

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 26/04/2019.

JULIANA CRISTINA HOLZBACH

**INVESTIGAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ESPÉCIES DE *Aristolochia* DO  
CERRADO: ESTUDO DOS CAULES DE *Aristolochia urupaensis* E DE FLORES  
DE *Aristolochia trulliformis***

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como  
parte dos requisitos para obtenção do  
título de Doutora em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Isabele  
Rodrigues Nascimento

Araraquara

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

H762i Holzbach, Juliana Cristina  
Investigação da composição química de espécies de *Aristolochia* do cerrado: estudo dos caules de *Aristolochia urupaensis* e de flores de *Aristolochia trulliformis* / Juliana Cristina Holzbach. – Araraquara : [s.n.], 2018  
188 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Química  
Orientador: Isabele Rodrigues Nascimento

1. Produtos naturais. 2. *Aristolochia*. 3. Cerrados.  
4. Flores. 5. Química orgânica. I. Título.

Elaboração: Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação  
Biblioteca do Instituto de Química, Unesp, câmpus de Araraquara

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Investigação da Composição Química de Espécies de *Aristolochia* do Cerrado: Estudo dos Caules de *Aristolochia urupaensis* e de Flores de *Aristolochia trulliformis*"

**AUTORA: JULIANA CRISTINA HOLZBACH**

**ORIENTADORA: ISABELE RODRIGUES NASCIMENTO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:

  
Prof.ª Dr.ª ISABELE RODRIGUES NASCIMENTO  
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Prof.ª Dr.ª LOURDES CAMPANER DOS SANTOS  
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Prof.ª Dr.ª ÂNGELA REGINA ARAUJO  
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Prof. Dr. ANDRÉ LUIZ MELEIRO PORTO  
Departamento de Físico-Química / Instituto de Química - USP - São Carlos

  
Prof. Dr. JOÃO HENRIQUE GHILARDI LAGO  
Centro de Ciências Naturais e Humanas / Universidade Federal do ABC - UFABC - Santo André

Araraquara, 26 de abril de 2018

## DADOS CURRICULARES

### JULIANA CRISTINA HOLZBACH

#### DADOS PESSOAIS

Nascimento: 28/07/1986

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Toledo – PR

Profissão: Química

Endereço Profissional: Rua Badejós, Lote 7, Chácaras 69/72, Zona Rural, Caixa Postal 66, 77402-970, Gurupi –TO.

Endereço eletrônico: juholzbach@uft.edu.br

#### FORMAÇÃO ACADÊMICA

Graduação: Bacharelado em Química

Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Monografia: Produtos Naturais: Importância e conflitos na variabilidade de espécies utilizadas com a mesma denominação popular.

Orientadora: Profa. Dra. Conceição de Fátima Alves Olguin

Período: 01/03/2004 – 21/12/2007

Mestrado: Química, Área de Concentração – Química Orgânica

Instituição: Universidade Estadual Paulista – Unesp, Instituto de Química de Araraquara

Dissertação: Aristolactamas e alcanidas isoladas de *Aristolochia gigantea* Mart.

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Maria Xavier Lopes

Bolsa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior – CAPES

Período: 01/03/2009 – 28/02/2011

## ATUAÇÃO PROFISSIONAL

- 2008 – 2009** Professora substituta na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira
- 2011 – 2012** Professora no Centro Universitário de Gurupi (Unirg)
- 2012 – Atual** Professora adjunta nível I na Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi

## PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

### Artigos completos publicados em periódicos

HOLZBACH, J. C.; NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. Phenylethylpyranone and aristolochic acid derivatives from *Aristolochia urupaensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, p. 2275-2279, 2017.

HOLZBACH, J. C.; BARROS, E. I. T. M.; KRAUSER, M. O.; LEAL, P. V. B. Chumbo: Uma introdução à extração e a fitorremediação. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 178-183, 2012.

LEAL, P. V. B.; GREGORIO, A. M.; FARIA, E. O.; SILVA, P. R.; KRAUSER, M. O.; HOLZBACH, J. C. Estudo da adsorção do corante azul de metileno em resíduos de babaçu. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 166-171, 2012.

HOLZBACH, J. C.; LOPES, L. M. X. Aristolactams and alkaloids of *Aristolochia gigantea*. **Molecules**, v. 15, p. 9462-9472, 2010.

SIMÕES, M. R.; COSTA, T. A.; SOUZA, M. L.; HOLZBACH, J. C.; CARNEIRO, L. B.; GUBIANI, A. M. Análise físico-química de linguiças coloniais comercializadas no município de Toledo, Estado do Paraná e comparação com valores fornecidos pelos fabricantes. **Acta Scientiarum Technology**, v. 31, p. 221-224, 2009.

## Apresentação de trabalhos

HOLZBACH, J. C.; SOARES FILHO, W. A.; NASCIMENTO, I. R. Flavonols from flowers of *Aristolochia trulliformis* Mast. In: 6th Brazilian Conference on Natural Products and XXXII RESEM, 2017, Vitória.

SOARES FILHO, W. A.; NASCIMENTO, I. R.; CUNHA, C. L.; HOLZBACH, J. C. Flavonoides e lignanas de flores de *Aristolochia* sp. In: XXIX Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2017, Araraquara.

SOARES, D. F.; HOLZBACH, J. C. Análise química e biológica dos extratos obtidos das folhas da espécie *Clitoria guianensis* Benth. In: XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2016, Belo Horizonte.

CUNHA, C. L.; SOARES, D. F.; AMUI, G. C.; FARIA, E. O.; HOLZBACH, J. C. Avaliação da atividade antioxidante e de toxicidade frente à *Artemia salina* dos extratos das folhas e raízes de *Clitoria guianensis*. In: 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2015, Águas de Lindóia.

CUNHA, C. L.; HOLZBACH, J. C. Estudo fitoquímico do extrato de acetato de etila das raízes da espécie *Clitoria guianensis*. In: 11º Seminário de Iniciação Científica da UFT, Universidade Federal do Tocantins, 2015, Gurupi-TO.

SOARES, D. F.; HOLZBACH, J. C. Análise das classes de metabólitos secundários presente no extrato de acetato de etila das folhas de *Clitoria guianensis*. In: 11º Seminário de Iniciação Científica da UFT, Universidade Federal do Tocantins, 2015, Gurupi-TO.

SANTOS, N. B. S.; LEAL, P. V. B.; HOLZBACH, J. C. Análise da água do córrego Mutuca de Gurupi-TO. In: VII Encontro Nacional de Química Ambiental, 2014, Brasília-DF.

CUNHA, C. L.; SOARES, D. F.; HOLZBACH, J. C. Diferentes abordagens para a seleção de espécies vegetais para estudos fitoquímicos. In: 1º Semana Acadêmica Integrada de Biotecnologia e Química, 2014, Gurupi-TO.

SOARES, D. F.; AMUI, G. C.; FARIA, E. O.; HOLZBACH, J. C. Avaliação da atividade antioxidante e de toxicidade frente à *Artemia salina* dos extratos das folhas de *Clitoria guianensis*. In: 10º Seminário de Iniciação Científica da UFT, Universidade Federal do Tocantins, 2014, Palmas-TO.

SANTOS, N. B. S.; LEAL, P. V. B.; HOLZBACH, J. C. Monitoramento da qualidade da água do córrego Mutuca - Gurupi/TO. In: 9º Seminário de Iniciação Científica da UFT, Universidade Federal do Tocantins, 2013, Palmas-TO.

HOLZBACH, J. C.; LOPES, L. M. X. Constituintes químicos isolados de *Aristolochia gigantea* Mart. In: 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia.

HOLZBACH, J. C.; SEBASTIEN, N. Y.; GABRIEL, E. A.; FORNARI, G. G.; OLSEN, M. F.; DIMER, O.; SOUZA, B. V. C.; ÁVILA, A. P.; JOHANN, A. S. T.; BENASSI, S. F. Avaliação da qualidade ambiental das microbacias dos rios São Francisco verdadeiro (SFV), São Francisco Falso (SFF) e do Ocoi-Paraná. In: XI Congresso Brasileiro de Limnologia, 2007, Macaé.

### **Participação em eventos**

XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2016, Belo Horizonte.

11º Seminário de Iniciação Científica da UFT, 2015, Gurupi.

10º Seminário de Iniciação Científica da UFT, 2014, Palmas.

52º Congresso Brasileiro de Química, 2012, Recife.

33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia.



Workshop dos Programas de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, 2009, Araraquara.

XVII Encontro Anual de Iniciação Científica, 2008, Foz do Iguaçu.

I Congresso Nacional de Engenharia de Pesca, Engenharia Química e Química, 2007, Toledo.

I Simpósio Regional de Gestão de Recursos Naturais e Educação Ambiental e IV Semana Acadêmica de Meio Ambiente da Unioeste/Campus de Toledo, 2007, Toledo.

IX Semana Acadêmica do Curso de Química e I Workshop de Educação em Química, 2006, Toledo.

XIV SBQSUL - "Química na Sociedade: significados e implicações", 2006, Erechim.

I Encontro Paranaense de Engenharia e Ciência, 2004, Toledo.

### **Orientações e supervisões concluídas**

SOARES FILHO, W. A. Estudo dos constituintes químicos presentes na fração acetato de etila do extrato etanólico Soxhlet de caules de *Aristolochia urupaensis*. 2017. Supervisão Científica, Graduação em Bacharelado em Química Tecnológica, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara.

SOARES, D. F. Análise química e biológica dos extratos brutos hexânico e acetato de etila obtidos das folhas de *Clitoria guianensis* Benth. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Química Ambiental, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.

CUNHA, C. L. Estudo do potencial químico e biológico das raízes de *Clitoria guianensis*. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Química Ambiental, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e me ajudaram a superar os obstáculos que surgiram em meu caminho, e que mesmo tão longe se fazem presentes em minha vida a cada instante do dia.

Aos meus irmãos, pelas conversas, risadas, por serem meus melhores amigos e por sempre estarem ao meu lado.

