



**UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**NELSON BARROS COLAUTO**

**VOLÁTEIS DE FLORES ROXAS E BRANCAS DE *Brunfelsia uniflora* POR  
HEADSPACE/CG-EM**

**UMUARAMA – PR**  
**2021**

**NELSON BARROS COLAUTO**

**VOLÁTEIS DE FLORES ROXAS E BRANCAS DE *Brunfelsia uniflora* POR  
HEADSPACE/CG-EM**

Trabalho de Conclusão do Curso  
apresentado à Banca Examinadora do  
Curso de Graduação em Ciências  
Biológicas – Universidade Paranaense –  
Campus I de Umuarama, como requisito  
parcial para a obtenção do título de  
Biólogo, sob orientação da Profa. Dra.  
Zilda Cristiani Gazim.

**UMUARAMA  
2021**

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus: Fonte de luz inspiradora da inteligência dos homens, que nos proporcionou a graça de participar de mais esta luta em prol do conhecimento e por estar ao nosso lado permitindo todas as alegrias de nossas vidas. Com ELE aprendemos a superar os muitos obstáculos, caminhando sempre.*

*À família: pai, irmã, esposa e filhos a quem tanto amamos e admiramos, pelo imenso amor e apoio incondicional, por acreditarem em nós e incentivarem os nossos sonhos na árdua e fascinante busca pelo conhecimento, dentro das leis de Deus, buscando sempre a verdade, a fé inabalável e a justiça.*

*Aos nossos eternos amigos: agradecemos por terem estado ao nosso lado, escrevendo a história de nossas vidas. Peço a Deus que se possível não coloque grandes distâncias entre nós, e que sejamos profissionais realizados.*

*À orientadora Profa. Dra. Zilda Cristiani Gazim: agradecemos imensamente pelo apoio, paciência, incentivo, companheirismo, profissionalismo e mais do que tudo, pela amizade, com a qual aprendemos que a glória da amizade, não é o sorriso carinhoso, nem mesmo a companhia, mas sim, a inspiração que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você. Nossa eterna gratidão, a quem sempre fará parte das nossas vidas.*

## **“A PAIXÃO NOS MEDIOCRES” (trechos)**

*“A inveja é uma adoração que as sombras sentem pelos homens, que a mediocridade sente pelo mérito. É o rubor da face sonoramente esbofeteada pela gloria alheia. É a grilheta que os fracassados arrastam. É o áloc que os impotentes mastigam. É um humor veneno que se expelle das feridas abertas pelo desengano da própria insignificância.”*

*“Por suas forças caudinas passam, cedo ou tarde, os que vivem como escravos da vaidade; desfilam, lívidos de angústia, trovos envergonhados da sua própria tristeza, sem suspeitarem que o seu ladrar envolve uma consagração inequívoca do mérito alheio. A inextinguível hostilidade dos néscios sempre foi o pedestal de um monumento.”*

*“É a mais ignóbil das torpes cicatrizes que afetam os carácteres vulgares. Aquele que inveja, rebaixa-se, sem o saber; confessa-se subalterno; esta paixão é o estigma psicológico de uma humilhante inferioridade, sentida, reconhecida.”*

*“Não basta ser inferior para invejar, pois todo homem o é de alguém, num sentido ou outro; é necessário sofrer em consequência do bem alheio, da felicidade alheia, de qualquer enaltecimento alheio. Nesse sofrimento está o núcleo moral da inveja; morde o coração, como um ácido; carcome-o, como polilha; corrói, como a ferrugem, ao metal.”*

*“Sempre houve medíocres. Eles são perenes. O que varia é o seu prestígio e a sua influência. Nas épocas de exaltação renovadora, eles se mostram humildes, são tolerados; ninguém os nota, não ousam meter-se em coisa alguma. Quando se enfraquecem os ideais e se substitui a qualidade pela quantidade, começa-se a contar com eles. Apercebem então, o seu numero, reúnem-se em grupos, arrebanham-se em partidos. A sua influência cresce à medida que o clima se tempera; e o sábio é igualado ao analfabeto, o rebelde ao lacaio, o poeta ao prestamista.”*

*“A mediocridade se condensa, converte-se em sistema, torna-se incontrastável. Quando o ignorante se crê igual ao estudioso, o malandro ao apóstolo, o bufão ao eloquente, o perverso ao digno, a escala de mérito desaparece numa vergonhosa nivelação de vilania. A mediocridade é isso: os que nada sabem, julgam dizer o que pensam, embora cada um só consiga repetir dogmas ou auspiciar voracidades.”*

*“Os santos da moral idealista não fazem milagres: realizam obras magnas, concebem beleza supremas, investigam verdades profundas. Enquanto existirem corações que animem o anseio de perfeição, serão comovidos por tudo o que revela fé em um ideal: pelo canto dos poetas, pelo gesto dos heróis, pela virtude dos santos, pela doutrina dos sábios, pela filosofia dos pensadores.”.*

*José Ingenieros  
O Homem Medíocre (1913) - trechos*

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| TÍTULO, RESUMO E ABSTRACT .....   | 06 |
| TÍTULO, GRAPHICAL ABSTRACT, RESUMO.....                                     | 07 |
| ABSTRACT.....   | 08 |
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 09 |
| 2. RESULTADOS.....  | 10 |
| 3. DISCUSSÃO.....   | 11 |
| 4. SEÇÃO EXPERIMENTAL .....   | 15 |
| 4.1. Material biológico.....  | 15 |
| 4.2. Extração e identificação química de moléculas voláteis das flores..... | 16 |
| 5. CONCLUSÃO.....   | 17 |
| AGRADECIMENTOS.....   | 17 |
| DECLARAÇÃO DE DIVULGAÇÃO.....   | 18 |
| REFERÊNCIAS.....  | 18 |
| TABELAS E FIGURAS.....  | 23 |
| ANEXOS.....   | 25 |

**Título do artigo: Voláteis de flores roxas e brancas de *Brunfelsia uniflora* por headspace/CG-EM**

**Autor:** Nelson Barros Colauto

**Filiação:** Universidade Paranaense

## RESUMO

A flor de *Brunfelsia uniflora* tem poucos estudos e nenhuma caracterização química de voláteis pela extração direta via *headspace* e análise por cromatografia à gás acoplada a espectrometria de massas (HS/CG-EM). O objetivo deste estudo foi comparar a composição química de voláteis de flores roxas e brancas de *B. uniflora* por HS/CG-EM. Os compostos voláteis das flores incubadas em frascos de *headspace* foram analisados por CG-EM. Sesquiterpenos oxigenados foram a classe majoritária de voláteis. Os principais compostos voláteis para flor roxa foram *trans*-nerolidol (16,2%), *trans*-geranylgeraniol (6,9%), *cis*-linalool oxide (4,9%), *cis-cis*-geranyl linalool (4,4%) e *trans*-linalool oxide (4,2%), e para flor branca foram *trans*-nerolidol (26,1%), *trans*- $\beta$ -ocimene (9,5%), *trans*-geranyl linalool (5,8%) e isovaleraldehyde (4,4%). Na flor roxa há mais voláteis de atração de polinizadores e na flor branca mais voláteis indutores de ataque de herbívoros.

