

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

Eloá Rodrigues Mestriner

Resolução Quiral de Lignanas Furofurânicas Isoladas de *Aristolochia*
(Aristolochiaceae)

Araraquara
2023

Eloá Rodrigues Mestriner

Resolução Quiral de Lignanas Furofurânicas Isoladas de *Aristolochia*
(Aristolochiaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Isabele Rodrigues Nascimento

Araraquara
2023

M586r Mestriner, Eloá Rodrigues
Resolução quiral de lignanas furofurânicas isoladas de
Aristolochia / Eloá Rodrigues Mestriner. -- Araraquara,
2023
51 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado -
Química) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Química, Araraquara
Orientadora: Isabele Rodrigues Nascimento

1. Aristolochia. 2. Metabolitos secundários. 3.
Lignanas. 4. Enantiômeros. 5. Quiralidade. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca
do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Eloá Rodrigues Mestriner

Resolução Quiral de Lignanas Furofurânicas Isoladas de *Aristolochia*
(Aristolochiaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado a Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Química.

Araraquara, 29 de novembro de 2023

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 ISABELE RODRIGUES NASCIMENTO
Data: 05/12/2023 11:24:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Isabele Rodrigues Nascimento

Documento assinado digitalmente
 IAN CASTRO GAMBOA
Data: 05/12/2023 12:37:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ian Castro-Gamboa

Documento assinado digitalmente
 ALAN CESAR PILON
Data: 05/12/2023 14:19:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alan Cesar Pilon

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelos incontáveis esforços e sacrifícios que garantiram realizar meus objetivos e sonhos, por todo amor incondicional, suporte e carinho.

Ao meu irmão Pedro, pelo amor e companheirismo sempre.

À minha orientadora Profa. Dra. Isabele Rodrigues Nascimento, pela oportunidade de fazer parte de seu grupo, acolhimento, confiança, amizade, atenção e ensinamentos que me fizeram crescer no âmbito pessoal e profissional.

À Dra. Camila Luiza Cunha, pela amizade e carinho desde o início, coorientação, aprendizados, disposição e inspiração.

Aos amigos, Ariani Rodrigues Aragão, Gabriel Rodrigues Eugênio e Marina Heloysa Sanino, pela amizade, companheirismo e apoio durante todos esses anos de faculdade que tornaram a vivência mais alegre e especial.

Ao Miguel, por sempre acreditar e incentivar meus sonhos durante todos esses anos, por todo suporte, carinho e amor.

Ao grupo de laboratório, pelas risadas, acolhimento e momentos de descontração.

Ao grupo PET Química UNESP Araraquara pelas experiências e amizades.

Ao Instituto de Química pelo espaço e suporte necessários para a realização deste trabalho.

Às agências de fomento CAPES, CNPq, FAPESP e PROPe pelo financiamento ao grupo de pesquisa.

“O medo é um preconceito dos nervos. E um preconceito desfaz-se; basta a simples
reflexão.”

(Assis, 1876, p. 57)*

* ASSIS, Machado de. **Helena**. São Paulo: Martin Claret, 2021.

RESUMO

As lignanas furofurânicas compreendem uma classe de metabólitos secundários encontrados em plantas do gênero *Aristolochia* (Aristolochiaceae). Ao longo dos anos, estudos sobre isolamento, elucidação estrutural e propriedades biológicas dessas lignanas têm sido descritos na literatura. No entanto, metodologias de separação quiral e de análise enantiomérica são escassas. O objetivo deste trabalho foi determinar condições de resolução quiral via Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para as lignanas eudesmina, epieudesmina, sesamina, episesamina, filigenina, kobusina e fargesina, obtidas previamente de *Aristolochia*. Os isômeros foram purificados por CLAE utilizando colunas quirais CHIRALPAK® IC (Daicel) e CHIRALCEL® OD-RH (Daicel). A comparação das medidas de atividade óptica específica com os valores descritos na literatura sugeriram que as plantas do gênero *Aristolochia* produzem quatro isômeros diferentes de lignanas furofurânicas: (7*S*,7'*S*,8*R*,8'*R*), (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*), (7*R*,7'*S*,8*S*,8'*S*) e (7*S*,7'*R*,8*R*,8'*R*).

Palavras-chave: *Aristolochia*; lignanas furofurânicas; enantiômeros; resolução quiral.

ABSTRACT

Furofuran lignans comprise a class of secondary metabolites found in plants of the genus *Aristolochia* (Aristolochiaceae). Over the years, studies on the isolation, structural elucidation and biological properties of these lignans have been described in the literature. However, chiral separation and enantiomeric analysis methodologies are scarce. The objective of this work was to determine chiral resolution conditions via High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for the lignans eudesmin, epieudesmin, sesamin, episesamin, filigenin, kobusina, and fargesin, previously obtained from *Aristolochia*. The isomers were purified by HPLC using CHIRALPAK® IC (Daicel) and CHIRALCEL® OD-RH (Daicel) chiral columns. Comparison of the specific optical activity data with the values described in the literature suggested that plants of the genus *Aristolochia* produce four different isomers of furofuran lignans: (7*S*,7'*S*,8*R*,8'*R*), (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*), (7*R*,7'*S*,8*S*,8'*S*) and (7*S*,7'*R*,8*R*,8'*R*).

Keywords: *Aristolochia*; furofuran lignans; enantiomers; quiral resolution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Esqueletos carbônicos de lignanas e neolignanas	16
Figura 2 –	Esqueletos carbônicos dos principais grupos de lignanas	17
Figura 3 –	Configurações relativas encontradas para as lignanas furofurânicas	18
Figura 4 –	Estruturas químicas das lignanas furofurânicas isoladas de <i>Aristolochia</i> pelo grupo de pesquisa.....	19
Figura 5 –	Fracionamento da fração Fr-LF11.....	25
Figura 6 –	Esquema de purificação da fração enriquecida Fr-LF11-F8	25
Figura 7 –	Fracionamento da fração Fr-LF16.....	26
Figura 8 –	Esquema de purificação da fração enriquecida Fr-LF16-F7	26
Figura 9 –	Fracionamento da fração Fr-LF26.....	27
Figura 10 –	Esquema de purificação da fração enriquecida Fr-Filigenina	27
Figura 11–	Esquema de purificação enantiomérica da fração enriquecida Fr-Fargesina	28
Figura 12–	Estruturas químicas das lignanas furofurânicas isoladas.	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Lignanas furofurânicas isoladas de <i>Aristolochia</i> pelo grupo de pesquisa.....	19
Tabela 2 –	Dados de RMN de ^1H da substância eudesmina	29
Tabela 3 –	Dados de RMN de ^1H da substância sesamina.....	30
Tabela 4 –	Dados de RMN de ^1H da substância kobusina	31
Tabela 5 –	Dados de RMN de ^1H da substância filigenina.....	32
Tabela 6 –	Dados de RMN de ^1H da substância epieudesmina.....	33
Tabela 7 –	Dados de RMN de ^1H da substância episesamina.....	33
Tabela 8 –	Dados de RMN de ^1H da substância fargesina	34
Tabela 9 –	Dados de tempo de retenção e rotação óptica específica das lignanas furofurânicas isoladas de <i>Aristolochia</i>	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de Etila
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DCE	Dicroísmo Circular Eletrônico
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
EtOH	Etanol
FE	Fase estacionária
FM	Fase móvel
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>
Hex	Hexano
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
MeOH	Metanol
<i>m</i>	Múltiplo
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>s</i>	Simpleto
UV	Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
λ	Comprimento de onda
μ	Micro
δ	Deslocamento químico
$[\alpha]_D$	Rotação óptica específica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Gênero <i>Aristolochia</i>	12
1.2 Lignanas	12
1.3 Lignanas furofurânicas	14
1.4 Resolução Quiral	17
2 OBJETIVOS	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1 Solventes.....	19
3.2 Equipamentos.....	19
3.3 Análises Cromatográficas.....	20
3.4 Triagem química das frações enriquecidas	21
3.5 Isolamento e purificação das lignanas furofurânicas	21
4 RESULTADOS.....	25
4.1 Determinação estrutural das lignanas furofurânicas	26
4.1.1 Eudesmina	26
4.1.2 Sesamina	27
4.1.3 Kobusina.....	28
4.1.4 Filigenina.....	28
4.1.5 Epieudesmina	30
4.1.6 Episesamina	30
4.1.7 Fargesina	31
4.2 Resolução quiral das lignanas furofurânicas	32
5 CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS.....	36
APÊNDICES	39

1 INTRODUÇÃO

1.1 Gênero *Aristolochia*

A família Aristolochiaceae é constituída por quatro gêneros: *Aristolochia* L., *Asarum* L., *Thottea* Rottb. e *Saruma* Oliv., com mais de 600 espécies reportadas¹. Dentre eles, o gênero *Aristolochia* se destaca pela ampla presença no território brasileiro em regiões tropicais e subtropicais. Somente na área de Mata Atlântica 39 das 85 espécies encontradas no Brasil estão registradas^{2,3}. Estudos taxonômicos já se concentram em outras regiões do país a fim de obter mais informações acerca de um grupo tão vasto da flora brasileira.

As plantas do gênero *Aristolochia* são caracterizadas como trepadeiras, subarbustos e ervas. Popularmente as espécies são conhecidas como papo-de-peru, cipó mil-homens, jarrinha etc^{4,5}. Apresentam histórico de uso na medicina popular por apresentarem efeitos analgésicos, emenagogas, antiofídicos, estomáquicos, expectorantes, sedativos, auxiliador no emagrecimento e abortivos^{4,6}. O próprio nome do gênero deriva desta característica: *aristos* = melhor; *lochios* = parto ou expulsão da placenta⁷.

Grande parcela das propriedades biológicas observadas nestas plantas se deve à sua composição química diversificada em metabólitos secundários, como ácidos graxos, terpenoides, lignoides, flavonoides e alcaloides⁴. Enquanto para os organismos vegetais tal produção garante características evolucionárias, para os estudos fitoquímicos representa uma potencial fonte de desenvolvimento para novos fármacos ao isolar substâncias com atividades específicas.

1.2 Lignanas

A incapacidade de locomoção das plantas pressionou as espécies a desenvolver mecanismos que possibilitam seu crescimento flexível, através da produção de substâncias que desempenham funções adaptativas em resposta às alterações no ambiente e no crescimento da planta⁸.

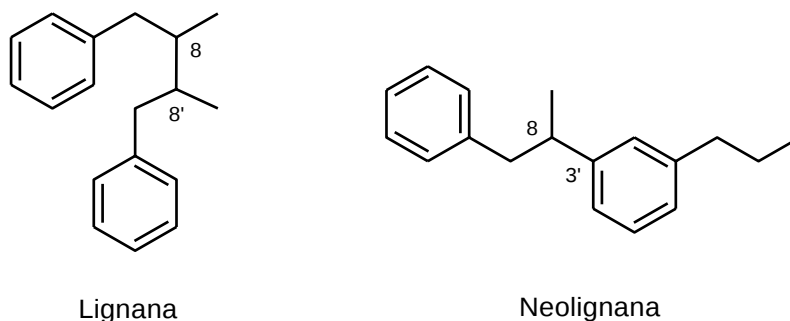
Enquanto o metabolismo primário produz carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, macromoléculas que desempenham funções essenciais no vegetal, o metabolismo secundário ou especial permite a evolução das espécies ao gerar produtos específicos e vantajosos na sobrevivência e perpetuação da

espécie no ecossistema⁹. Os metabólitos secundários pertencem, em geral, a três principais grupos de moléculas: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados. Além destes destacam-se ainda derivados de ácidos graxos e poliketóides aromáticos¹⁰.

O estudo destes compostos apresenta diversas aplicações práticas. Muitas destas substâncias são utilizadas como inseticidas, fungicidas, medicamentos, fragrâncias e aromatizantes e são o constante foco de investigação da indústria farmacêutica, justamente por suas propriedades biológicas específicas¹¹.

As lignanas compreendem uma das classes de metabólitos secundários produzidos pelo gênero *Aristolochia* e se destacam por apresentarem atividades importantes como: antiviral, antitumoral, antimicrobiana, antioxidante, imunossupressora, entre outras¹². São derivadas da via biossintética do ácido chiquímico, resultantes do acoplamento oxidativo de duas unidades de ácido cinâmico e, por esta razão, são consideradas dímeros de fenilpropanoides. Para fins de nomenclatura, segundo a IUPAC, a unidade C_6C_3 é tratada como fenilpropanoide e numerada de 1 a 6 no anel aromático e de 7 a 9 no grupo propil. Na segunda unidade C_6C_3 , os números são de 1' a 9'. Quando as duas unidades C_6C_3 apresentam junção entre os carbonos C-8 e C-8', esses compostos são denominados lignanas. Quando a junção dos dímeros ocorre em qualquer outra posição, os compostos são denominados neolignanas (Figura 1)¹³.

Figura 1: Exemplos de esqueletos carbônicos de lignanas e neolignanas.

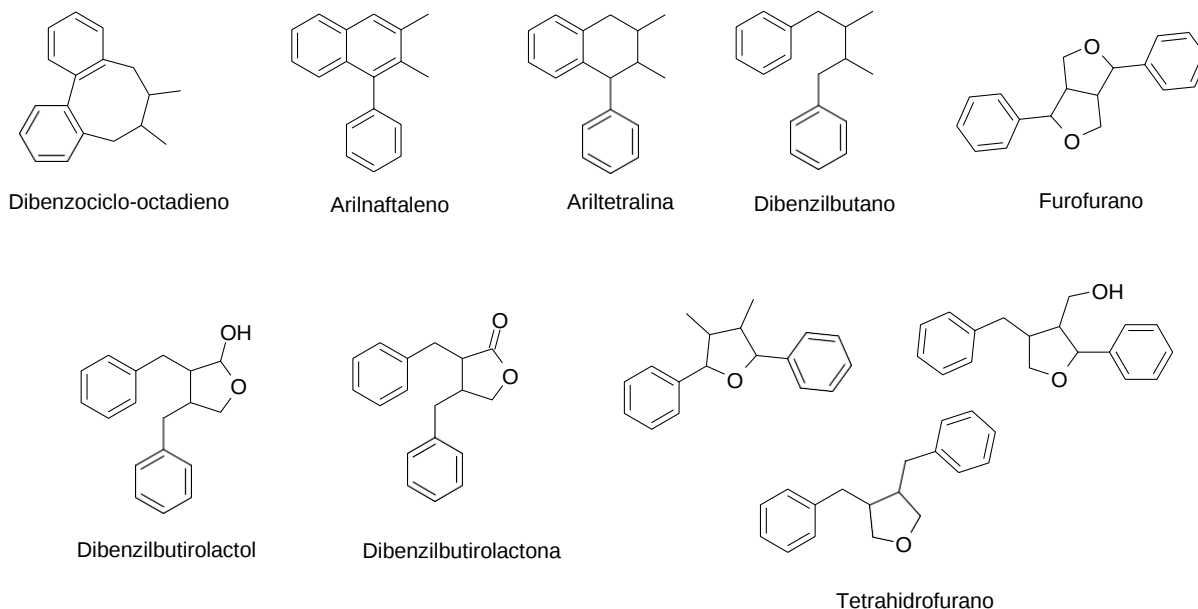


Fonte: elaborada pela Autora (2023)

As lignanas apresentam enorme diversidade estrutural devido a diferentes graus de oxidação da cadeia lateral e padrões de substituição nos anéis

aromáticos. Dessa forma, podem ser divididas em oito classes diferentes, de acordo com o padrão estrutural que inclui o esqueleto carbônico, o padrão de ciclização e a maneira como o oxigênio é incorporado no esqueleto molecular (Figura 2)¹⁴.

