



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS



CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO FITOQUÍMICO DE *Krameria tomentosa*
A.St.-Hil. (KRAMERIACEAE)

RODRIGO SILVA DE ANDRADE

JOÃO PESSOA-PB

2020

RODRIGO SILVA DE ANDRADE

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO FITOQUÍMICO DE *Krameria tomentosa*
A.St.-Hil. (KRAMERIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.
Área de concentração:
Farmacquímica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

JOÃO PESSOA - PB

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

R696c Rodrigo Silva de Andrade.

Contribuição ao conhecimento fitoquímico de *Krameria tomentosa* A.St.-Hil. (Krameriaceae) / Rodrigo Silva de Andrade. - João Pessoa, 2020.
147 f. : il.

Orientação: Marcelo Sobral Da Silva.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. *Krameria tomentosa*. 2. Krameriaceae. 3. Lignoides.
4. Neolignanas. I. Da Silva, Marcelo Sobral. II. Título.

UFPB/BC

RODRIGO SILVA DE ANDRADE

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO FITOQUÍMICO DE *Krameria tomentosa*
A.St.-Hil. (KRAMERIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.
Área de concentração:
Farmacocímica.

Aprovado em 10/02/2020.

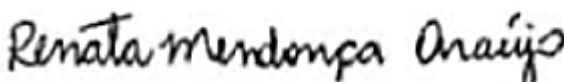
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
(Universidade Federal da Paraíba)
Orientador



Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinador interno



Profa. Dra. Renata Mendonça Araújo
(Universidade Federal do Rio Grande do Norte)
Examinadora externa

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo que ele me deu e por sempre estar presente nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Maria das Graças e José Carlos, por tudo que fizeram e fazem por mim, pela educação que me deram, por abdicarem de muita coisa para me dar uma vida que eles não tiveram, e por me incentivar a estudar, pois sem isso eu jamais teria chegado até aqui.

Aos meus irmãos, Isaías e Luciana, pelo apoio, carinho, incentivo e amizade que sempre tiveram comigo.

À minha Madrinha, Virgínia (Tia Fia), pelo seu amor incondicional e por sempre acreditar em mim, além de ser uma segunda mãe para mim.

À minha prima Telma, por sempre me apoiar e me incentivar nos estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Sobral, por ter me orientado neste trabalho, pelos ensinamentos diários e toda ajuda.

Ao Prof. Dr. Josean Fachine Tavares, pela sua ajuda fundamental neste trabalho, pelos ensinamentos diários e também por me ensinar a ser uma pessoa mais justa e humilde, qualidades que admiro muito nele.

A toda equipe que faz parte do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (Equipe SFCB), Ana Rita, Gabriela, Ranna, Pedro, Jociano, Arthur, Laisla, Natan, César, Edileuza, Joanda, Juliana, Márcio, Thallison, Yuri, Lucas, Nikole, Emilly, Rose, Vicente, Madalena e Thiago pela boa convivência e por toda ajuda nos experimentos e nas correções dos trabalhos.

À Kaio Aragão Sales, por toda ajuda desde a iniciação científica até o mestrado, um amigo que sempre esteve pronto para me ajudar e dar conselhos não importa a ocasião.

À Anderson Angel, por ser essa pessoa de grande coração sempre disposta a ajudar qualquer pessoa, pelos seus ensinamentos e amizade.

À Diego Igor, por toda ajuda, amizade e cumplicidade, sempre presente durante essa jornada, sempre disposto a me ajudar em tudo.

À Indyra Figueiredo, por estar sempre ao meu lado, por sempre me escutar quando precisei, por sempre me dar conselhos, por sempre me ajudar sem nem pensar e por eu ter a certeza que eu sempre poderei contar com ela pra o que eu precisar.

À minha turma de mestrado, pela amizade, ajuda e pelos momentos de descontração. Em especial ao pessoal da Farmacoquímica, Natália, Marina, Ana Rita, Ranna, Thallison, Natan e Gabriela. Torço muito pelo sucesso de cada um.

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), Júnior, Evandro, Marcelo, Socrates, Nonato, Rose e Carol por toda amizade e ensinamentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro durante os dois anos de mestrado.

À Universidade Federal da Paraíba, instituição responsável pela minha formação profissional desde a graduação.

Ao Centro de Ciências da Saúde (CCS), ao Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) e ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB), pelo apoio físico e institucional.

A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a produção deste trabalho.

Muito Obrigado!

Rodrigo Silva de Andrade

RESUMO

ANDRADE, R. S. **Contribuição ao conhecimento fitoquímico de *Krameria tomentosa* A.St.-Hil. (Krameriaceae).** João Pessoa, 2020. 147p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

A família Krameriaceae é composta por um único gênero, *Krameria* Loef., o qual possui 18 espécies distribuídas principalmente em regiões tropicais da América do Norte, Central e do Sul. Dentre essas, a espécie *Krameria tomentosa* A. St.-Hil, é conhecida popularmente como “carrapicho”, sendo amplamente distribuída no Nordeste brasileiro e utilizada na medicina popular para o tratamento da diarreia e úlceras, além da prevenção de hemorragias gengivais e vaginais. Estudos anteriores com esta espécie evidenciaram a presença de neolignanas de interesse farmacológico. Além disso, *K. tomentosa* já foi avaliada quanto a sua toxicidade, e a nor-neolignana isolada desta espécie, a 2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano apresentou efeito vasorrelaxante em aorta de rato, destacando a espécie como promissora para a continuidade dos estudos. Portanto, optou-se neste trabalho, continuar o estudo de *K. tomentosa*, de modo a ampliar o seu conhecimento fitoquímico e possibilitar a realização de estudos farmacológicos das substâncias obtidas. Para isso, as raízes de *K. tomentosa* foram coletadas no município de Santa Rita-PB, e foram submetidas à processos de secagem, pulverização, extração, partição e cromatografia para isolamento dos seus constituintes químicos. As substâncias isoladas foram identificadas através de métodos espectroscópicos de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, infravermelho, espectrometria de massa e por comparações com a literatura. O presente estudo resultou no isolamento e identificação de oito substâncias e duas misturas. Sendo, uma mistura dos epímeros do multifidol glicosídeo e uma mistura do (-)-siringaresinol e *p*-hidroxi-benzaldeído, relatados pela primeira vez na família Krameriaceae, além da substâncias (2*S*,3*S*,4*R*,16*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hidroxinonadecanoilamino]-heneicosadec-16-en-1,3,4-triol e 2,4-bis(2-fenilpropan-2-il) fenol, isoladas pela primeira vez na família Krameriaceae; a neolignana (2*R*,3*R*)-2,3-diidro-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-(*E*)-propenilbenzofurano e o polímero cíclico kramecina, relatados pela primeira vez nesta espécie. Além destas, foram re-isoladas as substâncias ottomentosa, sobralina, 2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano e 2-(2',4'-diidroxifenil)-5-(*E*) propenilbenzofurano. Assim, este trabalho contribuiu com o conhecimento quimiotaxonômico da família Krameriaceae e da espécie *Krameria tomentosa*, além de fornecer substâncias para investigações dos seus potenciais farmacológicos.

Palavras-chave: *Krameria tomentosa*. Krameriaceae. Lignoides. Neolignanas.

ABSTRACT

ANDRADE, R. S. **Contribution to the phytochemical knowledge of *Krameria tomentosa* A.St.-Hil. (Krameriaceae).** João Pessoa, 2020. 147p. Master's Thesis - Postgraduate Program in Natural and Bioactive Synthetic Products. Health Sciences Center, Federal University of Paraíba.

The Krameriaceae family is composed of a single genus, *Krameria* Loef., which has 18 species distributed mainly in tropical regions of North, Central and South America. Among these, *Krameria tomentosa* A. St.-Hil, popularly known as “carrapicho” being widely in northeastern Brazil, and used in folk medicine to treat diarrhea and ulcers, in addition to preventing of gingival and vaginal hemorrhages. Previous studies with this species have shown the presence of neo-lignans of pharmacological interest. Furthermore, *K. tomentosa* has already been evaluated for its toxicity, and the isolated norneolignan of this species, the 2-(2'-hydroxy-4',6'-dimethoxyphenyl)-5-(*E*)-propenylbenzofuran had an vasorelaxant effect in the rat aorta, highlighting this species as promising for the continuity of its studies. Therefore, in this work, it was decided to continue the study of *K. tomentosa*, in order to expand its phytochemical knowledge and enable the realization of pharmacological studies of the substances obtained. For this, the roots of *K. tomentosa* were collected in the municipality of Santa Rita-PB, then were sequentially dried and pulverized and subjected to extraction processes, partition and chromatography techniques to isolate their chemical constituents. The isolated substances were identified by spectroscopic methods such as infrared, ^1H and ^{13}C uni and bidimensional nuclear magnetic resonance, mass spectrometry and by comparisons with the literature. The present study resulted in the isolation and identification of eight substances and two mixtures. Being, a mixture of epimers from multifidol glucoside and a mixture of (-)-syringaresinol and *p*-hydroxy-benzaldehyde that were first reported in the Krameriaceae family, in addition to these, the compounds (2*S*,3*S*,4*R*,16*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hydroxynonadecanoylamino]-heneicosadec-16-en-1,3,4-triol and 2,4-bis(2-phenylpropan-2-yl)phenol, were isolated for the first time in the Krameriaceae family; and still the neo-lignan (2*R*,3*R*)-2,3-dihydro-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methyl-(*E*)-propenylbenzofuran and the cyclic polymer kramecine, were first reported in this species. In addition, ottomentosa, sobraline, 2-(2'-hydroxy-4',6'-dimethoxyphenyl)-5-(*E*)-propenylbenzofuran and 2-(2',4'-dihydroxyphenyl)-5-(*E*)-propenylbenzofuran were re-isolated in this species. Thereby, this work contributed to the chemotaxonomic knowledge of the Krameriaceae family and to the species *Krameria tomentosa*, in addition to providing substances for carrying out studies about their pharmacological activities.

Keywords: *Krameria tomentosa*. Krameriaceae. Lignoids. Neolignans.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de etila
APT	<i>Attached Proton Test</i>
BB	<i>Broadband</i>
C	Carbono
¹³C	Carbono 13
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLMP	Cromatografia Líquida de Média Pressão
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
ddd	Duplo duplo dubleto
dl	Dubleto largo
dq	Duplo quarteto
DCM	Diclorometano
DMSO-<i>d</i>₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EM	Espectrometria de massa
EtOH	Etanol
g	Grama
¹H	Hidrogênio
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
Kg	Quilograma
m	Multiplete
MeOH	Metanol
mg	Miligrama
MHz	Megahertz

mL	Mililitro
ppm	Partes por milhão
R_f	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
td	Triplo dubleto
tl	Tripleto largo
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico
μm	Micrômetro

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de <i>Krameria tomentosa</i>	49
Esquema 2 - Fracionamento cromatográfico da fração KTD-07 em CLMP.....	56
Esquema 3 - Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa de distribuição geográfica da família Krameriaceae representada pelas áreas em amarelo.....	25
Figura 2 - Mapa de distribuição geográfica da espécie <i>Krameria tomentosa</i> representada pelas áreas em amarelo.....	32
Figura 3 - <i>Krameria tomentosa</i> A. St.-Hil.....	33
Figura 4 - Substâncias isoladas na espécie <i>Krameria tomentosa</i> (SILVA et al., 2001).....	34
Figura 5 - Substancias isoladas na espécie <i>Krameria tomentosa</i> (MADEIRO et al., 2012).....	34
Figura 6 - Rota biossintetica dos fenilpropanoides.....	38
Figura 7 - Esqueletos carbônicos de lignanas.....	40
Figura 8 - Esqueletos carbônicos de neolignanas.....	41
Figura 9 - Exemplos de peróxidos cíclicos.....	43
Figura 10 - Estrutura básica de uma ceramida.....	44
Figura 11 - Biossíntese básica das ceramidas.....	45
Figura 12 - Cromatograma da fração KTD-01 obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.....	52
Figura 13 - Cromatograma da fração KTD-02 obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.....	53
Figura 14 - Cromatograma da fração KTD-06 obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.....	54
Figura 15 - Cromatograma da fração 01 da fase acetato de etila, obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.....	59
Figura 16 - Estrutura química de Kt-1.....	62
Figura 17 - Espectro de massas de alta resolução (ESI+) de Kt-1.....	64
Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.....	64
Figura 19 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.....	65
Figura 20 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.....	65
Figura 21 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.....	66
Figura 22 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.....	66

Figura 23 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	67
Figura 24 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	67
Figura 25 - Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	68
Figura 26 - Expansão do Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	68
Figura 27 - Expansão do Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	69
Figura 28 - Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	69
Figura 29 - Expansão do Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	70
Figura 30 - Expansão do Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.	70
Figura 31 - Estrutura química de Kt-2.	72
Figura 32 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Kt-2.	74
Figura 33 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Kt-2.	74
Figura 34 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Kt-2.	75
Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.	75
Figura 36 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.	76
Figura 37 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.	76
Figura 38 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.	77
Figura 39 - Estrutura química de Kt-3.	79
Figura 40 - Espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de Kt-3.	81
Figura 41 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de Kt-3.	81
Figura 42 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de Kt-3.	82
Figura 43 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.	82
Figura 44 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.	83
Figura 45 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.	83
Figura 46 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.	84
Figura 47 - Estrutura química de Kt-4a e Kt-4b.	86
Figura 48 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	89
Figura 49 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	89
Figura 50 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	90

Figura 51 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.....	90
Figura 52 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	91
Figura 53 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	91
Figura 54 - Espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Kt-4.....	92
Figura 55 - Expansão do espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	92
Figura 56 - Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.....	93
Figura 57 - Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	93
Figura 58 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	94
Figura 59 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.	94
Figura 60 - Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de Kt-4.....	95
Figura 61 - Estrutura química de Kt-5.....	97
Figura 62 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.....	98
Figura 63 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5. ...	98
Figura 64 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5. ...	99
Figura 65 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.	99
Figura 66 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.	100
Figura 67 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.	100
Figura 68 - Estrutura química de Kt-6.....	102
Figura 69 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.	103
Figura 70 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.	103
Figura 71 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.....	104
Figura 72 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.	104
Figura 73 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.	105
Figura 74 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.	105
Figura 75 - Estrutura química de Kt-7.....	107
Figura 76 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.	109
Figura 77 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.....	109

Figura 78 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.....	110
Figura 79 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.....	110
Figura 80 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.....	111
Figura 81 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.....	111
Figura 82 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.....	112
Figura 83 - Espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.	112
Figura 84 - Expansão do espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.	113
Figura 85 - Espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.....	113
Figura 86 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.	114
Figura 87 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.	114
Figura 88 - Estrutura química de Kt-8.....	116
Figura 89 - Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de Kt-8.....	118
Figura 90 - Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Kt-8.....	118
Figura 91 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8.....	119
Figura 92 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8. ...	119
Figura 93 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8. ...	120
Figura 94 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8. ...	120
Figura 95 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.	121
Figura 96 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.....	121
Figura 97 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.....	122
Figura 98 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.....	122
Figura 99 - Espectro de RMN - HMQC (400 e 100 MHz, CD_3OD) de Kt-8.....	123
Figura 100 - Espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, CD_3OD) de Kt-8.	123
Figura 101 - Estrutura química de Kt-9.....	125
Figura 102 - Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de Kt-9.....	127
Figura 103 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Kt-9.	127
Figura 104 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Kt-9.....	128
Figura 105 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Kt-9.....	128
Figura 106 - Espectro de RMN de ^{13}C - APT (100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.....	129
Figura 107 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.	129

Figura 108 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.	130
Figura 109 - Espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.	130
Figura 110 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.	131
Figura 111 - Espectro de RMN - HMQC (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.	131
Figura 112 - Estrutura química do monômero de Kt-10.	132
Figura 113 - Estrutura química de Kt-10.	133
Figura 114 - Espectro de massas de baixa resolução (ESI+) de Kt-10.	135
Figura 115 - Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Kt-10.	135
Figura 116 - Espectro de RMN de ^{13}C – DeptQ (100 MHz, CD_3OD) de Kt-10.	136
Figura 117 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C – DeptQ (100 MHz, CD_3OD) de Kt-10.	136
Figura 118 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-10.	137
Figura 119 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-10.	137
Figura 120 - Reação para identificação de peróxidos.	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados do processamento cromatográfico da fase diclorometano de <i>K. tomentosa</i> em CLMP.....	50
Tabela 2 - Dados do processamento da fração KTD-07 em CLMP.....	55
Tabela 3 - Dados do processamento cromatográfico da fase acetato de etila.	57
Tabela 4 - Dados de RMN de Kt-1 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3COCD_3) comparados com dados da literatura (ACHENBACH et al., 1991).....	63
Tabela 5 - Dados de RMN de Kt-2 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3) comparados com dados da literatura (MADEIRO et al., 2012).	73
Tabela 6 - Dados de RMN de Kt-3 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3) comparados com dados da literatura (SILVA et al., 2001).	80
Tabela 7 - Dados de RMN de Kt-4a (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 400 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (HILTUNEN; PAKKANEN; ALVILA, 2006).....	87
Tabela 8 - Dados de RMN de Kt-4b (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 400 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (KIM et al., 2002).	88
Tabela 9 - Dados de RMN de Kt-5 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em $\text{DMSO}-d_6$) comparados com dados da literatura (MADEIRO et al., 2012).	97
Tabela 10 - Dados de RMN de Kt-6 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3COCD_3) comparados com dados da literatura (MADEIRO et al., 2012).	102
Tabela 11 - Dados de RMN de Kt-7 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) comparados com dados da literatura (MAIA et al., 2010). ¹ Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	108
Tabela 12 - Dados de RMN de Kt-8 (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (BOHR et al., 2005)	117

Tabela 13 - Dados de RMN de Kt-9 (*J* em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3) comparados com dados da literatura (KUNINOBU, MATSUKI, TAKAI, 2009).....126

Tabela 14 - Dados de RMN de Kt-10 (*J* em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (GUTIÉRREZ et al., 2012).....134

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	25
3.1 Considerações sobre a família Krameriaceae e o gênero <i>Krameria</i>	25
3.2 Considerações sobre a espécie <i>Krameria tomentosa</i> A. St.-Hil.	32
3.3 Considerações gerais sobre os constituintes químicos isolados de <i>Krameria tomentosa</i> A. St.-Hil.	35
3.3.1 Considerações sobre compostos fenólicos.....	35
3.3.2 Considerações sobre lignoides.....	36
3.3.3 Considerações sobre peróxidos e peróxidos cíclicos	42
3.3.4 Considerações sobre ceramidas.....	43
4. MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 Materiais e equipamentos utilizados	46
4.2 Material Vegetal	47
4.2.1 Coleta e identificação do material vegetal	47
4.2.2 Processamento do material vegetal e obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de <i>Krameria tomentosa</i>	48
4.3 Fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB).....	48
4.4 Processamento da fase diclorometano por cromatografia líquida de média pressão (CLMP)	50
4.4.1 Processamento das frações KTD-01, KTD-02 e KTD-06 por cromatografia líquida de alta eficiência.....	51
4.4.2 Processamento da fração KTD-07 por cromatografia líquida de média pressão.....	54

4.5 Processamento cromatográfico da fase acetato de etila.....	57
4.5.1 Processamento da fração 01 da fase acetato de etila por cromatografia líquida de alta eficiência.....	59
4.6 Processamento da fase <i>n</i> -butanólica	60
4.7 Caracterização estrutural dos compostos isolados	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1 Determinação estrutural de Kt-1.....	61
5.2 Determinação estrutural de Kt-2.....	71
5.3 Determinação estrutural de Kt-3.....	78
5.4 Determinação estrutural de Kt-4.....	84
5.5 Determinação estrutural de Kt-5.....	96
5.6 Determinação estrutural de Kt-6.....	101
5.7 Determinação estrutural de Kt-7.....	106
5.8 Determinação estrutural de Kt-8.....	115
5.9 Determinação estrutural de Kt-9.....	124
5.10 Determinação estrutural de Kt-10.....	132
6. CONCLUSÕES	139
7. REFERÊNCIAS.....	140

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, os seres humanos utilizam produtos naturais como as plantas, microorganismos e organismos marinhos para o tratamento de suas enfermidades. Segundo registros, o uso de plantas pelos humanos como remédios foi datado pela primeira vez há pelo menos 60 mil anos, demonstrando que os produtos naturais são a base para o tratamento das doenças humanas (FABRICANT; FARNSWORTH, 2001; SHI et al., 2010; JAMSHIDI-KIA; LORIGOOINI; AMINI-KHOEI, 2018).

As plantas medicinais, de modo geral, são bem aceitas pela população e são relatados poucos efeitos adversos importantes quanto ao seu uso. Tanto é, que os medicamentos a base de plantas medicinais cresceram bastante em popularidade nos últimos anos ao redor do mundo (NASRI, 2016). Newman e Cragg (2016) relataram que a maior parte dos medicamentos utilizados são produtos naturais ou derivados destes, constatando que é indiscutível a sua importância na sociedade moderna.

O termo planta medicinal refere-se a uma variedade de plantas que tem propriedades medicinais. Estas constituem uma fonte repleta de compostos que podem ser usados para o desenvolvimento de novos fármacos (HASSAN, 2012). Estes compostos são conhecidos como metabólitos secundários, e os principais representantes deles são: lignoides, flavonoides, alcaloides, esteroides, terpenoides, saponinas, taninos, ácidos fenólicos, cumarinas, entre outros (AGATA et al., 2010; NOVAES et al., 2013).

O Brasil está situado em uma posição privilegiada quando se trata de produtos naturais, pois, a biodiversidade deste país é a mais completa do planeta, possuindo cerca de 170 a 210 mil espécies, aproximadamente 13% do total no mundo, e dentre estas, as plantas estão representadas por 34.916 espécies das quais 19.187 são endêmicas (LEWINSOHN; PRADO, 2005; COSTA; PERALTA, 2015; PRADO et al., 2015). Além disso, no Brasil existe um vasto uso popular de plantas medicinais para o tratamento de doenças, contudo, na maioria das vezes, é feito de forma empírica e sem critérios de qualidade, colocando em risco a eficácia e segurança terapêutica (BATISTA; VALENÇA, 2012). Portanto, é evidente a

INTRODUÇÃO

necessidade de se realizar estudos a respeito de produtos naturais utilizados com fins medicinais objetivando garantir sua melhor eficácia.

Neste contexto, a química de produtos naturais, a qual é a subárea mais antiga da química orgânica (HENDRICKSON, 1965; TORSSELL, 1983), está no seu ápice, tendo em vista que diversas abordagens estão sendo utilizadas na pesquisa devido à virtude de sua história de expansão nas áreas de interdisciplinaridade com a farmacologia, microbiologia, bioquímica, etnofarmacologia e medicina, visando a descoberta de novas moléculas bioativas para serem utilizadas como fármacos ou modelos para novos fármacos (BERLINCK et al., 2017).

Com a utilização da química de produtos naturais, pode-se chegar ao mais eficaz processo de extração e preparo além da regulação de doses dos produtos naturais utilizados na medicina popular, de modo a aperfeiçoar o uso destes melhorando a eficácia e diminuindo a sua toxicidade, tendo em vista que esses dois parâmetros são os principais pontos a serem aprimorados na medicina tradicional. Em seguida, comprovar cientificamente o uso popular e desenvolver medicamentos a base destes produtos, gerando não apenas benefícios para a população como também lucro para a indústria farmacêutica (DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2015).

A indústria farmacêutica possui grandes interesses econômicos sobre os produtos naturais, tendo em vista que mais de 95% da biodiversidade mundial não foi avaliada quanto a suas propriedades biológicas (MISHRA; TIWARI 2011). Historicamente, os investimentos na pesquisa de produtos naturais trouxeram excelentes resultados, tendo em vista que a cada ano os produtos fitoterápicos movimentam cerca de 60 bilhões de dólares ao redor do mundo, com uma taxa de crescimento estimada entre 5 a 15% por ano. Essa crescente deve-se a maior acessibilidade a estes produtos, pois para algumas pessoas, as drogas sintéticas causam maiores efeitos prejudiciais e são mais caras em comparação com produtos à base de plantas medicinais, ainda que, por serem de origem natural, estes não estejam isentos de efeitos colaterais (NAOGHARE; SONG, 2010; DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2015).

A espécie *Krameria tomentosa* vem sendo estudada pelos pesquisadores do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB), e nela já foram identificados vários constituintes químicos, principalmente da classe dos lignoides (SILVA, et al., 2001; MADEIRO et al., 2012).

INTRODUÇÃO

Além disso, *K. tomentosa* já foi avaliada quanto a sua toxicidade, e a nor-neolignana isolada desta espécie, a 2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano apresentou efeito vasorrelaxante em aorta de rato (CASTRO et al., 2006; SANTOS, 2016), destacando a espécie como promissora para a continuidade dos estudos.

Portanto, devido à importância dos estudos fitoquímicos, optou-se neste trabalho, continuar o estudo da espécie *Krameria tomentosa*, de modo a ampliar o conhecimento sobre a mesma, buscando identificar substâncias químicas com o intuito de descobrir possíveis novos fármacos, contribuindo com o conhecimento químico da sua família e ampliando o trabalho já desenvolvido no PPgPNSB.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Contribuir para o conhecimento fitoquímico da família Krameriaceae através do estudo das raízes da espécie *Krameria tomentosa* A.St.-Hil.

2.2 Objetivos específicos

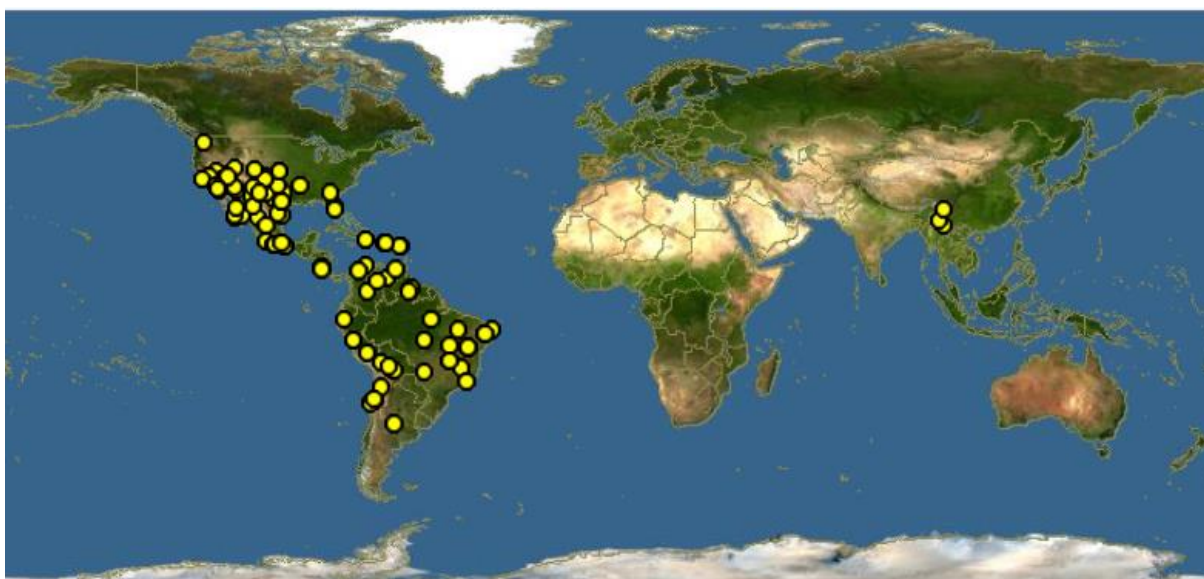
- Isolar, purificar, identificar e/ou elucidar as estruturas químicas dos constituintes químicos das raízes de *Krameria tomentosa* por meio de métodos cromatográficos e espectroscópicos;
- Contribuir com o conhecimento químico da espécie em estudo e da família Krameriaceae;
- Disponibilizar extratos, frações e substâncias isoladas para realização de ensaios farmacológicos.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Considerações sobre a família Krameriaceae e o gênero *Krameria*

A família Krameriaceae é composta por um único gênero, *Krameria* Loebl., o qual possui 18 espécies, distribuídas nas regiões da América do Norte, Central e do Sul, e algumas nas regiões ocidentais da Índia, e que crescem principalmente em solos áridos e semiáridos (SIMPSON, 2007) (Figura 1). A maior parte das espécies ocorre desde o sudoeste dos EUA até o leste do México, e no Brasil são relatadas a presença de cinco espécies distribuídas ao longo dos estados do Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, sempre em regiões abaixo de 1500 m de altitude (SIMPSON et al., 2004; SIMPSON, 2015).

Figura 1 - Mapa de distribuição geográfica da família Krameriaceae representada pelas áreas em amarelo.



Fonte: <https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Krameria>

O gênero *Krameria* foi descrito por Loebling em 1758. Atualmente, de acordo com estudos moleculares, foi constatado que *Krameria* é o único membro da família Krameriaceae, a qual está incluída na ordem Zygophyllales (SOLTIS et al., 2000; SIMPSON et al., 2004; ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2009). Porém, este gênero já foi enquadrado na família Polygalaceae (JUSSIEU, 1789), depois em

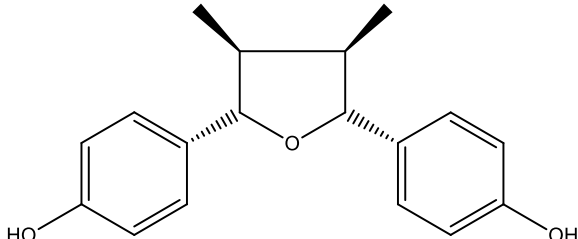
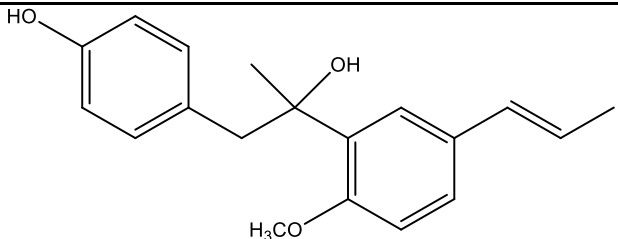
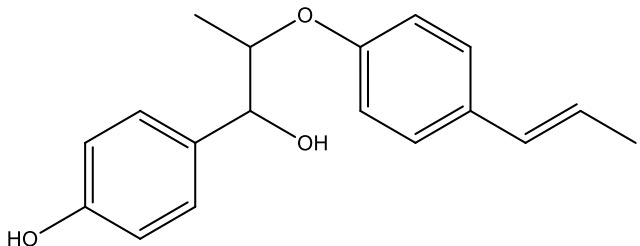
Fabaceae (TAUBERT, 1892) e por fim, só em 1959 que foi sugerido na família Krameriaceae (HUTCHINSON, 1959; CRONQUIST, 1988).

As espécies deste gênero, em sua maioria, são arbustos ou subarbustos de 0,5 até 1,5 m de altura, com exceção de *Krameria cytisoides* que pode chegar até 6 m de altura (SIMPSON, 1989; CARLQUIST, 2005). Possuem folhas verdes ou castanhas, alternadas, espiraladas ou lanceoladas, suas flores são zigomorfas e o cálice possui 4 sépalas e corola geralmente com cinco pétalas dimórficas, seu fruto é do tipo ovoide, globoso cordiforme e possui espinhos lisos, longos ou curtos, ou providos de gloquídeos, com ou sem tricomas (FERNANDES et al., 2014).

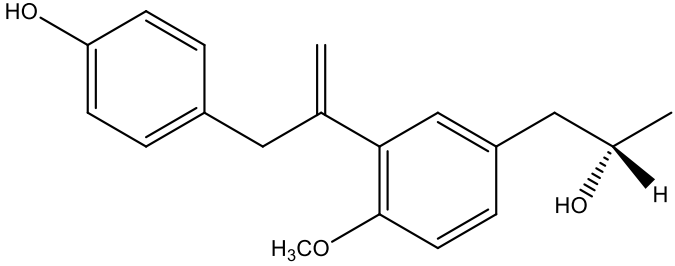
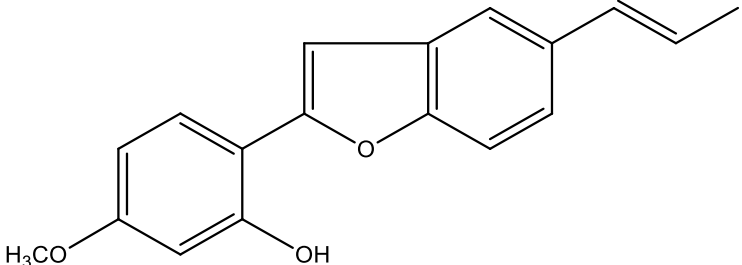
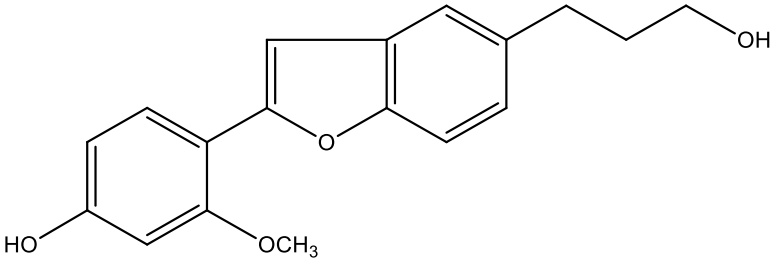
A maioria de suas espécies são conhecidas popularmente como “ratanha” ou “carrapicho” e são muito conhecidas pelo seu poder adstringente, sendo utilizadas na medicina tradicional para tratamento de problemas intestinais, menstruais, como antisséptico bucal e para alguns tipos de câncer (SIMPSON, 1991; BRAGA, 2001; SIMPSON, 2007). Suas espécies podem ser consideradas hemiparasitas e todas elas são polinizadas exclusivamente por abelhas fêmeas do gênero *Centris* (Apidae) (SIMPSON, 2007; GIANNINI et al., 2011). Essa especificidade pode estar relacionada aos óleos produzidos por suas glândulas florais (SIMPSON, 1989).

Do ponto de vista fitoquímico, já foram isoladas diversas substâncias neste gênero (Quadro 1) e (Figura 2), onde se destacam os lignoides (neo-lignoides e nor-neo lignoides) e taninos condensados (SIMPSON, 2007). Ainda foi relatada a presença de terpenos, esteroides e flavonoides (RAMÍREZ-CISNEROS et al., 2012a; SCHOLZ; RIMPLER, 1988; RAMÍREZ-CISNEROS et al., 2012b).

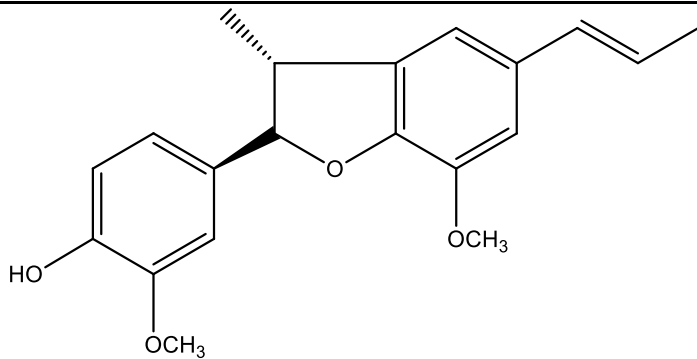
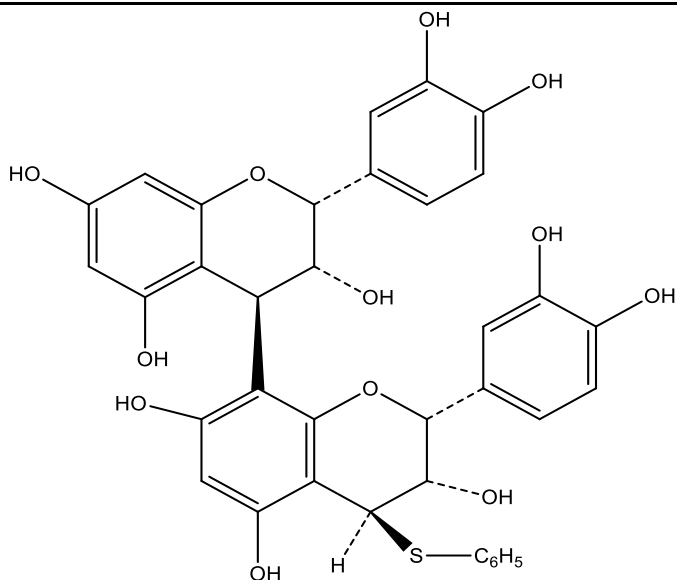
Quadro 1 - Algumas substâncias isoladas em espécies do gênero *Krameria*.

Espécie	Parte da Planta	Substância isolada	Referência
<i>K. interior</i> <i>K. triandra</i>	Raiz	 Meso-3,3'-didemetoxinectandrina B	DOMINGUEZ et al., 1990 BAUMGARTNER et al., 2011
<i>K. lanceolata</i> <i>K. grayi</i>	Raiz	 (E)-4-(2-hidroxi-2-(2-metoxi-5-(prop-1-en-1-il)fenil-propil-fenol	ACHENBACH et al., 1989 ACHENBACH et al., 1995
<i>K. cystisoides</i> <i>K. interior</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. parvifolia</i> <i>K. triandra</i>	Raiz	 Eritro-1-(4-hidroxifenil)-2-[4-(E)-propenilfenoxil]-propan-1-ol	ACHENBACH et al., 1987a DOMINGUEZ et al., 1990 ACHENBACH et al., 1989 ACHENBACH et al., 1996 ARONE et al., 1988

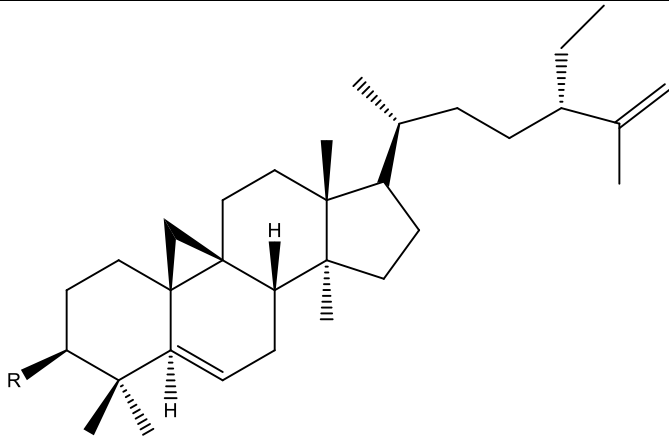
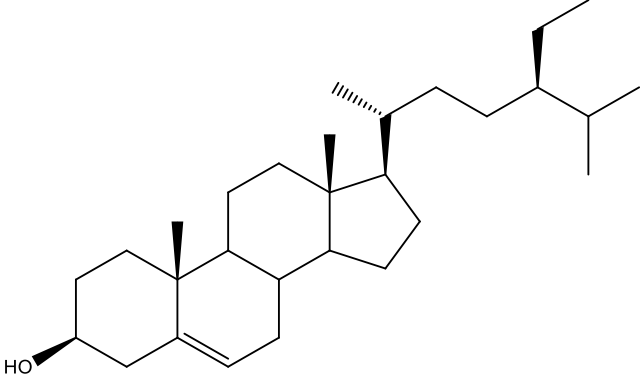
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

<i>K. parvifolia</i>	Raiz	 Zapotecol	ACHENBACH et al., 1996
<i>K. ramosissima</i>	Raiz	 Rataniaphenol I	ACHENBACH et al., 1987b
<i>K. parvifolia</i> <i>K. interior</i>	Raiz	 4-(5-(3-hidroxiampil)-benzofuran-2-il)-3-metoxifenol	ACHENBACH et al., 1996 ACHENBACH et al., 1990

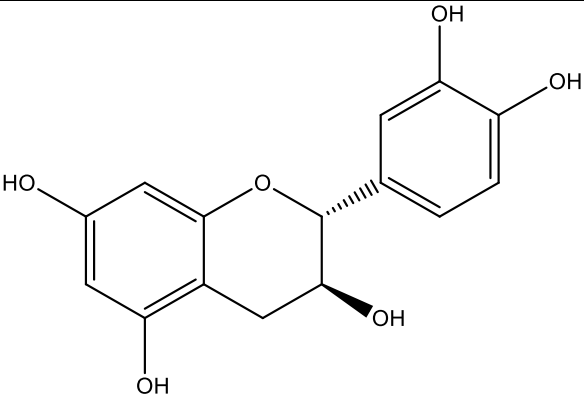
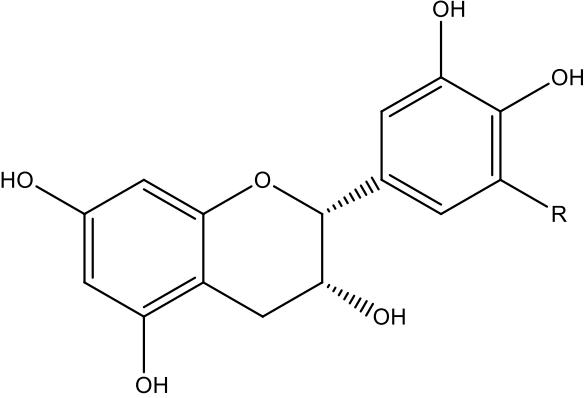
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

<i>K. cystisoides</i> <i>K. grayi</i> <i>K. sonarae</i>	Raiz	 Licarina A	ACHENBACH et al., 1987a ACHENBACH et al., 1995 DOMINGUEZ et al., 1992
<i>K. triandra</i>	Raiz	 Epicatechin-(4β,8)-4β-benzylthioepicatechin	SCHOLZ; RIMPLER, 1989

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

<i>K. pauciflora</i>	Raiz	 Cyclomargenol (1) R = OH Cyclomargenol-3-O-β-caffeoyl ester (2) R = C₉H₉O₄	RAMÍREZ-CISNEROS et al., 2012a
<i>K. pauciflora</i>	Raiz	 β-sitosterol	RAMÍREZ-CISNEROS et al., 2012b

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

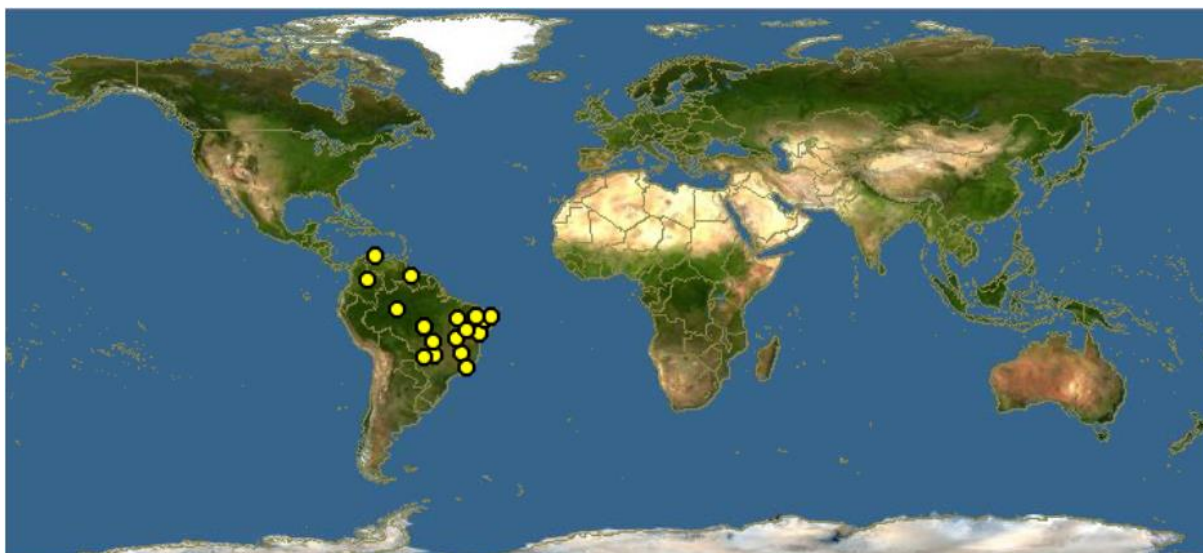
<i>K. pauciflora</i>	Raiz	 Catequina	RAMÍREZ-CISNEROS et al., 2012b
<i>K. pauciflora</i>	Raiz	 Epicatequina (1) R = H Epigallocatequina (2) R= OH	CISNEROS et al., 2012b

Fonte: Própria do autor.

3.2 Considerações sobre a espécie *Krameria tomentosa* A. St.-Hil.

A espécie *Krameria tomentosa*, conhecida popularmente como “carrapicho” é nativa do continente Sul-Americano e ocorre no Brasil, Venezuela e Colômbia (Figura 2), sendo encontrada principalmente em solos arenosos (SIMPSON, 1989; AGRA et al., 2008; RAMIREZ et al., 2019). É amplamente distribuída no território brasileiro, podendo ser encontrada nas regiões Norte, Centro-Oeste, Sudeste e no Nordeste, onde ocorre em todos estados (SIMPSON, 2015).

Figura 2 - Mapa de distribuição geográfica da espécie *Krameria tomentosa* representada pelas áreas em amarelo.



Fonte: <https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Krameria+tomentosa>

Fernandes et al. (2014) descrevem *Krameria tomentosa* (Figura 3) como um subarbusto ou arbusto ereto, medindo até 1,5 m de altura com ramos tomentosos. **Folhas** lanceoladas a oblongas, pecíolo de 3–8 mm de comprimento; lâmina esverdeada, ápice mucronado, tomentosa em ambas as faces. **Flores** vináceas a roxas, pedicelo articulado com 4–5 mm de comprimento, bractéolas inseridas acima da base do pedicelo lineares, 3–4 × 0,5–1 mm; sépalas obovais, tomentosas na face abaxial, 7,1–8,5 × ca. 5 mm; pétalas adaxiais 6–7 mm comprimento, estreito-oblancheoladas, conatas, ápice agudo, as abaxiais 3,5–4 × 1,8–2,5 mm, oblongas; estames 4, didínamos, filetes do par maior 4,6–5,5 mm compr., filetes do par menor 3–4,3 mm compr.; gineceu 5–5,5 mm compr., ovário tomentoso, com espinhos, estilete 2,1–3 mm compr. **Frutos** globosos, 4,4–5,5 mm diâm. (excluindo espinhos),

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

pubescentes, mais de 50 espinhos de 2–4,8 mm compr., densamente distribuídos, com gloquídeos do ápice até a porção mediana.

Figura 3 - *Krameria tomentosa* A. St.-Hil.



A) Planta inteira



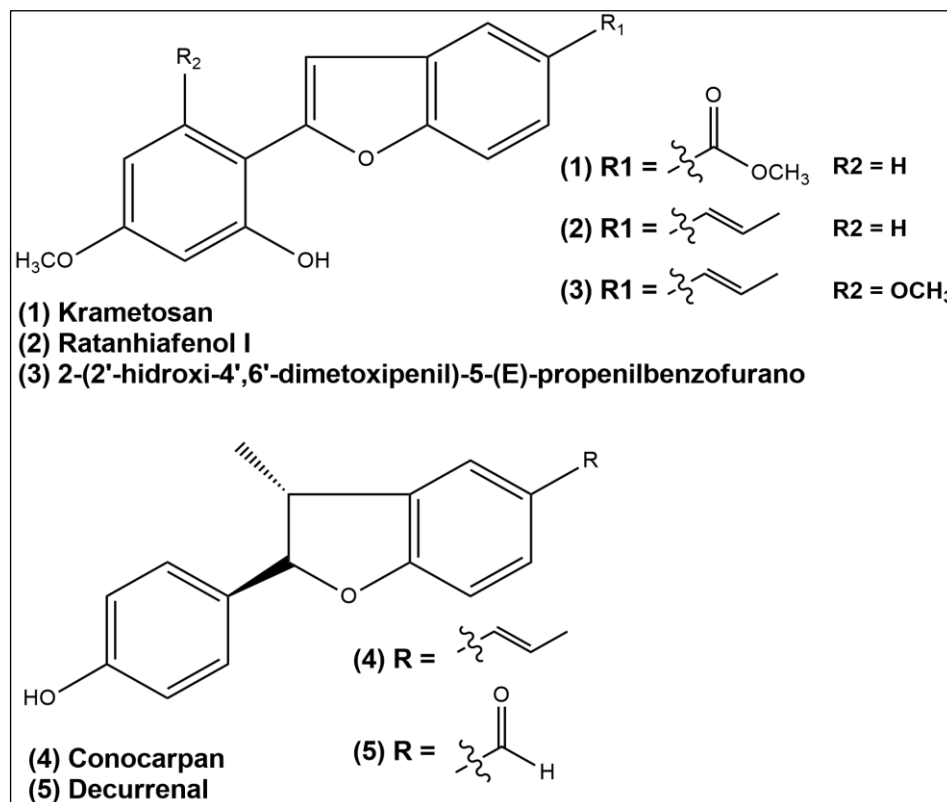
B) Flores e Folhas

Fonte: <http://faunaefloradorn.blogspot.com/2017/06/carrapicho-de-cavalo-krameria-tomentosa.html>

As raízes desta espécie são utilizadas na medicina popular na forma de decocto como antidiarreico e topicamente contra úlceras vaginais (AGRA et al., 2008). Quanto aos estudos farmacológicos, já foi feita a avaliação de sua toxicidade sobre o sistema reprodutor de ratos e ratas (SANTOS, 2016), potencial antioxidante, antimicrobiano e antineoplásico (MELO, 2018), e o efeito vasorrelaxante da nor-neolignana isolada desta espécie, a 2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-5-(E)-propenilbenzofurano em aorta de rato (CASTRO et al., 2006).

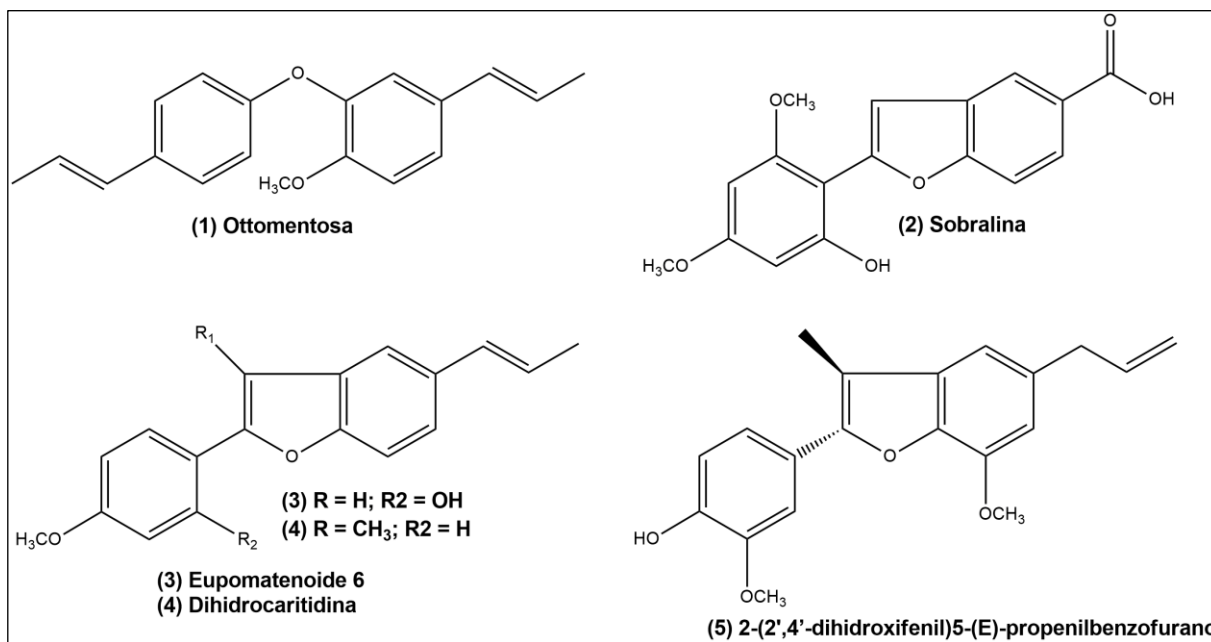
Em relação aos estudos fitoquímicos desta espécie, foram realizados apenas dois estudos, um por Silva et al. (2001) no qual foi possível isolar e elucidar uma trinorlignana inédita na literatura, além da identificação de outras quatro neolignanas. O outro estudo, realizado por Madeiro et al. (2012) resultou no isolamento e elucidação de cinco neolignanas, duas delas com estruturas inéditas na literatura. As substâncias identificadas nestes estudos podem ser vistas nas figuras 4 e 5.

Figura 4 - Substâncias isoladas na espécie *Krameria tomentosa* (SILVA et al., 2001).



Fonte: Adaptado de Silva et al. (2001).

Figura 5 - Substancias isoladas na espécie *Krameria tomentosa* (MADEIRO et al., 2012).



Fonte: Adaptado de Madeiro et al. (2012).

3.3 Considerações gerais sobre os constituintes químicos isolados de *Krameria tomentosa* A. St.-Hil.

3.3.1 Considerações sobre compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam uma ou mais hidroxilas ligadas a um anel benzênico. Os fenóis podem apresentar-se na sua forma simples, que são aqueles que possuem apenas uma hidroxila ligada a um anel aromático ou em sua forma mais complexa, quando possuem múltiplos anéis aromáticos com uma ou mais de uma hidroxila ligada a esses. Geralmente são mais ácidos que os álcoois tradicionais, sendo oxidados mais rapidamente, justificando assim sua ótima capacidade de doar H^+ para estabilizar espécies reativas de oxigênio (ARCHELA; ANTONIA, 2013; FOTI; AMORATI, 2016).

Mais de 8000 compostos fenólicos já foram identificados em plantas, estando disponíveis principalmente em frutas cítricas, frutas vermelhas, legumes, vegetais e outras plantas. De modo geral, eles atuam como metabólitos secundários para proteção contra luz ultravioleta, insetos, vírus e bactérias. Desta forma, entende-se que sua produção pode ser aumentada caso a planta encontre-se em um ambiente repleto de predadores e patógenos ou que gere algum tipo de estresse para a mesma (ANGELO; JORGE, 2007; DAI; MUMPER, 2010; HELENO et al., 2015).

Os compostos fenólicos, em sua maioria, são oriundos das rotas biossintéticas do ácido chiquímico e via mista. Os principais compostos fenólicos presentes em plantas são os ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzóicos, hidroxicinâmicos e seus derivados), flavonoides, cumarinas, taninos, lignoides e seus derivados (DAI; MUMPER, 2010; ALU'DATT et al., 2017; HELENO et al., 2015). No quadro 2, podem ser vistos as principais classes de compostos fenólicos relacionadas na literatura.

Quadro 2 - Principais classes de compostos fenólicos.

Esqueleto carbônico basico	Classe
C_6	Fenóis simples
C_6-C	Ácidos Fenólicos
C_6-C_2	Acetofenonas e ácidos feniláceticos
C_6-C_3	Fenilpropanoides, cumarinas e cromonas
C_6-C_4	Naftoquinonas
C_6-C-C_6	Xantonas
$C_6-C_2-C_6$	Estilbenos e antraquinonas
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoides
$(C_6-C_3)_2$	Lignoides
$(C_6-C_3)_n$	Ligninas
$(C_6-C)_n$	Taninos hidrolisáveis
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Taninos Condensados

Fonte: Adaptado de Simões et al. (2007).

Vários efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídos aos compostos fenólicos, logo, vários pesquisadores têm direcionado suas atenções aos estudos biológicos e farmacológicos destes compostos (VICENTE, et al., 2014; SCHERER; GODOY, 2014). Dentre estes efeitos, destacam-se: atividade antioxidante, antimicrobiana, cardiovascular, citotóxica e de prevenção ao Alzheimer (COLE et al., 2005; RASMUSSEN et al., 2005; RADOJKOVIĆ et al., 2016; KOCKA et al., 2018; ONITSUKA et al., 2019). Demonstrando que além das suas tradicionais atividades como antioxidante, os compostos fenólicos possuem várias outras ações farmacológicas específicas no tratamento e prevenção de doenças, solidificando a importância destes na pesquisa e desenvolvimento de fármacos e medicamentos.

3.3.2 Considerações sobre lignoides

Os lignoides são uma classe de metabólitos secundários oriundos do acoplamento oxidativo de duas unidades fenilpropânicas $(C_6-C_3)_n$, onde “n” é limitado a poucas unidades (PAN et al., 2009; BARBOSA-FILHO, 2017). Essa classe encontra-se amplamente distribuída no reino vegetal, apresentando importantes

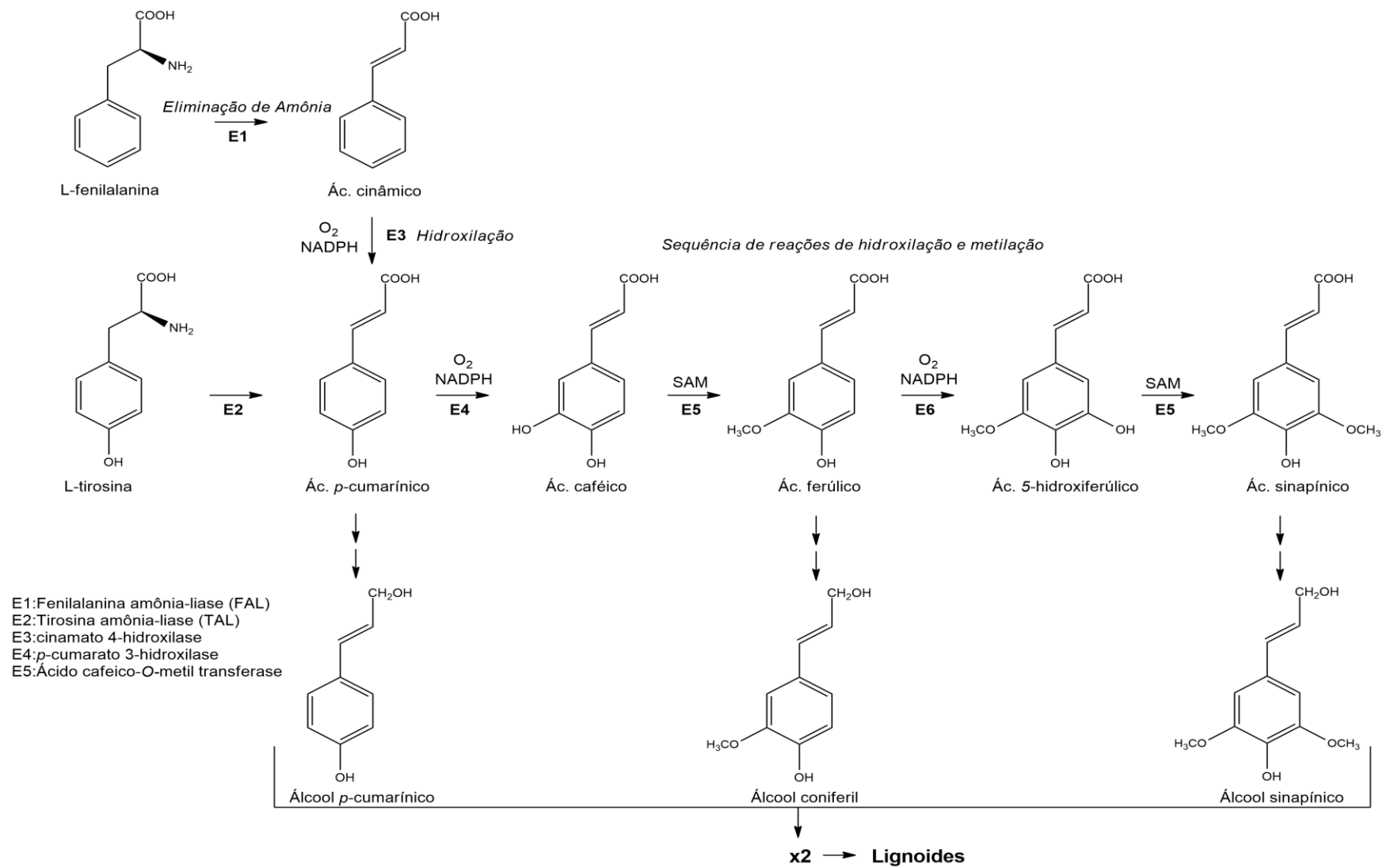
propriedades biológicas no desenvolvimento dos vegetais, e também como fonte para o desenvolvimento de fármacos e medicamentos (BARBOSA-FILHO, 2017). Os lignoides podem ser subdivididos em 6 grupos: **Lignanas**, **Neolignanas**, **Alolignanas**, **Norlignanas**, **Oligolignoides** e **Heterolignoides**. Na literatura já foram descritos mais de 1000 lignoides, e desse total, 80% correspondem as lignanas e neolignanas, constituindo os mais importantes dessa classe (TEPONNO; KUSARI; SPITELLER, 2016; BARBOSA-FILHO, 2017).

Os lignoides são originados a partir dos fenilpropanoides, e estes são oriundos da via do ácido chiquímico. A biossíntese dos fenilpropanoides (Figura 6) ocorre a partir dos aminoácidos L-fenilalanina e/ou L-tirosina. A biossíntese a partir da L-tirosina é restrita a plantas da família Poaceae, que possuem a enzima específica para transforma-la em ácido *p*-cumarínico (DEWICK, 2009).

De modo geral, ocorre uma desaminação da L-fenilalanina catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) formando o ácido cinâmico, que sofre uma hidroxilação por uma enzima do citocromo P450 chamada cinamato 4-hidroxilase para formar o ácido *p*-cumarínico. Em seguida, ocorre uma série de reações de hidroxilação e metilação seguindo um padrão de substituição típico da rota do chiquimato, para formar os seguintes metabólitos: ácidos caféico, ferúlico, 5-hidroxiferúlico e sinapínico, bem como seus respectivos álcoois, para que a partir do acoplamento oxidativo destes, sejam formados os lignoides (DEWICK, 2009; TEPONNO; KUSARI; SPITELLER, 2016).

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 6 - Rota biossintética dos fenilpropanoides.

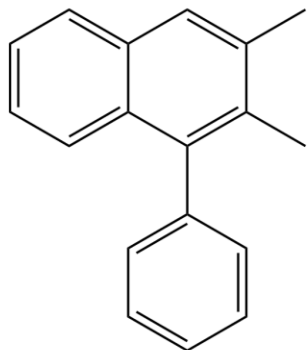


Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

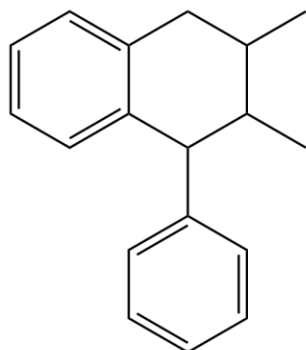
As lignanas e neolignanas podem ser diferenciadas quanto a sua origem. Quando duas unidades C_6-C_3 estão ligadas pela ligação entre os carbonos C-8 e C-8' o composto é chamado de lignana, enquanto que as neolignanas são aqueles que têm padrões de acoplamento diferentes dessa ligação C-8 e C-8' (PAN et al., 2009). Embora o seu esqueleto básico seja constituído por duas unidades fenilpropânicas, as lignanas apresentam uma enorme variação estrutural originada de vários padrões de ligação dessas unidades, e de acordo com isso podem ser classificadas em 8 tipos (Figura 7). Já as neolignanas consistem em 15 tipos (Figura 8), que até o momento, nem todas receberam a sua nomenclatura oficial (PAN et al., 2009; TEPONNO; KUSARI; SPITELLER, 2016; PEREIRA, 2017).