**Palavras chave:** Manacá, Voláteis, *Headspace*, Flor, Composição química.

## ABSTRACT

The flower of *Brunfelsia uniflora* has few studies and no chemical characterization of volatiles by direct extraction via headspace and analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry (HS/GC-MS). The objective of this study was to compare the chemical composition of volatiles from purple and white flowers of *B. uniflora* by HS/GC-MS. The volatile compounds from flowers incubated in headspace vials were analyzed by GC-MS. Oxygenated sesquiterpenes were the majority class of volatiles. The main volatile compounds for purple flower were *trans*-nerolidol (16.2%), *trans*-geranylgeraniol (6.9%), *cis*-linalool oxide (4.9%), *cis-cis*-geranyl linalool (4.4%) and *trans*-linalool oxide (4.2%), and for white flower were *trans*-nerolidol (26.1%), *trans*- $\beta$ -ocimene (9.5%), *trans*-geranyl linalool (5.8%) and isovaleraldehyde (4.4%). In the purple flower there are more pollinator attraction volatiles and in the white flower more herbivore attack-inducing volatiles.

**Key words:** Manacá, Volatiles, Headspace, Flower, Chemical composition.

Umuarama, 28 de julho de 2021.

## Voláteis de flores roxas e brancas de *Brunfelsia uniflora* por *headspace*/CG-EM

Nelson Barros Colauto

Universidade Paranaense

### Graphical abstract



### Volatiles from purple and white flowers of *Brunfelsia uniflora* by *headspace*/GC-MS

#### Volatile compound (%)

|      |                          |      |
|------|--------------------------|------|
| 3.0  | Isovaleraldehyde         | 4.4  |
| —    | Delta-3-carene           | 1.8  |
| 3.5  | cis-β-Ocimene            | —    |
| —    | trans-β-Ocimene          | 9.5  |
| 4.9  | cis-Linalool oxide       | 2.6  |
| 4.2  | trans-Linalool oxide     | 1.5  |
| 2.4  | Linalool                 | 2.0  |
| —    | trans-β-Farnesene        | 2.1  |
| 3.1  | trans-γ-Bisabolene       | 2.8  |
| 16.2 | trans-Nerolidol          | 26.1 |
| —    | cis-α-Santalol           | 1.1  |
| 4.4  | cis-cis-Geranyl linalool | 2.8  |
| 6.9  | trans-Geranylgeraniol    | 5.8  |

Flower senescence →



### RESUMO

A flor de *Brunfelsia uniflora* tem poucos estudos e nenhuma caracterização química de voláteis pela extração direta via *headspace* e análise por cromatografia à gás acoplada a espectrometria de massas (HS/CG-EM). O objetivo deste estudo foi comparar a composição química de voláteis de flores roxas e brancas de *B. uniflora* por HS/CG-EM. Os compostos voláteis das flores incubadas em frascos de *headspace* foram analisados por CG-EM. Sesquiterpenos oxigenados foram a classe majoritária de voláteis. Os principais compostos voláteis para flor roxa foram *trans*-nerolidol (16,2%), *trans*-geranylgeraniol (6,9%), *cis*-linalool oxide (4,9%), *cis-cis*-geranyl linalool (4,4%) e *trans*-linalool oxide (4,2%), e para flor branca foram *trans*-nerolidol (26,1%), *trans*-β-ocimene (9,5%), *trans*-geranyl linalool (5,8%) e isovaleraldehyde

(4,4%). Na flor roxa há mais voláteis de atração de polinizadores e na flor branca mais voláteis indutores de ataque de herbívoros.

**Palavras-Chave:** Manacá, Voláteis, *Headspace*, Flor, Composição química.

## ABSTRACT

The flower of *Brunfelsia uniflora* has few studies and no chemical characterization of volatiles by direct extraction via headspace and analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry (HS/GC-MS). The objective of this study was to compare the chemical composition of volatiles from purple and white flowers of *B. uniflora* by HS/GC-MS. The volatile compounds from flowers incubated in headspace vials were analyzed by GC-MS. Oxygenated sesquiterpenes were the majority class of volatiles. The main volatile compounds for purple flower were *trans*-nerolidol (16.2%), *trans*-geranylgeraniol (6.9%), *cis*-linalool oxide (4.9%), *cis-cis*-geranyl linalool (4.4%) and *trans*-linalool oxide (4.2%), and for white flower were *trans*-nerolidol (26.1%), *trans*- $\beta$ -ocimene (9.5%), *trans*-geranyl linalool (5.8%) and isovaleraldehyde (4.4%). In the purple flower there are more pollinator attraction volatiles and in the white flower more herbivore attack-inducing volatiles.

**Keywords:** Manacá, Volatiles, Headspace, Flower, Chemical composition.

## 1. Introdução

*Brunfelsia uniflora* (Pohl.) D. Don. (Solanaceae) é nativa do Brasil e encontrada em diversas regiões do Brasil, Bolívia, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela, popularmente conhecido como manacá, possui porte arbustivo, folhas simples e flores em cachos ou solitárias. Após a evocação floral, a flor aberta tem cor roxa, porém esvanece durante seu desenvolvimento até ter uma cor branca neste processo de senescência (Althaus-Ottmann 2006). O gênero *Brunfelsia* é apreciado pelo efeito exuberante causado pela variação cromática e fragrância das flores. Tem diversas atividades biológicas como atividade acaricida (Sugauara et al. 2019), inseticida (Sugauara et al. 2020), antioxidante e antimicrobiana (Thiesen et al. 2018).

Poucos estudos avaliaram a composição química das flores de *B. uniflora*. O óleo resina das flores obtido por extração supercrítica com dióxido de carbono é relatado com atividade antimicrobiana, tendo como compostos principais (E,E)-geranyl linalool (21,0%), (E)-nerolidol (3,9%) e (2E,6Z)-farnesal (0,5%) (Thiesen et al., 2017) e antioxidante, tendo como compostos principais geranyl linalool (11,0-21,4%), tetracosane (9,4-24,2%) e alpha-amyrin (9,7-22,1%) (Jorge et al. 2017). Para o extrato alcoólico das flores é reportada atividade inseticida contra larvas de *Aedes aegypti* e tendo como componentes principais alpha-amyrin (35,7%), beta-amyrin (16,4%) e (EE)-geranyl linalool (9,6%) (Sugauara et al. 2020). Contudo, estes estudos avaliaram uma mistura de flores brancas e roxas e não foram encontrados relatos da composição química de cada uma das flores.

Desta forma, devido à complexidade de compostos químicos encontrados nas flores de *B. uniflora* é importante avaliar as flores em diferentes estágios de desenvolvimento, visando entender quais compostos voláteis são priorizados em cada fase de desenvolvimento floral. Ademais, algumas flores de plantas usadas na medicina tradicional chinesa como *Eucommia ulmoides* Oliv. (*duzhong* em chinês), *Trichosanthes kirilowii* Maxim. e *Trichosanthes*

*rosthornii* Harms tem apresentado grande variação e diferença nos constituintes químicos e na atividade biológica de flores femininas e masculinas (Xu et al. 2019).

A técnica de dióxido de carbono supercrítico possui alta capacidade de extração de um amplo espectro de compostos químicos, com alta seletividade e controle da solvatação das moléculas e é considerada segura para o ambiente (Manjare and Dhingra 2019). Além disso, esta técnica não deixa resíduo de solvente e o óleo obtido tem elevado grau de pureza e promove menor degradação de compostos voláteis (Kiran and Brennecke 1993, Mazutti et al. 2006). Entretanto, apesar da capacidade de extrair muitos compostos, as moléculas de menor massa molar - abundantes nas flores - são perdidas com a evaporação do dióxido de carbono ao final do processo de extração (Qamar et al. 2021). Desta forma, a técnica de *headspace* estático com análise por cromatografia à gás é uma ferramenta útil, rápida, econômica e eficiente para caracterizar compostos voláteis a partir de amostras complexas (Galuszka et al. 2013, Tipler 2013, Zhang et al. 2017) e pode ajudar na elucidação da composição química dos voláteis das flores de *B. uniflora*. Este estudo teve como objetivo comparar a composição química de flores roxas e brancas de *B. uniflora* por *headspace* estático e cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas (HS/CG-EM).