Ao meu amor Maíke, por me apoiar e confortar em todos os momentos que precisei e por ser o pai mais incrível que já conheci.

À minha orientadora Profa. Dra. Isabele R. Nascimento, pelos ensinamentos, por ser uma pessoa a qual eu tenho um imenso carinho, sempre disposta a me escutar e aconselhar nos momentos em que mais precisei, por saber lidar com todas as adversidades que surgiram no decorrer desta Tese, sempre me amparando, consolando e preocupando com minha integridade física, psicológica e profissional. À ela sempre terei uma profunda admiração e respeito pelo ser humano que ela é.

À Profa. Dra. Lucia M. X. Lopes, pela orientação, apoio, incentivo e paciência que teve comigo durante a realização deste trabalho.

Ao Dr. Nivaldo Boralle, Dra. Lucinéia, Dra. Juliana Rodrigues e Ms. João pelas amizades e pela realização dos experimentos de RMN, difração circular e espectrometria de massas.

Aos colegas e amigos, em especial para o Dony, Camila, Marcelo, Maraylla, Rebeca e Walter. As minhas grandes amigas Carolina e Andressa por toda a amizade e esforço que fizeram para que esta Tese fosse entregue a tempo.

Às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPESP, pelo auxílio financeiro.

*“O preço de qualquer coisa é a quantidade de vida que você troca por isso.”*

**Henry David Thoreau**

## RESUMO

Este trabalho descreve a elucidação estrutural dos constituintes químicos de duas espécies presentes no Cerrado: *Aristolochia urupaensis* Hoehne e *Aristolochia trulliformis* Mast. Os extratos etanólico e etanólico Soxhlet dos caules de *A. urupaensis* foram submetidos a processos cromatográficos, resultando no isolamento e identificação de 36 substâncias, entre as quais uma nova piranona, (2*S*)-2-[2'-(4-hidroxifenil)etil]-6-metil-2,3-diidro-4*H*-piran-4-ona, e três novos derivados de ácido aristolóquico (ácido 7-*O*-metil-aristolóquico F, aristolocato de sódio F e 7-*O*-metil-aristolocato de sódio F); além de outras cinco substâncias que estão sendo descritas pela primeira vez na família Aristolochiaceae: tirosol-1-*O*- $\beta$ -glicopiranosil-(6 $\rightarrow$ 1)-*O*- $\beta$ -xilopiranosídeo, a lignana (-)-9,9'-*O*-di-(*E*)-feruloil-secoisolariciresinol e os flavonoides quercetina-3-*O*- $\beta$ -glicopiranosil-(6 $\rightarrow$ 1)- $\beta$ -glicopiranosídeo, isoquercitrina e kaempferol-3-*O*-gentiobiosídeo. O extrato metanólico das flores de *A. trulliformis* foi submetido a processos cromatográficos e resultou no isolamento de doze substâncias, sendo sete flavonoides. Destaca-se o isolamento e elucidação estrutural do flavonoide kaempferol-3-*O*- $\beta$ -glicopiranosil-(6'' $\rightarrow$ 1''')-*O*- $\alpha$ -ramnopiranosil-(4'''' $\rightarrow$ 1''''')-*O*- $\beta$ -glicopiranosídeo descrito pela primeira vez na literatura. Todas as estruturas foram determinadas por análises espectroscópicas (RMN 1D e 2D, IV, UV, DC e  $[\alpha]_D$  e espectrométricas (EM).

**Palavras-chave:** *Aristolochia urupaensis*. *Aristolochia trulliformis*. Aristolochiaceae. Piranona. Ácido aristolóquico. Flavonoide.

## ABSTRACT

This work describes the structural elucidation of the chemical constituents of two species present in the Cerrado: *Aristolochia urupaensis* Hoehne and *Aristolochia trulliformis* Mast. The ethanolic and ethanolic Soxhlet extracts from the stems of *A. urupaensis* were submitted to chromatographic processes, resulting in 36 compounds, including a new pyranone, (S)-2-(4-hydroxyphenylethyl)-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one, and three new aristolochic acid derivatives (7-O-methylaristolochic acid F, sodium 7-O-methylaristolochate F and sodium aristolochate F); in addition to five other compounds that were first reported in the Aristolochiaceae family: tyrosol-1-O- $\beta$ -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -glucopyranoside, the lignan (-)-9,9'-di-[O-(E)-feruloyl]secoisolariciresinol, and the flavonoids quercetin-3-O- $\beta$ -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -glucopyranoside, isoquercitrin and kaempferol-3-O- $\beta$ -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -glucopyranoside. Mast. were also studied. The methanolic extract of *Aristolochia trulliformis* flowers was submitted to chromatographic processes, resulting in the isolation of twelve compounds, including seven flavonoids. The flavonoid kaempferol-3-O- $\beta$ -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -glucopyranoside is being described for the first time in the literature. All chemical structures were determined by spectroscopic (NMR 1D and 2D, IR, UV, CD and  $[\alpha]_D$ ) and spectrometric analyzes (MS).

**Keywords:** *Aristolochia urupaensis*. *Aristolochia trulliformis*. Aristolochiaceae. Piranone. Aristolochic acid. Flavonoid.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Exemplos de substâncias presentes em espécies da família Aristolochiaceae .....	23
<b>Figura 2</b> – Esqueleto químico de ácidos aristolóquicos (a) e aristolactamas (b) .....	24
<b>Figura 3</b> – Biossíntese dos ácidos aristolóquicos. Fonte: Adaptado de Tian-Shung et al. (2005) <sup>9</sup> .....	26
<b>Figura 4</b> – Biogênese de aristolactamas. Fonte: Adaptado de Tian-Shung et al. (2005) <sup>9</sup> e Lin et al. (1997) <sup>26</sup> .....	27
<b>Figura 5</b> – Ativação metabólica de AAs e análogos e formação de adutos com o DNA. Fonte: JADOT et al. (2017) <sup>30</sup> .....	29
<b>Figura 6</b> – Folha e flor de <i>A. urupaensis</i> . Fonte: Foto obtida por Juliana C. Holzbach .....	30
<b>Figura 7</b> – Substâncias isoladas e/ou identificadas dos caules de <i>A. urupaensis</i> ...	32
<b>Figura 8</b> - Procedimento para preparação dos extratos .....	36
<b>Figura 9</b> - Fracionamento do extrato etanólico de caules de <i>A. urupaensis</i> .....	38
<b>Figura 10</b> - Fracionamento do extrato etanólico Soxhlet de caules de <i>A. urupaensis</i> .....	39
<b>Figura 11</b> – Espectros de RMN de <sup>1</sup> H dos extratos: (a) hexânico, (b) acetônico, (c) etanólico e (d) etanólico Soxhlet dos caules de <i>A. urupaensis</i> .....	40
<b>Figura 12</b> – Espectros de RMN de <sup>1</sup> H dos extratos: (a) hexânico, (b) acetônico, (c) etanólico e (d) etanólico Soxhlet das folhas de <i>A. urupaensis</i> .....	41
<b>Figura 13</b> – Espectros de RMN de <sup>1</sup> H de: (a) extrato etanólico Soxhlet, (b) fração aquosa XAD-16, (c) fração metanólica XAD-16, (d) fração acetato de etila XAD-16	42
<b>Figura 14</b> – Correlações observadas no mapa de contornos HMBC (→) e no <sup>1</sup> H – <sup>1</sup> H COSY (↔) para a substância <b>1</b> .....	44
<b>Figura 15</b> – Comparação da feição espectral dos sinais de H-2, H-1' a/b e H-2' a/b com os resultados obtidos na simulação .....	45
<b>Figura 16</b> – Estrutura química da substância hepialona .....	46
<b>Figura 17</b> – Correlações observadas no mapa de contornos HMBC para estrutura <b>5</b> .....	49
<b>Figura 18</b> – Estrutura química do ácido aristolóquico F. ....	49
<b>Figura 19</b> – Formas α e β da D-glicose .....	65
<b>Figura 20</b> – Constantes de acoplamento para α e β-D-glicopiranosose <sup>64</sup> .....	66
<b>Figura 21</b> – Conformações propostas para os isômeros geométricos (a) <i>trans</i> e (b) <i>cis</i> . .....	68
<b>Figura 22</b> – Correlações observadas no mapa de contornos HMBC para a substância <b>34</b> .....	76
<b>Figura 23</b> – Detalhes das flores de <i>Aristolochia trulliformis</i> Mast. Fonte: Foto obtida por Juliana C. Holzbach .....	85
<b>Figura 24</b> – Estruturas florais em <i>Aristolochia</i> : limbo (lim), tubo (tub) e utrículo (utr). Flor em visão lateral (A) e frontal (B). Fonte: Imagens cedidas por Freitas, J. (2016) <sup>86</sup> .....	86

<b>Figura 25</b> – Sequência da visita de polinizadores e polinização das flores de <i>A. gigantea</i> . Fonte: Adaptado de Martin <i>et al.</i> (2016) <sup>80</sup> .....	88
<b>Figura 26</b> – Exemplos de substâncias isoladas das flores de espécies de <i>Aristolochia</i> .....	90
<b>Figura 27</b> – Imagem das flores da espécie <i>Ludwigia peruviana</i> sob radiação na região do visível (A) e do ultravioleta (B). Fonte: Gronquist, M. <i>et al.</i> (2001) <sup>95</sup> .....	91
<b>Figura 28</b> – Substâncias isoladas e/ou identificadas das flores de <i>Aristolochia trulliformis</i> .....	94
<b>Figura 29</b> – Fracionamento do extrato bruto das flores de <i>A. trulliformis</i> .....	97
<b>Figura 30</b> – Espectros de RMN de <sup>1</sup> H do extrato bruto (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ), fração aquosa (D <sub>2</sub> O), metanólica (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) e acetato de etila (CDCl <sub>3</sub> ) (14,1 T) .....	99
<b>Figura 31</b> – Perfis cromatográficos do (a) extrato bruto, (b) fração aquosa, (c) fração metanólica e (d) fração de acetato de etila (CLAE C-18, fase móvel MeOH/H <sub>2</sub> O 5→100% de MeOH em 60 minutos, λ 274 nm, vazão 1 mL/min) .....	99
<b>Figura 32</b> – Principais correlações observadas no mapa de contornos HMBC para a substância <b>44</b> .....	106
<b>Figura 33</b> – Principais correlações observadas no mapa de contornos HMBC para a substância <b>47</b> .....	110
<b>Figura 34</b> – Principais correlações observadas no mapa de contornos HMBC para a substância <b>48</b> .....	113