Os lignoides apresentam funções de defesa para a planta contra predadores e patógenos (PAN et al., 2009), além possuir várias atividades farmacológicas significativas, como atividade antitumoral, anti-inflamatória, antiparasitária, imunossupressora, cardiovascular, antioxidante e antiviral (LEE; XIAO, 2003; YAMAUCHI et al., 2004; LUIZE et al., 2006; ZHANG et al., 2008; GUTIÉRREZ et al., 2012; CUI et al., 2013;). Essa ampla quantidade de efeitos farmacológicos, combinados com a sua vasta diversidade estrutural, desencadearam vários trabalhos sintéticos que se baseiam em esqueletos de lignoides, visando à obtenção de novos fármacos (PAN et al., 2009).

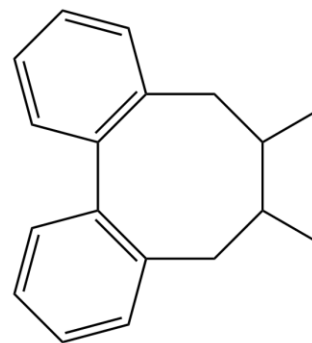
Figura 7 - Esqueletos carbônicos de lignanas.



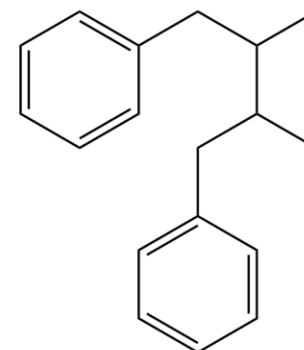
arilnaftaleno



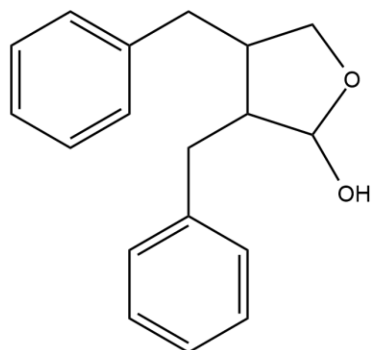
ariltetralina



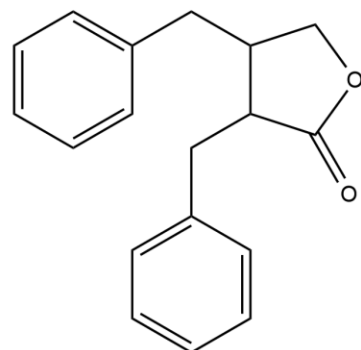
dibenzociclo-octadieno



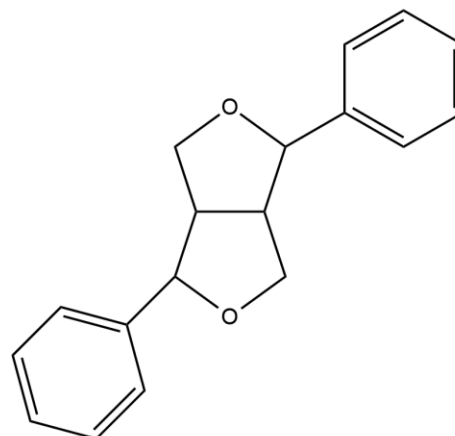
dibenzilbutano



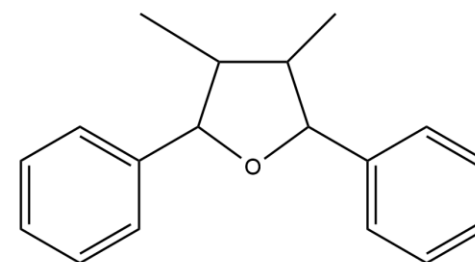
dibenzilbutirolactol



dibenzilbutirolactona



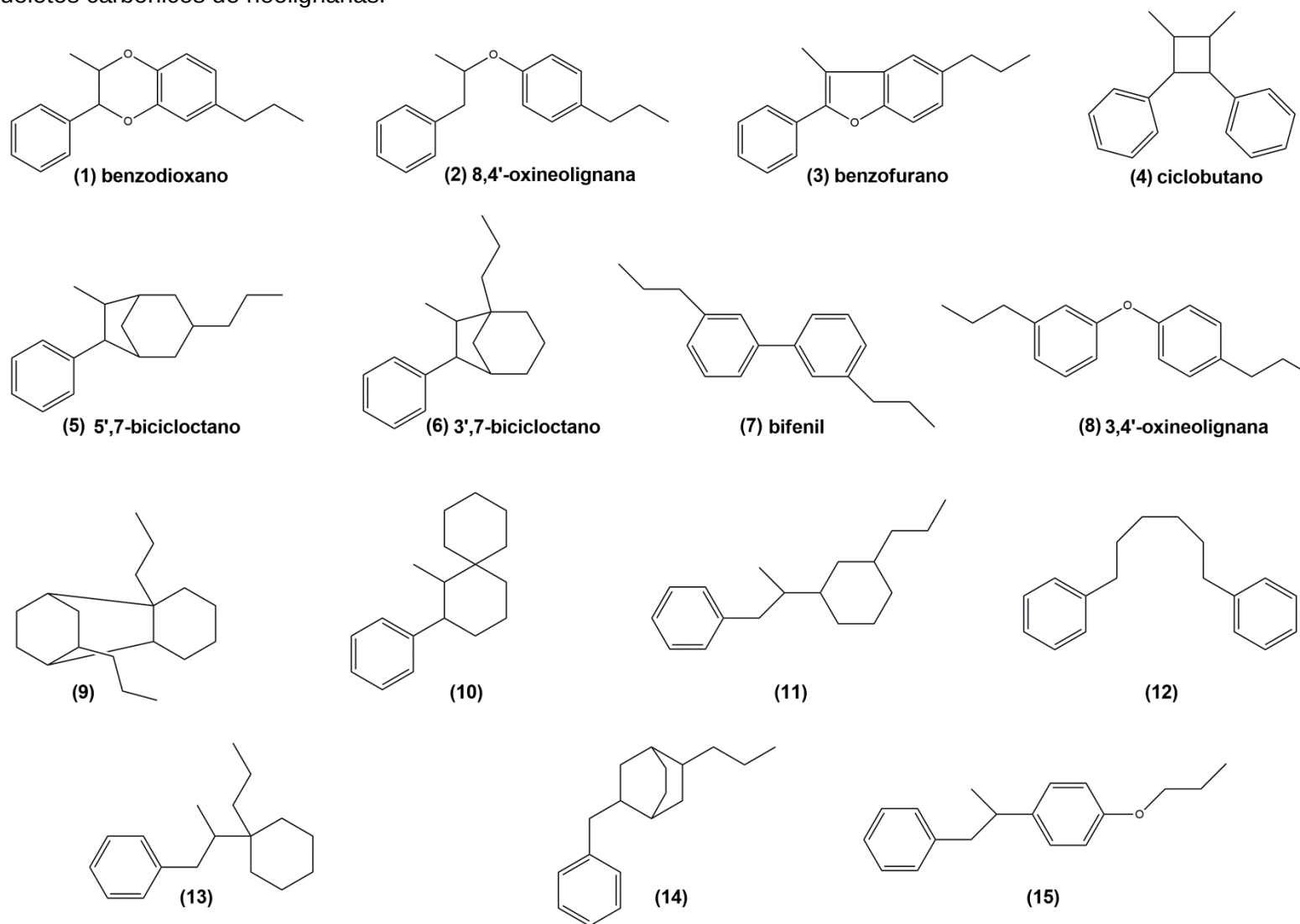
furofurano



tetraidrofurano

Fonte: Adaptado de TEPONNO; KUSARI; SPITELLER (2016) e PEREIRA (2017).

Figura 8 - Esqueletos carbônicos de neolignanas.



Fonte: Adaptado de TEPONNO; KUSARI; SPITELLER (2016) e PEREIRA (2017).

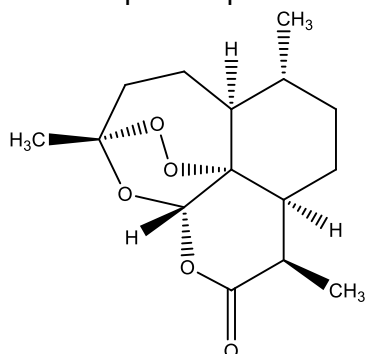
3.3.3 Considerações sobre peróxidos e peróxidos cíclicos

Por definição, peróxidos são compostos químicos que possuem ligação O-O na molécula (ARCURI, 1999). A maioria dos peróxidos são foto e termicamente instáveis pelo fato de sua ligação O-O ser muito fraca e facilmente rompida por metais ou bases. Em contrapartida, os peróxidos cíclicos, são altamente estáveis e mesmo sobre condições extremas não são degradados. Um bom exemplo disso é o peróxido cíclico artemisina (Figura 9), que pode ser fervida ou tratada com uma base forte sem degradação da sua função peróxido (RYDÉN, 2010).

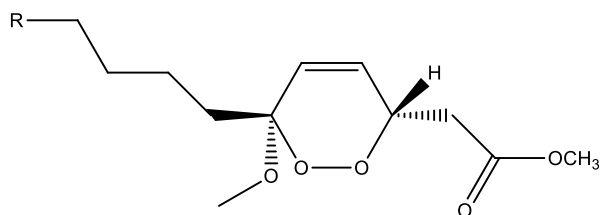
Na natureza já foram isolados mais de 600 peróxidos sendo a maioria cíclicos, pelo fato destes serem mais estáveis que os acíclicos. A maior parte dos peróxidos cíclicos da natureza foram isolados de plantas e organismos marinhos. Em plantas, a maioria ocorre na família Asteraceae, já em esponjas marinhas, são muito frequentes no gênero *Plakortis* e *Plakinastrella*. A presença das funções típicas de peróxidos não é restrita a apenas um grupo de produtos naturais, ou seja, ocorre em esqueletos de várias classes de metabólitos secundários, como terpenoides, policetídeos, fenólicos e alcaloides (DEMBITSKY; GLORIOZOVA; POROIKOV, 2007; RYDÉN, 2010; YONG et al., 2011). Alguns tipos de peróxidos cíclicos podem ser vistos na Figura 9.

Na literatura é relatado que os peróxidos cíclicos possuem varios efeitos biológicos como atividade antimalárica, citotóxica, antifúngica e anti-inflamatória (YONG et al., 2011). Onde a que mais se destaca é a excelente atividade antimalárica da artemisina, constituindo um dos fármacos mais potentes disponíveis no mercado e servindo como um composto modelo para a identificação e desenvolvimento de novos fármacos com esta atividade (RYDÉN, 2010).

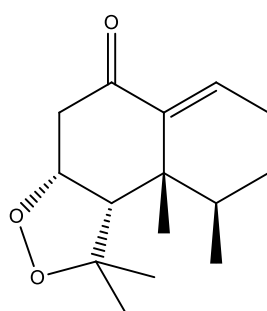
Figura 9 - Exemplos de peróxidos cíclicos.



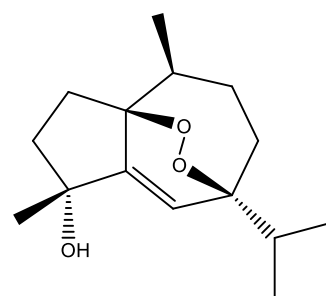
Artemisina



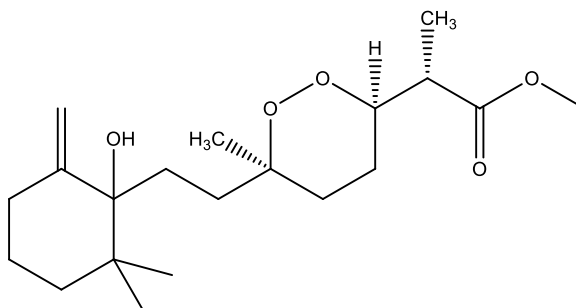
Plakorina, R=C₁₁



Nardosinona



Peroxygibberol



Aikupikoxide B

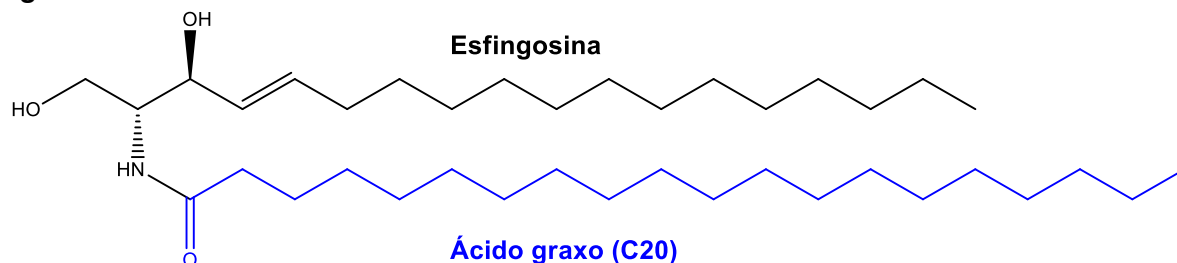
Fonte: Própria do autor.

3.3.4 Considerações sobre ceramidas

As ceramidas (Figura 10) são um grupo estruturalmente complexo e heterogêneo de esfingolipídios resultantes da condensação de uma base esfingoide (esfingolipídios mais simples) e um ácido graxo de cadeia longa através de uma ligação amídica (NAFISI; MAIBACH, 2017). Essa condensação das bases esfingoides pode levar a formação de vários tipos de ceramidas, sendo conhecidas até o momento cerca de 200 em mamíferos (HANNUN; OBEID, 2011). As ceramidas possuem diversas funções fisiológicas, como precursora de outros esfingolipídios mais complexos, mensageira celular, e ainda como molécula reguladora em

processos inflamatórios, de angiogênese, neurodegeneração e morte celular (NIXON, 2009; LI; BECKER; ZHANG, 2010; STANCEVIC; KOLESNICK, 2010; MARKHAM et al., 2013).

Figura 10 - Estrutura básica de uma ceramida.



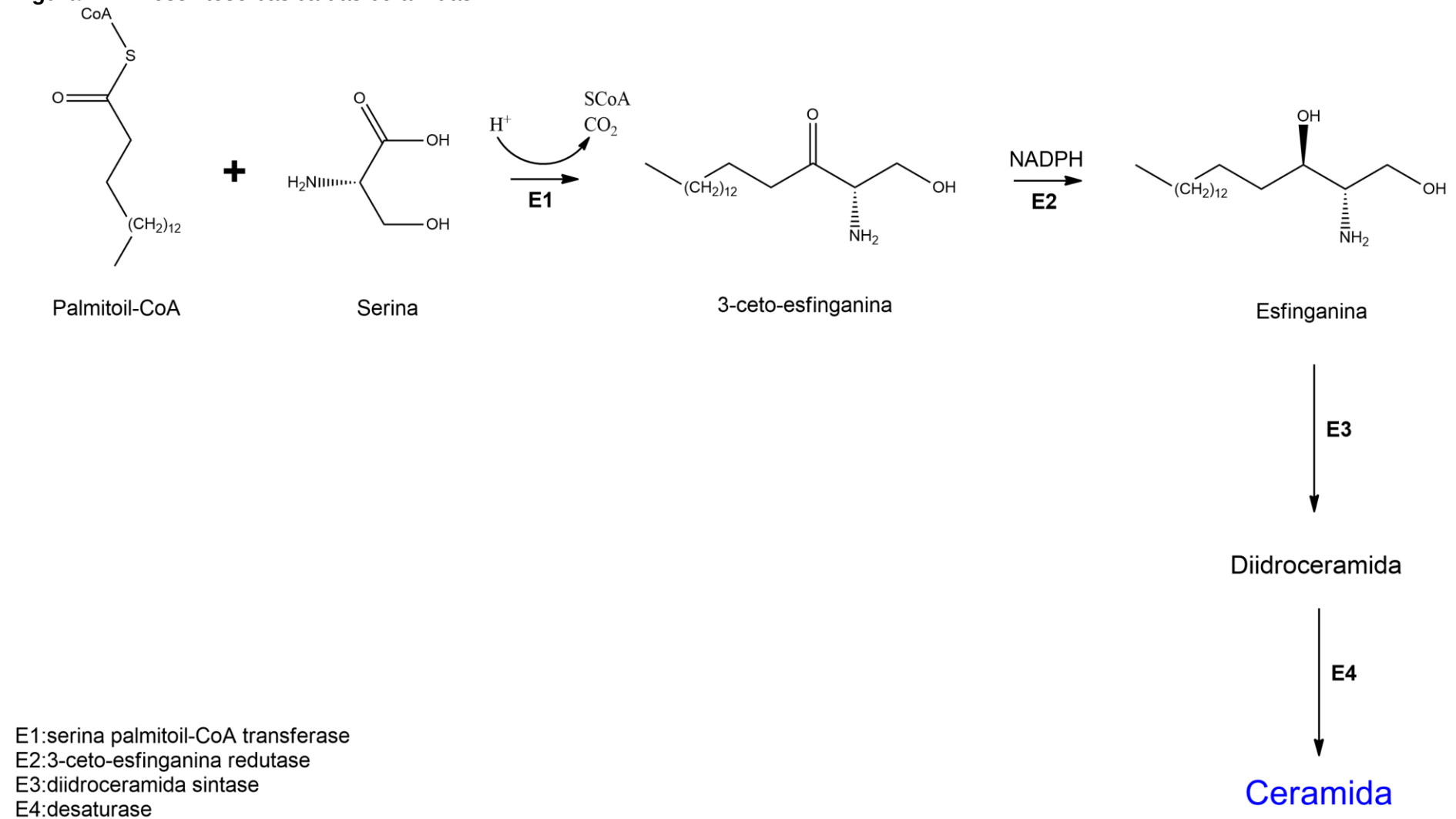
Fonte: FREDI; TINOCO, 2015.

As ceramidas recebem sua nomenclatura a partir de qual tipo de base esfingóide é combinada com o tipo de ácido graxo. Por exemplo, como na figura acima, uma esfingosina combinada com um ácido graxo com 20 átomos de carbono em sua cadeia principal deve ser nomeada como d18:1-20:0 [*N*-(eicosanoil)-esfing-4-enina] (CHESTER, 1998). É permitido utilizar as nomenclaturas simplificadas baseadas na nomenclatura convencional das bases esfingóides e dos ácidos graxos. Dessa forma, a ceramida d18:1-20:0 [*N*-(eicosanoil)-esfing-4-enina] pode ser chamada de *N*-palmitoil-esfingosina ou apenas esfingoceramida, enquanto as ceramidas que possuem uma esfinganina podem ser chamadas de diidroceramidas (FREDI; TINOCO, 2015).

A biossíntese das ceramidas (Figura 11) tem origem semelhante a maior parte dos esfingolipídios, que se inicia a partir da condensação da serina com o palmitoil-CoA, através da ação da serina palmitoil-CoA transferase (SPT), formando a 3-ceto-esfinganina que é reduzida pela ação da 3-ceto-esfinganina redutase e transforma-se em esfinganina, esta por sua vez, é a base para a formação de todos os outros esfingolipídios (MARKHAN et al., 2013). As ceramidas são formadas a partir da esfinganina, a qual sofre uma acilação pela enzima diidroceramida sintase (CerS), formando a diidroceramida, que em seguida, é convertida em ceramida através da ação de uma desaturase (HANNUN; OBEID, 2011; FREDI; TINOCO, 2015).

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 11 - Biossíntese básica das ceramidas.



Fonte: Adaptado de FREDI; TINOCO (2015).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e equipamentos utilizados

A análise, o fracionamento, o isolamento e a purificação dos constituintes químicos ocorreram por meio das técnicas de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), cromatografia em coluna (CC) por exclusão de tamanho, cromatografia líquida de média pressão (CLMP) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Para a realização da CCDA, utilizou-se placas de sílica gel 60 (PF254 ART 7749) da Merck®, na espessura de 0,25 mm, e para o sistema eluente, foram utilizados solventes orgânicos como hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. As revelações das substâncias nas placas de sílica gel foram executadas pela exposição das cromatoplasas à lâmpada de irradiação ultravioleta (UV) sob dois comprimentos de onda (254 e 366 nm).

Para realização da cromatografia em coluna por exclusão de tamanho, utilizou-se como fase estacionária sephadex LH-20 da Merck® e como fase móvel metanol P.A.

A CLMP foi realizada utilizando um cromatógrafo BUCHI® com um sistema de bomba e injetor de solventes e como fase estacionária utilizou-se sílica gel (SiliaFlash® - F60 SiliCycle®, 40-63 µm, 230-400 mesh) e como eluentes foram utilizados hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias. O fluxo utilizado em todas as análises foi de 10 mL/min.

A CLAE em escala analítica foi realizada utilizando um aparelho cromatográfico da marca Shimadzu Prominence®, equipado por uma coluna de fase reversa C-18 da marca Kromasil® modelo 100-5-C18 conectada a uma pré-coluna C18, controlador de sistema modelo CBM-20A, bomba LC-20AT, injetor automático SIL-20A_{HT} e detector de arranjo de diodos (DAD) SPD-M20A. Como fase móvel foi utilizada água Milli-Q acidificada com ácido fórmico (0,1%) e metanol grau HPLC. O fluxo empregado para as análises foi de 0,6 mL/min, o volume de injeção foi de 20 µl e as amostras foram preparadas na concentração de 1 mg/mL.

MATERIAIS E MÉTODOS

A CLAE em escala preparativa foi realizada utilizando um aparelho cromatográfico Shimadzu Prominence[®], composto por controlador de sistema SLC-10A vp, duas bombas LC-6AD, injetor manual e detector DAD SPD-M10A. Neste aparelho utilizou-se uma coluna de fase reversa C18 da marca YMC[®] modelo YMC-Actus Triart C18. Como fase móvel foi utilizada água Milli-Q acidificada com ácido fórmico (0,1%) e metanol grau HPLC. O fluxo empregado para as análises foi de 8,0 mL/min e os volumes de injeção foram de 100 e 200 µL.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H, ¹³C e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro da marca VARIAN-NMR-SYSTEM[®] e BRUKER[®], operando a 500 e 400 MHz respectivamente, localizados no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA), da UFPB.

Os espectros de massas das substâncias foram obtidos utilizando espectrômetros de massas de alta e baixa resolução da marca BRUKER[®], modelo micro TOF II e Ion-Trap AmazonX, respectivamente.

Os espectros em infravermelho foram obtidos utilizando um espectrofotômetro da marca Shimadzu Prominence[®] FT-IR, modelo IR Prestige-21 IR Affinity-1 FTIR-8400S.

Os procedimentos em cavitação ultrassônica (ultrassom) foram realizados em uma lavadora ultrassônica da marca Eco-sonics[®], modelo Q13L/37 A.

As análises de rotação óptica foram determinadas em um polarímetro JASCO P-2000, em clorofórmio para Kt-1 e metanol para Kt-4, e mediu-se o ângulo de desvio da luz polarizada, expressando o resultado em rotação óptica ($[\alpha]_D$), calculado por meio da fórmula:

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\text{rotação em graus} \times 100}{\text{comprimento da cubeta (cm)} \times \text{concentração (g/100 mL)}}$$

4.2 Material vegetal

4.2.1 Coleta e identificação do material vegetal

As raízes da espécie *Krameria tomentosa* foram coletadas no município de Santa Rita, estado da Paraíba, em junho de 2014. A identificação botânica do material vegetal foi realizada pela Profa. Dra. Maria de Fátima Agra. Uma exsicata

MATERIAIS E MÉTODOS

desta espécie encontra-se depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN / UFPB) sob o código 3271.

O estudo está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A837A80.

4.2.2 Processamento do material vegetal e obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de *Krameria tomentosa*

As raízes de *Krameria tomentosa* foram pesadas e desidratadas em estufa com ar circulante à temperatura média de 40°C durante 72 horas, em seguida foram submetidas a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 2,2 kg do pó da planta. O material vegetal seco e pulverizado foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95% em um recipiente de aço inoxidável, durante 72 horas. Este processo foi repetido por três vezes, obtendo-se uma solução extrativa. A solução extrativa foi filtrada e em seguida concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C, para obter 380,0 g do extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 1).

4.3 Fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB)

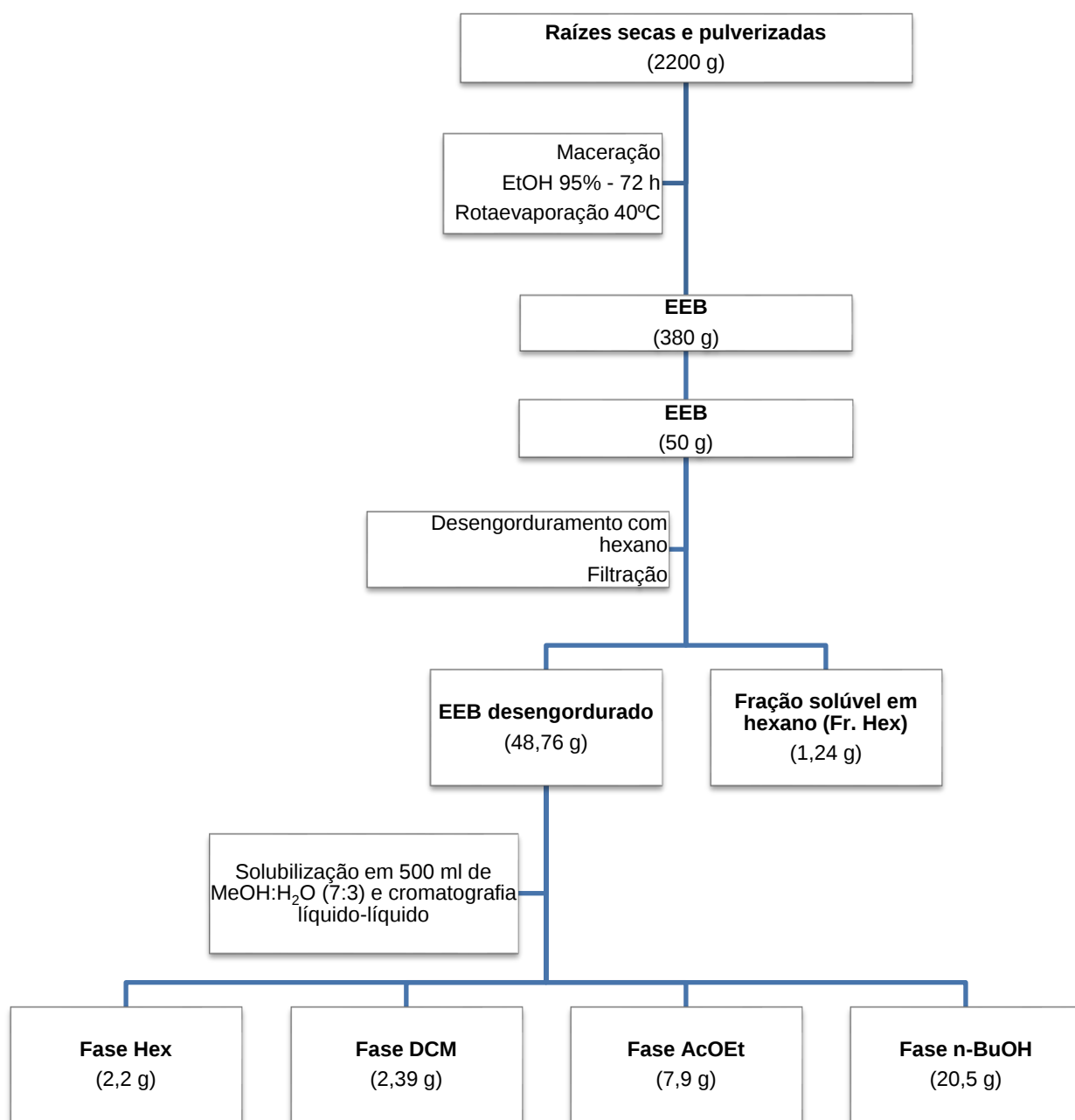
Uma parte do EEB (50 g) foi submetida a um desengorduramento com hexano em agitador mecânico durante 30 min (**Esquema 1**), com finalidade de extrair os componentes mais apolares. Em seguida, o material foi filtrado e separado. O filtrado hexânico foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C, obtendo-se 1,24 g da porção solúvel em hexano, codificada como fração hexânica (Fr. Hex) e 48,76 g do EEB desengordurado.

O EEB resultante da filtragem foi solubilizado em uma solução de MeOH:H₂O (500 ml, 7:3 v/v) obtendo-se uma solução hidroalcóolica, a qual foi submetida a uma cromatografia líquido-líquido em uma ampola de separação utilizando os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol em ordem crescente de polaridade, e assim obtendo-se as soluções extrativas referentes a cada solvente, que foram tratadas com sulfato de sódio anidro para retirar o excesso de água e em

MATERIAIS E MÉTODOS

seguida filtradas. Após isso, estas soluções foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C, fornecendo: 2,2 g da segunda fase hexânica (Hex); 2,39 g da fase diclorometano (DCM); 7,9 g da fase acetato de etila (AcOEt) e 20,5 g da fase *n*-butanólica (*n*-BuOH). (Esquema 1).

Esquema 1 - Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de *Krameria tomentosa*.



4.4 Processamento da fase diclorometano por cromatografia líquida de média pressão (CLMP)

Uma alíquota de 2 g da fase diclorometano foi submetida a uma cromatografia líquida de média pressão (CLMP) utilizando cromatógrafo da BUCHI® e como fase estacionária sílica gel (SiliaFlash®- F60, 40-63 µm (230-400 mesh) em uma coluna de vidro cilíndrica de tamanho compatível com a quantidade de amostra utilizada. Como eluentes foram utilizados os solventes hexano, clorofórmio (CHCl₃), AcOEt e MeOH em sistema gradiente e isocrático variando de acordo com o decorrer da corrida. O fluxo da fase móvel foi de 10 mL/min, sendo coletadas 14 frações de 125 mL cada, denominadas KTD01-14, que foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C. (Tabela 1).

As frações KTD-01, KTD-02 e KTD-06 foram encaminhadas para análise em RMN de ¹H e apresentaram sinais característicos de neo-lignanas, logo, foram selecionadas para serem submetidas à análise em cromatografia líquida de alta eficiência, objetivando o isolamento e purificação dos compostos contidos nelas.

Tabela 1 - Dados do processamento cromatográfico da fase diclorometano de *K. tomentosa* em CLMP.

Sistema eluente	Frações
Hexano 8:2 CHCl ₃	KTD-01 (20,0 mg)
Hexano 6:4 CHCl ₃	KTD-02 (47,4mg)
Hexano 4:6 CHCl ₃	KTD-03 (330,6 mg)
Hexano 2:8 CHCl ₃	KTD-04 (64,0 mg)
CHCl ₃	KTD-05 (108,1 mg)
CHCl ₃ 8:2 AcOEt	KTD-06 (580,0 mg)
CHCl ₃ 6:4 AcOEt	KTD-07 (486,5 mg)
CHCl ₃ 4:6 AcOEt	KTD-08 (182,5 mg)
CHCl ₃ 2:8 AcOEt	KTD-09 (112,2 mg)
AcOEt	KTD-10 (31,5 mg)
AcOEt 9:1 MeOH	KTD-11 (17,2 mg)
AcOEt 5:5 MeOH	KTD-12 (23,1 mg)
AcOEt 3:7 MeOH	KTD-13 (41,1 mg)
MeOH	KTD-14 (52,2 mg)

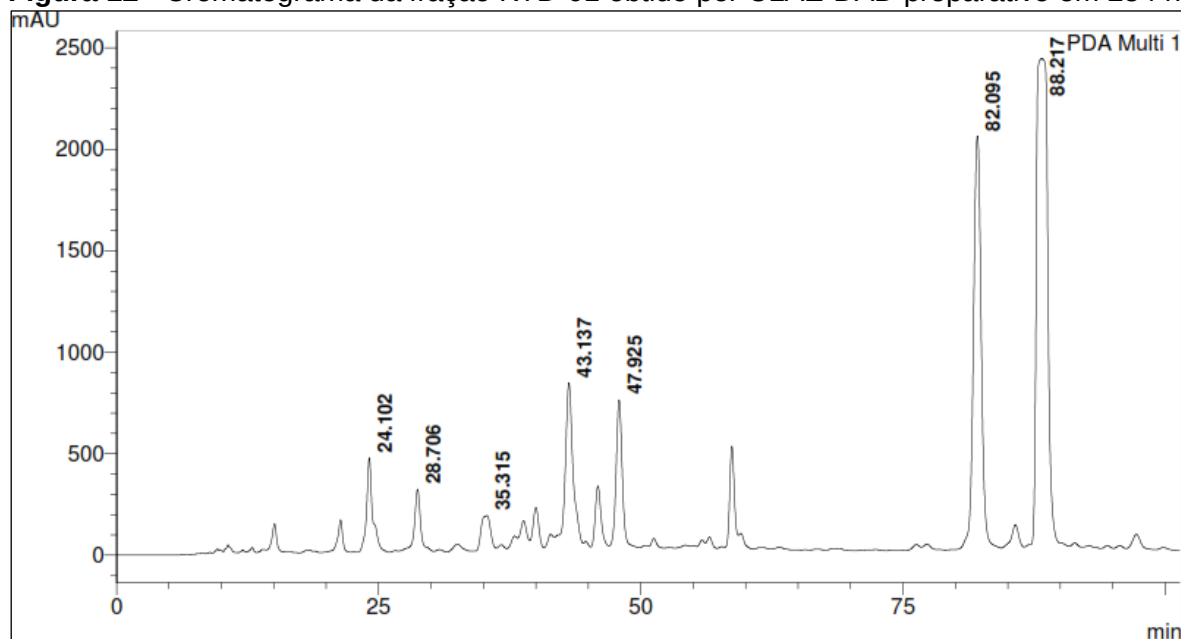
MATERIAIS E MÉTODOS

4.4.1 Processamento das frações KTD-01, KTD-02 e KTD-06 por cromatografia líquida de alta eficiência

As frações foram analisadas individualmente por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em escala analítica, de modo a desenvolver métodos eficientes e em seguida transpor esses métodos para CLAE em escala preparativa para realizar o isolamento dos compostos presentes nestas frações. Para realizar as análises por CLAE em escala analítica, as amostras foram preparadas em uma solução de 1 mg/mL da amostra em metanol grau HPLC, que foi filtrada em seguida. A fase móvel das corridas, consistiram em um sistema gradiente dos eluentes água milli-Q acidificada e MeOH variando as proporções para cada método de análise.

A fração KTD-01 foi submetida a uma CLAE em escala analítica onde a fase móvel consistiu em um sistema gradiente dos eluentes água milli-Q acidificada (0,1% ácido fórmico) (bomba A) e MeOH (bomba B), onde a concentração de MeOH variou inicialmente de 70% a 100% em um tempo de 100 min com fluxo de 0,6 mL/min e leitura em 254 nm. Este método foi transposto para escala preparativa alterando apenas o volume de injeção (200 µl) e o fluxo da fase móvel (8,0 mL/min).

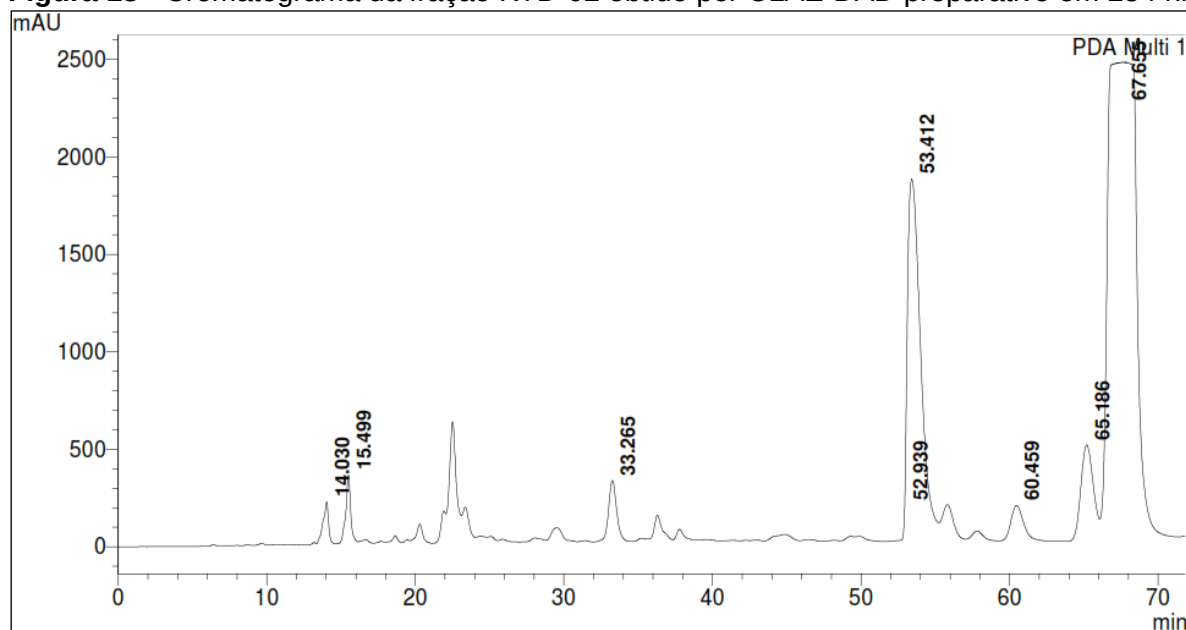
20 mg da amostra foi solubilizada em MeOH grau HPLC, centrifugada a 15.000 rpm durante 5 min a 20°C, e posteriormente filtrada. Em seguida, foi submetida à CLAE em escala preparativa, resultando na separação de 7 picos principais, que foram coletados e concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C e que estão representados pelos seus respectivos tempos de retenção, podendo serem vistos na Figura 12. O pico com tempo de retenção de 82,095 min foi codificado como Kt-1, e o pico com tempo de retenção de 88,217 min foi codificado como Kt-2 e foram submetidos à análise por RMN.

Figura 12 - Cromatograma da fração KTD-01 obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.

Fonte: Própria do autor.

A fração KTD-02 foi submetida a uma CLAE em escala analítica onde a fase móvel consistiu em um sistema gradiente dos eluentes água milli-Q acidificada (0,1% ácido formico) (bomba A) e MeOH (bomba B), onde a concentração de MeOH variou inicialmente de 65% a 100% em um tempo de 85 min com fluxo de 0,6 mL/min e leitura em 254 nm. Este método foi transposto para escala preparativa alterando apenas o volume de injeção (200 µl) e o fluxo da fase móvel (8,0 mL/min).

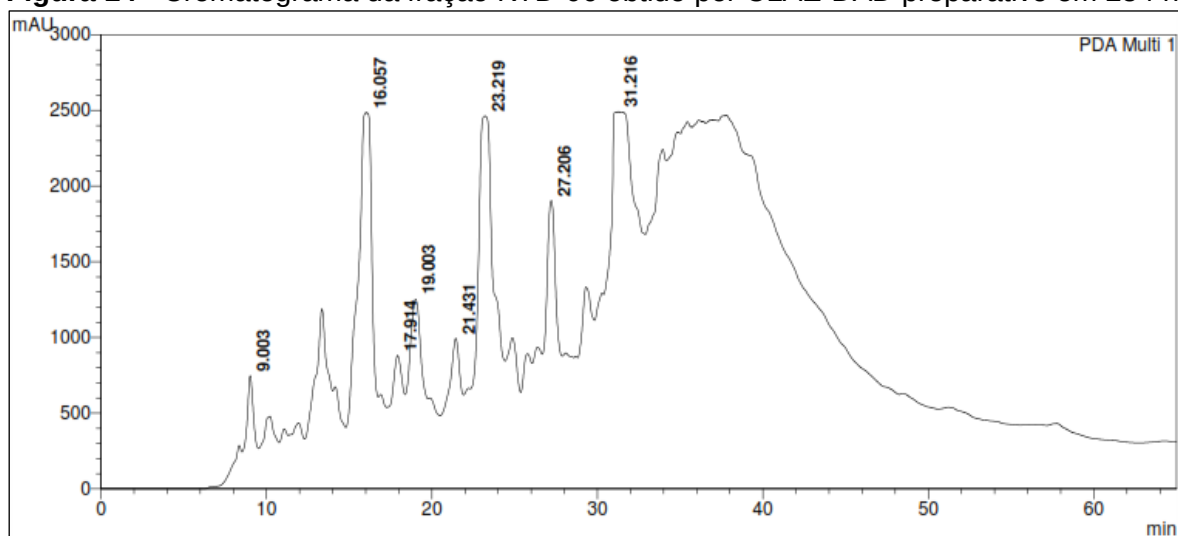
Uma alíquota de 47 mg foi solubilizada em MeOH grau HPLC, centrifugada a 15.000 rpm durante 5 min a 20°C, e posteriormente filtrada. Em seguida, foi submetida à CLAE em escala preparativa, resultando na separação de 7 picos principais, que foram coletados e concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C e que estão representados pelos seus respectivos tempos de retenção, podendo serem vistos na Figura 13. O pico com tempo de retenção de 67,655 min foi codificado como Kt-3 e foi submetido a análise por RMN.

Figura 13 - Cromatograma da fração KTD-02 obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.

Fonte: Própria do autor.

A fração KTD-06, como as outras, também foi submetida a uma CLAE em escala analítica onde a fase móvel consistiu em um sistema gradiente dos eluentes água milli-Q acidificada (0,1% ácido formico) (bomba A) e MeOH (bomba B), onde a concentração de MeOH variou inicialmente de 65% a 100% em um tempo de 60 min com fluxo de 0,6 mL/min e leitura em 254 nm. Este método foi transposto para escala preparativa alterando apenas o volume de injeção (200 μ l) e o fluxo da fase móvel (8,0 mL/min).

Uma alíquota de 350 mg foi solubilizada em MeOH grau HPLC, centrifugada a 15.000 rpm durante 5 min a 20°C, e posteriormente filtrada. Em seguida, foi submetida à CLAE em escala preparativa, resultando na separação de 8 picos principais, que foram coletados e concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C e que estão representados pelos seus respectivos tempos de retenção, podendo serem vistos na Figura 14. O pico com tempo de retenção de 9,03 min foi codificado como Kt-4, o pico com tempo de retenção de 16,057 min foi codificado como Kt-5 e o pico com tempo de retenção de 31,216 min foi codificado como Kt-6 e foram submetidos a análise por RMN.

Figura 14 - Cromatograma da fração KTD-06 obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.

Fonte: Própria do autor.

4.4.2 Processamento da fração KTD-07 por cromatografia líquida de média pressão

A fração KTD-07 (450 mg) foi submetida a uma cromatografia líquida de média pressão (CLMP) utilizando cromatógrafo da BUCHI® e como fase estacionária sílica gel (SiliaFlash®- F60, 40-63 µm (230-400 mesh) em uma coluna de vidro cilíndrica de tamanho compatível com a quantidade de amostra utilizada. Como eluentes foram utilizados os solventes hexano, CHCl₃, AcOEt e MeOH em sistema gradiente e isocrático variando de acordo com o decorrer da corrida. O fluxo da fase móvel foi de 10 mL/min, sendo coletadas 43 frações de 50 mL cada, que foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C e analisadas por CCDA e agrupadas de acordo com a similaridade em 15 frações (Tabela 2 e Esquema 2). Destas frações, a fração 13 precipitou-se como um pó amorfo branco quando em contato com o solvente acetona, em seguida, retirou-se o sobrenadante e a fração 13 foi codificada como Kt-7 e submetida a análise por RMN.

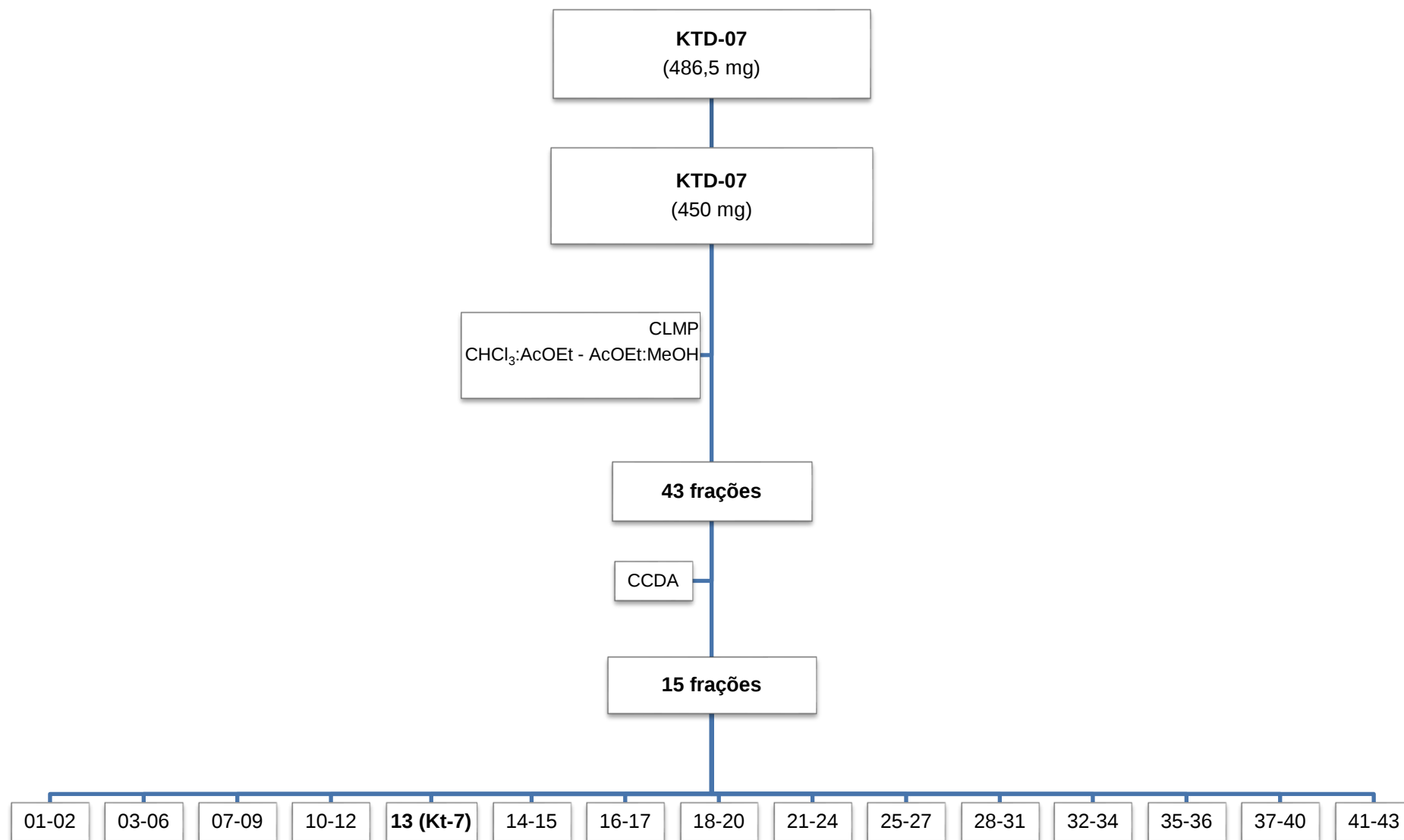
MATERIAIS E MÉTODOS

Tabela 2 - Dados do processamento da fração KTD-07 em CLMP.

Sistema eluente	Frações
CHCl ₃	01-02
CHCl ₃ 9:1 AcOEt	03-06
CHCl ₃ 8:2 AcOEt	07-09
CHCl ₃ 7:3 AcOEt	10-13
CHCl ₃ 6:4 AcOEt	14-16
CHCl ₃ 5:5 AcOEt	17-20
CHCl ₃ 3:7 AcOEt	21-24
AcOEt	25-28
AcOEt 9:1 MeOH	29-32
AcOEt 7:3 MeOH	33-34
AcOEt 5:5 MeOH	35-38
AcOEt 4:6 MeOH	39-41
AcOEt 3:7 MeOH	42-43

MATERIAIS E MÉTODOS

Esquema 2 - Fracionamento cromatográfico da fração KTD-07 em CLMP.



4.5 Processamento cromatográfico da fase acetato de etila

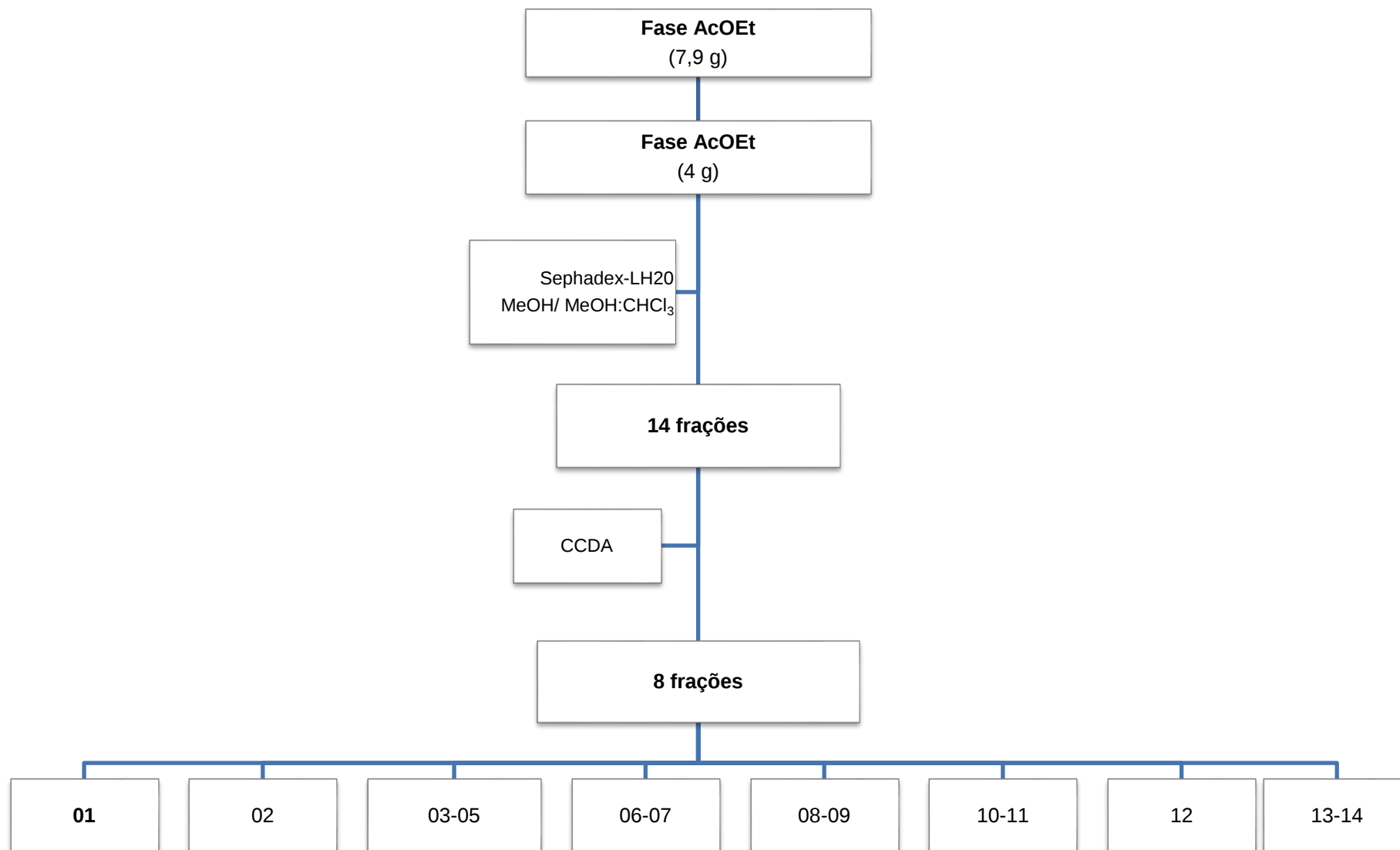
A fase acetato de etila (4 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna por exclusão de tamanho utilizando Sephadex LH-20 como fase estacionária, e como fase móvel foi utilizado os solventes metanol e clorofórmio. Foram coletadas 14 frações de 100 ml cada, que foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C e analisadas por CCDA, em seguida, foram reunidas de acordo com seus fatores de retenção em 8 frações (Tabela 3 e Esquema 3). A fração 01 apresentou-se com caráter oleoso, diferente das demais, assim, foi encaminhada para análise em RMN de ^1H e selecionada para análise em cromatografia líquida de alta eficiência, objetivando o isolamento e purificação dos compostos contidos nela.

Tabela 3 - Dados do processamento cromatográfico da fase acetato de etila.

Sistema eluente	Frações
MeOH	01
MeOH	02
MeOH	03
MeOH	04
MeOH	05
MeOH	06
MeOH	07
MeOH	08
MeOH	09
MeOH	10
MeOH	11
MeOH	12
MeOH 7:3 CHCl_3	13
MeOH 1:1 CHCl_3	14

MATERIAIS E MÉTODOS

Esquema 3 - Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila.

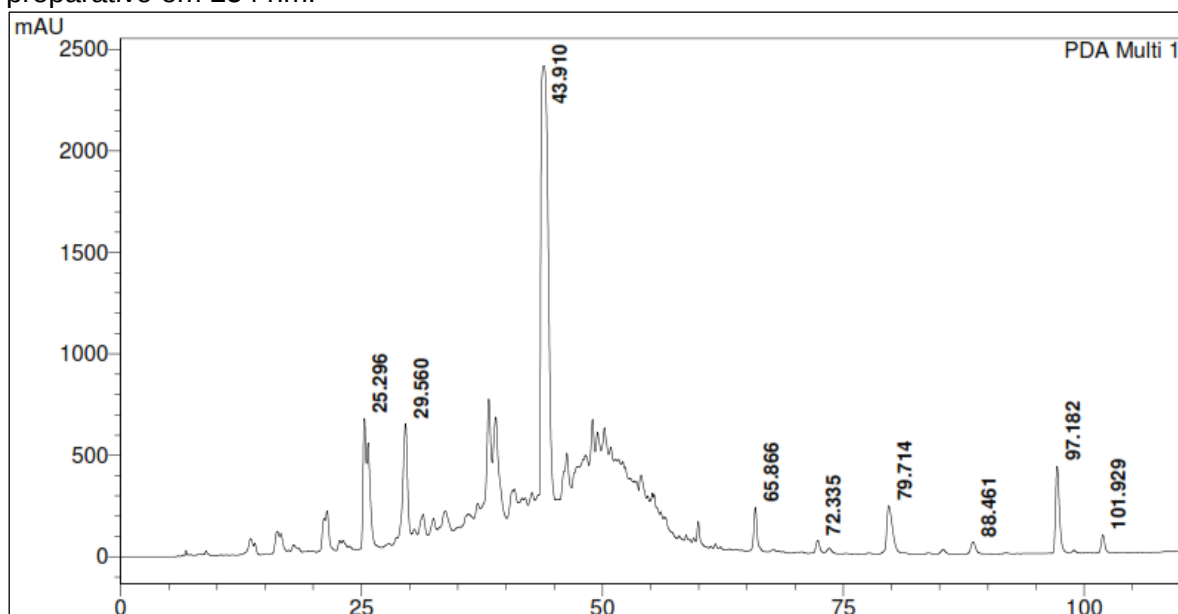


4.5.1 Processamento da fração 01 da fase acetato de etila por cromatografia líquida de alta eficiência

A fração KTA0-01 foi submetida a uma CLAE em escala analítica onde a fase móvel consistiu em um sistema gradiente dos eluentes água milli-Q acidificada (0,1% ácido formico) (bomba A) e MeOH (bomba B), onde a concentração de MeOH variou inicialmente de 20% a 100% em um tempo de 110 min com fluxo de 0,6 mL/min e leitura em 254 nm. Este método foi transposto para escala preparativa alterando apenas o volume de injeção (200 µl) e o fluxo da fase móvel (8,0 mL/min).

Uma alíquota de 310 mg foi solubilizada em MeOH grau HPLC, centrifugada a 15.000 rpm durante 5 min a 20°C, e posteriormente filtrada. Em seguida, foi submetida à CLAE em escala preparativa, resultando na separação de 9 picos principais, que foram coletados e concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C e que estão representados pelos seus respectivos tempos de retenção, podendo ser vistos na figura 15. O pico com tempo de retenção de 43,910 min foi codificado como Kt-8, e o pico com tempo de retenção de 97,182 min foi codificado como Kt-9 e foram submetidos à análise por RMN.

Figura 15 - Cromatograma da fração 01 da fase acetato de etila, obtido por CLAE-DAD preparativo em 254 nm.



Fonte: Própria do autor.

4.6 Processamento da fase *n*-butanólica

A fase *n*-butanólica foi submetida a uma análise preliminar por RMN de ^1H , na qual se destacaram no espectro, sinais de uma substância majoritária. Dessa forma, 850 mg da fase foi submetida a uma extração por ultrassom utilizando solvente MeOH puro. A solução obtida, foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C, fornecendo 105 mg de um pó marrom escuro que foi codificado como Kt-10 e encaminhado para análise por RMN.

4.7 Caracterização estrutural dos compostos isolados

A identificação ou elucidação estrutural das substâncias isoladas foram feitas através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , com técnicas uni e bidimensionais (HMBC, HMQC e COSY). As amostras para análise foram preparadas utilizando solventes deuterados da marca *Cambridge Isotope Laboratories*: Clorofórmio deuterado (CDCl_3), Acetona deuterada (CD_3COCD_3), piridina deuterada ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e Metanol deuterado (CD_3OD).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz, referenciados para os sinais característicos de ^1H e ^{13}C dos solventes utilizados. Para os espectros de ^1H em CDCl_3 (δ_{H} 7,24 ppm); CD_3COCD_3 (δ_{H} 2,05 ppm); $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (δ_{H} 7,58 ppm); DMSO- d_6 (δ_{H} 2,50 ppm) e CD_3OD (δ_{H} 3,31 ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram referenciados em CDCl_3 (δ_{C} 77,160 ppm); CD_3COCD_3 (δ_{C} 206,260 ppm); $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (δ_{C} 135,910 ppm); DMSO- d_6 (δ_{C} 39,520 ppm) e CD_3OD (δ_{C} 49,0 ppm).

Os espectros em infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}), foram obtidos com frequência medida em cm^{-1} , feitos em pastilha de KBr, utilizando-se de 1 a 3 mg da amostra.

Os espectros de massas das substâncias foram feitos a partir da diluição das amostras em metanol ou acetonitrila grau HPLC. As amostras foram analisadas utilizando a técnica de Ionização por Eletrospray (ESI) no modo positivo ou negativo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação estrutural de Kt-1

A substância codificada como Kt-1 foi isolada na forma de um óleo incolor, pesando 2,1 mg. Seu espectro de massas de alta resolução obtido por ESI-MS no modo positivo (Figura 17), mostrou o pico da molécula protonada em m/z 281,1526 $[M+H]^+$ compatível com a fórmula molecular $C_{19}H_{21}O_2$ (calc. 281,1536).

No espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, CD_3COCD_3) (Figuras 18, 19 e 20), observou-se a presença de 17 sinais correspondentes a 19 átomos de carbono. Estes sinais foram atribuídos a 5 carbonos não hydrogenados, sendo 2 oxigenados, 11 a carbonos metínicos, 2 carbonos metílicos e 1 carbono oximetílico. Os sinais em δ_C 93,1 (C-2), 45,9 (C-3) e em 18,1 (Me-3) são sinais característicos de um esqueleto de uma neolignana do tipo diidrobenzofurânica (ACHENBACH et al., 1987a). Foi possível sugerir também a presença de um radical propenil, devido à presença dos sinais em δ_C 131,8 (C-8), 123,00 (C-9) e 18,40 (Me-10).

Essas absorções características também foram observadas no espectro de RMN de 1H (500 MHz, CD_3COCD_3) (Figura 21) e em suas expansões (Figuras 22, 23 e 24), no qual foi verificada a presença dos sinais em δ_H 5,13 (d, $J = 8,5$ Hz), 3,40-3,34 (m) e 1,39 (d, $J = 7,0$ Hz) atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-2, H-3 e aos hidrogênios da Me-3. A presença do grupo propenil foi fortalecida após observar as absorções em δ_H 6,39 (dd, $J = 16; 2,0$ Hz), 6,16 (dq, $J = 15,5; 6,5$ Hz) e 1,82 (dd, $J = 6,5; 2,0$ Hz) referentes aos hidrogênios H-8, H-9 e H-10, respectivamente. Ainda no espectro de RMN de 1H , foi visto na região característica de hidrogênios em sistema aromático dois duplo dubletos com integral para 2 hidrogênios cada, acoplando *orto* e *meta* entre si em δ_H 7,39 ($J = 2,5; 6,5$ Hz) e 6,96 ($J = 2,0; 6,5$ Hz) referentes aos hidrogênios H-2'/6' e H-3'/5', compatíveis com um sistema AA'BB'. Além disso, os sinais em δ_H 7,24 (sl), 7,15 (dd, $J = 8,0; 1,5$ Hz) e 6,71 (d, $J = 8,0$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-4, H-6 e H-7. Observou-se ainda, um singlete em δ_H 3,80 com integral para 3 hidrogênios, referente a uma metoxila, inferindo que a substância em questão possui apenas um substituinte oxigenado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

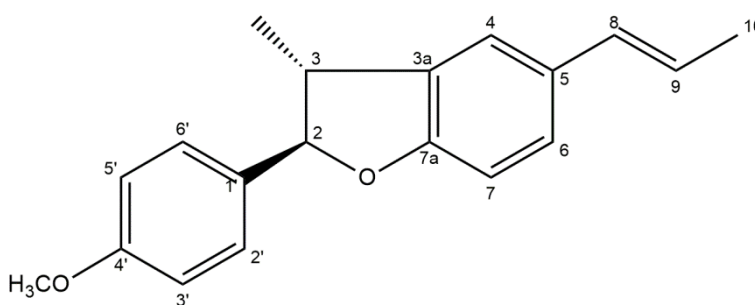
Esses assinalamentos e os demais foram confirmados através da análise do mapa de contornos heteronuclear HMQC (Figura 25) e em suas expansões (Figuras 26 e 27) e na tabela 4.

