



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



SARA ALVES LUCENA MADEIRO

**Novas Neolignanas de *Krameria tomentosa* A. St.-Hil.
(Krameriaceae)**

**JOÃO PESSOA - PB
2012**

SARA ALVES LUCENA MADEIRO

Novas Neolignanas 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 na área de Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares

COORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

JOÃO PESSOA - PB

2012

M181n Madeiro, Sara Alves Lucena.
 Novas neolignanas de *Krameria tomentosa* A. St.-Hill (Krameriaceae)/ Sara
Alves Lucena Madeiro- - João Pessoa: [s.n.], 2012.
 142f. : il.
 Orientador: Josean Fechine Tavares.
 Co-orientador: Marcelo Sobral da Silva.
 Dissertação (Mestrado)-UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Krameriaceae. 3. Krameria tomentosa. 4. Neolignanas.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

SARA ALVES LUCENA MADEIRO

Novas neolignanas de *Krameria tomentosa* A. St.-Hil. (Krameriaceae)

Dissertação aprovada em 15 / 02 / 2012

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Josean Fechine Tavares

PhD em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba
(Orientador)

Prof. Dr. Massuo Jorge Kato

PhD em Química Orgânica
Instituto de Química - Universidade de São Paulo
(Examinador Externo)

Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza

PhD em Química Orgânica
Universidade Federal da Paraíba
(Examinadora Interna)

Dedico este trabalho a minha amada mãe, Maria Elizier
Alves (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter me abençoado e me guiado ao longo de toda minha existência.

À minha mãe **Maria Elizier Alves** (*in memoriam*), que mesmo ausente, continua sendo a minha principal incentivadora. Dela recebi o maior amor que uma pessoa pode receber. Amor esse, que continua marcado em minha memória e em meu coração por mais que a ausência tente me fazer esquecer. A Ela devo tudo que sou e o que conquistei.

À minha família, pelo amor e apoio de sempre. Ao meu pai **Glaudion Madeiro**, minha madrasta **Francisca Devanir**, meus irmãos **Marcos Antônio, Dandara e Glaudion Filho**, minha avó **Zenite Lucena**, meus **tios e primos**, a minha eterna gratidão.

Ao meu namorado **Wendell Martins**, pelo amor, compreensão, paciência, ajuda e por aceitar a minha ausência quando necessário.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Josean Fechine Tavares** pela orientação, apoio, amizade, paciência, por ter me acolhido e acreditado sempre na minha capacidade.

Ao meu coorientador **Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva** pelos ensinamentos e por sua valiosa contribuição durante a elaboração desse trabalho.

As amigas-irmãs **Paula Leal, Rafaella Pessoa, Natália Texeira, Ryanne Pinheiro e Charlane Kelly** pelo carinho, incentivo e estímulo que sempre me deram. Obrigada por estarem presentes em todos os momentos que eu precisei!

As minhas amigas queridas do curso de Farmácia, **Nathália Brito, Karoline Gomes e Ericelle Carvalho** pela amizade, companheirismo, brincadeiras e apoio de sempre.

Aos técnicos, **Vicente Carlos, Socrates Gólzio, Alexsandro Fernandes, Raimundo Nonato e Wellington Lima** pela contribuição imprescindível para realização desse trabalho, mas principalmente pela amizade, conselhos e ensinamentos.

As melhores amigas que essa pós-graduação poderia me presentear **Hellane Fabrícia, Caroline Siqueira, Rafaela Soares, Vivianne Marcelino, Camila Figueiredo e Isis Fernandes** por toda a amizade, conselhos, brincadeiras, caronas, almoços, pela ajuda no laboratório e por escutar meus desabafos. Sem dúvida, essa caminhada se tornou muito mais fácil por vocês estarem ao meu lado.

Aos amigos dos Laboratórios de Farmacoquímica, **Fábio Tenório, Steno Lacerda, Cinthia Queiroga, Sandro Leal, Heloisa Mara, Marcelo Manso, Paula Ferreira, Ane Deyse, Denise Aline, Camila Holanda, Augusto Lopes, Jacqueline Iris, Ana Silvia, Narlize Silva, Otemberg Chaves, Yanna Teles, Mariane Guedes e Thiago Bezerra** pela companhia e amizade, por dividir seus conhecimentos, por todo auxílio e pela excelente convivência.

A todos os meus amigos da **Turma de Mestrado 2010** pelo o ótimo convívio e ajuda mútua no cotidiano.

Aos professores da Pós-Graduação, em especial, a **Bagnólia Araújo Costa, Maria de Fátima Vanderlei, Demetrius Antonio Machado de Araújo, Liana Clébia Soares Lima de Moraes, Eduardo de Jesus Oliveira, Marianna Vieira Sobral Castello Branco, Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz, Celidarque da Silva Dias, José Maria Barbosa Filho e Luís César Rodrigues**, por todos os ensinamentos transmitidos.

As secretárias da Pós-Graduação **Tânia Maria e Caroline Mangueira** pelo trabalho, apoio e por estarem sempre dispostas a ajudar.

À **Comissão Examinadora** pela disponibilidade e contribuição para o aperfeiçoamento deste trabalho.

À **Universidade Federal da Paraíba.**

Ao **Programa de Produtos Naturais em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.**

À **Capes**, pelo apoio financeiro.

Agradeço enfim a todos aqueles que, direta e indiretamente, acreditam e me incentivam a correr atrás dos meus ideais.

MUITO OBRIGADA!

Sara Alves Lucena Madeiro

“E que seja permanente essa vontade de ir além de tudo que me espera.”

Caio Fernando Abreu

RESUMO

MADEIRO, S. A. L. **Novas Neolignanas de *Krameria tomentosa* A. St.- Hil. (Krameriaceae)** 2012. 142p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

O gênero *Krameria* é o único membro da família Krameriaceae, sendo composto por 18 espécies herbáceas ou arbustivas. Dentre estas, encontra-se *Krameria tomentosa* A. St.-Hil., conhecida popularmente como “ratanha de Nova Granada”, “carrapicho de cavalo” ou “ratanha de salvaille”. Neste trabalho descrevemos o isolamento e elucidação estrutural de neolignanas isoladas das raízes de *K. tomentosa*. O material vegetal, após secagem e pulverização, foi submetido a processos de extração, partição e cromatografia para isolamento dos constituintes químicos. A estrutura química dos mesmos foi determinada pelos métodos espectroscópicos de Infravermelho, Massas e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais bem como por comparações com modelos da literatura. Das fases hexânica e diclorometano obtiveram-se cinco neolignanas: eupomatenoide 6 e 2-(2',4'-diidroxifenil-5-(*E*)-propenilbenzofurano, relatadas pela primeira vez na espécie, diidrocarinatidina, relatada pela primeira vez na família, 1,1'-(*E*)-propenil-4-metoxi-3,4'-oxineolignana e 5-ácido-2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-benzofurânico, relatadas pela primeira vez na literatura e nomeadas trivialmente de ottomentosa e sobralina, respectivamente. Desta forma, os resultados obtidos contribuíram para a ampliação do conhecimento quimiotaxonômico da família Krameriaceae, em especial da espécie *K. tomentosa*.

Palavras-chave: Krameriaceae, *Krameria tomentosa*, neolignanas.

ABSTRACT

MADEIRO, S. A. L. **New Neolignans from *Krameria tomentosa* A. St.-Hil. (Krameriaceae)** 2012.142p. Masters Thesis – Graduate Program in Natural Products and Synthetic Bioactive. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

The genus *Krameria* is the only member of Krameriaceae family, comprising 18 herbaceous or shrub species. Among these, there is *Krameria tomentosa* A. St.-Hil., popularly known “ratanha de Nova Granada”, “carrapicho de cavalo” or “ratanha de salvanille”. In this work, the isolation and structural elucidation of neolignans from the roots of *K. tomentosa* is described. The dried and pulverized plant material was subjected to extraction, partition and chromatography processes for isolation of chemical constituents. The chemical structures are determined by spectroscopic methods such as Infrared, ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance, Mass Spectrometry and comparison with literature. The hexane and dichloromethane extracts yielded five neolignans: eupomatenoid 6 and 2-(2',4'-dihydroxyphenyl-5-(*E*)-propenyl)benzofuran, described for the first time in the species, dihydrocarinatidin, described for the first time in the family, 1,1'-(*E*)-propenyl-4-methoxy-3,4'-oxyneolignan and 5-acid-2-(2'-hydroxy-4',6'-dimethoxyphenyl)-benzofuranic, described for the first time in the literature, and trivially named ottomentosa e sobralin, respectively. Thus, the obtained results contributed with chemotaxonomic knowledge of Krameriaceae family, in particular the species *Krameria tomentosa*.

Keywords: Krameriaceae, *Krameria tomentosa*, neolignans.

Lista de abreviaturas, siglas, símbolos e fórmulas

AcOEt	Acetato de Etila
APT	<i>Attached Proton Test</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CLMP	Cromatografia Líquida de Média Pressão
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
CD₃COCD₃	Acetona deuterada
CH₂Cl₂	Diclorometano
CH₃OH	Metanol
cm	Centímetro
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
dl	Dupleto largo
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EM	Espectrometria de massas
ESI	<i>Electrospray ionization</i>
EtOH	Etanol
EUA	Estados Unidos da América
g	Gramma
H₂O	Água
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
Hex	Hexano
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
KBr	Brometo de potássio
kg	quilograma
LMCA	Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise

<i>m</i>	Multiplete
MeOH	Metanol
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
Mo	Modelo
<i>m/z</i>	Relação massa/ carga
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
P.A.	Para análise
pág.	Página
PAL	Fenilalanina amônia liase
PB	Paraíba
ppm	Partes por milhão
<i>q</i>	quarteto
<i>qd</i>	quarteto de dupletos
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
<i>sl</i>	Simpleto largo
<i>t</i>	Triplete
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
δ	Deslocamento químico em ppm
4CL	4-Cumarato-CoA Liase

Lista de Figuras

Figura 1- Distribuição geográfica do gênero <i>Krameria</i> no mundo, representada pelas áreas em verde.....	30
Figura 2- <i>Krameria tomentosa</i> .A. St.-Hil.....	40
Figura 3- Prancha ilustrativa mostrando <i>Krameria tomentosa</i> e seus detalhes anatômicos (SIMPSON,1989).....	41
Figura 4- Estrutura química das neolignanas isoladas de <i>Krameria tomentosa</i> em estudo anterior (SILVA <i>et. al</i> , 2001).....	42
Figura 5- Rota biossintética dos fenilpropanoides (DAVIN <i>et al.</i> , 2008; DIXON <i>et al.</i> , 2001; DEWICK, 2002; BARBOSA-FILHO, 2004).....	44
Figura 6- Alguns exemplos de esqueletos de neolignanas.....	45
Figura 7- Alguns lignoides com atividade biológica comprovada.....	46
Figura 8- Substâncias isoladas de <i>Krameria tomentosa</i> no presente trabalho.....	58
Figura 9- Estrutura química de <i>Kt-1</i> : 2-(4-hidroxifenil)-3-metil-5-(<i>E</i>)-propenilbenzofurano (eupomatenóide 6).....	61
Figura 10- Espectro no Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de <i>Kt-1</i>	63
Figura 11- Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de <i>Kt-1</i>	64
Figura 12- Espectro de RMN ¹³ C - APT (CDCl ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-1</i>	64
Figura 13- Expansão do espectro de RMN ¹³ C - APT (CDCl ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de 155,0–110,0 ppm.....	65
Figura 14- Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-1</i>	65
Figura 15- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de 5,1-1,4 ppm.....	66
Figura 16- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de 7,8-6,1 ppm.....	66
Figura 17- Espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-1</i>	67
Figura 18- Expansão do espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de (131-100 ppm) x (8,6-6,0 ppm).....	67
Figura 19- Espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-1</i>	68
Figura 20- Expansão do espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de (170-106 ppm) x (5,0-1,5).....	69

Figura 21- Expansão do espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de (160-108 ppm) x (9,0-5,5 ppm).....	69
Figura 22- Espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-1</i>	70
Figura 23- Expansão do espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de (8,6-6,1 ppm) x (8,8-6,0 ppm).....	71
Figura 24- Espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-1</i>	71
Figura 25- Expansão do espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-1</i> na região de (8,0-6,0 ppm) x (8,0-6,0 ppm).....	72
Figura 26- Estrutura química de <i>Kt-2</i> : 2-(2',4'-dihidroxifenil)-5-(E)-propenilbenzofurano.....	75
Figura 27- Espectro no Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de <i>Kt-2</i>	77
Figura 28- Espectro de RMN ¹³ C - APT (CD ₃ COCD ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-2</i>	78
Figura 29- Expansão do espectro de RMN ¹³ C - APT (CD ₃ COCD ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de 162–101 ppm.....	78
Figura 30- Espectro de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i>	79
Figura 31- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de 7,8-7,2 ppm.....	79
Figura 32- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de 6,62-5,16 ppm.....	80
Figura 33- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de 1,92-1,78 ppm.....	80
Figura 34- Espectro HMQC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-2</i>	81
Figura 35- Expansão do espectro HMQC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de (122-91 ppm) x (8,5-5,5 ppm).....	81
Figura 36- Expansão do espectro HMQC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de (60-15 ppm) x (2,7-1,3 ppm).....	82
Figura 37- Espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-2</i>	82
Figura 38- Expansão do espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de (161-153 ppm) x (8,0-6,3 ppm).....	83
Figura 39- Expansão do espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de (137-102 ppm) x (7,9-6,0 ppm).....	83
Figura 40- Expansão do espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de (113-103 ppm) x (6,8-6,3 ppm).....	84
Figura 41- Espectro COSY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i>	84

Figura 42- Expansão do espectro COSY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de (8,0-6,0 ppm) x (8,0-6,0 ppm).....	85
Figura 43- Espectro NOESY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i>	85
Figura 44- Expansão do espectro NOESY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-2</i> na região de (8,2-6,0 ppm) x (8,2-5,8 ppm).....	86
Figura 45- Proposta estrutural A para <i>Kt-3</i>	88
Figura 46- Estrutura química de <i>Kt-3</i> : (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)-2,3-diidro-2-(3'-metoxil-4'-hidroxifenil)-3-metil-5-alil-7-metoxi-benzofurano (diidrocarinatidina).....	89
Figura 47- Espectro de massas de alta resolução de <i>Kt-3</i>	91
Figura 48- Espectro no Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de <i>Kt-3</i>	91
Figura 49- Espectro de RMN ¹³ C - APT (CDCl ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-3</i>	92
Figura 50- Expansão do espectro de RMN ¹³ C - APT (CDCl ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de 149,0–92,0 ppm.....	92
Figura 51- Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i>	93
Figura 52- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i> na região 7,3-5,0 ppm.....	93
Figura 53- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i> na região 4,2-0,5 ppm.....	94
Figura 54- Espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-3</i>	94
Figura 55- Expansão do espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (122-91 ppm) x (7,6-4,6 ppm).....	95
Figura 56- Expansão do espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (60-15 ppm) x (6,0-0,5 ppm).....	95
Figura 57- Espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-3</i>	96
Figura 58- Expansão do espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (158-56 ppm) x (4,3-0,3).....	96
Figura 59- Expansão do espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (148-143 ppm) x (7,1-6,5 ppm).....	97
Figura 60- Expansão do espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (86-12 ppm) x (7,0-0,5 ppm).....	97
Figura 61- Espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i>	98
Figura 62- Expansão do espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (7,8-6,1 ppm) x (7,7-6,1 ppm).....	99

Figura 63- Expansão do espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (6,5-3,0 ppm) x (6,5-3,0 ppm).....	99
Figura 64- Espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i>	100
Figura 65- Expansão do espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (7,0-1,0 ppm) x (7,4-1,0 ppm).....	100
Figura 66- Expansão do espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-3</i> na região de (7,3-3,1 ppm) x (7,4-3,1 ppm).....	101
Figura 67- Proposta estrutural A para <i>Kt-4</i>	102
Figura 68- Correlações observadas nos espectros HMBC, NOESY e COSY para <i>Kt-4</i>	103
Figura 69- Espectro de massas de baixa resolução de <i>Kt-4</i>	105
Figura 70- Espectros de fragmentação do íon <i>m/z</i> 313,0.....	106
Figura 71- Proposta de fragmentação para <i>Kt-4</i>	106
Figura 72- Espectro no Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de <i>Kt-4</i>	107
Figura 73- Espectro de RMN ¹³ C - APT (CD ₃ COCD ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-4</i>	108
Figura 74- Espectro de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-4</i>	108
Figura 75- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de 8,5-5,5 ppm.....	109
Figura 76- Espectro HMQC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i>	109
Figura 77- Expansão do espectro HMQC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (57,0-54,5 ppm) x (4,1-3,5 ppm).....	110
Figura 78- Expansão do espectro HMQC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (60-15 ppm) x (2,7-1,3 ppm).....	110
Figura 79- Espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i>	111
Figura 80- Expansão do espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (170-90 ppm) x (9,0-3,5 ppm).....	111
Figura 81- Expansão do espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (169-152 ppm) x (8,6-6,0 ppm).....	112
Figura 82- Expansão do espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (133-104 ppm) x (9,0-6,5 ppm).....	112
Figura 83- Expansão do espectro HMBC (CD ₃ COCD ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (164-90 ppm) x (6,4-6,5 ppm).....	113
Figura 84- Espectro COSY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-4</i>	113

Figura 85- Expansão do espectro COSY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (8,6-5,8 ppm) x (8,8-5,8 ppm).....	114
Figura 86- Espectro NOESY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-4</i>	114
Figura 87- Expansão do espectro NOESY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (8,7-6,8 ppm) x (9,0-6,7 ppm).....	115
Figura 88- Expansão do espectro NOESY (CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-4</i> na região de (6,5-3,5 ppm) x (6,7-3,5 ppm).....	115
Figura 89- Proposta estrutural para <i>Kt-5</i>	117
Figura 90- Correlações observadas nos espectros HMBC, NOESY e COSY para <i>Kt-5</i>	118
Figura 91- Espectro de massas de alta resolução de <i>Kt-5</i>	119
Figura 92- Espectro de massa de baixa resolução de <i>Kt-5</i> e de fragmentação do íon <i>m/z</i> 280,9.....	120
Figura 93- Proposta de fragmentação para <i>Kt-5</i>	120
Figura 94- Espectro no Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de <i>Kt-5</i>	121
Figura 95- Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i>	122
Figura 96- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i> na região 7,3-6,8 ppm.....	122
Figura 97- Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i> na região 4,2-1,6 ppm.....	123
Figura 98- Espectro de RMN ¹³ C - APT (CDCl ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-5</i>	123
Figura 99- Expansão do espectro de RMN ¹³ C - APT (CDCl ₃ , 125 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de 162,0–110,0 ppm.....	124
Figura 100- Espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-5</i>	124
Figura 101- Expansão do espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de (132-112 ppm) x (7,6-5,7 ppm).....	125
Figura 102- Expansão do espectro HMQC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de (58-14 ppm) x (4,5-1,0 ppm).....	125
Figura 103- Espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-5</i>	126
Figura 104- Expansão do espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de (136-121 ppm) x (7,5-1,5 ppm).....	126
Figura 105- Expansão do espectro HMBC (CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de (159-120 ppm) x (7, 5-6,2 ppm).....	127
Figura 106- Espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i>	127

Figura 107- Expansão do espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de (6,5-0,5) x (6,5-0,5 ppm).....	128
Figura 108- Expansão do espectro COSY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de (7,4-5,9 ppm) x (7,6-5,8 ppm).....	128
Figura 109- Espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i>	129
Figura 110- Expansão do espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i> na de região (7,5-5,9 ppm) x (7,5-5,8 ppm).....	129
Figura 111- Expansão do espectro NOESY (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Kt-5</i> na região de (7,5-5,9 ppm) x (9,5-4,5 ppm).....	130

Lista de Tabelas

Tabela 1- Dados verificados nos espectros de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CDCl_3 de <i>Kt-1</i> e comparação com dados de RMN ^1H (90 MHz) e ^{13}C (22,5 MHz) em CD_3COCD_3 da literatura (ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987) (δ em ppm, <i>J</i> em Hz).....	62
Tabela 2- Dados verificados nos espectros de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CD_3COCD_3 de <i>KT-2</i> e comparação com dados de RMN ^1H (90 MHz) e ^{13}C (22,5 MHz) em CD_3COCD_3 da literatura (ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987) (δ em ppm, <i>J</i> em Hz).....	76
Tabela 3- Dados verificados nos espectros de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CDCl_3 de <i>Kt-3</i> e comparação com dados de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em CDCl_3 da literatura (MORAIS <i>et al.</i> , 2009) (δ em ppm, <i>J</i> em Hz).....	90
Tabela 4- Dados comparativos de RMN ^{13}C de <i>Kt-4</i> (125 MHz, CD_3COCD_3) e dos modelos Mo-3 e Mo-4 (125 MHz, CDCl_3) (SILVA <i>et al.</i> , 2001).....	104
Tabela 5- Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CD_3COCD_3 de <i>Kt-4</i> (δ em ppm, <i>J</i> em Hz).....	105
Tabela 6- Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CDCl_3 de <i>Kt-5</i> (δ em ppm, <i>J</i> em Hz).....	119

Lista de Esquemas

Esquema 1- Obtenção e partição líquido - líquido do extrato etanólico bruto de <i>K. tomentosa</i>	51
Esquema 2- Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto de <i>K. tomentosa</i>	54
Esquema 3- Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>K. tomentosa</i>	56

Lista de Quadros

Quadro 1- Espécies pertencentes ao gênero <i>Krameria</i>	29
Quadro 2- Lignoides isolados de espécies do gênero <i>Krameria</i>	31
Quadro 3- Classificação taxonômica de <i>Krameria tomentosa</i> segundo Simpson (1989).....	40
Quadro 4- Processamento cromatográfico da Fase Hexânica do EEB de <i>K. tomentosa</i> – Coluna 1.....	53
Quadro 5- Processamento cromatográfico da fração 1-2 da Coluna 1– Coluna 1.1.....	53
Quadro 6- Processamento cromatográfico da fração 27-35 da Coluna 1– Coluna 1.2.....	53
Quadro 7- Dados do método utilizado para o processamento cromatográfico da Fase Diclorometano do EEB de <i>K. tomentosa</i> – Coluna 2.....	55
Quadro 8- Dados da reunião das frações da Coluna 2 após monitoramento em CCDA.....	55
Quadro 9- Dados do método utilizado para o processamento cromatográfico da Fração 67-81 da Coluna 2 – Coluna 2.1.....	56
Quadro 10- Dados da reunião das frações da Coluna 2.1 após monitoramento em CCDA.....	56

Sumário

1. INTRODUÇÃO	24
2. OBJETIVOS	27
2.1. Objetivo geral.....	27
2.2. Objetivos específicos	27
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
3.1. Considerações sobre o gênero <i>Krameria</i>	29
3.2. Considerações sobre a espécie <i>Krameria tomentosa</i> A. St.-Hil.	40
3.3. Considerações sobre lignoides.....	43
4. EXPERIMENTAL	48
4.1. Material Botânico	48
4.2. Métodos Cromatográficos.....	48
4.3. Métodos Espectroscópicos	49
4.3.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV)	49
4.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	49
4.3.3. Espectrometria de Massas (EM)	49
4.4. Ponto de Fusão	50
4.5. Obtenção do extrato etanólico bruto e seu particionamento.....	50
4.6. Isolamento e purificação dos constituintes químicos	52
4.6.1. Processamento cromatográfico da fase hexânica.....	52
4.6.2. Processamento cromatográfico da fase diclorometano.....	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1. Determinação Estrutural de <i>Kt-1</i>	59
5.2. Determinação Estrutural de <i>Kt-2</i>	72
5.3. Determinação Estrutural de <i>Kt-3</i>	86
5.4. Determinação Estrutural de <i>Kt-4</i>	101
5.5. Determinação Estrutural de <i>Kt-5</i>	116
6. CONCLUSÕES	132
REFERENCIAS	133

Introdução



1. INTRODUÇÃO

Ao longo da nossa evolução, a importância dos produtos naturais para a medicina e a saúde tem sido enorme. Desde os nossos primeiros antepassados mastigando certas ervas para aliviar a dor ou envolvendo folhas em feridas para melhorar a cicatrização, os produtos naturais têm sido muitas vezes o único meio para tratar doenças e ferimentos (JI *et al.*, 2009).

A natureza sempre despertou no homem um fascínio encantador, não só pelos recursos oferecidos para sua alimentação e manutenção, mas também por ser sua principal fonte de inspiração ao planejamento racional de novos fármacos visto que a mesma é fonte inigualável de diversidade química, capaz de construir moléculas de alta complexidade estrutural.

Nos últimos anos, devido aos progressos alcançados nos métodos analíticos, os conhecimentos sobre as plantas medicinais foram consideravelmente aumentados. Contudo, mesmo tendo em conta toda a investigação até agora realizada, estima-se que apenas 17% de toda a flora mundial tenham sido estudadas quanto ao seu emprego medicinal (CUNHA, 2005; FOGGIO *et al.*, 2006).

Durante algum tempo, os investimentos elevados na preparação de produtos sintéticos contribuíram significativamente para estimular ações que tentavam reduzir a relevância de organismos vivos como fontes de novos bioprodutos com atividade biológica. No entanto, nos últimos anos, a importância dos organismos vegetais como fontes produtivas de substâncias com diversas atividades biológicas reativaram interesses sociais e econômicos, superando obstáculos na construção de um cenário crescente, estimulando, inclusive, a percepção das lideranças industriais empenhadas na fabricação de produtos sintéticos (BRAZ-FILHO, 2010).

A crescente busca por agentes terapêuticos derivados de espécies vegetais justifica-se pelo surgimento de doenças ainda sem tratamento apropriado, e pelo crescimento do conhecimento científico a respeito dos fitoterápicos, como importantes alternativas terapêuticas (GUERRA & NODARI, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os vegetais são as maiores e melhores fontes de fármacos para a humanidade (BEZERRA, 2006).

Dentro deste aspecto, cabe ressaltar a necessidade da implantação de um programa comprometido, contínuo e eficiente, como o requerido para qualquer conquista de valor na área científico-tecnológica e de uma atuação multidisciplinar

que o estudo com as plantas exige, incluindo desde o ponto de vista fitoquímico, até estudos abordando os aspectos agrotecnológico, microbiológico, farmacológico e biotecnológico, de tal forma que esta integração possa propiciar uma ampliação nas possibilidades na busca de novas moléculas ativas (FOGLIO *et al.*, 2006; YUNES *et al.*, 2001).

As pesquisas com vegetais contribuem com novas alternativas terapêuticas pelo desenvolvimento de fitoterápicos inovadores, bem como, pela elucidação de substâncias isoladas, que ainda podem ser utilizadas como moléculas protótipo para a síntese de substâncias análogas mais potentes e seletivas, a fim de se obter tratamento para muitas doenças (MAHIDOL *et al.*, 1998).

Segundo Newman (2008), cerca de 60% dos medicamentos que estão agora disponíveis, incluindo nomes como camptotecina, artemisinina, lovastatina, maitansina, paclitaxel e penicilina reserpina foram direta ou indiretamente derivados de produtos naturais. Cerca de 60% dos medicamentos anticancerígenos e 75% dos anti-infecciosos aprovados entre 1981-2002 são advindos de produtos naturais (GUPTA *et al.*, 2005). Entre os anos de 2005 e 2007, foram aprovadas nos Estados Unidos treze drogas derivadas de produtos naturais, sendo cinco delas os primeiros membros de novas classes (LI & VEDERAS, 2009), o que fortalece cada vez mais a capacidade dos produtos naturais na geração de novos medicamentos.

Dentro desse panorama, o Brasil encontra-se em uma situação privilegiada ao considerarmos sua grande riqueza vegetal ainda sem estudo e as oportunidades para identificação de produtos com potencial econômico e interesse social, uma vez que a probabilidade de novas descobertas aumenta com a biodiversidade de espécies (BRAZ-FILHO, 1999; PINTO *et al.*, 2002).

Reconhecendo a importância do gênero *Krameria* diante do uso popular para diversas afecções e com base nos dados apresentados na literatura do potencial farmacológico que os seus constituintes apresentam, observou-se a necessidade de um maior conhecimento químico e farmacológico a respeito de espécies desse gênero, dirigindo estudo para o isolamento e caracterização estrutural de metabólitos secundários da espécie *Krameria tomentosa* A. St.-Hil.

Objetivos

A decorative graphic consisting of two horizontal lines. The top line is a solid green color, and the bottom line is a solid grey color. Both lines extend across the width of the page.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Contribuir para o estudo fitoquímico do gênero *Krameria*, através do isolamento de metabólitos secundários da espécie *Krameria tomentosa* St.-Hil.

2.2. Objetivos específicos

- Extrair, isolar e purificar metabólitos secundários da espécie *Krameria tomentosa*;
- Identificar e/ou elucidar a estrutura de seus constituintes químicos.
- Contribuir com a quimiotaxonomia da espécie vegetal em estudo.
- Disponibilizar extratos brutos, frações e/ou substâncias isoladas para realização de ensaios farmacológicos.

Fundamentação Teórica



3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Considerações sobre o gênero *Krameria*

Desde que foi descrita pela primeira vez por Loeffling em 1758, *Krameria*, popularmente conhecida como ratanha, apresentou um problema para os taxonomistas. Inicialmente foi colocado na família Polygalaceae por Jussieu (1789) e depois transferido para a Leguminosae por Taubert (1892). O consenso atual é que o gênero é o único membro da família Krameriaceae (SIMPSON *et al.*, 2004; CARLQUIST, 2005).

O gênero *Krameria* é composto por 18 espécies herbáceas ou arbustivas (Quadro 1, pág. 30) que estão predominantemente representadas em regiões neotropicais e ecologicamente restritas a regiões áridas ou sazonalmente secas das Américas (Figura 1, pág. 31) (SIMPSON *et al.*, 2004; GIMENES *et al.*, 2006; GIANNINI *et al.*, 2011). O centro primário de diversidade específica está localizado no México onde ocorrem onze espécies, e o secundário no Brasil com cinco espécies (GIANNINI *et al.*, 2009 e 2011).

Quadro 1- Espécies pertencentes ao gênero *Krameria*.

Espécies do Gênero <i>Krameria</i>	
<i>K. argentea</i>	<i>K. lappacea</i>
<i>K. bahiana</i>	<i>K. pauciflora</i>
<i>K. cistoidea</i>	<i>K. paucifolia</i>
<i>K. cytisoides</i>	<i>K. ramosissima</i>
<i>K. erecta</i>	<i>K. revoluta</i>
<i>K. grandiflora</i>	<i>K. secundiflora</i>
<i>K. grayi</i>	<i>K. sonora</i>
<i>K. ixina</i>	<i>K. spartioides</i>
<i>K. lanceolata</i>	<i>K. tomentosa</i>

Existem duas características diferenciadas deste gênero: Uma delas consiste no hábito hemiparasita pouco seletivo com relação ao hospedeiro (plantas herbáceas ou arbustivas) (POZHIDAEV, 2002), e a outra consiste em um sistema reprodutivo que envolve a relação obrigatória com abelhas do gênero *Centris* (Centridini, Apidae) (SIMPSON, 1989). As *Kramerias* apresentam glândulas especializadas na produção de óleo floral atrativo para as abelhas que, ao coletá-lo, polinizam as flores (GIANNINI *et al.*, 2009).

A distribuição das espécies de *Krameria* em relação às diferentes regiões das Américas é caracterizada por algumas particularidades. As espécies da América do Norte ocorrem predominantemente em solos rochosos e estão associadas a áreas secas ou desérticas do México e dos EUA. Já as espécies da América do Sul estão associadas com áreas sazonalmente secas, principalmente no cerrado e caatinga do Brasil, ou com regiões de altas altitudes nos Andes (SIMPSON, 1989; GIANNINI *et al.*, 2009).

Figura 1- Distribuição geográfica do gênero *Krameria* no mundo, representada pelas áreas em verde.

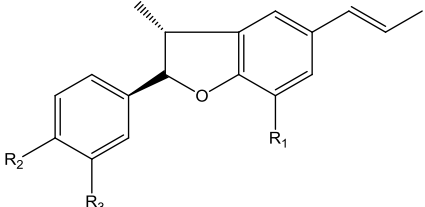


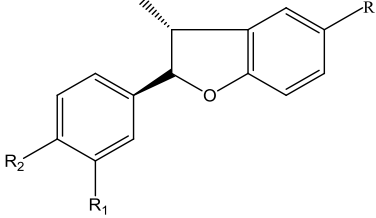
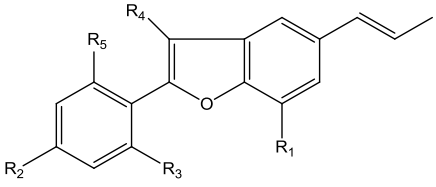
Fonte: Missouri Botanical Garden, 2011.

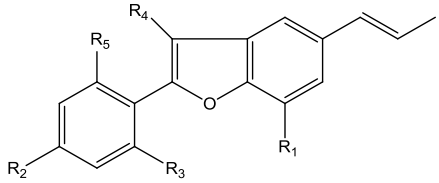
No que diz respeito aos estudos fitoquímicos referentes a esse gênero, destacam-se os trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa do Prof. Hans Achenbach, da Universidade de Erlangen na Alemanha, onde foram estudadas cerca de nove espécies e verificou-se a presença majoritária de lignoides, sendo essa classe de constituintes químicos de grande importância por serem considerados marcadores quimiotaxonômicos da família Krameriaceae.

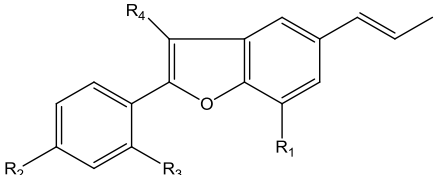
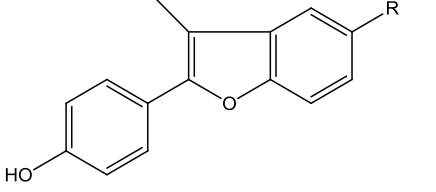
Dessa forma, levando-se em consideração que os lignoides são os principais constituintes químicos do gênero *Krameria*, o Quadro 2 (pág. 32) mostra as estruturas dos lignoides isolados de espécies deste gênero.

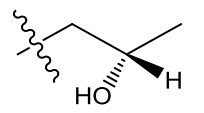
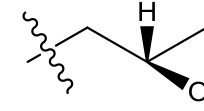
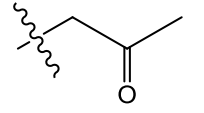
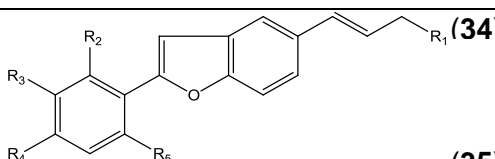
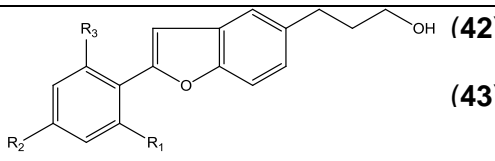
Quadro 2- Lignoides isolados de espécies do gênero *Krameria*.

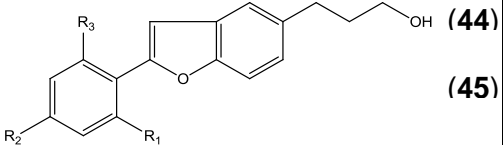
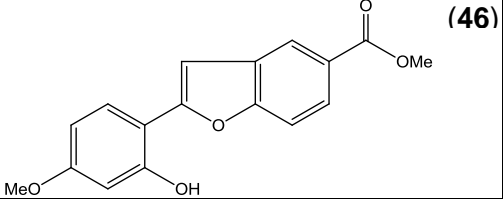
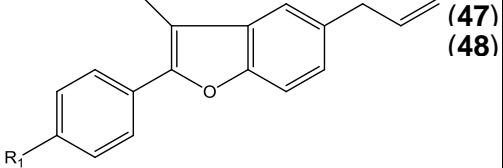
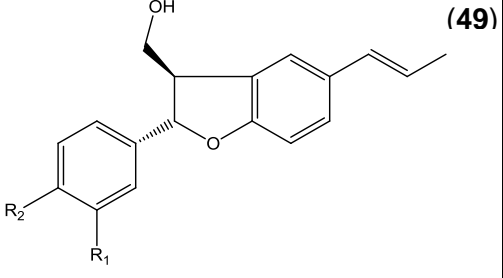
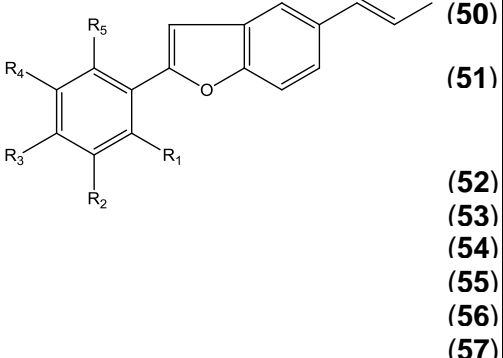
ESTRUTURA	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	PARTE ESTUDADA	ESPÉCIE	REFERÊNCIA	
	(1)	H	OH	OMe			Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. grayi</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. interior</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. triandria</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1992 ARONE <i>et al.</i> ,1990
	(2)	OMe	OH	OMe			Raiz Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. grayi</i> <i>K. sonarae</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1992
	(3)	OMe	OH	H			Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. grayi</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. interior</i> <i>K. sonarae</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1992
	(4)	H	OH	H			Raiz Raiz Raiz Partes aéreas Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. parvifolia</i> <i>K. ixina</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. paucifolia</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. interior</i> <i>K. triandria</i> <i>K. tomentosa</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1987 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1992 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990 ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990 SILVA <i>et al.</i> ,2001
	(5)	H	H	OMe			Partes aéreas	<i>K. sonarae</i>	DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1987
	(6)	H	OMe	H			Raiz Raiz	<i>K. ixina</i> <i>K. grayi</i>	ACHENBACH,1991 ACHENBACH,1995

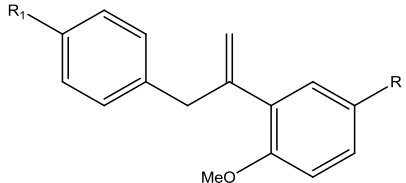
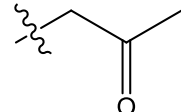
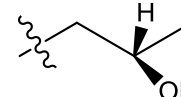
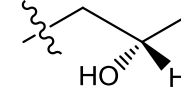
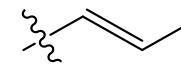
									
	1. R=	(7)	H	OH			Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
		(8)	OMe	OH			Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
	2. R=	(9)	H	OH			Raiz	<i>K. parvifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1996
		(10)	H	OH			Raiz	<i>K. tomentosa</i>	SILVA <i>et al.</i> , 2001
4. R= OH	(11)	H	OH			Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1990	
	(12)	H	OH	H	Me	H	Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Partes aéreas Raiz Raiz	<i>K. ixina</i> <i>K. cystisoides</i> <i>K. paucifolia</i> <i>K. parvifolia</i> <i>K. interior</i> <i>K. grayi</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. triandria</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1991 ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987 ACHENBACH <i>et al.</i> , 1993 DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1996 DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1990 ACHENBACH <i>et al.</i> , 1995 ACHENBACH <i>et al.</i> , 1989 DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1987 DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1992 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	(13)	OMe	OH	H	Me	H	Raiz Partes aéreas Raiz Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. interior</i> <i>K. lanceolata</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987 DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1987 DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1992 DOMINGUEZ <i>et al.</i> , 1990 ACHENBACH <i>et al.</i> , 1989

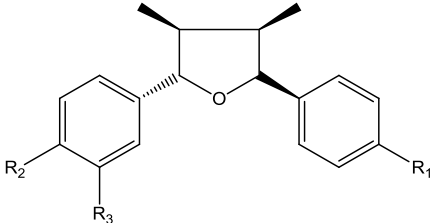
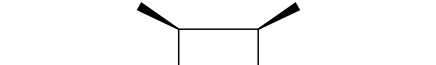
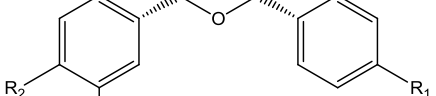
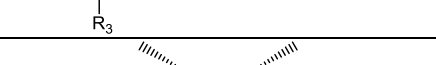
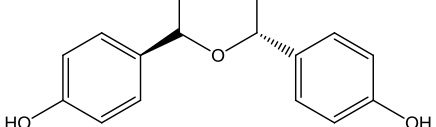
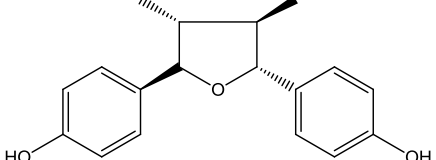
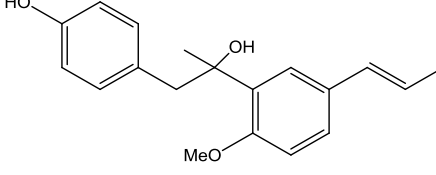
		(14)	OMe	OH	H	COH	H	Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. lanceolata</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989
	(15)	H	OH	H	H	H	Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. ixina</i> <i>K. cystisoides</i> <i>K. grayi</i> <i>K. interior</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. triandria</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1990 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1992 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011	
	(16)	H	OMe	OH	H	H	Raiz Raiz Raiz Partes aéreas Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. ixina</i> <i>K. paucifolia</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. interior</i> <i>K. parvifolia</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. triandria</i> <i>K. grayi</i> <i>K. tomentosa</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1987 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1992 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 SILVA <i>et al.</i> , 2001	
	(17)	OMe	OMe	OH	H	H	Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987	
	(18)	OMe	OH	H	H	H	Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987	
	(19)	OMe	OH	H	H	H	Raiz Raiz	<i>K. lanceolata</i> <i>K. interior</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990	
	(20)	H	OH	OH	H	H	Raiz Raiz Partes aéreas Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. ixina</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. paucifolia</i> <i>K. parvifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996	

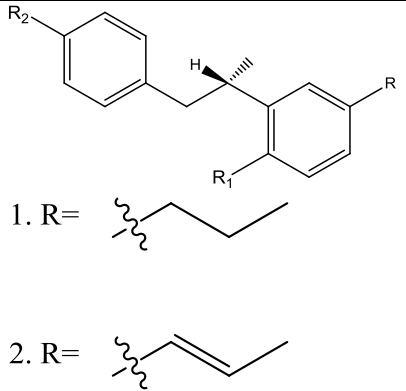
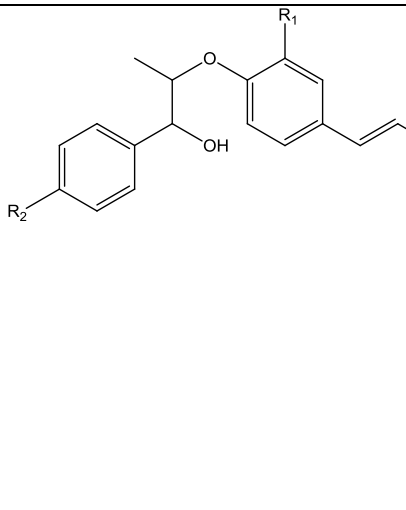
	(21)	H	OH	OH	H		Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. interior</i> <i>K. grayi</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. triandria</i>	DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	(22)	OMe	OH	OH	H		Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987
	(23)	H	OH	OMe	H		Partes aéreas	<i>K. sonarae</i>	DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1987
	(24)	H	OMe	H	H		Raiz Raiz	<i>K. grayi</i> <i>K. parvifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996
	(25)	H	OMe	H	H		Raiz Raiz	<i>K. ixina</i> <i>K. grayi</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995
	(26)	H	OMe	OMe	H		Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. ixina</i> <i>K. grayi</i> <i>K. parvifolia</i> <i>K. paucifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993
	(27)	H	OH	OMe	H		Raiz Raiz	<i>K. parvifolia</i> <i>K. triandria</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	1. R=								
	2. R=								
	(28)						Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987
	(29)						Raiz Raiz	<i>K. grayi</i> <i>K. paucifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993

3. R= 	(30)									Raiz	<i>K. paucifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993
4. R= 	(31)									Raiz	<i>K. lanceolata</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989
5. R= 	(32)									Raiz	<i>K. lanceolata</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989
6. R= COH	(33)									Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990
	(34)	OH	H	H	OMe	OH	Raiz	<i>K. grayi</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995	Raiz	<i>K. paucifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993
	(35)	OH	H	H	OH	OMe	Raiz	<i>K. grayi</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995	Raiz	<i>K. paucifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993
	(36)	H	OMe	H	OH	H	Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990			
	(37)	H	OH	H	OH	H	Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990			
	(38)	H	OH	H	OMe	H	Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990			
	(39)	Ac	OMe	H	OH	H	Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990			
	(40)	H	OMe	OH	OH	H	Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990			
(41)	H	OMe	OMe	OH	H	Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990				
	(42)	OMe	OH	OH			Raiz	<i>K. parvifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996			
	(43)	OMe	OH	H			Raiz	<i>K. parvifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996	Raiz	<i>K. paucifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993
							Raiz	<i>K. interior</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1990			

	(44)	OMe	OH	H			Raiz	<i>K. triandria</i>	BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	(45)	OMe	H	OH			Raiz Raiz	<i>K. parvifolia</i> <i>K. triandria</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1996 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	(46)						Raiz	<i>K. tomentosa</i>	SILVA <i>et al.</i> , 2001
	(47)	OH					Raiz	<i>K. ixina</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1991
	(48)	OMe						<i>K. ixina</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1991
	(49)	OH	H				Raiz	<i>K. triandria</i>	BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	(50)	OH	H	OMe	H	H	Raiz	<i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
	(51)	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe	Raiz Raiz	<i>K. grayi</i> <i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1995 ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
	(52)	OMe	OMe	OMe	H	OMe	Raiz	<i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
	(53)	OMe	H	OMe	H	OMe	Raiz	<i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
	(54)	OH	H	OMe	H	OMe	Raiz	<i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
	(55)	OH	H	OMe	H	OH	Raiz	<i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
	(56)	OMe	H	OMe	H	H	Raiz	<i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987
(57)	OH	H	H	H	OH	Raiz	<i>K. ramosissima</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987	

									
1. R=		(58)	OH				Raiz	<i>K. lanceolata</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989
2. R=		(59)	OH				Raiz	<i>K. lanceolata</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989
3. R=		(60)	OH				Raiz	<i>K. paucifolia</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993
4. R=		(61)	OMe				Raiz	<i>K. ixina</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991
		(62)	OH				Partes aéreas Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. sonarae</i> <i>K. sonarae</i> <i>K. ramosíssima</i> <i>K. grayi</i> <i>K. lanceolata</i> <i>K. ixina</i> <i>K. paucifolia</i> <i>K. interior</i>	DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1987 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1987 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1993 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990

	(63)	OH	OH	H			Raiz Raiz Raiz Raiz Raiz	<i>K. cystisoides</i> <i>K. parvifolia</i> <i>K. interior</i> <i>K. ixina</i> <i>K. triandria</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996 DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	(64)	OH	OH	OMe			Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989
	(65)	OH	OH	H			Raiz Raiz Raiz	<i>K. interior</i> <i>K. parvifolia</i> <i>K. triandria</i>	DOMINGUEZ <i>et al.</i> ,1990 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1996 BAUMGARTNER <i>et al.</i> , 2011
	(66)	OH	OH	OMe			Raiz	<i>K. cystisoides</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989
	(67)						Raiz Raiz	<i>K. ixina</i> <i>K. triandria</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1991 ARONE <i>et al.</i> , 1988, 1990
	(68)						Raiz	<i>K. triandria</i>	ARONE <i>et al.</i> , 1990
	(69)						Raiz Raiz	<i>K. lanceolata</i> <i>K. grayi</i>	ACHENBACH <i>et al.</i> ,1989 ACHENBACH <i>et al.</i> ,1995

 <p>1. R=</p> <p>2. R=</p>	<p>(70)</p> <p>(71)</p> <p>(72)</p>	<p>OMe</p> <p>OH</p> <p>OMe</p>	<p>OMe</p> <p>H</p> <p>OH</p>			<p>Raiz</p> <p>Raiz</p> <p>Partes aéreas</p>	<p><i>K. ixina</i></p> <p><i>K. ixina</i></p> <p><i>K. sonarae</i></p>	<p>ACHENBACH <i>et al.</i>,1991</p> <p>ACHENBACH <i>et al.</i>,1991</p> <p>DOMINGUEZ <i>et al.</i>,1987</p>
	<p>(74)</p> <p>(75)</p>	<p>H</p> <p>OMe</p>	<p>OH</p> <p>OH</p>			<p>Raiz</p> <p>Raiz</p> <p>Raiz</p> <p>Raiz</p> <p>Raiz</p> <p>Raiz</p>	<p><i>K. cystisoides</i></p> <p><i>K. interior</i></p> <p><i>K. lanceolata</i></p> <p><i>K. parvifolia</i></p> <p><i>K. triandria</i></p> <p><i>K. cystisoides</i></p>	<p>ACHENBACH <i>et al.</i>,1987</p> <p>DOMINGUEZ <i>et al.</i>,1990</p> <p>ACHENBACH <i>et al.</i>,1989</p> <p>ACHENBACH <i>et al.</i>,1996</p> <p>ARONE <i>et al.</i>, 1988, 1990</p> <p>ACHENBACH <i>et al.</i>,1987</p>

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

Krameria tomentosa A. St.-Hil. ou *Krameria ovata* O. Berg, (Figura 2, pág. 41) (Quadro 3, pág. 41) é conhecida popularmente como “ratanha de Nova Granada”, “carrapicho de cavalo” ou “ratanha de salvanille”. Semelhante a outras espécies de *Krameria*, a raiz de *K. tomentosa* tem largo emprego na medicina popular no combate a disenterias, estomatites, diarreia, corrimentos vaginais, hemorragias, hemorroidas e afecções da boca (BRAGA, 1960; CORREA,1981; SIMPSON, 1989, 1991).

Figura 2- *Krameria tomentosa*. A. St.-Hil.



A) Planta completa. B) Detalhe da flor e do fruto. Foto: Josean Fechine Tavares (Santa Rita-PB, 2011).

Quadro 3- Classificação taxonômica de *Krameria tomentosa* segundo Simpson (1989).

CLASSIFICAÇÃO TAXÔNOMICA
Reino: Plantae
Divisão: Magnoliophyta
Classe: Magnoliopsida
Ordem: Polygalales
Família: Krameriaceae
Gênero: <i>Krameria</i>
Espécie: <i>tomentosa</i>

Esta espécie apresenta-se como um arbusto de caule liso, estriado, glabro na parte inferior e pubescente na superior; folhas longa pecioladas (pecíolos com 3-6 espinhos na base), elípticas, epinescentes no ápice, pubescentes; flores curto-pediceladas, grandes, de quatro sépalas e cinco pétalas, as duas superiores

elípticas e as três inferiores espátulo-rombóides, dentadas no ápice, dispostas em racimos bracteados; brácteas e bracteolas tomentosas; ovário viloso; fruto de vagem globosa, unisperma, com numerosos espinhos e sedas rígidas (SIMPSON, 1989) (Figura 3, pág. 42).

Figura 3- Prancha ilustrativa mostrando *Krameria tomentosa* e seus detalhes anatômicos (SIMPSON, 1989).



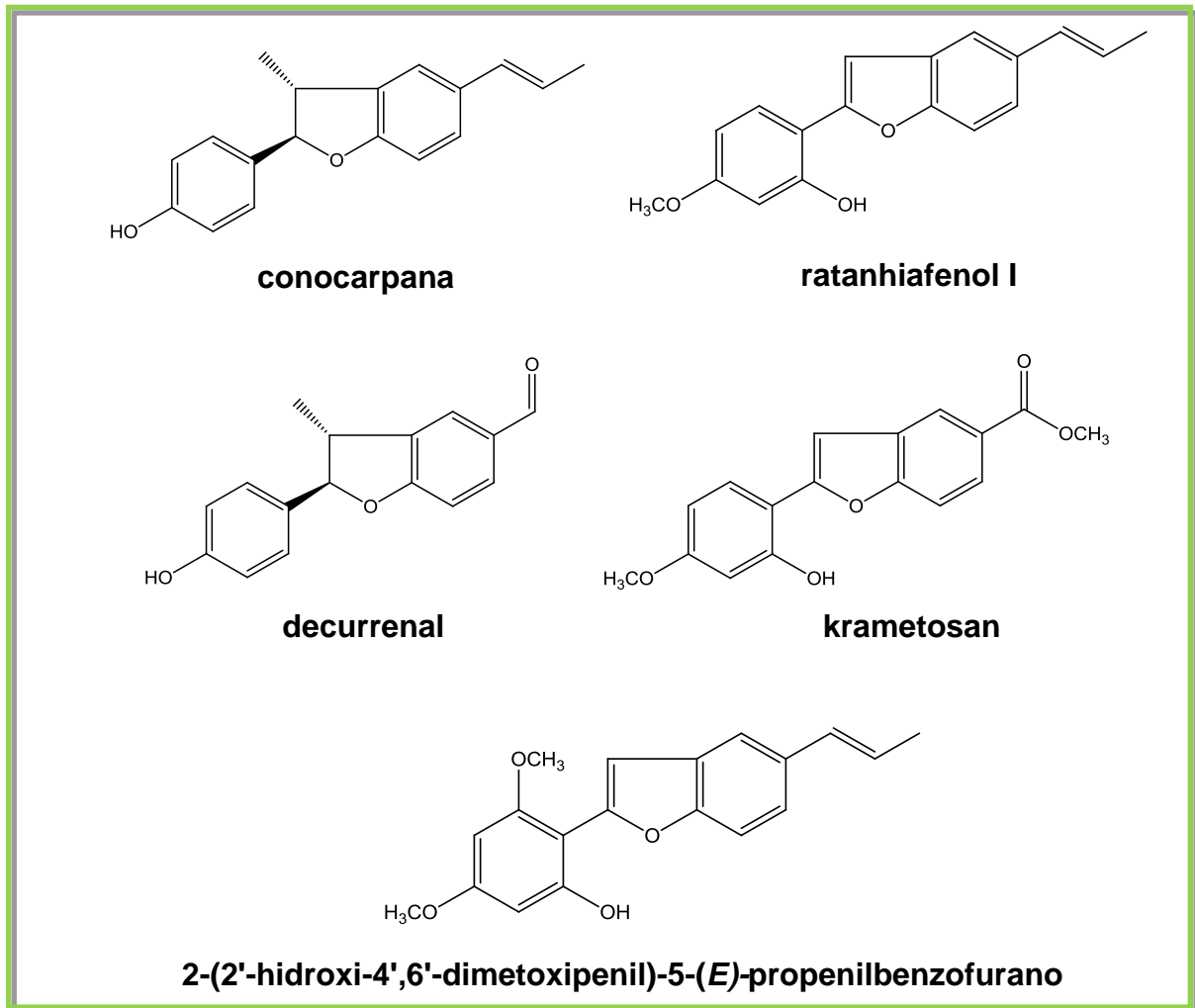
A) Hábito B) Ramo floral C) Detalhe do ramo floral D) Flor E) Glândulas florais F) Fruto G) Espinho do fruto.

Krameria tomentosa é encontrada em quase todas as regiões do Brasil. Na região Nordeste não é encontrada apenas dos estados de Sergipe e Alagoas.

Poucos estudos foram realizados com esta espécie. Do ponto do vista fitoquímico, apresenta apenas um estudo que foi realizado por Silva (2001) no qual

foram isoladas uma trinorneolignana inédita e outras quatro neolignanas comuns a outras espécies (Figura 4, pág. 43).

Figura 4- Estrutura química das neolignanas isoladas de *Krameria tomentosa* em estudo anterior (SILVA *et. al*, 2001).



3.3. Considerações sobre lignoides

Os lignoides são metabólitos secundários cujo esqueleto é formado por unidades fenilpropânicas $(C_6-C_3)_n$, sendo n restrito a poucas unidades. Esta classe encontra-se amplamente distribuída em plantas superiores, apresentando importância não só para as plantas que as produzem como também para o homem que as extrai ou sintetiza, fato que já levou a importantes aplicações terapêuticas (GOTTLIEB & YOSHIDA, 1984; RAHMAN *et al.*, 2007).

Os fenilpropanoides (C_6C_3), precursores primários dos lignoides, são oriundos da via do ácido chiquimíco, passando pela fenilalanina, que então sofre desaminação pela enzima Fenilalanina Amônia Liase (PAL) sendo convertida ao ácido cinâmico. Em seguida, ocorre uma série de reações que levam a produção dos monômeros intimamente envolvidos no acoplamento oxidativo do processo biossintético dos lignoides: os ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, 5-hidroxiferúlico e sinapínico, bem como seus respectivos alcoóis; os propenilfenóis e os alilfenóis (Figura 5, pág. 45). Dimerizações entre alcoóis e ácidos formados (fenilpropanoides oxigenados em C-9) produzem lignanas através de acoplamento oxidativo por enzimas específicas. Por outro lado, as dimerizações de propenil e alilfenóis (fenilpropanoides que não oxigenados em C-9) entre si ou cruzados resultariam nas neolignanas (GOTTLIEB, 1978). Em ambos os casos os acoplamentos são iniciados com a formação do radical livre fenóxido que pode formar estruturas de ressonância (Figura 5, pág. 45). Dessa forma, combinações desses vários radicais resultam em uma grande variedade de lignanas e neolignanas (BARBOSA-FILHO, 2004). Quando algumas dessas substâncias apresentam um átomo de carbono a menos recebe o prefixo NOR (GOTTLIEB, 1978; MOSS, 2000).

A classe das neolignanas é relativamente pequena quando comparada às lignanas, fato que torna a sua pesquisa ainda mais importante considerando a grande diversificação estrutural que a classe apresenta e a grande possibilidade para descoberta de novas entidades. Mais de quinze subclasses podem ser descritas para as neolignanas e os tipos estruturais mais representativos são: benzofurano (1); tetrahidrofurano (2); oxineolignana (3); bifenilico (4); dibenzilbutano (5); tetralínico (6); bicicloctano (7), diarilciclobutano (8), benzodioxano (9) e futoenona (10) (GOTTLIEB & YOSHIDA, 1984; BARBOSA-FILHO, 2004; SCHOMBURG *et al.*, 2005) (Figura 6, pág. 46).

Figura 5- Rota biossintética dos fenilpropanoídeos (DAVIN *et al.*, 2008; DIXON *et al.*, 2001; DEWICK, 2002; BARBOSA-FILHO, 2004).