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Classificação taxonômica da espécie <i>Aristolochia urupaensis</i> <sup>5</sup> .....	30
<b>Tabela 2</b> – Massas do material seco (g) e dos extratos da espécie <i>A. urupaensis</i> ..	40
<b>Tabela 3</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>1</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	45
<b>Tabela 4</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>2</b> e <b>3</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	47
<b>Tabela 5</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>4</b> e <b>5</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	50
<b>Tabela 6</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>6</b> e <b>7</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	51
<b>Tabela 7</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>8</b> e <b>9</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T). .....	53
<b>Tabela 8</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>10</b> e <b>11</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	55
<b>Tabela 9</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H <b>12</b> – <b>14</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	56
<b>Tabela 10</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>15</b> e <b>16</b> (δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T). .....	58
<b>Tabela 11</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>17</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 7,1 T).....	59
<b>Tabela 12</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>18</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	60
<b>Tabela 13</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>19</b> e <b>20</b> (δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	63
<b>Tabela 14</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>21</b> e <b>24</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	65
<b>Tabela 15</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>22</b> e <b>25</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	65
<b>Tabela 16</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>23</b> e <b>26</b> (δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	67
<b>Tabela 17</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>27</b> – <b>29</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	70
<b>Tabela 18</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>30</b> (δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	73
<b>Tabela 19</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>31</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	77
<b>Tabela 20</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>32</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	78
<b>Tabela 21</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>33</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	79
<b>Tabela 22</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>34</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	80
<b>Tabela 23</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>35</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 7,1 T).....	81
<b>Tabela 24</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>36</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	82
<b>Tabela 25</b> – Classificação taxonômica da espécie <i>Aristolochia trulliformis</i> <sup>5</sup> .....	85
<b>Tabela 26</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>37</b> , <b>38</b> e <b>39</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T) .....	102
<b>Tabela 27</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>40</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T)...	103
<b>Tabela 28</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>41</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T)...	104
<b>Tabela 29</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>42</b> e <b>43</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T) .....	105
<b>Tabela 30</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>44</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	107
<b>Tabela 31</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>45</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	108
<b>Tabela 32</b> – Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>46</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	110
<b>Tabela 33</b> - Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>47</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	111
<b>Tabela 34</b> - Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>48</b> (CD <sub>3</sub> OD, δ, <i>J</i> = Hz, 14,1 T).....	113

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
AA	Ácidos aristolóquicos
ACN	Acetonitrila
AcOEt	Acetato de etila
AL	Aristolactamas
ATR	Reflexão Total Atenuada
BEM	Balkan Endemic Nephropathy
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	<i>Correlation spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dubleto
DAD	Detector de arranjo de diodos
DC	Dicroísmo circular
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dubleto
<i>dddd</i>	Duplo duplo duplo dubleto
<i>ddl</i>	Duplo dubleto largo
<i>dl</i>	Dubleto largo
<i>dq</i>	Duplo quadrupeto
<i>ddq</i>	Duplo duplo quadrupeto
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de massas
EtOH	Etanol
FE	Fase estacionária
FM	Fase móvel
CG-EM	Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas
HMBC	<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>
HRMS	Espectro de massas de alta resolução
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum correlation</i>
IV	Infravermelho

<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multipleteo
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
MeOH	Metanol
NAA	Nefropatia por Ácidos Aristolóquicos
NOESY	<i>Nuclear Overhauser effect spectroscopy</i>
RMN	Ressonância magnética nuclear
<i>s</i>	Singleto
<i>s/</i>	Singleto largo
<i>t</i>	Tripleteo
UV	Ultravioleta
TOCSY	<i>Total correlation spectroscopy</i>
$\delta$	Deslocamento químico
$\Delta\delta$	Varição de deslocamento químico
$\lambda_{\max}$	Comprimento de onda de máxima absorção
$[\alpha]_D$	Rotação óptica

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO 1 – ESTUDO FITOQUÍMICO DOS CAULES DE *Aristolochia urupaensis*

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>1.1 Aspectos gerais da família Aristolochiaceae</b> .....	<b>21</b>
<b>1.2 Aspectos metabólicos</b> .....	<b>22</b>
<b>1.2 Ácidos aristolóquicos e aristolactamas</b> .....	<b>24</b>
1.3.1 Biossíntese dos AAs .....	24
1.3.2 Biogênese das ALs .....	26
1.3.3 Problemas de saúde associados ao consumo de AAs .....	27
<b>1.4 <i>Aristolochia urupaensis</i> Hoehne</b> .....	<b>29</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
<b>2.1 Objetivos específicos</b> .....	<b>31</b>
<b>3 CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DOS CAULES DE <i>A. urupaensis</i></b> ..	<b>32</b>
<b>4 PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1 Especificações dos materiais e equipamentos utilizados</b> .....	<b>34</b>
4.1.1 Cromatografia em camada delgada e em coluna .....	34
4.1.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) .....	34
4.1.3 Espectrômetros .....	35
<b>4.2 Coleta e identificação do material vegetal</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3 Obtenção dos extratos de <i>A. urupaensis</i></b> .....	<b>36</b>
<b>4.4 Fracionamento do extrato etanólico de caules de <i>A. urupaensis</i></b> .....	<b>37</b>
<b>4.5 Fracionamento do extrato etanólico Soxhlet de caules de <i>A. urupaensis</i></b>	<b>37</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
<b>5.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos presentes nos extratos etanólico e etanólico Soxhlet dos caules de <i>A. urupaensis</i></b> .....	<b>42</b>
5.1.1 2,3-dihidro-4 <i>H</i> -piran-4-ona (1) .....	43
5.1.2 Ácidos aristolóquicos (2 – 5) .....	46
5.1.3 Aristolocatos de sódio (6 – 9) .....	50
5.1.4 Aristolactamas (10 – 14) .....	53
5.1.5 Alcaloides 4,5-dioxoaporfínicos (15 e 16) .....	57
5.1.6 Magnoflorina (17) .....	58
5.1.7 Derivado C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> (18).....	60
5.1.8 Derivados C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> (19 e 20).....	61

5.1.9 Derivados C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> (21 – 26).....	64
5.1.10 Alcamidas (27 – 29).....	68
5.1.11 Lignana dibenzilbutânica (30).....	71
5.1.12 Flavonoides glicosilados (31 – 34).....	74
5.1.13 Alantoína (35) .....	81
5.1.14 Nucleosídeo adenosina (36).....	81
<b>6 CONSIDERAÇÕES .....</b>	<b>83</b>

## **CAPÍTULO 2 – ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FLORES DE *Aristolochia trulliformis***

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>85</b>
1.1 Características florais do gênero <i>Aristolochia</i> .....	85
1.2 Isolamento de constituintes químicos de flores de <i>Aristolochia</i> .....	89
1.3 Flavonoides .....	90
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>93</b>
2.1 Objetivos específicos.....	93
<b>3 CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DAS FLORES <i>Aristolochia trulliformis</i>.....</b>	<b>94</b>
<b>4 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>95</b>
4.1 Coleta e identificação do material vegetal .....	95
4.2 Obtenção do extrato bruto .....	95
4.3 Fracionamento do extrato bruto .....	95
4.4 Estudo da fração metanólica.....	96
4.4.1 Estudo químico das subfrações .....	96
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>98</b>
<b>5.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos das flores de <i>Aristolochia trulliformis</i>.....</b>	<b>100</b>
5.1.1 Derivados C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> e C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> (37 – 39).....	100
5.1.2 Derivado C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> (40) e alcaloide tetrahydroisoquinolínico (41).....	101
5.1.3 Flavonoides (42 – 48).....	104
<b>6 CONSIDERAÇÕES .....</b>	<b>114</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>115</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>116</b>

## CAPÍTULO 1

### Estudo fitoquímico dos caules de *Aristolochia urupaensis*



## 1 INTRODUÇÃO

O cerrado é o segundo maior bioma do país, estando presente principalmente nos estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal, além dos enclaves no Amapá, Roraima e Amazonas. A abundância de espécies endêmicas do Cerrado, com cerca de 11.627 espécies de plantas nativas catalogadas, faz com que este bioma seja reconhecido como o mais rico do mundo. Estudos sobre o conhecimento tradicional da biodiversidade das populações nativas do Cerrado mostram que mais de 220 espécies de plantas têm uso medicinal.<sup>1</sup>

Porém, estimativas do Ministério do Meio Ambiente apontam que 20% das espécies nativas e endêmicas do Cerrado não são mais encontradas nas áreas protegidas, uma vez que o Cerrado é, depois da Mata Atlântica, o bioma que mais sofreu alterações pelo homem.<sup>1</sup>

Este bioma apresenta um potencial significativo para estudos da composição química de sua flora, uma vez que estudos fitoquímicos das espécies vegetais auxiliam no conhecimento da biodiversidade, agregando valor econômico e cultural, além de favorecer estratégias de desenvolvimento e gestão dos recursos naturais.

Neste contexto, o seguinte trabalho apresenta o estudo fitoquímico das espécies *Aristolochia urupaensis* e *Aristolochia trulliformis*.

