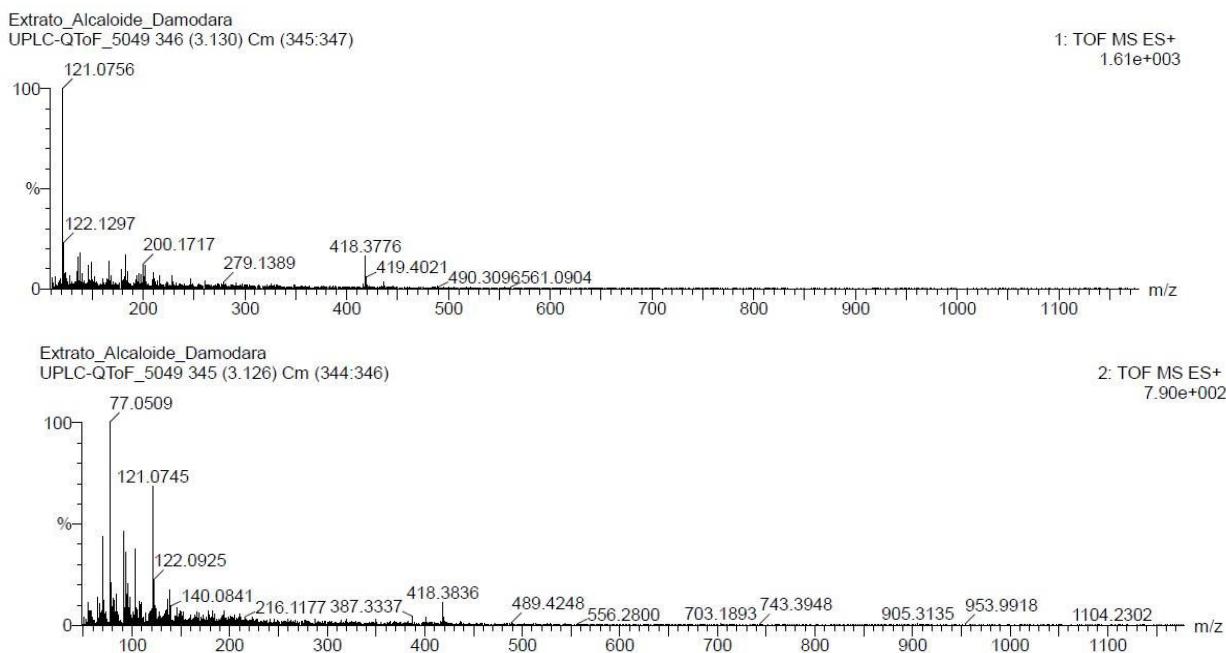
Figura 36. Perda de uma molécula de água da prosafrinina



Fonte: Autor

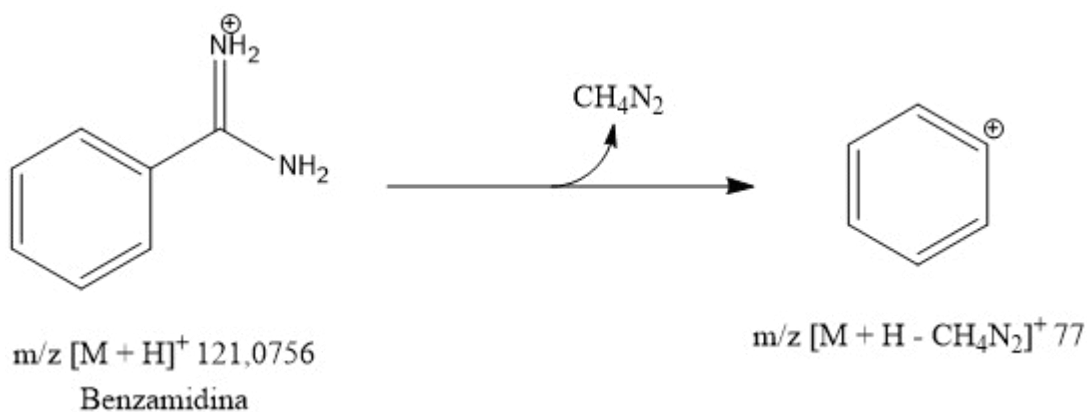
O composto **7** apresenta íon precursor m/z $[M + H]^+$ 121,0756 e fórmula molecular $C_7H_9N_2$ da molécula protonada e fórmula real $C_7H_8N_2$. O espectro 2 TOF MS ESI⁺ mostra um fragmento de m/z 77. Este pico de m/z $[M + H]^+$ 121,0756 é atribuído a molécula benzamidina (ARUN; BRINDHA, 2017).