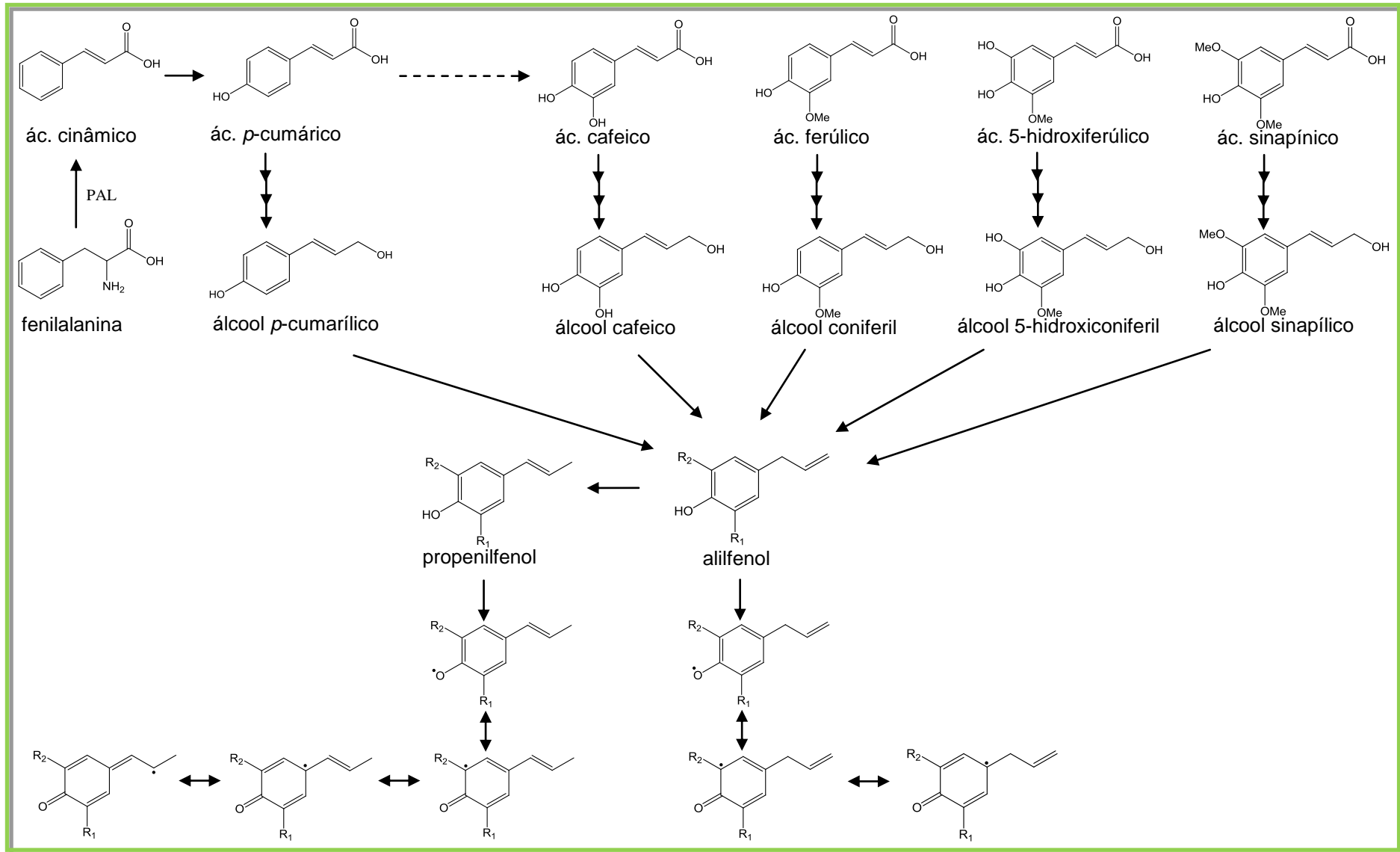
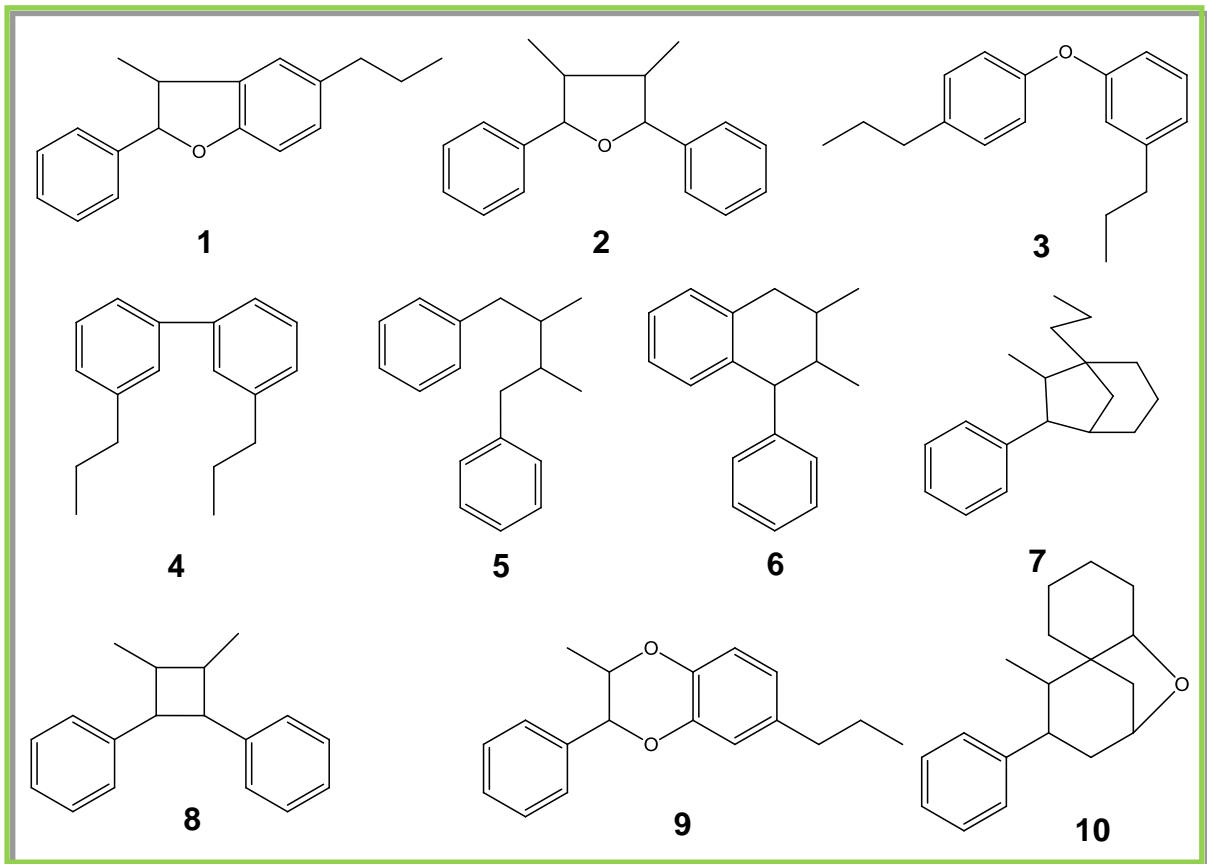


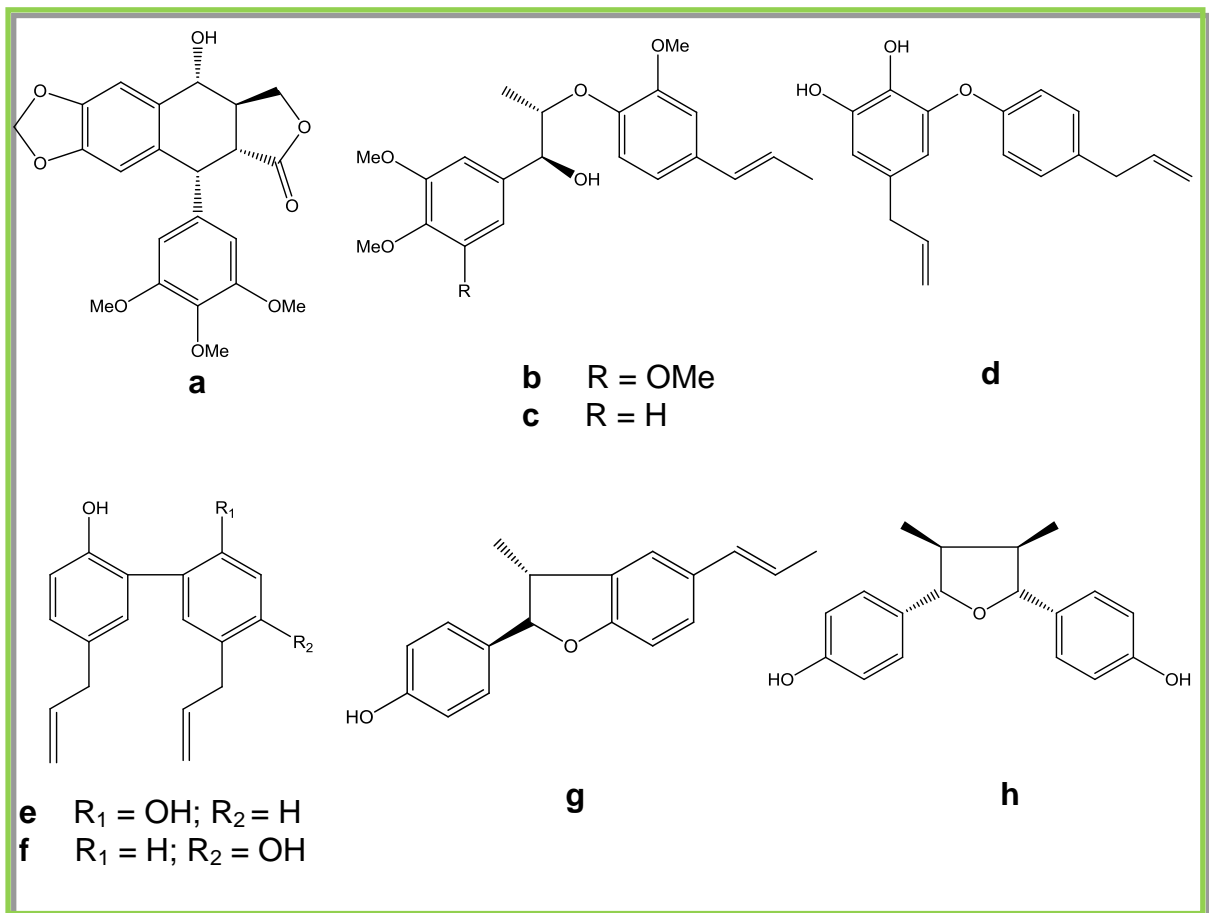
Figura 6- Alguns exemplos de esqueletos de neolignan.

O elevado número de lignanas e neolignanas distribuídas no reino vegetal direciona ao indício de que as propriedades biológicas dessas substâncias sejam importantes ao desenvolvimento do próprio vegetal e ao controle deste sobre a vida circunjacente. Por esse motivo, não é de admirar que também essas substâncias possam ser aproveitadas diretamente pelo homem ou servindo de modelo para a síntese de fármacos.

Muitos lignoides encontrados em plantas exibem importantes funções fisiológicas para o homem (RAHMAN *et al.*, 2007). Já foram documentadas diversas atividades biológicas para esse tipo de metabólito secundário, como por exemplo, a atividade antitumoral da podofilotoxina (**a**) isolada de *Podophyllum peltatum* L. e usada como prototipo para o desenvolvimento de dois agentes clinicamente ativos usados no tratamento de câncer, etoposido e teniposido (CRAGG & NEWMAN, 2005). Da espécie *Virola surinamensis* foram isoladas as neolignanas surinamensina (**b**) e virolina (**c**) que estão sendo usadas como base para a síntese de novos agentes antileishmania (BARATA, *et al.* 2000; APERS *et al.*, 2003). Tem sido reportada uma grande variedade de atividades farmacológicas para os compostos

obovato (**d**), magnolol (**e**) e ohonoquiol (**f**) isolados de *Magnolia obovata* tais como antitumoral (LEE *et. al.*, 2008; HUANG *et. al.*, 2007), antidepressiva (XU *et. al.*, 2008), antiepilético (CHEN *et. al.*, 2011) e anti-inflamatória (LIN, 2007). Recentemente as neolignanas do tipo benzofurânica (**g**) e tetrahydrofurânica (**h**) isoladas de *Krameria tiandria* mostraram interessante atividade anti-inflamatória (BAUMGARTNER *et. al.*, 2011) (Figura 7, pág. 47).

Figura 7- Alguns lignoides com atividade biológica comprovada.



Experimental

A decorative graphic consisting of two horizontal lines. The top line is a solid, vibrant green color. The bottom line is a solid, dark grey color. Both lines are of uniform thickness and extend across the width of the page.

4. EXPERIMENTAL

4.1. Material Botânico

O material botânico utilizado (raízes) foi coletado no município de Santa Rita - PB, em junho de 2010. Sua identificação botânica foi realizada pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Agra do setor de botânica da UFPB e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Professor Lauro Pires Xavier do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da UFPB sob código 3271.

4.2. Métodos Cromatográficos

Os métodos cromatográficos utilizados para o isolamento dos constituintes químicos foram Cromatografia em Coluna (CC) e Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP), utilizando como fase fixa sílica gel ART 7734 da MERCK de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm e 0,04-0,063 mm. O comprimento e as dimensões das colunas de vidro variaram de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada.

O monitoramento das frações obtidas das CC e das CLMP foi realizado por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA). Para isso, foram utilizadas placas de vidro (10,0 x 20,0 cm e 20,0 x 20,0 cm) preparadas com uma suspensão de sílica gel PF254 (ART 7749 da MERCK) em água destilada (1:2 m/v) distribuída sobre a placa de vidro com ajuda de um espalhador mecânico tipo *quick fit*.

Os solventes orgânicos (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) utilizados para eluição foram solventes P.A. bem como solventes comerciais destilados na Central de Destilação, localizada nas dependências do PgPNSB.

A visualização das substâncias aplicadas nas cromatoplasmas foi feita por exposição da mesma à lâmpada de irradiação ultravioleta, aparelho BOITTON (modelo BOIT-LUB01) e pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo.

4.3. Métodos Espectroscópicos

4.3.1. Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os dados espectrais na região do infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}) foram obtidos em aparelho de BOMEN FT-IR (modelo MB 100) do Centro de Biotecnologia-UFPB, utilizando-se de 1 a 3 mg de amostra em pastilhas de brometo de potássio (KBr), com número de onda medido em cm^{-1} .

4.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN, uni e bidimensionais, foram registrados em espectrômetro SYSTEM operando a 500 MHz (RMN ^1H) e 125 MHz (RMN ^{13}C) do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da UFPB. Os solventes empregados para a dissolução das amostras foram clorofórmio deuterado (CDCl_3) e acetona deuterada (CD_3COCD_3), cujos picos característicos em RMN ^1H e ^{13}C serviram como padrão interno durante a obtenção dos espectros. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (simpleto), *sl* (simpleto largo), *d* (duplete), *dl* (duplete largo), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *qd* (quarteto de dupletos) e *m* (multiplete).

Os espectros de RMN de ^{13}C obtidos pela técnica APT tiveram como base a seguinte convenção: os sinais de carbonos não hidrogenados (C) e metilênicos (CH_2) acima da linha base e sinais de carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH_3) abaixo da linha base.

4.3.3. Espectrometria de Massas (EM)

Para obtenção dos espectros de massas das substâncias foram utilizados espectrômetros de massas de alta e de baixa resolução da marca Bruker, modelo Microtof II e Ion Trap-Amazonx, respectivamente, pela técnica de Ionização por Eletrospray, modo positivo (ESI+) ou negativo (ESI-), localizado no Laboratório

Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da UFPB. As amostras foram diluídas em uma solução de ácido fórmico a 0,1%:acetonitrila (1:1).

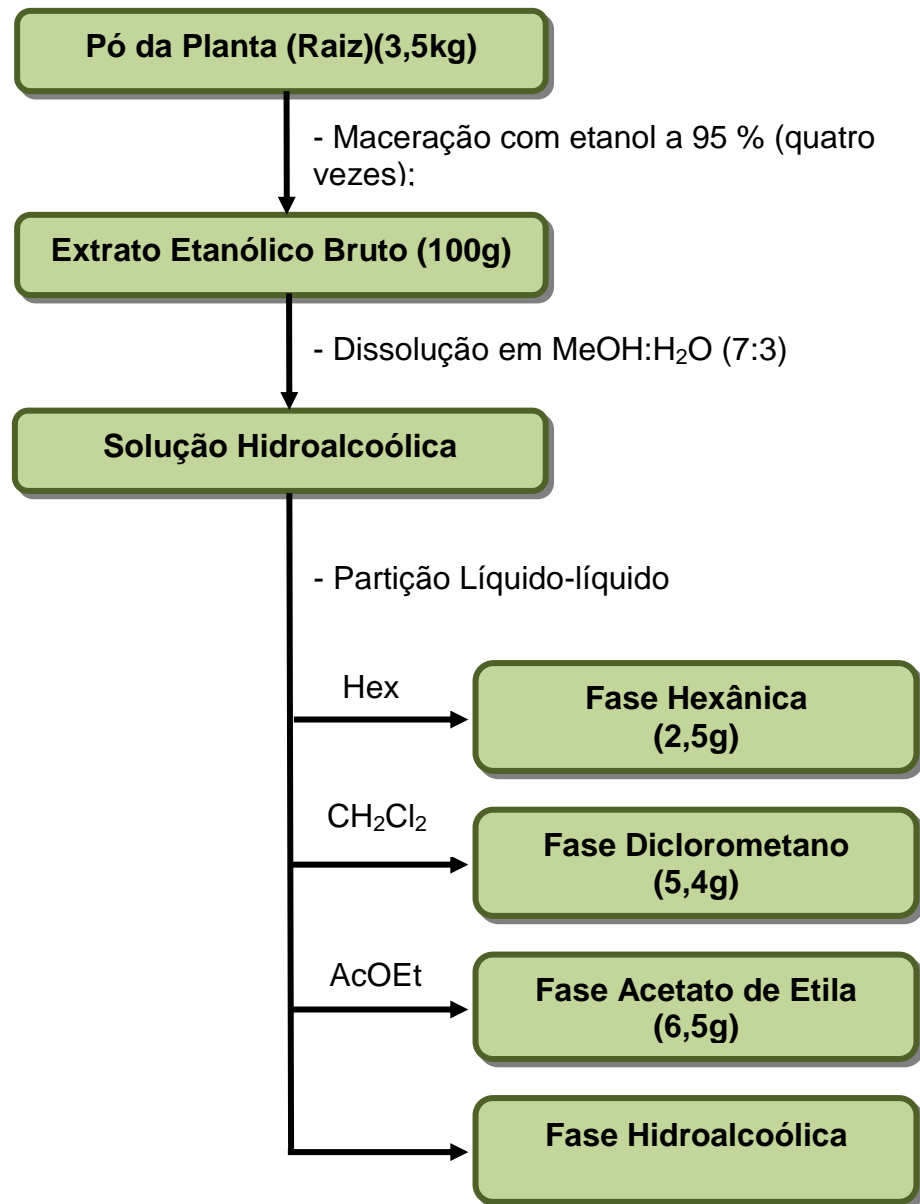
4.4. Ponto de Fusão

Os pontos de fusão das substâncias foram determinados em aparelho digital para ponto de fusão, modelo MQAPF-302 da Microquímica, com bloco de platina em microscópio óptico tipo “Kofler”, marca REICHERT, modelo R3279, com variação de temperatura de 0-350 °C e não foram corrigidos.

4.5. Obtenção do extrato etanólico bruto e seu particionamento

O material botânico foi seco em estufa com ar circulante a temperatura média de 45 °C durante 72 horas. Quando seco, o material foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 3,5 Kg de pó. Em seguida, o pó da planta foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95 %, em recipiente de aço inoxidável, por 72 horas, sendo este processo repetido por quatro vezes. A solução extrativa obtida foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C sendo obtido 685,0 g de extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 1, pág. 52).

Parte deste extrato (100,0 g) foi dissolvido em uma solução MeOH:H₂O (70:30) obtendo-se uma solução hidroalcoólica, que por sua vez foi submetida a um processo de partição líquido-líquido com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila. As soluções resultantes desse processo foram concentradas em evaporador rotativo, obtendo-se 2,5 g da fase hexânica, 5,4 g da fase diclorometano e 6,5 g da fase acetato de etila (Esquema 1, pág. 52).

Esquema 1- Obtenção e partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto de *K. tomentosa*.

4.6. Isolamento e purificação dos constituintes químicos

4.6.1. Processamento cromatográfico da fase hexânica

A fase hexânica (2,5 g) foi submetida à CC utilizando sílica gel como fase estacionária e como eluentes hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Desta coluna (Coluna 1) foram coletadas 122 frações de 100 mL cada, que foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos, o que resultou em 24 grupos (Quadro 4, pág.54). A fração 14 apresentou um precipitado na forma de cristais incolores que foi analisado por CCDA e mostrou-se como uma única mancha quando revelada com vapores de iodo, sendo então codificada como **Kt-1** (16,6 mg).

A fração 1-2 (168,3 mg) foi submetida a CC utilizando as mesmas condições anteriormente descritas para a Coluna 1, fornecendo 25 subfrações de 10 mL cada (Coluna 1.1). Após análise em CCDA, as subfrações foram reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos em 7 grupos (Quadro 5. pág 54). Na subfração 10-15 foi observada a presença de um óleo incolor que ao ser analisado por CCDA mostrou-se como uma única mancha quando revelado com vapores de iodo, sendo codificada de **Kt-5** (35,4 mg).

A fração 27-35 (99,3 mg) foi recromatografada (Coluna 1.2) utilizando metodologia semelhante as colunas relatadas anteriormente. Foram coletadas 89 subfrações de 10 mL cada, que foram analisadas por CCDA e reunidas em 13 grupos de acordo com seus perfis cromatográficos (Quadro 6, pág. 54). A subfração 33-37 apresentou-se com um óleo laranja e após análise por CCDA foi codificada como **Kt-3** (26,2 mg).

Quadro 4- Processamento cromatográfico da Fase Hexânica do EEB de *K. tomentosa* – Coluna 1.

Sistema de eluição	Frações coletadas	Frações reunidas
Hexano	1-4	1-2 ; 3-4
Hex:AcOEt (97:3)	5-8	5; 6-7; 8-12
Hex:AcOEt (95:5)	9-24	13; 14 ; 15; 16-22; 23-26
Hex:AcOEt (93:7)	25-32	27-35
Hex:AcOEt (90:10)	33-50	36-38; 39-50
Hex:AcOEt (80:20)	51-63	51-52; 55-59; 60-64
Hex:AcOEt (70:30)	64-70	65-69; 70-72
Hex:AcOEt (60:40)	71-80	73-74; 75-80
Hex:AcOEt (50:50)	81-88	81-83; 84-89
Hex:AcOEt (40:60)	89-96	90-107
Hex:AcOEt (30:70)	97-101	
Hex:AcOEt (20:80)	102-104	
Hex:AcOEt (10:90)	105-109	108-122
AcOEt	110-112	
AcOEt:MeOH (95:5)	113-114	
AcOEt:MeOH (90:10)	115-118	
AcOEt:MeOH (80:20)	119-122	

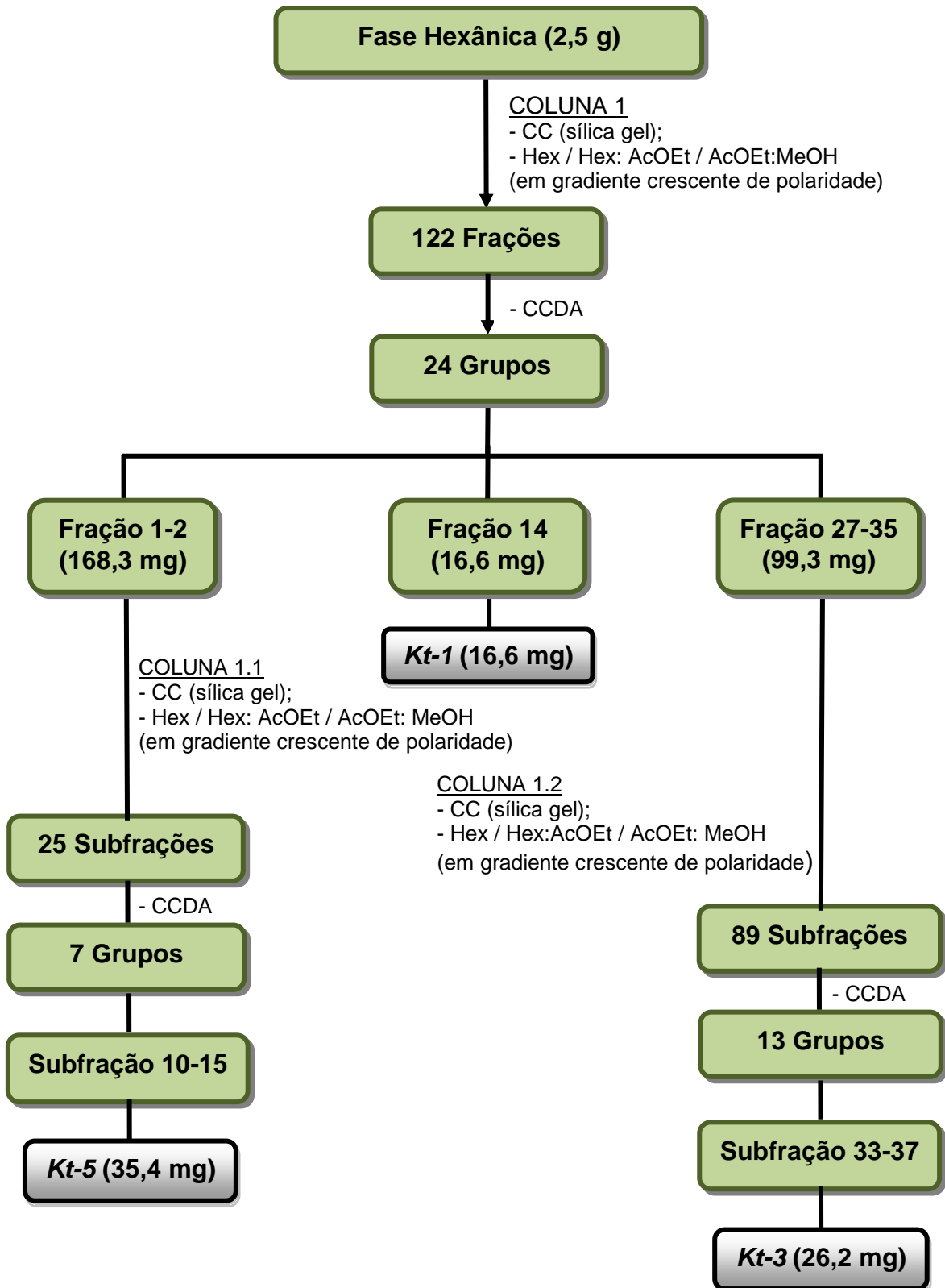
Quadro 5- Processamento cromatográfico da fração 1-2 da Coluna 1– Coluna 1.1.

Sistema de eluição	Frações coletadas	Frações reunidas
Hexano	1-14	1-3; 4-6; 7; 8-9; 10-15
Hex:AcOEt (97:3)	15-18	16-20
Hex:AcOEt (95:5)	19-21	
Hex:AcOEt (90:10)	22-23	21-25
Hex:AcOEt (90:30)	24-25	

Quadro 6- Processamento cromatográfico da fração 27-35 da Coluna 1– Coluna 1.2.

Sistema de eluição	Frações coletadas	Frações reunidas
Hexano	1	1-7; 8-11; 12-15
Hex:AcOEt (99:1)	2-13	
Hex:AcOEt (98:2)	14-31	16-17; 18-23; 24-29; 30-32
Hex:AcOEt (97:3)	32-41	33-37 ; 38-40; 41-51
Hex:AcOEt (96:4)	42-49	
Hex:AcOEt (95:5)	50-56	52-57
Hex:AcOEt (94:6)	57-60	58-62
Hex:AcOEt (93:7)	61-65	63-89
Hex:AcOEt (92:8)	66-69	
Hex:AcOEt (91:9)	70-77	
Hex:AcOEt (90:10)	78-82	
Hex:AcOEt (85:15)	83-86	
Hex:AcOEt (80:20)	88-89	

Esquema 2- Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto de *K. tomentosa*.



4.6.2. Processamento cromatográfico da fase diclorometano

A fase diclorometano (5,0 g) foi submetida à Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP), utilizando o aparelho de sistema binário de separação flash da Büchi, equipado com dois módulos de bombas (C-601 e C-605), módulo controlador (C- 615), coluna empacotada com sílica gel 60 (ART 7734 MERCK - 0,063 – 0,200) e utilizando o fluxo de 30 mL/min. Para esta coluna (Coluna 2) foram programados 5 segmentos obedecendo as variações de polaridade e tempo expostos no Quadro 7 (pág. 56). Foram coletadas 130 frações de 100mL cada, que foram concentradas em evaporador rotativo e reunidas por CCDA, de acordo com seus perfis cromatográficos, em 24 grupos (Quadro 8, pág. 56). A fração 42-45 apresentou-se na forma de cristais incolores, e quando analisada por CCDA mostrou-se como uma única mancha quando revelada com vapores de iodo, sendo então codificada como **Kt-2** (22,7 mg).

Quadro 7- Dados do método utilizado para o processamento cromatográfico da Fase Diclorometano do EEB de *K. tomentosa* – Coluna 2.

SEGMENTOS	VARIAÇÃO DE POLARIDADE	TEMPO
1	Hexano → Hex:AcOEt (90:10)	15min
2	Hex:AcOEt (90:10) → Hex:AcOEt (90:10)	15min
3	Hex:AcOEt (90:10) → AcOEt	5h15min
4	AcOEt → AcOEt	15min
5	AcOEt → AcOEt:MeOH (50:50)	1h30min

Quadro 8- Dados da reunião das frações obtidas da Coluna 2 após monitoramento em CCDA.

REUNIÕES DAS FRAÇÕES				
1-2	9-11	25-27	46-49	82-87
3-4	12-14	28-37	59-55	92-100
5	15-19	38-41	56-66	102-109
5-8	20-24	42-45	67-81	120-128

A fração 67-81 (675,3 mg) mostrou-se promissora e foi então submetida a CLMP, utilizando uma coluna empacotada com sílica gel 60 (ART 7734 MERCK - 0,04 – 0,063 mm) e fluxo de 30 mL/min (Coluna 2.1). Foram programados 4 segmentos com variação e tempo descritos no Quadro 9 (pág. 57). Desta coluna foram coletadas 53 subfrações de 100 mL cada, que foram analisadas por CCDA e reunidas em 10 grupos (Quadro 10, pág. 57). A subfrações 5-6 (pó branco)

apresentou-se como uma única mancha após análise em CCDA sendo então codificada como **Kt-4** (8,5 mg).

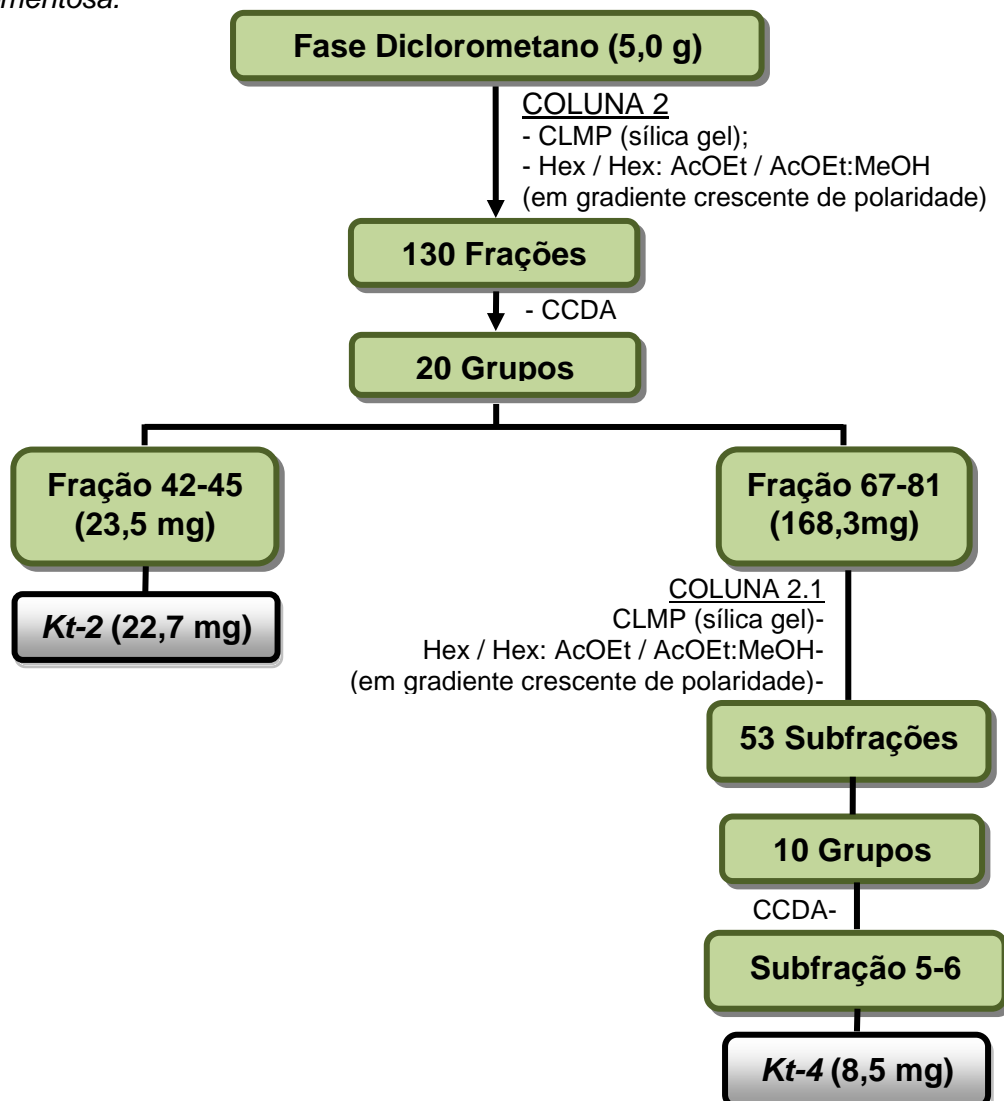
Quadro 9- Dados do método utilizado para o processamento cromatográfico da Fração 67-81 da Coluna 2 – Coluna 2.1.

SEGMENTOS	VARIAÇÃO DE POLARIDADE	TEMPO
1	Hexano → Hex:AcOEt (70:30)	5min
2	Hex:AcOEt (70:30) → Hex:AcOEt (70:30)	20min
3	Hex:AcOEt (70:30) → AcOEt	3h20min
4	AcOEt → AcOEt:MeOH (70:30)	1h

Quadro 10- Dados da reunião das frações obtidas da Coluna 2.1 após monitoramento em CCDA.

REUNIÕES DAS FRAÇÕES				
1-4	7-9	15-17	22-31	40-47
5-6	10-14	18-21	32-39	48-53

Esquema 3- Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do extrato etanólico bruto de *K. tomentosa*.

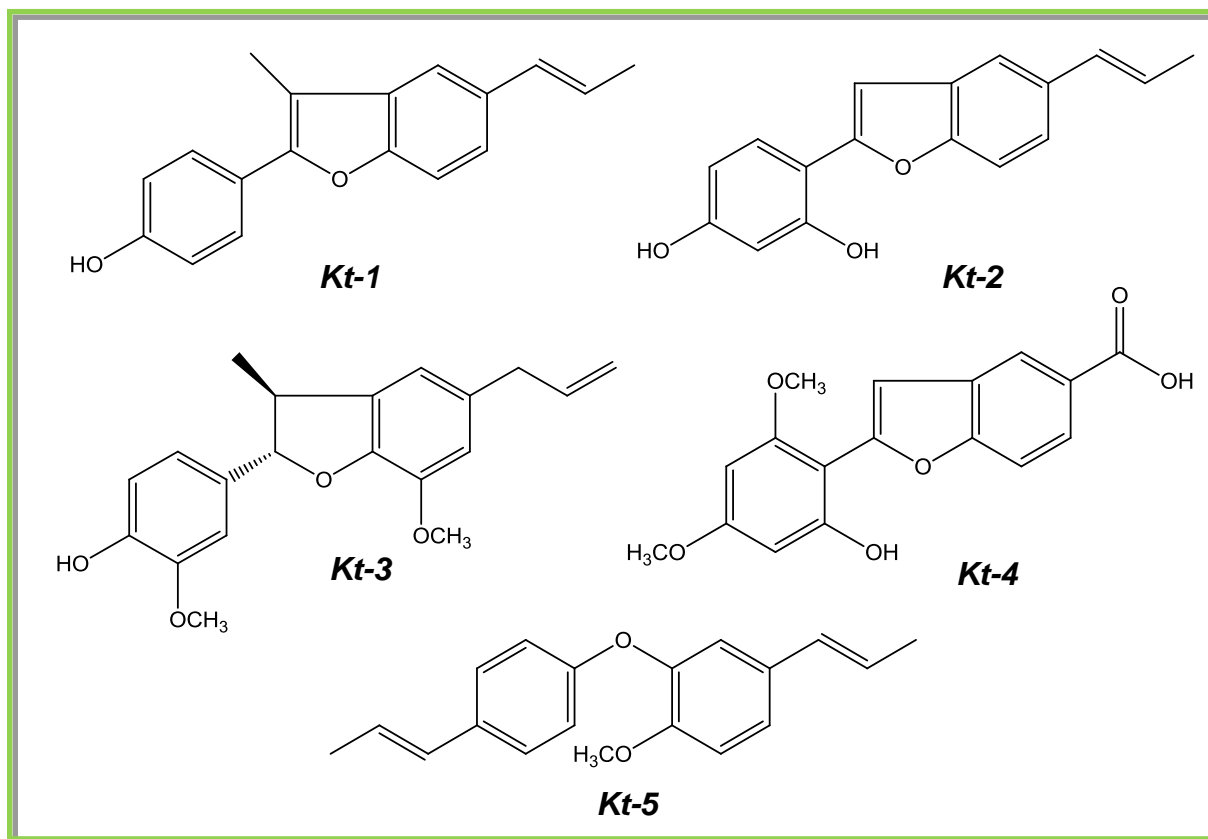


Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico do extrato etanólico bruto das raízes de *Krameria tomentosa* resultou no isolamento de cinco substâncias, três da fase hexânica: eupomatenoide 6 (**Kt-1**), 1,1'-(*E*)-propenil-4-metoxi-3,4'-oxineolignana (**Kt-5**) e diidrocarinatidina (**Kt-3**); e duas da fase diclorometano: 5-ácido-2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-benzofurânico (**Kt-4**) e 2-(2',4'-dihidroxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano (**Kt-2**) (Figura 8, pág. 59). Para caracterização dessas substâncias foram utilizadas as técnicas espectroscópicas de IV, massas, RMN de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, e comparação com dados da literatura.

Figura 8. Substâncias isoladas de *Krameria tomentosa* no presente trabalho.



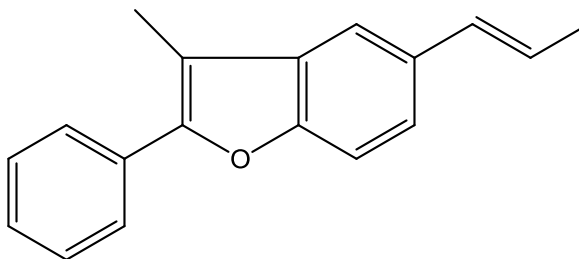
5.1. Determinação Estrutural de *Kt-1*

A substância codificada como *Kt-1* foi isolada na forma de cristais incolores, com ponto de fusão de 147,0–150,0 °C e massa de 16,6 mg ($0,46 \cdot 10^{-3}$ % em relação à massa da planta seca e pulverizada).

O espectro de massas de alta resolução utilizando o modo ESI- (Figura 11, pág. 65) mostrou o pico da molécula desprotonada em m/z 263.0501 $[M - H]^-$ compatível com a fórmula molecular $C_{18}H_{16}O_2$ (calc. 264,1150).

O espectro de IV obtido em pastilhas de KBr (Figura 10, pág. 64) mostrou absorções em 3335 cm^{-1} , característica de estiramento O-H, e entre $1582\text{--}1441\text{ cm}^{-1}$ característica de estiramento C=C de aromáticos. No mesmo espectro, foi observada vibração entre $1238\text{--}966\text{ cm}^{-1}$ correspondente a estiramento C-O de fenol (SILVERSTEIN *et al.*, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

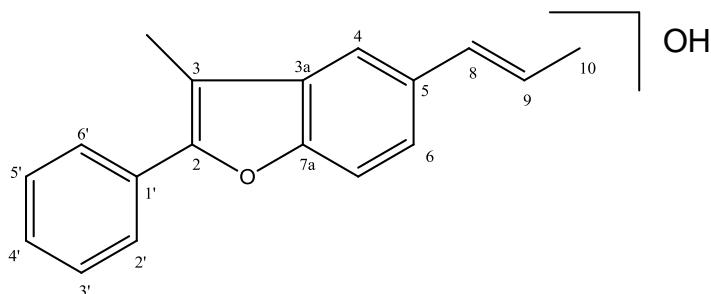
No espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) (Figura 12, pág. 65) e na sua expansão (Figura 13, pág. 66) observou-se a presença de 16 sinais correspondentes a 18 átomos de carbonos, compatíveis com duas unidades fenilpropânicas (C_6C_3). Através dos valores de deslocamentos químicos pode-se identificar 7 sinais referentes a carbonos não hidrogenados, sendo 3 deles oxigenados; 9 sinais referentes a carbonos metínicos e 2 sinais para carbonos metílicos. A presença dos sinais em δ_{C} 151,15, 109,79, 18,45 e 9,36, somado ao conhecimento de que as neolignanas são a principal classe de metabólitos secundários do gênero *Krameria* (Quadro 2, pág. 32) foi possível inferir para esse composto o esqueleto básico de uma neolignana benzofurânica (ACHENBACH *et al.*, 1987).



Neolignana benzofurânica

A partir das informações obtidas nos espectros de Massas, IV e RMN ^{13}C -APT, em conjunto com dados da literatura (Quadro 2, pág. 32) foi possível

estabelecer a estrutura de *Kt-1* com apenas um substituinte, sendo este uma hidroxila.



O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 14, pág. 66) e suas expansões (Figura 15 e 16, pág. 68) mostraram na região de hidrogênios em sistemas aromáticos dois dupletos com integral para dois hidrogênios cada, acoplando *orto* entre si, em δ_{H} 7,66 ($J = 8,5$ Hz) e 6,91 ($J = 8,5$ Hz) compatíveis com os hidrogênios H-2'/6' e H-3'/5', respectivamente, de um sistema AA'BB'. Essa proposta foi fortalecida pela presença no espectro de RMN ^{13}C -APT de dois sinais intensos em δ_{C} 128,34 (C-2'/6') e 115,60 (C-3'/5'). Esses dados permitiram sugerir que a hidroxila (OH) estaria situada no carbono C-4'. O simpleto em δ_{H} 7,41 e os dupletos em δ_{H} 7,25 e 7,34 caracterizaram os hidrogênios H-4, H-6 e H-7, respectivamente. Enquanto que os dupletos em δ_{H} 6,50 e 1,89 e o duplo quarteto em δ_{H} 6,20 caracterizaram os hidrogênios da unidade propenila.

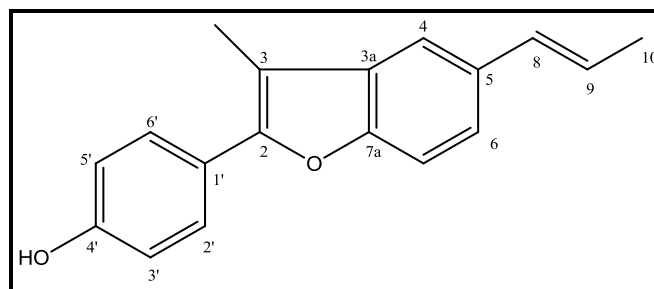
Todos esses assinalamentos foram confirmados através das correlações diretas observadas no espectro de correlação heteronuclear HMQC (Figura 17 e 18, pág. 68). Nesse espectro, observou-se a correlação entre o simpleto em δ_{H} 2,40 com o sinal em δ_{C} 9,36 e do duplete em δ_{H} 1,89 com o sinal em δ_{C} 18,45, caracterizando as metilas Me-3¹ e Me-10, respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 1 (pág. 64).

No espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 19, pág. 69) e em suas expansões (Figuras 20 e 21, pág. 70) foram analisadas as correlações a duas (2J) e três ligações (3J) o que permitiu distinguir os carbonos C-2 e C-7a através da correlação entre os hidrogênios H2'/H6' com C-2 e entre os hidrogênios H-4, H-6 e H-7 com C-7a, ficando definido o deslocamento químico em δ_{C} 151,15 para C-2 e o em 152,99 para C-7a. Nesse mesmo espectro também foi possível assinalar os carbonos C-3a e C-5, o primeiro se correlacionando com H-4 e com H-7 e o segundo com os hidrogênios H-8, H-7 e H-9, atribuindo o deslocamento δ_{C} 131,5 e δ_{C} 132,7, respectivamente.

As correlações observadas nos espectros de COSY e NOESY que auxiliaram na confirmação das atribuições feitas para os átomos dessa molécula podem ser observadas nas Figuras 22, 23, 24 e 25 (pág. 71, 72, e 73). No espectro de COSY observou-se as correlações dos sinais em δ_H 6,91 (H-3'/5') com 7,66 (H-2'/6') e em 6,20 (H-9) com 6,50 (H-8) e 1,89 (H-10). No NOESY observou-se a correlação entre o hidrogênio H-4 com H-8 e H-9 e do hidrogênio H-6 também com H-8 e H-9.

Na Tabela 1 (pág. 63) estão compilados os deslocamentos químicos e as correlações observadas nos espectros de RMN 1H e ^{13}C uni e bidimensionais para *Kt-1*. A soma de todos os dados espectrais bem como comparações com os dados apresentados na literatura permitiram identificar *Kt-1* como sendo **2-(4-hidroxifenil)-3-metil-5-(E)-propenilbenzofurano**, mais conhecida como eupomatenóide 6 (Figura 9, pág. 62).

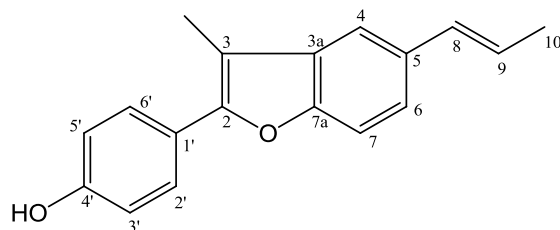
Figura 9- Estrutura química de *Kt-1*: 2-(4-hidroxifenil)-3-metil-5-(E)-propenilbenzofurano (Eupomatenóide 6)



Existem vários relatos dessa substância no reino vegetal. A mesma já foi isolada de espécies do gênero *Eupomatia* (BOWDEN *et al.*, 1972; CARROLL e TAYLOR, 1991; CHAURET *et al.*, 1996), *Piper* (MOREIRA *et al.*, 1995; AHMAD *et al.*, 1998; MAXWELL *et al.*, 1998; BENEVIDES *et al.*, 1999; GARCIA *et al.*, 2001; PESSINI *et al.*, 2005; FELIPE *et al.*, 2006), *Caryodaphnopsis* (ANH *et al.*, 1996 e 1997) e *Krameria* (ACHENBACH *et al.*, 1987, 1989, 1991, 1994 e 1995; DOMINGUEZ *et al.*, 1987, 1992 e 1996; ARONE *et al.*, 1988 e 1990), no entanto, trata-se do primeiro relato na espécie *Krameria tomentosa*.

De acordo com a literatura, o Eupomatenóide 6 apresenta diversas atividades farmacológicas, como por exemplo, as atividades anti-inflamatória (BAUMGARTNER *et al.*, 2011), antimicrobiana (FELIPE *et al.*, 2008; PESSINI *et al.*, 2003), anti-trypanossoma (LUIZE *et al.*, 2006), antioxidante (CARINI *et al.*, 2002) e antifúngica (FREIXA *et al.*, 2001; JOHANN *et al.*, 2009).

Tabela 1- Dados verificados nos espectros de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) uni e bidimensionais em CDCl₃ de *Kt-1* e comparação com dados de RMN ¹H (90 MHz) e ¹³C (22,5 MHz) em CD₃COCD₃ da literatura (ACHENBACH *et al.*, 1987) (δ em ppm, *J* em Hz).



C	¹ H x ¹³ C HMQC		¹ H x ¹³ C HMBC		¹ H x ¹ H COSY	¹ H x ¹ H NOESY	Literatura (ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987)	
	δ _C	δ _H	² J	³ J			δ _C	δ _H
2	151,15			H-2'/H-6'; Me-3 ¹			152,42	
3	109,79			H-4; Me-3 ¹			110,02	
3a	131,53		H-4	H-7; Me-3 ¹			132,31	
5	132,70		H-8	H-7; H-9			133,72	
7a	152,99		H-7	H-4; H-6			153,76	
1'	124,45			H-3'/H-5'			123,80	
4'	155,38		H-3'/H-5'	H-2'/H-6'			158,43	
CH								
4	116,11	7,41 (<i>sl</i> , 1H)		H-6		H-8; H-9	117,00	7,48 (<i>dl</i> , 1H)
6	122,22	7,25 (<i>d</i> , 1H, <i>J</i> = 10,0)		H-4; H-8	H-7	H-8; H-9	122,95	7,32 (<i>m</i> , 2H)
7	110,64	7,34 (<i>d</i> , 1H, <i>J</i> = 10,0)					111,16	7,32 (<i>m</i> , 2H)
8	131,33	6,50 (<i>d</i> , 1H, <i>J</i> = 16,0)		H-4; H-6	H-9; Me-10	H-9	132,48	6,52 (<i>dl</i> , 1H, <i>J</i> = 16,8)
9	124,19	6,20 (<i>dq</i> , 1H, <i>J</i> = 6,5 e 16,0)		Me-10	H-10		124,48	6,01-6,39 (<i>m</i> , 1H)
2'/6'	128,34	7,66 (<i>d</i> , 2H, <i>J</i> = 8,5)		H-2'/H-6'	H-3'/H-5'		129,02	7,68 (<i>d</i> , 2H, <i>J</i> = 8,8)
3'/5'	115,60	6,91 (<i>d</i> , 2H, <i>J</i> = 8,5)	H-2'/H-6'	H-3'/H-5'			116,55	7,02 (<i>d</i> , 2H, <i>J</i> = 8,8)
CH₃								
Me-3 ¹	9,36	2,40 (<i>s</i> , 3H)					9,40	2,39 (<i>s</i> , 3H)
Me-10	18,45	1,89 (<i>d</i> , 3H, <i>J</i> = 6,5)	H-9	H-8			18,51	1,85 (<i>dl</i> 3H, <i>J</i> = 5)
OH		4,98 (<i>s</i> , 1H)				H-3'/H-5'		8,67 (<i>s</i> , 1H)

Figura 10- Espectro no Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de *Kt-1*.

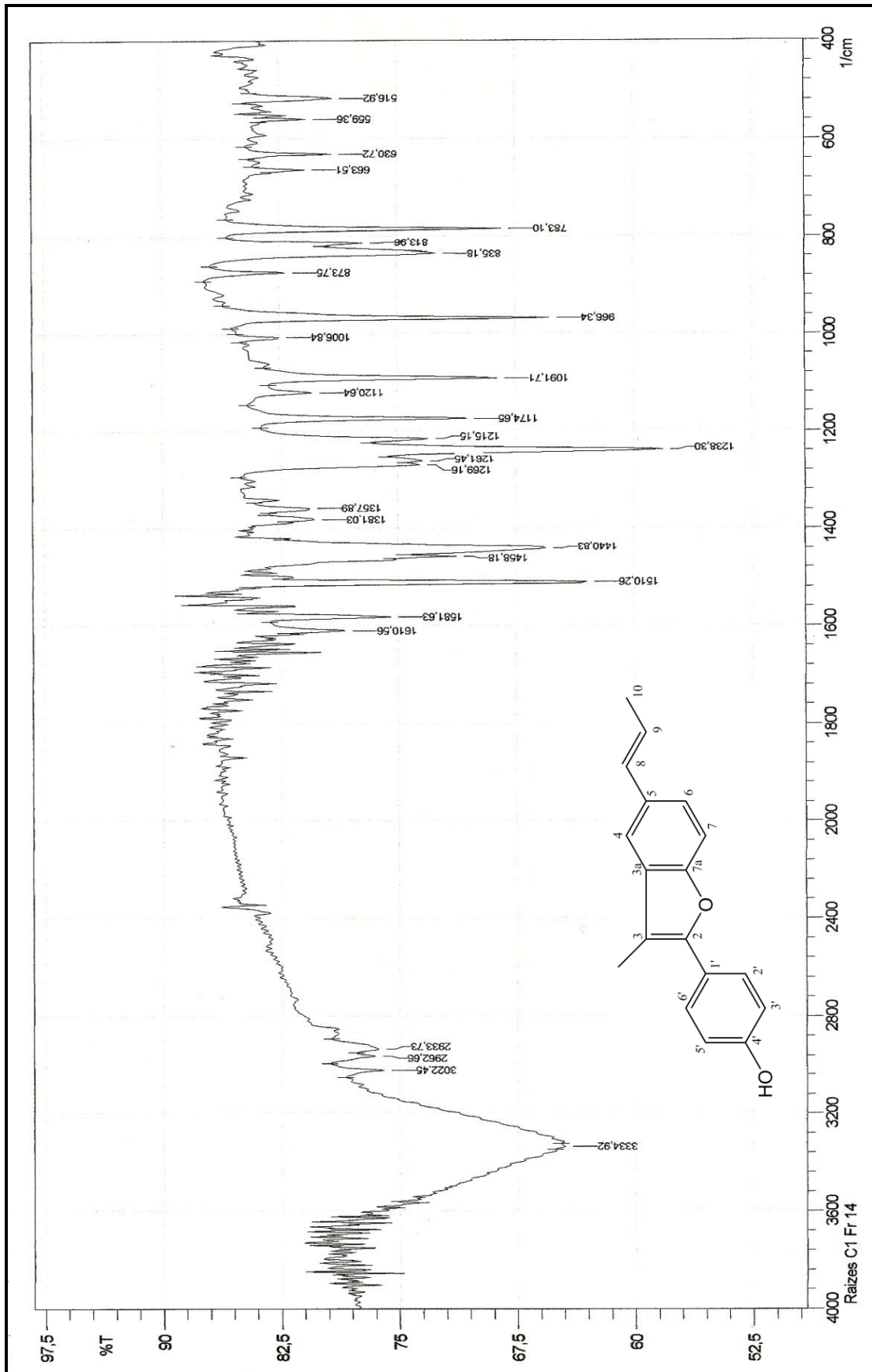


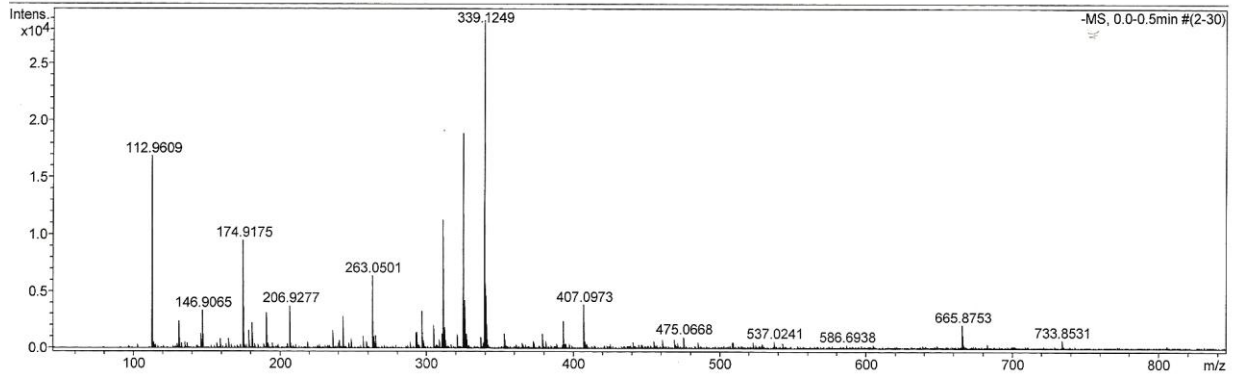
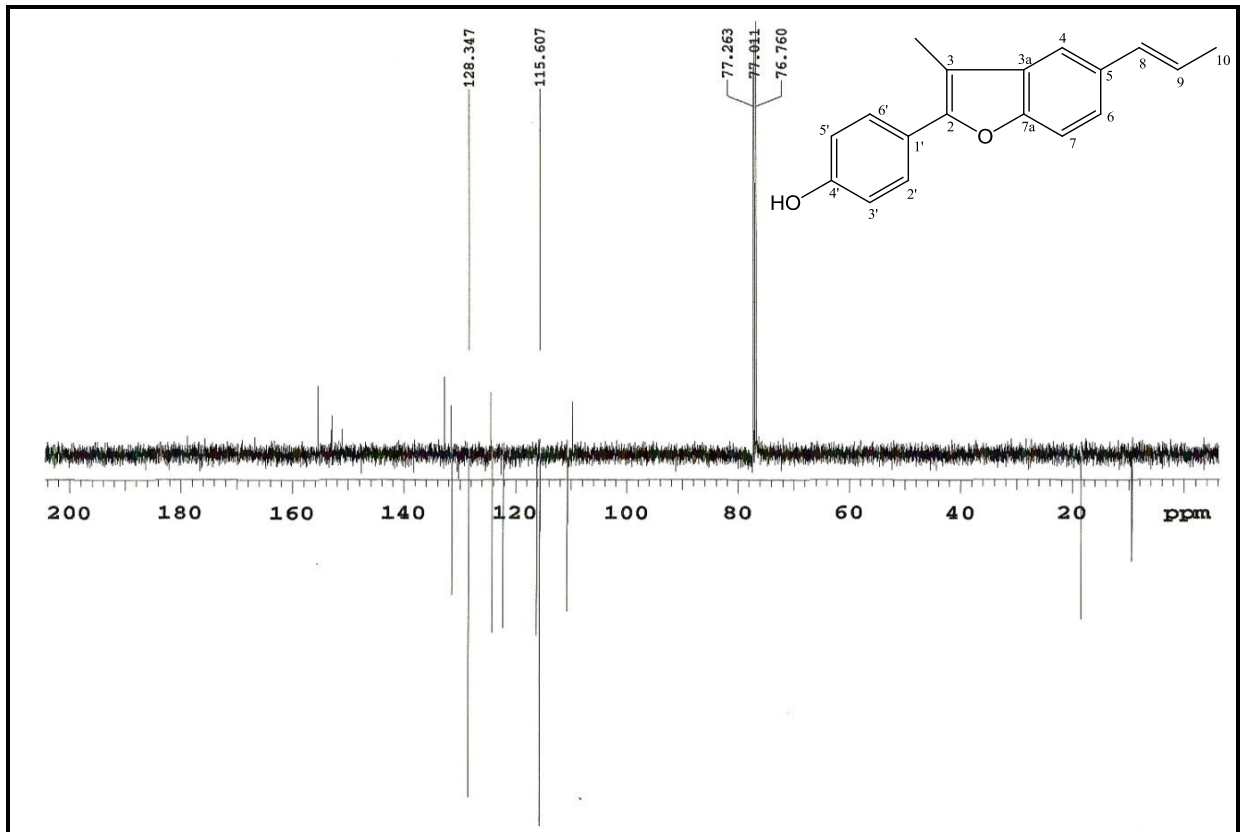
Figura 11- Espectro de massas de alta resolução (ESI-) de *Kt-1*.**Figura 12-** Espectro de RMN ¹³C - APT (CDCl₃, 125 MHz) de *Kt-1*.

Figura 13- Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT (CDCl_3 , 125 MHz) de *Kt-1* na região de 155,0–110,0 ppm.

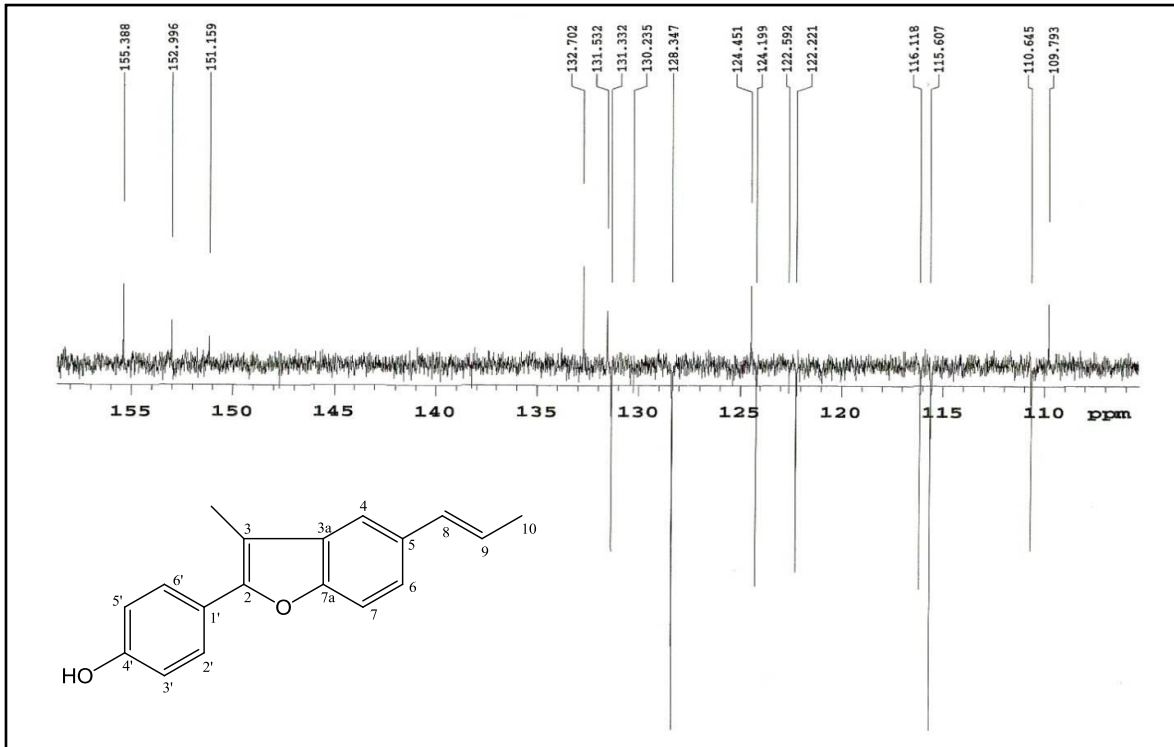


Figura 14- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-1*.