Figura 2: Esqueletos carbônicos dos principais grupos de lignanas.



Fonte: adaptado de Teponno e colaboradores¹⁴.

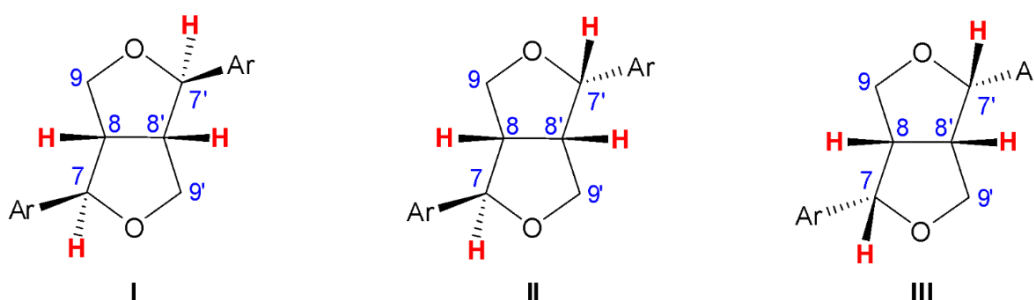
1.3 Lignanas furofurânicas

As lignanas furofurânicas são uma das maiores subclasses das lignanas, caracterizadas por conter o esqueleto principal 2,6-diaril-3,7-dioxabicyclo [3.3.0] octano, isto é, possuem uma porção 7,9':7',9-diepóxi. Apresentam grande variedade estrutural com a possibilidade de diferentes substituintes nos grupos aril e configurações do anel furofurânico, e certa complexidade estereoquímica devido aos quatro centros quirais em (C-7, C-7', C-8 e C-8')¹⁵. Além disso, também exibem atividades biológicas como anti-inflamatória, antitumoral, antioxidante, dentre outras¹², o que faz com que diversos estudos fitoquímicos com enfoque no isolamento destas substâncias em diferentes gêneros sejam reportados.

Na natureza essas lignanas tem seus anéis tetraidrofurofurânicos unidos em configuração *cis*, devido à grande tensão entre o sistema bicíclico do anel, sendo possível três configurações relativas para essa classe (Figura 3). Estudos

demonstram que a depender da orientação dos substituintes ligados a C-7 e C-7' há uma diferenciação nos valores de deslocamento químico dos hidrogênios H-7 e H-7', permitindo a caracterização de sua configuração relativa através de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H ¹⁶.

Figura 3: Configurações relativas encontradas para as lignanas furofurânicas.



Fonte: adaptado de Kato, 1984¹⁶

Se os substituintes aromáticos estiverem posicionados em posições pseudo-equatoriais (I), os hidrogênios exibem o mesmo deslocamento químico de δ 4,7- 4,8. Em posição pseudo-axiais (III), o intervalo de deslocamento dos hidrogênios é de δ 4,9-5,1. Em ambas as configurações I e III as moléculas são consideradas simétricas. No caso de um dos substituintes estar em posição pseudo-axial e outro em pseudo-equatorial (II), os hidrogênios H-7 e H-7' apresentam deslocamento químico em δ 4,4 - 4,5 e 4,8 - 4,9, respectivamente, e a molécula, por conta de sua assimetria, é chamada de série epi¹⁶

Já a configuração absoluta das lignanas furofurânicas pode ser determinada por análise cristalográfica de raios X (quando é possível obter cristais de alta qualidade), métodos de RMN (usando reagentes de derivatização quiral), síntese estereo controlada e métodos quirópticos, que incluem rotação óptica e Dicroísmo Circular Eletrônico (DCE).

Nosso grupo de pesquisa, coordenado inicialmente pela Profa. Dra. Lucia Maria Xavier Lopes, estudou cerca de 26 espécies do gênero *Aristolochia*. Ao longo dos anos, 15 lignanas furofurânicas foram isoladas e identificadas (Tabela 1, Figura 4).

Figura 4: Estruturas químicas das lignanas furofurânicas isoladas de *Aristolochia* pelo grupo de pesquisa.

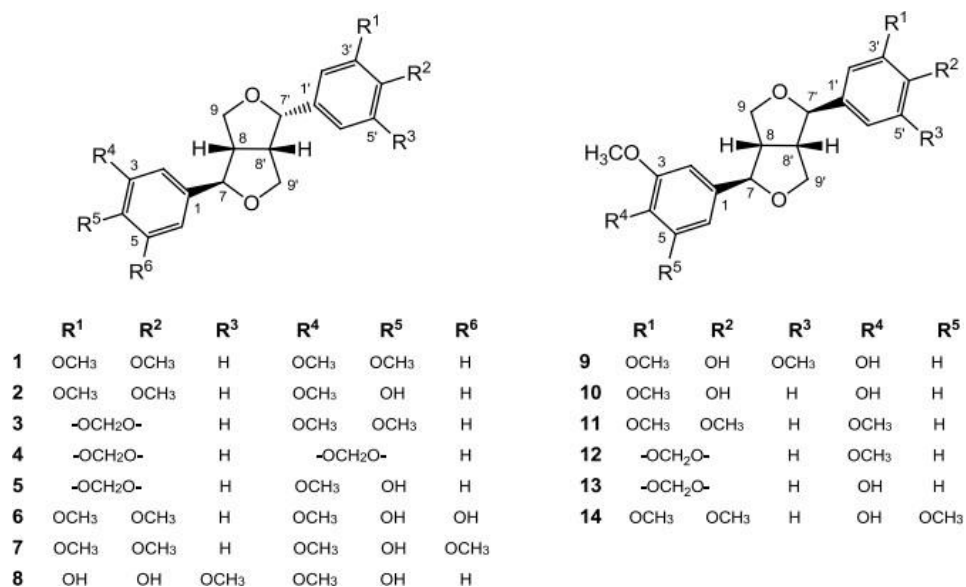


Tabela 1. Lignanas furofurânicas isoladas de *Aristolochia* pelo grupo de pesquisa.

Substância	Nome	Espécie
1	sesamina	<i>A. pubescens</i> ¹⁷
2	kobusina, metilpiperitol	<i>A. gehrtii</i> ¹⁸ , <i>A. warmingii</i> ¹⁹
3	piperitol	<i>A. warmingii</i> ¹⁹ , <i>A. gehrtii</i> ¹⁸
4	eudesmina	<i>A. elegans</i> ²⁰ , <i>A. gehrtii</i> ¹⁸ , <i>A. gigantea</i> ²¹ , <i>A. pubescens</i> ¹⁷ , <i>A. warmingii</i> ¹⁹
5	pinioresinol	<i>A. elegans</i> ²⁰ , <i>A. gigantea</i> ²¹ , <i>A. warmingii</i> ¹⁹
6	de-4'-O- metilmagnolina	<i>A. warmingii</i> ¹⁹
7	medioresinol	<i>A. warmingii</i> ¹⁹
8	episesamina, asarinina	<i>A. galeata</i> ²² , <i>A. warmingii</i> ¹⁹
9	fargesina	<i>A. brasiliensis</i> ²³ , <i>A. esperanzae</i> ²³ , <i>A. galeata</i> ²² , <i>A. malmeana</i> ²⁴ , <i>A. warmingii</i> ¹⁹
10	xantoxylol	<i>A. warmingii</i> ¹⁹
11	epieudesmina	<i>A. brasiliensis</i> ²³ , <i>A. cymbifera</i> ²³ , <i>A. esperanzae</i> ²³ , <i>A. warmingii</i> ¹⁹
12	filigenina	<i>A. malmeana</i> ²⁴ , <i>A. warmingii</i> ¹⁹
13	warmingina C	<i>A. warmingii</i> ¹⁹
14	warmingina A	<i>A. warmingii</i> ¹⁹
15	warmingina B	<i>A. warmingii</i> ¹⁹

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

1.4 Resolução Quiral

Enantiômeros são estereoisômeros que apresentam estrutura tridimensional não sobreponível a sua imagem especular²⁵. A maneira como estes átomos estão arranjados no espaço faz com que cada um apresente as mesmas propriedades físico-químicas em sistemas isotrópicos, inviabilizando o processo de discriminação enantiomérica frente a métodos convencionais de separação como ponto de fusão, ponto de ebulição e solubilidade^{26,27}.

No século XIX, Pasteur foi responsável por conduzir o primeiro experimento de resolução enantiomérica, após notar que os cristais do racemato de tartarato de amônio e sódio possuíam duas formas enantiomórficas distintas. Separando-as manualmente, Pasteur demonstrou que os dois tipos de cristais rotacionavam a luz polarizada em sentidos opostos²⁸.

Desde então, estudos que buscam métodos eficientes para a separação de enantiômeros têm sido desenvolvidos. Em 1952, com as investigações de Dalgliesh, o campo da separação quiral teve grande avanço ao propor um modelo de interação de três pontos entre os enantiômeros e o seletor quiral. Segundo tal modelo são necessárias três forças de interação simultâneas entre um dos enantiômeros e o seletor quiral, sendo que pelo menos uma destas deve ser dependente da estereoquímica²⁹. Inicialmente apenas interações atrativas eram consideradas para a discriminação quiral, posteriormente estudos confirmaram que interações repulsivas e atrativas participam do processo. Assim, a depender dos tipos das três interações entre o enantiômero e o seletor quiral, este tende a ficar mais fortemente ligado que o outro³⁰.

Dentre os métodos de identificação e quantificação de enantiômeros destaca-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com fases estacionárias quirais, dada sua alta eficiência de separação sem alterar os compostos. Os polissacarídeos em sua forma natural, apesar de apresentarem capacidade de separação enantiomérica, não são indicados para o uso em CLAE devido à baixa resolução discriminatória³¹. Assim, fases estacionárias baseadas em seus derivados adsorvidos ou quimicamente ligados aos suportes apresentam um prospecto mais otimista na separação enantiomérica de compostos alifáticos e aromáticos³². Dentre estes derivados destaca-se tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose e tris(3,5-diclorofenilcarbamato) de celulose,

em razão da possibilidade de uso nos dois modos de eluição (normal e reverso), elevada estabilidade e resolução enantiomérica^{33, 34}.

A importância de se isolar enantiômeros puros se dá justamente pela possibilidade de cada um oferecer ações diferenciadas sobre os organismos vivos, levando a diferentes sabores, odores, toxicidades e ações biológicas³⁵. Grande parte dos pesquisadores da área de produtos naturais ainda considera que os metabólitos secundários quirais são biossintetizados de forma enantiomericamente pura ou enriquecida, o que faz com que tais substâncias sejam isoladas equivocadamente como racematos ou misturas de diastereoisômeros³⁶. Portanto, a carência no estabelecimento de metodologias de discriminação quirais destes metabólitos apresenta-se como uma problemática dos produtos naturais visto que, além de dificultar a determinação da configuração absoluta das substâncias, prejudica a avaliação de atividade biológica dos enantiômeros³⁷.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi contribuir para o estudo químico das lignanas furofurânicas isoladas do gênero *Aristolochia*, incluindo os seguintes objetivos específicos:

- Purificação das lignanas furofurânicas de frações enriquecidas obtidas previamente de espécies de *Aristolochia*;
- Obtenção das lignanas furofurânicas enantiomericamente puras utilizando CLAE quiral;
- Elaboração de um banco de dados contendo informações espectroscópicas (RMN de ¹H e medidas de rotação óptica específica) e cromatográficas (tempo de retenção em diferentes condições de análise) das substâncias estudadas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Solventes

Os solventes metanol, clorofórmio, hexano, etanol, acetonitrila e isopropanol, usados nos processos cromatográficos e análises de rotação óptica específica, foram das marcas Sigma-Aldrich® e Tedia em grau HPLC, e água destilada e deionizada em aparelho da marca Milli-Q.

O solvente deuterado CDCl_3 (com pureza $\geq 99,8\%$ para D) foi da marca Sigma-Aldrich® para Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

3.2 Equipamentos

Os espectros de RMN de ^1H unidimensional foram obtidos em espectrômetro Brucker, modelo Avance III HD 600 (14,1 T), com frequência de 600 MHz para o núcleo de ^1H . Todas as amostras foram analisadas em sonda de 5 mm com detecção direta e temperatura 23 °C. A análise dos espectros foi realizada com auxílio do software Mestre Nova (Mestrelab Research) versão 14.2.0.

As análises por Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE) foram realizadas utilizando o cromatógrafo JASCO® com controlador LC-Net II/ADC, bomba PU-2086 Plus, injetor automático AS-2055 Plus, detector de arranjo de fotodiodos MD- 2018 Plus e detector de dicroísmo circular CD-2095 acoplado a detector de Dicroísmo Circular CD-2095. No modo analítico, foi empregada coluna CHIRALPAK® IC da Daicel com seletor quiral tris(3,5-diclorofenilcarbamato) de celulose (4,6 x 250 mm) e coluna CHIRALCEL® OD-RH da Daicel com seletor quiral tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose (150 x 4,6 mm). Já no modo semipreparativo, foi utilizada coluna C18 Phenomenex (250 x 10 mm).

As medidas de rotação óptica específica foram realizadas em polarímetro digital Perkin Elmer, com lâmpada de sódio, $\lambda = 589 \text{ nm}$, e cela de quartzo de caminho óptico 1,00 dm.

3.3 Análises Cromatográficas

Para a Cromatografia de Camada Delgada, fez-se uso de sílica gel (2-25 μm , 60 Å, Sigma-Aldrich®). Para as revelações das cromatoplacas, fez-se uso de iodo sublimado e irradiações na região de absorção no UV (254 e 365 nm).