A posição da metoxila foi confirmada após análise do mapa de contornos heteronuclear HMBC (Figura 28) e em suas expansões (Figura 29 e 30), no qual foi observada uma correlação entre os hidrogênios metoxilícos (δ_H 3,80) a três ligações (3J) com o carbono C-4' (δ_C 160,6). Em adição, foi evidenciada a correlação entre os hidrogênios H-5' e H-2' (δ_H 7,39) a duas (2J) e três ligações (3J) com C-4', respectivamente, permitindo distinguir os carbonos C-4' e C7a (δ_C 159,3). As demais correlações estão compiladas na tabela 4.

Na análise de rotação óptica, a substância Kt-1 apresentou rotação específica positiva no valor de ($[\alpha]_D + 21^\circ$), mostrando que se trata do isômero 2*R*,3*R*. Na literatura é relatado à existência dos isômeros 2*R*, 3*R* e 2*S*, 3*S* para esse tipo de neolignana (ACHENBACH et al., 1987a; SAWASDEE; CHAOWASKU; LIKHITWITAYAWUID, 2010).

Assim, após compilação e análise dos dados espectrais e comparação com os dados descritos na literatura (ACHENBACH et al., 1991), foi possível identificar a substância Kt-1 como sendo (2*R*,3*R*)-2,3-diidro-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-5-(*E*)-propenilbenzofurano, relatada pela primeira vez na espécie *Krameria tomentosa*.

Figura 16 - Estrutura química de Kt-1.



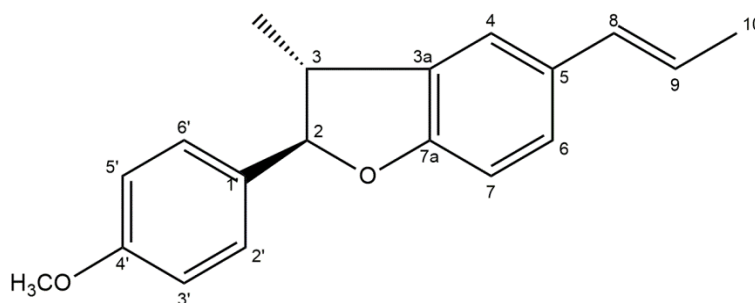
(2*R*,3*R*)-2,3-diidro-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-5-(*E*)-propenilbenzofurano

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4 - Dados de RMN de Kt-1 (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3COCD_3) comparados com dados da literatura (ACHENBACH et al., 1991).

Posição	Kt-1		HMBC $\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}}$	Referência ¹	
	HMQC δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}		δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}
2	5,13 (d, 1H; 8,5)	93,1	Me-3	5,10 (d; 1H; 9,0)	93,2
3	3,40-3,34 (m, 1H)	45,9	Me-3	3,36 (m, 1H)	46,0
3a	-	133,7	Me-3	-	133,9
4	7,24 (sl, 1H)	121,7	-	7,0-7,2 (m, 2H)	121,8
5	-	132,0	H-7	-	132,1
6	7,15 (dd, 1H; 8,0; 1,5)	127,1	-	7,0-7,2 (m, 2H)	127,1
7	6,71 (d, 1H; 8,0)	109,6	-	6,69 (d, 1H; 8,0)	109,7
7a	-	159,3	H-4, H-6	-	159,4
8	6,39 (dd, 1H; 16,0; 2,0)	131,8	Me-10	6,35 (d, 1H; 16,0)	131,9
9	6,16 (dq, 1H 13,0; 6,5)	123,0	Me-10	5,9-6,2 (m, 1H)	123,1
10	1,82 (dd, 3H; 6,5; 2,0)	18,4	-	1,82 (dl, 3H; 5,0)	18,4
1'	-	133,4	H-3', H-5'	-	133,5
2'/6'	7,39 (dd, 2H; 6,5; 2,5)	128,4	H-6'	7,38 (d, 2H)	128,4
3'/5'	6,96 (dd, 2H; 6,5; 2,5)	114,6	-	6,95 (d, 2H)	114,8
4'	-	160,6	H-2', H6, OCH ₃	-	160,8
OCH₃-4	3,80 (s, 3H)	55,5	-	3,81 (s)	55,6
Me-3	1,39 (d, 3H; 7,0)	18,1	-	1,39 (s)	18,3

¹Obtido em 90 e 22,5 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3COCD_3 .



Kt-1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 17 - Espectro de massas de alta resolução (ESI+) de Kt-1.

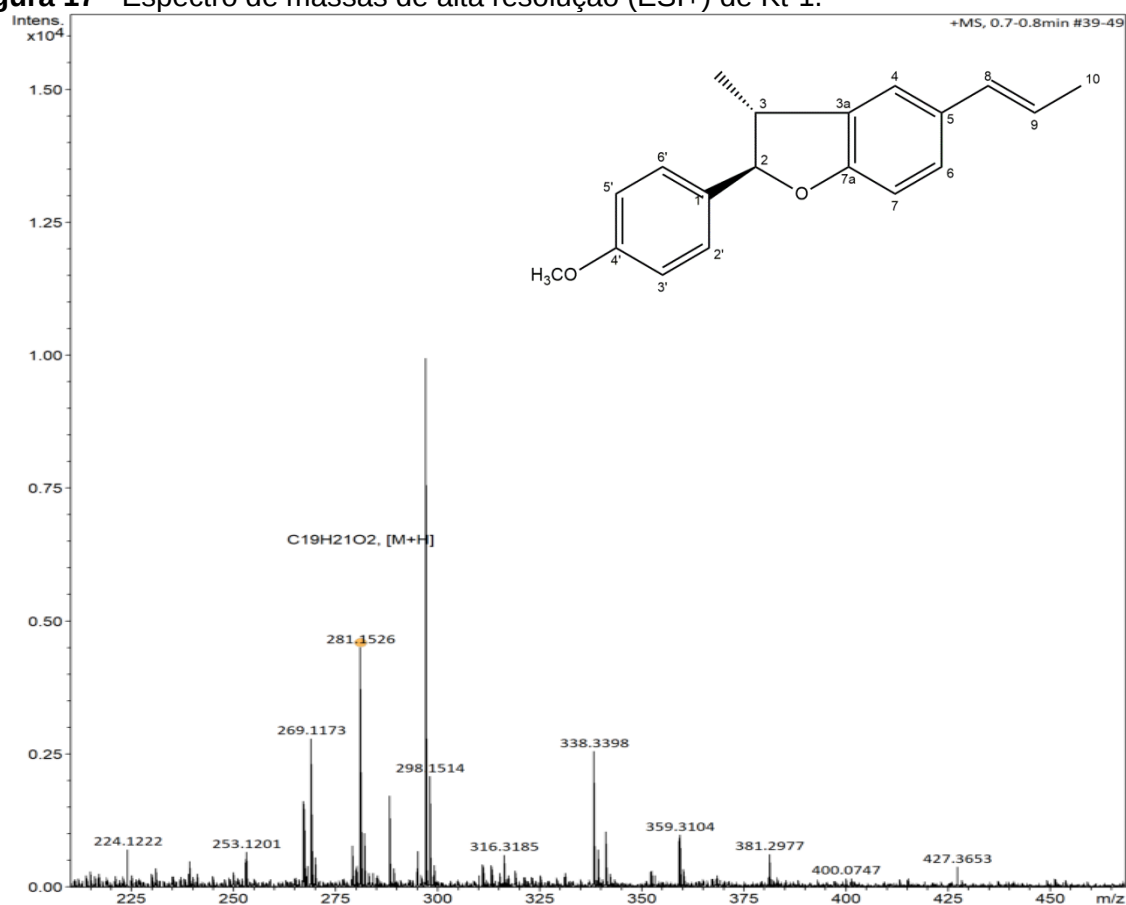
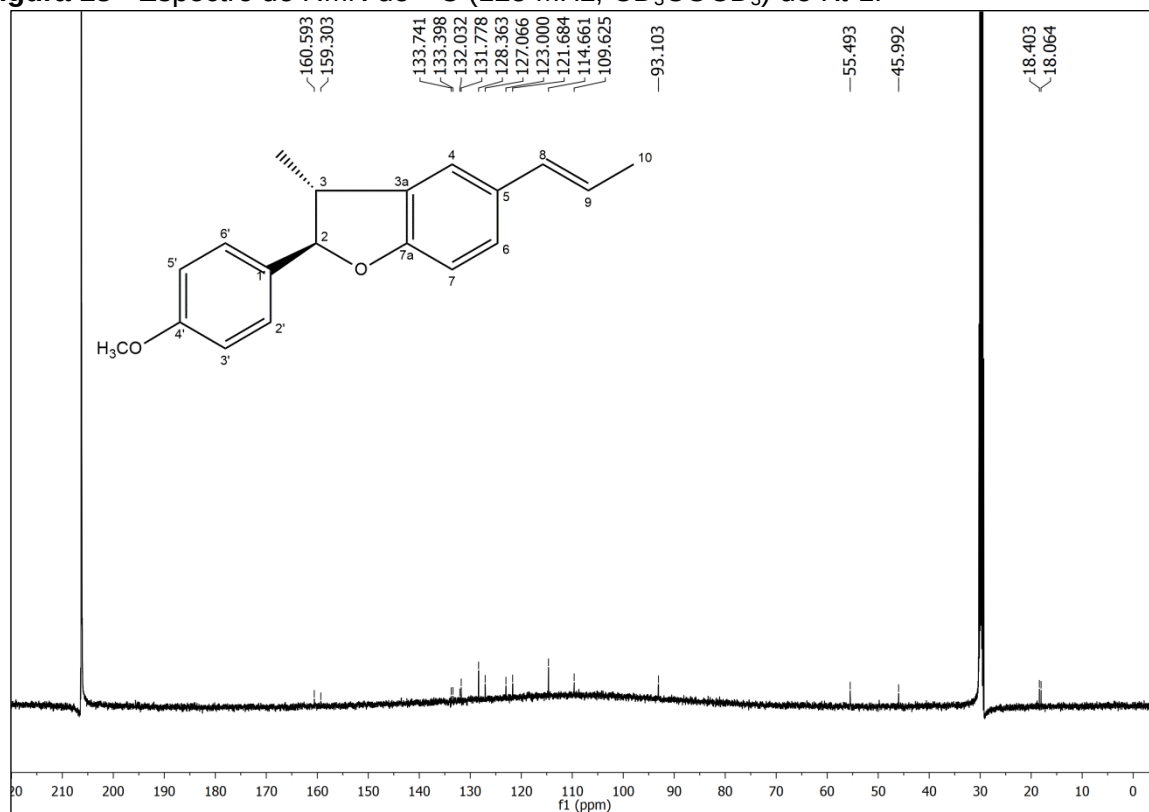


Figura 18 - Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, CD₃COCD₃) de Kt-1.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 19 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.

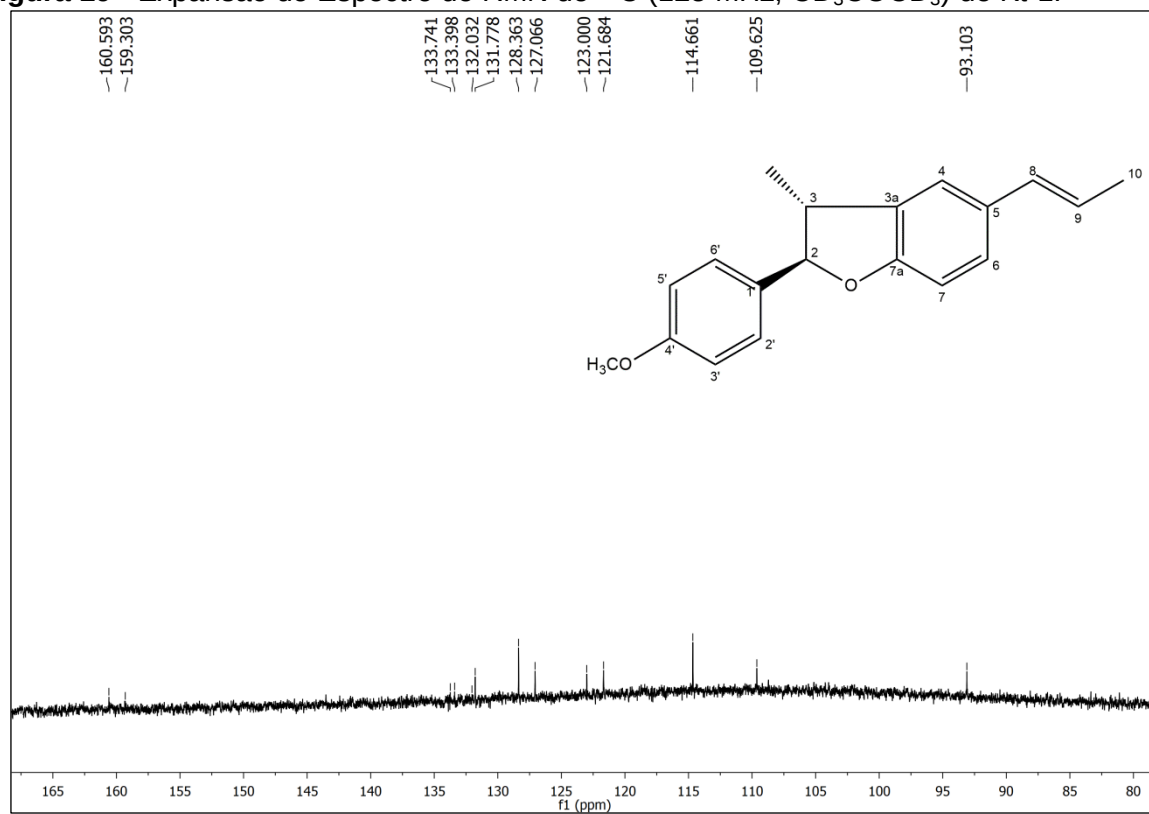
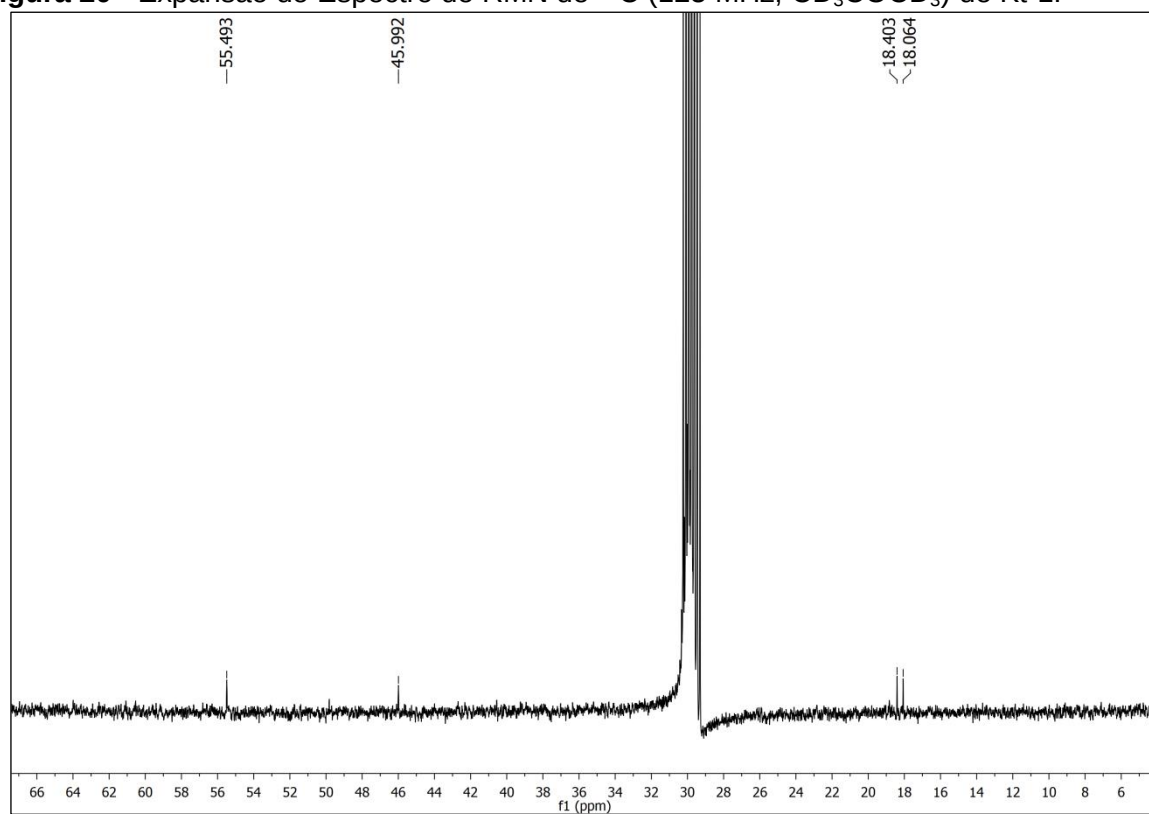


Figura 20 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 21 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.

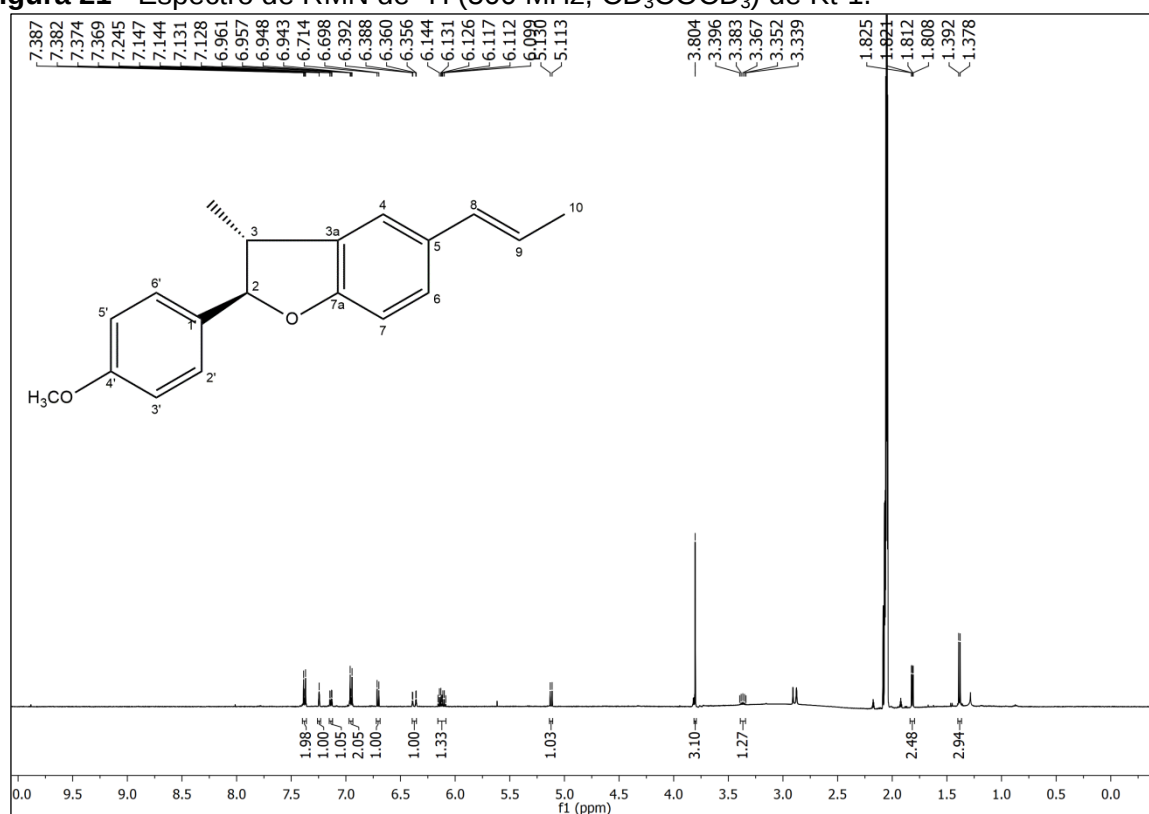
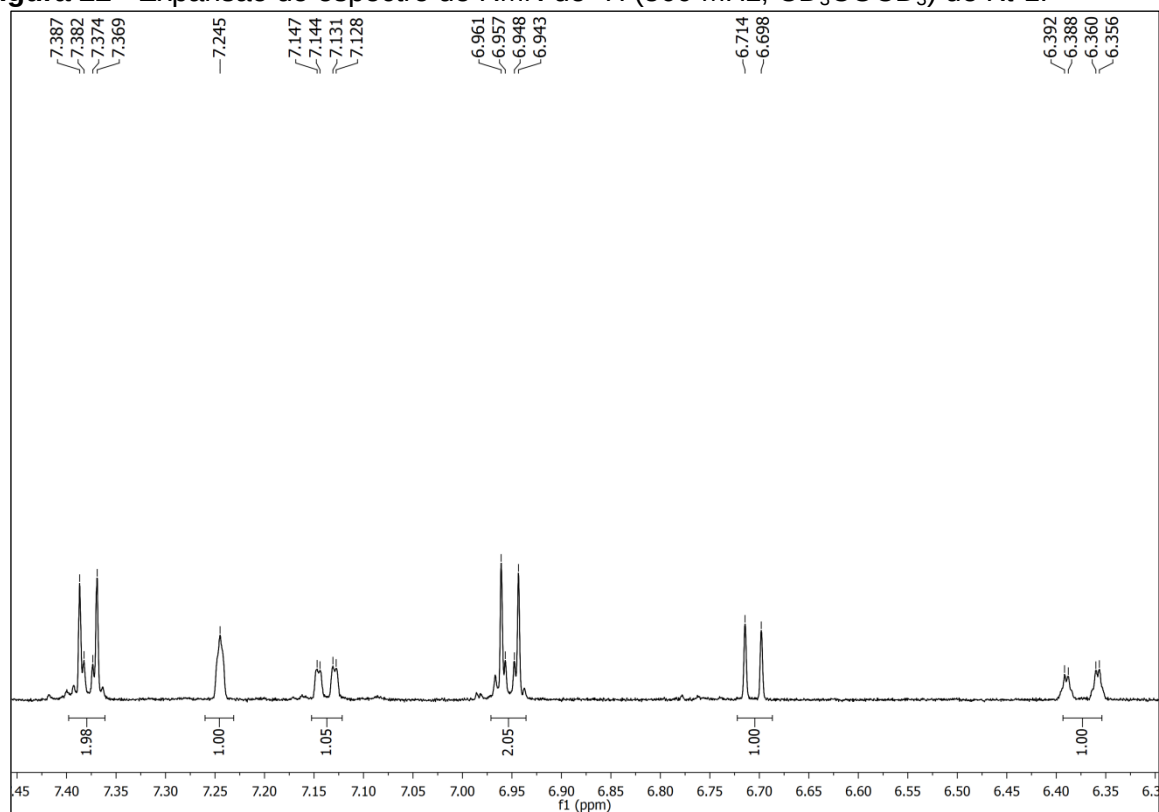


Figura 22 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 23 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.

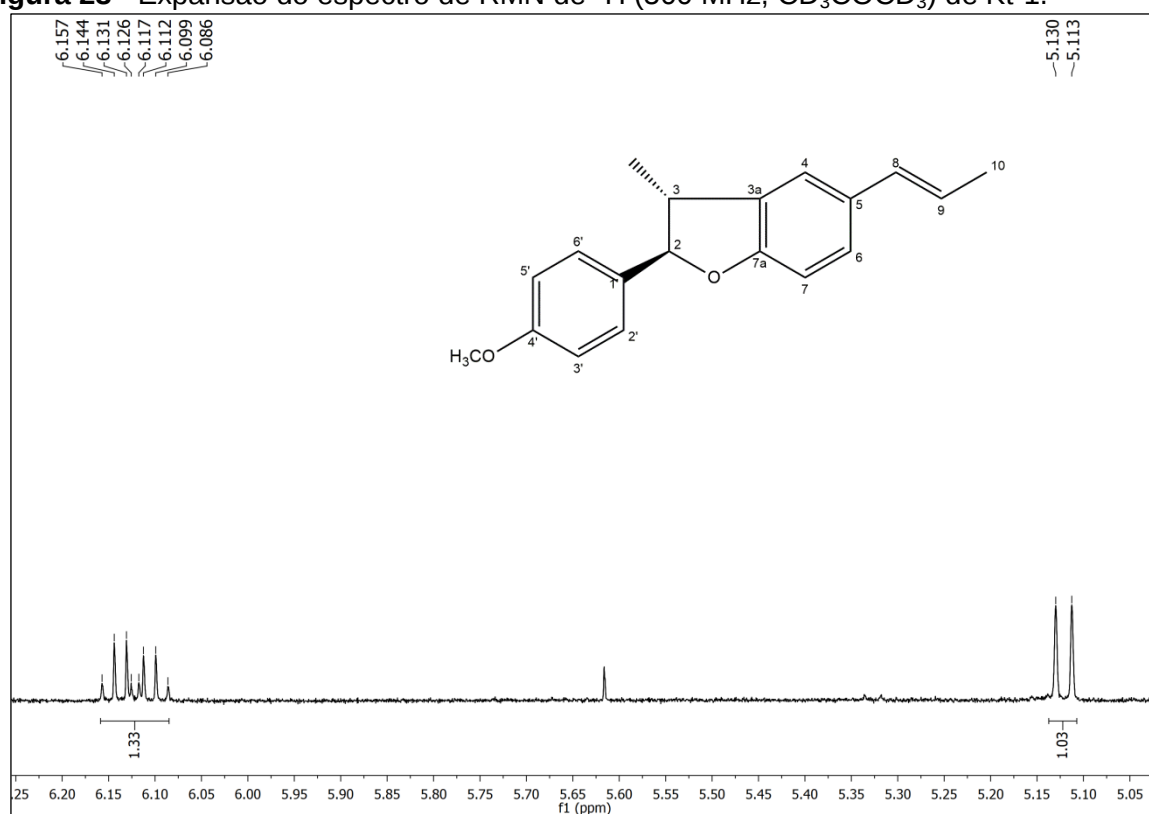
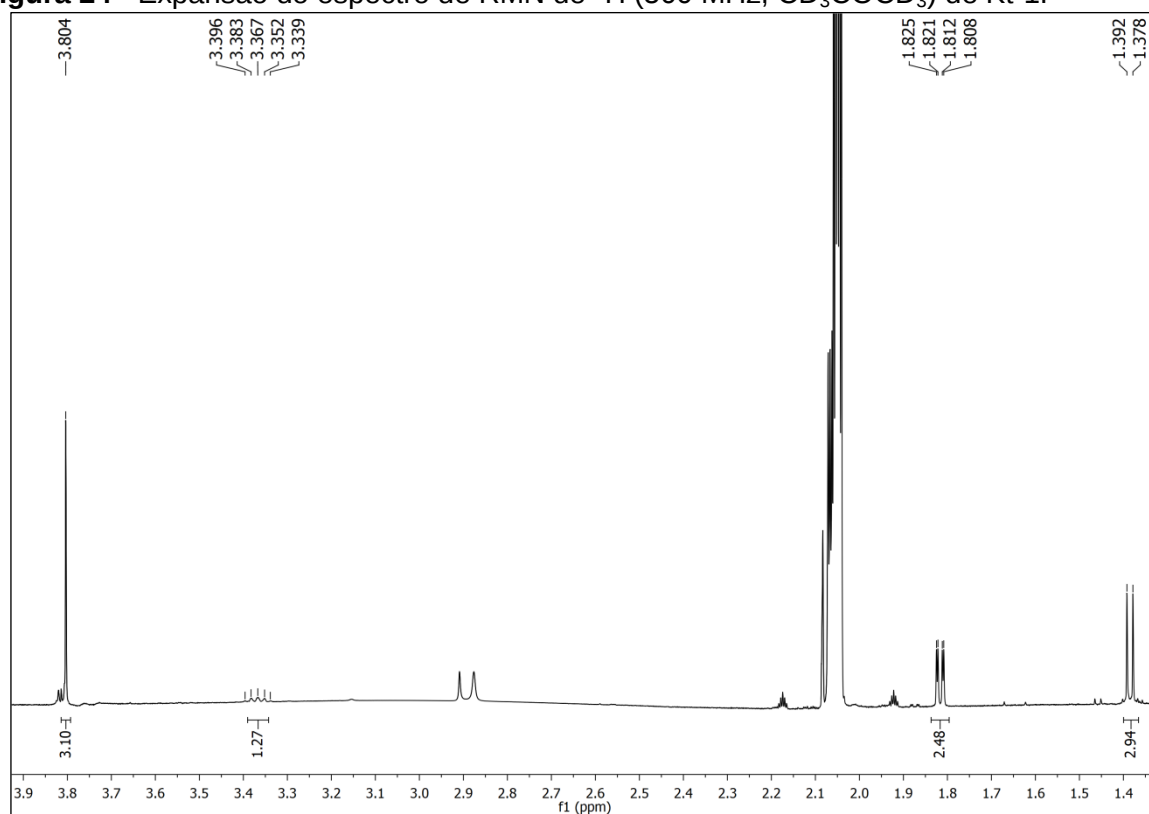


Figura 24 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 25 - Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.

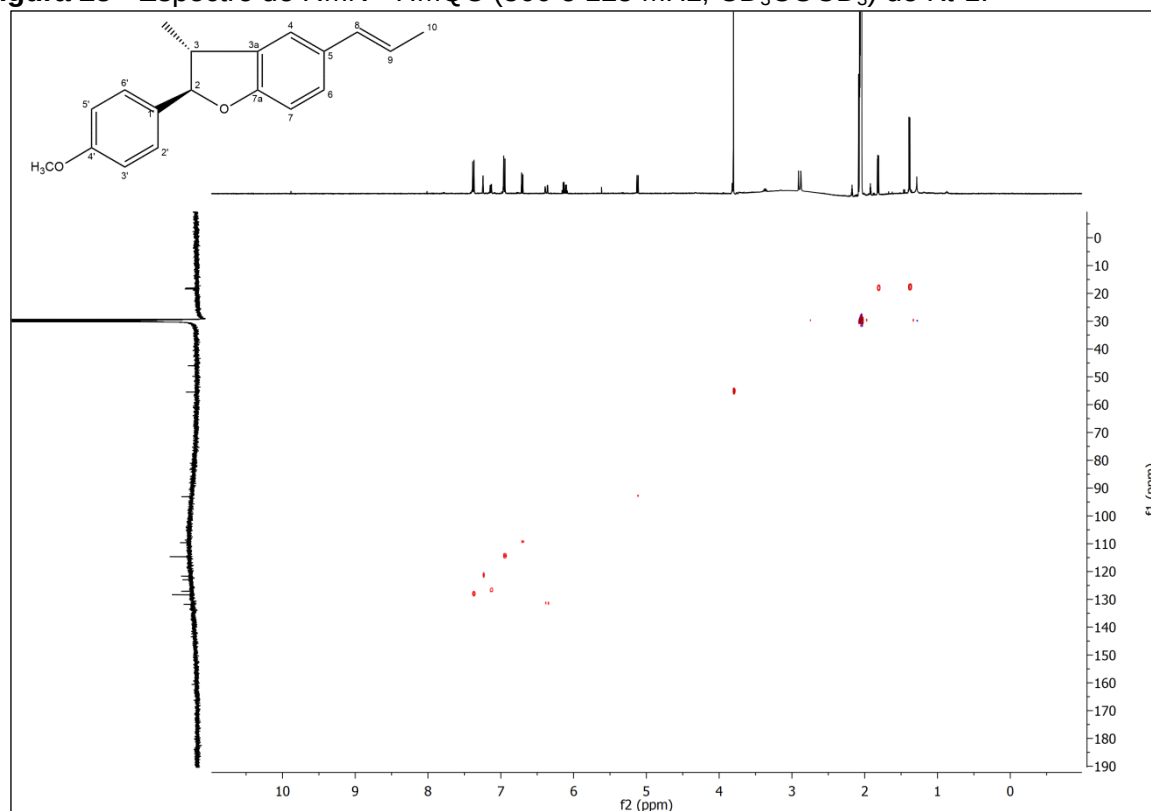
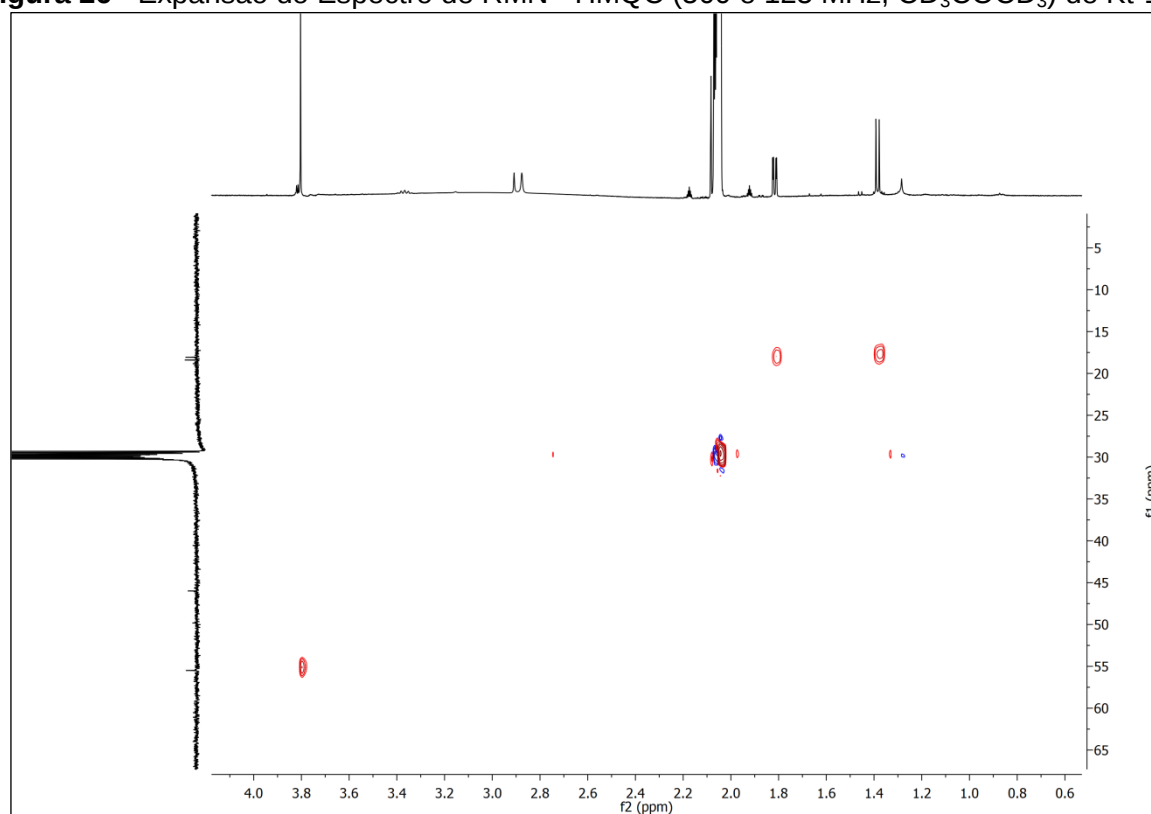


Figura 26 - Expansão do Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 27 - Expansão do Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.

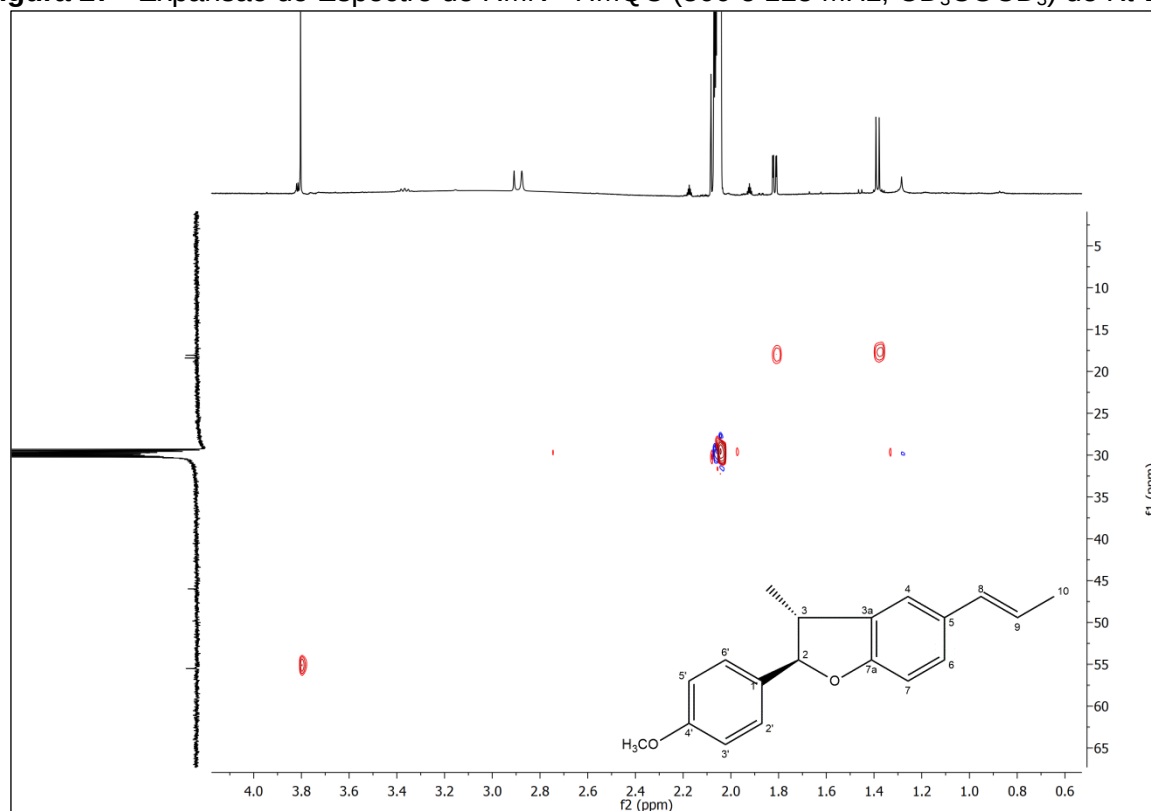
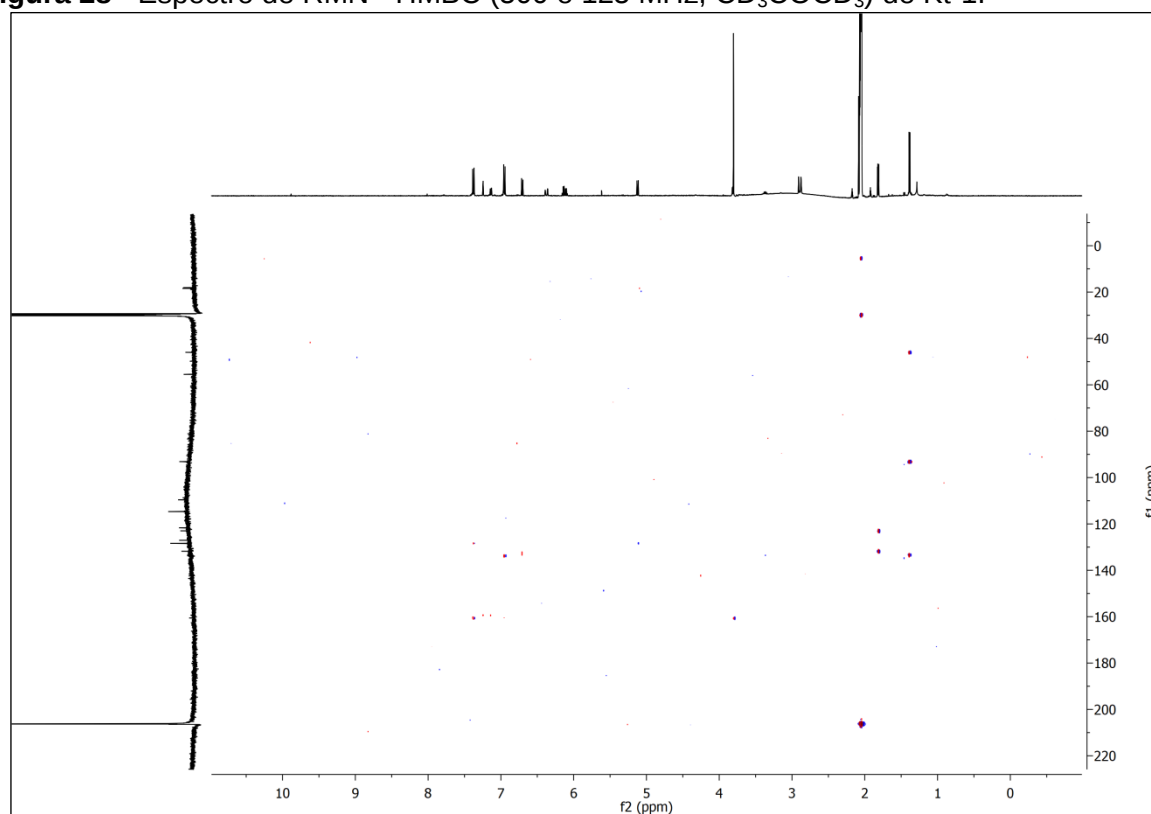


Figura 28 - Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 29 - Expansão do Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.

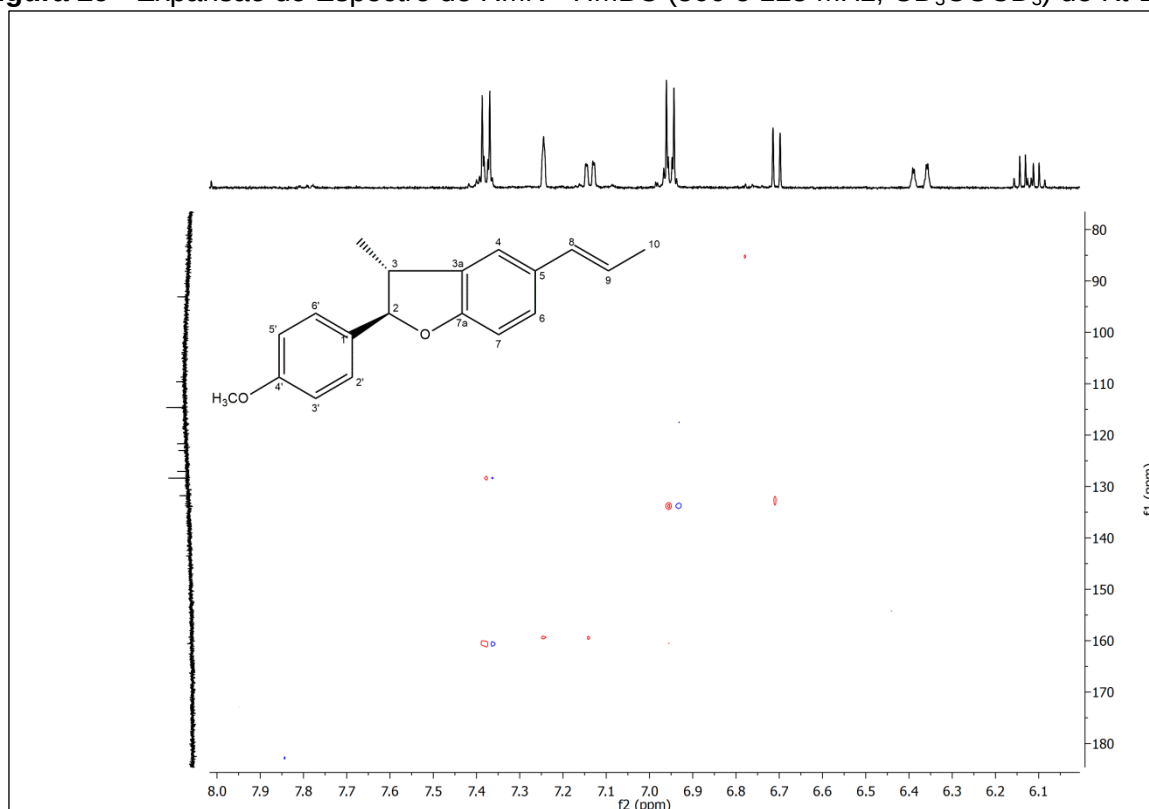
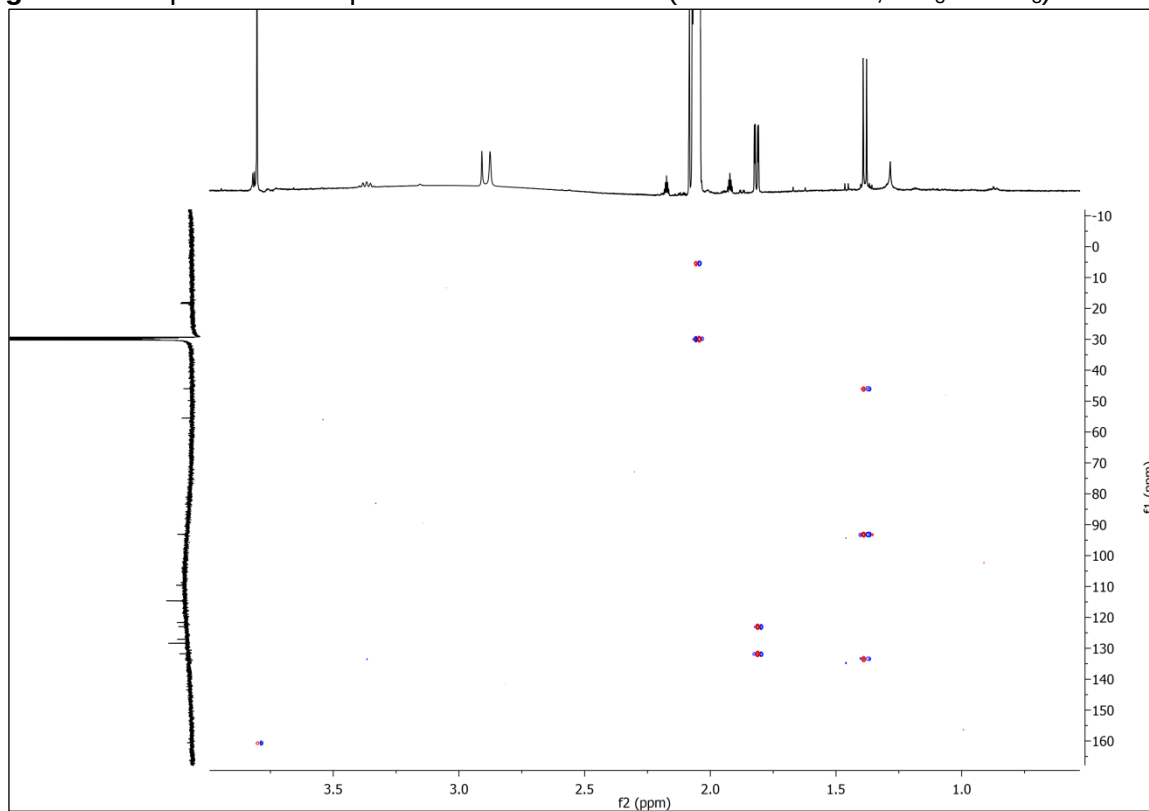


Figura 30 - Expansão do Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-1.



5.2 Determinação estrutural de Kt-2

A substância codificada como Kt-2 foi isolada na forma de um óleo incolor, pesando 2,4 mg.

No espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, CDCl_3) (Figura 32) e em suas expansões (figuras 33 e 34), foi possível verificar a presença de 17 sinais correspondentes a 19 átomos de carbono. Estes sinais foram atribuídos a 5 carbonos não hidrogenados, sendo 3 oxigenados, 11 carbonos metínicos, 2 carbonos metílicos e 1 carbono oximetílico. Tais sinais foram semelhantes aos encontrados em Kt-1, dessa forma, aliado aos relatos da grande presença de neolignanas na família (ACHENBACH et al., 1987a; DOMINGUEZ., 1992), pode-se sugerir que Kt-2 poderia pertencer a esta classe de metabólito secundário. Foi possível sugerir também a presença de dois radicais propenila, devido à presença dos sinais em δ_{C} 130,4 (C-7'), 124,7 (C-8') e 18,6 (C-9'), assim como os sinais em δ_{C} 130,0 (C-7), 124,5 (C-8) e 18,5 (C-9) que caracterizaram a segunda unidade propenila.

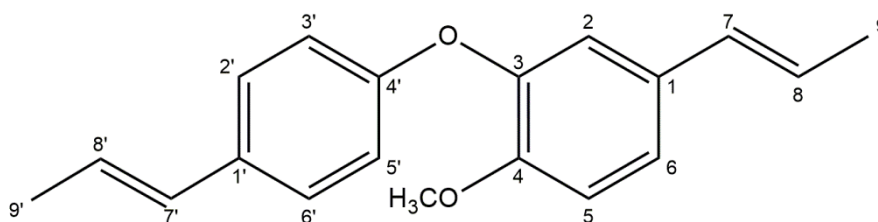
Essa proposta foi sustentada após verificar os sinais no espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 35) e em suas expansões (Figuras 36, 37 e 38), em δ_{H} 6,36 (H-7'), 6,14 (H-8'), 1,85 (H-9') e δ_{H} 6,27 (H-7), 6,04 (H-8), 1,81 (H-9) caracterizando os hidrogênios das duas unidades propenilas. Foi verificada também a presença de um sistema AA'BB' devido a presença de dois duplo dubletos com integral para 2 hidrogênios cada na região de sistema aromático em δ_{H} 7,24 ($J = 2,0$; 7,0 Hz) e 6,86 ($J = 2,5$; 7,0 Hz) referentes aos hidrogênios H-2'/6' e H-3'/5' respectivamente. Ainda, na região de hidrogênios aromáticos, observou-se a presença de um duplo dubleto em δ_{H} 7,04 (H-6) ($J = 2,0$ e 8,5 Hz) acoplando com os dubletos em δ_{H} 6,90 (H-5) ($J = 8,5$ Hz) e δ_{H} 6,95 (H-2) ($J = 2,5$ Hz) característicos de um sistema ABX.

Assim, de acordo com estes dados, pode-se sugerir que Kt-2 possui um esqueleto de uma 3-4'-oxineolignana (TEPONNO; KUSARI; SPITELLER, 2016), com a presença de um substituinte metoxilo, o qual foi assinalado devido a presença dos sinais em δ_{H} 3,80 (s) com integral para 3 hidrogênios e em δ_{C} 56,3 (OCH_3). Os demais deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de Kt-2 podem ser vistos na tabela 5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desta forma, após análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com os dados descritos na literatura (MADEIRO et al., 2012), foi possível identificar a substância Kt-2 como sendo 1,1'-(*E*)-propenil-4-metoxi-3,4'-oxineolignana ou ottomentosa. Esta substância já foi relatada anteriormente nesta espécie (MADEIRO et al., 2012), porém, ainda não foi testada farmacologicamente.

Figura 31 - Estrutura química de Kt-2.



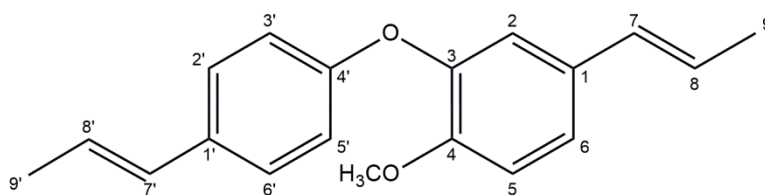
Ottomentosa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 5 - Dados de RMN de Kt-2 (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3) comparados com dados da literatura (MADEIRO et al., 2012).

Posição	Kt-2		Referência ¹	
	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}
1	-	131,8	-	132,6
2	6,95 (d, 1H; 2,5)	118,1	6,95 (d, 1H; 2,5)	117,9
3	-	145,4	-	145,2
4	-	150,4	-	150,3
5	6,90 (d, 1H; 8,5)	112,9	6,89 (d, 1H; 8,5)	112,8
6	7,04 (dd, 1H; 2,0; 8,5)	122,4	7,04 (dd, 1H; 2,5; 8,5)	122,2
7	6,27 (dd, 1H; 1,5; 15,5)	130,0	6,25 (dd, 1H; 1,5; 16)	129,9
8	6,04 (dq, 1H; 6,5; 15,5)	124,5	6,00 (dq, 1H; 6,5; 16)	124,3
9	1,81 (dd, 3H; 2,0; 6,5)	18,5	1,80 (dd, 3H; 1,5; 6,5)	18,3
1'	-	132,7	-	132,6
2'/6'	7,24 (dd, 2H; 2,0; 8,0)	127,0	7,23 (d, 2H; 9,0)	126,9
3'/5'	6,86 (dd, 2H; 2,5; 7,0)	117,5	6,85 (d, 2H; 9,0)	117,3
4'	-	156,9	-	156,8
7'	6,36 (dd, 1H; 1,5; 16)	130,4	6,33 (dd, 1H; 1,5; 16)	130,3
8'	6,14 (dq, 1H; 7,0; 16)	124,7	6,10 (dq, 1H; 6,5; 16)	124,5
9'	1,85 (dd, 3H; 2,0; 7,0)	18,6	1,83 (dd, 3H; 1,5; 6,5)	18,4
OCH₃-4	3,80 (s, 3H)	56,3	3,80 (s, 3H)	56,1

¹Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3 .



Kt-2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 32 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Kt-2.

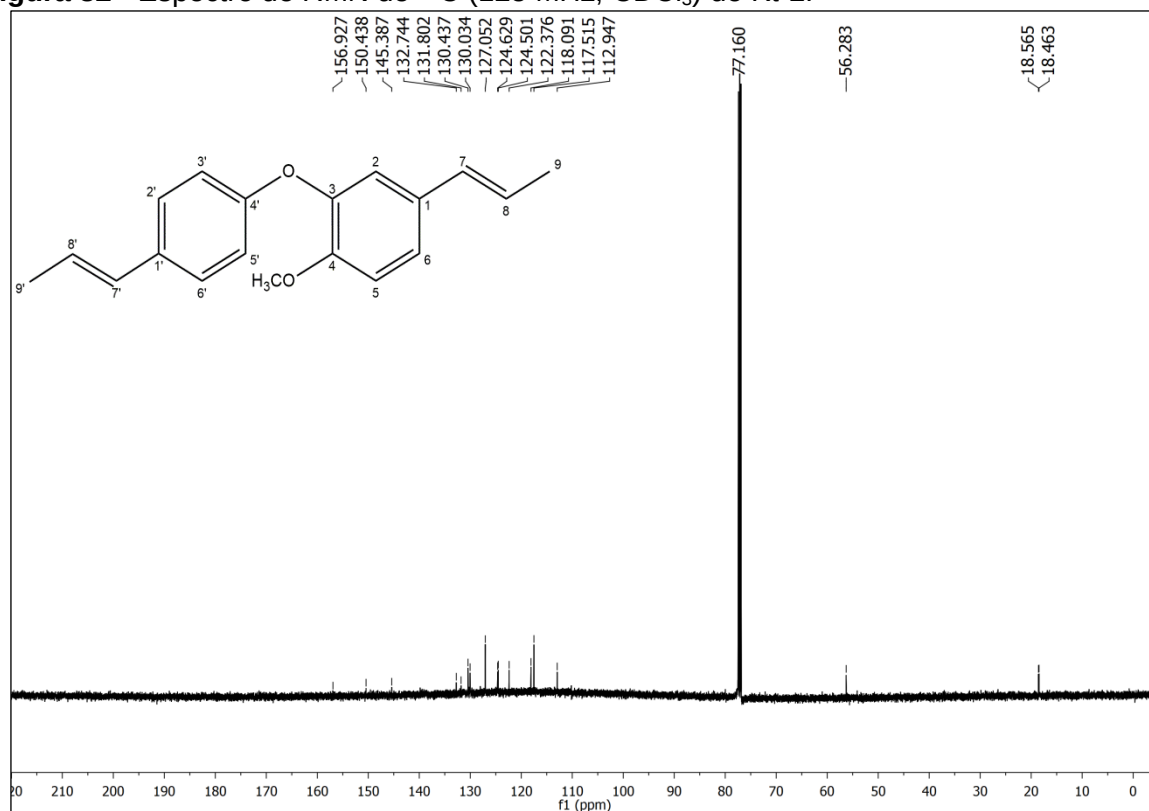
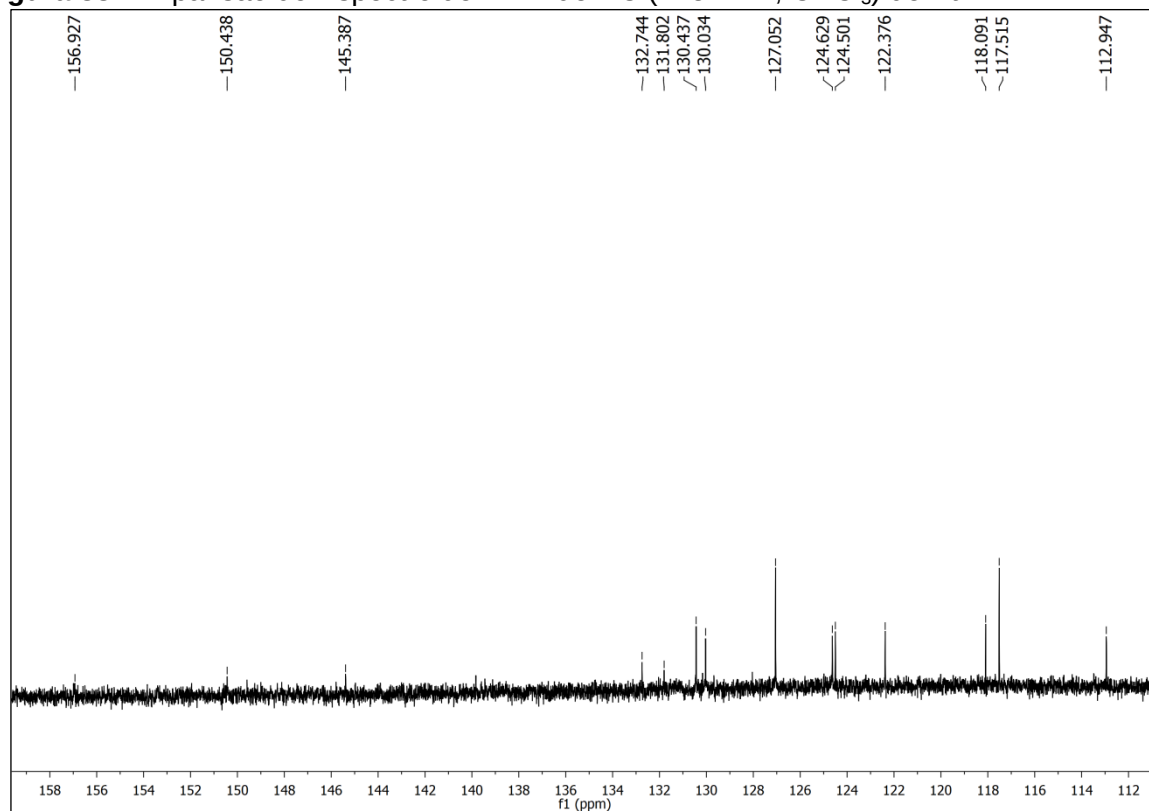


Figura 33 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Kt-2.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 34 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de Kt-2.

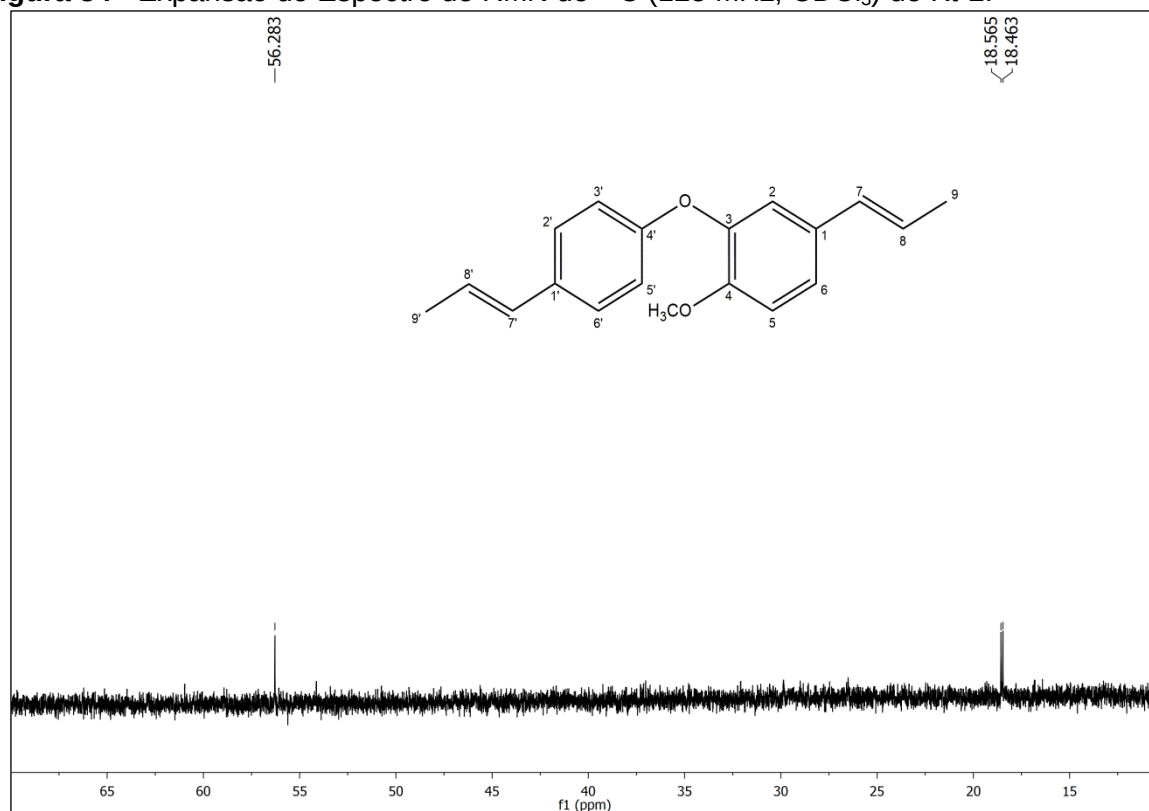
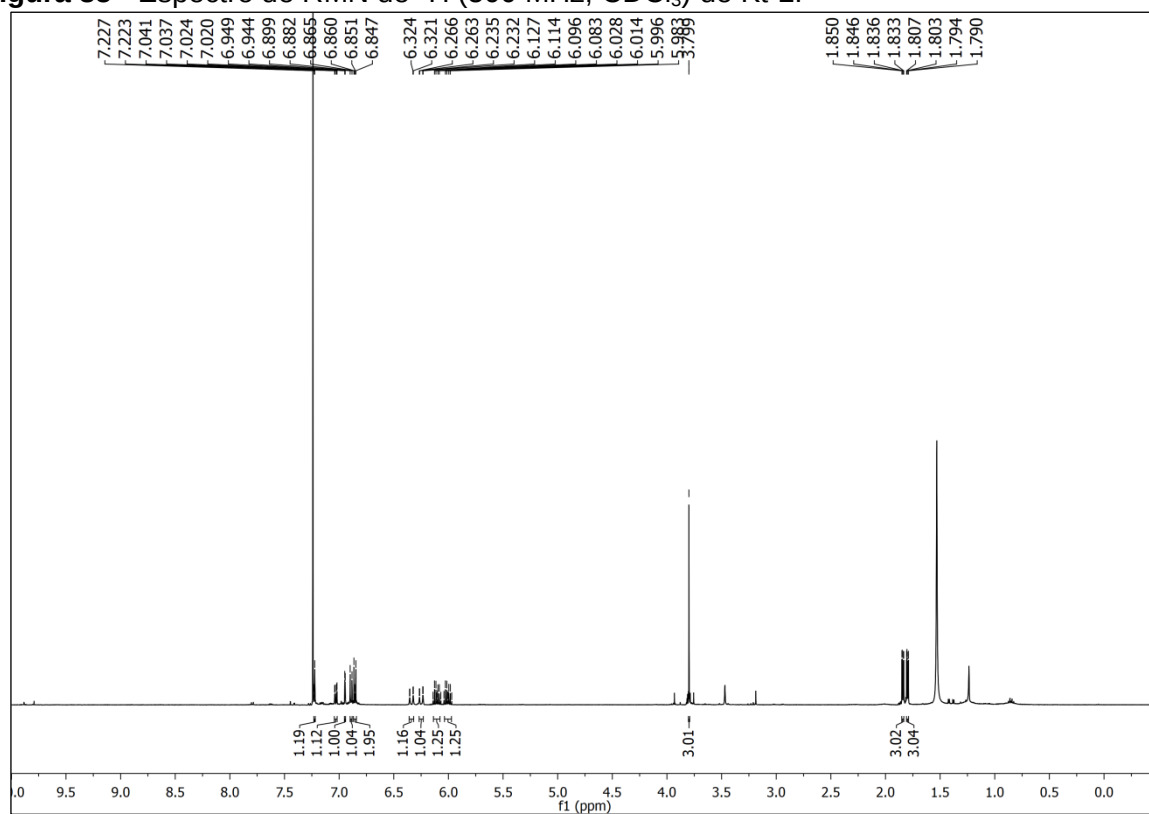


Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 36 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.