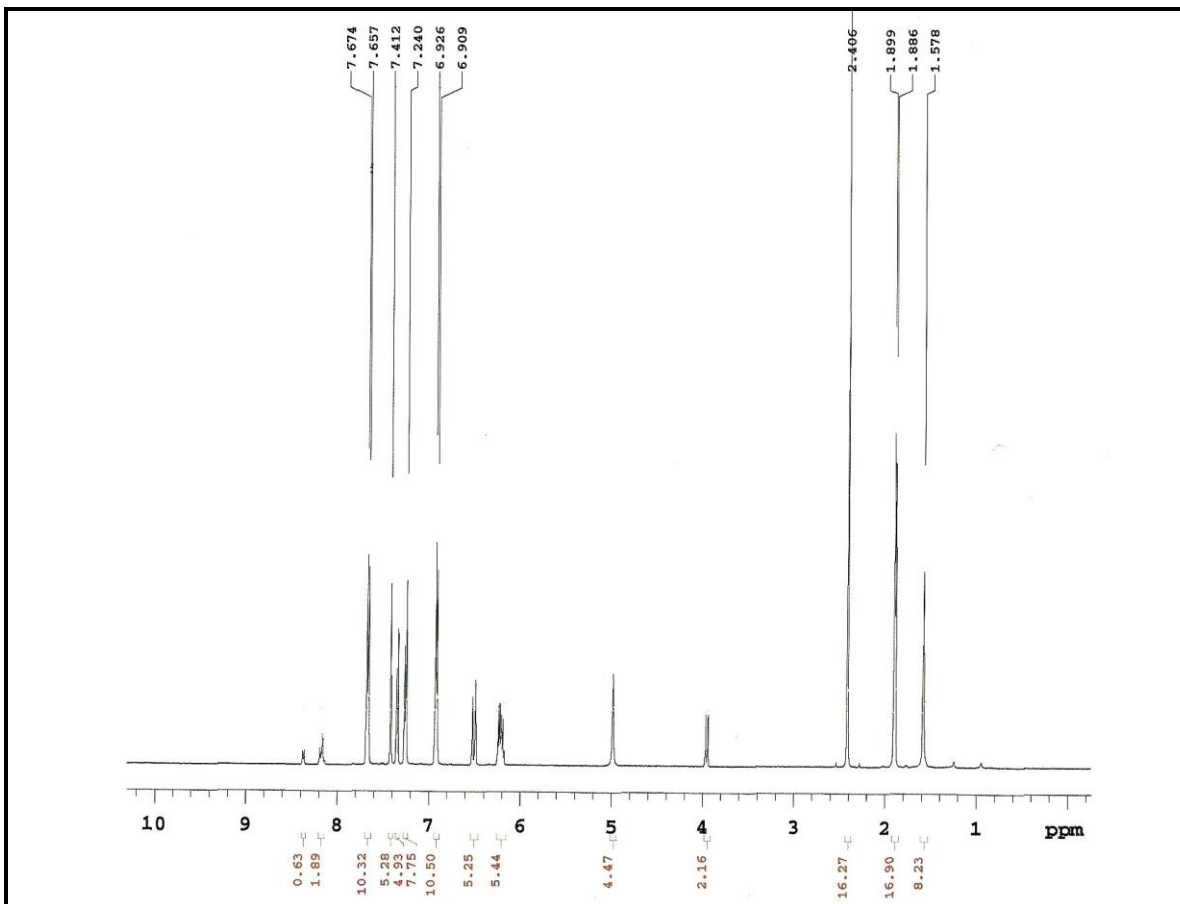


Figura 15- Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-1* na região de 5,1-1,4 ppm.

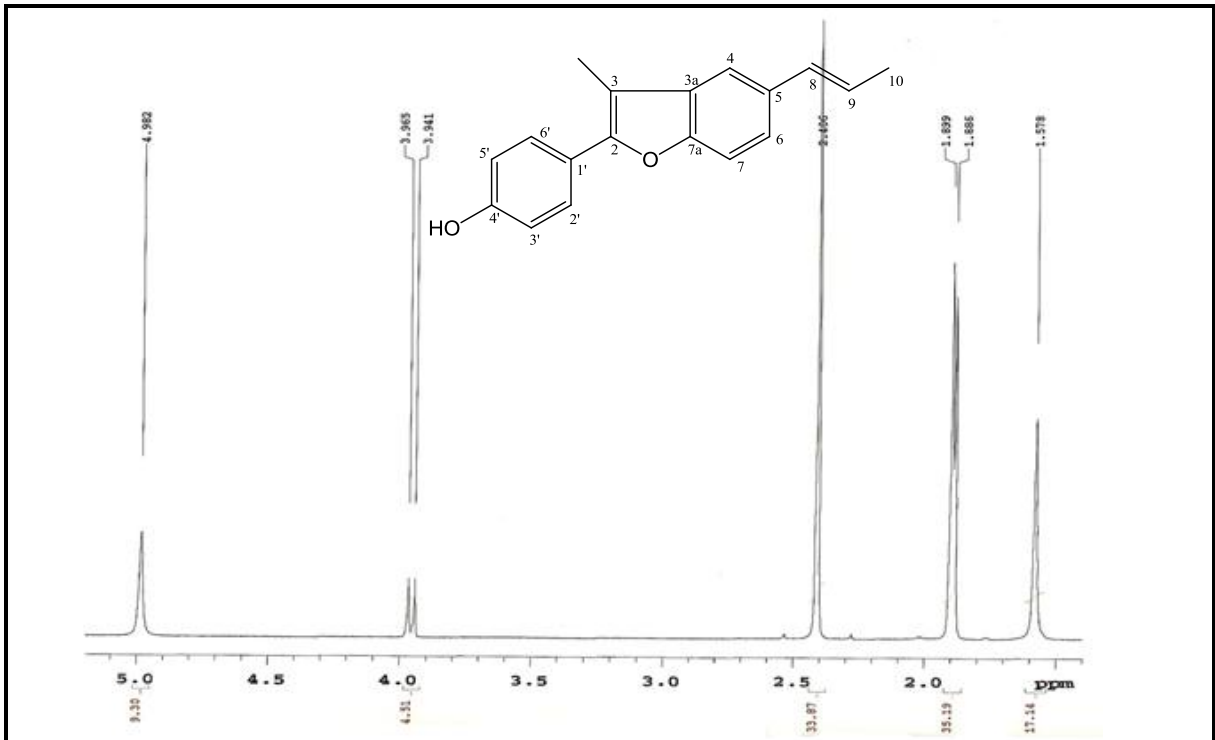


Figura 16- Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-1* na região de 7,8-6,1 ppm.

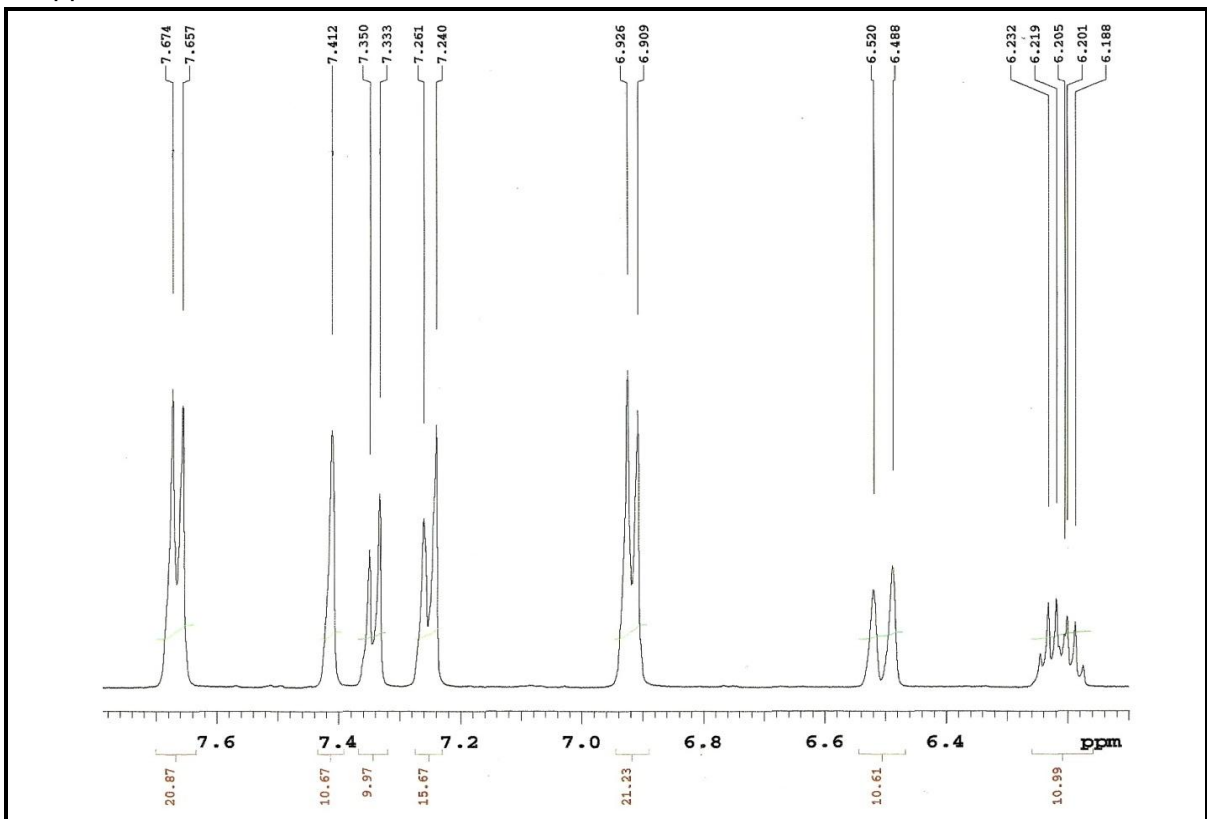


Figura 17- Espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-1*.

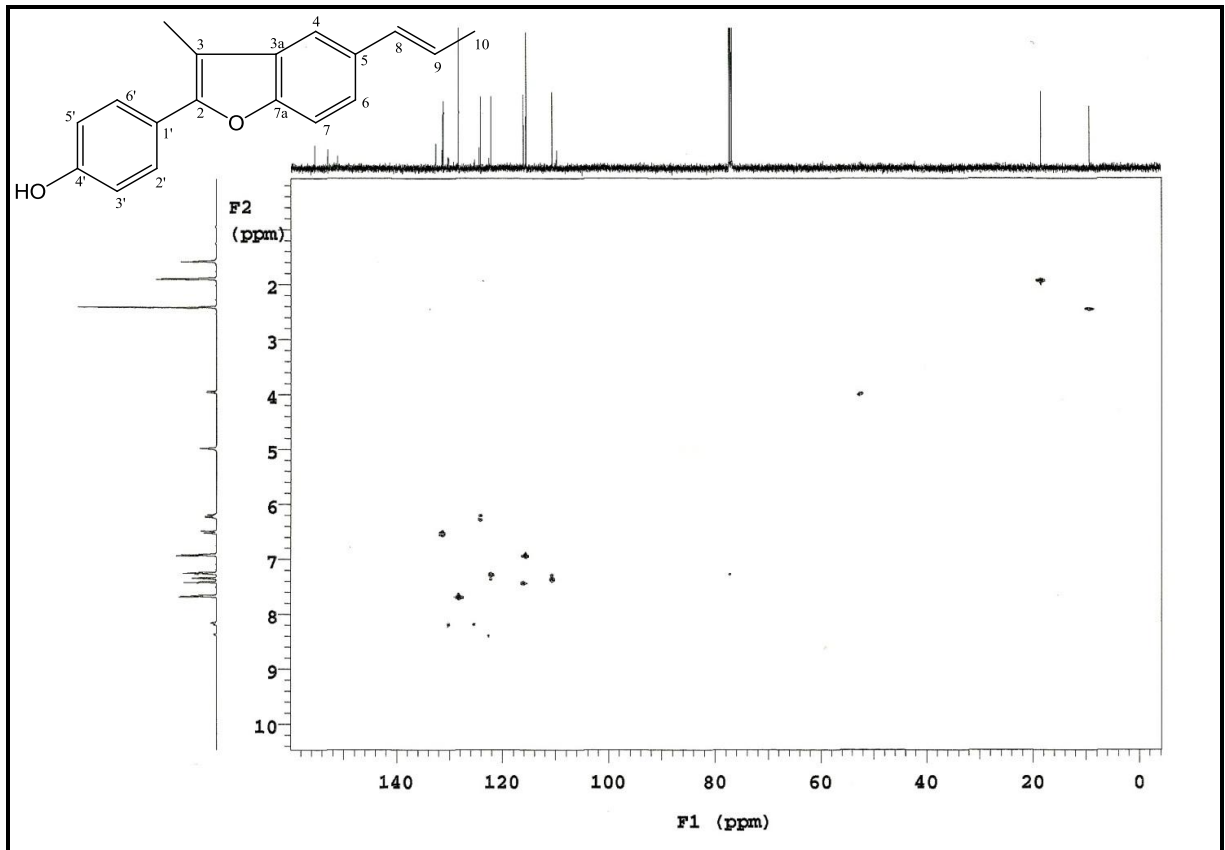


Figura 18- Expansão do espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-1* na região de (131-100 ppm) x (8,6-6,0 ppm).

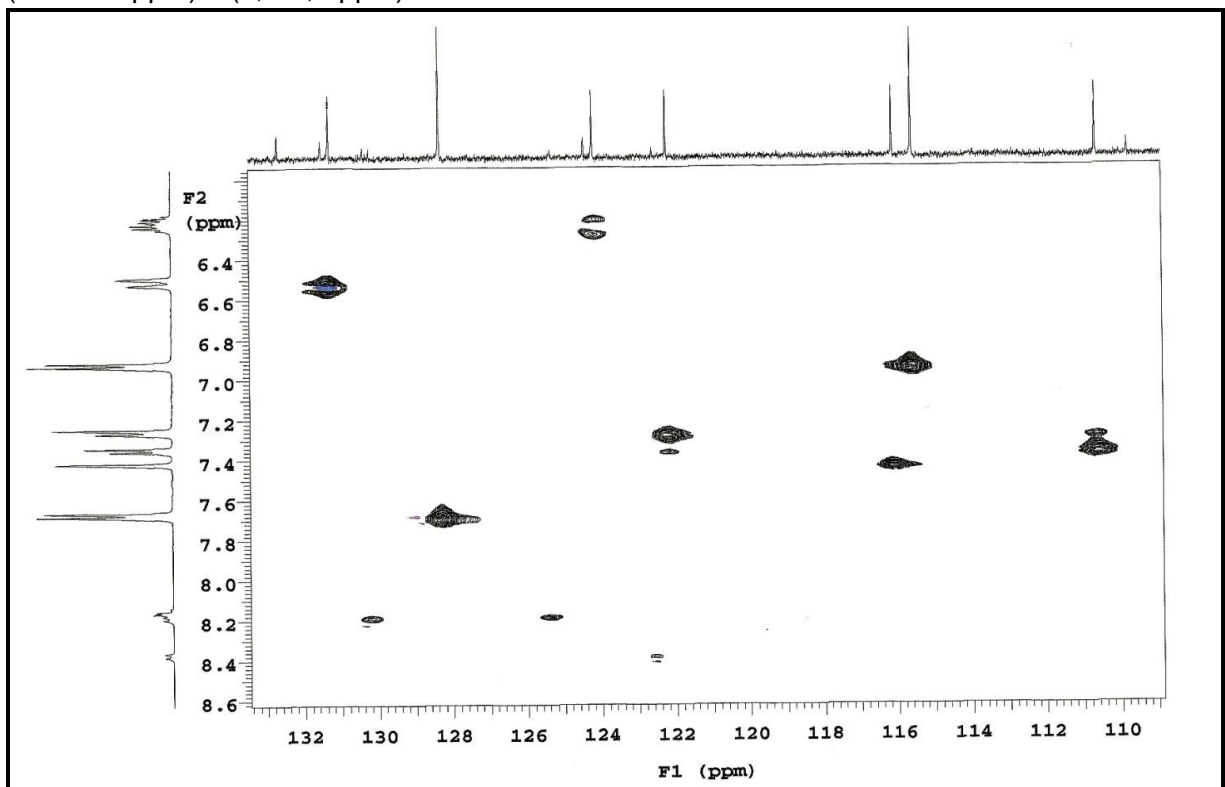


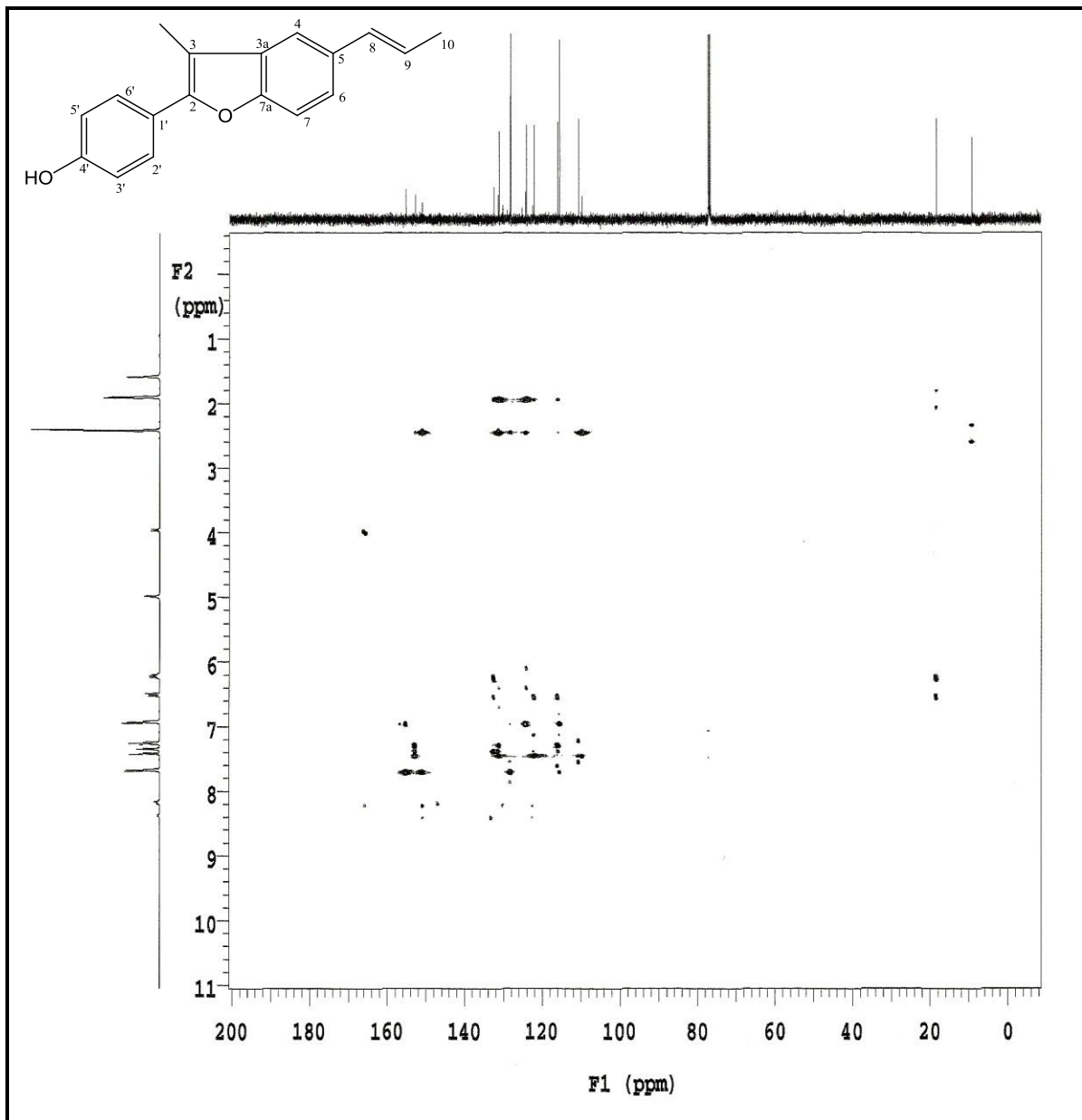
Figura 19- Espectro HMBC (CDCl₃, 500 e 125 MHz) de *Kt-1*.

Figura 20- Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-1* na região de (170-106 ppm) x (5,0-1,5).

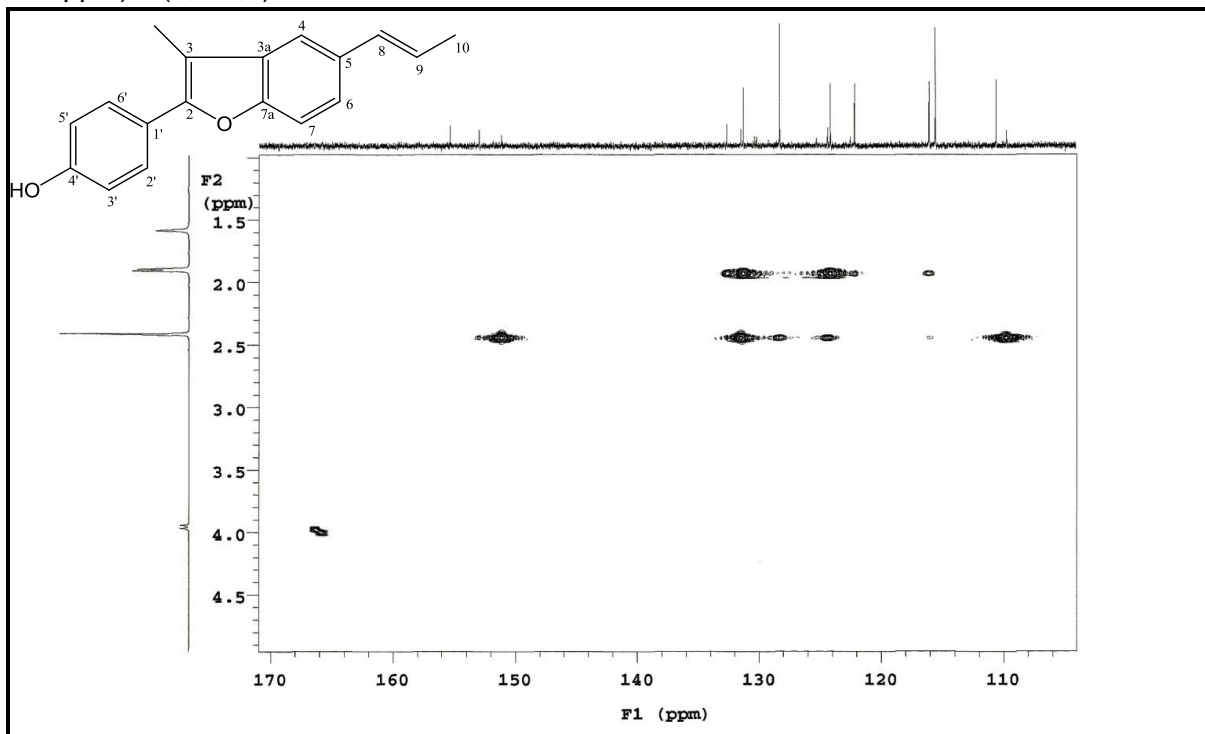


Figura 21- Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-1* na região de (160-108 ppm) x (9,0-5,5 ppm).

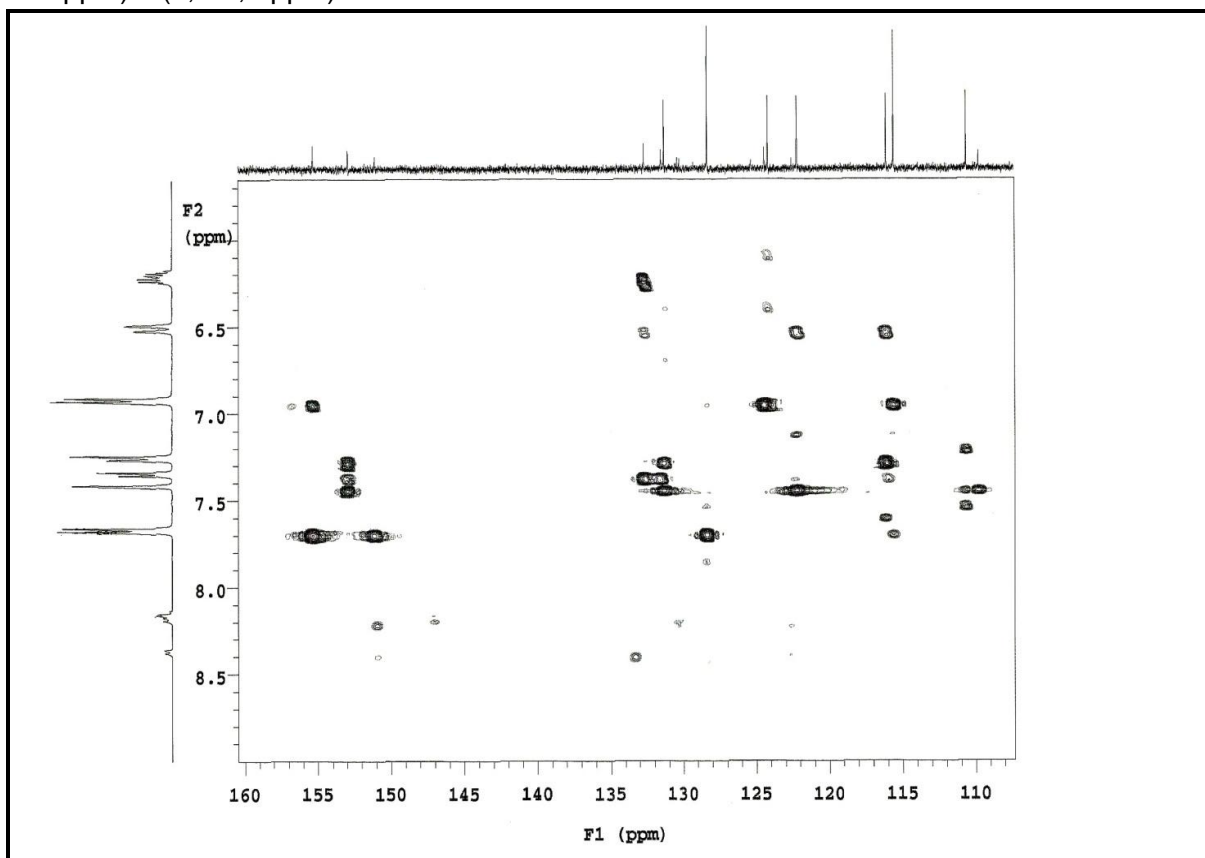


Figura 22- Expansão do espectro COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-1* na região de (6,5-0,5 ppm) x (7,2-0,6 ppm).

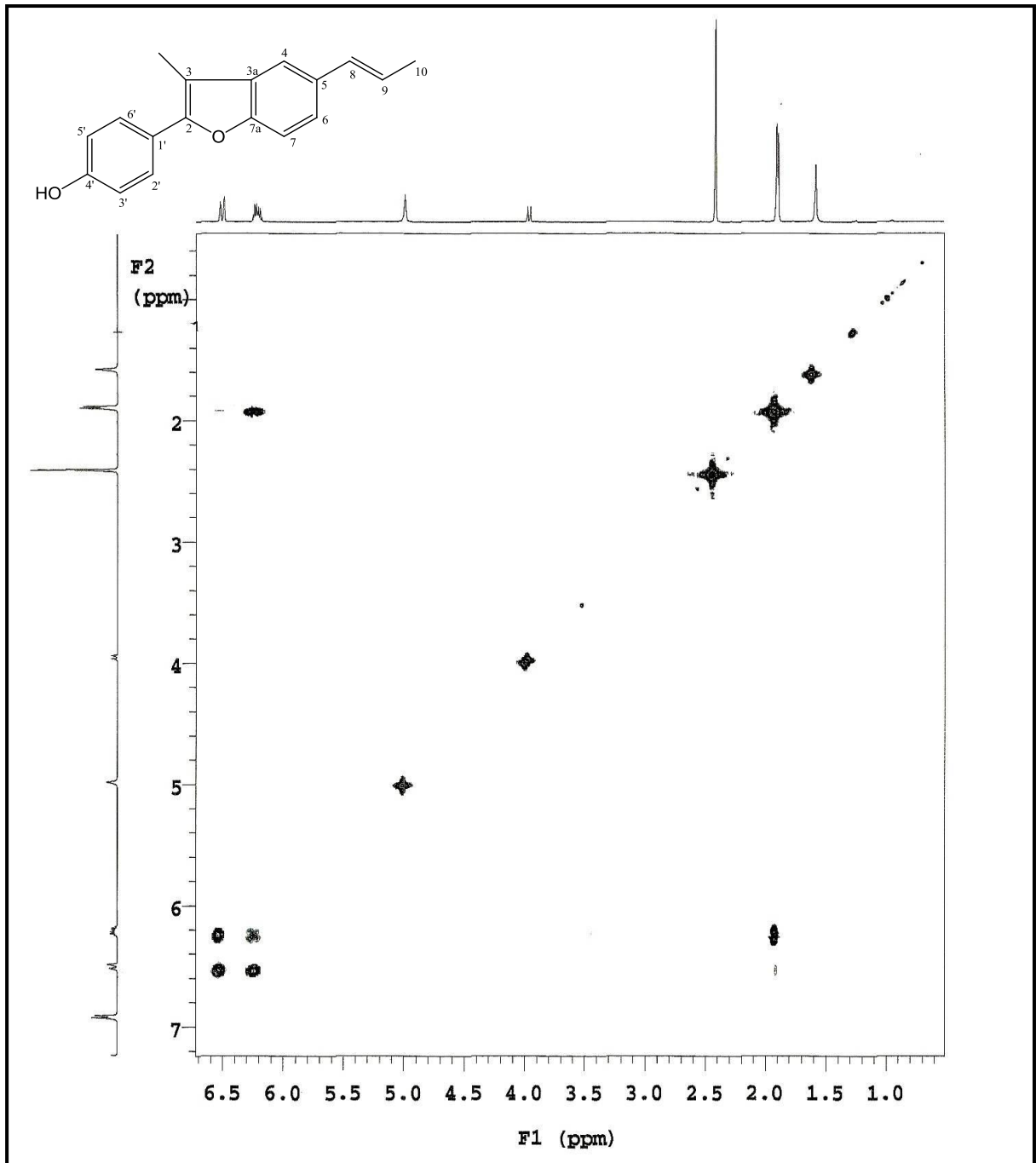


Figura 23- Expansão do espectro COSY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-1* na região de (8,6-6,1 ppm) x (8,8-6,0 ppm).

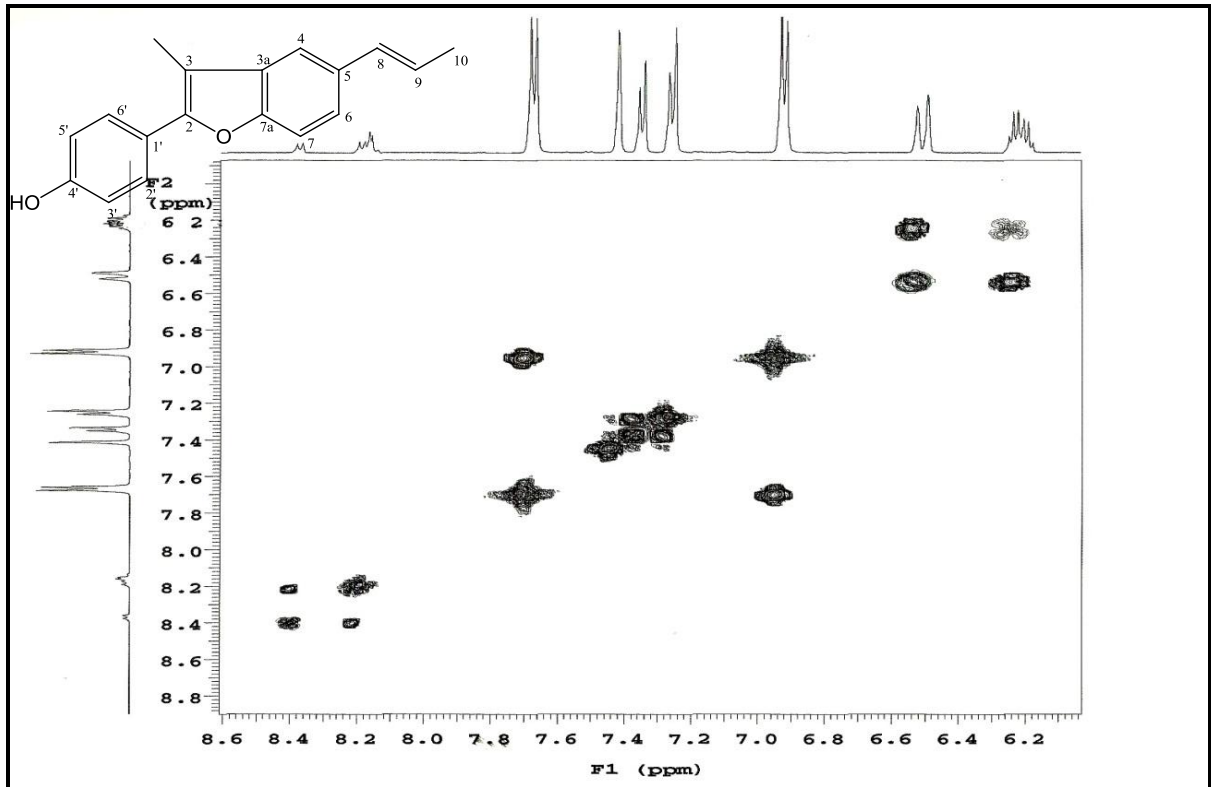


Figura 24- Espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-1*

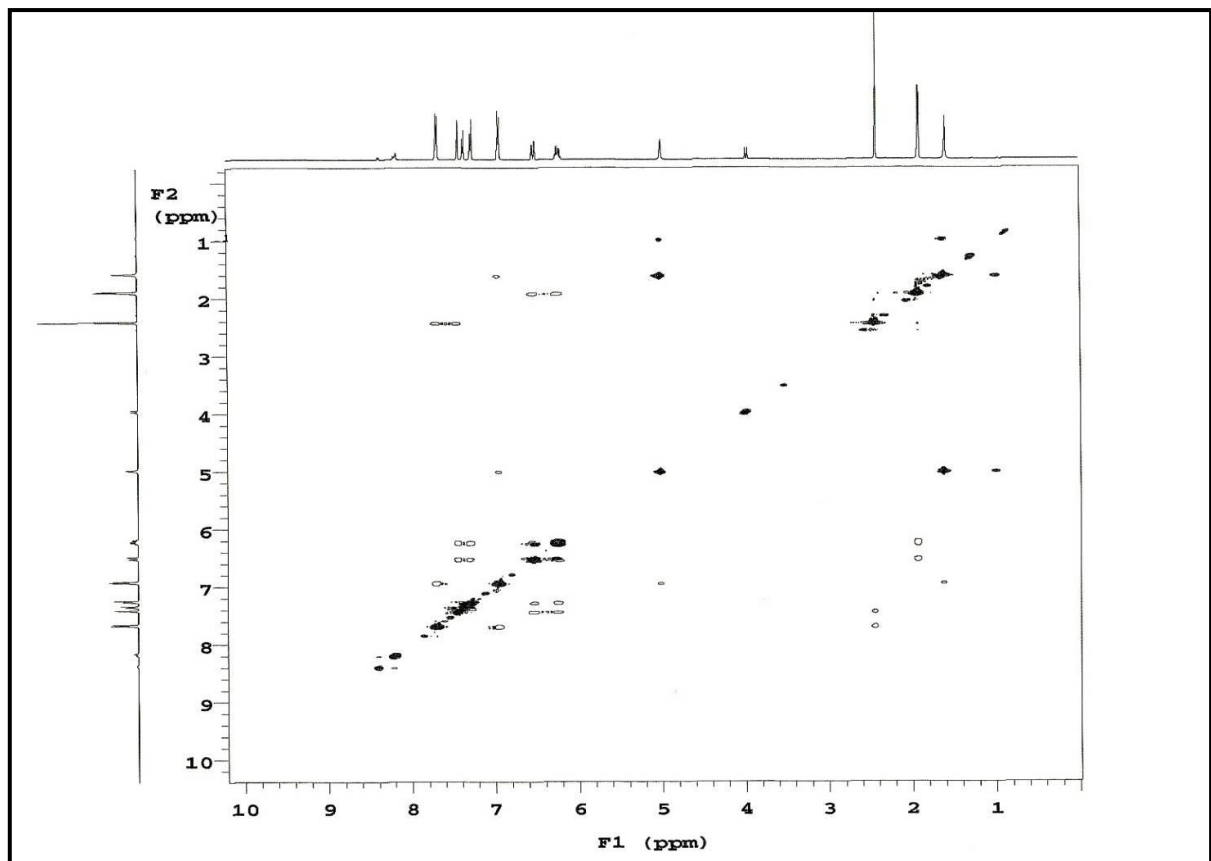
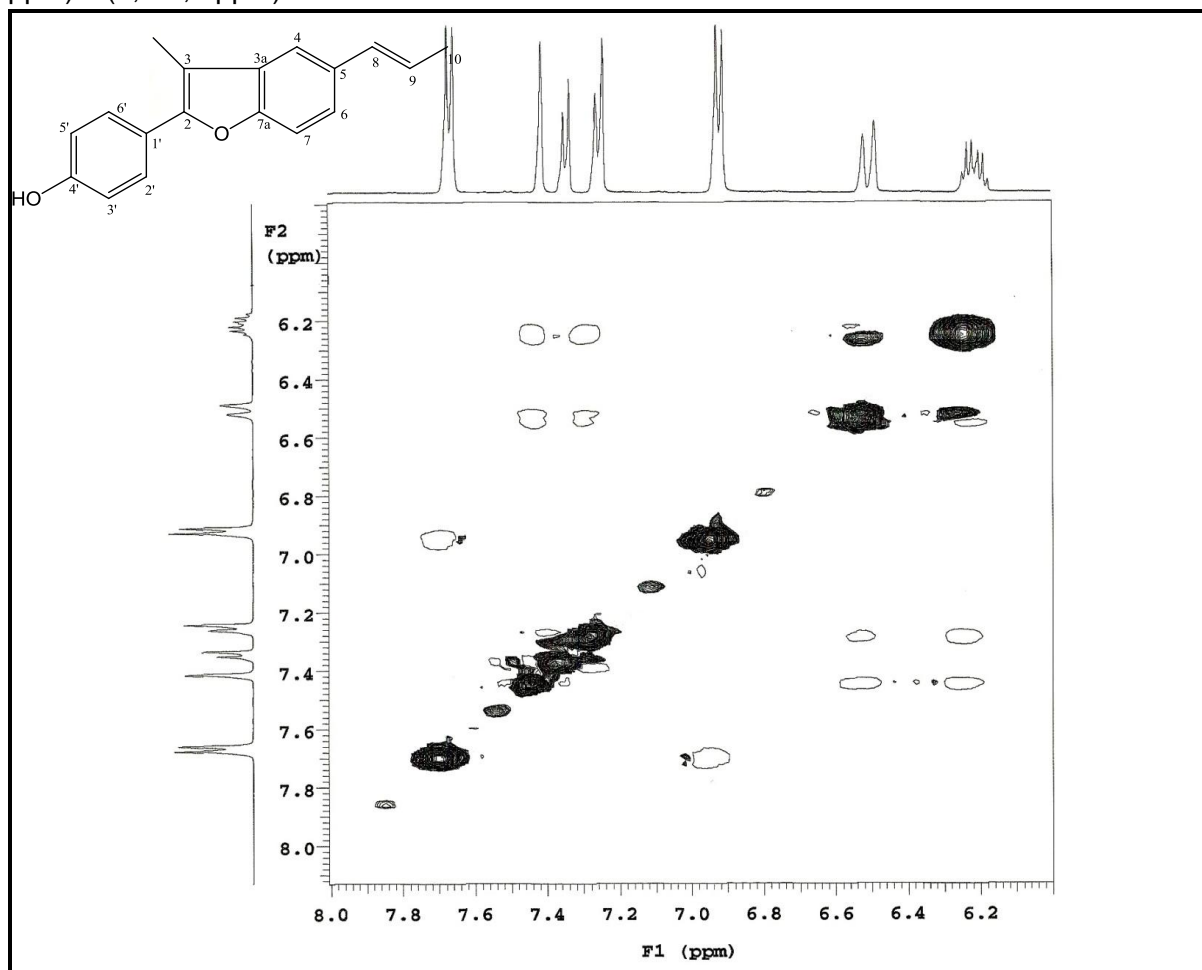


Figura 25- Expansão do espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-1* na região de (8,0-6,0 ppm) x (8,0-6,0 ppm).

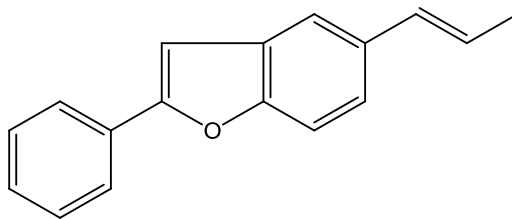


5.2. Determinação Estrutural de *Kt-2*

A substância codificada de *Kt-2* foi isolada na forma de cristais incolores, apresentando ponto de fusão 181-184 °C e com massa de 22,7 mg ($0,65 \cdot 10^{-3}$ % em relação à massa da planta seca e pulverizada).

No espectro de RMN ¹³C-APT (125 MHz, CD₃COCD₃) (Figuras 28 e 29, pág. 79) observou-se a presença de 17 sinais, correspondentes a 17 átomos de carbono. Destes, 7 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, sendo 4 oxigenados, 9 a carbonos metínicos e 1 a carbono metílico.

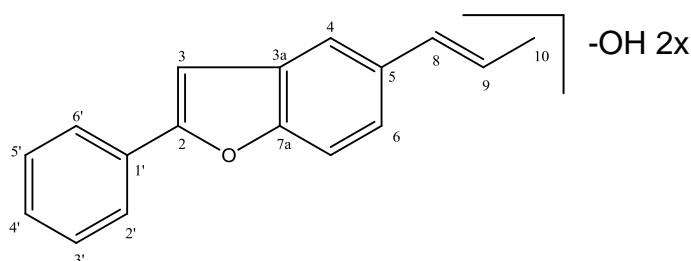
A semelhança do espectro de RMN ¹³C de *Kt-2* com o de *Kt-1* bem como a ausência do sinal em δ_C 9,35, referente à metila Me-3¹, permitiram determinar *Kt-2* como sendo uma nor-neolignana benzofurânica (ACHENBACH *et al.*, 1987).



Nor-neolignana benzofurânica

A estrutura parcial proposta foi expandida pela análise do espectro de IV (Figura 27, pág. 78) através das absorções em 3537 e 3281 cm^{-1} características de estiramento O-H livre e em ponte de hidrogênio, respectivamente, bem como bandas de estiramento de C=C aromático entre 1605-1456 cm^{-1} e de estiramento C-O entre 1321-1022 (SILVERSTEIN *et al.*, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

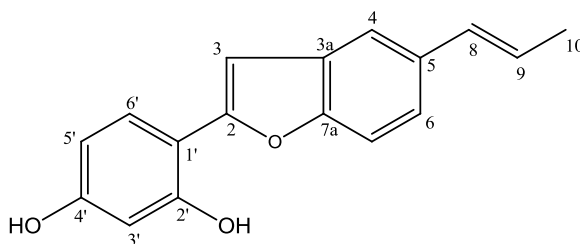
A partir das informações obtidas nos espectros de RMN ^{13}C -APT, IV e Massas foi possível estabelecer a estrutura de *Kt-2* com dois substituintes oxigenados, sendo estes hidroxilas.



O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) (Figura 30, pág.80) e suas expansões (Figuras 31, 32 e 33, pág. 80 e 81) mostraram sinais em δ_{H} 1,84 (*dd*, $J = 6,5$ e 1,5 Hz), 6,23 (*dq*, $J = 13,0$ e 6,5 Hz) e 6,47 (*dq*, $J = 13,0$ e 1,5 Hz) característicos dos hidrogênios da unidade propenila H-10, H-9 e H-8, respectivamente. Esta unidade foi confirmada pelos sinais no espectro de RMN ^{13}C em δ_{C} 18,51 (C-10), 124,39 (C-9) e 132,28 (C-8). Um sistema ABX foi identificado pela presença de um duploduplete em δ_{H} 7,26 ($J = 8,5$ e 1,5 Hz) acoplado com o hidrogênio em δ_{H} 7,39 ($J = 8,5$) e com o hidrogênio em δ_{H} 7,52 ($J = 1,0$ Hz), atribuídos aos hidrogênios H-6, H-7 e H-4, respectivamente. A proposta desse sistema foi fortalecida pelos sinais em δ_{C} 118,5 (C-4), 122,5 (C-6) e 111,0 (C-7).

Outro sistema ABX pode ser identificado no espectro de RMN ^1H pela presença de um duploduplete em δ_{H} 6,50 (H-5', $J = 8,5$ e 2,0 Hz) acoplado com o hidrogênio em 6,57 (H-3', $J = 2,0$ Hz) e com o hidrogênio em 7,76 (H-6', $J = 8,5$ Hz).

Esses dados, juntamente com os dados apresentados na literatura (Quadro 2, pág. 32), permitiu inferir que as hidroxilas estariam inseridas nas posições 2' e 4'.



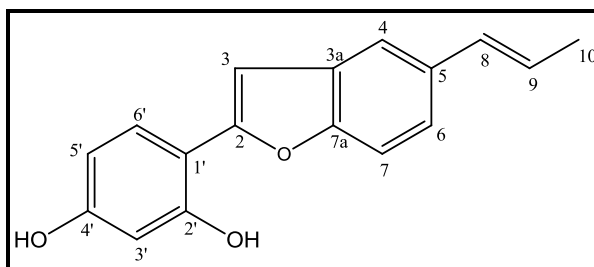
No espectro de correlação heteronuclear HMQC (500 e 125 MHz, CD_3COCD_3) (Figura 34, pág.82) e em suas expansões (Figuras 35 e 36, pág. 82 e 83), pode-se verificar correlações diretas entre os prótons em δ_{H} 7,20, 5,57, 6,60 e 7,76 com os carbonos em δ_{C} 104,00, 103,93, 108,39 e 128,55, sendo atribuídos a C-3, C-3', C-5' e C-6', respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 2 (pág. 77).

No espectro de HMBC (Figura 37, pág. 83) e em suas expansões (Figuras 38, 39 e 40, pág. 84 e 85), observou-se as correlações do duplete em δ_{H} 7,39 (H-7) com os carbonos não hydrogenados em δ_{C} 133,90 e 131,33, e do duploquarteto em δ_{H} 6,23 (H-9) com o carbono em δ_{C} 133,90, assinalando assim, esse sinal para C-5 e o sinal em 131,33 para C-3a. Foram observadas também correlações entre os hidrogênios em δ_{H} 6,50 (H-5') e em δ_{H} 6,57 (H-3') com o carbono em δ_{C} 110,56, correspondente a C-1', bem como do duploduplete em δ_{H} 6,50 (H-5') com o carbono em δ_{C} 103,93, atribuído a C-3'. As demais correlações estão compiladas na Tabela 2 (pág. 78).

A completa determinação estrutural de *Kt-2* foi realizada por análise das correlações apresentadas nos espectros de correlação homonuclear COSY e NOESY. No espectro de COSY (Figuras 41 e 42, pág. 85 e 86) observou-se as correlações dos sinais em δ_{H} 7,76 (H-6') com 6,50 (H-5'), em δ_{H} 7,39 (H-7) com 7,26 (H-6), em δ_{H} 6,23 (H-9) com 6,47 (H-8) e em δ_{H} 1,89 (H-10) com 6,47 (H-8) e 6,23 (H-9). No espectro de NOESY (Figuras 43 e 44, pág. 86 e 87) observou-se as correlações entre o hidrogênio em δ_{H} 7,52 (H-4) com os hidrogênios em δ_{H} 7,20 (H-3), 6,23 (H-9) e 6,47 (H-8) e entre o hidrogênio em 7,26 (H-6) com 6,23 (H-9), confirmando os deslocamentos para esses hidrogênios.

Todos os dados descritos estão reunidos na Tabela 2 (pág.77) e estão de acordo com os descritos na literatura para a nor-neolignana 2-(2',4'-diidroxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano (ACHENBACH *et al.*, 1987) (Figura 26, pág. 76).

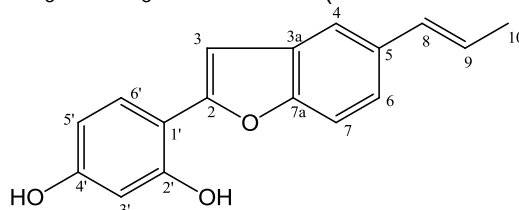
Figura 26- Estrutura química de *Kt-2*: 2-(2',4'-diidroxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano.



Essa substância já foi isolada de outras espécie do gênero *Krameria* (ACHENBACH *et al.*, 1987, 1989, 1990, 1991, 1993, 1995, 1996; DOMINGUEZ *et al.*, 1987; ARONE *et al.*, 2011), entretanto, este é o primeiro relato na espécie *Krameria tomentosa* além de ser a primeira vez que dados bidimensionais estão sendo descritos para a mesma, o que tornou possível a confirmação dos valores observados na literatura para os carbonos C-3, C-3', C-7 e C-1'.

Semelhante ao eupomatenóide 6 (*Kt-1*), o 2-(2',4'-diidroxifenil)-5-(*E*)-propenilbenzofurano apresenta atividade anti-inflamatória (BAUMGARTNER *et al.*, 2011) e antioxidante (CARINI *et al.*, 2002).

Tabela 2- Dados verificados nos espectros de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CD_3COCD_3 de *Kt-2* e comparação com dados de RMN ^1H (90 MHz) e ^{13}C (22,5 MHz) em CD_3COCD_3 da literatura (ACHENBACH *et al.*, 1987) (δ em ppm, J em Hz).



C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY	Literatura (ACHENBACH <i>et al.</i> , 1987)	
	δ_{C}	δ_{H}	2J	3J			δ_{C}	δ_{H}
2	154,80		H-3	H-6'			154,80	
5	133,90			H-7, H-9			133,89	
3a	131,33		H-3	H-7			131,23	
7a	153,73			H-3, H-4, H-6			153,73	
1'	110,56			H-3', H-5'			110,68**	
2'	156,84		H-3'	H-6'			156,75	
4'	159,78		H-3'	H-6'			159,68	
CH								
3	104,00	7,20 (<i>d</i> , 1H, $J = 1,0$)		H-4		H-4	104,11*	7,11-7,51(<i>m</i> , 4H)
4	118,46	7,52 (<i>d</i> , 1H, $J = 1,0$)		H-6, H-8		H-8, H-9	118,48	7,11-7,51(<i>m</i> , 4H)
6	122,48	7,26 (<i>dd</i> , 1H, $J = 1,5$ e 8,5)		H-4, H-8'	H-7	H-9	122,45	7,11-7,51(<i>m</i> , 4H)
7	111,07	7,39 (<i>d</i> , 1H, $J = 8,5$)		H-4, H-6			111,04**	7,11-7,51(<i>m</i> , 4H)
8	132,28	6,47 (<i>d</i> , 1H, $J = 1,5$ e 13,0)		H-10		H-9	132,24	5,99-6,50 (<i>m</i> , 2H)
9	124,39	6,23 (<i>dq</i> , 1H, $J = 6,5$, 13,0)	H-10				124,37	5,99-6,50 (<i>m</i> , 2H)
3'	103,93	6,57 (<i>d</i> , 1H, $J = 2,0$)		H-5'	H-9, H-5'		104,01*	6,52-6,64 (<i>m</i> , 2H)
5'	108,39	6,50 (<i>dd</i> , 1H, $J = 2,0$ e 8,5)		H-3'	H-6'	H-6'	108,53	6,52-6,64 (<i>m</i> , 2H)
6'	128,55	7,76 (<i>d</i> , 1H, $J = 8,5$)					128,56	7,81 (<i>d</i> , 1H, $J = 8,1$)
CH₃								
Me-10	18,51	1,84 (<i>dd</i> , 3H, $J = 1,5$ e 6,5)		H-8, H-9	H-8, H-9	H-8, H-9	18,47	1,84 (<i>dl</i> , 3H, $J = 5,1$)
OH		8,88 (<i>s</i> , 1H)						8,63 (<i>s</i> , 1H)

Os valores * / ** podem ser trocados.

Figura 27- Espectro no Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de Kt-2.

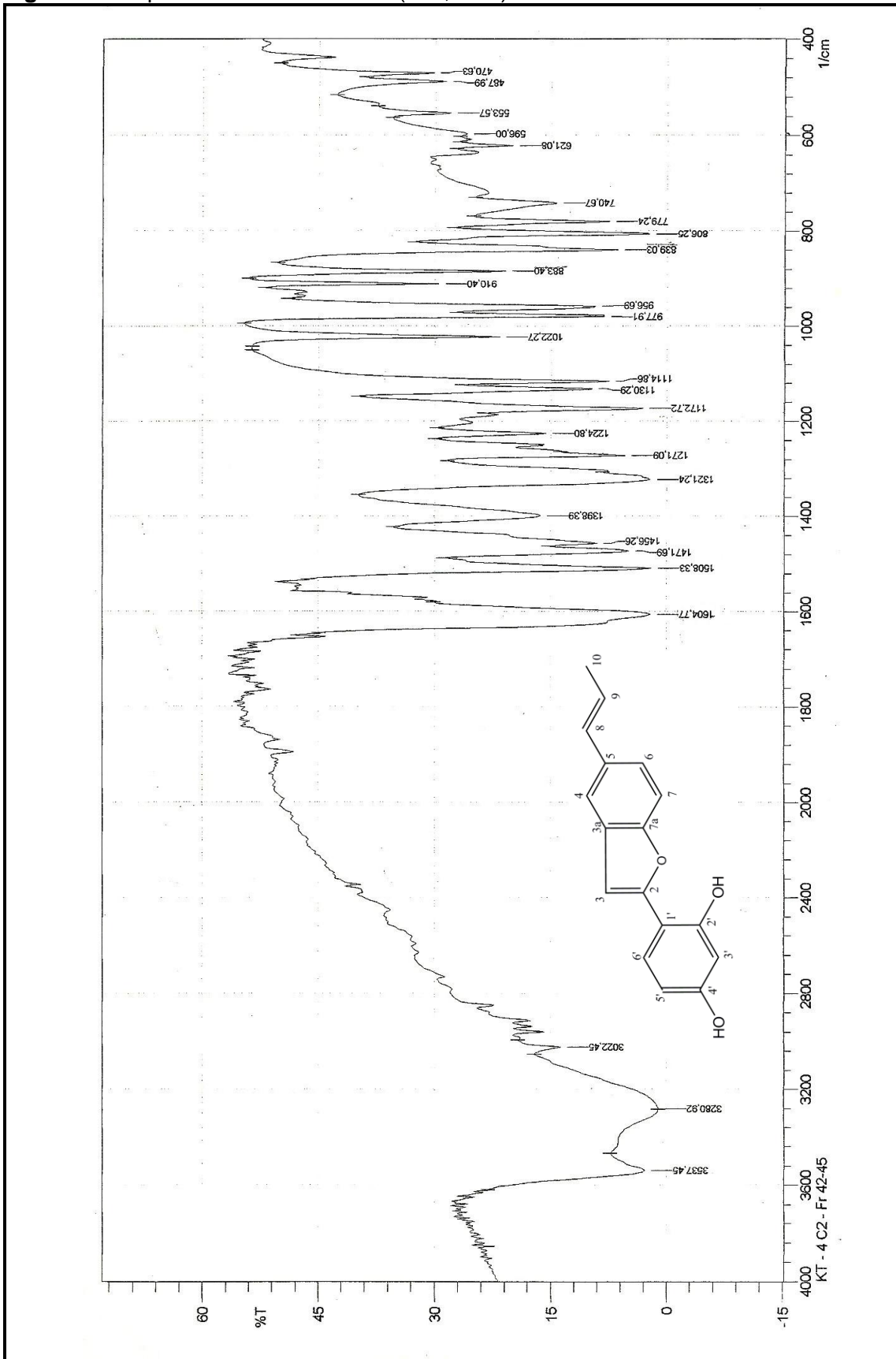


Figura 28- Espectro de RMN ¹³C - APT (CD₃COCD₃, 125 MHz) de *Kt-2*.

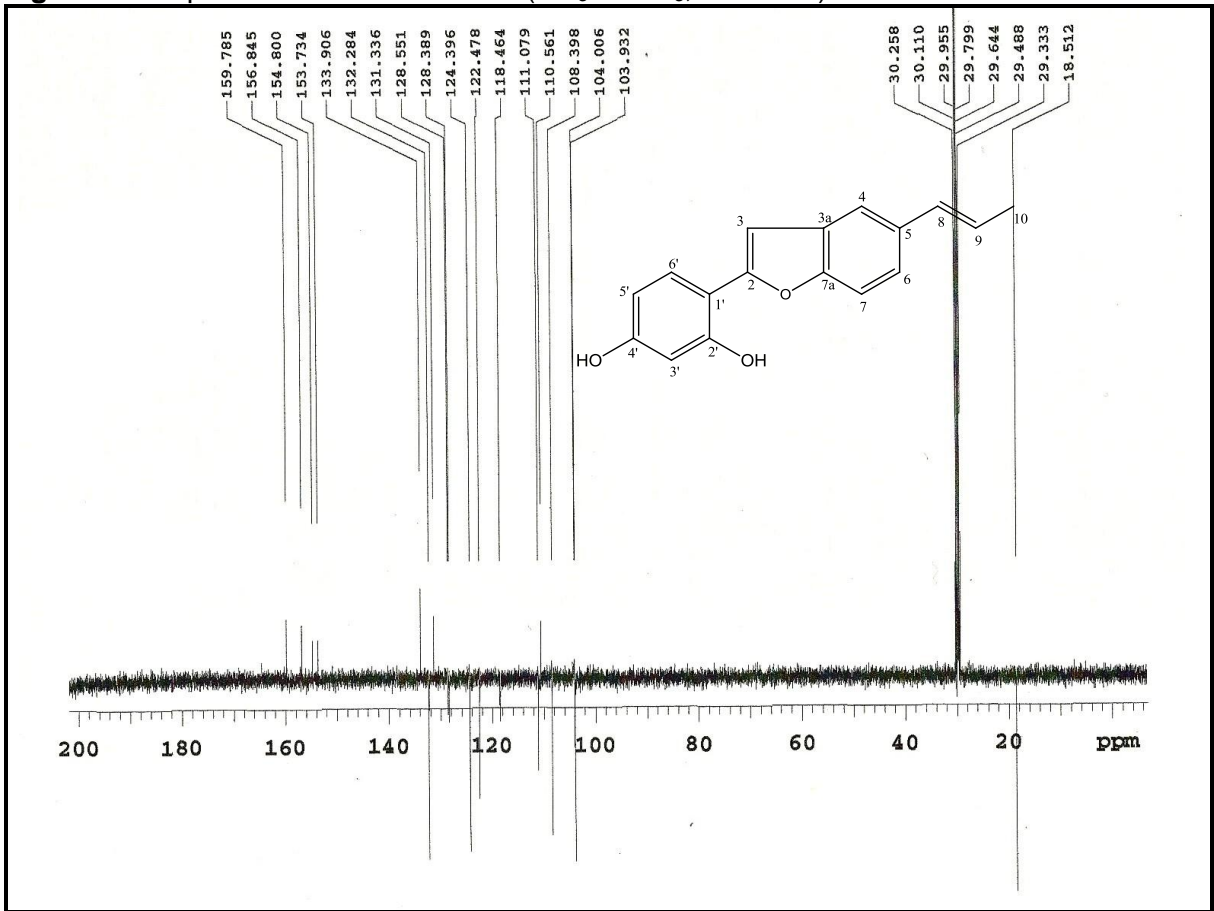


Figura 29- Expansão do espectro de RMN ¹³C - APT (CD₃COCD₃, 125 MHz) de *Kt-2* na região de 162–101 ppm.