Figura 37. Espectro de massa e fragmentos da benzamidina no modo positivo



Fonte: Autor

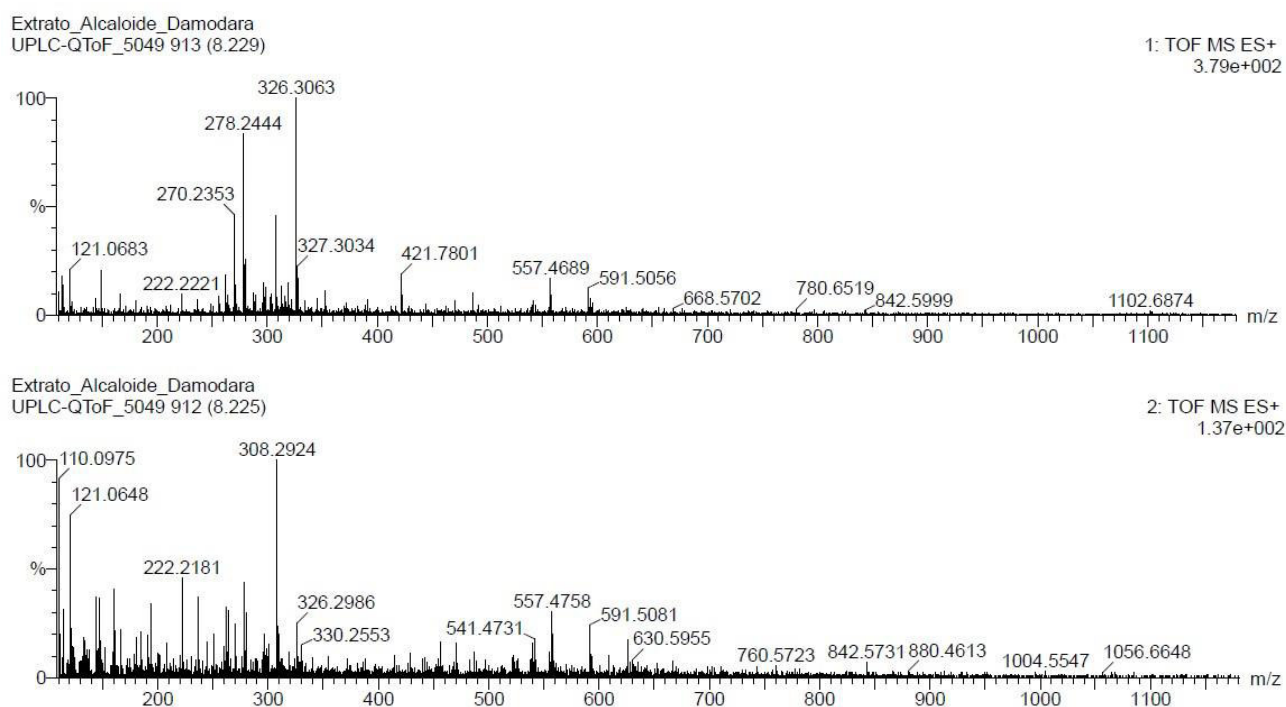
Figura 38. Fragmentação da benzamidina



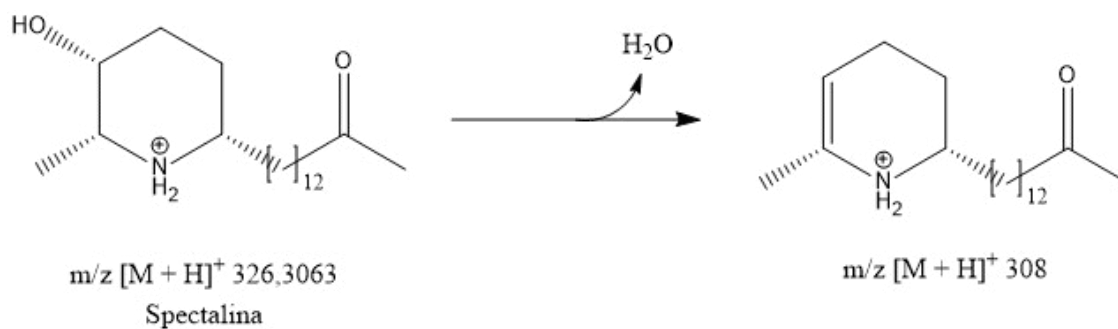
Fonte: Autor

O composto **8** apresenta íon precursor com m/z $[M + H]^+$ 326,3063 e fórmula molecular $C_{20}H_{40}NO_2$ da molécula protonada e fórmula real de $C_{20}H_{39}NO_2$. Os fragmentos presentes no espectro 2 TOF MS ESI⁺ são: m/z 308, 81 e 70. O fragmento de m/z 308 corresponde a perda de uma molécula de água e os fragmentos m/z 81 e 70 que são fragmentos característicos de moléculas com anel piridínico. A perda de uma molécula de água também é frequente em moléculas deste tipo (PIVATTO et al., 2005). Freitas et al. (2018) em seu trabalho com a espécie *Senna spectabilis*, uma espécie da mesma família da *P. juliflora* (*Leguminosae*), também reporta a perda de 18 unidades de massa para o mesmo alcalóide. O composto **8** corresponde ao alcalóide Spectalina. Este alcalóide não foi reportado por Singh e Verma (2012) em seu trabalho com a *P. juliflora*, mas está presente em outra espécie do gênero *Prosopis*, a *Prosopis africana* (KHUONG HUU et al., 1982).