Para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram usadas as seguintes condições cromatográficas:

- Para purificação das substâncias epieudesmina e filigenina, coluna C18 Phenomenex, fase móvel MeOH:H₂O (60:40), corrida de 21 minutos em fase reversa, método gradiente e fluxo 1 mL/min com injeção de 15 μL de amostra solubilizada com CHCl₃;
- Resolução quiral da substância fargesina, coluna quiral CHIRALCEL® OD-RH (Daicel), fase móvel ACN:H₂O (1:1), corrida de 30 minutos em fase reversa, método isocrático e fluxo de 1 mL/min com injeção de 15 μL de amostra solubilizada com CHCl₃;
- Resolução quiral das substâncias filigenina, sesamina, episesamina, kobusina, coluna quiral CHIRALPAK® IC, fase móvel Hexano:Etanol (80:20), corrida de 120 minutos em fase normal, método isocrático e fluxo de 1 mL/min com injeção de 15 μL de amostra centrifugada e solubilizada com CHCl₃ e 20 μL de fase móvel;
- Resolução quiral das substâncias eudesmina e epieudesmina, coluna quiral CHIRALPAK® IC, fase móvel Hexano:Etanol (70:30), corrida de 120 minutos em fase normal, método isocrático e fluxo de 1 mL/min com injeção de 15 μL de amostra centrifugada e solubilizada com CHCl₃ e 20 μL de fase móvel.

As amostras analisadas por CLAE foram previamente submetidas a extrações em fase sólida com cartuchos de fase reversa Macherey-Nagel C18 ec (3,0 mL; 500 mg, Chromabond®) e, na sequência, filtradas em microfiltro de PVDF (13 mm; 0,22 μm , Exacta®).

3.4 Triagem química das frações enriquecidas

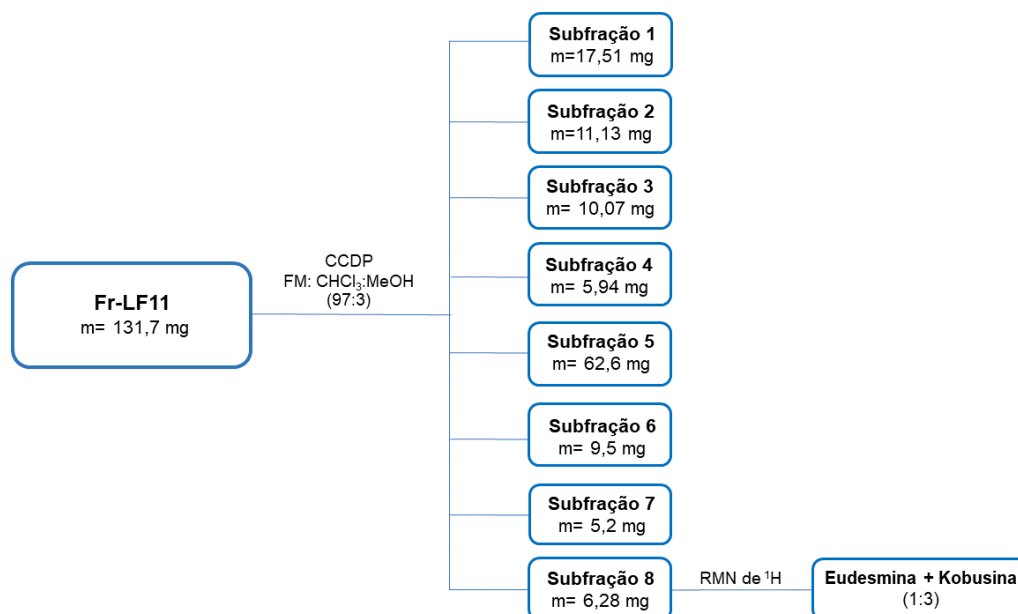
Cerca de 26 frações enriquecidas de lignanas furofurânicas, obtidas previamente pelo grupo de pesquisa em estudos químicos de plantas do gênero *Aristolochia*, foram separadas para análise e determinação de sua composição, pureza e massa. Todas foram analisadas por CCD e RMN de ^1H .

Após triagem, seis frações foram selecionadas considerando a presença de lignanas furofurânicas em sua composição, baixo grau de impurezas e massa maior que 10 mg: Fr-Fargesina (20 mg), Fr-Filigenina (15 mg), Fr-LF11 (131,7 mg), Fr-LF16 (30 mg), Fr-LF14 (29,7 mg) e Fr-LF26 (430,6 mg).

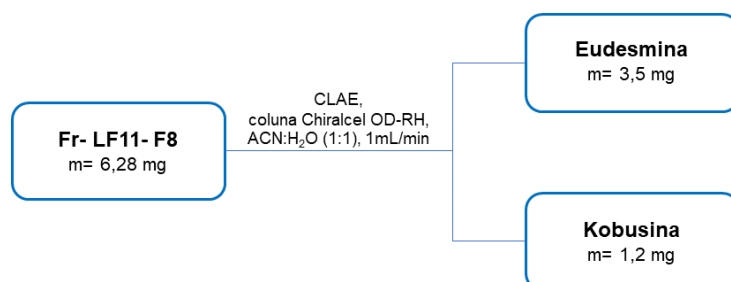
3.5 Isolamento e purificação das lignanas furofurânicas

As frações Fr-LF11, Fr-LF16 e Fr-LF26 foram submetidas a Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) utilizando fase móvel $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 97:3, a fim de purificar as lignanas furofurânicas dos demais componentes presentes. Todas as subfrações obtidas das CCDP foram analisadas por RMN de ^1H . Como as lignanas furofurânicas apresentam esqueleto carbônico muito similar, apenas se diferenciando nos substituintes dos anéis aromáticos, diferentes lignanas podem se concentrar na mesma faixa de retenção nas separações por CCDP, e assim serem isoladas como misturas. Por esta razão, as frações que indicavam mistura, mesmo que em que pequena proporção, foram injetadas em CLAE, a fim de purificar a substância de interesse.

O fracionamento da Fr-LF11 por CCDP resultou em oito subfrações (Figura 5). Após a análise por RMN de ^1H , a subfração 8 (Fr-LF11-F8) exibiu sinais característicos de lignanas furofurânicas, permitindo a identificação predominante da substância eudesmina em mistura com kobusina, proporção 1:3 (APÊNDICE A). Para obter a eudesmina enantiomericamente pura, utilizou-se CLAE-DAD quiral (Figura 6).

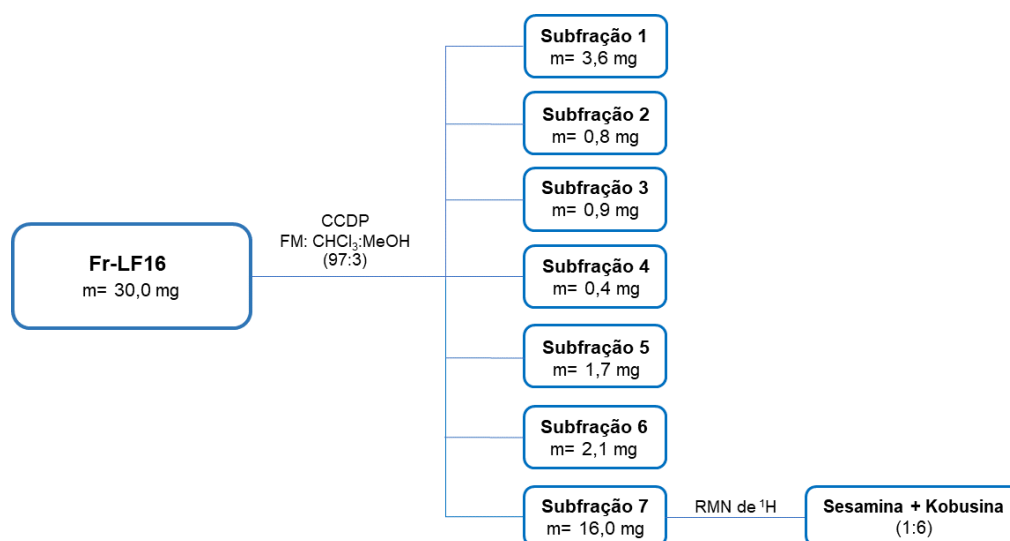
Figura 5: Fracionamento da fração Fr-LF11

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

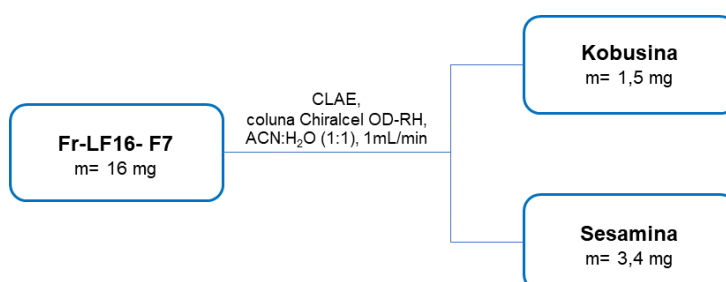
Figura 6: Esquema de purificação da fração enriquecida Fr-LF11-F8

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

O fracionamento da fração Fr-LF16 por CCDP resultou em 7 subfrações (Figura 7). Após a análise por RMN de ^1H , a subfração 7 (Fr-LF16-F7) exibiu sinais característicos de lignanas furofurânicas, permitindo a identificação predominante da substância sesamina em mistura com kobusina, proporção 1:6 (APÊNDICE B). Para obter a sesamina enantiomericamente pura, utilizou-se CLAE-DAD quiral (Figura 8).

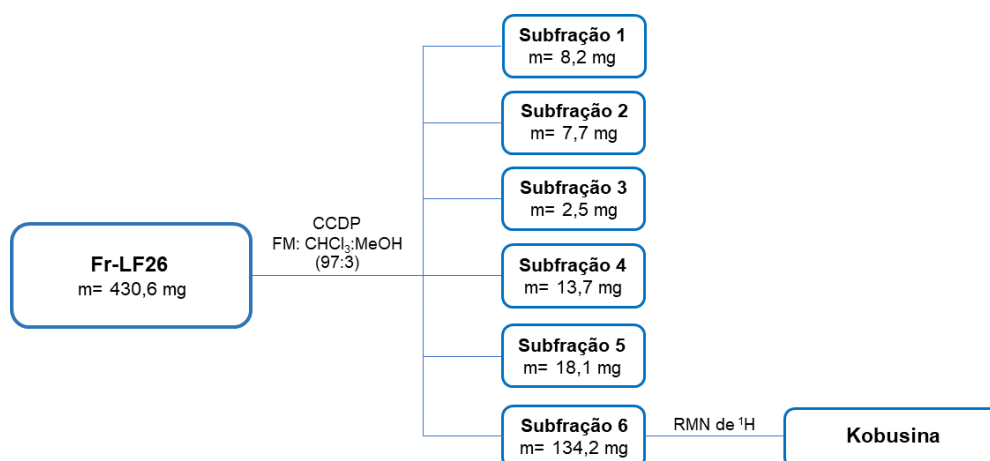
Figura 7: Fracionamento da fração Fr-LF16

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

Figura 8: Esquema de purificação da fração enriquecida Fr-LF16-F7

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

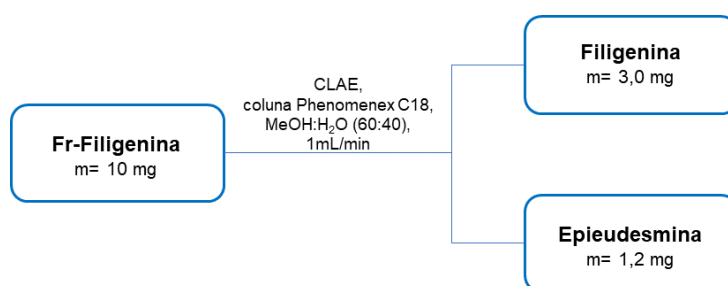
O fracionamento da fração Fr-LF26 por CCDP resultou em 6 subfrações (Figura 9). Após a análise por RMN de ^1H , a subfração 6 (Fr-LF26-F6) exibiu sinais característicos de lignanas furofurânicas, permitindo a identificação da substância kobusina com elevado grau de pureza (APÊNDICE C). Neste caso, não foi necessário a purificação através de CLAE.

Figura 9: Fracionamento da fração Fr-LF26

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

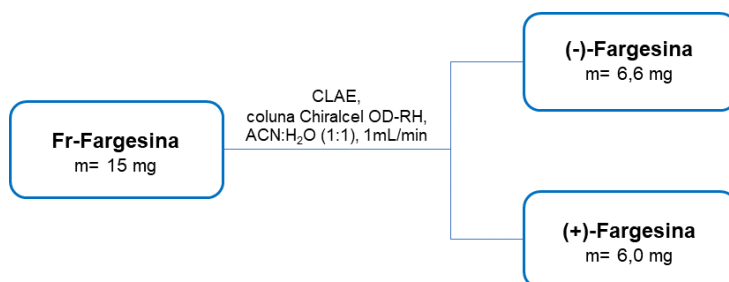
A análise do espectro de RMN de ^1H da fração LF14 revelou a presença da substância episesamina em alto grau de pureza, tornando desnecessária a etapa de fracionamento por CCDP para purificação (conforme indicado no APÊNDICE D).

A amostra Fr-Filigenina (15 mg) foi recristalizada utilizando CHCl_3 (10 mg), e na sequência submetida à CLAE semi-preparativa para purificação das lignanas filigenina e epieudesmina (Figura 10).

Figura 10: Esquema de purificação da fração enriquecida Fr-Filigenina

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

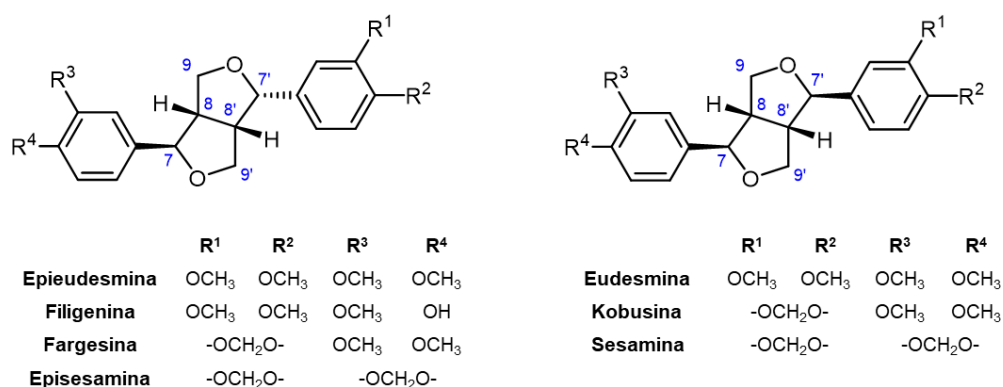
No caso da amostra Fr-Fargesina (30 mg), apenas a recristalização utilizando CHCl_3 foi suficiente para purificar a lignana fargesina (15 mg). Para resolução enantiomérica, a fração foi submetida à CLAE quiral (Figura 11).