## 2. Resultados

Nas flores *in natura* de *B. uniflora* foram identificados 10 compostos químicos para a flor roxa e de 13 entre 15 compostos para a flor branca (Tabela S1). Os principais compostos químicos encontrados na flor roxa foram carbon dioxide (51,2%), *trans*-nerolidol (16,2%), *trans*-geranylgeraniol (6,9%), *cis*-linalool oxide (4,9%), *cis-cis*-geranyl linalool (4,4%) e *trans*-linalool oxide (4,2%), e os principais compostos na flor branca foram carbon dioxide (36,4%), *trans*-nerolidol (26,1%), *trans*- $\beta$ -ocimene (9,5%), *trans*-geranyl linalool (5,8%) e isovaleraldehyde (4,4%) (Tabela S1).

A flor roxa apresentou 29% de carbon dioxide, 47% de *cis*-linalool oxide, 64% de *trans*-linalool oxide, 20% de linalool, 11% de *trans*- $\gamma$ -bisabolene, 36% de *cis-cis*-geranyl linalool e 16% de *trans*-geranylgeraniol a mais na flor branca. Entretanto, a flor roxa apresentou 50% de isovaleraldehyde e 62% de *trans*-nerolidol a menos na flor branca. Ademais, os compostos delta-3-carene, *trans*- $\beta$ -ocimene, *trans*- $\beta$ -farnesene e *cis*- $\alpha$ -santalol não foram detectados na flor roxa, porém foram detectados na flor branca, o composto *cis*- $\beta$ -ocimene foi presente na flor roxa e não detectado na flor branca, e dois compostos não identificados foram ausentes na flor roxa, porém presentes na flor branca (Tabela S1). Isto indica que o processo de senescência da flor promove mudança na composição química dos compostos voláteis com redução ou aumento e presença ou ausência de compostos.

A classe predominante dos compostos voláteis, sem considerar o carbon dioxide, foi a dos sesquiterpenos oxigenados para a flor roxa (16,2%) e flor branca (27,2%) (Tabela S1). Houve mudança na classe de compostos voláteis principais durante a senescência das flores com redução de 47% nos monoterpenos oxigenados, 24% nos diterpenos oxigenados e 29% no carbon dioxide, e aumento de 225% nos monoterpenos hidrocarbonetos, 56% nos sesquiterpenos hidrocarbonetos, 68% nos sesquiterpenos oxigenados e 50% nos aldeídos. Isto indica que ao longo do processo de senescência das flores há alternância das classes de compostos voláteis.

### 3. Discussão

O carbon dioxide é produzido pela respiração aeróbia celular (Nelson and Cox 2012) e as flores roxas apresentaram maior concentração desse composto, o que indica maior taxa de respiração celular. Este resultado é esperado para as flores roxas que são mais jovens e, portanto, têm maior taxa metabólica que as senescentes brancas (51,2% em flor roxa e 36,4% em flor branca, em nosso estudo). Entretanto, o carbon dioxide pode ser produzido por microrganismos

endofíticos desta planta, onde foram isolados 46 fungos endofíticos de *B. uniflora* (Marsola 2016), ou ainda aderidos à filosfera da flor, já que a superfície das plantas pode ter grande diversidade de microrganismos (Cilião Filho et al. 2017). Ademais, a menor concentração de carbon dioxide da flor branca pode estar relacionada à exaustão dos carboidratos consumidos pelos microrganismos naturalmente presentes na flor ou pelo próprio metabolismo da planta ao longo do processo de senescência.

O nerolidol é um álcool sesquiterpênico de ocorrência natural, com isômeros geométricos *trans* e *cis*, e um componente químico comum em várias plantas com odor floral (Chan et al. 2016, Cazella et al. 2019) como *Arabidopsis lyrata* (Abel et al. 2009). É um volátil com produção induzida pelo ataque de herbívoros (Chan et al. 2016) e na forma *trans*-nerolidol (16,2% em flor roxa e 26,1% em flor branca, em nosso estudo) atua como feromônio (PubChem 2021). As flores brancas provavelmente tiveram maior tempo de exposição ao ataque de herbívoros e por consequência produziram maior quantidade de nerolidol. O nerolidol é amplamente usado em cosméticos, produtos de limpeza e como aromatizantes de alimentos. Têm atividade biológica como antimicrobiano, antiparasitário, antibiofilme, antioxidante, antinociceptivo, anti-inflamatório, anti-ulcerogênico, anticancerígeno, repelente de insetos e na melhora da penetração para a entrega transdérmica de drogas terapêuticas. Devido a sua natureza hidrofóbica é facilmente permeável pela membrana plasmática e pode interagir com proteínas intracelulares, entretanto, tem uma atividade citotóxica e pode romper membranas (Chan et al. 2016).

O β-ocimene é um volátil comum liberado por folhas e flores de diversas plantas e este monoterpeno acíclico pode desempenhar várias funções biológicas com efeito provável de atração de polinizadores florais e também de respostas defensivas contra herbívoros (Farré-Armengol et al. 2017). Em tecidos não-florais funciona como um indicador químico para atrair inimigos naturais de insetos fitófagos como uma resposta defensiva sistêmica da planta (Farré-

Armengol et al. 2017). Tem dois estereoisômeros, *cis*- e *trans*- $\beta$ -ocimene, sendo o *cis* menos comum e em menor quantidade que o *trans* (Farré-Armengol et al. 2017). O  $\beta$ -ocimene é sintetizado pela enzima (E)- $\beta$ -ocimene synthase que produz principalmente o *trans*- $\beta$ -ocimene. O *cis*- $\beta$ -cimene é menos comum que o *trans*- $\beta$ -cimene em aromas florais, sendo produzido e emitido em pequenas quantidades, mas detectável, apenas em espécies onde o *trans*- $\beta$ -cimene é produzido em quantidades relativamente altas (Farré-Armengol et al. 2017). Em nosso estudo o *cis*- $\beta$ -ocimene (3,5% em flor roxa e 0% em flor branca) ocorreu em menor quantidade que o *trans*- $\beta$ -ocimene (0% em flor roxa e 9,5% em flor branca), o que indica que as flores de *B. uniflora* podem ter uma síntese diferenciada deste composto devido a uma maior quantidade de *cis*- $\beta$ -ocimene ocorrer na ausência de *trans*- $\beta$ -ocimene na flor.

Geranylgeraniol é um isoprenóide encontrado nas plantas e um importante derivado metabólico na via de síntese isoprenóide/colesterol. Desempenha papéis muito distintos em vários processos fisiológicos em plantas e animais como atividade anti-inflamatória, antitumoral, neuroprotetora e de aumento da produção de testosterona (Ho et al. 2018). O *trans*-geranylgeraniol (6,9% em flor roxa e 5,8% em flor branca, em nosso estudo) é um metabólito vegetal precursor do phytol, a cadeia lateral do prenyl da clorofila. A conversão do geranylgeraniol em phytol está ligada à síntese de clorofila que é catalisada por complexos protéicos associados às membranas tilacoides. O phytol não é empregado apenas para a síntese de clorofila, mas também para a produção de tocoferol (vitamina E), filoquinona (vitamina K) e ésteres de phytol de ácidos graxos (Gutbrod et al. 2019). Desta forma, a maior quantidade de geranylgeraniol nas flores roxas está provavelmente relacionada à maior taxa metabólica e/ou fotossintética de tecidos vegetais mais jovens como os da flor roxa.