Figura 39. Espectro de massa e fragmentos da Spectalina no modo positivo

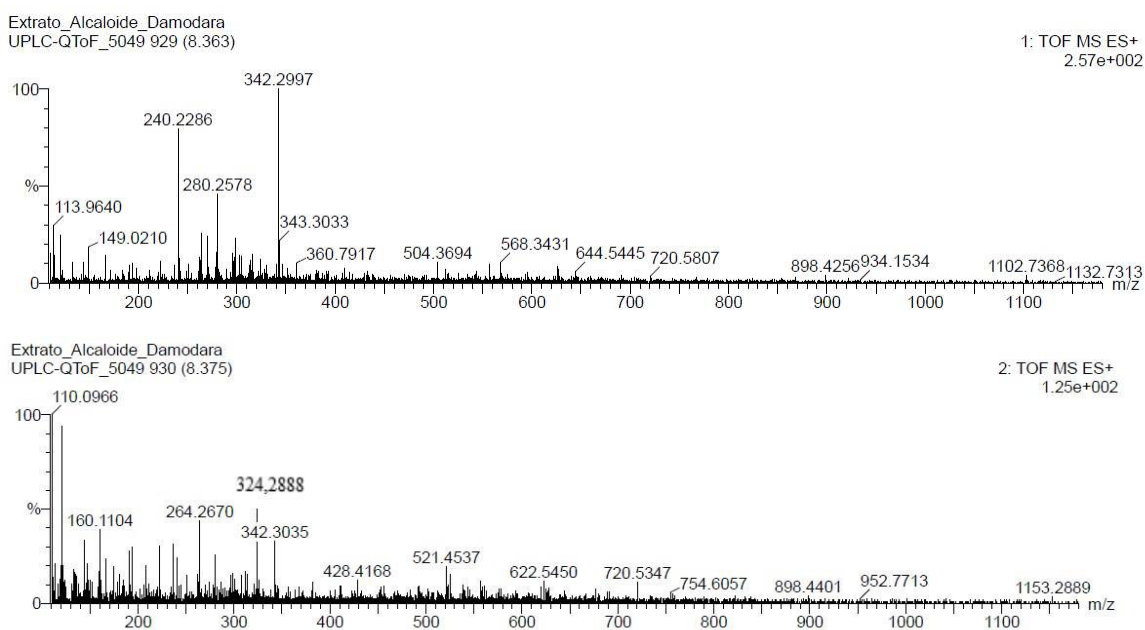


Fonte: Autor

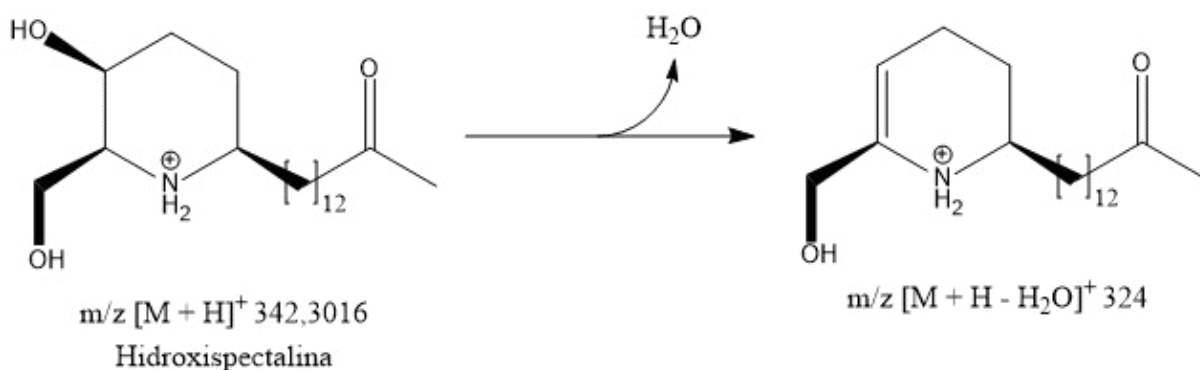
Figura 40. Fragmento de uma molécula de água da Spectalina

Fonte: Autor

O composto **9** apresenta íon precursor com $m/z [M + H]^+ 342,3016$ e fórmula molecular $C_{20}H_{40}NO_3$ da molécula protonada e fórmula real $C_{20}H_{39}NO_3$. A molécula apresenta fragmento de $m/z 324$ que assim como os outros alcalóides citados anteriormente corresponde a perda de uma molécula de água do anel piperidínico. Além disso, o fragmento de $m/z 70$ também está presente no espectro 2 TOF MS ESI⁺ (PIVATTO et al., 2005). Viegas et al., (2004) em trabalho com a espécie *Senna spectabilis* (ou *Cassia spectabilis*), da família *Leguminosae* identificou o alcalóide Hidroxispectralina que também não foi reportado por Singh e Verma (2012), mas está presente na amostra de *P. juliflora* utilizada neste trabalho.

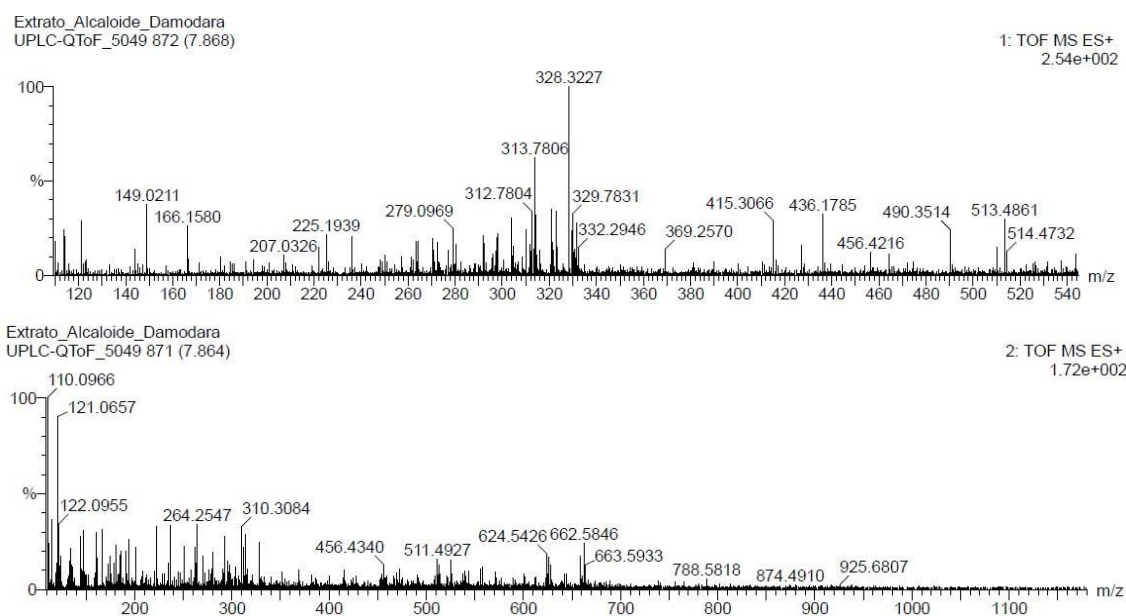
Figura 41. Espectro de massa e fragmentos da Hidroxispectralina no modo positivo