Figura 11: Esquema da purificação enantiomérica da fração enriquecida Fr-Fargesina

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

4 RESULTADOS

As lignanas furofurânicas eudesmina, epieudesmina, sesamina, episesamina, kobusina, fargesina e filigenina (Figura 12), previamente isoladas de extratos de *Aristolochia* pelo grupo de pesquisa, foram purificadas para estabelecer uma metodologia de resolução quiral que viesse a fornecer informações sobre suas proporções enantioméricas e obter os enantiômeros puros.

Figura 12: Estruturas químicas das lignanas furofurânicas purificadas

Fonte: elaborada pela Autora (2023)

4.1 Determinação estrutural das lignanas furofurânicas

As estruturas químicas das substâncias eudesmina, sesamina e kobusina são caracterizadas pela presença de um sistema tetraidrofurofurânico simétrico, o qual exhibe pouca ou nenhuma diferenciação nos valores de deslocamentos químicos dos hidrogênios carbinólicos benzílicos H-7 e H-7', hidrogênios carbinólicos H-9 e H-9' e hidrogênios metínicos H-8 e H-8', de forma que cada um dos hidrogênios são simplificados a um único sinal, com mesma multiplicidade e constante de acoplamento.

Já os espectros das substâncias filigenina, epieudesmina, episesamina e fargesina apresentam sinais típicos de um sistema tetraidrofurofurânico assimétrico, caracterizado pela distinção dos valores de deslocamento químico dos hidrogênios carbinólicos benzílicos H-7 e H-7'. Essas substâncias são conhecidas como série epi.

4.1.1 Eudesmina

O espectro de RMN de ^1H da lignana eudesmina (APÊNDICE E) indicou a presença de um sistema simétrico. Os hidrogênios carbinólicos benzílicos H-7 e H-7' se apresentam como um único dubleto em δ 4,78 (d , $J = 4,2$); os hidrogênios metínicos H-8 e H-8', como um multipeto no intervalo δ 3,13-3,15; e os quatro hidrogênios carbinólicos 2H-9 e 2H-9' aparecem como um duplo dubleto em 4,29 (dd , $J = 9,1$; 6,8) e um multipeto no intervalo de δ 3,91-3,90 (Tabela 2). Ademais, o espectro exibiu dois simpletos em δ 3,89 e δ 3,92. Por se tratar de uma molécula simétrica, os dois simpletos observados no espectro são referentes a quatro metoxilas substituídas nos anéis aromáticos. Pela comparação dos dados obtidos de RMN de ^1H com os descritos na literatura (Tabela 2), a substância isolada foi identificada como eudesmina.

Tabela 2: Dados de RMN de ^1H da substância eudesmina (CDCl_3 , $J = \text{Hz}$, 14,1T)

	Eudesmina	Eudesmina³⁸
Posição	δ_{H}	δ_{H}
2, 2'	6,94 (<i>d</i> , $J = 1,9$)	6,83-6,89 (<i>m</i>)
5, 5'	6,87 (<i>d</i> , $J = 8,2$)	6,83-6,89 (<i>m</i>)
6, 6'	6,90 (<i>dd</i> , $J = 8,2; 2,0$)	6,83-6,89 (<i>m</i>)
7, 7'	4,78 (<i>d</i> , $J = 4,2$)	4,75 (<i>d</i> , $J = 4,2$)
8, 8'	3,13-3,14 (<i>m</i>)	3,12 (<i>m</i>)
9, 9'	4,29 (<i>dd</i> , $J = 9,1; 6,8$)	4,25 (<i>dd</i> , $J = 9,1; 6,9$)
	3,91-3,90 (<i>m</i>)	3,83-3,91 (<i>m</i>)
$\text{CH}_3\text{O}-3,3'$	3,89 (<i>s</i>)	3,87(<i>s</i>)
$\text{CH}_3\text{O}-4,4'$	3,92 (<i>s</i>)	3,89 (<i>s</i>)

Fonte: elaborado pela Autora (2023)

4.1.2 Sesamina

O espectro de RMN de ^1H da amostra (APÊNDICE F) apresentou sinais característicos do sistema tetraidrofurfurânico simétrico, muito similares aos apresentados pela eudesmina, além do substituinte metilenodioxílico (δ 5,97, *s*) (Tabela 3). Por se tratar de uma molécula simétrica, o único simpleto observado corresponde a dois substituintes metilenodioxílicos aromáticos. Pela comparação dos dados obtidos de RMN de ^1H com os descritos na literatura, a substância isolada foi identificada como sesamina.

Tabela 3: Dados de RMN de ^1H da substância sesamina (CDCl_3 , $J = \text{Hz}$, 14,1 T)

	Sesamina	Sesamina³⁹
Posição	δ_{H}	δ_{H}
2, 2'	6,87 (<i>d</i> , $J = 1,6$)	6,77-6,82 (<i>m</i>)
5, 5'	6,80 (<i>d</i> , $J = 8,0$)	6,77-6,82 (<i>m</i>)
6, 6'	6,83 (<i>dd</i> , $J = 8,0; 1,6$)	6,77-6,82 (<i>m</i>)
7, 7'	4,74 (<i>d</i> , $J = 4,3$)	4,69 (<i>d</i> , $J = 4,4$)
8, 8'	3,06-3,08 (<i>m</i>)	3,02 (<i>m</i>)
9, 9'	4,26 (<i>dd</i> , $J = 9,2; 6,8$)	4,21 (<i>dd</i> , $J = 9,2; 6,9$)
	3,88-3,90 (<i>m</i>)	3,84 (<i>dd</i> , $J = 9,2; 3,8$)
$\text{OCH}_2\text{O}-3,4;$ $\text{OCH}_2\text{O}-3',4'$	5,97 (<i>s</i>)	5,93 (<i>s</i>)

Fonte: elaborado pela Autora (2023)

4.1.3 Kobusina

O espectro de RMN de ^1H da amostra (APÊNDICE G) apresentou um simpleto em δ 5,95, indicando um substituinte metilenodioxílico, e dois simpletos em δ 3,89 e δ 3,90 referentes a duas metoxilas aromáticas. O fato de cada anel aromático possuir diferentes substituintes faz com que os sinais observados para os hidrogênios H-7,7', H-8,8' e H-9,9' se diferenciem quando comparados a moléculas completamente simétricas, havendo uma pequena duplicação desses sinais (Tabela 4). Pela comparação dos dados obtidos de RMN de ^1H com os descritos na literatura, a substância isolada foi identificada como kobusina, também conhecida como metilpiperitol.

Tabela 4: Dados de RMN de ^1H da substância kobusina (CDCl_3 , $J = \text{Hz}$, 14,1 T)

	Kobusina	Kobusina⁴⁰
Posição	δ_{H}	δ_{H}
2	6,78-6,92 (m)	6,79-6,92 (m)
5	6,78-6,92 (m)	6,79-6,92 (m)
6	6,78-6,92 (m)	6,79-6,92 (m)
7	4,74- 4,76 (m)	4,76 (m)
8	3,06-3,13 (m)	3,10 (m)
9	4,24- 4,28 (m) 3,88-3,90 (m)	4,27 (dd, $J = 9,0; 4,0$) 3,91 (m)
2'	6,78-6,92 (m)	6,79-6,92 (m)
5'	6,78-6,92 (m)	6,79-6,92 (m)
6'	6,78-6,92 (m)	6,79-6,92 (m)
7'	4,74- 4,76 (m)	4,76 (m)
8'	3,06-3,13 (m)	3,10 (m)
9'	4,24- 4,28 (m) 3,88-3,90 (m)	4,27 (dd, $J = 9,0; 4,0$) 3,1 (m)
CH ₃ O-3	3,88 (s)	3,80 (s)
CH ₃ O-4	3,91(s)	3,89 (s)
OCH ₂ O-3',4'	5,95 (s)	5,97 (s)

Fonte: elaborado pela Autora (2023)

4.1.4 Filigenina

O espectro RMN de ^1H da amostra (APÊNDICE H) demonstrou que os hidrogênios carbinólicos benzílicos H-7 e H-7' aparecem como dois dubletos em

δ 4,46 (*d*, *J* = 7,1 Hz) e δ 4,90 (*d*, *J* = 5,6 Hz) respectivamente. Os hidrogênios metínicos H-8 e H-8' se apresentam como dois multipletos nos intervalos δ 2,92-2,95 e δ 3,32-3,39, e os quatro hidrogênios carbinólicos 2H-9 e 2H-9' como um duplo dubleto em δ 4,16 (*d*, *J* = 9,3 e 1,5 Hz) e dois multipletos em δ 3,85-3,89. O padrão dos descolamentos químicos e multiplicidades dos hidrogênios sugeriu a presença de dois anéis aromáticos por meio de um multiplete em δ 6,86-6,96, integrando para seis hidrogênios.

Ademais, o espectro apresentou um simpleto em δ 5,63, referente a uma hidroxila substituída no anel aromático, e três simpletos em δ 3,90, 3,92 e 3,93 referentes a três metoxilas aromáticas (Tabela 5). Pela comparação dos dados obtidos de RMN de ^1H com os descritos na literatura, a substância isolada foi identificada como filigenina (Figura 17).

Tabela 5: Dados de RMN de ^1H da substância filigenina (CDCl_3 , *J* = Hz, 14,1 T)

	Filigenina	Filigenina³⁹
Posição	δ_{H}	δ_{H}
2	6,86-6,96 (<i>m</i>)	6,84-6,91 (<i>m</i>)
5	6,86-6,96 (<i>m</i>)	6,84-6,91 (<i>m</i>)
6	6,86-6,96 (<i>m</i>)	6,84-6,91 (<i>m</i>)
7	4,46 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,1)	4,41 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,2)
8	2,91-2,95 (<i>m</i>)	2,90 (<i>m</i>)
9	4,16 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,0) 3,86-3,89 (<i>m</i>)	4,10 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10,2) 3,81-3,83 (<i>m</i>)
2'	6,86-6,96 (<i>m</i>)	6,84-6,91 (<i>m</i>)
5'	6,86-6,96 (<i>m</i>)	6,84-6,91 (<i>m</i>)
6'	6,86-6,96 (<i>m</i>)	6,84-6,91 (<i>m</i>)
7'	4,90 (<i>d</i> , <i>J</i> = 5,6)	4,85 (<i>d</i> , <i>J</i> = 5,5)
8'	3,33-3,38 (<i>m</i>)	3,20-3,45 (<i>m</i>)
9'	3,86-3,89 (<i>m</i>) 3,33-3,38 (<i>m</i>)	3,81-3,83 (<i>m</i>) 3,20-3,45 (<i>m</i>)
CH₃O-3	3,93 (<i>s</i>)	3,88 (<i>s</i>)
CH₃O-3'	3,92 (<i>s</i>)	3,85 (<i>s</i>)
CH₃O-4'	3,91 (<i>s</i>)	3,86 (<i>s</i>)
HO-4	5,63 (<i>s</i>)	-

Fonte: elaborado pela Autora (2023)

4.1.5 Epieudesmina

O espectro de RMN de ^1H da amostra (APÊNDICE I) exibiu sinais semelhantes aos da filigenina, diferenciando-se apenas pela presença de quatro simpletos em δ 3,87, 3,88, 3,89 e 3,91 referentes a quatro metoxilas aromáticas (Tabela 6). Pela comparação dos dados obtidos de RMN de ^1H com os descritos na literatura, a substância isolada foi identificada como epieudesmina.

Tabela 6: Dados de RMN de ^1H da substância epieudesmina (CDCl_3 , $J = \text{Hz}$, 14,1 T)

	Epieudesmina	Epieudesmina³⁹
Posição	δ_{H}	δ_{H}
2	6,86-6,96 (m)	6,86-6,94 (m)
5	6,86-6,96 (m)	6,86-6,94 (m)
6	6,86-6,96 (m)	6,86-6,94 (m)
7	4,48 (d, $J = 7,1$)	4,45 (d, $J = 7,2$)
8	2,92-2,96 (m)	2,94 (m)
9	4,16 (dd, $J = 9,4$) 3,86-3,89 (m)	4,14 (d, $J = 10,2$) 3,82-3,86 (m)
2'	6,86-6,96 (m)	6,86-6,94 (m)
5'	6,86-6,96 (m)	6,86-6,94 (m)
6'	6,86-6,96 (m)	6,86-6,94 (m)
7'	4,90 (d, $J = 5,7$)	4,88 (d, $J = 5,1$)
8'	3,33-3,39 (m)	3,33 (m)
9'	3,86-3,89 (m) 3,33-3,39 (m)	3,82-3,86 (m) 3,33 (m)
CH ₃ O-3	3,93 (s)	3,91 (s)
CH ₃ O-4	3,92 (s)	3,88 (s)
CH ₃ O-3'	3,91 (s)	3,90 (s)
CH ₃ O-4'	3,90 (s)	3,87 (s)

Fonte: elaborado pela Autora (2023)

4.1.6 Episesamina

No espectro de RMN de ^1H da amostra (APÊNDICE D) foi verificado a presença de um sistema tetraidrofurofurano assimétrico e dois simpletos em δ 5,95 e 5,93 indicando que ambos os anéis aromáticos estão substituídos com grupo metilenodioxílicos (Tabela 7). Pela comparação dos dados obtidos de

RMN de ^1H com os descritos na literatura, a substância isolada foi identificada como episesamina.

Tabela 7: Dados de RMN de ^1H da substância episesamina (CDCl_3 , $J = \text{Hz}$, 14,1 T)

	Episesamina	Episesamina ³⁹
Posição	δ_{H}	δ_{H}
2	6,76-6,87 (m)	6,73-6,84 (m)
5	6,76-6,87 (m)	6,73-6,84 (m)
6	6,76-6,87 (m)	6,73-6,84 (m)
7	4,39 (d, $J = 7,1$)	4,37 (d, $J = 7,3$)
8	2,83-2,86 (m)	2,85 (m)
9	4,09 (dd, $J = 9,5$) 3,80-3,83 (m)	4,08 (d, $J = 8,4$) 3,75-3,81 (m)
2'	6,76-6,87 (m)	6,73-6,84 (m)
5'	6,76-6,87 (m)	6,73-6,84 (m)
6'	6,76-6,87 (m)	6,73-6,84 (m)
7'	4,82 (d, $J = 5,0$)	4,81 (d, $J = 5,2$)
8'	3,27-3,30 (m)	3,27 (m)
9'	3,27-3,30 (m) 3,27-3,30 (m)	3,75-3,81 (m) 3,27 (m)
OCH ₂ O-3,4	5,95 (s)	5,93 (s)
OCH ₂ O-3',4'	3,93 (s)	5,93 (s)

Fonte: elaborado pela Autora (2023)

4.1.7 Fargesina

O espectro de RMN de ^1H da amostra (APÊNDICE J) caracterizou um sistema tetraidrofurfurânico assimétrico e apresentou dois simpletos em δ 3,89 e 3,90, relacionados aos hidrogênios metoxílicos aromáticos, e um simpleto em δ 5,96 referente ao substituinte metileodioxílico aromático (Tabela 8). Pela comparação dos dados obtidos de RMN de ^1H com os descritos na literatura, a substância isolada foi identificada como fargesina.