### 1.1 Aspectos Gerais da Família Aristolochiaceae

A família Aristolochiaceae compreende aproximadamente 600 espécies de trepadeiras, decumbentes ou não, herbáceas eretas ou prostadas, sendo geralmente providas de rizomas e tubérculos. Estas espécies são encontradas em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo.<sup>2; 3</sup>

A posição sistemática desta família apresentou várias modificações no decorrer dos anos. Em 2003, a família Aristolochiaceae foi inserida na ordem Piperales,<sup>4</sup> que compreende também as famílias Saururaceae e Piperaceae. A ordem Piperales juntamente com Canellales, Laurales e Magnoliales apresentam características genéticas próximas e formam o grupo das Magnoliideas.<sup>5</sup>

A literatura apresenta divergências em relação ao número de gêneros pertencentes a esta família, existindo classificações de quatro até dezenove gêneros. Atualmente, com base em caracteres morfológicos e de biologia molecular, são reconhecidas duas subfamílias para a família Aristolochiaceae. A subfamília Asaroideae consiste dos gêneros *Asarum* e *Saruma* e a subfamília Aristolochioideae com os gêneros *Aristolochia sensu lato* e *Thottea*.<sup>3; 6</sup>

O maior gênero desta família é *Aristolochia* que apresenta cerca de 550 espécies. No Brasil estima-se a presença de 92 espécies até o momento, uma vez que novas espécies estão sendo descritas na literatura nos últimos anos. Este gênero é dividido em quatro subgêneros: *Isotrema*, *Endoteca*, *Pararistolochia* e *Aristolochia*.<sup>3; 6</sup>

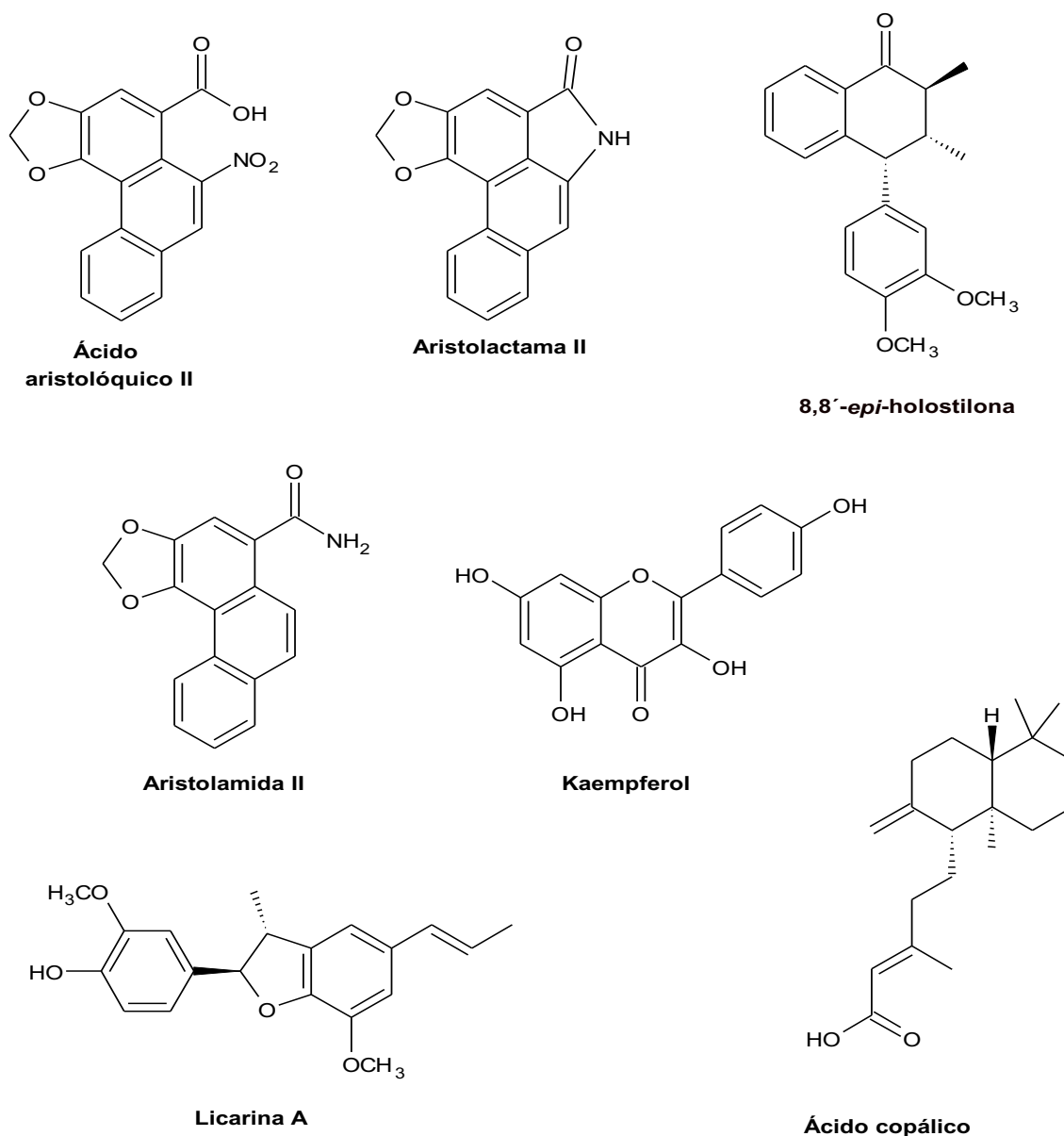
O nome da família tem origem da palavra grega “aristos” que significa “melhor” e “lochia” referente a “entrega”, em alusão ao uso original destas espécies para expelir a placenta após o nascimento das crianças.<sup>7</sup>

O interesse pelos estudos fitoquímicos da família Aristolochiaceae deve-se ao amplo uso de suas espécies na medicina tradicional e homeopática. As espécies são utilizadas como antissépticas, estomáquicas, sedativas, antitérmicas, anti-inflamatórias, antiofídicas, depurativas, diuréticas, vulnerárias, antirreumáticas, antitussígenas, antiasmáticas, febrífugas, expectorantes, emenagogas, abortivas, antiarréicas, além de serem utilizadas no tratamento de inflamações pulmonares e de vários tipos de câncer.<sup>8; 9</sup>

## 1.2 Aspectos metabólicos

A composição química das espécies pertencentes à família Aristolochiaceae é bastante diversificada. Nas últimas décadas, cerca de 700 substâncias foram isoladas de espécies da família Aristolochiaceae.<sup>10</sup> Embora metabólitos secundários como ácidos aristolóquicos, lignanas e alantoína ocorram frequentemente nas espécies de Aristolochiaceae (Figura 1), algumas classes de metabólitos são específicas, tais como: bicubebinas em *Aristolochia lagesiana* e *A. pubescens*<sup>11</sup> e bi-tetraflavonoides em *A. ridícula*.<sup>12</sup>





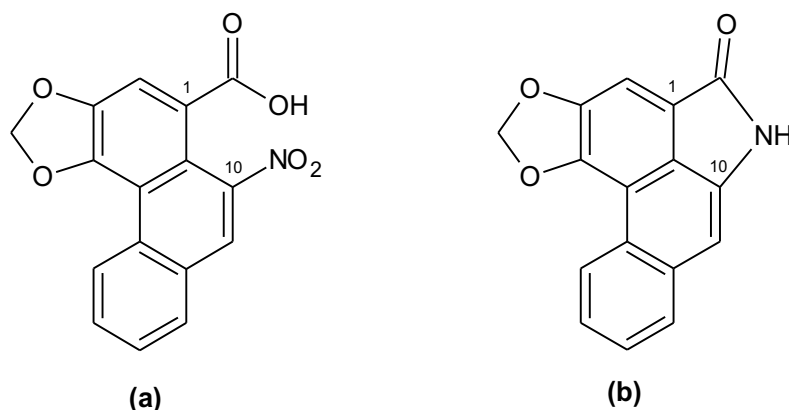
**Figura 1** – Exemplos de substâncias presentes em espécies da família Aristolochiaceae

Os metabólitos especiais isolados principalmente do gênero *Aristolochia* apresentam várias atividades biológicas comprovadas, como exemplo: lignanas ariltetralônicas antiplasmódicas de *Aristolochia holostylis* (antiga *Holostylis reniformes*),<sup>13</sup> a aristolamida II isolada de *A. manshurienses* que possui atividade anti-inflamatória<sup>14</sup> e a neolignana licarina A que possui atividade contra tuberculose.<sup>15</sup> Estudos com a espécie *A. cymbifera* mostraram que o extrato metanólico de folhas apresentaram uma alta atividade contra promastigotas de *Leishmania chagasi*. Após fracionamento biomonitorado, o diterpeno ácido copálico demonstrou uma alta toxicidade para a forma extracelular desse parasita.<sup>16; 17</sup>

Apesar do uso popular de espécies de Aristolochiaceae, evidências experimentais indicam que a presença dos ácidos aristolóquicos I, II e IIIa, comumente presentes em plantas desta família, está associada a efeitos carcinogênicos, genotóxicos e nefrotóxicos.<sup>18</sup>

### 1.3 Ácidos aristolóquicos e aristolactamas

Os ácidos aristolóquicos (AA) e as aristolactamas (AL) são derivados fenântrenicos que apresentam um grupo nitro (NO<sub>2</sub>) ou um grupamento lactâmico (CONH) em C-10, respectivamente (Figura 2). Estas substâncias são amplamente distribuídas em espécies da família Aristolochiaceae, principalmente nos gêneros *Aristolochia* e *Asarum*, mas existem relatos da presença de ácidos aristolóquicos em alguns tipos de borboletas e de aristolactamas em plantas de outras famílias.<sup>19; 20</sup>