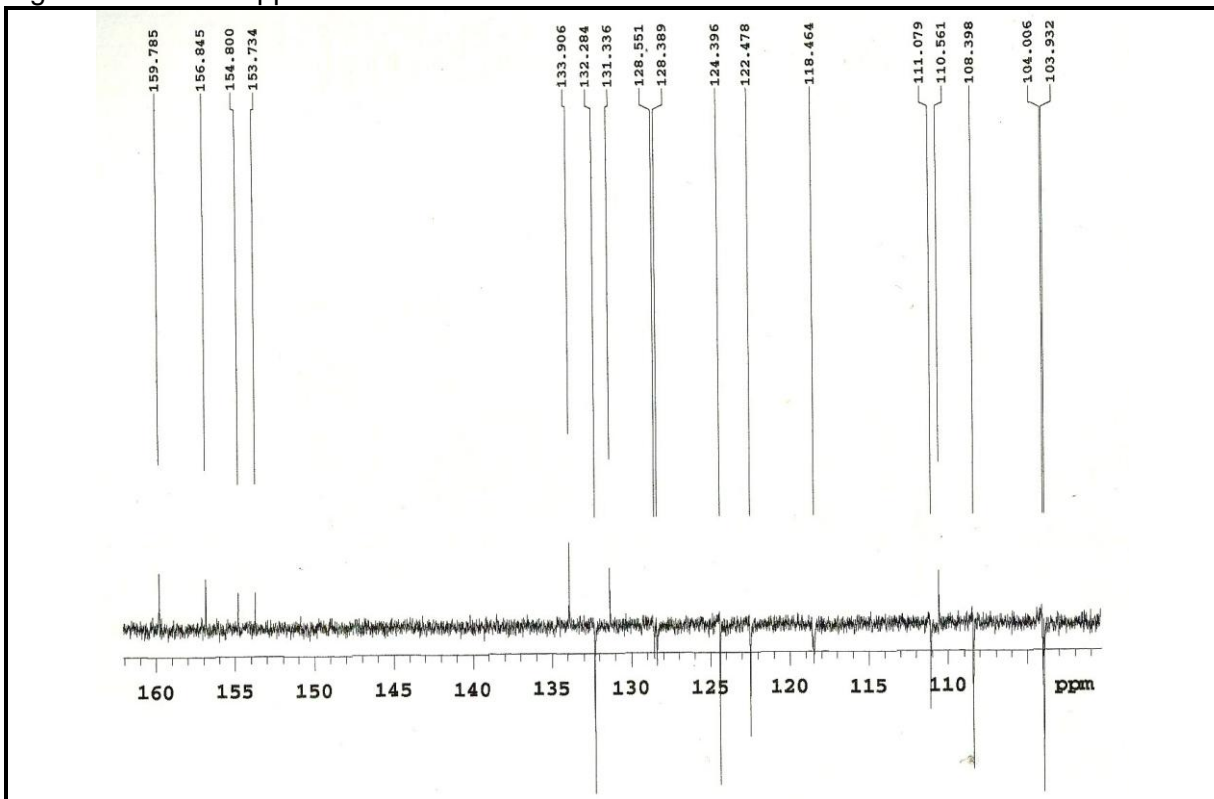


Figura 30- Espectro de RMN ¹H (CD₃COCD₃, 500 MHz) de *Kt-2*.

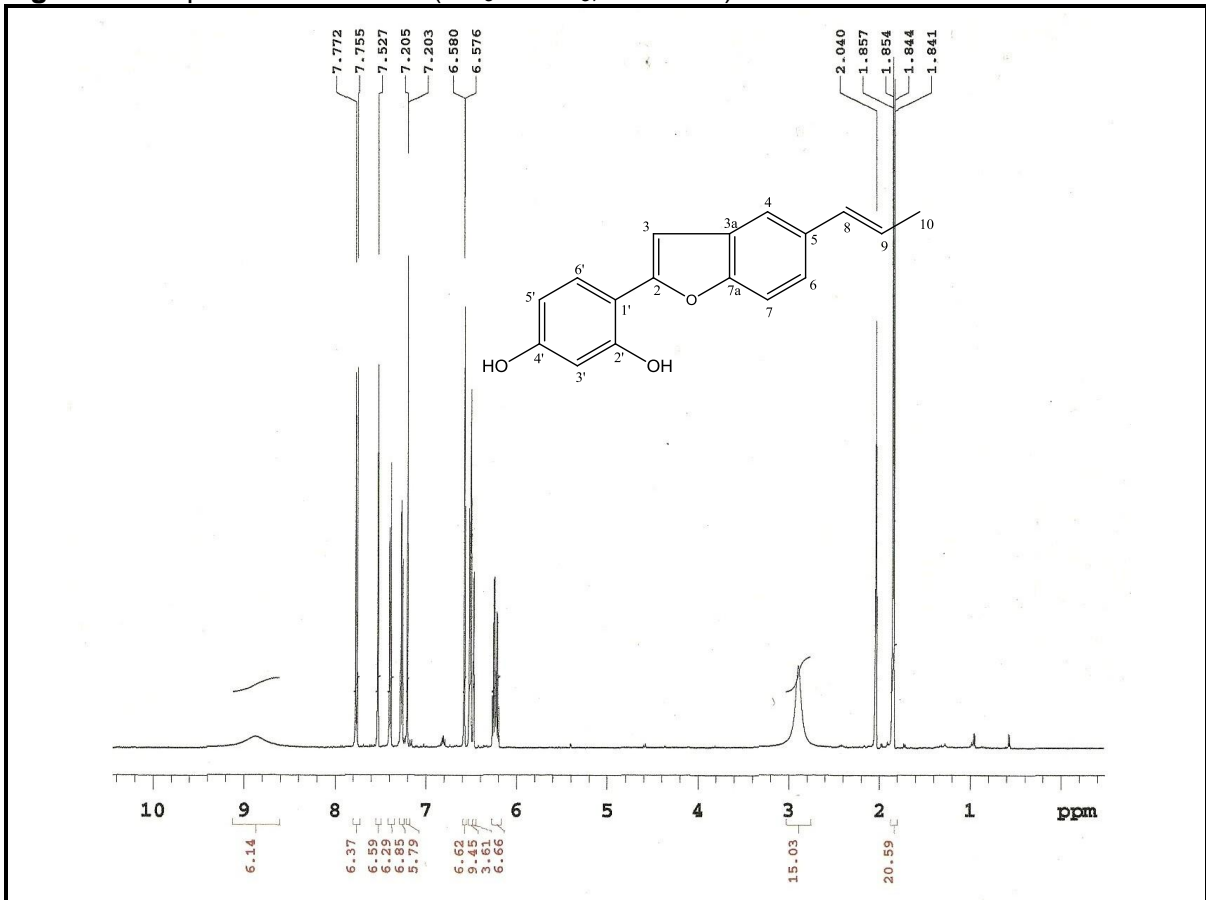


Figura 31- Expansão do espectro de RMN ¹H (CD₃COCD₃, 500 MHz) de *Kt-2* na região de 7,8-7,2 ppm.

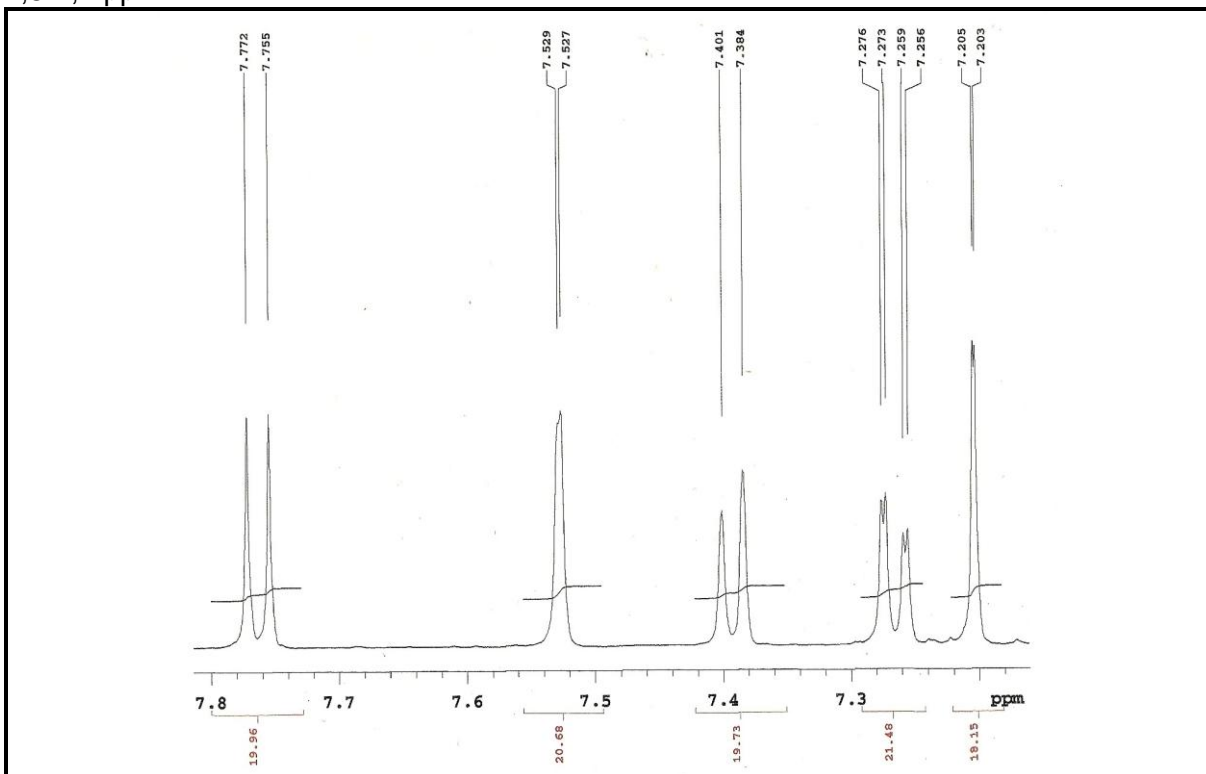


Figura 32- Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-2* na região de 6,62-5,16 ppm.

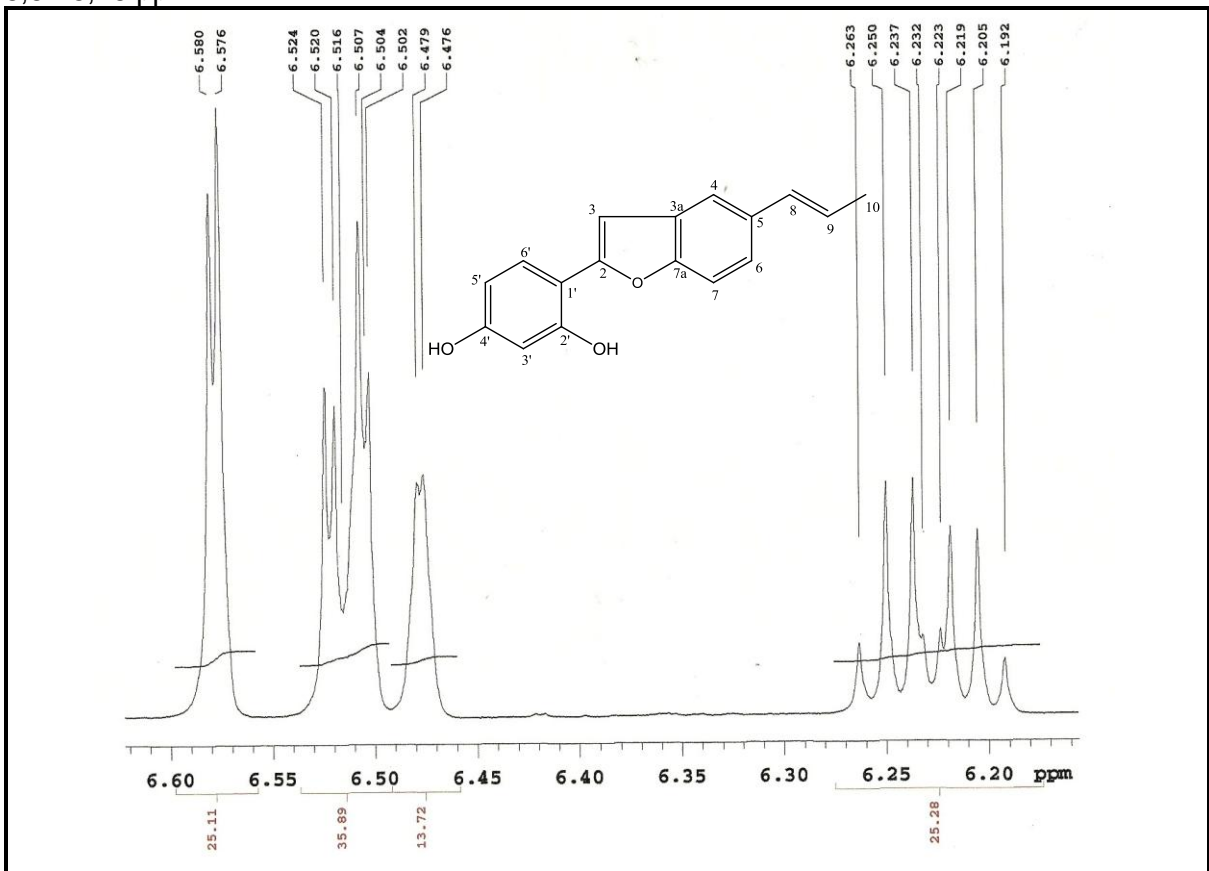


Figura 33- Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-2* na região de 1,92-1,78 ppm.

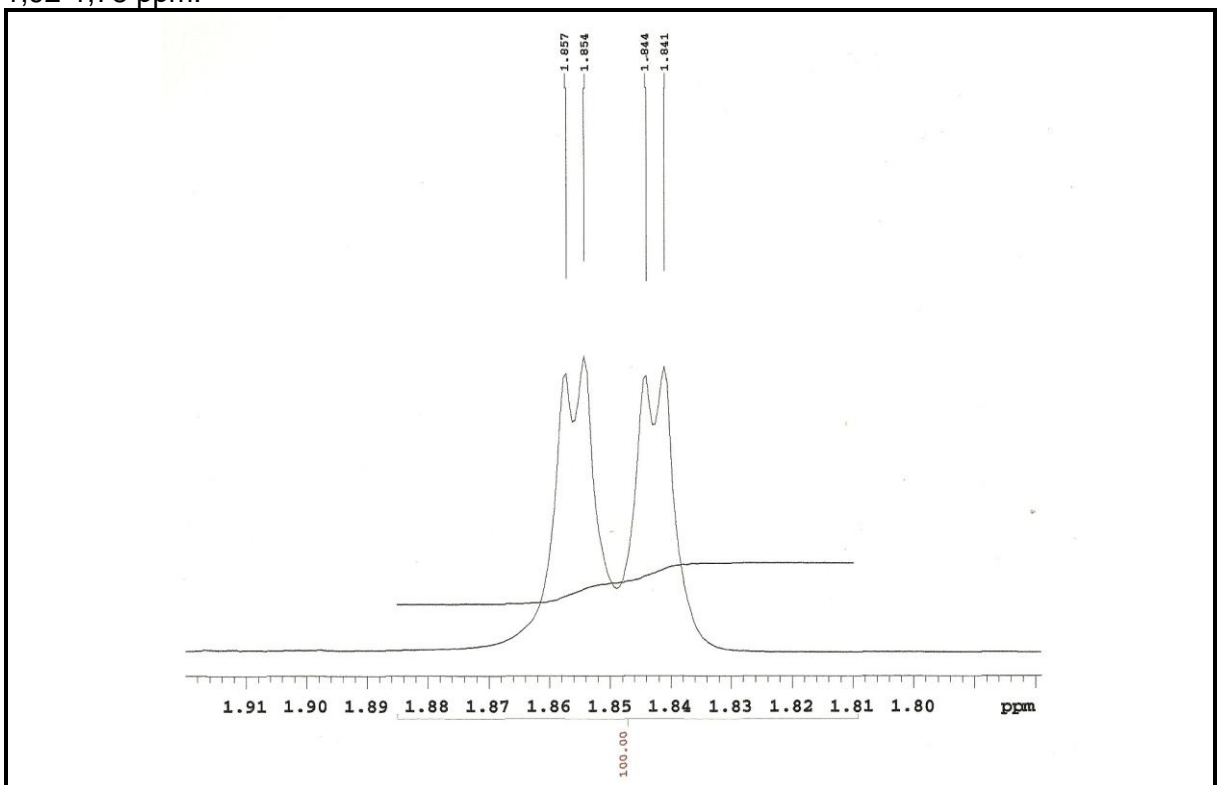


Figura 34- Espectro HMQC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-2*.

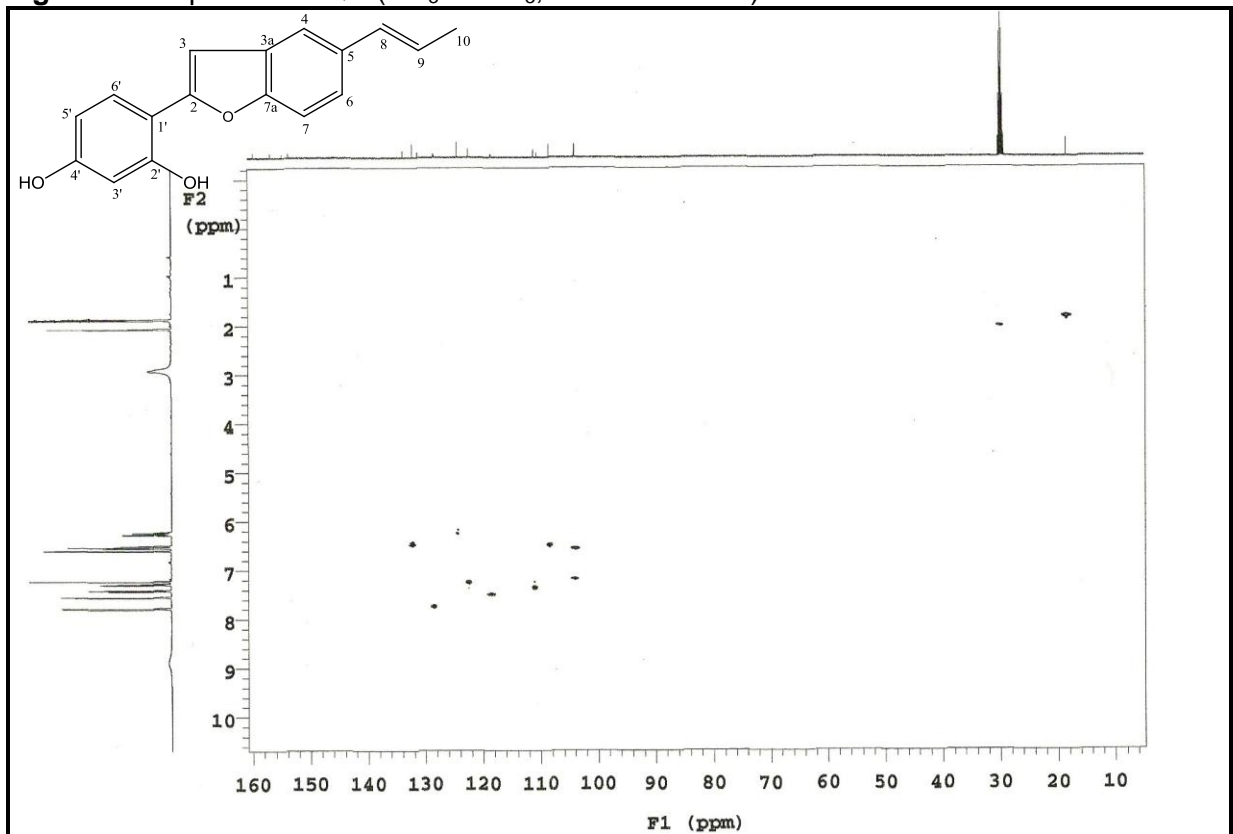


Figura 35- Expansão do espectro HMQC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-2* na região de (135-101 ppm) x (8,5-5,5 ppm).

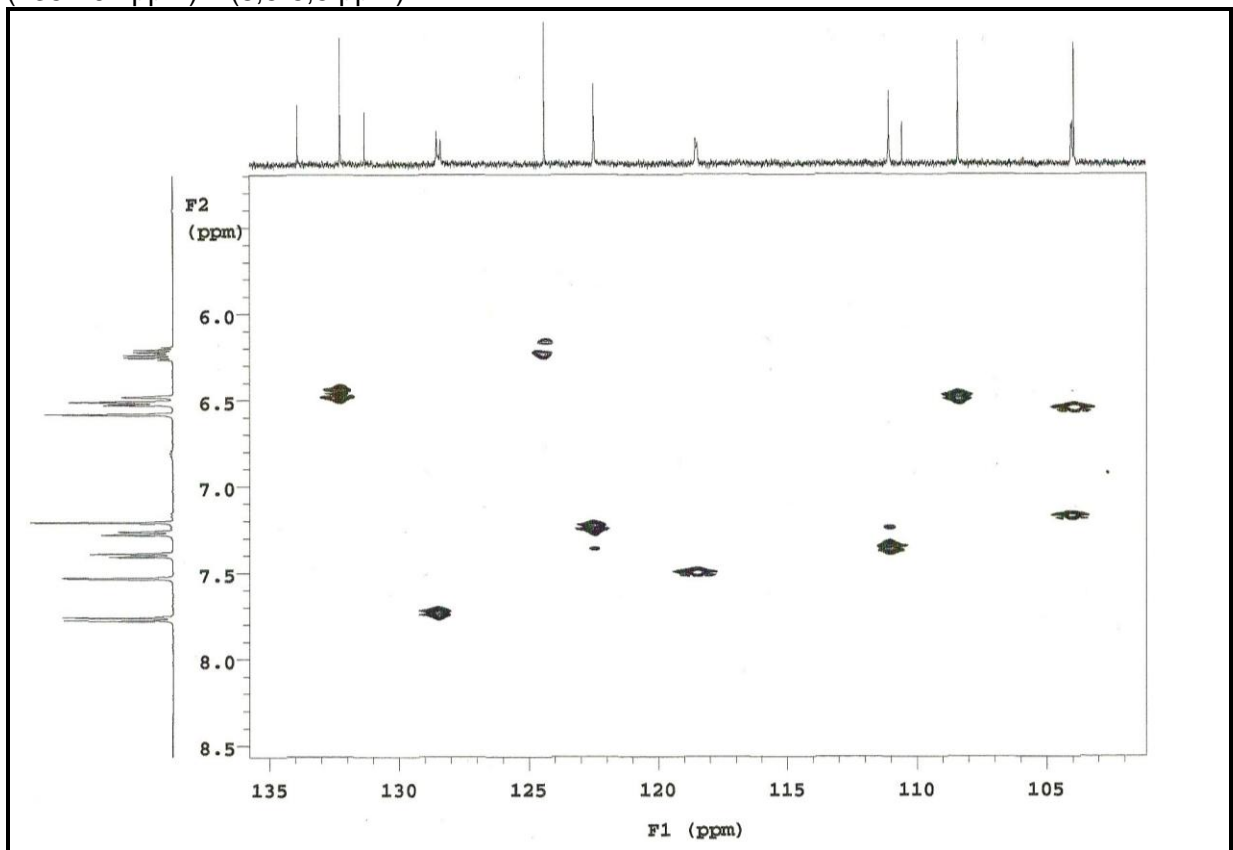


Figura 36- Expansão do espectro HMQC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-2* na região de (33-15 ppm) x (2,7-1,3 ppm).

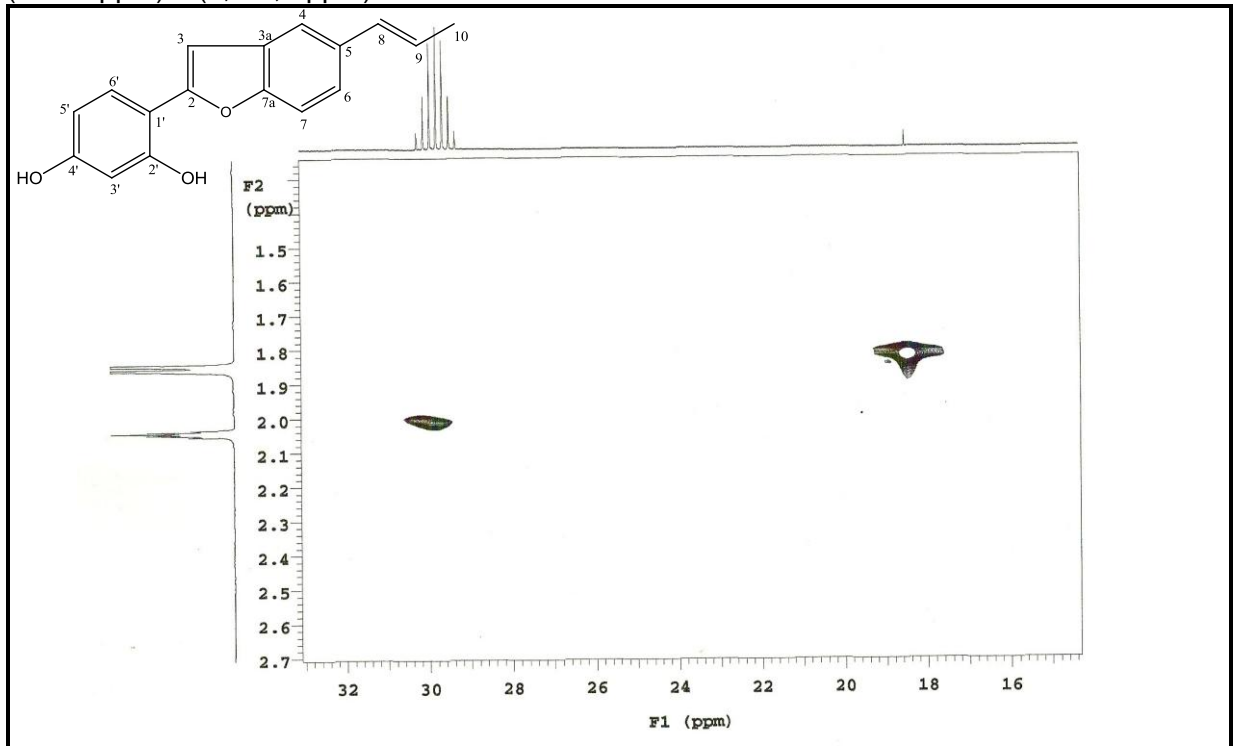


Figura 37- Espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-2*.

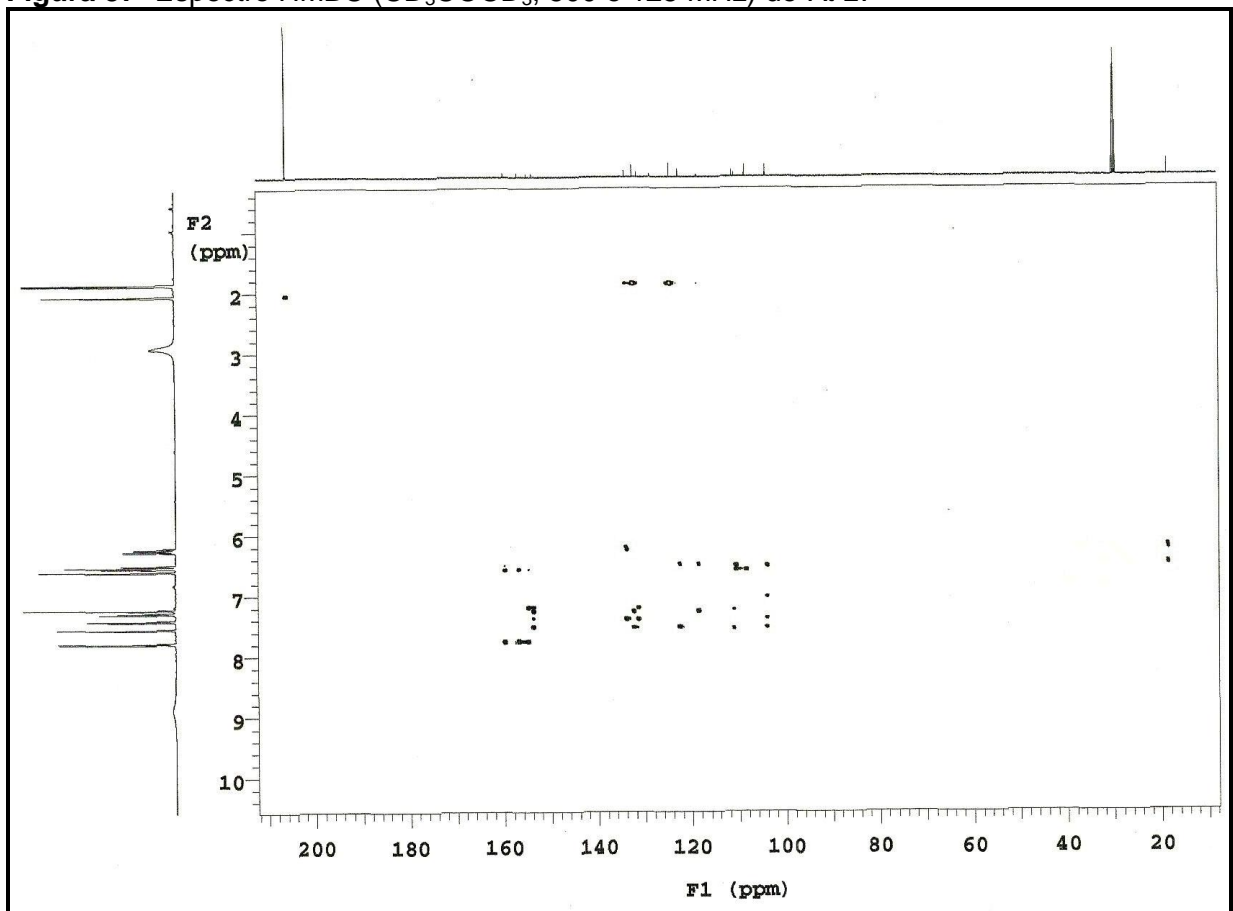


Figura 38- Expansão do espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-2* na região de (161-153 ppm) x (8,0-6,3 ppm).

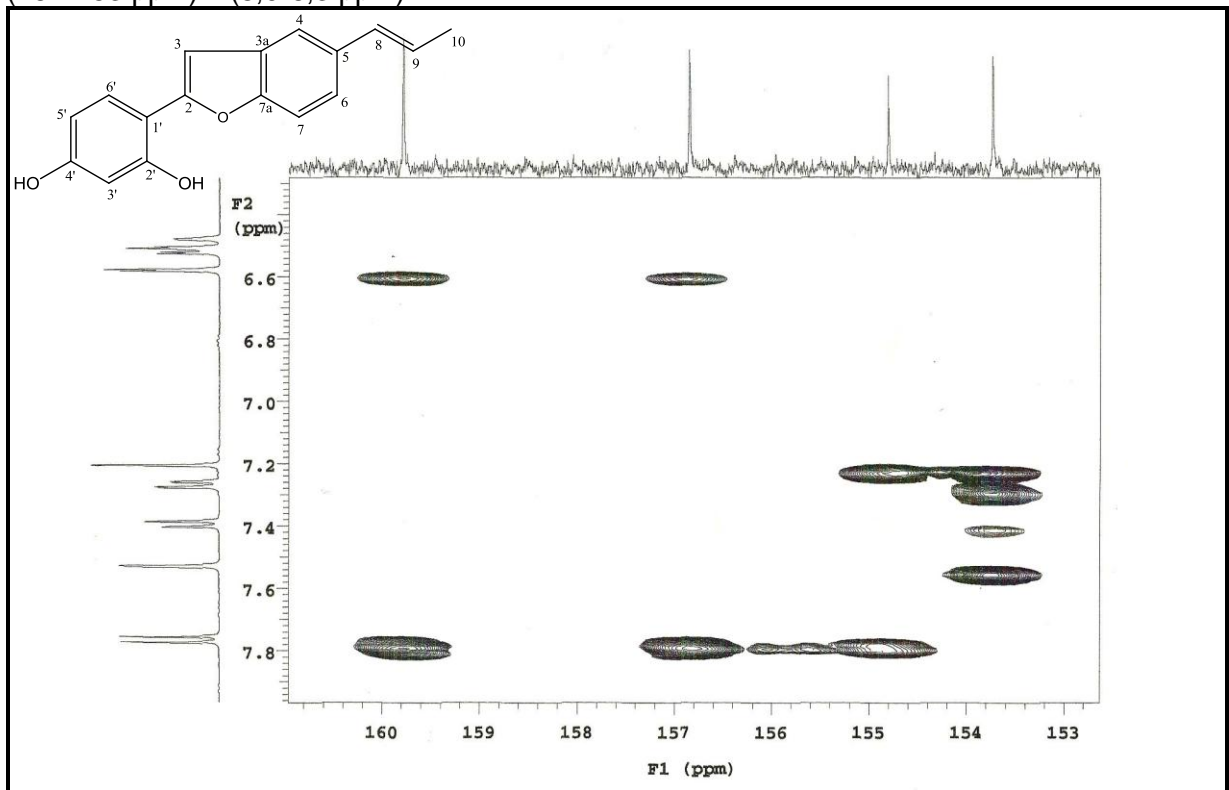


Figura 39- Expansão do espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-2* na região de (137-102 ppm) x (7,9-6,0 ppm).

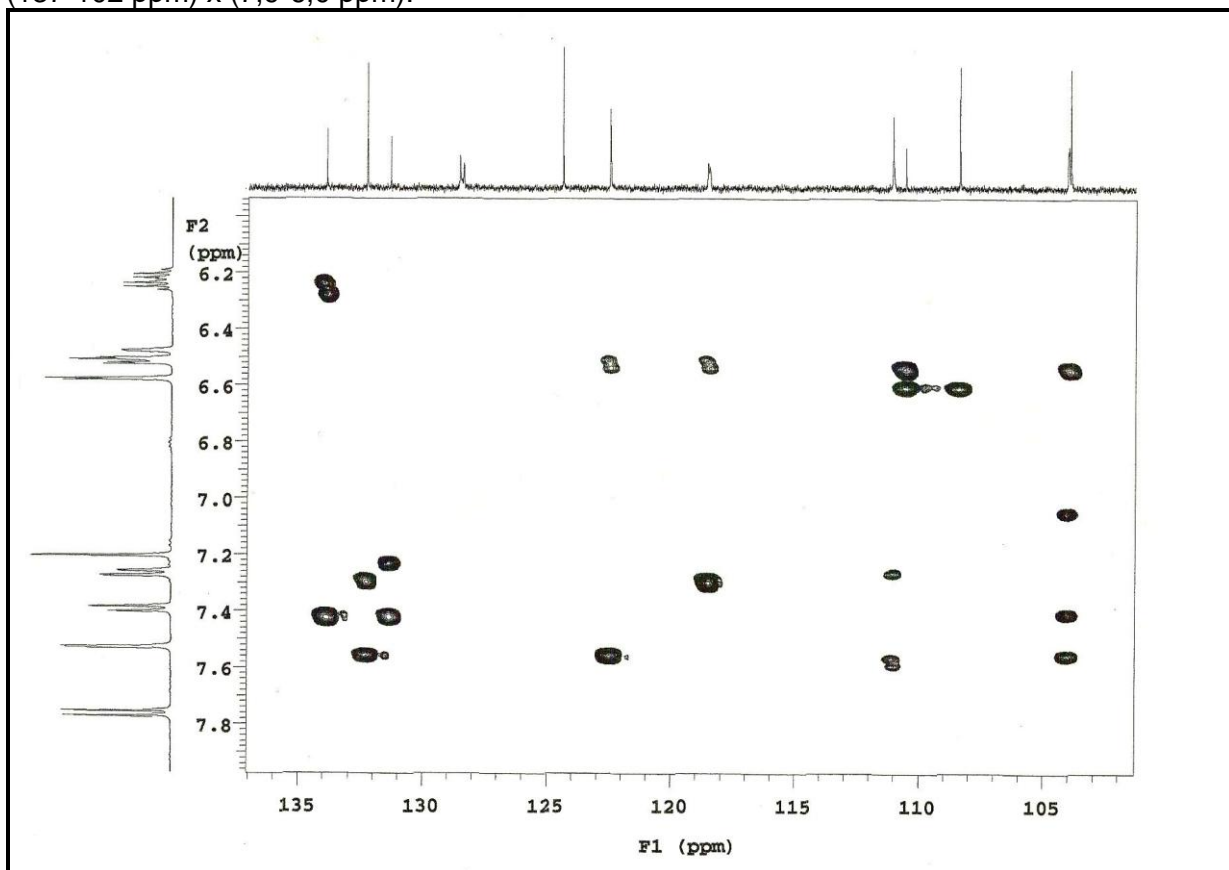


Figura 40- Expansão do espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-2* na região de (113-103 ppm) x (6,8-6,3 ppm).

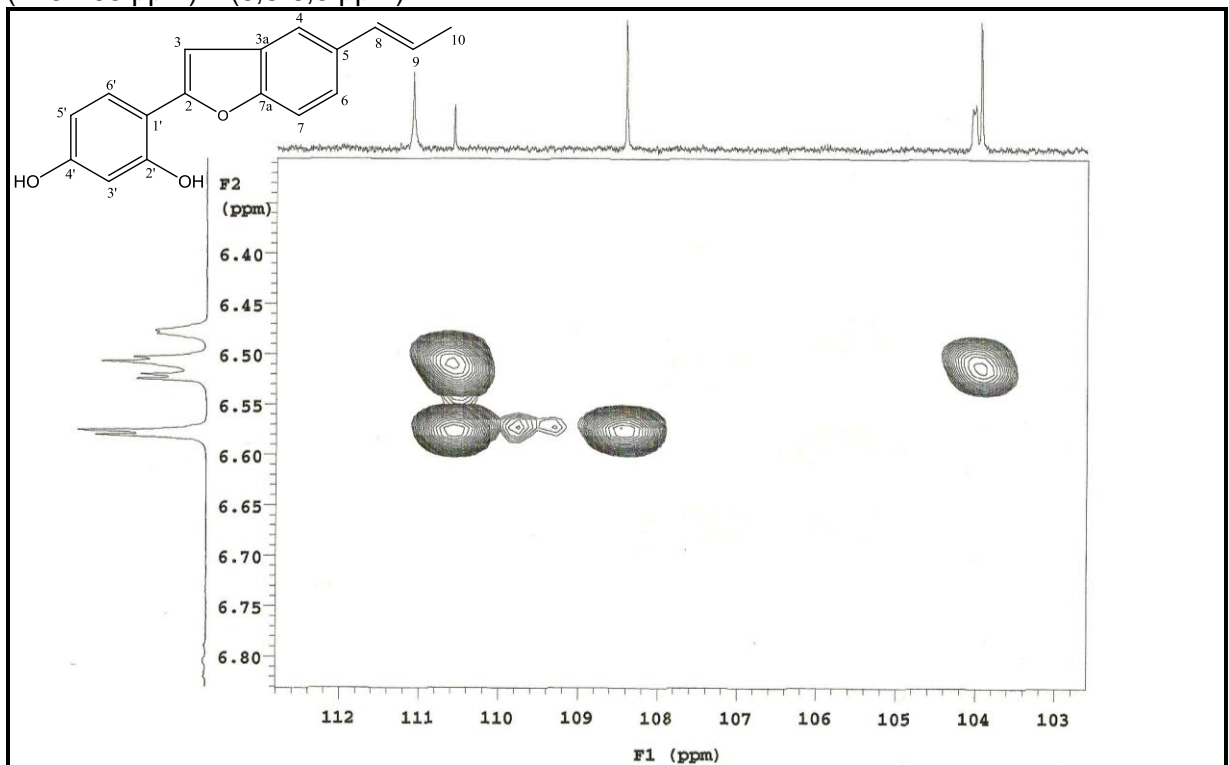


Figura 41- Espectro COSY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-2*.

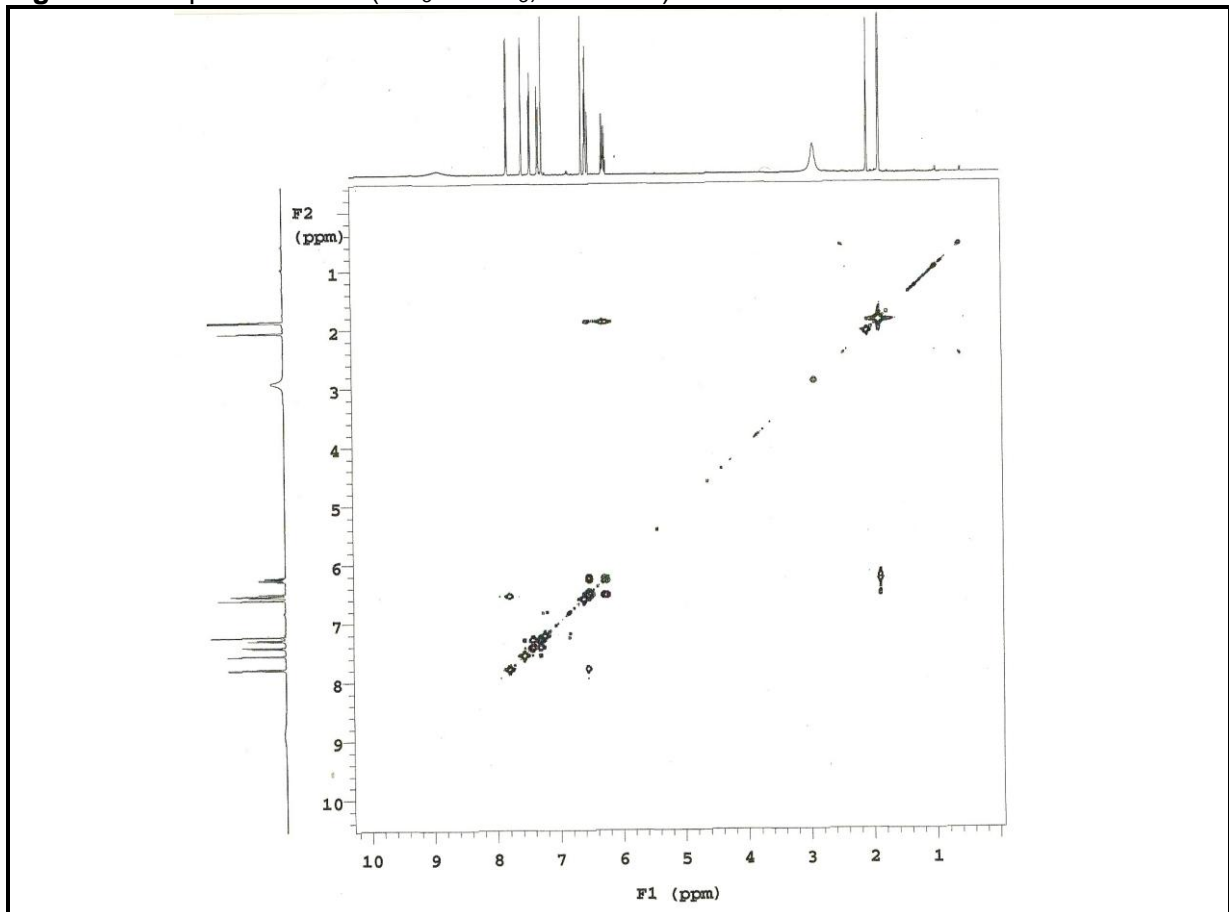


Figura 42- Expansão do espectro COSY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-2* na região de (8,0-6,0 ppm) x (8,0-6,0 ppm).

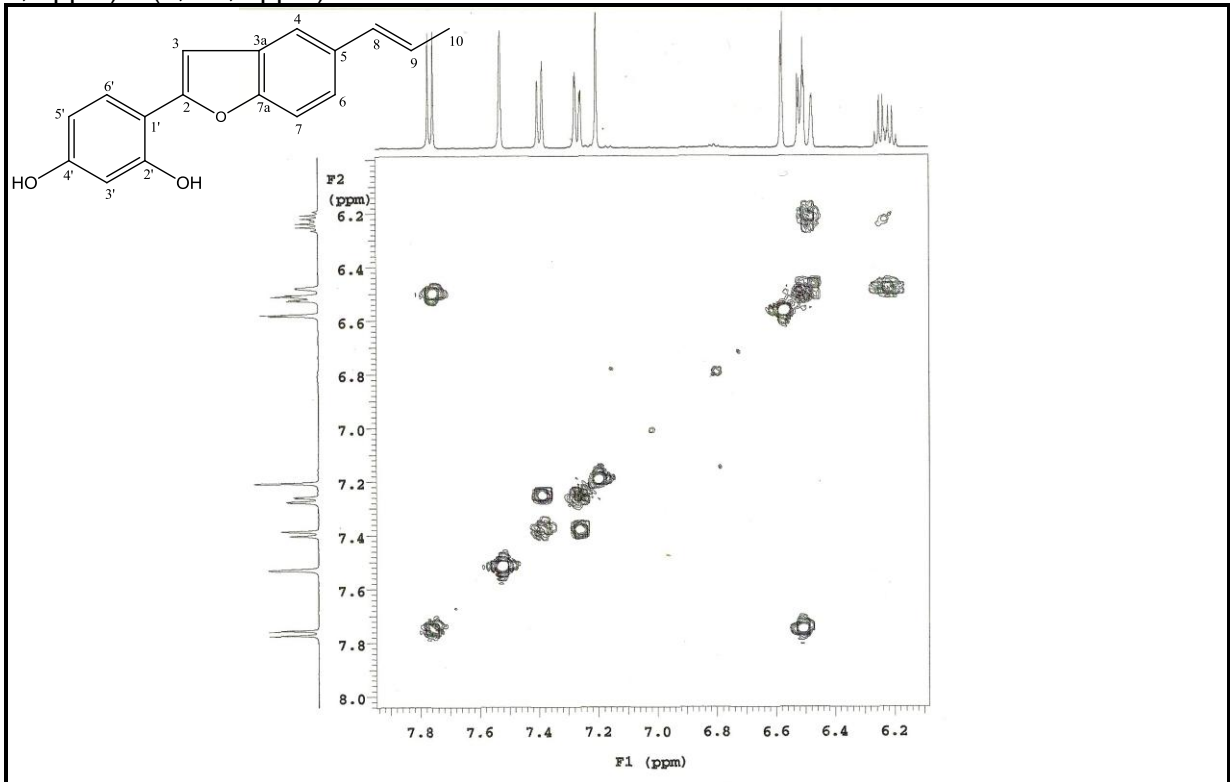


Figura 43- Espectro NOESY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-2*.

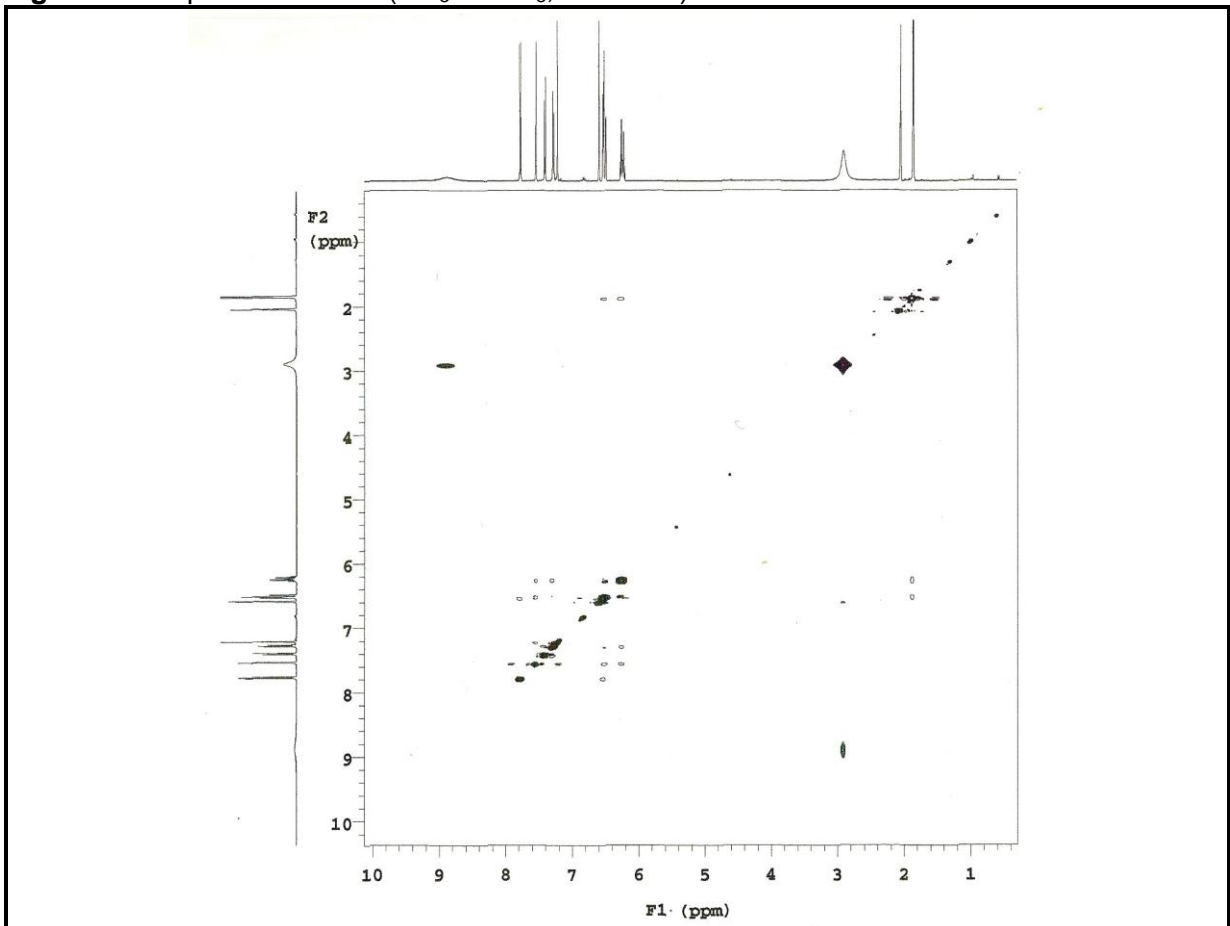
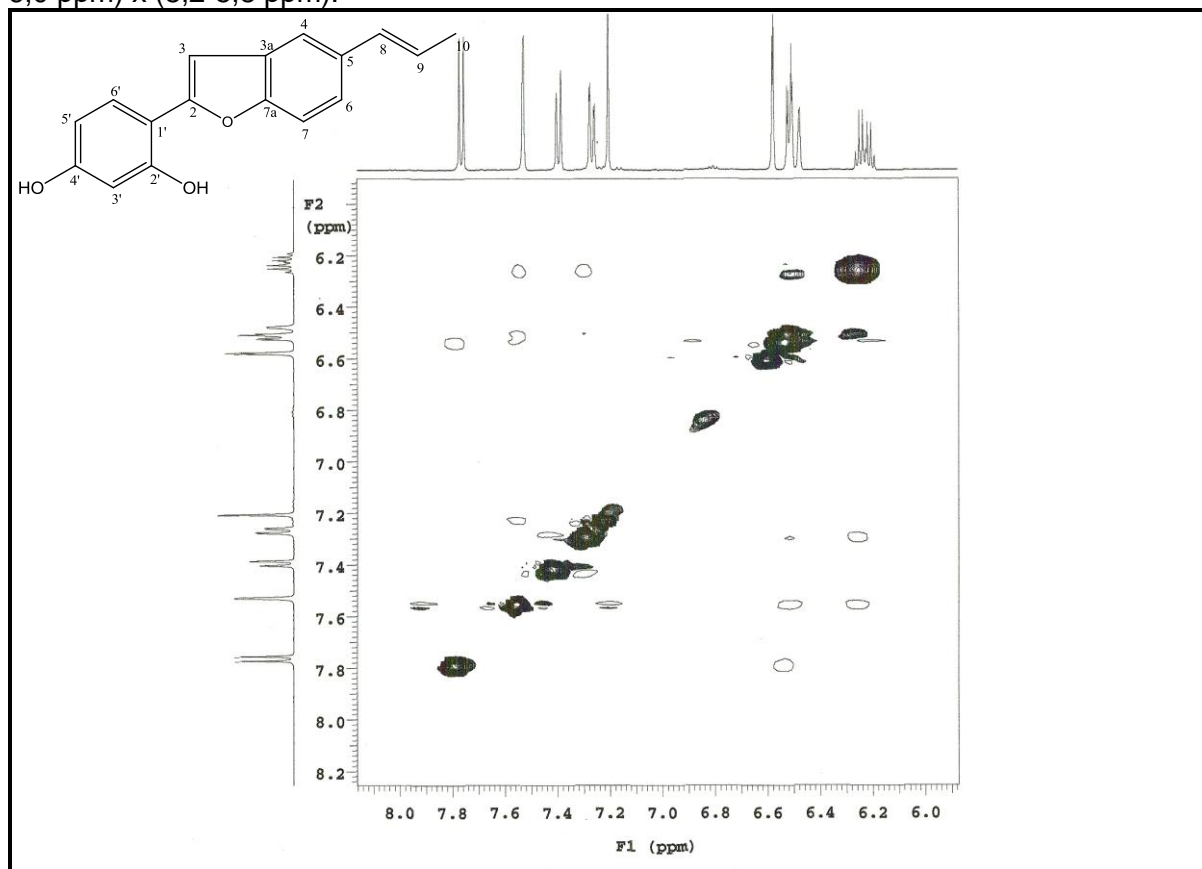


Figura 44- Expansão do espectro NOESY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-2* na região de (8,2-6,0 ppm) x (8,2-5,8 ppm).



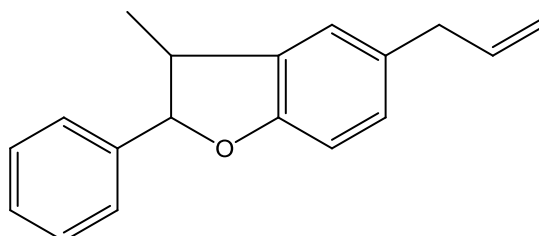
5.3. Determinação Estrutural de *Kt-3*

A substância codificada como *Kt-3* foi isolada na forma de um óleo laranja com massa de 26,2 mg ($0,75 \cdot 10^{-3}$ % em relação à massa da planta seca e pulverizada). O espectro de massas de alta resolução utilizando o modo ESI+ (Figura 47, pág. 92), mostrou o pico da molécula protonada em m/z 327,1540 $[\text{M}+\text{H}]^+$ compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_4$ (calc. 326,1518).

O espectro de IV obtido em KBr (Figura 48, pág. 92) mostrou absorções em 3447 e entre 1329-1032 cm^{-1} características de estiramento O-H e C-O, respectivamente, bem como bandas de estiramento de C=C aromático entre 1605-1452 cm^{-1} (SILVERSTEIN *et al.*, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) (Figuras 49 e 50, pág. 93) mostrou 20 sinais correspondentes a 7 carbonos não hidrogenados, sendo 5 oxigenados, 8 carbonos metínicos, 2 carbonos metilênicos, 1 carbono metílico e 2 carbonos oximetílicos. Ao contrário das substâncias relatadas anteriormente, *Kt-3*

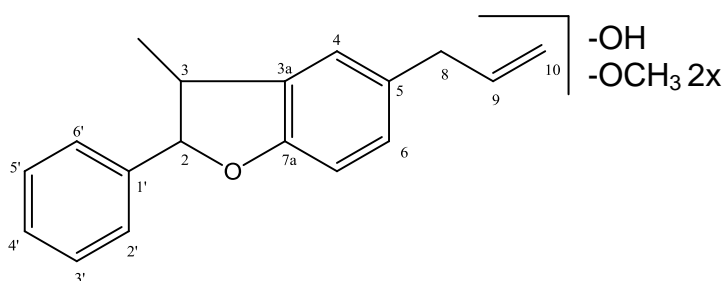
apresentou absorções de carbonos metínicos sp^3 em δ_C 45,7 (C-3) e em 93,6 (C-2), compatíveis com esqueleto de uma neolignana diidrobenzofurânica (ACHENBACH *et al.*, 1987). Os deslocamentos de carbonos metilênicos em δ_C 40,1 (C-8) e δ_C 115,5 (C-10) e de carbono metínico em δ_C 137,86 (C-9) caracterizaram o radical alila.



Neolignana diidrobenzofurânica

Absorções características desse esqueleto também foram observadas no espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (Figura 51, pág. 94) e em suas expansões (Figuras 52 e 53, pág. 94 e 95), onde verificou-se a presença de um duplete em δ_H 5,05 ($J = 9,0$ Hz), referente ao hidrogênio oximetínico H-2, um quinteto em δ_H 3,42, atribuído a H-3 e o duplete em δ_H 1,35 ($J = 7,0$ Hz) referente aos hidrogênios de Me-3¹. O grupo alila foi confirmado pela presença do duplete em δ_H 3,33 ($J = 7,0$ Hz), do multiplete em δ_H 5,95 e do duplete em δ_H 5,08 ($J = 15,0$ Hz) correspondente à H-8, H-9 e H-10, respectivamente. Observou-se ainda, um simpleto em δ_H 3,85, com integral para seis hidrogênios, equivalente a duas metoxilas, e em δ_H 5,26, com integral para um hidrogênio, referente à hidroxila fenólica.

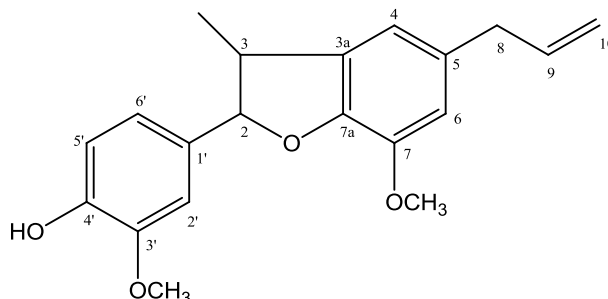
Dessa forma, foi possível estabelecer a estrutura de *Kt-3* com três substituintes oxigenados, sendo uma hidroxila e duas metoxilas.



Ainda no espectro de RMN 1H , observou-se na região de hidrogênios em sistemas aromáticos dois dupletos, um em δ_H 6,87 (H-6', $J = 10,0$ Hz) e outro 6,86 (H-5', $J = 10,0$ Hz) e de três simpletos em δ_H 6,96 (H-2'), 6,61 (H-6) e 6,58 (H-4). A soma das informações obtidas nesse espectro, dos dados de RMN de ^{13}C e dos dados presentes na literatura permitiram sugerir a proposta **A** (Figura 45, pág. 89)

para *Kt-3*, com as metoxilas inseridas nos carbonos C-7 e C-3' e a hidroxila no carbono C-4' (MORAIS *et al.*, 2009).

Figura 45- Proposta estrutural **A** para *Kt-3*.



O espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl₃) (Figura 54, pág. 95) e suas expansões (Figura 55 e 56, pág. 96) mostraram as correlações dos sinais em δ_H 6,96 (H-2') com δ_C 119,9 atribuído ao C-2', em δ_H 6,87 (H-6') com δ_C 108,9 atribuído ao C-6', δ_H 6,86 (H-5') com δ_C 146,6 atribuído ao C-5', δ_H 6,61 (H-6) com δ_C 109,2 atribuído ao C-6 e δ_H 6,58 (H-4) com δ_C 115,6 atribuído ao C-4. As demais correlações diretas estão compiladas na Tabela 3 (pág. 92).