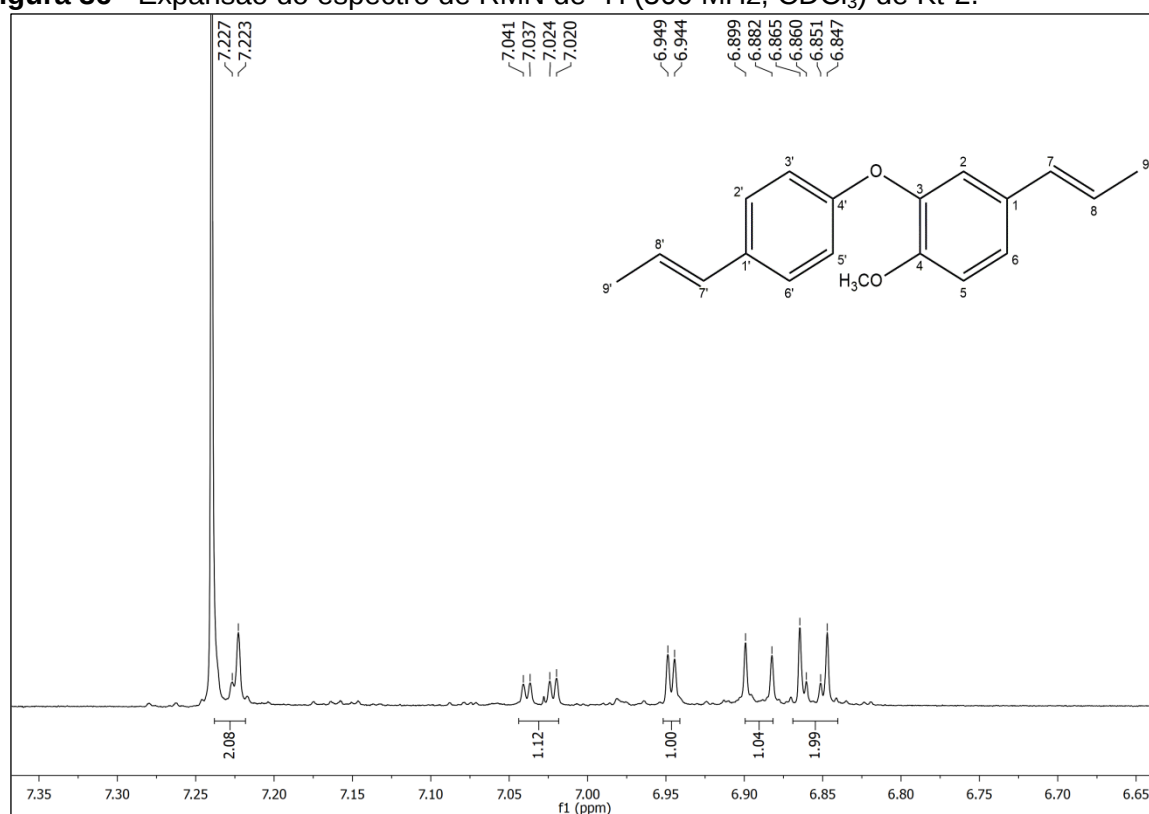
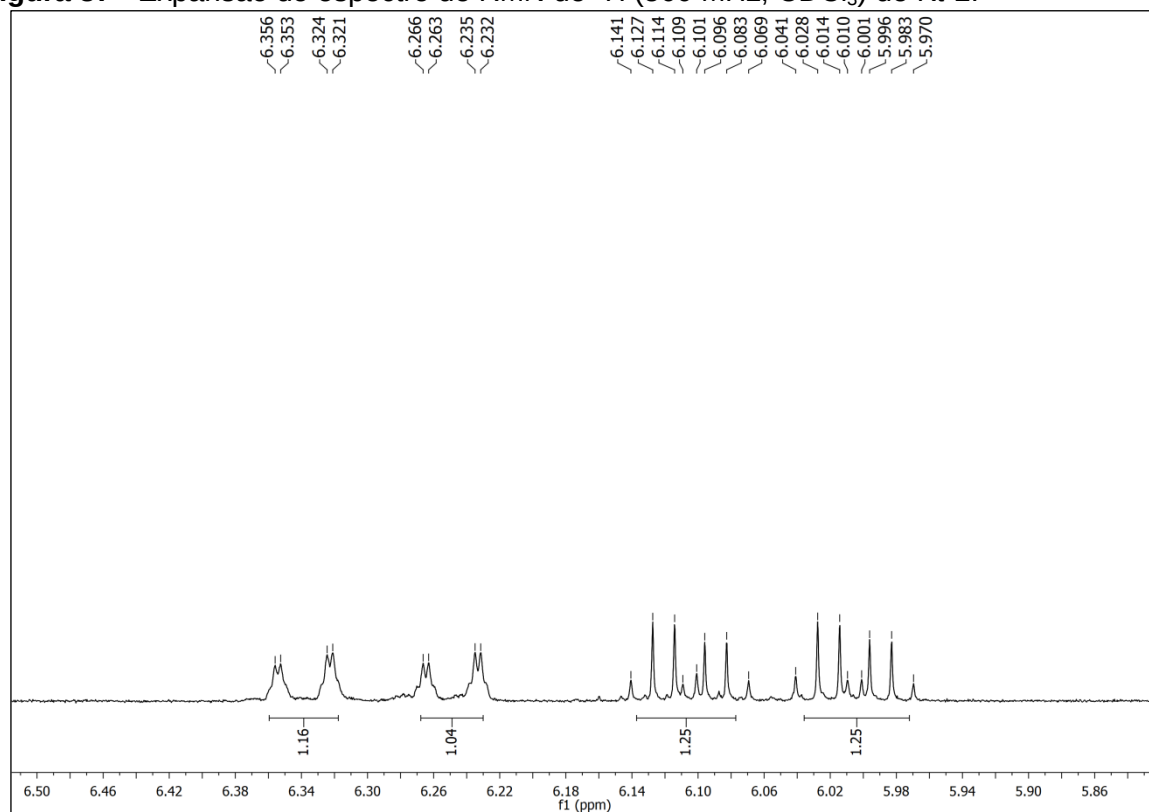
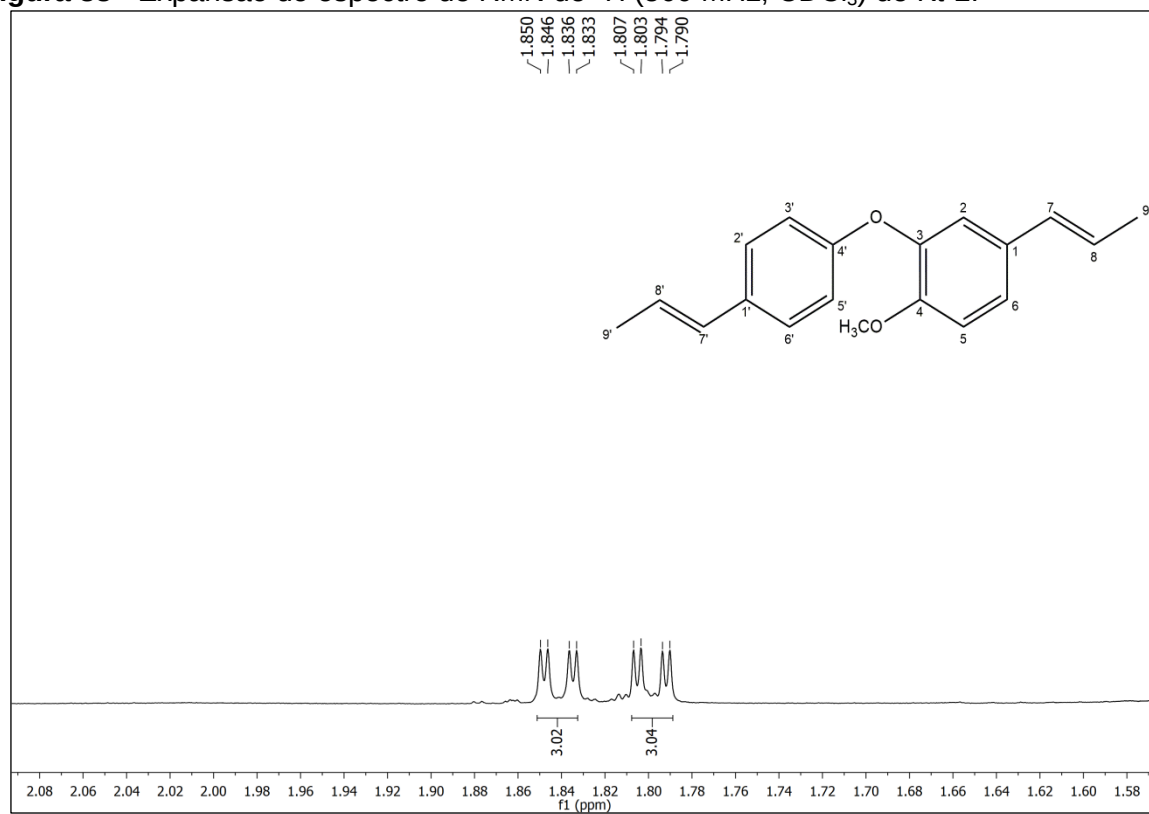


Figura 37 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 38 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-2.



5.3 Determinação estrutural de Kt-3

A substância codificada como Kt-3 foi isolada na forma de cristais incolores, pesando 10,3 mg.

No espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) (Figura 40) e em suas expansões (figuras 41 e 42), observou-se a presença de 19 sinais correspondentes a 19 átomos de carbono. Através de seus deslocamentos químicos, pode-se atribuir estes sinais a 8 carbonos não hidrogenados, sendo 5 oxigenados, 8 a carbonos metínicos, 1 carbono metílico e 2 carbonos oximetílicos. Os sinais observados em δ_{C} 152,0 e 105,8, são sinais norteadores que caracterizam o esqueleto básico de uma neolignana do tipo nor-benzofurânica (ACHENBACH et al., 1987b; DOMINGUEZ., 1992), os quais foram atribuídos respectivamente aos carbonos C-2 e C-3, levando a sugerir que Kt-3 poderia possuir este tipo de esqueleto. Essa hipótese é sustentada pela ausência do sinal referente à metila em δ_{C} 9,40 da posição 3 (Me-3) que é característica das neolignanas do tipo benzofurânica tradicionais (ACHENBACH et al., 1987a).

Essa proposta foi fortalecida ao analisar o espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 43) e suas expansões (Figuras 44, 45 e 46), e verificar a ausência do singlete em δ_{H} 2,40, referente a Me-3 e perceber a presença do sinal em δ_{H} 7,13 (d, $J = 1,0$ Hz) que foi atribuído ao hidrogênio H-3, sinal este, norteador para identificação de neolignanas do tipo nor-benzofurânica (ACHENBACH et al., 1987a, 1987b). A presença dos sinais em δ_{H} 6,51 (dd, $J = 2,0$; 16 Hz), 6,26 (dq, $J = 7,0$; 15,5 Hz) e 1,92 (dd, $J = 1,5$; 6,5 Hz), referente aos hidrogênios H-8, H-9 e H-10, respectivamente, caracterizaram os hidrogênios da unidade propenila. Também foram observados deslocamentos químicos em δ_{H} 7,50 (d, $J = 1,5$ Hz), 7,28 (dd, $J = 1,5$; 8,5 Hz) e 7,40 (dl, $J = 8,5$ Hz) os quais foram atribuídos aos hidrogênios H-4, H-6 e H-7 respectivamente, sinais estes, característicos de um sistema ABX de neolignanas do tipo nor-benzofurânica (ACHENBACH et al., 1987b; ACHENBACH et al., 1991).

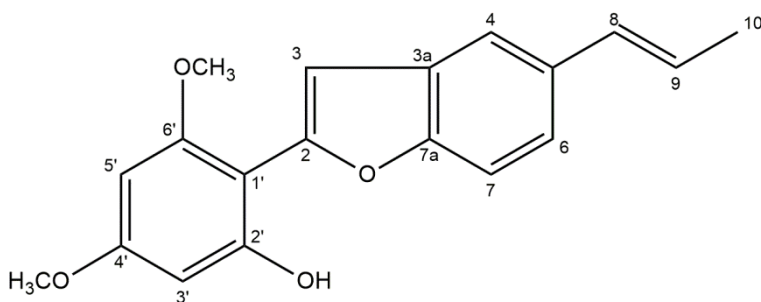
Ainda no espectro de RMN de ^1H , foram observados dois dubletos com integral para 1 hidrogênio cada acoplando *meta* entre si em δ_{H} 6,24 ($J = 2,5$ Hz) e 6,16 ($J = 2,5$ Hz), que foram atribuídos aos hidrogênios H-5' e H-3' respectivamente, referentes ao anel A da substância, sugerindo que este seria um anel

RESULTADOS E DISCUSSÃO

tetrasubstituído. Notou-se ainda, a presença de um singlete em δ_H 8,32 com integral para 1 hidrogênio, que foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila. Os demais deslocamentos químicos de RMN de 1H e ^{13}C de Kt-3 podem ser vistos na tabela 6.

Após análise dos dados de RMN de 1H e ^{13}C e comparação com os dados descritos na literatura (SILVA et al., 2001; ACHENBACH et al., 1987b), foi possível identificar a substância Kt-3 como sendo a nor-neolignana 2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-5-(E)-propenilbenzofurano. O isolamento desta substância já foi relatado em *Krameria ramosissima* (ACHENBACH, 1987b) bem como em *Krameria tomentosa* (SILVA et al., 2001).

Figura 39 - Estrutura química de Kt-3.



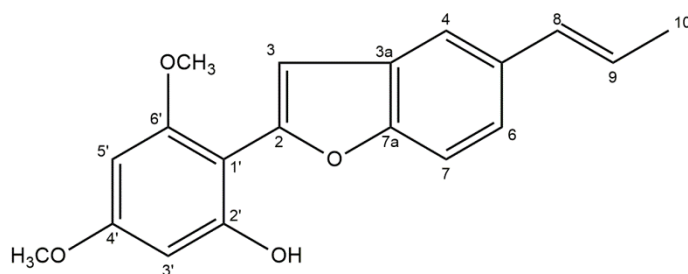
2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-5-(E)-propenilbenzofurano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 6 - Dados de RMN de Kt-3 (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3) comparados com dados da literatura (SILVA et al., 2001).

Posição	Kt-3		Referência ¹	
	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}
2	-	152,0	-	151,8
3	7,13 (d, 1H; 1,0)	105,8	7,10 (d, 1H; 0,8)	105,5
3a	-	129,1	-	128,9
4	7,50 (d, 1H; 1,5)	117,9	7,47 (d, 1H; 1,4)	117,7
5	-	133,8	-	133,6
6	7,28 (dd, 1H; 1,5; 8,5)	122,2	7,25 (d, 1H; 1,4)	122,0
7	7,40 (dl, 1H; 1,5; 8,5)	110,5	7,36 (d, 1H; 8,5)	110,3
7a	-	151,9	-	151,7
8	6,51 (dd, 1H; 2,0; 16)	131,2	6,47 (dd, 1H; 1,5; 14,6)	131,0
9	6,26 (dq, 1H; 7,0; 15,5)	124,8	6,19 (dq, 1H; 6,6; 14,6)	124,6
10	1,92 (dd, 3H; 1,5; 6,5)	18,6	-	18,5
1'	-	99,3	-	99,0
2'	-	156,8	-	156,6
3'	6,16 (d, 1H; 2,5)	94,4	6,12 (d, 1H; 2,3)	94,7
4'	-	161,8	-	161,5
5'	6,24 (d, 1H; 2,5)	92,0	6,21 (d, 1H; 2,3)	91,9
6'	-	158,8	-	158,6
OCH₃-6'	3,91 (s, 3H)	55,5	3,86 (s)	55,3
OCH₃-4'	3,83 (s, 3H)	55,9	3,79 (s)	55,6
OH	8,32 (s, 1H)	-	8,36 (s)	-

¹Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3 .



Kt-3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 40 - Espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de Kt-3.

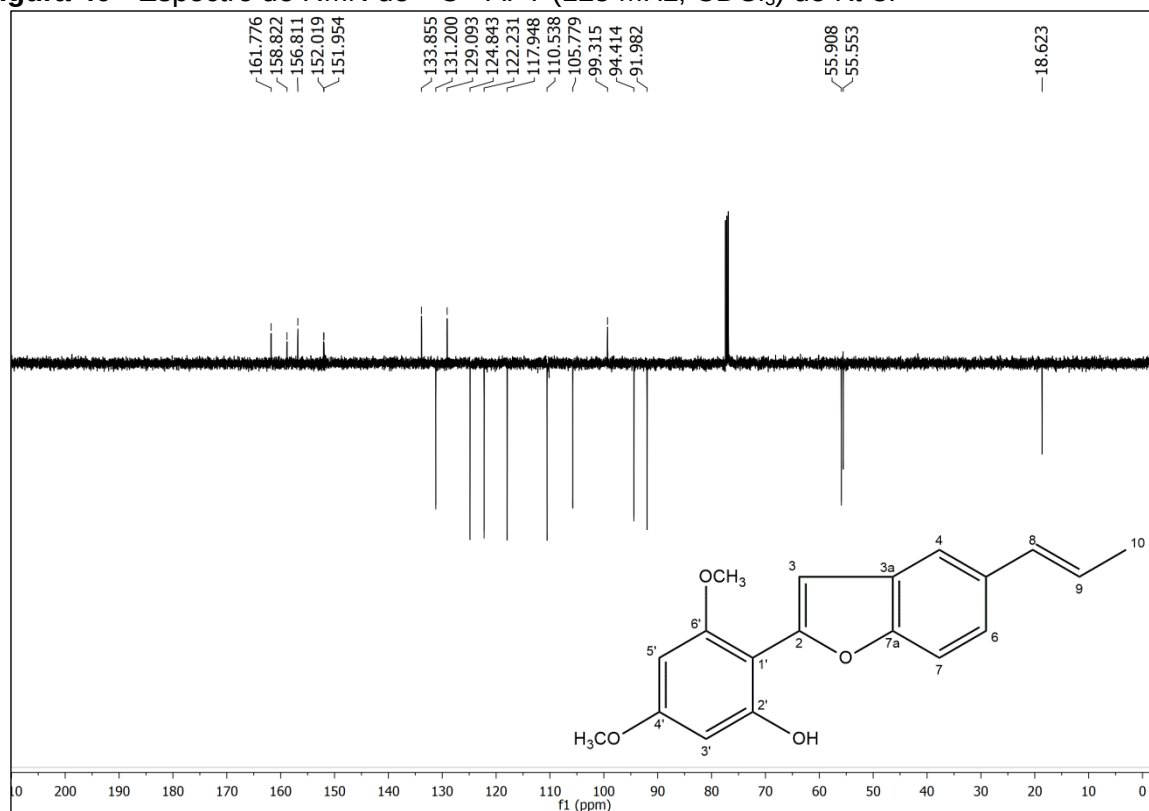
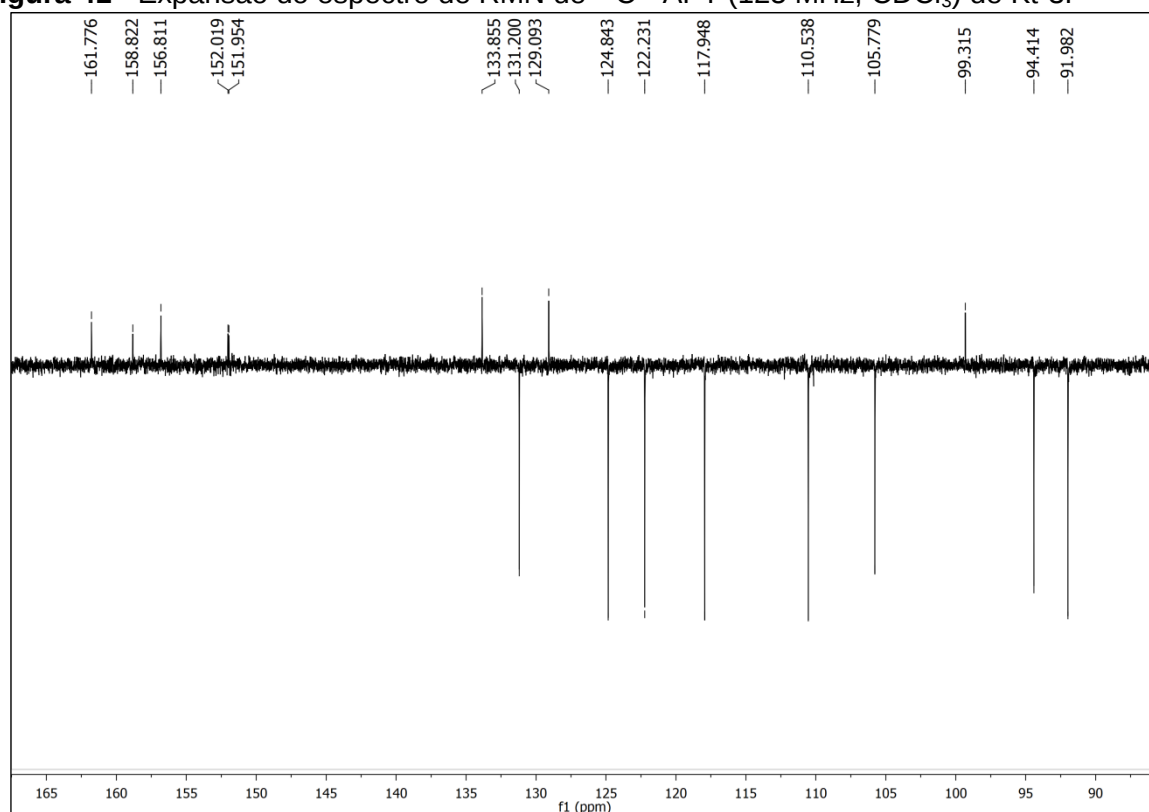


Figura 41 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de Kt-3.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 42 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3) de Kt-3.

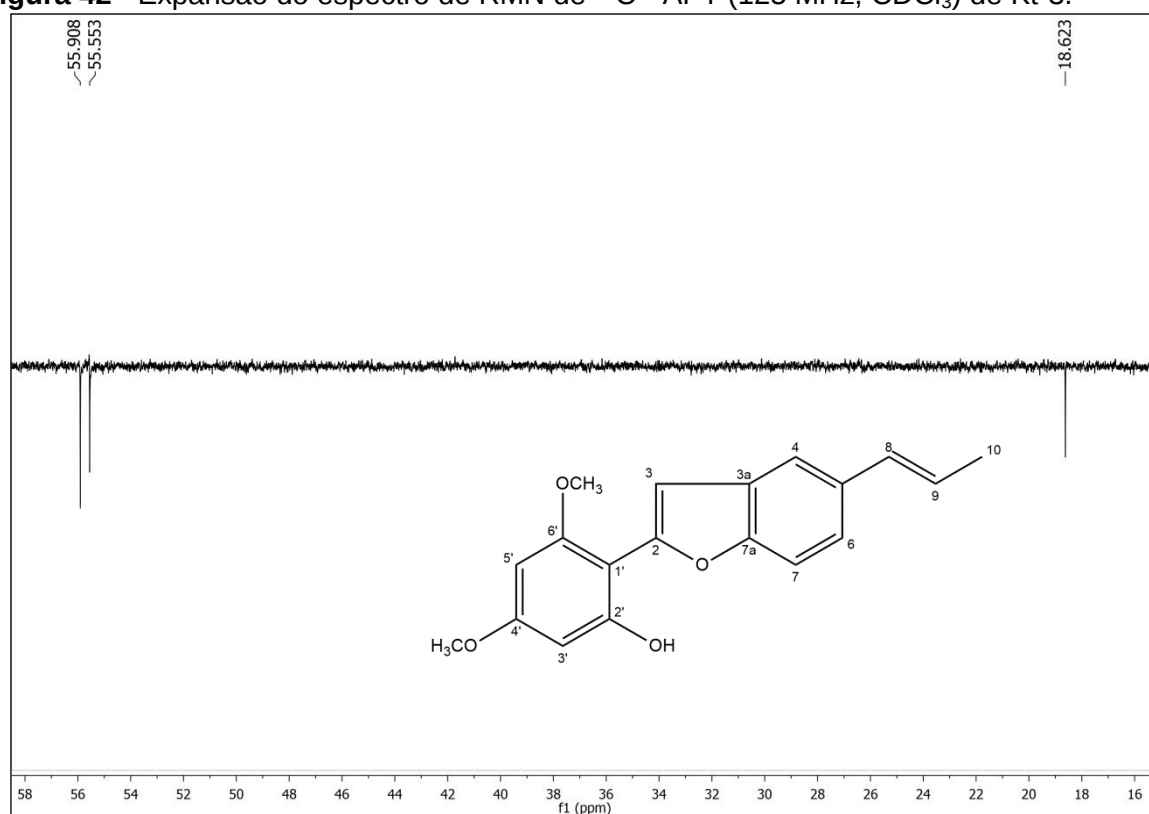
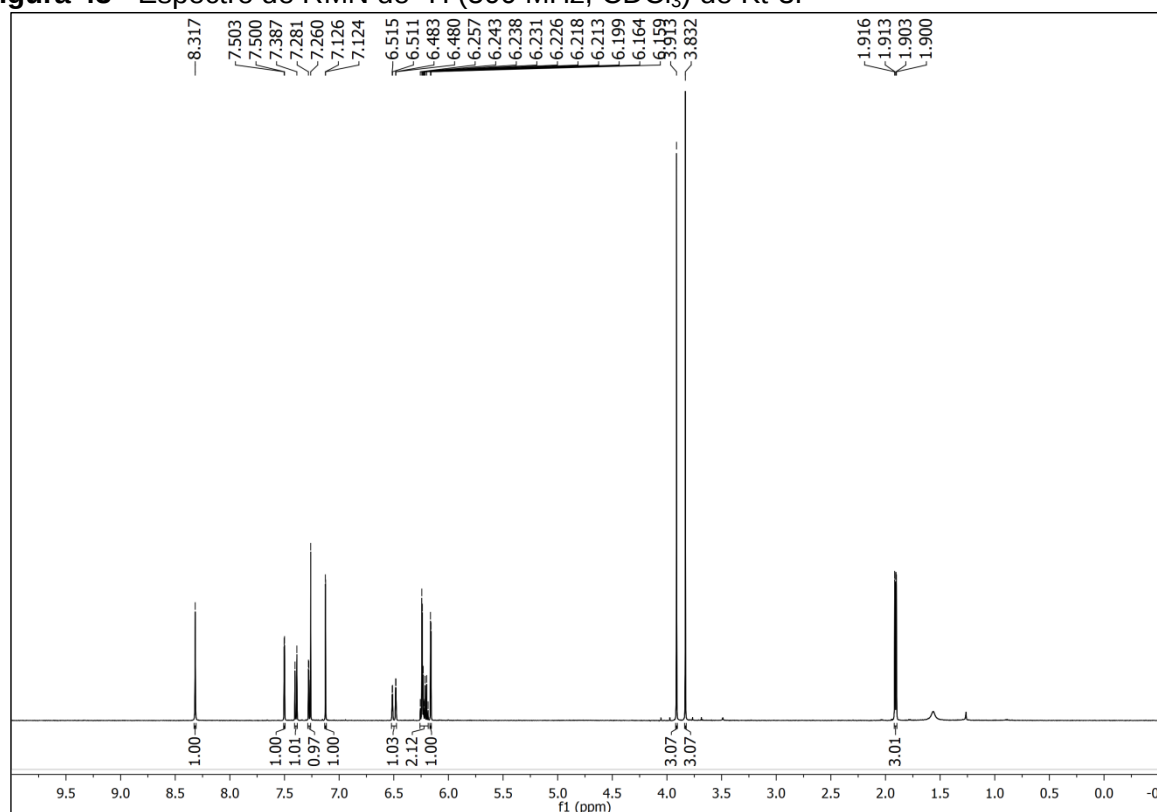


Figura 43 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 44 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.

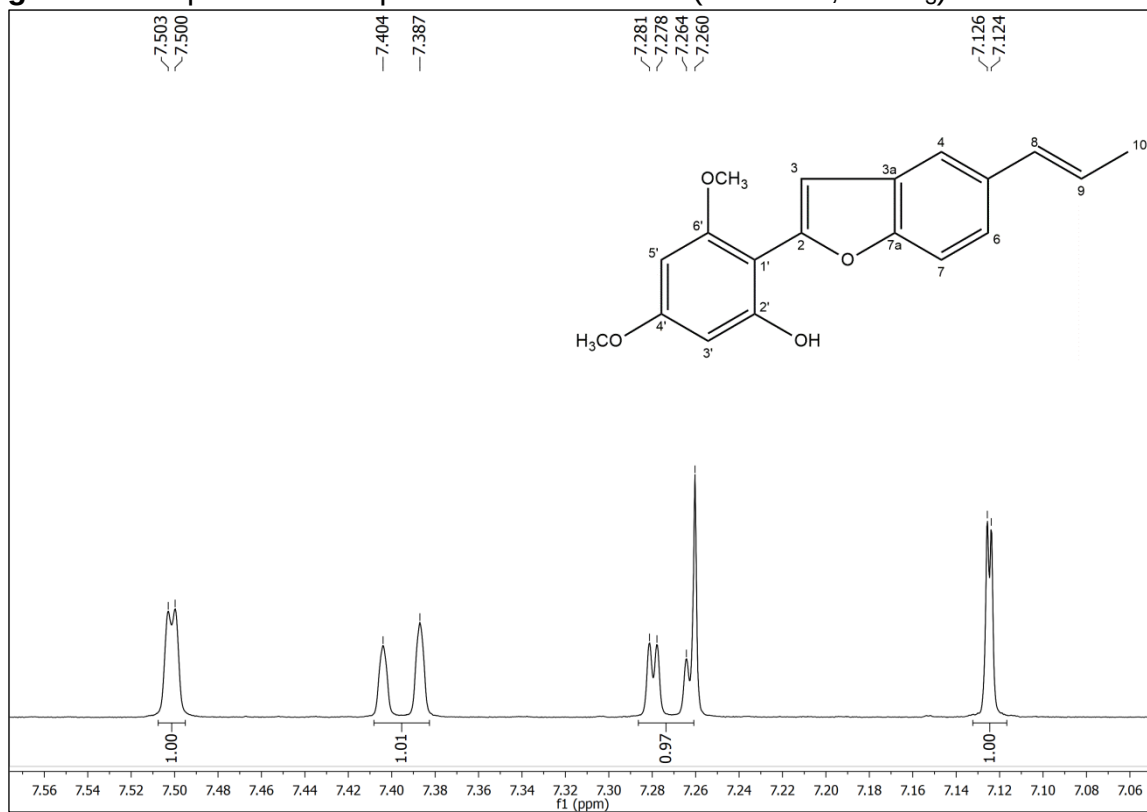


Figura 45 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.

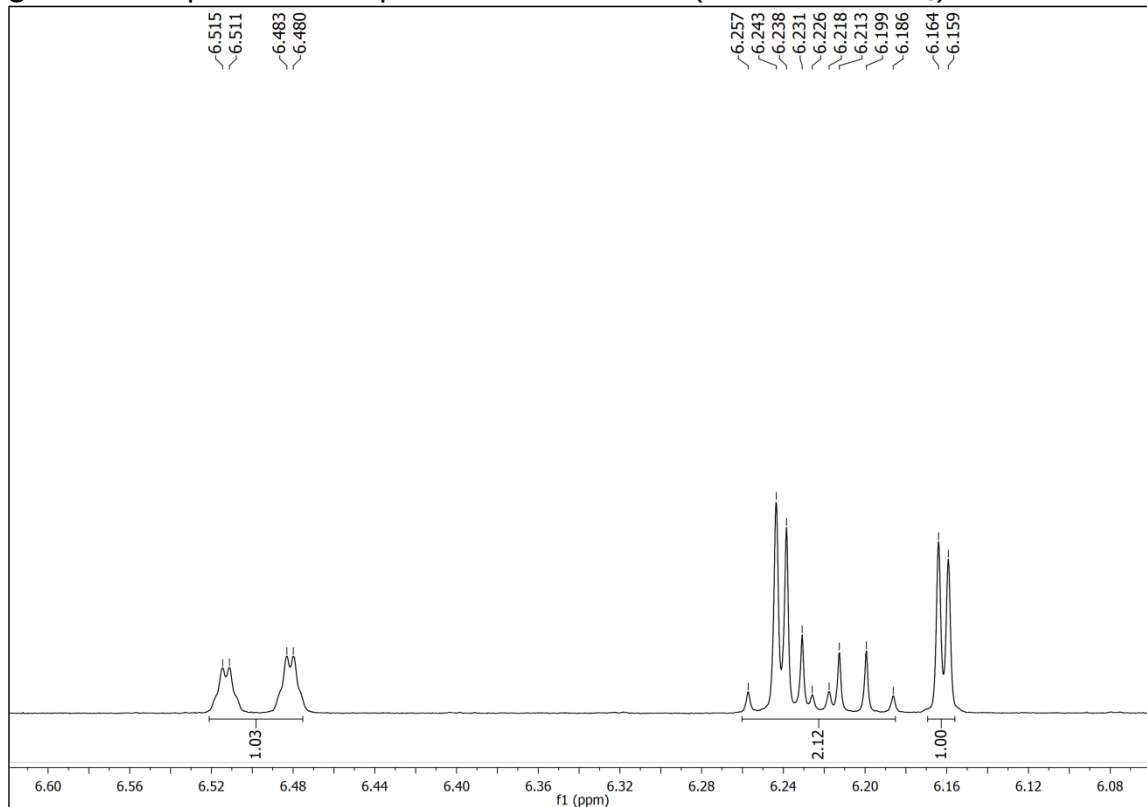
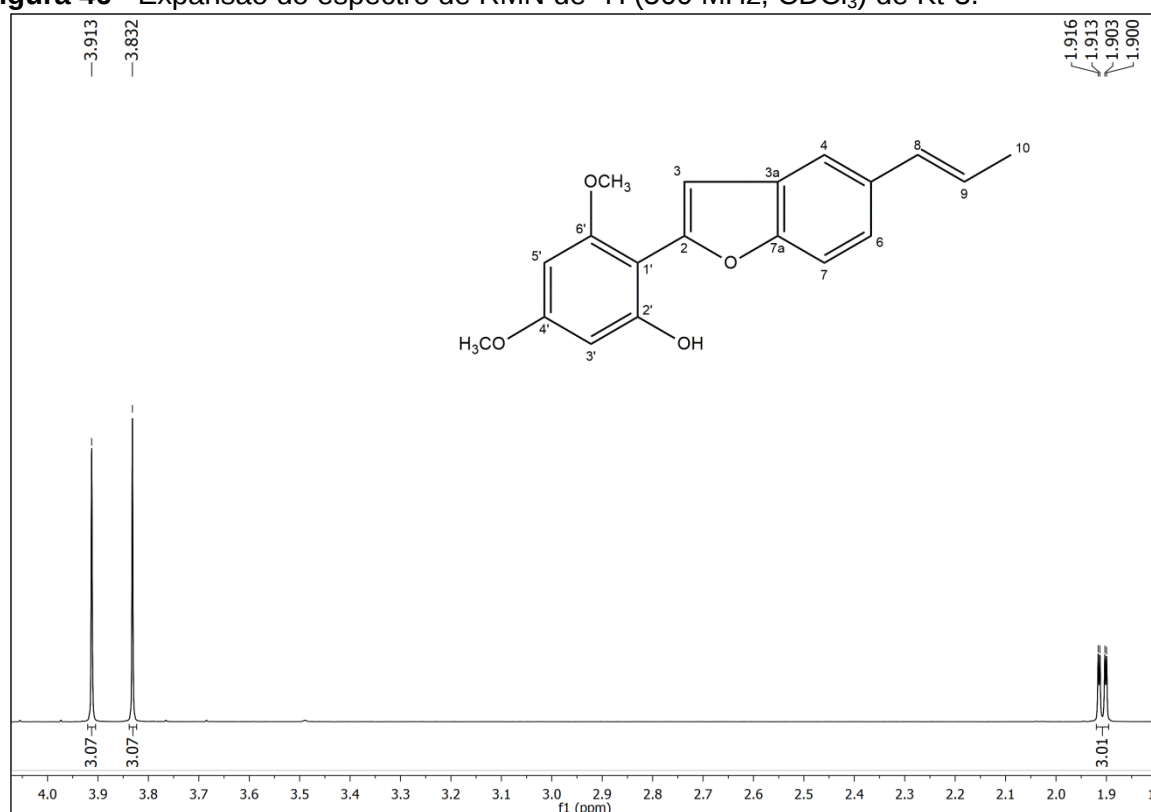


Figura 46 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Kt-3.



5.4 Determinação estrutural de Kt-4

A substância codificada como Kt-4 foi isolada na forma de um óleo marrom, pesando 18,5 mg. A análise dos seus dados espectrais permitiu identificá-la como uma mistura de duas substâncias, agora denominadas como Kt-4a e Kt-4b.

A análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) (Figura 48) e em suas expansões (Figuras 49 e 50) permitiu a observação dos sinais em δ_{H} 4,72 (d, $J = 4,0$ Hz), 3,16 (m), 3,90 (dd, $J = 3,6$ e 9,2 Hz) e 4,29 (dd, $J = 6,8$ e 8,8 Hz), característicos de uma unidade furofurânica (MONTHONG et al., 2011) e que foram atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-7, H-8, H-9a e H-9b de Kt-4a. O espectro de correlação homonuclear (COSY) (figuras 54 e 55) confirmaram essas atribuições, pois pode-se observar a correlação entre os hidrogênios H-7 e H-8, além da correlação entre H-8 e H-9a/H9b, desta forma, pode-se inferir que Kt-4a seja uma lignana do tipo furofurânica. Ainda, foi observado um singlete em δ_{H} 3,87 com integral para 6 hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios das metoxilas das posições 3 e 5. Notou-se um singlete em δ_{H} 6,66 com integral para 2 hidrogênios

RESULTADOS E DISCUSSÃO

que foi atribuído aos hidrogênios H-2 e H-6 de uma das unidades fenilpropânicas (C_6C_3), sugerindo um plano de simetria para a molécula Kt-4a.

A subtração dos sinais do espectro de RMN de 1H referentes à Kt-4a, permitiu o assinalamento dos sinais referentes a substância Kt-4b, onde, foi observado a presença de sinais na região de hidrogênios aromáticos em δ_H 7,78 (d, $J = 8,4$) e 6,92 (d, $J = 8,8$) com integral para 2 hidrogênios cada, típicos de um sistema aromático *p*-substituído e que foram atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-2/6 e H3/5. Também foi observado a presença de um singlete em 9,76 com integral para 1 hidrogênio, característico de hidrogênio de aldeído (PAVIA et al., 2015).

No espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, CD_3OD) (Figura 51) e em suas expansões (figuras 52 e 53), observou-se a presença de 13 sinais, dos quais, 8 foram atribuídos aos carbonos da substância Kt4-a, cada um correspondendo a dois carbonos devido a simetria da molécula e que foram assinalados em comparação com os dados da literatura. Os demais sinais foram atribuídos a Kt4-b, podendo assinalar como 3 carbonos não hydrogenados, sendo 2 oxigenados e mais 2 carbonos metínicos, referentes aos sinais observados em δ_C 192,9, 165,3, 133,1, 130,2 e 116,9, que foram atribuídos respectivamente aos carbonos C-7, C-4, C-2/6, C-1 e C-3/5, podendo inferir que Kt-1b se trata de um anel aromático dissustituído. Esses assinalamentos e os demais foram confirmados através da análise do espectro de correlação heteronuclear HMQC (Figura 56) e podem ser vistos nas tabelas 7 e 8.

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 57) e em suas expansões (Figura 58 e 59) permitiu identificar a correlação entre o hidrogênio H-7 de Kt-4b (δ_H 9,76) a duas ligações (2J) com C-1 (δ_C 130,2), confirmando a posição do grupo aldeído. Ainda, observou-se as correlações entre os hidrogênios H-3/5 (δ_H 6,92) e H-2/6' (δ_H 7,78) a duas (2J) e três ligações (3J) com C-4 (δ_C 165,3), respectivamente. Além disso, não foi observada nenhuma correlação entre os sinais referentes a Kt-4a e Kt-4b mostrando que Kt-4b não estaria inserida nesta outra substância.

Os sinais de HMBC referentes a Kt-4a permitiram identificar as correlações entre o hidrogênio H-2 (δ_H 6,66) com os carbonos C-1 (δ_C 133,4), C-3 (δ_C 149,3), C-4 (δ_C 136,2), C-6 (δ_C 104,5) e C-7 (δ_C 87,6) juntamente com as correlações de H-7

RESULTADOS E DISCUSSÃO

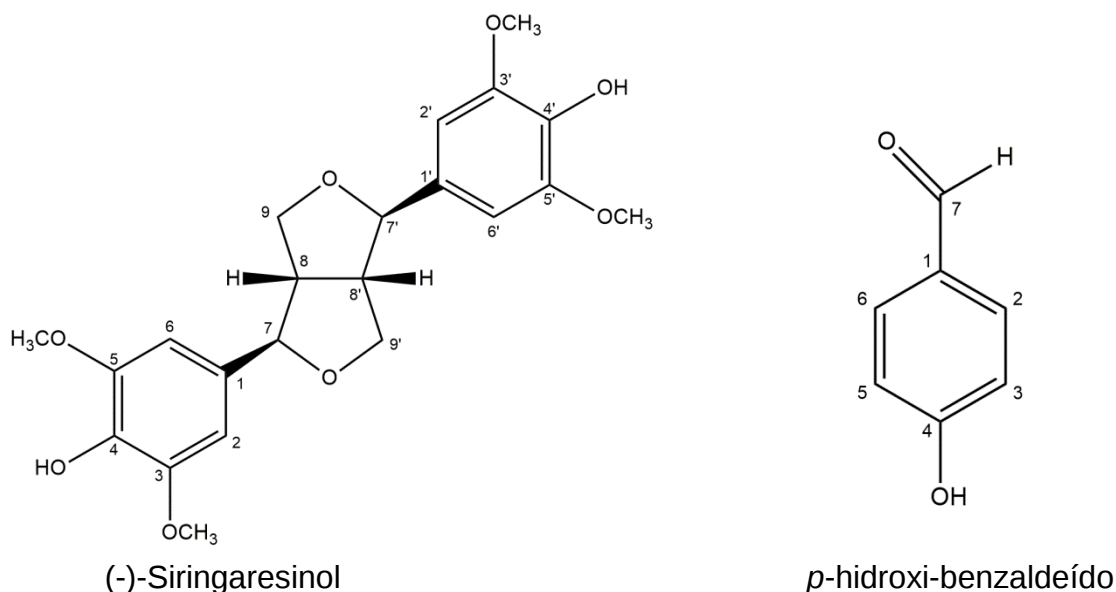
(4,72) com os carbonos C-8 (δ_C 55,5) e C-9 (δ_C 72,7), confirmando a unidade furofurânica. As demais correlações podem ser vistas nas tabelas 7 e 8.

Ainda, foi feito o espectro de massas de alta resolução obtido por ESI no modo negativo (Figura 60), para confirmar a massa da substância Kt-4a, onde foi observado o pico da molécula desprotonada em m/z 417,1547 $[M-H]^-$ compatível com a fórmula molecular $C_{22}H_{25}O_8$ (calc. 417,1541).

Na análise de rotação óptica, a substância Kt-4a apresentou rotação específica negativa no valor de $([\alpha]_D - 21,8^\circ)$. Sugerindo tratar-se da série de lignanas furofurânicas (-) (AGRAWAL; THAKUR, 1985).

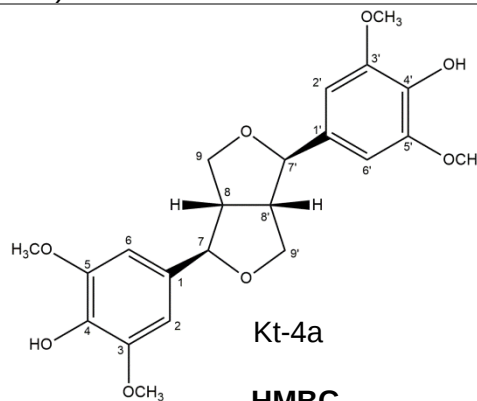
Assim, após compilação e análise dos dados espectrais e comparação com os dados descritos na literatura (HILTUNEN; PAKKANEN; ALVILA, 2006; KIM et al., 2002), foi possível identificar a substância Kt-4 como uma mistura da lignana (-)-Siringaresinol (Kt4-a) e o composto *p*-hidroxi-benzaldeído (Kt-4b). O (-)-Siringaresinol está sendo relatado pela primeira vez na família Krameriaceae.

Figura 47 - Estrutura química de Kt-4a e Kt-4b.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 7 - Dados de RMN de Kt-4a (*J* em Hz e δ em ppm, 400 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (HILTUNEN; PAKKANEN; ALVILA, 2006).



Posição	δ_{C}	HMQC		HMBC		COSY	Referência ¹	
		δ_{H} , mult. (<i>J</i> em Hz)		2J	3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	δ_{C}	δ_{H} , mult.
1/1'	133,4	-		H-2/H-2'	-		132,1	
2/2'	104,5	6,66 (s, 2H)		-	H-6/H-6'; H-7/H-7'		102,8	6,59 (s, 2H)
3/3'	149,3	-		H-2/H-2'	OCH_3		147,2	-
4/4'	136,2	-		-	H-2/H-2'; H-6/H-6'		134,4	-
5/5'	149,3	-		H-6/H-6'	OCH_3		147,2	-
6/6'	104,5	6,66 (s, 2H)		-	H-2/H-2'; H-7/H-7'		102,8	6,59 (s, 2H)
7/7'	87,6	4,72 (d, 2H; 4,0)		-	H-2/H-2'; H-6/H-6'; H9/H9'	H-8	86,1	4,73 (d, 2H; 4,4)
8/8'	55,5	3,16 (m, 2H)		H-7/H7'; H9-/H9'		H-7; H-9 ^{a/b}	54,3	3,10 (m, 2H)
9/9'	72,7	H-9 ^a (3,90 dd, 2H; 3,6;9,2) H-9 ^b (4,29 dd, 2H; 6,8;8,8)		-	H-7/H7'	H-8; H-9 ^{a/b}	71,8	H-9a (3,91 dd, 2H; 3,6;9,2) H-9b (4,29 dd, 2H; 6,8;8,8)
OCH_3 -3/5	56,8	3,87 (s, 6H)		-	-		56,4	3,91 (s, 6H)
OCH_3 -3'/5'	56,8	3,87 (s, 6H)		-	-		56,4	3,91 (s, 6H)
OH-4	-	-		-	-		-	5,49 (s, 1H)
OH-4'	-	-		-	-		-	5,49 (s, 1H)

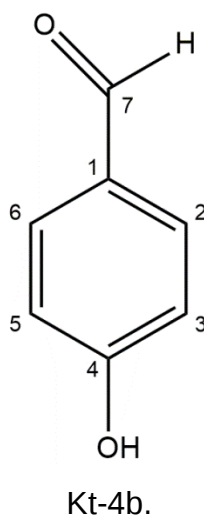
¹Obtido em 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 8 - Dados de RMN de Kt-4b (*J* em Hz e δ em ppm, 400 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (KIM et al., 2002).

Respectivamente, em CD ₃ OD) comparados com dados da literatura (KIM ET AL, 2002).					
Posição	Kt-4b		HMBC	Referência ¹	
	HMQC				
	δ _H (mult, J = Hz)	δ _C		δ _C x δ _H	δ _H (mult, J = Hz)
1	-	130,2	H-7, H-3, H-5	-	130,3
2/6	7,78 (d, 2H; 8,4)	133,1	H-7	7,79 (d, 1H; 8,7)	132,8
3/5	6,92 (d, 2H; 8,8)	116,9	-	7,0 (d, 1H; 8,7)	116,6
4	-	165,3	H-2, H-3 H-6, H-5	-	163,8
7	9,76 (s, 1H)	192,9	H-2, H-6	9,84 (s, 1H)	191,0
OH	-	-	-	9,40 (sl, 1H)	-

¹Obtido em CD_3COCD_3 .



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 48 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-4.

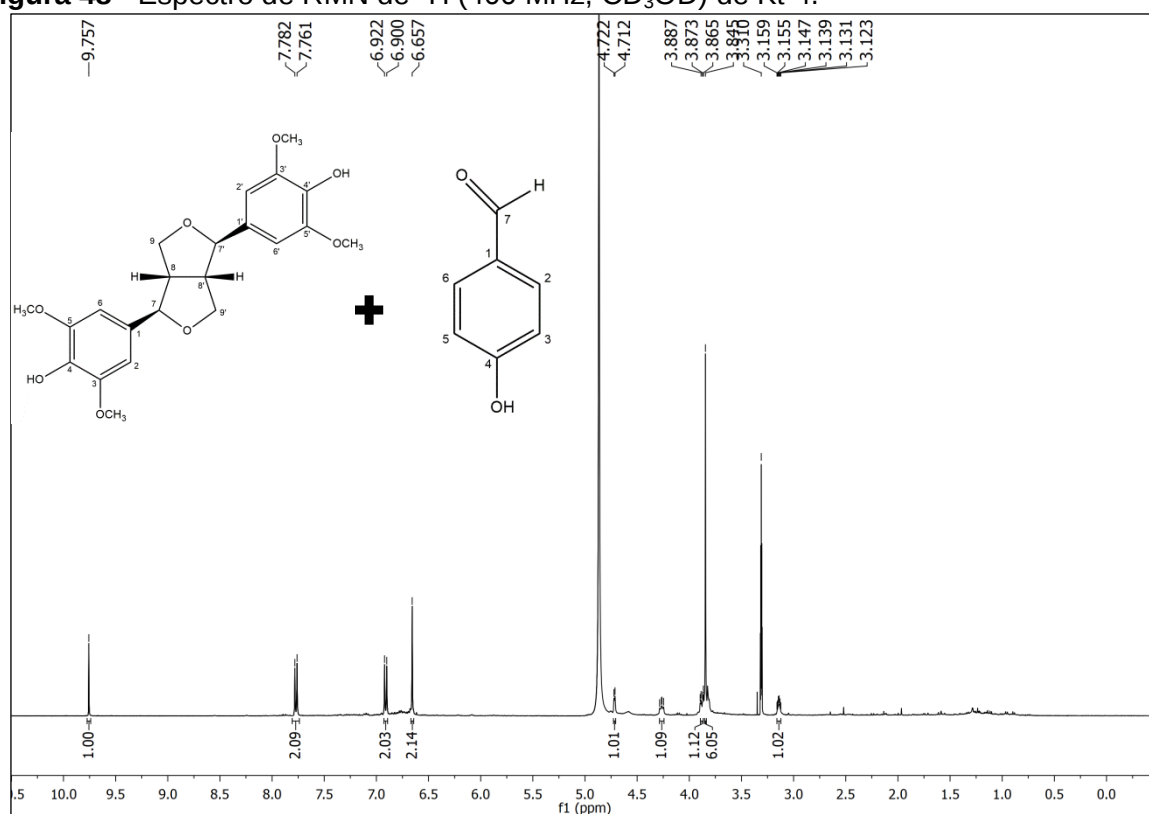
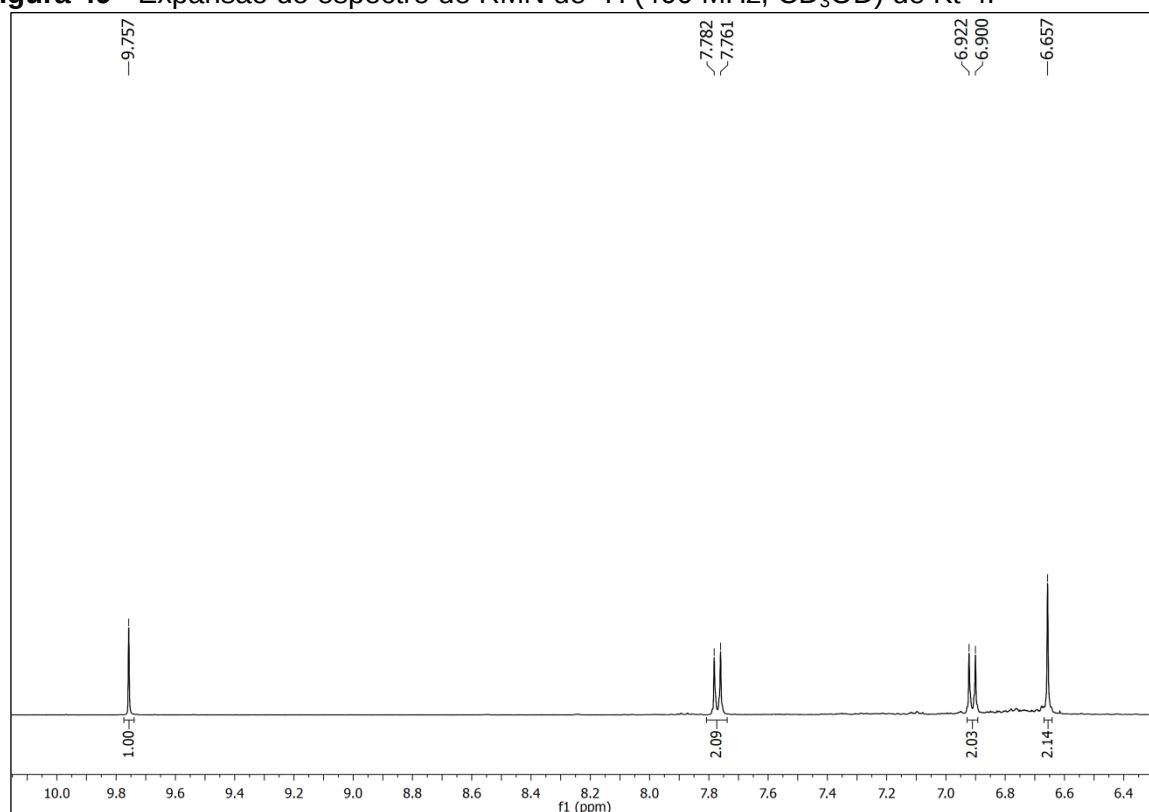


Figura 49 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-4.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 50 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-4.

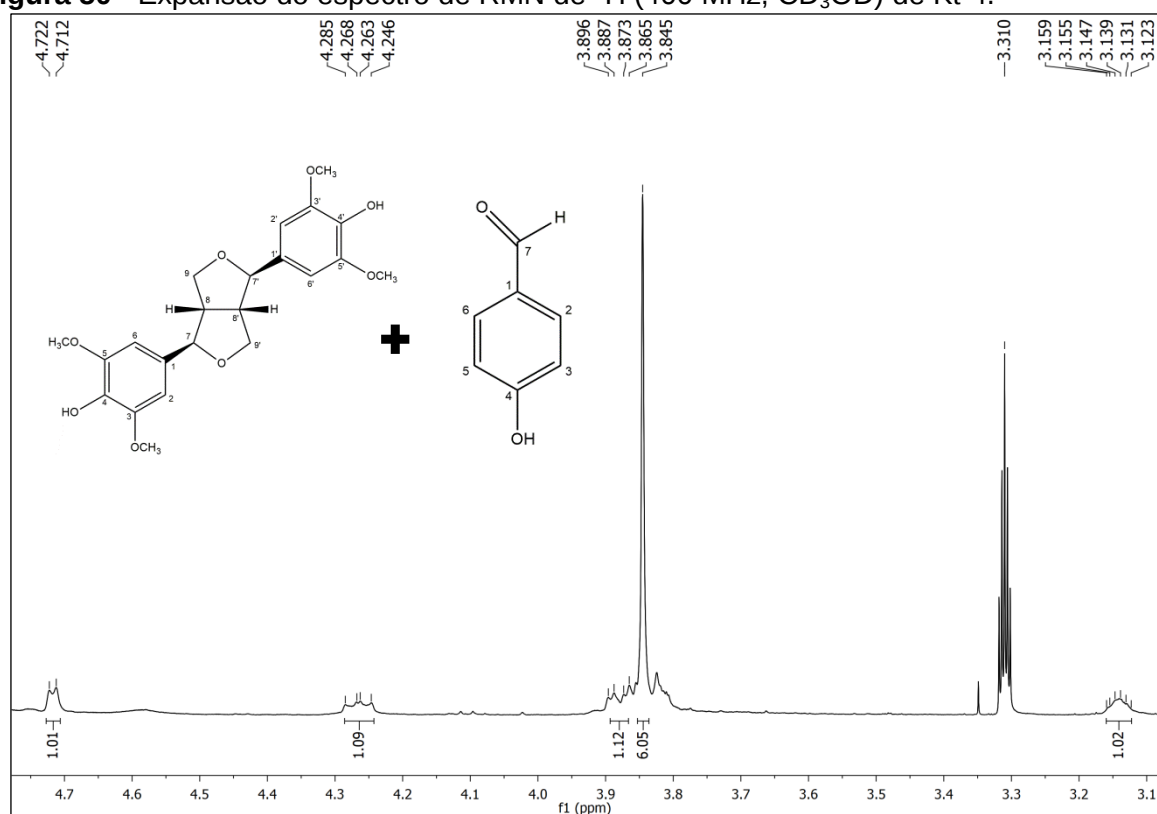
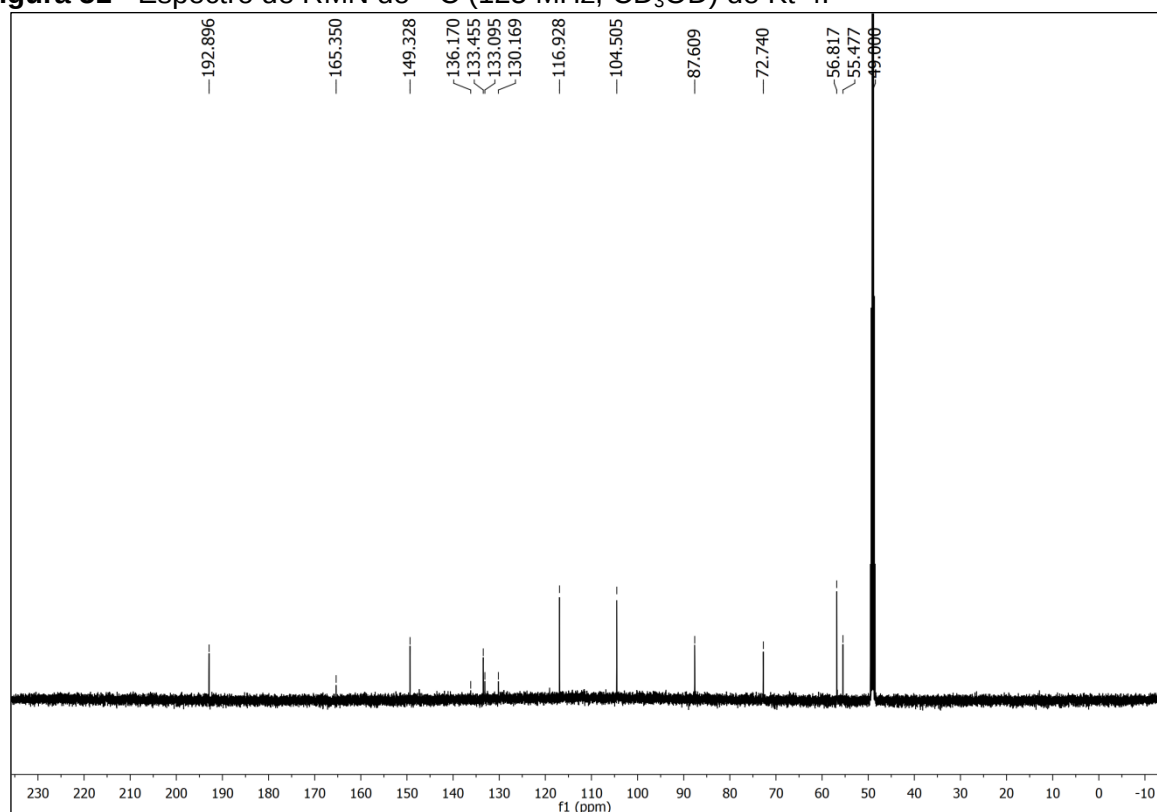


Figura 51 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 52 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.