**Figura 2** – Esqueleto químico de ácidos aristolóquicos (a) e aristolactamas (b)

#### 1.3.1 Biossíntese dos AAs

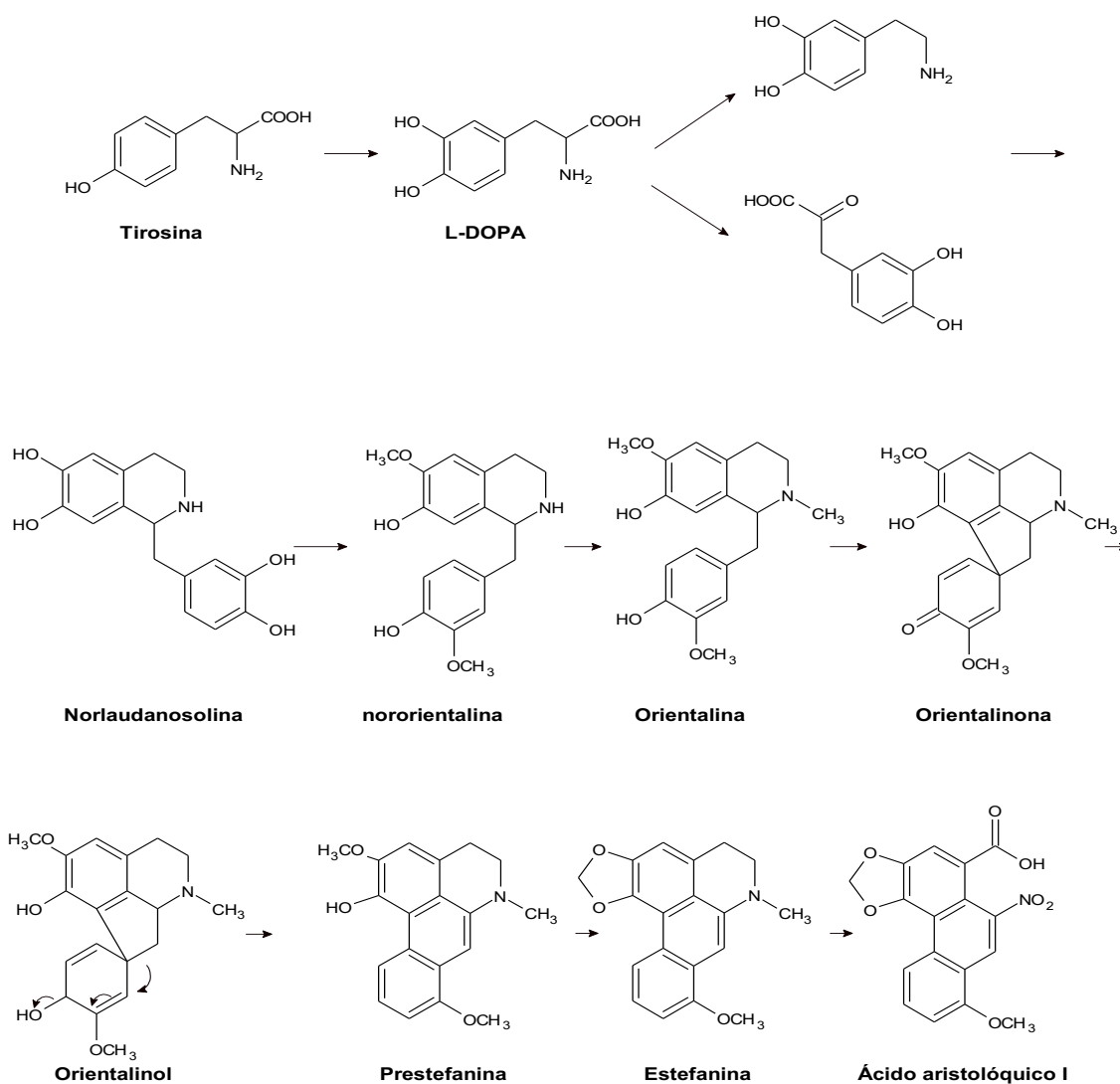
A semelhança na estrutura química dos ácidos aristolóquicos com os alcaloides aporfínicos sugere uma relação biogenética entre os mesmos. Em 1966 Spender e Tiwari<sup>21</sup> incorporaram na espécie *Aristolochia siphon* as substâncias: [3-<sup>14</sup>C]-tirosina, [2-<sup>14</sup>C]-diidroxifenilalanina, [2-<sup>14</sup>C]-diidrofenetilamina e [2-<sup>14</sup>C]-noradrenalina. Em todos os experimentos foi possível isolar o ácido aristolóquico I marcado isotopicamente e por meio dos dados obtidos pode-se sugerir a biogênese

nas seguintes etapas: norlaudanosolina → orientalina → orientalinona → orientalinol → estefanina → ácido aristolóquico I.

Em 1967 Schütte *et al.*<sup>22</sup> comprovou a proposta de biogênese anteriormente descrita por meio de um experimento com incorporação da [4-<sup>14</sup>C]-norlaudanosolina.HCl na espécie *A. siphon* que resultou na obtenção do AAI radioativo e também confirmou que o carbono da posição 4 da norlaudanosolina é transformado no grupamento carboxílico do ácido aristolóquico I.

Em 1969 Comer *et al.*<sup>23</sup> utilizaram [β-<sup>14</sup>C]-DL-tirosina, [β-<sup>14</sup>C,<sup>15</sup>N]-tirosina, [α-<sup>14</sup>C]-diidroxifenilalanina (DOPA), [2-<sup>14</sup>C]-diidroxifeniletanamina (dopamina) e [2-<sup>14</sup>C]-DL-noradrenalina para demonstrar que o grupamento nitro do AAI deriva do grupo amino presente na tirosina. Com base nesses resultados, eles propuseram a rota presente na Figura 3, onde as substâncias orientalina, orientalinol e prestefanina são mostradas como hipotéticos estágios da via postulada, o que envolve uma etapa de oxidação do fenol e um rearranjo.

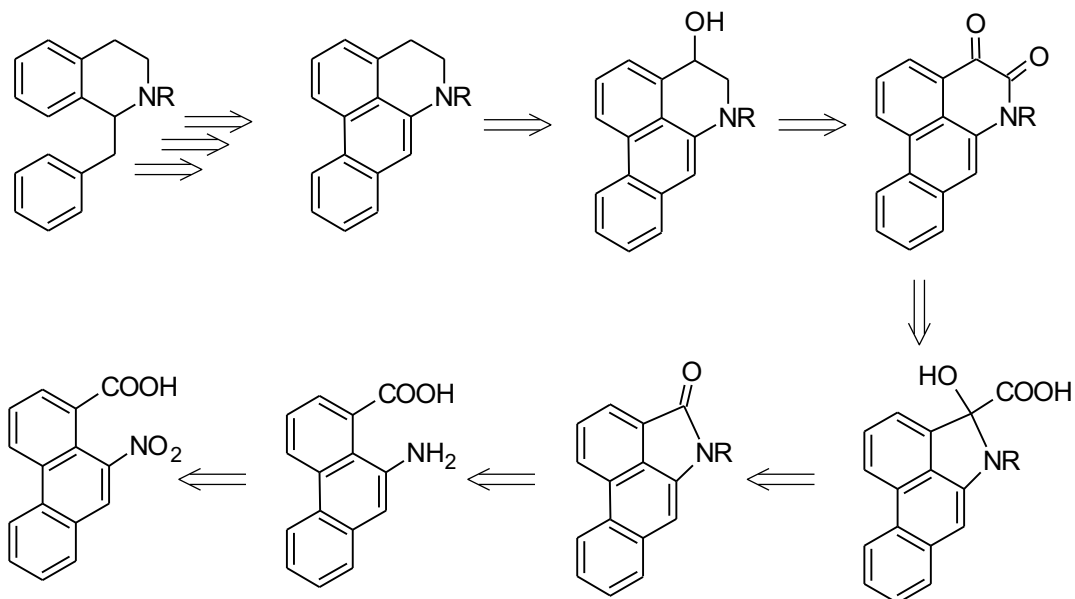
No ano de 1982 Sharma *et al.*<sup>24</sup> confirmou que as substâncias nororientalina, orientalina e estefanina fazem parte da biossíntese do AAI por meio de experimentos na espécie *A. bracteata*. As evidências apoiaram fortemente a hipótese de que o acoplamento oxidativo de orientalina fornece a prestefanina, que é convertida em estefanina. A clivagem oxidativa da stephanina, em seguida, fornece o ácido aristolóquico I. Também foi demonstrado que o grupo metilendioxílico é formado a partir do precursor o-metoxifenol e demonstraram que a estereoquímica do alcaloide nororientalina é preservada durante a biossíntese do AAI.



**Figura 3** – Biossíntese dos ácidos aristolóquicos. Fonte: Adaptado de Tian-Shung et al. (2005)<sup>9</sup>

### 1.3.2 Biogênese das ALs

A biossíntese das aristolactamas ainda é desconhecida. De acordo com Lee e Han (1992)<sup>25</sup> e Lin (1997)<sup>26</sup>, a rota biossintética para a formação dos ácidos aristolóquicos, aristolactamas, alcaloides 4,5-dioxoaporfínicos e aporfínicos poderia ser explicada como mostrada na Figura 4. Sendo que os alcaloides 4,5-dioxoaporfínicos, derivados dos aporfínicos, seriam os intermediários da biossíntese das aristolactamas, que por sua vez, seriam as precursoras dos ácidos aristolóquicos.



**Figura 4** – Biogênese de aristolactamas. Fonte: Adaptado de Tian-Shung et al. (2005)<sup>9</sup> e Lin et al. (1997)<sup>26</sup>

Até o momento, não se encontram descritos na literatura estudos que comprovem que as aristolactamas são precursores biossintéticos dos ácidos aristolóquicos ou que estes seriam os precursores das aristolactamas.

