

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

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS E CAULES DE *Piper arboreum* AUBLET
(PIPERACEAE)**

JACQUELINE IRIS VASCONCELOS COSTA

JOÃO PESSOA - PB

2015

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS E CAULES DE *Piper arboreum* AUBLET
(PIPERACEAE)**

JACQUELINE IRIS VASCONCELOS COSTA

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba como requisito para a obtenção do título de Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: Farmacoquímica.

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. MARIA CÉLIA DE OLIVEIRA CHAVES

JOÃO PESSOA – PB

2015

FICHA CATALOGRAFICA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS E CAULES DE *Piper arboreum* AUBLET
(PIPERACEAE)**

JACQUELINE IRIS VASCONCELOS COSTA

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Maria Célia de Oliveira Chaves
Universidade Federal da Paraíba – Orientadora

Prof.^a Dr.^a Danielly Alburquerque da Costa
Universidade Federal de Campina Grande – Examinador externo

Prof. Dr. Luiz Cesar Rodrigues
Universidade Federal de Paraíba – Examinador externo

Prof. Dr. Emidio Vasconcelos Leitão da Cunha
Universidade Federal de Paraíba – Examinador interno

Prof. Dr. Marcus Tullius Scotti
Universidade Federal de Paraíba – Examinador interno

AGRADECIMENTOS

À Deus, sempre presente, iluminando e guiando meus passos.

Aos meus pais Socorro e João Vasconcelos, pelo o amor, confiança e preocupação dedicados a mim ao longo desta caminhada e pelos esforços para proporcionar a realização dos meus sonhos.

Ao meu esposo, Cleber, pela cumplicidade, incentivo e paciência, principalmente na fase de elaboração da tese.

À Professora Maria Célia de Oliveira Chaves, seu exemplo de ética, decência, honestidade e paixão pela ciência certamente serão uma lembrança presente e atuante em toda minha vida. Muito obrigada pela confiança.

Às LTF Girls: Élide, Madalena, Jéssica, Paula, Rafaela, Ana Silvia, Sara, Vivi, Anne, Carol, Camila, Marianne e Clarice por toda ajuda, apoio, incentivo, pelos empréstimos das inúmeras vidrarias, solventes, entre outros para finalização deste trabalho, pelos momentos de descontração que tornou mais divertido, agradável e, principalmente pela amizade verdadeira que construímos, na qual cada uma torce e deseja a felicidade e sucesso para outra.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, pela ajuda na minha formação acadêmica,

Aos técnicos e funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) pela competência e apoio, fundamentais para o bom andamento de nossas pesquisas: Vicente Carlos, Wellington e Nonato.

À capes pelo apoio financeiro.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de forma direta ou indireta, viabilizaram a execução do meu trabalho e que sempre acreditaram em mim, sempre confiantes de que eu chegaria aonde cheguei. A todos, muito Obrigada!

RESUMO

O gênero *Piper* é o maior da família Piperaceae, suas espécies estão distribuídas especialmente na região neotropical do globo terrestre. A investigação fitoquímica de espécies de *Piper* originou inúmeros trabalhos científicos em várias partes do mundo, o que levou ao isolamento de diversos compostos bioativos tais como cavalactonas, lignoides, cromonas, flavonoides e chalconas, terpenos, esteroides, ácidos benzoicos prenilados, aristolactamas, fenilpropanoides e amidas. *Piper arboreum* é um arbusto ereto de aproximadamente 4,0 metros de altura. Popularmente é conhecida como fruto de morcego, alecrim-de-Angola, pau-de-Angola ou beto-preto e utilizada no Brasil na forma de decocto para o tratamento de reumatismo, bronquite, gripe e resfriado e empregada contra doenças venéreas e do trato urinário. Este trabalho reporta o estudo fitoquímico das folhas e caule de *P. arboreum* Aublet. Utilizando-se métodos cromatográficos usuais e técnicas espectroscópicas de IV, EM e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e a comparação dos dados com a literatura foi possível isolar e identificar das folhas e do caule de *Piper arboreum*, uma mistura de esteroides: β -sitosterol e estigmasterol, quatro aristolactamas: Piperolactama A, Piperolactama B, Piperolactama C e Cefaronona B, três fenilpropanoides: Ácido 3,4,5-trimetoxifenilpropanóico, Ácido 3,4-dimetoxifenilpropanóico e Ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenilpropanóico e três amidas: Arboreumina, *N*-(12,14-dimetoxi-13-hidroxi-dihidrocinamoil)- Δ^3 -piridin-2-ona e *N*-[12-(15,16-metilenedioxifenil)-8(*E*),10(*E*)-heptadienoil]-pirrolidina. Os dois últimos compostos estão sendo relatados pela primeira vez na literatura.

Palavras-chave: Piperaceae. *Piper arboreum* Aublet, Esteroides, Aristolactamas, Fenilpropanoides, Amidas

ABSTRACT

The genus *Piper* is the largest the family Piperaceae, its species are distributed especially in neotropical region of the globe. The phytochemical research of *Piper* species originated numerous scientific papers in many parts of the world, which led to the isolation of many bioactive compounds such as kavalactones, lignoids, chromones, flavonoids and chalcones, terpenes, steroids, prenylated benzoic acids, aristolactams, phenylpropanoids and amides. *Piper arboreum* is an erect shrub with about 4.0 meters high. It is popularly known as “fruto de morcego”, “alecrim-de-Angola”, “pau-de-Angola” or “beto-preto” and used in Brazil, in the form of decoction for the treatment of rheumatism, bronchitis, flu and colds and used against venereal and urinary tract diseases. This work reports the phytochemical study of the leaves and stem of *P. arboreum* Aublet. Using usual chromatographic methods and spectroscopic techniques of IR, MS, ¹H and ¹³C NMR and comparison with the literature data it was possible to isolate and identify from the leaves and stem of *Piper arboreum*, a mixture of steroids: β -sitosterol and stigmasterol, four aristolactams: Piperolactam A, Piperolactam B, Piperolactam C and Cefaronone B, three phenylpropanoids: 3,4,5-trimethoxyphenylpropanoic acid, 3,4-dimethoxyphenylpropanoic acid and 3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenylpropanoic acid and three amides: Arboreumine, *N*-(12,14-dimethoxy-13-hydroxydihydrocinamoil)- Δ^3 -pyridin-2-one and *N*-[12-(15,16-methylenedioxyphenyl)-8(*E*),10(*E*)-heptadienoil]-pyrrolidine. The last two compounds are being reported for the first time in the literature.

Keywords: Piperaceae. *Piper arboreum* Aublet. Steroids. Aristolactams. Phenylpropanoids. Amides

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica do gênero <i>Piper</i> L. (Fonte: http://data.gbif.org/species/) ...	28
Figura 2: Biossíntese do ácido cinâmico, adaptado de COSTA, 2003; NICARETA, 2006	29
Figura 3: Exemplos de Fenilpropanoides, adaptado de COSTA, 2003; NICARETA, 2006 ...	30
Figura 4: Proposta biossintética da piperina, adaptado de FERREIRA et al., 2012	31
Figura 5: Núcleo básico dos alcaloides derivados do ácido aristolóquico, adaptado de CUNHA & BARBOSA FILHO, 2007	33
Figura 6: Biogênese da Cefaranona A e do Ácido aristolóquico I, adaptado de CUNHA & BARBOSA FILHO, 2007.	34
Figura 7: Imagens de <i>Piper arboreum</i> Aublet.....	35
Figura 8: Estruturas químicas de Pa-1a e Pa-1b.....	59
Figura 10: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 0,65-2,50) de Pa-1a/Pa-1b.....	61
Figura 9: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-1a/Pa-1b.....	61
Figura 11: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 3,2-5,3) de Pa-1a/Pa-1b.....	62
Figura 12: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-1a/Pa-1b.....	62
Figura 13: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 65,0-79,0) de Pa-1a/Pa-1b.....	63
Figura 14: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 9,0-22,0) de Pa-1a/Pa-1b.....	63
Figura 15: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 102,0-150,0) de Pa-1a/Pa-1b.....	64
Figura 16: Piperolactama C	66
Figura 17: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-2.....	68
Figura 18: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 7,0-9,4) de Pa-2.....	68
Figura 19: Espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN ^1H x ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-2	69
Figura 20: Espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN ^1H x ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 7,5-9,3) de Pa-2.....	69
Figura 21: Espectro de Correlação Homonuclear NOESY RMN ^1H x ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-2	70

Figura 22: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear NOESY RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl ₃ , 500 MHz, δ_{H} 4,0-9,5) de Pa-2	70
Figura 23: Espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl ₃ , 125MHz) de Pa-2	71
Figura 24: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl ₃ , 125MHz, δ_{C} 60,2-63,8) de Pa-2	71
Figura 25: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl ₃ , 125MHz, δ_{C} 104,0-167,0) de Pa-2.....	72
Figura 26: Espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (CDCl ₃ , 500/125 MHz) de Pa-2	72
Figura 27: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-1 (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 4,5-4,7) de Pa-2.	73
Figura 28: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 7,1-9,2) de Pa-2	73
Figura 29:Espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl ₃ , 500/125 MHz) de Pa-2	74
Figura 30: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 3,9-4,6) de Pa-2	74
Figura 31: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 7,8-9,3) de Pa-2	75
Figura 32: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 9,1-9,3) de Pa-2	75
Figura 33: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 7,7-7,9) de Pa-2	76
Figura 34: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 7,5-7,9) de Pa-2	76
Figura 35: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl ₃ , 500/125 MHz, δ_{H} 7,1-7,2) de Pa-2	77
Figura 36: Piperolactama A.....	79
Figura 37: Espectro de RMN ^1H (CD ₃ OD, 500 MHz) de Pa-3.....	81
Figura 38: Expansão do espectro de RMN ^1H (CD ₃ OD, 500 MHz, δ_{H} 7,0-9,5) de Pa-3.....	81
Figura 39: Espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CD ₃ OD, 500 MHz) de Pa-3.....	82
Figura 40:Expansão do espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CD ₃ OD, 500 MHz, δ_{H} 3,5-10,0) de Pa-3	82

Figura 41: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD , 125 MHz) de Pa-3.....	83
Figura 42: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD 125 MHz, δ_{C} 107,0-136,0) de Pa-3	83
Figura 43: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CD_3OD , 500/125 MHz) de Pa-3	84
Figura 44: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 7,0-9,5) de Pa-3	84
Figura 45: Espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz) de Pa-3	85
Figura 46: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 7,8-9,3) de Pa-3	85
Figura 47: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 7,7-9,3) de Pa-3	86
Figura 48: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 7,2-7,9) de Pa-3	86
Figura 49: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 3,8-8,2) de Pa-3	87
Figura 50: Piperolactama B e Cefaranona A	90
Figura 51: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) de Pa-4/Pa-5	93
Figura 52: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz, δ_{H} 9,1-9,2) de Pa-4/Pa-5 ..	93
Figura 53: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz, δ_{H} 7,1-7,8) de Pa-4/Pa-5 ...	94
Figura 54: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz, δ_{H} 3,8-4,5) de Pa-4/Pa-5....	94
Figura 55: Espectro Correlação Homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY(CDCl_3 , 500MHz) de Pa-4/Pa-5.....	95
Figura 56: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz) de Pa-4/Pa-5	95
Figura 57: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 138,2-170,1) de Pa-4/Pa-5.....	96
Figura 58: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 127,5-135,0) de Pa-4/Pa-5.....	96
Figura 59: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 120,7-127,3) de Pa-4/Pa-5.....	97
Figura 60: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 105,8-111,5) de Pa-4/Pa-5.....	97

Figura 61: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 55,5-63,5) de Pa-4/Pa-5.....	98
Figura 62: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz) de Pa-4/Pa-5.....	98
Figura 63: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 7,5-9,2) de Pa-4/Pa-5.....	99
Figura 64: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,9-7,8) de Pa-4/Pa-5.....	99
Figura 65: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 3,9-4,5) de Pa-4/Pa-5.....	100
Figura 66: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz) de Pa-4/Pa-5.....	100
Figura 67: Expansão do Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 7,5-7,9) de Pa-4/Pa-5.....	101
Figura 68: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,9-9,1) de Pa-4/Pa-5.....	101
Figura 69: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 7,4-9,2) de Pa-4/Pa-5.....	102
Figura 70: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,9-7,2) de Pa-4/Pa-5.....	102
Figura 71: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 3,9- 4,5) de Pa-4/Pa-5.....	103
Figura 72: Ácido 3,4,5-trimetoxifenil-propanóico	105
Figura 73: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) de Pa-6.....	107
Figura 74: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz, δ_{H} 2,6-3,9) de Pa-6.....	107
Figura 75: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz) de Pa-6.....	108
Figura 76: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz) de Pa-6.....	108
Figura 77: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,6-4,0) de Pa-6.....	109
Figura 78: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz) de Pa-6.....	109
Figura 79: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,4-6,6) de Pa-6.....	110

Figura 80: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,2-6,5) de Pa-6.....	110
Figura 81: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,6-3,9) de Pa-6.....	111
Figura 82: Espectro de correlação heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,6-6,6) de Pa-6.....	111
Figura 83: Ácido 3,4-dimetoxifenil-propanoico.....	112
Figura 84: Espectro de RMN ^1H ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pa-7	114
Figura 85: Expansão do espectro de RMN ^1H ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz, δ_{H} 6,7-6,8) de Pa-7	114
Figura 86: Expansão do espectro de RMN ^1H ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz, δ_{H} 2,4-3,8) de Pa-7	115
Figura 87: Ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil-propanóico	117
Figura 88: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Pa-8.....	118
Figura 89: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz, δ_{H} 2,6-6,5) de Pa-8.....	118
Figura 90: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) de Pa-8.....	119
Figura 91: N-(12,14-dimetoxi-13-hidroxidihidrocinaoil)- Δ -3-piridin-2-ona.....	122
Figura 92: Espectro de massas obtido por ESI positivo (ION TRAP) de Pa-9.....	124
Figura 93: Espectro de IV em KBr de Pa-9.....	124
Figura 94: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) de Pa-9.....	125
Figura 95: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 5,5-6,9) de Pa-9.....	125
Figura 96: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 2,3-4,0) de Pa-9.....	126
Figura 97: Espectro de Correlação Homonuclear COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-9.....	126
Figura 98: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 1,8-7,2) de Pa-9	127
Figura 99: Espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-9.....	127
Figura 100: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 2,2-7,2) de Pa-9	128
Figura 101: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-9.....	128
Figura 102: Espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-9.....	129
Figura 103: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz,) de Pa-9	129
Figura 104: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 5,8-7,0) de Pa-9	130

Figura 105: Expansão do Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 2,3-4,1) de Pa-9	130
Figura 106: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-9	131
Figura 107: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 2,2-6,5) de Pa-9	131
Figura 108: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 2,2-6,5) de Pa-9	132
Figura 109: Arboreumina	133
Figura 110: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz), de Pa-10	135
Figura 111: Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz, δ_{H} 4,3-5,9), de Pa-10.	135
Figura 112: Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz, δ_{H} 1,0-2,6), de Pa-10.	136
Figura 113: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD , 200 MHz), de Pa-10	136
Figura 114: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD , 200 MHz, δ_{C} 18,0-53,0), e Pa-10	137
Figura 115: N-[12-(15,16-metilenedioxifenil)-8(E), 10(E)-heptadienoil-pirrolidina.....	140
Figura 116: Espectro de massas obtido por ESI positivo (ION TRAP) de Pa-11	142
Figura 117: Espectro de IV em KBr de Pa-11	142
Figura 118: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-11	143
Figura 119: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 5,6-6,7) de Pa-11 ...	143
Figura 120: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 1,7-3,5) de Pa-11 ...	144
Figura 121: Espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-11	144
Figura 122: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-11.....	145
Figura 123: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-11	145
Figura 124: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 100,0-148,0) de Pa-11	146
Figura 125: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 23,0-48,0) de Pa-11	146
Figura 126: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-11	147
Figura 127: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 5,6-6,8) de Pa-11	147

Figura 128: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 1,7-3,6) de Pa-11	148
Figura 129: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-11	148
Figura 130: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 3,0-6,8) de Pa-11	149
Figura 131: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 3,0-7,0) de Pa-11	149
Figura 132: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 1,7-6,8) de Pa-11	150

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação taxonômica da família Piperaceae.....	27
Tabela 2: Comparação dos dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-1a/Pa-1b com dados de RMN ^{13}C dos modelos da literatura (KOJIMA, 1990, CDCl_3 , 25 MHz).....	60
Tabela 3: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-2 registrados em CDCl_3	67
Tabela 4: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2 com modelo encontrado na literatura (DANELUTTE, et al., 2005).	67
Tabela 5: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-3 registrados em CD_3OD	80
Tabela 6: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-3 com modelo encontrado na literatura (LIN, et al., 2013).	80
Tabela 7: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-4 registrados em CDCl_3	91
Tabela 8: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-4 com modelo encontrado na literatura (KIM, et al., 2001).	91
Tabela 9: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-5 registrados em CDCl_3	92
Tabela 10: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-5 com modelo encontrado na literatura (COSTA, et al., 2011).	92
Tabela 11: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC, HMBC) de Pa-6 registrados em CDCl_3	106
Tabela 12: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-6 com modelo encontrado na literatura (FACUNDO, et al., 2008)	106
Tabela 13: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H de Pa-7 com modelo de Pa-6	113
Tabela 14: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-8 com Pa-6.....	117
Tabela 15: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) e ^1H x ^1H (COSY e NOESY) de Pa-9 registrados em CDCl_3	122
Tabela 16: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-9 (CDCl_3 , 500/125 MHz) com modelos encontrados na literatura COSTA, 2011 (CDCl_3 , 500/125 MHz) e DODSON, et al., 2000 (CDCl_3 , 270/68 MHz).....	123

Tabela 17: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-10 com modelo encontrado na literatura (SILVA, et al., 2002)	134
--	-----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classificação das amidas do gênero <i>Piper</i>	31
Quadro 2: Compostos isolados em <i>Piper arboreum</i> Aublet	37
Quadro 3: Cromatografia em coluna do Extrato Diclorometânico do caule de <i>P. arboreum</i> (m=20,0 g) Col-1	43
Quadro 4: Cromatografia em coluna da fr. 27-37 da col-1 (m=2,0 g) Col-1.1	44
Quadro 5: Cromatografia em coluna da fr. 21-42 da Col 1.1 (m=133,8 mg) _ Col-1.1.1.....	45
Quadro 6: Cromatografia em coluna da fr. 50-69 da Col 1.1 (m=160,0 mg) _ Col-1.1.2.....	45
Quadro 7: Cromatografia em coluna da fr. 70-82 da Col 1.1 (m=112,8 mg) _ Col-1.1.3.....	46
Quadro 8: Cromatografia em coluna da Fr 38-44 da Col 1 (m = 300,0 mg) - Col-1.2	47
Quadro 9: Cromatografia em coluna da Fr 45-61 da Col 1 (m=800,0 mg) _ Col-1.3.....	48
Quadro 10: Cromatografia em coluna da Fr 44-59 da Col 1.3 (m=164,5 mg) _ Col-1.3.1.....	49
Quadro 11: Cromatografia em coluna da Fr 81-101 da Col 1 (m=515,5 mg) - Col-1.4	50
Quadro 12: Cromatografia em coluna da Fr 34-41 da Col 1.4 (m=152,8 mg) - Col-1.4.1	51
Quadro 13: Cromatografia em coluna da Fase Diclorometânica das folhas de <i>P. arboreum</i> (m=15,0 g) - Col-2.....	52
Quadro 14: Cromatografia em coluna da Fr 63-67 da Col 2 (m=608,9 mg) - Col-2.1	53
Quadro 15: Cromatografia em coluna da Fr 12-14 da Col 2 (m=70,0 mg) - Col-2.1.1	53
Quadro 16: Cromatografia em coluna da Fr 68-70 da Col 2 (m=170,8 mg) - Col-2.2	54

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Obtenção de extratos do pó do caule de <i>Piper arboreum</i>	40
Esquema 2: Obtenção e partição do extrato etanólico bruto das folhas de <i>Piper arboreum</i>	41
Esquema 3: Fracionamento da Fr 27-37 da Col-1	46
Esquema 4: Fracionamento da Fr 38-44 da Col-1	47
Esquema 5: Fracionamento da fração 45-61 da Col-1	49
Esquema 6: Fracionamento da fração 81-101 da Col-1	51
Esquema 7: Fracionamento da Fase CH ₂ Cl ₂ das folhas	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

BB: Broad Band

CC: Cromatografia em Coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCDP: Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

CHCl₃: Clorofórmio

CH₂Cl₂: Diclorometano

COSY: *Correlation Spectroscopy*

d: Dubleto

dd: Duplo dubleto

dl: Dubleto largo

Hex: Hexano

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HMQC: *Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*

Hz: Hertz

J: Constante de acoplamento

KBr: Brometo de Potássio

LTF: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

m: Multiplete

CD₃OD: Metanol deuterado

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

NOESY: *Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*

ppm: partes por milhão

Rf: Fator de Retenção

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

s: Singleto

t: Tripleto

UV: Ultra Violeta

δ: Deslocamento Químico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	22
2. OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo geral.....	25
2.2 Objetivos específicos.....	25
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	27
3.1 Considerações sobre a família Piperaceae Baill.....	27
3.2 Considerações sobre o gênero <i>Piper</i> Linnaeus (Piper L.).....	27
3.2.1 Considerações gerais sobre os fenilpropanoides.....	29
3.2.2 Considerações gerais sobre as amidas.....	30
3.2.3 Considerações gerais sobre as aristolactamas.....	33
3.3 Considerações sobre a espécie <i>Piper arboreum</i> Aublet.....	35
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	40
4.1 Coleta e identificação do material botânico.....	40
4.2 Estudo fitoquímico de <i>Piper arboreum</i>	40
4.2.1 Preparação dos extratos do caule e folhas de <i>Piper arboreum</i>	40
4.2.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos.....	42
4.2.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato diclorometânico do caule de <i>Piper arboreum</i>	42
4.2.2.2 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometânica das folhas de <i>Piper arboreum</i>	51
4.2.3 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados.....	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
5.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos de <i>Piper arboreum</i> Aublet.....	58
5.1.1 Determinação estrutural de Pa-1a/Pa-1b.....	58
5.1.2 Determinação estrutural de Pa-2.....	65
5.1.3 Determinação estrutural de Pa-3.....	78
5.1.4 Determinação estrutural de Pa-4/Pa-5.....	88
5.1.5 Determinação estrutural de Pa-6.....	104
5.1.6 Determinação estrutural de Pa-7.....	112
5.1.7 Determinação estrutural de Pa-8.....	116
5.1.8 Determinação estrutural de Pa-9.....	120
5.1.9 Determinação estrutural de Pa-10.....	133
5.1.10 Determinação estrutural de Pa-11.....	138
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	152
7. REFERÊNCIAS.....	154

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Dentre as diversas formas de terapia para prevenção e cura de doenças, as plantas são, indubitavelmente, uma das mais utilizadas desde o início da humanidade, sendo inicialmente empregadas na forma natural, na preparação de chás, unguentos, emplastos e outras. Posteriormente, especialmente no início do século XIX, serviram como fonte de matéria-prima para síntese de fármacos. Mais recentemente, estas emergiram como peças-chave na descoberta de protótipos que servem de base racional para o desenvolvimento de medicamentos (VILEGAS & CARDOSO, 2007).

Durante o século XX, pesquisas químicas e farmacêuticas foram responsáveis pela cura ou alívio de diversos problemas de saúde, no entanto não puderam resolver os problemas da grande maioria da população mundial (VEIGA JUNIOR, 2008). Nos países em desenvolvimento, mais de 80% da população depende da medicina tradicional para suas necessidades de cuidados em saúde (GERMAN-CASTELLI, 2004).

O Brasil é o país com maior potencial para pesquisa com espécies vegetais, uma vez que detém a maior e mais rica biodiversidade do planeta, distribuída em seis biomas distintos (NOLDIN et al., 2006). Esta notável biodiversidade poderá vir a ser aproveitada para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, sejam estes fármacos, fitofármacos ou fitoterápicos (CECHINEL-FILHO & YUNES, 2001).

A relativa facilidade de coleta, a condição ambiental favorável para desenvolvimento sustentável, a biodiversidade estrutural de substâncias orgânicas naturais e a possibilidade de descoberta de princípios ativos entre tais constituintes químicos permitem diagnosticar e destacar as plantas brasileiras como a principal fonte renovável para o surgimento e desenvolvimento de novos fármacos, além de outros produtos que podem ser utilizados para finalidades sociais adicionais (BRAZ FILHO, 2010).

Analisando os medicamentos disponibilizados no mercado entre 1981 e 2002, observa-se que 28% destes possuem princípios ativos isolados de produtos naturais ou semi-sintéticos, ao passo que 24% são sintéticos com grupos farmacofóricos baseados em estruturas de produtos naturais. Portanto, mais da metade dos novos medicamentos lançados no referido período são derivados de produtos naturais, revelando a grande importância dessa

fonte nos estudos de desenvolvimento de novos medicamentos (NEWMAN et al., 2003; BRANDÃO et al., 2010).

Durante o último século vivenciou-se um imenso desenvolvimento no conhecimento das substâncias químicas presentes nos vegetais, material de estudo da Química de Produtos Naturais. Pode-se dizer que o estudo de espécies da família Piperaceae teve importante participação neste desenvolvimento. Desde os primeiros passos da pesquisa fitoquímica encontram-se espécies desta família, principalmente do gênero *Piper*, fazendo parte do material de estudo de pesquisadores, que têm desvendado substâncias de grande interesse comercial, medicinal e científico (SHU, 1998; PARMAR et al., 1997).

Compreendendo o potencial farmacológico das substâncias isoladas de espécies da família Piperaceae e reconhecendo a importância do gênero *Piper*, no qual suas espécies são amplamente utilizadas na medicina popular para diversas enfermidades, optou-se por estudar a espécie *Piper arboreum* Aublet, cujos estudos químicos e farmacológicos ainda são pouco conhecidos.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Contribuir para o conhecimento quimiotaxonômico da família Piperaceae especialmente do gênero *Piper*, através do estudo fitoquímico da *Piper arboreum*, dando continuidade ao trabalho de mestrado.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Isolar e purificar metabólitos secundários de *Piper arboreum* Aublet, utilizando métodos cromatográficos como: Cromatografia em Coluna e Cromatografia em Camada Delgada;
- ✓ Caracterizar estruturalmente os constituintes químicos de *P. arboreum*, através de métodos espectroscópicos como: Infravermelho, Massas e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C ;
- ✓ Integrar estudos biológicos ao estudo fitoquímico de *Piper arboreum* Aublet, através da disponibilização de seus extratos e/ou substâncias isoladas para realização de testes.

Fundamentação Teórica

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Considerações sobre a família Piperaceae Bail

A família Piperaceae, pertencente à ordem Piperales, constitui-se em uma das mais primitivas famílias entre as Angiospermas (WANKE et al., 2007). Compreende cerca de 14 gêneros e 1950 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo (MABBERLEY, 1997). No Brasil, ela é representada por aproximadamente 460 espécies pertencentes a cinco gêneros nativos: *Pothomorphe* Miq., *Sarcorrhachis* Trel., *Peperomia* Ruiz et Pav., *Ottonia* Spreng e *Piper* L. (MABBERLEY, 1997; ROSA & SOUZA, 2004). Quanto à classificação botânica, a família Piperaceae é classificada da seguinte forma (Quadro 1, p. 27).

Quadro 1: Classificação taxonômica da família Piperaceae

Classificação taxonômica	Táxon
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Piperales
Família	Piperaceae

Espécies de Piperaceae têm sido utilizadas na alimentação, como inseticidas e, também, na medicina tradicional devido ao acúmulo de diferentes classes de metabólitos biologicamente ativos, tais como fenilpropanoides, lignanas/neolignanas, pironas, amidas alifáticas e aromáticas, alcaloides, policetídeos e cromenos, além de outros metabólitos de biossíntese mista (BALDOQUI et al., 2009).

3.2 Considerações sobre o gênero *Piper* Linnaeus (*Piper* L.)

O gênero *Piper* é o maior da família Piperaceae, suas espécies estão distribuídas especialmente na região neotropical do globo terrestre, onde cerca de dois terços das espécies descritas são encontrados (Figura 1, p. 28). A maioria dos seus representantes habita lugares úmidos, quentes e várzeas de florestas tropicais e sua diversidade e abundância geralmente diminuem com o aumento da altitude ou com o decréscimo da precipitação (DYER & PALMER, 2004; JARAMILLO & MANOS 2001).

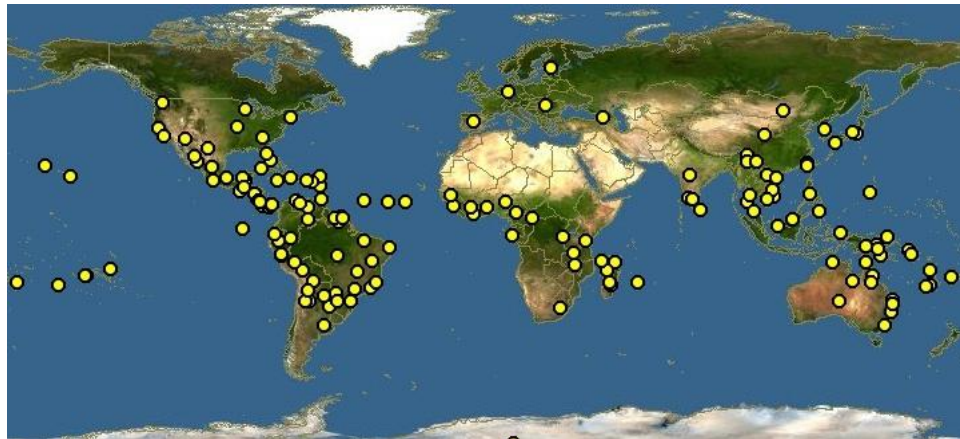


Figura 1: Distribuição geográfica do gênero *Piper* L. (Fonte: <http://data.gbif.org/species/>)

Espécies de *Piper* são utilizadas na medicina chinesa e nas práticas da medicina popular da América Latina e do Ocidente Indiano, sendo aplicadas para tratar a asma, bronquite, febre, doenças gastrointestinais, e reumatismo, e as preparações obtidas destas plantas têm demonstrado efeitos anti-inflamatório, inseticida, anti-hipertensivo, antidiabético, imunomodulador e antimutagênico (BEZERRA et al., 2008).

Pesquisas relataram vários compostos bioativos com atividade antimicrobiana (CORDOVA, et al., 2010; LEMOS et al., 2011), antioxidante (YAMAGUCHI et al., 2006), inseticida (SOUTO et al., 2006), tripanocida (MARTINS et al., 2002; BATISTA et al., 2008; LOPES et al., 2008) e antifúngica (LAGO et al., 2004; MARQUES et al., 2007).

A investigação fitoquímica de espécies de *Piper* originou inúmeros trabalhos científicos em várias partes do mundo, o que levou ao isolamento de diversos compostos bioativos, tais como cavalactonas (XUAN et al., 2008; WHITTON et al., 2003), lignoides (CHEN et al., 2007; BODIWALA et al., 2007), cromonas (MORANDIM et al., 2005), flavonoides e chalconas (LAGO et al., 2007; ALVES, 2004; CHAVES et al., 2010), terpenos (BALDOQUI et al., 2009; PÉRES et al., 2009), esteroides (PARMAR et al., 1997), ácidos benzoicos prenilados (LAGO et al., 2009; CHAVES et al., 2010), aristolactamas (CARDOSO, et al., 2002; CHAVES et al., 2006), fenilpropanoides (CHAVES et al., 2002; SANTOS et al., 1997), e ainda amidas (ARAÚJO-JÚNIOR, et al., 1997; SANTOS, et al., 1998; CHAVES et al., 2001; 2003; SRINIVASAN, et al., 2007; COTINGUIBA et al., 2009), sendo estes os metabólitos mais característicos deste gênero.

3.2.1 Considerações gerais sobre os fenilpropanoides

Grande parte dos metabólitos secundários encontrados no gênero *Piper* é proveniente da via do chiquimato (HERRMANN & WEAVER, 1999; NAVARRO, 2009), o qual é formado pela condensação aldólica de uma molécula de fosfoenolpiruvato (PEP) com uma molécula de eritrose 4-fosfato (NICARETA, 2006). A via do chiquimato forma o ácido chiquímico como intermediário e é responsável pela biossíntese de compostos aromáticos, incluindo três importantes aminoácidos: *L*-fenilalanina, a *L*-tirosina e o *L*-triptofano. A *L*-fenilalanina sofre perda do grupo amino levando à formação do ácido cinâmico (Figura 2, p. 29) (HERRMANN & WEAVER, 1999; NAVARRO, 2009).

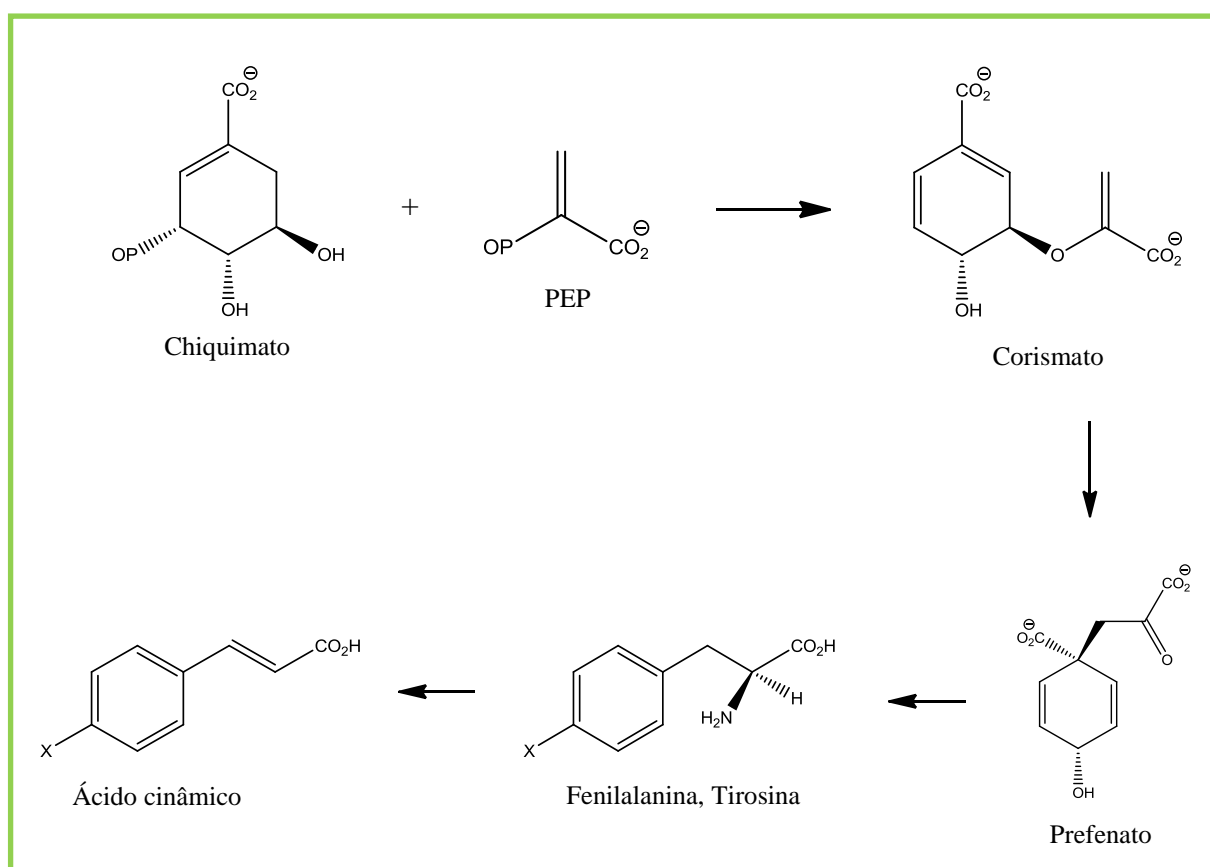


Figura 2: Biossíntese do ácido cinâmico, adaptado de COSTA, 2003; NICARETA, 2006

Muitos fenilpropanoides são derivados do ácido cinâmico (DEWICK, 2001), através de reações de hidroxilação e metilação (Figura 3, p. 30) (COSTA, 2003).

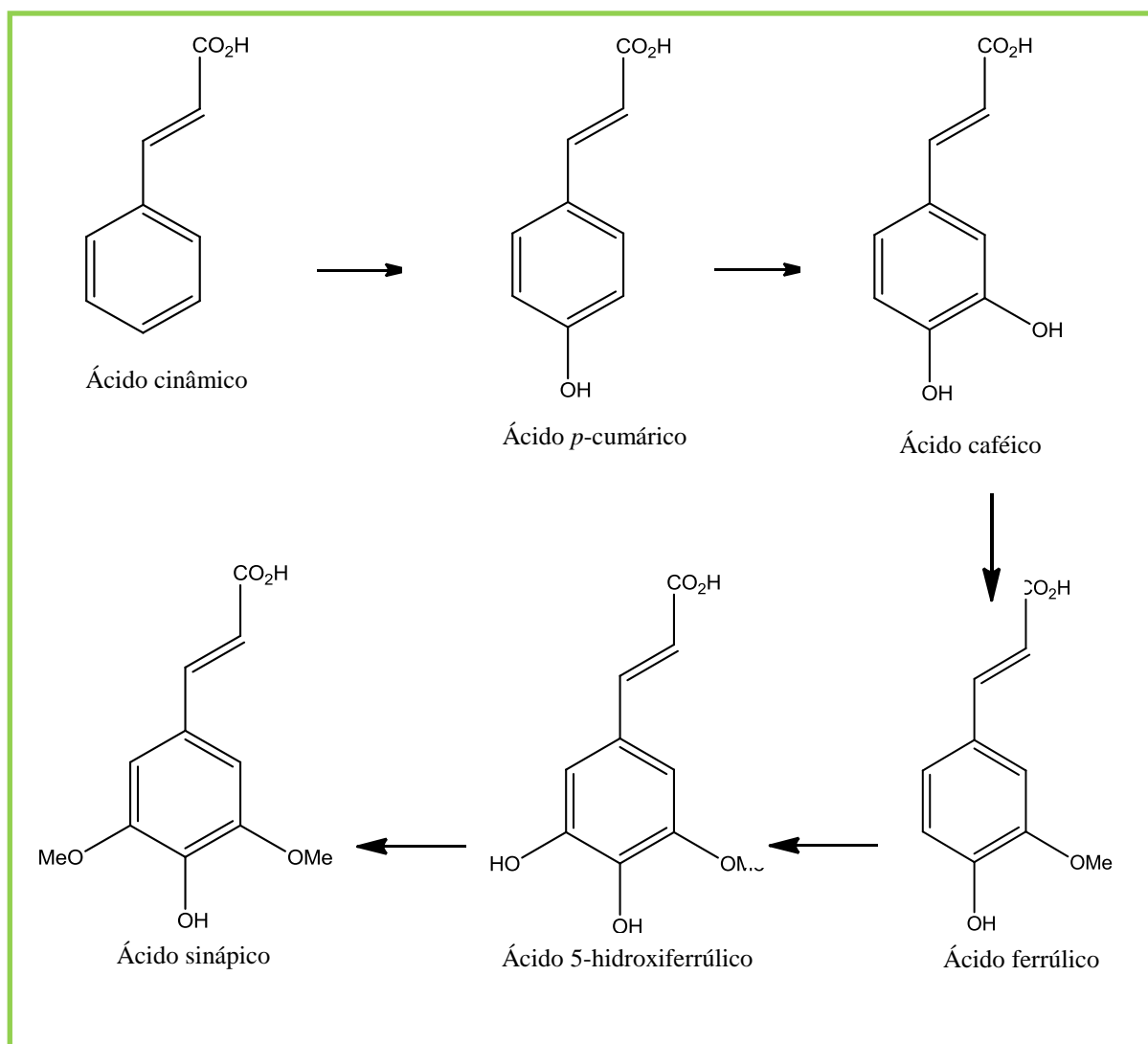


Figura 3: Exemplos de fenilpropanoídeos, adaptado de COSTA, 2003; NICARETA, 2006

Os fenilpropanoídeos, além de participarem da composição de óleos voláteis, podem gerar grande variedade de substâncias, entre as quais podem ser citadas as lignanas, cumarinas e amidas (DEWICK, 1997; NAVARRO, 2009).

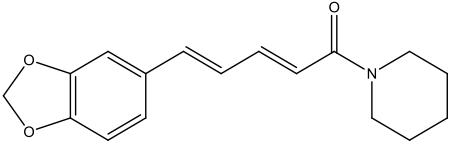
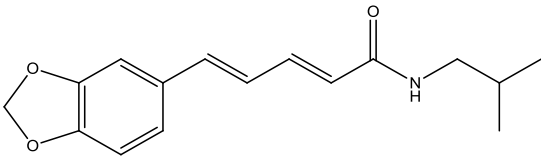
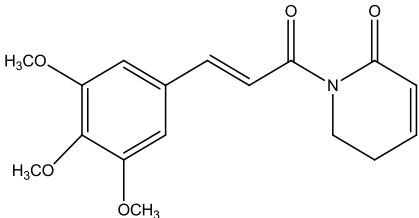
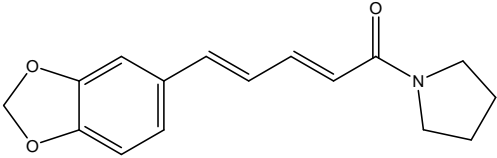
3.2.2 Considerações gerais sobre as amidas

Apesar de o gênero *Piper* produzir metabólitos secundários de diversas classes, as amidas são consideradas os constituintes mais comuns das espécies desse gênero. A piperina, primeira amida isolada, é a mais conhecida. (PARMAR et al., 1997).

As amidas isoladas do gênero *Piper* possuem algumas características estruturais comuns e são classificadas em piperídnicas, isobutílicas, piridônicas e pirrolidínicas (Quadro 1, p. 31), com potencial inseticida, moluscicida, antifúngica, (DYER & PALMER, 2004;

KATO & FURLAN, 2007), ansiolítico, antidepressiva (NAVICKIENE et al., 2003; PARK et al., 2007; FELIPE, 2007; YAO et al., 2009), antitumoral (BEZERRA et al., 2008; MATSUDA et al., 2008), dentre outras atividades.

Quadro 1: Classificação das amidas do gênero *Piper*

Classificação/ Nomeclatura	Estrutura	Referências
Piperidínica Piperina		FERREIRA et al., 2012
Isobutílica Piperlongumina		MARQUES, 2009
Piridônica Piplartina		DODSON et al., 2000
Pirrolidínica N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(E), 9(E)-pentadienoil]-pirrolidina)		SILVA et al., 2002

Com relação à rota biosintética das amidas, existem poucos relatos na literatura, todavia sua biossíntese esta diretamente relacionada com a classe a qual pertence. Estudos tem possibilitado caracterizar diversos grupos de Piperaceae contendo amidas, oriundos das vias do chiquimato (RESEM et al., 2004). Na Figura 4 (p. 32) tem-se a proposta biosintética da piperina (FERREIRA et al., 2012).

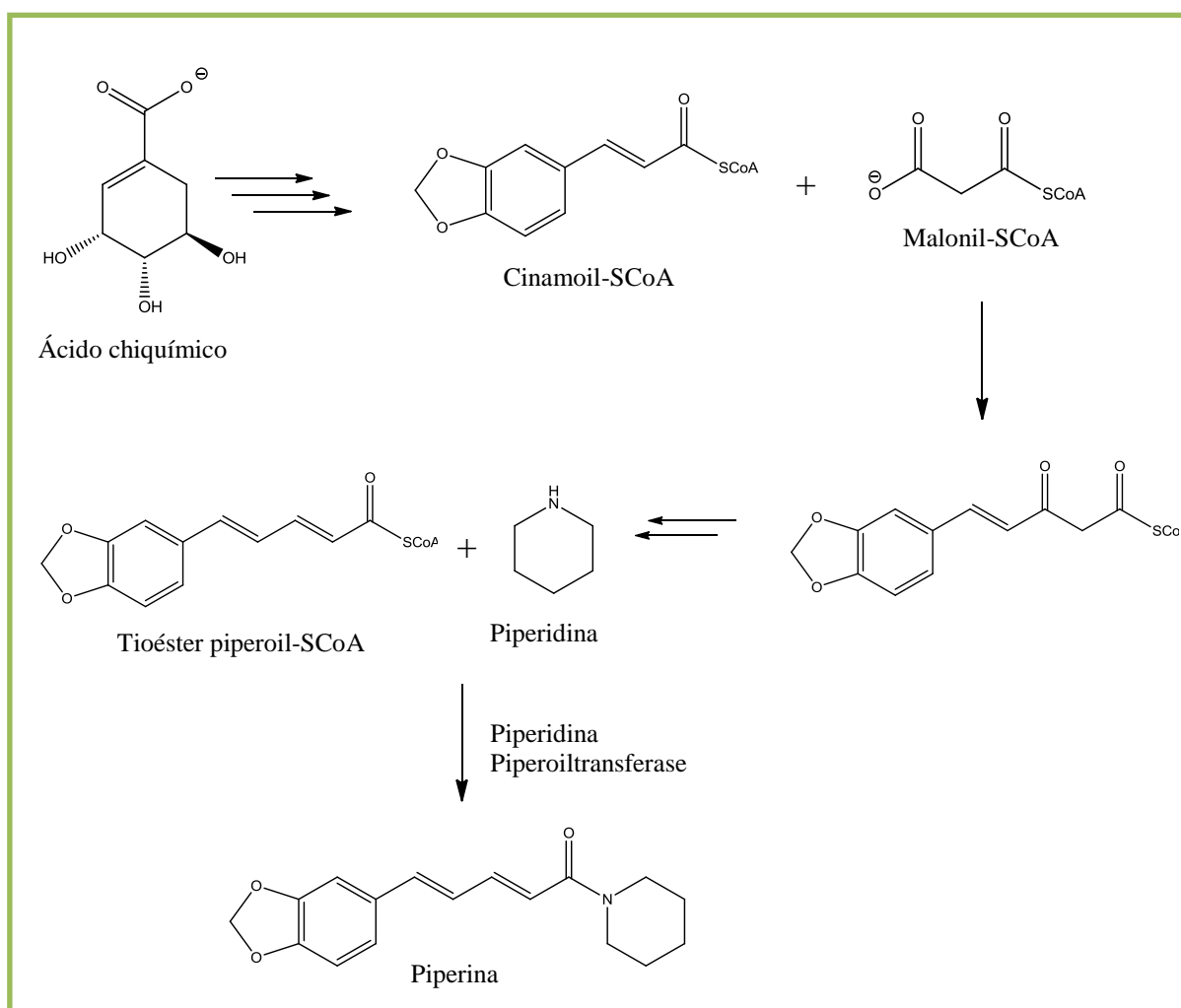


Figura 4: Proposta biossintética da piperina, adaptado de FERREIRA et al., 2012

O ácido pipérico, porção acil da molécula da piperina, tem como precursor o respectivo derivado cinamoil-SCoA, o qual é biossintetizado a partir do ácido chiquímico, podendo apresentar diferentes padrões de oxigenação no anel aromático (nos carbonos 3, 4 e 5), sendo que o anel 3,4-metilenodioxo é bastante comum na classe dos fenilpropanoides (C6-C3). Após reação do derivado cinamoil-SCoA com uma unidade de malonil-SCoA, seguida da redução da enona e de uma β-eliminação, obtém o tioéster piperoil-SCoA, que reage com piperidina, formando a piperina (GEISLER & GROSS, 1990; DEWICK, 2001; FERREIRA et al., 2012).

3.2.3 Considerações gerais sobre as Aristolactamas

As aristolactamas são alcaloides derivados do núcleo isoquinolínico, mais especificamente do núcleo 1-benzilisoquinolínico, constituem a classe de alcaloides com a segunda maior diversidade estrutural na natureza (CORDELL et al., 2001). Restrito às famílias Annonaceae, Monimiaceae, Menispermaceae e Piperaceae (KUMAR et al., 2003).

Quimicamente as aristolactamas são derivados fenantrênicos, contendo um grupamento amida ciclizado; com substituições nas posições C-2, C-3, C-4, C-6 e C-8 (WU et al., 1997, KUMAR et al., 2003). Em *Piper* as substituições são restritas aos carbonos C-2, C-3, C-4 e C-6.

Dois diferentes tipos de esqueletos de alcaloides desse subgrupo já foram descritos na literatura. Tratam-se dos derivados do ácido aristolóquico propriamente dito e das aristolactamas. Os núcleos básicos destes dois tipos de substâncias podem ser vistos na Figura 5.

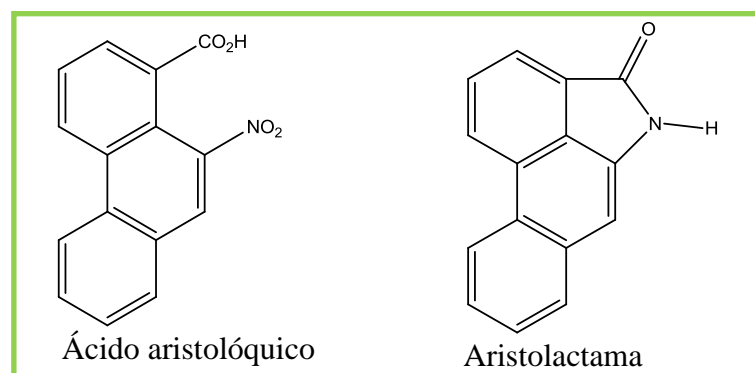


Figura 5: Núcleo básico dos alcaloides derivados do ácido aristolóquico, adaptado de CUNHA & BARBOSA FILHO, 2007

Sabe-se muito pouco acerca da biossíntese das aristolactamas. Entretanto, são relacionadas biogeneticamente com alcaloides aporfínicos. A idéia mais aceita atualmente é que os 4,5-dioxoaporfina são biossintetizadas por oxidação das aporfina e podem funcionar como intermediários para a biossíntese das aristolactamas, que por sua vez, são os precursores dos ácidos aristolóquicos (KUMAR, 2003). A biogênese desse grupo de compostos pode ser visto na Figura 6 (p. 34).