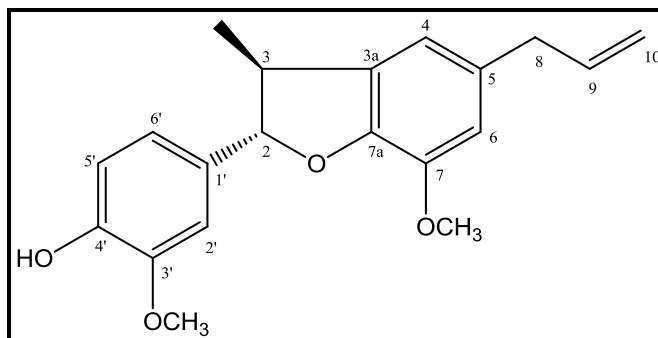
No espectro de HMBC (Figuras 57, 58, 59 e 60, pág. 97 e 98) observou-se as correlações do duplete em δ_H 5,07 (Me-3¹) com o carbono não hidrogenado em δ_C 133,2, atribuindo esse sinal para C-3a. Também foi observado a correlação entre os sinais em δ_H 6,96 (H-2'), 6,86 (H-5') e 6,87 (H-6') com o carbono não hidrogenado oxigenado em δ_C 145,7, atribuindo esse deslocamento a C-4'. A correlação a três ligações (³J) entre o simpleto em δ_H 3,85, correspondente aos hidrogênios das metoxilas das posições 3' e 7, com os sinais em δ_C 114,0 (C-3') e 144,0 (C-7), bem como a correlação do primeiro (C-3') com os hidrogênios em δ_H 6,96 (H-2') e 6,86 (H-5') e do segundo (C-7) com o hidrogênio em δ_H 6,60 (H-6) confirmaram as posições das metoxilas em C-3' e C-7'.

A determinação da configuração relativa foi baseada na análise da constante de acoplamento de H-2 ($J = 9,0$ Hz), que indica uma relação *trans* entre Me-3¹ e o anel aromático em C-2, bem como por comparação com dados da literatura (MORAIS *et al.*, 2009), ficando estabelecida a configuração 2S e 3S.

Os espectros de correlação homonuclear COSY (Figuras 61, 62 e 63 pág. 99 e 100) e NOESY (Figuras 64, 65 e 66, pág. 101 e 102) confirmaram as atribuições da literatura (MORAIS *et al.*, 2009) para a neolignana (2S, 3S)-2,3-diidro-2-(3'-

metoxi-4'-hidroxifenil)-3-metil-5-alil-7-metoxi-benzofurano, de nome trivial diidrocarinatidina (Figura 46, pág. 90).

Figura 46- Estrutura química de *Kt-3*: (2*S*, 3*S*)-2,3-diidro-2-(3'-metoxi-4'-hidroxifenil)-3-metil-5-alil-7-metoxi-benzofurano (diidrocarinatidina).



Os dados espectrais obtidos para *Kt-3* estão expostos na Tabela 3 (pág. 91). Esta substância foi isolada originalmente de *Viola carinata* (Myristicaceae) (KAWANISHI *et al.*, 1983) e está sendo relatada pela primeira vez na família Krameriaceae.

Tabela 3- Dados verificados nos espectros de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CDCl_3 de *Kt-3* e comparação com dados de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em CDCl_3 da literatura (MORAIS *et al.*, 2009) (δ em ppm, J em Hz).

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY	Literatura (MORAIS <i>et al.</i> , 2009)	
	δ_{C}	δ_{H}	2J	3J			δ_{C}	δ_{H}
3a	133,1			Me-3 ¹			-	
5	133,4		H-8				133,5	
7	144,0		H-6	OMe-7			144,0	
7a	145,7			H-6			-	
1'	132,1		H-2'; H-6'	H-5'			132,2	
3'	146,6		H-2'	H-5'; OMe-3'			146,7	
4'	145,7		H-5'	H-2'; H-6'			145,7	
CH								
2	93,6	5,05 (<i>d</i> , 1H, $J=9,0$)		H-2'; H-6'; Me-3 ¹	H-3	H-2'; Me-3 ¹	93,7	5,09 (<i>d</i> , 1H, $J=10,0$)
3	45,7	3,42 (<i>m</i> , 1H)	Me-3 ¹ ; H-2	H-4		Me-3 ¹	45,8	3,50-3,45 (<i>m</i> , 1H)
4	115,6	6,58 (<i>s</i> , 1H)				Me-3 ¹ ; H-8	115,6	6,64 (<i>s</i> , 1H)
6	111,9	6,61 (<i>s</i> , 1H)				OMe-7	111,8	6,62 (<i>s</i> , 1H)
9	137,8	5,95 (<i>m</i> , 1H)	H-8		H-10		137,9	5,98 (<i>ddt</i> , 1H)
2'	108,9	6,96 (<i>s</i> , 1H)				OMe-3'; H-3	108,9	6,99-6,91 (<i>m</i> , 3H)
5'	114,0	6,86 (<i>d</i> , 1H, $J=10,0$)					114,0	6,99-6,91 (<i>m</i> , 3H)
6'	119,9	6,87 (<i>d</i> , 1H, $J=10,0$)		H-2		H-2	119,9	6,99-6,91 (<i>m</i> , 3H)
CH₂								
8	40,1	3,33 (<i>d</i> , 1H, $J=7,0$)			H-10		40,2	3,37 (<i>d</i> , 1H, $J=6,5$)
10	115,5	5,08 (<i>d</i> , 1H, $J=15,0$)			H-8		-	5,17-5,06 (<i>m</i> , 1H)
CH₃								
Me-3 ¹	17,4	1,35 (<i>d</i> , 3H, $J=7,0$)		H-2			17,4	1,38 (<i>d</i> , 3H, $J=7,0$)
OMe-								
3'/7	55,9	3,85 (<i>s</i> , 6H)					55,9	3,89 (<i>s</i> , 6H)
OH								5,31 (<i>s</i> , 1H)

Figura 47- Espectro de massas de alta resolução de *Kt-3*.

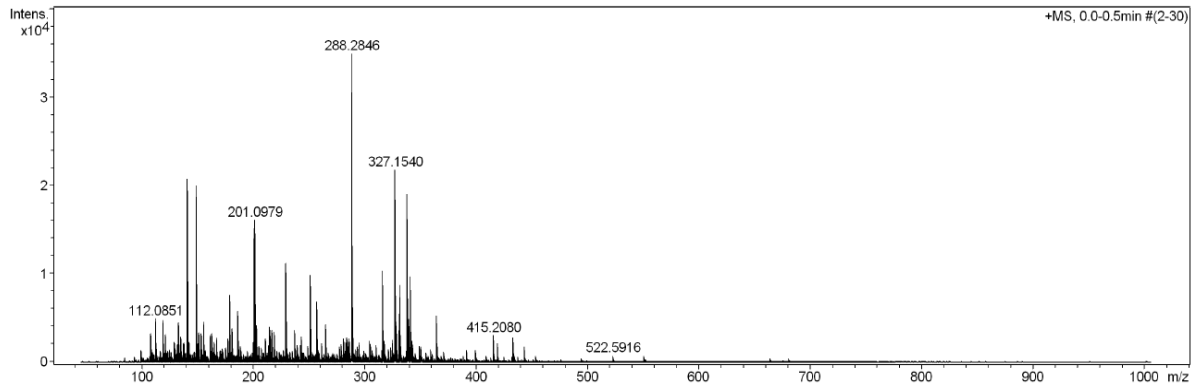


Figura 48- Espectro no Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *Kt-3*.

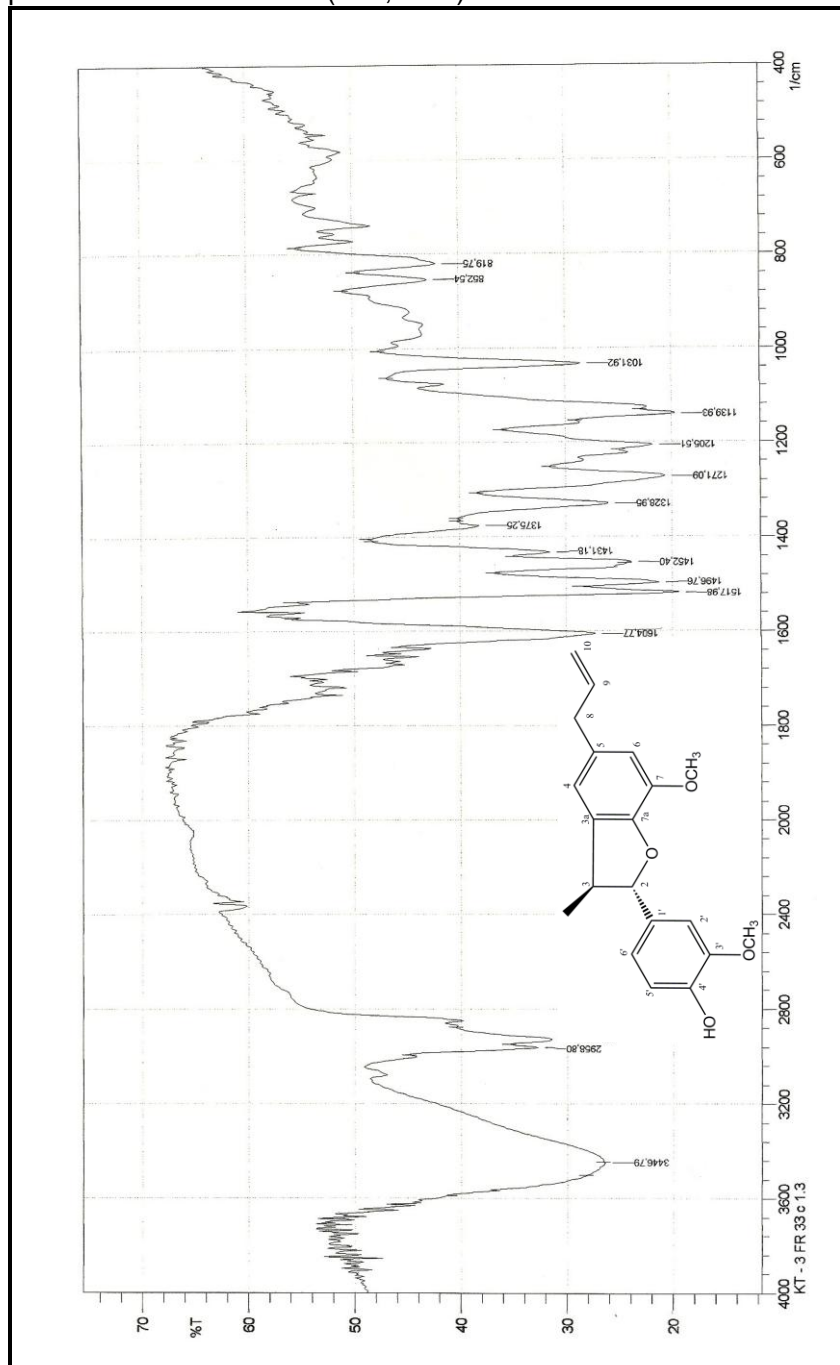


Figura 49- Espectro de RMN ^{13}C - APT (CDCl_3 , 125 MHz) de *Kt-3*.

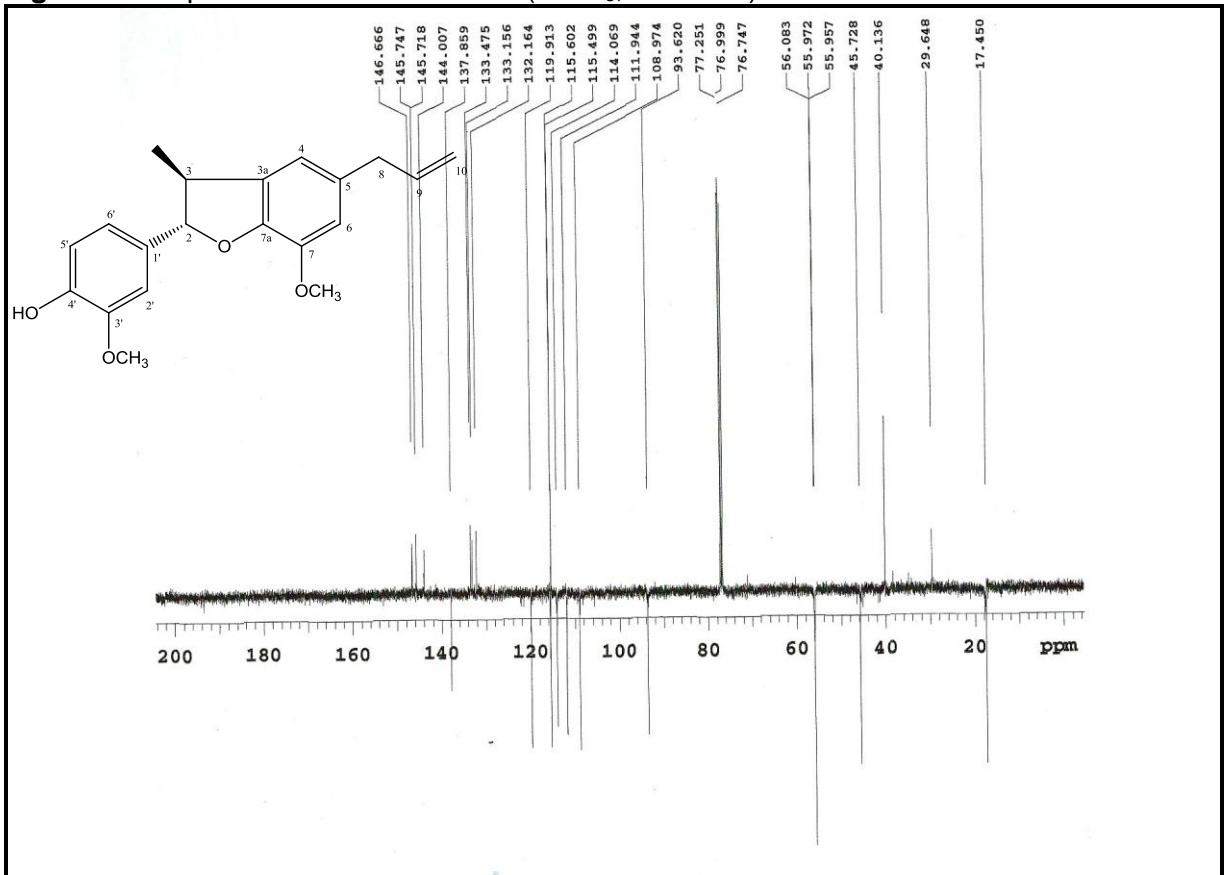


Figura 50- Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT (CDCl_3 , 125 MHz) de *Kt-3* na região de 149,0–92,0 ppm.

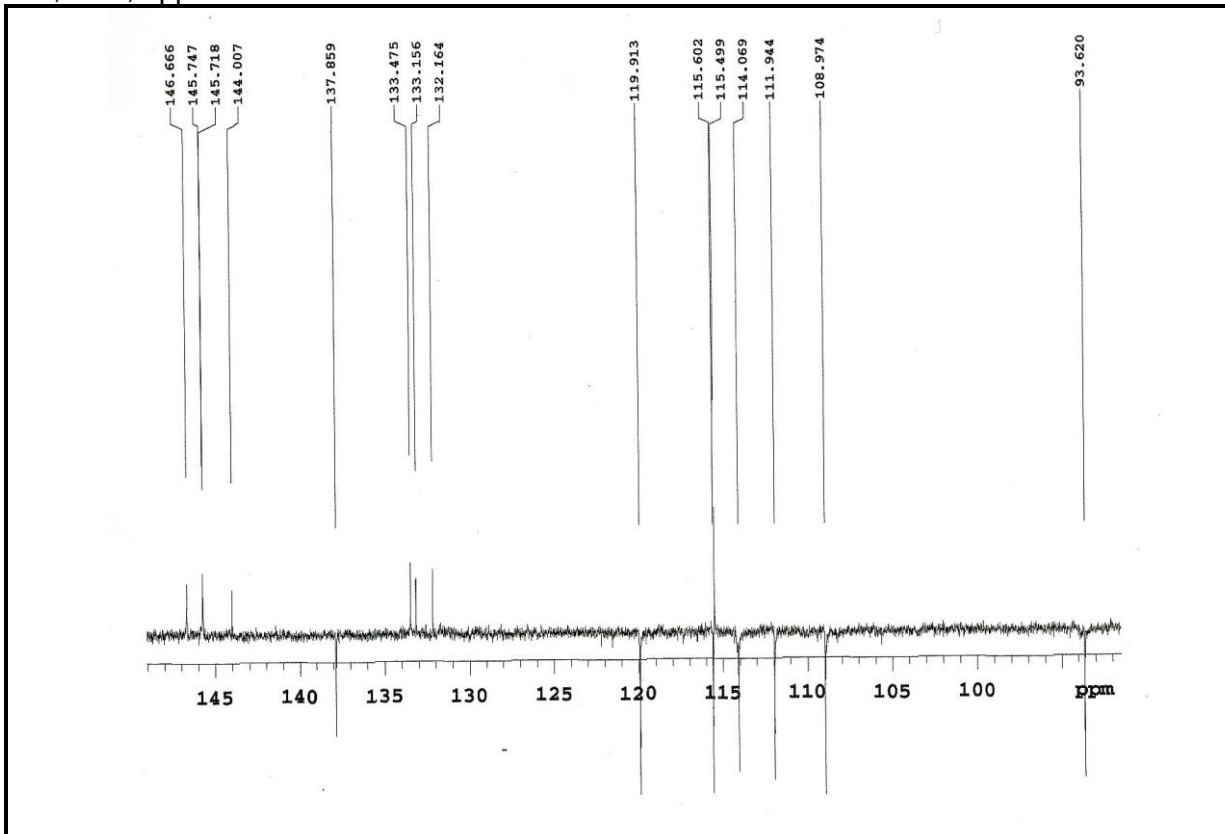


Figura 51- Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-3*.

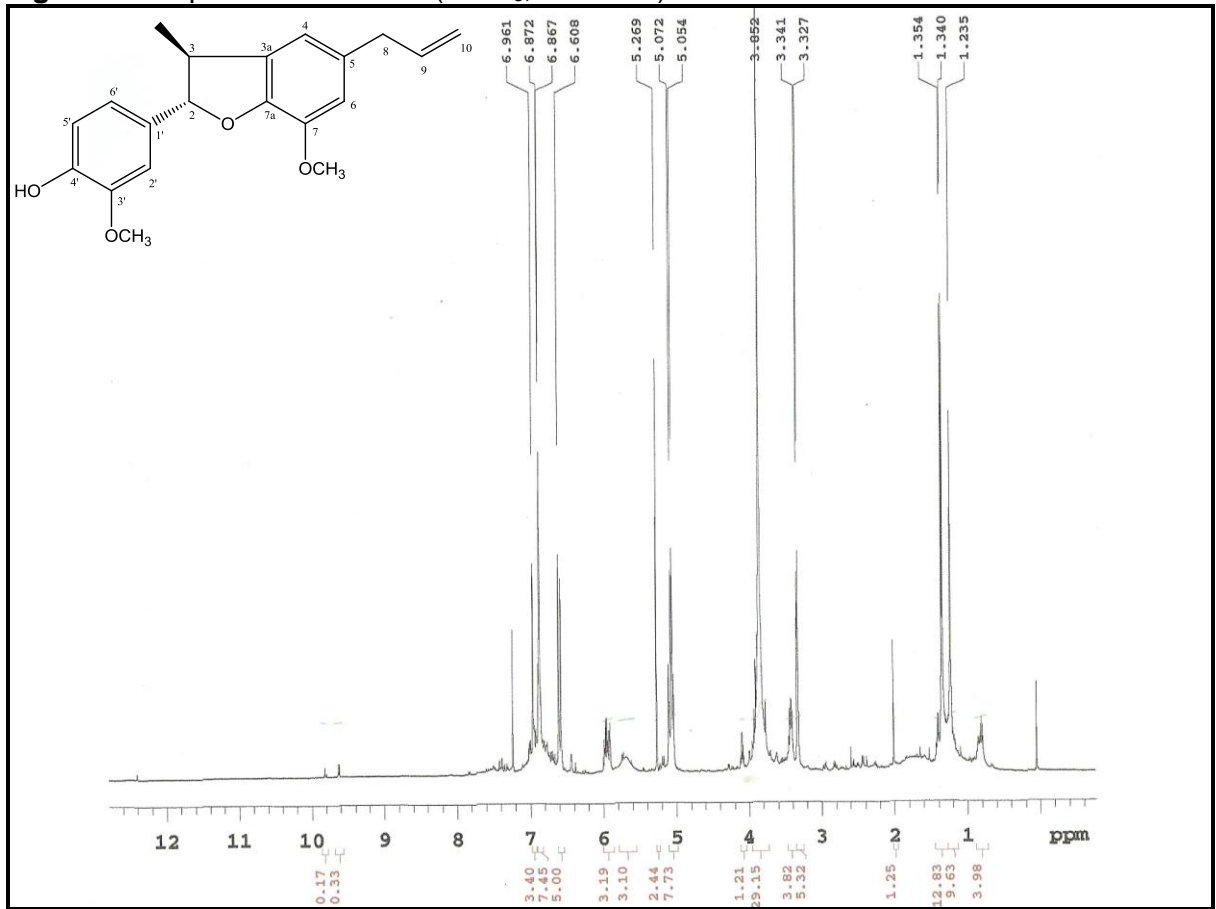


Figura 52- Expansão do espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-3* na região 7,3-5,0 ppm.

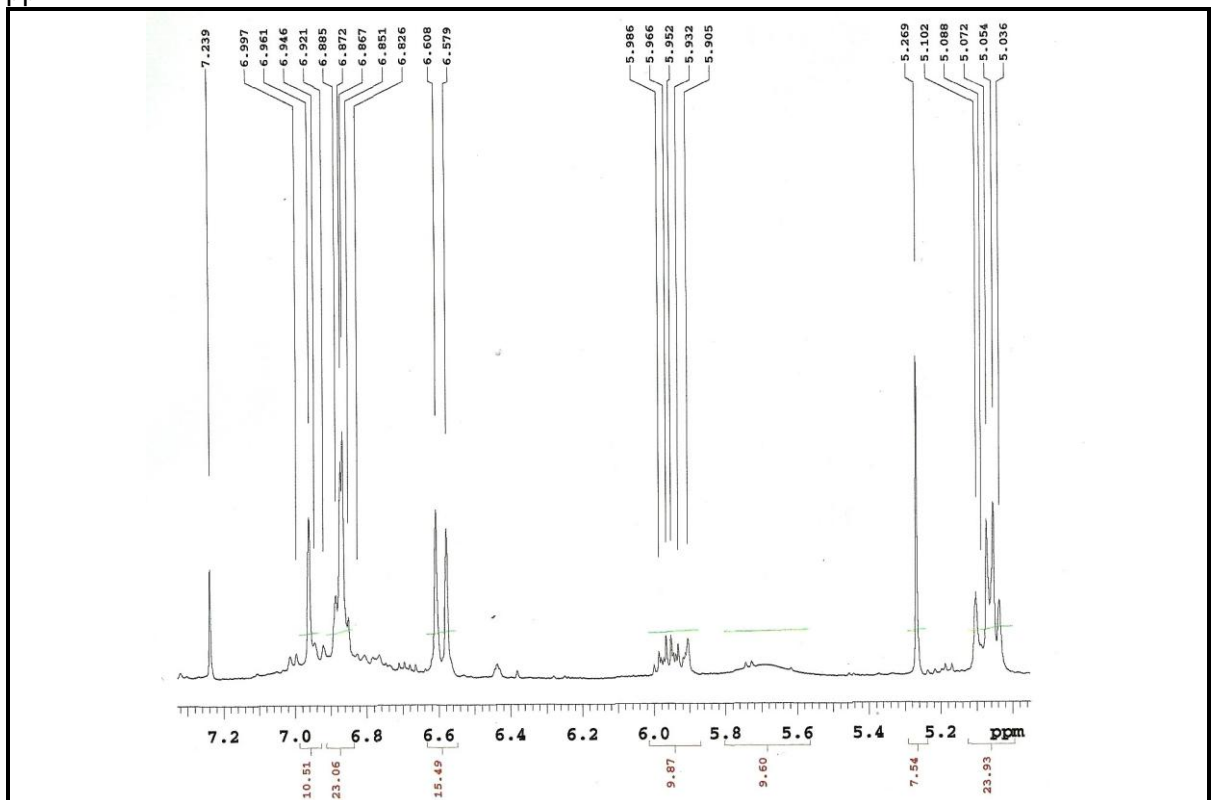


Figura 53- Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-3* na região 4,2-0,5 ppm.

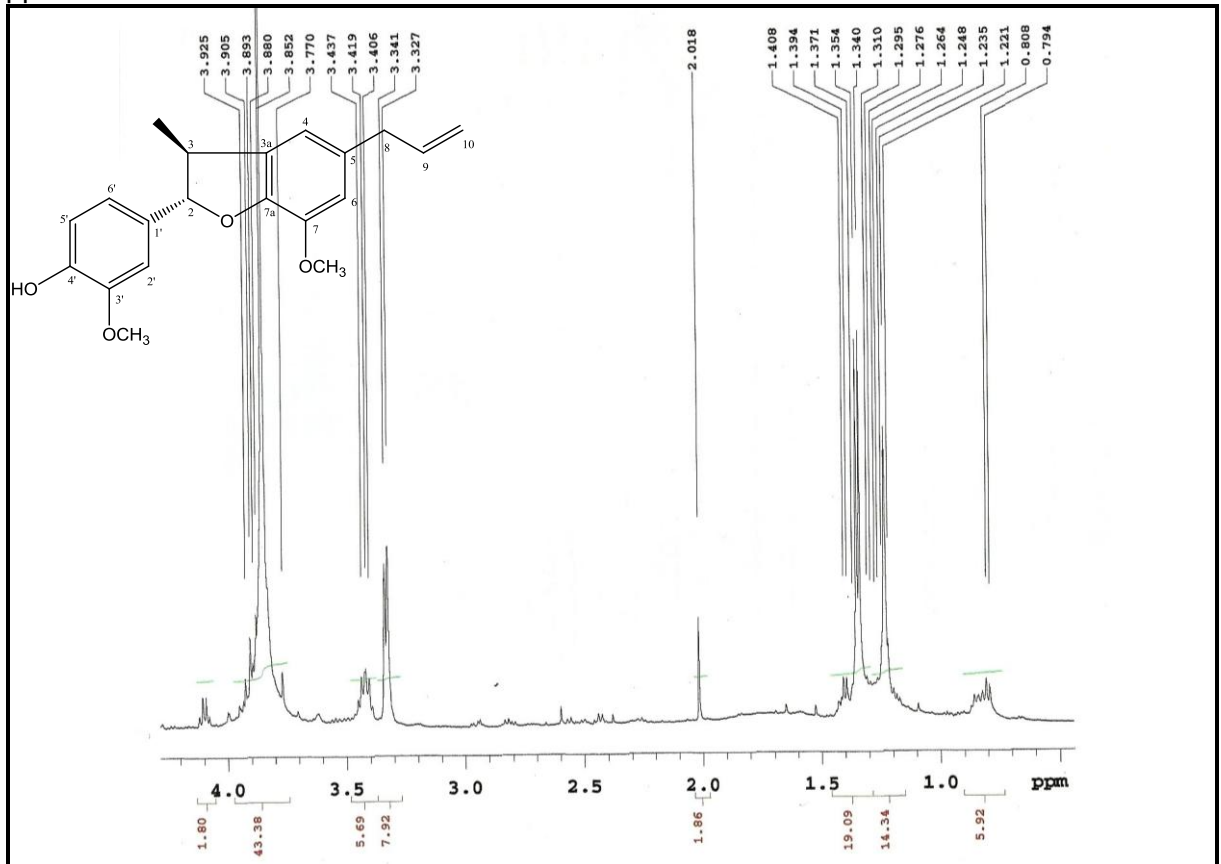


Figura 54- Espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-3*.

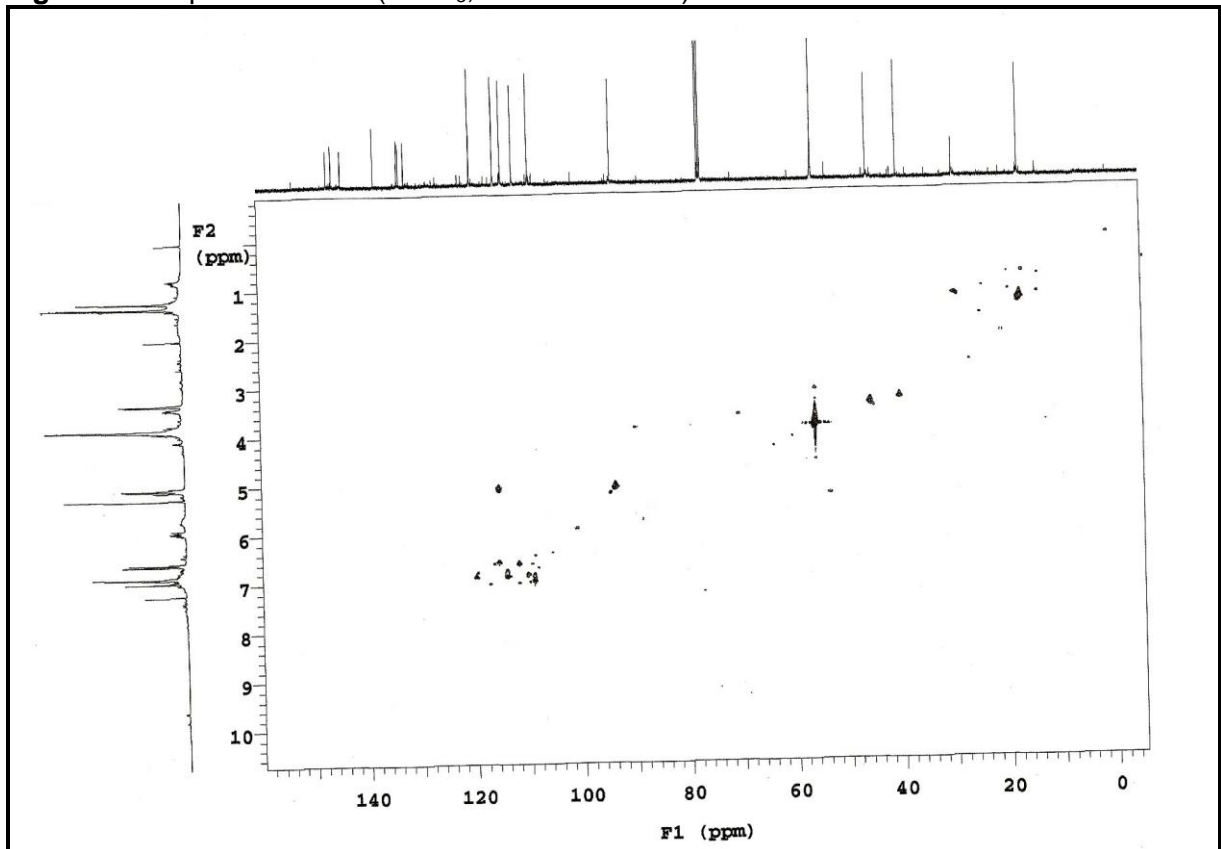


Figura 55- Expansão do espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-3* na região de (122-91 ppm) x (7,6-4,6 ppm).

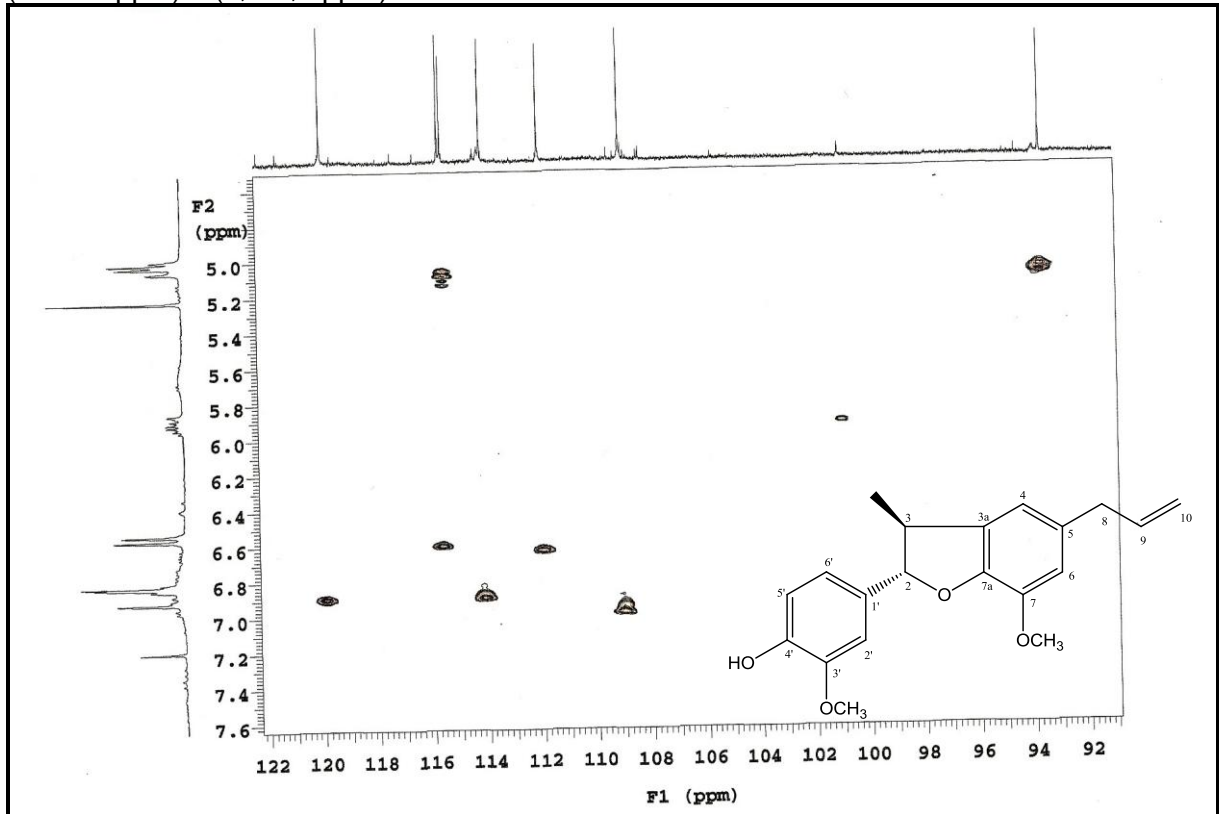


Figura 56- Expansão do espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-3* na região de (60-15 ppm) x (6,0-0,5 ppm).

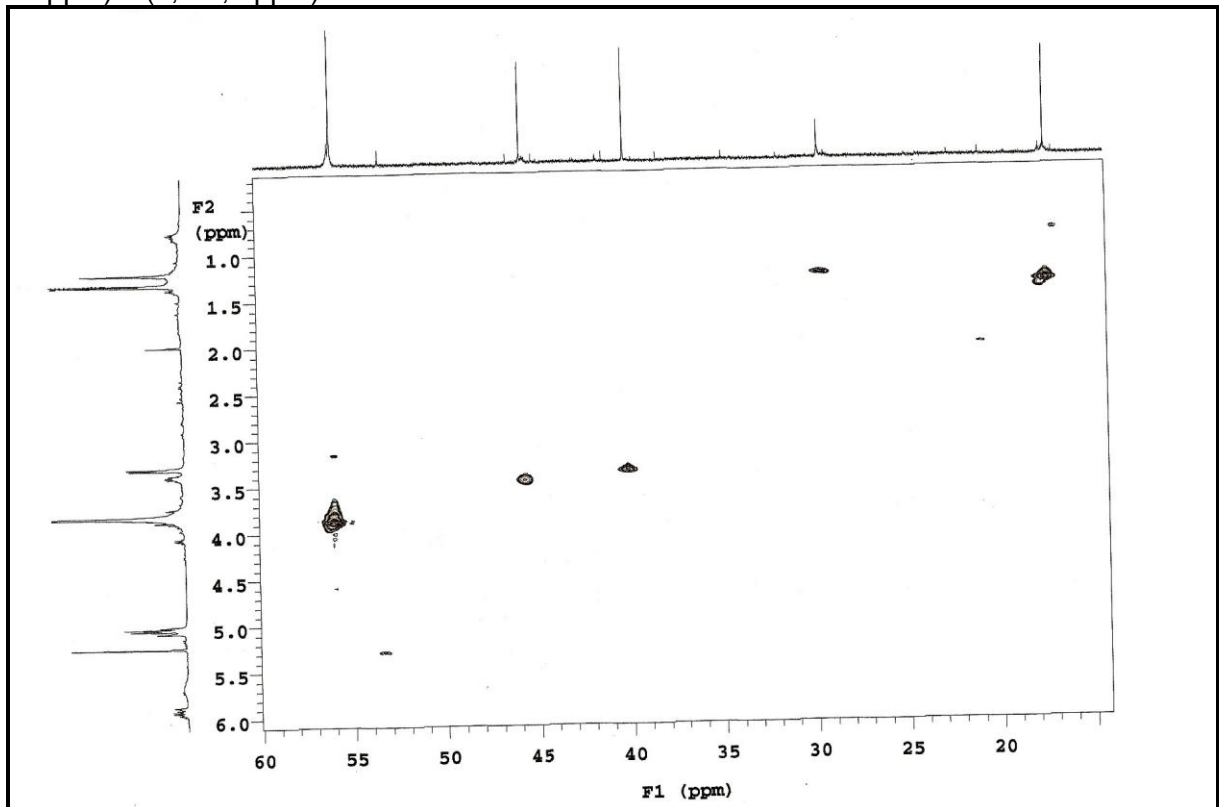


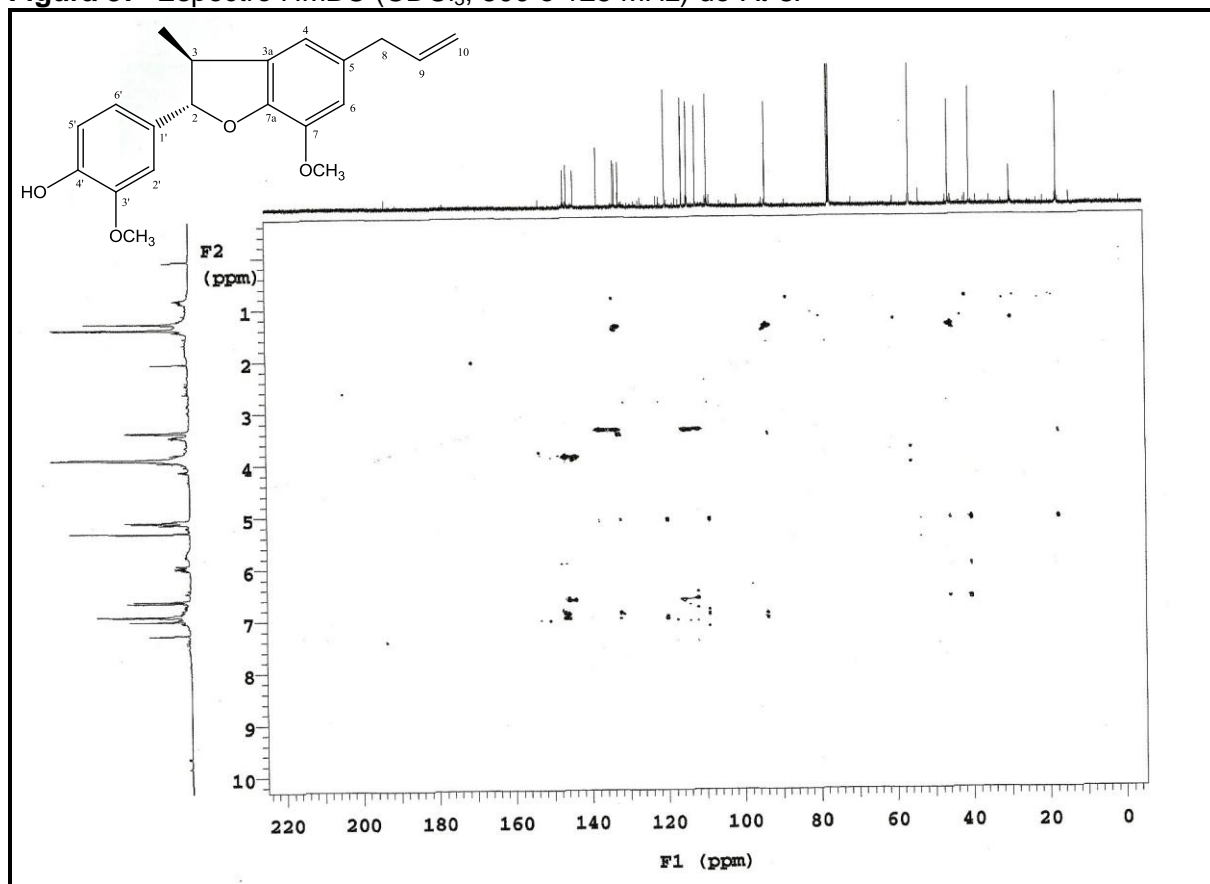
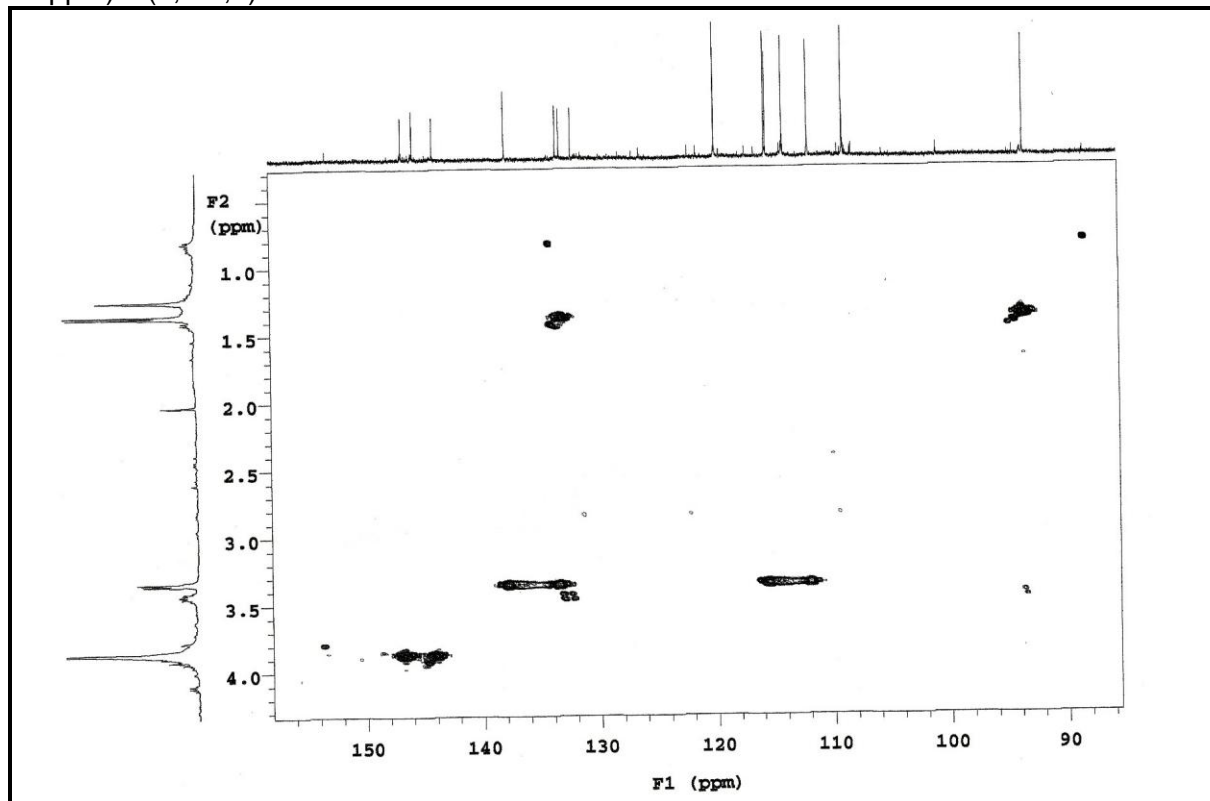
Figura 57- Espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-3*.**Figura 58-** Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-3* na região de (158-86 ppm) x (4,3-0,3).

Figura 59- Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-3* na região de (148-143 ppm) x (7,1-6,5 ppm).

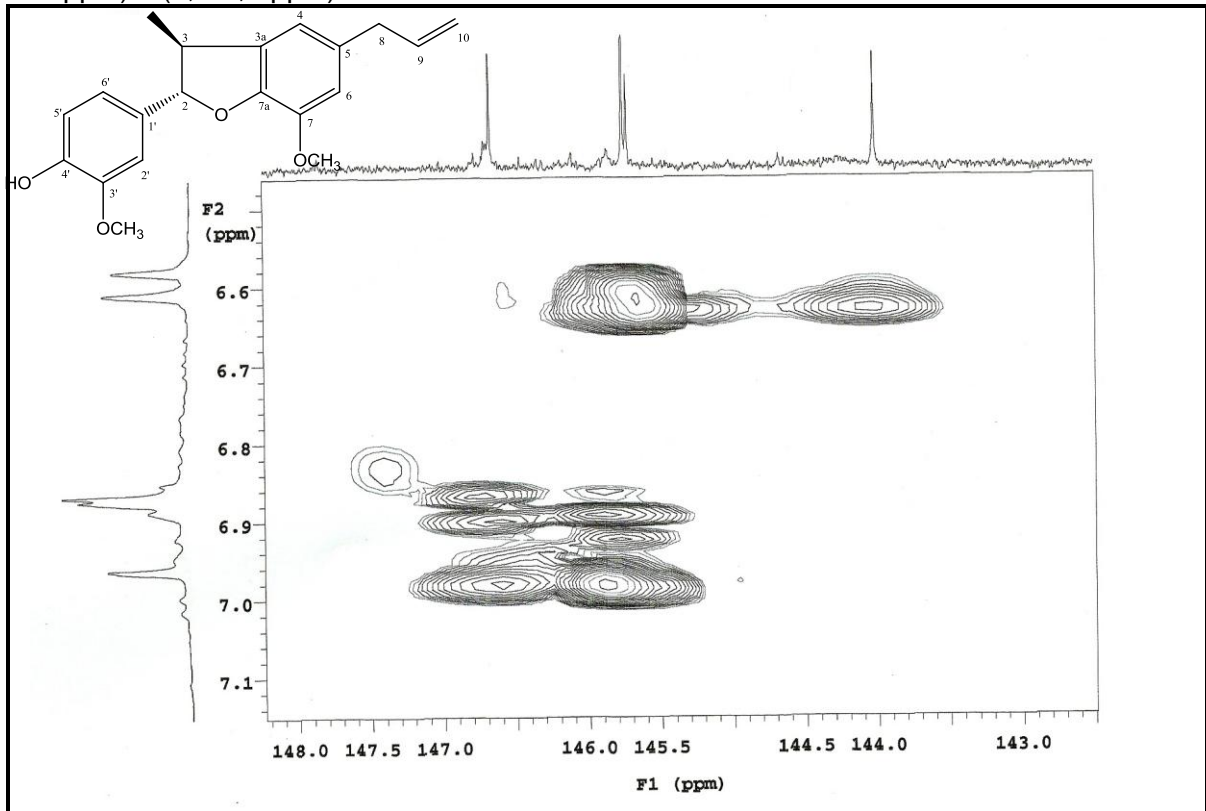


Figura 60- Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-3* na região de (86-12 ppm) x (7,0-0,5 ppm).

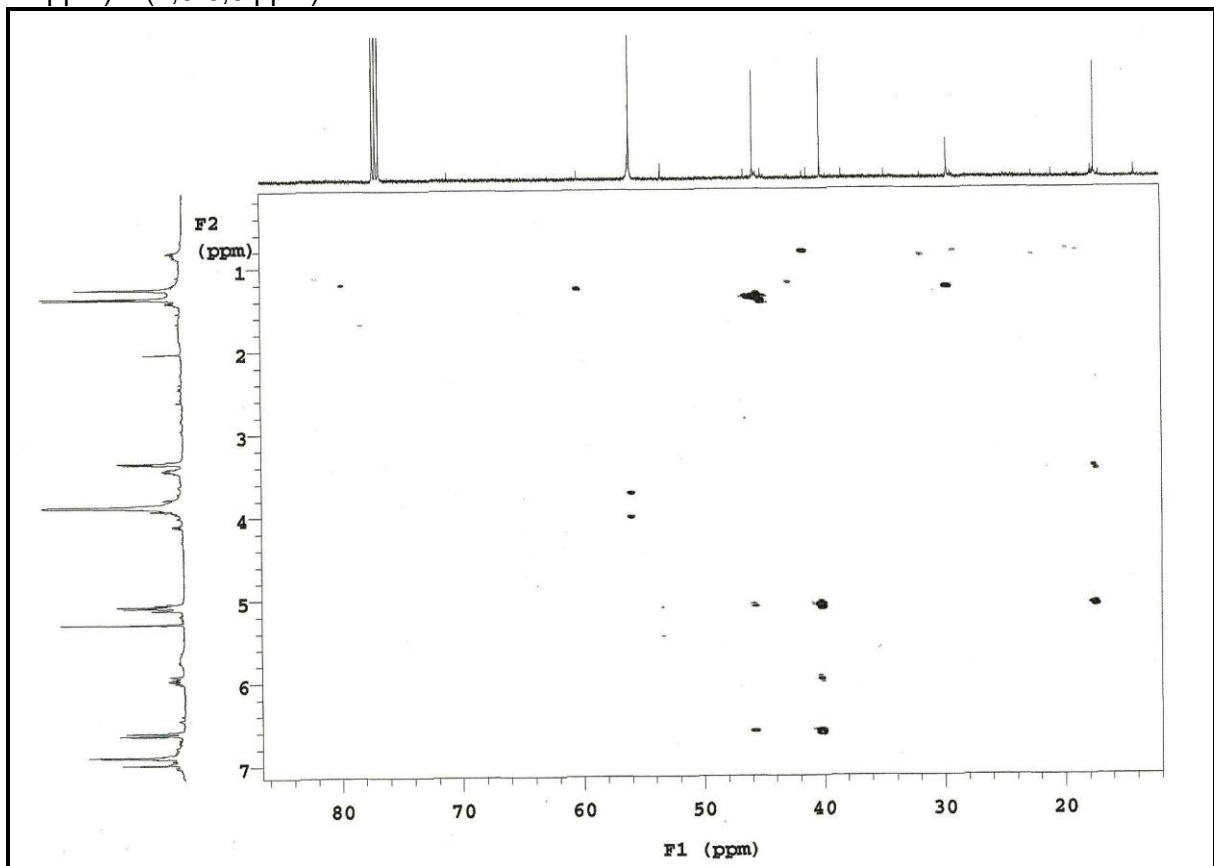


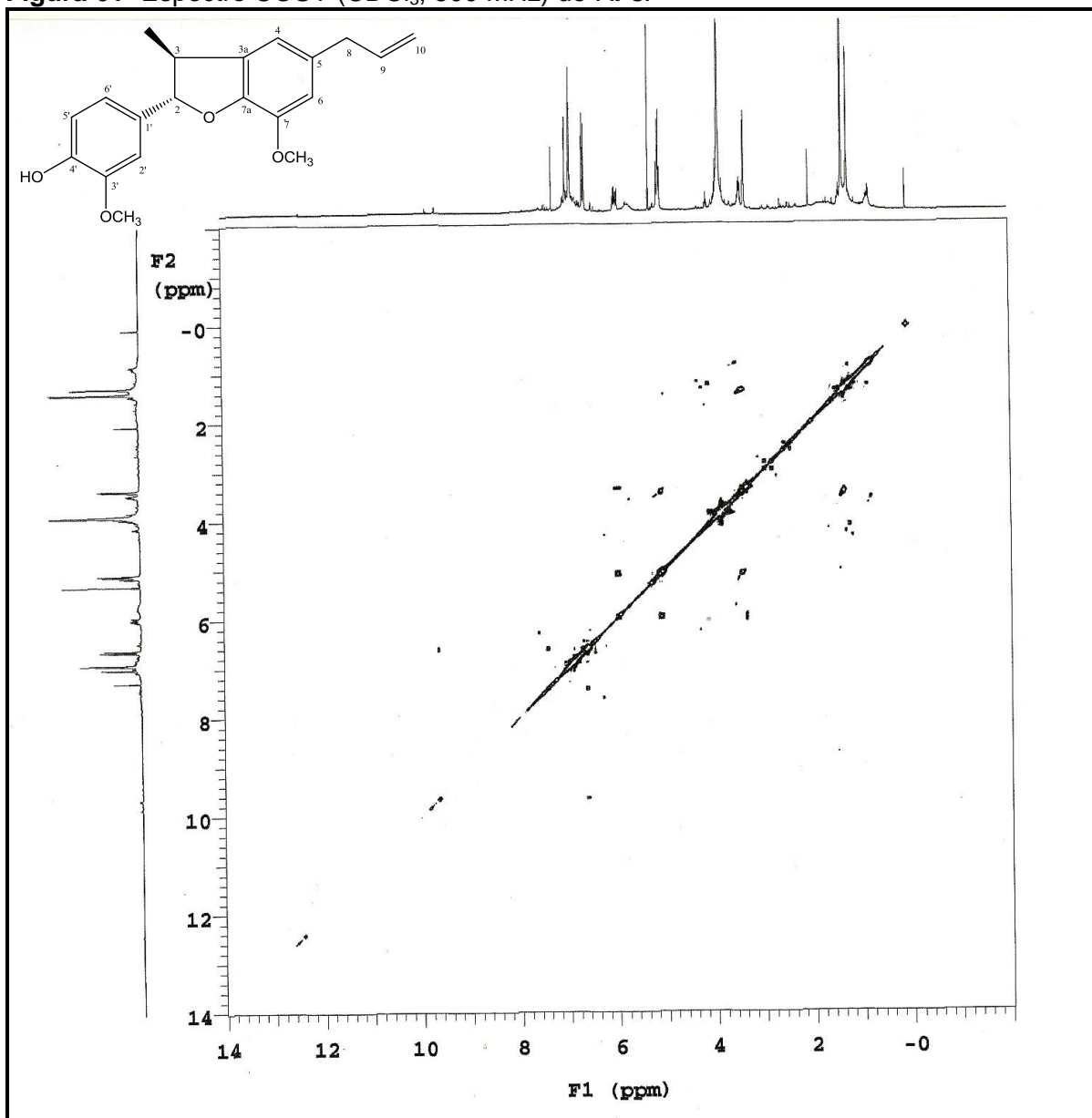
Figura 61- Espectro COSY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-3*.

Figura 62- Expansão do espectro COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-3* na região de (7,8-6,1 ppm) x (7,7-6,1 ppm).

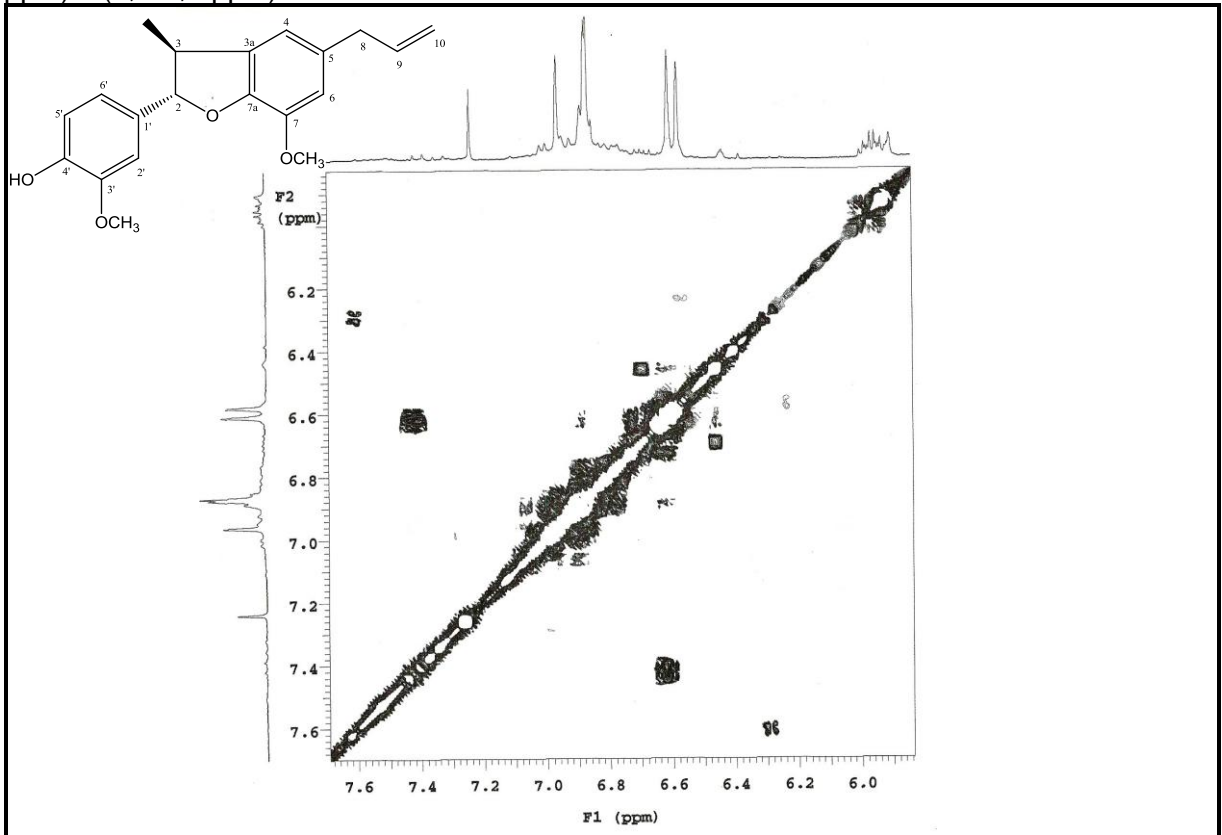


Figura 63- Expansão do espectro COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-3* na região de (6,5-3,0 ppm) x (6,5-3,0 ppm).

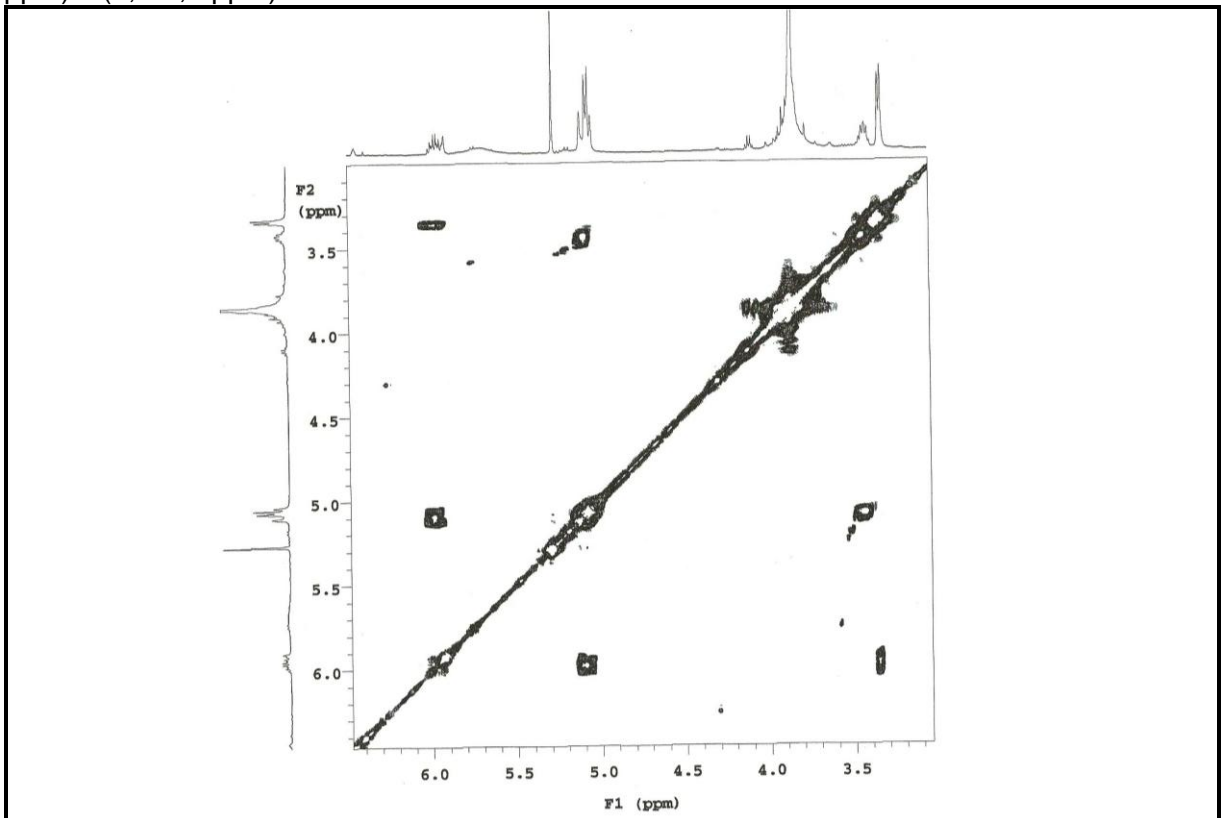


Figura 64- Espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-3*.