### 1.3.3 Problemas de saúde associados ao consumo de AAs

Desde a década de 50 inúmeros casos de uma doença renal crônica, chamada de nefropatia endêmica dos Balcãs (*Balkan Endemic Nephropathy*, BEN), são relatados em pessoas que moram na região sudeste da Europa, conhecida como região dos Balcãs. Dentre as várias hipóteses relacionadas à causa desta doença, está o consumo de sementes da espécie *Aristolochia clematitis* pela população.<sup>27</sup>

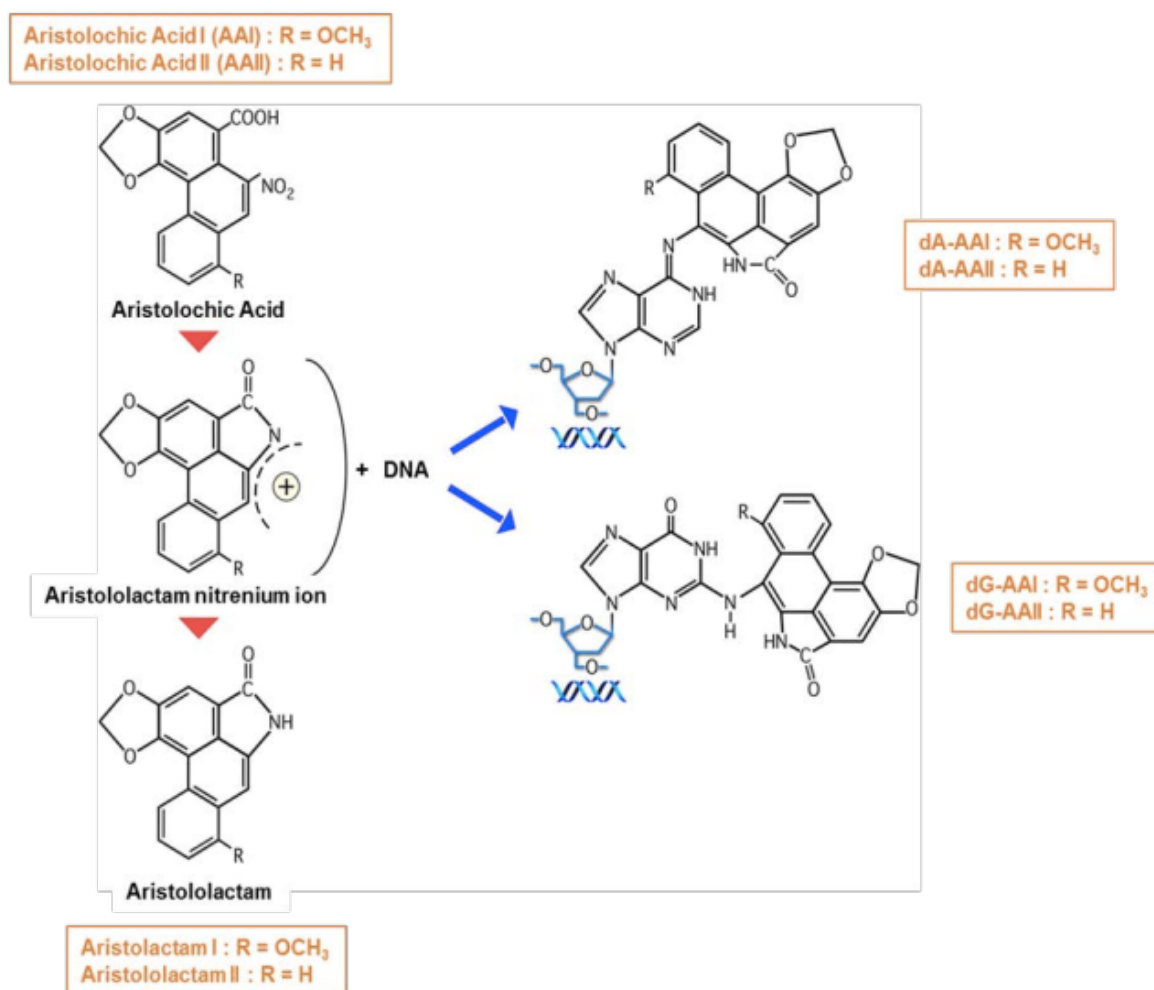
Estudos de Chan e colaboradores (2016)<sup>28</sup>; <sup>29</sup> mostraram que amostras de solos de algumas regiões da Sérvia, onde a espécie *Aristolochia clematitis* é endêmica, apresentaram quantidades de ácidos aristolóquicos expressivas. Ao analisarem as culturas alimentares de milho, trigo, alface, tomate e cebolinha desenvolvidas nestas regiões, os pesquisadores também detectaram a presença de ácidos aristolóquicos, obtendo, com isso, a primeira evidência de contaminação dos

solos e alimentos por ácidos aristolóquicos e, possivelmente, a via de introdução dos AAs na cadeia alimentar que justificaria a nefropatia endêmica dos Balcãs.

Na década de 90, uma série de relatos envolvendo severas falhas renais em mulheres jovens despertou o interesse dos profissionais na área de saúde da Bélgica. Biópsias realizadas apontaram graves perdas nas funções renais e, em questão de meses, a maioria das pacientes necessitava de transplantes de rins ou sessões de diálise. Ao investigar as pacientes, constatou-se que todas utilizavam pílulas para emagrecimento contendo ervas chinesas, denominadas popularmente como Pin Yin (*Stephania tetrandra* e *Aristolochia fangchii*), em suas formulações. Após análise da composição química e testes biológicos constatou-se que a presença dos ácidos aristolóquicos da espécie *Aristolochia fangchii* era a causa da nefropatia. Esta nefropatia foi inicialmente chamada de Nefropatia das Ervas Chinesas e posteriormente conhecida como Nefropatia por Ácidos Aristolóquicos (NAA).<sup>30</sup>

O mecanismo associado à carcinogênese e nefrotoxicidade dos AAs e análogos está relacionado a metabolização dos AAs pelo organismo, uma vez que, quando ingeridos os AAs e análogos são rapidamente convertidos por diversas enzimas no íon nitrenium. O íon nitrenium formado reage rapidamente com as bases purinas (adenina e guanina) formando adutos de AAs com o DNA (Figura 5). Esses adutos foram detectados em tecidos renais de pacientes com NAA.<sup>20</sup>

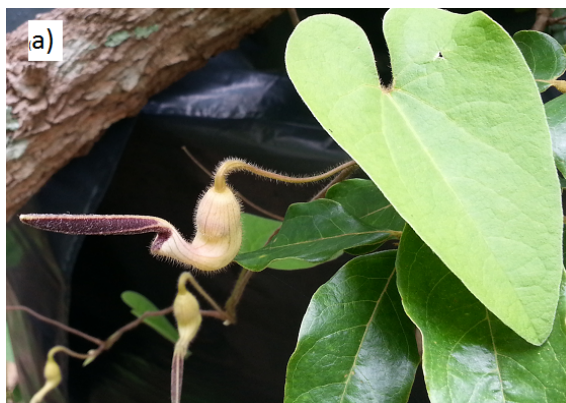
Devido ao alto consumo de espécies de Aristolochiaceae, estima-se que na China cerca de 100 milhões de pessoas correm o risco de desenvolver NAA, podendo desencadear problemas de saúde pública consideráveis.<sup>20</sup> Com isso, o uso de espécies *in natura* ou de formulações contendo espécies de *Aristolochia* foi banido de diversos países, principalmente na Europa.<sup>28</sup>



**Figura 5** – Ativação metabólica de AAs e análogos e formação de adutos com o DNA.  
 Fonte: JADOT et al. (2017)<sup>30</sup>

#### 1.4 *Aristolochia urupaensis* Hoehne

Presente em áreas do cerrado, a espécie *Aristolochia urupaensis* (Figura 6) é conhecida popularmente como “cipó-mil-homens” ou “jarrinha-pilosa”. As características morfológicas principais envolvem a presença de pelos finos por toda a estrutura da planta, folhas com pecíolos de 5 – 6 cm de comprimento com sete nervuras principais e flores axilares solitárias com cerca de 7 cm de comprimento.<sup>2</sup> Sua classificação taxonômica é apresentada na Tabela 1.



**Figura 6** – Folha e flor de *A. urupaensis*. Fonte: Foto obtida por Juliana C. Holzbach

Tabela 1 – Classificação taxonômica da espécie *Aristolochia urupaensis*<sup>5</sup>

Classe	Angiospermae
Subclasse	Magnoliídea
Ordem	Piperales
Superordem	Magnoliiflorae
Família	Aristolochiaceae
Gênero	<i>Aristolochia</i>
Espécie	<i>Aristolochia urupaensis</i>

Segundo relatos da população do local de coleta desta espécie, município de Porto Nacional – TO, esta planta é utilizada para o tratamento de dores estomacais e cicatrização de ferimentos. No entanto, de acordo com um levantamento bibliográfico realizado em diferentes bases de dados, não há relatos sobre utilização popular, atividades biológicas e sobre estudos fitoquímicos da espécies *Aristolochia urupaensis*, demonstrando que esta espécie possui potencial para pesquisas sobre composição química e atividades farmacológicas.



## 7 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das espécies *Aristolochia urupaensis* e *Aristolochia trulliformis* resultou no isolamento de 48 substâncias. Dentre as substâncias obtidas destacam-se cinco substâncias que estão sendo descritas pela primeira vez na literatura: (2*S*)-2-[2'-(4-hidroxifenil)etil]-6-metil-2,3-diidro-4*H*-piran-4-ona (**1**), três novos derivados de ácido aristolóquico [ácido 7-*O*-metil-aristolóquico F (**5**), aristolocato de sódio F (**8**) e 7-*O*-metil-aristolocato de sódio F (**9**)] e o flavonoide kaempferol-3-*O*- $\beta$ -glicopiranosil-(6'' $\rightarrow$ 1''')-*O*- $\alpha$ -ramnopiranosil-(4''' $\rightarrow$ 1''''')-*O*- $\beta$ -glicopiranosídeo (**48**).

Mesmo a família Aristolochiaceae apresentando um número significativo de substâncias isoladas de diversas espécies, neste trabalho estão sendo descritas pela primeira vez na família, além das substâncias inéditas, outras seis substâncias: tirosol-1-*O*- $\beta$ -glicopiranosil-(6 $\rightarrow$ 1)-*O*- $\beta$ -xilopiranosídeo (**20**), a lignana (-)-9,9'-*O*-di-(*E*)-feruloil-secoisolariciresinol (**30**), os flavonoides quercetina-3-*O*- $\beta$ -glicopiranosil-(6 $\rightarrow$ 1)- $\beta$ -glicopiranosídeo (**31**), quercetina-3-*O*- $\beta$ -glicopiranosídeo (**32**), kaempferol-3-*O*-gentiobiosídeo (**33**) e o alcaloide tetraidroisoquinolínico trolina (**41**).