Linalool é um álcool acíclico monoterpênico terciário e uma das fragrâncias florais mais comuns na natureza, sendo adicionado em perfumes, produtos cosméticos e de limpeza, alimentos processados, bebidas (agente de fragrância e sabor) e de aditivos de alimentos, além

de uso na indústria como intermediário da síntese de vitamina E e A e como inseticida de animais (Landmann et al. 2007). Tem atividade sedativa, ansiolítica, anticonvulsivante, analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, redutor de colesterol e espasmódica (Landmann et al. 2007). Nas flores, os componentes da fragrância são armazenados como glicosídeos não voláteis e degradados ao longo do tempo de senescência da flor (Pichersky et al. 1994), o que pode explicar a redução do linalol nas flores brancas. O tabaco selvagem (*Nicotiana obtusifolia*) tem glicosídeos de geranyl linalool com propriedades antialimentares, substâncias que inibem a alimentação dos insetos, mas sem ação tóxica (Jassbi et al. 2010).

O isovaleraldehyde é um componente de óleos voláteis em azeitonas e tem sido utilizado como agente aromatizante, aditivo alimentar e também para prevenir, destruir ou atenuar pragas (PubChem 2021). É utilizado como reagente para a produção de fármacos e tem atividade antimicrobiana e inseticida (Kohlpaintner et al. 2013). O isovaleraldehyde (3,0% em flor roxa e 4,4% em flor branca, em nosso estudo) é um metabólito vegetal produzido pelo catabolismo de aminoácidos, principalmente leucina (Palmer 1984). Assim, o maior teor deste composto na flor branca pode estar relacionado com a redução dos carboidratos disponíveis para o metabolismo devido ao processo de senescência da flor.

O farneseno é o principal componente do feromônio de alarme de morte dos afídeos e é usado como um repelente natural desses insetos (Yu et al. 2012). O *trans*- $\beta$ -farnesene (0% em flor roxa e 2,1% em flor branca, em nosso estudo) é um composto induzido por herbívoros, produzido a partir do farnesyl e está relacionado à senescência de tecidos vegetais (Tholl 2015).

Os bisabolenos são sesquiterpenos produzidos a partir da degradação do nerolidol e sintetizados de forma constitutiva em plantas (Tholl 2015), o que pode explicar a pequena variação do *trans*- $\gamma$ -bisabolene (3,1% em flores roxas e de 2,8% em flores brancas, em nosso estudo).

O delta-3-carene é um anti-inflamatório (Martin et al. 1993) e um dos componentes da terebintina que pode irritar a pele e as mucosas, sendo que a exposição prolongada pode resultar em dermatite de contato alérgica ou comprometimento da função pulmonar crônica (Duisken et al. 2008). Em nosso estudo, delta-3-carene não foi encontrado na flor roxa, porém foi identificado na flor branca com 1,8%. Este composto está associado com a senescência dos tecidos vegetais pela supressão da divisão celular, ruptura de membranas e estresse oxidativo, podendo afetar outras plantas em sua vizinhança pela inibição da proliferação celular no meristema apical radicular. Ainda não está claro se este composto atua como molécula de sinal de início do processo de senescência ou é um efeito causal direto da senescência (Korankye et al. 2017).

O  $\alpha$ -santalol é um terpenóide de ocorrência natural com efeito quimiopreventivo do câncer de pele (Zhang and Dwivedi 2011). É encontrado no óleo de madeira de sândalo (*Santalum album*) com atividade anticancer, anti-inflamatória, antifúngica, anti-hiperglicêmico, neuroléptica, entre outras (Bommareddy et al. 2019). O *cis*- $\alpha$ -santalol (0% em flor roxa e 1,1% em flor branca, em nosso estudo) é produzido a partir de uma longa rota metabólica, a partir do nerolidyl pyrophosphate na rota de conversão do farnesyl pyrophosphate em sesquiterpenóides. A produção de santalol é demorada e realizada após inúmeras etapas metabólicas (Croteau and Karp 1994), o que pode explicar a sua ausência em flores jovens (roxas) e a presença em flores maduras (brancas) de *B. uniflora*, ainda que em pequena quantidade.

#### **4. Seção experimental**

##### **4.1. Material biológico**

*Brunfelsia uniflora* (Pohl) D. Don (Solanaceae), nome cientificamente aceito, e seus sinônimos e combinações como *Martia opifera* Lacerda ex J. A. Schmidt, *Brunfelsia uniflora* var. *pubescens* (Benth.) Baker, *Franciscea uniflora* Pohl, *Brunfelsia hopeana* (Hook.) Benth.,

*Brunfelsia hopeana* var. *pubescens* Benth., *Franciscea hopeana* Hook. e *Franciscea mutabilis* H. Jacq. (Hassler 2021) é proveniente do Herbário Educacional da Universidade Paranaense, número 2855, localizada nas coordenadas S23º 46.225' e WO 53º 16.730', altitude de 391 m, Brasil. As flores desta planta de coloração roxa intensa, estágio inicial de desenvolvimento da flor, e as flores de cor branca sem resquícios da coloração roxa, estágio final de desenvolvimento da flor, foram colhidas entre 7 e 8 h da manhã. As flores de cada estágio floral foram acondicionadas *in natura* em recipientes com refrigeração para serem em seguida transportadas e processadas em laboratório no mesmo dia. Esta planta está registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e dos Conhecimentos Tradicionais Associados (SisGen) sob o número de registro A0A10E1.

#### **4.2. Extração e identificação química de moléculas voláteis das flores**

As flores roxas ou brancas *in natura* (5 g) de *B. uniflora* foram transferidos para frascos de *headspace* (*headspace* vial de borosilicato transparente de 20 mL) e os voláteis obtidos pela incubação por *headspace* estático. Os parâmetros de incubação por *headspace* foram: temperatura de incubação de 130 °C, tempo de incubação 60 min, agitação (ligado 60 s; desligado 10 s), temperatura da seringa 150 °C, velocidade de agitação 750 rpm. Os compostos voláteis foram analisados por cromatografia a gás (Agilent 7890 B) acoplada à espectrometria de massas (Agilent 5977 A) (CG-EM). Uma coluna analítica HP-5MS 5% (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) foi utilizada com temperatura inicial de 60 °C seguida, com rampa de aquecimento de 3 °C/min até 170 °C, aquecimento de 2 °C/min até 250 °C, permanecendo por 10 min e, finalmente com rampa de aquecimento de 10 °C/min até 300 °C por 1 min. O gás carreador utilizado foi o hélio com velocidade linear de 1 mL/min até 300 °C e com pressão de 56 kPa. A temperatura do injetor foi de 260 °C; o volume de injeção foi de 2 mL; a injeção ocorreu no modo *split* (20:1). A linha de transferência foi mantida a 280 °C e a fonte de ionização e quadrupolo a 230 °C e 150 °C, respectivamente. O sistema de detecção foi o EM, no modo

scan, na faixa de razão massa/carga (*m/z*) de 40 a 600. Os compostos obtidos foram identificados pela comparação de seus espectros de massas com os espectros de massas da biblioteca NIST Library versão 11.0 (Adams 2007). Os resultados encontrados da composição química das flores em diferentes estágios de desenvolvimento de *B. uniflora* foram comparados e discutidos.