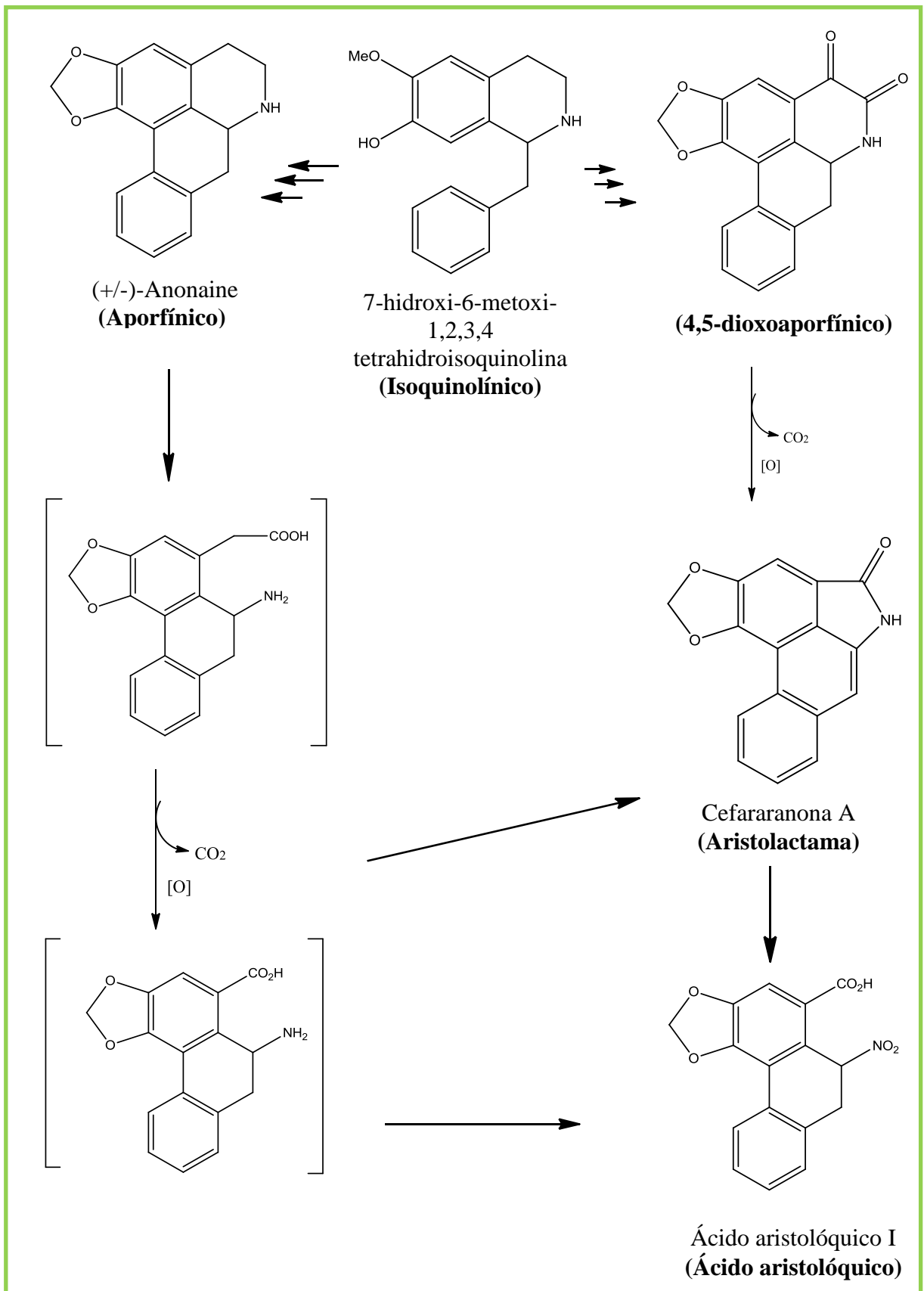


Figura 6: Biogênese da Cefaranona A e do Ácido aristolóquico I, adaptado de CUNHA & BARBOSA FILHO, 2007.

As aristolactamas demonstram potenciais propriedades medicinais, entre estes anti-inflamatório, antiplaquetária, neuroprotetor, atividades anticancerígenas (CHOI et al., 2009; URZUA, et al.; 2013), antioxidante (YAMAGUCHI et al., 2006; TABOPDA et al., 2008) e citotóxica (SUN et al., 1987; DUH et al., 1990; RUANGRUNGSI et al., 1992; TABOPDA et al., 2008).

3.3 Considerações sobre a espécie *Piper arboreum* Aublet

Arbusto ereto de aproximadamente 4,0 metros de altura (Figura 7), com hastes cilíndricas lisas e nodosas de coloração marrom claro. A folha é completa, com bainha proeminente. O limbo tem formato lanceolado, nervação reticulada, bordo inteiro, base inequilátera e ápice acuminado. O pecíolo possui duas pequenas expansões laminares na face adaxial. (SOUZA et al., 2009). Em algumas comunidades brasileiras, a decocção de *P. arboreum*, popularmente conhecida como fruto de morcego, alecrim-de-Angola, pau-de-Angola ou beto-preto (AGRA et al., 2008), tem sido usada para o tratamento de reumatismo, bronquite, gripe e resfriado (RAMOS & KATO, 2009) além de também ser empregada contra doenças venéreas e do trato urinário (REGASINI et al., 2009a).

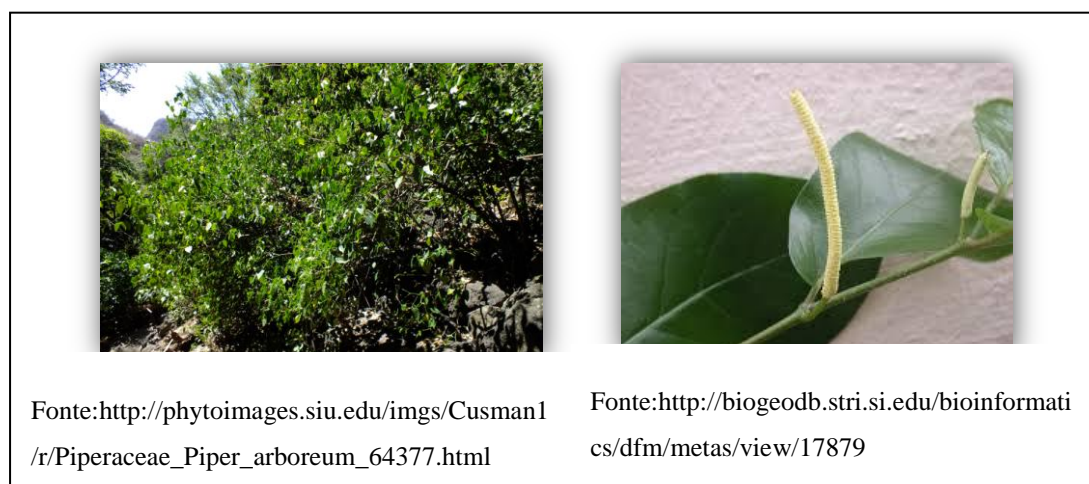


Figura 7: Imagens de *Piper arboreum* Aublet

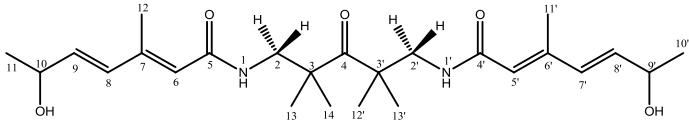
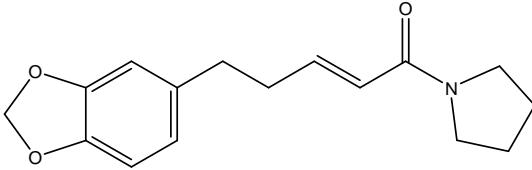
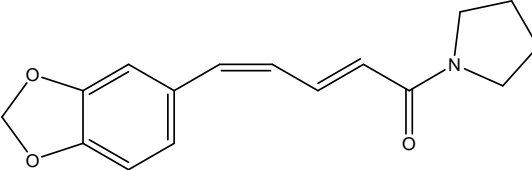
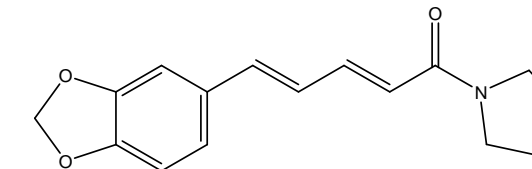
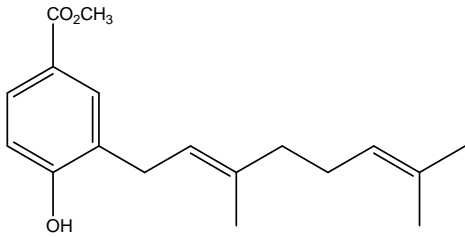
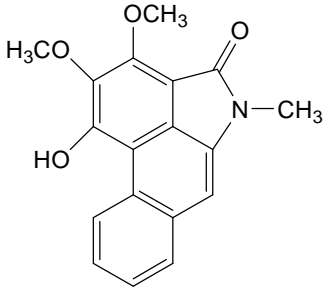
As investigações fitoquímicas anteriores em folhas de *P. arboreum*, levou à identificação das amidas: Arboreumina; *N*-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(*E*)-pentaenoil]-pirrolidina; *N*-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(*E*), 9(*Z*)-pentadienoil]-pirrolidina e *N*-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(*E*), 9(*E*)-pentadienoil]-pirrolidina (SILVA et al., 2002) e um derivado do ácido benzoico o Metil 3-geranil-4-hidroxibenzoato (RAMOS & KATO, 2009). Estudos realizados com o caule conduziram ao isolamento de duas aristolactamas: 10-

Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama e 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-Ácido carboxílico-lactama e quatro amidas piridônicas: Piplaroxide, Sintenpiridona, 3,4-Epoxi-8,9-dihidropiplartina e 8,9 Dihidropiplartina (COSTA, 2011).

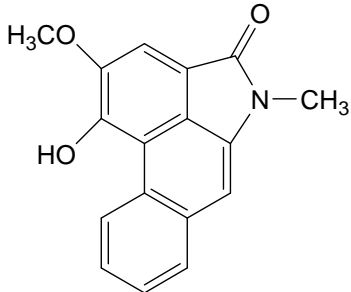
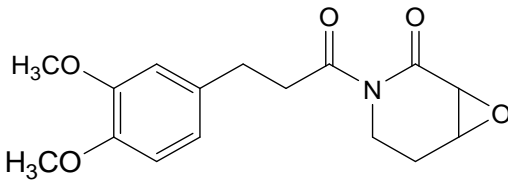
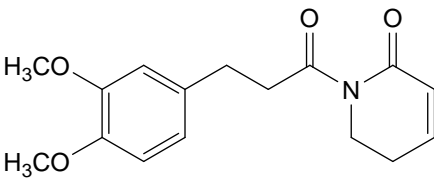
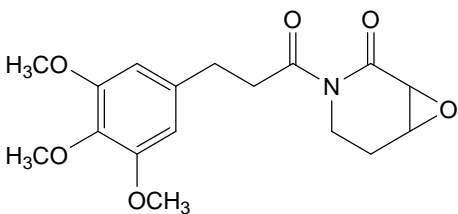
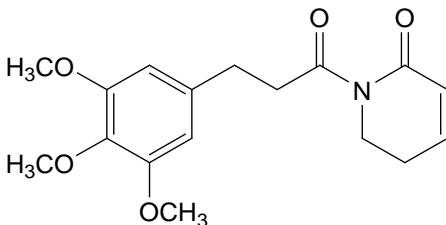
Das amidas Arboreumina; *N*-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(*E*)-pentaenoil]-pirrolidina; *N*-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(*E*), 9(*Z*)-pentadienoil]-pirrolidina) identificou-se a atividade antifúngica contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* (SILVA, et al., 2002). As amidas (*N*-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(*E*)-pentaenoil]-pirrolidina e *N*-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(*E*), 9(*E*)-pentadienoil]-pirrolidina) demonstram ainda efeito tripanomicida (REGASINI et al., 2009b). *P. arboreum* também foi estudada quanto à atividade leishmanicida, apresentando uma inibição de 76% da proliferação do parasita (KAPLAN, 1996; FERNANDES, 2006). Além disso, a fração hexânica das folhas apresentou uma potencial atividade antimicrobiana, baseada no efeito tóxico contra quatro leveduras oportunistas (*Candida albicans*, *Candida Krusei*, *Candida parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans*) (REGASINI et al., 2009a).

Extratos e fases de *Piper arboreum* mostraram uma expressiva capacidade para modular a atividade de fármacos anti-microbianos de forma sinérgica ou antagonista, o que representa uma alternativa aos esforços para controlar as doenças infecciosas causadas por cepas multirresistentes de fungos e bactérias (TINTINO et al., 2014).

Quadro 2: Compostos isolados em *Piper arboreum* Aublet

Nomeclatura	Estrutura	Referências
Arboreumina		SILVA et al., 2002
N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(<i>E</i>)-pentaenoil]-pirrolidina		SILVA et al., 2002
N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(<i>E</i>), 9(<i>Z</i>)-pentadienoil]-pirrolidina		SILVA et al., 2002
N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(<i>E</i>), 9(<i>E</i>)-pentadienoil]-pirrolidina		SILVA et al., 2002
Metil 3-geranil-4-hidroxi-benzoato		RAMOS & KATO, 2009
10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantren o-1-ácido carboxílico-lactama		COSTA, 2011

Quadro 2: (Continuação) Compostos isolados em *Piper arboreum* Aublet

Nomeclatura	Estrutura	Referências
<p>10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-Ácido carboxílico-lactama</p>		<p>COSTA et al., 2011</p>
<p>Piplaroxide</p>		<p>COSTA et al., 2011</p>
<p>Sintenpiridona</p>		<p>COSTA et al., 2011</p>
<p>3,4-Epoxi-8,9-dihidropipltartina</p>		<p>COSTA et al., 2011</p>
<p>8,9 Dihidropipltartina</p>		<p>COSTA et al., 2011</p>

Parte Experimental

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Coleta e identificação do material botânico

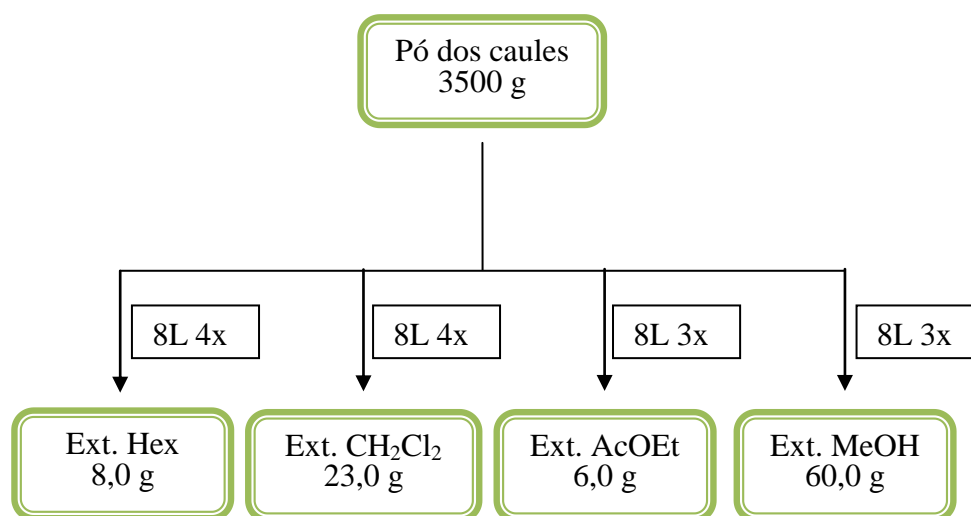
As folhas e caules de *Piper arboreum* Aubl. foram coletados em março de 2010 na reserva ecológica de Gaiambira no município de Bananeiras, Paraíba (PB). Esta espécie foi identificada pelo Professor Dr. Carlos Alberto Garcia e uma exsicata (C.A. Garcia 205) foi depositada no Herbário do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande.

4.2 Estudo fitoquímico de *Piper arboreum*

Após coletado, o material botânico de *Piper arboreum* Aublet, foi desidratado em estufa com ar circulante a temperatura média de 45°C, por 72 horas, as folhas e os caules foram submetidos a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo 3,5 Kg do pó dos caules e 3,0 Kg do pó das folhas.

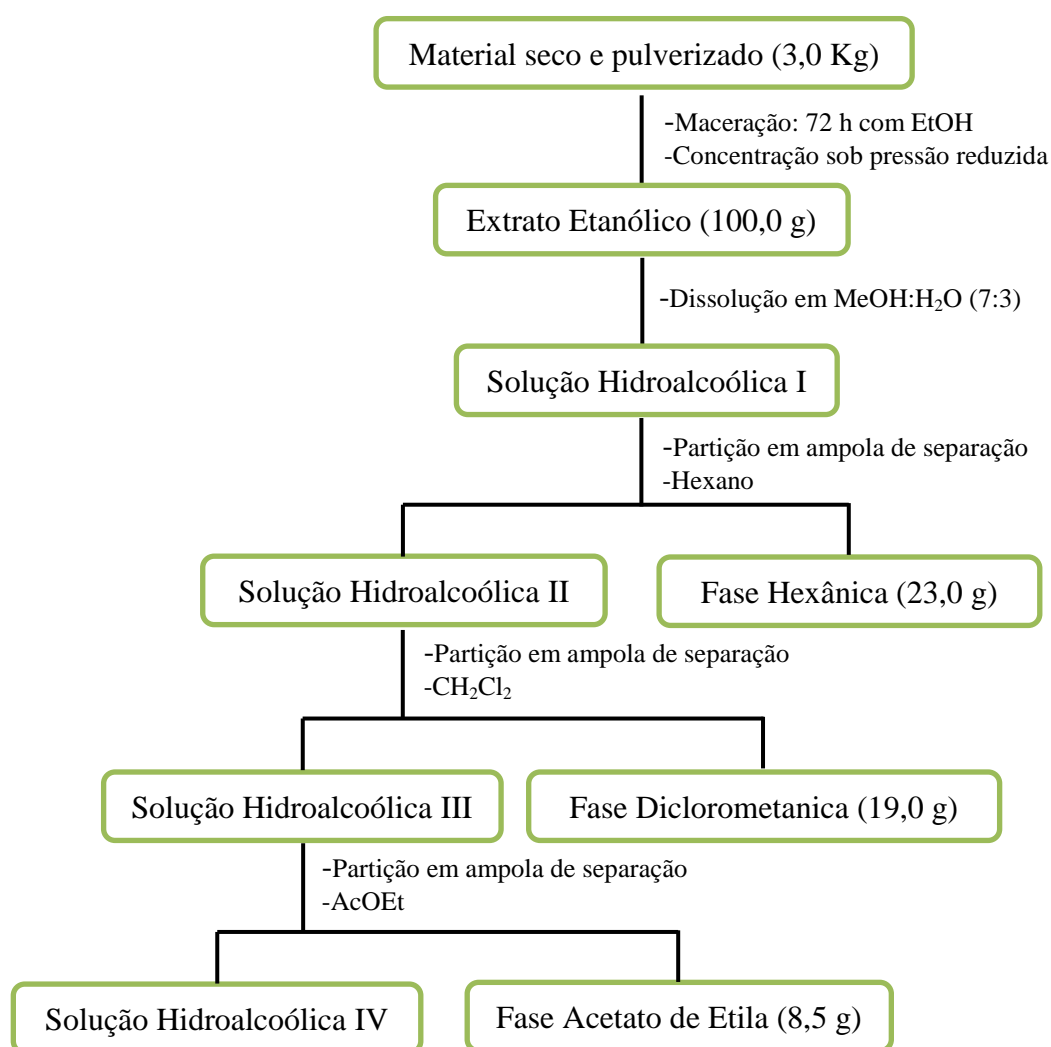
4.2.1 Preparação dos extratos dos caules e folhas de *Piper arboreum*

Os caules seco e pulverizados (3,50 Kg) foram submetidos à maceração exaustiva com hexano (Hex), diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), consecutivamente. As soluções extrativas foram concentradas com auxílio de evaporador rotativo, a temperatura média de 45°C. Após esse processo de evaporação do solvente, obtiveram-se os extratos: hexânico, diclorometânico, acetato de etila e metanólico (Esquema 1).



Esquema 1: Obtenção de extratos do pó do caule de *Piper arboreum*

As folhas secas e pulverizadas (3,0 Kg) foram submetidas à maceração exhaustiva com etanol por três dias consecutivos, sendo este processo repetido por quatro vezes até a máxima extração dos constituintes químicos. A solução extrativa obtida foi concentrado em rotaevaporador, resultando no extrato etanólico bruto (121,0 g), uma alíquota de 100 g foi solubilizado em MeOH:H₂O (7:3), obtendo-se a solução hidroalcoólica. Esta foi submetida a partição líquido/líquido, em uma ampola de separação, utilizando-se os solventes hexano (Hex), diclorometano (CH₂Cl₂) e acetato de etila (AcOEt) separadamente. Após este processo, estas foram evaporadas em rotaevaporador, sob pressão reduzida, a temperatura inferior a 50 °C, fornecendo as fases: hexânica (23,0 g), diclorometânica (19,0 g), e acetato de etila (8,5 g), respectivamente (Esquema 2, p. 41).



Esquema 2: Obtenção e partição do extrato etanólico bruto das folhas de *Piper arboreum*

4.2.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos

O isolamento, a purificação e a análise de pureza dos constituintes químicos de *Piper arboreum* foram realizados utilizando métodos cromatográficos: Cromatografia em Coluna (CC), Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) e Preparativa (CCDP).

Os adsorventes sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh), foram utilizados como fase estacionária para a CC, tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Para as cromatografias em coluna a média pressão utilizou-se o aparelho Buchi Pump Maager C_615 e para fase estacionaria utilizou-se sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh). Como fase móvel, nos processos cromatográficos, foram utilizados solventes comerciais destilados no setor de destilação de solventes do Laboratório de Fitoquímica da UFPB, tais como hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em mistura.

A CCDA foi empregada para análise e reuniões de frações, e a CCDP para purificação das frações obtidas por CC. Como suportes foram utilizadas placas de vidro com dimensões de 5x20, 10x20 e 20x20 cm, e como fase fixa, uma suspensão de sílica gel PF₂₅₄ 7749 (Merck) em água destilada,

As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm por meio de aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58 como também impregnação das placas em cubas de vidro, saturadas por vapor de iodo. O monitoramento das substâncias através do fator de retenção (Rf) na CCDA foi o método adotado para reunir as frações coletadas durante a cromatografia em coluna.

Para definir o grau de pureza das substâncias isoladas, fez-se o uso de CCDA utilizando-se vários sistemas de solventes.

4.2.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato diclorometânico dos caules de *Piper arboreum*

O extrato diclorometânico (20 g) foi submetido a cromatografia em coluna (Col-1) empacotada com sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e como

fase móvel foi utilizado hexano, diclorometano, acetato de etila e Metanol, puros ou em mistura binária em crescente gradiente de polaridade, obtendo-se 164 frações.

As frações da Col-1 foram analisadas através de CCDA utilizando diferentes sistemas de eluição, após análise a luz Ultravioleta (UV) e impregnação com vapores de iodo, foram reunidas em grupos de frações de acordo com os fatores de retenção (Rf) (Quadro 3).

A fração 13-17 apresentou-se na forma de cristais brancos sendo codificada como Pa-1.

Quadro 3: Cromatografia em coluna do extrato diclorometânico dos caules de *P. arboreum* (m=20,0 g) Col-1

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1-6; 7-10;
2-3	Hex:CH ₂ Cl ₂	75:25	11-12; 13-17;
4	Hex:CH ₂ Cl ₂	70:30	18-19; 20-26;
5-6	Hex:CH ₂ Cl ₂	60:40	27-37; 38-44;
7-14	Hex:CH ₂ Cl ₂	50:50	45-61; 62-80;
15-17	Hex:CH ₂ Cl ₂	40:60	81-101; 102-118;
18-31	Hex:CH ₂ Cl ₂	30:70	119-122; 123-128;
32-38	Hex:CH ₂ Cl ₂	20:80	129-133; 134-140;
39-48	Hex:CH ₂ Cl ₂	10:90	141-149; 150-154;
49-54	CH ₂ Cl ₂	100	155-159; 160-164
55-59	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	97,5:2,5	
60-61	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	95:5	
62-67	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	90:10	
68-73	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	85:15	
74-78	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	80:20	
79-85	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	75:25	
86-90	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	70:30	
91-95	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	65:35	
96-100	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	60:40	
101-110	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	55:45	
111-120	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	50:50	
121-125	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	40:60	
126-130	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	30:70	
131-136	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	20:80	
137-141	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	10:90	
142-146	AcOEt	100	
147-150	AcOEt:MeOH	95:5	
151-156	AcOEt:MeOH	90:10	
157-160	AcOEt:MeOH	80:20	
161-164	AcOEt:MeOH	70:30	

Fracionamento da fração 27-37 da Col-1

A fração 27-37 (2000 mg) da Col-1 foi submetida a cromatografia em coluna (Col-1.1) de sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), utilizando-se como eluentes Hex; AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 169 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas após CCDA, de acordo com seus fatores de retenção (Rfs), em 21 grupos de frações (Quadro 4, p. 44).

Quadro 4: Cromatografia em coluna da fr. 27-37 da col-1 (m=2,0 g) Col-1.1

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
-	Hex	100	1-2; 3-5;
-	Hex:AcOEt	98:2	6-11; 12-14;
-	Hex:AcOEt	96:4	15-20; 21-42 ;
1	Hex:AcOEt	94:6	43-49; 50-69 ;
2	Hex:AcOEt	92:8	70-82 ; 83-97;
3-5	Hex:AcOEt	90:10	98-106; 107-113;
6-7	Hex:AcOEt	88:12	114-118; 119-123;
8-14	Hex:AcOEt	86:14	124-128; 129-133;
15-20	Hex:AcOEt	84:16	134-137; 138-153;
21-30	Hex:AcOEt	82:18	154-157; 158-159;
31-48	Hex:AcOEt	80:20	160-169
49-67	Hex:AcOEt	75:25	
68-76	Hex:AcOEt	70:30	
77-85	Hex:AcOEt	65:35	
86-94	Hex:AcOEt	60:40	
95-100	Hex:AcOEt	55:45	
101-108	Hex:AcOEt	50:50	
109-116	Hex:AcOEt	40:60	
117-127	Hex:AcOEt	30:70	
128-135	Hex:AcOEt	20:80	
136-143	Hex:AcOEt	10:90	
144-152	AcOEt	100	
153-155	AcOEt:MeOH	95:5	
156-157	AcOEt:MeOH	90:10	
158-161	AcOEt:MeOH	80:20	
162-165	AcOEt:MeOH	85:25	
166-169	AcOEt:MeOH	70:30	

A fração 21-42 da Col-1.1 foi cromatografada em coluna (Col-1.1.1) utilizando como fase estacionária sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh), e eluída com Hex e AcOEt puros ou em misturas binárias. Foram recolhidas 48 frações que após análise em CCDA foram reunidas em 7 grupos de frações (Quadro 5, p. 45). A

substância presente na fração 9-22 da Col-1.1.1 foi purificada utilizando CC e como fase estacionária sephadex, eluída com CH₂Cl₂:MeOH (1:1), obtendo-se 10,0 mg de Pa-2 em forma de cristais brancos (Esquema 3, p. 46).

As frações 50-69 (160,0 mg) e 70-82 (112,8 mg) da Col-1.1 foram submetidas a CC (Col-1.1.2 e Col-1.1.3, respectivamente), utilizando sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh) como fase estacionária e eluídas com Hex, AcOEt e MeOH. As frações recolhidas destas colunas foram reagrupadas de acordo com os Rfs, quando analisadas em CCDA (Quadro 6 e 7, p. 45 e 46).

A fração 9-10 da Col-1.1.2 foi submetida à Cromatografia em Camada delgada Preparativa (CCDP) utilizando como sistema de eluição Hex /AcOEt (75:25) e a subfração 9-10.2 apresentou significativo grau de pureza quando analisada em CCDA e recebeu o código de Pa-6 (Esquema 3, p. 46). Já a fração 7-8 da Col-1.1.3 apresentou-se na forma de cristais brancos e foi codificada como Pa-7 (Esquema 3, p. 46).

Quadro 5: Cromatografia em coluna da fr. 21-42 da Col 1.1 (m=133,8 mg) _ Col-1.1.1

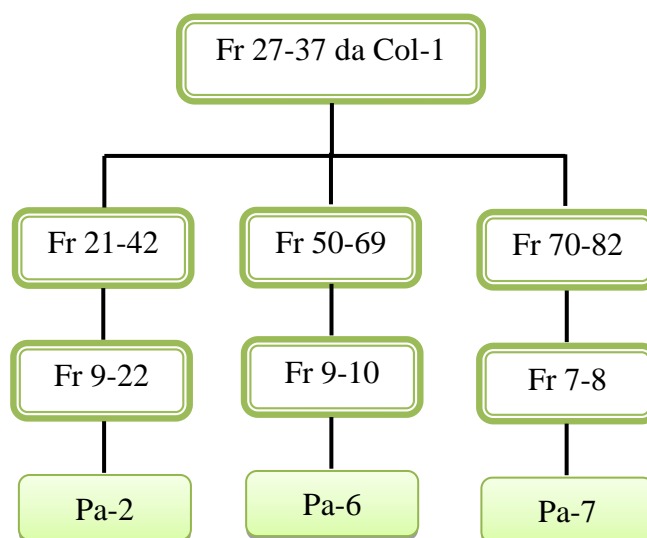
Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex:AcOEt	95:5	1-2; 3;
2-19	Hex:AcOEt	93:7	4-8; 9-22 ;
20-30	Hex:AcOEt	90:10	23-42; 43-47;
31-36	Hex:AcOEt	85:15	48
37-38	Hex:AcOEt	80:20	
39-41	Hex:AcOEt	70:30	
42-44	Hex:AcOEt	50:50	
45-46	Hex:AcOEt	25:75	
47-48	AcOEt	100	

Quadro 6: Cromatografia em coluna da fr. 50-69 da Col 1.1 (m=160,0 mg) _ Col-1.1.2

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex:AcOEt	95:5	1-2; 3-4;
2-3	Hex:AcOEt	93:7	5-8; 9-10 ;
4-6	Hex:AcOEt	90:10	11-14; 15-18;
7-8	Hex:AcOEt	88:12	19-22; 23-32;
9-12	Hex:AcOEt	86:14	33-39; 40
13-19	Hex:AcOEt	84:18	
20-33	Hex:AcOEt	80:20	
34-36	Hex:AcOEt	75:25	
37-38	Hex:AcOEt	50:50	
39	AcOEt	100	
40	AcOEt:MeOH	70:30	

Quadro 7: Cromatografia em coluna da fr. 70-82 da Col 1.1 (m=112,8 mg) _ Col-1.1.3

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex:AcOEt	97:3	1-6; 7-8; 9-10; 11; 12-22; 23-29; 30-34; 35-38; 39
2	Hex:AcOEt	90:10	
3-4	Hex:AcOEt	88:12	
5-8	Hex:AcOEt	85:15	
9-28	Hex:AcOEt	80:20	
29-30	Hex:AcOEt	75:25	
31-32	Hex:AcOEt	70:30	
33-34	Hex:AcOEt	60:40	
34-36	Hex:AcOEt	50:50	
37	Hex:AcOEt	25:75	
38	AcOEt	100	
39	AcOEt:MeOH	7:3	



Esquema 3: Fracionamento da Fr 27-37 da Col-1

Fracionamento da fração 38-44 da Col-1

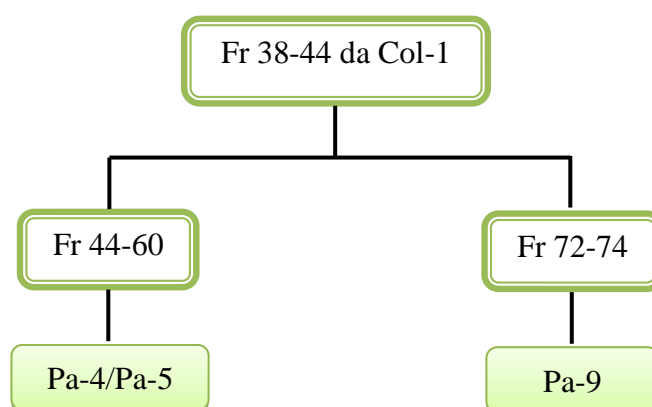
A fração 38-44 (2000,0 mg) da Col-1 foram submetidas à cromatografia em coluna (Col-1.2) de sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), utilizando-se como eluentes Hex; AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 89 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus fatores de retenção (Rfs), em 10 grupos de frações (Quadro 8, p. 47).

As frações 44-60 e 72-74 da Col-1.2 foram submetidas à purificação por CCDP, utilizando como sistema de eluição Hex/AcoEt (75:25). As subfrações 44-60.2 (11,0 mg) e

72-74.4 (5,0 mg) mostraram significativo grau de pureza quando analisadas em CCDA e receberam os códigos de Pa-4/Pa-5 e Pa-9, respectivamente (Esquema 4: Fracionamento da Fr 38-44 da Col-1 (Esquema 4, p. 47).

Quadro 8: Cromatografia em coluna da Fr 38-44 da Col 1 (m = 300,0 mg) - Col-1.2

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1-5	Hex:AcOEt	97:3	1-15; 16-25;
6-15	Hex:AcOEt	90:10	26-33; 34-43;
16-25	Hex:AcOEt	88:12	44-60 ; 61-71;
26-37	Hex:AcOEt	85:15	72-74 ; 75-80;
38-50	Hex:AcOEt	80:20	81-86; 87-89
51-63	Hex:AcOEt	75:25	
64-76	Hex:AcOEt	70:30	
77-80	Hex:AcOEt	60:40	
81-84	Hex:AcOEt	50:50	
85-86	Hex:AcOEt	25:75	
87-88	AcOEt	100	
89	AcOEt:MeOH	7:3	



Esquema 4: Fracionamento da Fr 38-44 da Col-1

Fracionamento da fração 45-61 da Col-1

A fração 45-61 (800,0 mg) foi submetida a uma coluna de sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh) (Col-1.3), utilizando aparelho de média pressão, eluindo inicialmente com hexano, seguido de acetato de etila e metanol, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 153 frações. As frações da Col-1.3 foram analisadas através de CCDA utilizando diferentes sistemas de eluição, após análise a luz ultravioleta e

impregnação com vapores de iodo, foram reunidas de acordo com os fatores de retenção (Rf), (Quadro 9, p. 48).

A fração 44-59 (164,5 mg) da Col-1.3 foi submetida a CC (Col-1.3.1) empacotada com sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh) como fase estacionária e hexano, acetato de etila e metanol, em gradiente crescente de polaridade, para fase móvel (Quadro 10, p. 49). As frações foram reagrupadas e em seguida a fração 6-10 foi recromatografada em CCDP, eluída com Hex:AcOEt (1:1) e a subfração 6-10.2 foi codificada como Pa-12 por apresentar significativo grau de pureza após análise em CCDA (Esquema 5, p. 49).

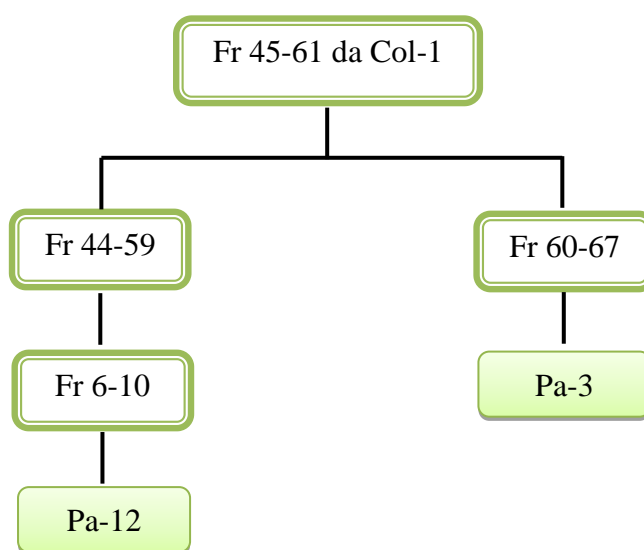
Na fração 60-67 (69,1 mg) da Col-1.3 ocorreu a formação de precipitado, este foi separado do sobranadante e codificado como Pa-3 (Esquema 5, p. 49).

Quadro 9: Cromatografia em coluna da Fr 45-61 da Col 1 (m=800,0 mg) _ Col-1.3

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1-9; 10-35;
2	Hex:AcOEt	95:5	36-43; 44-59 ;
3	Hex:AcOEt	90:10	60-67 ; 68-71;
4-30	Hex:AcOEt	85:15	72-77; 78-83;
31-40	Hex:AcOEt	80:20	84-88; 89-96;
41-54	Hex:AcOEt	75:25	97-103; 104-106;
55-61	Hex:AcOEt	70:30	107-113; 114-125;
62-75	Hex:AcOEt	65:45	126-135; 136-145;
76-85	Hex:AcOEt	60:40	146-152; 153
86-106	Hex:AcOEt	50:50	
107-115	Hex:AcOEt	40:60	
116-123	Hex:AcOEt	30:70	
124-130	Hex:AcOEt	20:80	
131-137	Hex:AcOEt	10:90	
138-140	AcOEt	100	
141-143	AcOEt:MeOH	95:5	
144-146	AcOEt:MeOH	90:10	
147-149	AcOEt:MeOH	80:20	
150-153	AcOEt:MeOH	70:30	

Quadro 10: Cromatografia em coluna da Fr 44-59 da Col 1.3 (m=164,5 mg) _ Col-1.3.1

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1; 2-3;
2	Hex:AcOEt	95:5	4-5; 6-10 ;
3	Hex:AcOEt	90:10	11-13; 14;
4	Hex:AcOEt	85:15	15-19
5	Hex:AcOEt	80:20	
6-7	Hex:AcOEt	75:25	
8-9	Hex:AcOEt	70:30	
10-11	Hex:AcOEt	60:40	
12	Hex:AcOEt	50:50	
13	Hex:AcOEt	40:60	
14	Hex:AcOEt	30:70	
15	Hex:AcOEt	20:80	
16	Hex:AcOEt	10:90	
17	AcOEt	100	
18	AcOEt:MeOH	90:10	
19	AcOEt:MeOH	70:30	



Esquema 5: Fracionamento da fração 45-61 da Col-1

Fracionamento da fração 81-101 da Col-1

A fração 81-101 (515,5 mg) da Col-1 foi submetida à cromatografia em coluna (Col-1.4) de sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), utilizando-se como eluentes Hex; CH₂Cl₂ e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente

de polaridade, obtendo-se 64 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus fatores de retenção (Rfs) (Quadro 11, p. 50).

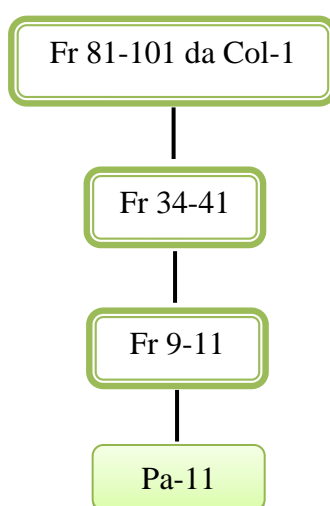
A fração 34-41 (152,8 mg) da Col-1.4 foi submetida a CC (Col-1.4.1) empacotada sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh) para fase estacionaria e Hexano, Acetato de Etila e Metanol, em gradiente crescente de polaridade, para fase móvel (Quadro 12, p. 51). As frações foram reagrupadas e em seguida a fração 9-11 foi recromatografada em CCDP, eluida com Hex:AcOEt (1:1) e a subfração 9-11.3 foi codificada como Pa-11 por apresenta significativo grau de pureza após análise em CCDA (Esquema 6, p. 51).

Quadro 11: Cromatografia em coluna da Fr 81-101 da Col 1 (m=515,5 mg) - Col-1.4

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1-6; 7-8;
2	Hex:CH ₂ Cl ₂	90:10	9-14; 15-21;
3	Hex:CH ₂ Cl ₂	80:20	22-23; 24;
4	Hex:CH ₂ Cl ₂	70:30	25-30; 31-32;
5	Hex:CH ₂ Cl ₂	60:40	33; 34-41 ;
6	Hex:CH ₂ Cl ₂	50:50	42; 43; 44-45;
7-8	Hex:CH ₂ Cl ₂	40:60	46-48; 49-52;
9-10	Hex:CH ₂ Cl ₂	30:70	53-60;
11-16	Hex:CH ₂ Cl ₂	20:80	61-64
17-22	Hex:CH ₂ Cl ₂	10:90	
23-30	CH ₂ Cl ₂	100	
31-39	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	99:1	
40-43	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	97:3	
44-48	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	95:5	
49-57	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	90:10	
58-61	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	85:15	
62-63	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	80:20	
64	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	70:30	

Quadro 12: Cromatografia em coluna da Fr 34-41 da Col 1.4 (m=152,8 mg) - Col-1.4.1

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1-2	Hex:AcOEt	85:15	1-8; 9-11; 12; 13-18; 19-22; 23-30
3-6	Hex:AcOEt	80:20	
7-8	Hex:AcOEt	75:25	
9-11	Hex:AcOEt	70:30	
12-16	Hex:AcOEt	65:35	
17-18	Hex:AcOEt	60:40	
19-21	Hex:AcOEt	50:50	
22-23	Hex:AcOEt	40:60	
24-25	Hex:AcOEt	30:70	
26	Hex:AcOEt	20:80	
27	Hex:AcOEt	10:90	
28	AcOEt	100	
29	AcOEt:MeOH	90:10	
30	AcOEt:MeOH	70:30	



Esquema 6: Fracionamento da fração 81-101 da Col-1

4.2.2.2 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometânica das folhas de *Piper arboreum*

Uma alíquota de 15,0 g da fase diclorometânica do extrato etanólico de *P. arboreum* foi cromatografada em coluna (Col-2) de sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), utilizando como eluentes Hex, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 87 frações, que foram reunidas após análise em CCDA, de acordo com seus Rfs, em 18 grupos de frações (Quadro 13, p. 52).

Quadro 13: Cromatografia em coluna da fase diclorometânica das folhas de *P. arboreum* (m=15,0 g) - Col-2.

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1-5; 6-7;
2-11	Hex: AcOEt	95:15	8-14; 15-17;
12-30	Hex: AcOEt	90:10	18-19 ; 20-21;
31-38	Hex: AcOEt	85:15	22-24; 25-27;
39-46	Hex: AcOEt	80:20	28-31; 32-40;
47-49	Hex: AcOEt	75:25	41-45; 46-48;
50-53	Hex: AcOEt	70:30	49-51; 52-55;
54-60	Hex: AcOEt	60:40	56-62; 63-67 ;
61-64	Hex: AcOEt	50:50	68-70 ; 71-87
65-67	Hex: AcOEt	40:60	
68-69	Hex: AcOEt	20:80	
70-76	AcOEt	100	
77-78	AcOEt: MeOH	95:5	
79-80	AcOEt: MeOH	90:10	
81-82	AcOEt: MeOH	80:20	
83-87	AcOEt: MeOH	70:30	

A fração 18-19 apresentou-se na forma de cristais brancos sendo codificada como Pa-1.

Fracionamento da fração 63-67 da Col-2

A fração 63-67 (608,9 mg) foi cromatografada em coluna (Col-2.1) de sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), utilizando como eluentes Hex, AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 43 frações, que foram reunidas após análise em CCDA (Quadro 14, p. 53).

A subfração 12-14 (70,0 mg) desta coluna foi recromatografada (Col 2.1.1) sob as mesmas condições anteriormente descrita resultando em 62 frações (Quadro 15, p. 53). A fração 28-35 apresentou-se na forma de cristais incolores (10,0 mg) e foi codificado como Pa-8 (Esquema 7, p. 54).

Fracionamento da fração 68-70 da Col-2.

A fração 68-70 (170,8 mg) da Col-2 foi submetida a CC (Col-2.2) empacotada com sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) para fase estacionária e hexano, acetato de etila e metanol, em gradiente crescente de polaridade, para fase móvel (Quadro 16, p. 54).

Na fração 71-78 (9,1 mg) da Col-2.2 ocorreu a formação de precipitado, este foi separado do sobranadante e codificado Pa-10.

Quadro 14: Cromatografia em coluna da Fr 63-67 da Col 2 (m=608,9 mg) - Col-2.1

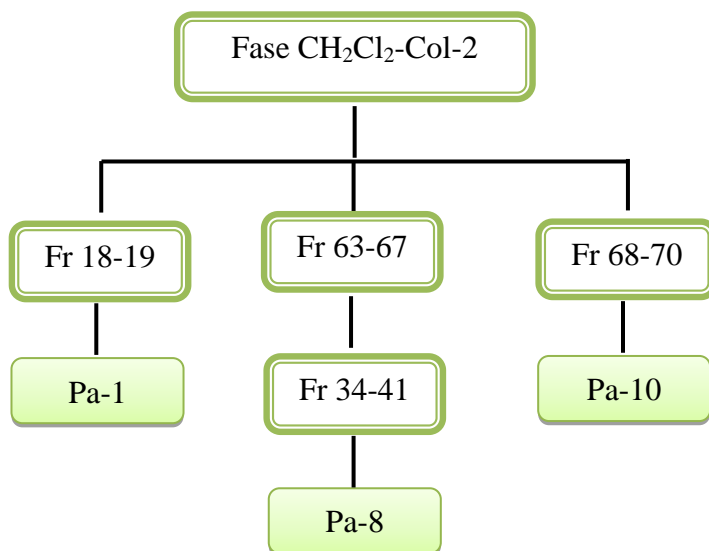
Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1-5; 6-7;
2	Hex: AcOEt	90:10	8-11; 12-14 ;
3	Hex: AcOEt	80:20	15-18; 19-20;
4	Hex: AcOEt	70:30	21-28; 29-31;
5-11	Hex: AcOEt	60:40	32-33; 34-40;
12-19	Hex: AcOEt	50:50	41-43
20-31	Hex: AcOEt	40:60	
32-33	Hex: AcOEt	30:70	
34-35	Hex: AcOEt	20:80	
36-37	Hex: AcOEt	10:90	
38-39	AcOEt	100	
40	AcOEt: MeOH	90:10	
41-43	AcOEt: MeOH	70:30	

Quadro 15: Cromatografia em coluna da Fr 12-14 da Col 2 (m=70,0 mg) - Col-2.1.1

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1-20; 21-27;
2	Hex: AcOEt	97:3	28-35 ; 36-41;
3	Hex: AcOEt	94:6	42-47; 48-62
4-7	Hex: AcOEt	91:9	
8-10	Hex: AcOEt	88:12	
11-13	Hex: AcOEt	85:15	
14-19	Hex: AcOEt	82:18	
20-24	Hex: AcOEt	79:21	
25-28	Hex: AcOEt	76:24	
29-36	Hex: AcOEt	73:27	
37-39	Hex: AcOEt	7:3	
40-42	Hex: AcOEt	65:35	
43-46	Hex: AcOEt	6:4	
47-49	Hex: AcOEt	50:50	
50-53	Hex: AcOEt	40:60	
54-56	Hex: AcOEt	20:80	
57-58	AcOEt	100	
59-60	AcOEt: MeOH	90:10	
61-62	AcOEt: MeOH	70:30	

Quadro 16: Cromatografia em coluna da Fr 68-70 da Col 2 (m=170,8 mg) - Col-2.2

Fração	Eluente	Proporção	Frações Reunidas
1	Hex	100	1-13; 14;
2	Hex: AcOEt	95:5	15-26; 27-34;
3-7	Hex: AcOEt	90:10	35-49; 50-53;
8-19	Hex: AcOEt	85:15	54-65; 66-70;
20-25	Hex: AcOEt	80:20	71-78 ; 79-97;
26-30	Hex: AcOEt	75:25	98-125
31-36	Hex: AcOEt	70:30	
37-41	Hex: AcOEt	65:35	
42-47	Hex: AcOEt	60:40	
48-52	Hex: AcOEt	55:45	
53-60	Hex: AcOEt	50:50	
61-68	Hex: AcOEt	45:55	
69-76	Hex: AcOEt	40:60	
77-81	Hex: AcOEt	35:65	
82-86	Hex: AcOEt	30:70	
87-94	Hex: AcOEt	20:80	
95-103	AcOEt	100	
104-108	AcOEt: MeOH	95:5	
109-113	AcOEt: MeOH	90:10	
114-119	AcOEt: MeOH	80:20	
120-125	AcOEt: MeOH	70:30	



Esquema 7: Fracionamento da Fase CH₂Cl₂ das folhas

4.2.3 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados

A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *Piper arborum* Aublet. foi realizada pela análise de espectros obtidos através dos métodos espectroscópicos usuais como Ressonância Magnética Nuclear, Espectrometria de Massas e Infravermelho, além de comparações com modelos da literatura.

Utilizou-se espectrômetros VARIAN-NMR-SYSTEM 500 MHz e VARIAN-NMR-SYSTEM 200 MHz, do Laboratório Multiusuário da Central Analítica (LCMA) da Universidade Federal da Paraíba. As amostras para análise foram preparadas dissolvendo-se cerca de 5-20 mg das mesmas em solventes deuterados: Clorofórmio (CDCl_3), Metanol (CD_3OD) e Acetona ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$).

Os deslocamentos químicos (δ) em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamentos (J) em Hz foram referenciados para RMN de ^1H pelos sinais característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas dos solventes: clorofórmio ($\delta_{\text{H}} = 7,24$ ppm), metanol ($\delta_{\text{H}} = 3,3$ ppm) e acetona ($\delta_{\text{H}} = 2,05$ ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram referenciados pelos sinais do C dos solventes deuterados: clorofórmio ($\delta_{\text{C}} = 77,00$ ppm) e metanol ($\delta_{\text{C}} = 49,00$ ppm).

As multiplicidades dos sinais de RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: s (singlete), d (dublete), dd (duplo duplete), t (triplete) dt (duplo triplete) e m (multiplete).

Os espectros de RMN também foram otimizados para as técnicas bidimensionais HMQC, espectro de correlação Heteronuclear, que permite fazer uma correlação entre hidrogênio e seus respectivos carbonos; HMBC que permite fazer uma correlação entre hidrogênios e carbonos a duas (2j) e três (3j) ligações; COSY e NOESY, técnicas homonucleares, a primeira das quais estabelece as correlações entre hidrogênios os quais são responsáveis, entre si, pelo desdobramento do sinal, a segunda que mostra correlações espaciais entre os hidrogênios da molécula. E assim discernir a multiplicidade dos sinais observados nos espectros de RMN (KAISER, 2000).

Os espectros de massas foram obtidos em modo de ions positivos pela tecnica de Ionizacão por Eletrospray através do espectrômetro de massas (Ion Trap-Amazonx-Bruker).

Também foi realizado um levantamento bibliográfico da espécie *Piper arboreum* durante o decorrer desse estudo. Para a revisão na literatura foram consultados sites de

relevância científica, como o SciFinder, Chemical Abstracts e Biological Abstracts, NAPRALERT (banco de dados sobre plantas do ponto de vista químico e biológico), artigos diversos e revistas científicas, dissertações, teses, além de anais de eventos nacionais e internacionais.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos de *Piper arboreum* Aublet

5.1.1 Determinação estrutural de Pa-1a/Pa-1b

A substância codificada como Pa-1a/Pa-1b apresentou-se na forma de cristais em brancos, solúveis em clorofórmio.

O espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 9 a 11, p. 61 a 62) e suas expansões exibiram um envelope de absorções simples e múltiplas na região compreendida entre δ_{H} 0,65 e δ_{H} 2,50 (Figura 10, p. 61) características de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos de núcleo triterpênico e/ou esteroidal.

Pela análise do multipeto em δ_{H} 3,50 pôde-se inferir a presença de um hidrogênio oximetínico na posição H-3 de núcleo triterpênico (KOJIMA, 1990) e do dupeto em δ_{H} 5,32 (d, $J=4,0$ Hz) a presença de hidrogênio metínico na posição H-6 de fitoesteróide (AHMED; AHMAD; MALIK, 1992). Esse hidrogênio encontra-se desblindado devido à ligação olefínica. Outras absorções correspondentes a hidrogênios olefínicos foram também detectadas em 5,14 (dd, $J=8,5$ e 15,5 Hz, 1H) e 5,00 (dd, $J=8,5$ e 15,5 Hz, 1H), característicos de hidrogênios H-22 e H-23, respectivamente, e de núcleo estigmastano, possibilitando sugerir a presença do sistema *trans* alílico em Pa-1b (Figura 11, p. 62).

No espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) (Figura 12 a 15, p. 62 a 64), realizado por meio da técnica APT, os sinais permitiram reforçar a hipótese sobre o esqueleto esteroidal e propor a presença de uma mistura de substâncias sugerida pelo espectro de RMN ^1H , destacando-se a presença de 49 deslocamentos químicos, sendo 3 sinais referentes a carbonos quaternários, 15 sinais a carbonos metínicos, 15 sinais a carbonos metilênicos e 11 sinais a carbonos metílicos. Destes, ressalta-se a presença de um sinal em δ_{C} 71,8, típico de carbono C-3 hidroxilado (Figura 12, p. 62), além de um envelope de sinais entre δ_{C} 11,9 e δ_{C} 21,2 (Figura 10, p. 61), referentes às metilas triterpênicas (6 CH_3) na região de campo mais alto do espectro de RMN de ^{13}C e característicos de fitoesteróide (HAM et al., 2010).

Os sinais para carbono sp^2 mono hidrogenado em δ_{C} 121,7 (C-6) e carbono insaturado não hidrogenado em δ_{C} 140,7 (C-5) do β -sitosterol e estigmasterol (Figura 12, p. 62), juntamente com as absorções, menos intensos, em δ_{C} 138,3 e δ_{C} 129,2 pertinentes aos

carbonos olefínicos (C-22 e C-23) do estigmasterol (KOJIMA, 1990) fortaleceram a proposta de que Pa-1 trata-se de uma mistura de esteroides, codificados como: Pa-1a (β -sitosterol) e Pa-1b (estigmasterol).

A análise espectral de RMN ^1H e ^{13}C de Pa-1a/Pa-1b e comparações realizadas com modelos da literatura (KOJIMA, 1990) (Tabela 2, p.60) tornaram possível identificar as substâncias como sendo o β -sitosterol (Pa-1a) e o estigmasterol (Pa-1b), respectivamente (Figura 8, p.59), cujas presenças são observadas em diversas espécies vegetais, sendo descritas pela primeira vez em *Piper arboreum* Aublet.

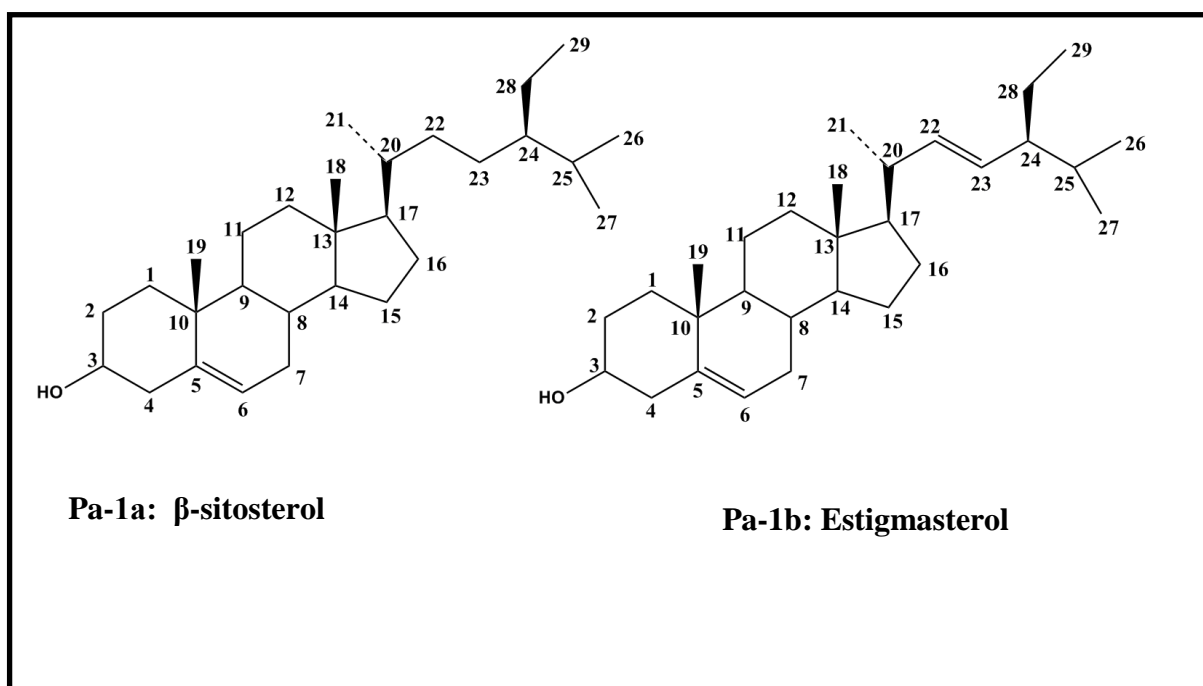


Figura 8: Estruturas químicas de Pa-1a e Pa-1b

Tabela 2: Comparação dos dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-1a/Pa-1b com dados de RMN ^{13}C dos modelos da literatura (KOJIMA, 1990, CDCl_3 , 25 MHz)

Pa-1a		Literatura		Pa-1b		Literatura
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
5	140,7	-	140,7	140,7	-	140,7
10	36,5	-	36,5	36,5	-	36,5
13	42,3	-	42,3	42,3	-	42,3
CH						
3	71,8	3,50 (m)	71,8	71,8	3,50 (m)	71,8
6	121,7	5,32 (d)	121,7	121,7	5,32 (d)	121,7
8	31,9	-	31,9	31,9	-	31,9
9	50,1	-	50,1	50,1	-	50,1
14	56,8	-	56,8	56,7	-	56,8
17	56,0	-	56,0	56,9	-	55,9
20	36,2	-	36,1	40,5	-	40,5
22	-	-	-	138,3	5,14 (dd, $J = 8,5$ e $15,5$ Hz, 1H)*	138,3
23	-	-	-	129,2	5,00 (dd, $J = 8,5$ e $15,5$ Hz, 1H)*	129,2
24	45,8	-	45,8	51,2	-	51,2
25	29,2	-	29,1	-	-	-
CH₂						
1	37,2	-	37,2	37,2	-	37,2
2	31,6	-	31,6	31,6	-	31,6
4	42,3	-	42,3	42,3	-	42,3
7	31,9	-	31,9	31,9	-	31,9
11	21,1	-	21,1	21,1	-	21,1
12	39,9	-	39,8	39,7	-	39,7
15	24,2	-	24,3	24,3	-	24,4
16	28,3	-	28,2	28,5	-	28,4
22	34,1	-	33,9	-	-	-
23	26,1	-	26,0	-	-	-
28	23,0	-	23,0	-	-	-
CH₃						
18	11,7	-	11,9	11,8	-	12,0
19	19,4	-	19,4	19,4	-	19,4
21	18,8	-	18,8	21,2	-	21,2
26	19,8	-	19,8	21,1	-	-
27	19,1	-	19,0	18,9	-	-
29	12,0	-	12,0	12,1	-	-

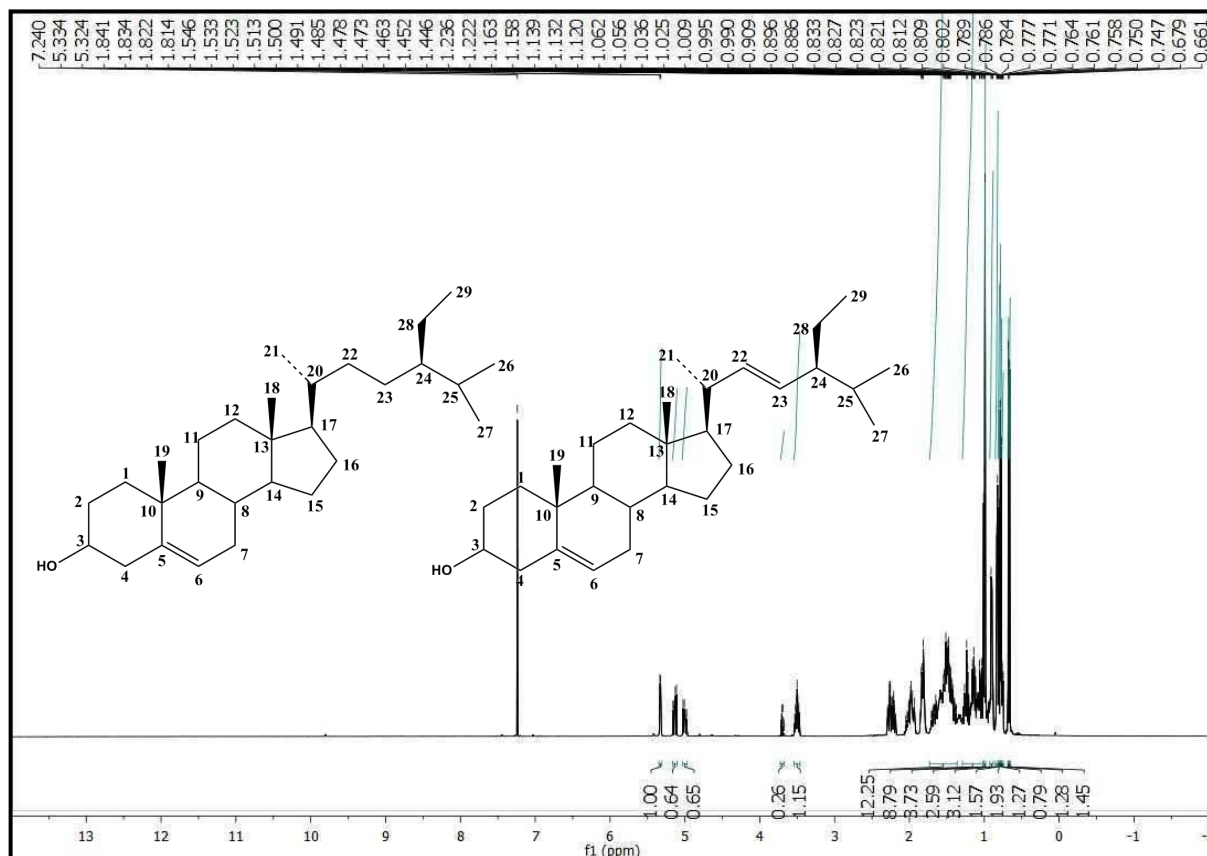


Figura 9: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-1a/Pa-1b.

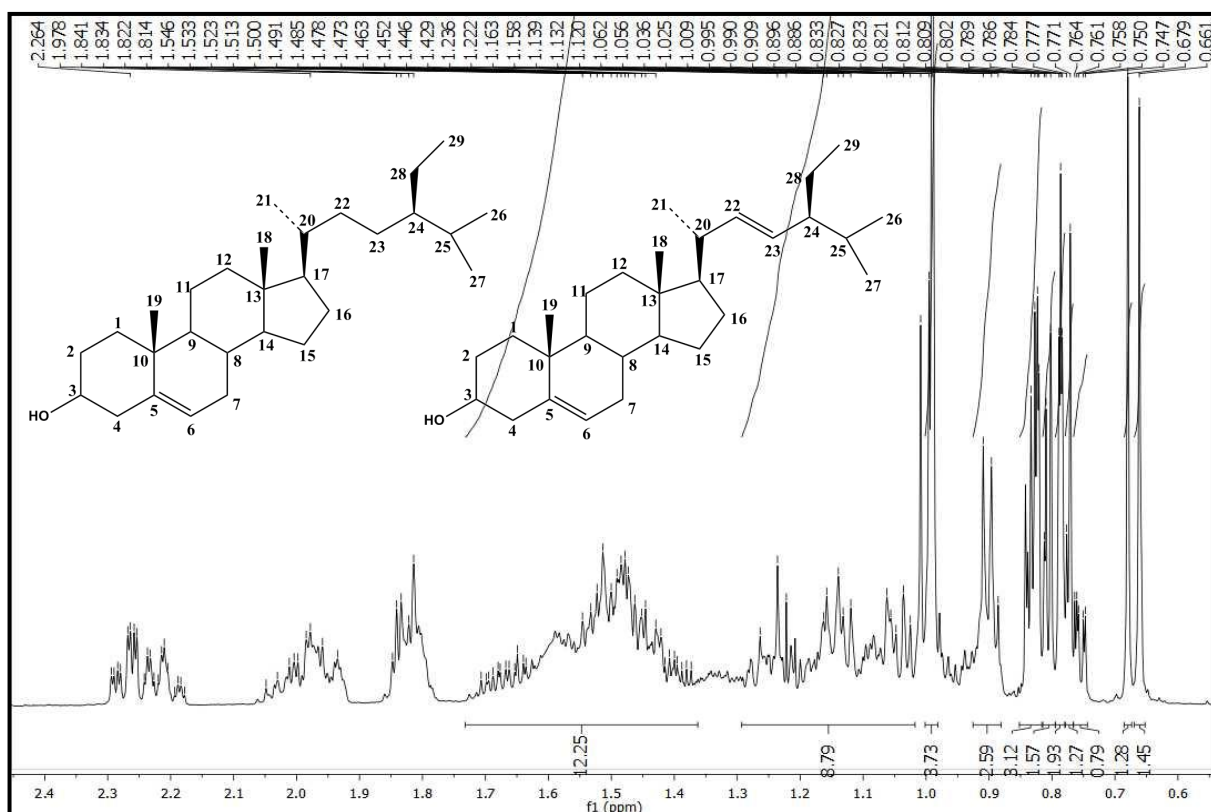


Figura 10: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 0,65-2,50) de Pa-1a/Pa-1b.

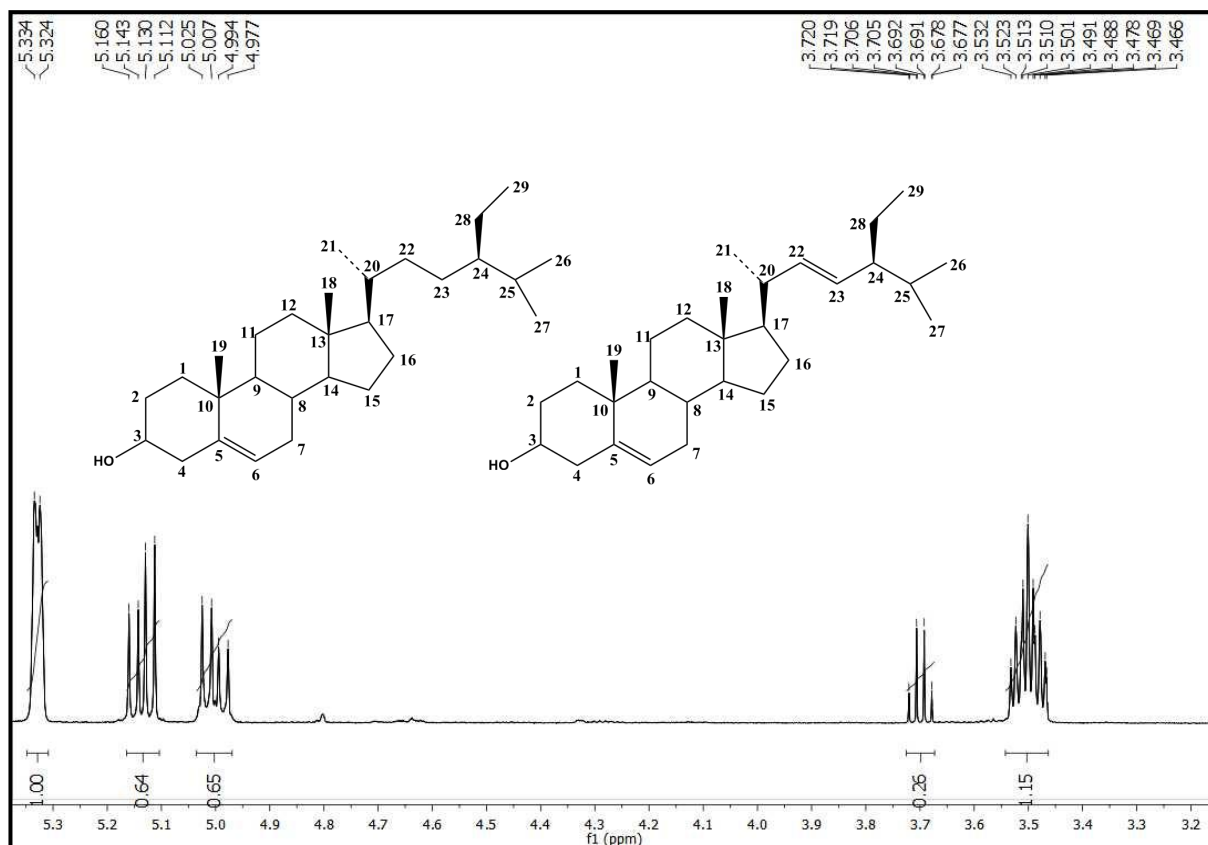


Figura 11: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 3,2-5,3) de Pa-1a/Pa-1b

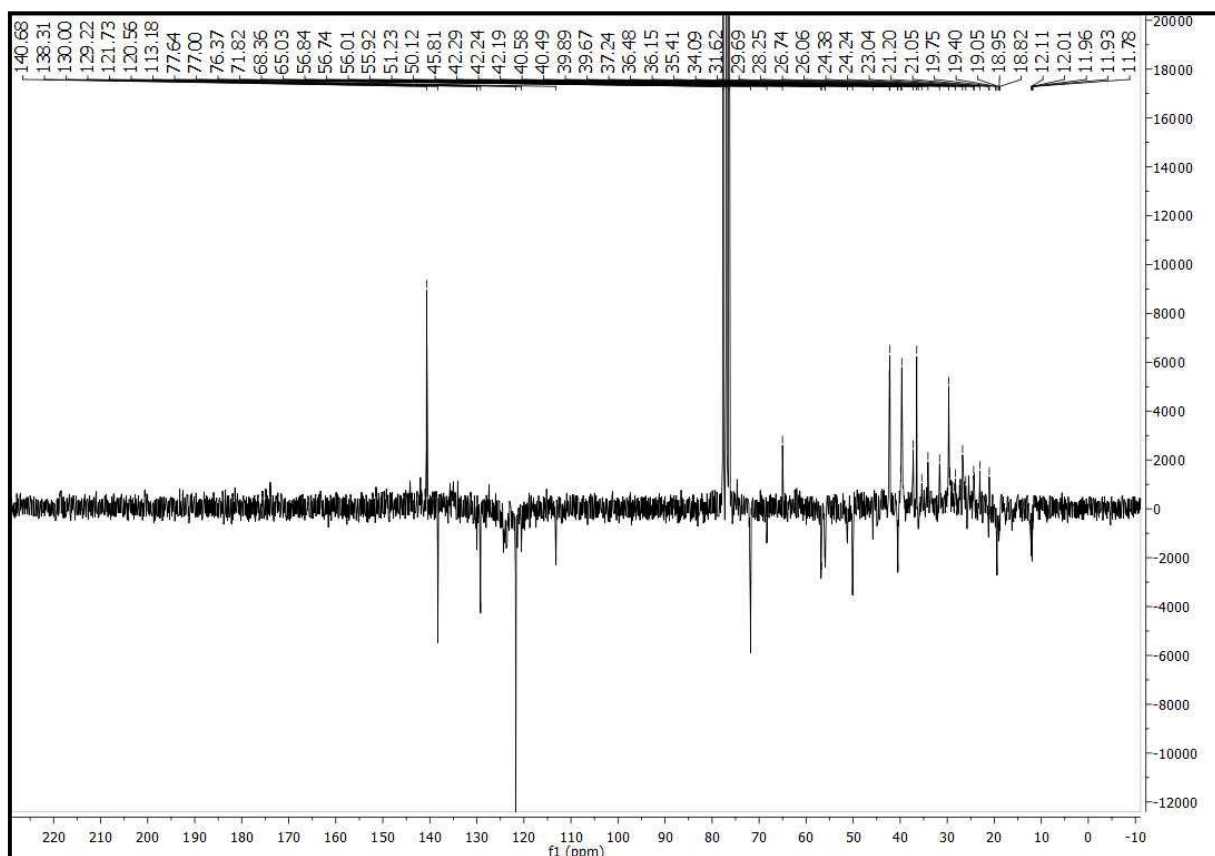


Figura 12: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-1a/Pa-1b

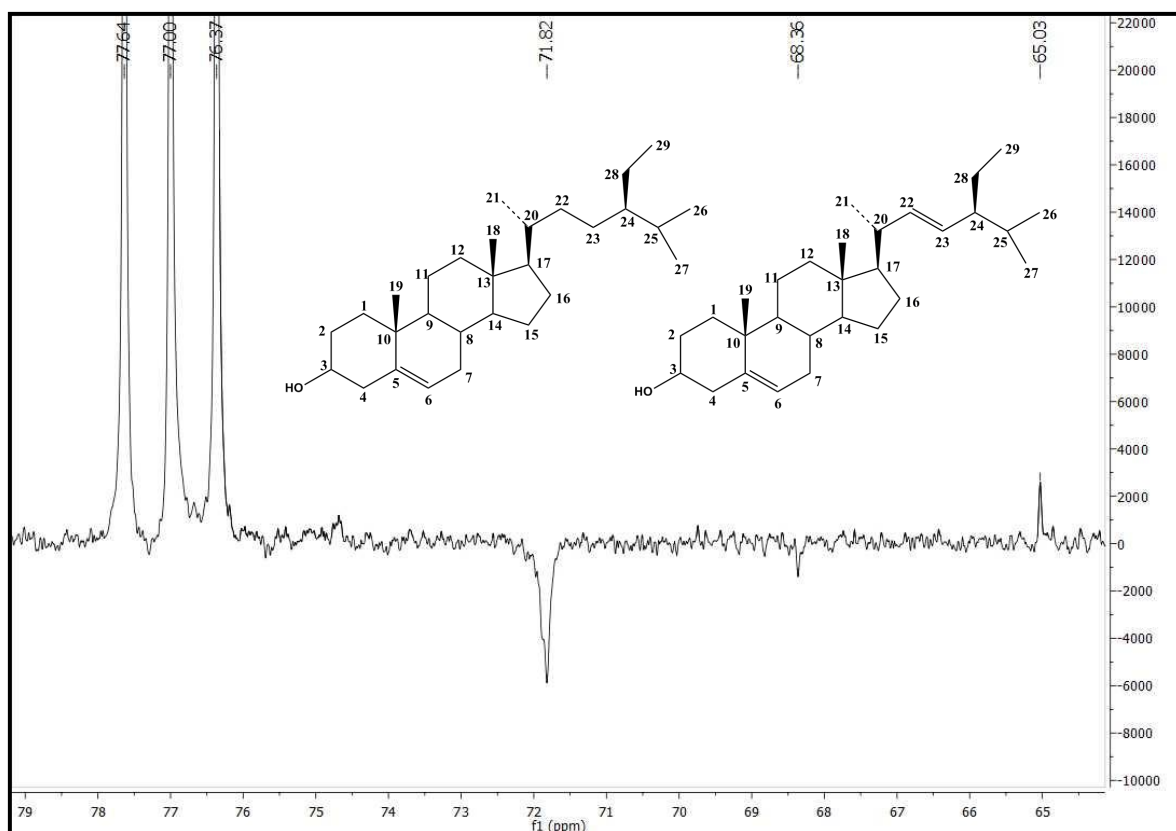


Figura 13: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 65,0-79,0) de Pa-1a/Pa-1b

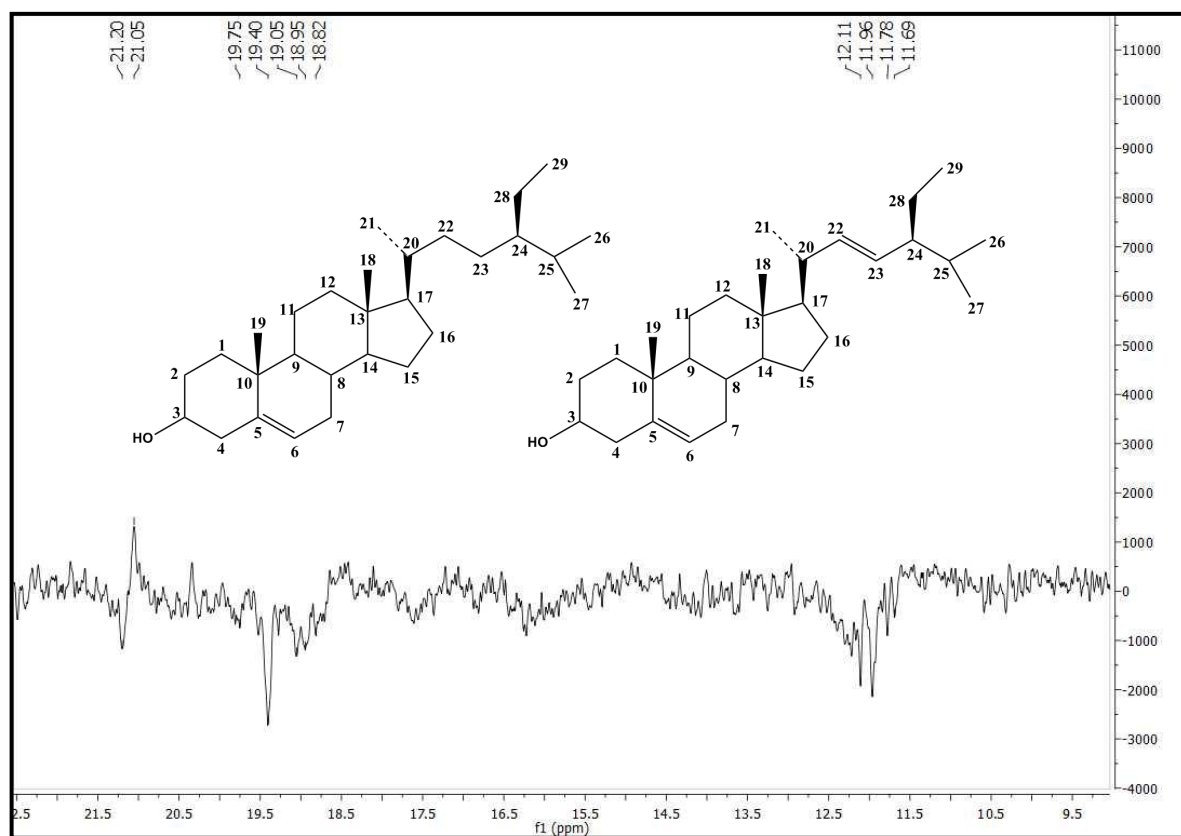


Figura 14: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 9,0-22,0) de Pa-1a/Pa-1b.

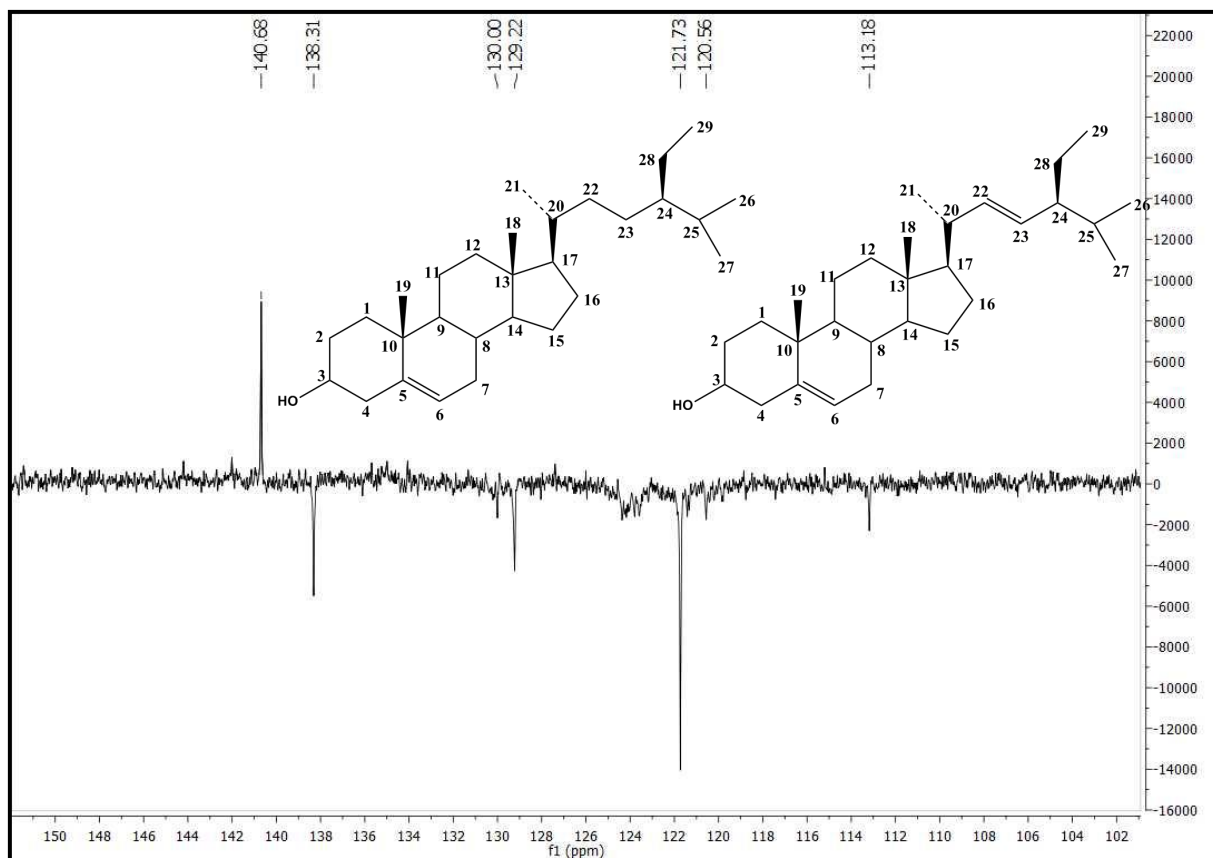


Figura 15: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 102,0-150,0) de Pa-1a/Pa-1b

5.1.2 Determinação estrutural de Pa-2

A substância codificada como Pa-2 (10,0 mg) apresentou-se como cristais brancos, solúveis em clorofórmio.

Os espectros de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 17 e 18, p. 68) mostraram 4 sinais para 5 hidrogênios aromáticos em δ_{H} 9,18 (m, 1H), δ_{H} 7,81 (m, 1H), δ_{H} 7,53 (m, 2H) e δ_{H} 7,16 (s, 1H), e também 3 singletos integrando para 3 hidrogênios cada (δ_{H} 4,51, δ_{H} 4,18 e δ_{H} 3,99) característicos de hidrogênios metoxilicos, além de um singlete largo em δ_{H} 7,87 atribuído a hidrogênio ligado a heteroátomo.

Os espectros de RMN ^{13}C , utilizando a técnica Broad Band (BB) (Figura 23 a 25, p. 71 e 72), juntamente com as correlações observadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 29 a 35, p. 74 a 77) permitiram atribuir a presença de 18 sinais para 18 carbonos em Pa-2: δ_{C} 166,9, δ_{C} 157,0, δ_{C} 154,2, δ_{C} 146,4, δ_{C} 133,3, δ_{C} 133,2, δ_{C} 128,9, δ_{C} 126,8, δ_{C} 126,6, δ_{C} 126,5, δ_{C} 125,9, δ_{C} 125,8, δ_{C} 117,0, δ_{C} 105,9, δ_{C} 105,0, δ_{C} 63,0, δ_{C} 61,6 e δ_{C} 60,9.

A soma dos dados apresentados permitiram sugerir para Pa-2 a estrutura de uma aristolactama trissubstituída.

Os sinais em δ_{H} 9,18 (m, 1H) e δ_{H} 7,16 (s, 1H), vistos no espectro de RMN ^1H (Figura 17, p. 68), foram atribuídos as posições 5 e 9, respectivamente, o primeiro por ser característico de H-5 em esqueleto de aristolactama (CHEN, et al, 2004) e o segundo por ser um sinal simples. As correlações observadas no espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 19 e 20, p. 69) δ_{H} 9,18/ δ_{H} 7,53 e δ_{H} 7,53/ δ_{H} 7,81 permitiram sugerir δ_{H} 7,53 (m, 2H) e δ_{H} 7,81 respectivamente para as posições 6/7 e 8.

O sinal da metoxila em δ_{H} 4,51 foi sugerida para a posição 2 por esses hidrogênios estarem significativamente desprotegidos pela carbonila e a metoxila em δ_{H} 4,18 para a posição 4 por apresentar uma correlação espacial no espectro bidimensional Homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 21 e 22, p. 70) com o multipletto da posição δ_{H} 9,18, atribuído ao hidrogênio da posição 5. E a metoxila em δ_{H} 3,98 foi atribuída para a posição 3, mais protegida, pois encontra-se entre carbonos oxigenados.

Os espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (CDCl_3 , 500/ 125 MHz) (Figura 26 a 28, p. 72 e 73) permitiu atribuir os sinais de carbonos hidrogenados (δ_{C} 126,6, δ_{C} 125,8, δ_{C} 126,5, δ_{C} 128,7 e δ_{C} 105,9) para as posições 5, 6, 7, 8 e 9 através das correlações: δ_{H} 9,18/ δ_{C} 126,6; δ_{H} 7,53/ δ_{C} 126,5, δ_{C} 125,8 δ_{H} 7,81/ δ_{C} 128,7; e δ_{H} 7,16/ δ_{C} 105,9 e ainda através de correlações nestes mesmos espectros: δ_{H} 4,51/ δ_{C} 63,0; δ_{H} 4,18/ δ_{C} 60,9 e δ_{H} 3,99/ δ_{C} 61,6 foi possível atribuir os sinais em δ_{C} 63,0, δ_{C} 60,9 e δ_{C} 61,6 para os carbonos das metoxilas 2, 4 e 3.

Os espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (CDCl_3 , 500/ 125 MHz) (Figura 29 a 35, p. 74 a 77) mostraram as seguintes correlações: δ_{H} 4,51/ δ_{C} 154,2; δ_{H} 4,18/ δ_{C} 157,0 e δ_{H} 3,99/ δ_{C} 146,4 que permitiu atribuir δ_{C} 154,2, δ_{C} 157,0 e δ_{C} 146,4 para as posições 2, 4 e 3, respectivamente; enquanto que as correlações: δ_{H} 7,16/ δ_{C} 128,7, δ_{C} 133,3, δ_{C} 126,7, δ_{C} 125,9 e δ_{C} 133,2, e 7,87/ δ_{C} 125,9 e δ_{C} 133,3 permitem sugerir δ_{C} 125,9 e δ_{C} 133,3 para as posições 10a e 10, em consequência, δ_{C} 133,2 e δ_{C} 126,8 para C-8a e C-4b. Os espectros de HMBC ainda mostram as correlações ^1H 7,53/ δ_{C} 133,2, e δ_{C} 126,7 o que confirma as atribuições feitas para C-8a e C-4b. Os dois outros carbonos não hidrogenados, vistos no espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) (Figuras 23 a 25, p. 72 e 73) em δ_{C} 105,0 e δ_{C} 116,4 foram atribuídos respectivamente para C-1 e C-4a.

Os dados estudados e a comparação com a literatura (Tabela 3 e 4, p.67) permitiram sugerir que Pa-2 trata-se da 2,3,4-Tritoximetoxi-aristolactama (Figura 16, p. 66), também denominada de Piperolactama C, isolada pela primeira vez na espécie *Piper arboreum*, sendo bastante comum na família Piperaceae (TSAI, et al., 2005), e também há relatos da presença desta substância em espécies das famílias Annonaceae (GE et al., 2013).

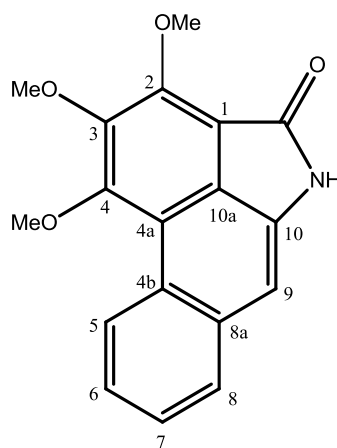


Figura 16: Piperolactama C

Tabela 3: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-2 registrados em CDCl_3 .

Posição	HMQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J
1		105,0		
2		154,2		
3		146,4		
4		157,0		
4a		116,4		
4b		126,8		
5	9,18 (m, 1H)	126,6		C-7; C-8a
6	7,53 (m, 2H)	125,8		C-8
7	7,53 (m, 2H)	126,5	C-6; C-8	C-8a
8	7,81 (m, 1H)	128,7		C-6
8a		133,2		
9	7,16 (s, 1H)	105,9	C-8a	C-8; C-10a
10		133,3		
10a		125,9		
C=O		166,9		
2-OMe	4,51 (s, 3H)	63,0		C-2
3-OMe	3,98 (s, 3H)	61,6		C-3
4-OMe	4,18 (s, 3H)	60,9		C-4
NH	7,87 (s, 1H)		C-10	C-10a

Tabela 4: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2 com modelo encontrado na literatura (DANELUTTE, et al., 2005).

Posição	Pa-2 (CDCl_3)		Modelo-Literatura (CDCl_3)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	105,0			
2	154,2		157,3	
3	146,4		154,3	
4	157,0		146,4	
4a	116,4		116,5	
4b	126,7		126,6	
5	126,6	9,18 (m, 1H)	126,6	9,19 (m, 1H)
6	125,8	7,53 (m, 2H)	125,9	7,52-7,58 (m, 1H)
7	126,5	7,53 (m, 2H)	126,8	7,52-7,58 (m, 1H)
8	128,7	7,81 (m, 1H)	128,7	7,82 (m, 1H)
8a	133,2		133,3	
9	105,8	7,16 (s, 1H)	106,1	
10	133,3			
10a	125,9			
C=O	166,9		167,2	
2-OMe	63,0	4,51 (s, 3H)	63,0	4,52 (s, 3H)
3-OMe	61,6	3,98 (s, 3H)	61,6	4,20 (s, 3H)
4-OMe	60,9	3,18 (s, 3H)	60,9	4,00 (s, 3H)
N-Me		7,87 (s, 1H)		

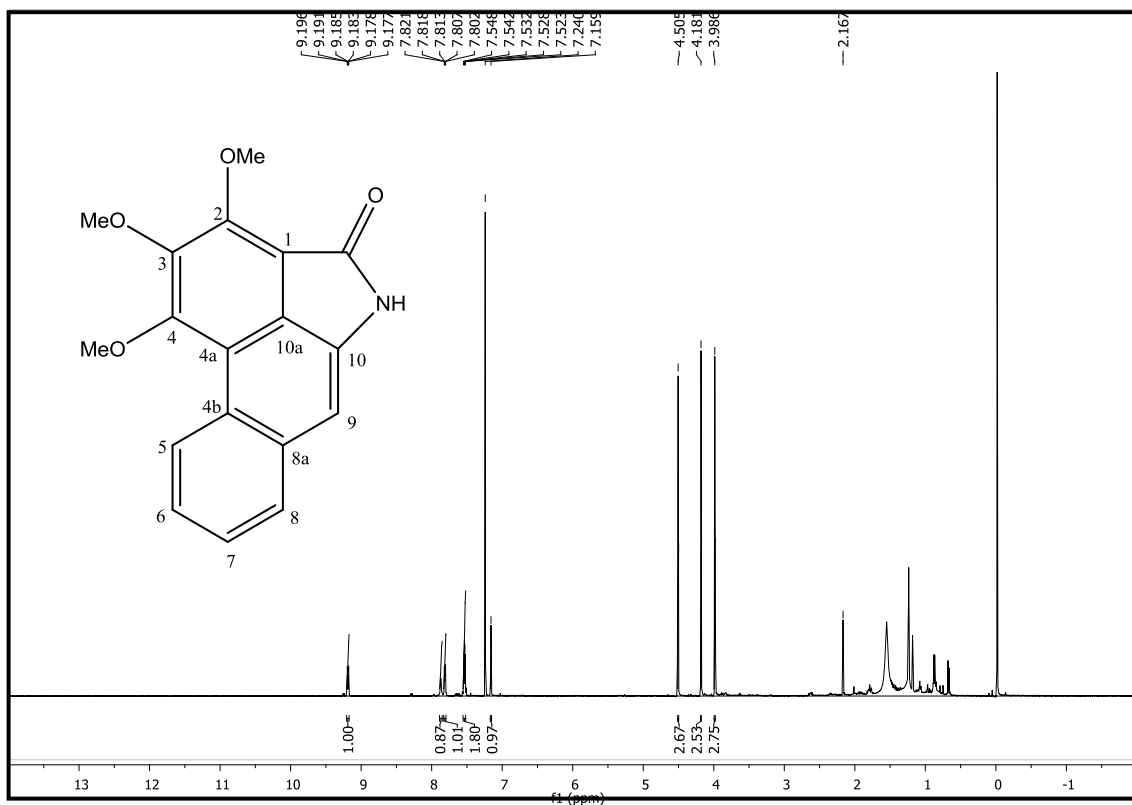


Figura 17: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-2

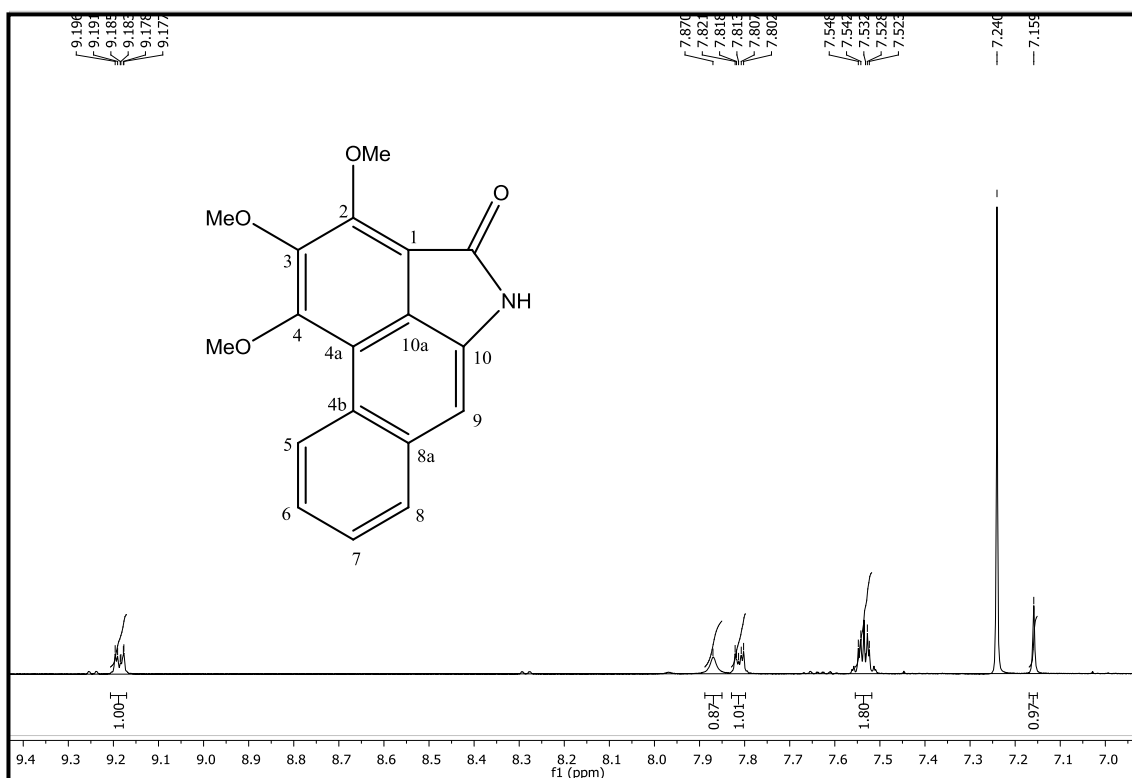


Figura 18: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 7,0-9,4) de Pa-2

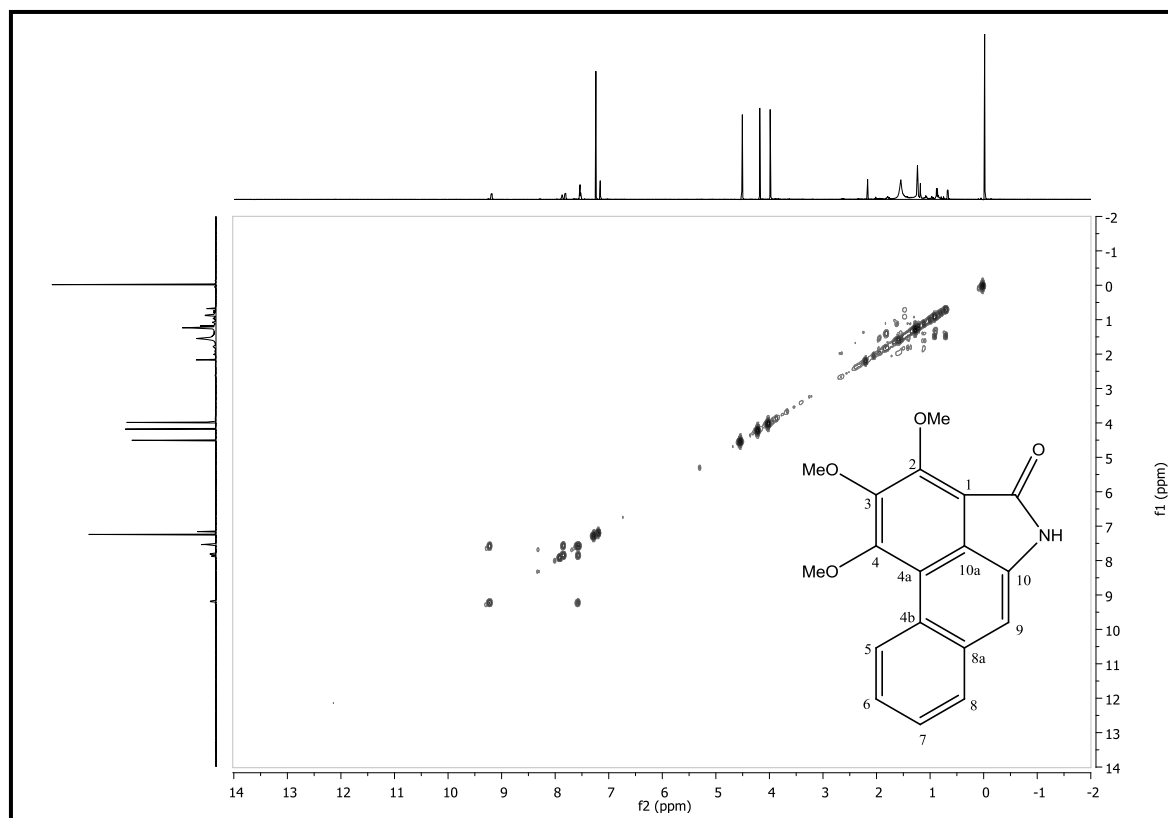


Figura 19: Espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN ¹H x ¹H (CDCl₃, 500 MHz) de Pa-2

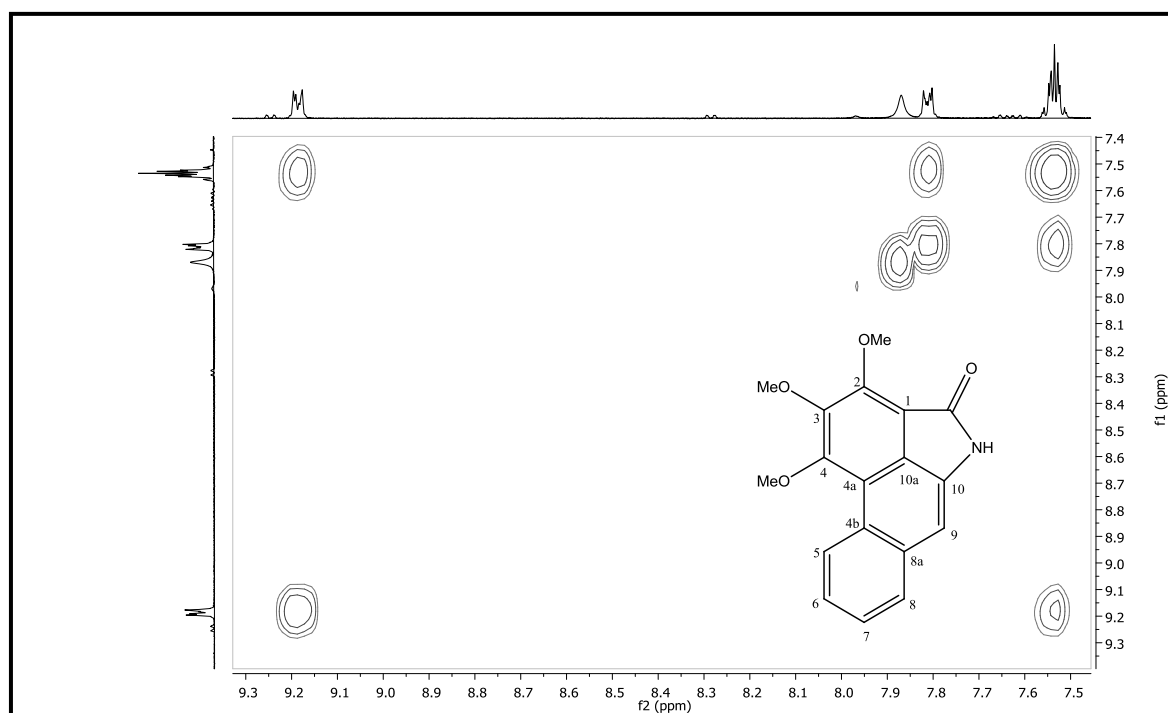


Figura 20: Espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN ¹H x ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ_H 7,5-9,3) de Pa-2