## REFERÊNCIAS

- 1 BRASIL, M. D. Ministério do Meio Ambiente. **O bioma cerrado**. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado> >. Acesso em: 18 mar. 2018.
- 2 HOEHNE, F. C. **Flora brasílica: Aristolochiaceae**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 1942. 141 p.
- 3 GONZÁLEZ, F. Florística y sistemática filogenética innecesariamente disyuntas: el caso de *Aristolochia*, *Euglypha* y *Holostylis* (Aristolochiaceae). **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 36, p. 193-202, 2012.
- 4 THE ANGIOSPERM PHYLOGENY, G. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, n. 4, p. 399-436, 2003.
- 5 THE ANGIOSPERM PHYLOGENY, G. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.
- 6 FREITAS, J.; LÍRIO, E. J.; GONZÁLEZ, F. A new cauliflorous species of *Aristolochia* (Aristolochiaceae) from Espírito Santo, Brazil. **Phytotaxa**, v. 124, n. 1, p. 55-59, 2013.
- 7 AL-BARHAM, M. B. et al. New aristolochic acid and other chemical constituents of *Aristolochia maurorum* growing wild in Jordan. **Natural Product Research**, v. 31, n. 3, p. 245-252, 2017.
- 8 PACHECO, A. G. et al. <sup>13</sup>C-NMR data of diterpenes isolated from *Aristolochia* Species. **Molecules**, v. 14, n. 3, p. 1245-62, 2009.
- 9 TIAN-SHUNG, W. et al. Chemical constituents and pharmacology of *Aristolochia* species. In: ATTA UR, R. (Ed.). **Studies in Natural Products Chemistry**. Amsterdam: Elsevier, v. 32, Part L, 2005. p.855-1018.
- 10 LOPES, L. M. X.; NASCIMENTO, I. R.; SILVA, T. D. Phytochemistry of the Aristolochiaceae family. **Research Advances in Phytochemistry**, v. 2, p. 19-108, 2001.
- 11 DE PASCOLI, I. C.; NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. Configurational analysis of cubebins and bicubebin from *Aristolochia lagesiana* and *Aristolochia pubescens*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 7, p. 735-742, 2006.

- 12 MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Tetraflavonoid and biflavonoids from *Aristolochia ridicula*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 18, p. 3095-3102, 2008.
- 13 DA SILVA, T.; LOPES, L. M. X. Aryltetralol and aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 9, p. 929-937, 2006.
- 14 CHUNG, Y.-M. et al. A novel alkaloid, aristopyridinone A and anti-inflammatory phenanthrenes isolated from *Aristolochia manshuriensis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 6, p. 1792-1794, 2011.
- 15 LEÓN-DÍAZ, R. et al. Antitubercular Activity and the Subacute Toxicity of (-)-Licarin A in BALB/c Mice: A Neolignan Isolated from *Aristolochia taliscana*. **Archives of Medical Research**, v. 44, n. 2, p. 99-104, 2013.
- 16 CARVALHO, C. S. et al. **Diterpeno com atividade anti-Leishmania isolado de folhas de *Aristolochia cymbifera* (Aristolochiaceae)**. Resumos... Águas de Lindóia 2008.
- 17 TEMPONE, A. G. et al. Brazilian flora extracts as source of novel antileishmanial and antifungal compounds. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 443-449, 2008.
- 18 MICHL, J. et al. LC-MS- and <sup>1</sup>H NMR-Based metabolomic analysis and *in vitro* toxicological assessment of 43 *Aristolochia* species. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 1, p. 30-7, 2016.
- 19 YU, J. et al. Analysis of aristolochic acids, aristololactams and their analogues using liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Chinese Journal of Natural Medicine**, v. 14, n. 8, p. 626-40, 2016.
- 20 MICHL, J. et al. Naturally occurring aristolochic acid analogues and their toxicities. **Natural Products Report**, v. 31, n. 5, p. 676-93, 2014.
- 21 SPENDER, I. D.; TIWARI, H. P. Biosynthesis of aristolochic acid. **Journal of the Chemical Society**, n. 2, p. 55-56, 1966.
- 22 SCHÜTTE, H. R.; ORBAN, U.; MOTHES, K. Biosynthesis of Aristolochic Acid. **European Journal of Biochemistry**, v. 1, n. 1, p. 70-72, 1967.
- 23 COMER, F.; TIWARI, H. P.; SPENSER, I. D. Biosynthesis of aristolochic acid. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 47, n. 3, p. 481-487, 1969.

- 24 SHARMA, V. et al. Biosynthesis of aristolochic acid. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions** **1**, n. 0, p. 1153-1155, 1982.
- 25 LEE, H. S.; HAN, D. S. A new acylated *N*-glycosyl lactam from *Aristolochia contorta*. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 9, p. 1165-9, 1992.
- 26 LIN, W. H. et al. Alkaloids from the Roots of *Aristolochia Triangularis* (I). **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 8-13, 1997.
- 27 PAVLOVIĆ, N. M. Balkan endemic nephropathy—current status and future perspectives. **Clinical Kidney Journal**, v. 6, n. 3, p. 257-265, 2013.
- 28 CHAN, W. et al. Quantitation of aristolochic acids in corn, wheat grain, and soil samples collected in Serbia: identifying a novel exposure pathway in the etiology of Balkan Endemic Nephropathy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 29, p. 5928-34, 2016.
- 29 LI, W.; HU, Q.; CHAN, W. Uptake and accumulation of nephrotoxic and carcinogenic aristolochic acids in food crops grown in *Aristolochia clematitis*-contaminated soil and water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 107-112, 2016.
- 30 JADOT, I. et al. An integrated view of aristolochic acid nephropathy: update of the literature. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 2, 2017.
- 31 JUAN-PEIRÓ, L. et al. The Use of Amberlite Adsorbents for Green Chromatography Determination of Volatile Organic Compounds in Air. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2012, p. 728143, 2012.
- 32 SIGMA-ALDRICH. Disponível em: <  
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/xad16?lang=pt&region=BR> >.  
Acesso em: 19 de mar. de 2018.
- 33 REICH, H. J. **Simulating NMR spectra with WINDNMR-Pro**. Madison, 2002.  
Disponível em: <http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/plt/windnmr.htm>: University of Wisconsin. Acesso em: 10 fev. 2017.
- 34 KUBO, I. et al. Isolation and structure of hepialone; principal component from male sex scales of *Hepialus californicus* (Lepidoptera). **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 5, p. 563-566, 1985.
- 35 UCHINO, K. et al. Synthesis of hepialone; principal component from male sex scales of *hepialus californicus* (lepidoptera). **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 10, p. 1319-1320, 1985.

- 36 ZIPP, G. G.; HILFIKER, M. A.; NELSON, S. G. Enantioenriched dihydropyrones from  $\beta$ -lactone templates. **Organic Letters**, v. 4, n. 11, p. 1823-1826, 2002.
- 37 BENNINI, B. et al. Diarylnonanoids and their glucosides from *Erica cinerea*. **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 14, p. 1597-1600, 2011.
- 38 KAOUADJI, M.; BENNINI, B.; CHULIA, A. J. Three further 1,9-diarylnonanoid 3-O-glycosides from *Erica cinerea* **Tetrahedron Letters**, v. 54, p. 3, 2013.
- 39 ZHANG, Y.-T.; JIANG, J.-Q. Alkaloids from *Aristolochia manshuriensis* (Aristolochiaceae). **Helvetica Chimica Acta**, v. 89, n. 11, p. 2665-2670, 2006.
- 40 NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. Diterpene esters of aristolochic acids from *Aristolochia pubescens*. **Phytochemistry**, v. 63, n. 8, p. 953-957, 2003.
- 41 LEU, Y.-L. et al. The constituents of the stem and roots of *Aristolochia foveolata*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 45, n. 4, p. 539-541, 1998.
- 42 CAI, Y.; CAI, T.-G. Two new aristolochic acid derivatives from the roots of *Aristolochia fangchi* and their cytotoxicities. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 58, n. 8, p. 1093-1095, 2010.
- 43 CHIANG, C.-Y. et al. Sodium aristolochates from the flowers and fruits of *Aristolochia zollingeriana*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 45, n. 1, p. 93-97, 1998.
- 44 AKASU, M.; ITOKAWA, H.; FUJITA, M. Four new fluorescent components isolated from the callus tissue of *Stephania cepharantha*. **Tetrahedron Letters**, v. 15, n. 41, p. 3609-3612, 1974.
- 45 WU, T.-S.; LEU, Y.-L.; CHAN, Y.-Y. Aristolochic acids as a defensive substance for the aristolochiaceous plant-feeding swallowtail butterfly, *Pachliopta aristolochiae interpositus*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 47, n. 1, p. 221-226, 2000.
- 46 PRIESTAP, H. A. Seven aristololactams from *Aristolochia argentina*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 4, p. 849-852, 1985.
- 47 NASCIMENTO, I. R. **Síntese estereosseletiva de neolignanas diidrobenezofurânicas e estudo fitoquímico de *Aristolochia pubescens* Will.** 2002. 245 f (Tese de doutorado). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.