Tabela 8: Dados de RMN de ^1H da substância fargesina (CDCl_3 , $J = \text{Hz}$, 14,1 T)

	Fargesina	Fargesina³⁹
Posição	δ_{H}	δ_{H}
2	6,79-6,95 (m)	6,77-6,90 (m)
5	6,79-6,95 (m)	6,77-6,90 (m)
6	6,79-6,95 (m)	6,77-6,90 (m)
7	4,45 (d, $J = 7,0$)	4,40 (d, $J = 7,1$)
8	2,87-2,91 (m)	2,85 (m)
9	4,14 (dd, $J = 9,6$) 3,84-3,88 (m)	4,10 (d, $J = 8,4$) 3,82-3,89 (m)
2'	6,79-6,95 (m)	6,77-6,90 (m)
5'	6,79-6,95 (m)	6,77-6,90 (m)
6'	6,79-6,95 (m)	6,77-6,90 (m)
7'	4,89 (d, $J = 5,7$)	4,85 (d, $J = 5,3$)
8'	3,31-3,37 (m)	3,27 (m)
9'	3,84-3,88 (m) 3,31-3,37 (m)	3,75-3,81 (m) 3,27 (m)
OCH ₂ O-3',4'	5,97 (s)	5,93 (s)
CH ₃ O-3	3,90 (s)	3,89 (s)
CH ₃ O-4	3,93 (s)	3,86 (s)

Fonte: elaborado pela Autora (2023)

4.2 Resolução quiral das lignanas furofurânicas

As lignanas furofurânicas, após purificação e caracterização por RMN de ^1H , foram analisadas por CLAE-DAD quiral, com o objetivo de avaliar sua pureza enantiomérica.

Foram testadas as colunas quirais CHIRALPAK[®] IC (Daicel), com seletor quiral tris(3,5-diclorofenilcarbamato) de celulose, e CHIRALCEL[®] OD-RH (Daicel), com seletor quiral tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose, em diversos sistemas de fase móvel. A Tabela 9 apresenta os tempos de retenção observados para as lignanas nas análises empregando as condições cromatográficas otimizadas.

Tabela 9-Dados de tempo de retenção e rotação óptica específica das lignanas furofurânicas isoladas de *Aristolochia*

Lignana	Tempo de Retenção (min)		Rotação Óptica	
	CHIRALPAK® IC	CHIRALCEL® OD-RH	Observada	Literatura
(+)-(7 <i>S</i> ,7' <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-eudesmina	115,2 ^a	*	$[\alpha]_{\text{D}}^{23} +47$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +37,2$ (c 1; CHCl ₃) ³⁸
(-)-(7 <i>R</i> ,7' <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8' <i>S</i>)-epieudesmina	78,56 ^a	*	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -156$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}} -101$ (c 0,15; CHCl ₃) ⁴²
(+)-(7 <i>S</i> ,7' <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-sesamina	15,36 ^b	*	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +35$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}} +46$ (c 1,0; CHCl ₃) ³⁹
(+)-(7 <i>S</i> ,7' <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-episesamina	16,93 ^b	*	$[\alpha]_{\text{D}}^{24} +63$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}} + 101,3$ (c 0,64; CHCl ₃) ³⁹
(-)-(7 <i>R</i> ,7' <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8' <i>S</i>)-filigenina	56,87 ^b	*	$[\alpha]_{\text{D}}^{24} -139$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}}^{20,0} -114$ (c 0,1; CHCl ₃) ⁴¹
(+)-(7 <i>S</i> ,7' <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-kobusina	52,76 ^b	*	$[\alpha]_{\text{D}}^{23} +48$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +51,4$ (c 0,21; CHCl ₃) ²¹
(-)-(7 <i>R</i> ,7' <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8' <i>S</i>)-fargesina	34,66 ^b	15,25 ^c	$[\alpha]_{\text{D}}^{23} -106$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -54,7$ (c 0,3; CHCl ₃) ²⁴
(+)-(7 <i>S</i> ,7' <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-fargesina	56,67 ^b	18,74 ^c	$[\alpha]_{\text{D}}^{24} +101$ (c 0,1; CHCl ₃)	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 112,7$ (c 1,1; CHCl ₃) ³⁸

^a CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), Hexano/Etanol 70:30, fluxo de 1 mL/ min;

^b CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), Hexano/Etanol 80:20, fluxo de 1 mL/ min;

^c CHIRALCEL® OD-RH (Daicel, 4,6 x 150 mm), ACN/H₂O 50:50, fluxo de 1 mL/ min.

*Substâncias não foram testadas nesta coluna.

Todas as lignanas, com exceção da fargesina, apresentaram um único pico nos cromatogramas (APÊNDICE K-S), sugerindo que estavam opticamente puras.

A amostra fargesina exibiu dois picos com tempos de retenção em 15,25 e 18,74 minutos na análise em coluna quirállica CHIRALCEL® OD-RH (APÊNDICE Q), sugerindo tratar-se de uma mistura de enantiômeros. Após separação por CLAE-DAD semi-preparativo (seção 3.5, p.27), os picos foram injetados individualmente em coluna CHIRALPAK® IC. A partir desta análise observou-se que os enantiômeros da fargesina se comportam de maneira distinta em relação aos seletos quirais, refletindo em tempos de retenção diferentes (Tabela 9).

Comparando os tempos de retenção das lignanas analisadas nas mesmas condições experimentais, observa-se tempos de retenção diferentes. As substâncias eudesmina e epieudesmina exibiram altos tempos de retenção, propondo forte interação com o seletor quiral e, portanto, baixa migração relativa. Já as lignanas sesamina e episesamina apresentaram comportamento contrário com baixos tempos de retenção, sugerindo menor interação com o seletor. No entanto, para os diastereoisômeros fargesina e kobusina verificou-se tempos de retenção semelhantes, o que poderia inviabilizar a separação destas substâncias em uma mistura.

Para a determinação da configuração absoluta de cada um dos enantiômeros isolados, foi medida a rotação óptica específica e os valores comparados com aqueles descritos na literatura, priorizando artigos de síntese esteroespecífica (Tabela 9). Com base nos dados obtidos, conclui-se que plantas do gênero *Aristolochia* produziram quatro isômeros diferentes de lignanas furofurânicas: (7*S*,7'*S*,8*R*,8'*R*), (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*), (7*R*,7'*S*,8*S*,8'*S*) e (7*S*,7'*R*,8*R*,8'*R*).

Por fim, após a caracterização de cada um dos picos da fargesina e tendo medido o valor de rotação óptica específica para a mistura $[\alpha]_D^{23} - 4,0$ (*c* 0,1; CHCl₃), foi possível calcular o excesso enantiomérico da fração:

$$ee(\%) = ([\alpha]_D \text{ mistura de enantiômeros} \div [\alpha]_D \text{ enantiômero puro}) \times 100\%$$

$$ee(\%) = ((-4) \div (-106)) \times 100\%$$

$$ee(\%) = 3,77\%$$

Portanto, a fração Fr-Fargesina corresponde a uma mistura enantiomérica com excesso de 3,77% do enantiômero (-)-fargesina.

5 CONCLUSÕES

O estudo de frações enriquecidas de extratos de *Aristolochia* resultou na purificação de sete lignanas furofurânicas: eudesmina, epieudesmina, sesamina, episesamina, kobusina, fargesina e filigenina. Para cada uma delas foi possível determinar condições cromatográficas de resolução quiral que forneceram informações sobre sua pureza enantiomérica. Com exceção da fargesina, que apresentou excesso enantiomérico de 3,77% do enantiômero levógiro, as demais lignanas furofurânicas apresentaram apenas um enantiômero em sua composição.

Ademais, as análises de rotação óptica específica das substâncias permitiram sugerir que as plantas do gênero *Aristolochia* produzem quatro isômeros diferentes de lignanas furofurânicas: (7*S*,7'*S*,8*R*,8'*R*), (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*), (7*R*,7'*S*,8*S*,8'*S*) e (7*S*,7'*R*,8*R*,8'*R*).

REFERÊNCIAS

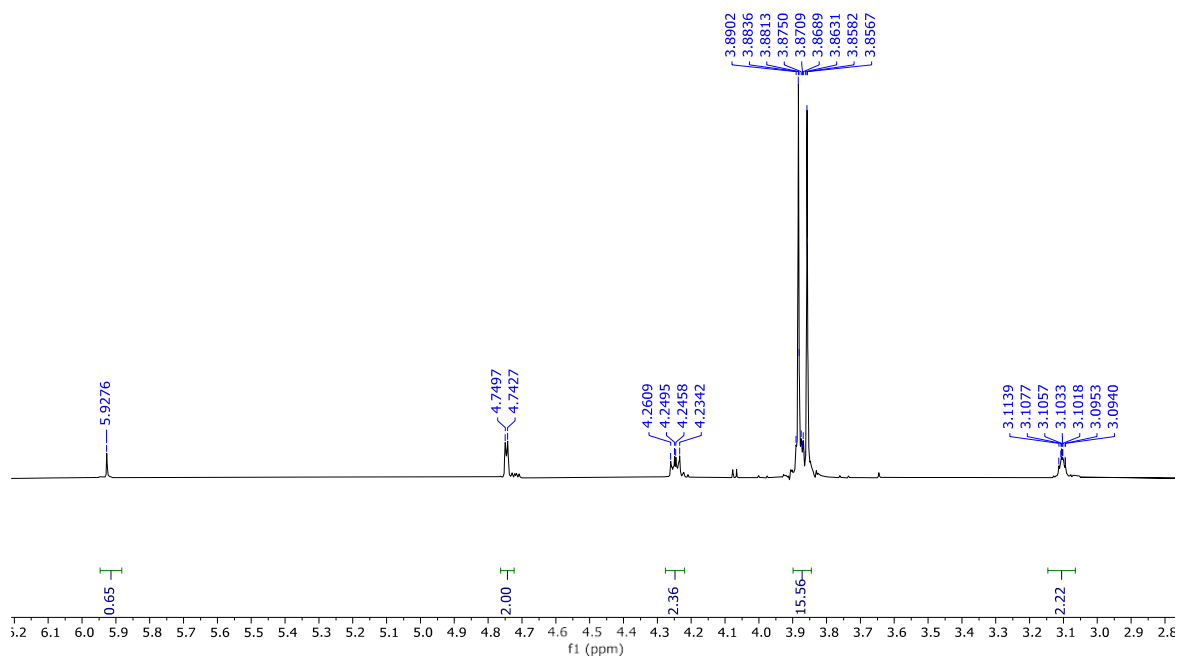
- ¹FREITAS, J.; DOWELD, A. B. *Aristolochia macginitieana* (Aristolochiaceae), a replacement name for *Aristolochia triangularis* MacGinitie non *Aristolochia triangularis* Chamisso. **Phytotaxa**, v. 500, n. 1, p. 59–60-59–60, 2021.
- ²*Aristolochiaceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15749>>. Acesso em: 25 out. 2023.
- ³FREITAS, J.; ALVES-ARAÚJO, A. Flora do Espírito Santo: Aristolochiaceae. **Rodriguésia**, v. 68, p. 1505-1539, 2017.
- ⁴LOPES, L. M. X. *et al.* Phytochemistry of the Aristolochiaceae family. **Research advances in phytochemistry**, v. 2, p. 19-108, 2001.
- ⁵FRANÇA, V. C. *et al.* Phytochemical study of the aerial parts of *Aristolochia birostris* Ducht. (Aristolochiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 326-330, 2005.
- ⁶DEY, A. *et al.* Chemotaxonomy of the ethnic antidote *Aristolochia indica* for aristolochic acid content: Implications of anti-phospholipase activity and genotoxicity study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 266, p. 113416, 2021.
- ⁷MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, p. 21-35, 2001.
- ⁸ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, v. 52, 2019.
- ⁹WINK, M.; SCHNEIDER, D. Fate of plant-derived secondary metabolites in three moth species (*Syntomis mogadorensis*, *Syntomeida epilais*, and *Cretonotos transiens*). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 160, p. 389-400, 1990.
- ¹⁰DE REZENDE, F. M. *et al.* Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, v. 93, 2016.
- ¹¹PACHECO, L. B; ALVES, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.
- ¹²ZÁLEŠÁK, F.; BON, D. JY. D.; POSPÍŠIL, J. Lignans and Neolignans: Plant secondary metabolites as a reservoir of biologically active substances. **Pharmacological Research**, v. 146, p. 104284, 2019.
- ¹³MOSS, G. P. Nomenclature of lignans and neolignans (IUPAC Recommendations 2000). **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1493-1523, 2000.
- ¹⁴TEPONNO, 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.