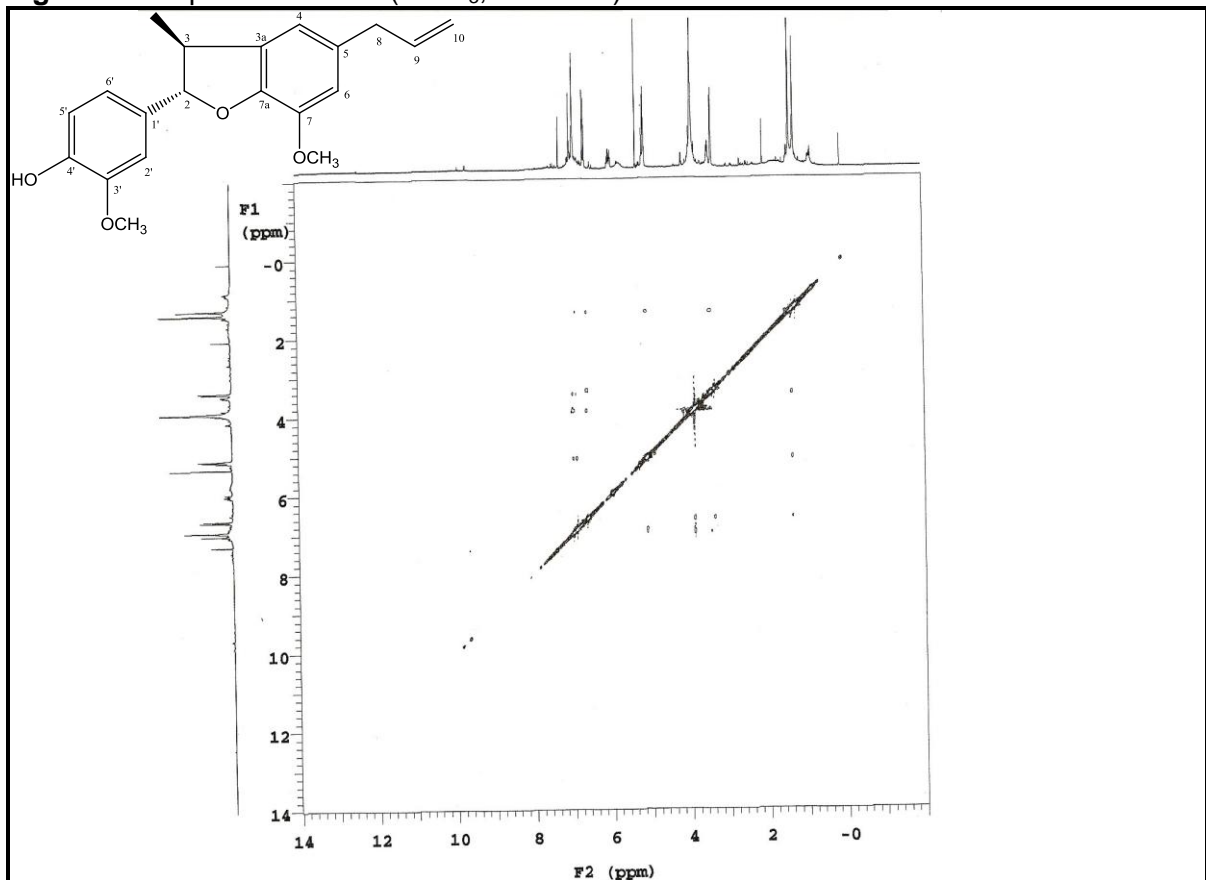


Figura 65- Expansão do espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-3* na região de (7,0-1,0 ppm) x (7,4-1,0 ppm).

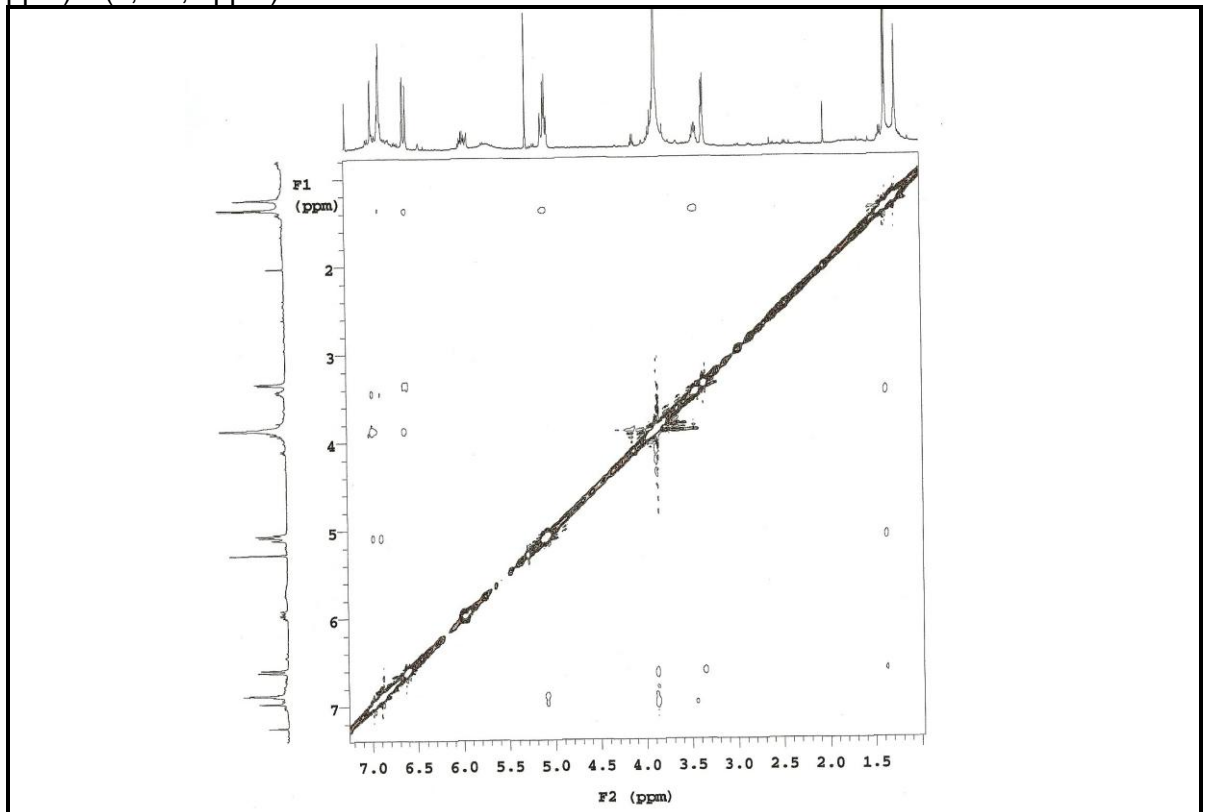
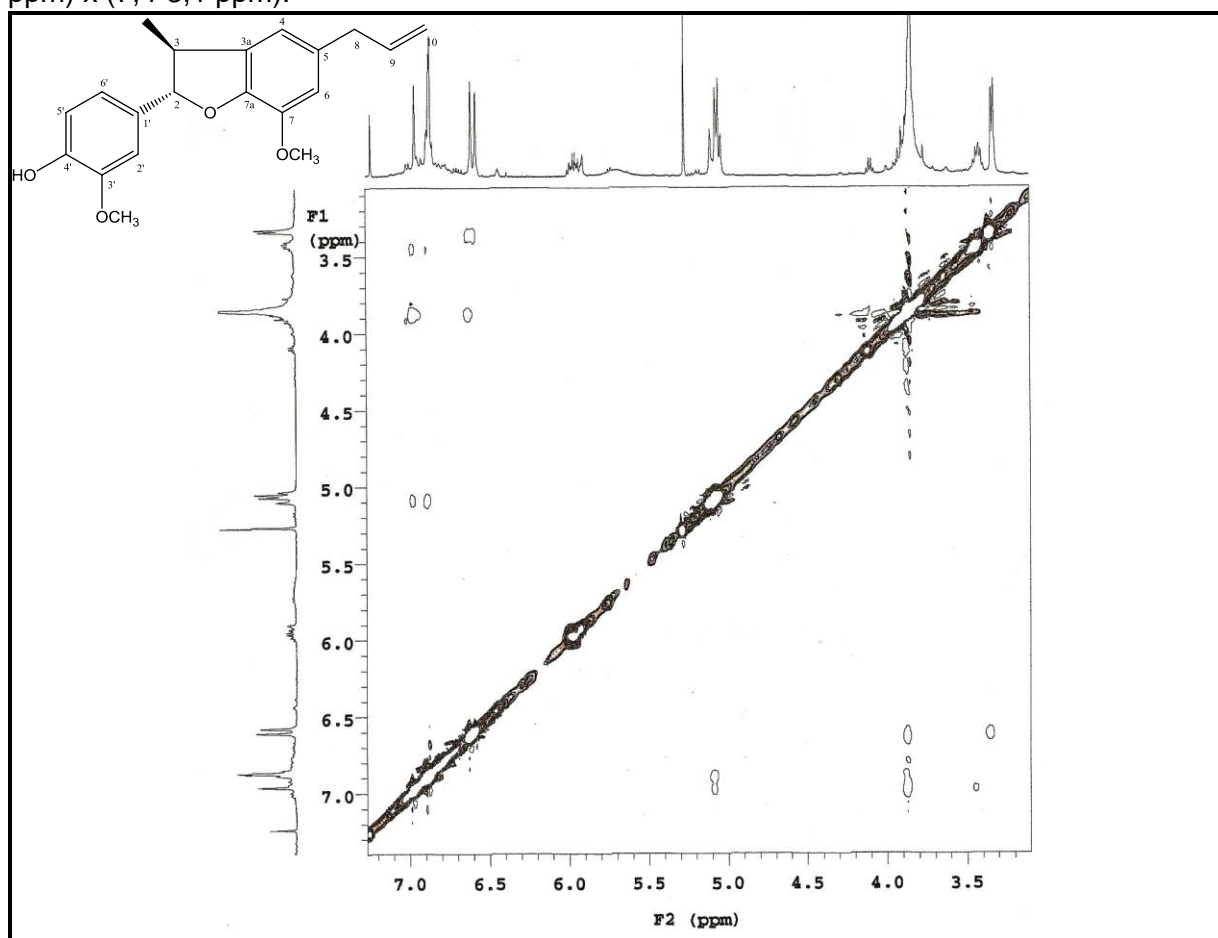


Figura 66- Expansão do espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-3* na região de (7,3-3,1 ppm) x (7,4-3,1 ppm).



5.4. Determinação Estrutural de *Kt-4*

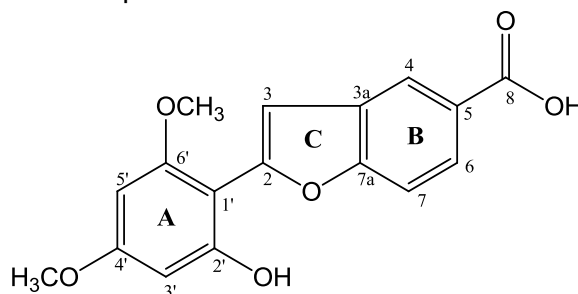
A substância codificada de *Kt-4* foi isolada na forma de pó branco, com ponto de fusão 262-264 °C e massa de 8,5 mg ($0,24 \cdot 10^{-3}$ % em relação à massa da planta seca e pulverizada). O espectro de massas de baixa resolução utilizando o modo ESI- (Figura 69, pág. 106) mostrou o pico da molécula desprotonada em m/z 313,0 [M - H]⁻ compatível com a fórmula molecular C₁₇H₁₄O₆ (calc. 314,3).

No espectro de IV obtido em pastilhas de KBr (Figura 72, pág.108) observou-se a presença de uma banda larga entre 3472-2400 cm⁻¹ e banda em 1690 cm⁻¹ características de estiramento O-H e C=O de ácido, respectivamente. Observou-se também, absorção entre 1624-1458 cm⁻¹, característica de estiramento de C=C de anel aromático, e entre 1312-1107 de estiramento C-O (SILVERSTEIN *et al.*, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3COCD_3) (Figura 73, pág.109) observou-se a presença de 17 sinais, correspondentes a 17 átomos de carbono. Destes, 9 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 6 a carbonos metínicos e 2 a carbonos oximetílicos.

Através da comparação do espectro de RMN de ^{13}C de *Kt-4* com espectros dos neolignanans 2-(2'-hidroxi-4'-6'-dimetoxifenil)5-(*E*)-propenilbenzofurano (**Mo-3**) e krametosan (**Mo-4**) (Tabela 4, pág. 105), também isoladas de *K. tomentosa* (SILVA *et al.*, 2001), foi possível fazer as seguintes ponderações: 1. Os sinais em δ_{C} 153,5, 107,5, 130,1 e 157,5 foram atribuídos aos carbonos C-2, C-3, C-3a e C-7a, respectivamente, do anel benzofurânico; 2. Os sinais em δ_{C} 100,6, 158,6, 95,1, 163,4, 91,6 e 160,8 foram atribuídos aos carbonos C-1', C-2', C-3', C-4', C-5' e C-6', respectivamente, do anel A; 3. A ausência dos sinais em aproximadamente $\sim 131,0$, $\sim 124,6$ e $\sim 18,5$ sugestivos de unidade propenila somada a presença do sinal em 168,0, referente a carbonila, e as informações obtidas pelo espectro de IV, foi possível sugerir a proposta **A** (Figura 67, pág. 103) para *Kt-4*.

Figura 67- Proposta estrutural **A** para *Kt-4*.



No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3COCD_3) (Figura 74, pág. 109) e em sua expansão (Figura 75, pág.110) observou-se a presença do sinal em δ_{H} 7,03 (*d*, $J = 0,5$ Hz) característico do hidrogênio H-3, bem como sinais em δ_{H} 8,31 (*d*, $J = 1,5$ Hz), 7,97 (*dd*, $J = 2,0$ e 9,0 Hz) e 7,57 (*d*, $J = 9,0$ Hz), atribuídos aos hidrogênios do anel B, H-4, H-6 e H-7, respectivamente, e sinais em δ_{H} 6,23 (*d*, $J = 2,5$) e 6,24 (*d*, $J = 2,5$) correspondentes aos hidrogênios do anel A, H-3' e H-5', respectivamente. Observou-se ainda, dois simpletos em δ_{H} 3,81 e 3,83, o primeiro referente à metoxila localizada em C-4' e o segundo para a metoxila em C-6'. Esses assinalamentos foram confirmados pelas correlações diretas observadas no espectro de HMQC (Figuras 76, 77 e 78, pág. 110 e 111).

O espectro de correlação heteronuclear HMBC de *Kt-4* (Figura 79, pág. 112) e as expansões (Figuras 80, 81, 82 e 83, pág. 112-114) mostraram correlações entre os hidrogênios em δ_H 8,31 (H-4) e 7,97 (H-6) com o sinal em δ_C 168,1, atribuído ao carbono da carbonila, confirmando a inserção da mesma no carbono C-5. Ainda foram observadas as correlações entre o hidrogênio em δ_H 8,31 (H-4) com o sinal em δ_C 107,5, atribuído a C-3, e dos hidrogênios em δ_H 7,03 (H-3), 8,31 (H-4) e 7,97 (H-6) com o sinal em δ_C 157,4, atribuído a C-7a.

As correlações observadas nos espectros bidimensionais HMBC, COSY (Figuras 84 e 85, pág. 114 e 115) e NOESY (Figuras 86, 87 e 88, pág. 115 e 116) que auxiliaram na confirmação das atribuições feitas aos átomos de hidrogênio e carbono da molécula podem ser observadas na Figura 68 (pág. 104). Na Tabela 5 (pág. 106) estão compilados os deslocamentos químicos e as correlações verificadas nos espectros de RMN 1H e ^{13}C uni e bidimensionais para *Kt-4*.

Nas Figuras 70 (pág. 107) e 71 (pág. 107) podemos verificar o espectro de fragmentação do íon m/z 313,0, obtido no modo de ionização ESI-, e a proposta de fragmentação para *Kt-4*, respectivamente.

A análise de todos os espectros obtidos para a substância *Kt-4*, bem como a comparação com os dados da literatura permitiram elucidá-la como sendo a trinor-neolignana **5-ácido-2-(2'-hidroxi-4'-6'-dimetoxifenil)-benzofurânico** (Figura 68, pág. 104) relatada pela primeira vez na literatura e cujo nome trivial atribuído foi sobralina.

Figura 68- Correlações observadas nos espectros HMBC, NOESY e COSY para *Kt-4*.

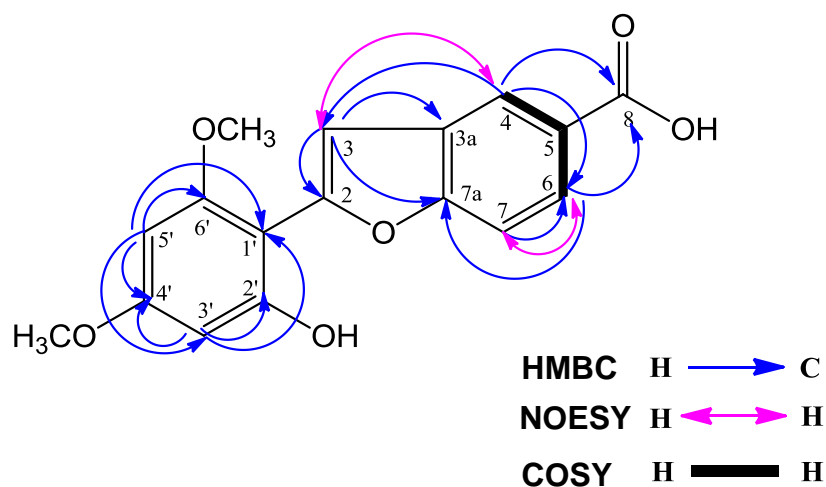


Tabela 4- Dados comparativos de RMN ^{13}C de *Kt-4* (125 MHz, CD_3COCD_3) e dos modelos Mo-3 e Mo-4 (125 MHz, CDCl_3) (SILVA *et al.*, 2001).

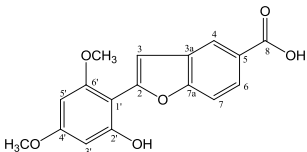
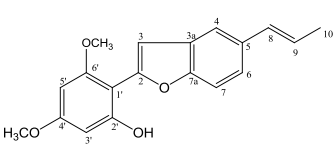
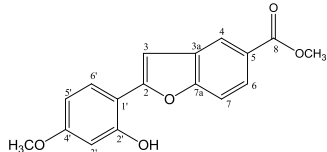
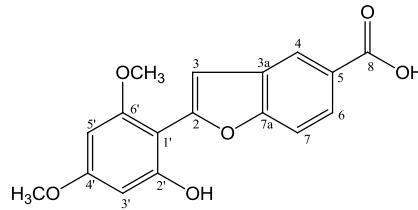
			
	Kt-4	Mo-3	Mo-4
C	$\bar{\delta}_{\text{C}}$	$\bar{\delta}_{\text{C}}$	$\bar{\delta}_{\text{C}}$
2	153,5	151,8	156,3
3	107,5	105,5	101,9
3a	130,1	128,9	129,0
4	123,6	117,7	123,0
5	126,3	133,6	133,5
6	126,1	122,0	125,7
7	111,4	110,3	110,6
7a	157,5	151,7	155,9
8	168,1	131,0	167,2
9	-	124,6	-
10	-	18,5	-
1'	100,6	99,0	108,9
2'	158,6	156,6	154,9
3'	95,1	94,7	102,2
4'	163,4	161,5	161,8
5'	91,6	91,9	107,8
6'	160,8	158,6	128,6
OMe-4'	55,7	55,3	55,4
OMe-6'	56,2	55,6	-
OMe-8	-	-	52,1

Tabela 5- Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CD_3COCD_3 de *Kt-4* (δ em ppm, J em Hz).



C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC		2J	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY
	$\bar{\delta}_\text{C}$	$\bar{\delta}_\text{H}$				
2	153,5		H-3			
3a	130,1		H-3	H-7		
5	126,3					
7a	157,5			H-3/H4/H-6		
8	168,1			H4/H-6		
1'	100,6			H-3'/H-5'		
2'	158,6		H-3'			
4'	163,4		H-3'/H-5'			
6'	160,8		H-5'			
CH						
3	107,5	7,03 (<i>d</i> , 1H, $J = 1,5$)		H-4		H-4
4	123,6	8,31 (<i>d</i> , 1H, $J = 1,5$)		H-6	H-6	
6	126,1	7,97 (<i>dd</i> , 1H, $J = 2$ e 9)	H-7	H-4	H-7	H-7
7	111,4	7,57 (<i>d</i> , 1H, $J = 9,0$)				
3'	95,1	6,23 (<i>d</i> , 1H, $J = 2,5$)		H-5'		
5'	91,6	6,24 (<i>d</i> , 1H, $J = 2,5$)		H-3'		H-3'/H-5'
OCH₃-4'	55,7	3,81 (<i>s</i> , 3H)				
OCH₃-6'	56,2	3,83 (<i>s</i> , 3H)				

Figura 69- Espectro de massas de baixa resolução de *Kt-4*.

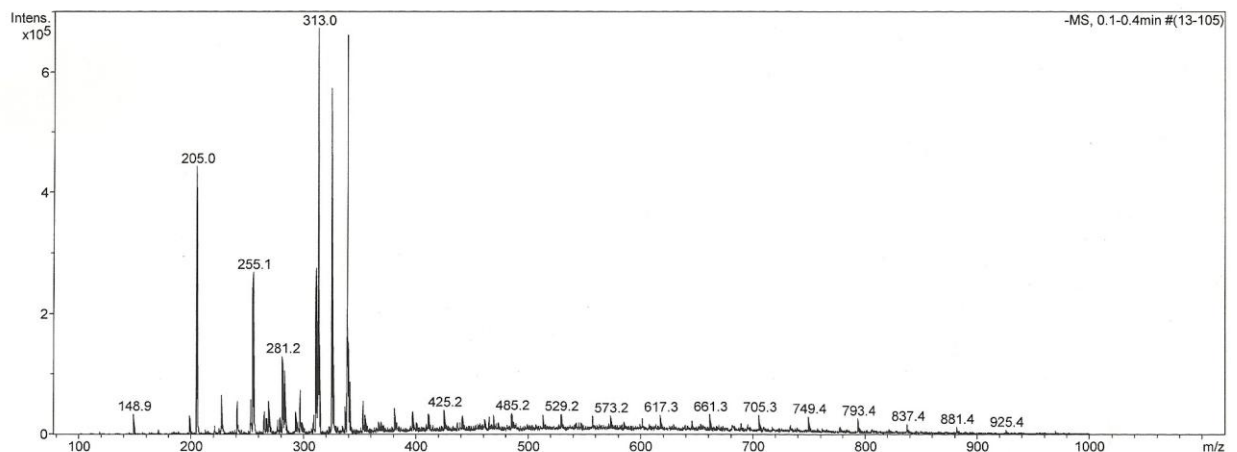


Figura 70- Espectros de fragmentação do íon m/z 313,0.

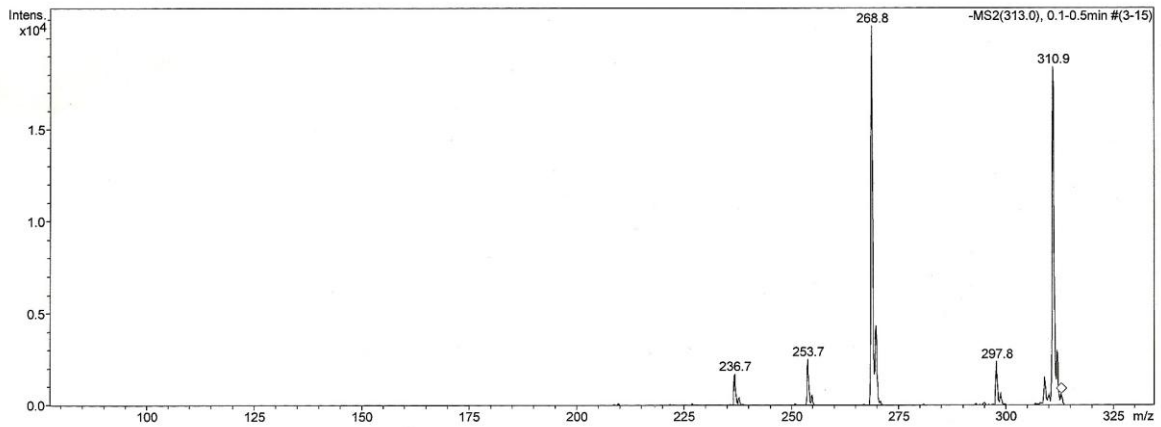


Figura 71- Proposta de fragmentação para *Kt-4*.

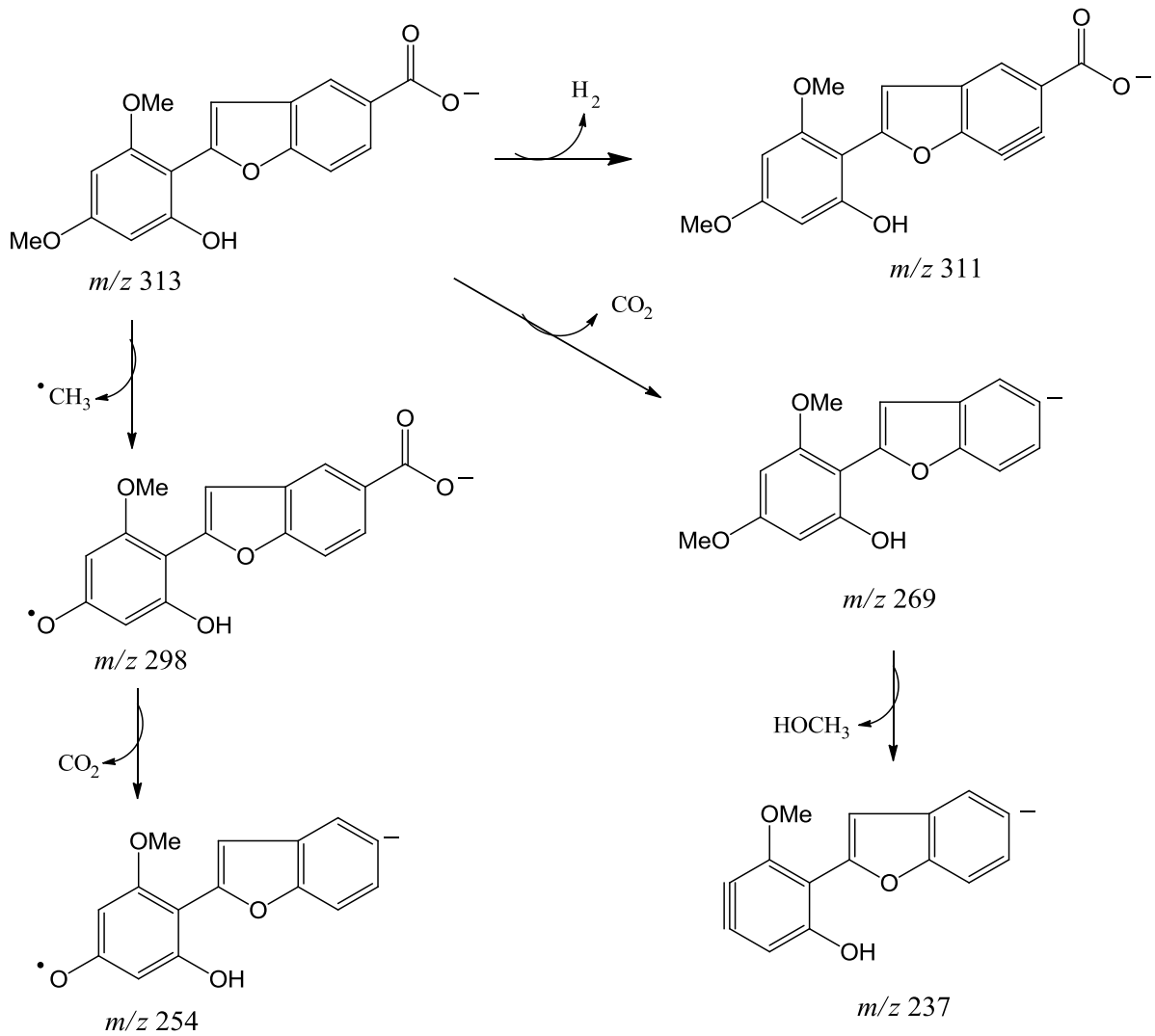


Figura 72- Espectro no Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de Kt-4.

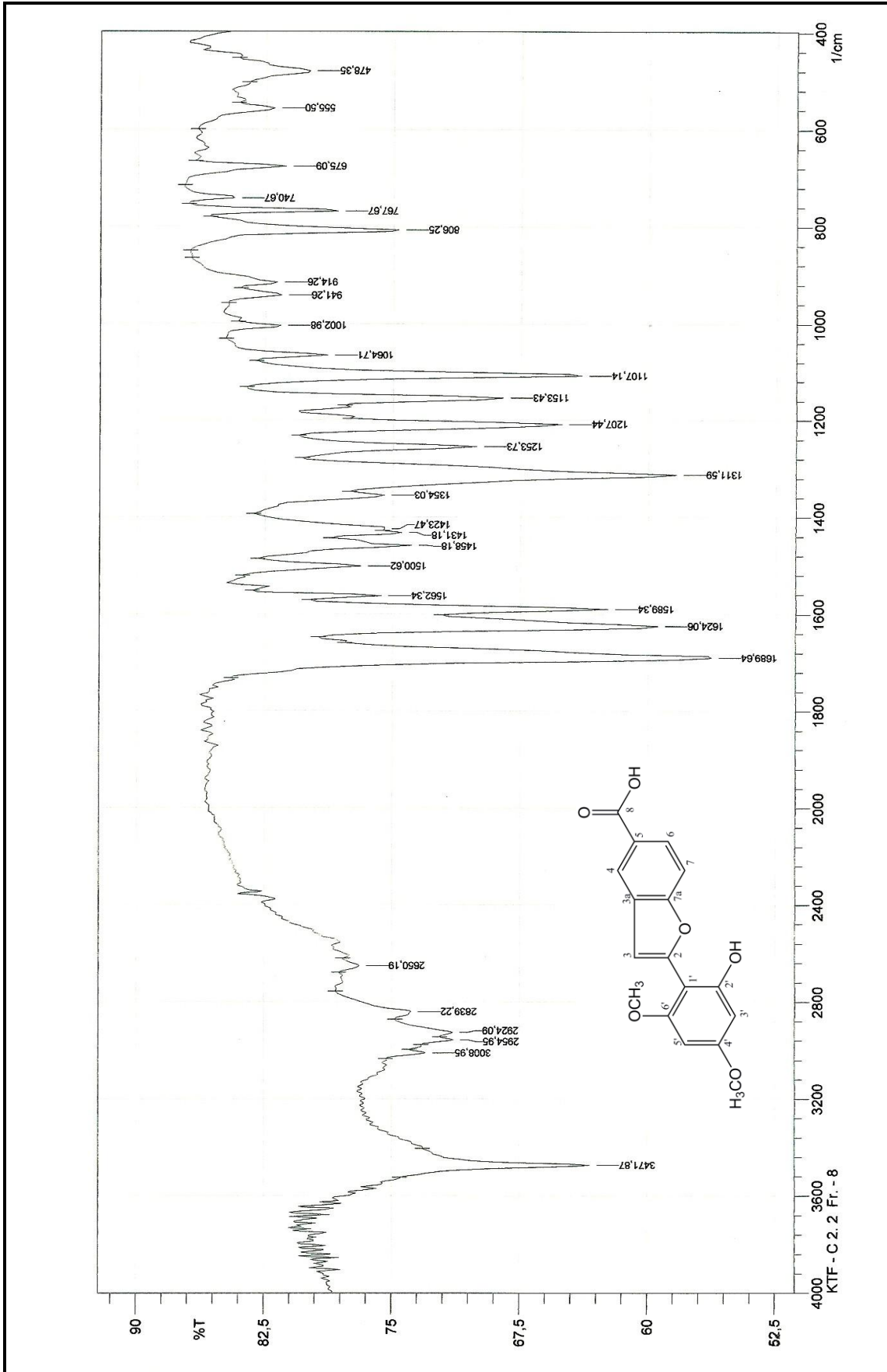


Figura 73- Espectro de RMN ¹³C - APT (CD₃COCD₃, 125 MHz) de *Kt-4*.

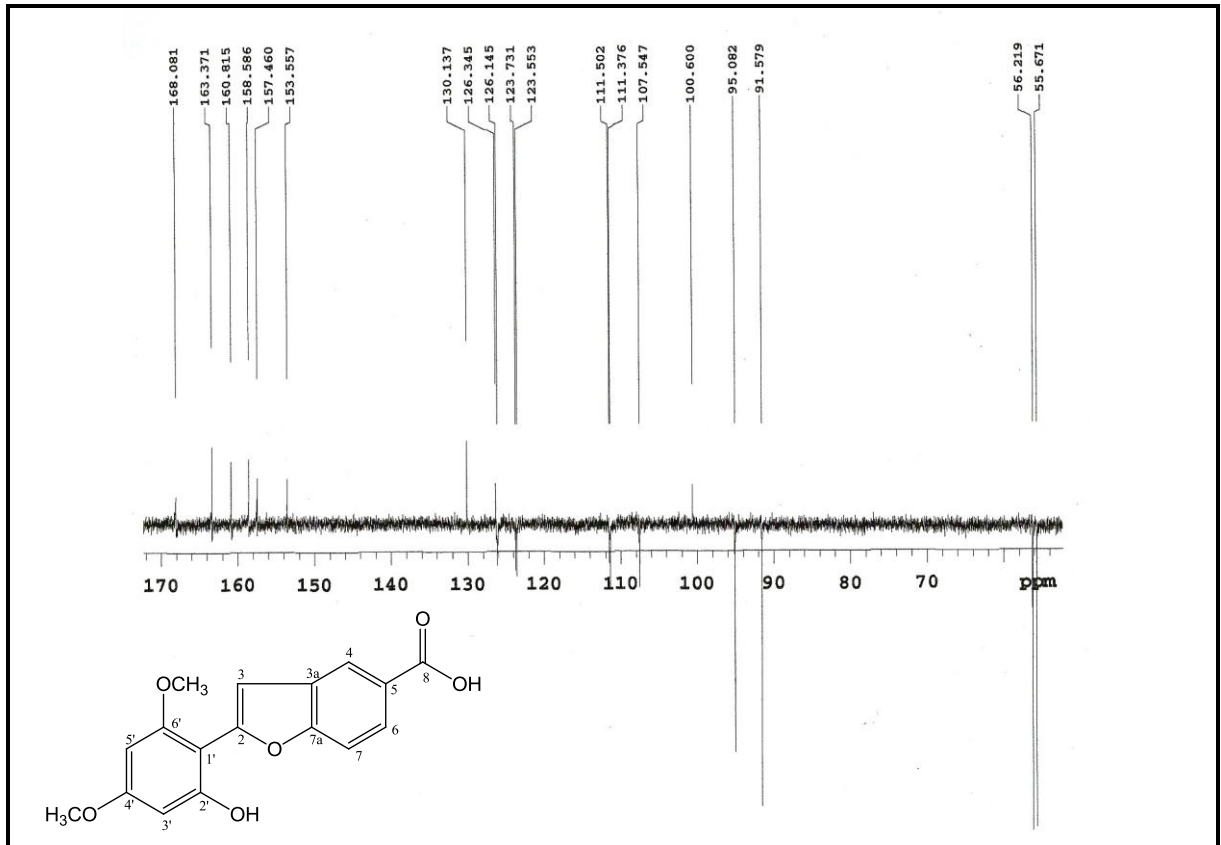


Figura 74- Espectro de RMN ¹H (CD₃COCD₃, 500 MHz) de *Kt-4*.

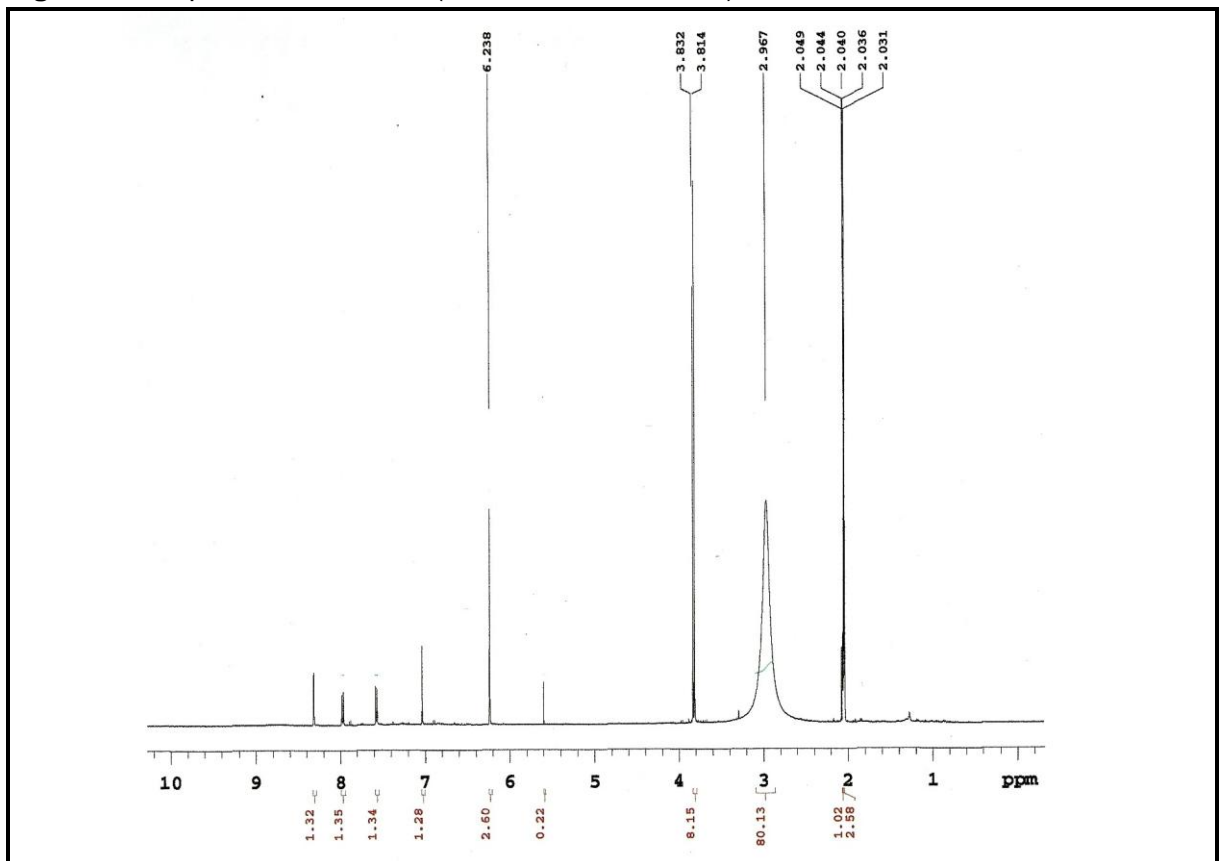


Figura 75- Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-4* na região de 8,5-5,5 ppm.

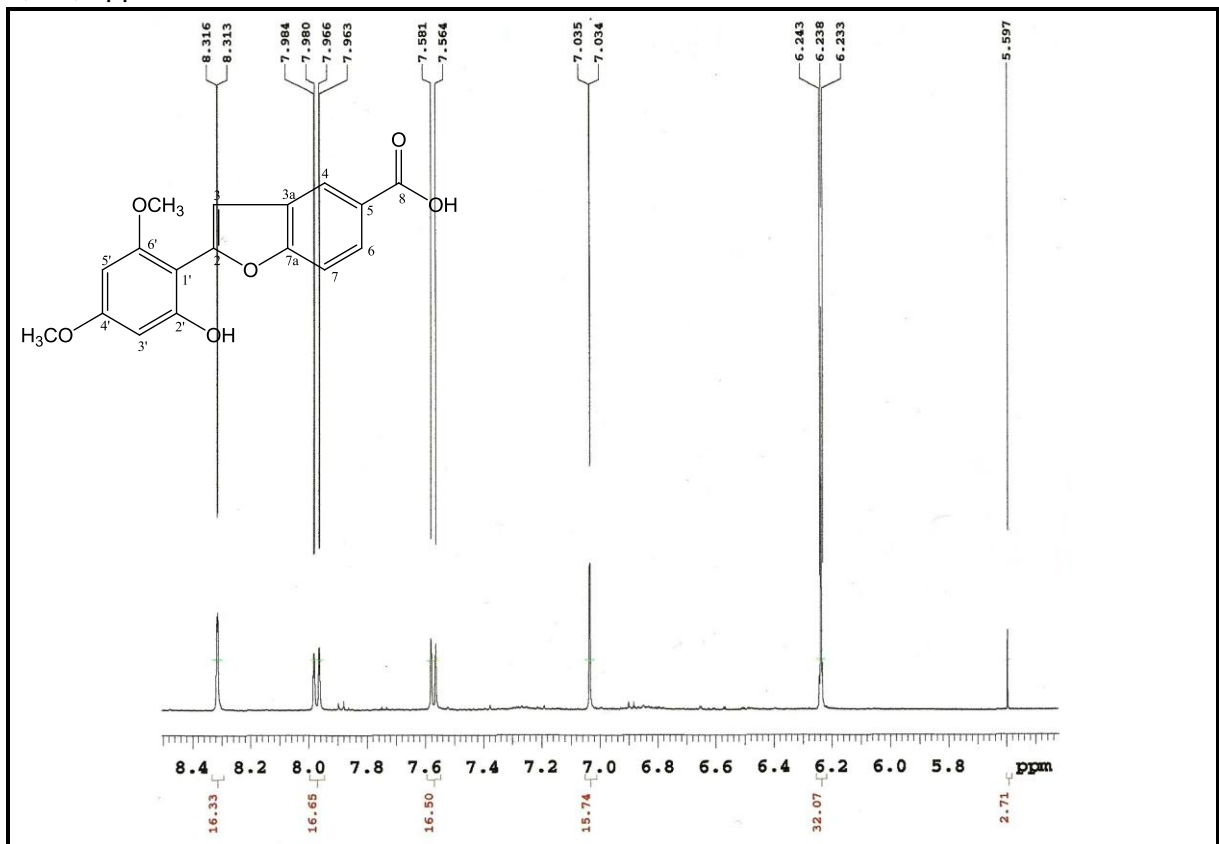


Figura 76- Espectro HMQC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4*.

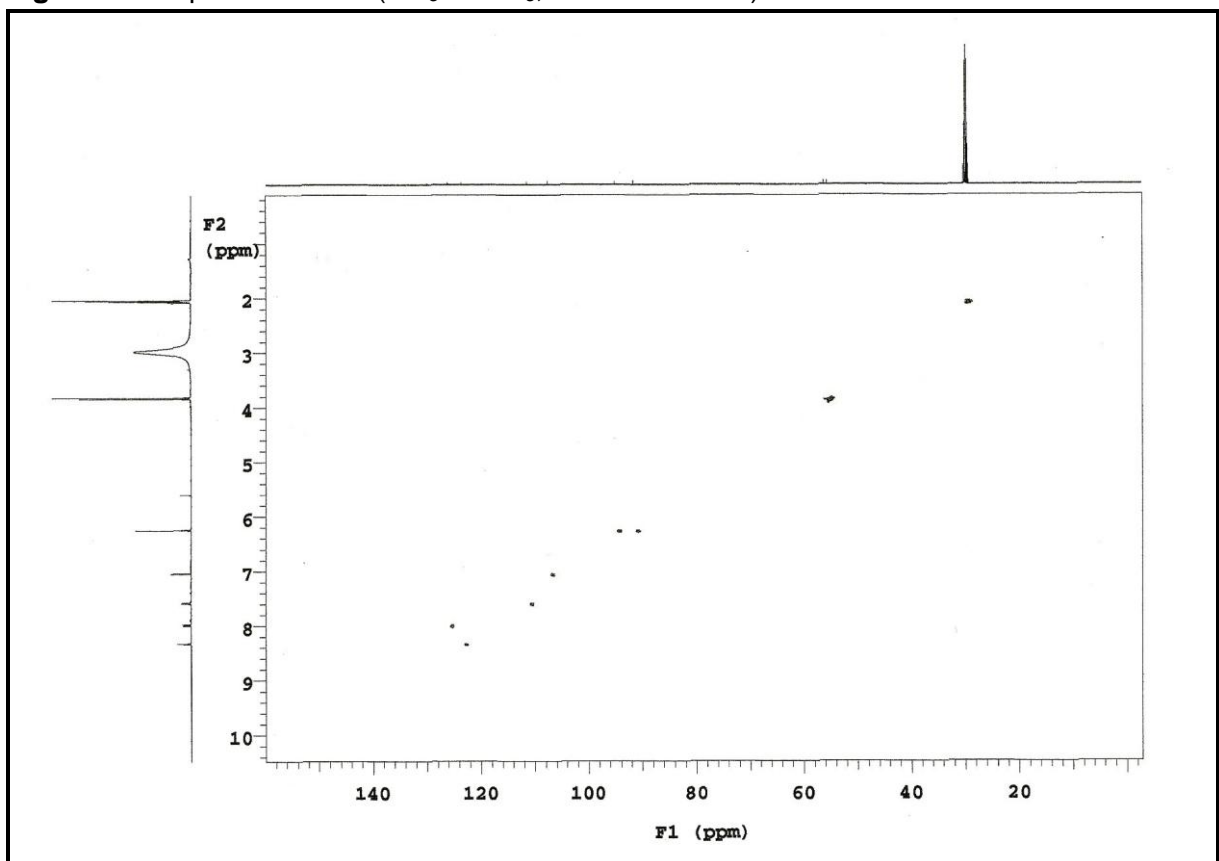


Figura 77- Expansão do espectro HMQC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4* na região de (128-90 ppm) x (9,0-6,0 ppm).

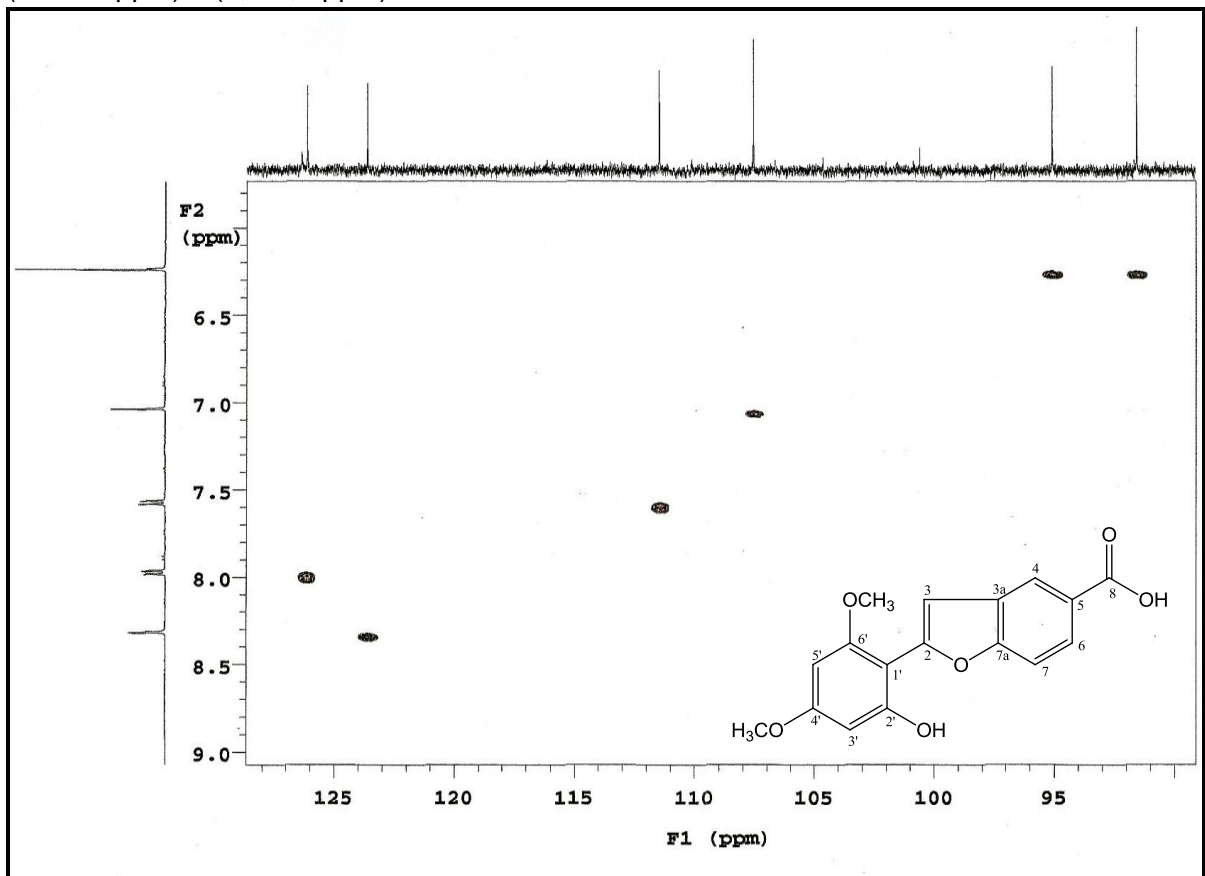


Figura 78- Expansão do espectro HMQC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4* na região de (57,0-54,5 ppm) x (4,1-3,5 ppm).

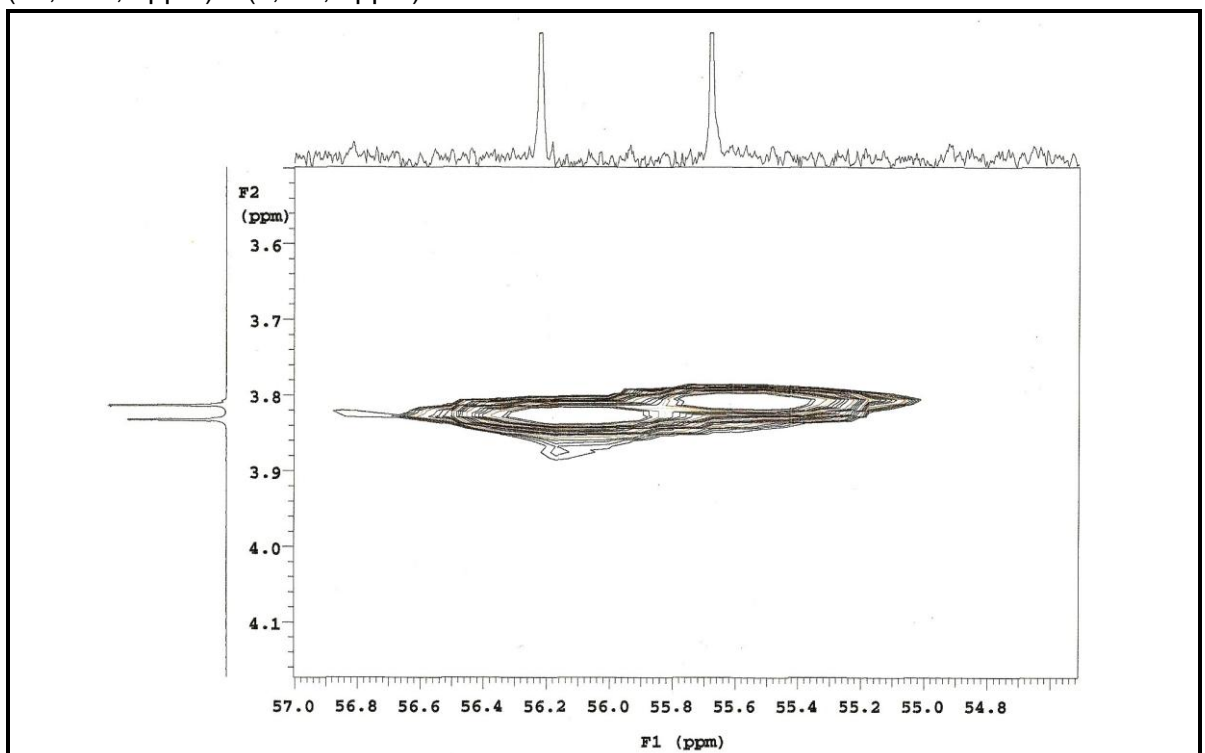


Figura 79- Espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4*.

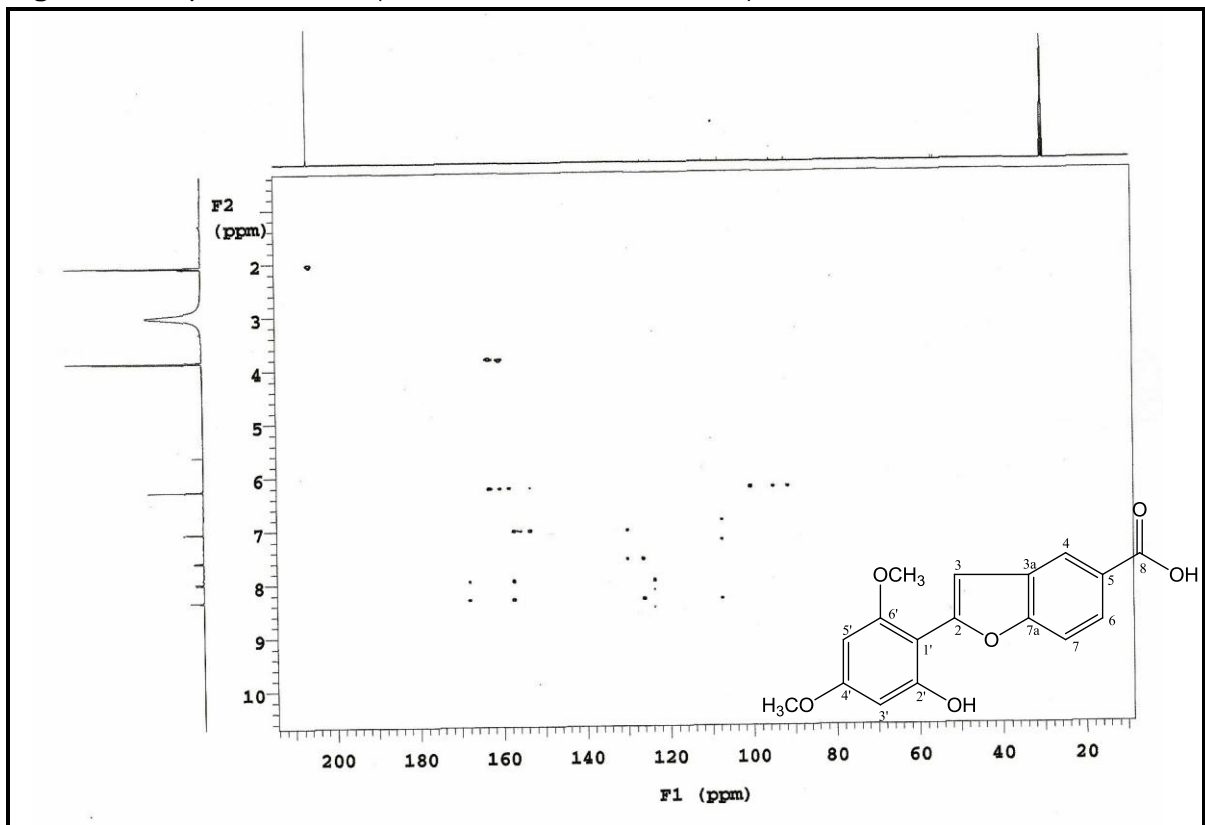


Figura 80- Expansão do espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4* na região de (170-90 ppm) x (9,0-3,5 ppm).

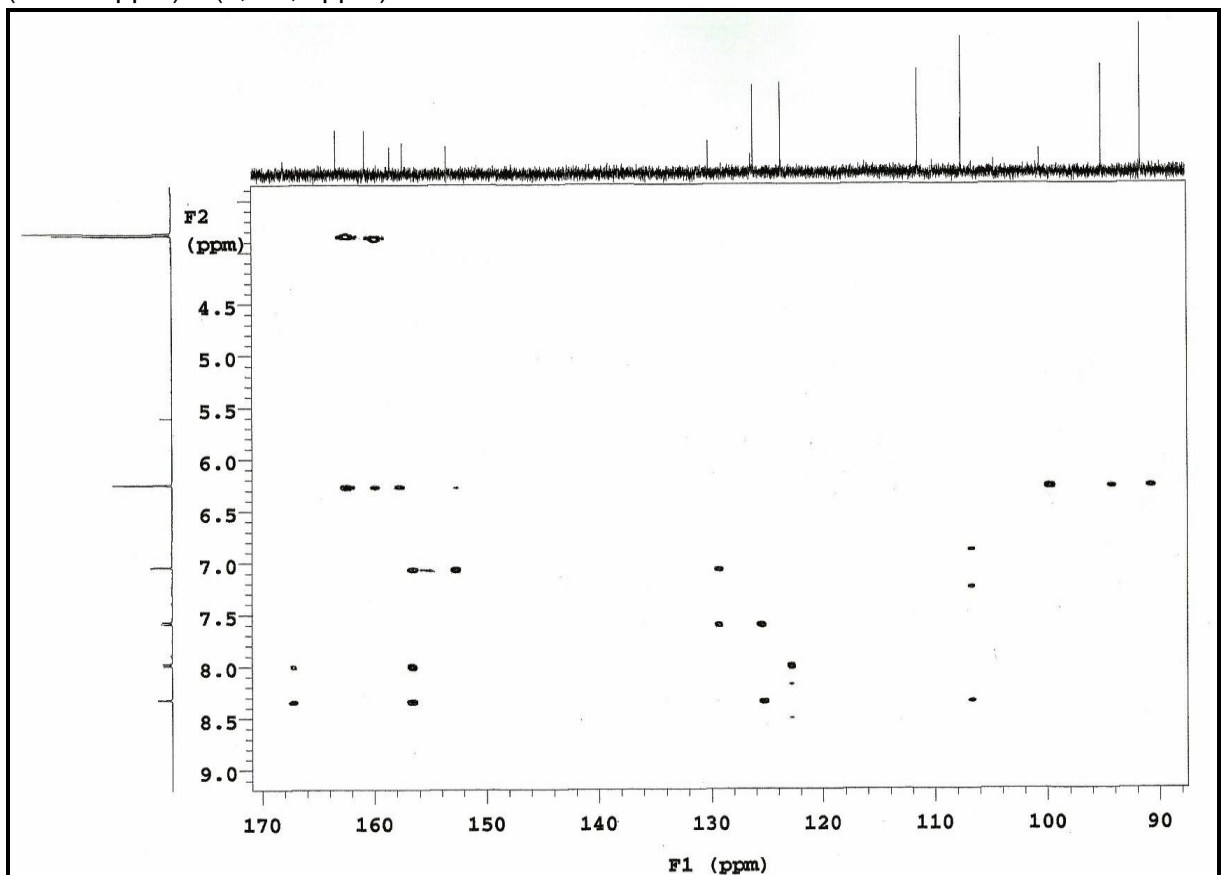


Figura 81- Expansão do espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4* na região de (169-152 ppm) x (8,6-6,0 ppm).