Fonte: Autor

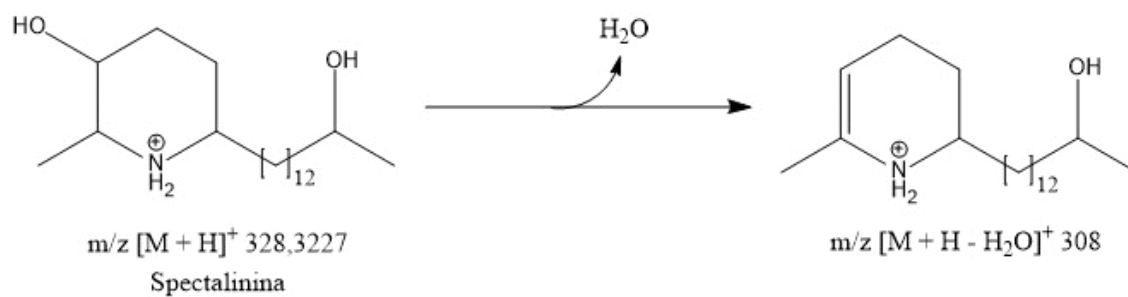
Figura 42. Fragmento de uma molécula de água da Hidroxispectralina

Fonte: Autor

O composto **10** apresenta íon precursor com $m/z [M + H]^+ 328,3227$ e fórmula molecular $C_{20}H_{42}NO_2$ e fórmula real $C_{20}H_{41}NO_2$. O composto apresenta fragmentos de m/z 310, 95, 81, 70. O fragmento de m/z 310 corresponde a perda de 18 unidades de massa, ou seja, a fragmentação de uma molécula de água a partir do anel piperidínico. Os fragmentos característico (m/z 95, 81 e 70) também estão presentes (PIVATTO et al., 2005). O composto **10** corresponde ao alcalóide Spectalinina, alcalóide piperidínico presente nas espécies *Cassia leptophylla* e *Cassia spectabilis* da família *Leguminosae*, mesma família da *P. juliflora* (CHRISTOFIDIS; WELTER; JADOT, 1977; BOLZANI; LESLIE GUNATILAKA; KINGSTON, 1995).