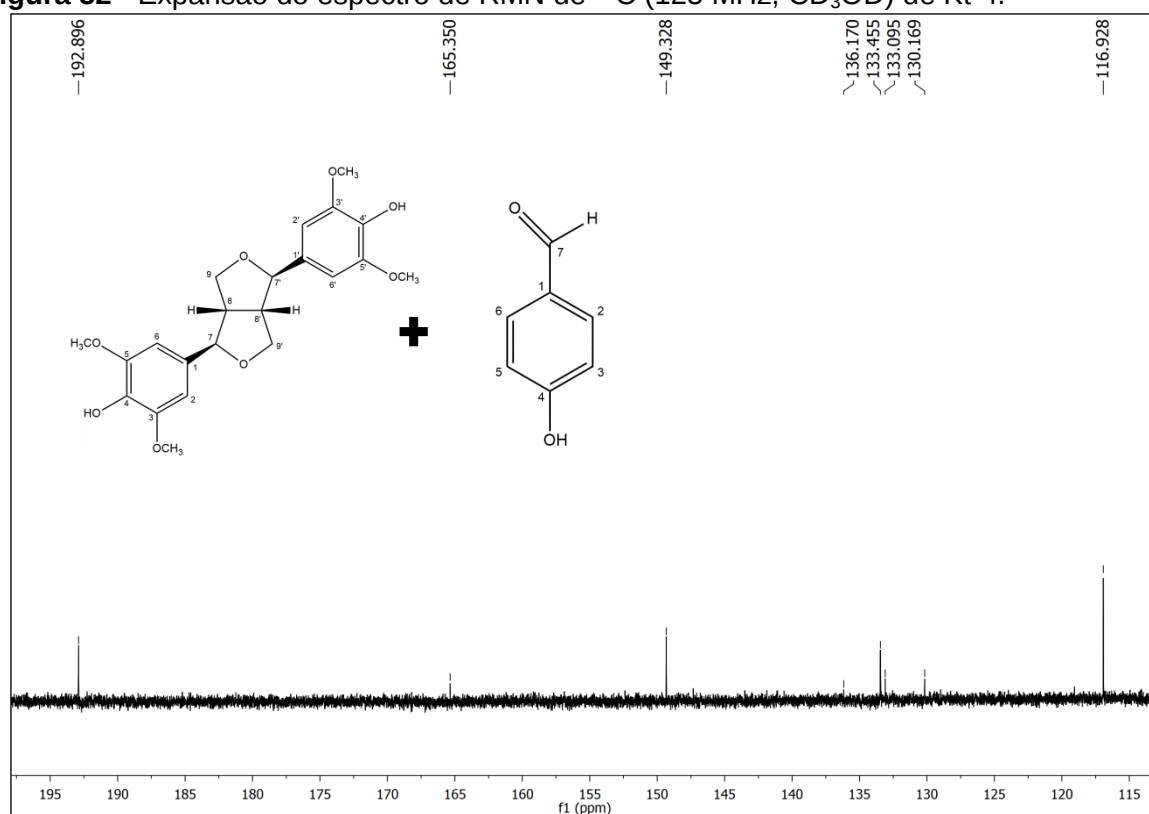
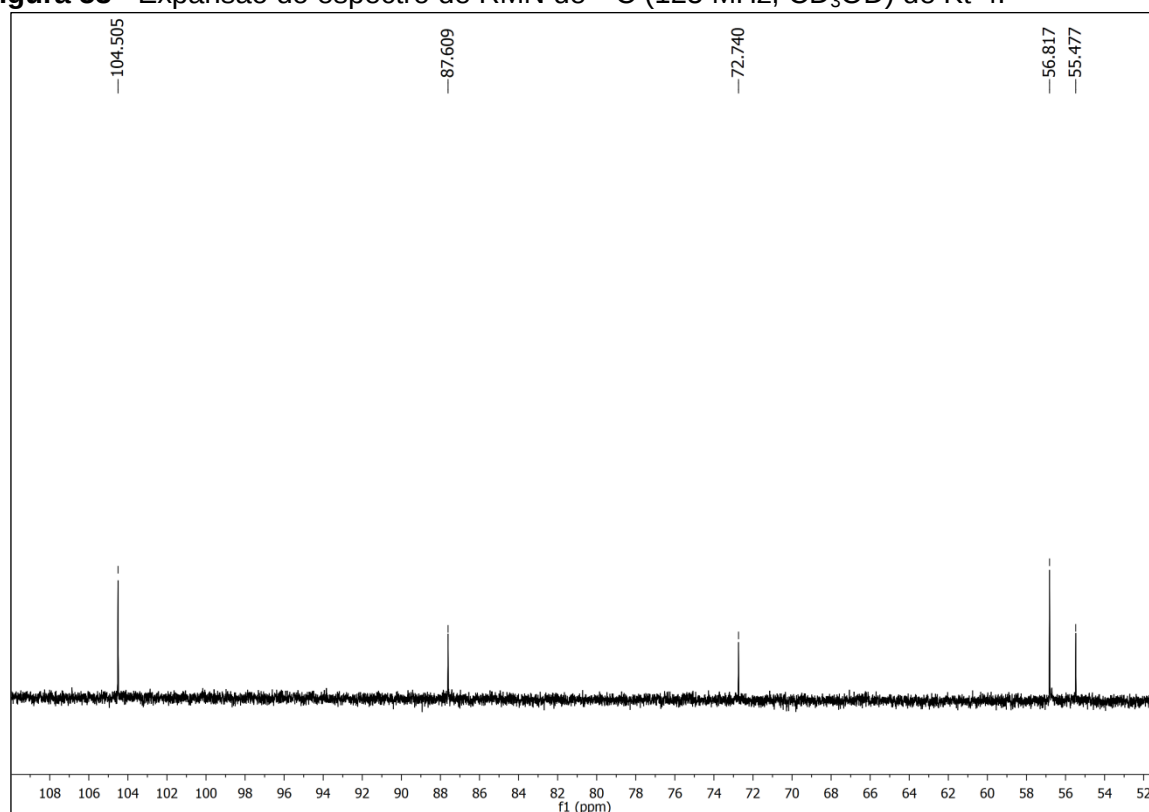


Figura 53 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de Kt-4.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 54 - Espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Kt-4.

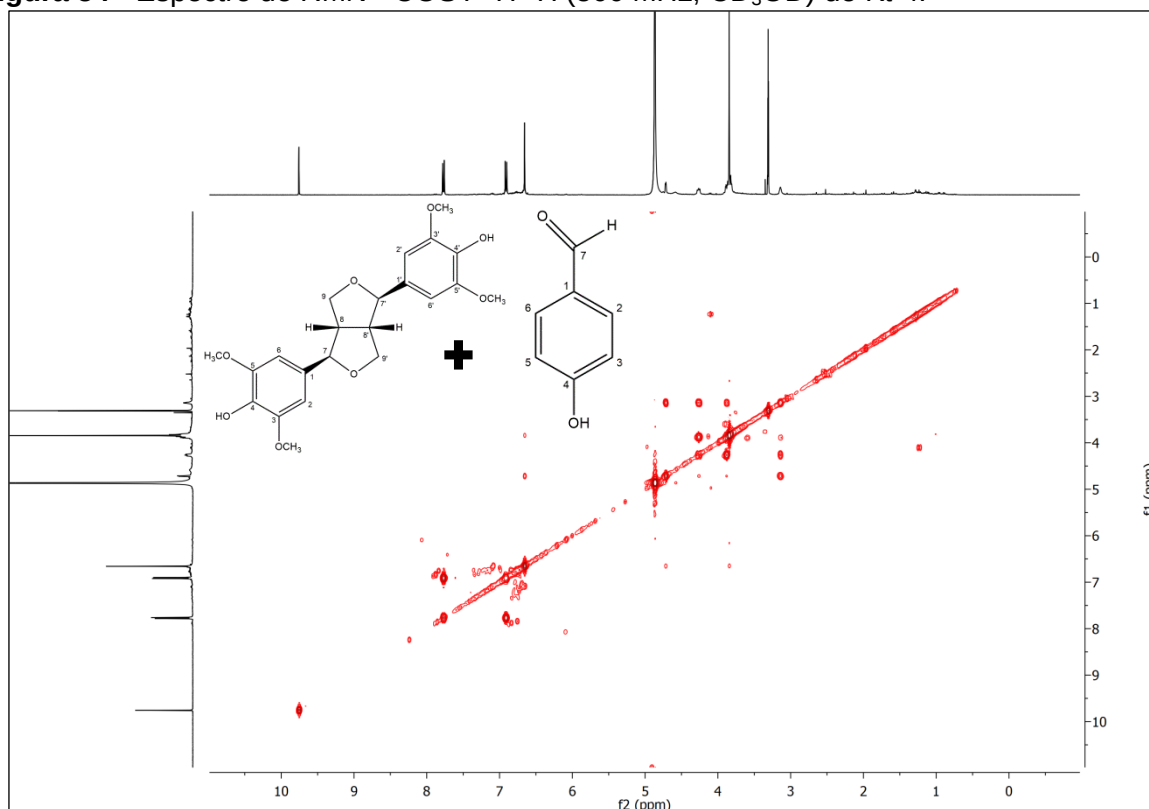
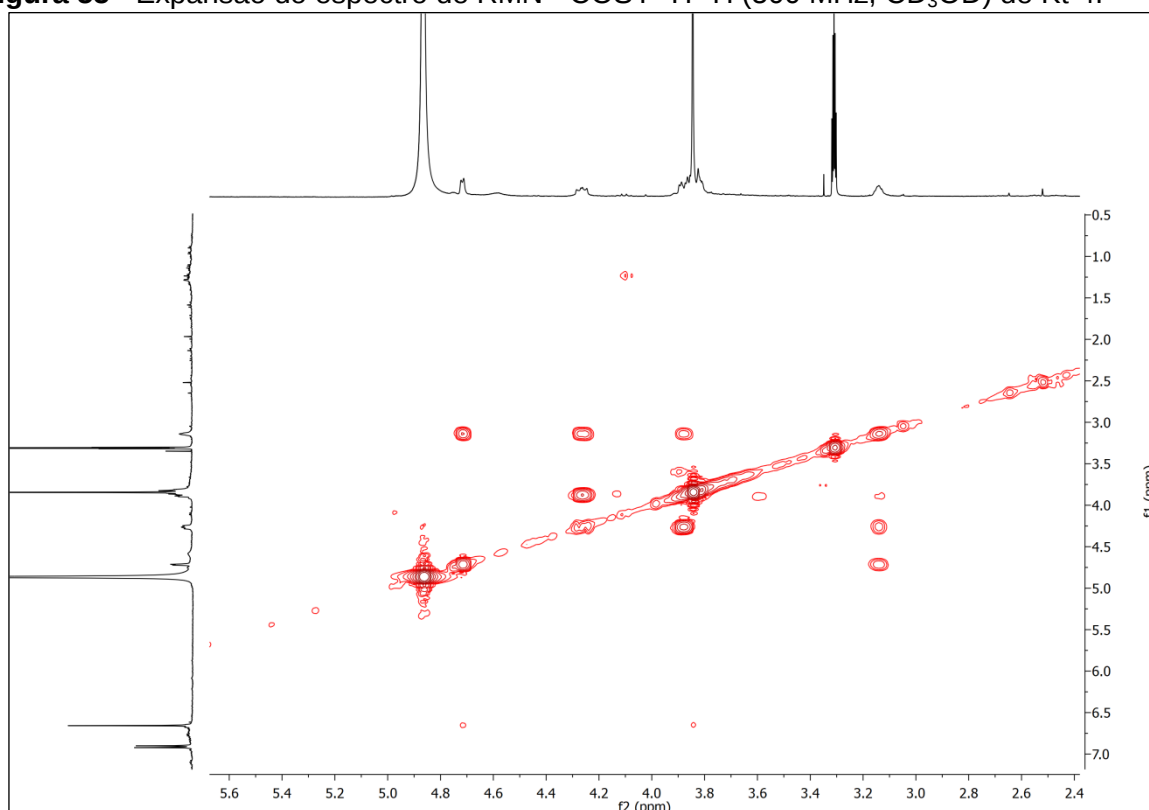


Figura 55 - Expansão do espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Kt-4.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 56 - Espectro de RMN - HMQC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de Kt-4.

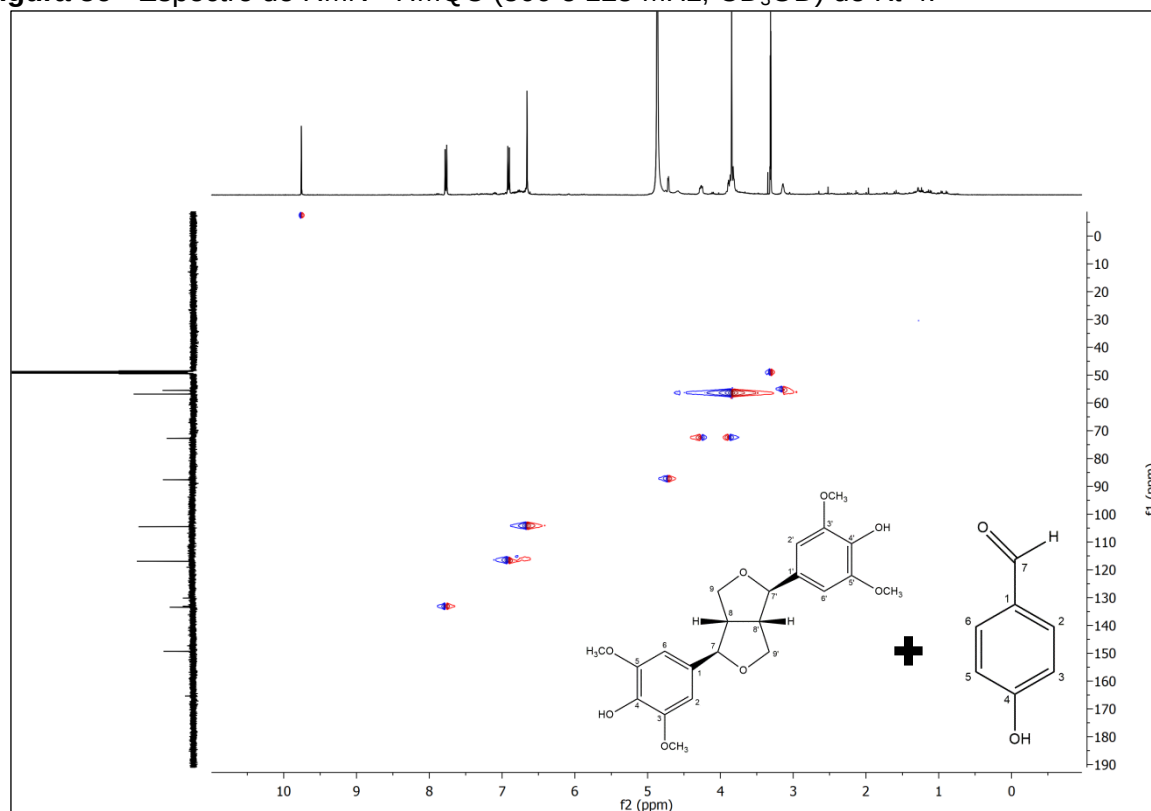
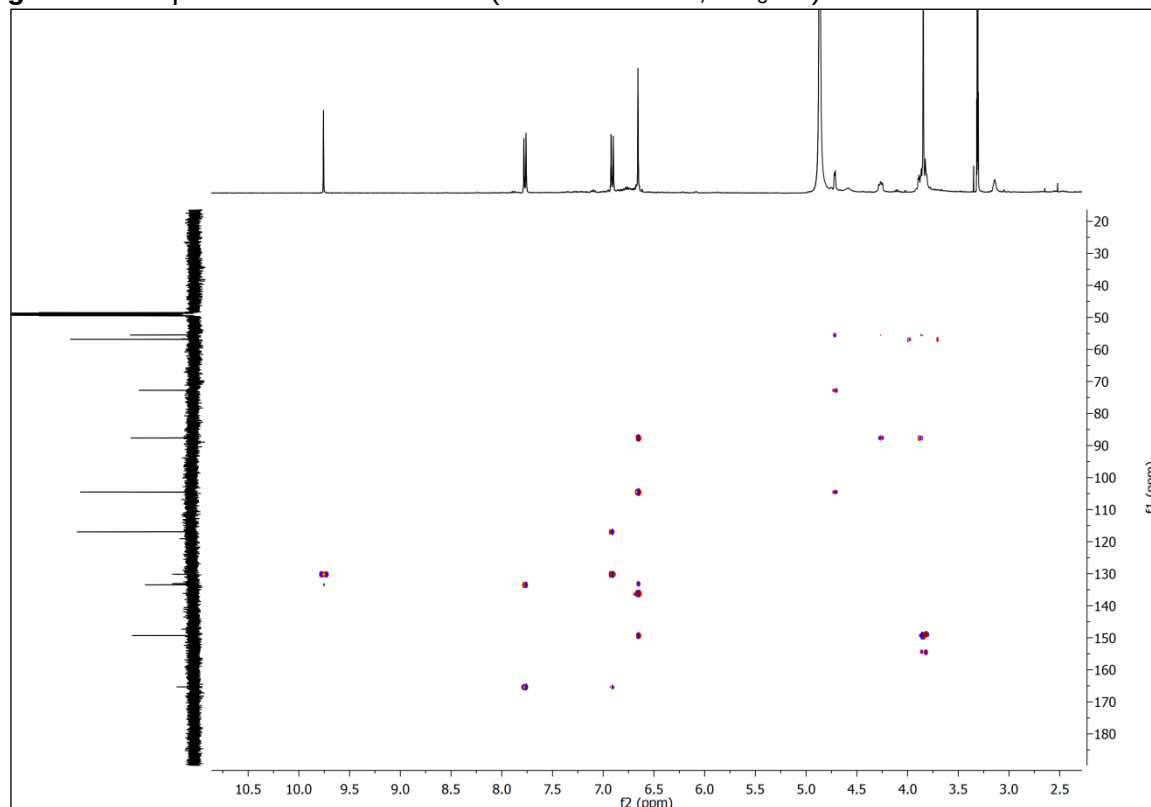


Figura 57 - Espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de Kt-4.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 58 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de Kt-4.

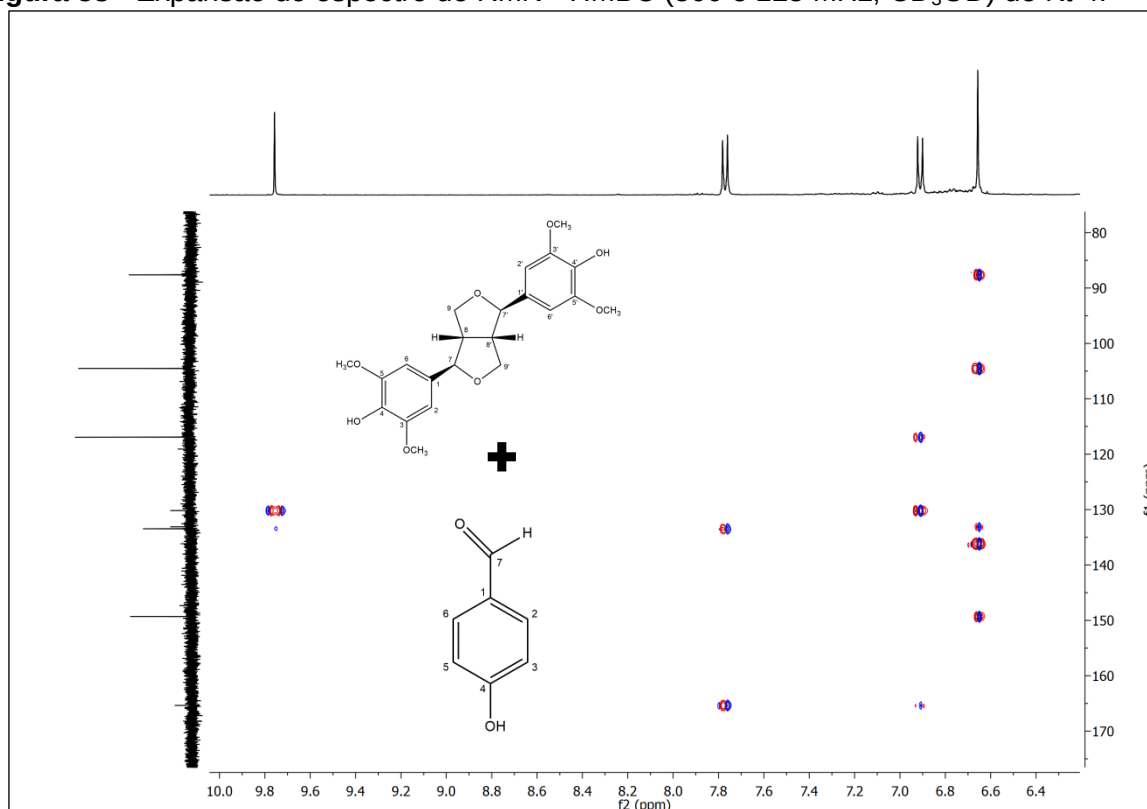
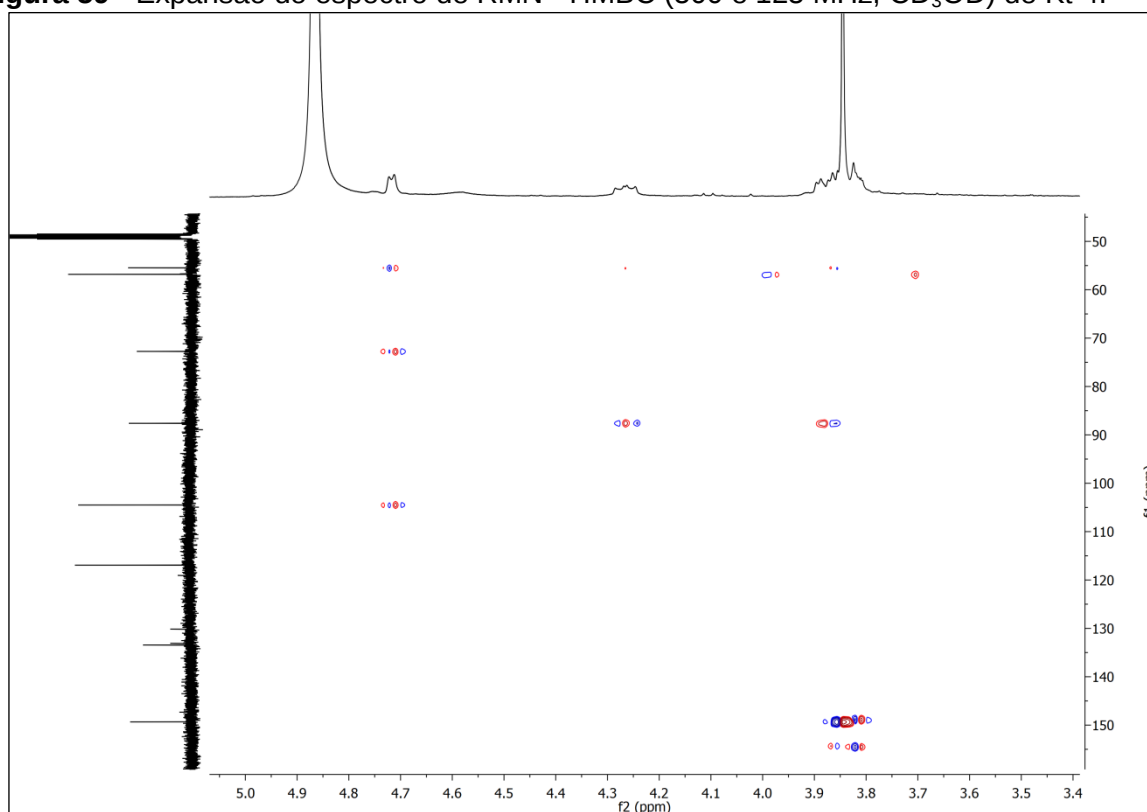
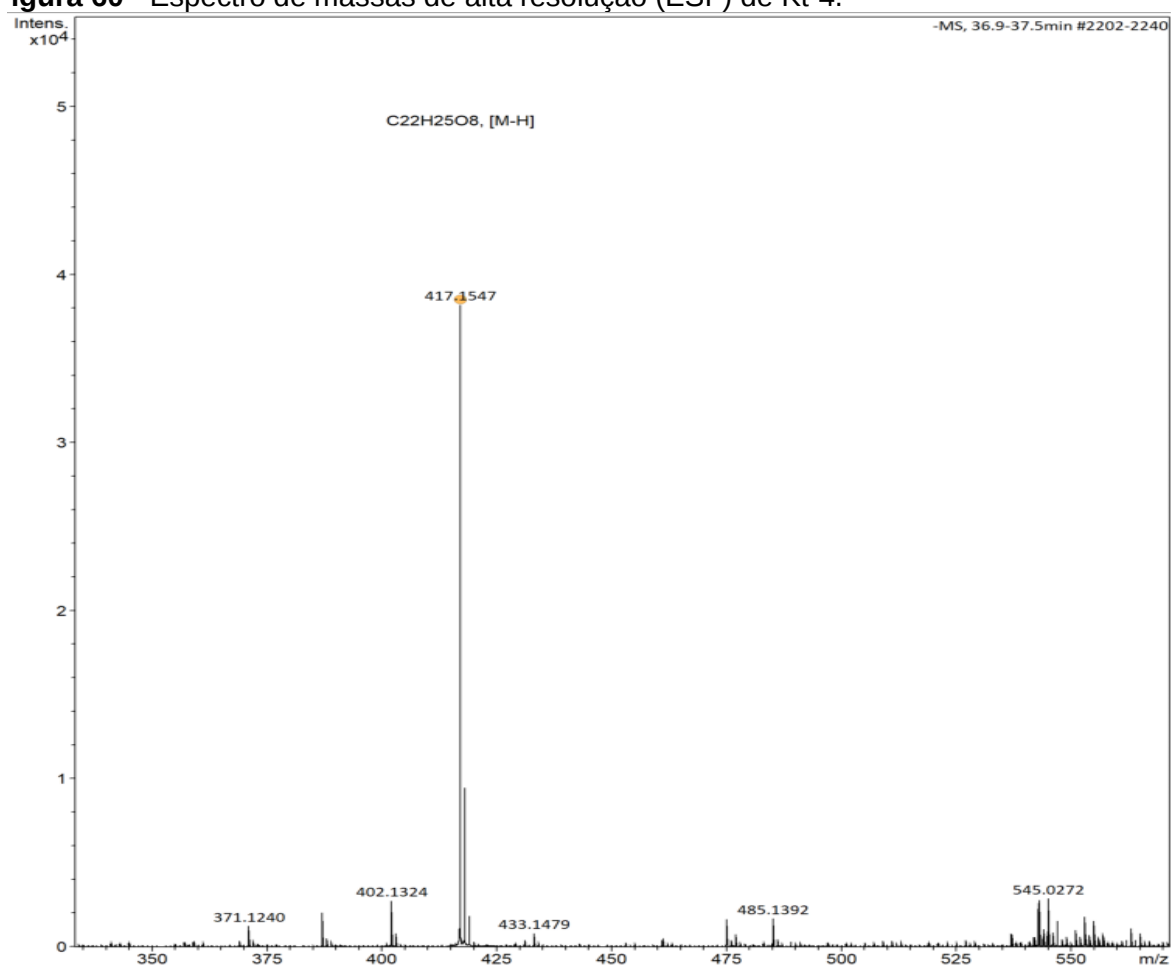


Figura 59 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de Kt-4.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 60 - Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de Kt-4.



5.5 Determinação estrutural de Kt-5

A substância codificada como Kt-5 foi isolada na forma de um pó branco, pesando 9,2 mg.

No espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (Figura 62) e em suas expansões (Figuras 63 e 64), observou-se a presença de 17 sinais correspondentes a 17 átomos de carbono. Através de seus deslocamentos químicos, pode-se atribuir estes sinais a 9 carbonos não hidrogenados, 6 carbonos metínicos e 2 carbonos oximetílicos. Os valores observados neste espectro foram semelhantes aos encontrados em Kt-3, sugerindo que Kt-5 possui um esqueleto do tipo nor-benzofurânico. Contudo, a ausência dos sinais referentes à unidade propenila, que aparecem normalmente em δ_{C} ~130,4, 124,7 e 18,6, levaram a sugerir que Kt-5 seja uma neolignana do tipo tri-nor-benzofurânica (SILVA et al., 2001; MADEIRO et al., 2012). Ainda, foi observado um sinal em δ_{C} 167,8, que foi atribuído a uma carbonila ácida, na posição C-8, onde normalmente é inserida a unidade propenila das neolignanas benzofurânicas.

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (Figura 65) e suas expansões (Figuras 66 e 67), pode-se observar a presença dos sinais em δ_{H} 8,23 (d, $J = 1,5$ Hz), 7,87 (dd, $J = 1,5$; 8,5 Hz) e 7,60 (d, $J = 8,5$ Hz) os quais foram atribuídos aos hidrogênios H-4, H-6 e H-7 respectivamente, referentes a um sistema ABX do anel B de neolignanas do tipo nor-benzofurânica (ACHENBACH et al., 1987b; ACHENBACH et al., 1991). Ainda, foi observado um sinal em δ_{H} 6,91 (d, $J = 0,5$ Hz) referente hidrogênio H-3. Além disso, observou-se dois singletos em δ_{H} 3,76 e 3,73 referentes às metoxilas da posição C-4' e C-6', respectivamente. Os demais deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de Kt-5 podem ser vistos na tabela 9.

Assim, após análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com os dados descritos na literatura (MADEIRO et al., 2012), foi possível identificar a substância Kt-5 como sendo a tri-nor-neolignana, 5-ácido-2-(2'-hidroxi-4'-6'-dimetoxifenil)-benzofurânico ou sobralina. Esta substância já foi relatada anteriormente nesta espécie (MADEIRO et al., 2012), porém, ainda não foi testada farmacologicamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 61 - Estrutura química de Kt-5.

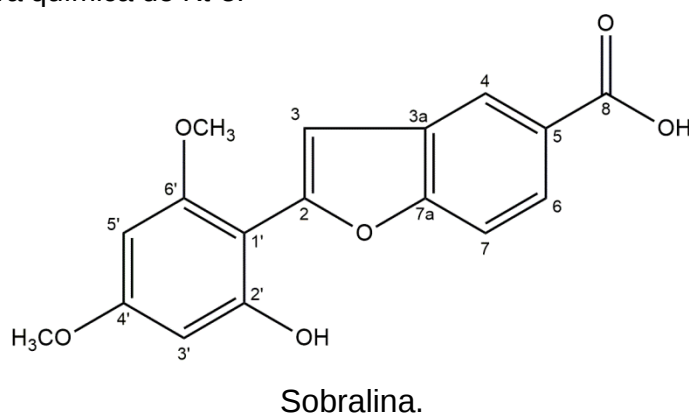


Tabela 9 - Dados de RMN de Kt-5 (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em $\text{DMSO}-d_6$) comparados com dados da literatura (MADEIRO et al., 2012).

Posição	Kt-5		Referência ¹	
	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}
2	-	152,2	-	153,5
3	6,91 (d, 1H; 0,5)	106,9	7,03 (d, 1H; 0,5)	107,5
3a	-	130,1	-	130,1
4	8,23 (d, 1H; 1,5)	122,4	8,31 (d, 1H; 1,7)	123,6
5	-	128,9	-	126,3
6	7,87 (dd, 1H; 1,5; 8,5)	125,0	7,97 (dd, 1H; 1,7; 8,5)	126,1
7	7,60 (d, 1H; 8,5)	110,6	7,57 (d, 1H; 8,5)	111,4
7a	-	156,2	-	157,5
8	-	167,8	-	168,1
1'	-	99,5	-	100,6
2'	-	158,0	-	158,6
3'	6,18 (d, 1H; 2,5)	93,8	6,23 (d, 1H; 2,5)	95,1
4'	-	161,9	-	163,4
5'	6,19 (d, 1H; 2,5)	90,1	6,24 (d, 1H; 2,5)	91,6
6'	-	159,7	-	160,8
OCH₃-4'	3,73 (s, 3H)	55,2	3,81 (s)	55,7
OCH₃-6'	3,76 (s, 3H)	55,8	3,83 (s)	56,2
OH	-	-	-	-

¹Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3COCD_3 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 62 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.

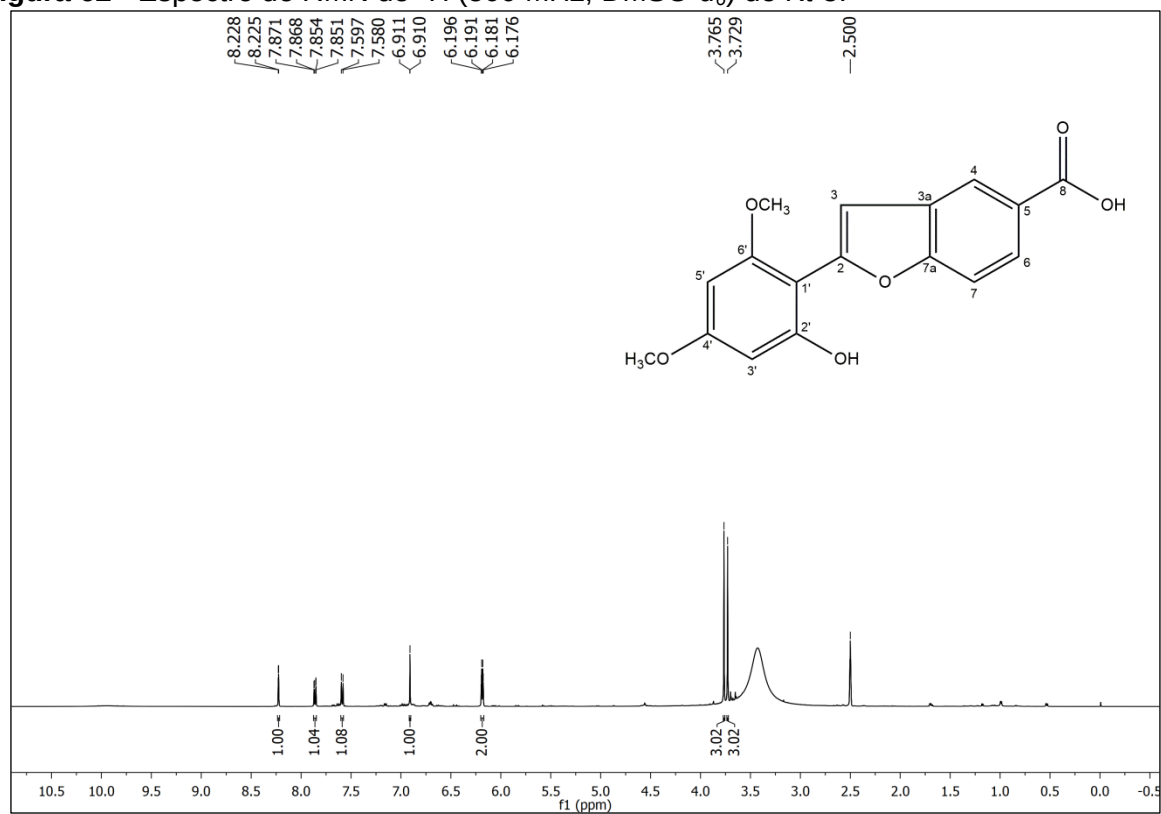
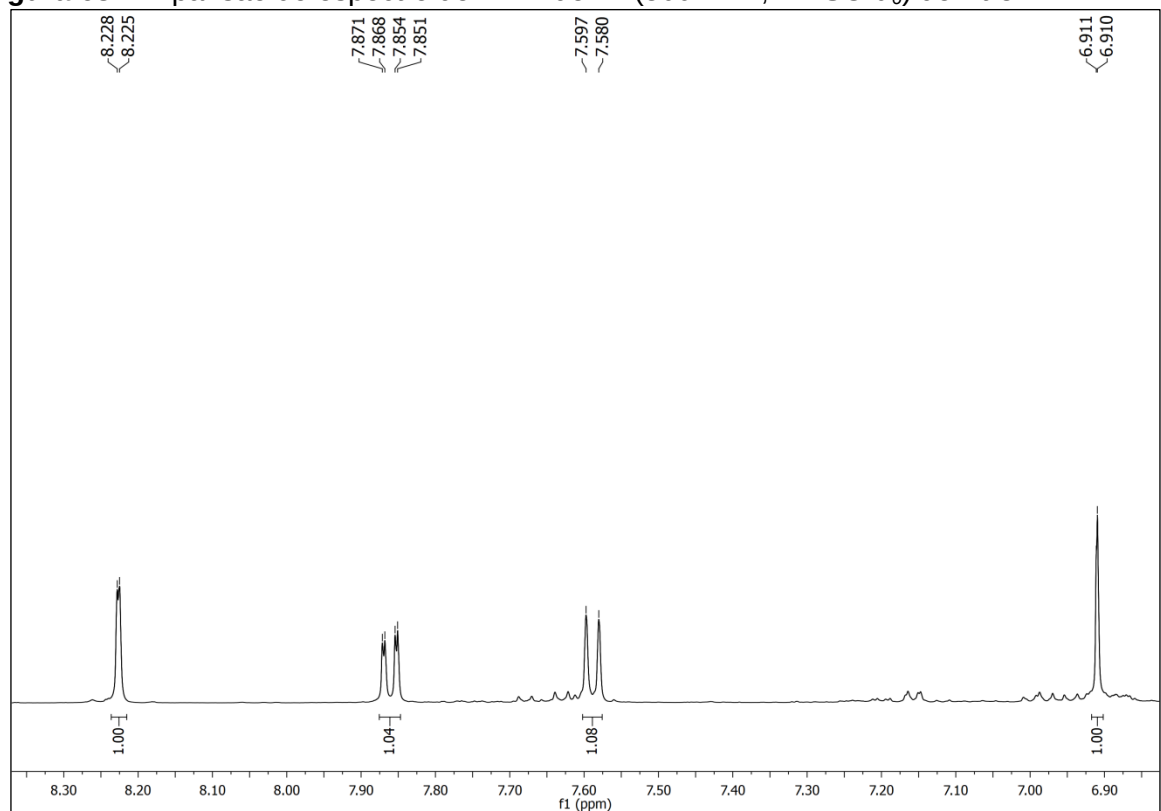


Figura 63 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 64 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.

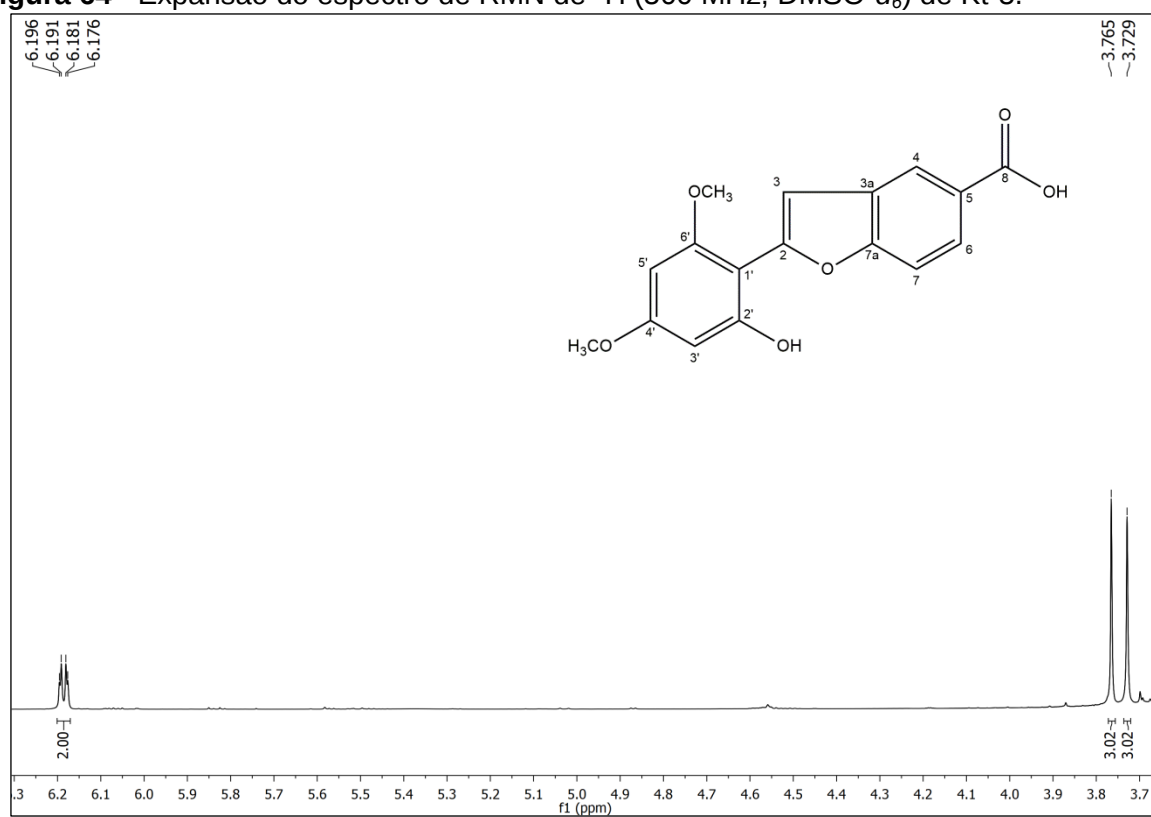
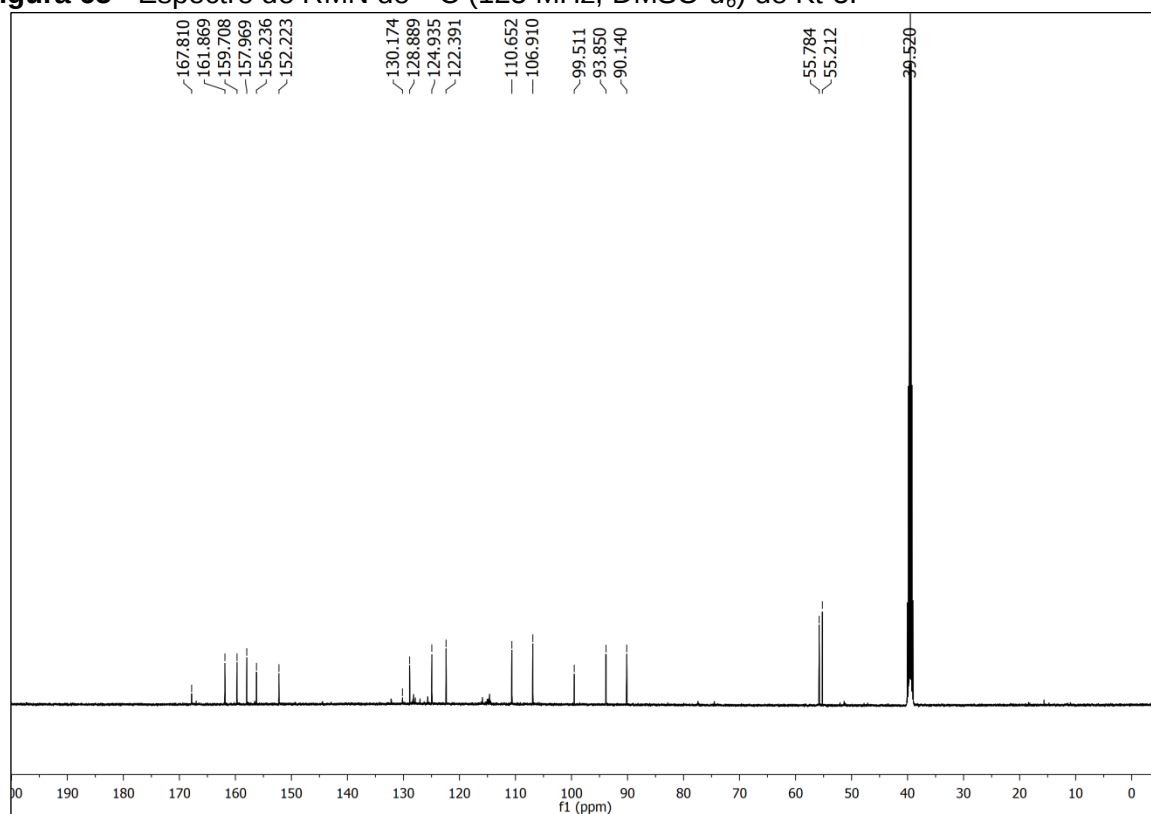


Figura 65 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 66 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.

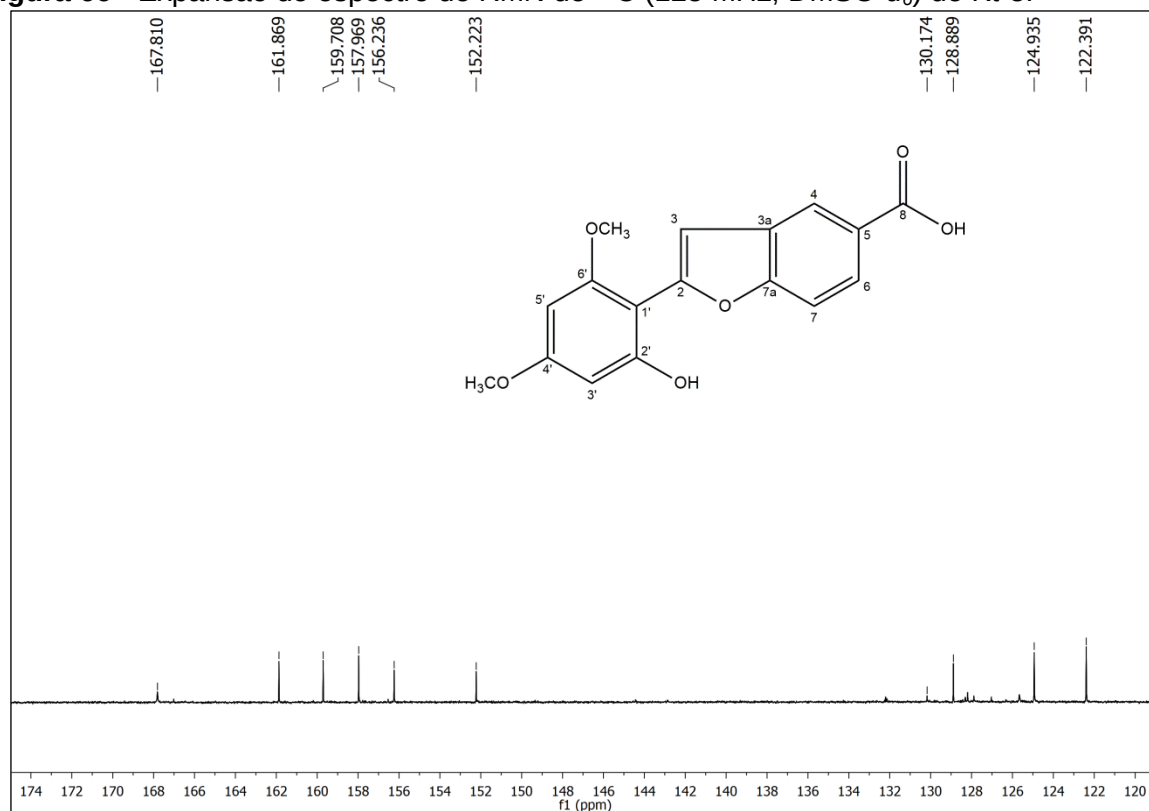
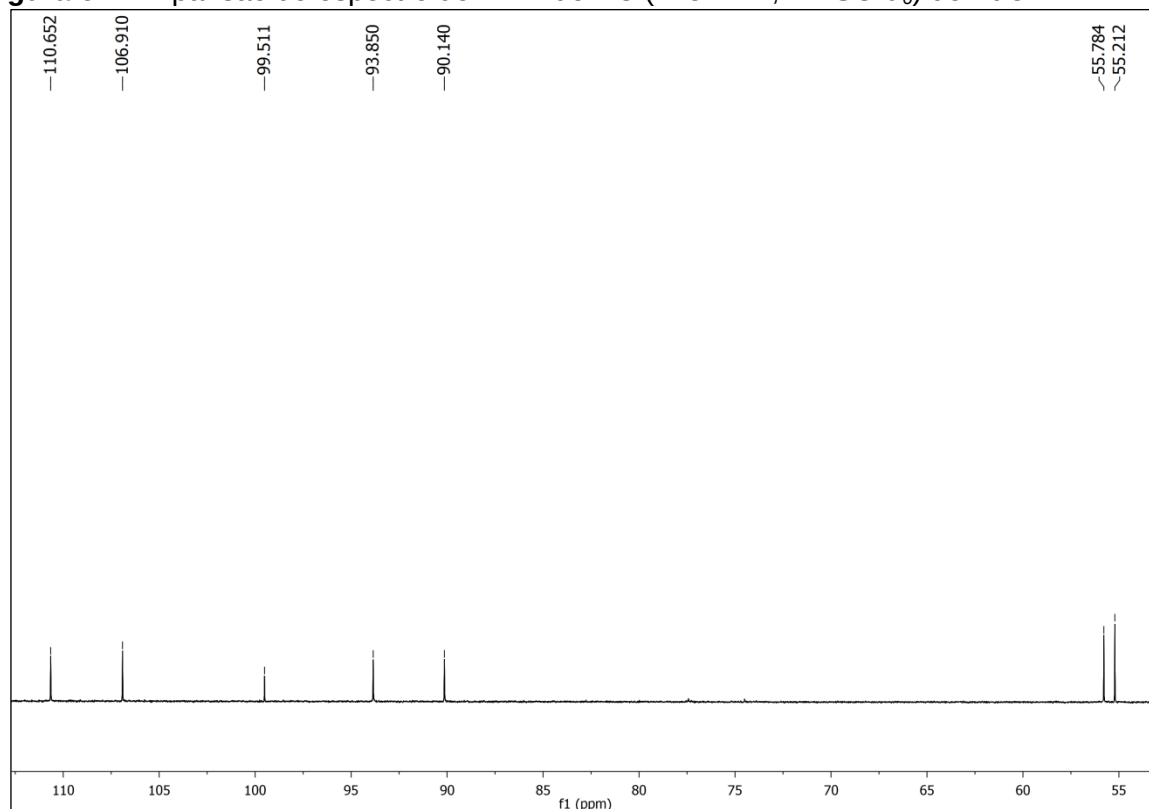


Figura 67 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de Kt-5.



5.6 Determinação estrutural de Kt-6

A substância codificada como Kt-6 foi isolada na forma de cristais incolores pesando 1,8 mg.

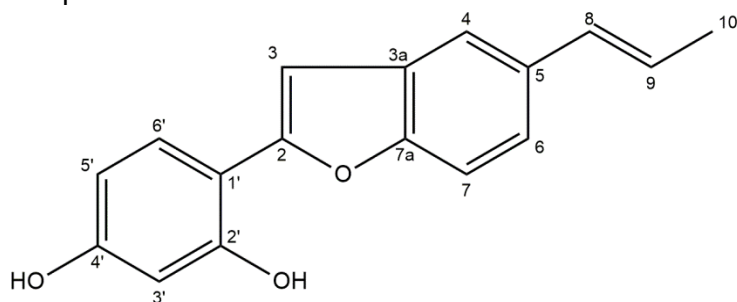
No espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, CD_3COCD_3) (Figura 69) e em sua expansão (Figura 70), observou-se a presença de 17 sinais correspondentes a 17 átomos de carbono, que foram atribuídos a 7 carbonos não hidrogenados, sendo 4 oxigenados, 9 a carbonos metínicos e 1 carbono metílico. Este espectro apresentou semelhança com o de Kt-3, levando a sugerir que Kt-6 possua um esqueleto do tipo nor-benzofurânico. Além disso, a ausência dos sinais em δ_{C} 55,5 e 55,9 referentes aos grupos metoxilos de Kt-3, levaram a sugerir que Kt-6 não possua esse tipo de substituinte, mas sim, grupamentos hidroxilas no anel A.

Essa proposta foi fortalecida ao analisar o espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) (Figura 71) e suas expansões (Figuras 72, 73 e 74), e perceber a ausência dos sinais em δ_{H} 3,91 (s) e 3,83 (s), referentes aos hidrogênios dos grupos metoxilos de Kt-3. Sustentando essa proposta, foi observado a presença de dois singletos com integral de 1 hidrogênio cada em δ_{H} 9,22 e 8,64, os quais foram atribuídos as hidroxilas da posição 4' e 2'. Ainda, foi observado um sinal em δ_{H} 7,21 (d, $J = 1,0$ Hz) referente ao hidrogênio H-3 e os sinais em δ_{H} 1,87 (dd, $J = 1,5$ e 6,5 Hz), 6,28 (dq, $J = 6,5$ Hz e 13,0 Hz) e 6,49 (d, $J = 2,0$ Hz) característicos dos hidrogênios H-10, H-9 e H-8 respectivamente, da unidade propenila. Os demais deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de Kt-6 podem ser vistos na tabela 10.

Após análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com os dados descritos na literatura (MADEIRO et al., 2012), foi possível identificar a substância Kt-6 como sendo a nor-neolignana 2-(2',4'-diidroxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano. Esta substância já foi relatada anteriormente em *Krameria tomentosa* (MADEIRO et al., 2012) e em outras espécies do gênero *Krameria* (ACHENBACH, 1987b; DOMINGUEZ et al., 1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 68 - Estrutura química de Kt-6.



2-(2',4'-diidroxifenil)-5-(E)-propenilbenzofurano

Tabela 10 - Dados de RMN de Kt-6 (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3COCD_3) comparados com dados da literatura (MADEIRO et al., 2012).

Posição	Kt-6		Referência ¹	
	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}
2	-	154,8	-	154,8
3	7,21 (d, 1H; 1,0)	104,0	7,20 (d, 1H; 1,0)	104,0
3a	-	132,3	-	131,3
4	7,54 (d, 1H; 1,5)	118,5	7,52 (d, 1H; 1,0)	118,5
5	-	133,9	-	133,9
6	7,29 (dd, 1H; 2,0; 8,5)	122,5	7,26 (dd, 1H; 1,5; 8,5)	122,5
7	7,41 (d, 1H; 8,5)	111,1	7,39 (d, 1H; 8,5)	110,3
7a	-	153,7	-	153,7
8	6,49 (d, 1H; 2,0)	132,3	6,47 (d, 1H; 1,5)	132,3
9	6,28 (dq, 1H; 6,5; 13,0)	124,4	6,23 (dq, 1H; 6,5; 13,0)	124,4
10	1,87 (dd, 3H; 1,5; 6,5)	18,6	-	18,5
1'	-	110,9	-	110,6
2'	-	156,8	-	156,8
3'	6,58 (d, 1H; 2,0)	103,9	6,57 (d, 1H; 2,0)	103,9
4'	-	159,8	-	159,8
5'	6,53 (dd, 1H; 2,0; 8,5)	108,4	6,50 (dd, 1H; 2,0; 8,5)	108,4
6'	7,77 (d, 1H; 8,5)	128,4	7,76 (d, 1H; 8,5)	128,6
OH-2'	8,64 (s, 1H)	-	8,88 (s, 1H)	-
OH-4'	9,22 (s, 1H)	-	-	-

¹Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3COCD_3 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 69 - Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.

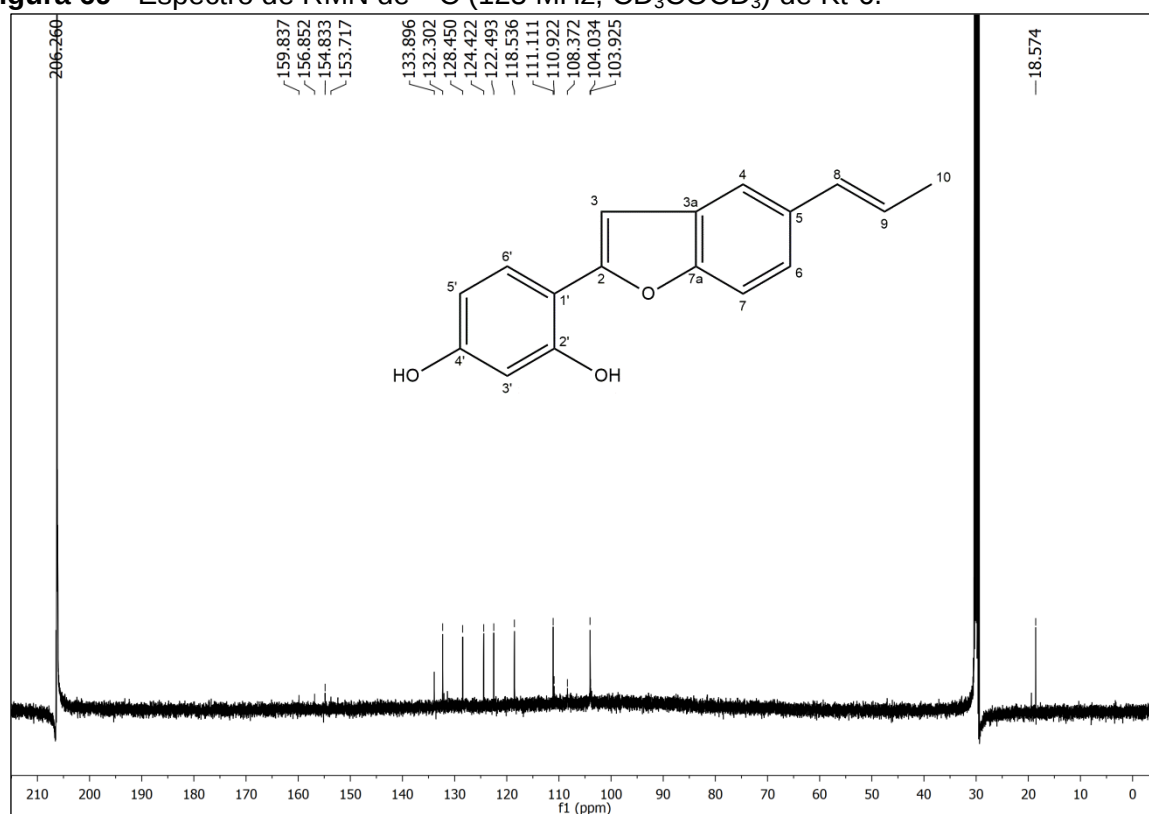
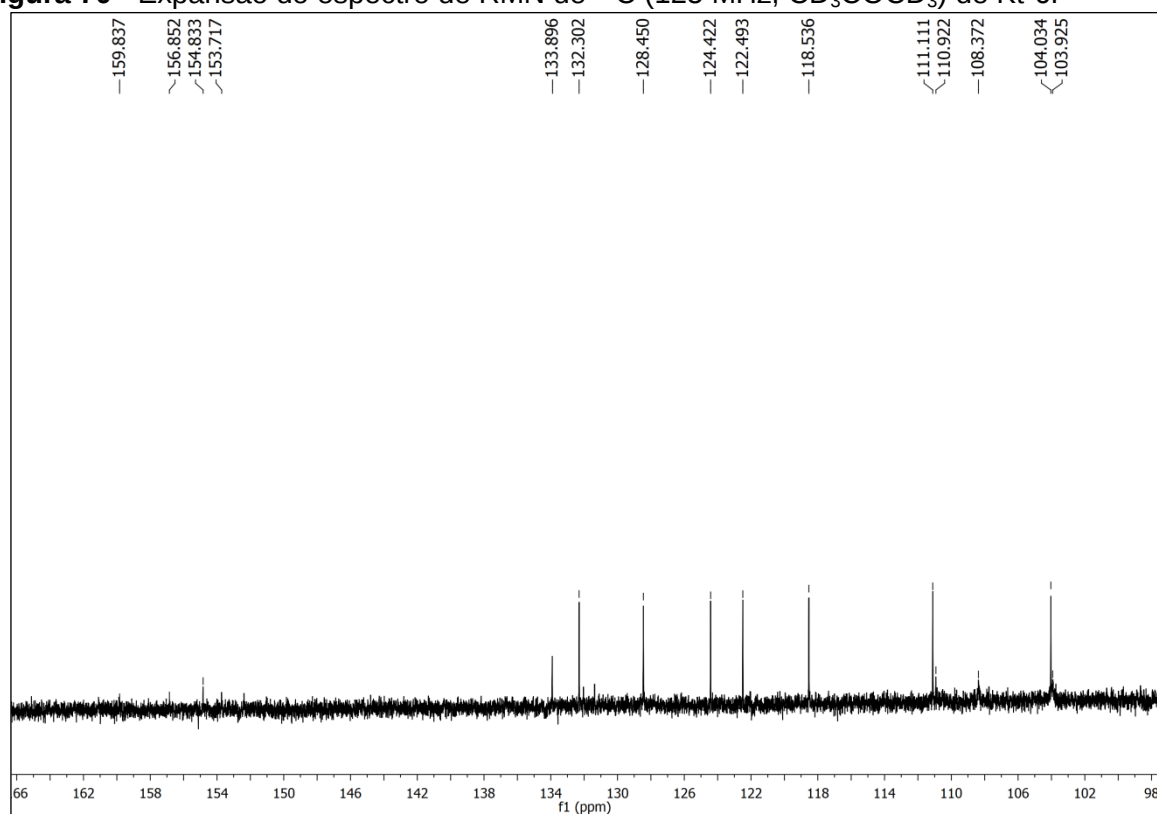


Figura 70 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 71 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.