- ¹⁵XU, WH. *et al.* Naturally occurring furofuran lignans: Structural diversity and biological activities. **Natural Product Research**, v. 33, n. 9, p. 1357-1373, 2019.
- ¹⁶KATO, M. J. **Policetídeos e lignóides do tegumento de virola elongata warb. (Myristicaceae)**. 1984. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- ¹⁷NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. 2, 3-Dihydrobenzofuran neolignans from *Aristolochia pubescens*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 2, p. 345-350, 1999.
- ¹⁸NAVICKIENE, H.; LOPES, L. M. X. Alkamides and phenethyl derivatives from *Aristolochia gehrtii*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 467-472, 2001.
- ¹⁹CUNHA, C. L. *et al.* Warminins A, B and C, Three New Furofuran Lignans from *Aristolochia warmingii* Mast. (Aristolochiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, p. 1071-1077, 2023.
- ²⁰LOPES, L. M. X. *et al.* ent-Cauranos e lignanas de *Aristolochia elegans*. **Química Nova**, v. 13, p. 250-251, 1990.
- ²¹HOLZBACH, J. C.; LOPES, L. M. X. Aristolactams and alkamides of *Aristolochia gigantea*. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9462-9472, 2010.
- ²²LOPES, L. M. X.; BOLZANI, V. da S. Lignans and diterpenes of three *Aristolochia* species. **Phytochemistry**, v. 27, n. 7, p. 2265-2268, 1988.
- ²³LOPES, L. M. X.; BOLZANI, V. da S.; TREVISAN, L. M. V. Lignans from Brazilian Aristolochiaceae. **Rev. Latinoam. Quim**, v. 19, p. 113-117, 1988.
- ²⁴MESSIANO, G. B. *et al.* Evaluation of insecticidal activity of diterpenes and lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatilis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2655-2659, 2008.
- ²⁵WARD, K. D.; BRAVENEC, A. D.; WARD, T. J. Chiral separations by high-performance liquid chromatography. **Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation**, p. 1-28, 2006.
- ²⁶ROCCO, A.; ATURKI, Z.; FANALI, S. Chiral separations in food analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 52, p. 206-225, 2013.
- ²⁷BONATO, P. S.; PAIAS, F. O. Enantioselective analysis of omeprazole in pharmaceutical formulations by chiral high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 318-323, 2004.
- ²⁸BERTHOD, A. Chiral recognition mechanisms in enantiomers separations: a general view. **Chiral recognition in separation methods: Mechanisms and applications**, p. 1-32, 2010.

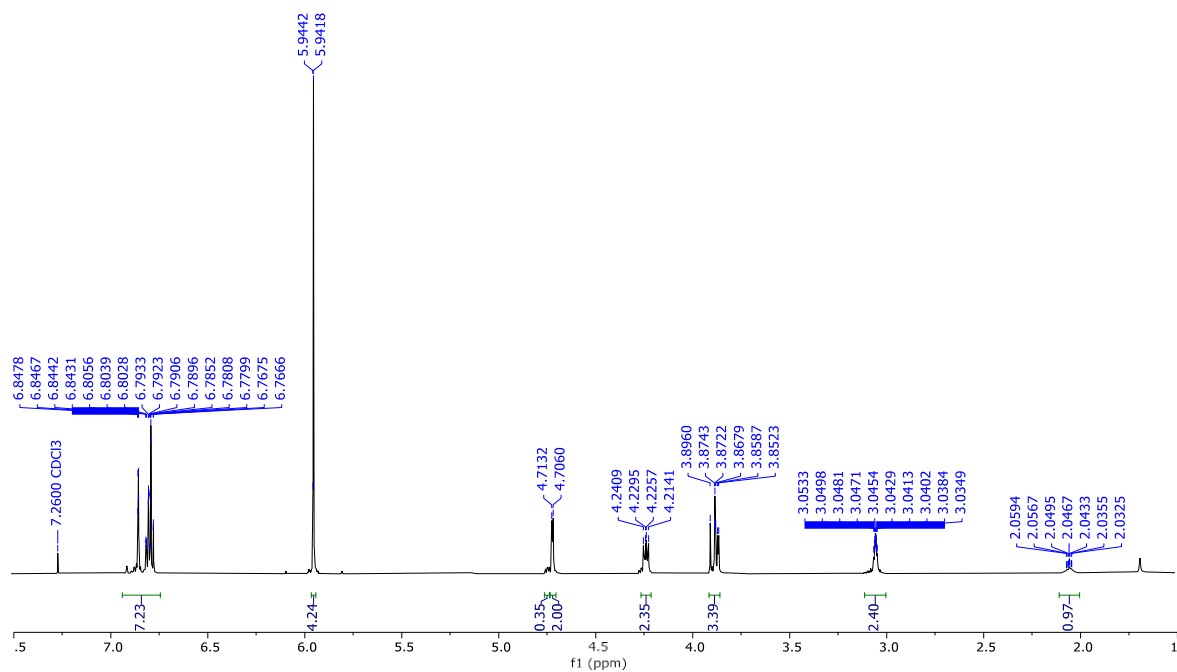
- ²⁹PRYDE, A. Chiral liquid chromatography: past and present. In: **Chiral liquid chromatography**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1989. p. 23-35.
- ³⁰DAVANKOV, V. A. The nature of chiral recognition: Is it a three-point interaction? **Chirality**, v. 9, n. 2, p. 99-102, 1997.
- ³¹OKAMOTO, Y.; KAWASHIMA, M.; HATADA, K. Useful chiral packing materials for high-performance liquid chromatographic resolution of enantiomers: phenylcarbamates of polysaccharides coated on silica gel. **Journal of the American Chemical Society**, v. 106, n. 18, p. 5357-5359, 1984.
- ³²FRANCOTTE, E. Contribution of preparative chromatographic resolution to the investigation of chiral phenomena. **Journal of Chromatography A**, v. 666, n. 1-2, p. 565-601, 1994.
- ³³TIRITAN, M. E. *et al.* Preparative enantioseparation on polysaccharide phase using microporous silica as a support. **Chirality**, v. 10, n. 7, p. 573-577, 1998.
- ³⁴WARD, T. J.; WARD, K. D. Chiral separations: fundamental review 2010. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 12, p. 4712-4722, 2010.
- ³⁵PINHEIRO, S.; FERREIRA, V. F. Abordagens em síntese assimétrica. **Química Nova**, v. 21, p. 312-318, 1998.
- ³⁶FINEFIELD, J. M. *et al.* Enantiomeric natural products: occurrence and biogenesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 20, p. 4802-4836, 2012.
- ³⁷BATISTA, A. N. L. *et al.* Absolute configuration reassignment of natural products: an overview of the last decade. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 1499-1518, 2021.
- ³⁸SEO, Y. Antioxidant activity of the chemical constituents from the flower buds of *Magnolia denudata*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 15, p. 400-406, 2010.
- ³⁹YU, HJ.; CHEN, CC.; SHIEH, BJ. The constituents from the leaves of *Magnolia coco*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 45, n. 6, p. 773-778, 1998.
- ⁴⁰CHANG, SW. *et al.* Phytochemical constituents of *Geranium eriostemon*. **Natural Product Sciences**, v. 15, n. 3, p. 151-155, 2009.
- ⁴²NAN-JUN, S.; CHING-JER, C.; CASSADY, J. M. A cytotoxic tetralone derivative from *Pararistolochia flos-avis*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 11, p. 3051-3053, 1987.
- ⁴³GIBBONS, S. *et al.* The secondary metabolites of aff. *Samadera* SAC-2825: An Australian Simaroubaceae with unusual chemistry. **Phytochemistry**, v. 44, n. 6, p. 1109-1114, 1997.

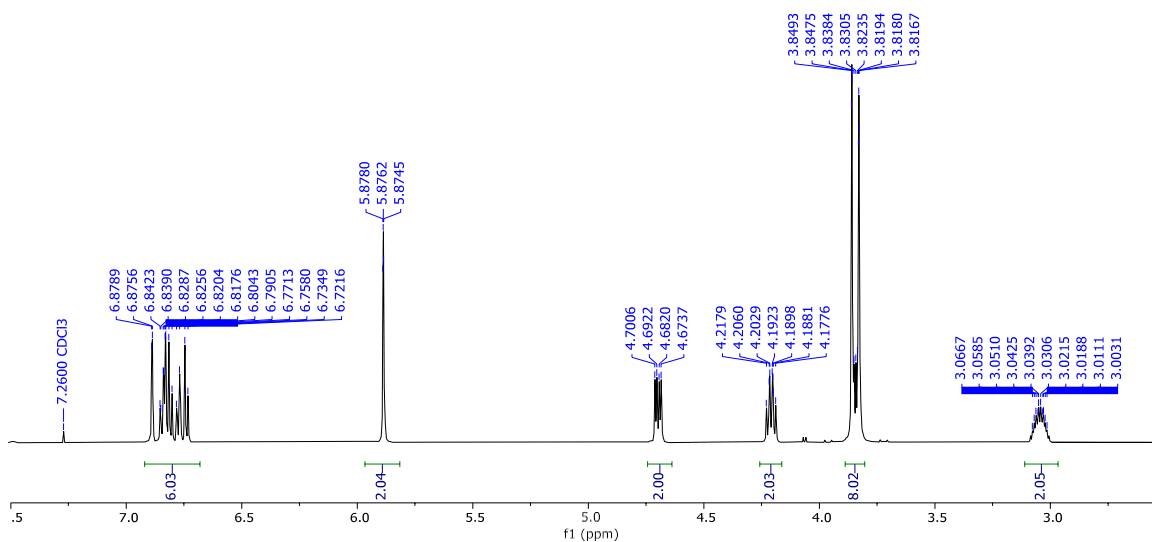
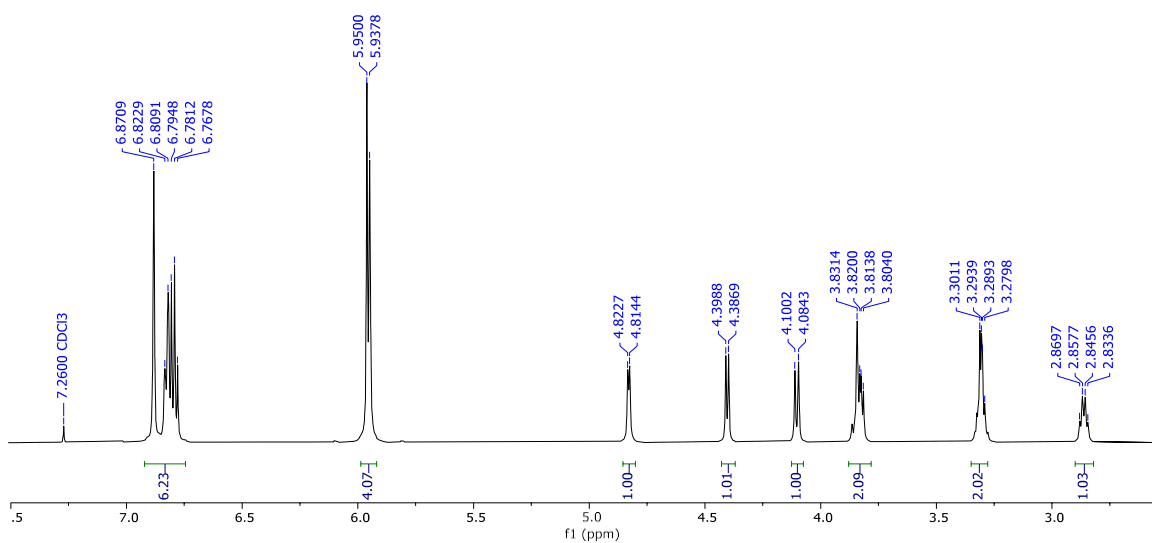
APÊNDICES

APÊNDICE A – Espectro de RMN de ^1H da subfração 8 (Fr-LF11-F8) (CDCl_3 , 14,1T)

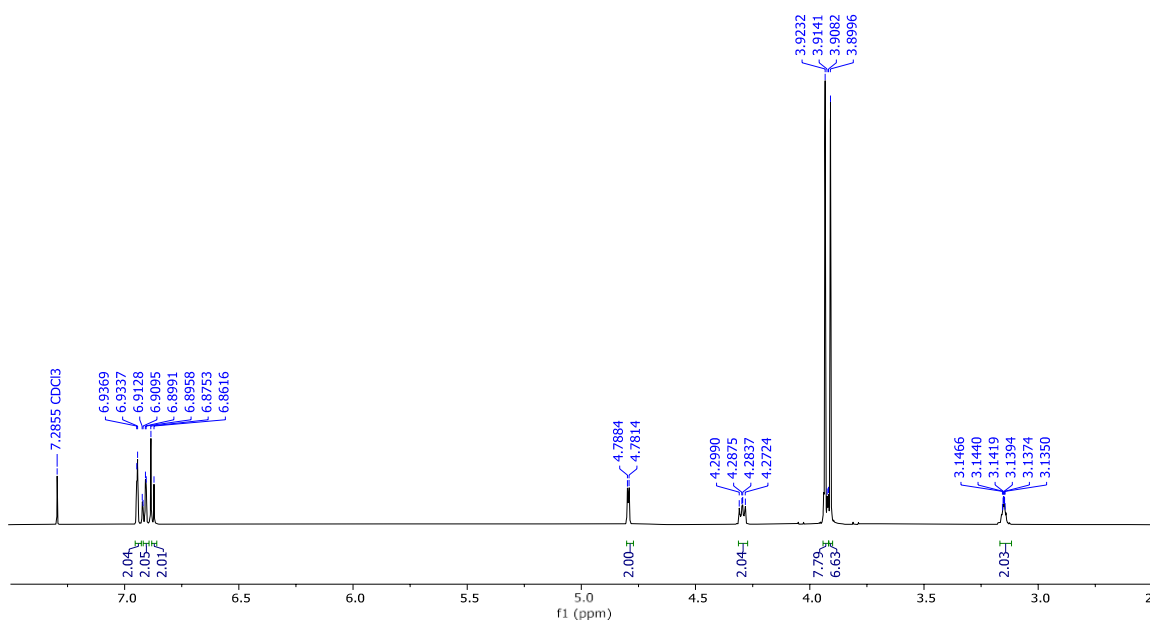


APÊNDICE B- Espectro RMN de ^1H da subfração 7 (Fr-LF16-F7) (CDCl_3 , 14,1T)

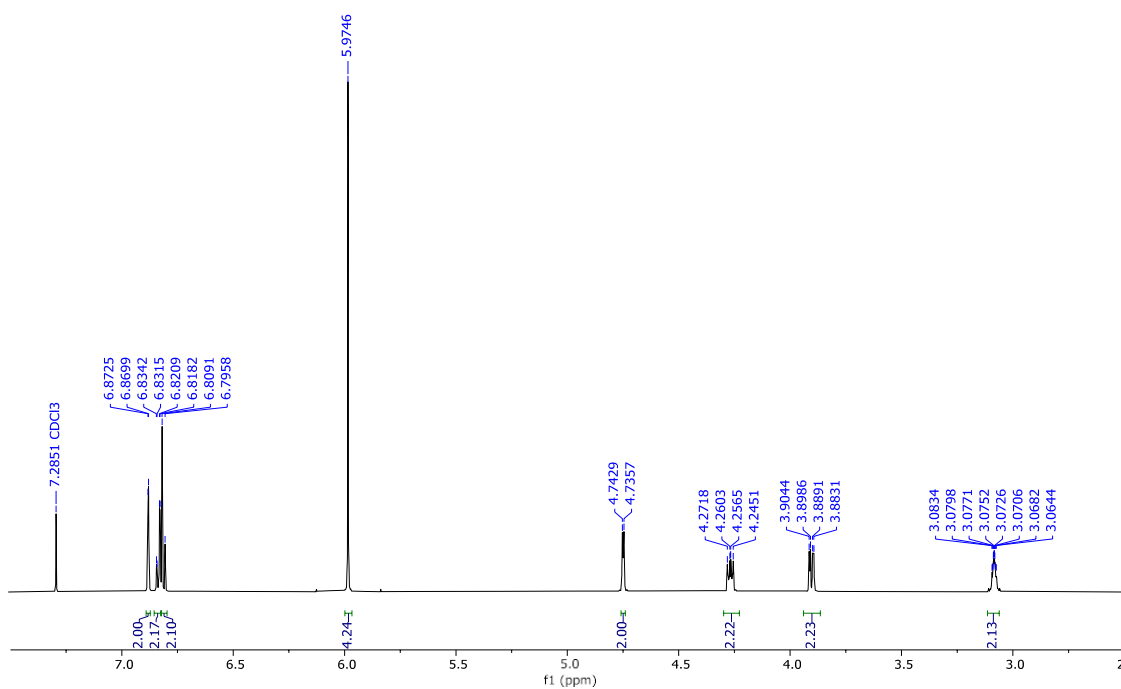


APÊNDICE C- Espectro RMN de ^1H da subfração 6 (Fr-LF26-F6) (CDCl_3 , 14,1T)**APÊNDICE D- Espectro RMN de ^1H da fração LF14 (episesamina) (CDCl_3 , 14,1T)**