Figura 43. Espectro de massa e fragmentos da Spectalinina no modo positivo

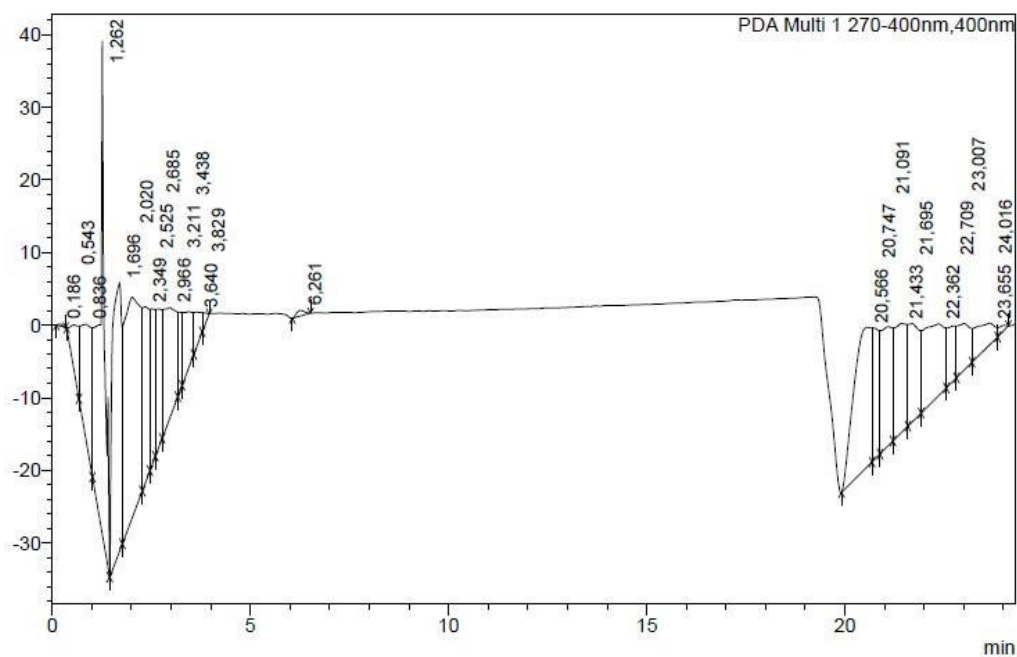
Fonte: Autor

Figura 44. Fragmento de uma molécula de água da Spectalinina

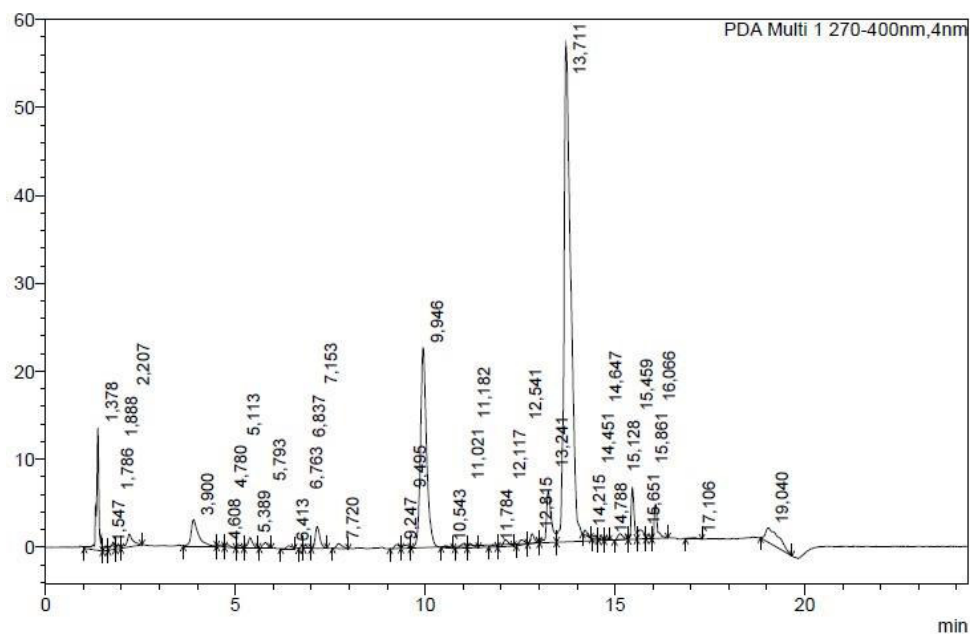
Fonte: Autor

5.3 Isolamento dos alcalóides da *Prosopis juliflora*

O extrato foi injetado no HPLC e as frações foram coletadas manualmente como descrito no item 4.5 a **Figura 45** mostra o branco o espectro dos compostos isolados.

Figura 45. Branco do HPLC

Fonte: Autor

Figura 46. Cromatograma da fração alcaloídica em HPLC

Fonte: Autor

A **Tabela 6** mostra alguns aspectos dos picos obtidos como tempo de retenção, altura e área dos picos e blocos coletados.

Tabela 6. Características dos picos obtidos do isolamento do extrato da *P. juliflora*

Frações	Tempo de retenção (min)	Altura	Área
1	1,786	432569	8326123
2	3,900	496314	124956321
3	4,780 – 5,389	465269 - 412698	8462314 - 7982431
4	6,763	536123	9306592
5	9,946	435449	28146162
6	12,815 – 13,711	403772 - 632727	7182435 - 22762708
7	15,128 – 16,515	315986 - 359930	8476204

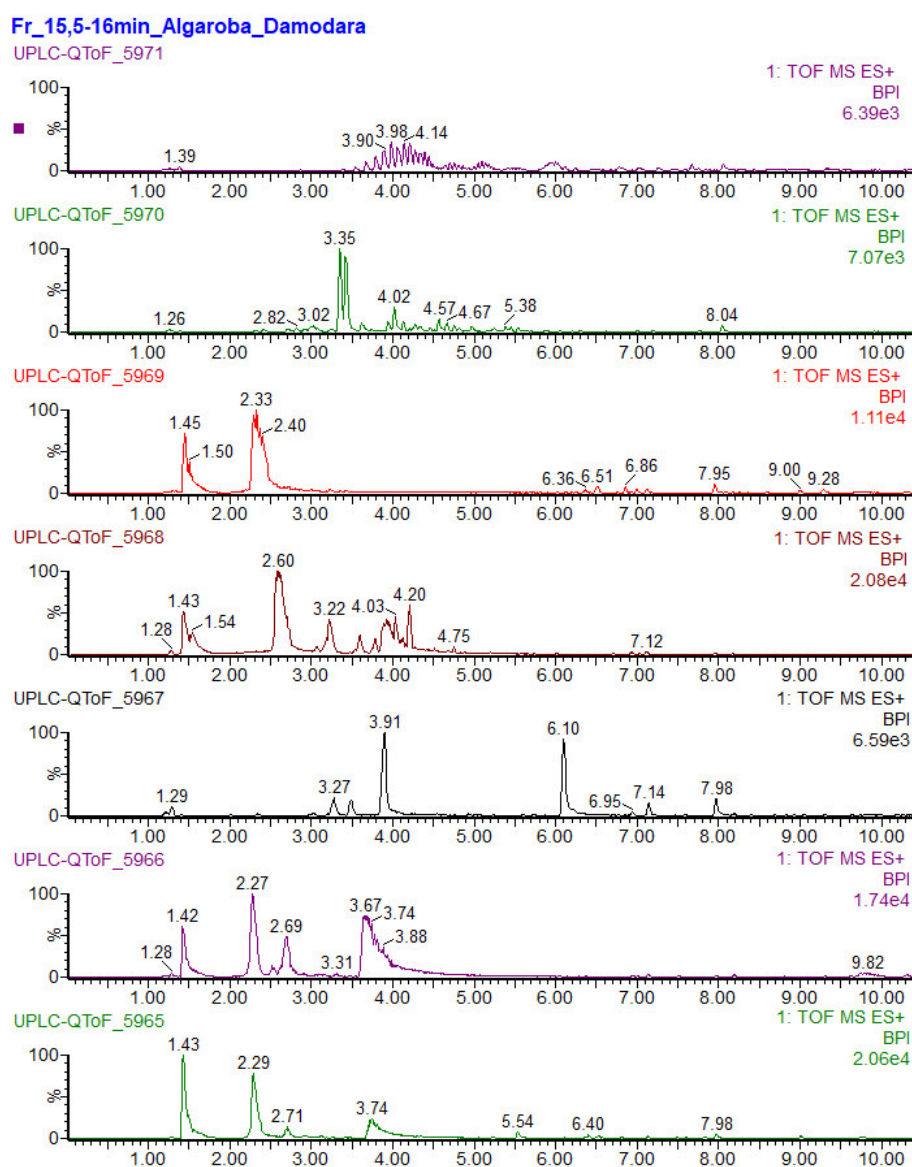
Fonte: Autor

Os picos coletados foram aqueles com maior definição, no entanto alguns picos se encontravam muito próximos no espectro e foram coletados juntos para posterior análise no UPLC-QTOF-MS.