## 5. Conclusão

Os principais compostos químicos voláteis de *B. uniflora* para flor roxa são *trans*-nerolidol (16,2%), *trans*-geranylgeraniol (6,9%), *cis*-linalool oxide (4,9%), *cis-cis*-geranyl linalool (4,4%) e *trans*-linalool oxide (4,2%), e para flor branca são *trans*-nerolidol (26,1%), *trans*- $\beta$ -ocimene (9,5%), *trans*-geranyl linalool (5,8%) e isovaleraldehyde (4,4%). Nas flores jovens (flor roxa) há maior concentração de compostos do metabolismo secundário, os quais não possuem ação direta no metabolismo da planta e servem como atrativo odorífero de polinizadores. As flores mais maduras (flor branca) estão relacionadas ao processo de senescência, ao catabolismo de lipídios e aminoácidos e compostos induzidos pelo ataque de herbívoros. A classe de principais compostos voláteis foram os sesquiterpenos oxigenados na flor roxa (16,2%) e na flor branca (27,2%). Durante o processo de senescência da flor há aumento ou redução da quantidade de diferentes classes de compostos voláteis. Estes resultados aumentam o conhecimento dos tipos de compostos químicos voláteis existentes nos diferentes estágios de maturação da flor de *B. uniflora*.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Paranaense, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) -código financeiro 001-, Fundação Araucária e

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

### **Declaração de divulgação**

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

### **Referências<sup>1</sup>**

- Abel C, Clauss M, Schaub A, Gershenson J, Tholl D. 2009. Floral and insect-induced volatile formation in *Arabidopsis lyrata* ssp. *petraea*, a perennial, outcrossing relative of *A. thaliana*. *Planta* 230:1–11. DOI: 10.1007/s00425-009-0921-7
- Adams RP. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Illinois: Allured Publishing Corporation Carol Stream.
- Althaus-Ottmann MM, Leal L, Zuffellato-Ribas KC. 2006. Vegetative propagation of *Brunfelsia uniflora* (Pohl.) D. Don. (Manacá). *Rev Bras Hortic Ornam* 12(1):31–36.
- Bommareddy A, Brozena S, Steigerwalt J, Landis T, Hughes S, Mabry E, Knopp A, VanWert AL, Dwivedi C. 2019. Medicinal properties of alpha-santalol, a naturally occurring constituent of sandalwood oil: review. *Nat Prod Res* 33(4):527–543. DOI: 10.1080/14786419.2017.1399387
- Cazella LN, Glamočlija J, Soković M, Gonçalves JE, Linde GA, Colauto NB, Gazim ZC. 2019. Antimicrobial activity of essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) aerial parts at flowering period. *Front Plant Sci* 10:27. DOI: 10.3389/fpls.2019.00027
- Chan WK, Tan LT-H, Chan KG, Lee LH, Goh BH. 2016. Nerolidol: a sesquiterpene alcohol with multi-faceted pharmacological and biological activities. *Molecules* 21(5):529. DOI: 10.3390/molecules21050529

---

<sup>1</sup> Normas da Natural Research Product.

- Cilião Filho M, Bertéli MBD, Valle JS, Paccola-Meirelles LD, Linde GA, Barcellos FB, Colauto NB. 2017. Genetic diversity and pectinolytic activity of epiphytic yeasts from grape carposphere. *Genet Mol Res* 16(2):gmr16029698. DOI: 10.4238/gmr16029698
- Croteau R, Karp F. 1994. Origin of natural odorants. In: Müller PM, Lamparsky D, editors. *Perfumes*. Dordrecht: Springer. DOI: 10.1007/978-94-011-3826-0\_4
- Duisken M, Peiffer TH, Blömeke B, Hollender J. 2008. Metabolism of delta-3-Carene by human cytochrom 450 enzymes. *Contact Dermatitis* 50:122–212. DOI: 10.1111/j.0105-1873.2004.00309ha.x
- Farré-Armengol G, Filella I, Llusia J, Peñuelas J. 2017. β-Ocimene, a key floral and foliar volatile involved in multiple interactions between plants and other organisms. *Molecules* 22(7):1148. DOI: 10.3390/molecules22071148
- Gałuszka A, Migaszewski Z, Namieśnik J. 2013. The 12 principles of green analytical chemistry and the significance mnemonic of green analytical practices. *Trends Anal Chem* 50:78–84. DOI: 10.1016/j.trac.2013.04.010
- Gutbrod K, Romer J, Dörmann P. 2019. Phytol metabolism in plants. *Prog. Lipid Res.* 74:1–17.
- Hassler M. 2021. (2004-2021): World plants. Synonymic checklist and distribution of the world flora. Version 12.3; last update May 28th, 2021. - [www.worldplants.de](http://www.worldplants.de). [accessed 2021 July 5]. <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/NFSV>
- Ho HJ, Shirakawa H, Giriwono PE, Ito A, Komai M. 2018. A novel function of geranylgeraniol in regulating testosterone production. *Biosci Biotechnol Biochem* 82(6):956–962. DOI: 10.1080/09168451.2017.1415129
- Jassbi AR, Zamanizadehnajari S, Baldwin IT. 2010. 17-Hydroxygeranylinalool glycosides are major resistance traits of *Nicotiana obtusifolia* against attack from tobacco hornworm larvae. *Phytochemistry* 71(10):1115–1121. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.04.014

- Jorge LF, Meniqueti AB, Silva RF, Santos KA, Da Silva EA, Gonçalves JE, De Rezende CM, Colauto NB, Gazim ZC, Linde GA. 2017. Antioxidant activity and chemical composition of oleoresin from leaves and flowers of *Brunfelsia uniflora*. Genet Mol Res 16(3):gmr16039714. DOI: 10.4238/gmr16039714
- Kiran E, Brennecke JF. 1993. Supercritical fluid engineering science: fundamentals and applications. Washington: ACS Publications.
- Kohlpaintner C, Schulte M, Falbe J, Lappe P, Weber J, Frey GD. 2013. Aldehydes, aliphatic. Ullmann's Encycl. Ind. Chem. 1–31. DOI: 10.1002/14356007.a01\_321.pub3
- Korankye EA, Lada R, Asiedu S, Caldwell C. 2017. Plant senescence: the role of volatile terpene compounds (VTCs). Am J Plant Sci 8(12):3120–3139. DOI: 10.4236/AJPS.2017.812211
- Landmann C, Fink B, Festner M, Dregus M, Engel KH, Schwab W. 2007. Cloning and functional characterization of three terpene synthases from lavender (*Lavandula angustifolia*). Arch Biochem Biophys 465(2):417–429. DOI: 10.1016/j.abb.2007.06.011
- Manjare SD, Dhingra K. 2019. Supercritical fluids in separation and purification: a review. Mater Sci Energy Technol 2(3):463–484. DOI: 10.1016/j.mset.2019.04.005
- Marsola SJ. 2016. Fungos endofíticos de *Brunfelsia uniflora*: isolamento, criopreservação, atividades enzimática e antioxidante [master's thesis]. Umuarama (PR): Universidade Paranaense. [accessed 2021 July 5]. <http://seshat.unipar.br/pesquisa/?pesquisa=marsola&x=0&y=0>
- Martin S, Padilla E, Ocete MA, Galvez J, Jiménez J, Zarzuelo A. 1993. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Bupleurum fruticosens*. Planta Med 59(6):533–536. DOI: 10.1055/s-2006-959755