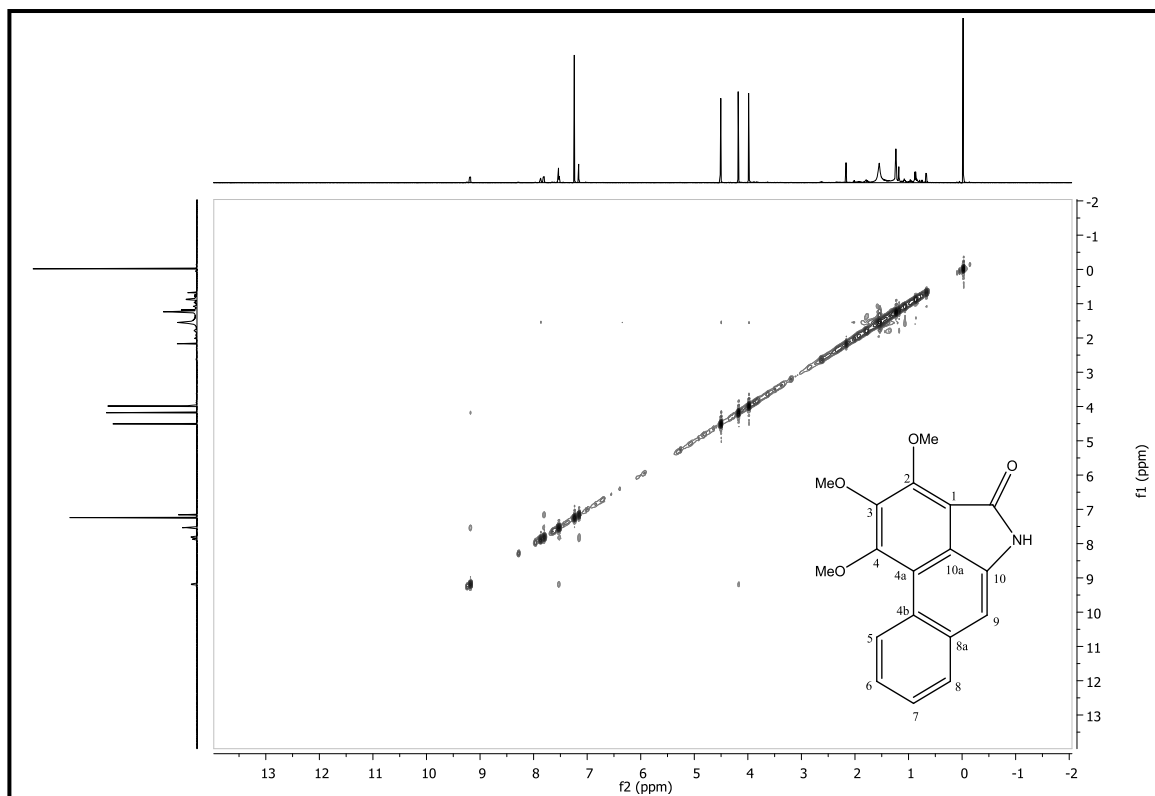


Figura 21: Espectro de Correlação Homonuclear NOESY RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-2

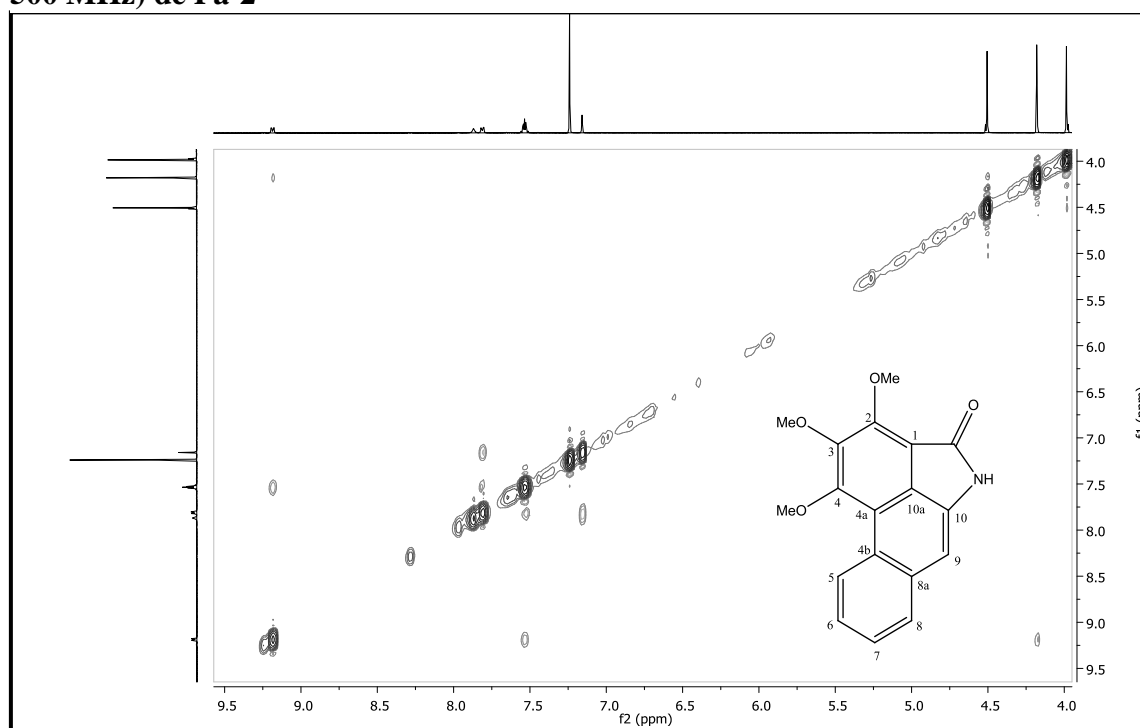


Figura 22: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear NOESY RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 4,0-9,5) de Pa-2

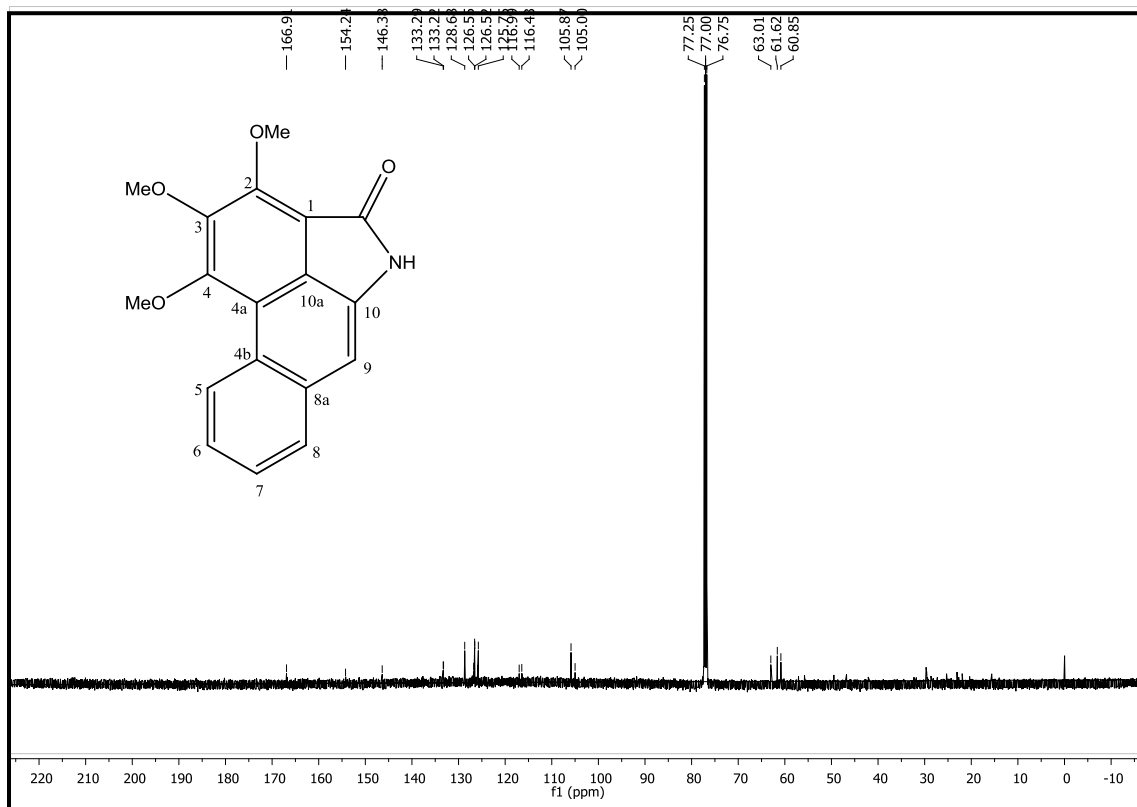


Figura 23: Espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 125MHz) de Pa-2

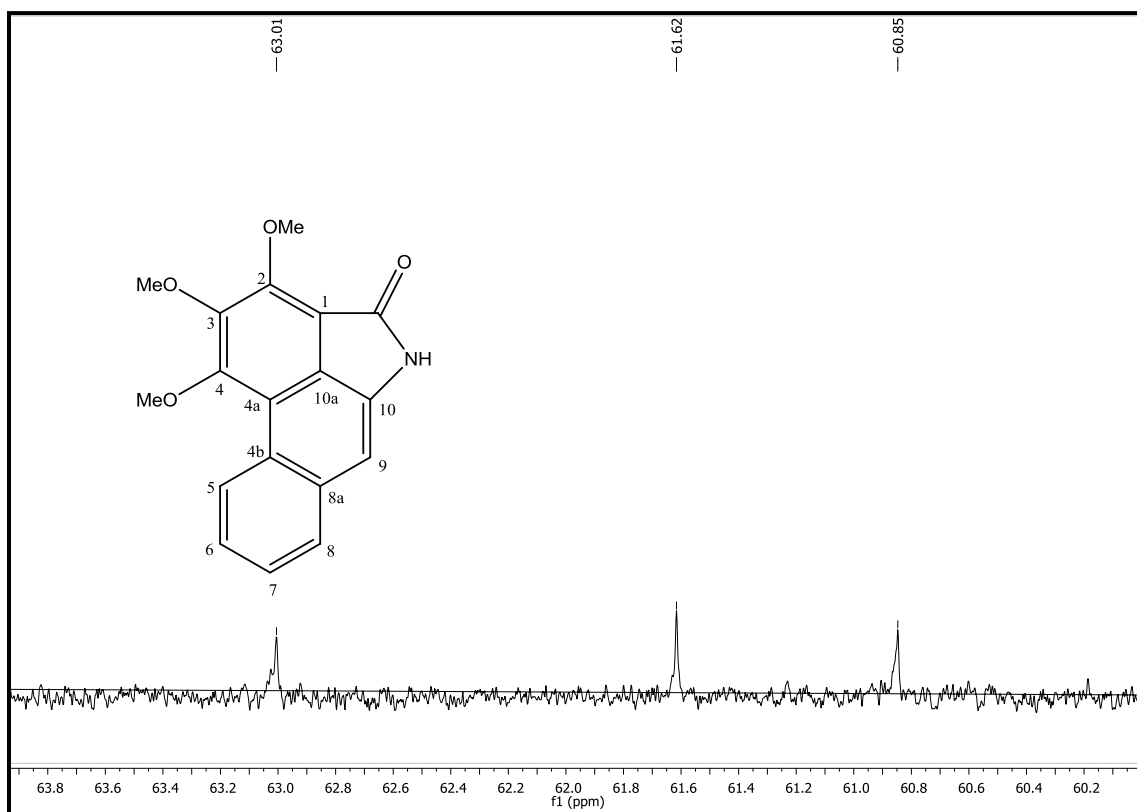


Figura 24: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 60,2-63,8) de Pa-2

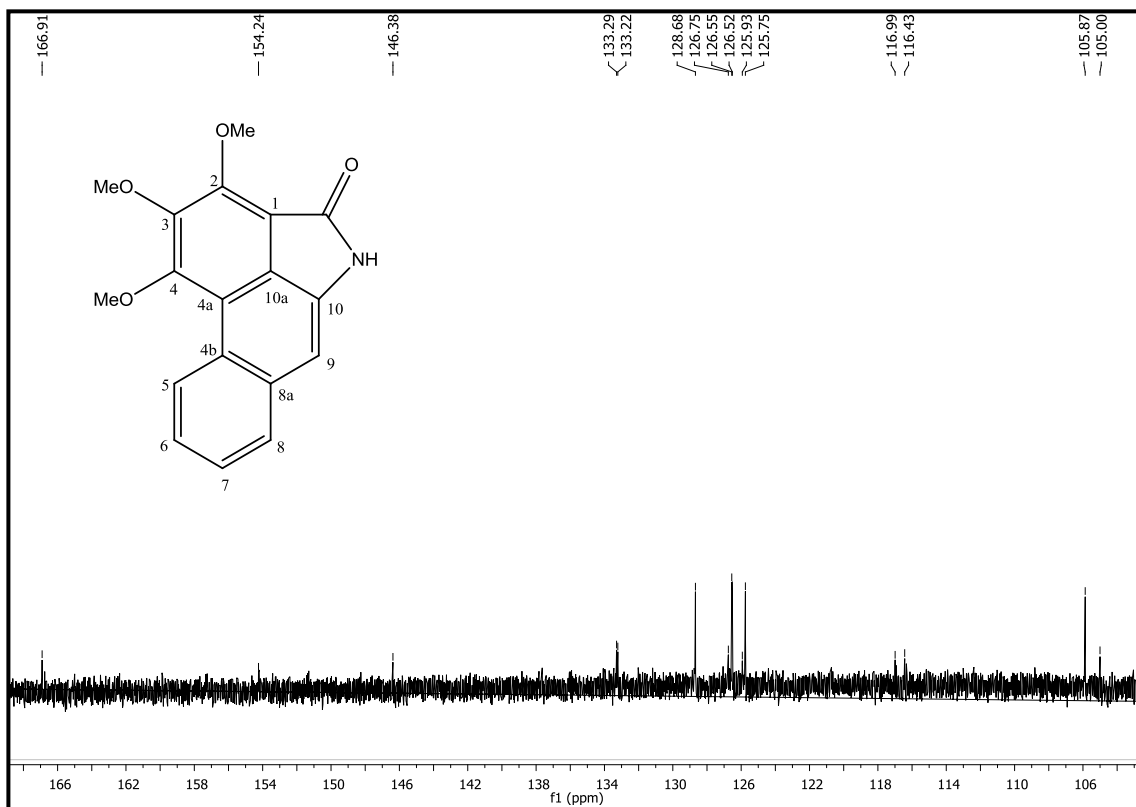


Figura 25: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 106,0-166,0) de Pa-2

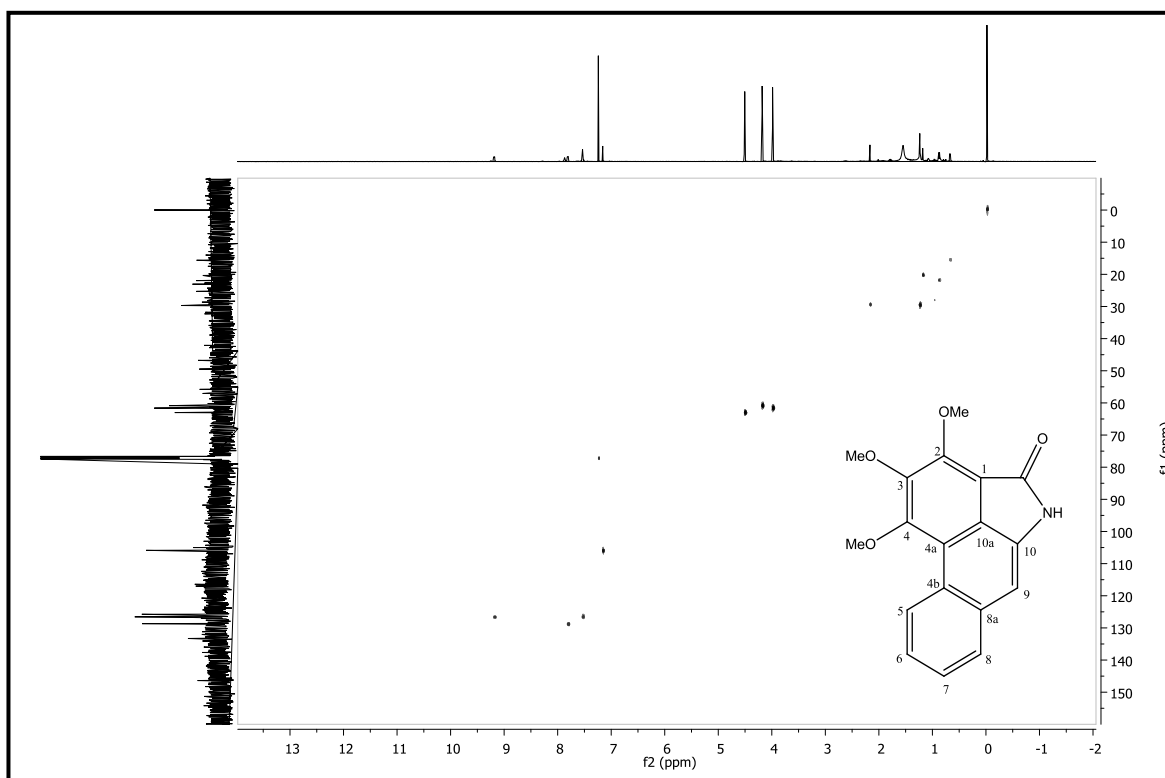


Figura 26: Espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-2

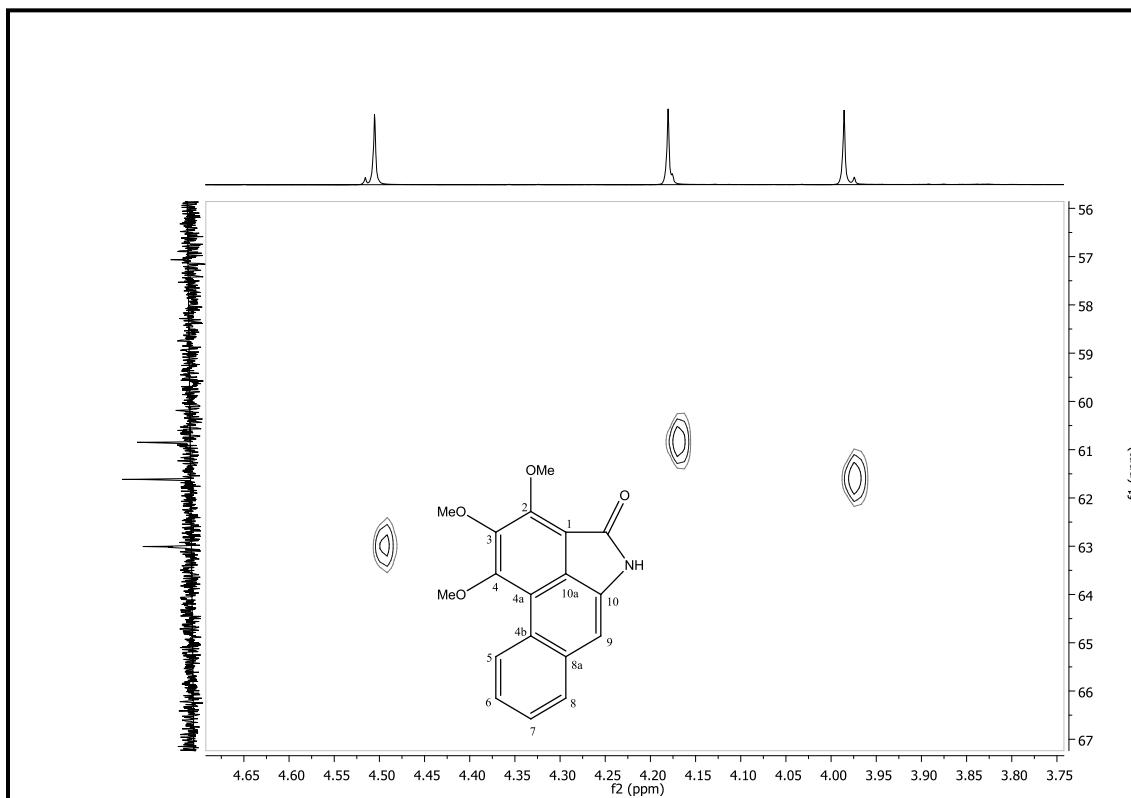


Figura 27: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-1 (CDCl₃, 500/125 MHz, δ_{H} 3,7-4,7) de Pa-2.

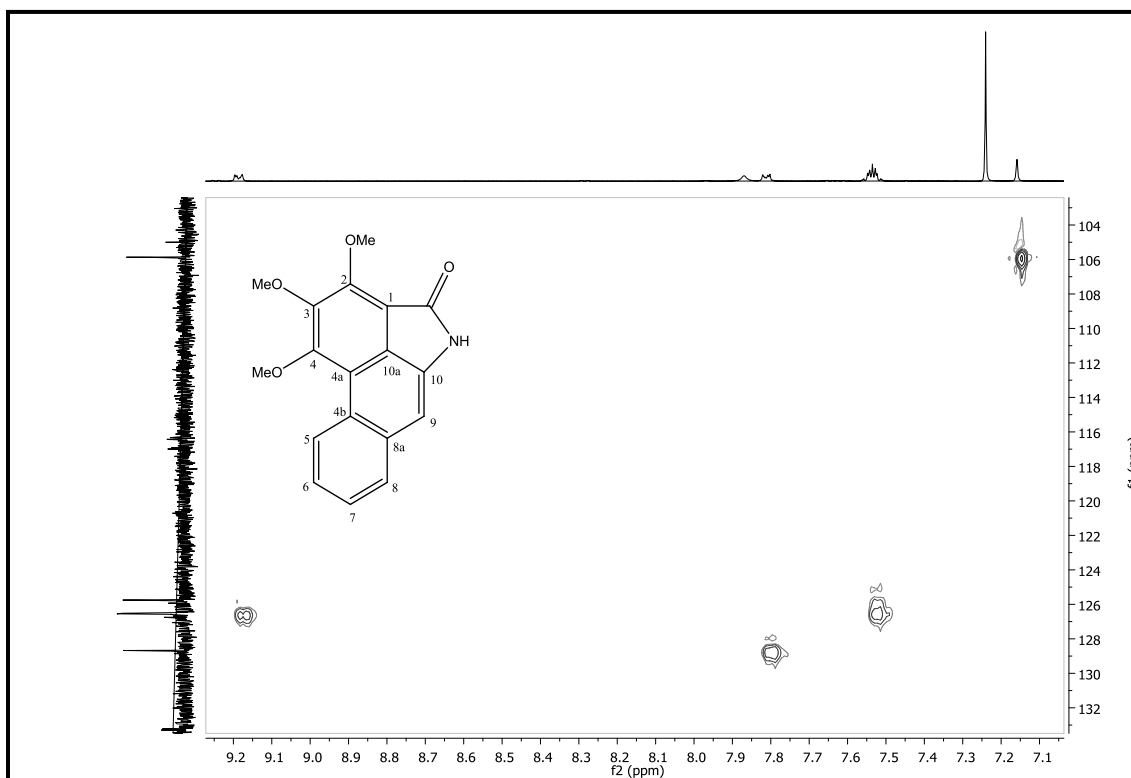


Figura 28: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (CDCl₃, 500/125 MHz, δ_{H} 7,1-9,2) de Pa-2

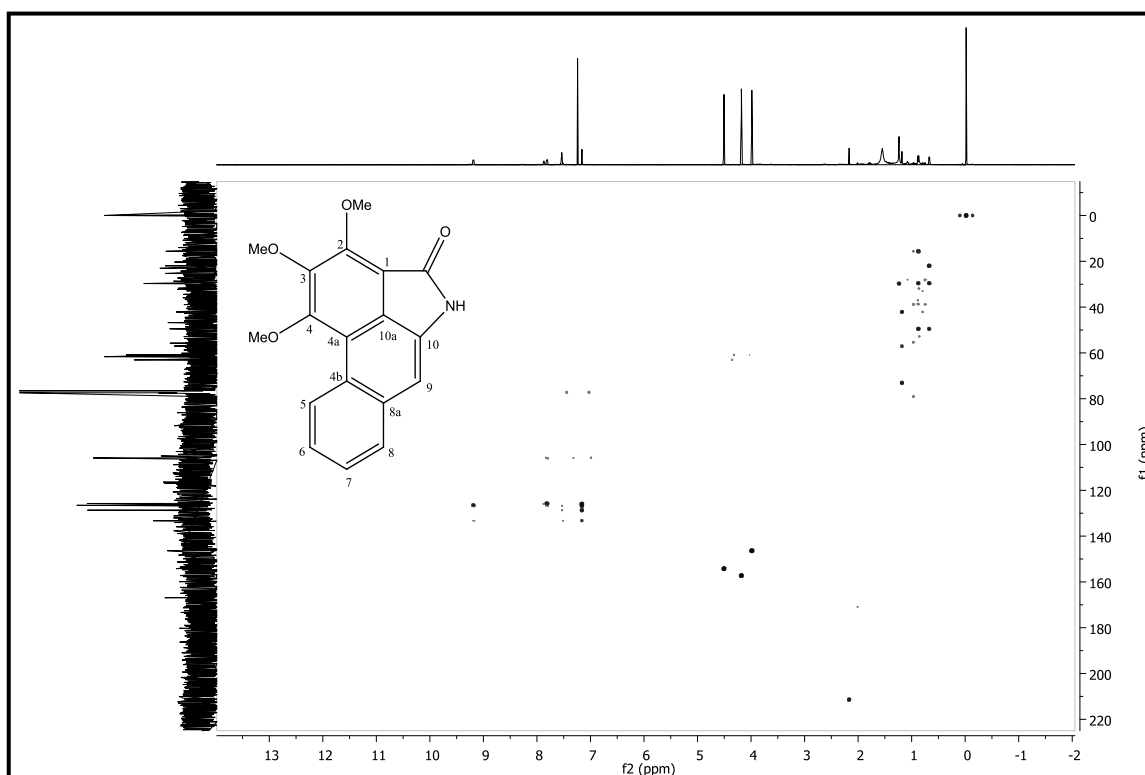


Figura 29: Espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-2

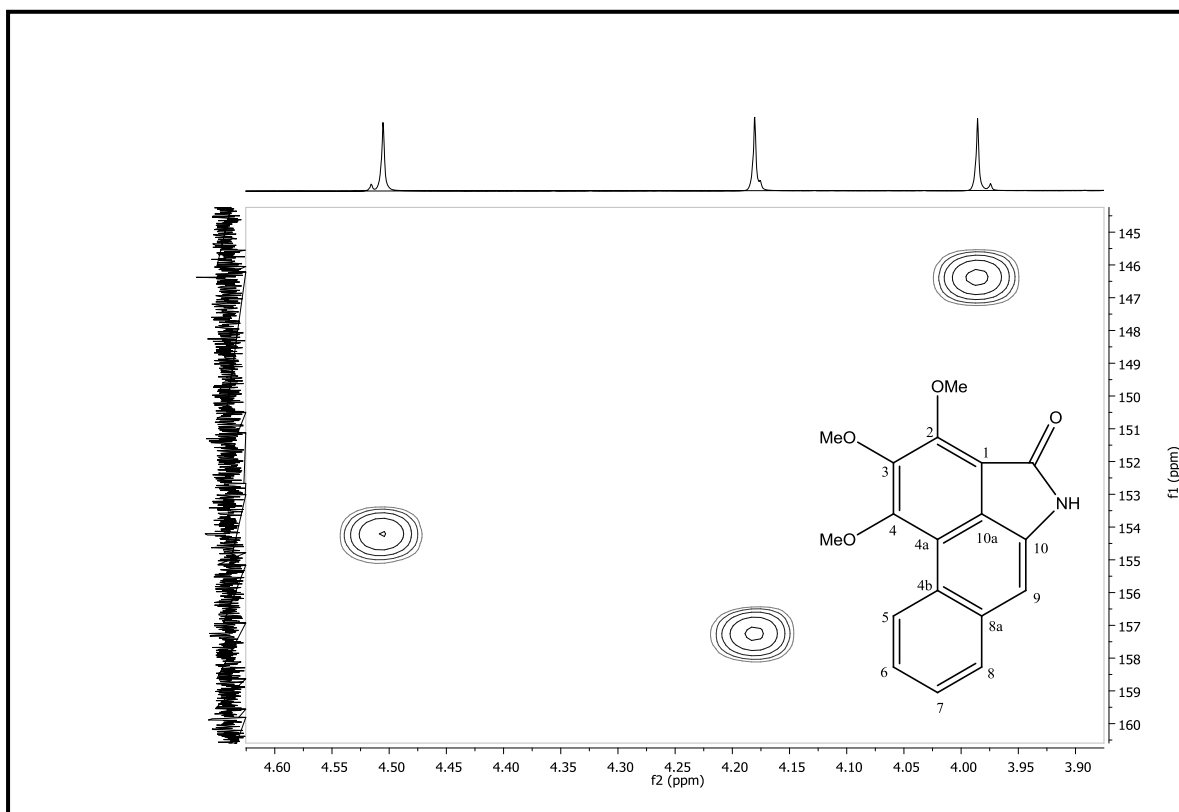


Figura 30: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 3,9-4,6) de Pa-2

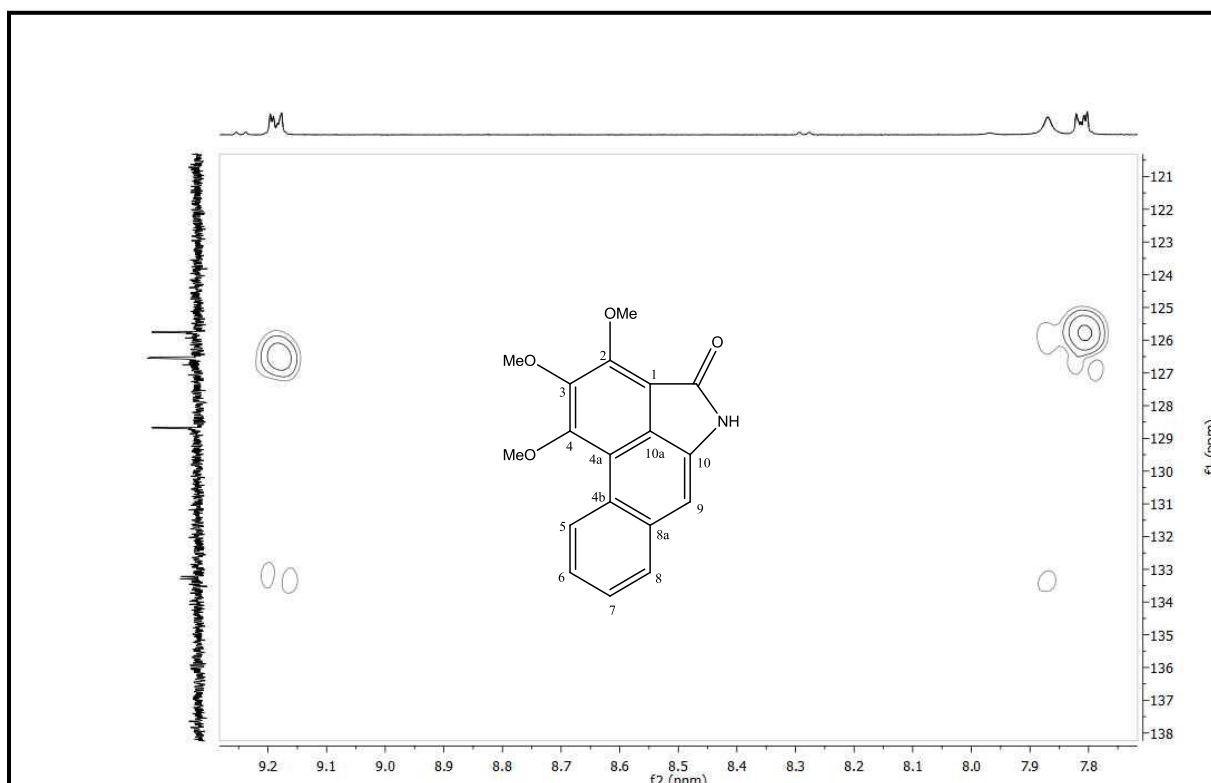


Figura 31: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 7,8-9,3) de Pa-2

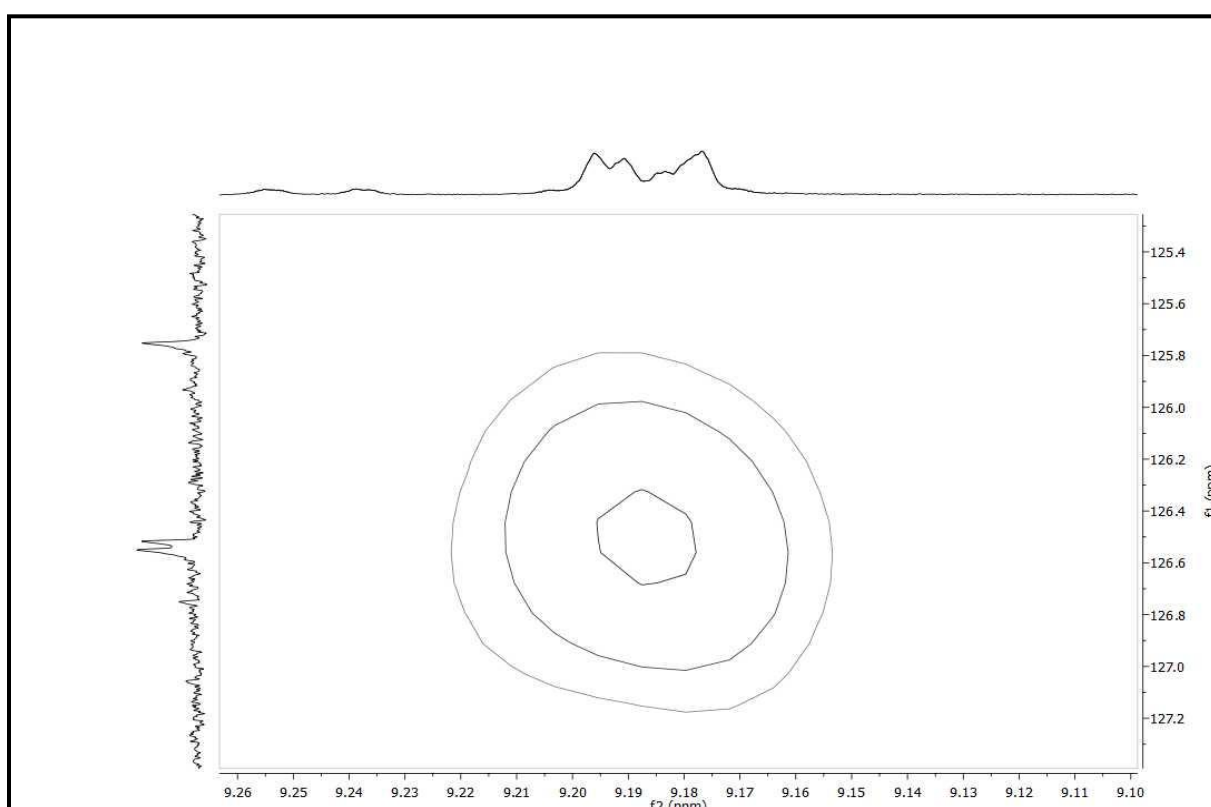


Figura 32: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 9,1-9,3) de Pa-2

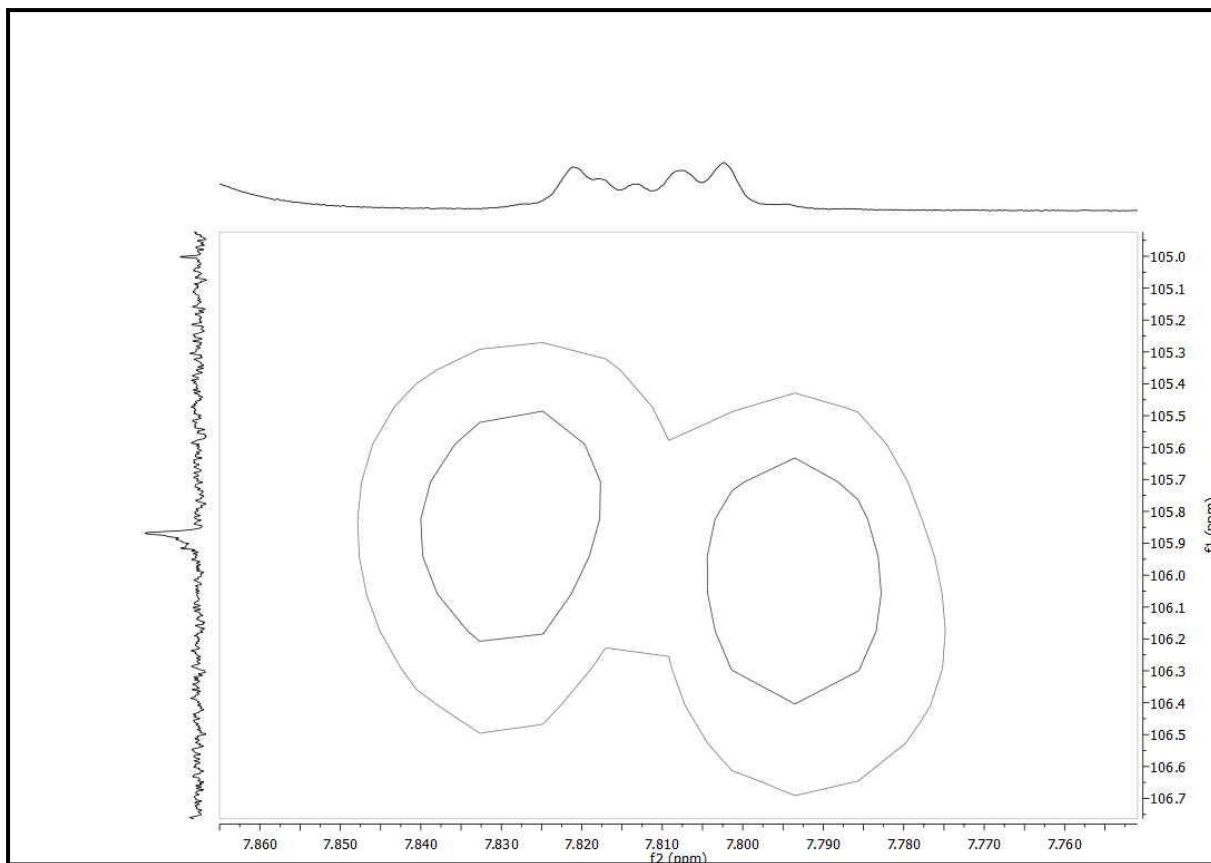


Figura 33: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 7,7-7,9) de Pa-2

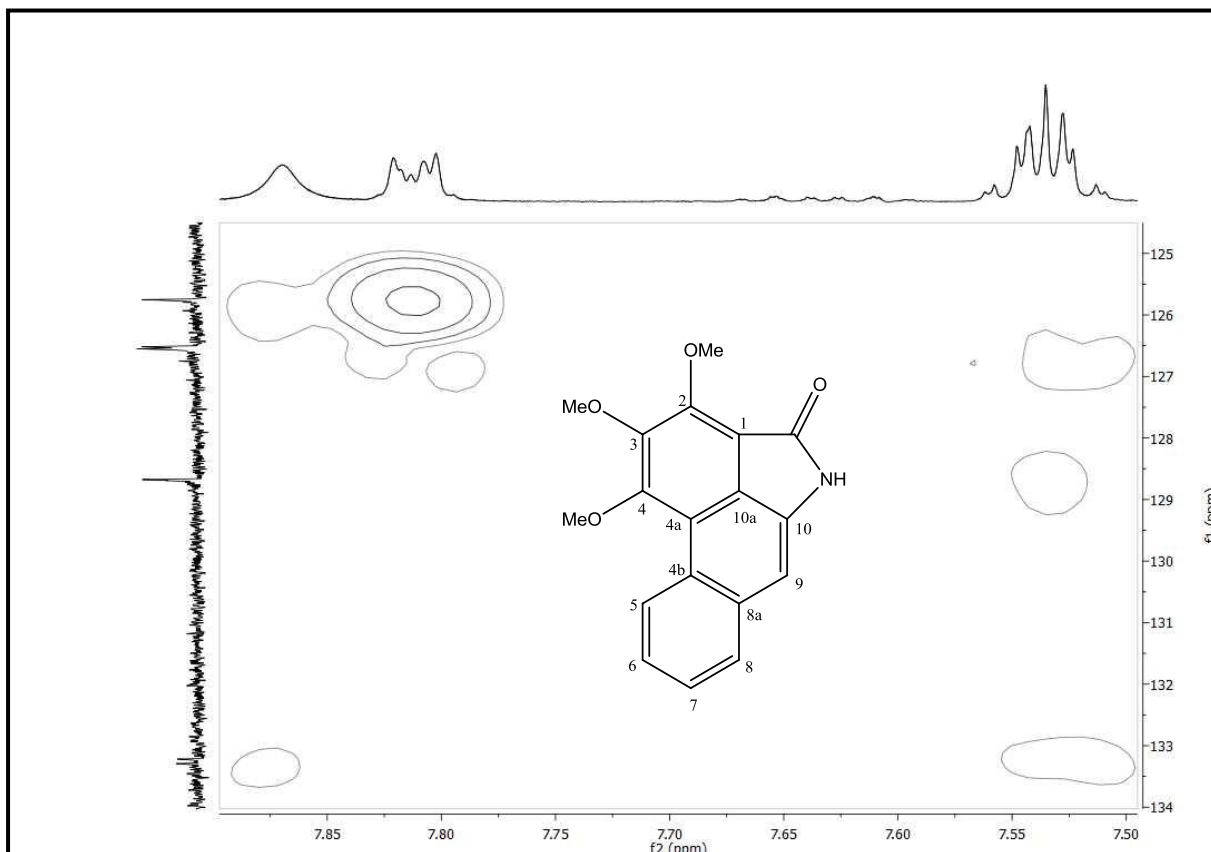


Figura 34: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 7,5-7,9) de Pa-2

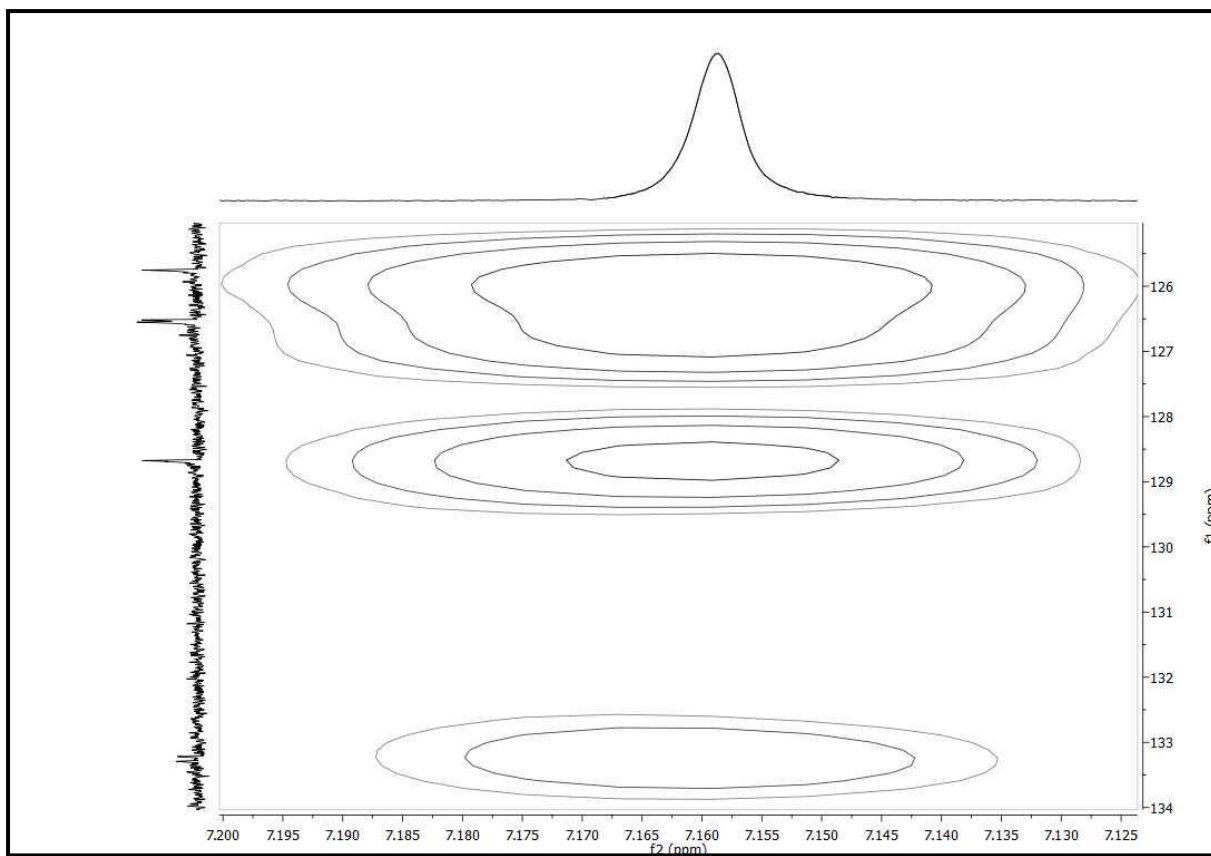


Figura 35: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 7,1-7,2) de Pa-2

5.1.3 Determinação estrutural de Pa-3

A substância codificada como Pa-3 (5,0 mg) apresentou-se como cristais amarelos solúveis em metanol.

Os espectros de RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) (Figura 37 e 38, p. 81) mostraram 5 sinais para 6 hidrogênios aromáticos em δ_{H} 9,32 (m, 1H), δ_{H} 7,84 (m, 1H), δ_{H} 7,76 (s, 1H), δ_{H} 7,52 (m, 2H) e δ_{H} 7,15 (s 1H), mostrou também 1 singlete em δ_{H} 4,09 integrando para 3 três hidrogênios, característico de hidrogênios metoxilicos. A semelhança destes dados com os apresentados para Pa-2 levam a sugerir que Pa-3 também pertencem a classe das aristolactamas.

Os espectros de RMN ^{13}C , utilizando a técnica APT (Figura 41 e 42, p. 83), juntamente com as correlações observadas nos espectros de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 45 a 49, p. 86 a 88), permitiram atribuir a presença de 16 sinais para 16 carbonos, sendo nove para carbonos não hidrogenados (δ_{C} 172,3, δ_{C} 151,7, δ_{C} 149,7, δ_{C} 135,9, δ_{C} 135,7, δ_{C} 128,8, δ_{C} 126,3, δ_{C} 116,9 e δ_{C} 116,1), seis para carbonos metínicos (δ_{C} 129,9, δ_{C} 129,4, δ_{C} 127,7, δ_{C} 126,4, δ_{C} 109,0 e δ_{C} 107,3) e um para carbono metílico (δ_{C} 57,8).

A soma dos dados apresentados permitiram propor para Pa-3 a estrutura de uma aristolactama dissubstituída.

Os sinais em δ_{H} 9,32 (m, 1H), δ_{H} 7,52 (m, 2H), δ_{H} 7,84 (m, 1H), e δ_{H} 7,15 (s 1H), vistos no espectro de RMN ^1H , foram atribuídos as posições 5, 6/7, 8 e 9, respectivamente, semelhante a Pa-2.

O sinal de hidrogênio aromático remanescente em δ_{H} 7,76 foi atribuído a posição 2, por apresentar correlação a três ligações observada no espectro Heteronuclar HMBC (Figura 49, p. 87) com o sinal de carbono em δ_{C} 172,3, atribuído a carbonila da aristolactama. Este mesmo sinal de hidrogênio apresenta correlação espacial (NOESY) (Figura 39 e 40, p. 82) com δ_{H} 4,09, nos levando a propor que a metoxila encontra-se ligada ao carbono 3. E ainda, pela ausência de substituintes propõem-se que o carbono da posição 4 sustenta uma OH.

Os espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (CDOD_3 , 500/ 125 MHz) (Figura 43 a 45, p. 84 e 85) permitiram atribuir os sinais de carbonos hidrogenados (δ_{C} 109,0, δ_{C} 129,4, δ_{C} 126,4, δ_{C} 127,7, δ_{C} 129,9 e δ_{C} 107,3) através das correlações: δ_{H} 7,76/ δ_{C} 109,0, δ_{H} 9,32/ δ_{C}

129,4; 7,52/ δ_C 126,4 e δ_C 127,7, δ_H 7,84/ δ_C 129,9; e δ_H 7,15/ δ_C 107,3 para as posições 2, 5, 6, 7, 8 e 9, e ainda através de correlações observadas nestes espectros: δ_H 4,09/ δ_C 57,8; para o carbono da metoxila ligada ao carbono da posição 3.

O espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (CDCl_3 , 500/ 125 MHz) (Figura 49, p. 87) mostrou a seguinte correlação: δ_H 4,09/ δ_C 149,7 (Figura 48, p. 86) permitiu atribuir inequivocamente δ_C 149,7, para a posição 3; enquanto que as correlações: δ_H 7,76/ δ_C 172, 3, δ_C 151,7, δ_C 149,7, δ_C 126,3 e δ_C 116,9 (Figura 46 a 49, p. 85 a 87), δ_H 7,15/ δ_C 135,9, δ_C 129,9, δ_C 128,8 e δ_C 126,3 (Figuras 46 a 48, p. 86 e 88) permite confirmar δ_C 172,3, δ_C 149,7, δ_C 129,9, δ_C 151,7, δ_C 126,3 e δ_C 116,9 para a carbonila e para posições 3, 8, 4, 10a e 1 e sugerir δ_C 135,9 e δ_C 128,8, para as posições 10 e 4b, respectivamente. E ainda nestes mesmos espectros observa-se as correlações δ_H 9,32/ δ_C 135,7, δ_C 127,7 e δ_C 116,1; 7,84/ δ_C 128,8, δ_C 126,4 e δ_C 107,3 e 7,52/ δ_C 129,9 e δ_C 129,4 (Figuras 46 a 48, p. 86 a 88) que permitem confirmar os sinais de carbono em δ_C 127,7, δ_C 126,4, δ_C 107,3, δ_C 129,9 e δ_C 129,4 para as posições 7, 6, 9, 8 e 5, respectivamente e propor para a posição 8a o sinal de carbono δ_C 135,7, para 4a o sinal de carbono em δ_C 116,1, para 4b o sinal δ_C 128,8.