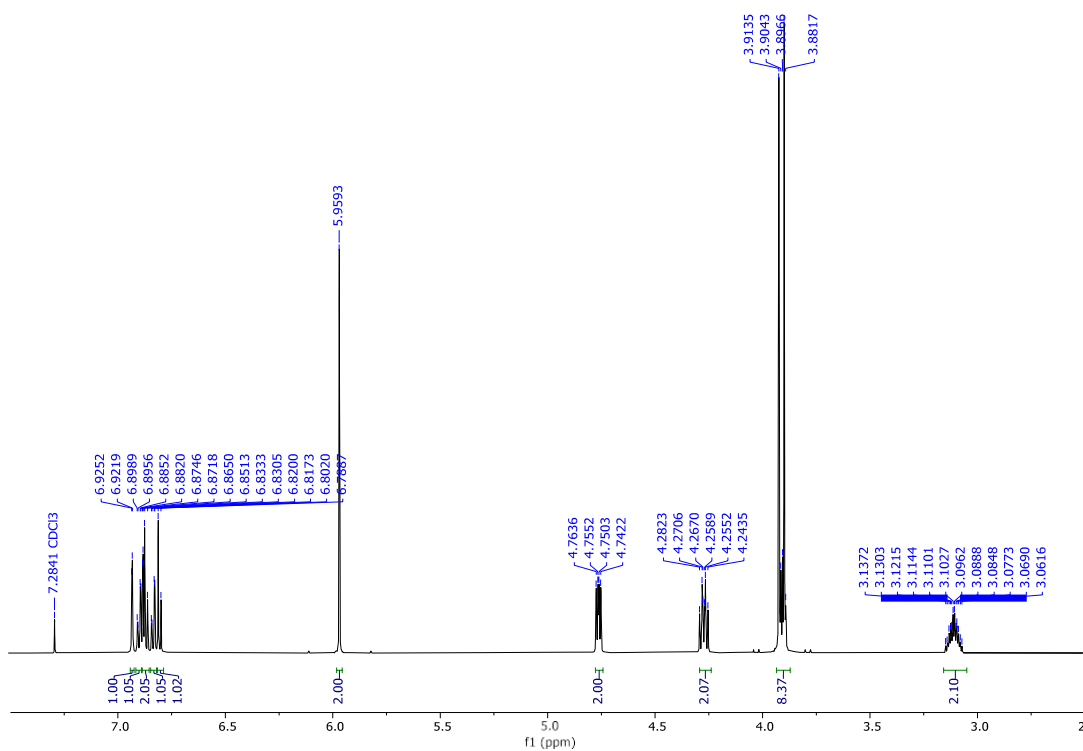
APÊNDICE E- Espectro RMN de ^1H da substância eudesmina purificada (CDCl_3 , 14,1T)



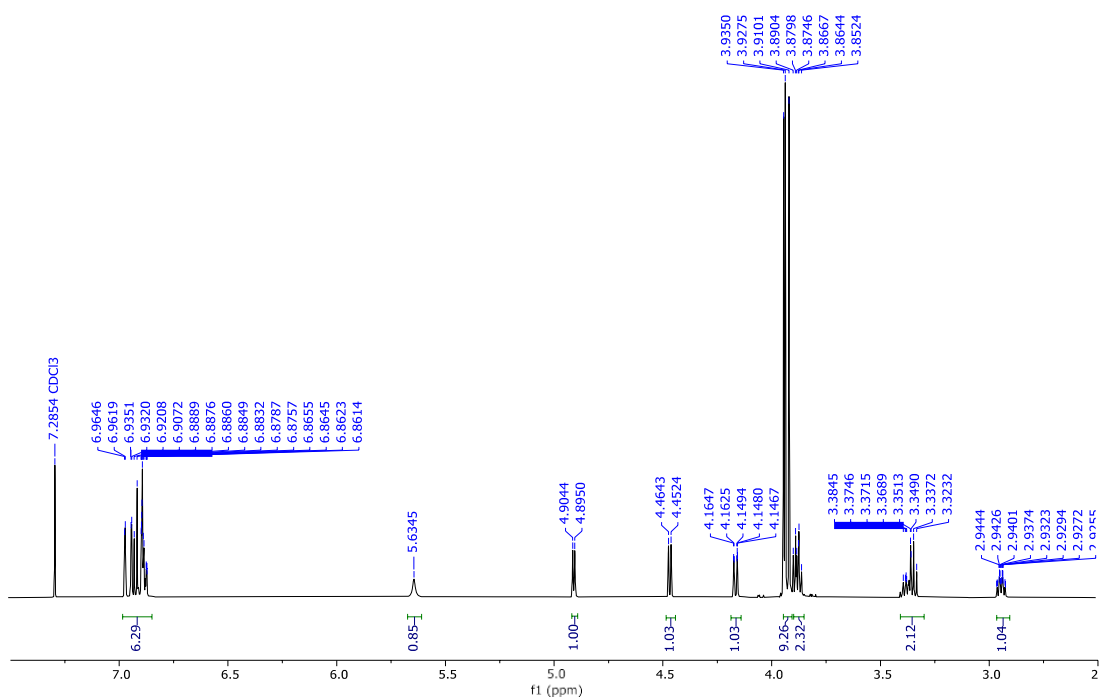
APÊNDICE F- Espectro RMN de ^1H da substância sesamina purificada (CDCl_3 , 14,1T)



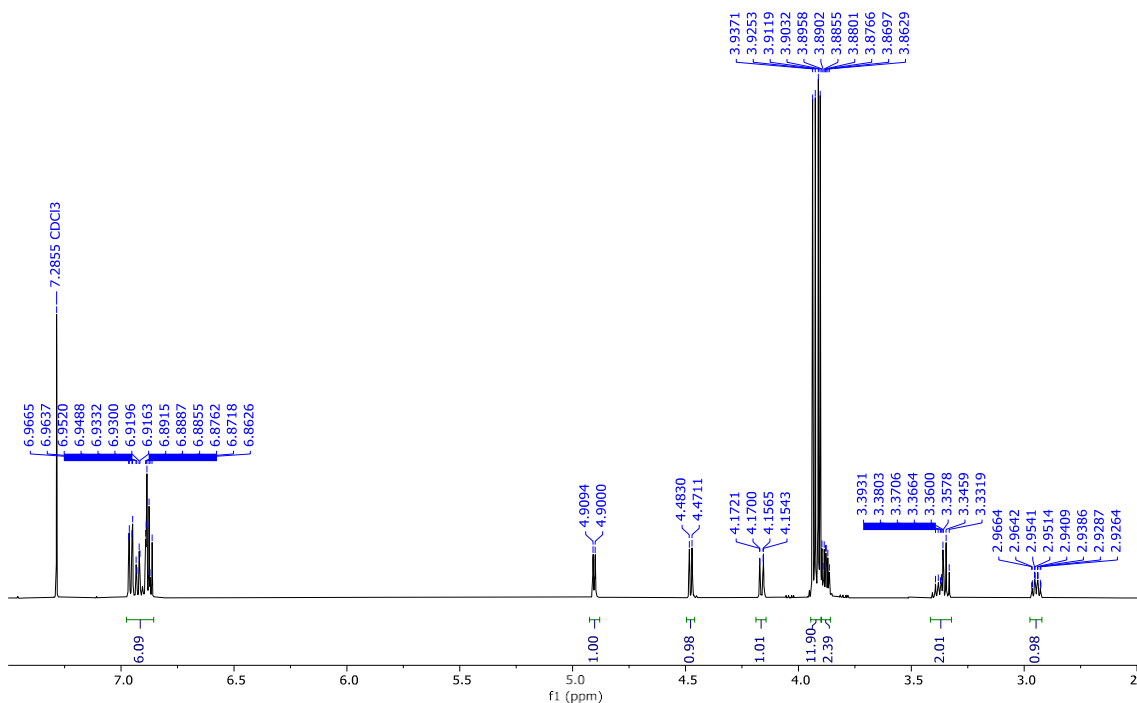
APÊNDICE G- Espectro RMN de ^1H da substância kobusina purificada (CDCl_3 , 14,1T)



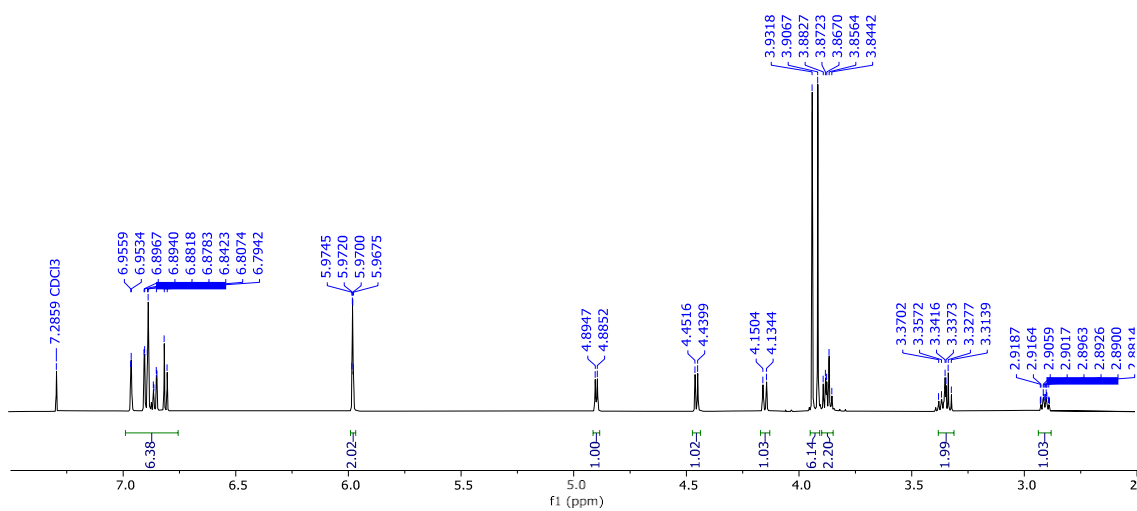
APÊNDICE H- Espectro RMN de ^1H da substância filigenina purificada (CDCl_3 , 14,1T)



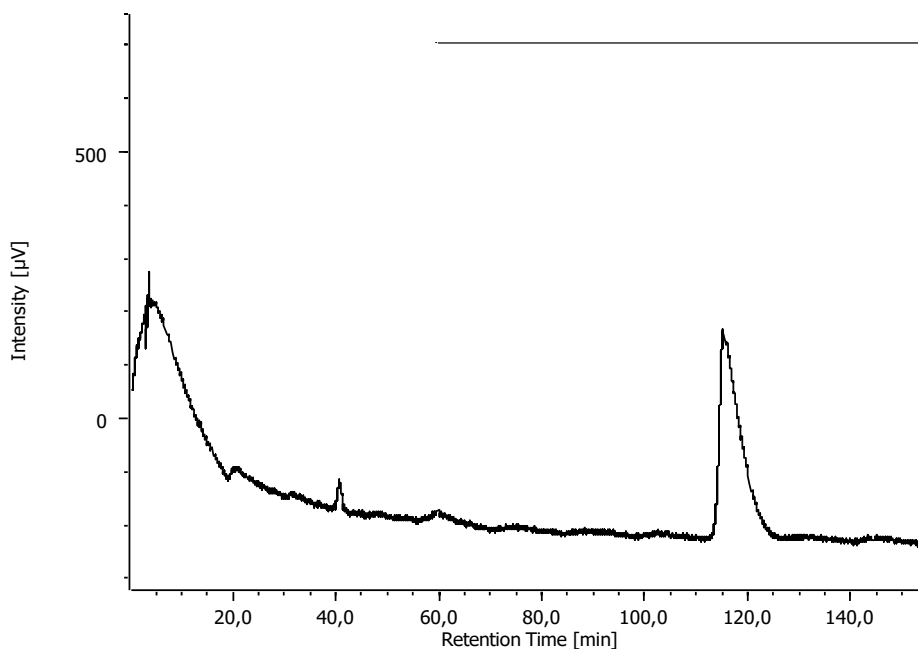
APÊNDICE I- Espectro RMN de ^1H da substância epiudesmina purificada (CDCl_3 , 14,1T)



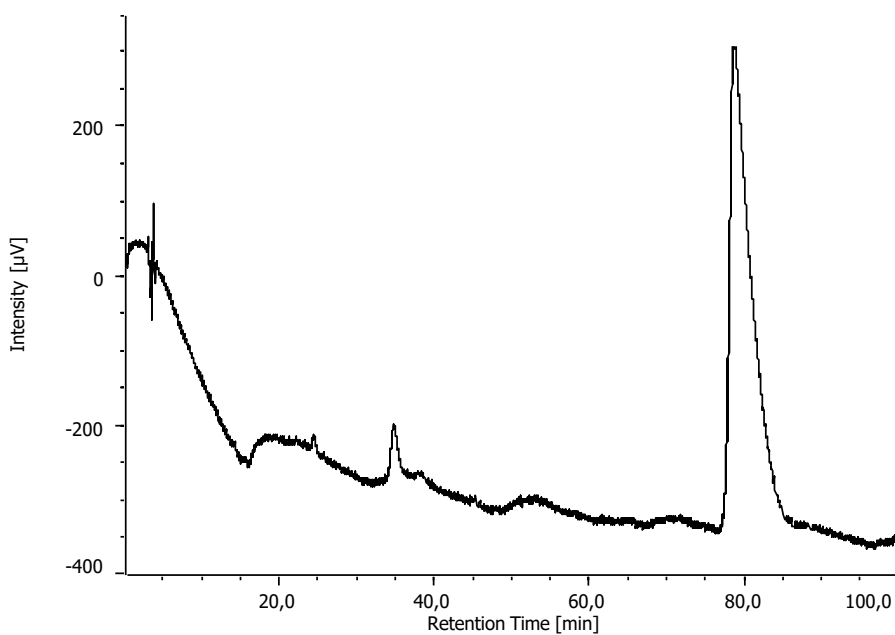
APÊNDICE J- Espectro RMN de ^1H da substância fargesina purificada (CDCl_3 , 14,1T)