- Mazutti M, Beledelli B, Mossi AJ, Cansian RL, Dariva C, Oliveira JV. 2006. Chemical characterization of *Ocimum basilicum* L. extracts obtained by high pressure CO<sub>2</sub> extraction. *Quim Nova* 29(6):1198–1202. DOI: 10.1590/S0100-40422006000600010
- Nelson DL, Cox MM. 2012. Lehninger principles of biochemistry. 8th ed. New York: W.H. Freeman and Macmillan Learning.
- Palmer JK. 1984. Enzyme reactions and acceptability of plant foods. *J Chem Educ* 61(4):284. DOI: 10.1021/ed061p284
- Pichersky E, Raguso RA, Lewinsohn E, Croteau R. 1994. Floral scent production in clarkia (Onagraceae) (i. localization and developmental modulation of monoterpene emission and linalool synthase activity). *Plant Physiol* 106(4):1533–1540. DOI: 10.1104/pp.106.4.1533
- PubChem, 2021. Open chemistry database at the National Institutes of Health (NIH); [accessed 2021 July 5]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Qamar S, Torres YJM, Parekh HS, Falconer JR. 2021. Extraction of medicinal cannabinoids through supercritical carbon dioxide technologies: a review. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1167(15):122581. DOI: 10.1016/j.jchromb.2021.122581
- Sugauara EYY, Sugauara EY, Sugauara RR, Bortolucci WC, Fernandez CMM, Gonçalves JE, Colauto NB, Gazim ZC, Linde GA. 2020. Larvicidal activity of *Brunfelsia uniflora* extracts on *Aedes aegypti* larvae. *Nat Prod Res* 1–7. DOI: 10.1080/14786419.2020.1844685
- Sugauara EYY, Sugauara RR, Bortolucci WC, Oliveira HLM, Silva ES, Campos CFAA, Gonçalves JE, Colauto NB, Gazim ZC, Linde GA. 2019. Control of bovine tick [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*] with *Brunfelsia uniflora* leaf extract. *Aust J Crop Sci* 13(6):903–910. DOI: 10.21475/ajcs.19.13.06.p1653
- Thiesen LC, Sugauara EYY, Tešević V, Glamočlija J, Soković M, Gonçalves JE, Gazim ZC, Linde GA, Colauto NB. 2017. Antimicrobial activity and chemical composition of *Brunfelsia*

- uniflora* flower oleoresin extracted by supercritical carbon dioxide. *Genet Mol Res* 16(2):gmr16029548. DOI: 10.4238/gmr16029548
- Thiesen LC, Colla IM, Silva GJ, Kubiak MG, Faria MGI, Gazim ZC, Linde GA, Colauto NB. 2018. Antioxidant and antimicrobial activity of *Brunfelsia uniflora* leaf extract. *Arq Cienc Vet Zool UNIPAR* 21(3):93-97. DOI: 10.25110/arqvvet.v21i3.7203
- Tholl D. 2015. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. In: Schrader J, Bohlmann J, editors. *Biotechnology of isoprenoids. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology Series.* Vol 148, p. 63-106. Cham: Springer. DOI: 10.1007/10\_2014\_295
- Tipler A. 2013. An introduction to headspace sampling in gas chromatography: fundamentals and theory. Waltham: Perkin-Elmer. [accessed 2021 July 5]. [https://www.perkinelmer.com/PDFs/downloads/GDE\\_Intro\\_to\\_Headspace.pdf](https://www.perkinelmer.com/PDFs/downloads/GDE_Intro_to_Headspace.pdf)
- Xu L, Liu H, Ma Y, Wu C, Li R, Chao Z. 2019. Comparative study of volatile components from male and female flower buds of *Populus × tomentosa* by HS-SPME-GC-MS. *Nat Prod Res* 333(14):2105–2108. DOI: 10.1080/14786419.2018.1483929
- Yu XD, Pickett J, Ma YZ, Bruce T, Napier J, Jones HD, Xia LQ. 2012. Metabolic engineering of plant-derived (e)- $\beta$ -farnesene synthase genes for a novel type of aphid-resistant genetically modified crop plants. *J Integr Plant Biol* 54(5):282–299. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2012.01107.x
- Zhang SX, Chai XS, Jiang R. 2017. Accurate determination of residual acrylic acid in superabsorbent polymer of hygiene products by headspace gas chromatography. *J Chromatogr A* 1485:20–23. DOI: 10.1016/j.chroma.2017.01.023
- Zhang X, Dwivedi C. 2011. Skin cancer chemoprevention by  $\alpha$ -santalol. *Front Biosci (Schol Ed.)* 3:777–787. DOI: 10.2741/s186

## Tabelas e figuras

**Tabela S1.** Composição química de moléculas voláteis de flores *in natura* roxas e brancas de *Brunfelsia uniflora* obtida por *headspace/CG-EM*.

| Pico                           | TR    | Compostos                        | IR   | AR (%)       |              | MI    |
|--------------------------------|-------|----------------------------------|------|--------------|--------------|-------|
|                                |       |                                  |      | Flor roxa    | Flor branca  |       |
| 1                              | 1377  | Carbon dioxide                   | 154  | 51,23        | 36,35        | a,b,c |
| 2                              | 1519  | Isovaleraldehyde                 | 658  | 2,97         | 4,45         | a,b,c |
| 3                              | 1928  | Delta-3-carene                   | 1011 | —            | 1,80         | a,b,c |
| 4                              | 2344  | n.i.                             | —    | —            | 0,51         | a,b,c |
| 5                              | 8564  | <i>cis</i> -β-Ocimene            | 1032 | 3,47         | —            | a,b,c |
| 6                              | 8891  | <i>trans</i> -β-Ocimene          | 1044 | —            | 9,50         | a,b,c |
| 7                              | 9052  | <i>cis</i> -Linalool oxide       | 1067 | 4,93         | 2,61         | a,b,c |
| 8                              | 9418  | <i>trans</i> -Linalool oxide     | 1084 | 4,21         | 1,53         | a,b,c |
| 9                              | 9989  | Linalool                         | 1095 | 2,45         | 1,95         | a,b,c |
| 10                             | 10412 | <i>trans</i> -β-Farnesene        | 1454 | —            | 2,09         | a,b,c |
| 11                             | 11051 | <i>trans</i> -γ-Bisabolene       | 1529 | 3,10         | 2,75         | a,b,c |
| 12                             | 28070 | <i>trans</i> -Nerolidol          | 1561 | 16,17        | 26,13        | a,b,c |
| 13                             | 29279 | n.i.                             | —    | —            | 0,53         | a,b,c |
| 14                             | 29814 | <i>cis</i> -α-Santalol           | 1674 | —            | 1,08         | a,b,c |
| 15                             | 45098 | <i>cis-cis</i> -Geranyl linalool | 1960 | 4,38         | 2,82         | a,b,c |
| 16                             | 46407 | <i>trans</i> -Geranylgeraniol    | 2201 | 6,89         | 5,77         | a,b,c |
| <b>Total identificado</b>      |       |                                  |      | <b>99,80</b> | <b>98,83</b> |       |
| Monoterpenos hidrocarbonetos   |       |                                  |      | 3,47         | 11,30        |       |
| Monoterpenos oxigenados        |       |                                  |      | 11,59        | 6,09         |       |
| Sesquiterpenos hidrocarbonetos |       |                                  |      | 3,10         | 4,84         |       |
| Sesquiterpenos oxigenados      |       |                                  |      | 16,17        | 27,21        |       |
| Diterpenos oxigenados          |       |                                  |      | 11,27        | 8,59         |       |
| Carbon dioxide                 |       |                                  |      | 51,23        | 36,35        |       |

|          |      |      |
|----------|------|------|
| Aldeídos | 2,97 | 4,45 |
| n.i.     | —    | 1,04 |

**TR** = tempo de retenção; **IR** = índice de retenção da literatura; **MI** = métodos de identificação  
**a:** identificação com base no índice de retenção da literatura com Adams (2017) and NIST – Standard Reference Database 69 (NIST Chemistry WebBook); **b:** compostos listados na ordem de eluição na coluna HP-5MS UI; **c:** identificação baseada na comparação de espectros de massa encontrados nas bibliotecas NIST 11.0 versão 11.0; **AR (%)** = área relativa (%): porcentagem da área ocupada pelo composto no cromatograma; n.i. = não identificado; (–) = ausente.