5.4 Análise das frações do extrato de *Prosopis juliflora*

A **Figura 46** mostra os cromatogramas obtidos na análise das frações pelo UPLC-QTOF-MS no modo ESI⁺ a fim de realizar a identificação dos alcalóides presentes nas frações coletadas no HPLC do extrato da folha da *P. juliflora*.

Figura 47. Cromatogramas das frações obtidas por HPLC analisadas por UPLC-QTOF-MS



Fonte: Autor

Analisando os sete cromatogramas não foi detectado nenhum dos dez alcalóides identificados no item 5.1. Pode-se supor que os alcalóides detectados no extrato da *P. juliflora* possam ter sofrido uma degradação. Há diversos trabalhos que reportam a degradação de alcalóides. Alcalóides quinolizidínicos sofrem degradação, além disso variações de pH, temperatura e armazenamento podem causar este processo a este tipo de substância (ORTEGA-DAVID; RODRÍGUEZ-STOUVENEL, 2013).

Há, também, estudo que mostra a degradação de alcalóides tropânicos nas raízes da planta *Duboisia myoporoides*. Ou seja, este processo além de ser influenciado por fatores externos acontece naturalmente (KITAMURA; SATO; MIURA, 1992). Apesar dos cuidados tomados durante o armazenamento, os alcalóides presentes no extrato pode ter degradado devido a grande exposição a fatores externos principalmente durante o seu isolamento em HPLC.

6. CONCLUSÃO

A realização da extração líquido-líquido permitiu a obtenção de um extrato alcaloídico e a análise feita por UPLC-QTOF-MS comprovou a presença de alcalóides piperidínicos nas folhas da *P. juliflora* possibilitando a identificação destas substâncias orgânicas e que já foram reportadas em outros estudos.

De treze alcalóides reportados em outros estudos com a mesma espécie, porém em outra localidade do mundo, seis foram encontrados nas folhas da *P. juliflora*, amostra esta que é oriunda da região Nordeste do Brasil, mais precisamente de Petrolina – PE. Além disso, identificou-se quatro alcalóides que não foram reportados em outros estudos com a mesma planta: benzamidina, spectralina, spectralinina e hidroxispectralina. Estes três últimos foram reportados em estudos com espécies do gênero *Cassia*, *Cassia spectabilis* e *Cassia leptophylla*. O fato deste gênero *Cassia* ser da mesma família do gênero *Prosopis* reforça a identificação destes compostos.

A separação das substâncias por HPLC não demonstrou a presença dos alcalóides presentes no extrato. A ocorrência do processo de degradação destes alcalóides pode ser a possível causa para isto visto que há estudos que reportam este processo até mesmo de maneira natural. Apesar dos cuidados tomados durante a realização deste trabalho, a exposição do extrato a fatores externos como temperatura e luz podem ter uma influência.

Além disso, o extrato obtido durante o trabalho foi catalogado para preparação de uma extratoteca para Embrapa Agroindústria Tropical.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. de P.; SOUZA, E. J. O. de; VÉRAS, A. S. C.; MORAIS, Í. M. de V.; VÍTOR, D. R.; SILVA, J. R. C. da. Cuts of dairy-origin cattle fed mesquite pod meal in replacement of corn. **Acta sci., Anim. sci.**, v. 39, n. 4, p. 401–407, 2017. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/35176/pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i4.35176>>.

ALMEIDA, M. de P.; SOUZA, E. J. O. de; VÉRAS, A. S. C.; MORAIS, Í. M. de V.; VÍTOR, D. R.; SILVA, J. R. C. da. Cuts of dairy-origin cattle fed mesquite pod meal in replacement of corn. **Acta sci., Anim. sci.**, v. 39, n. 4, p. 401–407, 2017. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/35176/pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v39i4.35176>>.

ANDRADE, L. A. de; FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, F. X. de. Invasão biológica por *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.: impactos sobre a diversidade e a estrutura do componente arbustivo-arbóreo da caatinga no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 23, n. 4, p. 935–943, 2009.

APIS, L.; MORAIS, S.; SILVA, Á.; ITP, L.; CO-ORIENTADOR, K. P. G.; RISCALA, R.; ORIENTADOR, M.; TIRADENTES, U.; BIOLÓGICAS, C.; TECNOLOGIA, I. De; SERGIPE, A. Avaliação de uma dieta proteica a base de farinha de algaroba (*Prosopis juliflora*) como suplementação nutricional para abelhas africanizadas. p. 1–4, 2016.

BARRIONUEVO, W.; LAÇAS, F. Solid-phase extraction (SPE) and solid-phase microextraction of pyrethroids in water. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 172–175, 2001.

Disponível em:

<http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&qid=23&SID=1DMfe1IfJj51@8DBn8p&page=1&doc=4>.

BOLZANI, V. da S.; LESLIE GUNATILAKA, A. A.; KINGSTON, D. G. I. Bioactive and other piperidine alkaloids from *Cassia leptophylla*. **Tetrahedron**, v. 51, n. 21, p. 5929–5934, 1995.

BURKART, A. Journal of the Arnold Arboretum. **Botanical Gazette**, v. 69, n. 1, p. 95–96, 1920. Disponível em: <<http://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/332616>>.

BURNETT, A. A “saga” político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro The political-

ecological “saga” of mesquite tree in the Brazilian hinterlands. p. 148–175, [s.d.]

CÂMARA, A. C. L.; COSTA, N. de A.; RIET-CORREA, F.; AFONSO, J. A. B.; DANTAS, A. F. M.; DE MENDONÇA, C. L.; DE SOUZA, M. I. Intoxicação espontânea por vagens de *Prosopis juliflora* (Leg. Mimosoideae) em bovinos no Estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 233–240, 2009.