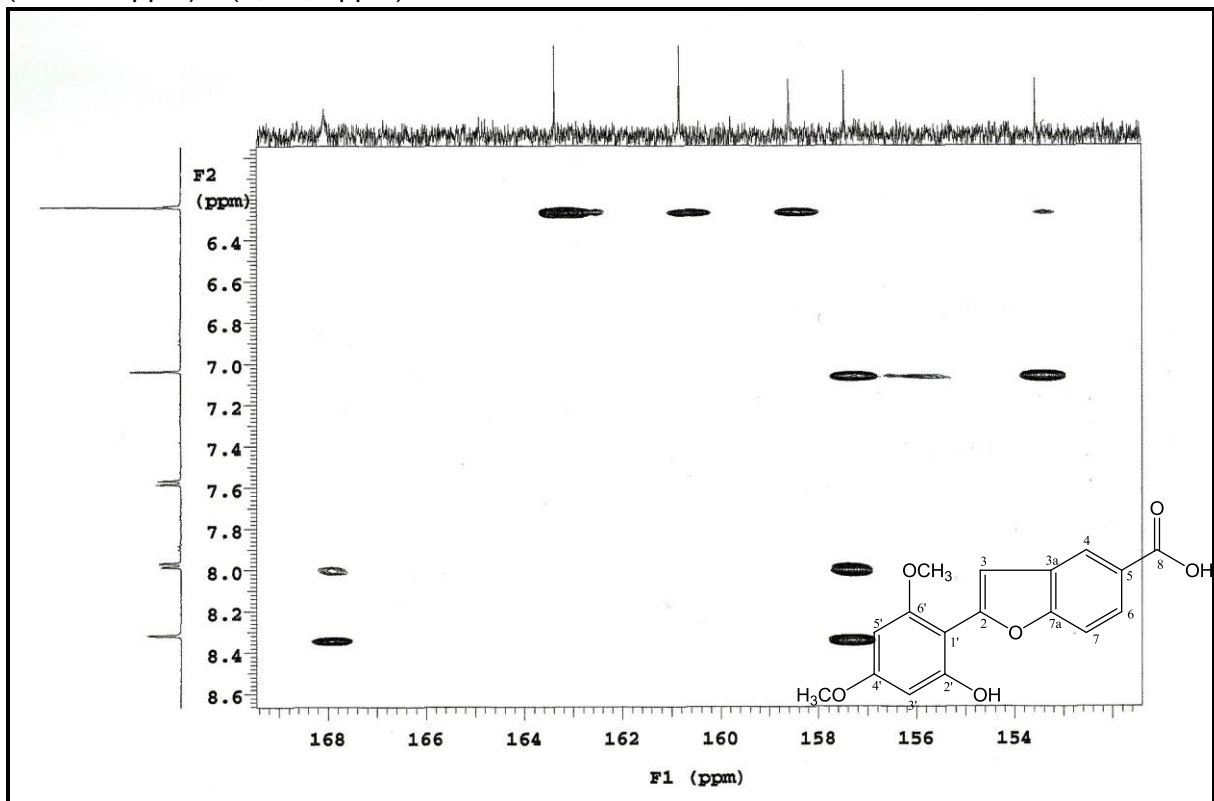


Figura 82- Expansão do espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4* na região de (133-104 ppm) x (9,0-6,5 ppm).

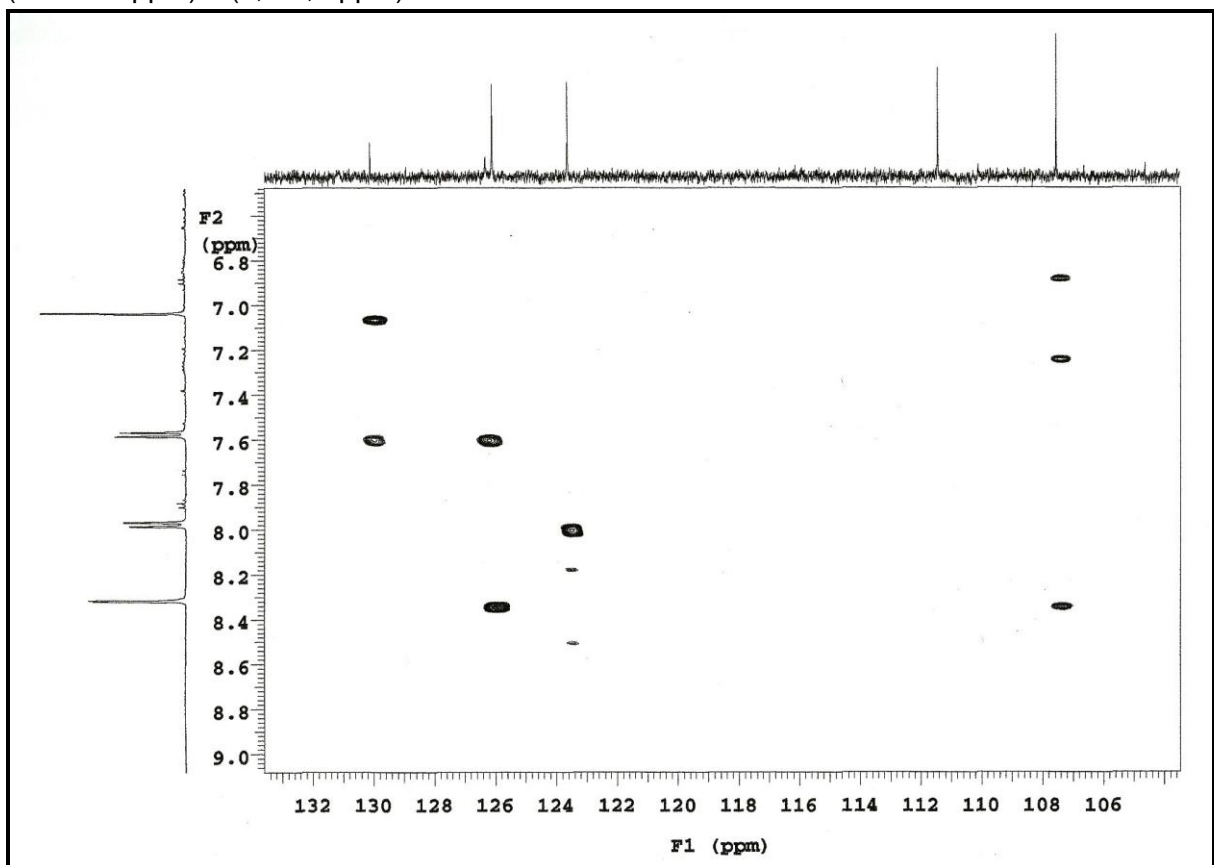


Figura 83- Expansão do espectro HMBC (CD_3COCD_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-4* na região de (164-90 ppm) x (6,4-6,5 ppm).

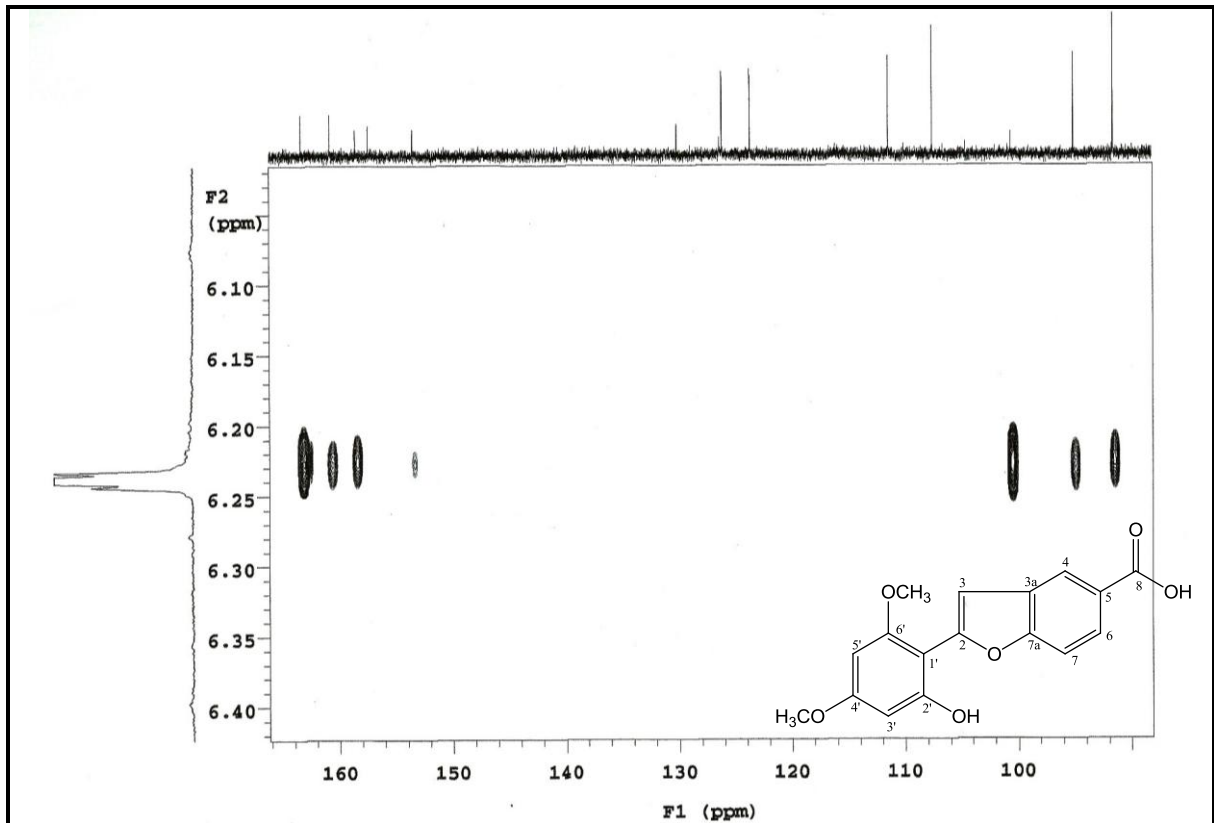


Figura 84- Espectro COSY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-4*.

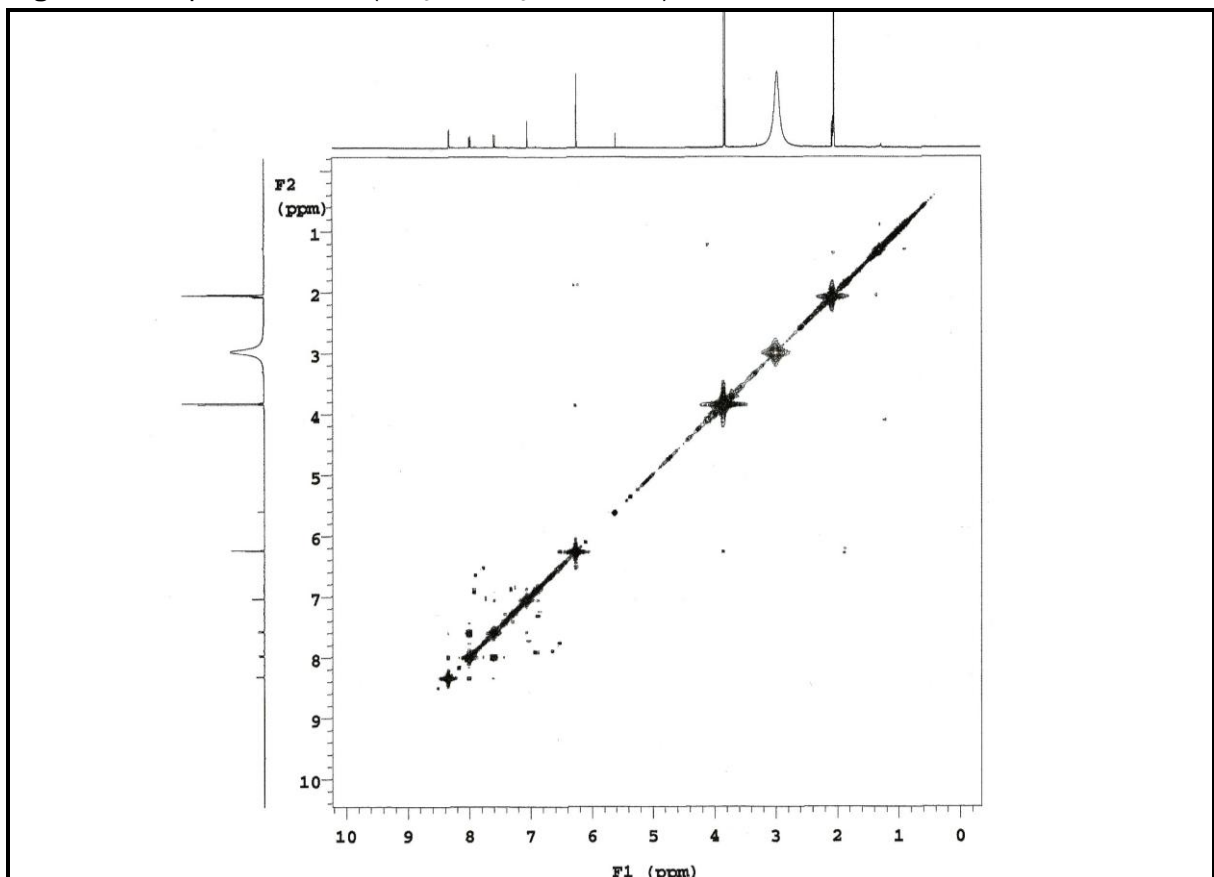


Figura 85- Expansão do espectro COSY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-4* na região de (8,6-5,8 ppm) x (8,8-5,8 ppm).

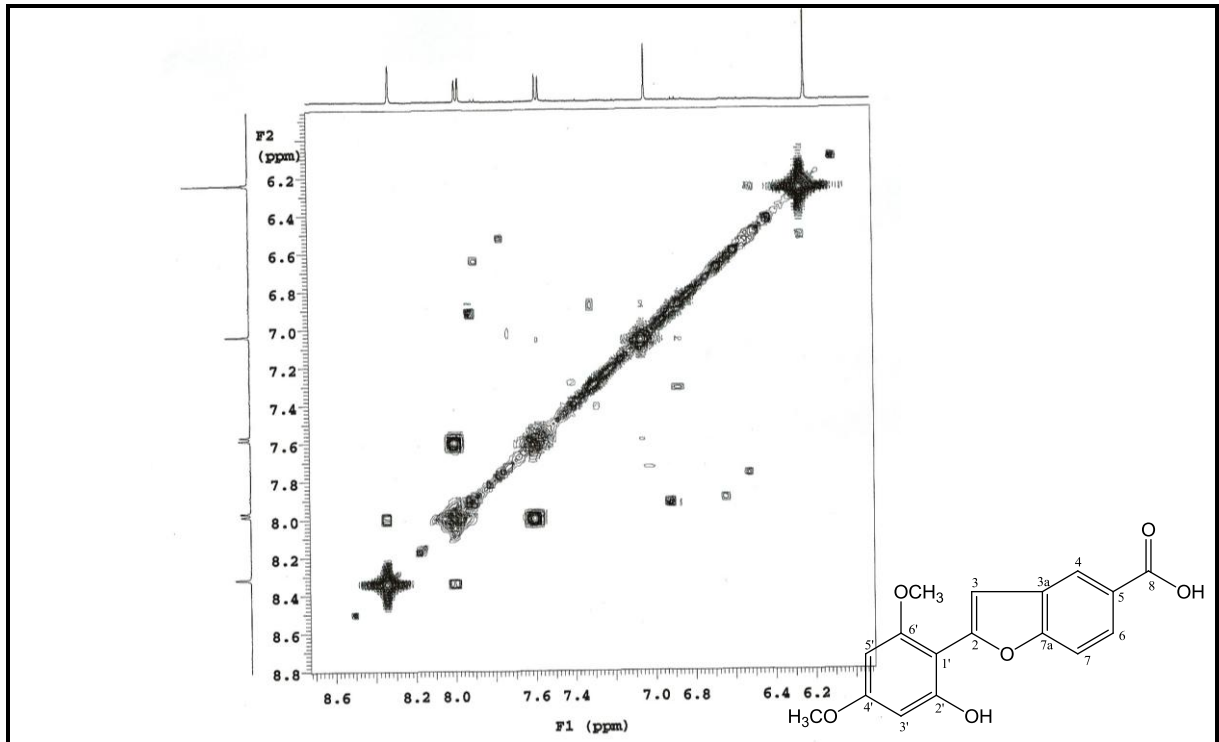


Figura 86- Espectro NOESY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-4*.

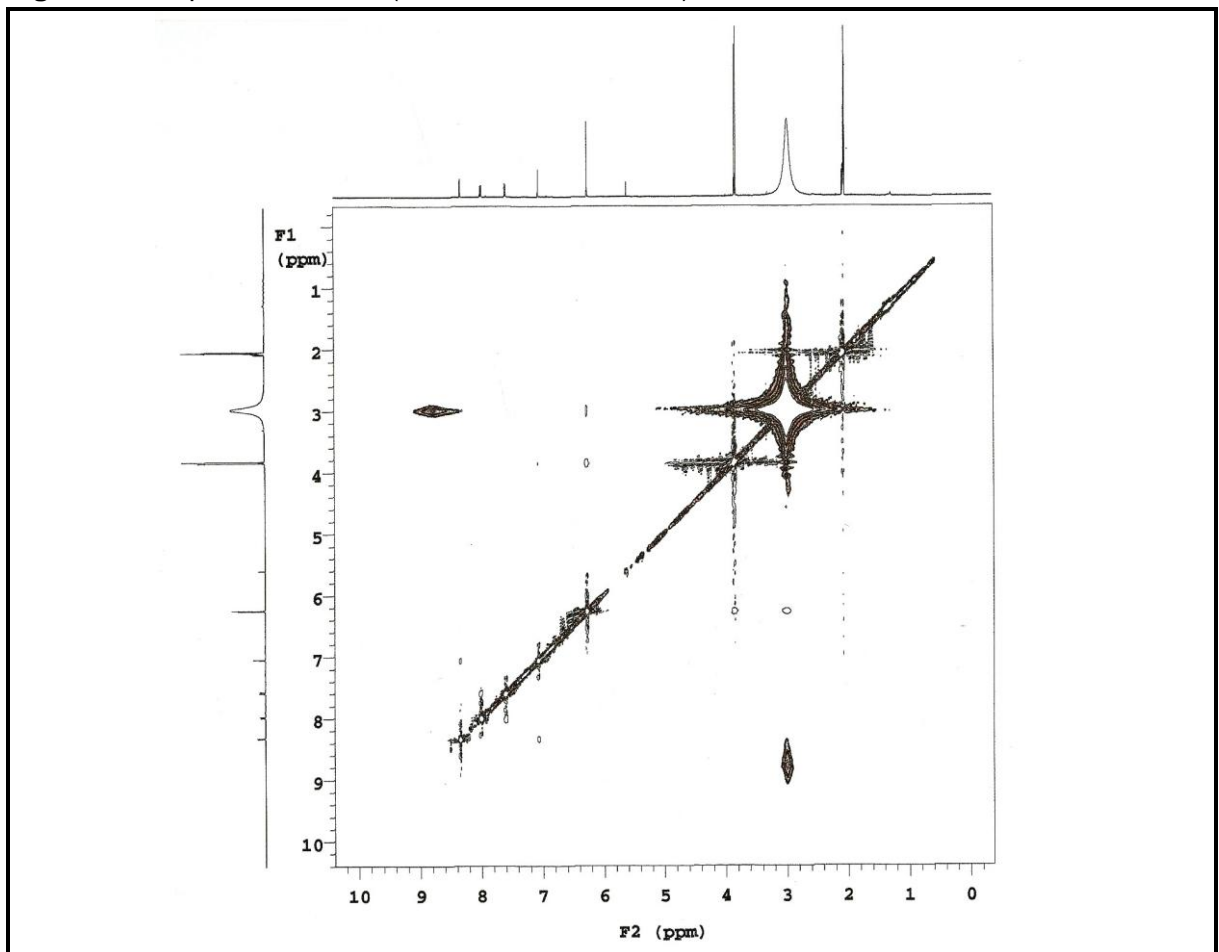


Figura 87- Expansão do espectro NOESY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-4* na região de (8,7-6,8 ppm) x (9,0-6,7 ppm).

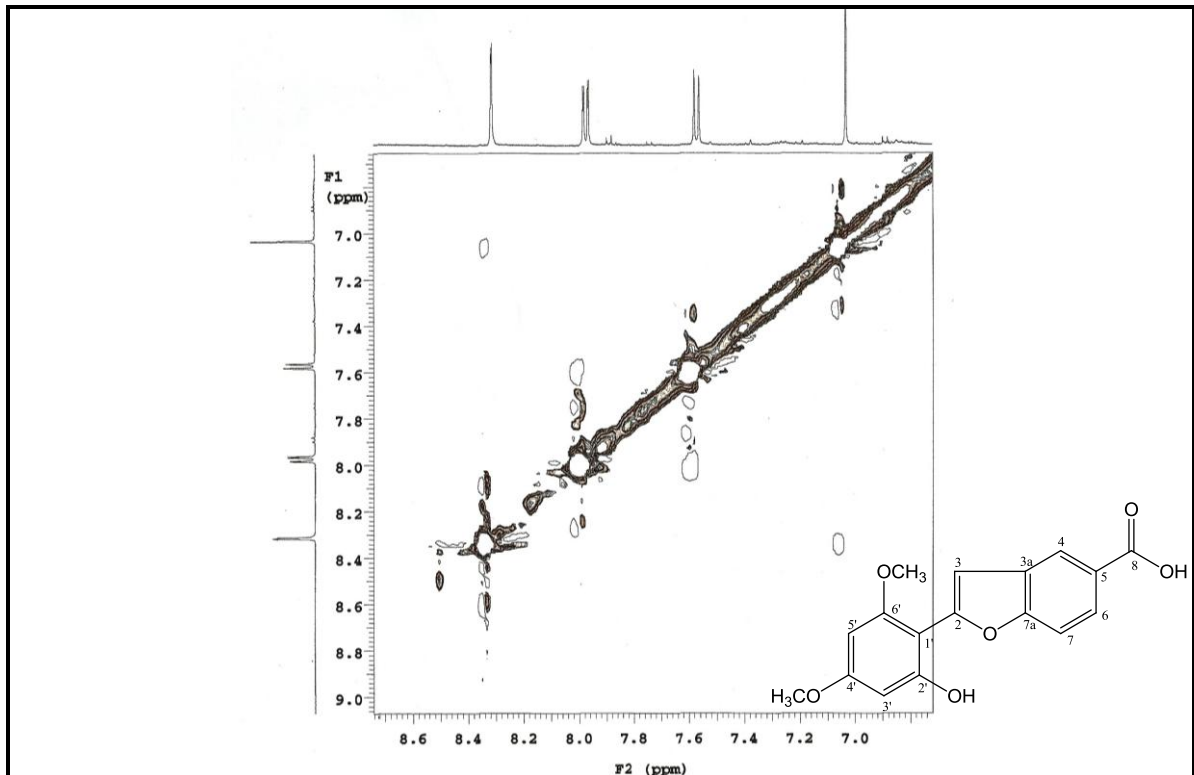
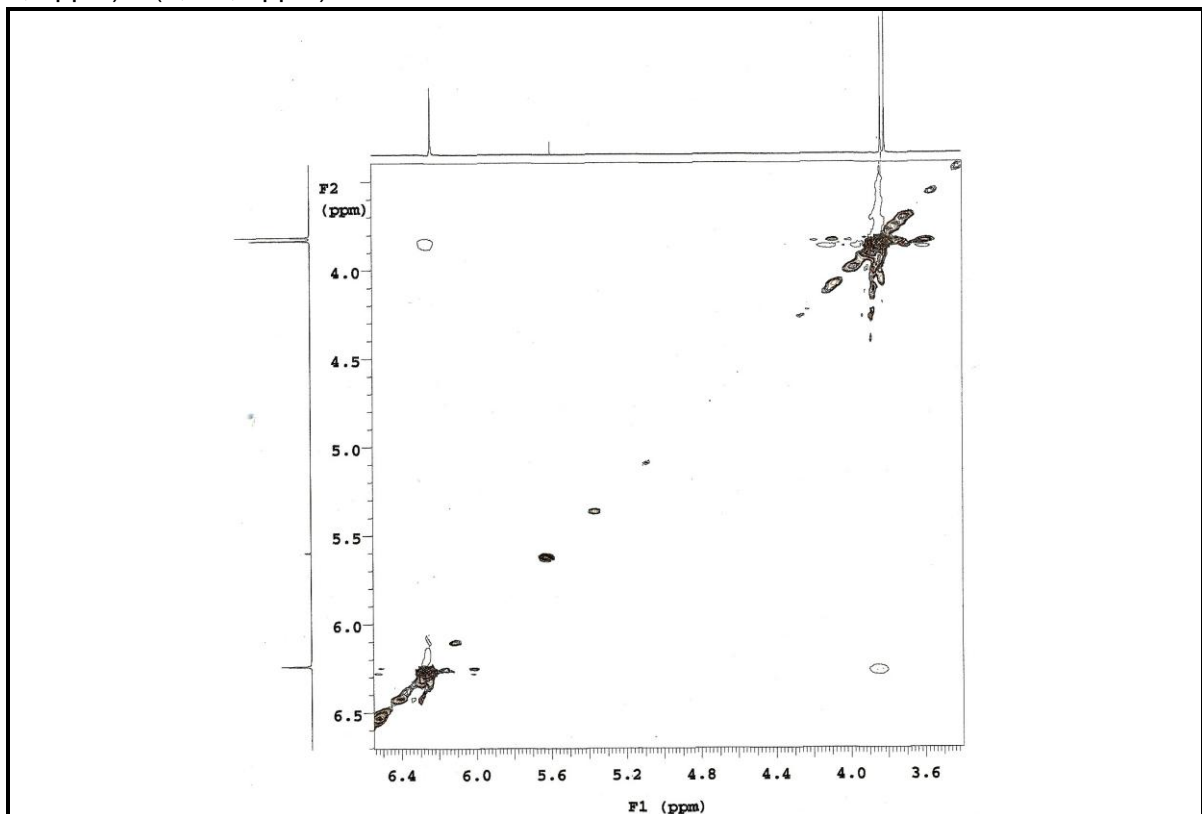


Figura 88- Expansão do espectro NOESY (CD_3COCD_3 , 500 MHz) de *Kt-4* na região de (6,5-3,5 ppm) x (6,7-3,5 ppm).



5.5. Determinação Estrutural de *Kt-5*

A substância codificada de *Kt-5* foi isolada na forma de óleo incolor com massa de 35,4 mg ($1,01 \cdot 10^{-3}$ % em relação à massa da planta seca e pulverizada). O espectro de massas de alta resolução utilizando o modo de ionização ESI+ (Figura 91, pág. 120) mostrou o pico da molécula cationizada em m/z 303,1372 [$M + Na$]⁺ compatível com a fórmula molecular $C_{19}H_{20}O_2Na$ (calc. 303,1463).

O espectro de IV obtido em patilhas de KBr (Figura 94, pág. 122) mostrou absorções na região entre 1603-1441 cm^{-1} características de estiramento de C=C de anel aromático, bem como absorções entre 1292-982 cm^{-1} características de estiramento C-O (SILVERSTEIN *et al.*, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

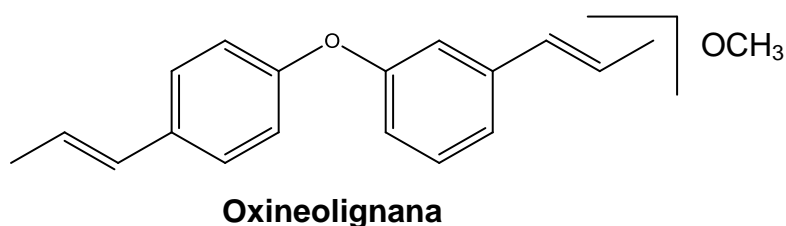
O espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (Figura 95, pág. 123) e suas expansões (Figuras 96 e 97, pág. 123 e 124) mostraram na região de hidrogênios em sistemas aromáticos dois dupletos acoplado entre si, com integral para dois hidrogênios cada, um em δ_H 7,23 ($J = 9,0$ Hz) e outro em δ_H 6,85 ($J = 9,0$ Hz) compatíveis com os hidrogênios de um sistema AA'BB'. Na mesma região, observou-se a presença de um duplodupletos em δ_H 7,04 ($J = 8,5$ e 2,5 Hz) acoplado com os dupletos em δ_H 6,89 ($J = 8,5$ Hz) e em δ_H 6,95 ($J = 2,5$ Hz), compatíveis com os hidrogênios de um sistema ABX.

O conjunto de sinais em δ_H 6,33, 6,10 e 1,84, bem como, o conjunto em δ_H 6,25, 6,00 e 1,80 caracterizaram os hidrogênios de duas unidades propenilas.

Partindo da premissa de que o gênero em estudo é rico em neolignanas e observando os dados apresentados pelo RMN de 1H , foi possível sugerir a presença de dois grupos fenilpropânicos para *Kt-5*, sendo um deles detentor do sistema AA'BB' e o outro do sistema ABX.

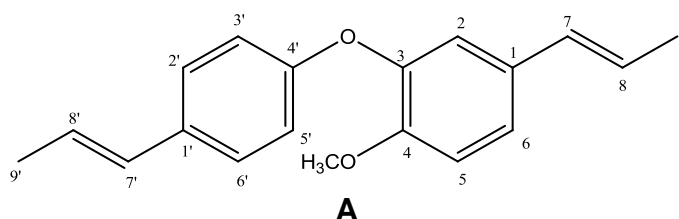
No espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, $CDCl_3$) (Figura 98, pág. 124) e na sua expansão (Figura 99, pág. 125) observou-se a presença de 17 sinais, correspondentes a 19 átomos de carbono. Destes, 5 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, sendo 3 deles oxigenados; 11 a carbonos metínicos; 2 a carbonos metílicos e 1 a carbono oximetílico.

De acordo com dos dados descritos, foi possível sugerir que as unidades fenilpropânicas de *Kt-5* estariam acopladas formando um esqueleto de uma oxineolignana (SCHOMBURG *et al.*, 2005; ITO *et al.*, 1982), apresentando um substituinte oxigenado, sendo este uma metoxila.



A presença de um sistema ABX, como observado no espectro de RMN ^1H , juntamente com a correlação dos hidrogênios em δ_{H} 3,80 (OMe) com o hidrogênio em δ_{H} 6,85 (H-3'/5'), observada na expansão do espectro de NOESY (Figura 110, pág. 130), foi possível inferir que a metoxila estaria inserida em C-4. A análise desses dados, bem como as informações obtidas nos espectros de massas de alta e baixa resolução (Figura 92 e 93 pág. 121) foi possível propor a estrutura **A** para *Kt-5* (Figura 89, pág. 118).

Figura 89- Proposta estrutural para *Kt-5*.



No espectro de correlação heteronuclear HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Figura 100, pág. 125) e suas expansões (Figura 101 e 102, pág. 126), pode-se verificar correlações diretas entre os hidrogênios em δ_{H} 7,23 (*d*) e 6,85 (*d*) com os carbonos em δ_{C} 126,89 e 117,95, atribuindo-os a C-2'/C-6' e C-3'/C-5', respectivamente, fortalecendo a proposta do sistema AA'BB'. Deslocamentos químicos em δ_{H} 6,95 (*d*), 6,89 (*d*) e 7,04 (*dd*) mostraram correlações com os carbonos em δ_{C} 117,95, 112,81 e 122,22, respectivamente, sendo atribuídos, aos carbonos C-2, C-5 e C-6 do sistema ABX.

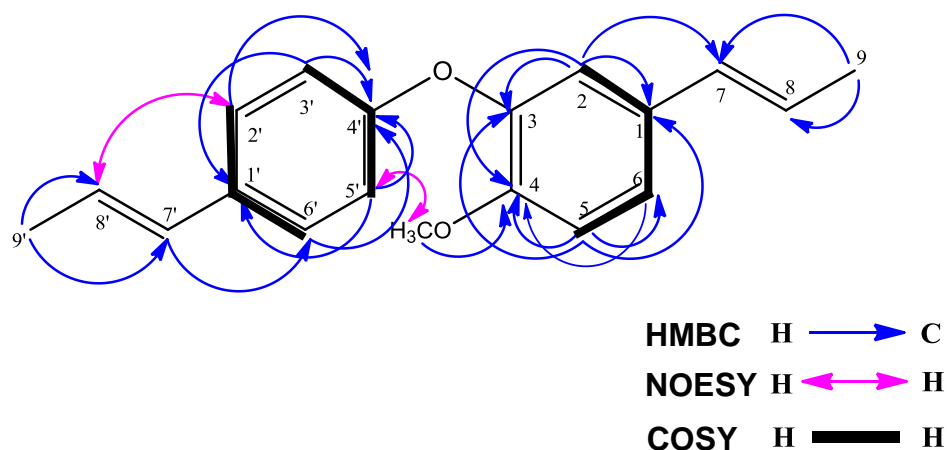
No espectro de HMBC (Figuras 103, pág. 127) e suas expansões (Figura 104 e 105, pág. 127 e 128), observou-se as correlações entre os sinais em δ_{H} 6,95 (H-2) e 1,80 (H-9) com o carbono em δ_{C} 129,89 (C-7), bem como a correlação entre o duplete em δ_{H} 6,33 (H-7') com o sinal em δ_{C} 126,90 (C-2'/6'), confirmando a inserção da unidade propenila mais protegida no anel do sistema ABX e a menos protegida no sistema AA'BB'. Os deslocamentos dos carbonos não hidrogenados

oxigenados foram confirmados pelas correlações entre o sinal em δ_H 7,04 (H-6) com o carbono em δ_C 150,30, atribuído a C-4, e entre os hidrogênios em δ_H 7,23 (H-2'/C-6') e 6,85 (H-3'/C-5') com o carbono em δ_C 156,79, atribuído a C-4'.

No espectro de correlação homonuclear COSY (Figura 106, pág. 128) e em suas expansões (Figuras 107 e 108, pág. 129), observou-se as correlações dos sinais em δ_H 7,04 (H-6) com 6,95 (H-2) e 6,89 (H-5) e do sinal em δ_H 6,85 (H-3'/5') com 7,23 (H-2'/6').

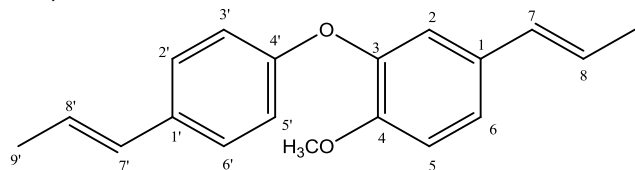
Outras correlações de HMBC, NOESY e COSY que auxiliaram na confirmação das atribuições feitas aos outros átomos de hidrogênio e carbono da molécula podem ser observadas na Figura 90 (pág. 119). Na Tabela 6 (pág. 120) estão compilados os deslocamentos químicos e as correlações observadas nos espectros de RMN 1H e ^{13}C uni e bidimensionais para *Kt-5*.

Figura 90- Correlações observadas nos espectros HMBC, NOESY e COSY para *Kt-5*.



Após análise dos espectros de IV, EM e RMN de 1H e ^{13}C uni e bidimensionais foi possível elucidar *Kt-5* como sendo uma **1,1'-(E)-propenil-4-metoxi-3,4'-oxineolignana** (Figura 90, pág. 119) relatada pela primeira vez na literatura e cujo nome trivial atribuído foi ottomentosa.

Tabela 6- Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais em CDCl_3 de *Kt-5* (δ em ppm, J em Hz).



C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY
	δ_{C}	δ_{H}	2J	3J		
1	131,66		H-2	H-5		
3	145,24		H-2	H-5		
4	150,29		H-5	H-2; H-6; OMe		
1'	132,59			H-3'/H-5'		
4'	156,79		H-3'/H-5'	H-2'/H-6'		
CH						
2	117,95	6,95 (<i>d</i> , 1H, $J = 2,5$)			H-6	
5	112,81	6,89 (<i>d</i> , 1H, $J = 8,5$)			H-6	
6	122,22	7,04 (<i>dd</i> , 1H, $J = 2,5$ e $8,5$)	H-5	H-2		
7	129,89	6,25 (<i>dd</i> , 1H, $J = 1,5$ e $16,0$)		H-2; H-9	H-8	
8	124,34	6,00 (<i>qd</i> , 1H, $J = 6,5$ e $16,0$)	H-9		H-9	
2'/6'	126,90	7,23 (<i>d</i> , 1H, $J = 9,0$)		H-7'		H-8'
3'/5'	117,35	6,85 (<i>d</i> , 1H, $J = 9,0$)			H-2'/H-6'	
7'	130,29	6,33 (<i>dd</i> , 1H, $J = 1,5$ e $16,0$)		H-9'	H-8'	
8'	124,47	6,10 (<i>qd</i> , 1H, $J = 6,5$ e $16,0$)	H-9'		H-9'	
CH₃						
9	18,28	1,80 (<i>dd</i> , 3H, $J = 1,5$ e $6,5$)				
9'	18,39	1,84 (<i>dd</i> , 3H, $J = 1,5$ e $6,5$)				
OMe	56,12	3,8 (<i>s</i> , 1H)				H-3'/H-5'

Figura 91- Espectro de massas de alta resolução de *Kt-5*.

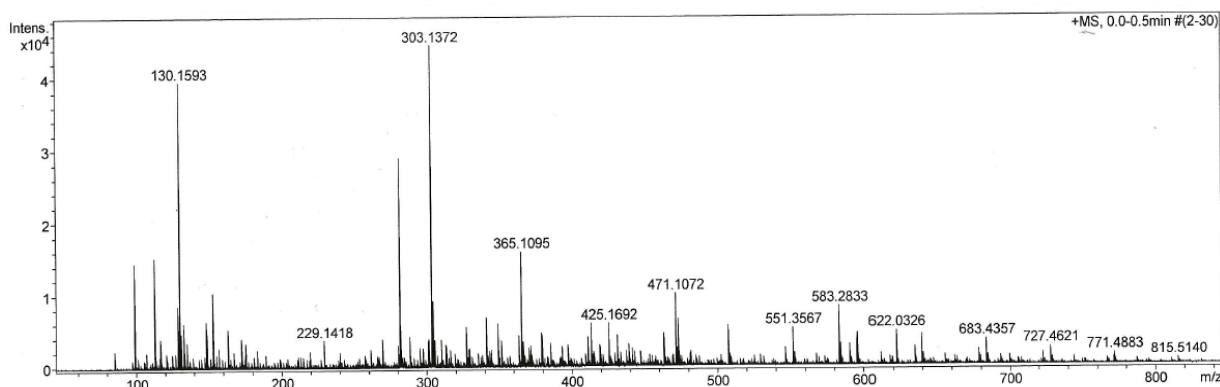


Figura 92- Espectro de massa de baixa resolução de *Kt-5* e de fragmentação do íon m/z 280,9.

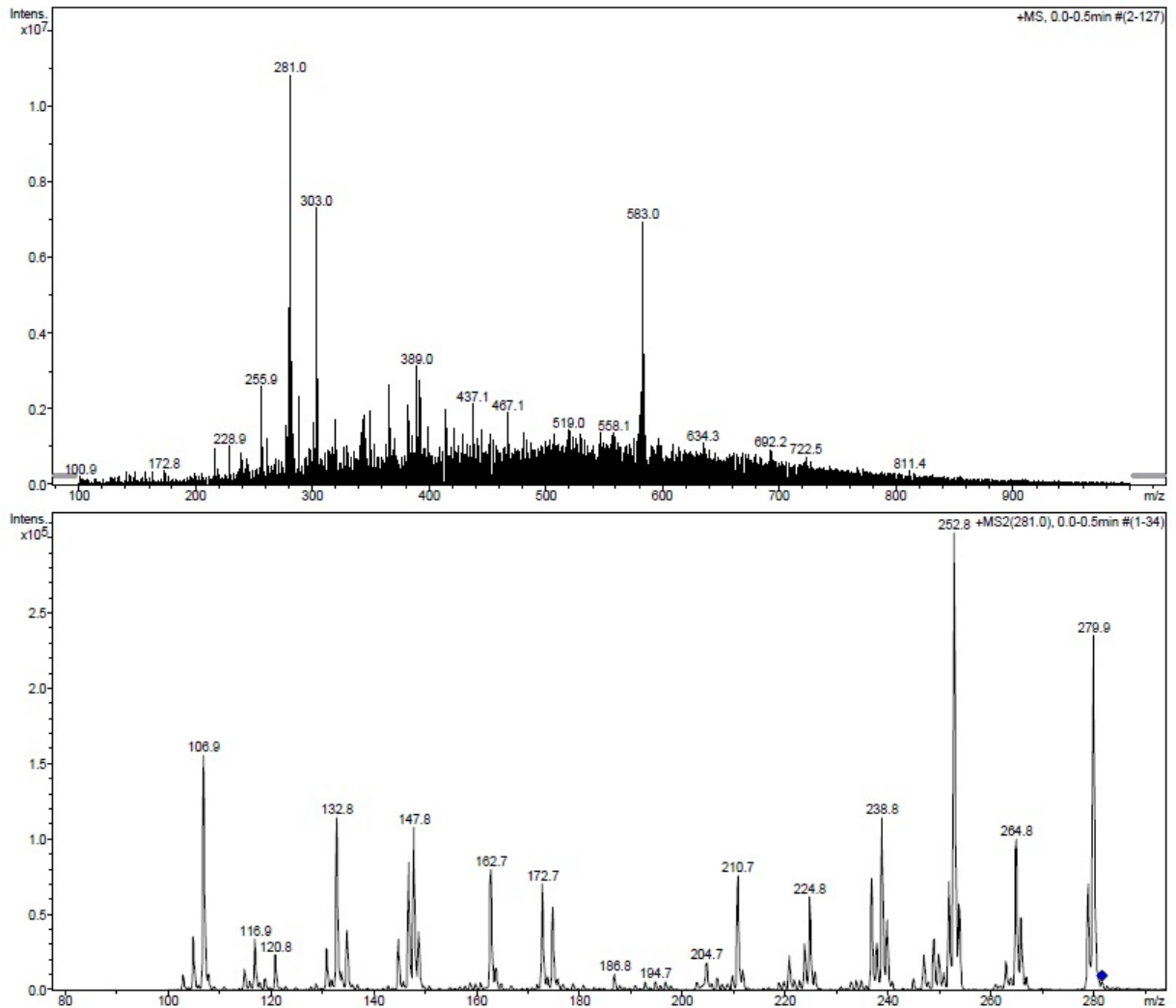


Figura 93- Proposta de fragmentação para *Kt-5*.

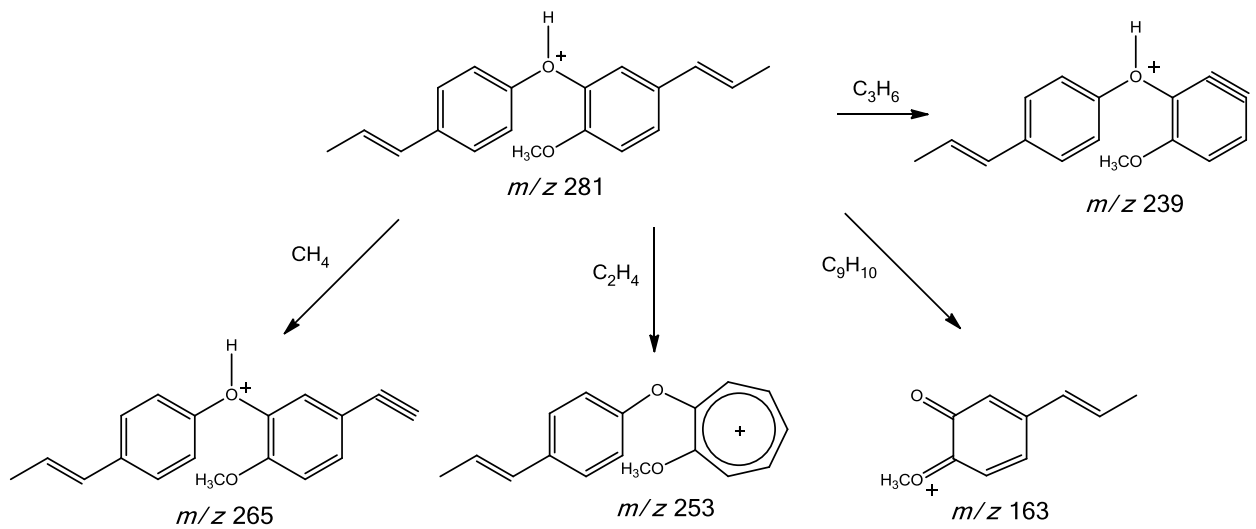


Figura 94- Espectro no Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de Kt-5.

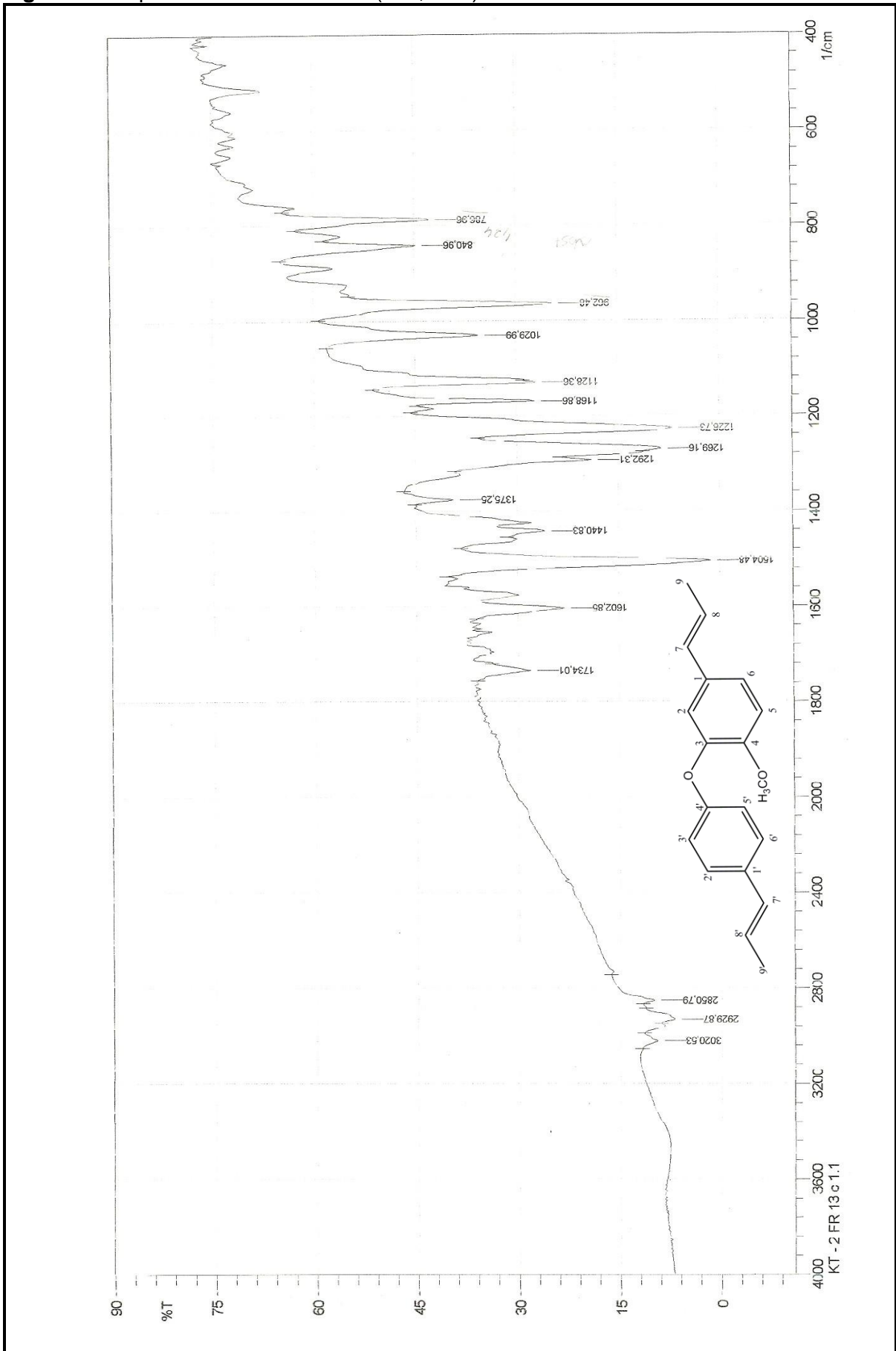


Figura 95- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-5*.

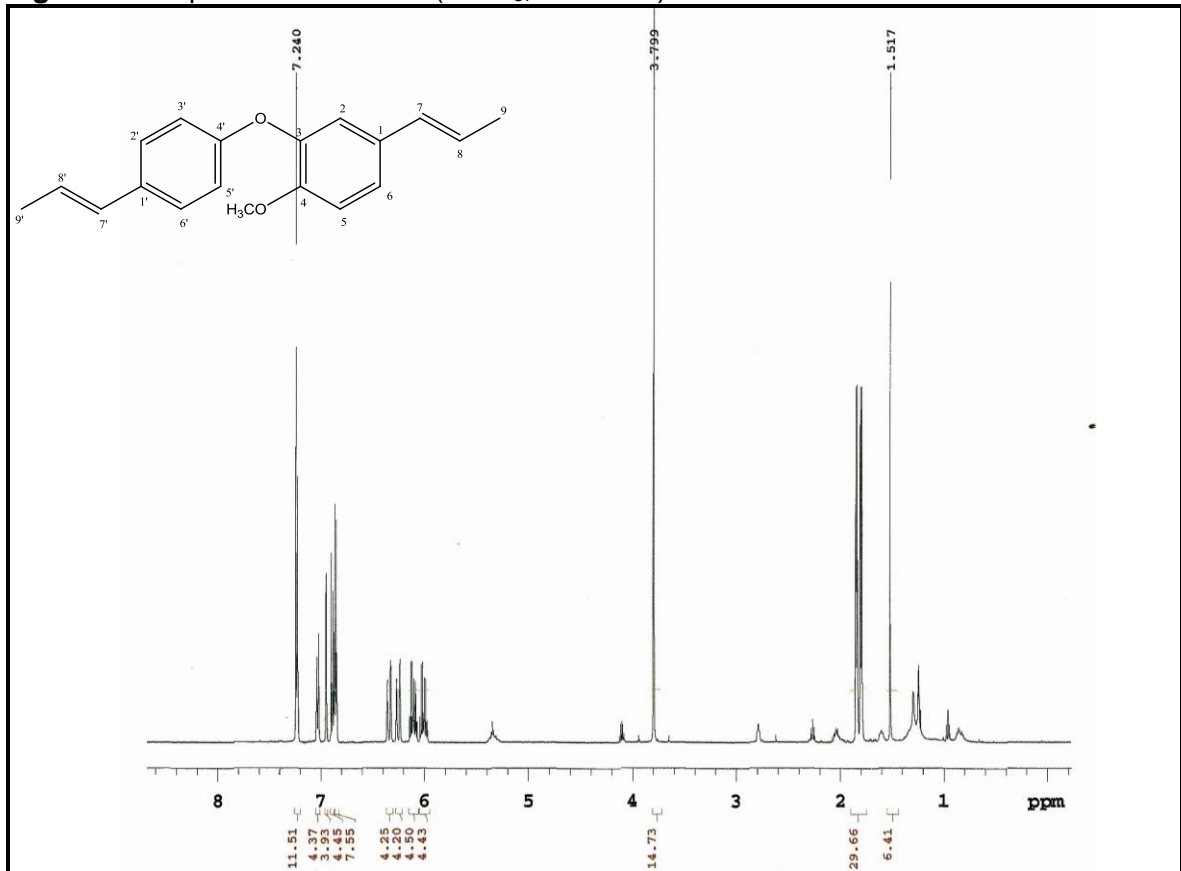


Figura 96- Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-5* na região 7,3-6,8 ppm.

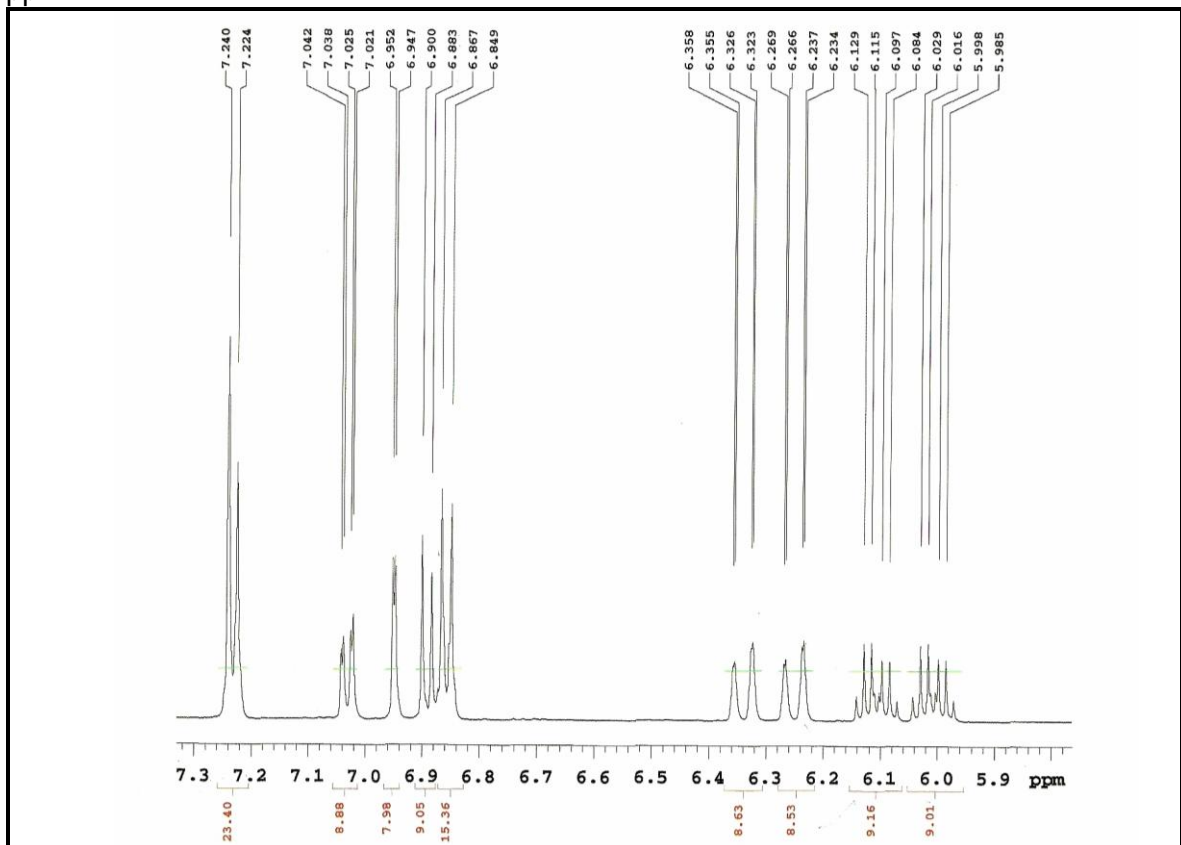


Figura 97- Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-5* na região 4,2-1,6 ppm.

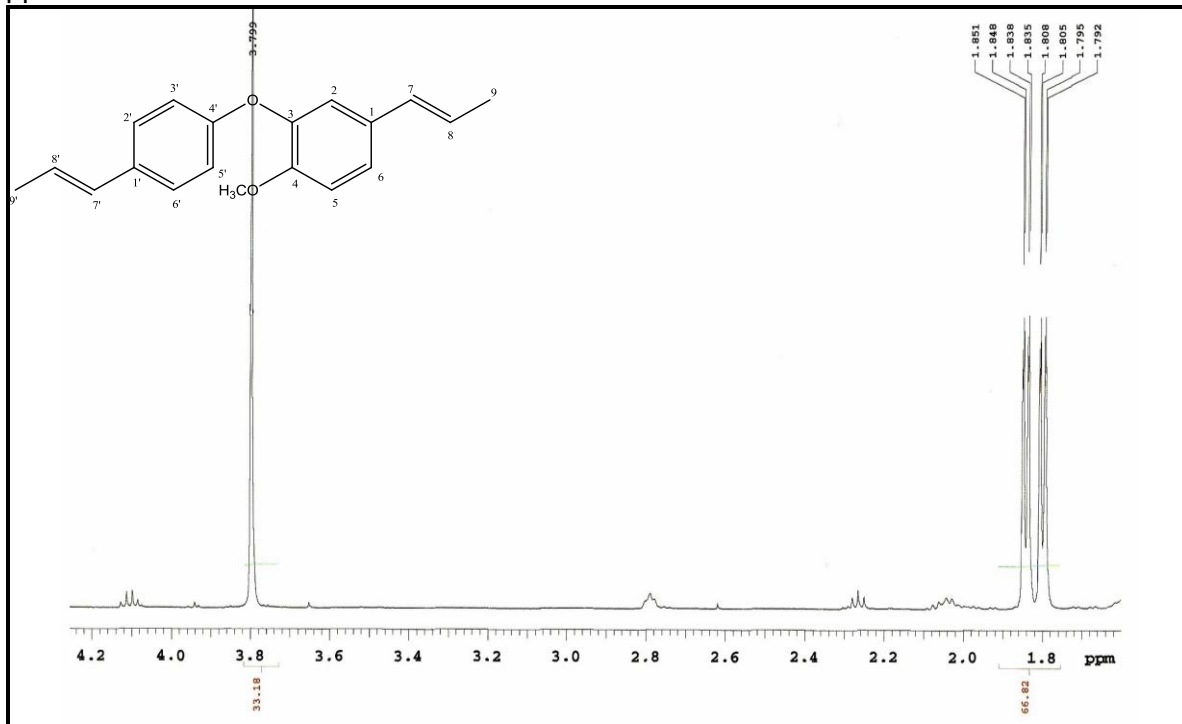


Figura 98- Espectro de RMN ^{13}C - APT (CDCl_3 , 125 MHz) de *Kt-5*.

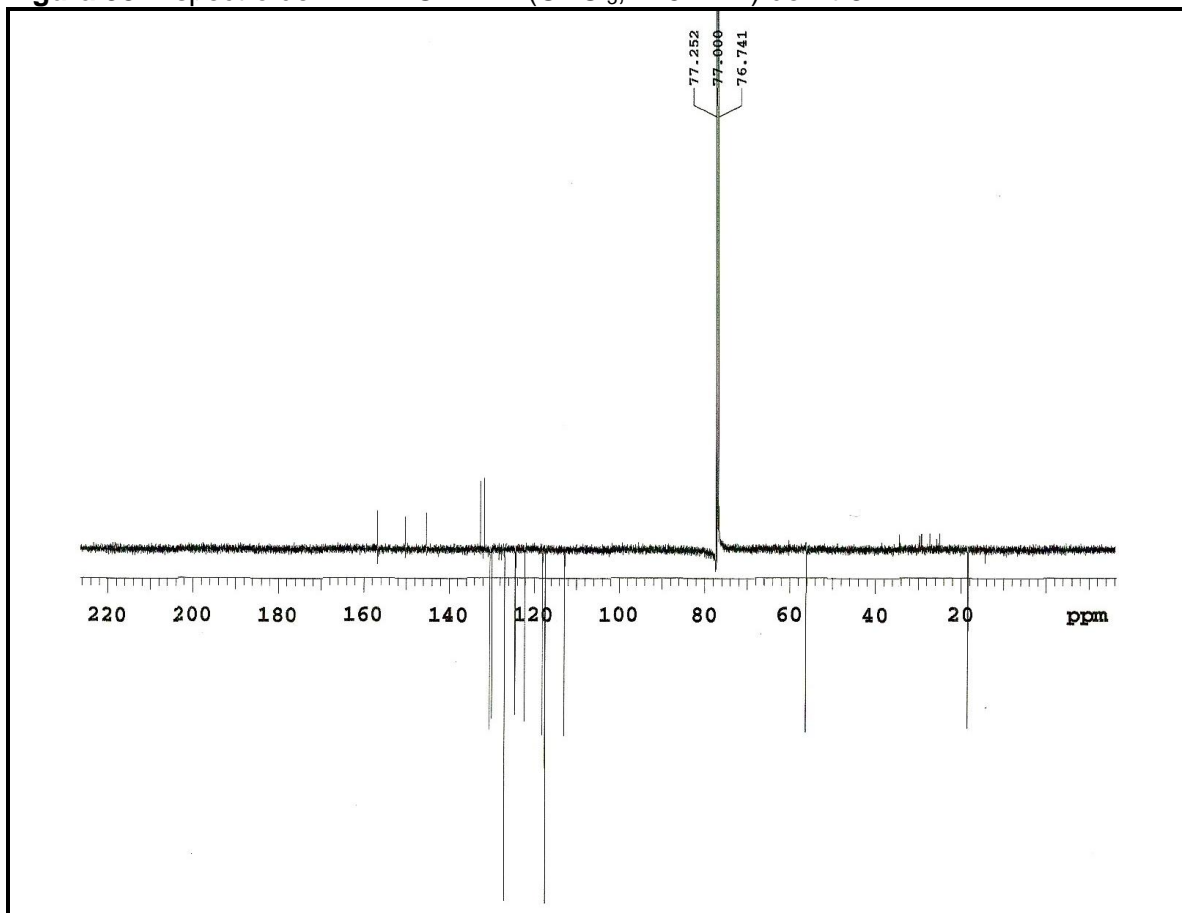


Figura 99- Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT (CDCl_3 , 125 MHz) de *Kt-5* na região de 162,0–110,0 ppm.