**ANEXOS****DECLARAÇÃO DE AUTORIA**

Declaro para os devidos fins que eu, Nelson Barros Colauto, RG: 18369063 – SSP-SP, aluno do Curso de Ciências Biológicas do campus I de Umuarama da Unipar, sou autor do trabalho intitulado: “Voláteis de flores roxas e brancas de *Brunfelsia uniflora* por headspace/CG-EM”, que agora submeto à banca examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso – Ciências Biológicas.

Também declaro que é um trabalho inédito, nunca submetido à publicação anteriormente em qualquer meio de difusão científica.



---

Nelson Barros Colauto

## Natural Product Research

### Instructions for authors

#### COVID-19 impact on peer review

As a result of the significant disruption that is being caused by the COVID-19 pandemic we understand that many authors and peer reviewers will be making adjustments to their professional and personal lives. As a result they may have difficulty in meeting the timelines associated with our peer review process. Please let the journal editorial office know if you need additional time. Our systems will continue to remind you of the original timelines but we intend to be flexible.

Thank you for choosing to submit your paper to us. These instructions will ensure we have everything required so your paper can move through peer review, production and publication smoothly. Please take the time to read and follow them as closely as possible, as doing so will ensure your paper matches the journal's requirements.

## AUTHOR SERVICES

Supporting Taylor & Francis authors

For general guidance on every stage of the publication process, please visit our [Author Services website](#).

## EDITING SERVICES

Supporting Taylor & Francis authors

For editing support, including translation and language polishing, explore our [Editing Services website](#)

### SCHOLARONE MANUSCRIPTS<sup>®</sup>

This journal uses ScholarOne Manuscripts (previously Manuscript Central) to peer review manuscript submissions. Please read the [guide for ScholarOne authors](#) before making a submission. Complete guidelines for preparing and submitting your manuscript to this journal are provided below.

### About the Journal

*Natural Product Research* is an international, peer-reviewed journal publishing high-quality, original research. Please see the journal's [Aims & Scope](#) for information about its focus and peer-review policy.

Please note that this journal only publishes manuscripts in English.

*Natural Product Research* accepts the following types of articles:

- Research article
- Short communication
- Review
- Letter

### Open Access

You have the option to publish open access in this journal via our Open Select publishing program. Publishing open access means that your article will be free to access online immediately on publication, increasing the visibility, readership and impact of your research. Articles published Open Select with Taylor & Francis typically receive 32% more citations\* and over 6 times as many downloads\*\* compared to those that are not published Open Select.

Your research funder or your institution may require you to publish your article open access. Visit our [Author Services](#) website to find out more about open access policies and how you can comply with these.

You will be asked to pay an article publishing charge (APC) to make your article open access and this cost can often be covered by your institution or funder. Use our [APC finder](#) to view the APC for this journal.

Please visit our [Author Services website](#) or contact [openaccess@tandf.co.uk](mailto:openaccess@tandf.co.uk) if you would like more information about our Open Select Program.

\*Citations received up to Jan 31st 2020 for articles published in 2015-2019 in journals listed in Web of Science®.

\*\*Usage in 2017-2019 for articles published in 2015-2019.

## Peer Review and Ethics

Taylor & Francis is committed to peer-review integrity and upholding the highest standards of review. Once your paper has been assessed for suitability by the editor, it will then be double blind peer reviewed by independent, anonymous expert referees. Find out more about [what to expect during peer review](#) and read our guidance on [publishing ethics](#).

## Preparing Your Paper

### Research article

- Should be written with the following elements in the following order: title page; abstract; keywords; main text introduction, materials and methods, results, discussion; acknowledgments; declaration of interest statement; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list)
- Should be between 7 and 10 pages, inclusive of tables, references, figure captions.
- Should contain an unstructured abstract of 150 words.
- Should contain between 3 and 7 **keywords**. Read [making your article more discoverable](#), including information on choosing a title and search engine optimization.
- If including an experimental section: up to 4,500 words, including figures and tables and excluding title page, abstract and keywords. The word count should take into account the equivalent number of words for space occupied by large figures and tables. If publishing the experimental section as online-only supplemental material: up to 3,000 words including figures and tables and excluding title page, abstract and keywords. The word count should take into account the equivalent number of words for space occupied by large figures and tables.

### Short communication

- Should be written with the following elements in the following order: title page; abstract; keywords; introduction; main text; experimental section (to be supplied as supplementary materials); results; discussion; acknowledgments; declaration of interest statement; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list)
- Should be between 3 and 4 pages, inclusive of tables, references, figure captions.
- Should contain an unstructured abstract of 150 words.
- Should contain between 3 and 7 **keywords**. Read [making your article more discoverable](#), including information on choosing a title and search engine optimization.
- Any spectra (including NMR, IR, MS), chromatograms (including TLCs, HPLC and GC traces), NMR tables and figures reporting bi-dimensional NMR correlations should either be submitted for review purposes only or as supplemental material to be published online.

## Review

- Should be written with the following elements in the following order: title page; introduction; main text; acknowledgments; declaration of interest statement; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list)
- Should be no more than 20 pages, inclusive of tables, references, figure captions.
- Please send a Review proposal to the Editor-in-Chief before submission.

## Letter

- Should be written with the following elements in the following order: title page; main text; acknowledgments; declaration of interest statement; references
- Should be between 1 and 2 pages.

## Style Guidelines

Please refer to these [quick style guidelines](#) when preparing your paper, rather than any published articles or a sample copy.

Please use British (-ise) spelling style consistently throughout your manuscript.

Please use single quotation marks, except where ‘a quotation is “within” a quotation’. Please note that long quotations should be indented without quotation marks.

## Formatting and Templates

Papers may be submitted in Word or LaTeX formats. Figures should be saved separately from the text. To assist you in preparing your paper, we provide formatting template(s).

[Word templates](#) are available for this journal. Please save the template to your hard drive, ready for use.

A [LaTeX template](#) is available for this journal. Please save the LaTeX template to your hard drive and open it, ready for use, by clicking on the icon in Windows Explorer.

If you are not able to use the template via the links (or if you have any other template queries) please contact us [here](#).

## References

Please use this [reference guide](#) when preparing your paper.

An [EndNote output style](#) is also available to assist you.

## Taylor & Francis Editing Services

To help you improve your manuscript and prepare it for submission, Taylor & Francis provides a range of editing services. Choose from options such as English Language Editing, which will ensure that your article is free of spelling and grammar errors, Translation, and Artwork Preparation. For more information, including pricing, [visit this website](#).