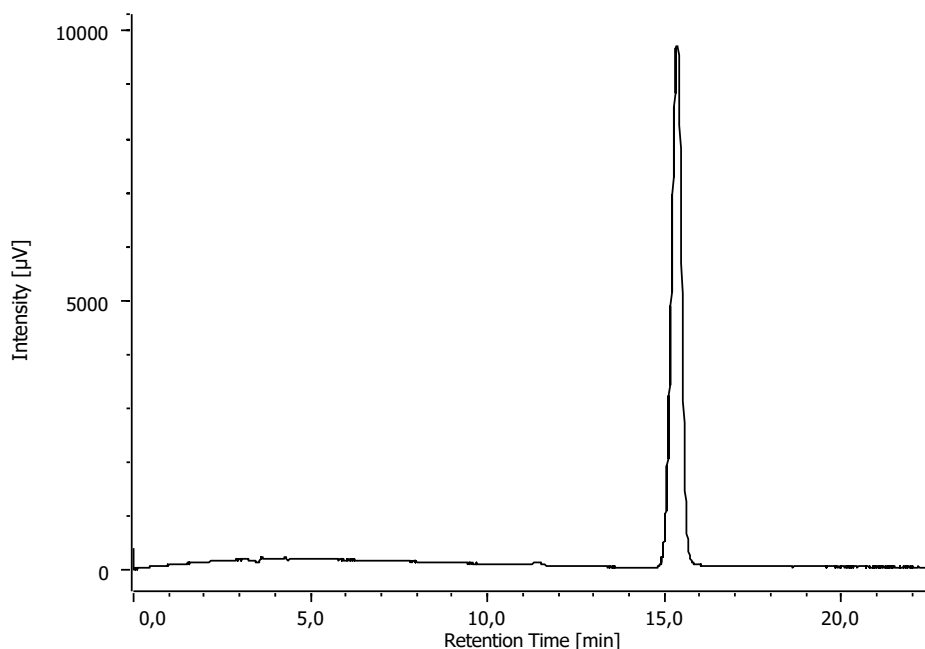
APÊNDICE K- Cromatograma de resolução quiral da eudesmina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM- 70% Hexano: 30% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



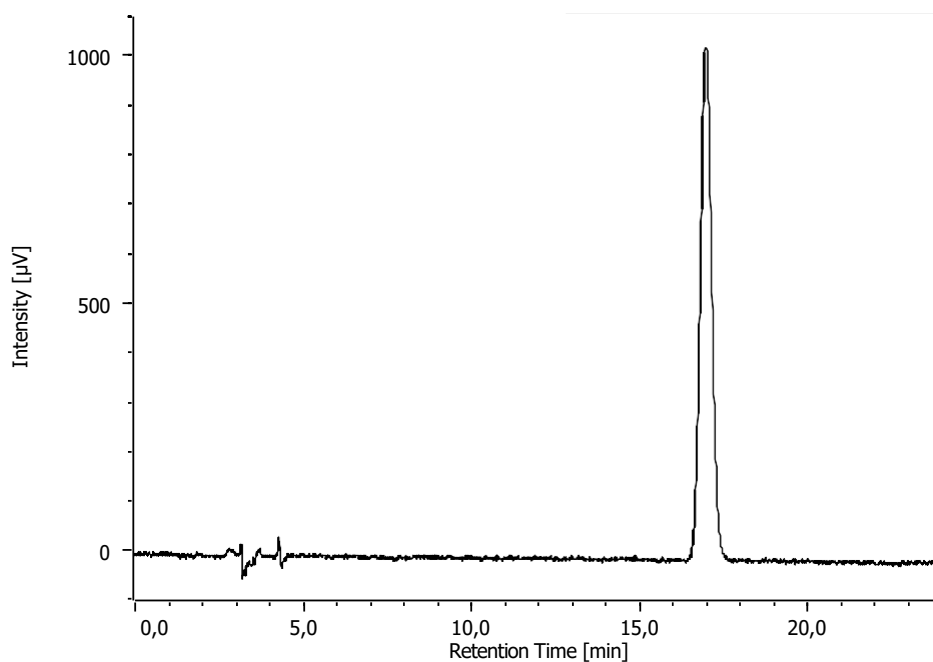
APÊNDICE L- Cromatograma de resolução quiral da epieudesmina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM- 70% Hexano: 30% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



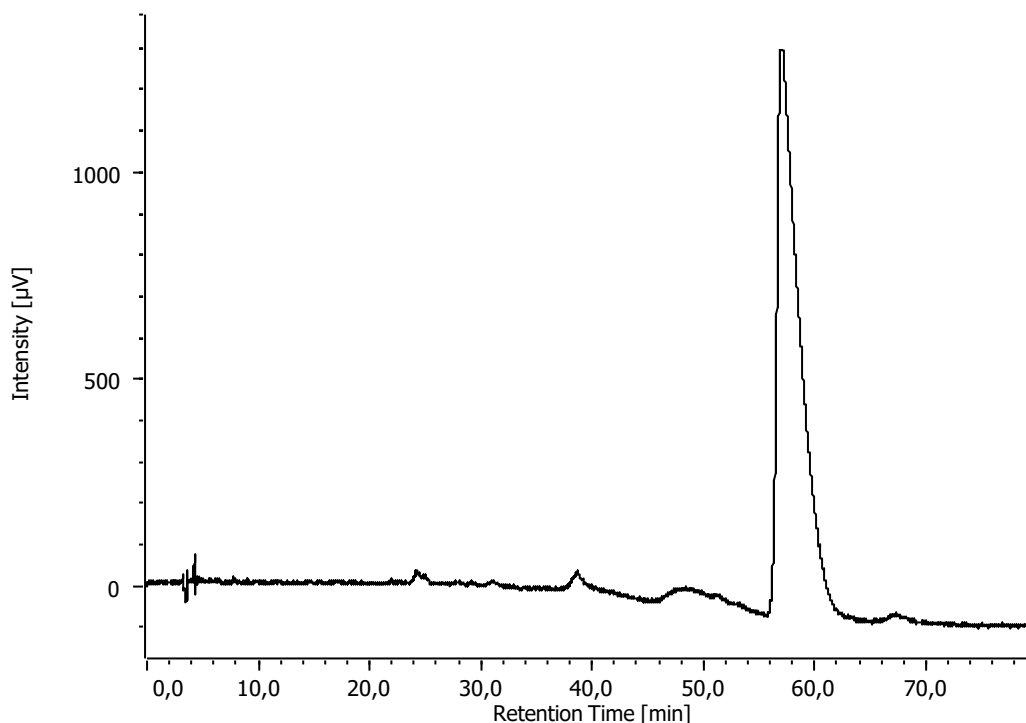
APÊNDICE M- Cromatograma de resolução quiral da sesamina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM- 80% Hexano: 20% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



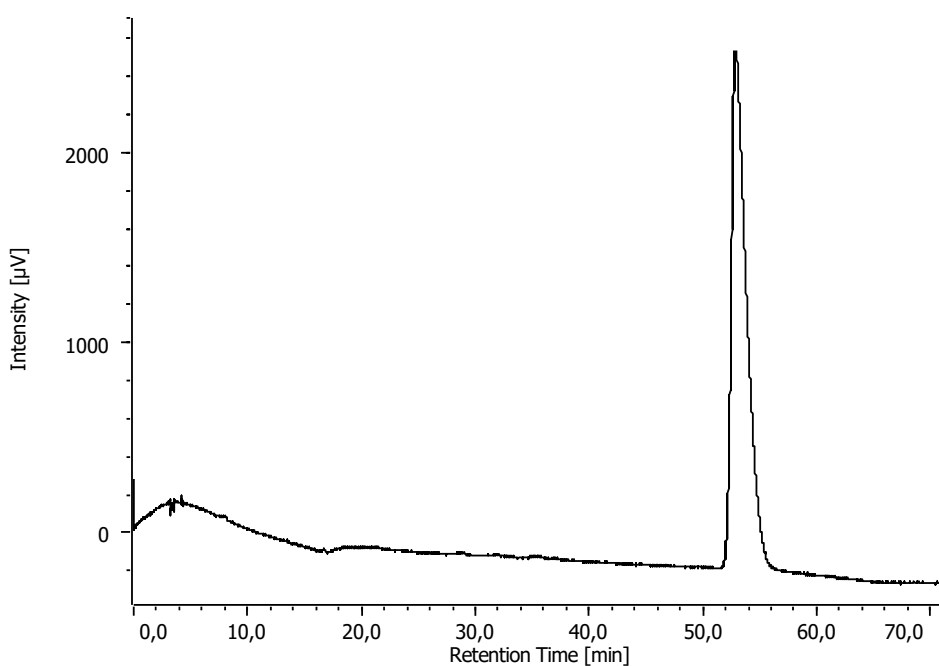
APÊNDICE N- Cromatograma de resolução quiral da episesamina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM- 80% Hexano: 20% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



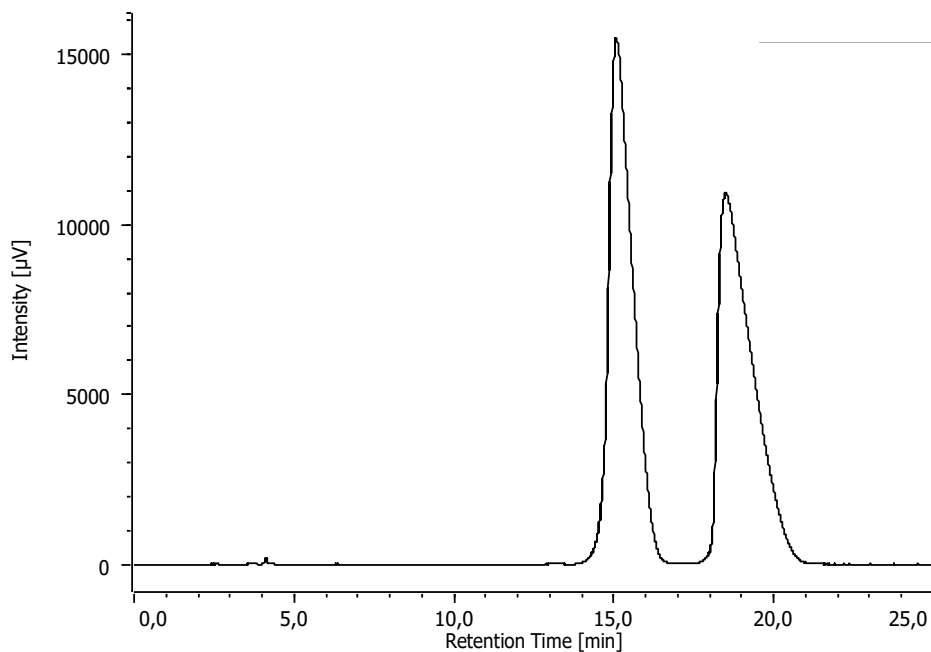
APÊNDICE O- Cromatograma de resolução quiral da filigenina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM-80% Hexano: 20% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



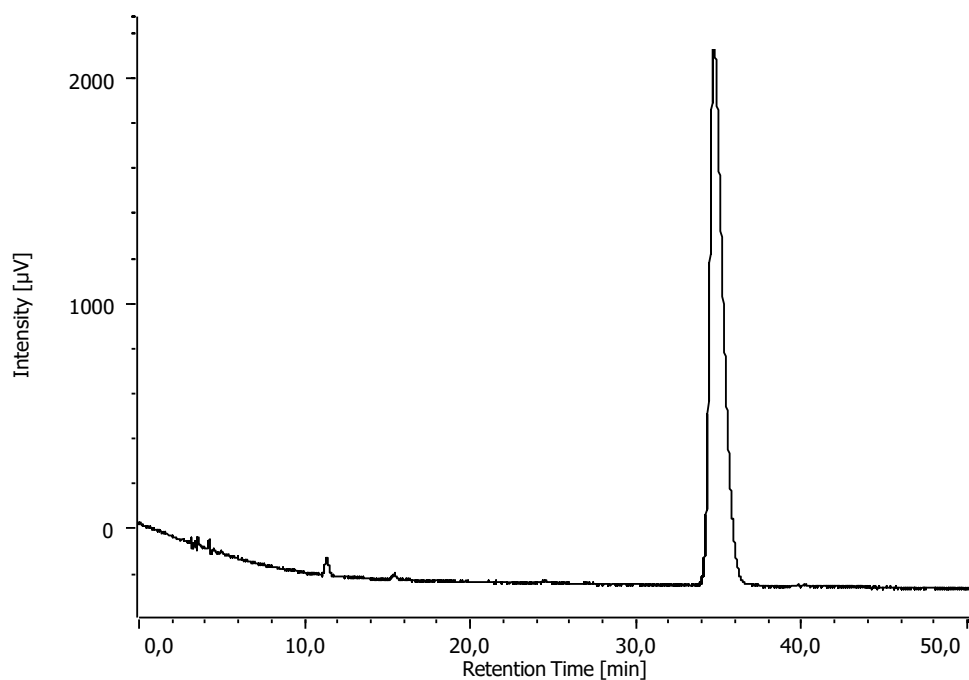
APÊNDICE P- Cromatograma de resolução quiral da kobusina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM- 80% Hexano: 20% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



APÊNDICE Q- Cromatograma de resolução quiral da fargesina. Condições: coluna quiral CHIRALCEL® OD-RH (Daicel, 150 x 4,6 mm), FM- ACN:H₂O (1:1), vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



APÊNDICE R- Cromatograma de resolução quiral da (–)-(7*R*,7′*S*,8*S*,8′*S*)-fargesina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM- 80% Hexano: 20% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.



APÊNDICE S- Cromatograma de resolução quiral da (+)-(7*S*,7'*R*,8*R*,8'*R*)-fargesina. Condições: coluna quiral CHIRALPAK® IC (Daicel, 4,6 × 250 mm), FM- 80% Hexano: 20% Etanol, vazão 1,0 mL/min em 280 nm.