Os dados estudados e a comparação com a literatura (LIN et al., 2013) (Tabela 5 e 6, p. 80) permitiram identificar Pa-3 como 3,4-Ditoximetoxi-aristolactama, também denominada de Piperolactama A (Figura 36, p. 79), isolada pela primeira vez na espécie *Piper arboreum*, anteriormente descrita nas famílias Saururaceae (CHEN, et al., 2013a), Aristolochiaceae (URZUA, et al., 2013), Piperaceae (CHEN, et al., 2013b) e Annonaceae (LAN, et al., 2011).

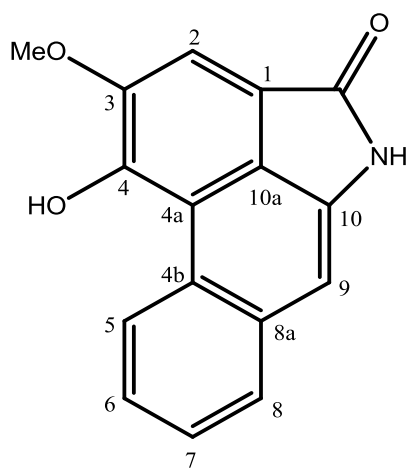


Figura 36: Piperolactama A

Tabela 5: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-3 registrados em CD_3OD

Posição	HMQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J
1		116,9		
2	7,76 (s, 1H)	109,0	C-1; C-3	C=O; C-4; C-10a
3		149,7		
4		151,7		
4a		116,1		
4b		128,8		
5	9,32 (m, 1H)	129,4		C-4a; C-7; C-8a
6	7,52 (m, 2H)	126,4	C-5	C-8
7	7,52 (m, 2H)	127,7	C-8	C-5
8	7,84 (m, 1H)	129,9		C-6; C-9; C-4b
8a		135,7		
9	7,15 (s, 1H)	107,3	C-10	C-8; C-10a; C-4b
10		135,9		
10a		126,3		
C=O		172,3		
3-OMe	4,09 (s, 3H)	57,8		C-3

Tabela 6: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-3 com modelo encontrado na literatura (LIN, et al., 2013).

Posição	Pa-4 (CD_3OD , 500/125 MHz)		Modelo-Literatura (CD_3OD , 500/125 MHz)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	116,9		116,9	
2	109,0	7,76 (s, 1H)	108,9	7,77 (s, 1H)
3	149,7		149,7	
4	151,7		151,6	
4a	116,1		116,0	
4b	128,8		128,8	
5	129,4	9,32 (m, 1H)	129,2	9,32 (m, 1H)
6	126,4	7,52 (m, 2H)	126,4	7,53 (m, 2H)
7	127,7	7,52 (m, 2H)	127,7	7,53 (m, 2H)
8	129,9	7,84 (m, 1H)	129,8	7,85 (m, 1H)
8a	135,7		135,7	
9	107,3	7,15 (s, 1H)	107,2	7,15 (s, 1H)
10	135,9		135,9	
10a	126,3		126,2	
C=O	172,3		172,3	
3-OMe	57,8	4,09 (s, 3H)	57,7	4,09 (s, 3H)

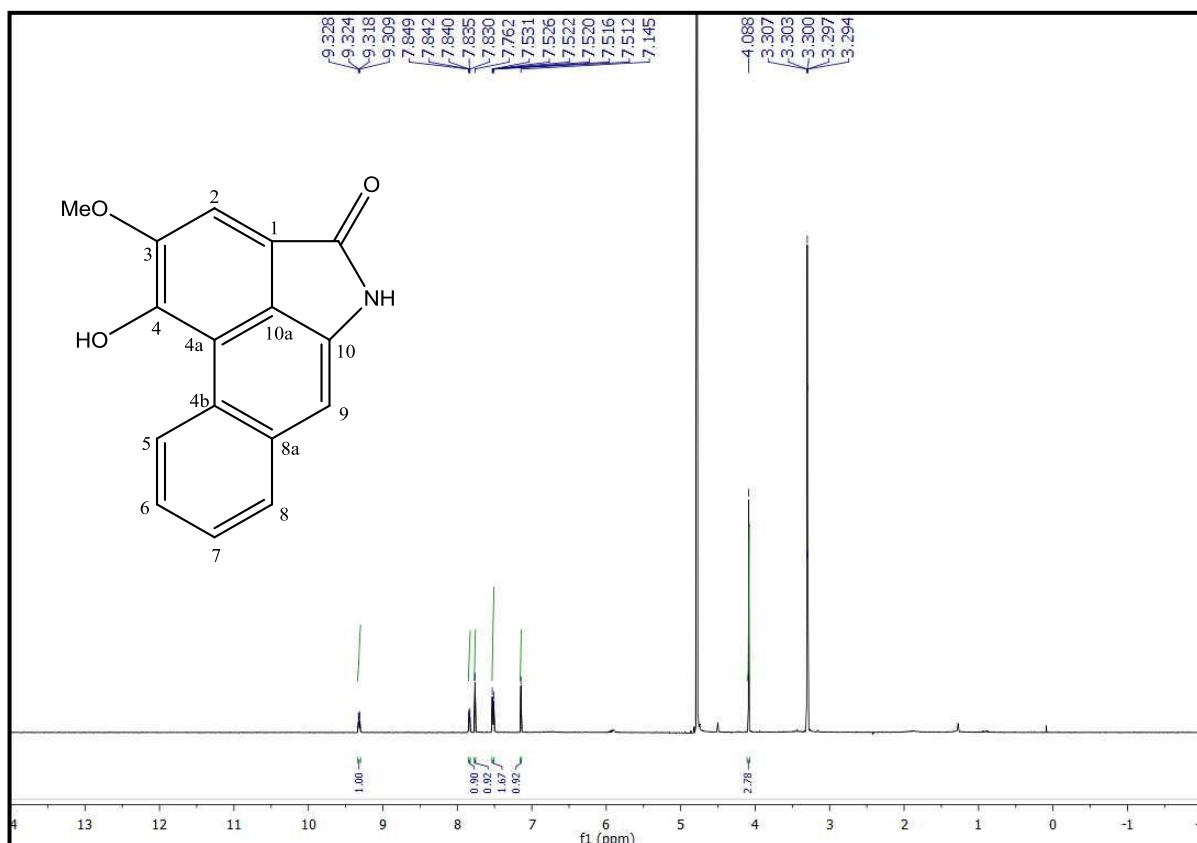


Figura 37: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz) de Pa-3

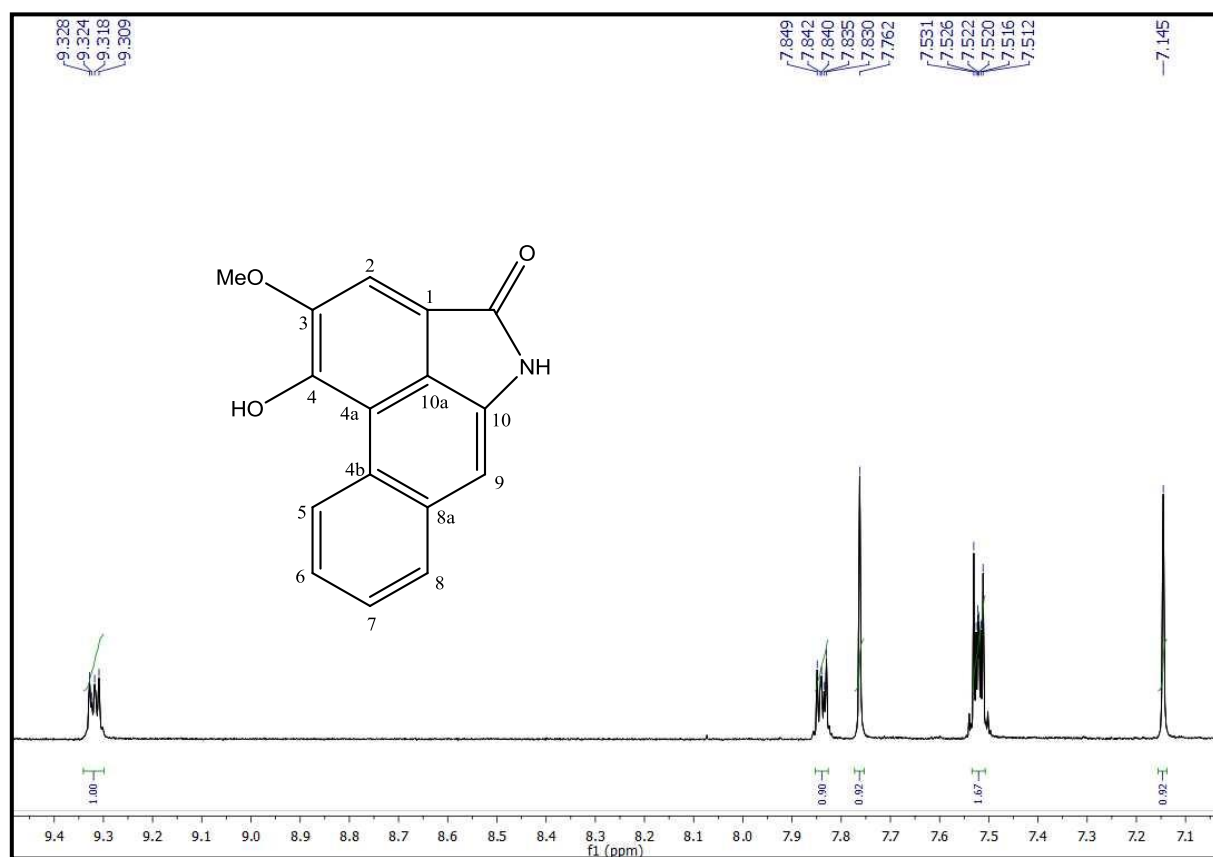


Figura 38: Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 500 MHz, δ_{H} 7,0-9,5) de Pa-3

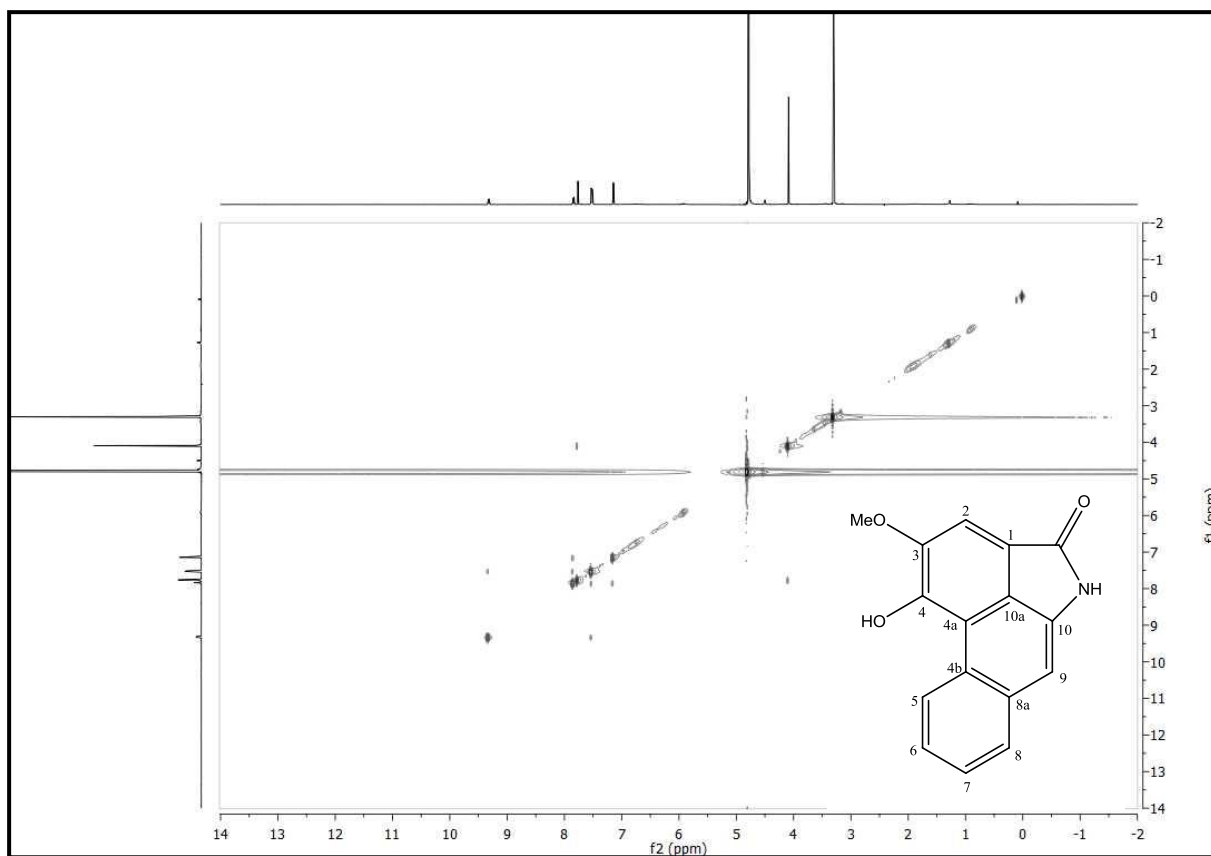


Figura 39: Espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CD_3OD , 500 MHz) de Pa-3

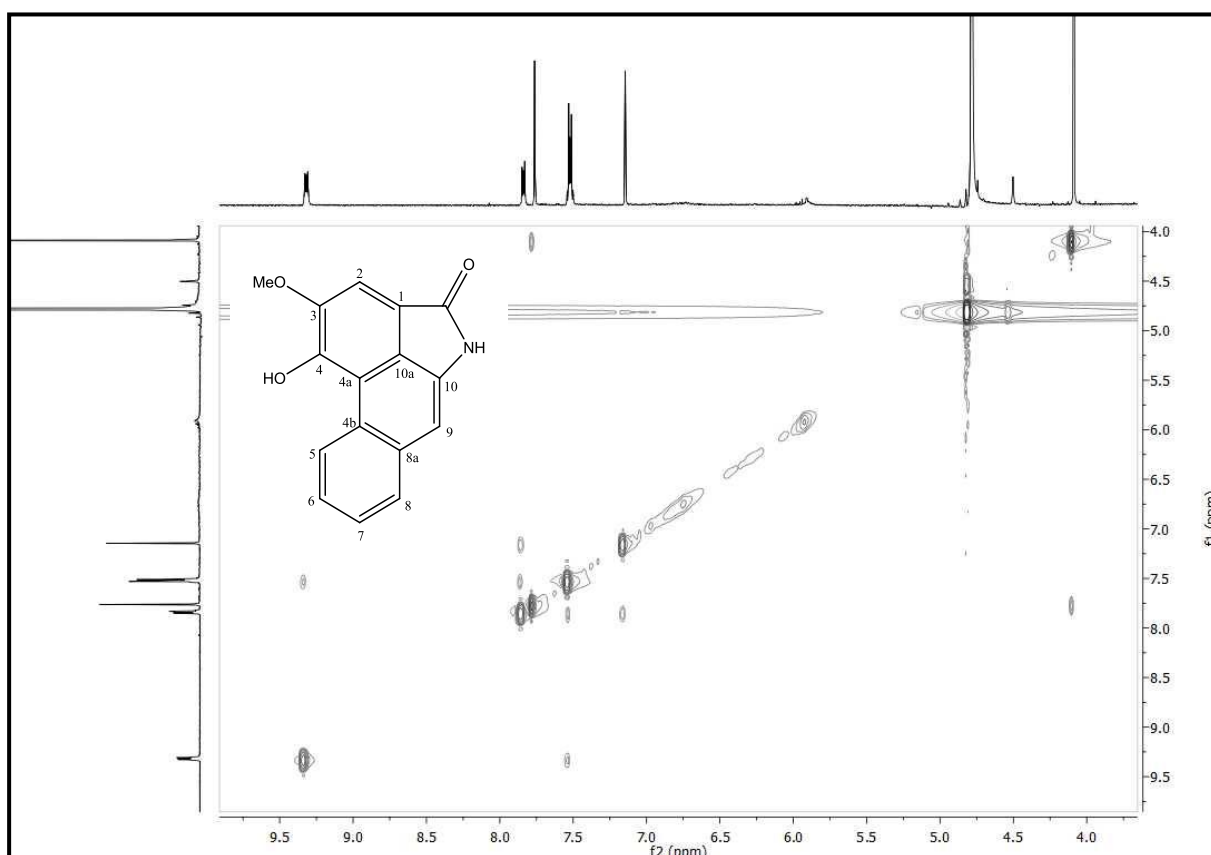


Figura 40: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CD_3OD , 500 MHz, δ_{H} 3,5-10,0) de Pa-3

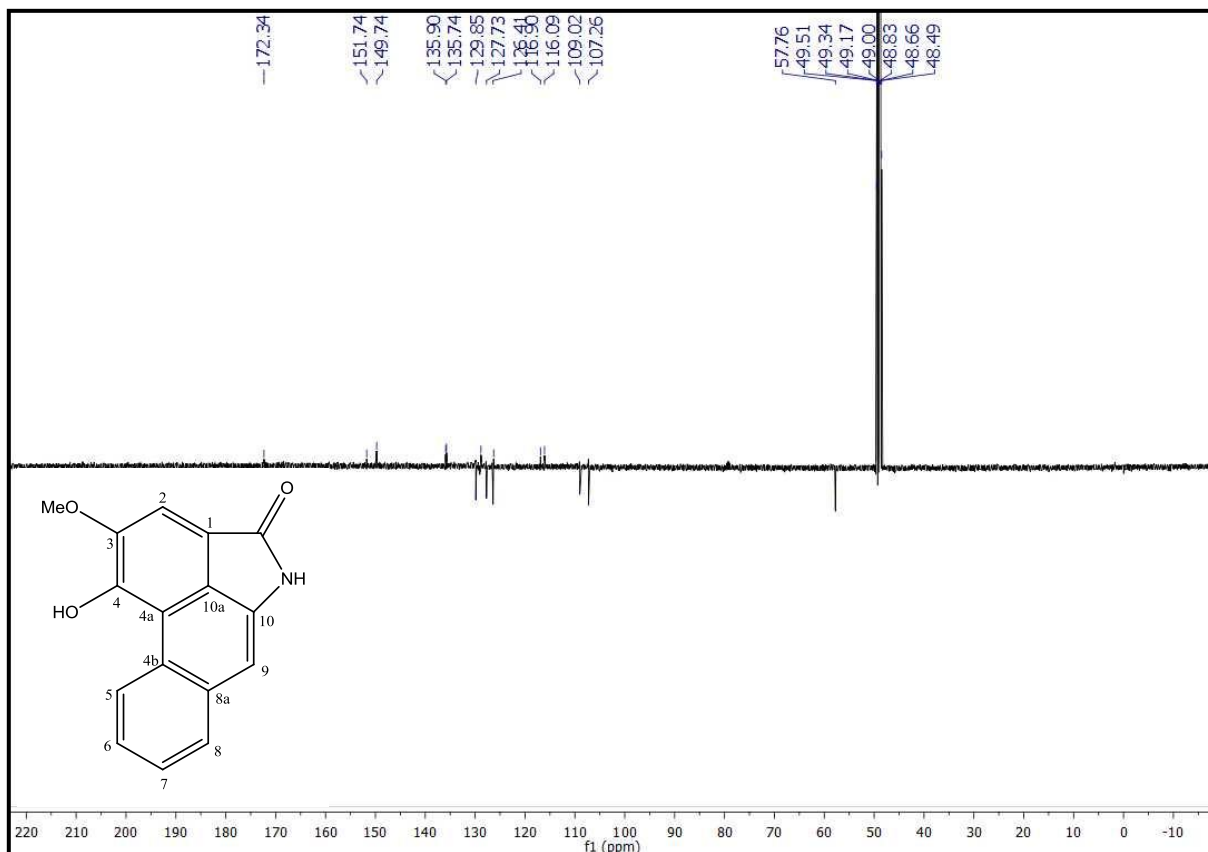


Figura 41: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD , 125 MHz) de Pa-3

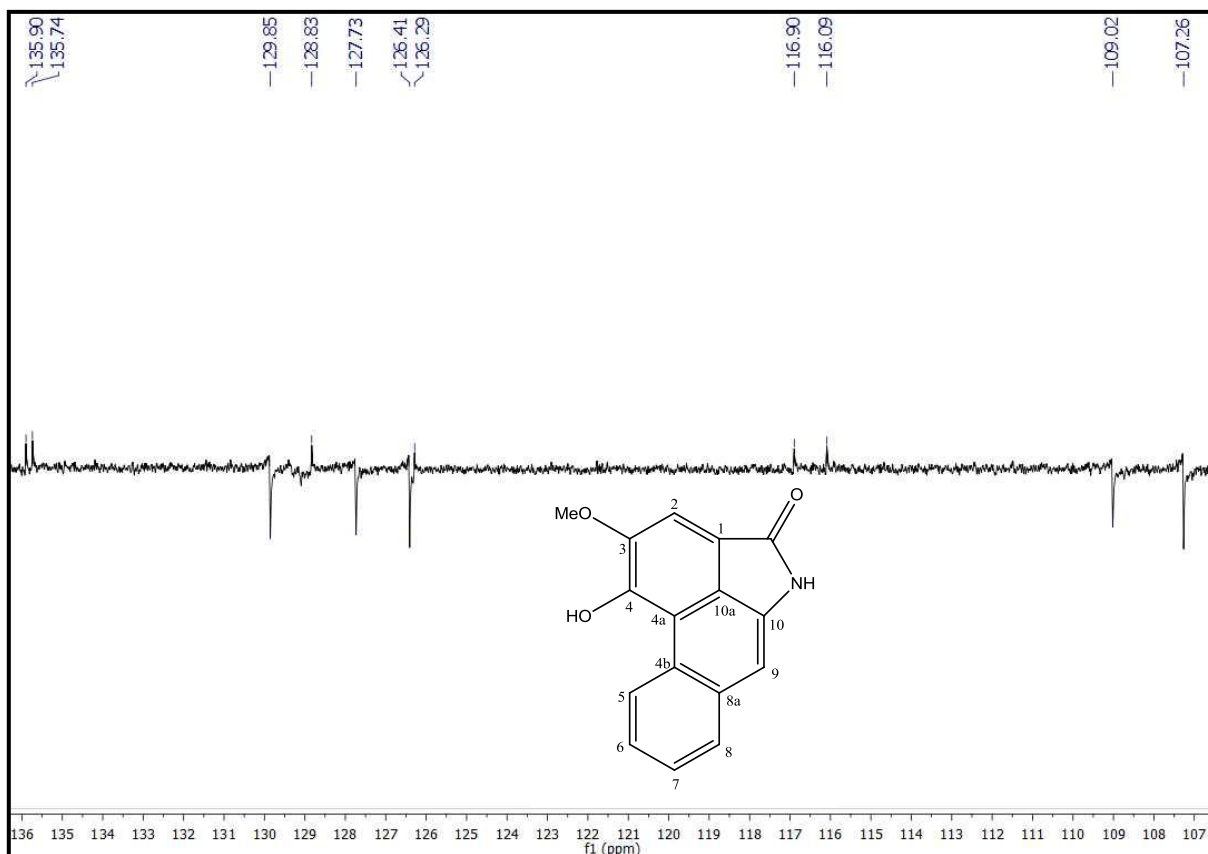


Figura 42: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD 125 MHz, δ_{C} 107,0-136,0) de Pa-3

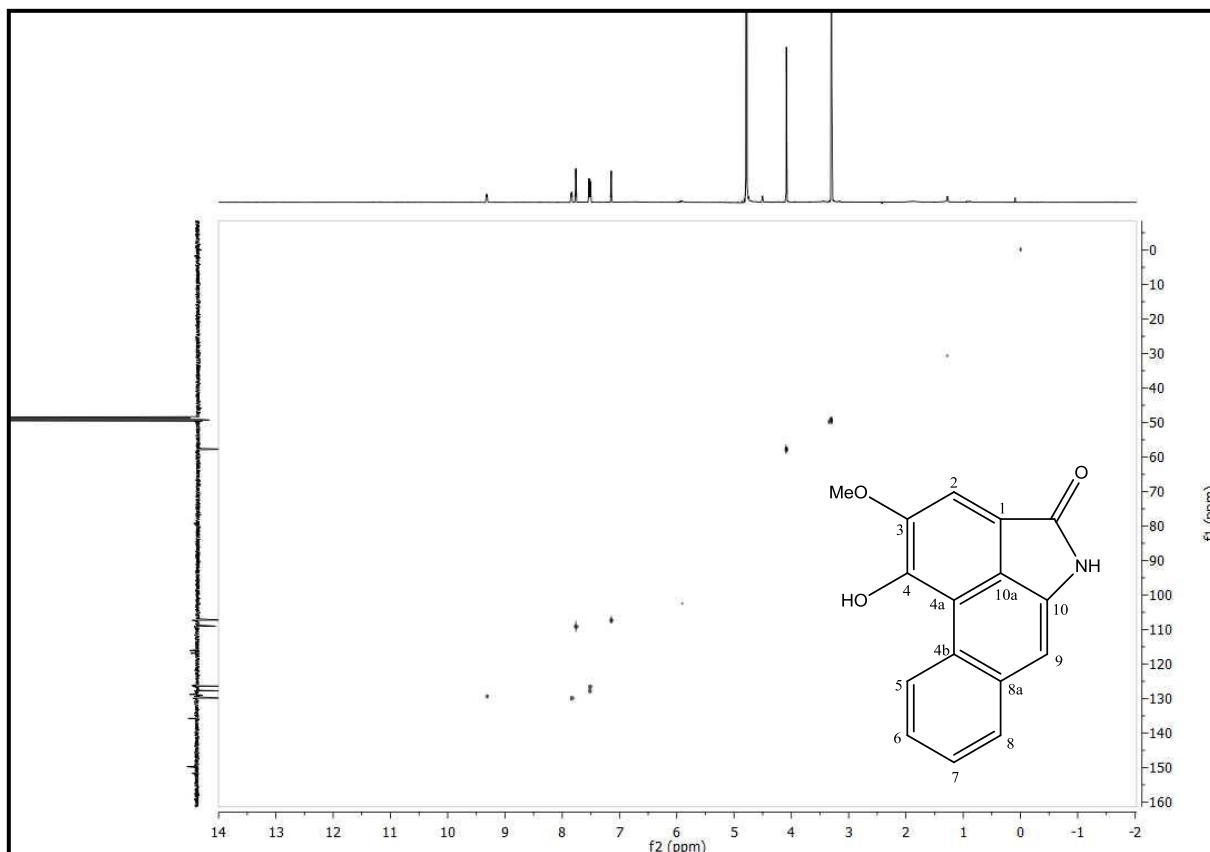


Figura 43: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CD_3OD , 500/125 MHz) de Pa-3

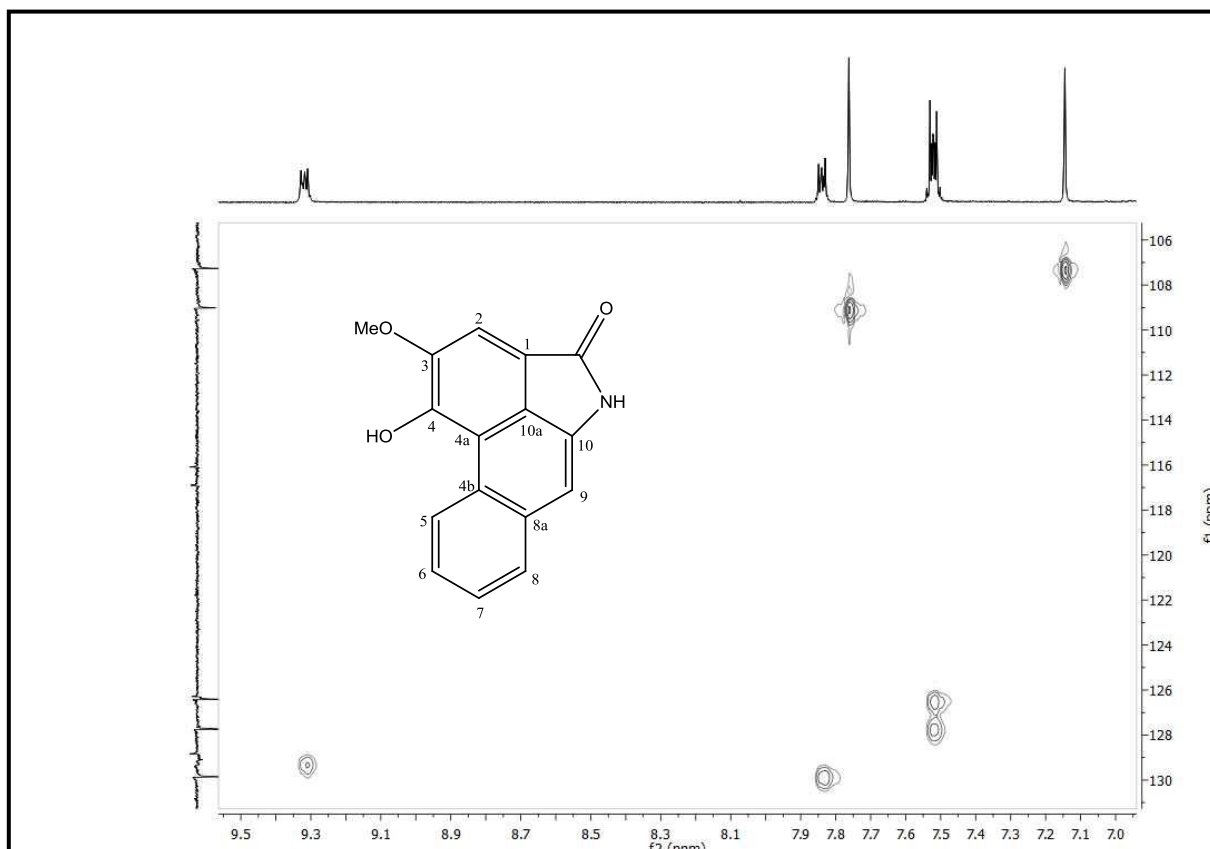


Figura 44: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 7,0-9,5) de Pa-3

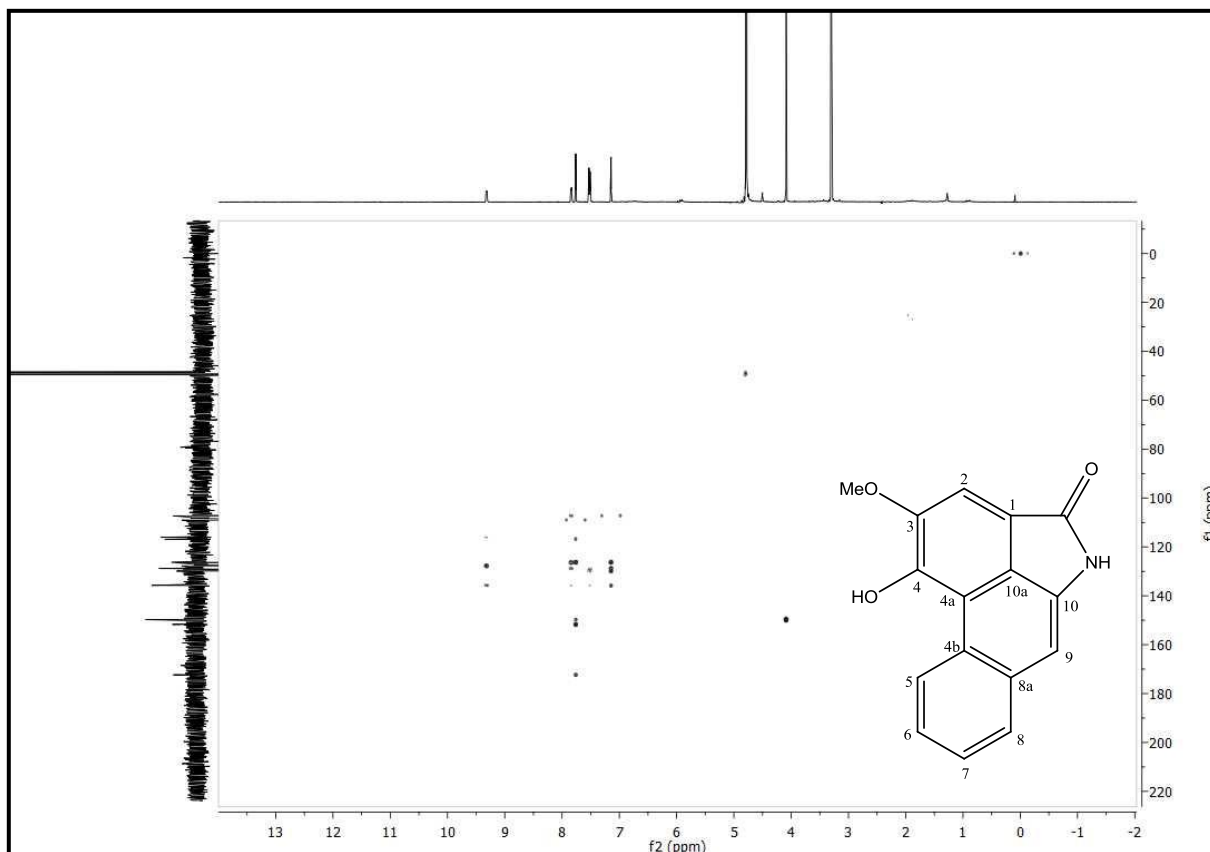


Figura 45: Espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz) de Pa-3

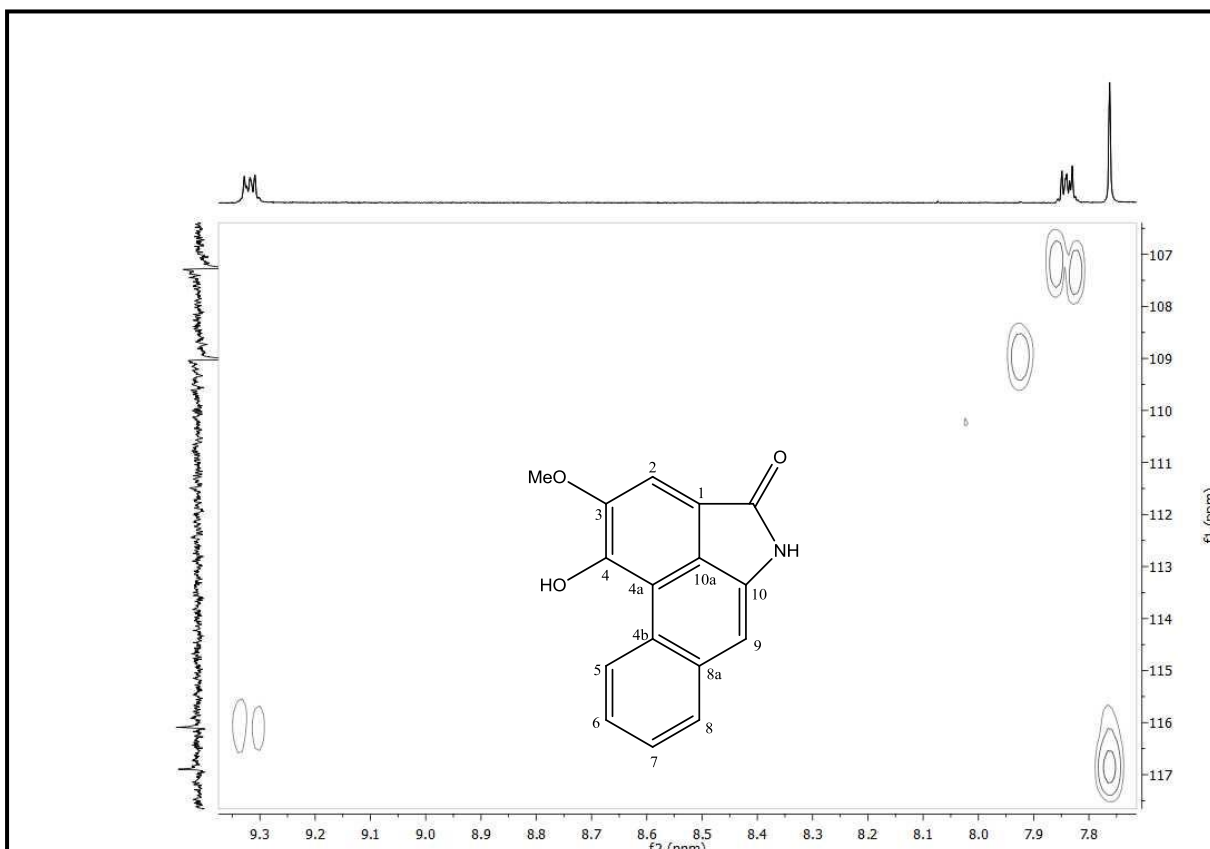


Figura 46: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 7,8-9,3) de Pa-3

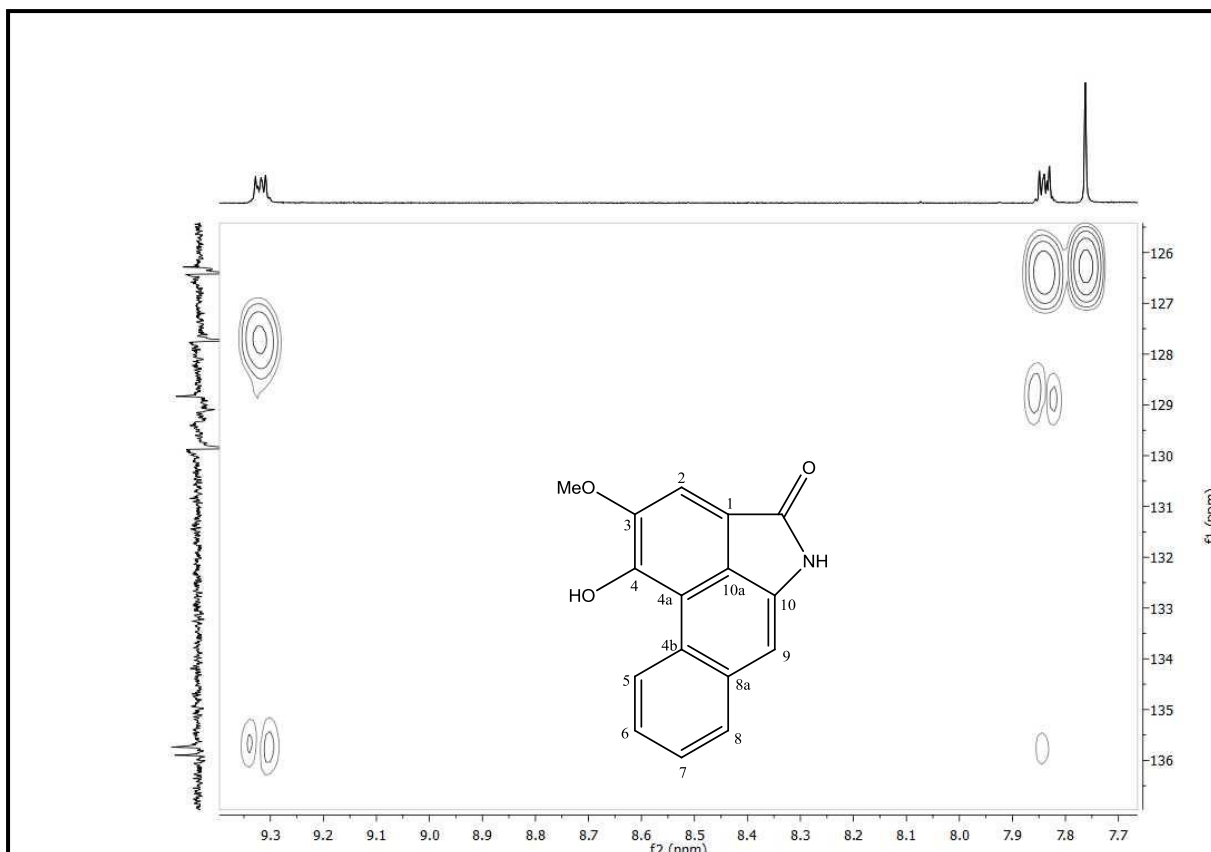


Figura 47: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD₃OD, 500/125 MHz, δ_{H} , 7,7-9,3) de Pa-3

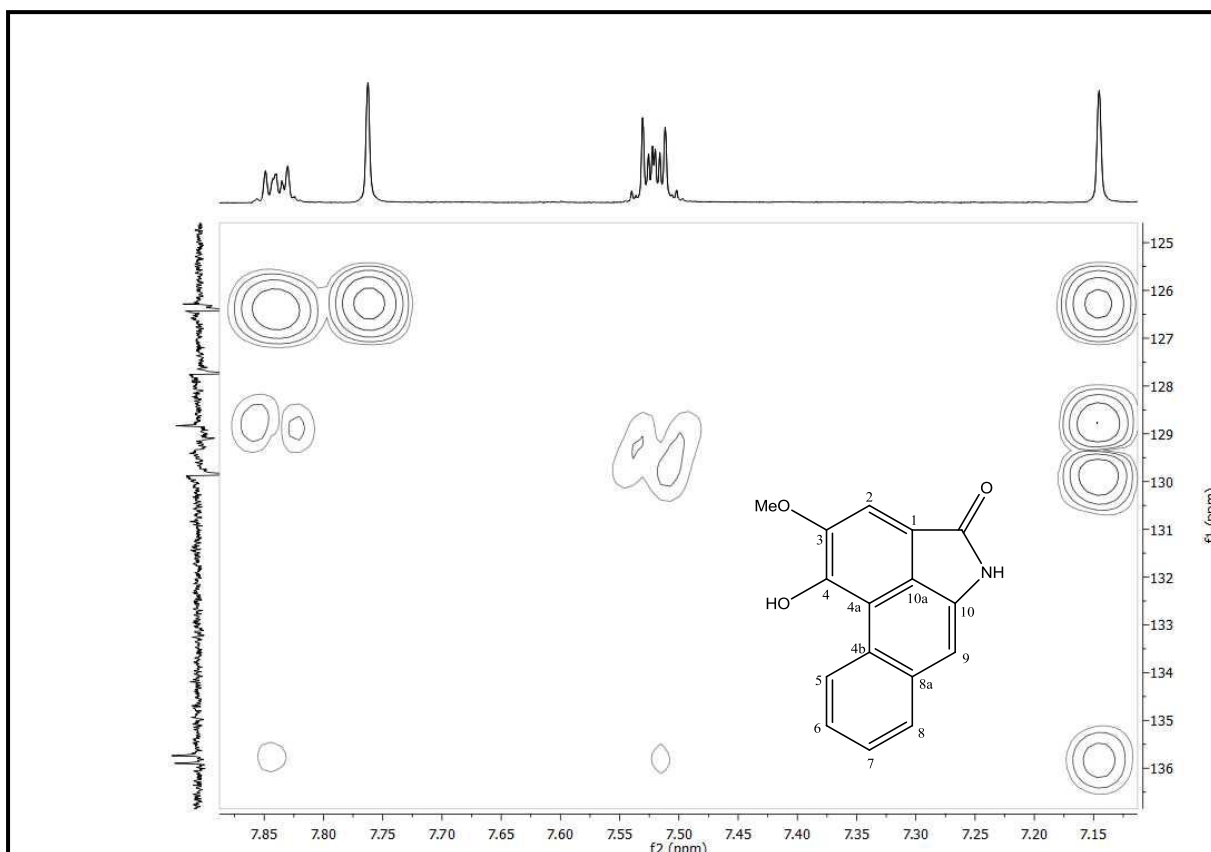


Figura 48: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD₃OD, 500/125 MHz, δ_{H} , 7,2-7,9) de Pa-3

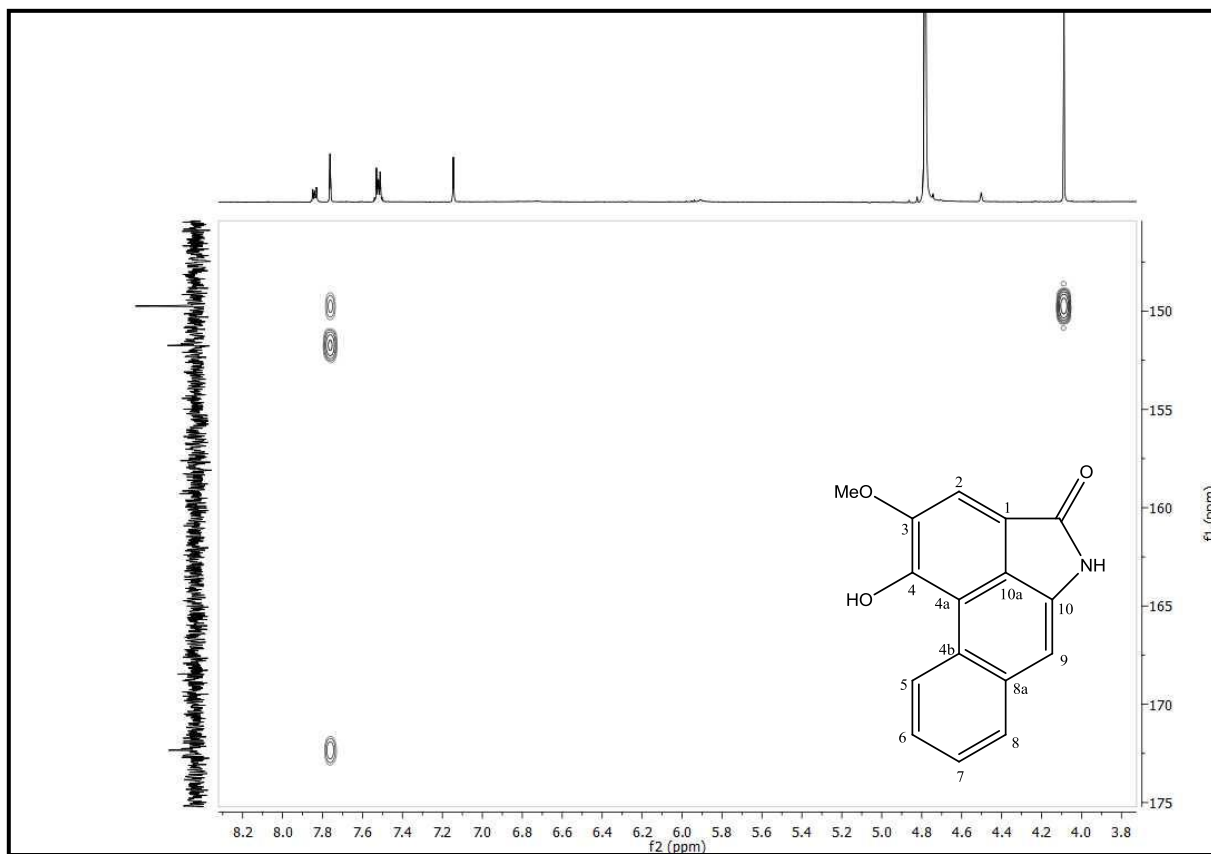


Figura 49: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CD_3OD , 500/125 MHz, δ_{H} , 3,8-8,2) de Pa-3

5.1.4 Determinação estrutural de Pa-4/Pa-5

A substância codificada como Pa-4/Pa-5 (10,0 mg) apresentou-se como cristais amarelos, solúveis em clorofórmio.

O perfil dos espectros de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 51 a 54, p. 93 a 94) apresentou-se semelhante aos de Pa-2 e Pa-3, revelando, na região de hidrogênios aromáticos, a presença de multipletos em δ_{H} 9,17 (1H), δ_{H} 9,16 (1H), δ_{H} 7,74-7,78 (2H), δ_{H} 7,52-7,50 (2H) e singletos em δ_{H} 7,76 (1H), δ_{H} 7,14 (1H) e δ_{H} 7,03 (1H) e mostrou ainda quatro singletos: δ_{H} 4,47 (3H), δ_{H} 4,07 (3H), δ_{H} 4,02 (3H) e δ_{H} 3,98 (3H) característico de hidrogênios metoxílicos.

O espectros de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) (Figura 56 a 61, p. 95 a 98) revelou a presença de 34 sinais para 34 carbonos, sendo 19 para carbonos não hidrogenados (δ_{C} 169,7; δ_{C} 167,7; δ_{C} 154,5; δ_{C} 152,9; δ_{C} 152,4; δ_{C} 151,7; δ_{C} 138,4, δ_{C} 134,7; δ_{C} 134,0; δ_{C} 133,3; δ_{C} 132,9; δ_{C} 127,0; δ_{C} 126,8; δ_{C} 126,4; δ_{C} 124,3; δ_{C} 121,1; δ_{C} 121,0; δ_{C} 111,1 e δ_{C} 105,5) 11 para carbonos metínicos (δ_{C} 129,0; δ_{C} 128,5; δ_{C} 127,6; δ_{C} 127,5; δ_{C} 127,1; δ_{C} 126,2, δ_{C} 125,9 δ_{C} 125,6; δ_{C} 109,6; δ_{C} 106,3 e δ_{C} 105,9 e 4 para carbonos metílicos (δ_{C} 62,9; δ_{C} 61,9; δ_{C} 60,3 e δ_{C} 56,9).

A presença de 19 sinais para carbonos não hidrogenados no espectro de RMN ^{13}C -APT, além de 3 sinais simples no espectro de RMN ^1H , apontam para uma mistura de duas aristolactamas, sendo uma dissubstituída e a outra trissubstituída, codificadas respectivamente, como Pa-4 e Pa-5.

Os espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (CDCl_3 , 500/ 125 MHz) (Figura 62 a 65, p. 98 a 100) permitiu estabelecer as correlações dos hidrogênio das metoxilas e grupos metínicos com seus respectivos carbonos: δ_{H} 3,98/ δ_{C} 61,9; δ_{H} 4,02/ δ_{C} 56,9; δ_{H} 4,07/ δ_{C} 60,3; δ_{H} 4,47/ δ_{C} 62,9 e δ_{H} 7,02/ δ_{C} 105,9; δ_{H} 7,14/ δ_{C} 106,3; δ_{H} 7,52-7,50/ δ_{C} 125,6, δ_{C} 125,9, δ_{C} 126,2 e δ_{C} 127,5; δ_{H} 7,74-7,78/ δ_{C} 128,5 e 129,0; δ_{H} 7,76/ δ_{C} 109,6; δ_{H} 9,16/ δ_{C} 127,06 e δ_{H} 9,17/ δ_{C} 127,6.