## Checklist: What to Include

1. **Author details.** All authors of a manuscript should include their full name and affiliation on the cover page of the manuscript. Where available, please also include ORCiDs and social media handles (Facebook, Twitter or LinkedIn). One author will need to be identified as the

corresponding author, with their email address normally displayed in the article PDF (depending on the journal) and the online article. Authors' affiliations are the affiliations where the research was conducted. If any of the named co-authors moves affiliation during the peer-review process, the new affiliation can be given as a footnote. Please note that no changes to affiliation can be made after your paper is accepted. [Read more on authorship](#).

2. **Graphical abstract** (mandatory). This is an image to give readers a clear idea of the content of your article. It should be a maximum width of 525 pixels. If your image is narrower than 525 pixels, please place it on a white background 525 pixels wide to ensure the dimensions are maintained. Save the graphical abstract as a .jpg, .png, or .tiff. Please do not embed it in the manuscript file but save it as a separate file, labelled GraphicalAbstract1.
3. You can opt to include a **video abstract** with your article. [Find out how these can help your work reach a wider audience, and what to think about when filming](#).
4. **Funding details.** Please supply all details required by your funding and grant-awarding bodies as follows:
 

*For single agency grants*  
 This work was supported by the [Funding Agency] under Grant [number xxxx].

*For multiple agency grants*  
 This work was supported by the [Funding Agency #1] under Grant [number xxxx]; [Funding Agency #2] under Grant [number xxxx]; and [Funding Agency #3] under Grant [number xxxx].
5. **Disclosure statement.** This is to acknowledge any financial interest or benefit that has arisen from the direct applications of your research. [Further guidance on what is a conflict of interest and how to disclose it](#).
6. **Data availability statement.** If there is a data set associated with the paper, please provide information about where the data supporting the results or analyses presented in the paper can be found. Where applicable, this should include the hyperlink, DOI or other persistent identifier associated with the data set(s). [Templates](#) are also available to support authors.
7. **Data deposition.** If you choose to share or make the data underlying the study open, please deposit your data in a [recognized data repository](#) prior to or at the time of submission. You will be asked to provide the DOI, pre-reserved DOI, or other persistent identifier for the data set.
8. **Geolocation information.** Submitting a geolocation information section, as a separate paragraph before your acknowledgements, means we can index your paper's study area accurately in JournalMap's geographic literature database and make your article more discoverable to others. [More information](#).
9. **Supplemental online material.** Supplemental material can be a video, dataset, fileset, sound file or anything which supports (and is pertinent to) your paper. We publish supplemental material online via Figshare. Find out more about [supplemental material and how to submit it with your article](#).
10. **Figures.** Figures should be high quality (1200 dpi for line art, 600 dpi for grayscale and 300 dpi for colour, at the correct size). Figures should be supplied in one of our preferred file formats: EPS, PS, JPEG, TIFF, or Microsoft Word (DOC or DOCX) files are acceptable for figures that have been drawn in Word. For information relating to other file types, please consult our [Submission of electronic artwork](#) document.
11. **Tables.** Tables should present new information rather than duplicating what is in the text. Readers should be able to interpret the table without reference to the text. Please supply editable files.
12. **Equations.** If you are submitting your manuscript as a Word document, please ensure that equations are editable. More information about [mathematical symbols and equations](#).
13. **Units.** Please use [SI units](#) (non-italicized).

### Using Third-Party Material in your Paper

You must obtain the necessary permission to reuse third-party material in your article. The use of short extracts of text and some other types of material is usually permitted, on a limited basis, for the purposes of criticism and review without securing formal permission. If

you wish to include any material in your paper for which you do not hold copyright, and which is not covered by this informal agreement, you will need to obtain written permission from the copyright owner prior to submission. More information on [requesting permission to reproduce work\(s\) under copyright](#).

### Submitting Your Paper

This journal uses ScholarOne Manuscripts to manage the peer-review process. If you haven't submitted a paper to this journal before, you will need to create an account in ScholarOne. Please read the guidelines above and then submit your paper in [the relevant Author Centre](#), where you will find user guides and a helpdesk.

If you are submitting in LaTeX, please convert the files to PDF beforehand (you will also need to upload your LaTeX source files with the PDF).

Please note that *Natural Product Research* uses [Crossref™](#) to screen papers for unoriginal material. By submitting your paper to *Natural Product Research* you are agreeing to originality checks during the peer-review and production processes.

On acceptance, we recommend that you keep a copy of your Accepted Manuscript. Find out more about [sharing your work](#).

### Data Sharing Policy

This journal applies the Taylor & Francis [Basic Data Sharing Policy](#). Authors are encouraged to share or make open the data supporting the results or analyses presented in their paper where this does not violate the protection of human subjects or other valid privacy or security concerns.

Authors are encouraged to deposit the dataset(s) in a recognized data repository that can mint a persistent digital identifier, preferably a digital object identifier (DOI) and recognizes a long-term preservation plan. If you are uncertain about where to deposit your data, please see [this information](#) regarding repositories.

Authors are further encouraged to [cite any data sets referenced](#) in the article and provide a [Data Availability Statement](#).

At the point of submission, you will be asked if there is a data set associated with the paper. If you reply yes, you will be asked to provide the DOI, pre-registered DOI, hyperlink, or other persistent identifier associated with the data set(s). If you have selected to provide a pre-registered DOI, please be prepared to share the reviewer URL associated with your data deposit, upon request by reviewers.

Where one or multiple data sets are associated with a manuscript, these are not formally peer reviewed as a part of the journal submission process. It is the author's responsibility to ensure the soundness of data. Any errors in the data rest solely with the producers of the data set(s).

### Publication Charges

There are no submission fees, publication fees or page charges for this journal.

Colour figures will be reproduced in colour in your online article free of charge. If it is necessary for the figures to be reproduced in colour in the print version, a charge will apply. Charges for colour figures in print are £300 per figure (\$400 US Dollars; \$500 Australian Dollars; €350). For more than 4 colour figures, figures 5 and above will be charged at £50 per figure (\$75 US Dollars; \$100 Australian Dollars; €65). Depending on your location, these charges may be subject to local taxes.

### Copyright Options

Copyright allows you to protect your original material, and stop others from using your work without your permission. Taylor & Francis offers a number of different license and reuse

options, including Creative Commons licenses when publishing open access. [Read more on publishing agreements.](#)

### Complying with Funding Agencies

We will deposit all National Institutes of Health or Wellcome Trust-funded papers into PubMedCentral on behalf of authors, meeting the requirements of their respective open access policies. If this applies to you, please tell our production team when you receive your article proofs, so we can do this for you. Check funders' open access policy mandates [here](#). Find out more about [sharing your work](#).

### My Authored Works

On publication, you will be able to view, download and check your article's metrics (downloads, citations and Altmetric data) via [My Authored Works](#) on Taylor & Francis Online. This is where you can access every article you have published with us, as well as your [free eprints link](#), so you can quickly and easily share your work with friends and colleagues. We are committed to promoting and increasing the visibility of your article. Here are some tips and ideas on how you can work with us to [promote your research](#).

### Article Reprints

You will be sent a link to order article reprints via your account in our production system. For enquiries about reprints, please contact the Taylor & Francis Author Services team at [reprints@tandf.co.uk](mailto:reprints@tandf.co.uk). You can also [order print copies of the journal issue in which your article appears](#).

### Queries

Should you have any queries, please visit our [Author Services website](#) or contact us [here](#).  
*Updated 20-04-2020*