CAVALCANTE, R. M.; FILHO, N. S. M.; VIANA, R. B.; OLIVEIRA, I. R. N.; NASCIMENTO, R. F.; SILVEIRA, E. R.; FREIRE, G. S. S. Utilização da extração em fase sólida (SPE) na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matrizes aquosas ambientais. **Quimica Nova**, v. 30, n. 3, p. 560–564, 2007.

CHANG, R.; PILÓ-VELOSO, D.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Analysis of a Brazilian green propolis from *Baccharis dracunculifolia* by HPLC-APCI-MS and GC-MS. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 4, p. 549–556, 2008.

CHRISTOFIDIS, I.; WELTER, A.; JADOT, J. Spectalinine and iso-6-carnavaline, two unprecedented piperidine alkaloids from the seeds of *cassia spectabilis*. **Tetrahedron**, v. 33, n. 22, p. 3005–3006, 1977.

DOS SANTOS, E. T.; PEREIRA, M. L. A.; DA SILVA, C. F. P. G.; SOUZA-NETA, L. C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A. E. G.; BARBOSA, L. C. A.; SILVA, H. G. O.; FREITAS, G. C.; FIGUEIREDO, M. P.; DE OLIVEIRA, F. F.; BATISTA, R. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on in Vitro ruminal digestion. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 4, p. 8496–8516, 2013.

FACCHIN, I.; PASQUINI, C. Extração líquido-líquido em sistemas de fluxo. **Quimica Nova**, v. 21, n. 1, p. 60–68, 1998.

FELKER, P. *Prosopis* : n. July, 2015.

FELPIN, F. X.; GIRARD, S.; VO-THANH, G.; ROBINS, R. J.; VILLIÉRAS, J.; LEBRETON, J. Efficient enantiomeric synthesis of pyrrolidine and piperidine alkaloids from tobacco. **Journal of Organic Chemistry**, v. 66, n. 19, p. 6305–6312, 2001.

FREITAS, T. R.; DANUELLO, A.; JÚNIOR, C. V.; BOLZANI, V. S.; PIVATTO, M. Mass spectrometry for characterization of homologous piperidine alkaloids and their activity as acetylcholinesterase inhibitors. [s.d.]

GEORGE, S.; MANOHARAN, D.; LI, J.; BRITTON, M.; PARIDA, A. Transcriptomic responses to drought and salt stress in desert tree *Prosopis juliflora*. **Plant Gene**, v. 12, n. July, p. 114–122, 2017.

GIROTTO, G.; NOGUEIRA, K. L.; MOURA, J. A.; SOUZA, J. B.; GIACOMETTI, L. L.; MARCHI, M. R. R.; TOGNOLLI, J. O. Estrógenos em água: Otimização da extração em fase sólida utilizando ferramentas quimiométricas. **Ecletica Química**, v. 32, n. 2, p. 61–67, 2007.

GONÇALVES, G. S.; DE ANDRADE, L. A.; XAVIER, K. R. F.; DA SILVA, J. F. Métodos de controle de *prosopis juliflora* (Sw.) DC. (Fabaceae) em áreas invadidas no semiárido do Brasil. **Ciencia Florestal**, v. 25, n. 3, p. 645–653, 2015.

HAQUE, W. I 2 9 8. v. 242, p. 5–6, 1978.

IBRAHIM, M.; NADIR, M.; ALI, A.; AHMAD, V. U.; RASHEED, M. Phytochemical analyses of *Prosopis juliflora* Swartz DC. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 6, p. 2101–2104, 2013.

KHUONG-HUU, Q.; RATLE, G.; MONSEUR, X. No Title. v. 81, 1972.

KITAMURA, Y.; SATO, M.; MIURA, H. Differences of atropine esterase activity between intact roots and cultured roots of various tropane alkaloid-producing plants. **Phytochemistry**, v. 31, n. 4, p. 1191–1194, 1992.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente “compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 1, p. 27–46, 2009. Disponível em: <<http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/sc.2013.005>>.

MANI, S.; KRISHNASWAMY, M. Anti-tumor potential of total alkaloid extract of *Prosopis juliflora* DC. leaves against Molt-4 cells in vitro. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 44, p. 8881–8888, 2011. Disponível em: <<http://academicjournals.org/journal/AJB/article-abstract/6CB64AE32141>>.

MEDEIROS, M. A.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, F. P. M.; SANTOS, J. R. S.; MEDEIROS, R. M. T. Efeitos teratogênicos de *prosopis juliflora* em ratos e análise da toxicidade das vagens. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 1089–1093, 2014.

NAKANO, H.; NAKAJIMA, E.; HIRADATE, S.; FUJII, Y.; YAMADA, K.; SHIGEMORI, H.; HASEGAWA, K. Growth inhibitory alkaloids from mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) leaves. **Phytochemistry**, v. 65, n. 5, p. 587–591, 2004.

NMR, C. Ournal of. v. 29, n. 3, p. 20315, 2017.

ORTEGA-DAVID, E.; RODRÍGUEZ-STOUVENEL, A. Degradation of quinolizidine alkaloids of lupin by *Rhizopus oligosporus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 11, p. 4799–4810, 2013.

PARKER, I.M., SIMBERLOFF, D., LONSDALE, W.M., GOODELL, K., WONHAM, M., KAREIVA, P.M., WILLIAMSON, M.H., HOLLE, B. VON, MOYLE, P.B., BYERS, J.E., GOLDWASSER, L. Toward a framework for understanding the ecological effects of invader. **Biological Invasions**, v. 1, p. 3–19, 1999.

PAULA, J.; OLIVEIRA, F.; MORAIS, D.; JÚNIOR, L.; AGUIAR, E. M. ALGAROBEIRA (*Prosopis juliflora*): UMA ALTERNATIVA PARA ALIMENTAÇÃO DE OVINOS NO NORDESTE BRASILEIRO. v. 5, n. 2, p. 1–4, 2010. Disponível em: <<http://revista.gvaa.com.br>>.