Nos espectros HMBC (Figura 66 a 71, p. 100 a 103) é possível visualizar as correlações: δ_{H} 7,76(s)/ δ_{C} 169,7, δ_{C} 154,5 e δ_{C} 151,7 e também δ_{H} 4,07/ δ_{C} 151,7 e δ_{H} 4,02/ δ_{C} 154,5 o que permite atribuir 7,76 (s, 1H)/ δ_{C} 109,6; δ_{H} 4,02 (s, 3H)/ δ_{C} 56,9; δ_{H} 4,07 (s, 3H)/

δ_C 60,3 respectivamente para as posições 2, 3, e 4 e, como consequência, δ_C 154,5 e δ_C 151,6 para os carbonos 3 e 4 respectivamente, além de δ_C 169,7 para a carbonila de Pa-4. As duas outras metoxilas em δ_H 4,47/ δ_C 62,9 e δ_H 3,98/ δ_C 61,9 mostraram no espectro de HMBC as correlações δ_H 4,46/ δ_C 152,4 e δ_H 3,98/ δ_C 138,4 o que permite sugerir o sinal δ_H 3,98/ δ_C 61,9 e, consequentemente δ_C 138,4 para C-3, deslocamento químico característico de carbonos metoxilados vizinho a carbonos oxigenados, a metoxila em δ_H 4,47/ δ_C 152,4 e consequentemente δ_C 152,4 foram sugeridos para C-2 de Pa-5, em virtude da inexistência de correlação entre δ_H 4,47 e δ_H 9,17 (m, 1H, H-5), no espectro bidimensional $^1H \times ^1H$ NOESY (Figura 55, p. 95), além do deslocamento químico em campo baixo causado por efeito da C=O do anel lactâmico (OLSEN, et al., 1993). Como consequência, pode-se inferir a presença de OH na posição 4 de Pa-5 e atribuir δ_C 152,9 para C-4 e δ_C 167,7 para C=O de Pa-5.

O multipletto em δ_H 7,74-7,78 (2H) e os singletos em δ_H 7,03 (s) e δ_H 7,14 (s), vistos no espectro de RMN 1H (Figura 53, p. 94) foram atribuídos a H-8 e H-9 de Pa-4 e Pa-5, respectivamente. Correlações de δ_H 7,74-7,78/ δ_C 128,5 e δ_C 129,0 e, também de δ_H 7,03 (s)/ δ_C 105,9 e δ_H 7,14 (s)/ δ_C 106,3, no HMQC, permitem propor δ_C 128,5; δ_C 129,0; δ_C 105,9 e δ_C 106,3 para C-8 de Pa-5, C-8 de Pa-4; C-9 de Pa-4 e C-9 de Pa-5 dados que estão de acordo com as correlações δ_H 7,03 (s)/ δ_C 129,0 e δ_H 7,14 (s)/ δ_C 128,5, vista no HMBC. O espectro de HMQC ainda mostra correlações δ_H 9,17/ δ_C 127,6 e δ_H 9,16/ δ_C 127,1 atribuídos respectivamente para a posição 5 de Pa-5 e Pa-4.

O sinal em δ_H 7,50-7,52 (m, 4H) visto no espectro de RMN 1H atribuído as posições 6 e 7 de Pa-4 e Pa-5, mostra correlações com δ_C 127,6; δ_C 126,2; δ_C 125,9 e δ_C 125,6, no espectro HMQC, e foram atribuídos respectivamente a C-7 de Pa-5, C-7 de Pa-4, C-6 de Pa-5 e C-6 de Pa-4.

O espectros de HMBC (Figura 66 a 71, p. 100 a 103) mostram ainda correlações de δ_H 7,74-7,78/ δ_C 125,6; δ_C 125,9; δ_C 126,4; δ_C 105,9; δ_C 124,4, e δ_C 134,7 que confirma δ_C 105,9 para C-9 de Pa-4 e sugere δ_C 124,4 este, um carbono não hidrogenado, para C-4b ou C-8a de Pa-4. Além disso, a correlação de δ_H 7,03 (s)/ δ_C 134,0 e δ_C 134,7, vista no HMBC, quando comparado os valores de literatura (OLSEN, et al., 1993) para C-8a e C-10, em δ_C 133,9 e δ_C 134,7 permite sugerir δ_C 134,0 e δ_C 134,7 para as posições C-8a e C-10 de Pa-4. Por outro lado as correlações δ_H 7,74-7,78/ δ_C 126,2 carbono não hidrogenado permite sugerir este sinal

para a posição 4b ou 8a de Pa-5. Comparação dos valores de deslocamento químico de C-1, C-4a e C-10 encontrados na literatura (OLSEN, et al., 1993) para Pa-5: δ_C 106,6 (C-1), δ_C 113,5 (C-4a), δ_C 135,2 (C-10) e δ_C 124,6 (C-10a) permite sugerir os sinais em δ_C 105,5; δ_C 111,2 e δ_C 133,3 respectivamente para C-1, C-4a e C-10 de Pa-5. Ainda comparação do sinal em δ_C 126,4 com o obtido na literatura (OLSEN, et al., 1993) para C-4a de Pa-4 (127,0) permite sugerir δ_C 126,4 para C-4a de Pa-4.

Os dados espectrais estudados (Tabela 7 e 9, p. 91 e 92) e comparação com modelos encontrados na literatura (Tabelas 8 e 10, p. 93 e 94) permitiram, sugerir que Pa-4 e Pa-5 trata-se da Cefaranona A e Piperolactama B, identificados nesta espécie pela primeira vez (Figura 50, p. 90).

A Cefaranona A, foi descrita nas famílias Saururaceae (JIANG, et al., 2014), Piperaceae (CHEN et al., 2013b), Annonaceae (GE, et al., 2013), Aristolochiaceae (ZHANG, et al., 2008), Monimiaceae (MBAH et al., 2004).

O composto, Piperolactama B, anteriormente foi identificado nas famílias Piperaceae (CHEN, et al., 2013b) e Annonaceae (GE, et al., 2013).

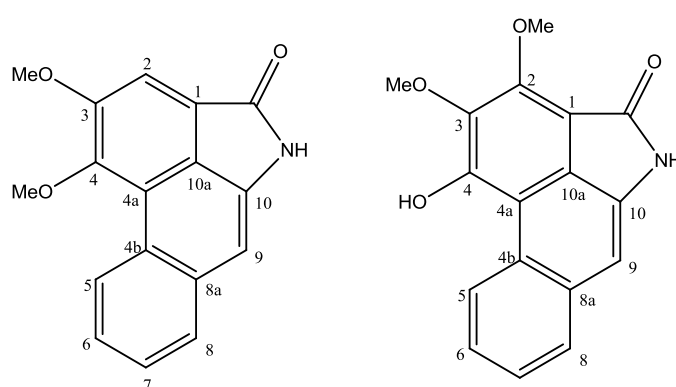


Figura 50: Cefaranona A e Piperolactama B

Tabela 7: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-4 registrados em CDCl_3

Posição	HMQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J
1		121,0		
2	7,76 (s)	109,6	C-3	C-4; C=O
3		154,5		
4		151,7		
4a		126,4		
4b		126,8		
5	9,16 (m)	127,1		
6	7,50-7,52 (m)	125,6		
7	7,50-7,52 (m)	126,2		
8	7,74-7,78 (m)	129,0		C-4b; C-6; C-9
8a		134,0		
9	7,03 (s)	105,9	C-8a; C-10	
10		134,7		
10a		124,4		
C=O		169,7		
3-OMe	4,02 (s)	56,9		C-3
4-OMe	4,07 (s)	60,3		C-4

Tabela 8: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-4 com modelo encontrado na literatura (KIM, et al., 2001).

Posição	Pa-4 (CDCl_3 , 500/125 MHz)		Modelo-Literatura (CDCl_3 , RMN ^1H 300/ Piridina, RMN ^{13}C 75 MHz)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	121,0		124,9	
2	109,6	7,76 (s)	110,2	7,76 (s)
3	154,5		154,9	
4	151,7		151,4	
4a	126,4		122,8	
4b	126,8		127,3	
5	127,1	9,16 (m, 1H)	127,9	9,18 (m)
6	125,6	7,50-7,52 (m, 1H)	125,8	7,53 (m)
7	126,2	7,50-7,52 (m, 1H)	128,0	7,53 (m)
8	129,0	7,74-7,78 (m, 1H)	129,3	7,76 (m)
8a	134,0		131,4	
9	105,9	7,03 (s)	105,1	7,11 (s)
10	134,7		136,6	
10a	124,4		121,2	
C=O	169,7		169,9	
3-OMe	56,9	4,02 (s)	56,8	4,01 (s)
4-OMe	60,3	4,07 (s)	60,2	4,07 (s)

Tabela 9: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) de Pa-5 registrados em CDCl_3

Posição	HMQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J
1		105,5		
2		152,4		
3		138,4		
4		152,9		
4a		111,2		
4b		127,0		
5	9,17 (m, 1H)	127,5		
6	7,50-7,52 (m, 1H)	125,9		
7	7,50-7,52 (m, 1H)	127,5		
8	7,74-7,78 (m, 1H)	128,5		C-6
8a		132,9		
9	7,14 (s, 1H)	106,3	C-10	C-4b; C-8
10		133,3		
10a		126,4		
C=O		167,7		
2-OMe	4,47 (s)	62,9		C-2
3-OMe	3,98 (s)	61,9		C-3

Tabela 10: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-5 com modelo encontrado na literatura (COSTA, et al., 2011).

Posição	Pa-4 (CDCl_3 , 500/125 MHz)		Modelo-Literatura ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500/125 MHz)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	105,5		105,8	
2	152,4		154,4	
3	138,4		139,9	
4	152,9		153,6	
4a	111,2		112,0	
4b	127,0		126,8	
5	127,6	9,16 (m)	127,9	9,28 (m, 1H)
6	125,9	7,51 (m)	125,9	7,52 (m, 2H)
7	127,5	7,51 (m)	126,8	7,52 (m, 2H)
8	128,5	7,76 (m)	129,4	7,92 (m, 1H)
8a	132,9		134,2	
9	106,3	7,14 (s)	104,9	7,28 (s, 1H)
10	133,3		137,5	
10a	126,4		125,8	
C=O	167,7		166,0	
2-OMe	62,9	4,47 (s)	62,9	4,49 (s, 3H)
3-OMe	61,9	3,98 (s)	61,9	3,95 (s, 3H)
NMe			26,4	3,43 (s, 3H)

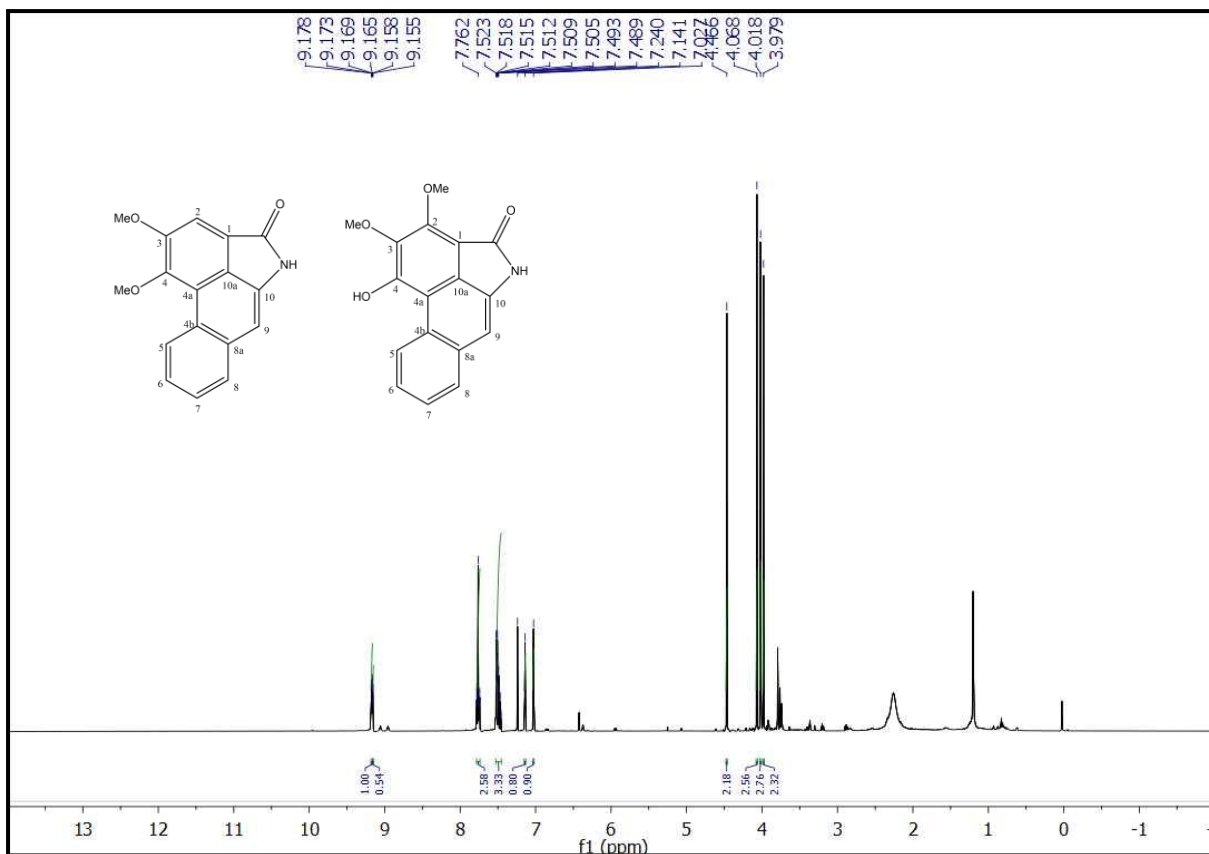


Figura 51: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) de Pa-4/Pa-5

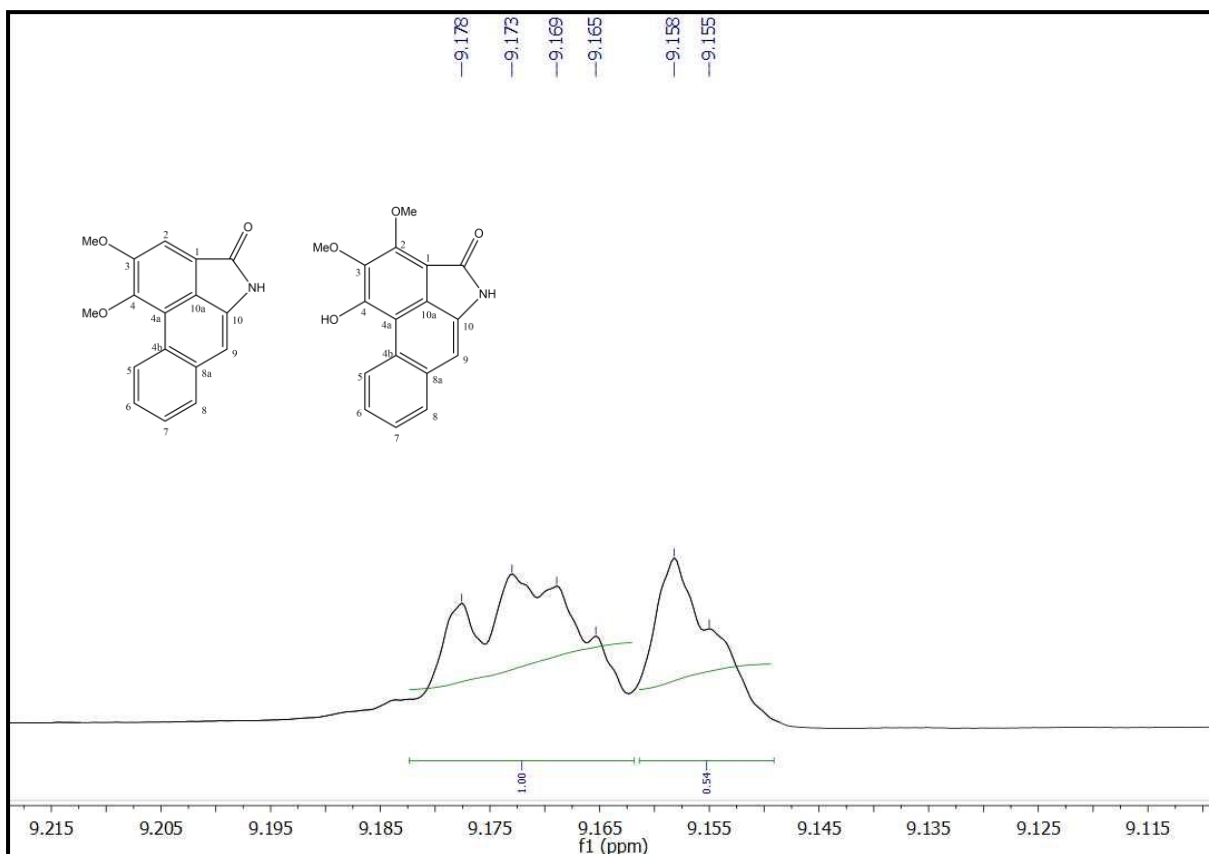


Figura 52: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz, δH 9,1-9,2) de Pa-4/Pa-5

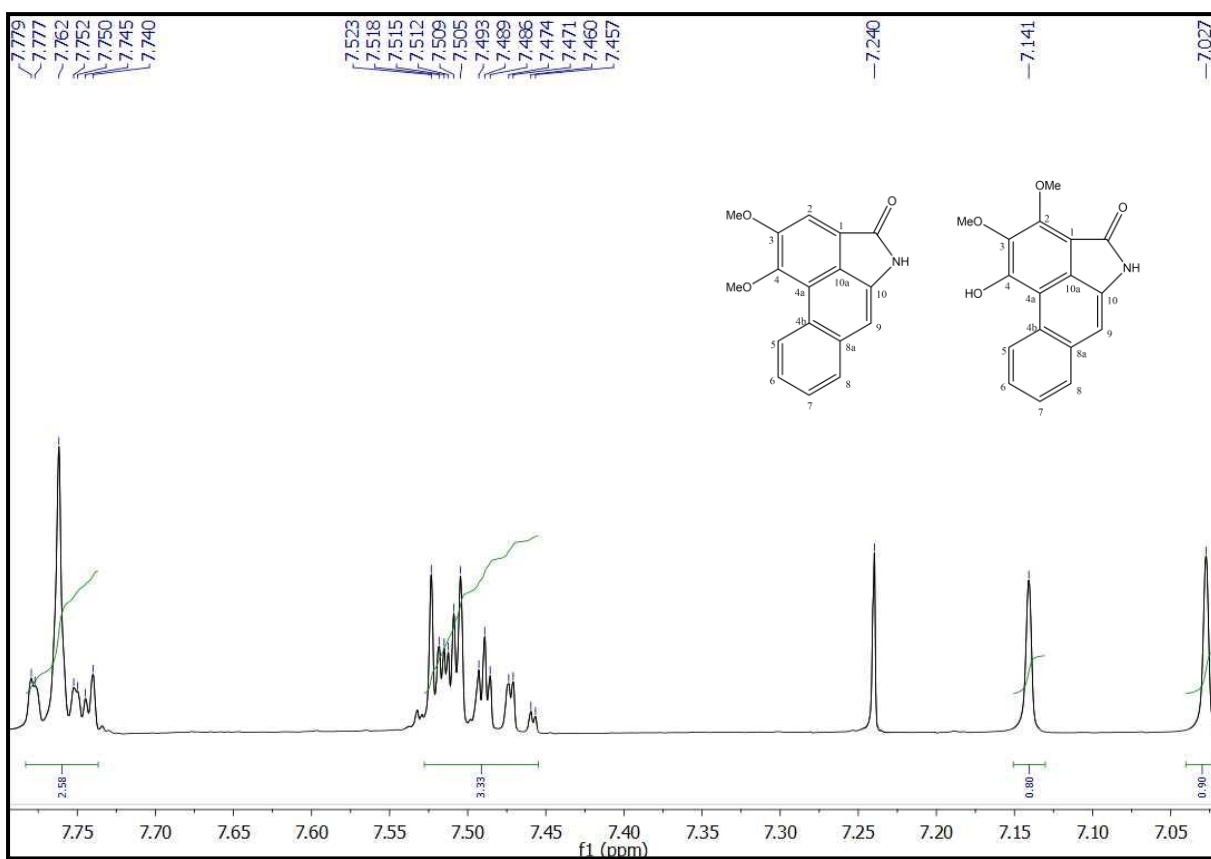


Figura 53: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 500MHz, δ_{H} 7,1-7,8) de Pa-4/Pa-5

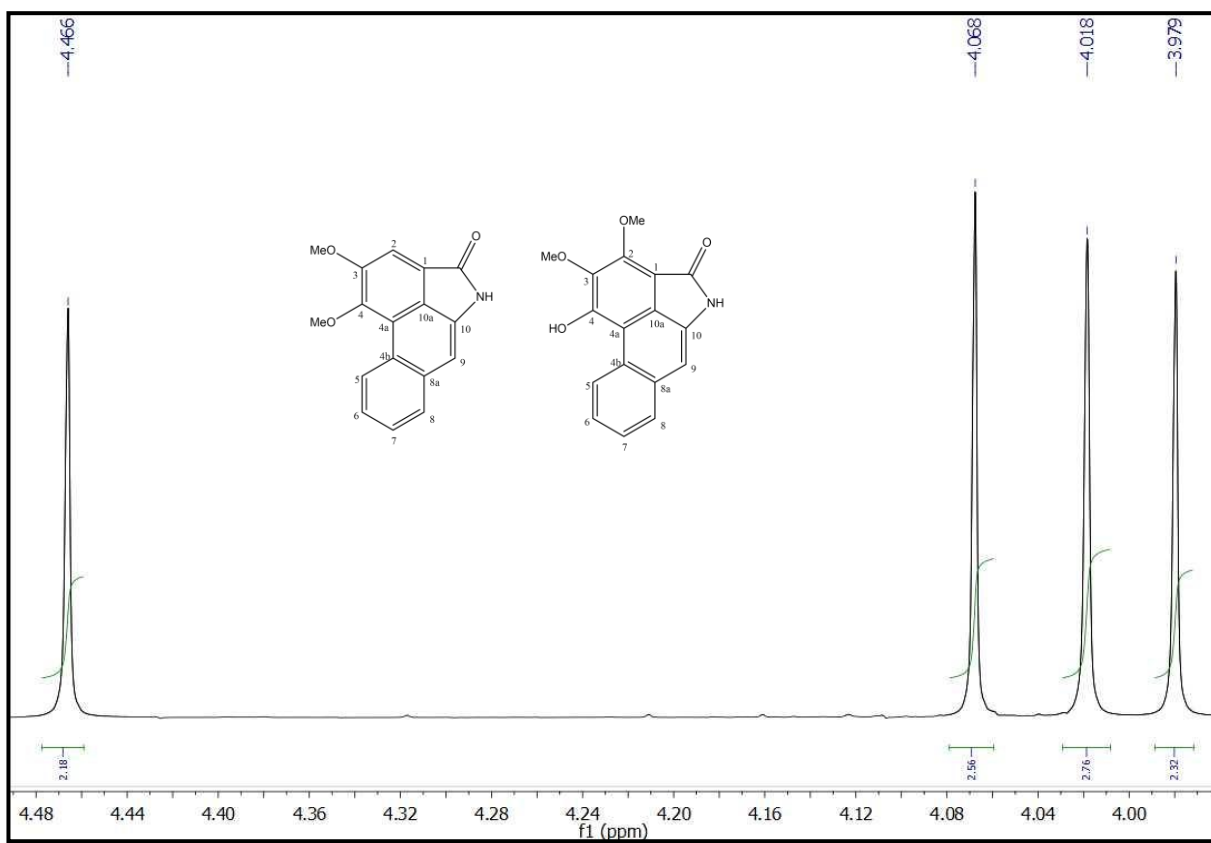


Figura 54: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 500MHz, δ_{H} 3,8-4,5) de Pa-4/Pa-5

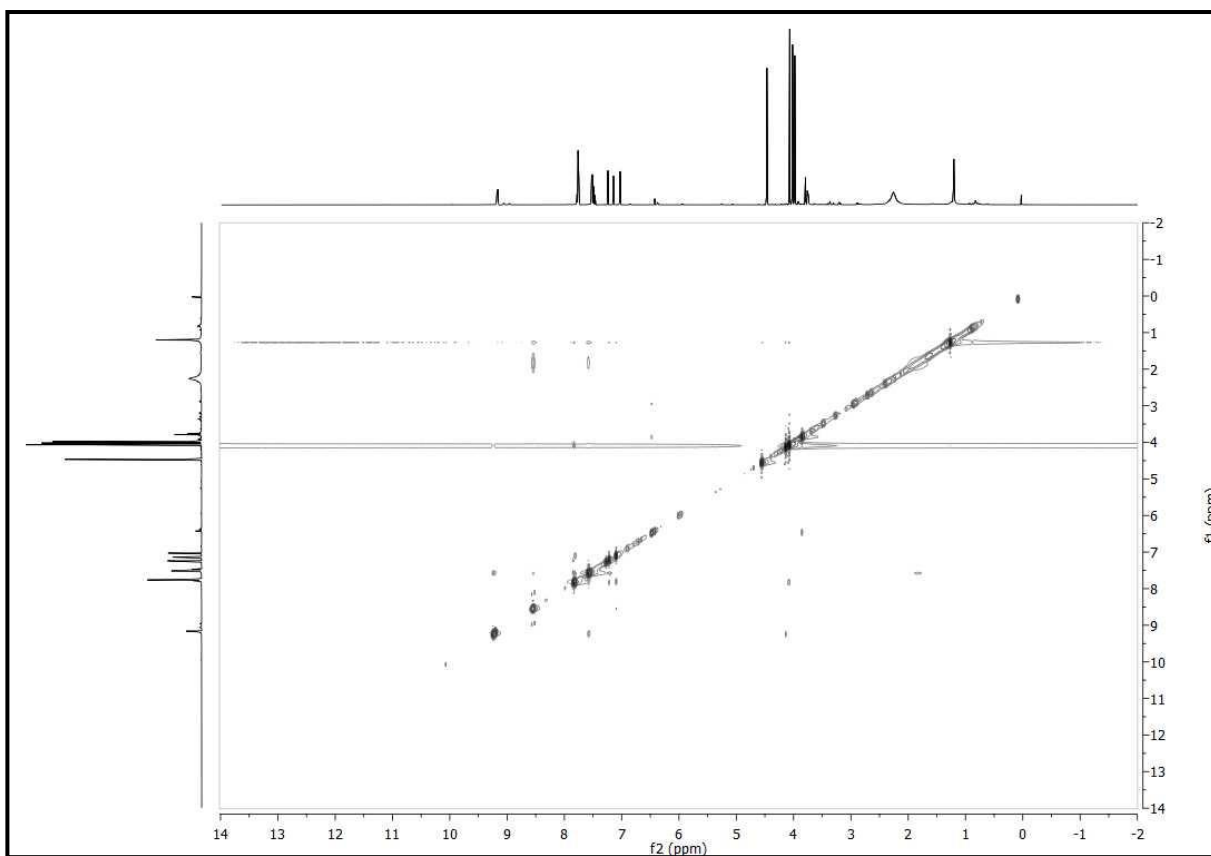


Figura 55: Espectro Correlação Homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY(CDCl_3 , 500MHz) de Pa-4/Pa-5

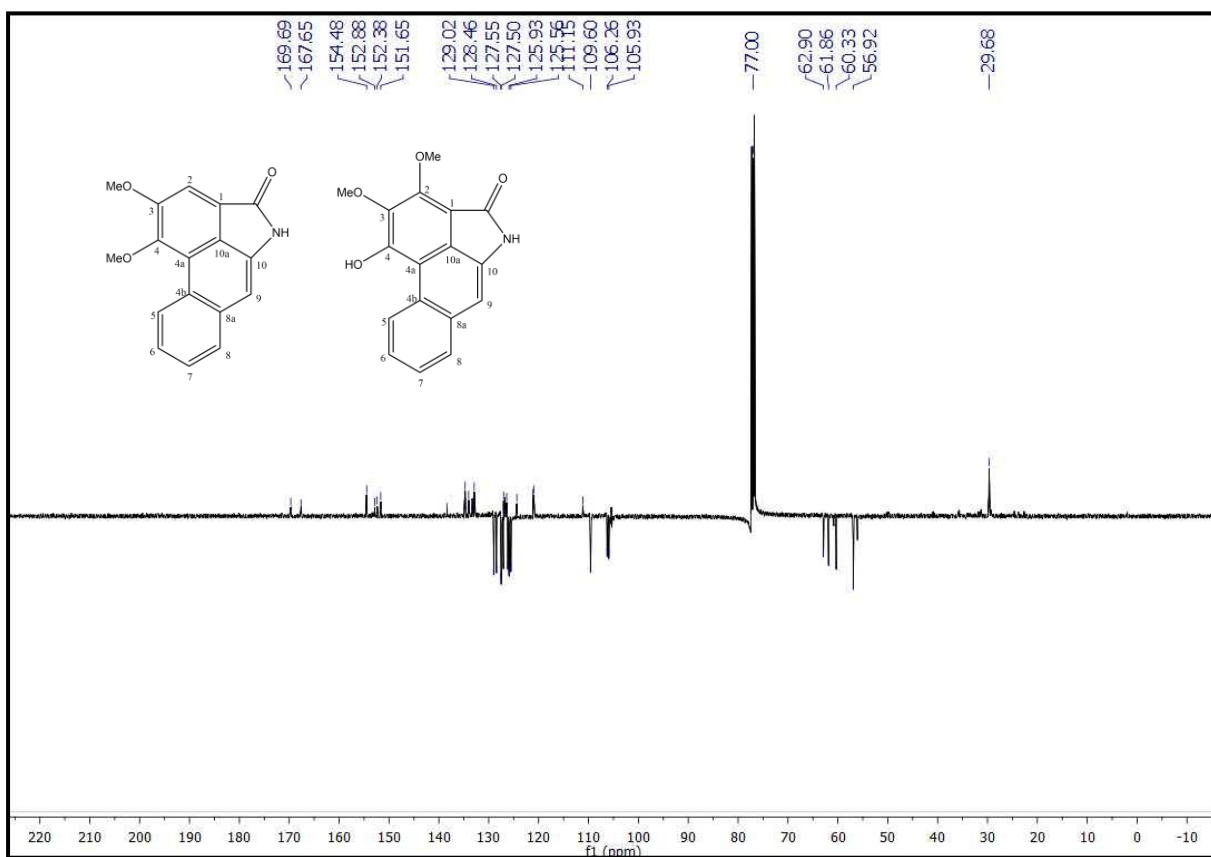


Figura 56: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz) de Pa-4/Pa-5

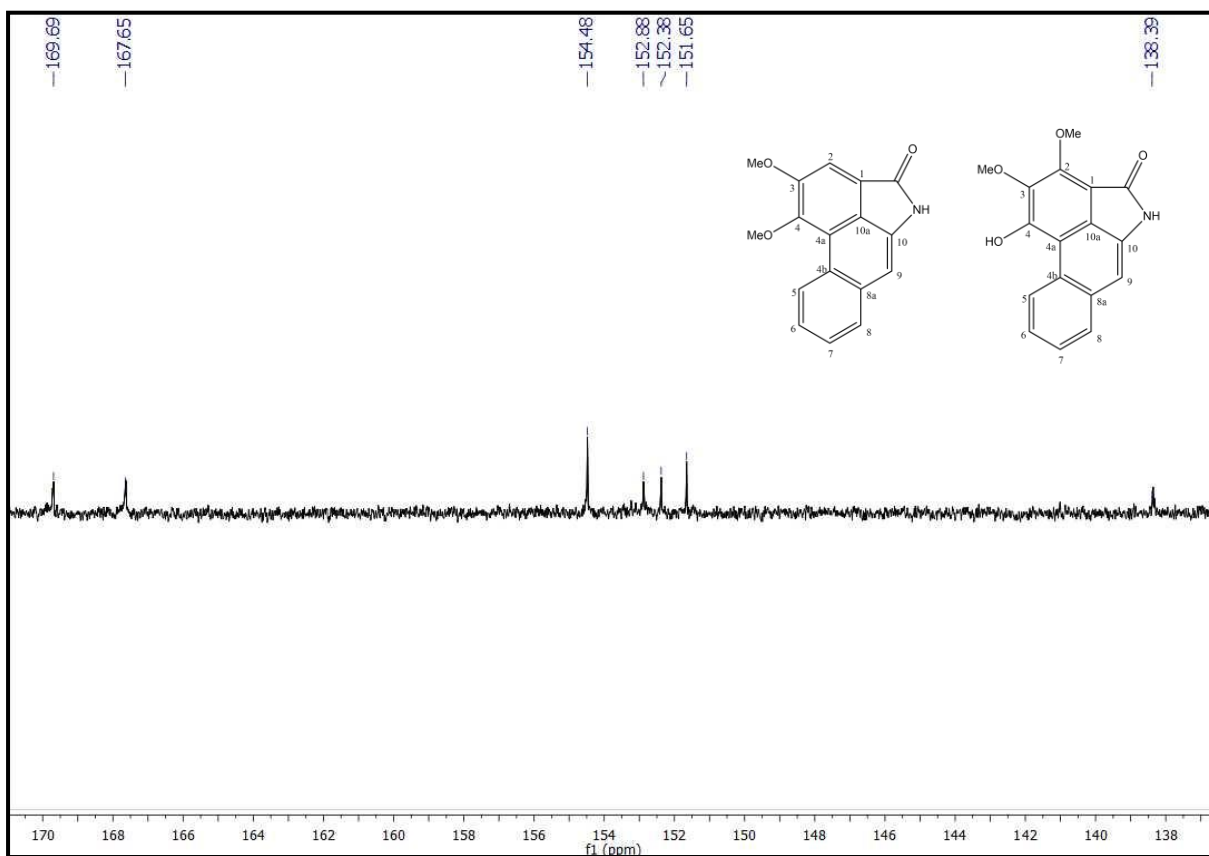


Figura 57: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz, δ_{C} 138,2-170,1) de Pa-4/Pa-5

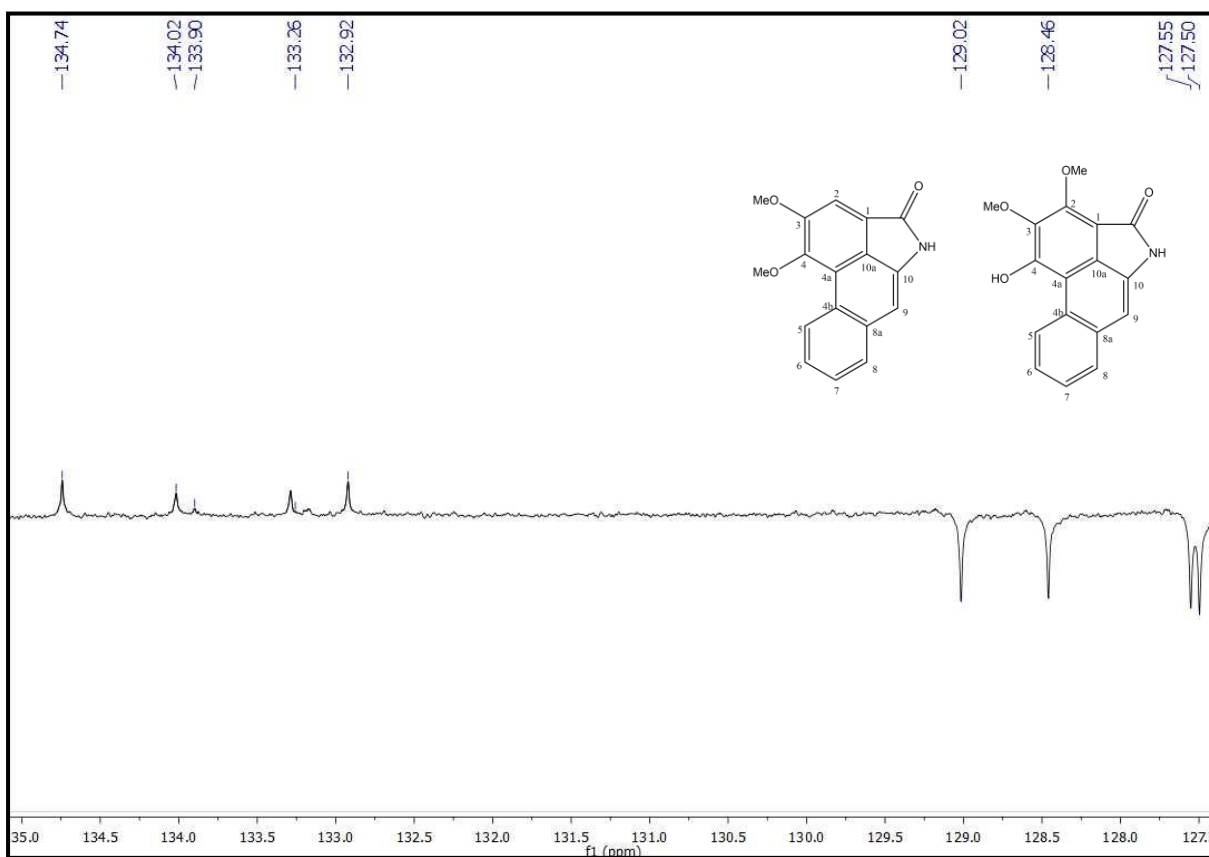


Figura 58: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 127,5-135,0) de Pa-4/Pa-5

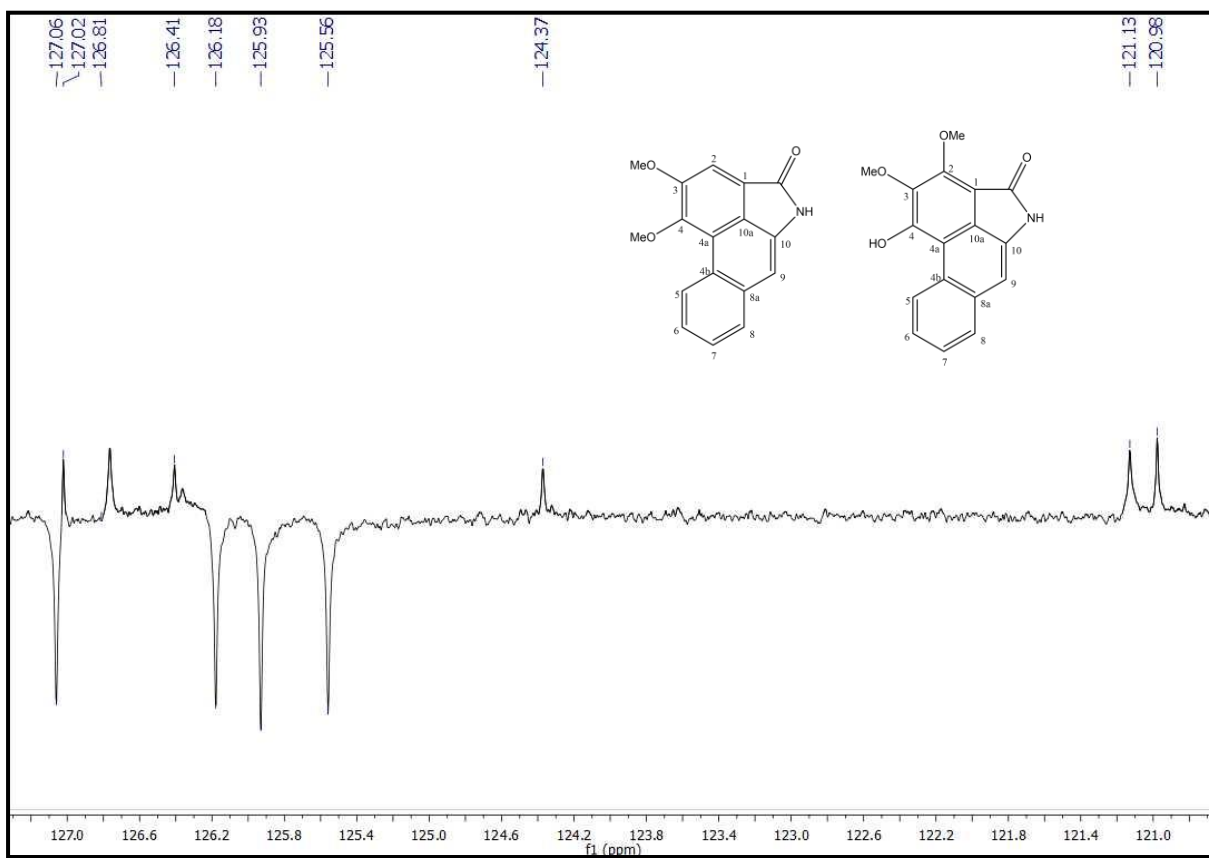


Figura 59: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 120,7-127,3) de Pa-4/Pa-5

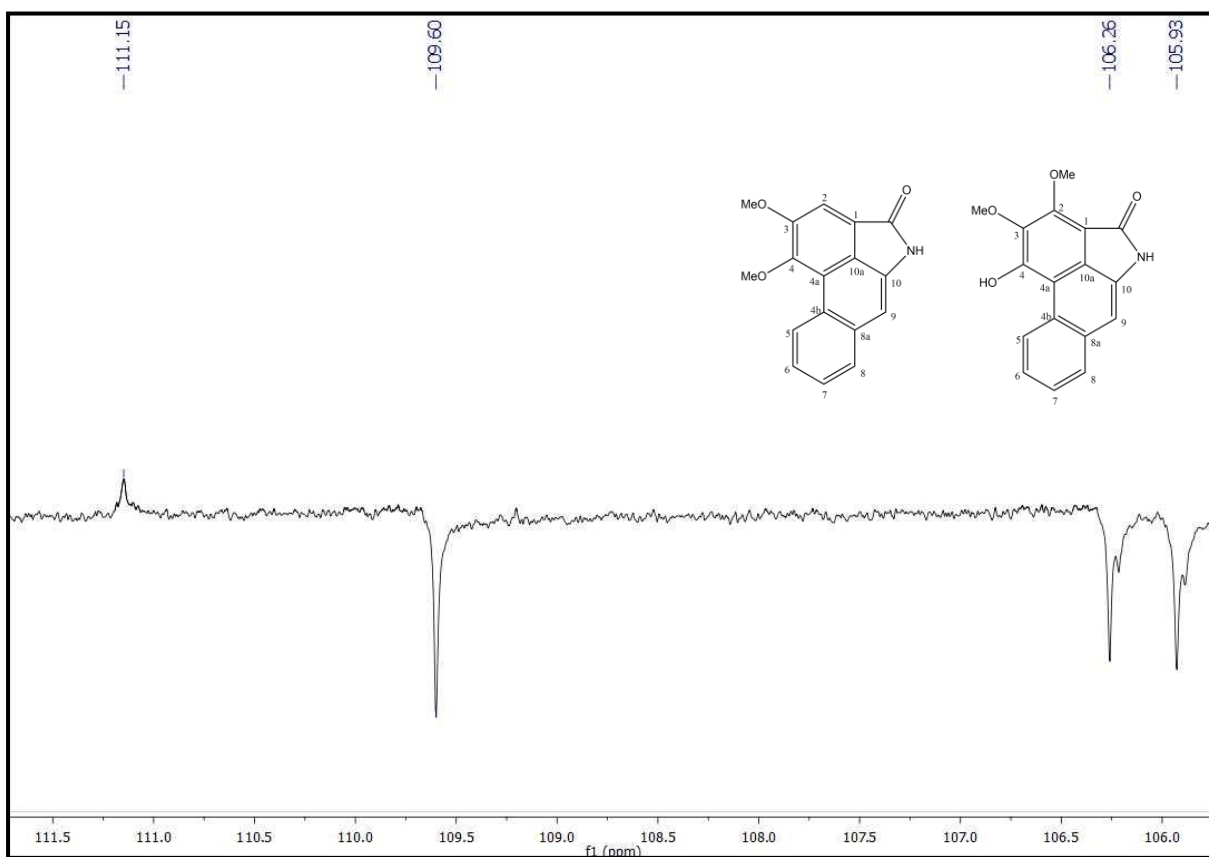


Figura 60: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 105,8-111,5) de Pa-4/Pa-5

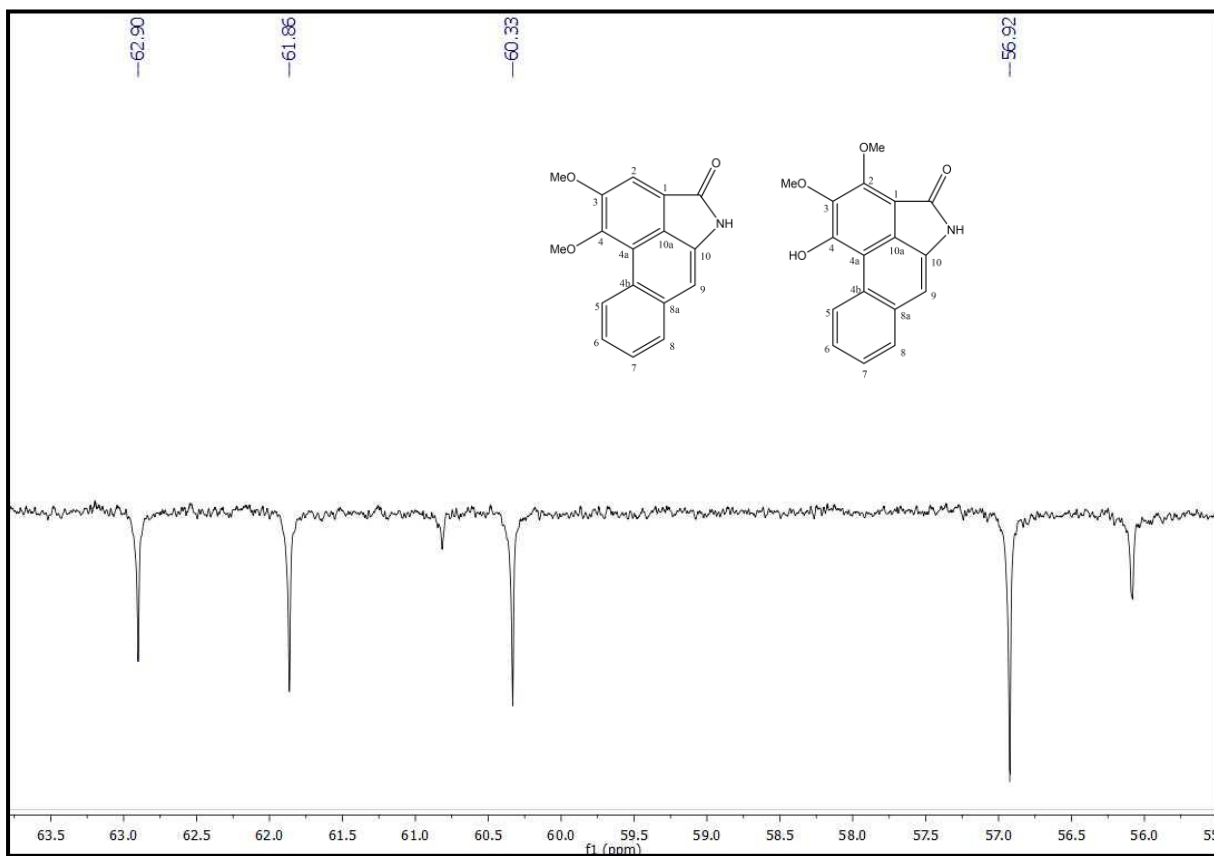


Figura 61: Expansão do espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz, δ_{C} 55,5-63,5) de Pa-4/Pa-5

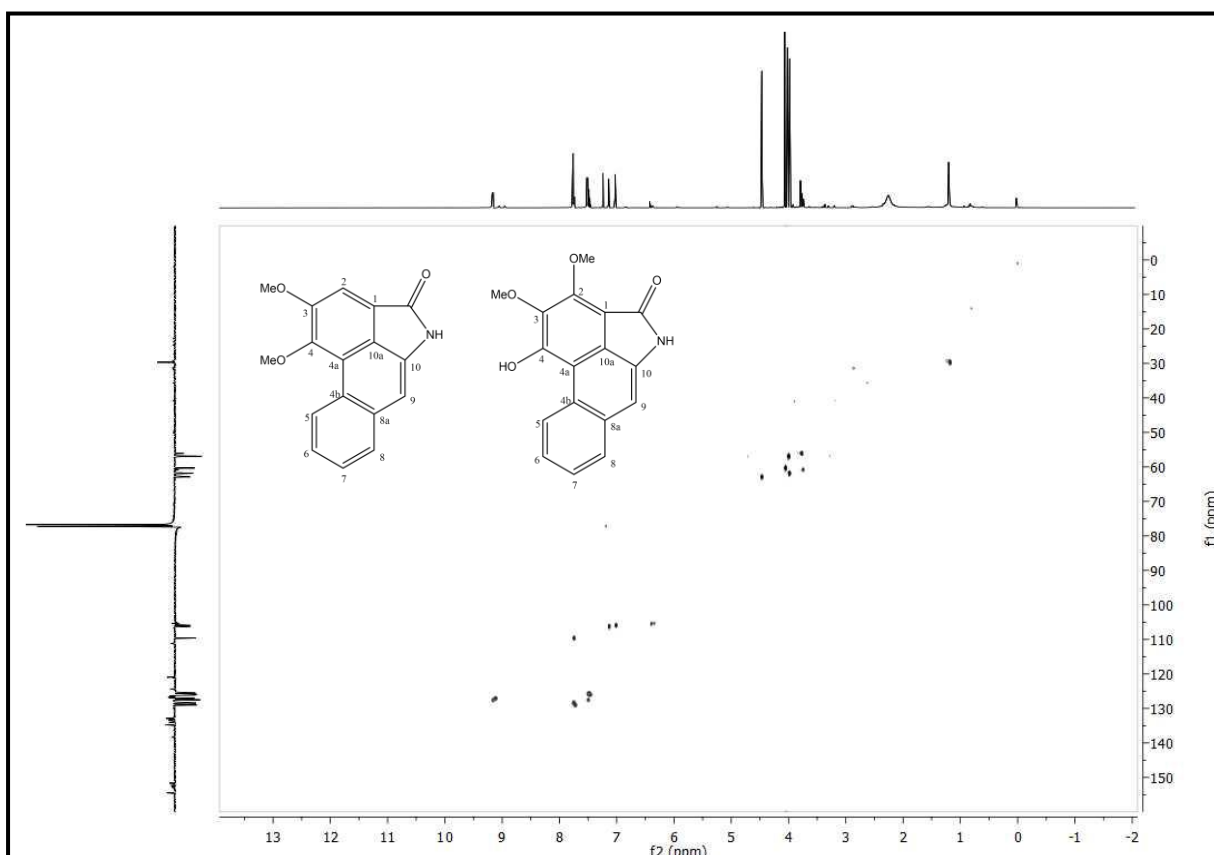


Figura 62: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz) de Pa-4/Pa-5

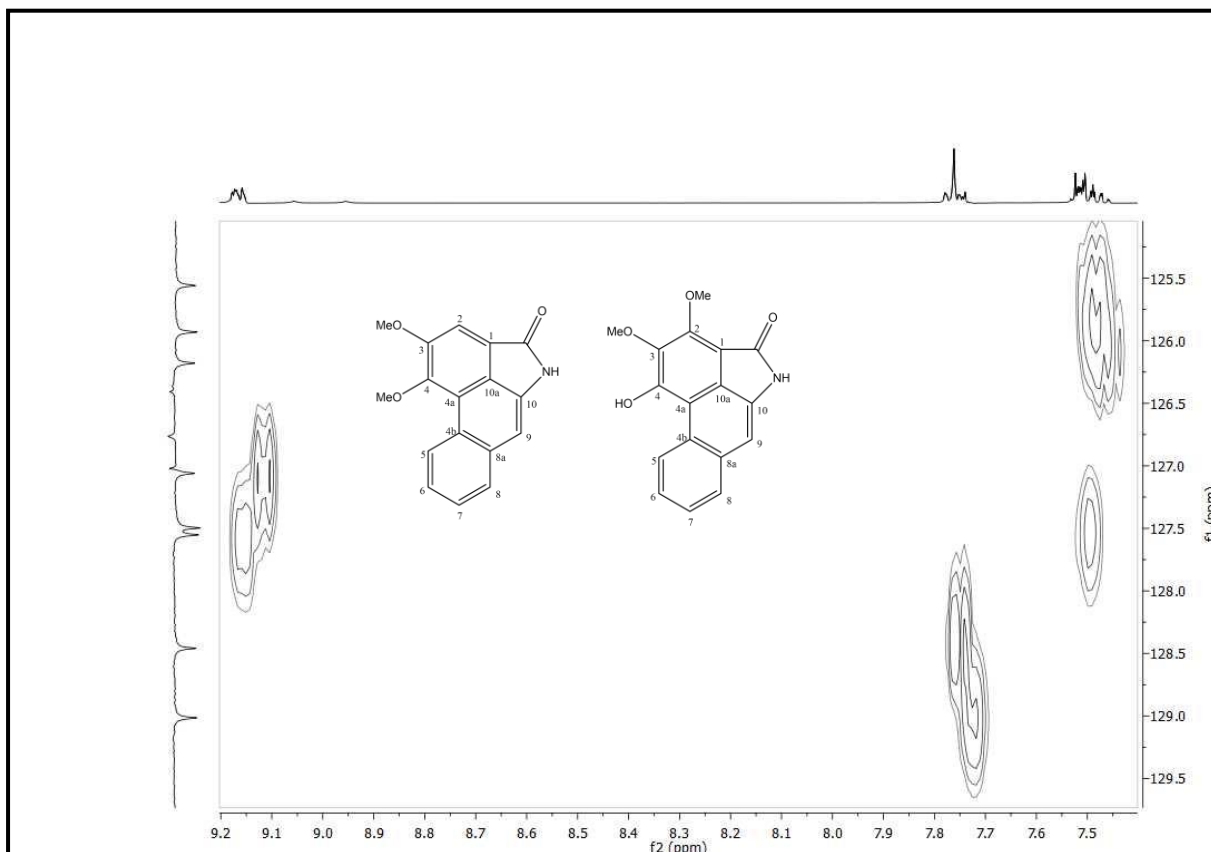


Figura 63: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 7,5-9,2) de Pa-4/Pa-5