- 48 TSURUTA, A. Y. et al. Aristolactams and further constituents from *Aristolochia chamissonis*. **Eclética Química**, v. 27, p. 1-7, 2002.
- 49 MA, J. et al. A DNA-Damaging oxoaporphine alkaloid from *Piper caninum*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 7, p. 1162-1164, 2004.
- 50 DAYUN, Z. et al. Two new oxoaporphine alkaloids isolated from *Aristolochia tuberosa*. **Acta Chimica Sinica**, v. 41, n. 1, p. 74-78, 1983.
- 51 CHEN, J.-H. et al. Aporphine alkaloids from *Clematis parviloba* and their antifungal activity. **Archives of Pharmacal Research**, v. 32, n. 1, p. 3-5, 2009.
- 52 HOLZBACH, J. C.; LOPES, L. M. X. Aristolactams and alkamides of *Aristolochia gigantea*. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9462, 2010.
- 53 REN, Q. et al. Organic acids from *Capparis spinosa* fruit. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 48, n. 5, p. 868-869, 2012.
- 54 PENG, Y. et al. HPLC analysis, semi-preparative HPLC preparation and identification of three impurities in salidroside bulk drug. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 3, p. 828-832, 2009.
- 55 NOGUEIRA, C. R. **Constituintes micromoleculares de *Aristolochia melastoma* Manso: compostos nitrados**. 2010. 125 f (Dissertação de Mestrado). Instituto de Química, Universidade Paulista Júlio de Mesquita Araraquara, Araraquara, 2010.
- 56 NAVICKIENE, H. M. D.; LOPES, L. M. X. Alkamides and phenethyl derivatives from *Aristolochia gehrtii*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 467-472, 2001.
- 57 SAWASDEE, K.; CHAOWASKU, T.; LIKHITWITAYAWUID, K. New neolignans and a phenylpropanoid glycoside from twigs of *Milium mollis*. **Molecules**, v. 15, n. 2, p. 639-48, 2010.
- 58 KORT, R. et al. Evidence for *trans-cis* isomerization of the *p*-coumaric acid chromophore as the photochemical basis of the photocycle of photoactive yellow protein. **FEBS Letters**, v. 382, n. 1, p. 73-78, 1996.
- 59 CARTA, F. et al. Mono-/dihydroxybenzoic acid esters and phenol pyridinium derivatives as inhibitors of the mammalian carbonic anhydrase isoforms I, II, VII, IX, XII and XIV. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 6, p. 1564-9, 2013.

- 60 SALUM, M. L.; ROBLES, C. J.; ERRA-BALSELLS, R. Photoisomerization of ionic liquid ammonium cinnamates: one-pot synthesis-isolation of Z-cinnamic acids. **Organic Letters**, v. 12, n. 21, p. 4808-11, 2010.
- 61 RASMUSSEN, S.; WOLFF, C.; RUDOLPH, H. 4'-O- $\beta$ -d-glucosyl-cis-p-coumaric acid—a natural constituent of *Sphagnum fallax* cultivated in bioreactors. **Phytochemistry**, v. 42, n. 1, p. 81-87, 1996.
- 62 D'ABROSCA, B. et al. Structural characterization and radical scavenging activity of monomeric and dimeric cinnamoyl glucose esters from *Petrorhagia velutina* leaves. **Phytochemistry Letters**, v. 3, n. 1, p. 38-44, 2010.
- 63 HUANG, S.-X. et al. Phenyl and phenylethyl glycosides from *Picrorhiza scrophulariiflora*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 87, n. 3, p. 598-604, 2004.
- 64 BUBB, W. A. NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: Characterizing the structural complexity. **Concepts in Magnetic Resonance Part A**, v. 19A, n. 1, p. 1-19, 2003.
- 65 HANAI, K. et al. A comparative vibrational and NMR study of cis-cinnamic acid polymorphs and trans-cinnamic acid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 57, n. 3, p. 513-519, 2001.
- 66 CLAYDEN, J. **Organic Chemistry**. New York: Oxford University, 2001. 1490 p.
- 67 TEPONNO, R. B.; KUSARI, S.; SPITELLER, M. Recent advances in research on lignans and neolignans. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 9, p. 1044-1092, 2016.
- 68 CHEN, J.-J. et al. Dihydroagarofuranoid sesquiterpenes, a lignan derivative, a benzenoid, and antitubercular constituents from the stem of *Microtropis japonica*. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 6, p. 1016-1021, 2008.
- 69 BYUN, E. et al. *Tribuli fructus* constituents protect against tacrine-induced cytotoxicity in HepG2 cells. **Archives of Pharmacal Research**, v. 33, n. 1, p. 67-70, 2010.
- 70 HE, D. et al. Separation and purification of flavonoids from black currant leaves by high-speed countercurrent chromatography and preparative HPLC. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 33, n. 5, p. 615-628, 2010.
- 71 MORIYAMA, H.; IIZUKA, T.; NAGAI, M. A stabilized flavonoid glycoside in heat-treated *Cassia alata* leaves and its structural elucidation. **Yakugaku Zasshi**, v. 121, n. 11, p. 817-820, 2001.

- 72 REFAAT, J. et al. Chemical constituents from *Chorisia chodatii* flowers and their biological activities. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 7, p. 2939-2949, 2015.
- 73 SANG, S. et al. A phenylpropanoid glycoside from *Vaccaria segetalis*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 3, p. 569-571, 1998.
- 74 S-GRAVENMADE, E. J.; VOGELS, G. D.; VAN PELT, C. Preparation, properties and absolute configuration of (-)-allantoin. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, v. 88, n. 8, p. 929-939, 1969.
- 75 CIUFFREDA, P.; CASATI, S.; MANZOCCHI, A. Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral assignment of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 781-784, 2007.
- 76 NASCIMENTO, D. S. D.; CERVI, A. C.; GUIMARÃES, O. A. A família Aristolochiaceae Juss. no estado do Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 414-422, 2010.
- 77 ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. p.
- 78 ERBAR, C.; HEILER, A.; LEINS, P. Nectaries in fly-deceptive pitcher-trap blossoms of *Aristolochia*. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 232, p. 128-141, 2017.
- 79 KAISER, R. Flowers and fungi use scents to mimic each other. **Science**, v. 311, n. 5762, p. 806, 2006.
- 80 MARTIN, K. R. et al. Spatial and temporal variation in volatile composition suggests olfactory division of labor within the trap flowers of *Aristolochia gigantea*. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 232, p. 153-168, 2017.
- 81 AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids**. Amsterdam: Elsevier Science 1989. p.
- 82 JOHNSON, S. D.; JÜRGENS, A. Convergent evolution of carrion and faecal scent mimicry in fly-pollinated angiosperm flowers and a stinkhorn fungus. **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 4, p. 796-807, 2010.
- 83 OELSCHLAGEL, B. et al. The betrayed thief - the extraordinary strategy of *Aristolochia rotunda* to deceive its pollinators. **New Phytologist**, v. 206, n. 1, p. 342-51, 2015.



- 84 STASHENKO, E. E. et al. Determination of the volatile and semi-volatile secondary metabolites, and aristolochic acids in *Aristolochia ringens* Vahl. **Journal of Chromatographic Science**, v. 47, n. 9, p. 817-21, 2009.
- 85 OELSCHLAGEL, B. et al. Structure and biomechanics of trapping flower trichomes and their role in the pollination biology of *Aristolochia* plants (Aristolochiaceae). **New Phytologist**, v. 184, n. 4, p. 988-1002, 2009.
- 86 FREITAS, J. **Aristolochiaceae Juss. no Espírito Santo, Brasil**. 2016. 142 f (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus.
- 87 URRU, I.; STENSMYR, M. C.; HANSSON, B. S. Pollination by brood-site deception. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1655-66, 2011.
- 88 BERJANO, R. et al. Pollinators, flowering phenology and floral longevity in two mediterranean *Aristolochia* species, with a review of flower visitor records for the genus. **Plant Biology**, v. 11, n. 1, p. 6-16, 2009.
- 89 WU, T. S.; LEU, Y.-L.; CHAN, Y.-Y. Aristofolin-A, a denitro-aristolochic acid glycoside and other constituents from *Aristolochia kaempferi*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2509-2510, 1998.
- 90 AGATI, G. et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67-76, 2012.
- 91 MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, p. 1218-1223, 2008.
- 92 KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 16, 2013.
- 93 MIERZIAK, J.; KOSTYN, K.; KULMA, A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16240, 2014.
- 94 FALCONE FERREYRA, M. L.; RIUS, S. P.; CASATI, P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 222, 2012.
- 95 GRONQUIST, M. et al. Attractive and defensive functions of the ultraviolet pigments of a flower (*Hypericum calycinum*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 24, p. 13745-13750, 2001.

- 96 BOHM, B. A. **Introduction to flavonoids**. Australia: Hardwood academic publisher, 1998. 503 p.
- 97 MALLIKARJUNA, N. et al. Influence of foliar chemical compounds on the development of *Spodoptera litura* (Fab.) in interspecific derivatives of groundnut. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, n. 5, p. 321-328, 2004.
- 98 ZHU, L. et al.  $\beta$ -Alanine-DBU: A highly efficient catalytic system for Knoevenagel-Doebner reaction under mild conditions. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 139-143, 2012.
- 99 MEI SHAN, P. et al. Antioxidative constituents from *Buddleia officinalis*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 26, n. 6, p. 453, 2003.
- 100 KAWAI, N.; MATSUDA, M.; UENISHI, J. I. Stereoselective synthesis of tetrahydroisoquinoline alkaloids: (-)-trolline, (+)-crispin A, (+)-oleracein E. **Tetrahedron**, v. 67, n. 45, p. 8648-8653, 2011.
- 101 KIPCHAKBAEVA, A. K. et al. Method for obtaining total flavonoids from *Climacoptera subcrassa* and their biological activity. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 52, n. 2, p. 322-323, 2016.
- 102 CHANG, Y. et al. Cytotoxic activities of flavonoids from a traditional Mongolian medicinal herb *Clematis aethusifolia* Turcz. **Natural Product Research**, v. 31, n. 10, p. 1223-1227, 2017.
- 103 LEE, E. H. et al. Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. **Archives Pharmacal Research**, v. 26, n. 12, p. 1018-23, 2003.
- 104 SOUSA, E. A. D. et al. A new flavonoid derivative from leaves of *Oxandra Sessiliflora* R. E. Fries. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 704-708, 2014.
- 105 SONG, J. L. et al. Chemical constituents from flowers of *Gardenia jasminoides*. **Zhong Yao Cai**, v. 36, n. 5, p. 752-5, 2013.
- 106 LIU, X. et al. Two new flavonol glycosides from *Gymnema sylvestre* and *Euphorbia ebracteolata*. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 4, p. 891-5, 2004.