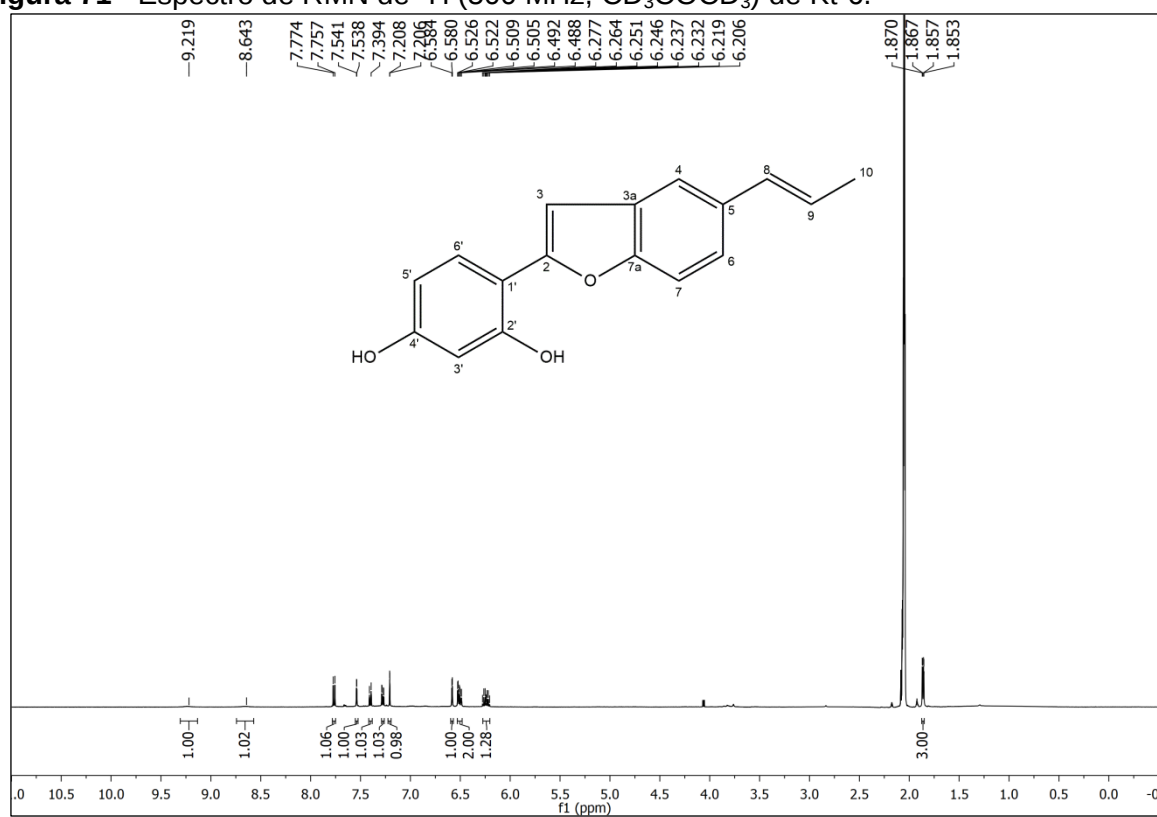
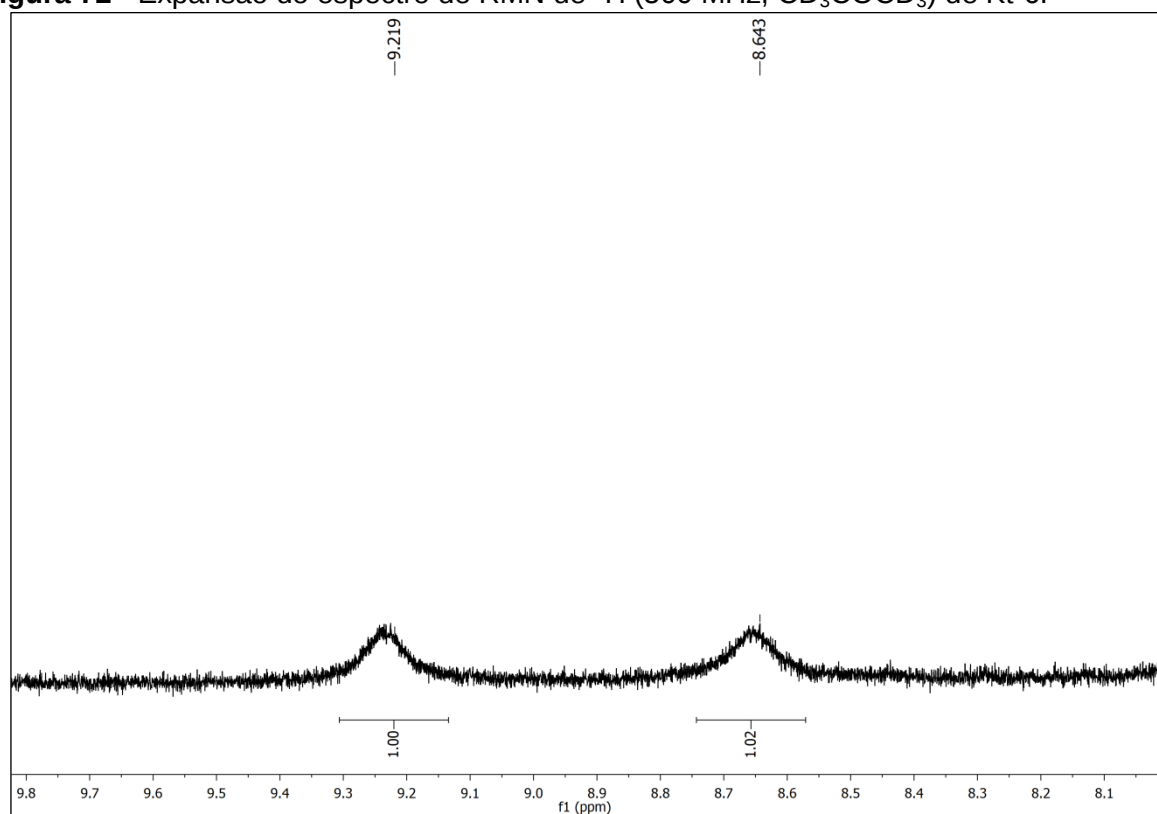


Figura 72 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 73 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.

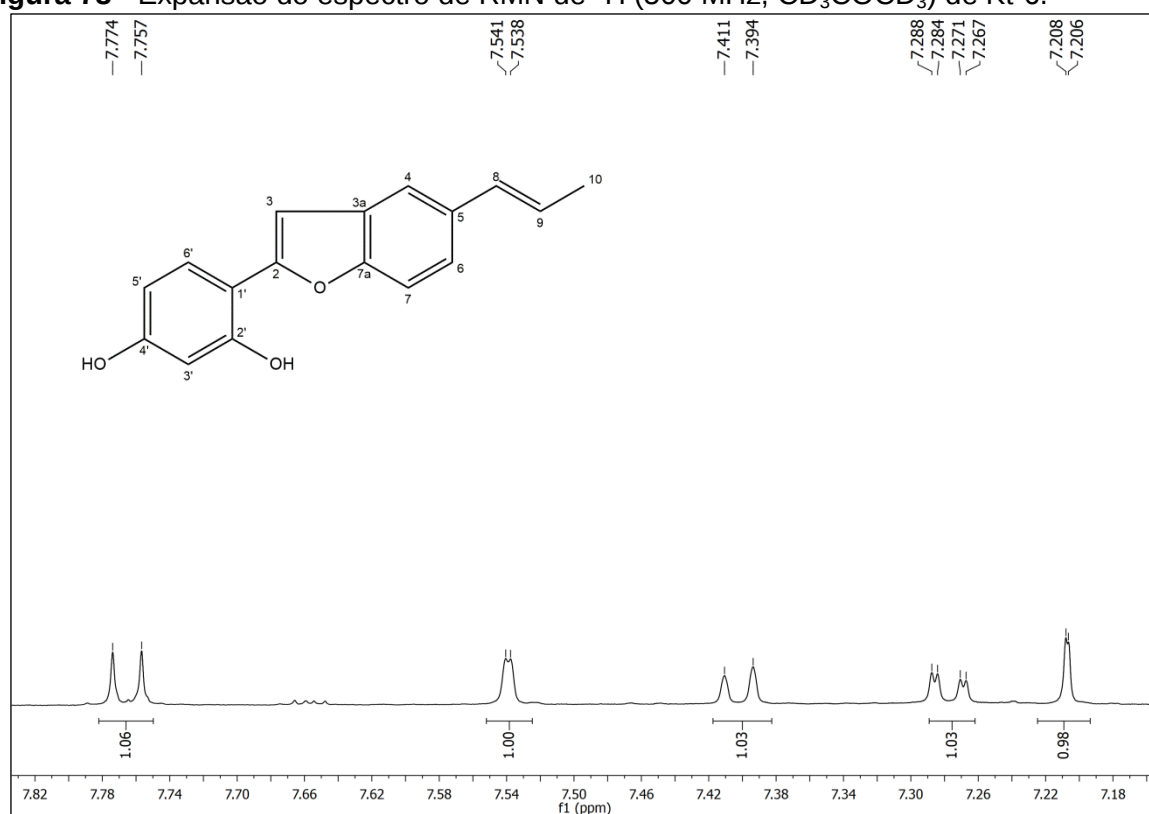
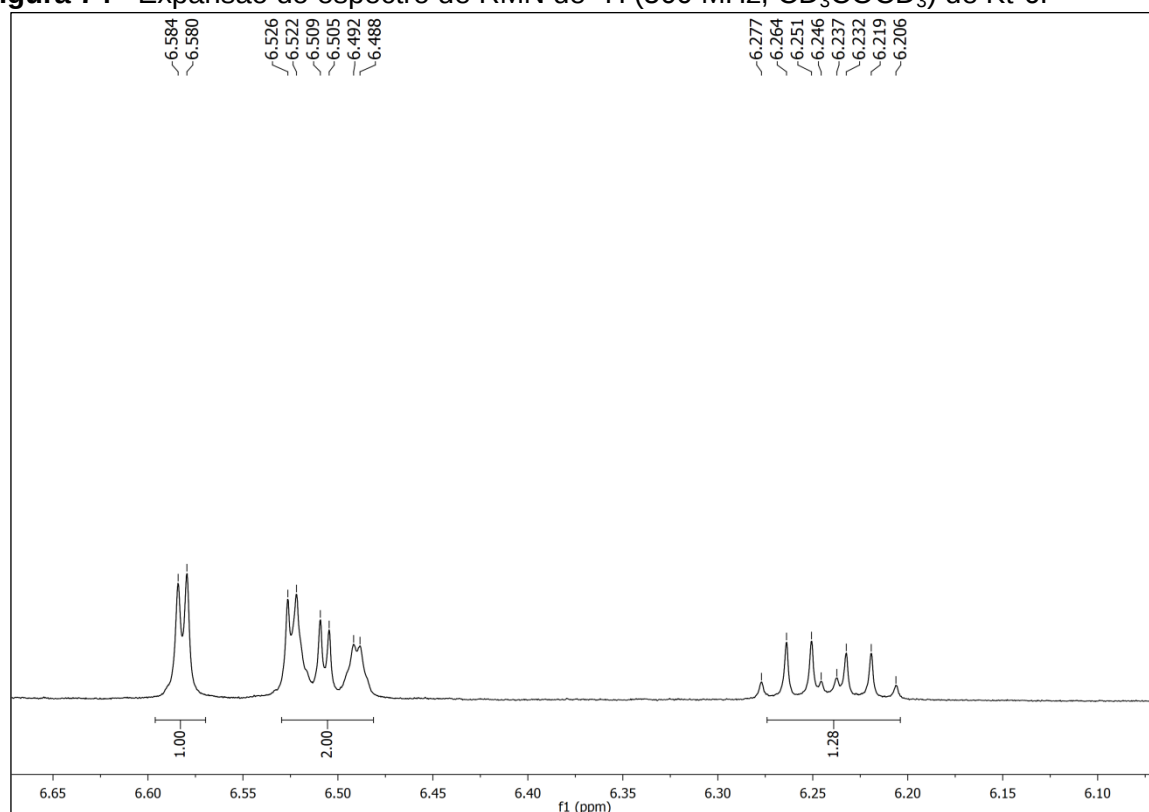


Figura 74 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) de Kt-6.



5.7 Determinação estrutural de Kt-7

A substância codificada como Kt-7 foi isolada na forma de um pó amorfo branco, pesando 5,1 mg.

No espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Figura 76) e em suas expansões (Figuras 77 e 78), observou-se a presença de uma série de sinais na região entre δ_{C} 32,5 e 23,3 para carbonos metilênicos, além do sinal em δ_{C} 14,6 típico de metila terminal, sinais estes, sugestivos de uma longa cadeia alquila, comum em ácidos graxos (GUNSTONE et al., 1977). Ainda, foi observado a presença dos sinais em δ_{C} 175,7, característico de uma carbonila de amida e em δ_{C} 53,4, típico de um carbono metínico nitrogenado (PAVIA et al., 2015), que foram atribuídos aos carbonos C-1' e C-2, respectivamente. Assim, estas absorções, levaram a sugerir que esta substância poderia tratar-se de uma ceramida (HANNUN; OBEID, 2011). Além disso, foram observados os sinais em δ_{C} 131,2 e 131,1 característicos de carbonos olefínicos e que foram atribuídos aos carbonos C-16 e C-17, respectivamente. Observou-se ainda, sinais em δ_{C} 62,4, 77,2, 73,4 e 72,9 referentes a 1 carbono oximetilênico e 3 carbonos oximetínicos, que foram atribuídos aos carbonos C-1, C-3, C-4 e C-2', respectivamente, sugerindo a presença de hidroxilas nestas posições.

Esta proposta foi fortalecida após análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Figura 79) e em suas expansões (Figuras 80, 81 e 82), no qual foram observados os sinais em δ_{H} 7,64 (dl, $J = 4,4$ Hz), 6,72 (dl, 2H; $J = 6,0$) e 6,24 (dl, $J = 5,6$ Hz) atribuídos respectivamente aos hidrogênios dos grupos hidroxilas nas posições C-2', C-1, C-3 e C-4. Ainda, foi observado um dubleto em δ_{H} 8,61 ($J = 9,2$), referente ao hidrogênio do grupo amida, e um multiplete em δ_{H} 5,15, que foi atribuído ao hidrogênio da posição H-2, sinais característicos de ceramidas (HANNUN; OBEID, 2011). Os sinais em δ_{H} 5,59 (td, $J = 15,2$; 6,0) e 5,52 (td, $J = 15,2$; 6,0), foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-16 e H-17, respectivamente. Ainda, foi observado a presença de um dubleto largo, bastante intenso, referente aos hidrogênios de duas cadeias alifáticas de uma ceramida, e também foi visto um tripleto em δ_{H} 0,89 (6H, $J = 6,4$) que foi atribuído a os hidrogênios das metilas terminais em H-21 e H-19'. Os demais deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de Kt-7 podem ser vistos na tabela 11.

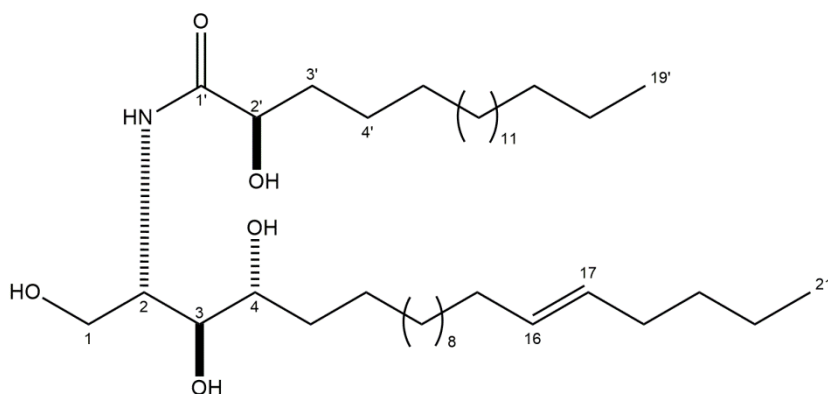
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espectro de correlação homonuclear (COSY) (Figura 83) e em sua expansão (Figura 84) mostrou correlação entre o hidrogênio H-2 (δ_H 5,15 m) e os hidrogênios H-1, H-3 e o H-N. Além disso, pode-se observar as correlações das hidroxilas com os hidrogênios dos carbonos que estas estavam inseridas, em δ_H 7,64 correlacionando com H-2' (δ_H 4,65 m); δ_H 6,72 correlacionando com H-1 e H-3, e δ_H 6,24 correlacionando com H-4.

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 85) e em suas expansões (Figura 86 e 87) permitiu identificar a correlação entre o hidrogênio H-N (δ_H 8,61) a duas ligações (2J) com C-1' (δ_C 175,7) e C-2 (δ_C 53,4), enquanto que o hidrogênio H-2 apresentou correlação com C-1' (δ_C 175,7), C-1 (δ_C 62,4) e C-3 (δ_C 62,4) confirmando a posição do grupo amida. Ainda, observou-se as correlações entre os hidrogênios H-15/18 (δ_H 2,02) com os carbonos C-16 (δ_C 131,2) e C-17 (δ_C 131,1), confirmando a posição da dupla ligação. As demais correlações podem ser vistas na tabela 11.

Após compilação e análise dos dados de RMN de 1H e ^{13}C uni e bidimensionais, e comparação com os dados descritos na literatura (MAIA et al., 2010), pode-se sugerir a substância Kt-7 como sendo a ceramida (2*S*,3*S*,4*R*,16*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hidroxinonadecanoilamino]-heneicosadec-16-en-1,3,4-triol, relatada pela primeira vez na família Krameriaceae.

Figura 75 - Estrutura química de Kt-7.



(2*S*,3*S*,4*R*,16*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hidroxinonadecanoilamino]-heneicosadec-16-en-1,3,4-triol.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 11 - Dados de RMN de Kt-7 (*J* em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) comparados com dados da literatura (MAIA et al., 2010). ¹Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$.

Posição	HMQC		HMBC		COSY	Referência ¹	
	δ_{C}	δ_{H} , mult. (<i>J</i> em Hz)	2J	3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	δ_{C}	δ_{H} , mult.
1	62,4	H-9a(4,55 dd, 1H;4,8;11,2) H-9b(4,46 dd,1H;4,4;10,8)	H-2	-	H-2	62,5	H-9a(4,54 dd, 1H;4,5;10,9) H-9b(4,44 dd,1H;4,8;10,9)
2	53,4	5,15 (m, 1H)	H-N	-	H-N	53,4	5,15 (m, 1H)
3	77,2	4,39 (m, 1H)	H-2	-	H-2	77,2	4,38 (m, 1H)
4	73,4	4,32 (m, 1H)	-	-	-	73,5	4,32 (m, 1H)
5	34,5	2,29; 1,95 (m, 2H)	-	-	-	34,6	2,29; 1,95 (m, 2H)
6	26,2	1,79; 1,75 (m, 2H)	-	-	-	26,3	1,77; 1,74 (m, 2H)
7-14/5'-16'	30,7-30	1,32 - 1,27 (m)	-	-	-	30,8-30	1,33 - 1,28 (m)
15	33,3	2,02 (m, 2H)	-	-	-	33,5	2,02 (m, 2H)
16	131,2	5,59 (td, 1H; 6,0; 15,2)	H-15; H-18	-	-	131,3	5,55 (td, 1H; 5,4; 15,4)
17	131,1	5,52 (td, 1H; 6,0; 15,2)	-	H-15; H-18	-	131,2	5,50 (td, 1H; 5,8; 15,4)
18	33,6	2,02 (m, 2H)	-	-	-	33,8	2,02 (m, 2H)
19	32,5	1,32 - 1,27 (m)	-	H-21	-	32,6	1,33 - 1,28 (m)
20	23,3	1,32 - 1,27 (m)	H-21	-	-	23,4	1,33 - 1,28 (m)
21/19'	14,6	0,89 (t, 6H; 6,4)	-	-	-	14,8	0,88 (t, 6H; 6,2)
1'	175,7	-	H-N	H-2	-	175,7	-
2'	72,9	4,65 (m, 1H)	-	-	-	72,9	4,64 (m, 1H)
3'	36,1	2,22; 2,09 (m, 2H)	-	-	-	36,2	2,19; 2,06 (m, 2H)
4'	27,0	1,32 - 1,27 (m)	-	-	-	27,1	1,33 - 1,28 (m)
17'	32,5	1,32 - 1,27 (m)	-	H-19'	-	32,6	1,33 - 1,28 (m)
18'	23,3	1,32 - 1,27 (m)	H-19'	-	-	23,4	1,33 - 1,28 (m)
N-H	-	8,61 (dl, 1H; 9,2)	-	-	H-2	-	8,60 (d, 1H; 8,9)
OH-2'	-	7,64 (dl, 1H; 4,4)	-	-	H-2'	-	7,63 (sl, 1H)
OH-1/3	-	6,72 (dl, 2H; 6,0)	-	-	H-1; H-3	-	6,72 (sl, 2H)
OH-4	-	6,24 (dl, 1H; 5,6)	-	-	H-4	-	6,26 (sl, 1H)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 76 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.

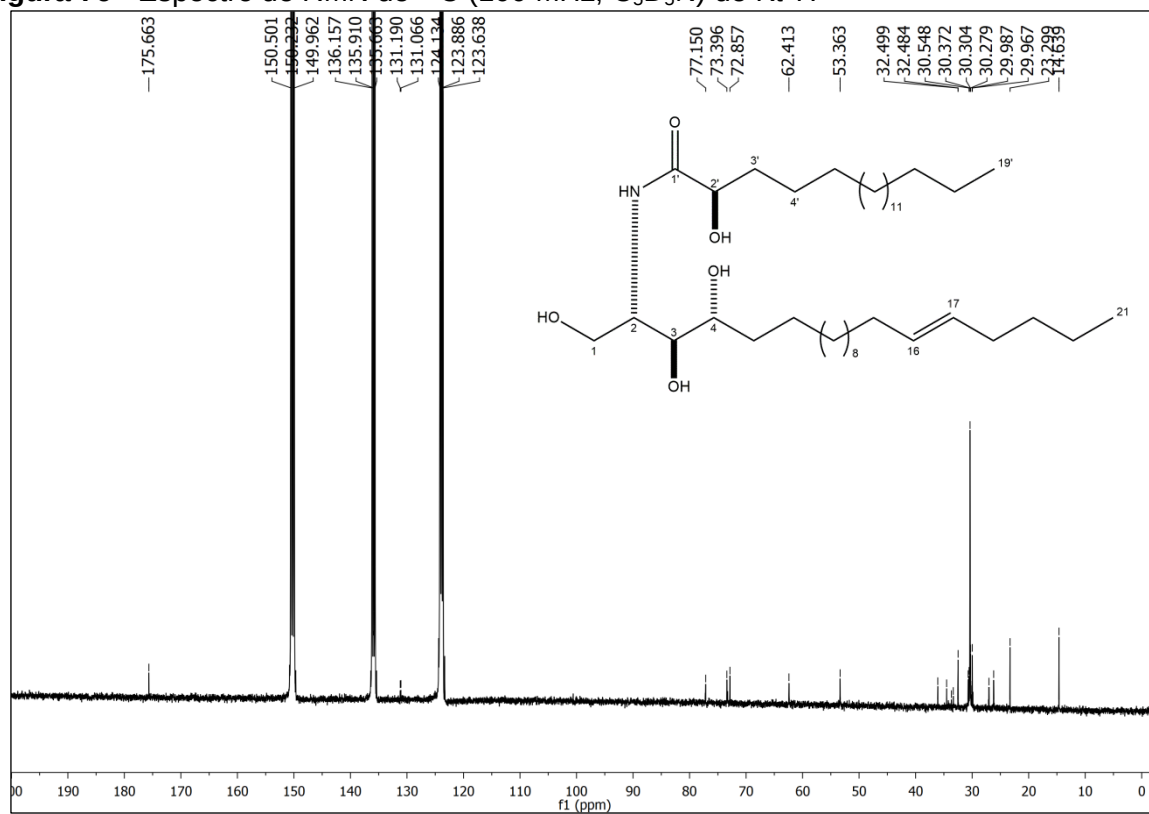
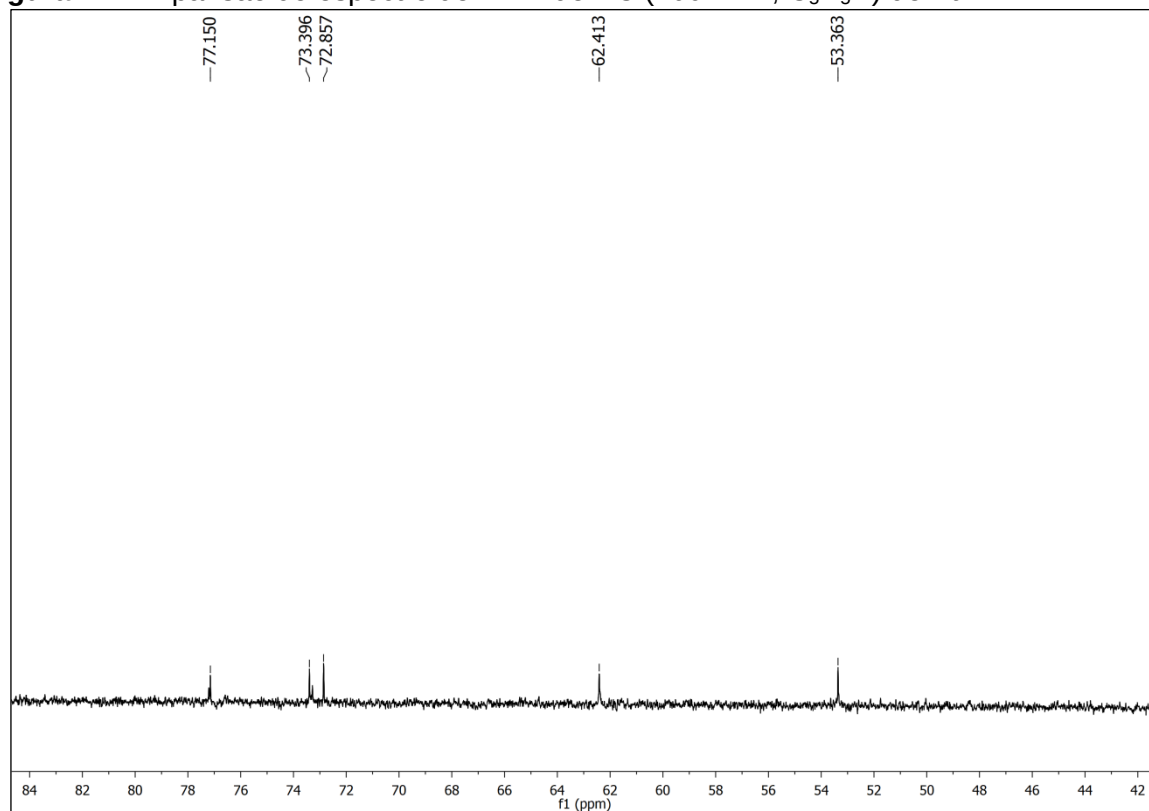


Figura 77 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 78 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7

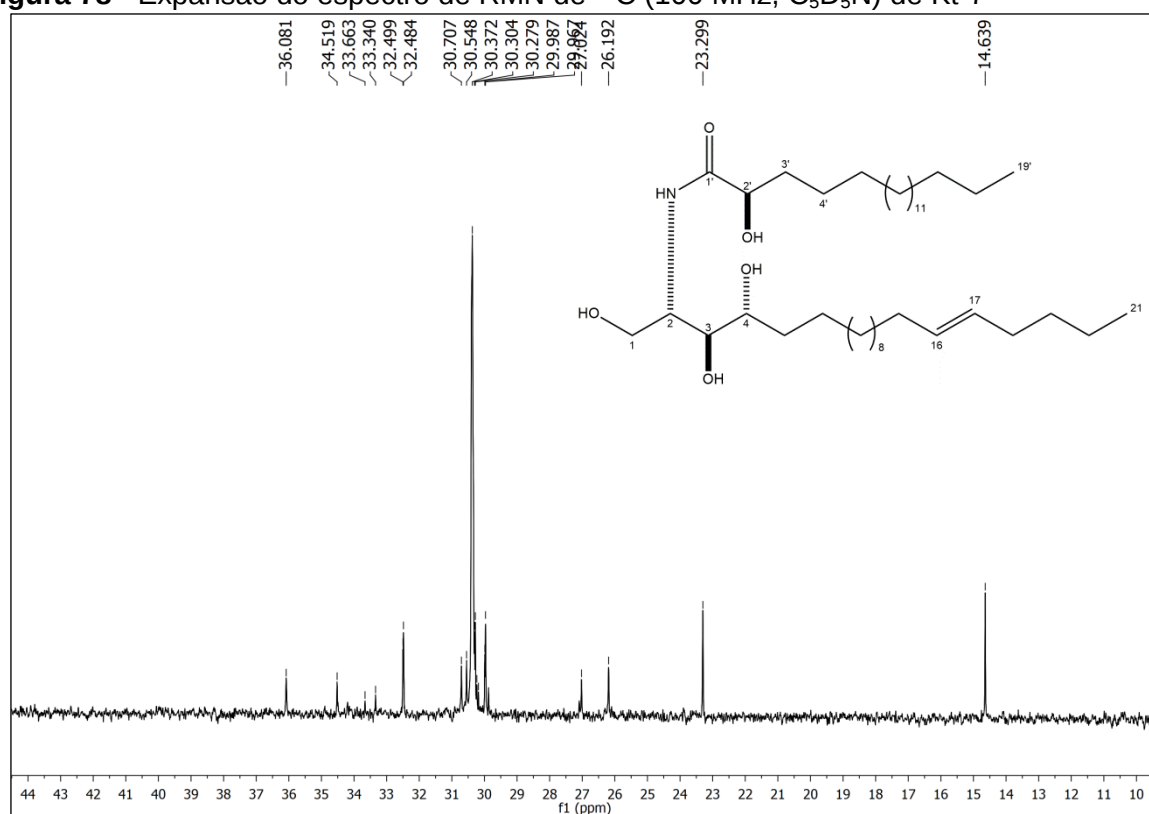
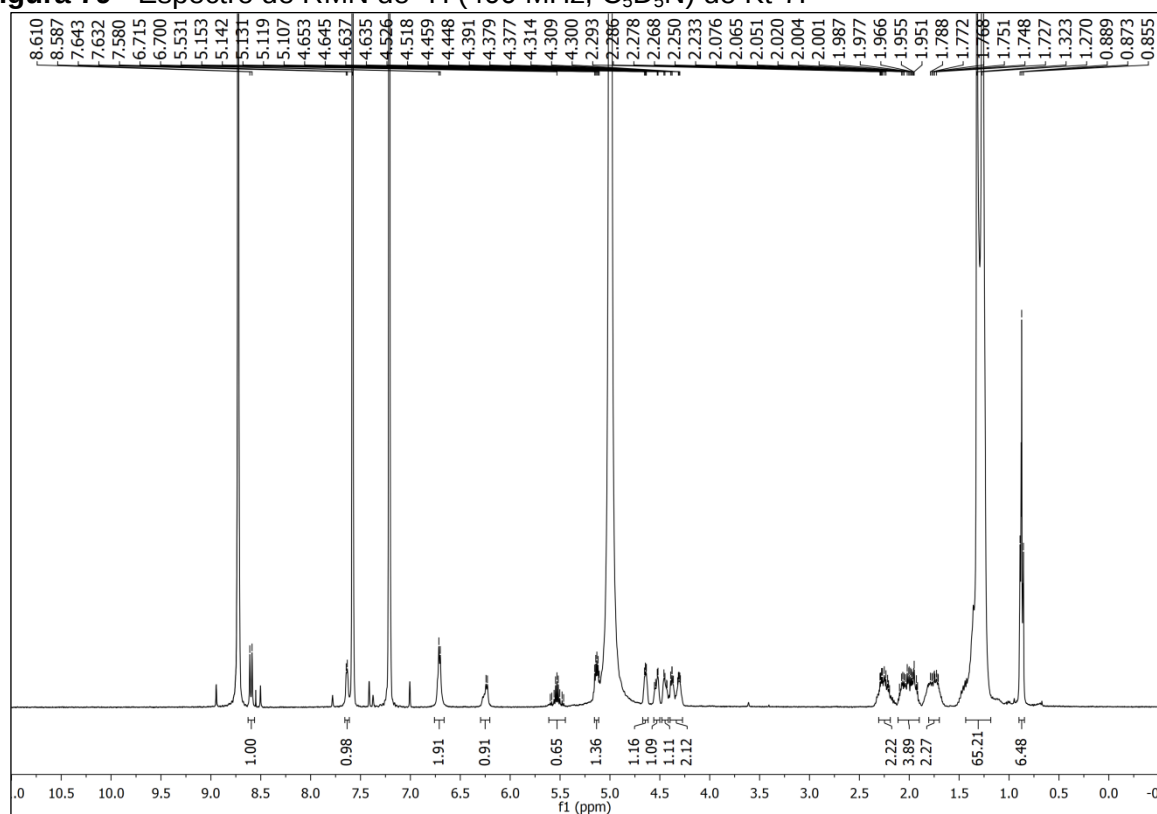


Figura 79 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 80 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.

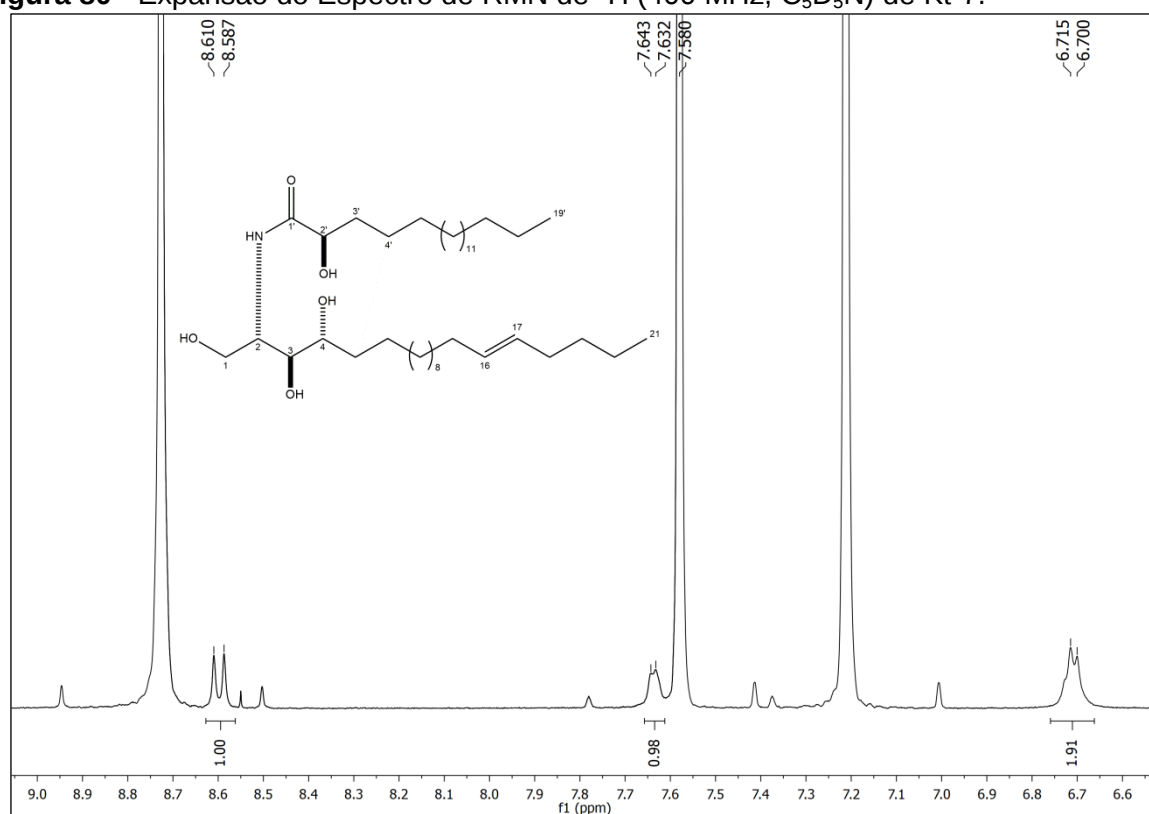
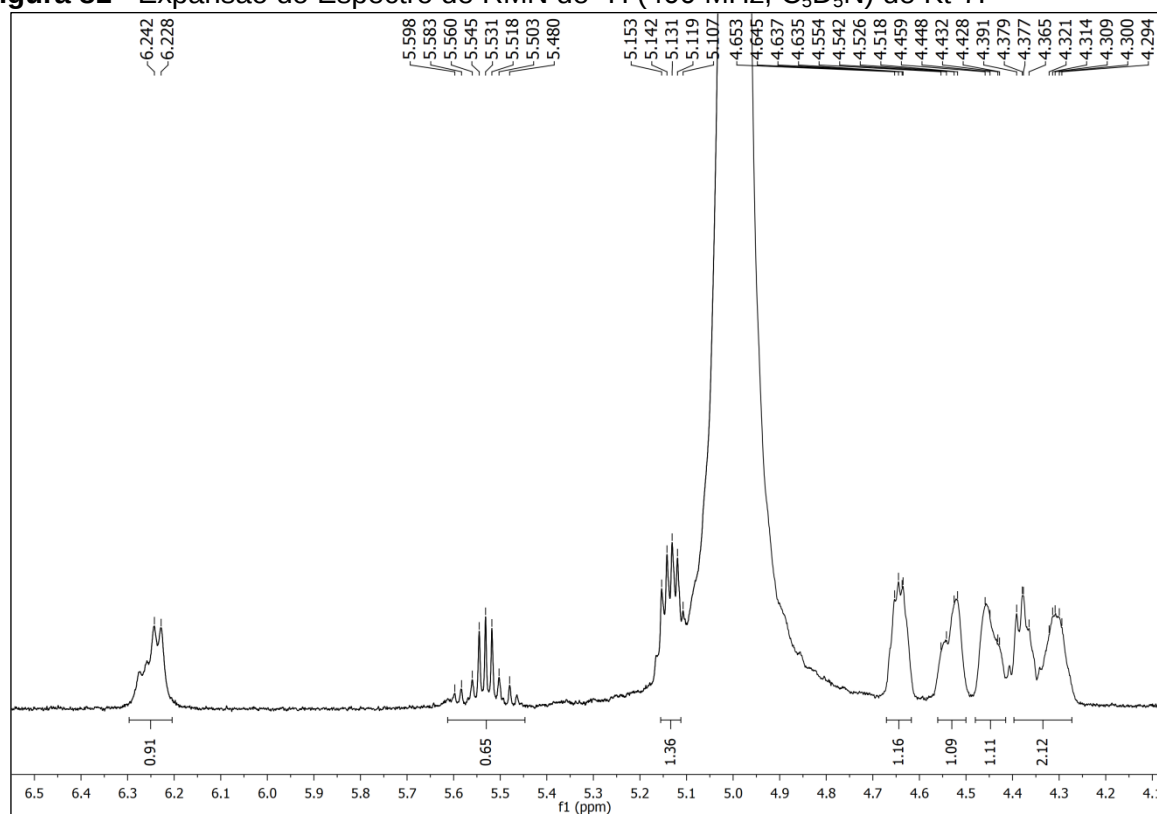


Figura 81 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 82 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.

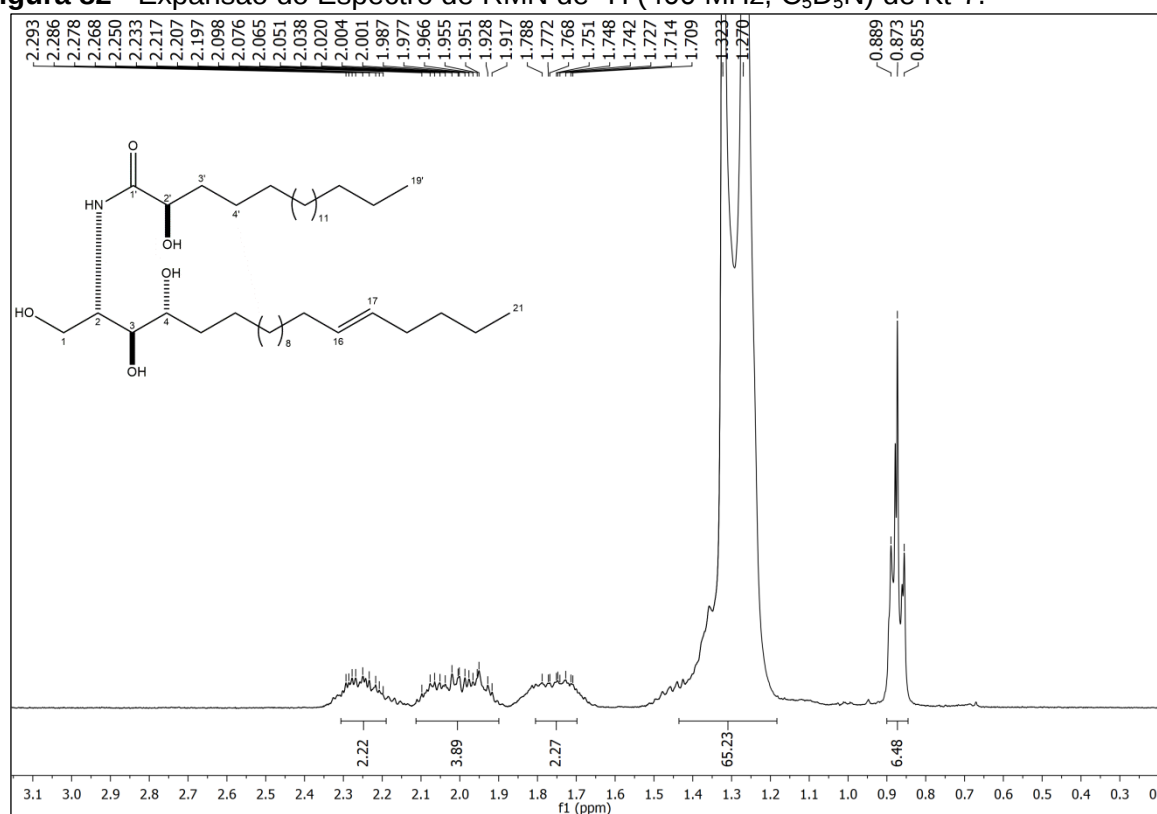
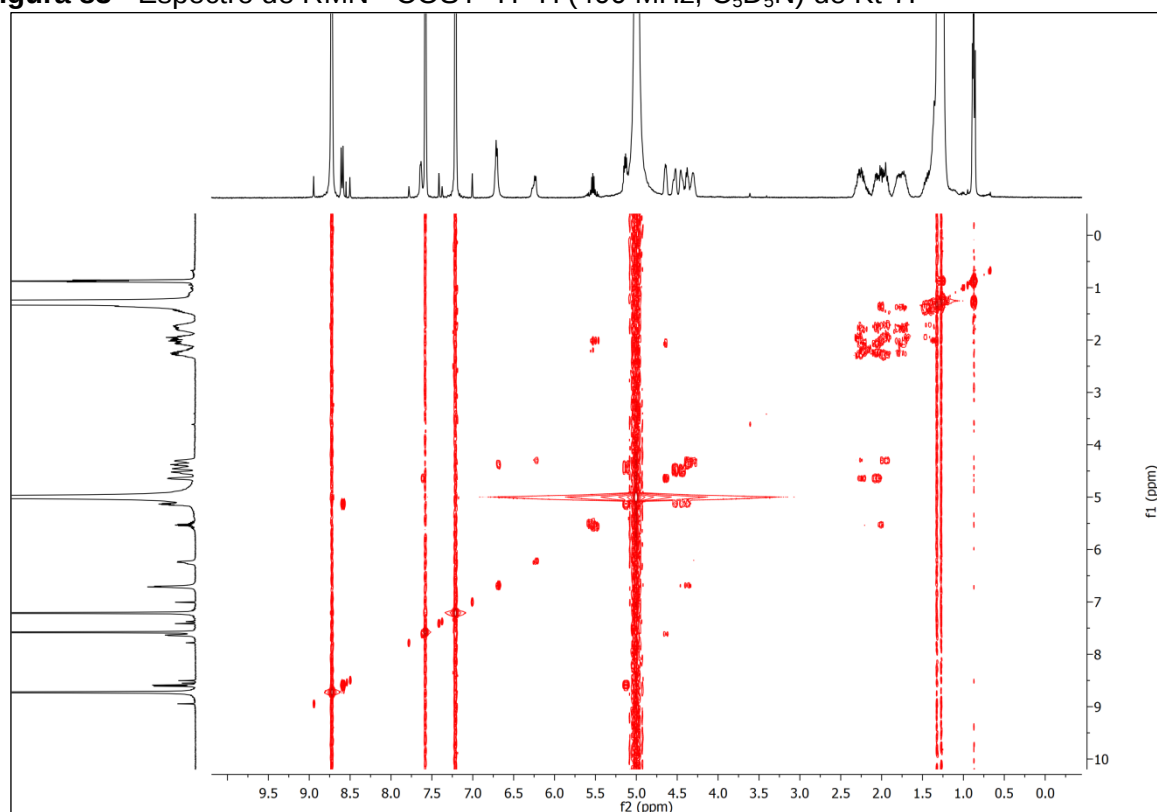


Figura 83 - Espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 84 - Expansão do espectro de RMN - COSY ^1H - ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.

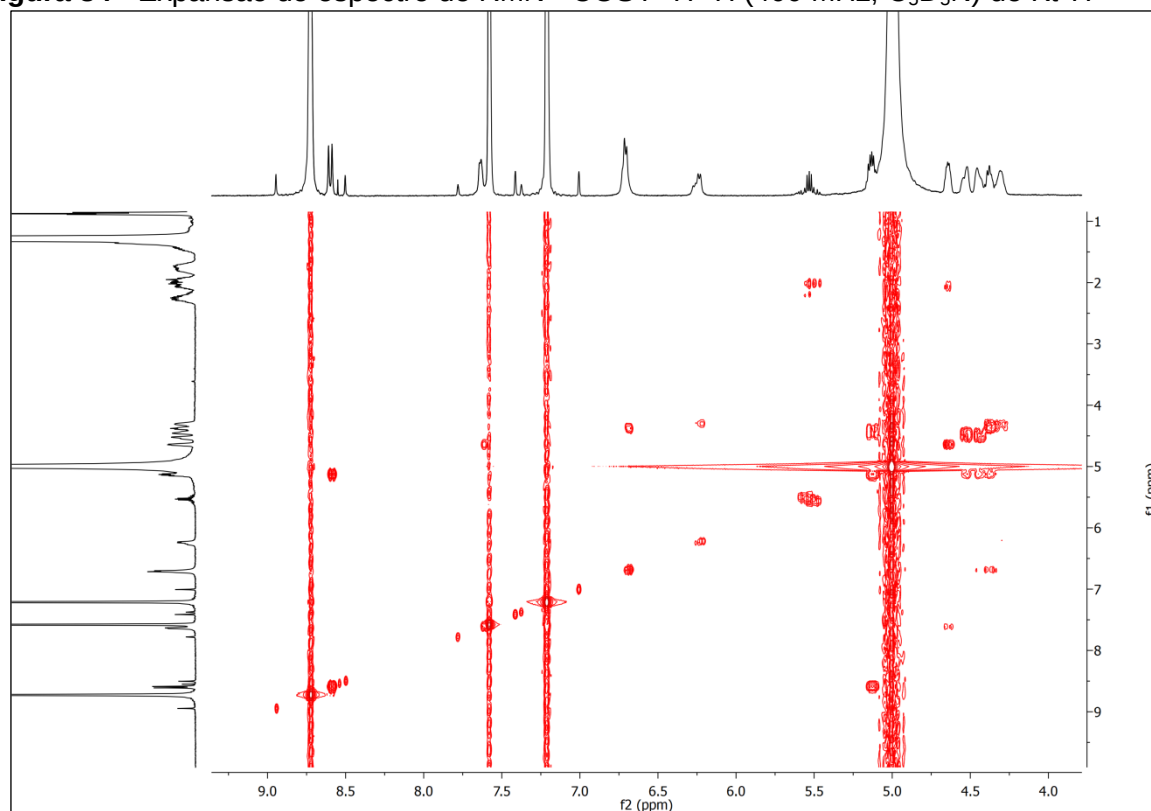
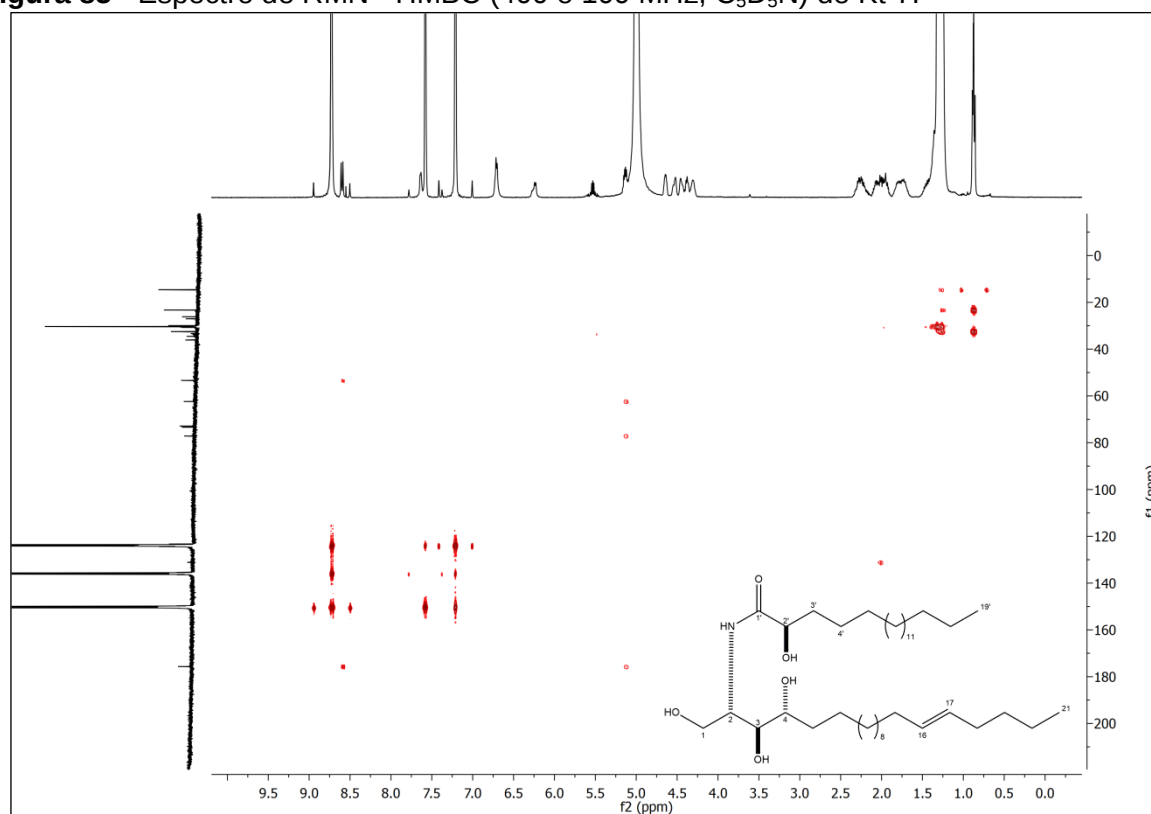


Figura 85 - Espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Kt-7.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 86 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, C₅D₅N) de Kt-7.

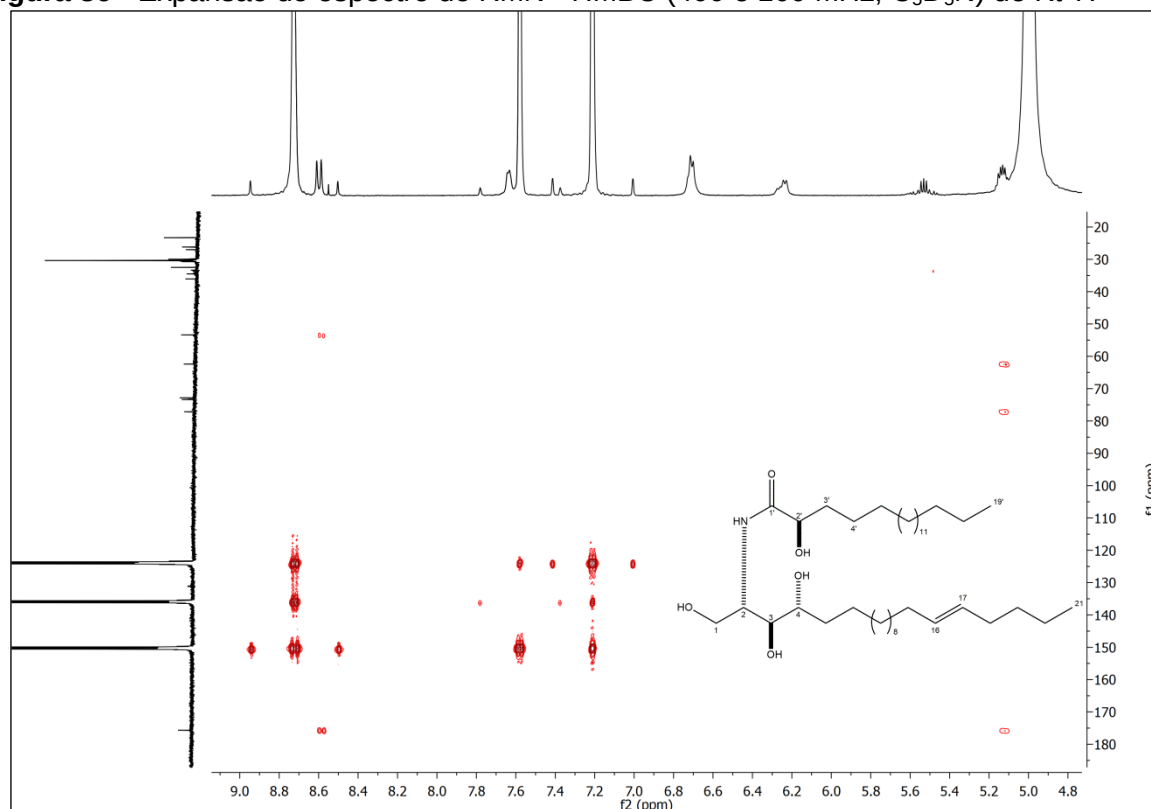
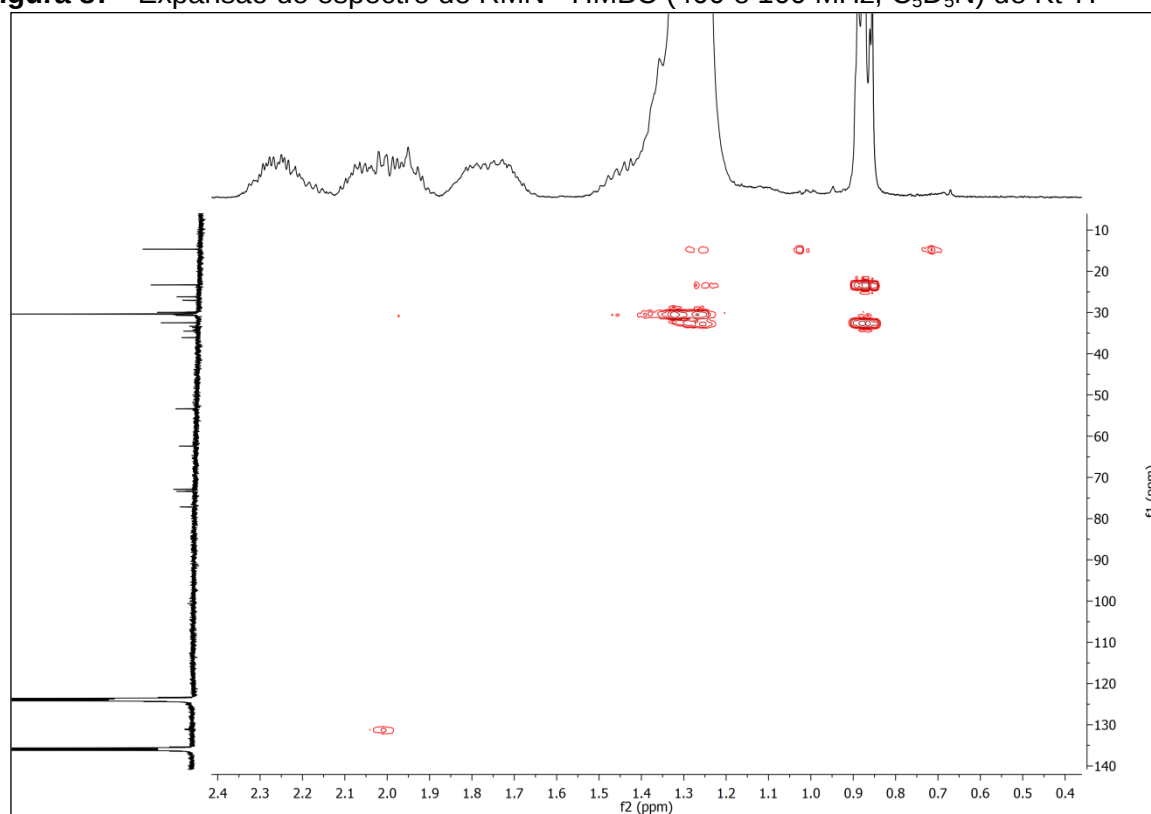


Figura 87 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, C₅D₅N) de Kt-7.



5.8 Determinação estrutural de Kt-8

A substância codificada como Kt-8 foi isolada na forma de um pó vermelho, pesando 35,4 mg. Seu espectro de massas de alta resolução obtido por ESI-MS no modo negativo (Figura 89) mostrou o pico da molécula cationizada em m/z 395,1298 $[M+Na]^+$ compatível com a fórmula molecular $C_{17}H_{24}NaO_9$ (calc. 395,1313).

O espectro de infravermelho obtido em pastilhas de KBr (Figura 90) mostrou bandas de absorções em 3405 cm^{-1} , característico de estiramento O-H, em 1630 cm^{-1} característico de carbonila de cetona quelada em sistema aromático, em 2933 cm^{-1} referente ao estiramento C-H alifático e bandas de absorções em 1220 e 1068 cm^{-1} , referente ao estiramento C-O (PAVIA et al., 2015).

No espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CD_3OD) (Figura 91) e em suas expansões (figuras 92, 93 e 94), observou-se um total de 32 sinais sendo a maioria duplicados, com excessão dos deslocamentos químicos em δ_C 16,8 e 17,9, levando a sugerir que Kt-8 tratava-se de uma mistura de isômeros. Ainda, foi observada uma absorção em δ_C 211,8 característica de uma carbonila de cetona, que foi atribuída ao carbono C-1', a presença de um carbono aromático acilado em δ_C 106,8, atribuído a C-2 e mais 3 sinais referentes a carbonos aromáticos oxigenados em δ_C 167,3, 165,6 e 161,8, atribuídos aos carbonos C-3, C-5 e C-1, respectivamente, sendo estes sinais condizentes com o esqueleto básico de um acilfloroglucinol (BOHR et al., 2005; PONTES, 2014). Além disso, foram observados sinais em δ_C 16,8 e 17,9 para cada um dos isômeros, e que foram atribuídos à metila C-5', além da presença de um carbono metilênico em δ_C 28,3 atribuído a C-3' e uma metila terminal em δ_C 12,0 referente ao carbono C-4', sugerindo que o grupo acila seria composto por uma fração 2-metil-butilil. Ademais, pode-se sugerir a presença de uma unidade osídica, após observar cinco sinais em pares entre δ_C 74,9 e 62,5, além do carbono anomérico em 101,6, sugerindo tratar-se de uma molécula de glicose (SILVA et al., 2005).

A proposta do esqueleto acilfloroglucinol foi fortalecida após analisar o espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) (Figura 95) e em suas expansões (Figuras 96, 97 e 98), onde, pode-se observar dois dubletos com integral pra 1H cada acoplando *meta* entre si em δ_H 6,19 ($J = 2,0$) e 5,97 ($J = 2,0$), que foram atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-4, além dos sinais em 3,91 δ_H (m), 1,80 (m), 1,40

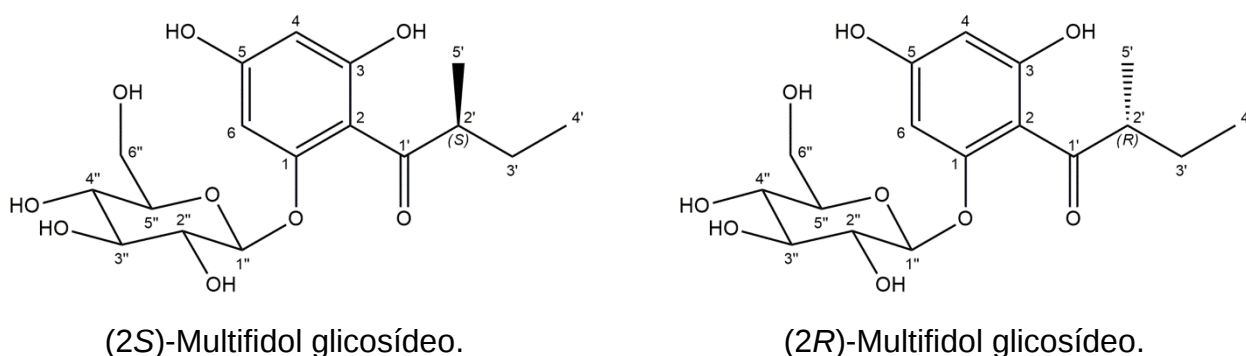
RESULTADOS E DISCUSSÃO

(m), 1,14 (d, $J = 6,8$) e 0,89 (t, $J = 7,6$), que corroboraram com a proposta da fração 2-metil-butiril e foram atribuídos aos hidrogênios das posições H-2', H-3'a/b, H-5' e H-4', respectivamente. A proposta de uma glicose foi confirmada pela presença do sinal em δ_H 5,05 (d, $J = 7,6$) típico do hidrogênio anomérico da glicose com configuração β , que foi atribuído ao H-1'' (SILVA et al., 2005). Esses assinalamentos e os demais foram confirmados através do mapa de contornos heteronuclear HMQC (Figura 99) e podem ser vistos na tabela 12.

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 100) permitiu confirmar a inserção da β -glicose na posição C-1 (δ_C 161,8), através da correlação do hidrogênio anomérico H-1'' (δ_H 5,05, d; $J = 7,6$) a três ligações (3J) com C-1. Ainda, foi possível confirmar a posição de H-6 (δ_H 6,19, d; $J = 2,0$) ao verificar uma correlação a duas ligações (2J) com C-1. As demais correlações podem ser vistas na tabela 12.

Assim, após compilação e análise dos dados espectrais e comparação com os dados descritos na literatura (KOSASI; VAN DER SLUIS; LABADIE, 1989; BOHR et al., 2005), foi possível identificar a substância Kt-8 como uma mistura de epímeros de 1-[(2-metilbutiril)-floroglucinil]- β -glucopiranosídeo ou multifidol glicosídeo, relatados pela primeira vez na família Krameriaceae.

Figura 88 - Estrutura química de Kt-8.