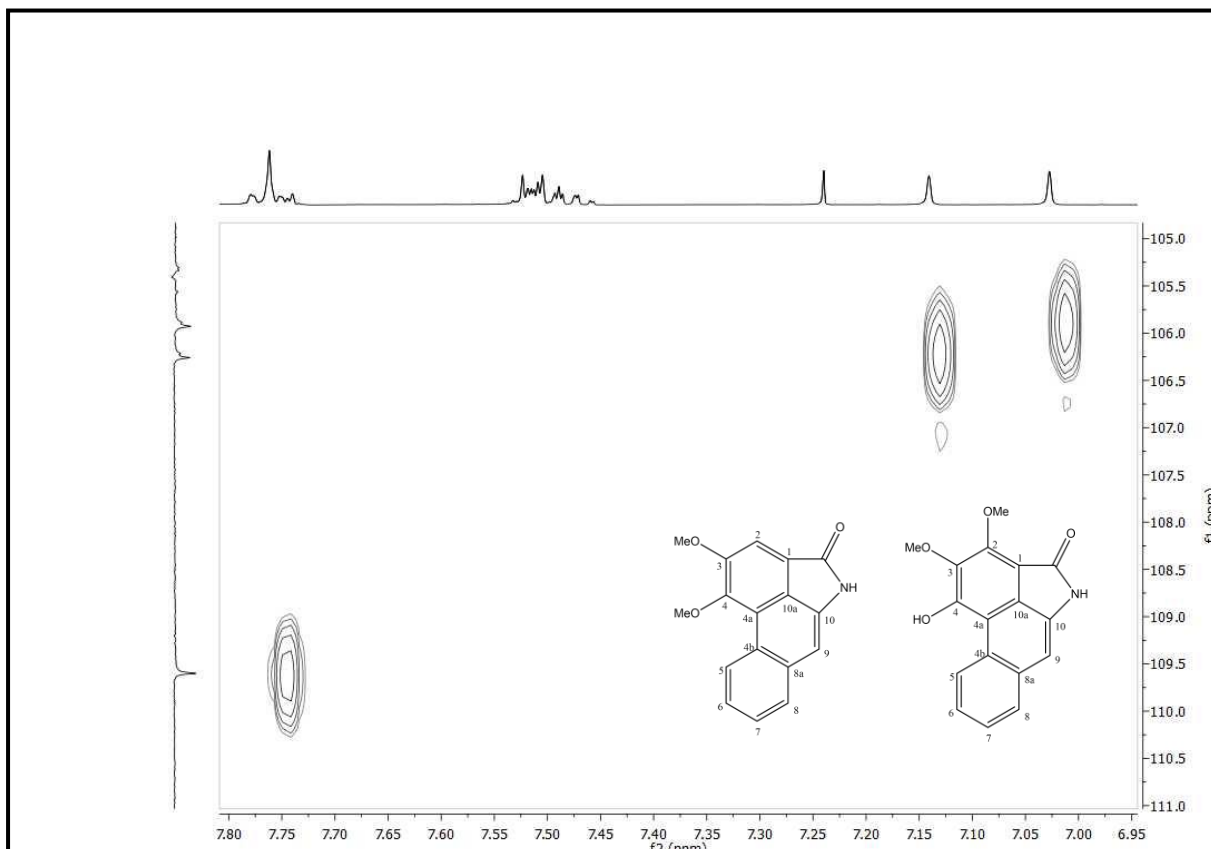


Figura 64: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,9-7,8) de Pa-4/Pa-5

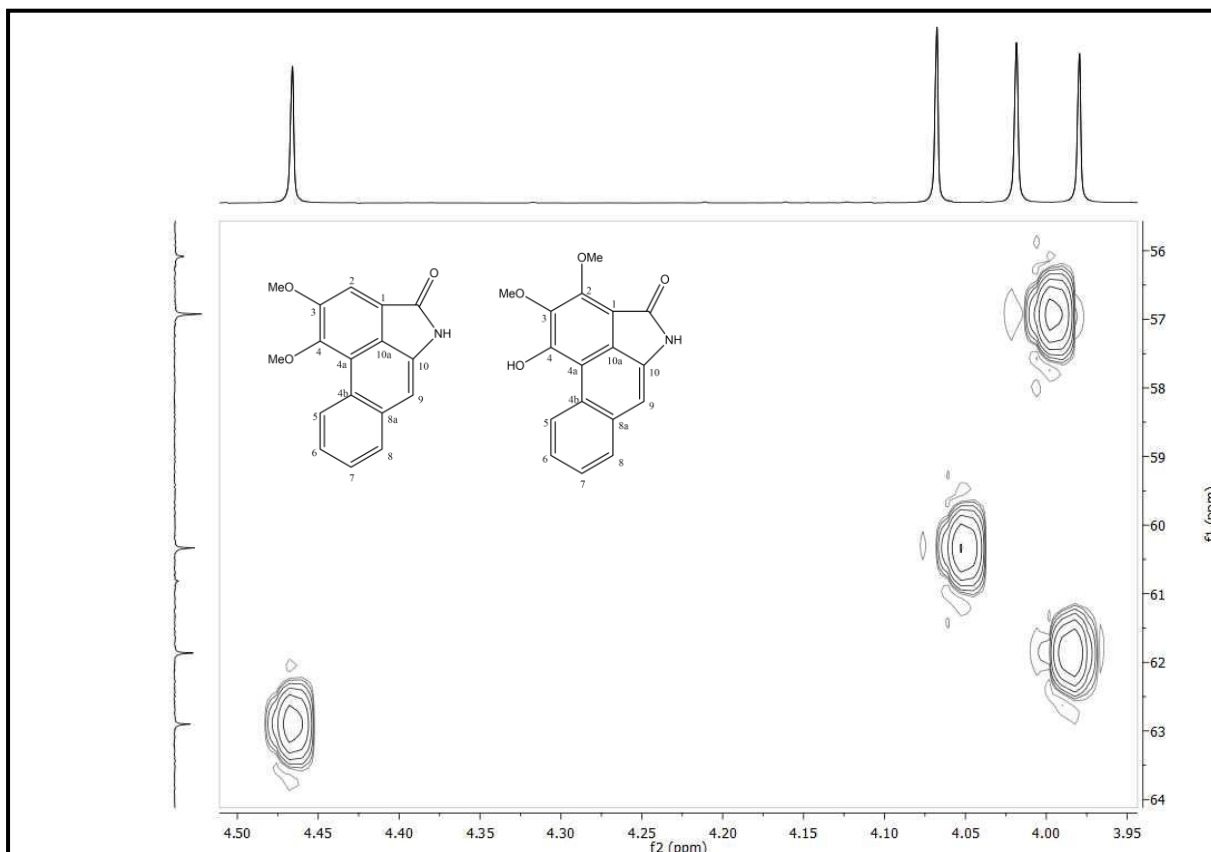


Figura 65: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 3,9-4,5) de Pa-4/Pa-5

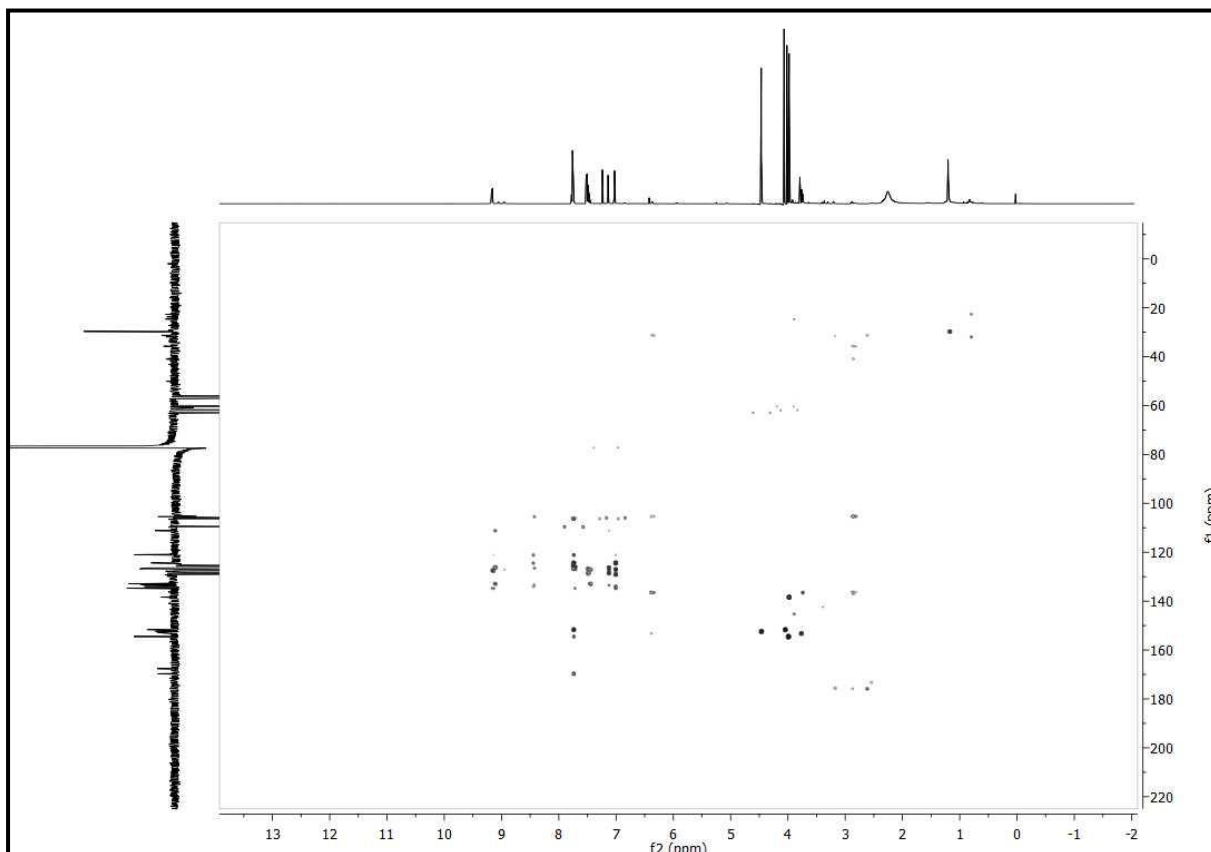


Figura 66: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz) de Pa-4/Pa-5

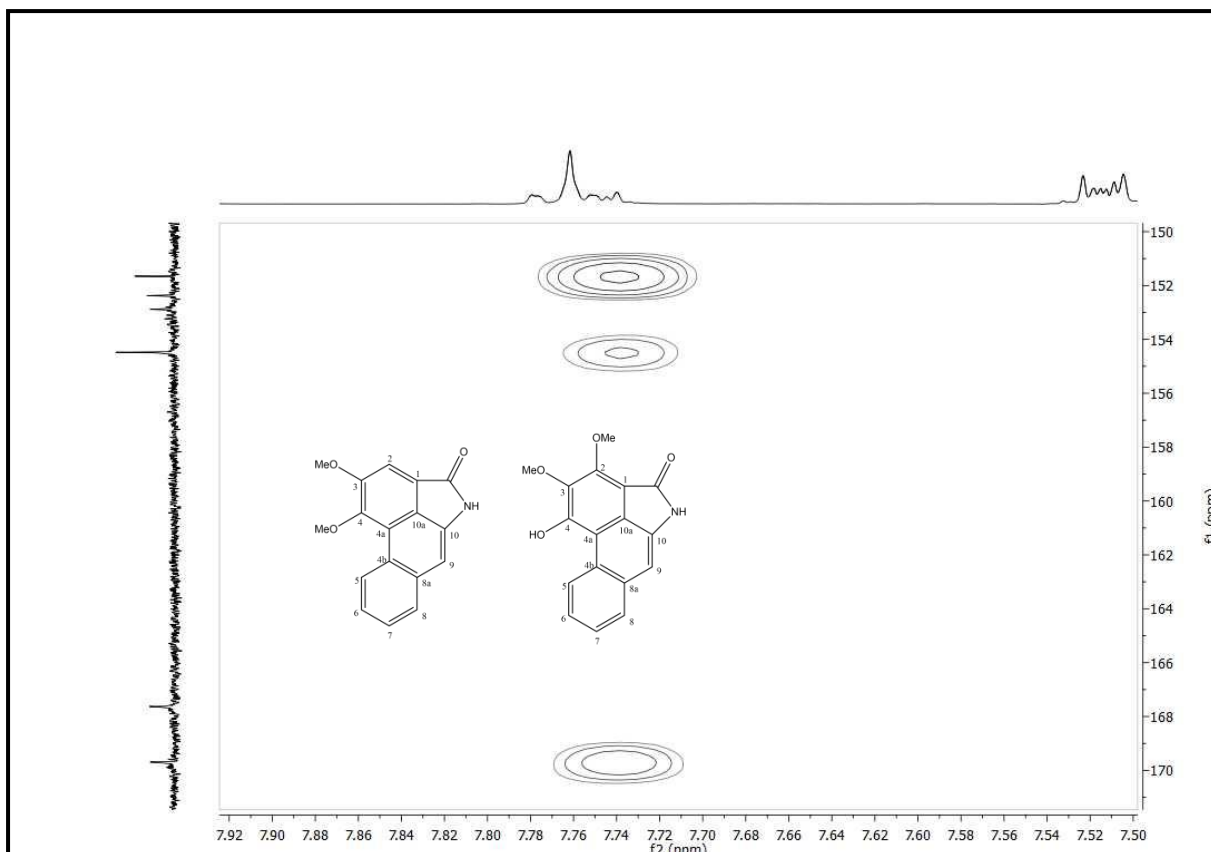


Figura 67: Expansão do Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 7,5-7,9) de Pa-4/Pa-5

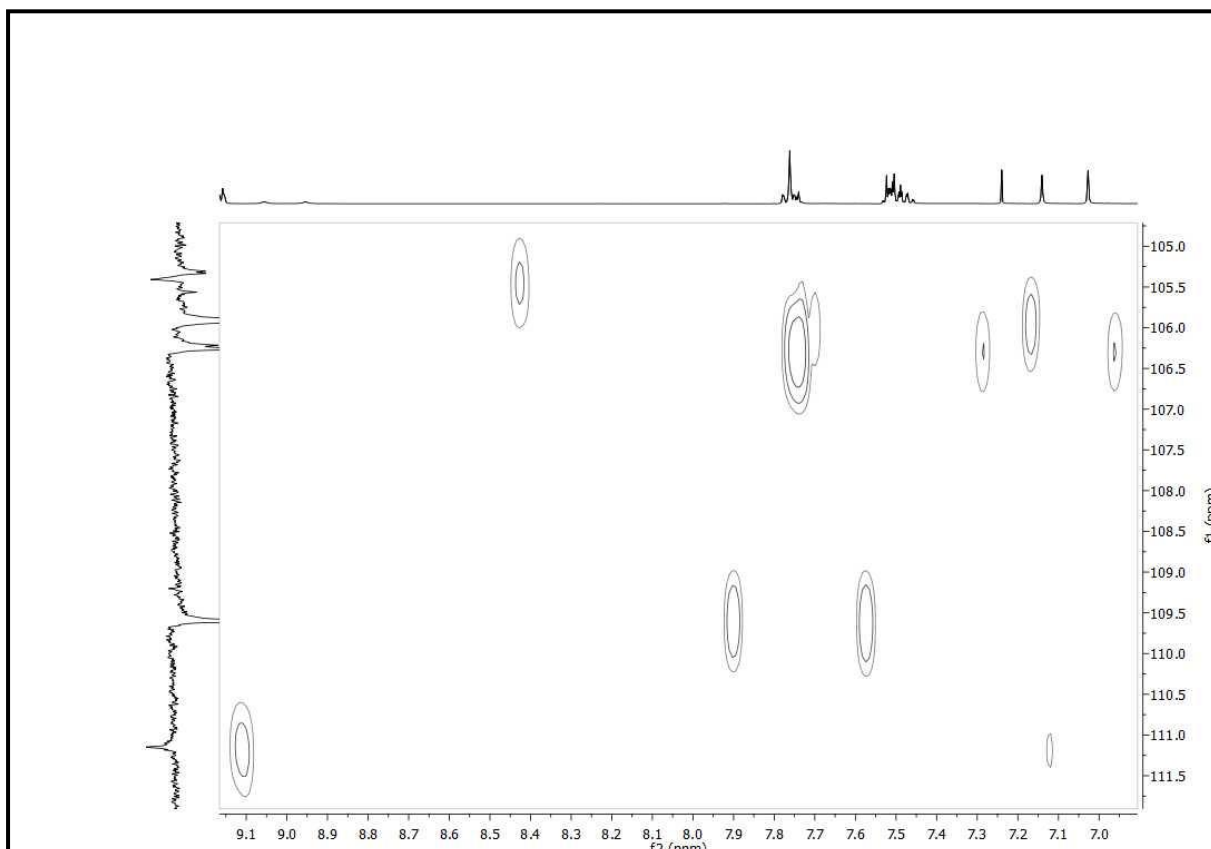


Figura 68: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,9-9,1) de Pa-4/Pa-5

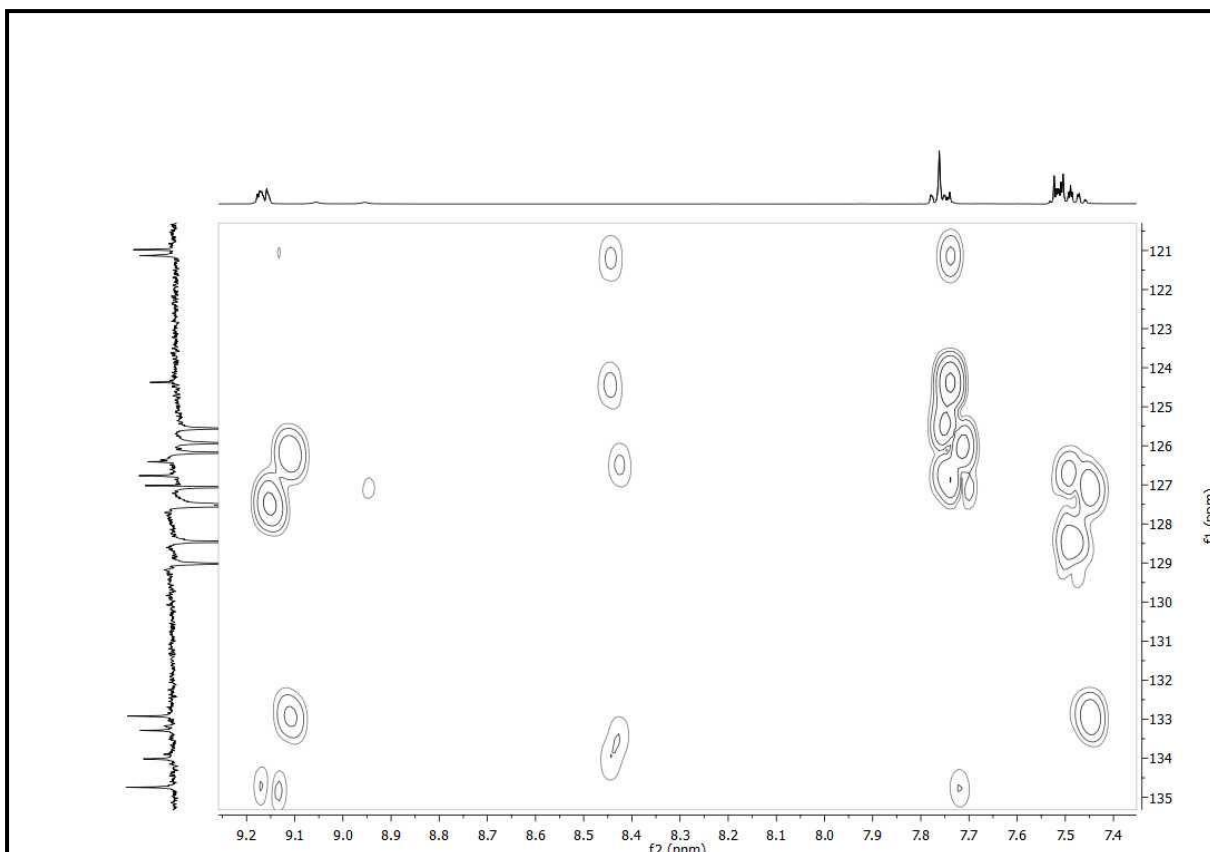


Figura 69: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 7,4-9,2) de Pa-4/Pa-5

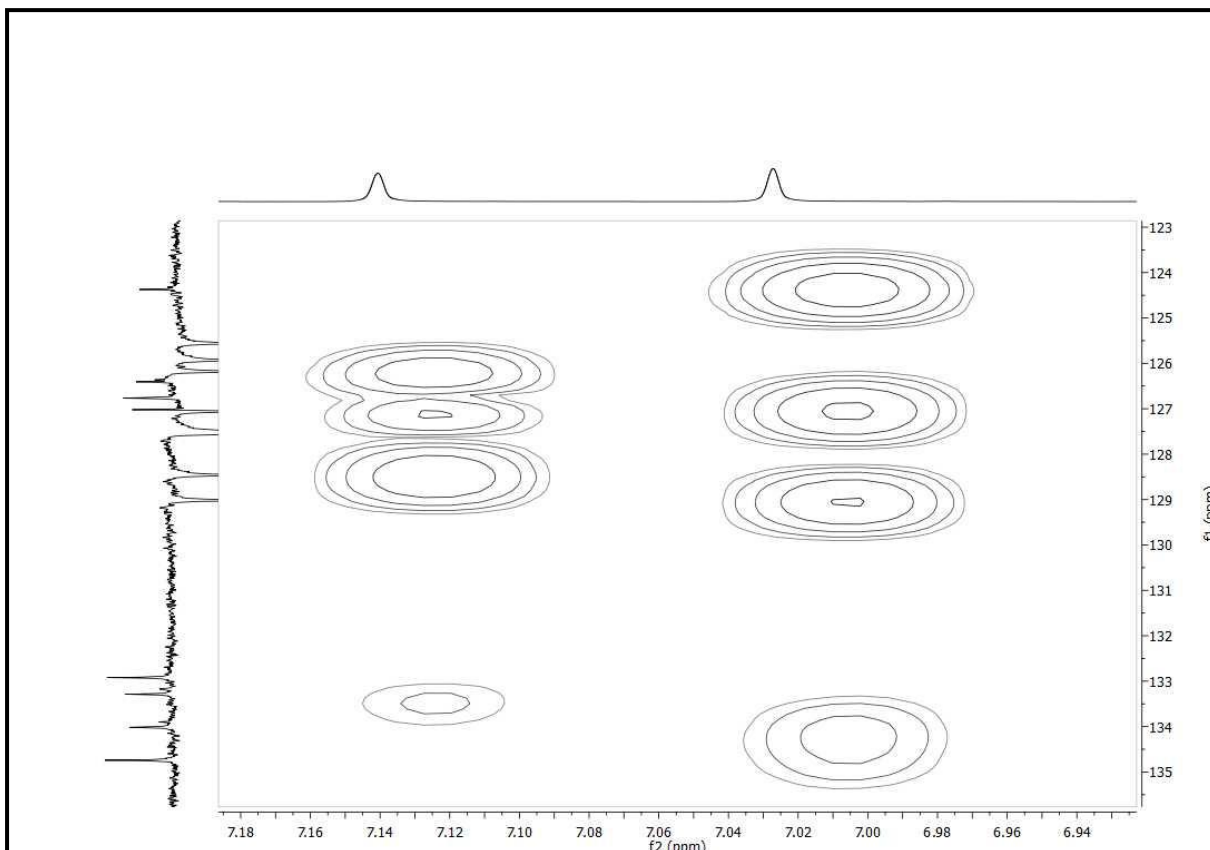


Figura 70: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,9-7,2) de Pa-4/Pa-5

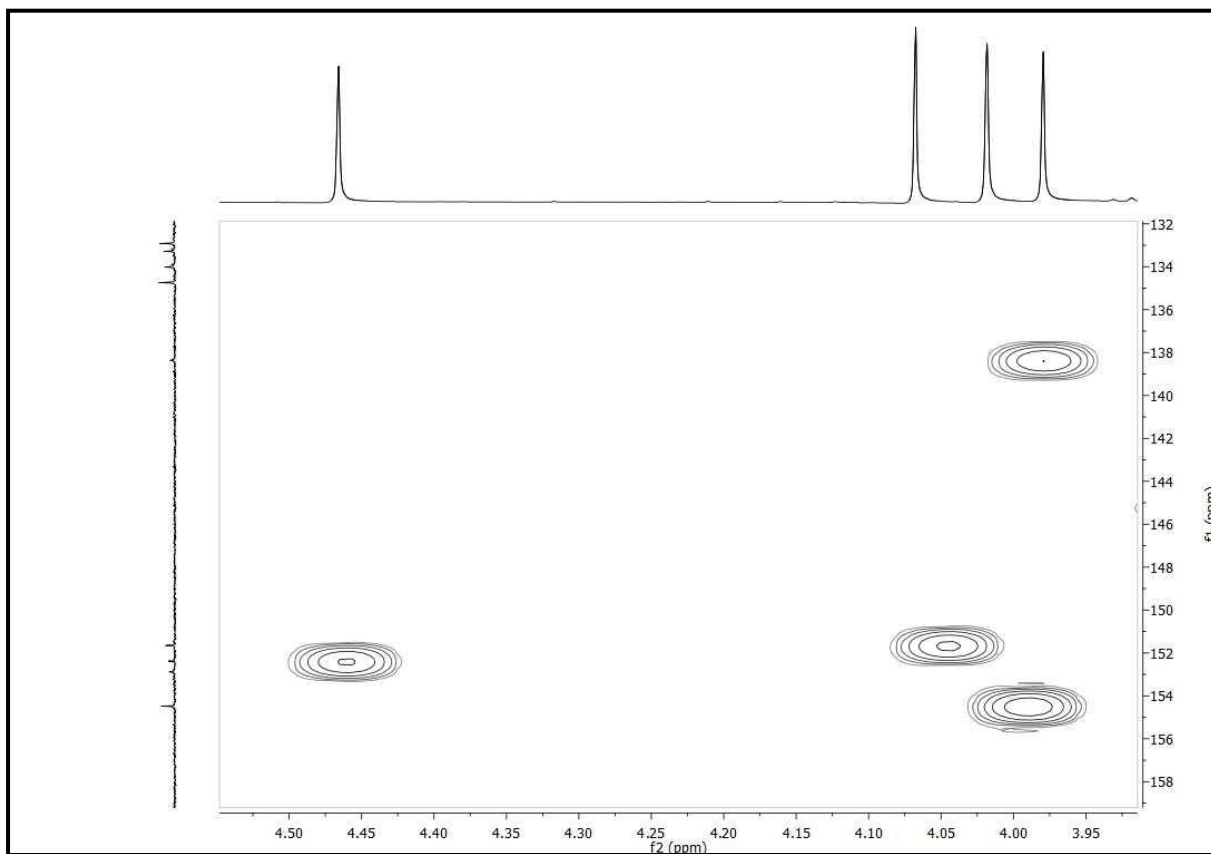
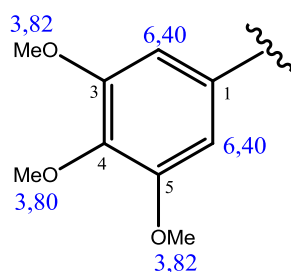


Figura 71: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 3,9- 4,5) de Pa-4/Pa-5

5.1.5 Determinação estrutural de Pa-6

A substância codificada como Pa-6 (20,0 mg) apresentou-se como cristais brancos, solúveis em clorofórmio.

Os espectros de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 73 e 74, p. 107) mostraram três singletos, um na região de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,40, integrando para 2 hidrogênios, e dois outros em δ_{H} 3,82 e δ_{H} 3,80, para 6 e 3 hidrogênios, respectivamente, característicos de 3 metoxilas ligadas a anel aromático. Estes sinais sugerem a presença de um anel aromático simetricamente tetrassubstituído. Ainda nestes espectros é possível observar 2 tripletos um em δ_{H} 2,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H) e outro em δ_{H} 2,66 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H).



Os espectros de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) (Figura 75, p. 108) mostraram 9 sinais correspondentes a 12 carbonos. Sendo 4 sinais para 5 carbonos não hidrogenado: δ_{C} 135,9, δ_{C} 136,6, δ_{C} 153, 2 (2C) e δ_{C} 178,7 este último sugestivo de carbonila de grupo ácido, 1 sinal para dois carbonos metínicos: δ_{C} 105,3 (2C), 2 sinais para 2 carbonos metilênicos: δ_{C} 35,7 e δ_{C} 31,0 e 2 sinais para 3 carbonos metoxílicos: δ_{C} 60,8 e δ_{C} 56,1 (2C).

Os espectros de correlação heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500/ 125 MHz) (Figura 76 e 77, p. 108 e 109) mostraram as seguintes correlações: δ_{H} 6,40/ δ_{C} 105,3, sugestivos para as posições 2 e 6, δ_{H} 3,82/ δ_{C} 56,1 e δ_{H} 3,80/ δ_{C} 60,8 sinais condizentes com a presença das metoxilas ligadas a anel aromático.

Os espectros de correlação heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500/ 125 MHz) (Figura 78 a 82, p. 109 a 111) mostraram a correlação a duas ligações do δ_{H} 6,40/ δ_{C} 135,9, e a três ligações δ_{H} 6,40/ δ_{C} 136,6, confirmando δ_{H} 6,40 para as posições 2 e 6 e, sugerindo δ_{C} 135,9 e δ_{C} 136,6 para as posições 1 e 4, respectivamente. Ainda no espectro de HMBC (Figura 79, p. 110) através das correlações δ_{H} 3,82/ δ_{C} 153,2 e δ_{H} 3,80/ δ_{C} 136,6 o que permite confirmar δ_{C} 136,6 para a posição 4 e δ_{C} 153,2 para as posições 3 e 5.

No espectro de HMQC (Figura 77, p. 109) ainda foram observados correlações de hidrogênios metilênicos com respectivos carbonos δ_H 2,88/ δ_C 31,0 e δ_H 2,66/ δ_C 35,7. As correlações a longa distância vistas no HMBC (Figura 79 a 82, p. 110 e 111) mostrou acoplamento do δ_H 2,88/ δ_C 35,7, δ_C 105,3, δ_C 135,9 e δ_C 178,7 e do δ_H 2,66/ δ_C 31,0, δ_C 135,9 e δ_C 178,7, o que permite afirmar que δ_H 2,88 e δ_H 2,66 são hidrogênios das posições 7 e 8, e atribuir os sinais de carbono δ_C 31,0, δ_C 35,7 para as posições 7 e 8, bem como o sinal da carbonila em δ_C 178,7 para a posição 9.

A interpretação dos dados de RMN de 1H e ^{13}C , usando técnicas de 1D e 2D, sumarizados na tabela 11 (p.106), bem como comparação com modelo da literatura (Tabela 12, p. 106), permitiram identificar a estrutura como sendo Ácido 3,4,5-trimetoxifenil-propanoico (Figura 72, p. 105), substância essa relatada pela primeira vez na espécie *Piper arboreum*, e anteriormente em *Piper tuberculatum* (FERREIRA, et al., 2010) e *Piper longum* (DAS et al., 1996). Esta substância apresenta atividade leshmanicida (FERREIRA, et al., 2010).

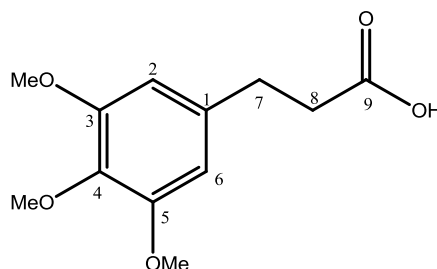


Figura 72: Ácido 3,4,5-trimetoxifenil-propanóico

Tabela 11: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C HMQC, HMBC) de Pa-6 registrados em CDCl_3

Posição	HMQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J
1		135,9		
2	6,40 (s, 1H)	105,3	C-1; C-3	C-4; C-6; C-7
3		153,2		
4		136,6		
5		153,2		
6	6,40 (s, 1H)	105,3	C-1; C-5	C-2; C-4; C-7
7	2,88 (t, J 7,8 Hz, 2H)	31,0	C-1; C-8	C-2; C-6; C-9
8	2,66 (t, J 7,8 Hz, 2H)	35,7	C-7; C-9	C-1
9		178,9		
3-OMe	3,82 (s, 3H)	56,1		C-3
4-OMe	3,80 (s, 3H)	60,8		C-4
5-OMe	3,82 (s, 3H)	56,1		C-5

Tabela 12: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-6 com modelo encontrado na literatura (FACUNDO, et al., 2008)

Posição	Pa-6 (CDCl_3 , 500/125 MHz)		Modelo-Literatura (CDCl_3 , 500/125 MHz)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	135,9		135,9	
2	105,3	6,40 (s, 1H)	105,2	6,43 (s, 1H)
3	153,2		153,8	
4	136,6		136,5	
5	153,2		153,8	
6	105,3	6,40 (s, 1H)	105,2	6,43 (s, 1H)
7	31,0	2,88 (t, J 7,8 Hz, 2H)	31,0	2,99 (t, 2H)
8	35,7	2,66 (t, J 7,8 Hz, 2H)	35,7	2,68 (t, 2H)
9	178,9		178,6	
3-OMe	56,1	3,82 (s, 3H)	56,7	3,84 (s, 3H)
4-OMe	60,8	3,80 (s, 3H)	60,8	3,83 (s, 3H)
5-OMe	56,1	3,82 (s, 3H)	56,7	3,84 (s, 3H)
OH				11,31 (s, 1H)

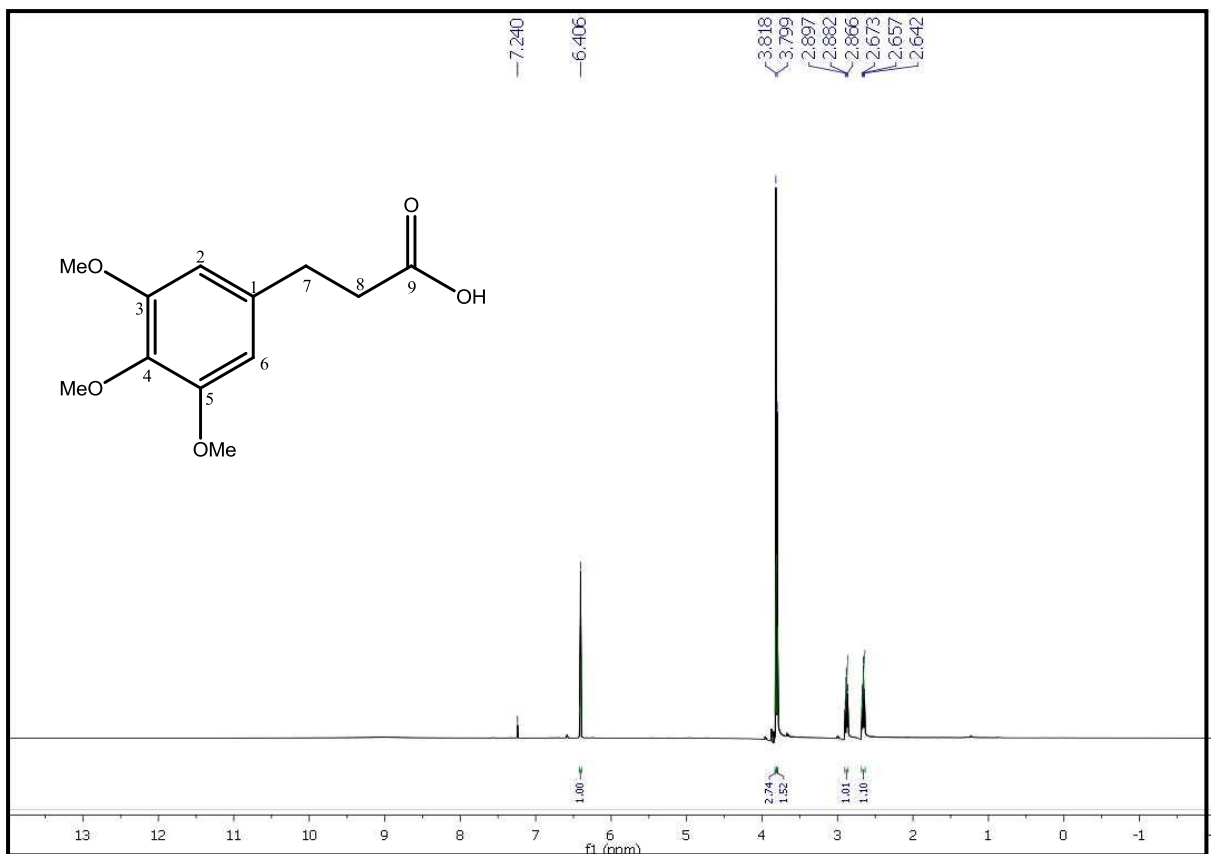


Figura 73: Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz) de Pa-6

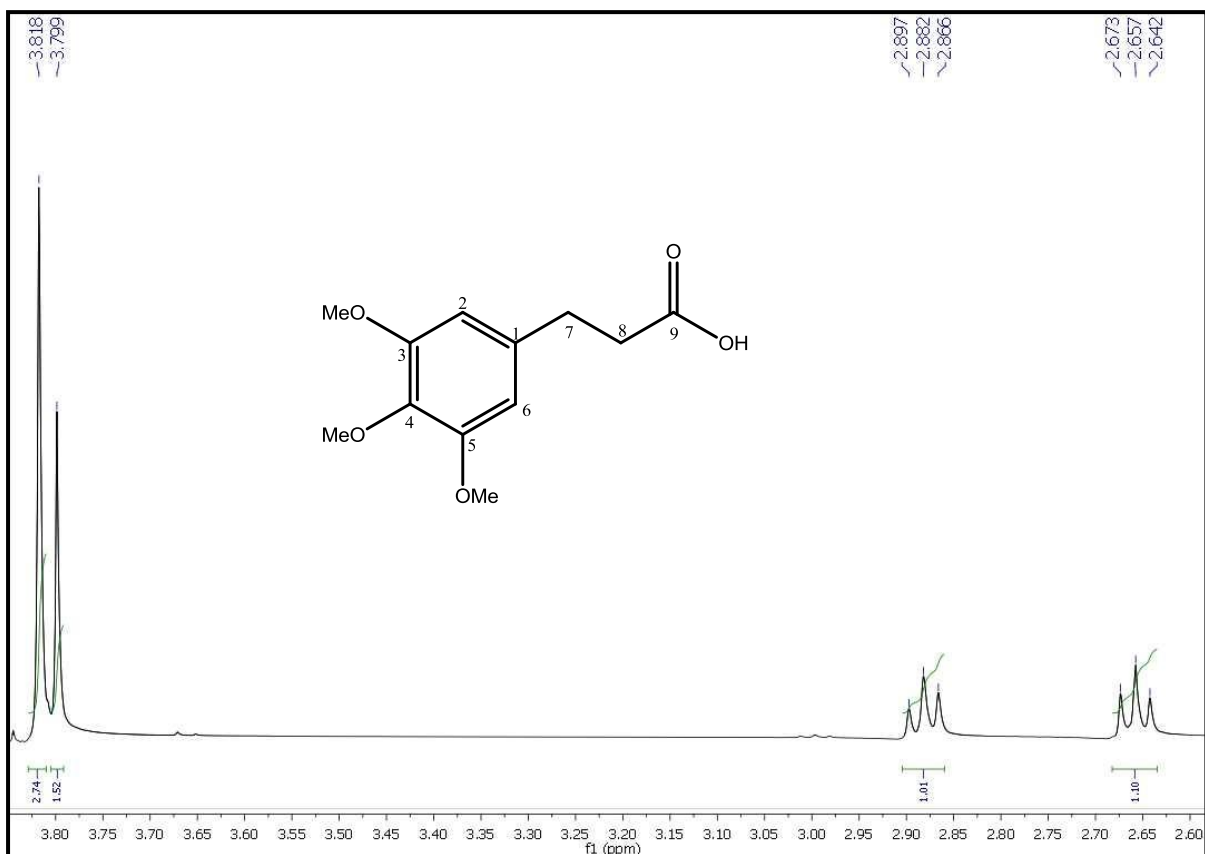


Figura 74: Expansão do espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz, δ_H 2,6-3,9) de Pa-6

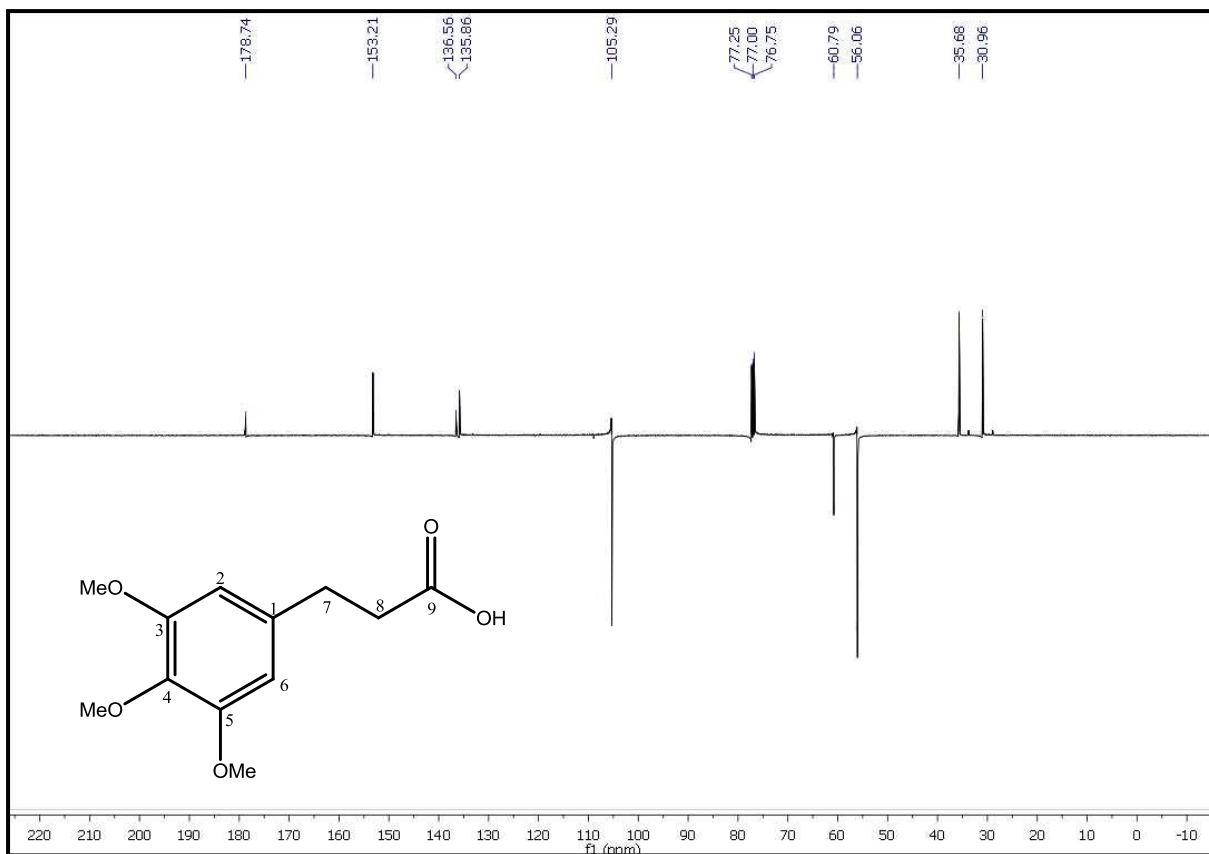


Figura 75: Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 125MHz) de Pa-6

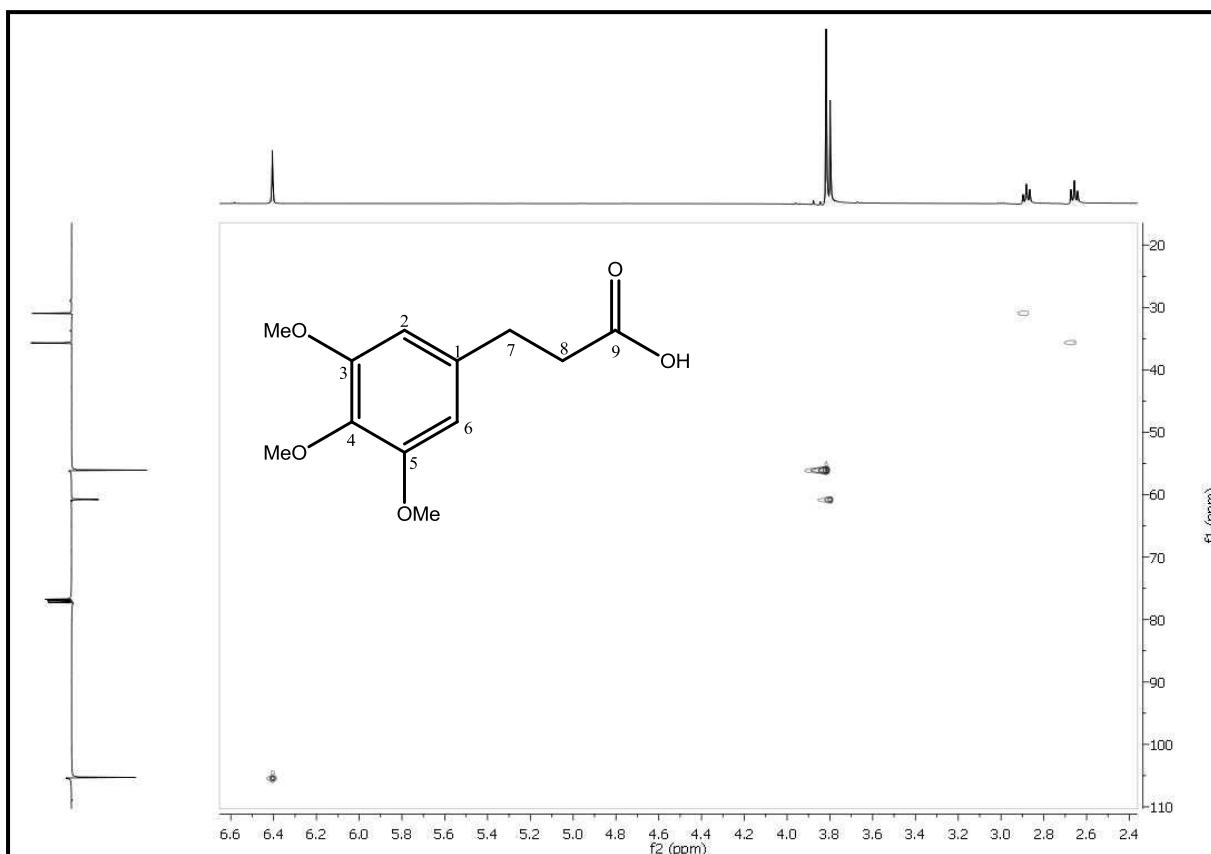


Figura 76: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC ¹H x ¹³C (CDCl₃, 500/125MHz) de Pa-6