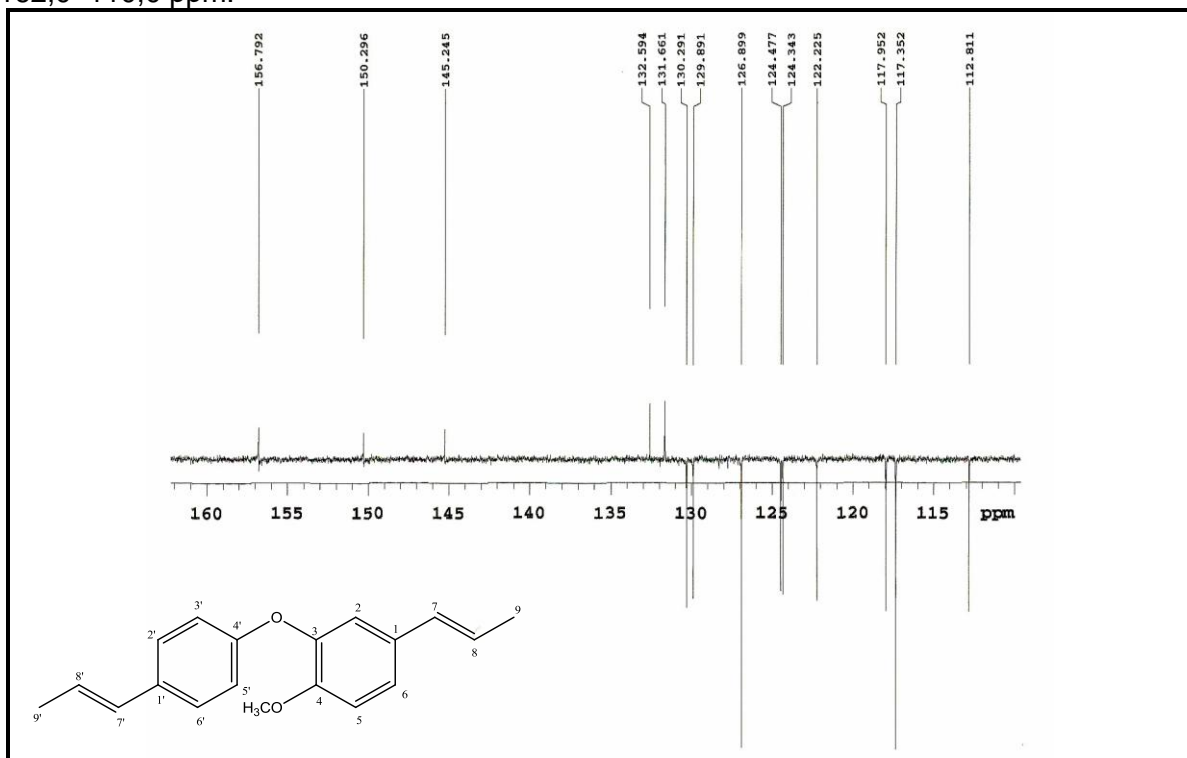


Figura 100- Espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-5*.

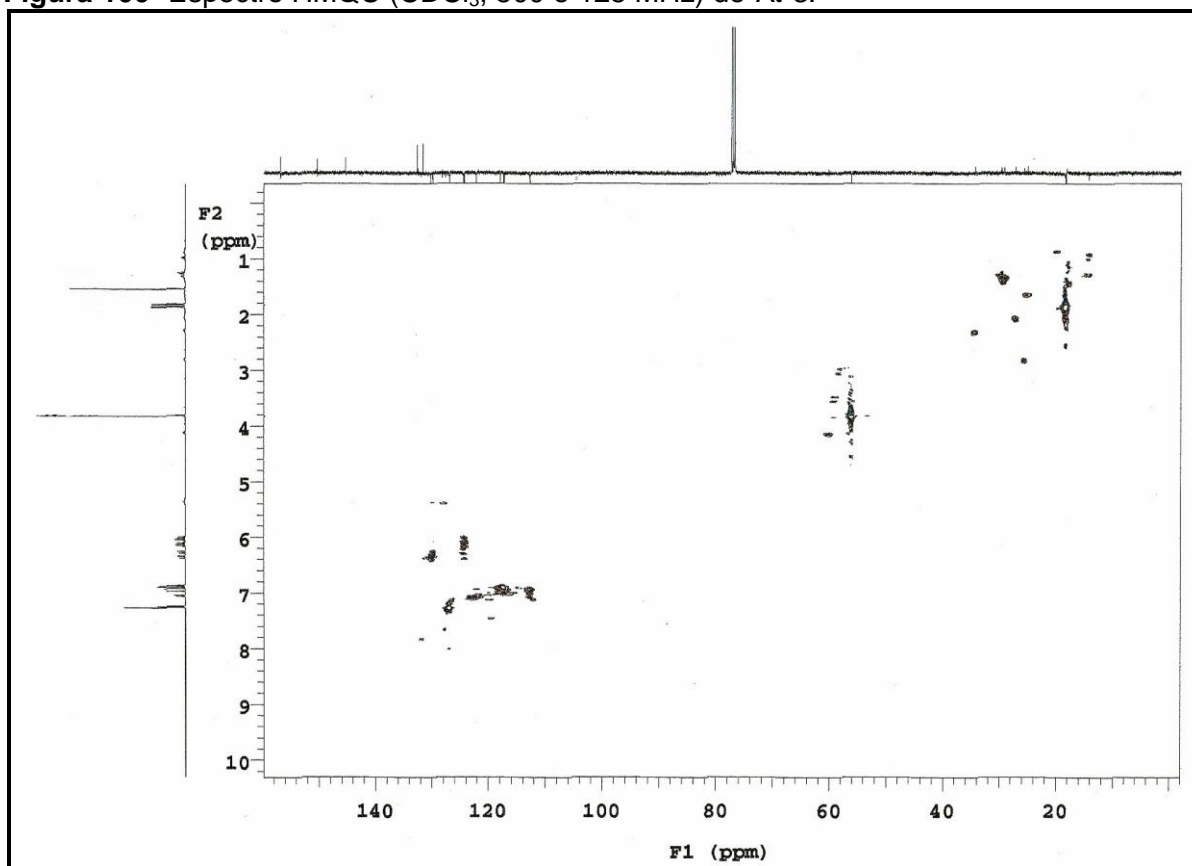


Figura 101- Expansão do espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-5* na região de (132-112 ppm) x (7,6-5,7 ppm).

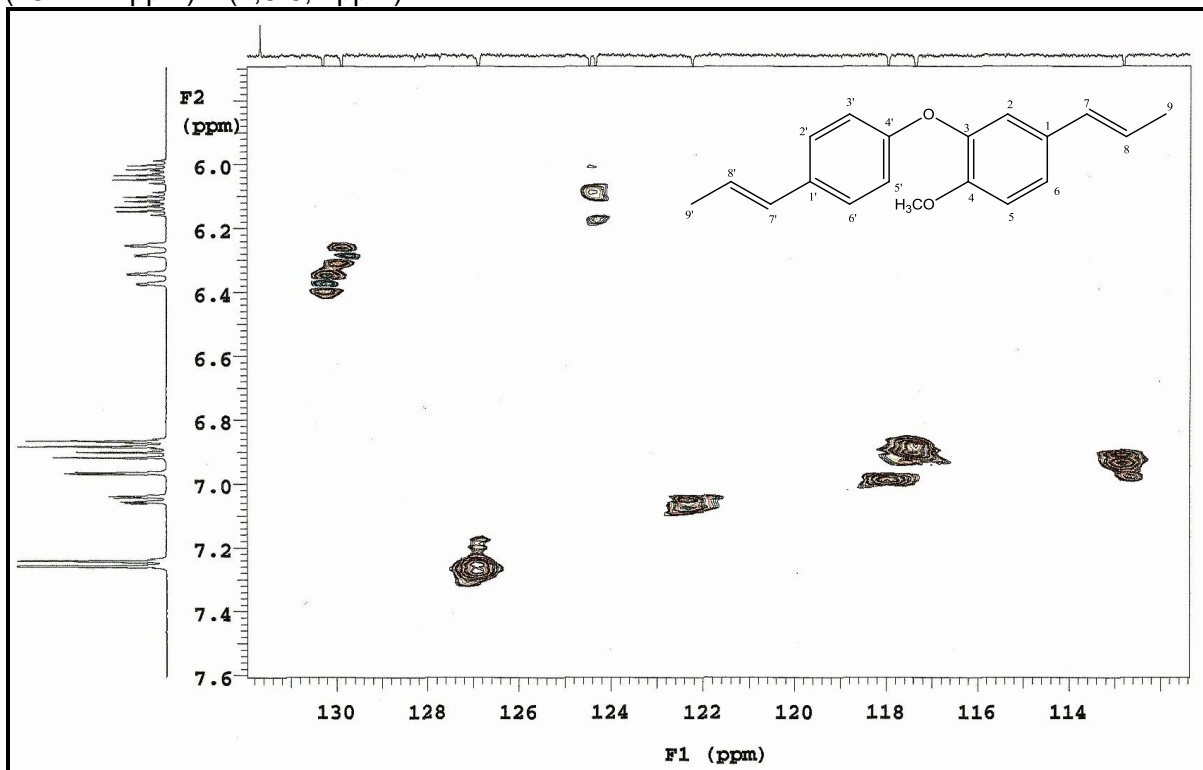


Figura 102- Expansão do espectro HMQC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-5* na região de (58-14 ppm) x (4,5-1,0 ppm).

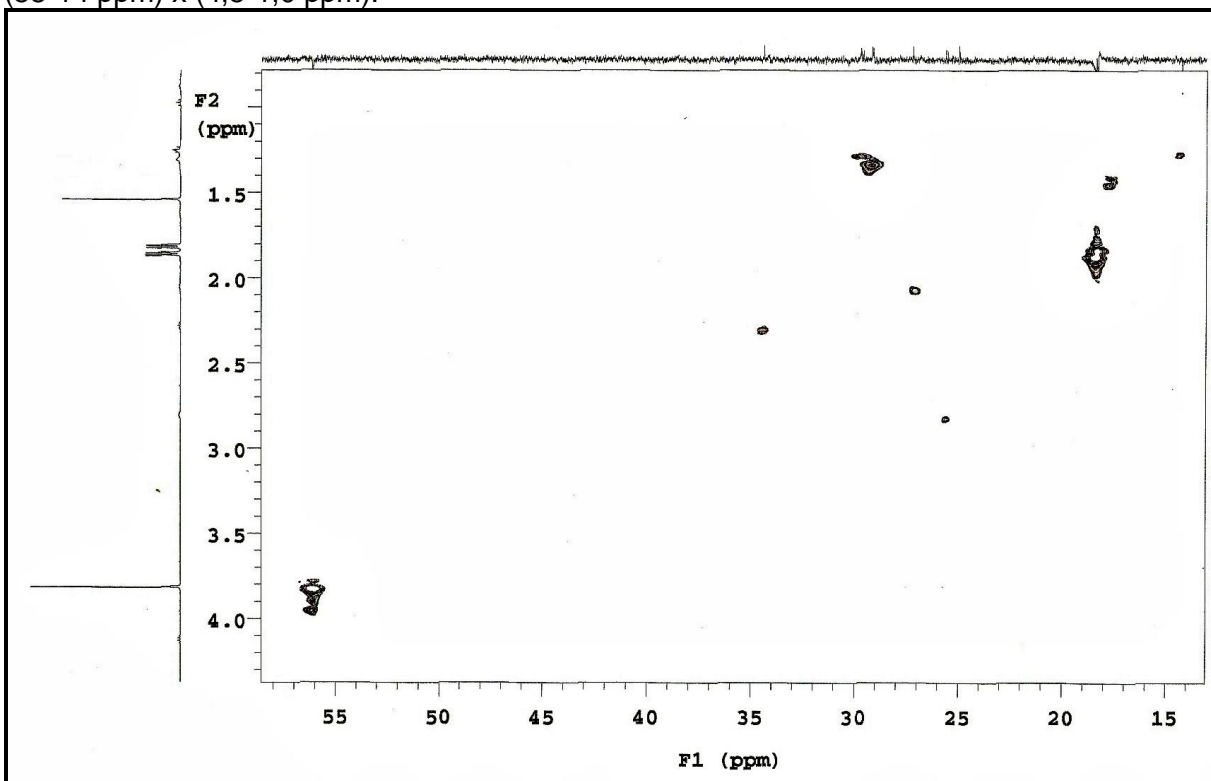


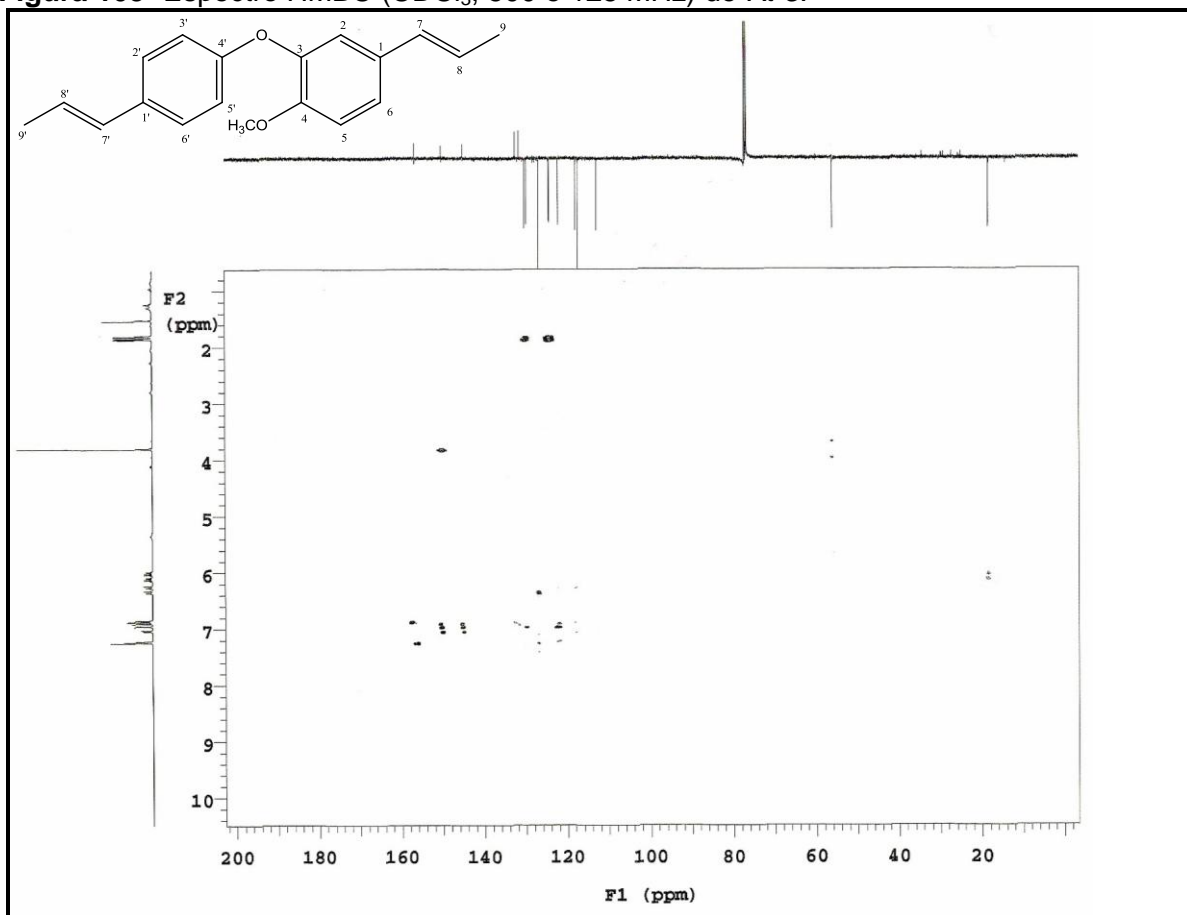
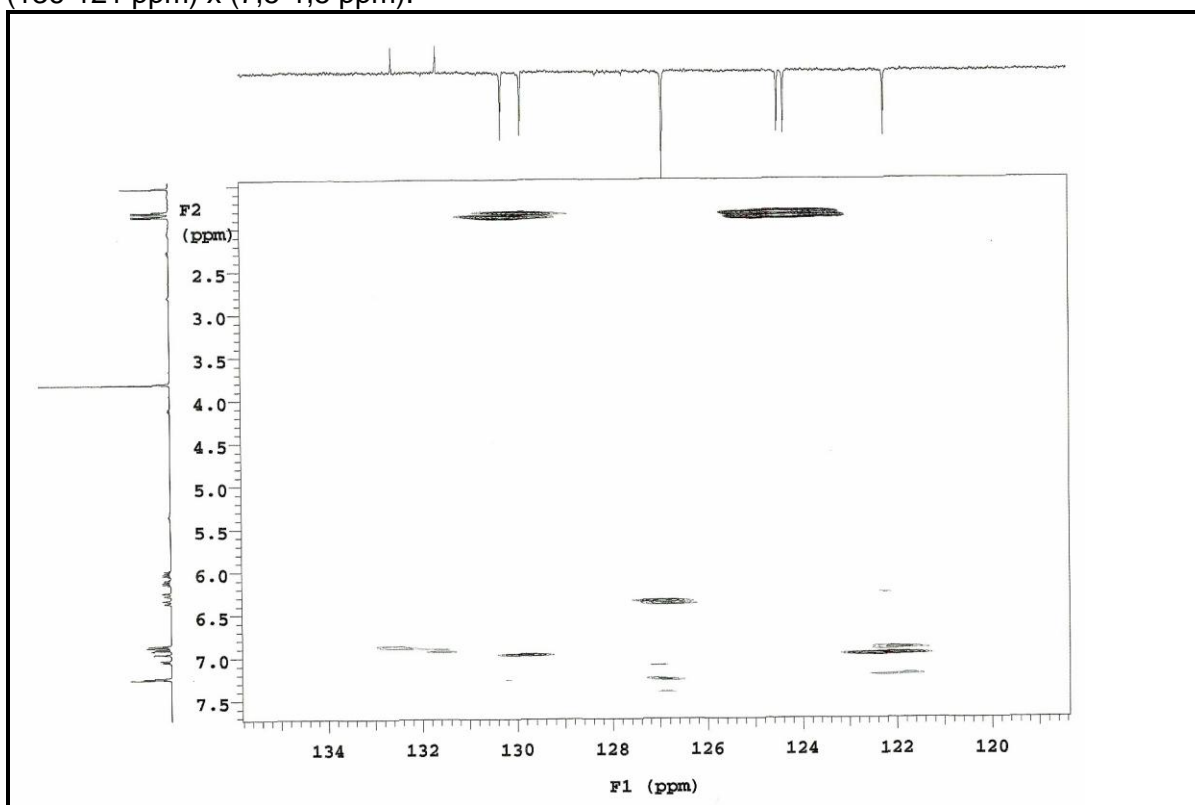
Figura 103- Espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-5*.**Figura 104-** Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-5* na região de (136-121 ppm) x (7,5-1,5 ppm).

Figura 105- Expansão do espectro HMBC (CDCl_3 , 500 e 125 MHz) de *Kt-5* na região de (159-120 ppm) x (7, 5-6,2 ppm).

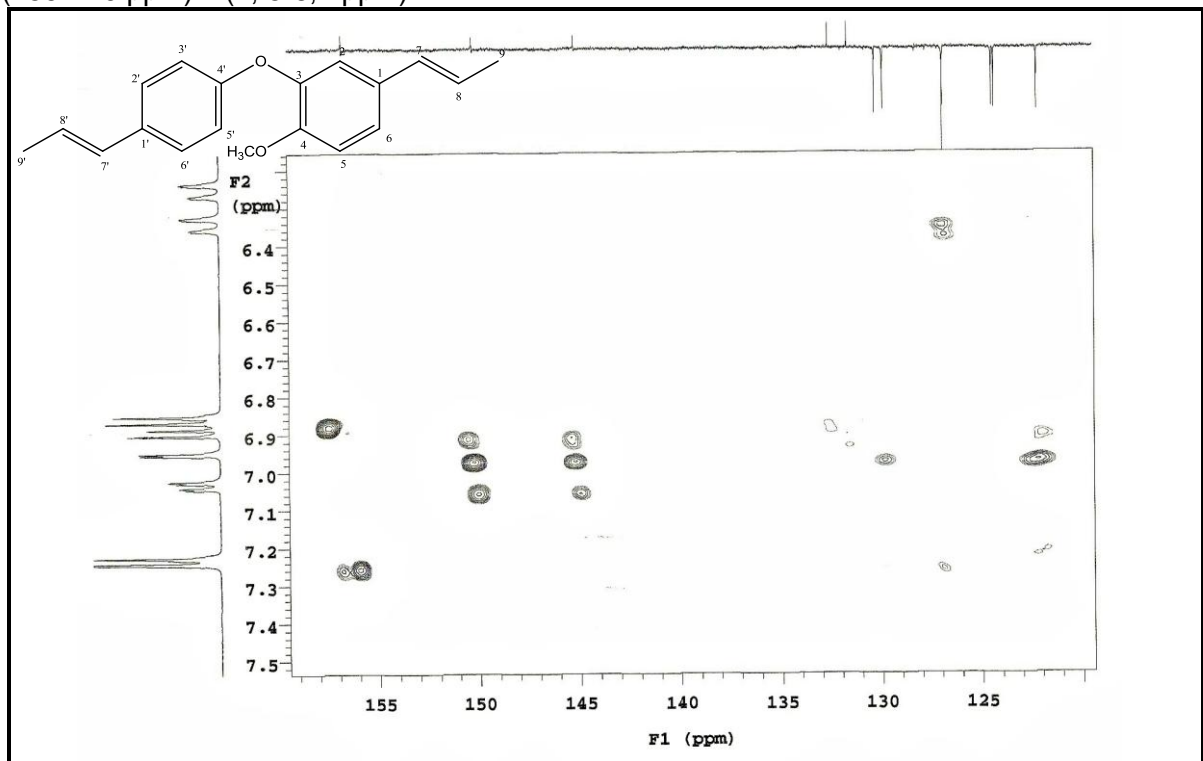


Figura 106- Espectro COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-5*.

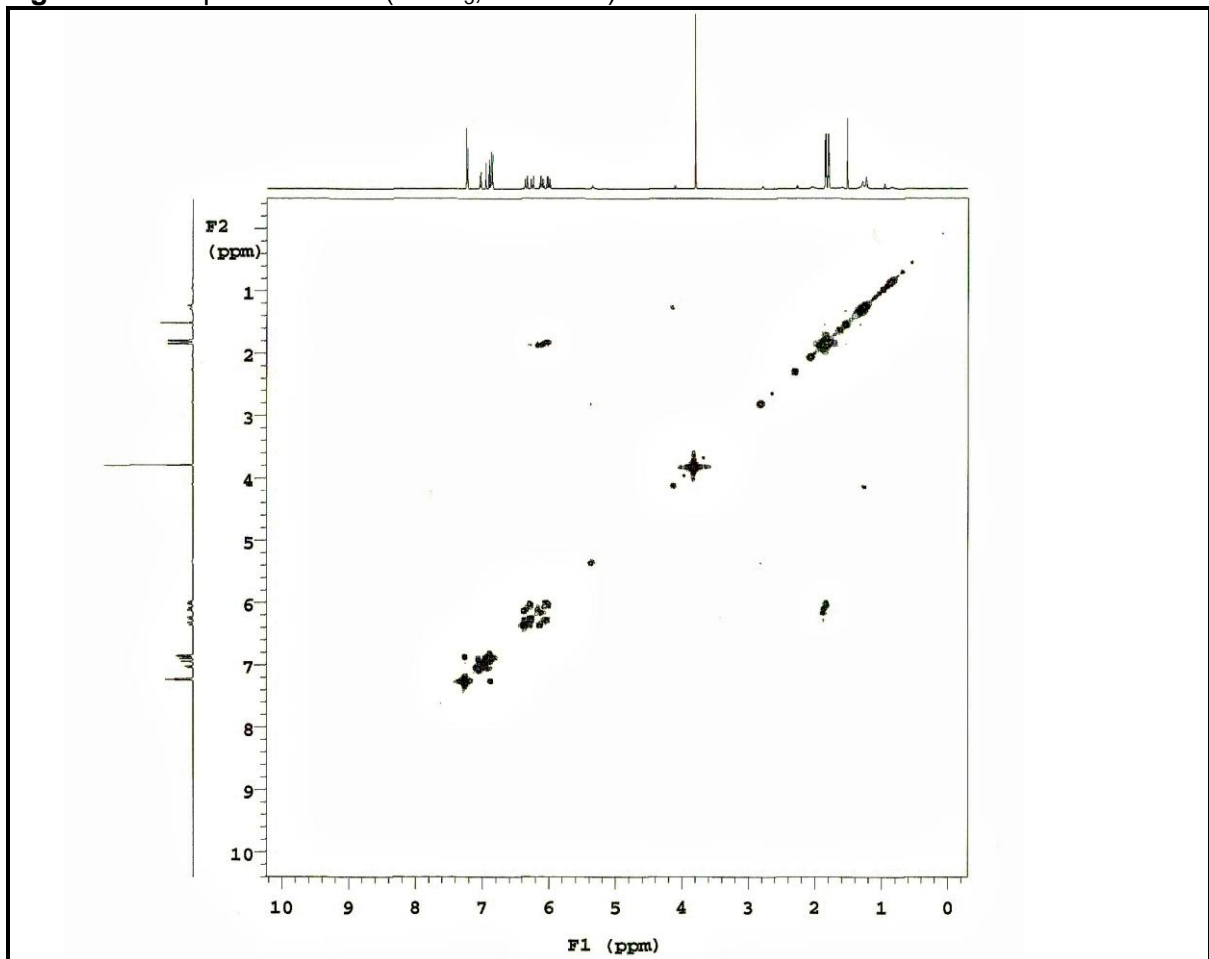


Figura 107- Expansão do espectro COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-5* na região de (6,5-0,5) x (6,5-0,5 ppm.)

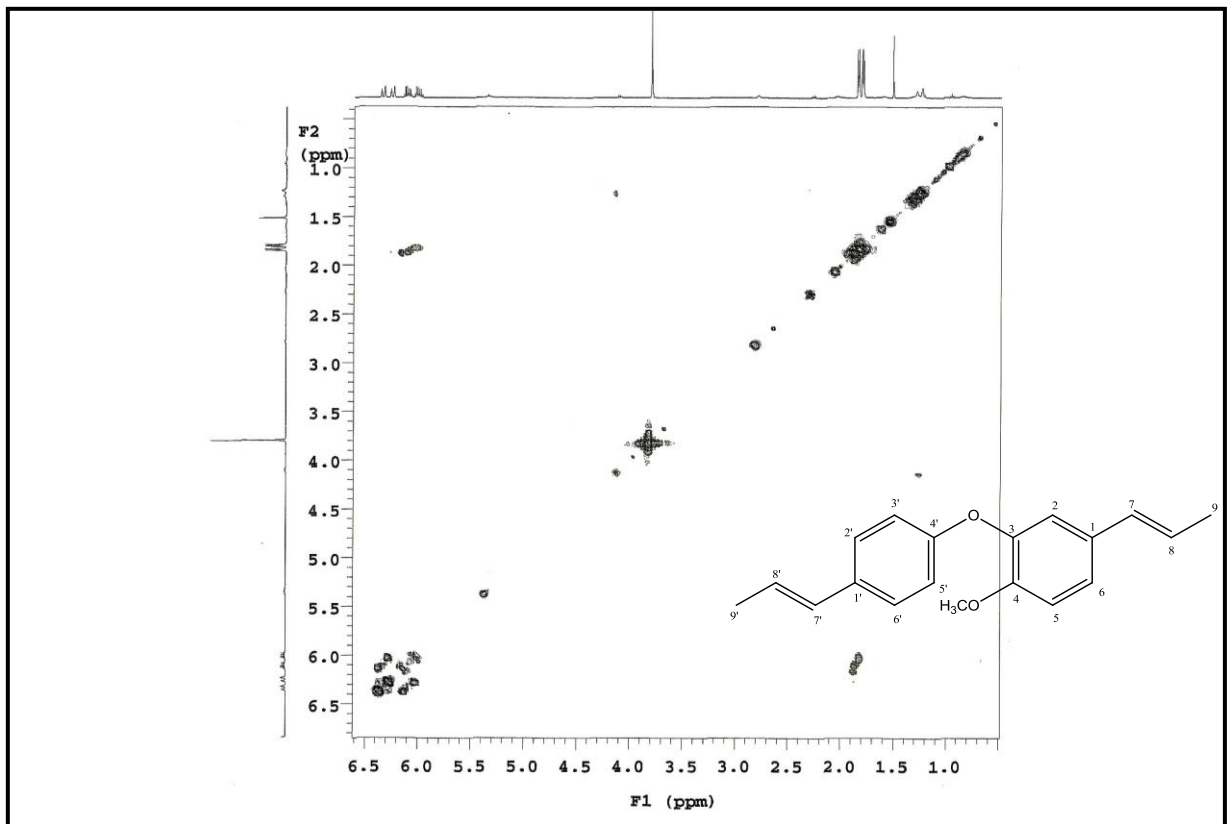


Figura 108- Expansão do espectro COSY (CDCl_3 , 500 MHz) de *Kt-5* na região de (7,4-5,9 ppm) x (7,6-5,8 ppm).

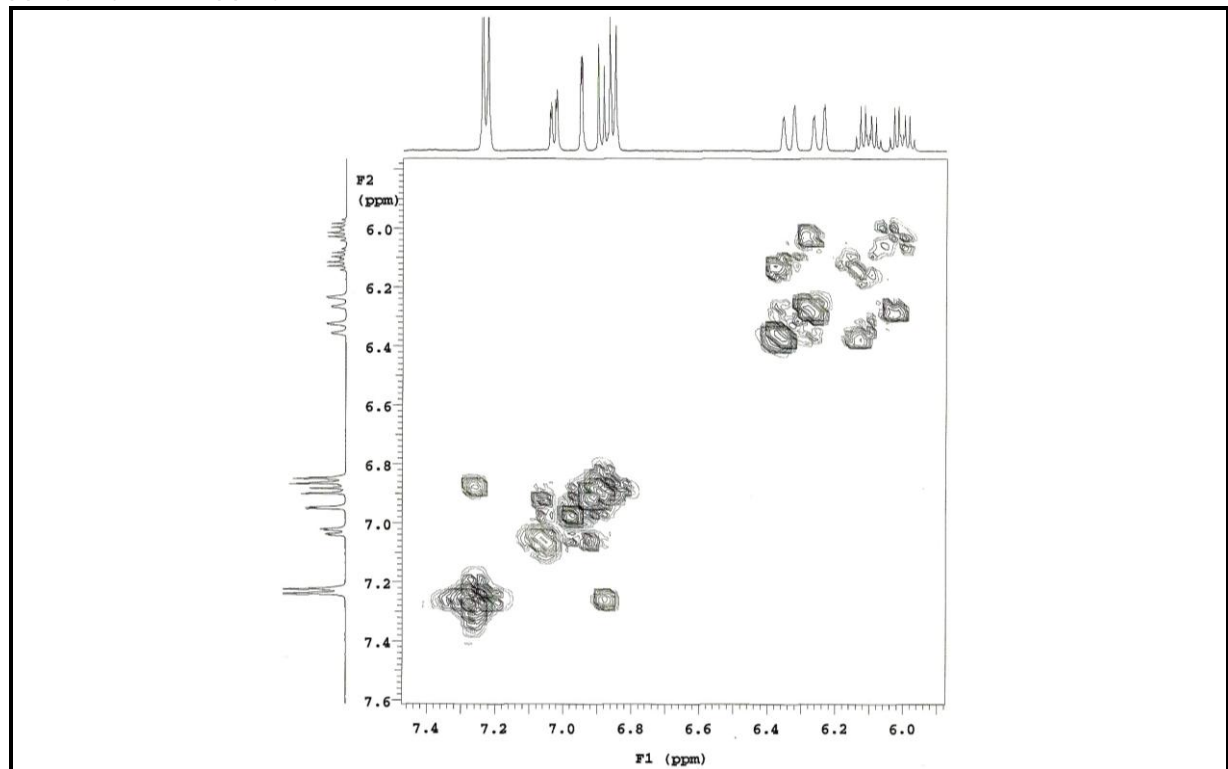


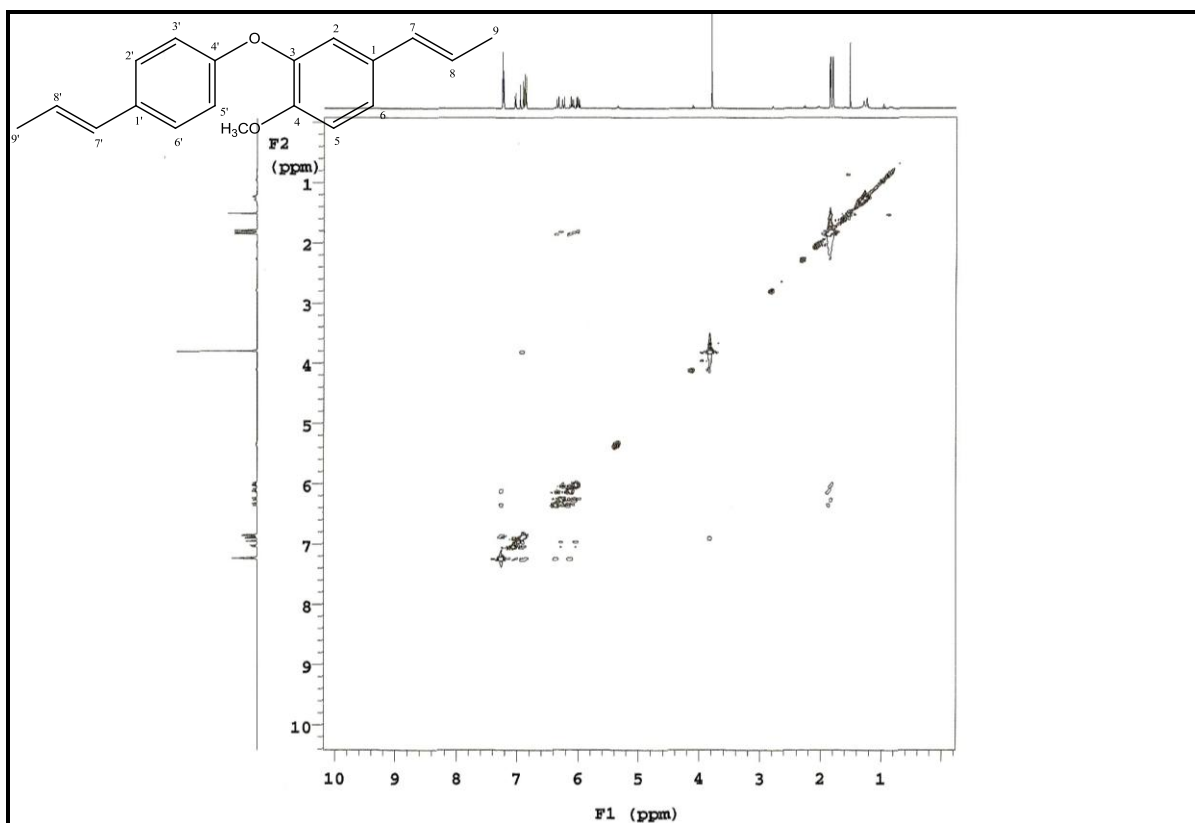
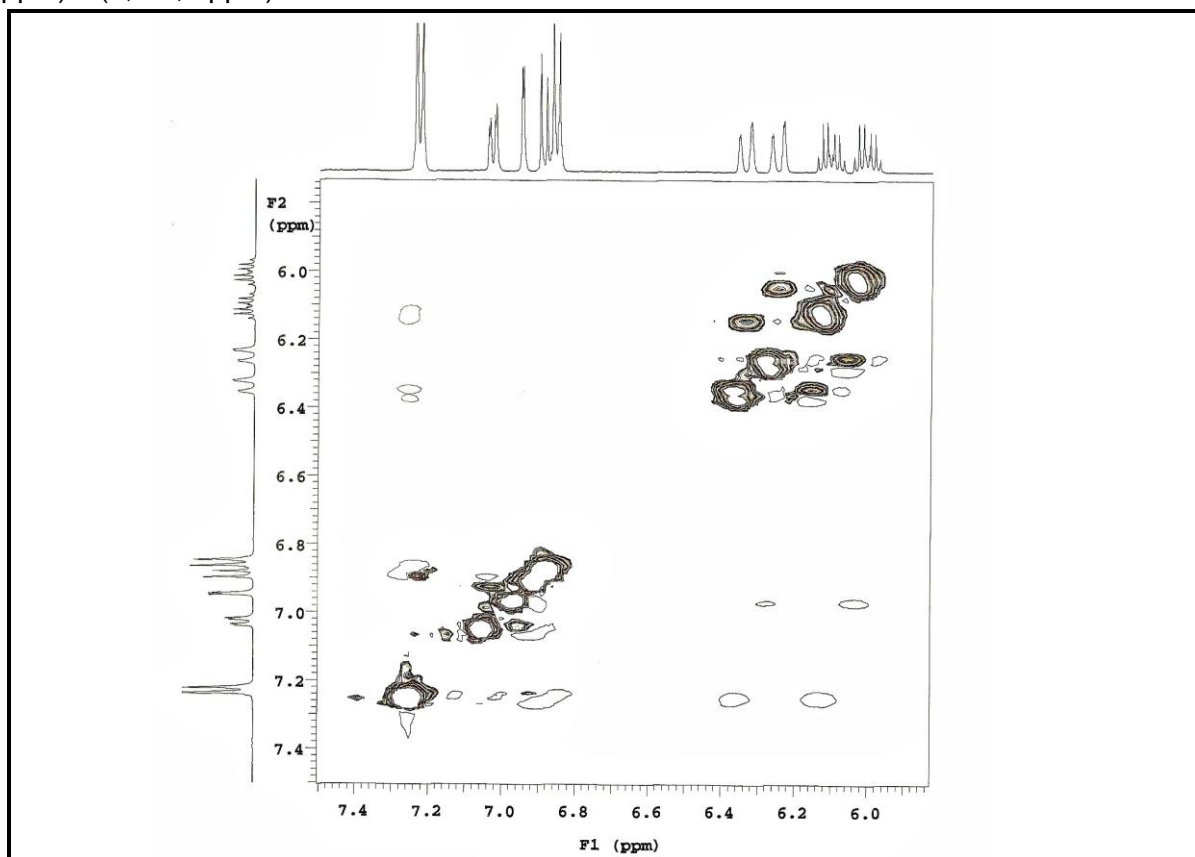
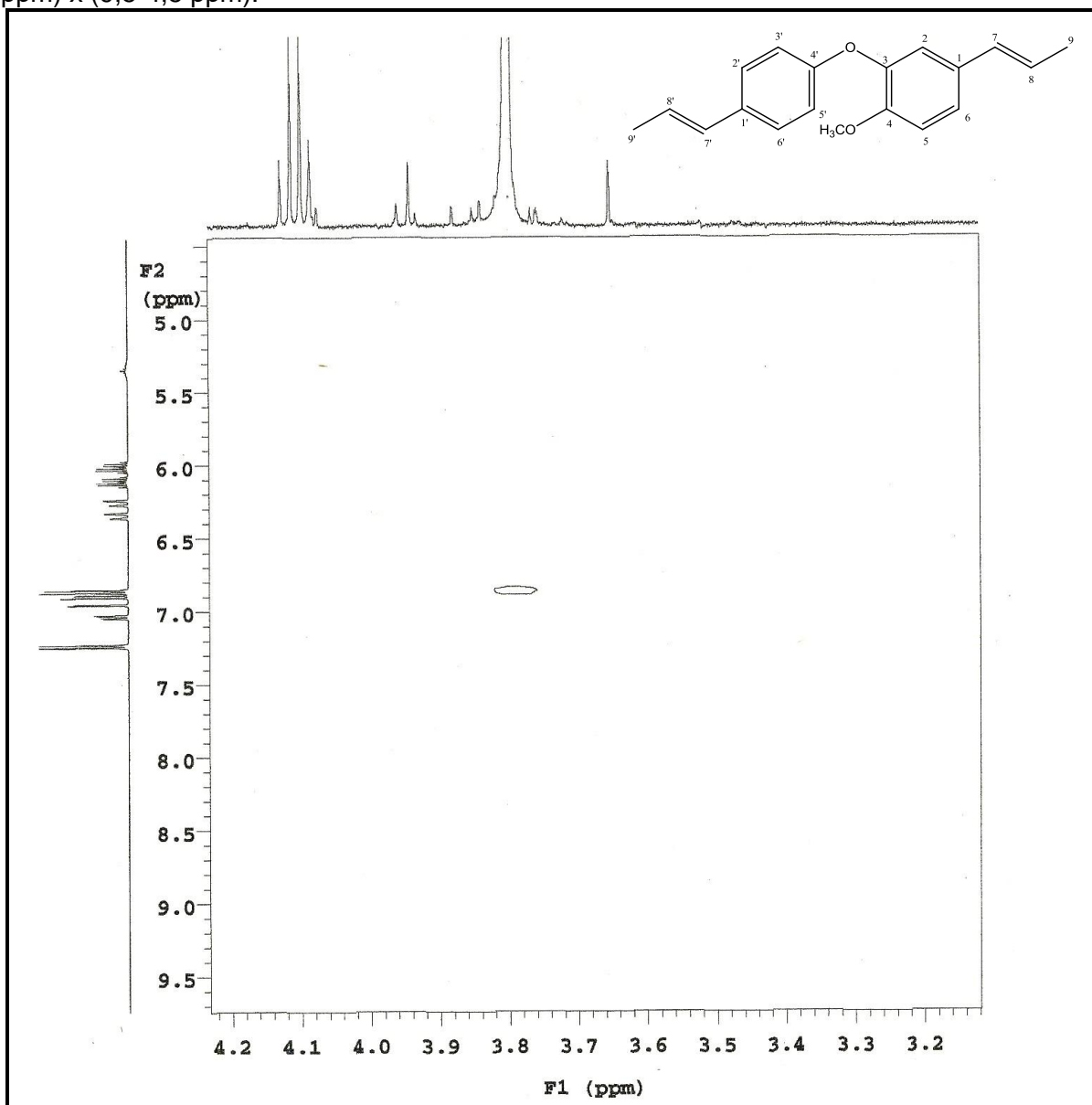
Figura 109- Espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-5*.**Figura 110-** Expansão do espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-5* na de região (7,5-5,9 ppm) x (7,5-5,8 ppm).

Figura 111- Expansão do espectro NOESY (CDCl₃, 500 MHz) de *Kt-5* na região de (7,5-5,9 ppm) x (9,5-4,5 ppm).



Conclusões



6. CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *Krameria tomentosa* levou ao isolamento de cinco substâncias. As quais foram identificadas por Espectroscopia no Infravermelho, Espectrometria de Massas e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (HMQC, HMBC, COSY e NOESY).

A espécie apresentou em sua constituição química duas neolignanas inéditas na literatura, 1-1'-(*E*)-propenil-4-metoxi-3,4'-oxineolignana e 5-ácido-2-(2'-hidroxi-4',6'-dimetoxifenil)-benzofurânico, nomeadas trivialmente de ottomentosa e sobralina, respectivamente. Também foram isoladas as neolignanas eupomatenoide 6, 2-(2',4'-diidroxifenil-5-(*E*)-propenilbenzofurano e diidrocarinatidina, as duas primeiras reladas pela primeira vez na espécie e a última relatada pela primeira vez na família Krameriaceae.

Considerando a riqueza de neolignanas em espécies da família Krameriaceae, o presente trabalho vem a confirmar a predominância dessa classe de metabólitos secundários na família e contribuir com a ampliação do seu conhecimento quimiotaxonômico com o isolamento de três neolignanas nunca relatadas para a mesma. Além disso, este trabalho embasa novos estudos, como os de atividade farmacológica e síntese.

REFERENCIAS

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, 1987.

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, 1987.

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.; DOMINGUEZ, X. A. Neolignans and nor-neolignans from *Krameria paucifolia*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 8, p. 835-837, 1990.

ACHENBACH, H.; UTZ, W.; USUBILLAGA, A.; RODRIGUEZ, H. A. Lignans from *Krameria ixina*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 4, p. 1159-1166, 1991.

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.; LOZANO, B.; TOUCHÉ, E. M. G.; MORENO, S. Lignans and Neolignans from *Krameria parvifolia*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 5, p. 1093-1095, 1996.

AHMAD, F.; BAKAR, S. A.; READ, R. W. Benzofurans from the leaves of *Piper magnibacum* C. DC. **ACGC Chemical Research Communications**, v. 7, p. 33-37, 1998.

ANH, N. H.; RIPPERGER, HELMUT; VAN SUNG, T.; ADAM, G. Neolignans and a sesquiterpene from *Caryodaphnopsis tonkinensis*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 4, p. 1167-1169, 1996.

ANH, N. H.; RIPPERGER, H.; PORZEL, A.; VAN SUNG, T.; ADAM, G. Neolignans from *Caryodaphnopsis baviensis*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 3, p. 569-571, 1997.

APERS, S.; VLIETINCK, A.; PIETERS, L. Lignans and neolignans as lead compounds. **Phytochemistry reviews**, v. 2, n. 3, p. 201-217, 2003.

ARONE, A.; MODUGNO, D. V.; NASINI, G.; VENTURINI, I., Isolation and structure determination of new active neolignans and nor-neolignans from Ratanhia. **Gazz chem. Ital.** v. 118, n. 10, p. 675-682, 1988.

ARONE, A.; MODUGNO, D. V.; NASINI, G. Estudios on Ratanhia Radix II. Isolation of Ratanhine, a new Dineolignan from medicinal Ratanhia Radix. **Gazz chem. Ital.** v. 120, n. 6, p. 397-401, 1990.

BARATA, L. E. S.; SANTOS, L. S.; FERRI, P. H.; PHILLIPSON, J. D.; PAINE, A.; CROFT, S. Anti-leishmanial activity of neolignans from *Virola* species and synthetic analogues. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p.589-595, 2000.

BARBOSA-FILHO, J. M. **Lignanas, neolignanas e seus análogos**. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed., Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC, p. 557-575, 2004.

BAUMGARTNER, L.; SOSA, SILVIO; 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.

BENEVIDES, P. J. C.; SARTORELLI, P.; KATO, M. J. Phenylpropanoids and neolignans from *Piper regnellii*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 2, p. 339-343, 1999.

BEZERRA, J. L.; COSTA, G. C.; LOPES, T. C.; CARVALHO, I. C. D. S.; PATRÍCIO, F. J.; SOUSA, S. M.; AMARAL, F. M. M.; RABELO, J. M. M.; GUERRA, R. N. M.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. **Rev. Bras. Farmacogn.** v.16, p. 631-637, 2006.

BOWDEN, B. F.; RITCHIE, E.; TAYLOR, W. C. Constituents of *Eupomatia* species. II. Isolation and structure determination of further eupomatenoid lignans from the bark of *Eupomatia laurina*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 2659-2669, 1972.

BRAGA, R. **Plantas do nordeste, especialmente do Ceará**. 2^o ed., Fortaleza, 1960.

BRAZ-FILHO, R. Brazilian phytochemical diversity: bioorganic compounds produced by secondary metabolism as a source of new scientific development, varied industrial applications and to enhance human health and the quality of life. **Pure Appl. Chem.** v. 71, n.9, p. 1663-1672, 1999.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n.1, p. 229-239, 2010.

CARLQUIST, S. Wood anatomy of Krameriaceae with comparisons with Zygophyllaceae: phylogeny, ecology and systematic. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 149, p. 257-270, 2005.

CARINI, M.; ALDINI, G.; ORIOLI, M.; FACINO, R. M. Antioxidant and photoprotective activity of a lipophilic extract containing neolignans from *Krameria triandra* roots. **Planta Med.**, v. 68, n. 3, p. 193-197, 2002.

CARROLL, A. R.; TAYLOR, W. C. Constituents of *Eupomatia* species. XII. Isolation of constituents of the tubers and aerial parts of *Eupomatia bennettii* and

determination of the structures of new alkaloids from the aerial parts of *E. bennettii* and minor alkaloids of *E. laurina*. **Australian Journal of Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 1615-26, 1991.

CHAURET, D. C.; BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; DURST, T. Insecticidal neolignans from *Piper decurrens*. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 2, p. 152-155, 1996.

CHEN, C. R.; TAN, R.; QU, W. M.; WU, Z.; WANG, Y.; URADE, Y.; HUANG, Z. L. Magnolol, a major bioactive constituent of the bark of *Magnolia officinalis*, exerts antiepileptic effects via the GABA/benzodiazepine receptor complex in mice. **British Journal of Pharmacology**, v. 164, n.5, p. 1534–1546, 2011.

CORREA, M. P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**, Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, p. 92, 1981.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 72–79, 2005.

CUNHA, P. A., 2005. **Aspectos Históricos Sobre Plantas Medicinais, Seus Constituintes Activos e Fitoterapia**. Disponível em: <<http://www.antonioacunha.com.sapo.pt/>> Acessado em 26 de agosto de 2011.

DAVIN, L. B.; JOURDES, M.; PATTEN, A. M.; KIM, K. W.; VASSÃO, D. G.; LEWIS, N. G. Dissection of lignin macromolecular configuration and assembly: Comparison to related biochemical processes in allyl/propenyl phenol and lignin biosynthesis. **Nat. Prod. Rep.**, v. 25 , p. 1015–1090, 2008.

DEWICK, P.M., **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2^a ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltda, 2002.

DIXON, R.A.; CHEN, F.; GUO, D. E.; PARVATHI, K. The biosynthesis of monolignols: a “metabolic grid”, or independent pathways to guaiacyl and syringyl units? **Phytochemistry**, v. 57, p. 1069-1084, 2001.

DOMINGUEZ, X. A.; ROMBOLD, C.; STAR, J. V.; ACHENBACH, H.; GROB, J. Hermosillo, an 8,3'-Neolignan from *Krameria sonora*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 1821-1823, 1987.

DOMINGUEZ, X. A.; VEGA, H. S.; ESPINOSA, G. C.; VERDE, S. J.; ACHENBACH, H.; UTZ, W. Lignans and Nor-neolignans from *Krameria interior*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 8, p. 2651-2653, 1990.

DOMINGUEZ, X. A.; ESPINOSA, G. C.; ROMBOLD, C.; UTZ, W.; ACHENBACH, H. Neolignans, nor-neolignans and other compounds from *Krameria sonora*. **Plant. Med.**, v. 58, p. 382-383, 1992.

FELIPE, D. F.; DIAS-FILHO, BENEDITO, P.; NAKAMURA, C. V.; FRANCO, S. L.; CORTEZ, D. A. G. Analysis of neolignans compounds of *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck by HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 4, p. 1371-1375, 2006.

FELIPE, D. F.; DIAS-FILHO, BENEDITO, P.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Evaluation of the antimicrobial activity of *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 618-620, 2008.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas Medicinais como fontes de Recursos Terapêuticos: Um modelo multidisciplinar. **Revista Multiciência**, n. 7, 2006.

FREIXA, B.; VILA, R.; FERRO, E. A.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Antifungal principles from *Piper fulvescens*. **Planta Med.**, v. 67, n. 9, p. 873-875, 2001.

GARCIA, V. M. R.; GERALDO, C. M.; VELANDIA, J. R.; BRAZ-FILHO, R. Chemical constituents from *Piper fulvescens* - complete ^1H and ^{13}C NMR assignments of neolignans and 3- β -O- β -D-glucopyranosyl-5,6-epoxy-beta-sitosterol. **Revista Latinoamericana de Quimica**, v. 29, n. 2, p. 63-72, 2001.

GIANNINI, T. C.; TAKAHASI, A.; MEDEIROS, M. C. M. P; SARAIVA, A. M.; ALVES, S. I. Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis climáticas da área de ocorrência de *Krameria* Loefl. (Krameriaceae). In: IX Congr. Ecologia do Brasil, 2009, São Lourenço, MG. **Anais...I**, São Lourenço: UFMG, 2009.

GIANNINI, T.C.; TAKAHAS A. I.; MEDEIROS, M.C.M.P.; SARAIVA, A.M.; SANTOS, I. A. Ecological niche modeling and principal component analysis of *Krameria* Loefl. (Krameriaceae) **Journal of Arid Environments**, v. 75, p. 870-872, 2011.

GIMENES, M.; LOBÃO, C. S. A Polinização de *Krameria bahiana* B.B. Simpson (Krameriaceae) por Abelhas (Apidae) na Restinga, BA. **Neotropical Entomology**, v. 35, n.4, p. 440-445, 2006.

GOTTLIEB, O. R. Neolignanas. **Fortschr. Chem. Org. Naturst.**, v. 35, p. 1-72. 1978.

GOTTLIEB, O.T.; YOSHIDA, M., Lignóides: Com Atenção Especial à Química das Neolignanas. **Química Nova**, v. 7, p. 250-269, 1984.

GUARRERA, M. P. Traditional phytotherapy in central Italia. **Fitoterapia**, v. 76, p.1-25, 2005.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos**. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed., Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC, p. 13-28, 2004.

GUPTA, R.; GABRIELSEN, B.; FERGUSON, S. M. Nature's medicines: Traditional knowledge and intellectual property management. Case studies from the National Institutes of Health (NIH) USA, **Curr Drug Discov Technol**, v. 2, p. 203, 2005.

HIMMELREICH, U.; RIPPERGER, H.; ADAM, G.; ANH, N.; SUNG, T. V. Eupomatenoids from *Caryodaphnosis tonkinensis* and their complete NMR assignment. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 33, n. 4, 280-282, p. 1995.

HUANG, S. H.; CHEN, Y.; TUNG, P. Y.; WU, J. C.; CHEN, K. H.; WU, J. M.; WANG, S. M. Mechanisms for the Magnolol-Induced Cell Death of CGTH W-2 Thyroid Carcinoma Cell. **J. Cell. Biochem.** v. 101, p. 1011–1022, 2007.

ITO, K.; IIDA, T.; ICHINO, K.; TSUNEZUKA, M.; HATTORI, M.; NAMBA, T. Obovatol and obovatal, novel biphenyl ether lignans from the leaves of *Magnolia obovata*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 30, n. 9, p. 3347-3353, 1982.

JOHANN, S.; COTA, B. B.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; PIZZOLATTI, M. G.; RESENDE, M. A.; ZANI, C. L. Antifungal activities of compounds isolated from *Piper abutiloides* kunth. **Mycoses**, v. 52, n. 6, p. 499-506, 2009.

JI, H. F.; LI, X. J.; ZHANG, H. Y. Natural products and drug discovery. **EMBO reports**, v. 10, n. 3, p. 194-200, 2009.

KAWANISHI, K.; UHARA, Y.; HASHIMOTO, Y. The neolignans, carinatidin, dihydrocarin, caninatidiol and dihydrodieugenol B from *Viola carinata*. **Phytochemistry**, v. 22, n.10, p. 2277-2280, 1983.

KOEHN FE, CARTER G. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nat. Rev. Drug Discov.** v. 4, p. 206–220, 2005.

LEE, S. K.; KIM, H. N.; KANG, Y. R.; LEE, C. W.; KIM, H. M.; HAN, D. C.; SHIN, J.; BAE, K.; KWON, B. M. Obovatol inhibits colorectal cancer growth by inhibiting tumor cell proliferation and inducing apoptosis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 8397–8402, 2008.

LI, J. W.-H.; VEDERAS, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an EndlessFrontier? **Science**, v. 325, n. 161, p. 161-165, 2009.

LIN, Y. R.; CHEN, H. H.; KO, C. H.; CHAN, M. H. Effects of honokiol and magnolol on acute and inflammatory pain models in mice. **Life Sciences**, v. 81, p. 1071–107, 2007.

LUIZE, P. S.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS-FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V. Activity of Neolignans Isolated from *Piper regnellii* (MIQ.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) YUNCK against *Trypanosoma cruzi*. **Biol. Pharm. Bull.** v. 29, n. 10, p. 2126-2130, 2006.

MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S.; PRAWAT, H.; PISUTJAROENPONG, S.; ENGPRASERT, S.; PHANNIPHA, C.; TENGCHAI SRI, T.; SIRISINHA, S.; PICHAS, P. Biodiversity and natural product drug discovery. **Pure Appl. Chem.**, v. 70 (11), p. 2065-2072, 1998.

MAXWELL, A.; DABIDEEN, D.; REYNOLDS, W. F.; MCLEAN, S. Neolignans from *Piper aequale*. **Phytochemistry**, v. 50, n. 3, p. 499-504, 1999.

MOREIRA, D. L.; KAPLAN, M. A. C.; GUIMARAES, E. F. Chemical constituents from *Piper solmsianum* C.D.C. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacia**, v. 76, n. 4, p. 106-109, 1995.

MORAIS, S. K. R.; TEIXEIRA, A. F.; TORRES, Z. E. S.; NUNOMURA, S. M.; YAMASHIRO-KANASHIRO, E. H.; LINDOSOF, J. A. L.; YOSHIDA, M. Biological activities of lignoids from amazon Myristicaceae species: *Virola michelii*, *V. mollissima*, *V. pavonis* and *Iryanthera juruensis*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 6, p. 1110-1118, 2009.

MOSS, G. P. Nomenclature of lignans and neolignans. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1493-1523, 2000.

NEWMAN, D. J. Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery?. **J. Med. Chem.** v. 51, p. 2589-2599, 2008.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4^o ed., São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PESSINI, G. L.; DIAS-FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Antibacterial Activity of Extracts and Neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC.

var. *pallescens* (C. DC.). **Yunck Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 8, p. 1115-1120, 2003.

PESSINI, G. L.; DIAS FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V.; FERREIRA, A. G.; CORTEZ, D. A. G. Neolignans and the analysis of the essential oil of *Piper regnellii* (Miq.) C. DC var. *pallescens* (C. DC.) Yunck leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 199-204, 2005.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

POZHIDAEV A. E. Hypothetical way of pollen aperture patterning. 3. A family-based study of Krameriaceae. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 127, p. 1-23, 2002.

RAHMAN, A.; KATAYAMA, T.; SUZUKI, T.; NAKAGAWA, T. Stereochemistry and biosynthesis of (+)-lyoniresinol, a syringyl tetrahydronaphthalene lignan in *Lyonia ovalifolia* var. *elliptica* I: isolation and stereochemistry of syringyl lignans and predicted precursors to (+)-lyoniresinol from wood. **Japan Wood Research Society**, v. 53, p. 161–167, 2007.

SCHOMBURG, D.; SCHOMBURG, I.; KÖLN. Nomenklatur der Lignane und Neolignane. **Angewandte Chemie**, v. 117, p. 2339-2351, 2005.

SILVA, S. A. S.; CASTRO, J. C. M.; SILVA, T. G.; CUNHA, E. V. L.; BARBOSA, J. M. F.; SILVA, M. S. Kramentosan, a new trinorlignan from the roots of *Krameria tomentosa*. **Natural Product Letters**, v. 15, n.5, p. 323-329, 2001.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMPSON, B. B. **Krameriaceae. Flora Neotropica Monograph**. New York: New York Botanical Garden, v. 49, p. 2–88, 1989.

SIMPSON, B. B. The past and present uses of Rhatany (*Krameria*, Kreameriaceae). **Economic Botany**, v. 43, n.3, p. 397-409, 1991.

SIMPSON, B. B.; WEEKS, A.; HELFGOTT, D. M. AND LARKIN, L. L. Species relationships in *Krameria* (Krameriaceae) based on ITS sequences and morphology: implications for character utility and biogeography. **Systematic Botany**, v. 29, p.97-108, 2004.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

XU, Q.; YI, L. T.; PAN, Y.; WANG, X.; LI, Y. C.; LI, J. M.; WANG, C. P.; KONG, L. D. Antidepressant-like effects of the mixture of honokiol and magnolol from the barks of *Magnolia officinalis* in stressed rodents. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 32, p. 715-725, 2008.