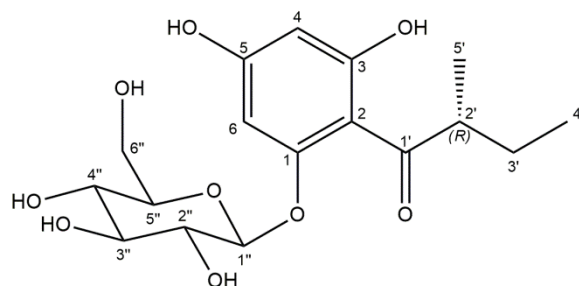
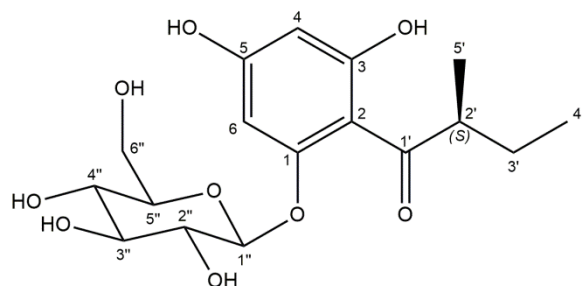
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 12 - Dados de RMN de Kt-8 (*J* em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (BOHR et al., 2005)

Posição	Kt-8		HMBC $\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}}$	Referência ¹	
	HMQC δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}		δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}
1	-	161,8 161,7*	H-6, H-1''	-	161,8
2	-	106,8 107,2*	H-6, H-4	-	106,8
3	-	167,3 167,2*	H-4	-	167,4
4	5,97 (d, 1H; 2,0)	98,3	H-6	5,94 (d, 1H; 2,5)	98,3
5	-	165,6	H-6, H-4	-	165,6
6	6,19 (d, 1H; 2,0)	95,4 95,6*	H-4	6,17 (d, 1H; 2,5)	95,3
1'	-	211,8 212,0*	H-2', H-3', H-5'	-	211,8
2'	3,91 (m, 1H)	47,0 47,1*	H-3', H-5', H-4'	3,90 (m, 1H)	47,0
3'	1,80; 1,40 (m, 1H) 1,85; 1,44 (m, 1H)*	28,3 27,7*	H-2', H-5', H-4'	1,80; 1,38 (m, 1H)	28,3
4'	0,89 (t, 3H; 7,6) 0,91 (t, 3H; 7,2)*	12,0 12,1*	H-2', H-3'	0,87 (t, 3H; 7,5)	12,0
5'	1,14 (d, 3H; 6,8) 1,15 (d, 3H; 6,8)*	16,8 17,9*	H-2', H-3'	1,12 (d, 3H; 7,0)	16,8
1''	5,05 (d, 1H; 7,6) 5,06 (d, 1H; 7,2)*	101,6 101,8*		5,03 (d, 1H; 7,5)	101,7
2''	3,53 (m, 1H) 3,55 (m, 1H)*	74,8 74,9*		3,50 (m, 1H)	74,8
3''	3,49 (m, 1H)	78,7 78,7*	H-1''	3,45 (m, 2H)	78,7
4''	3,42 (tl, 1H; 8,8)	71,2 71,2*	H-6'' α ,	3,38 (t, 1H; 9,0)	71,2
5''	3,49 (m, 1H)	78,4 78,4*	H-1'', H6'' β	3,45 (m, 2H)	78,4
6''	α (3,94 dd, 1H; 2,0; 12,4) β (3,74 dd, 1H; 5,6; 12,0)	62,5 62,5*	α (3,91 dd, 1H; 2,0; 12,3) β (3,71 dd, 1H; 5,5; 12,3)		62,5

¹Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD .

*Valores referentes ao isômero (2*R*).



Kt-8.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 89 - Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de Kt-8.

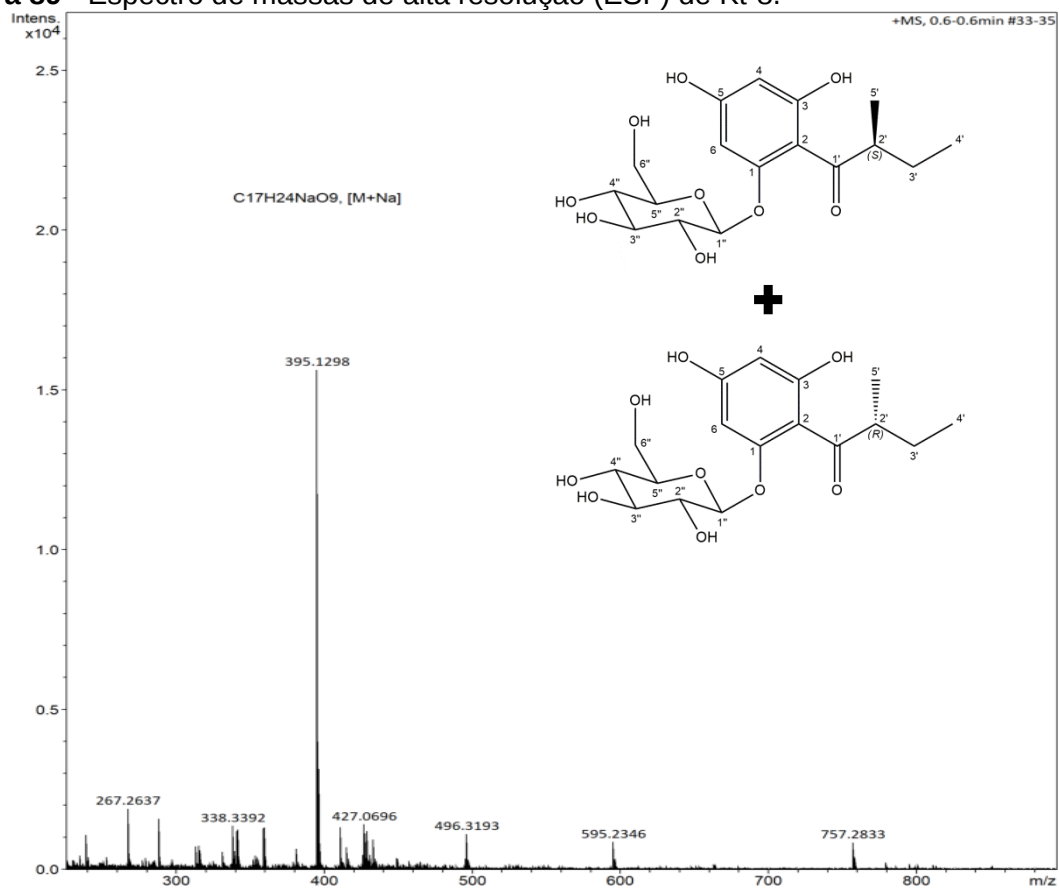
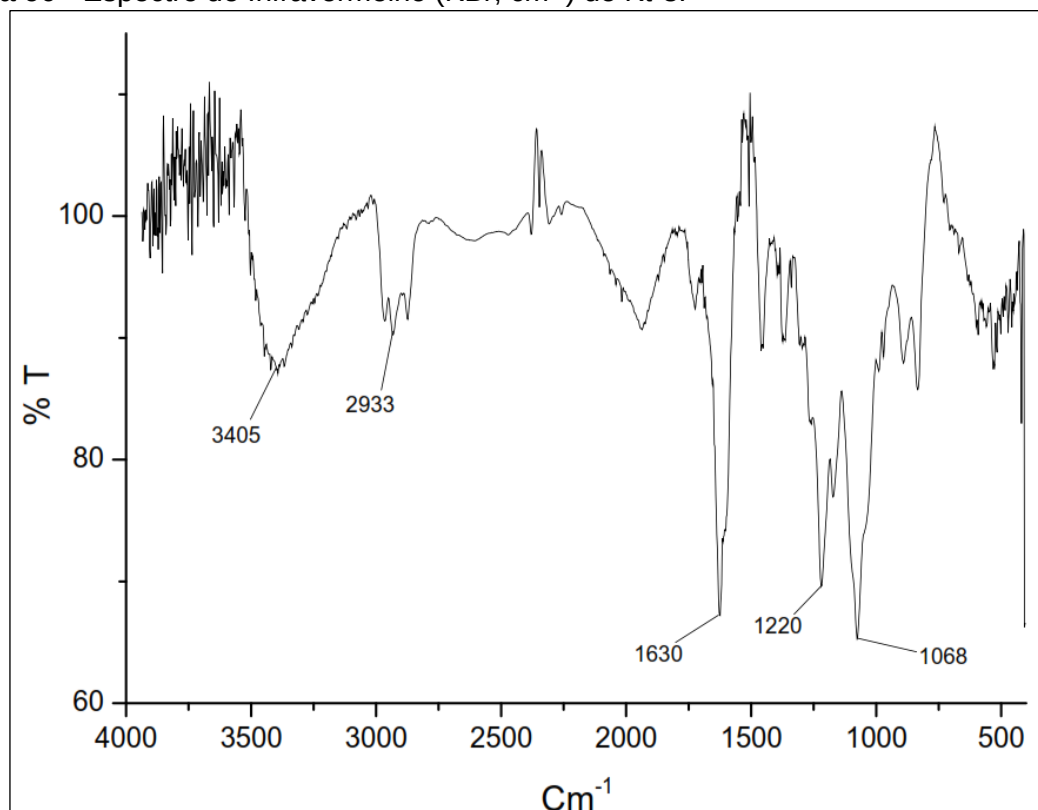


Figura 90 - Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de Kt-8.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 91 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8.

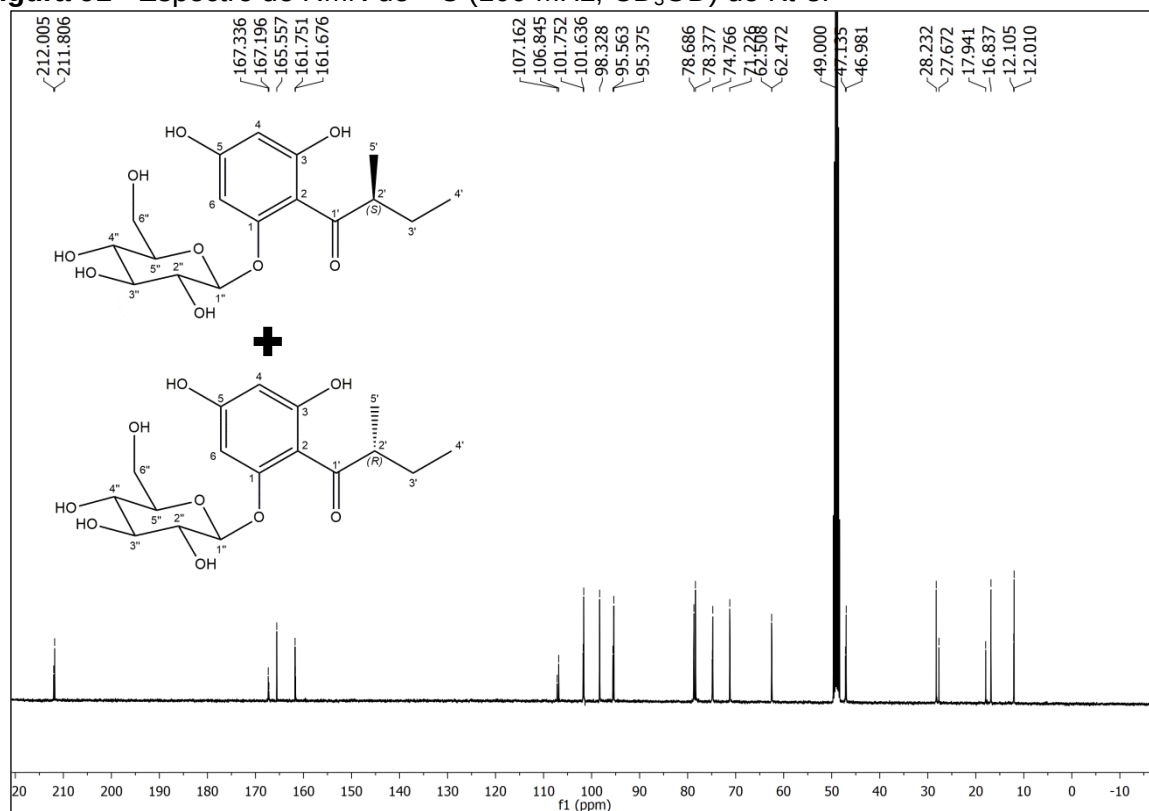
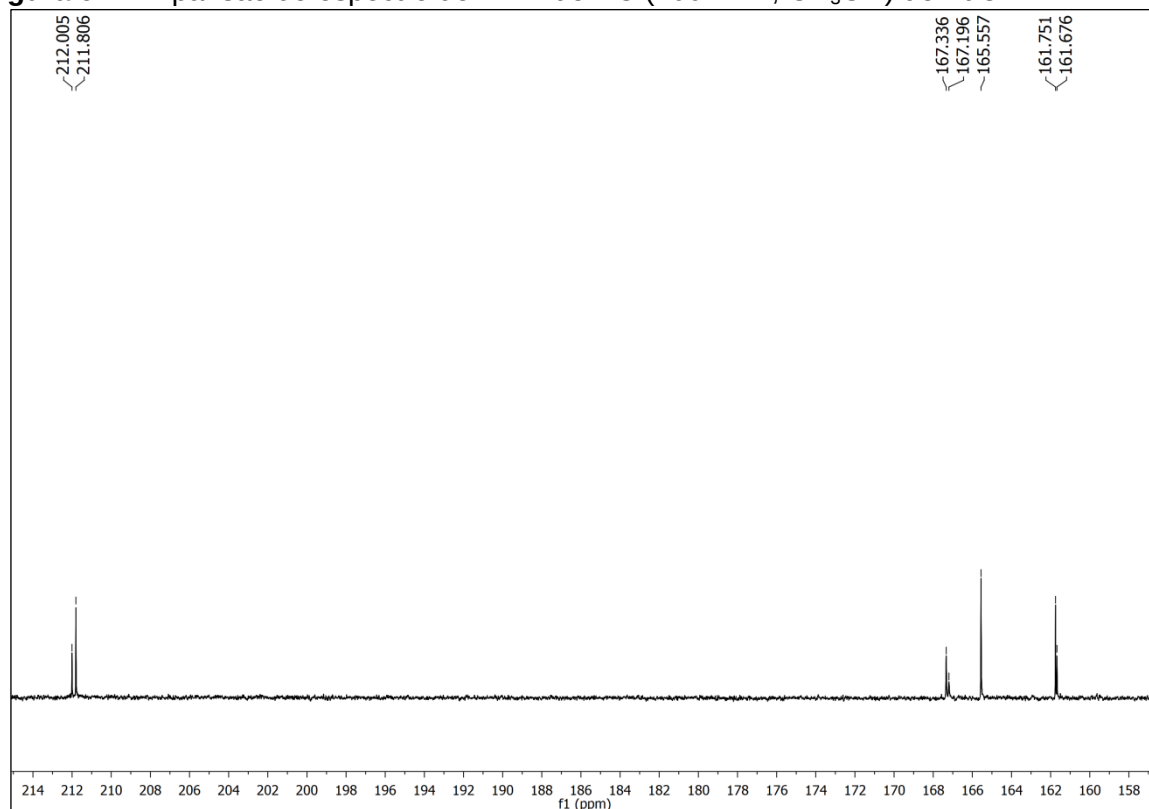


Figura 92 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 93 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8.

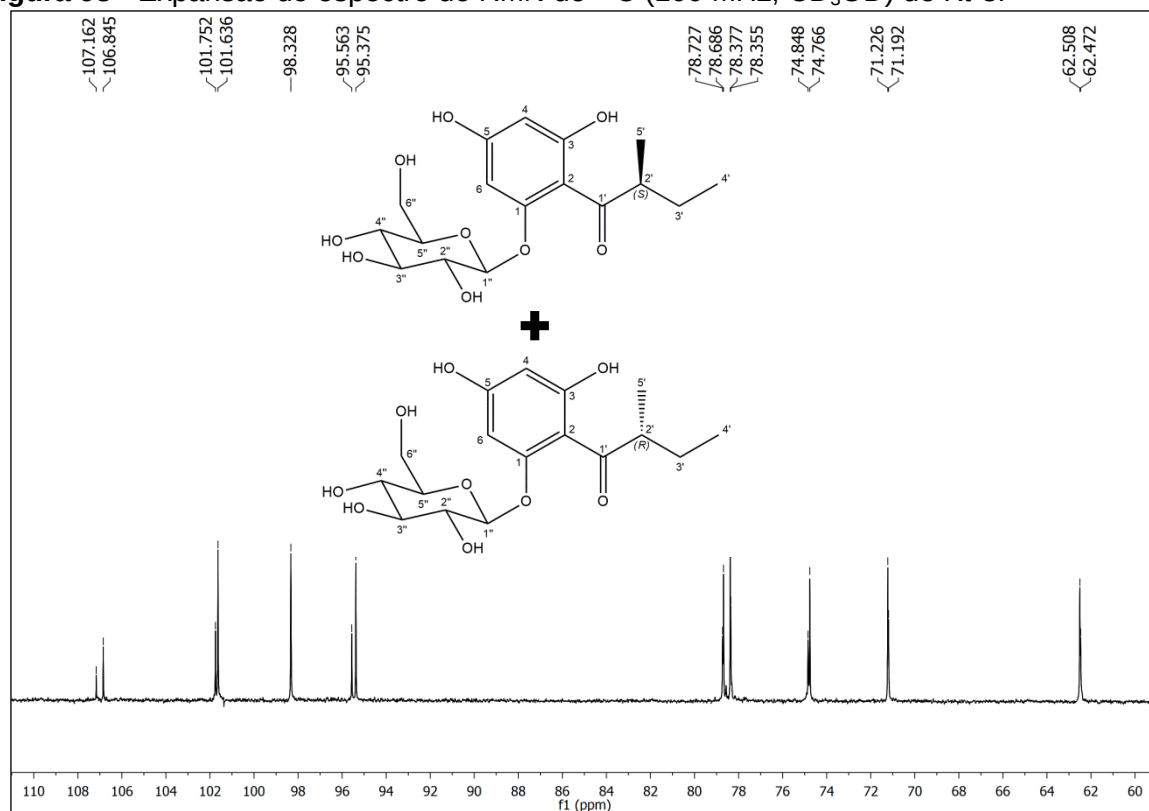
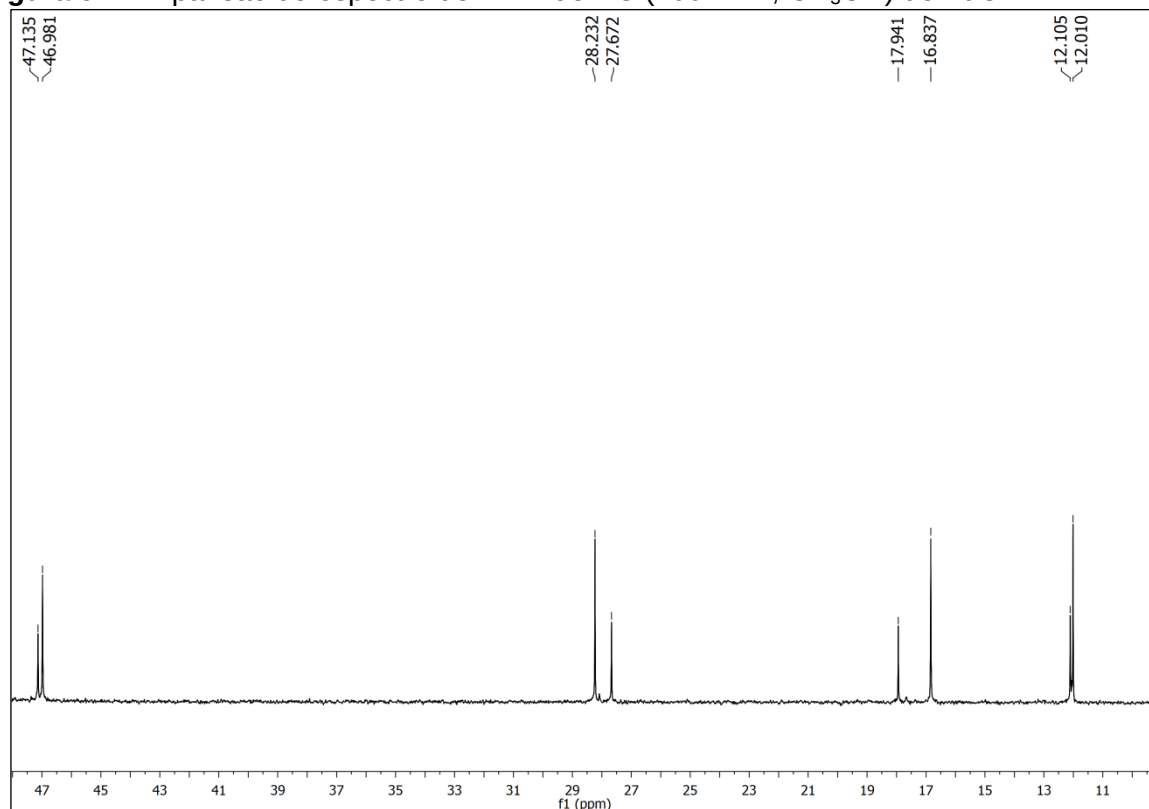


Figura 94 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) de Kt-8.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 95 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.

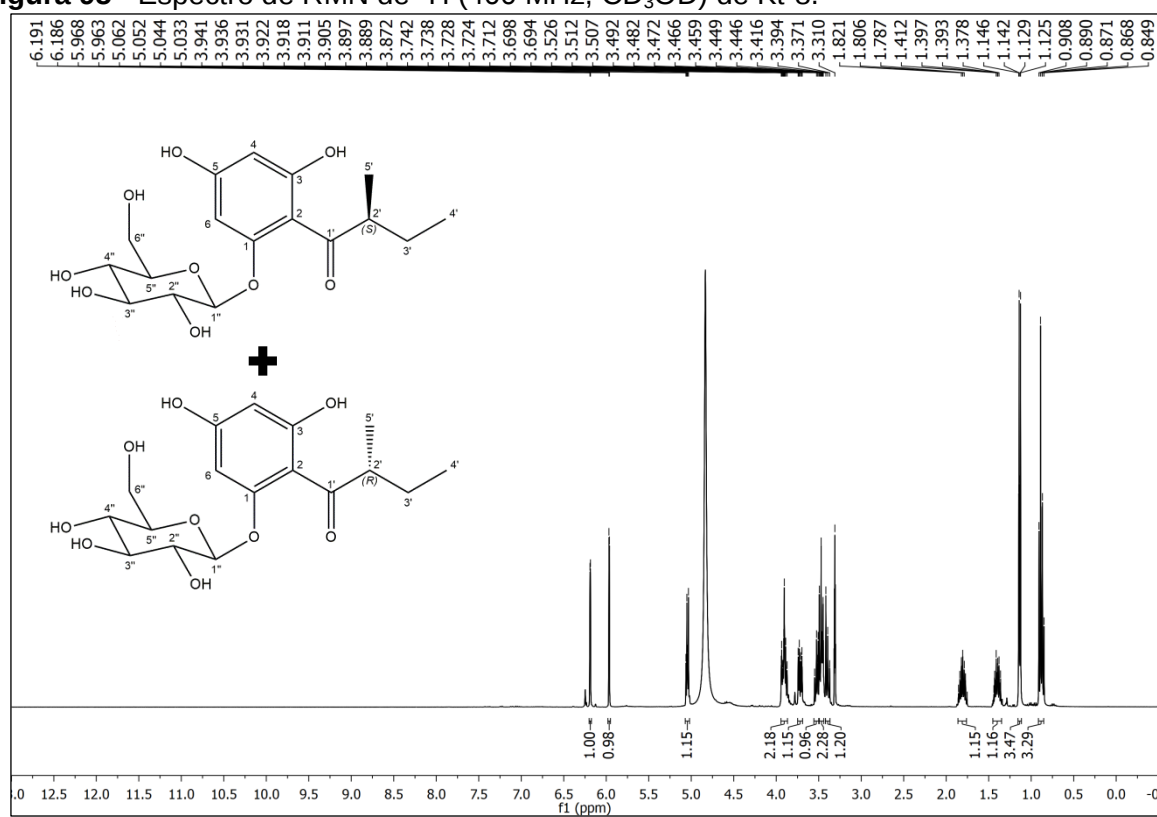
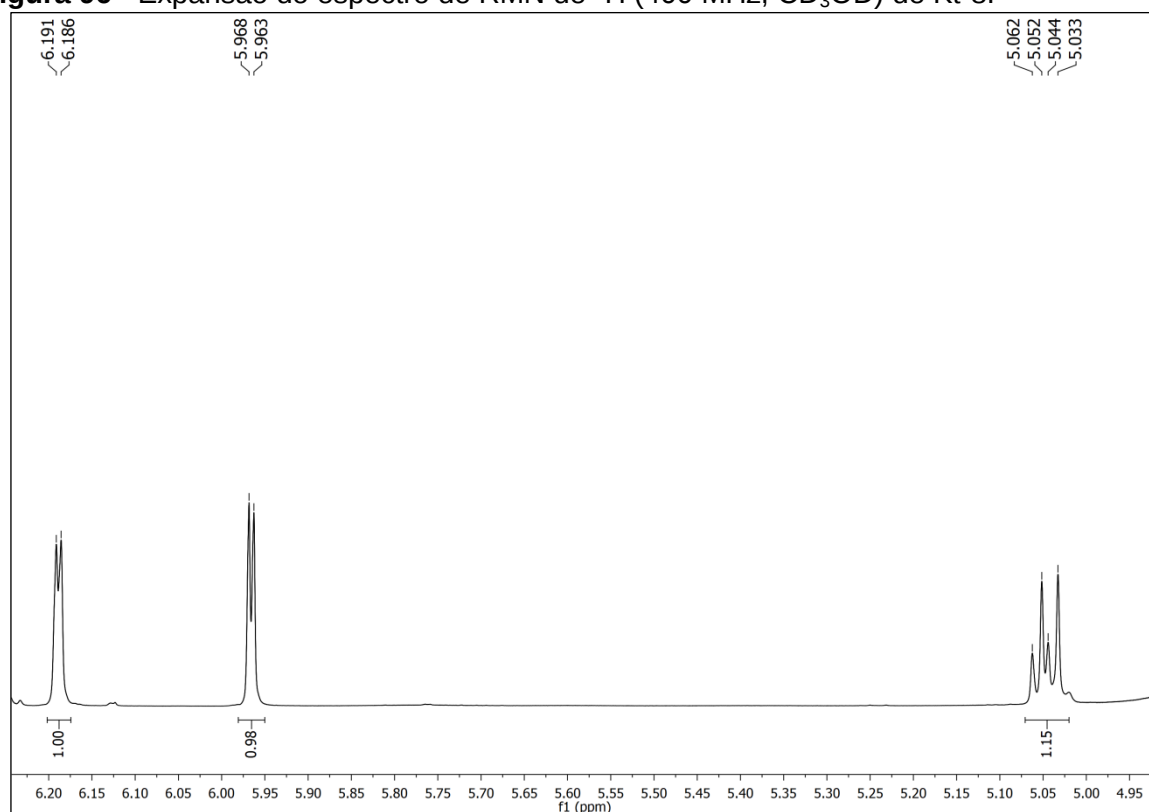


Figura 96 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 97 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.

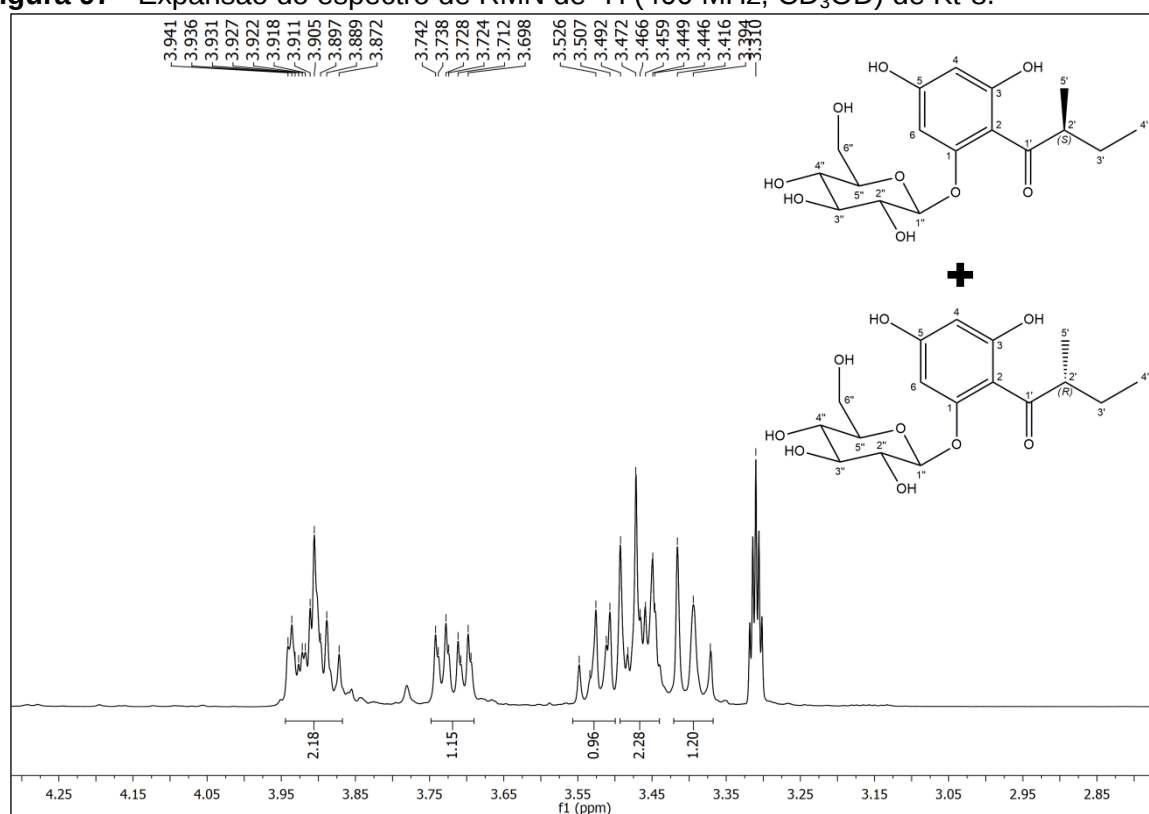
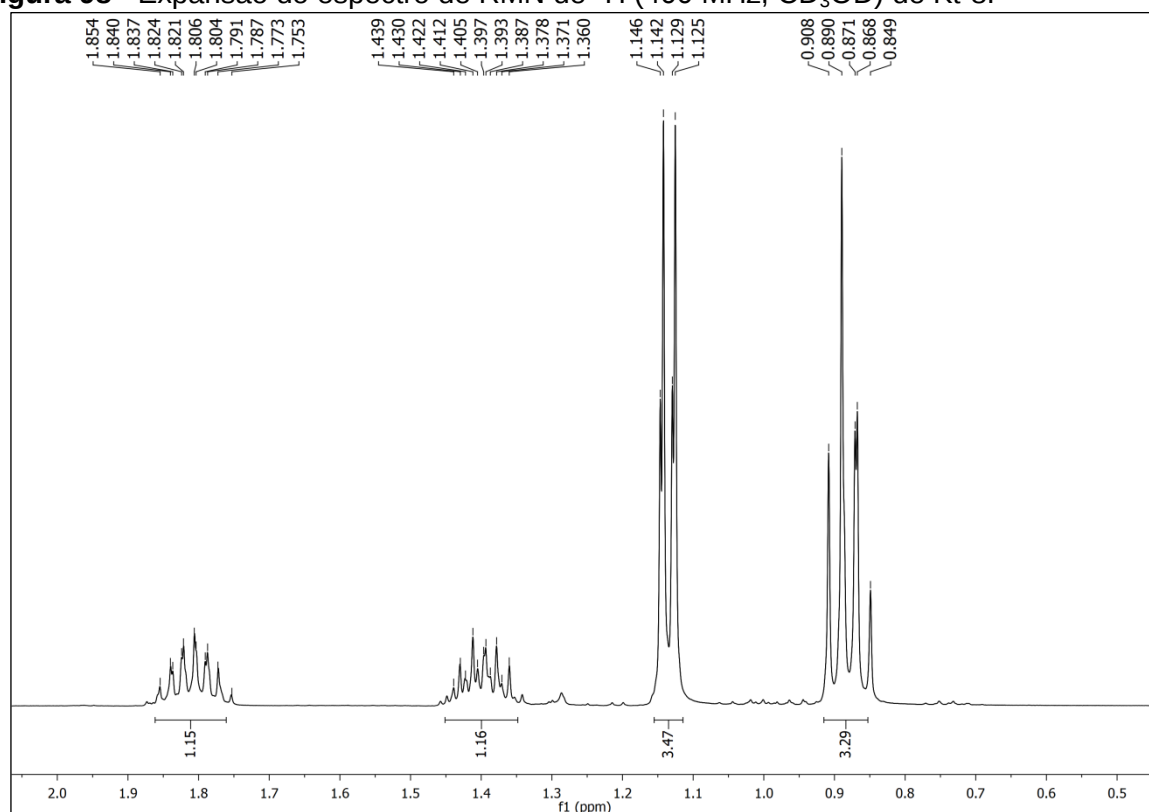


Figura 98 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-8.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 99 - Espectro de RMN - HMQC (400 e 100 MHz, CD₃OD) de Kt-8.

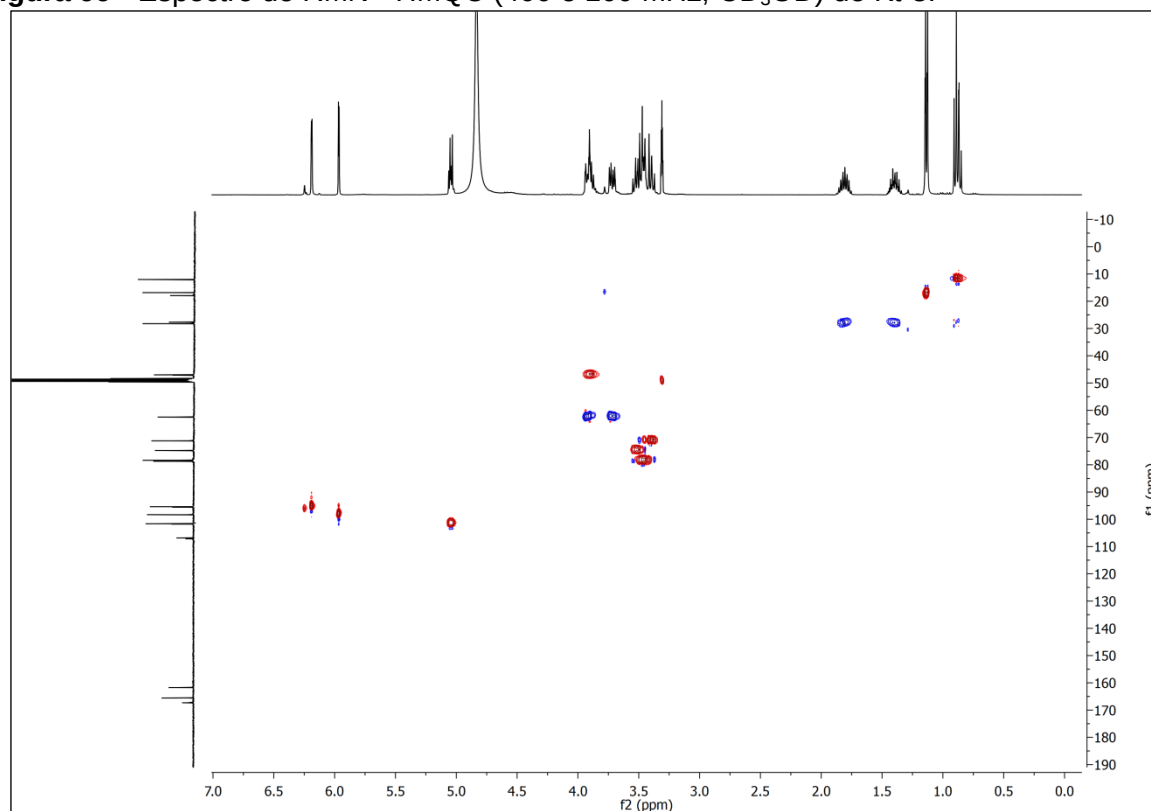
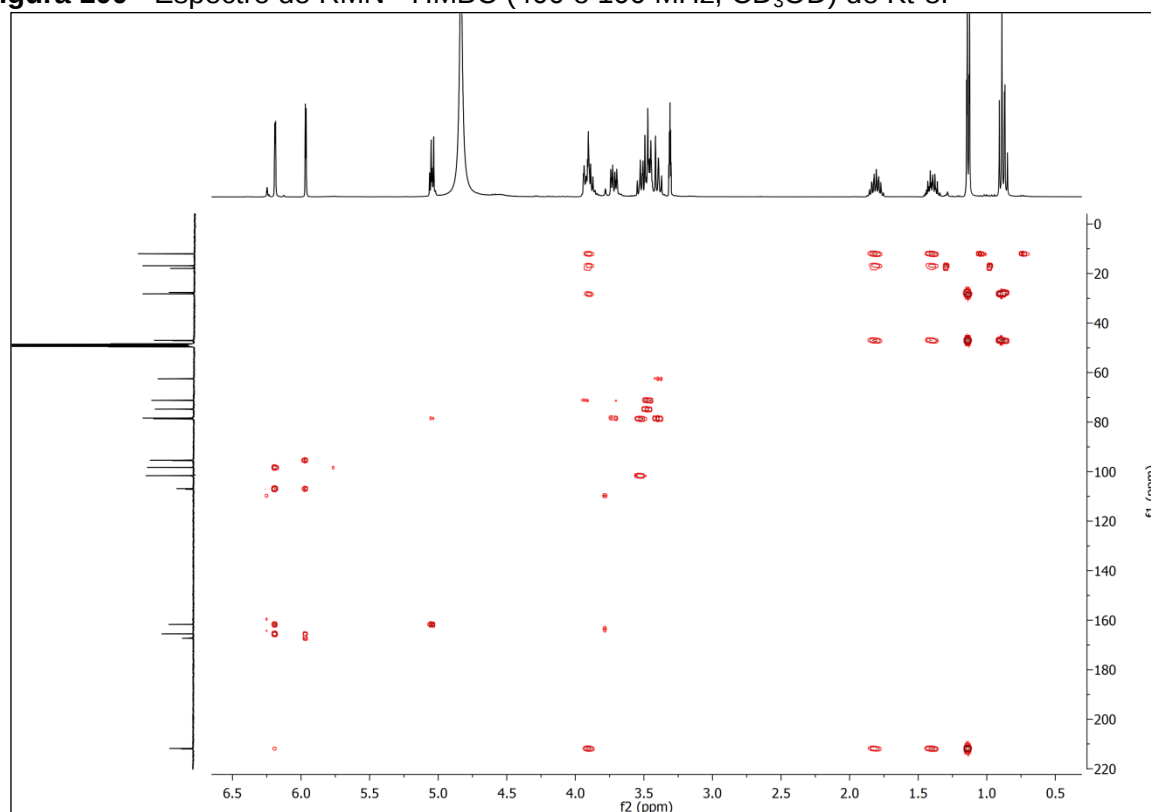


Figura 100 - Espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, CD₃OD) de Kt-8.



5.9 Determinação estrutural de Kt-9

A substância codificada como Kt-9 foi isolada na forma de um óleo incolor, pesando 18,4 mg. Seu espectro de massas de alta resolução obtido por ESI-MS no modo negativo (Figura 102) mostrou o pico da molécula desprotonada em m/z 329,1946 $[M-H]^-$ compatível com a fórmula molecular $C_{24}H_{25}O$ (calc. 329,1911).

No espectro de RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) (Figura 103) e em suas expansões (Figuras 104 e 105), pode-se observar um conjunto de sinais na região de hidrogênios aromáticos entre δ_H 7,34 - 7,15 com integral para 11 hidrogênios, sugerindo a presença de dois anéis aromáticos monossustituídos. Ainda nessa região, foi observada a presença dos sinais em δ_H 7,32 (d, $J = 2,4$ Hz), 7,02 (dd, $J = 2,4; 8,4$ Hz) e 6,64 (d, $J = 8,4$ Hz) que foram atribuídos aos hidrogênios H-3, H-5 e H-6 respectivamente, referentes a um sistema ABX, sugerindo a presença de um terceiro anel aromático, este agora, trissustituído. Além disso, foram observados dois singletos em δ_H 1,70 e 1,60 com integral para 6 hidrogênios cada. Verificou-se também, um singlete em δ_H 4,20, que foi atribuído ao hidrogênio de uma hidroxila em C-1.

No espectro de RMN de ^{13}C - APT (100 MHz, $CDCl_3$) (Figura 106) e em suas expansões (figuras 107 e 108), observou-se a presença de 8 sinais na região de carbonos metínicos aromáticos entre 129,3 - 124,9, alguns deles com intensidade duplicada, corroborando com a proposta da presença de dois anéis aromáticos monossustituídos. Verificou-se a presença de 5 sinais referentes a carbonos não hidrogenados de anéis aromáticos em δ_C 151,7, 151,3, 142,8, 148,6 e 134,6, atribuídos respectivamente aos carbonos C-1, C-1'', C-4, C-1', C-2. Além disso, observou-se dois sinais em 42,8 e 41,9 compatíveis com carbonos não hidrogenados em sistema alifático, que foram atribuídos aos carbonos C-7' e C-7, respectivamente. Ainda, notou-se a presença de dois sinais intensos em 31,2 e 29,7 correspondentes a 4 metilas das posições C-8'/C-9' e C-8/C-9', respectivamente. Os demais deslocamentos químicos de RMN de 1H e ^{13}C de Kt-9 podem ser vistos na tabela 13.

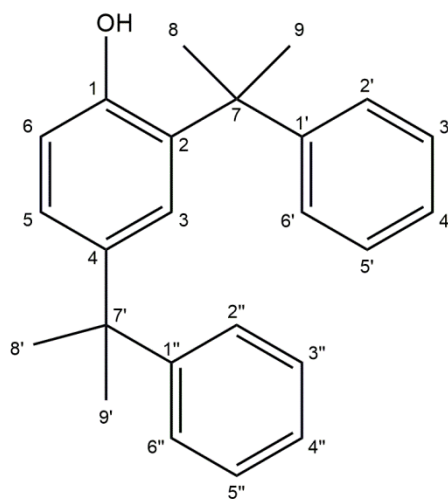
A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 109) e em sua expansão (Figura 110) permitiu confirmar a inserção da hidroxila na posição C-1 (δ_C 151,7), após observar uma correlação do seu respectivo hidrogênio (δ_H 4,20, s) a

RESULTADOS E DISCUSSÃO

duas ligações (2J) com C-1, além das correlações com C-6 (δ_C 117,2) e C-2 (δ_C 134,6). A posição dos substituintes metílicos foi confirmada através da correlação dos hidrogênios H-8/H-9 (δ_H 1,60, s) com C-2 (δ_C 134,6) e C-1' (δ_C 148,6) a três ligações (3J) e com C-7 (δ_C 41,9) a duas ligações (2J), e os outros dois substituintes metílicos através da correlação dos hidrogênios H-8'/H-9' (δ_H 1,70, s) com C-4 (δ_C 142,8) e C-1'' (δ_C 151,3) a três ligações (3J) e com C-7' (δ_C 42,8) a duas ligações (2J). As demais correlações podem ser vistas na tabela 13.

Assim, após compilação e análise dos dados espectrais e comparação com os dados descritos na literatura (KUNINOBU, MATSUKI, TAKAI, 2009), foi possível identificar a substância Kt-9 como sendo 2,4-bis(2-fenilpropan-2-il) fenol, isolada pela primeira vez na família Krameriaceae. Esta substância já havia sido relatada na família Fabaceae (RAO et al., 2006) e em Cucurbitaceae (PANLILIO et al., 2012). Rao et al., (2006) consideram esta substância como um composto fenólico do tipo fitoalexina, a qual é produzida pela planta como forma de proteção quando se encontra em um ambiente que promova algum tipo de *stress* químico ou biológico.

Figura 101- Estrutura química de Kt-9.



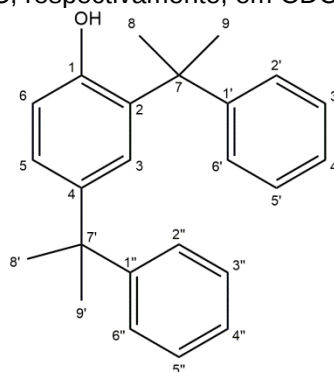
2,4-bis(2-fenilpropan-2-il) fenol.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 13 - Dados de RMN de Kt-9 (*J* em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3) comparados com dados da literatura (KUNINOBU, MATSUKI, TAKAI, 2009).

Posição	Kt-9		HMBC $\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}}$	Referência ¹	
	HMQC δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}		δ_{H} (mult, <i>J</i> = Hz)	δ_{C}
1	-	151,7	OH, H-5, H-6, H-8/9	-	151,4
2	-	134,6	OH, H-6, H-8/9	-	134,3
3	7,32 (d, 1H; 2,4)	124,9	H-5	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
4	-	142,8	H-6, H- 8'/9'	-	142,5
5	7,02 (dd, 1H, 2,4; 8,4)	126,6	-	6,94 (d, 1H, 7,8)	126,7
6	6,64 (d, 1H; 8,4)	117,2	OH	6,56 (d, 1H, 8,4)	117,2
7	-	41,9	H-3, H-8/9	-	41,7
8	1,60 (s, 3H)	29,7	H-9	1,54 (s, 6H)	29,6
9	1,60 (s, 3H)	29,7	H-8	1,54 (s, 6H)	29,6
1'	-	148,6	H-8'/9'	-	148,3
2'	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
3'	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
4'	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
5'	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
6'	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
7'	-	42,8	H-3, H-5, H-8'	-	42,5
8'	1,70 (s, 3H)	31,2	H-9'	1,64 (s, 6H)	31,0
9'	1,70 (s, 3H)	31,2	H-8'	1,64 (s, 6H)	31,0
1''	-	151,3	-	-	150,9
2''	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
3''	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
4''	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
5''	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
6''	7,34-7,15 (m, 11H)	129,3-124,9	-	7,38-7,05 (m, 11H)	129,0-124,6
OH	4,20 (s, 1H)	-	-	4,12 (s, 1H)	-

¹Obtido em 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CDCl_3 .



Kt-9.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 102 - Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de Kt-9.

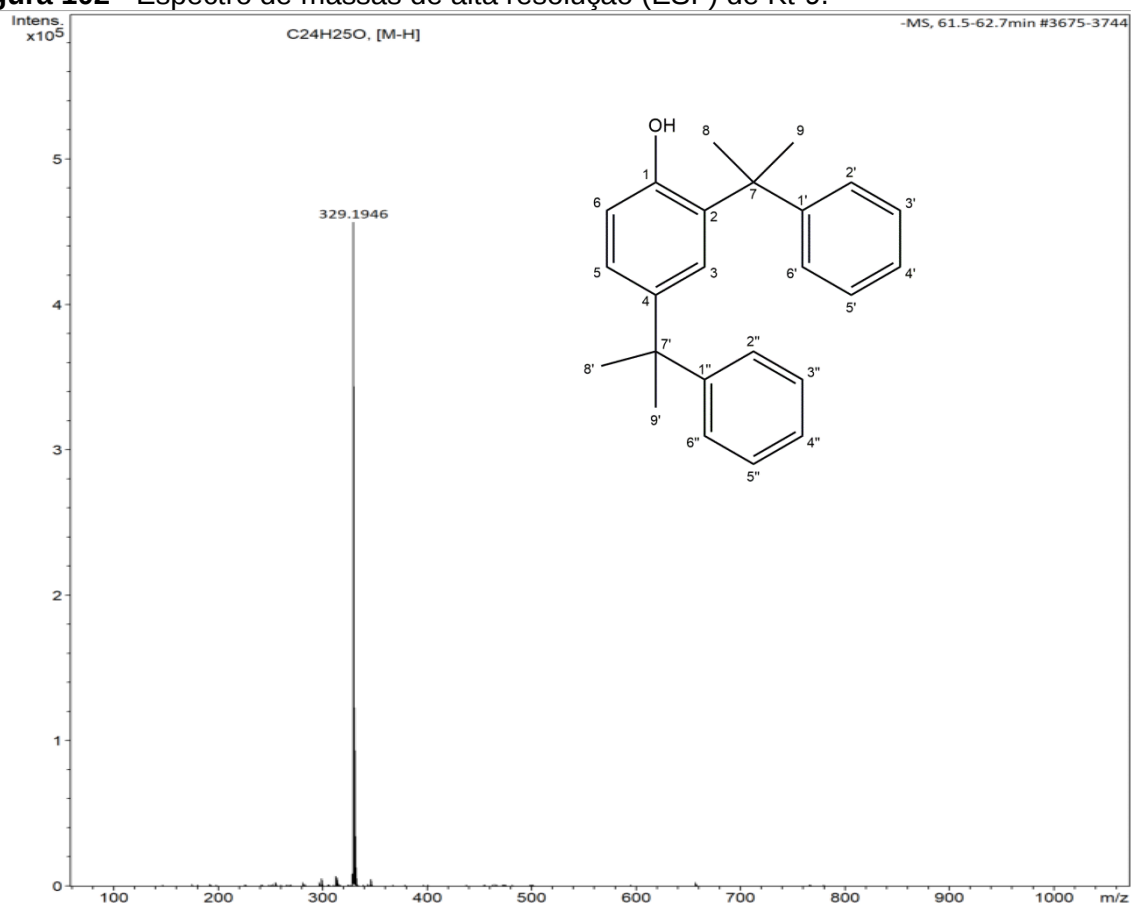
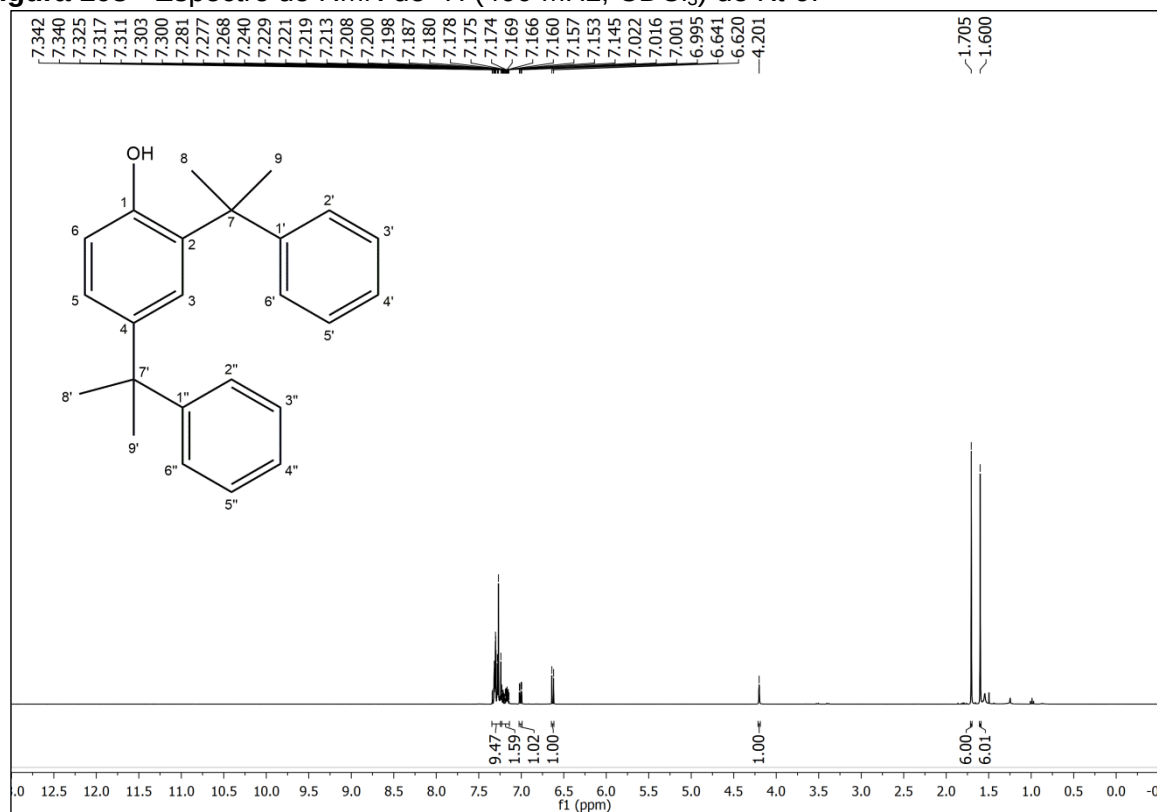


Figura 103 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Kt-9.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 104 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Kt-9.

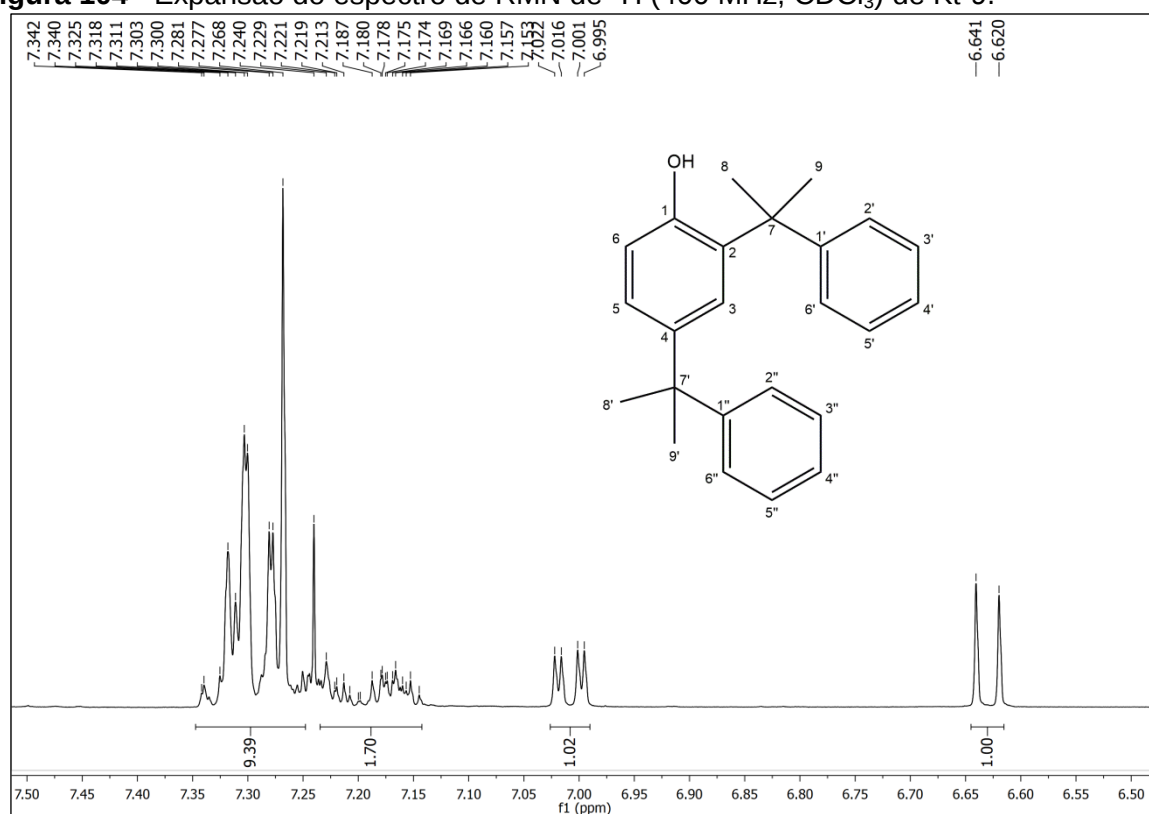
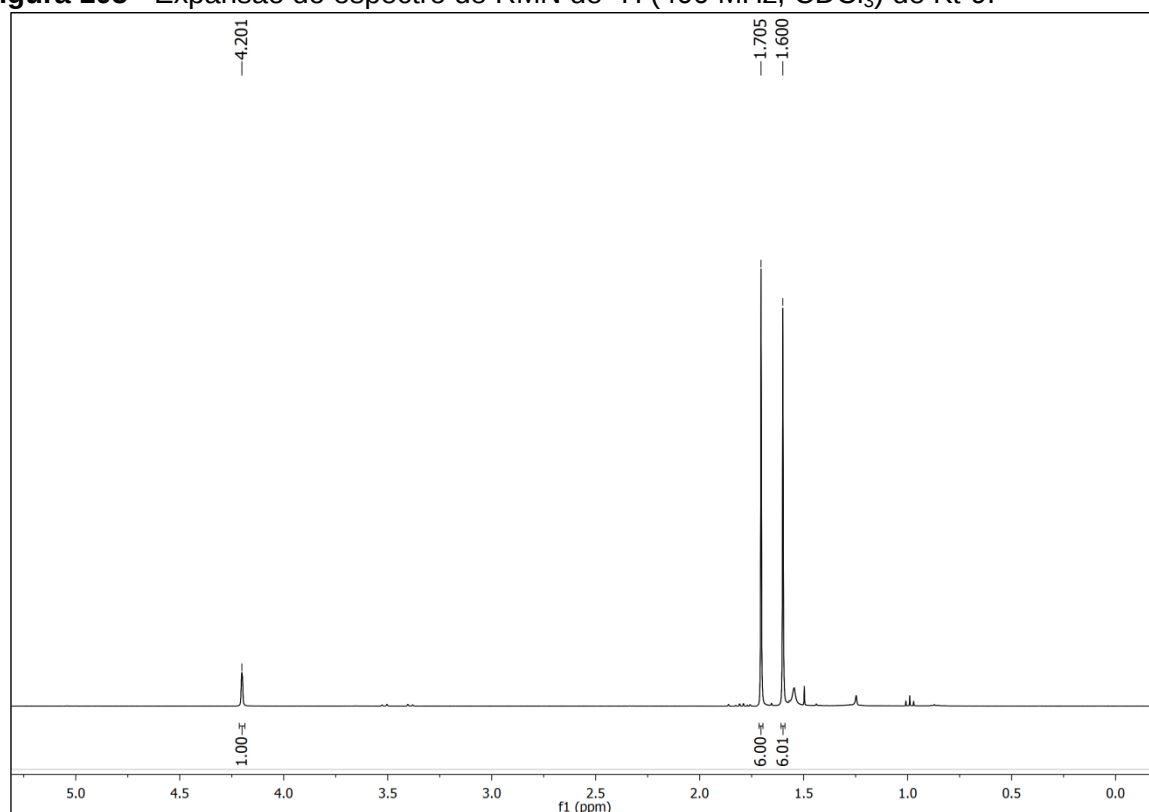


Figura 105 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de Kt-9.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 106 - Espectro de RMN de ^{13}C - APT (100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.

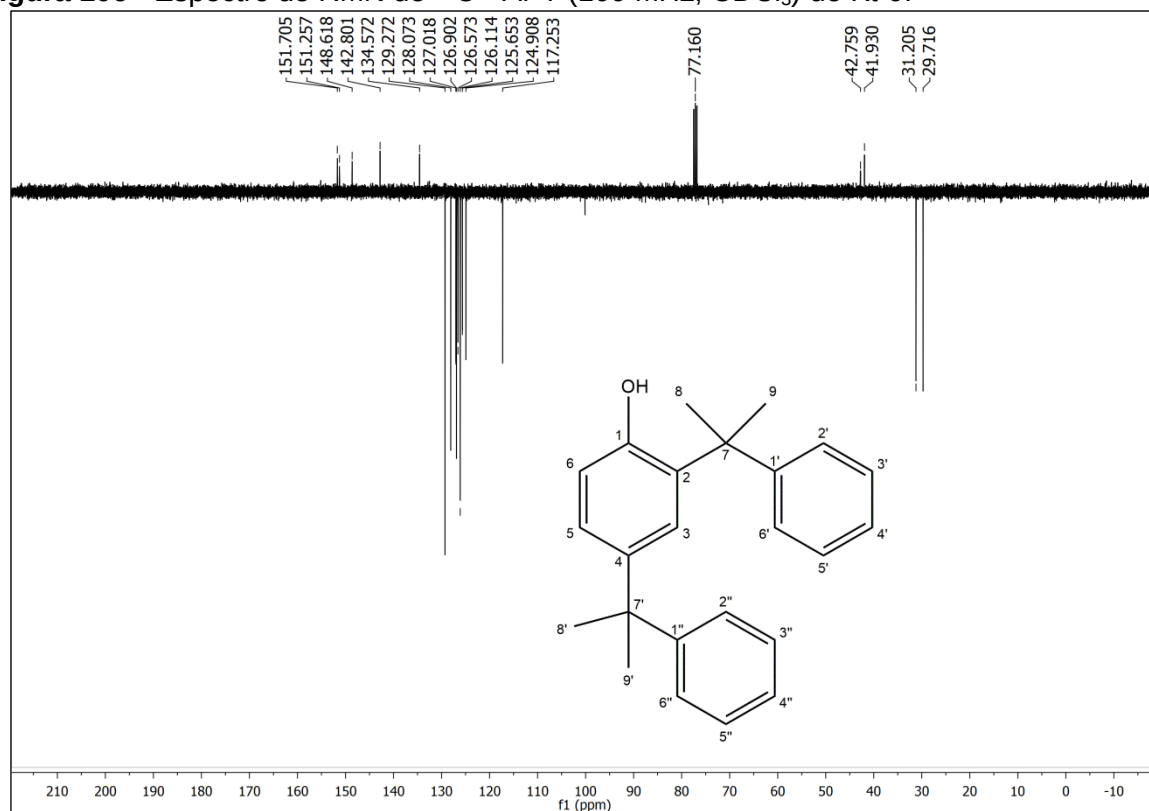
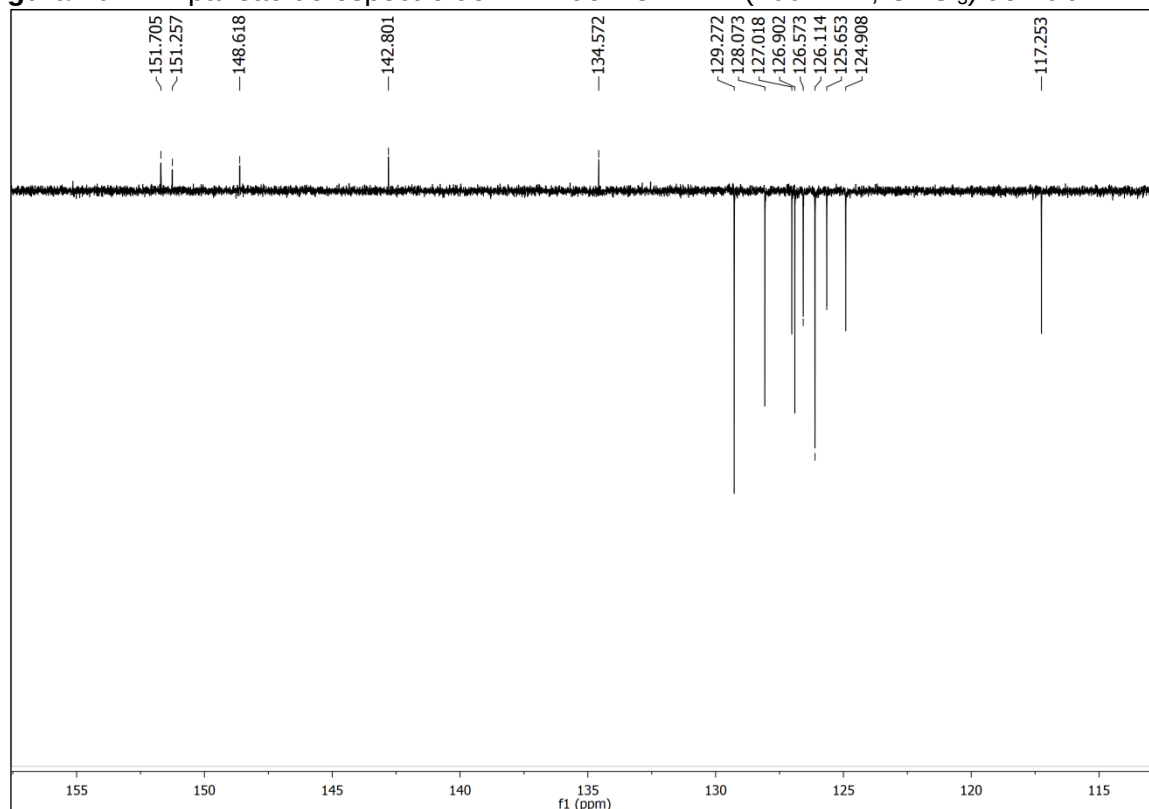


Figura 107 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 108 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - APT (100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.