PEGADO, C. M. A.; ANDRADE, L. A. de; FÉLIX, L. P.; PEREIRA, I. M. Efeitos da invasão biológica de algaroba: *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. sobre a composição e a estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 887–898, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062006000400013&lng=pt&tlng=pt>.

PHILLIPSON, J. D. Chemical investigations of herbarium material for alkaloids. **Phytochemistry**, v. 21, n. 10, p. 2441–2456, 1982.

PIVATTO, M.; CROTTI, A. E. M.; LOPES, N. P.; CASTRO-GAMBOA, I.; DE REZENDE, A.; VIEGAS, C.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S. Electrospray ionization mass spectrometry screening of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* (Fabaceae) extracts: Fast identification of new constituents and co-metabolites. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6 B, p. 1431–1438, 2005.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68–76, 2001.

RIBASKI, J. Comunicado 240 Técnico. p. 1–8, 2009.

SENTHILKUMAR, P.; PRINCE, W. S.; SIVAKUMAR, S.; SUBBHURAAM, C. V.

Prosopis juliflora - A green solution to decontaminate heavy metal (Cu and Cd) contaminated soils. **Chemosphere**, v. 60, n. 10, p. 1493–1496, 2005.

SHIRKE, P. A.; PATHRE, U. V. Influence of leaf-to-air vapour pressure deficit (VPD) on the biochemistry and physiology of photosynthesis in *Prosopis juliflora*. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 405, p. 2111–2120, 2004.

SILVA, T. R. M.; CHUNG, S.; DE ARAÚJO, T. A. T.; DE AZEVEDO, K. S. P.; DOS SANTOS, M. C.; DE ALMEIDA BICUDO, Á. J. Substituição do milho pelo farelo de algaroba (*Prosopis juliflora*) em dietas para juvenis de tilápia do Nilo cultivados em baixa temperatura. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 3, p. 460–465, 2015.

SINGH, S.; SWAPNIL; VERMA, S. K. Antibacterial properties of Alkaloid rich fractions obtained from various parts of *Prosopis juliflora*. **International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)**, v. 2, n. 3, p. 114–120, 2011. Disponível em:

<<https://pdfs.semanticscholar.org/de76/d0398e695b03a218480c0036a6ca6d982d98.pdf>>.

SINGH, S.; VERMA, S. K. Study of the distribution profile of piperidine alkaloids in various parts of *Prosopis juliflora* by the application of Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry (DART-MS). **Natural Products and Bioprospecting**, v. 2, n. 5, p. 206–209, 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13659-012-0069-1>>.

SOARES, J. X.; ALVES, E. A.; SILVA, A. M. N.; DE FIGUEIREDO, N. G.; NEVES, J. F.; CRAVO, S. M.; RANGEL, M.; NETTO, A. D. P.; CARVALHO, F.; DINIS-OLIVEIRA, R. J.; AFONSO, C. M. Street-Like Synthesis of Krokodil Results in the Formation of an Enlarged Cluster of Known and New Morphinans. **Chemical Research in Toxicology**, v. 30, n. 8, p. 1609–1621, 2017.

TAWARA, J. N.; BLOKHIN, A.; FODERARO, T. A.; STERMITZ, F. R.; HOPE, H. Toxic Piperidine Alkaloids from Pine (*Pinus*) and Spruce (*Picea*) Trees. New Structures and a Biosynthetic Hypothesis. **Journal of Organic Chemistry**, v. 58, n. 18, p. 4813–4818, 1993.

VIEGAS, C.; DA S. BOLZANI, V.; FURLAN, M.; BARREIRO, E. J.; YOUNG, M. C. M.; TOMAZELA, D.; EBERLIN, M. N. Further bioactive piperidine alkaloids from the flowers and green fruits of *Cassia spectabilis*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 5, p. 908–910, 2004.

APÊNDICE A – CADASTRO PARA EXTRATOTECA

Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais			
Cadastro de amostras			
1. Procedência:		2. Data:	
Local (Cidade/UF):		Georreferenciamento:	
Petrolina, Pernambuco		—	
Instituição:		Responsável pelo envio:	
Embrapa (CNPAT)		Edy Sousa de Brito	
Contato (tel):		e-mail:	
—		edy.sousa@embrapa.br	
3. Especificações da amostra:			
Descrição			
Extrato das folhas moídas da algaroba			
Origem (vegetal, animal, microbiológica, material processado)		Tratamento primário	
Vegetal		Moagem	
Apresentação:			
() In natura (x) Extrato () Outro, especificar: vinho/fermentado			
Nome popular:		Nome científico:	
Algaroba		Prosopis juliflora	
Outras informações relevantes:			
—			
Conservação (Tambiente, freezer, geladeira)		Quantidade	
Freezer		18,34 mg	
4. Análises realizadas:			
	Código análises por equipamento		Código análises por equipamento
UPLC-QTOF-MS[®]	UPLC-QToF-5599	GC-FID	
RMN		FT-IR	
UPLC-QDA		HPLC-DAD-SPARK	Injecaofinal_26abril18
HPLC-PREP/SEMI-PREP		HPLC-MS[®]	
HPLC-PDA			
GC-MS	Algaroba_Fr.Alcaloidica_Particao.CGQD2738		
5. Projeto:			
Assinalar opção:			
(X) Embrapa () Externo () Demanda sem projeto			
Se for Embrapa, informar número:		Responsável do LMQP:	
XXXXXXXXXX			
6. Codificação para extratos vegetais originários de diferentes matrizes:			
Freezer			
Caixa			
Código QRCode Inicial/Final			
7. Codificação para amostras originárias do Banco Ativo de Germoplasma (BAGs):			
Freezer			
Caixas			
Código QRCode Inicial/Final			