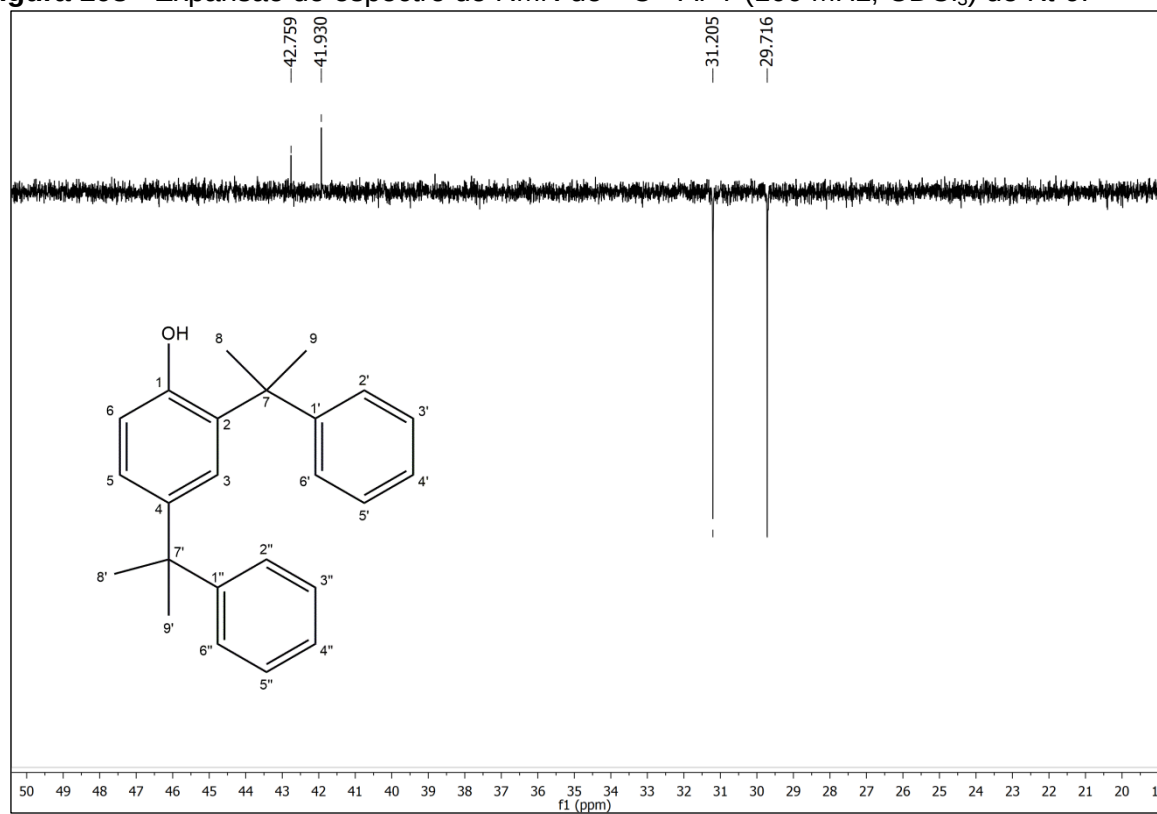
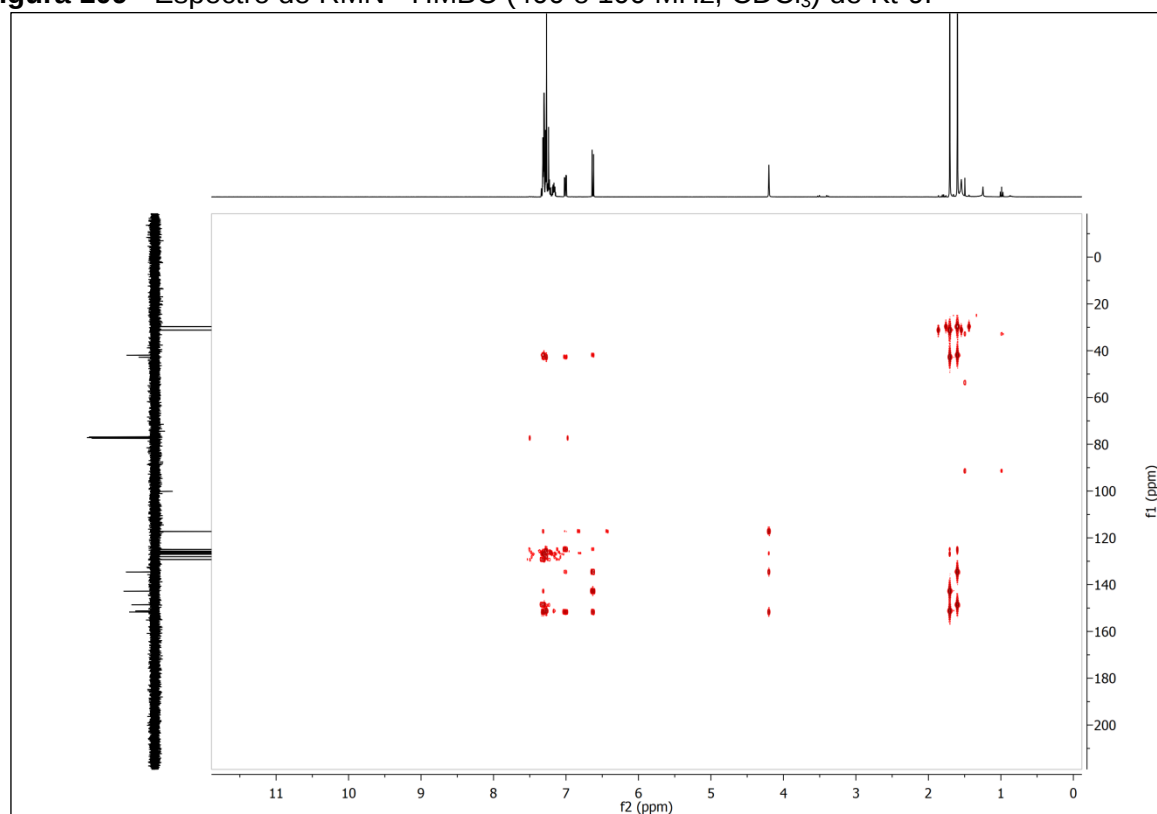


Figura 109 - Espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 110 - Expansão do espectro de RMN - HMBC (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.

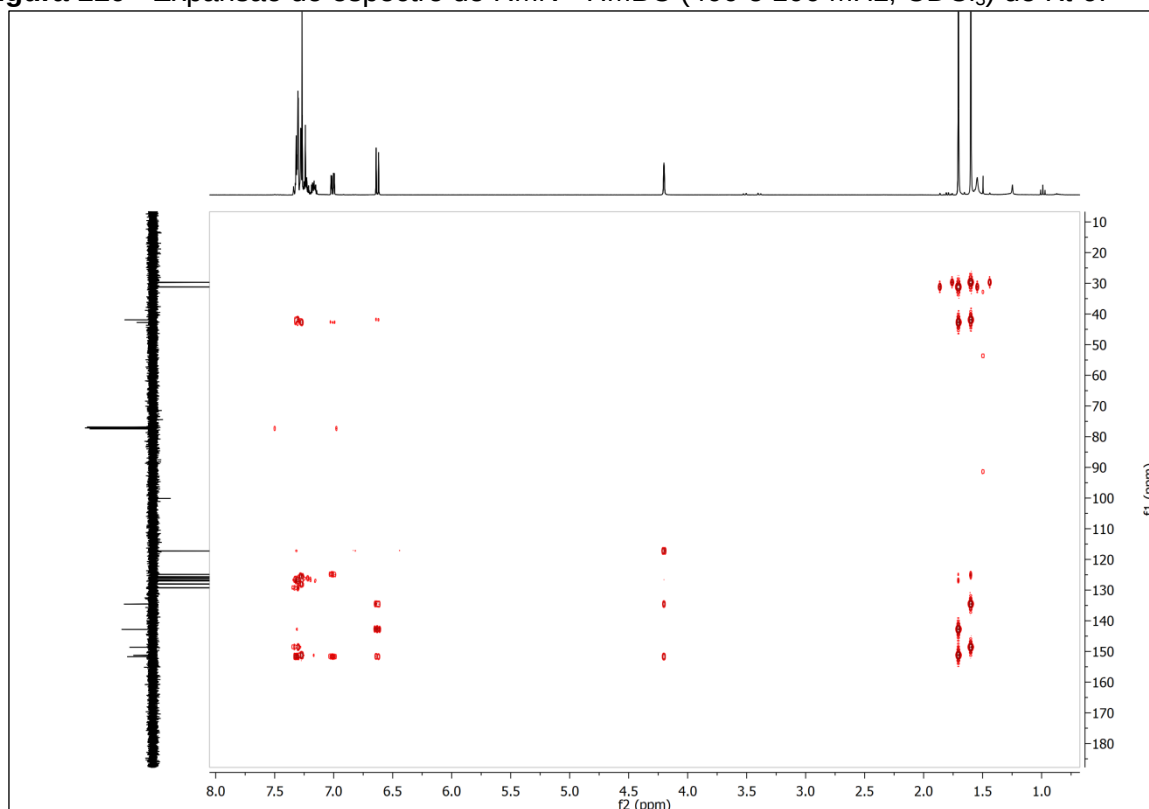
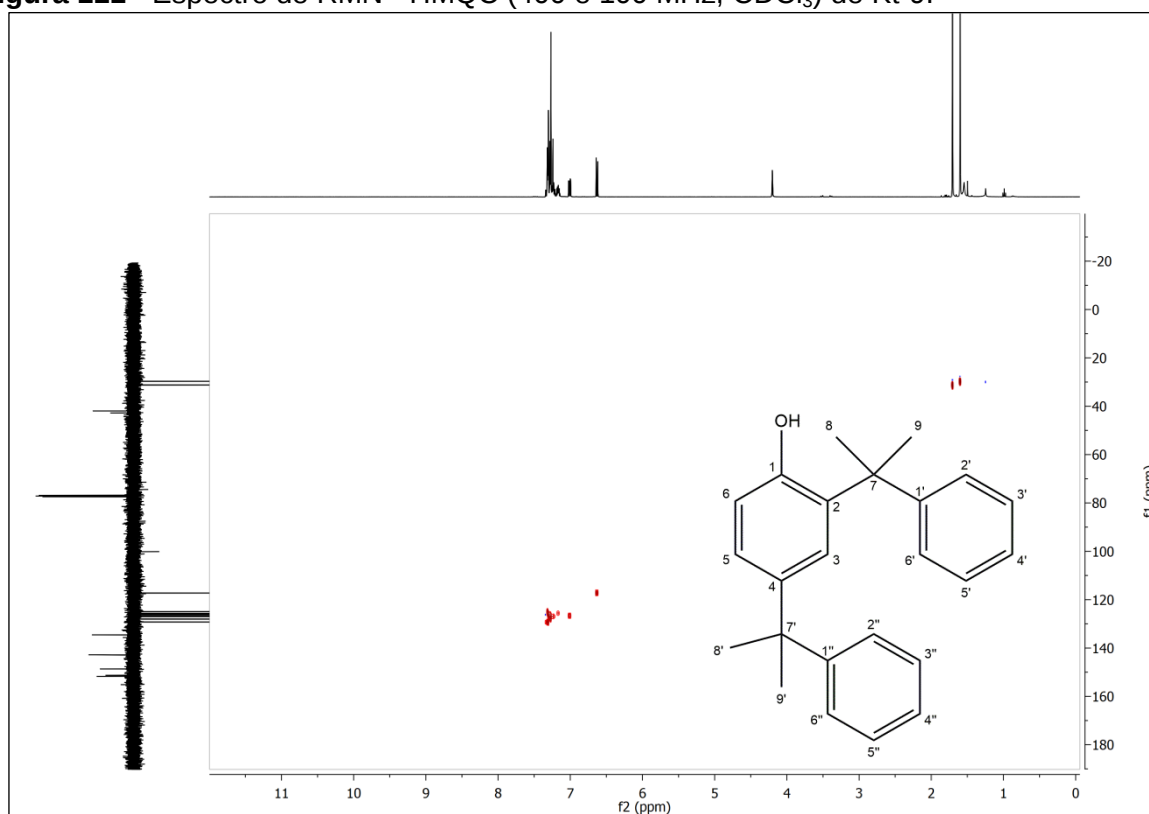


Figura 111 - Espectro de RMN - HMQC (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Kt-9.



5.10 Determinação estrutural de Kt-10

A substância codificada como Kt-10 foi isolada na forma de um pó marrom escuro, com ponto de fusão 172-174 °C e peso de 105 mg. Seu espectro de massas de baixa resolução obtido por ESI-MS no modo positivo (Figura 114) mostrou o pico da molécula protonada em m/z 792,6 $[M+H]^+$ compatível com a fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_{24}$ (calc. 792,2).

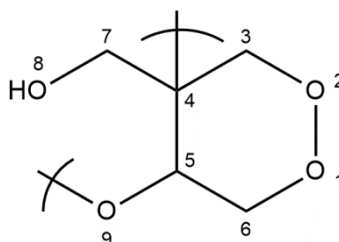
O espectro de infravermelho obtido em pastilhas de KBr (Figura 115) mostrou bandas de absorções em 3415 cm^{-1} , característico de estiramento de O-H, em 1620 cm^{-1} referente ao esqueleto da substância (GUTIÉRREZ et al., 2012), em 2922 cm^{-1} característico de estiramento C-H alifático e bandas em 1284 e 1050 cm^{-1} , referente ao estiramento C-O (PAVIA et al., 2015).

No espectro de RMN de ^{13}C – DeptQ (100 MHz, CD_3OD) (Figura 116) e em sua expansão (Figuras 117), observou-se a presença de 5 sinais em δ_{C} 76,4, 74,6, 64,6, 64,1 e 63,5, característicos de carbonos em sistema alifático vizinhos a oxigênios (PAVIA et al., 2015). A presença de apenas cinco sinais neste espectro e a comparação com os dados obtidos no espectro de massas permitiu sugerir que Kt-10 trata-se de uma substância com um grau de simetria bastante elevado.

Essa proposta foi fortalecida após análise do seu espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) (Figura 118) e em sua expansão (Figura 119), onde, pode-se observar um conjunto de sinais entre δ_{H} 3,80 - 3,58 com integral para 7 hidrogênios, permitindo inferir que, assim como os deslocamentos de carbono, estes, tratavam-se de hidrogênios em sistema alifático vizinhos a oxigênios.

Dessa forma, juntamente em comparação com dados da literatura (GUTIÉRREZ et al., 2012) pode-se propor a estrutura de um monômero com fórmula molecular $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$ (Figura 112), e que a molécula seria um polímero formado por 6 ou mais unidades deste.

Figura 112 - Estrutura química do monômero de Kt-10.

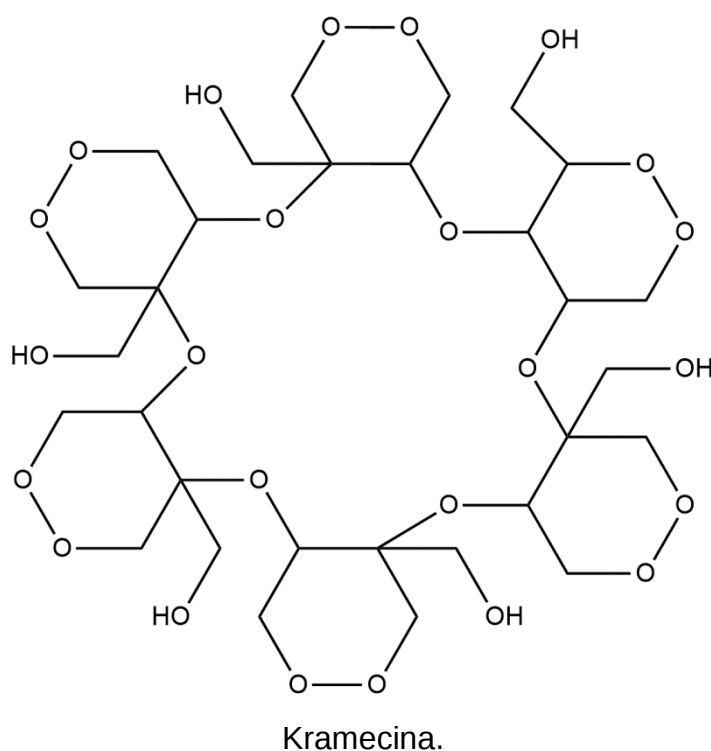


RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após sugerir que se tratava de um tipo de peróxido cíclico, realizou-se o teste de para confirmação de peróxidos, seguindo metodologia descrita por Kelly (1997), onde, adicionou-se algumas gotas de solução de 5% de iodeto de potássio a substância e agitou-se a solução. O resultado pode ser visto na Figura 120, o qual apresentou coloração amarelo para marrom, sendo este resultado positivo para altas concentrações de peróxidos.

Assim, após compilação e análise dos dados espectrais e comparação com os dados descritos na literatura (GUTIÉRREZ et al., 2012) foi possível identificar a substância Kt-10 como sendo um polímero cíclico chamado kramecina. Esta substância já havia sido isolada em *Krameria cytisoides*, entretando está sendo relatada pela primeira vez na espécie *Krameria tomentosa*, sendo essa, a segunda espécie de *Krameria* a apresentar este composto.

Figura 113 - Estrutura química de Kt-10.

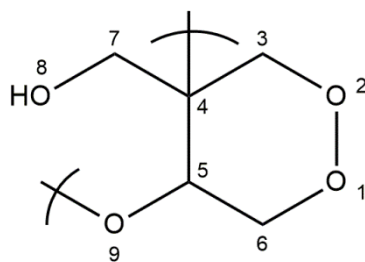


RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 14 - Dados de RMN de Kt-10 (J em Hz e δ em ppm, 400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD) comparados com dados da literatura (GUTIÉRREZ et al., 2012).

Posição	Kt-10		Referência ¹	
	δ_{H} (mult, J = Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, J = Hz)	δ_{C}
3	Ha 3,63 (d, 1H; 12,4) Hb 3,65 (d, 1H; 9,6)	64,6	Ha 3,61 (d; 11,47) Hb 3,63 (d; 11,47)	63,4
4	-	76,4	-	75,15
5	3,74 (dd, 1H; 3,2; 6,0)	74,6	3,74 (dd; 3,19; -)	73,2
6	Ha 3,70 (m, 1H) Hb 3,80 (dd, 1H; 2,8; 10,4)	63,5	Ha 3,69 (m) Hb 3,78 (dd, 1H; 3,2; 10,5)	62,1
7	Ha 3,60 (d, 1H; 11,2) Hb 3,67 (d, 1H; 10,4)	64,1	Ha 3,63 (d, 1H; 11,5) Hb 3,67 (d, 1H; 11,5)	62,85

¹Obtido em 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, em CD_3OD .



Kt-10.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 114 - Espectro de massas de baixa resolução (ESI+) de Kt-10.

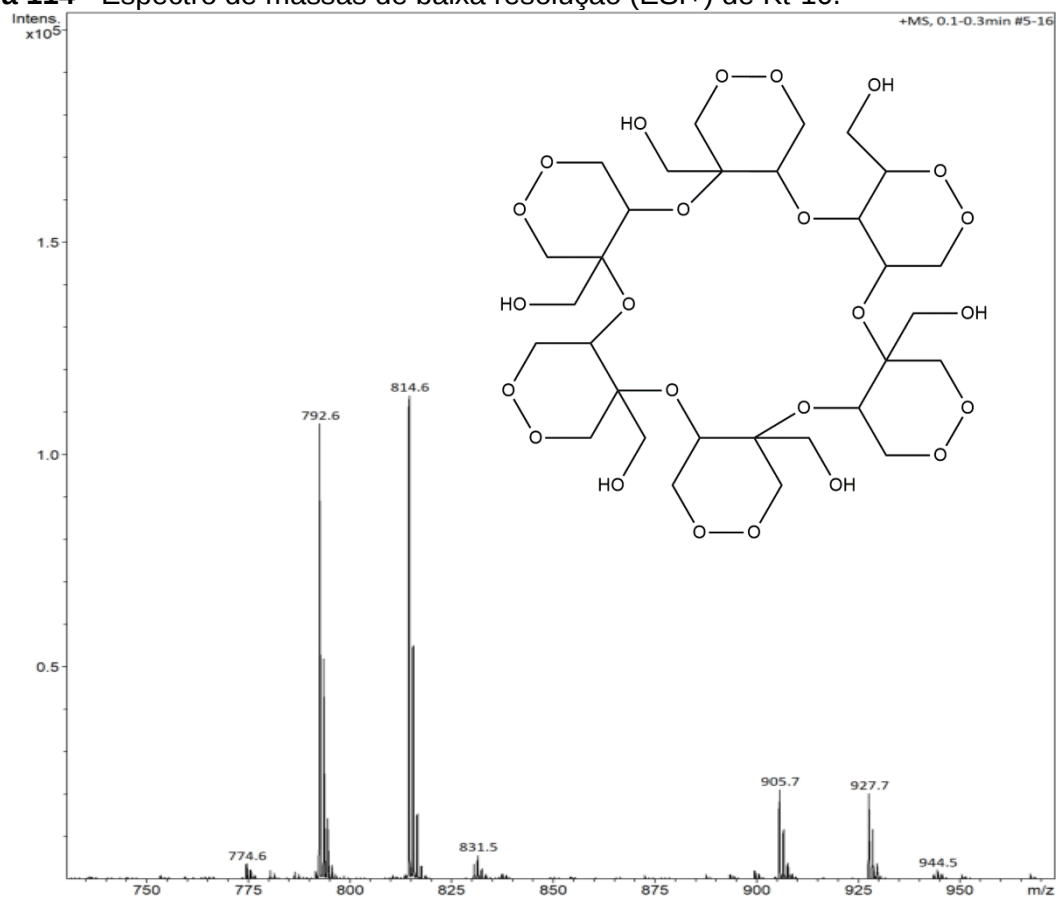
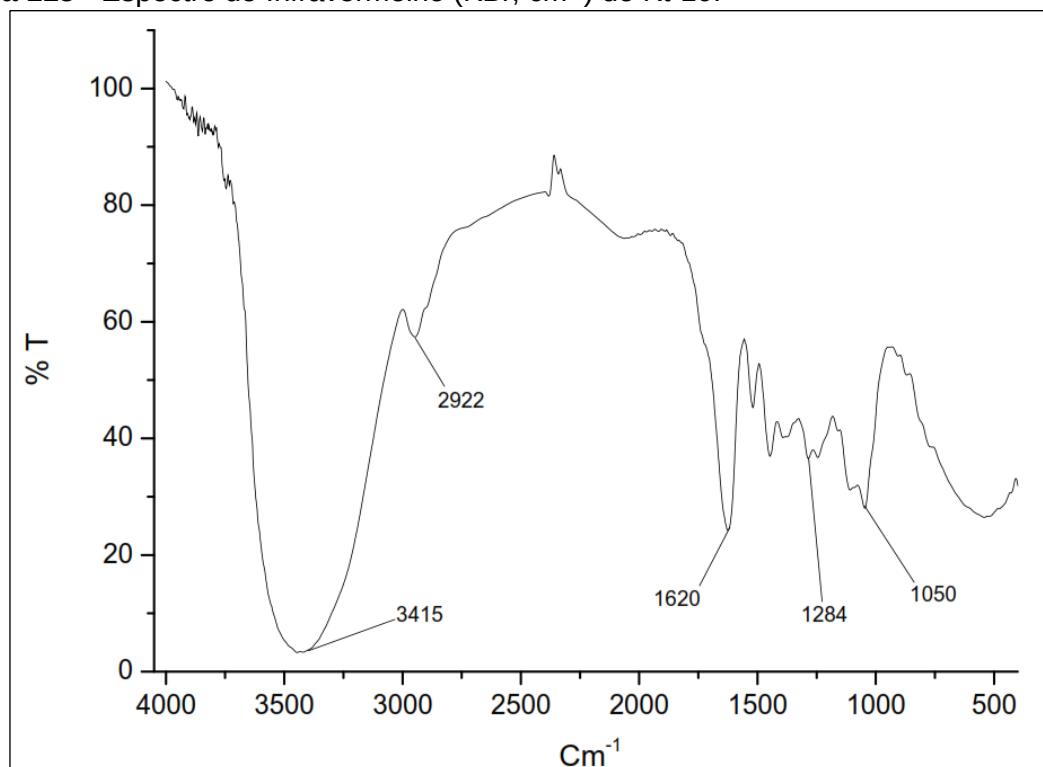


Figura 115 - Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Kt-10.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 116 - Espectro de RMN de ^{13}C – DeptQ (100 MHz, CD_3OD) de Kt-10.

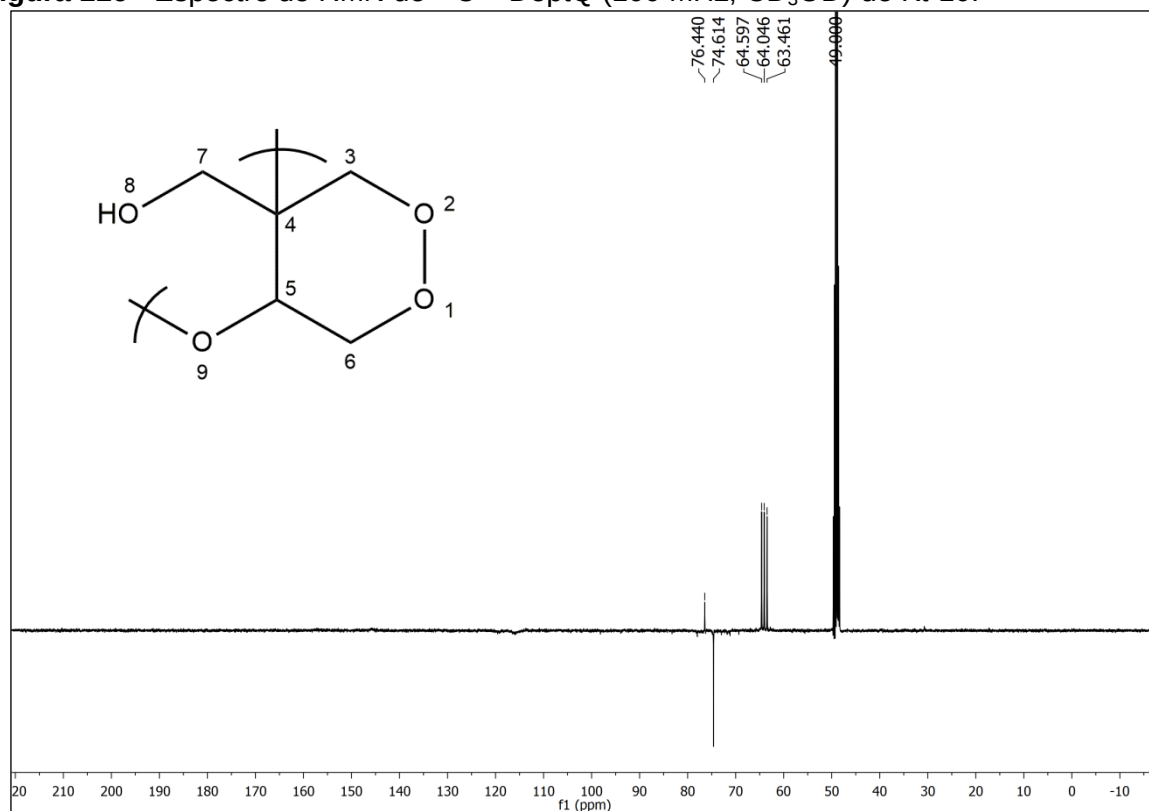
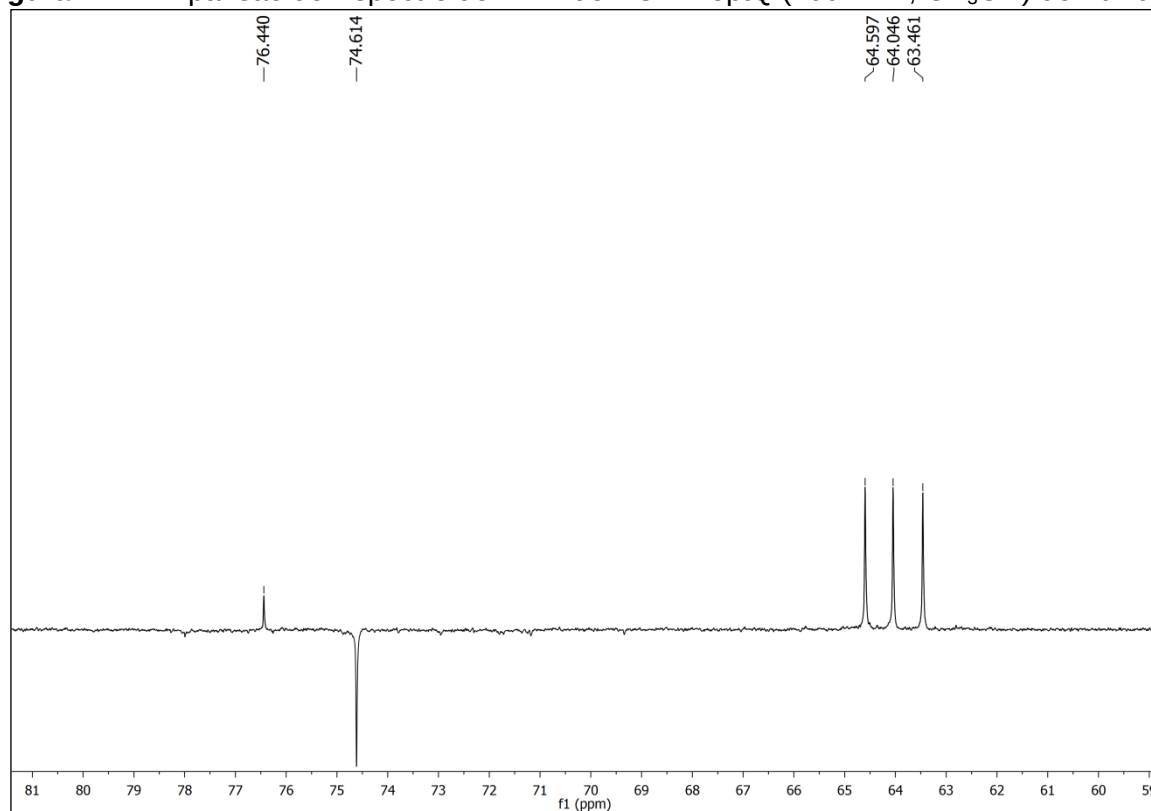


Figura 117 - Expansão do Espectro de RMN de ^{13}C – DeptQ (100 MHz, CD_3OD) de Kt-10.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 118 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-10.

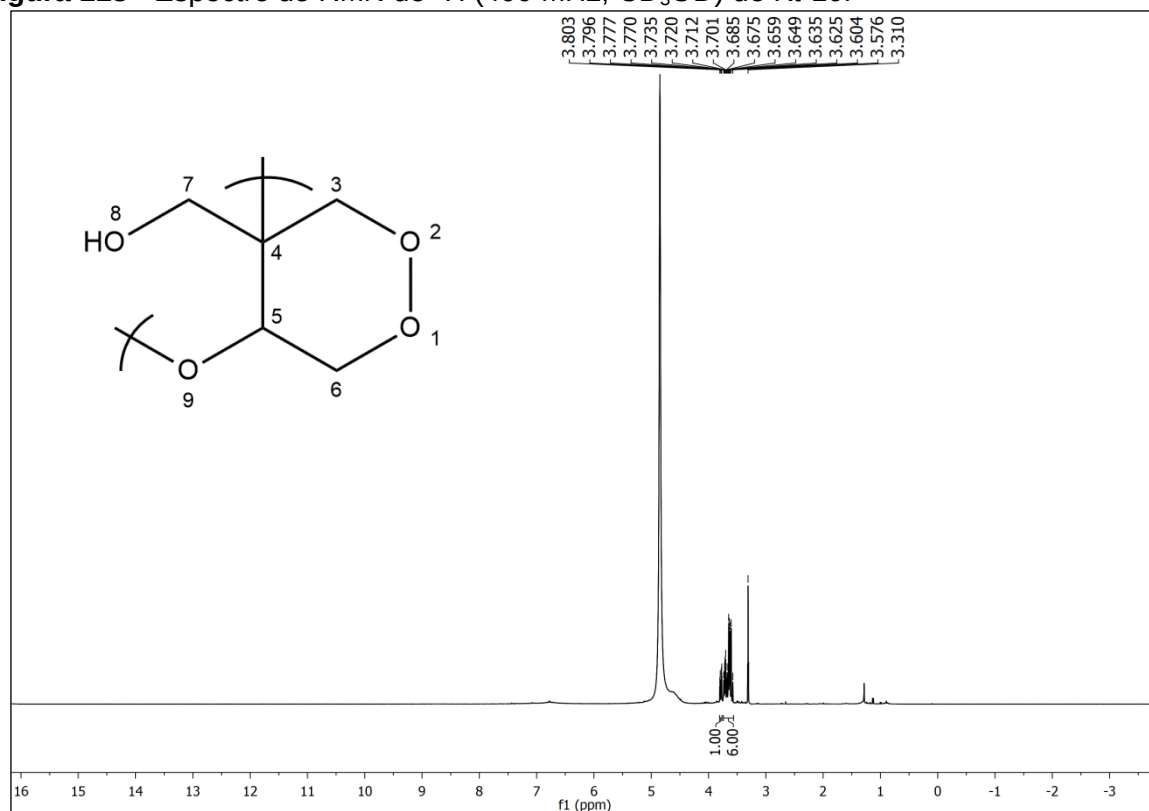
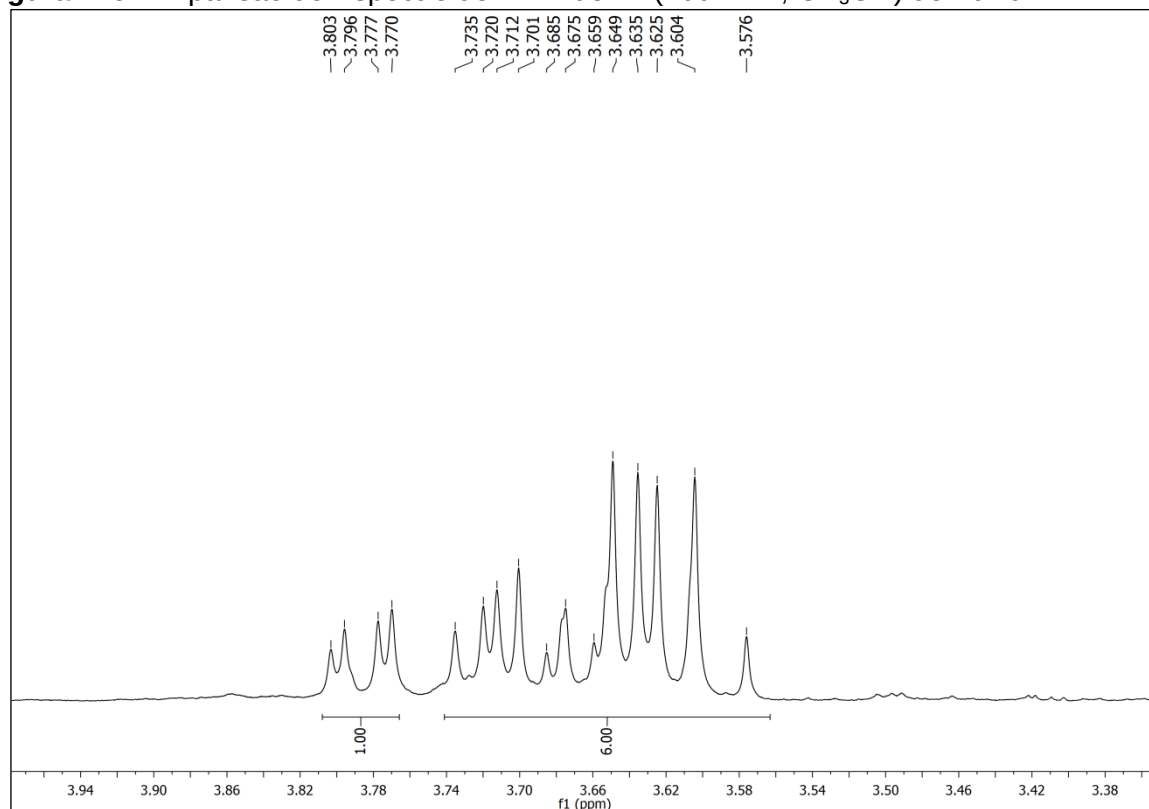


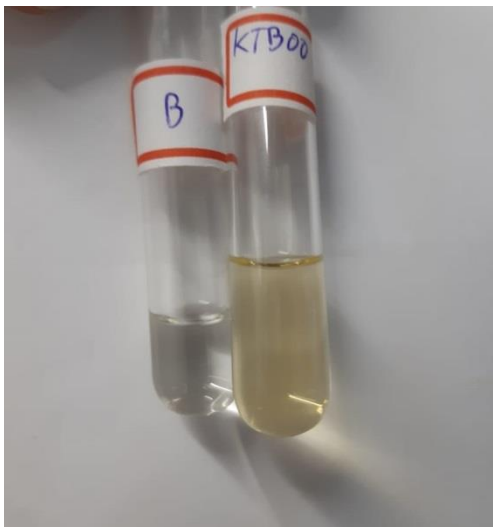
Figura 119 - Expansão do Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) de Kt-10.



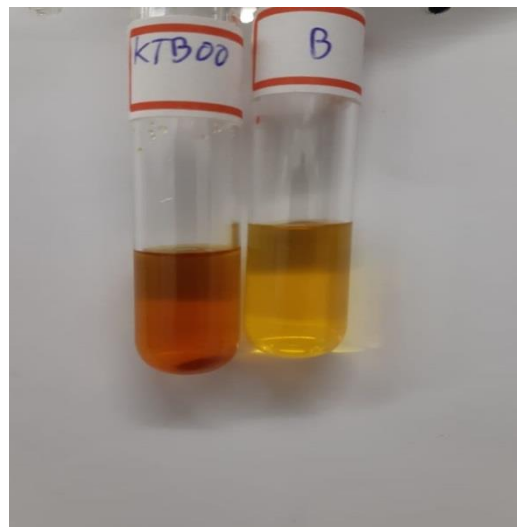
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 120 - Reação para identificação de peróxidos.

A) Antes da reação.



B) 10 min após a reação.



***KTB00** = Substância e **B** = Branco

6. CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico da espécie *Krameria tomentosa* resultou no isolamento de oito substâncias e duas misturas, que foram identificadas por meio de métodos espectroscópicos.

A espécie apresentou em sua constituição química algumas classes de metabólitos secundários, sendo a maioria da classe dos lignoides. Dentre os compostos isolados, quatro deles já foram relatados nesta espécie, sendo eles:

- ottomentosa; sobralina; 2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano e 2-(2',4'-diidroxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano.

Os demais estão sendo relatados pela primeira vez na família Krameriaceae ou pela primeira vez na espécie, sendo eles:

- Uma mistura de epímeros do multifidol glicosídeo; uma mistura do (-)-siringaresinol e *p*-hidroxi-benzaldeído; uma ceramida, a (2*S*,3*S*,4*R*,16*E*)-2-[(2'*R*)-2'-hidroxinonadecanoilamino]-heneicosadec-16-en-1,3,4-triol; um composto fenólico, o 2,4-bis(2-fenilpropan-2-il) fenol; um polímero de peróxido cíclico, a kramecina e uma neo-lignana, a (2*R*,3*R*)-2,3-diidro-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-5-(*E*)-propenilbenzofurano. Estes dois últimos, relatados pela primeira vez na espécie, e os outros relatados pela primeira vez na família.

Estes achados corroboram com a literatura, que cita a presença majoritária de lignoides nas espécies da família Krameriaceae. Contudo, o isolamento de outras classes de metabólitos secundários que não os lignoides, ampliam o conhecimento fitoquímico da espécie *Krameria tomentosa*, indicando esta espécie como bioprodutora de diferentes classes de metabólitos secundários.

Além disso, contribui com o conhecimento quimiotaxonômico da família Krameriaceae e estimula a realização de novos estudos, como os de atividade biológica das substâncias isoladas e estudos fitoquímicos com mais espécies desta família.

7. REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H.; GROB, J.; DOMINGUEZ, X. A.; CANO, G.; STAR, J. V.; BRUSSOLO, L. D. C.; MUÑOS, G.; SALGADO, F.; LÓPEZ, L. Lignans, neolignans and nor-neolignans from *Krameria cystisoides*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 4, p. 1159-1166, 1987a.
- ACHENBACH, H.; GROB, J.; DOMINGUEZ, X. A.; STAR, J. V.; SALGADO, F. Ramosissin and other methoxylated nor-neolignans from *Krameria ramosissima*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 4, p. 1159-1166, 1987b.
- ACHENBACH, H.; GROB, J.; BAUEREIB, P.; DOMINGUEZ, X. A.; SÁNCHEZ, V. H.; STAR, J. V.; ROMBOLD, C. U. Neolignans and nor-neolignans from *Krameria lanceolata*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 7, p. 959-1962, 1989.
- ACHENBACH, H.; UTZ, W.; LOZANO, B.; TOUCHÉ, E. M. G.; MORENO, S. Lignans and Neolignans from *Krameria parvifolia*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 5, p. 1093-1095, 1996.
- ACHENBACH, H.; UTZ, W.; SÁNCHEZ, H.; TOUCHÉ, E. M. G.; STAR, V. J.; DOMINGUEZ, X. A. Neolignans, nor-neolignans and other compounds from roots of *Krameria grayi*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 2, p. 413-416, 1995.
- ACHENBACH, H.; UTZ, W.; USUBILLAGA, A.; RODRIGUEZ, H. A. Lignans from *Krameria ixina*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 11, p. 3753-3757, 1991.
- AGATA, K.; KUSIAK, J.; STEPIÉN, B.; BERGIER, K.; KUZNIAK, E. Bioactive secondary metabolites produced by plants of the genus *Physalis*. **Postepy Hig Med Dosw (Online)**, v. 64, p. 665-673, 2010.
- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.
- AGRAWAL, P. K.; THAKUR, R. S. ¹³C NMR spectroscopy of lignan and neolignan derivatives. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 389-418, 1985.
- ALU'DATT, M. H.; RABABAH, T.; AHAMAD, M. N.; AL-MAHASNEH, M. A.; ALMAJWAL, A.; GAMMOH, S.; EREIFEJ, K.; JOHARGY, A.; ALLI, I. A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 218, p. 99-106, 2017.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 105-121, 2009.

REFERÊNCIAS

- ARCHELA, E.; ANTONIA, L. H. D. Determinação de compostos fenólicos em vinho: Uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 34, n. 2, p. 193-210, 2014.
- ARCURI, A. S. A. Substâncias peroxidáveis. In: **Substâncias peroxidáveis**. Fundacentro, 1999.
- ARONE, A.; MODUGNO, D. V.; NASINI, G.; VENTURINI, I. Isolation and structure determination of new active neolignans and nor-neolignans from *Ratanhia*. **Gazzetta Chimica Italiana**, v. 118, n. 10, p. 675-682, 1988.
- BARBOSA-FILHO, J. M. Lignanas, neolignanas e seu análogos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, cap. 14, p. 361-388, 2017.
- BATISTA, L. M.; VALENÇA, A. M. G. A fitoterapia no âmbito da atenção básica no SUS: realidades e perspectivas. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 12, n. 2, p. 293-296, 2012.
- BAUMGARTNER, L.; SOSA, S.; ATANASOV, A. G.; BODENSIECK, A.; FAKHRUDIN, N.; BAUER, J.; DEL FAVERO, G.; PONTI, C.; HEISS, E. H.; SCHWAIGER, S.; LADURNER, A.; WIDOWITZ, U.; DELLA LOGGIA, R.; ROLLINGER, J. M.; WERZ, O.; BAUER, RUDOLF; DIRSCH, V. M.; TUBARO, A.; STUPPNER, H. Lignan Derivatives from *Krameria lappacea* roots inhibit acute inflammation *in vivo* and pro-inflammatory mediators *in vitro*. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 8, p. 1779-1786, 2011.
- BERLINCK, R. G.; BORGES, W. D. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. A química de produtos naturais do Brasil do século XXI. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.
- BOHR, G.; GERHAUSER, C.; KNAUFT, J.; ZAPP, J.; BECKER, H. Anti-inflammatory Acylphloroglucinol Derivatives from Hops (*Humulus lupulus*). **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 10, p. 1545-1548, 2005.
- BRAGA, R. **Plantas do Nordeste: especialmente do Ceará**. Fundação Guimaraes Duque, v. 1204, p. 164, 2001.
- CARLQUIST, S. Wood anatomy of Krameriaceae with comparisons with Zygophyllaceae: phyletic, ecology and systematics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 149, n. 3, p. 257-270, 2005.
- CASTRO, J. C.; SILVA, M. S.; CORTES, S. F.; LEMOS, V. S. Inhibitory Effect of the Norlignan 2-(2'-Hydroxy-4', 6'-dimethoxyphenyl)-5-[(E)-propenyl] benzofuran from *Krameria tomentosa* on Acetylcholine-Induced Relaxation of the Rat Aorta. **Planta Medica**, v. 72, n. 01, p. 78-81, 2006.
- CHESTER, M. A. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Nomenclature of glycolipids--recommendations 1997. **European Journal of Biochemistry**, v. 257, n. 2, p. 293, 1998.

REFERÊNCIAS

- COLE, G. M.; LIM, G. P.; YANG, F.; TETER, B.; BEGUM, A.; MA, Q.; HARRIS-WHITE, M. E.; FRAUTSCHY, S. A. Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid and phenolic anti-oxidant interventions. **Neurobiology of Aging**, v. 26, n. 1, p. 133-136, 2005.
- COSTA, D. P.; PERALTA, D. F. Bryophytes diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1063-1071, 2015.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. The New York Botanical Garden, New York, n. Ed. 2, p. 555, 1988.
- CUI, H.; XU, B.; WU, T.; XU, J.; YUAN, Y.; GU, Q. Potential antiviral lignans from the roots of *Saururus chinensis* with activity against Epstein–Barr virus lytic replication. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 1, p. 100-110, 2013.
- DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolic: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, p. 7313–7352, 2010.
- DAVID, B.; WOLFENDER, J. L.; DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, n. 2, p. 299-315, 2015.
- DEMBITSKY, V. M.; GLORIOZOVA, T. A.; POROIKOV, V. V. Natural peroxy anticancer agents. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 6, p. 571-589, 2007.
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3 ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2009.
- DOMINGUEZ, X. A.; ESPINOSA, G. C.; ROMBOLD, C.; UTZ, W.; ACHENBACH, H. Neolignans, nor-neolignans and other compounds from *Krameria sonora*. **Planta Medica**, v. 58, p.382-383, 1992.
- DOMINGUEZ, X. A.; SANCHEZ, H.; ESPINOZA, G. C.; ACHENBACH, H. Lignans and nor-neolignans from *Krameria interior*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 8, p. 2651-2653, 1990.
- FABRICANT, D. S.; FARNSWORTH, N. R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environmental Health Perspect**, v. 109, n. 1, p. 69–75, 2001.
- FERNANDES, M.; GIULIETTI, A. M.; DE OLIVEIRA, R. P.; DE LIMA, C. T. Flora of Bahia: Krameriaceae. **SITIENTIBUS série Ciências Biológicas**, v. 14, 2014.
- FOTI, M. C.; AMORATI, R. ROS and phenolic compounds. **Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health**. Boca Raton: CRC Press, 2016.
- FREDI, A. R. O.; TINOCO, L. W. Esfingolipídios: Metabólitos bioativos e modelos para o planejamento de fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1384-1401, 2015.

REFERÊNCIAS

- GIANNINI, T. C.; TAKAHASI, A.; MEDEIROS, M. C. M. P.; SARAIVA, A. M.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Ecological niche modeling and principal component analysis of *Krameria* Loefl. (Krameriaceae). **Journal of Arid Environments**, v. 75, n. 9, p. 870-872, 2011.
- GUNSTONE, F. D.; POLLARD, M. R.; SCRIMGEOUR, C. M.; VEDANAYAGAM, H. S. Fatty acids. Part 50. ^{13}C nuclear magnetic resonance studies of olefinic fatty acids and esters. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 18, n. 1, p. 115-129, 1977.
- GUTIÉRREZ, S. P.; MENDOZA, E. S.; GONZÁLEZ, D. M.; SÁNCHEZ, M. A. Z.; GONZÁLEZ, C. P. Kramecyne — a new anti-inflammatory compound isolated from *Krameria cytisoides*. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 2049-2057, 2012.
- HANNUN, Y. A.; OBEID, L. M. Many ceramides. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 32, p. 27855-27862, 2011.
- HASSAN, B. A. R. Medicinal plants (importance and uses). **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 3, n. 10, p. 1000-1139, 2012.
- HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R.; FERREIRA, I. C. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501-513, 2015.
- HENDRICKSON, J. B. The Molecules of Nature. W. A. Benjamin, Inc., New York, p. 1, 1965.
- HILTUNEN, E.; PAKKANEN, T. T.; ALVILA, L. Phenolic compounds in silver birch (*Betula pendula* Roth) wood. **Holzforschung**, v. 60, n. 5, p. 519-527, 2006.
- HUTCHINSON, J. **The families of flowering plants**. Claredon Press, Oxford, v. 1, n. Ed. 2, p. 510, 1959.
- JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of Herbmed Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2018.
- JUSSIEU, A. L. **Genera plantarum secundum ordines naturales disposita**. Paris: Herissant and Barrois, 1789. 425 p.
- KELLY, J. R. **Review of Safety Guidelines for Peroxidizable Organic Chemicals**. TN, USA: Eastman in Kingsport, 1997.
- KIM, H.; RALPH, J.; LU, F.; RALPH, S. A.; BOUDET, A. M.; MACKAY, J. J.; SEDEROFF, R. R.; ITO, T.; KAWAI, S.; OHASHI, H.; HIGUCHI, T. NMR analysis of lignins in CAD-deficient plants. Part 1. Incorporation of hydroxycinnamaldehydes and hydroxybenzaldehydes into lignins. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 1, n. 2, p. 268-281, 2003.
- KOCKA, A. B.; ZIDORN, Z.; KASPRZYCKA, M.; SZYMCAK, G.; SZEWCZYK, K. Phenolic acid content, antioxidant and cytotoxic activities of four *Kalanchoë* species. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, p. 622-630, 2018.

REFERÊNCIAS

- KOSASI, S.; VAN DER SLUIS, W. G.; LABADIE, R. Multifidol and multifidol glucoside from the latex of *Jatropha multifida*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 9, p. 2439-2441, 1989.
- KUNINOBU, Y.; MATSUKI, T.; TAKAI, K. Rhenium-catalyzed regioselective alkylation of phenols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 29, p. 9914-9915, 2009.
- LEE, K. H.; XIAO, Z. Lignans in treatment of cancer and other diseases. **Phytochemistry Reviews**, v. 2, n. 3, p. 341-362, 2003.
- LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Quantas espécies há no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 36-42, 2005.
- LI, X.; BECKER, K. A.; ZHANG, Y. Ceramide in redox signaling and cardiovascular diseases. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 26, n. 1, p. 41-48, 2010.
- LUIZE, P. S.; NAKAMURA, T. U.; DIAS-FILHO, B. N.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; Activity of Neolignans Isolated from *Piper regnellii* (M IQ.) C. DC. var. *pallenscens* (C. DC.) Y UNCK against *Trypanosoma cruzi*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 10, p. 2126-2130, 2006.
- MADEIRO, S. A.; DE LUCENA, H. F.; SIQUEIRA, C. D.; DUARTE, M. C.; BRAZ-FILHO, R.; BARBOSA FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; TAVARES, J. F. New Neolignans from *Krameria tomentosa* A. St.-Hil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2021-2026, 2012.
- MAIA, A. I. V.; VERAS, M. L.; BRAZ-FILHO, R.; LOPES, N.P.; SILVEIRA, E.R.; PESSOA, O. D. L. New ceramides from *Acnistus arborescens*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 5, p. 867-871, 2010.
- MARKHAM, J. E.; LYNCH, D. V.; NAPIER, J. A.; DUNN, T. M.; CAHOON, E. B. Plant sphingolipids: function follows form. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 16, n. 3, p. 350-357, 2013.
- MELO, M. C. L. V. **Avaliação da toxicidade e do potencial antioxidante, antimicrobiano e antineoplásico do extrato aquoso de ramos de *Krameria tomentosa* A. ST.-HIL (Krameriaceae)**. Recife, 2018. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Pernambuco.
- MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: an evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4769-4807, 2011.
- MONTHONG, W.; PITCHUANCHOM, S.; NUNTASAEN, N.; POMPIMON, W. (+)-Syringaresinol lignan from new species *Magnolia thailandica*. **American Journal of Applied Sciences**, v. 8, n. 12, p. 1268-1271, 2011.
- NAFISI, S.; MAIBACH, H. I. Nanotechnology in cosmetics. In: **Cosmetic Science and Technology**, p. 337-369, 2017.

REFERÊNCIAS

- NAOGHARE, P. K.; SONG, J. M. Chip-based high throughput screening of herbal medicines. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 13, p. 923–931, 2010.
- NASRI, H. Herbal drugs and new concepts on its use. **Journal of Preventive Epidemiology**, v. 1, n. 1, 2016.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.
- NIXON, G. F. Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets. **British Journal of Pharmacology**, v. 158, n. 4, p. 982-993, 2009.
- NOVAES, P.; MOLINILLO, J. M. G.; VARELA, R. M.; MACÍAS, F. A. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 839-855, 2013.
- ONITSUKA, S.; HAMADA, T.; OKAMURA, H. Preparation of antimicrobial gold and silver nanoparticles from tea leaf extracts: Colloids and surfaces B. **Biointerfaces**, v. 173, p. 242-248, 2019.
- PANLILIO, B. G.; MACABEO, A. P. G.; KNORN, M.; KOHLS, P.; RICHOMME, P.; KOUAM, S. F.; GEHLE, D.; KROHN, K.; FRANZBLAU, S.G.; ZHANG, Q.; AGUINALDO, M. A. M. A lanostane aldehyde from *Momordica charantia*. **Phytochemistry letters**, v. 5, n. 3, p. 682-684, 2012.
- PAN, J. Y.; CHEN, S. L.; YANG, M. H.; WU, J.; SINKKONEN, J.; ZOU, K. An update on lignans: natural products and synthesis. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 10, p. 1251-1292, 2009.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 5. ed. Cengage Learning, 2015.
- PEREIRA, M. D. P. **Estudo fitoquímico de *Aristolochia cordigera* e síntese de lignanas com potencial antimalárico**. Araraquara, 2017. 299p. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista.
- PONTES, M. C. N. D. **Contribuição ao conhecimento químico da espécie *Harpalyce brasiliensis* Benth.** Natal, 2014. 202p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- PRADO J.; SYLVESTRE, L. S.; LABIAK, P. H.; WINDISCH, P. G.; SALINO, A.; BARROS, I. C. L.; HIRAI, R. Y.; ALMEIDA, T. E.; SANTIAGO, A. C. P.; KIELING-RUBIO, M. A.; PEREIRA, A. F. N.; OLLGAARD, B.; RAMOS, C. G. V.; MICKEL, J. T.; DITTRICH, V. A. O.; MYNSEN, C. M.; SCHWARTSBURD, P. B.; CONDACK, J. P. S.; PEREIRA, J. B. S.; MATOS, F. B. Diversity of ferns and lycophytes in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1073-1083, 2015.

REFERÊNCIAS

- RADOJKOVIĆ, M.; ZEKOVIĆ, Z.; MAŠKOVIĆ, P.; VIDOVIĆ, S.; MANDIĆ, A.; MIŠAN, A.; ĐUROVIĆ, S. Biological activities and chemical composition of *Morus* leaves extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 117, p. 50-58, 2016.
- RAMIREZ J.; TULIG M.; WATSON K.; THIERS B. (2019). **The New York Botanical Garden Herbarium (NY)**. Version 1.16. The New York Botanical Garden. Occurrence dataset <https://www.gbif.org/occurrence/search?offset=20&dataset_key=d415c253-4d61-4459-9d25-4015b9084fb0&taxon_key=7309948>. accessed via GBIF.org on 2019-12-20.
- RAMÍREZ-CISNEROS, M. Á.; RIOS, M. Y.; RÍOS-GÓMEZ, R.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B. Cycloartanes from *Krameria pauciflora* and their in vitro PLA₂, COX-1, and COX-2 enzyme inhibitory activities. **Planta Medica**, v. 78, n. 18, p. 1942-1948, 2012a.
- RAMÍREZ-CISNEROS, M.; RIOS, M. Y.; DÉCIGA-CAMPOS, M.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. Phytochemical study and anti-inflammatory, antidiabetic and free radical scavenger evaluations of *Krameria pauciflora* methanol extract. **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 861-872, 2012b.
- RAO, C. V. N.; AFZAL, M.; MALALLAH, G.; KURLAN, M.; GULSHAN, S. Hydrocarbon uptake by roots of *Vicia faba* (Fabaceae). **Environmental monitoring and assessment**, v. 132, n. 1-3, p. 439-443, 2007.
- RASMUSSEN, S. E.; FREDERIKSEN, H.; STRUNTZE KROGHOLM, K.; POULSEN, L. Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 49, n. 2, p. 159-174, 2005.
- RYDÉN, A. M. **Identification, characterization and expression of early biosynthetic genes from *Artemisia annua***. 2010. 216p. Tese de Doutorado. – Universidade de Groningen.
- SANTOS, E.C.S. **Investigação do potencial tóxico do extrato etanólico de *Krameria tomentosa* A. St. HILL sobre o sistema reprodutor de ratos e ratas e suas proles**. João Pessoa, 2016. 182p. Tese de Doutorado – Universidade Federal da Paraíba.
- SAWASDEE, K.; CHAOWASKU, T.; LIKHITWITAYAWUID, K. New neolignans and a phenylpropanoid glycoside from twigs of *Milium mollis*. **Molecules**, v. 15, n. 2, p. 639-648, 2010.
- SCHERER, R.; GODOY, H. T. Effects of extraction methods of phenolic compounds from *Xanthium strumarium* L. and their antioxidant activity. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 1, p. 41-46, 2014.
- SCHOLZ, E.; RIMPLER, H. Proanthocyanidins from *Krameria triandra* root. **Planta Medica**, v. 55, n. 04, p. 379-384, 1989.

REFERÊNCIAS

- SHI, Q. W.; LI, L. G.; HUO, C. H.; ZHANG, M. L.; WANG, Y. F. Study on natural medicinal chemistry and new drug development. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, v. 41, p. 1583–1589, 2010.
- SILVA, D. A.; SILVA, D. F.; SOUZA, M. F. V.; AGRA, M. F.; MEDEIROS, I. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3, 7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 23-29, 2005.
- SILVA, S. A.; CASTRO, J. C. D.; SILVA, T. G. D.; DA-CUNHA, E. V.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S. D. Kramentosan, a new trinorlignan from the roots of *Krameria tomentosa*. **Natural Product Letters**, v. 15, n. 5, p. 323-329, 2001.
- SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre: Editora da UFSC e UFRGS, 2007.
- SIMPSON, B. B. Krameriaceae. **Flora Neotropica**, p. 1-108, 1989.
- SIMPSON, B. B. Krameriaceae. In: **Flowering Plants Eudicots**. Springer, Berlin: Heidelberg, p. 208-212, 2007.
- SIMPSON, B. B. The past and present uses of rhatany (*Krameria*, Krameriaceae). **Economic Botany**, v. 45, n. 3, p. 397-409, 1991.
- SIMPSON, B. B.; WEEKS, A.; HELFGOTT, D. M.; LARKIN, L. L. Species relationships in *Krameria* (Krameriaceae) based on ITS sequences and morphology: implications for character utility and biogeography. **Systematic Botany**, v. 29, n. 1, p. 97-108, 2004.
- SIMPSON, B. Krameriaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB140>>. Acesso em: 18 de dezembro de 2019.
- SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; CHASE, M. W.; MORT, M. E.; ALBACH, D. C.; ZANIS, M.; SAVOLAINEN, V.; HAHN, W. H.; HOOT, S. B.; FAY, M. F.; AXTELL, M.; SWENSEN, S. M.; PRINCE, I. M.; KRES, W. J.; NIXON, K. C.; FARRIS, J. S. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 133, n. 4, p. 381-461, 2000.
- STANCEVIC, B.; KOLESNICK, R. Ceramide-rich platforms in transmembrane signaling. **FEBS letters**, v. 584, n. 9, p. 1728-1740, 2010.
- TAUBERT, P. Leguminosae. II. 6. Caesalpinioideae-Kramerieae. In: Engler, A. & Prantl, K. **Die natürlichen Pflanzenfamilien**. 3. Ed. W. Engelmann, Leipzig. p. 166-168, 1892.
- TEPONNO, R. B.; KUSARI, S.; SPITELLER, M. Recent advances in research on lignans and neolignans. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 9, p. 1044-1092, 2016.

REFERÊNCIAS

TORSSELL, K. B. G. Natural Products Chemistry. Chichester: John Wiley and Sons Limited, 1983.

VICENTE, S. J. V.; QUEIROZ, Y. S.; GOTLIEB, S. L. D.; TORRES, E. A. F. S. Stability of phenolic compounds and antioxidant capacity in regular and decaffeinated coffed. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 1, p. 110-118, 2014.

YAMAUCHI, S.; INA, T.; KIRIKIHARA, T.; MASUDA, T. Synthesis and antioxidant activity of oxygenated furofuran lignans. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 68, n. 1, p. 183-192, 2004.

YONG, K. W.; DE VOSS, J. J.; HOOPER, J. N.; GARSON, M. J. Configurational assignment of cyclic peroxy metabolites provides an insight into their biosynthesis: Isolation of plakortolides, seco-plakortolides, and plakortones from the Australian marine sponge *Plakinastrella clathrata*. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 2, p. 194-207, 2011.

ZHANG, G.; SHIMOKAWA, S.; MOCHIZUKI, M.; KUMAMOTO, T.; NAKANISHI, W.; WATANABE, T.; HIGUCHI, Y. Chemical constituents of *Aristolochia constricta*: antispasmodic effects of its constituents in guinea-pig ileum and isolation of a diterpeno-lignan hybrid. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 7, p. 1167-1172, 2008.