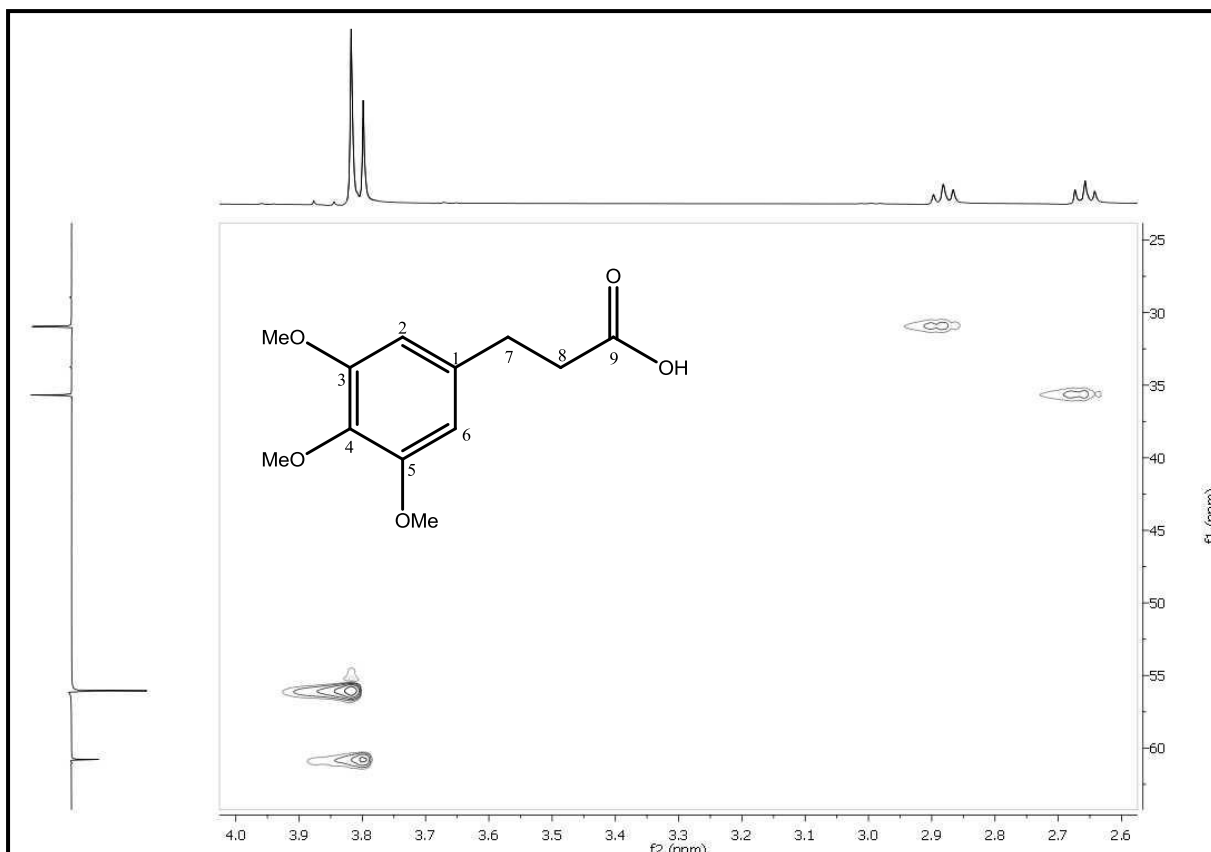


Figura 77: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,6-4,0) de Pa-6

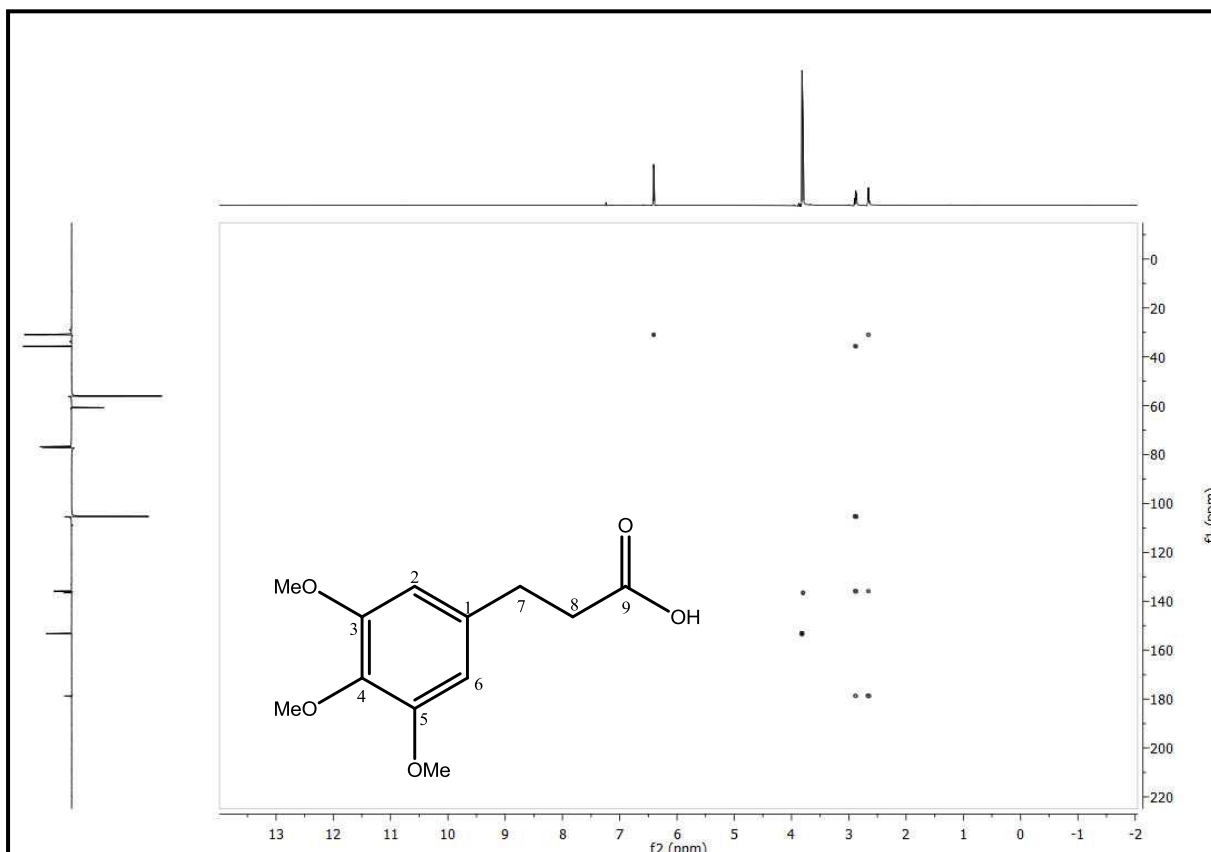


Figura 78: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz) de Pa-6

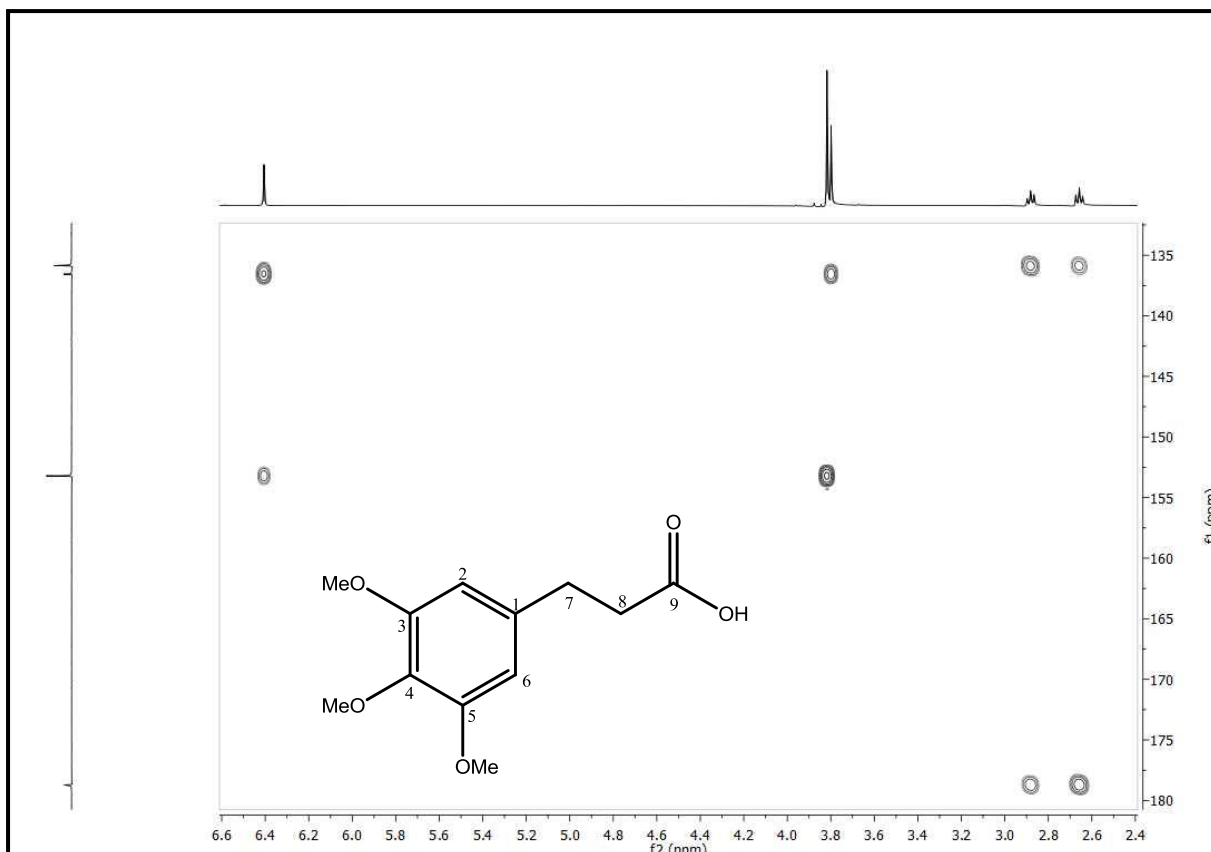


Figura 79: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,4-6,6) de Pa-6

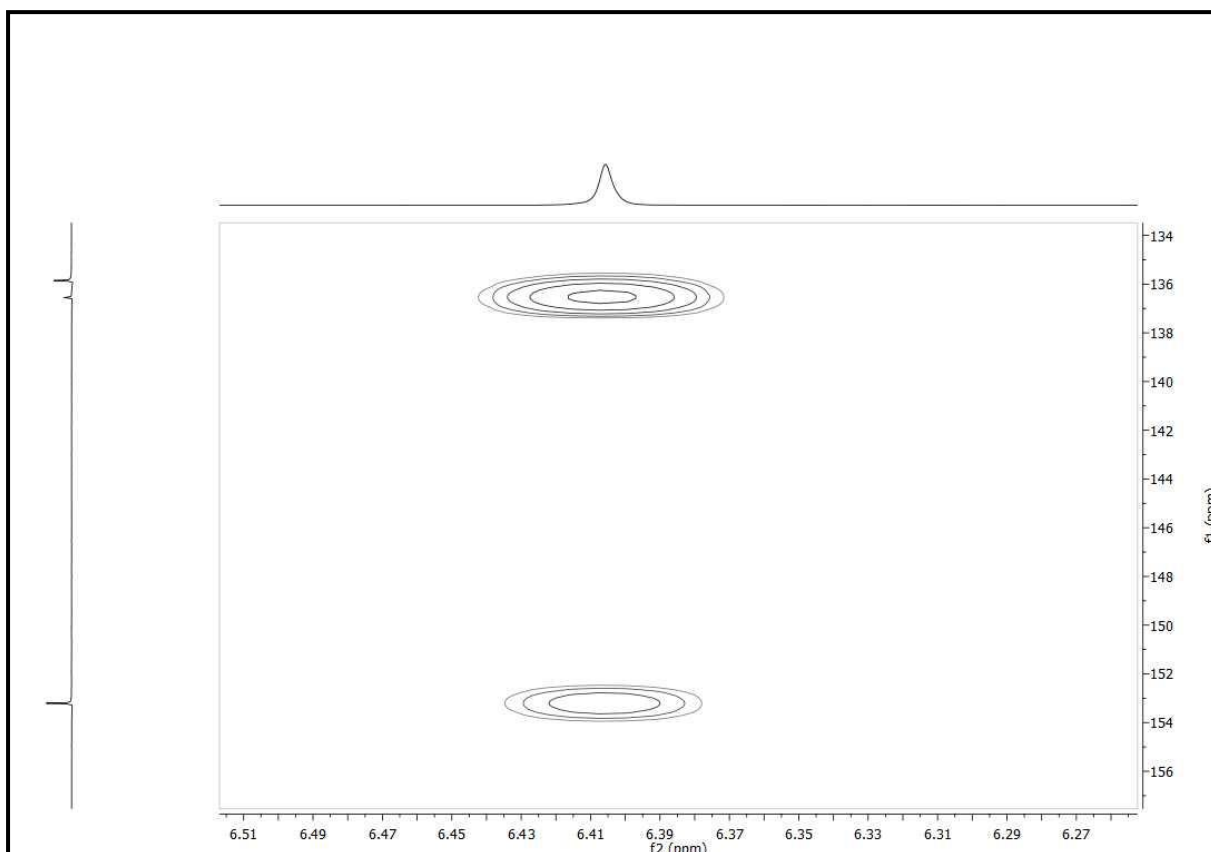


Figura 80: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 6,2-6,5) de Pa-6

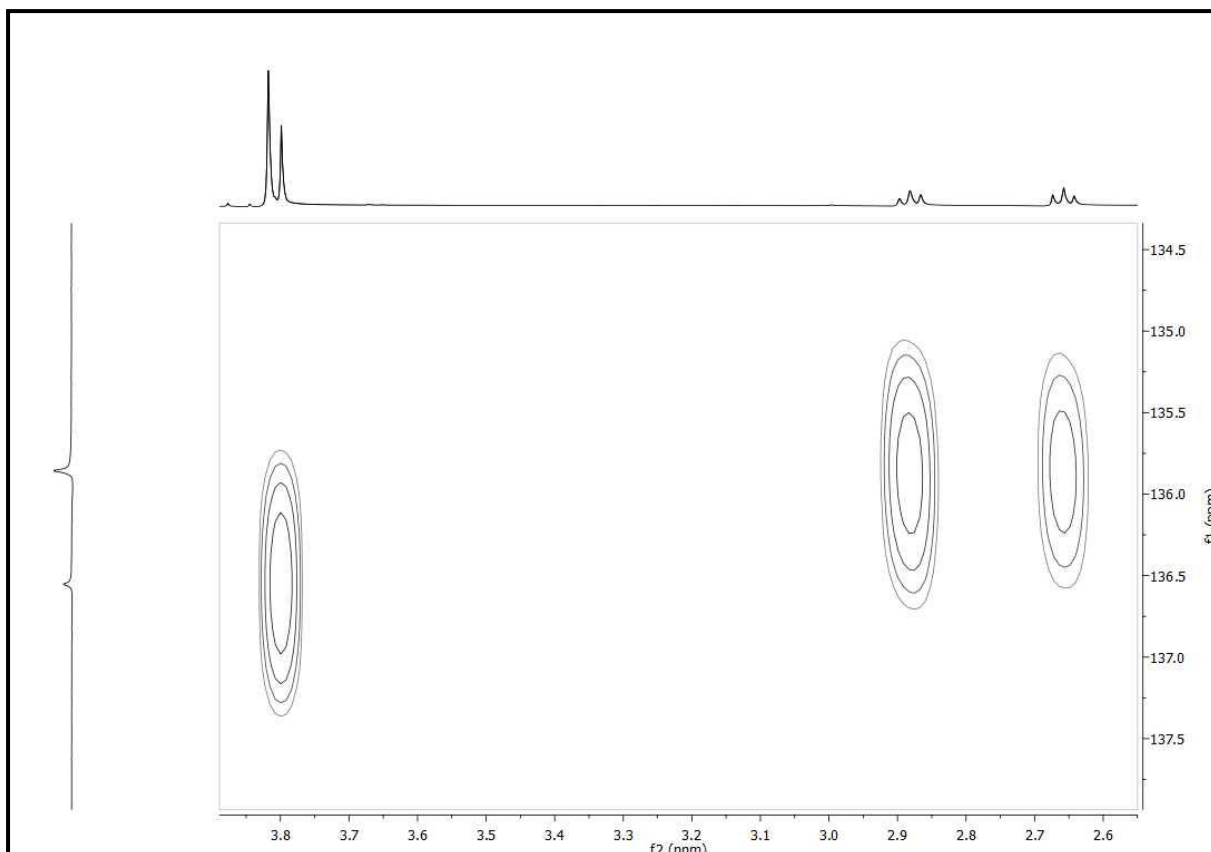


Figura 81: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,6-3,9) de Pa-6

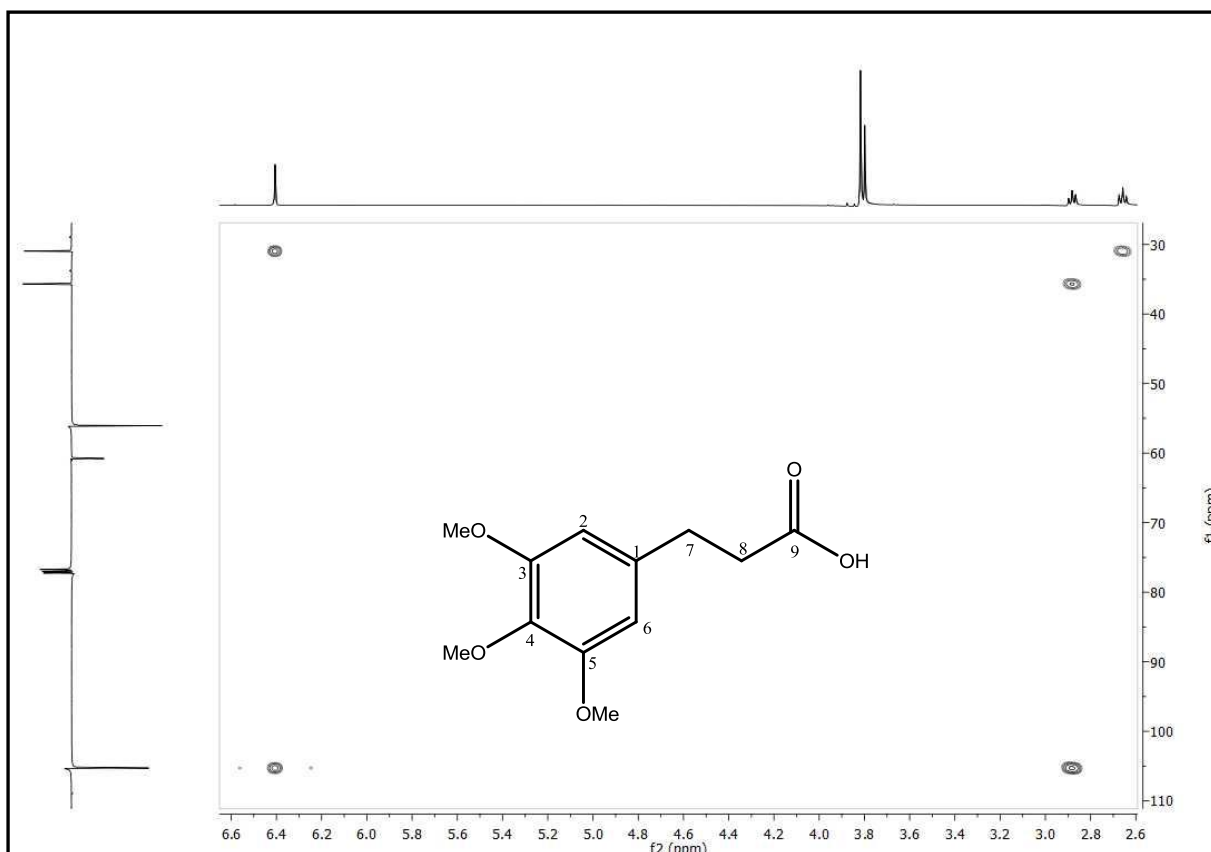


Figura 82: Espectro de correlação heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125MHz, δ_{H} 2,6-6,6) de Pa-6

5.1.6 Determinação estrutural de Pa-7

A substância, que recebeu o código Pa-7 (20,0 mg) apresentou-se na forma cristais brancos, solúveis em acetona.

Nos espectros de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) (Figura 84 a 86, p. 114 e 115), foi possível observar a presença de um duplo dubleto em δ_{H} 6,76 ($J = 8,5$ e $2,0$ Hz) acoplando *orto* com o dubleto em δ_{H} 6,84 ($J = 8,0$ Hz) e *meta* com o dubleto em δ_{H} 6,88 ($J = 2,0$ Hz), ambos integrando para um hidrogênio. Estes sinais, aliados aos singletos em δ_{H} 3,79 (3H) e δ_{H} 3,76 (3H) (Figura 86, p. 118), que são característicos de metoxilas ligadas a anel aromático, nos leva a propor que Pa-7 possui um anel aromático trissubstituído.

E ainda nestes mesmos espectros identificamos dois tripletos em δ_{H} 2,84 ($J = 7,0$ Hz) e δ_{H} 2,58 ($J = 7,0$ Hz), semelhante a Pa-6, sendo possível propor que Pa-7 (Tabela 13, p. 113) também trata-se de um fenilpropanoide, o Ácido 3,4-dimetoxifenil-propanóico (Figura 83, p. 112). Este composto está sendo relatado pela primeira vez em *Piper arboreum* e anteriormente foi isolado em *Piper arborícola* (HE et al., 1981), *Piper methysticum* (ACHENBACH & KARL, 1971) e na família Caryophyllaceae (SUN, et al., 2006).

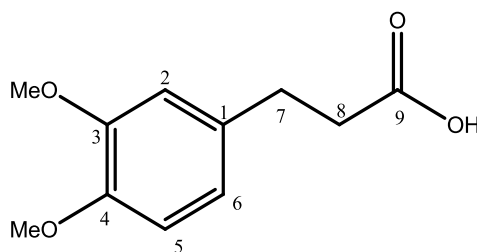


Figura 83: Ácido 3,4-dimetoxifenil-propanoico

Tabela 13: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H de Pa-7 com modelo de Pa-6

Pa-7 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$), 500/125 MHz)		Pa-6 (CDCl_3 , 500/125 MHz)	
Posição	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1			
2	6,88 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)		6,40 (s, 1H)
3			
4			
5	6,84 (d, $J=8,0$ Hz, 1H)		
6	6,76 (dd, $J=8,5$ e $2,0$ Hz, 1H)		6,40 (s, 1H)
7	2,84 (t, $J=7,0$ Hz)		2,88 (t, $J=7,8$ Hz, 2H)
8	2,58 (t, $J=7,0$ Hz)		2,66 (t, $J=7,8$ Hz, 2H)
9			
C=O			
3-OMe	3,79 (s, 3H)		3,82 (s, 3H)
4-OMe	3,76 (s, 3H)		3,80 (s, 3H)
5-OMe			3,82 (s, 3H)

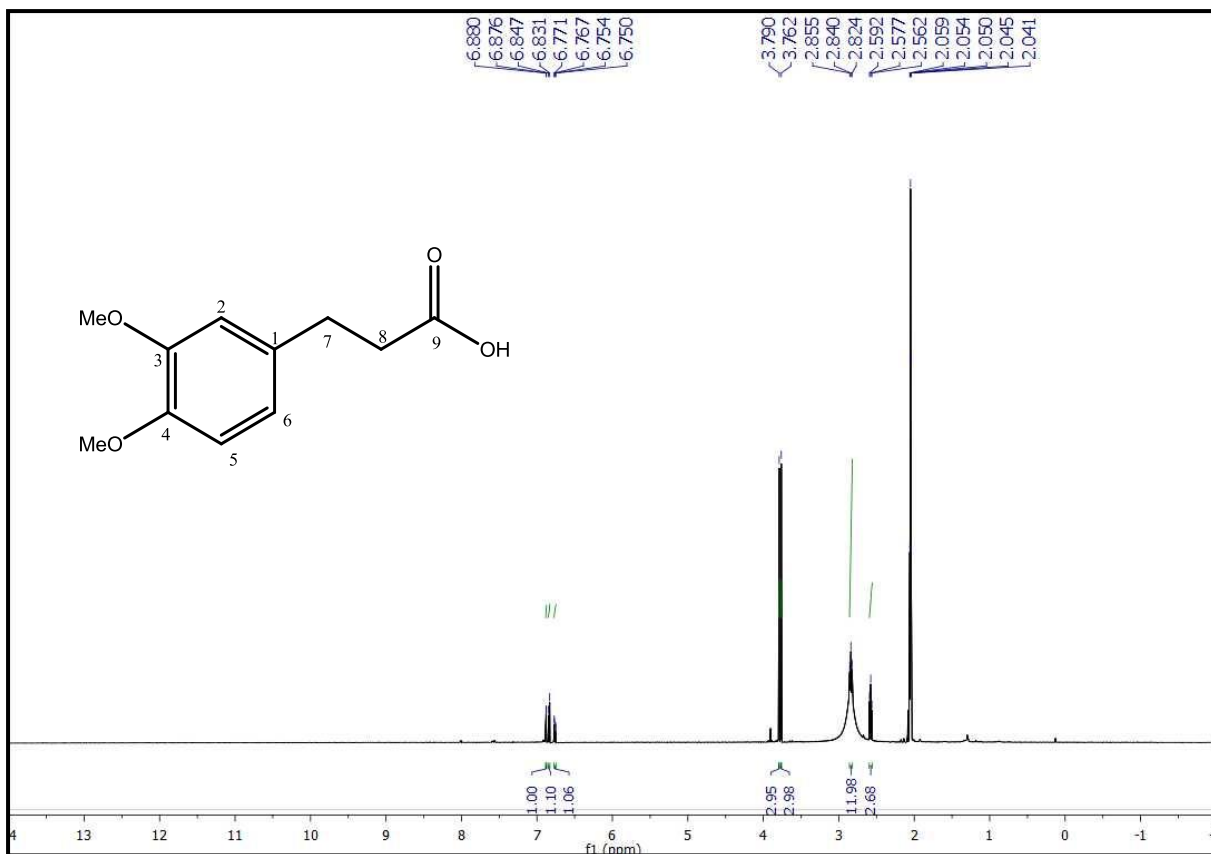


Figura 84: Espectro de RMN ^1H ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pa-7

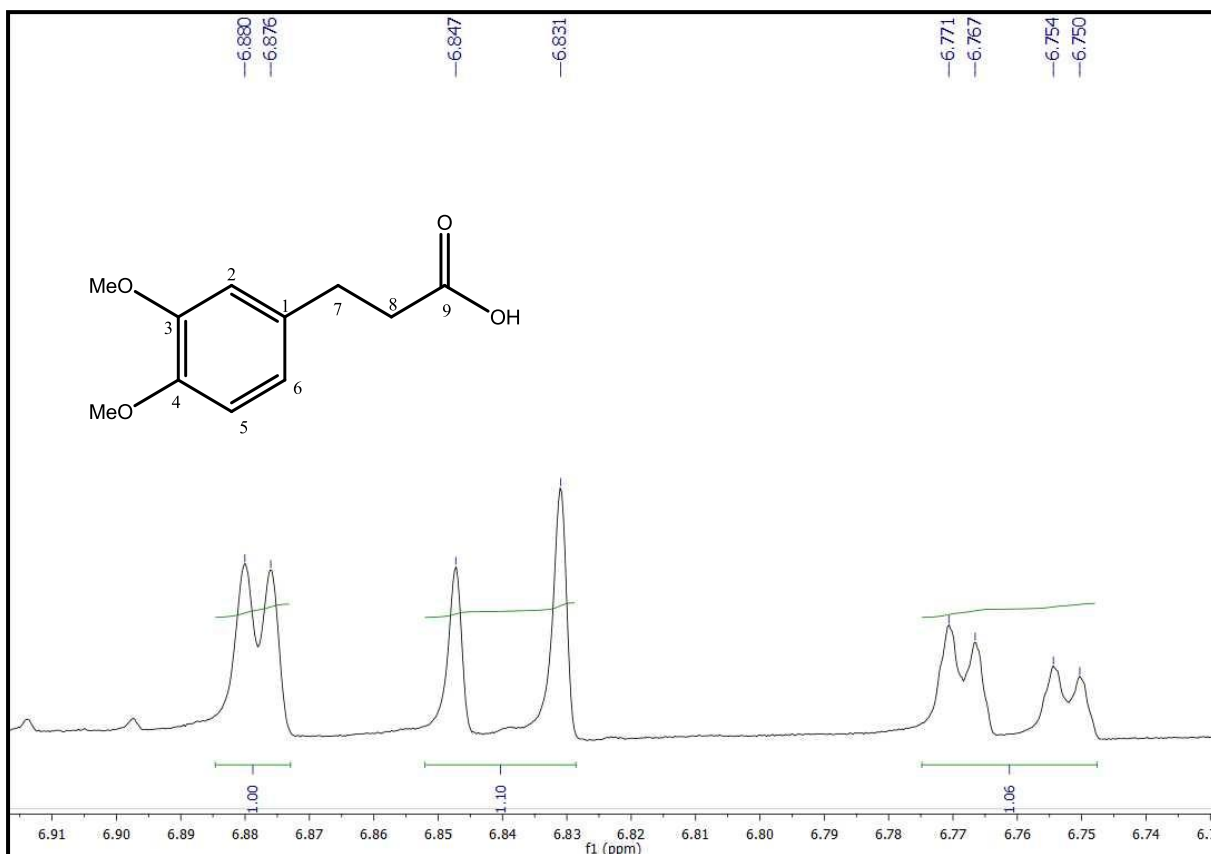


Figura 85: Expansão do espectro de RMN ^1H ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz, δ_{H} 6,7-6,8) de Pa-7

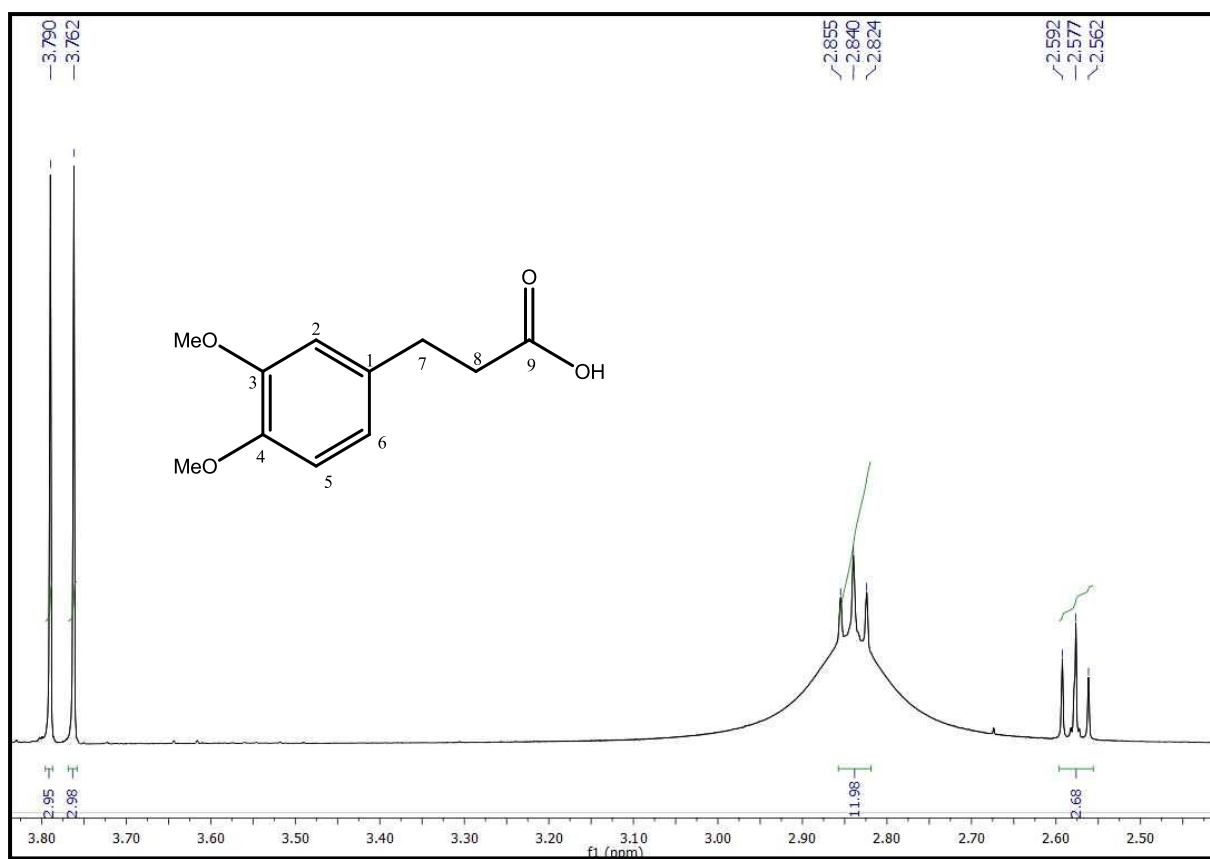
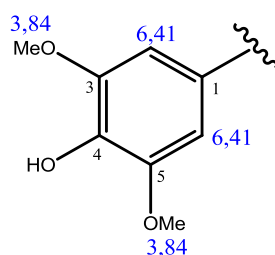


Figura 86: Expansão do espectro de RMN ^1H ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz, δ_{H} 2,4-3,8) de Pa-7

5.1.7 Determinação estrutural de Pa-8

A substância codificada como Pa-8 (15 mg) foi solúvel em clorofórmio e apresentou-se em forma de cristais brancos.

O espectro de RMN ^1H e sua expansão (CDCl_3 , 200MHz, Figura 88 e 89, p. 118) mostram um sinal simples, em δ_{H} 6,41 com intensidade para dois hidrogênios, na região de hidrogênios aromáticos, além de um sinal simples em δ_{H} 3,84 (6H), característico de grupos metoxílicos ligados a anel aromático, indicando a presença de um anel aromático simetricamente tetrassubstituído.



Este espectro revelou também dois tripletos, um em δ_{H} 2,87 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H) e o outro em δ_{H} 2,64 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H) (Figura 89, p. 118), semelhante a Pa-6, sendo possível propor que Pa-8 também trata-se de um fenilpropanoide.

O espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 50 MHz) (Figura 90, p. 119) mostrou 8 sinais correspondentes a 11 carbonos. Sendo 4 sinais para 5 carbonos não hidrogenados: δ_{C} 131,2, δ_{C} 133,1, δ_{C} 147,0 (2C) e δ_{C} 178,9, 1 sinal para dois carbonos metínicos: δ_{C} 104,9 (2C), 2 sinais para 2 carbonos metilênicos: δ_{C} 36,0 e δ_{C} 30,8 e 1 sinais para 2 carbonos metoxílicos: δ_{C} 56,2 (2C), confirmando a semelhança com Pa-6. Os sinais para carbonos não hidrogenados em δ_{C} 131,2 foi atribuído a posição 1, em δ_{C} 133,1, ligado a uma OH, para a posição 4, em δ_{C} 147,0 (2C) atribuído para as posições 3 e 5 que sustentam as metoxilas e em δ_{C} 178,9 assinalado para o carbono carbonílico 9, característico de grupo ácido. Os sinais para carbonos metínicos em δ_{C} 104,9 (2C) foram atribuídos para os carbonos 2 e 6. Os carbonos metilênicos, δ_{C} 36,0 e δ_{C} 30,8, foram assinalados para as posições 8 e 7 respectivamente, e em δ_{C} 56,2 para as metoxilas ligadas as posições 3 e 5.

A análise dos dados de RMN ^1H e ^{13}C e comparação com Pa-6, permite propor que Pa-8 trata-se do Ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil-propanóico (Figura 87, p. 117).

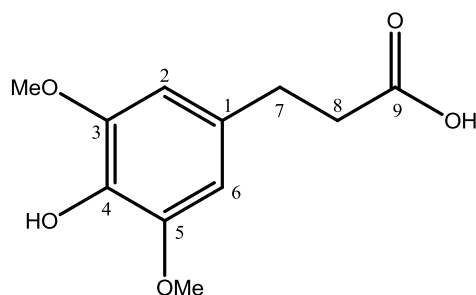


Figura 87: Ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil-propanóico

Tabela 14: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-8 com Pa-6

Posição	Pa-8 (CDCl ₃ , 500/125 MHz)		Pa-6 (CDCl ₃ , 500/125 MHz)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	131,2		135,9	
2	104,9	6,41 (s, 1H)	105,3	6,40 (s, 1H)
3	147,0		153,2	
4	133,1		136,6	
5	147,0		153,2	
6	104,9	6,41 (s, 1H)	105,3	6,40 (s, 1H)
7	30,8	2,87 (t, J = 7,7 Hz, 2H)	31,0	2,88 (t, J = 7,8 Hz, 2H)
8	36,0	2,64 (t, J = 7,7 Hz, 2H)	35,7	2,66 (t, J 7,8 = Hz, 2H)
9	178,9		178,9	
3-OMe	56,2	3,84 (s, 3H)	56,1	3,82 (s, 3H)
4-OMe	-	-	60,8	3,80 (s, 3H)
4-OH				
5-OMe	56,2	3,84 (s, 3H)	56,1	3,82 (s, 3H)

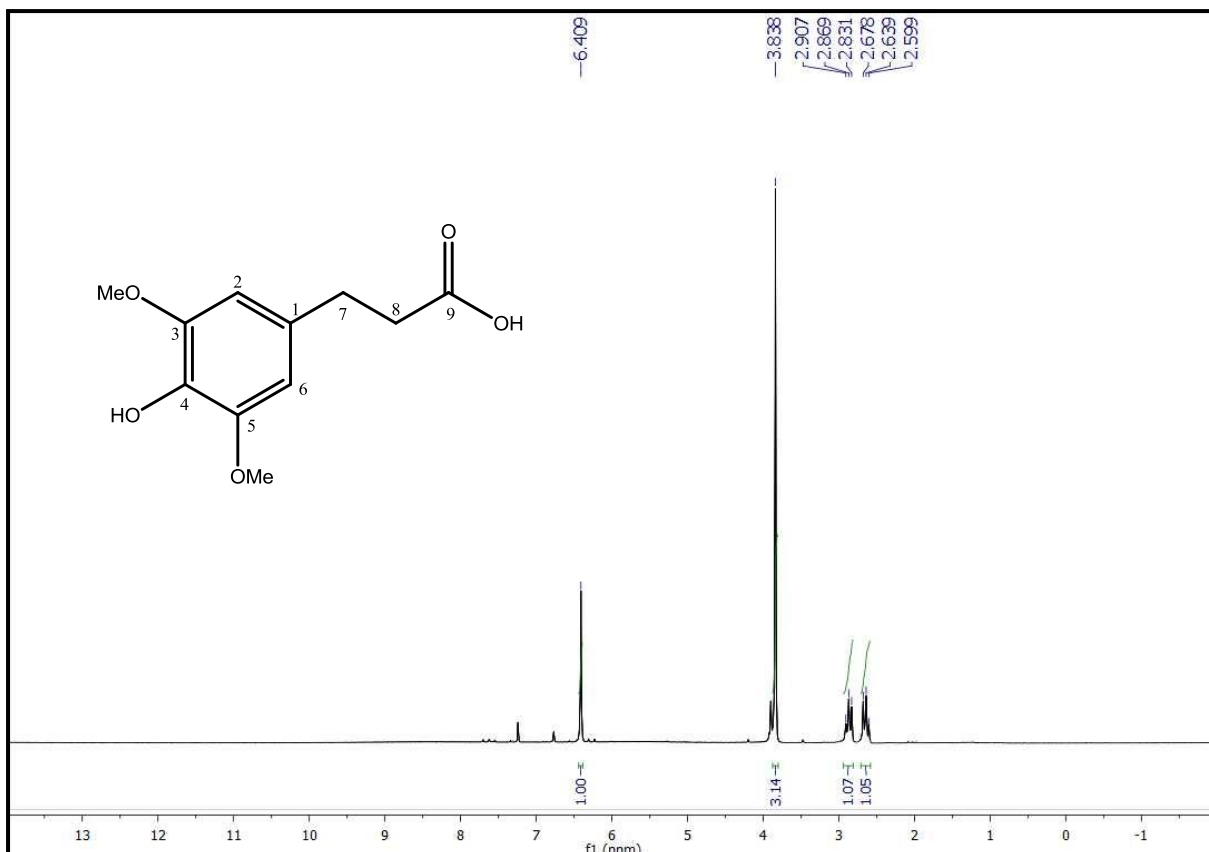


Figura 88: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de Pa-8

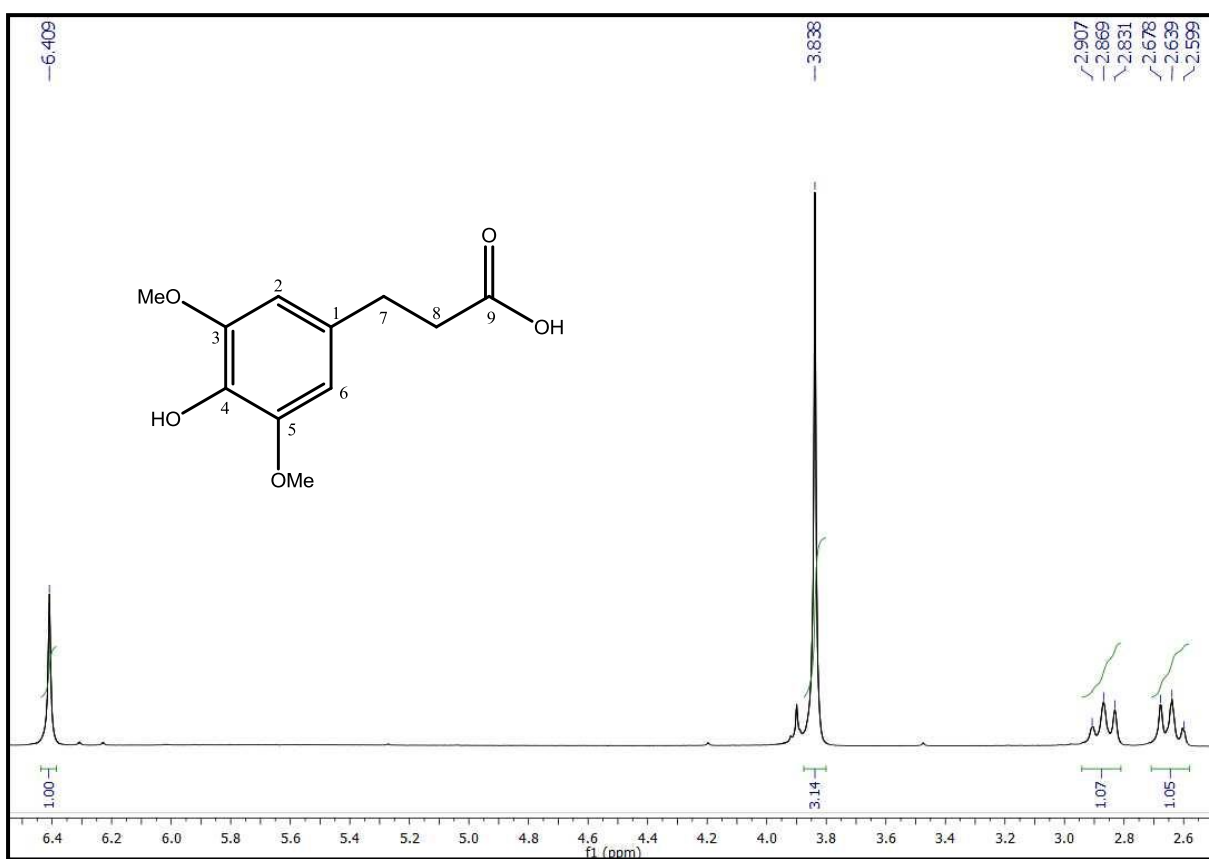


Figura 89: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz, δ_{H} 2,6-6,5) de Pa-8

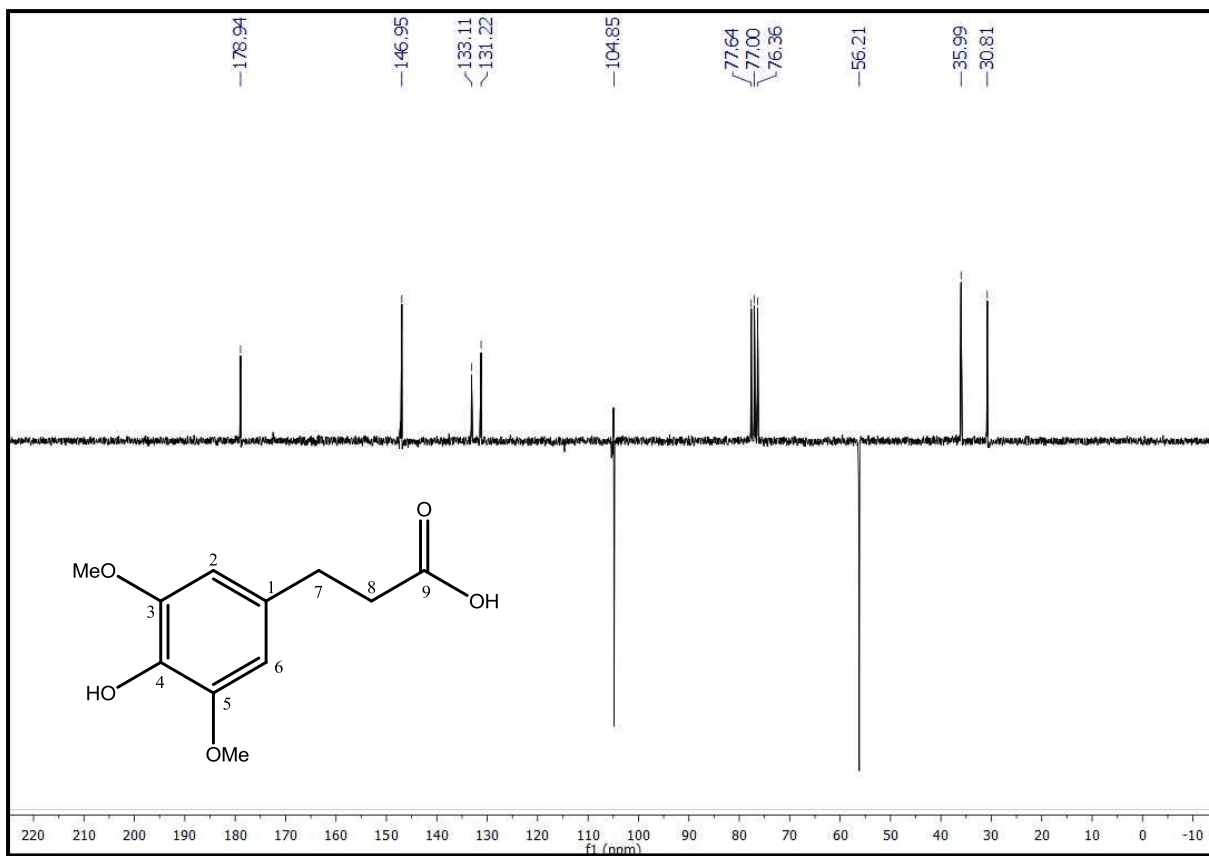


Figura 90: Espectro de RMN ^{13}C (CDCl₃, 50 MHz) de Pa-8

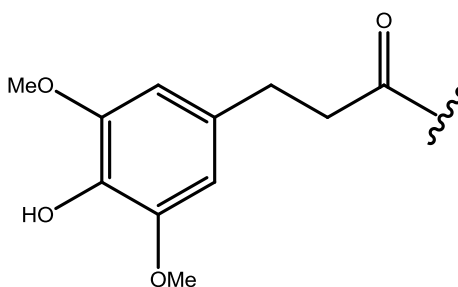
5.1.8 Determinação estrutural de Pa-9

A substância codificada como Pa-9 foi obtida como um pó amorfo branco, solúvel em clorofórmio.

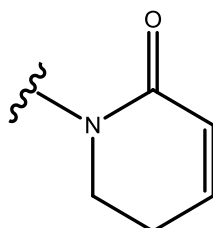
O espectro de massas obtido por ESI positivo (ION TRAP) mostrou um pico em m/z 305,8 $[M+H]^+$, correspondente a fórmula molecular $C_{16}H_{19}O_5N$.

O espectro de infravermelho (Figura 93, p. 124) de Pa-9 mostrou absorção em 3397 cm^{-1} , atribuída a estiramento de OH. Revelou também, a presença de uma banda de absorção em 1676 cm^{-1} , característico de carbonila.

Os espectros de RMN (^1H) e suas expansões (CDCl_3 , 500MHz), (Figura 94 a 96 p. 125 e 126) mostram um sinal simples, em δ_{H} 6,46 com integração para dois hidrogênios, na região de hidrogênios aromáticos, além de um sinal simples em δ_{H} 3,85 (6H), característico de grupos metoxílicos ligados a anel aromático. Este espectro revelou também dois tripletos, um em δ_{H} 3,22 (t, $J = 7,5\text{ Hz}$, 2H) e o outro em δ_{H} 2,90 (t, $J = 7,5\text{ Hz}$, 2H), que nos espectros de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (CDCl_3 , 500MHz), (Figura 99 e 100, p. 127 e 128) mostrou correlações com o sinal para hidrogênios aromático em δ_{H} 6,46 (s, 2H), que apontam para a presença de uma unidade cinamílica modificada, semelhante a Pa-8.



Além dos sinais já descritos no espectro de RMN (^1H) (CDCl_3 , 500MHz, (Figura 95, p. 125), foi possível observar os duplos tripletos em δ_{H} 5,97 ($J = 10,0$ e $2,0\text{ Hz}$, 1H) e δ_{H} 6,86 ($J = 9,5$ e $4,5\text{ Hz}$, 1H), o multipletto em δ_{H} 2,36 (2H) e o triplicto em δ_{H} 3,94 ($J = 6,5\text{ Hz}$, 2H) que permitiram sugerir a presença do anel 2-(1H)-piridona na molécula (MAXWELL & RAMPERSAD, 1991).



Os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz), (Figura 101 e 102, p. 128 e 129) apresentaram 13 sinais para 16 carbonos, sendo 5 para 6 carbonos não hidrogenados: δ_{C} 175,6, δ_{C} 165,4, δ_{C} 146,9 (2C), δ_{C} 133,0 e δ_{C} 132,3; 3 para 4 carbonos metínicos: δ_{C} 145,2, δ_{C} 125,9 e δ_{C} 105,2 (2C); 4 para carbonos metilênicos: δ_{C} 41,1, δ_{C} 41,0, δ_{C} 31,4 e δ_{C} 24,7; e 1 para 2 carbonos oximetílicos δ_{C} 56,3.

Os sinais em δ_{C} 146,9 (2C), δ_{C} 133,0, δ_{C} 132,3, δ_{C} 56,3(2C), δ_{C} 41,1 e δ_{C} 31,4 corroboraram com a presença da unidade cinamfílica modificada e foram atribuídos através das correlações vistas nos espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC (CDCl_3 , 500/ 125 MHz), (Figura 103 a Figura 105, p. 129 e 130): δ_{H} 6,46 (H-11/15)/ δ_{C} 105,2 (C-11/15); δ_{H} 2,90 (H-9)/ δ_{C} 31,4 (C-9); δ_{H} 3,22 (H-8)/ δ_{C} 41,1 (C-8) e δ_{H} 3,85 (OMe-12/14)/ δ_{C} 56,3 (OMe-12/14) e através das correlações observadas nos espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz), (Figura 106 a 108, p. 131 e 132): δ_{H} 2,90/ δ_{C} 175,6, δ_{C} 132,3, δ_{C} 105,2 e δ_{C} 41,1 que permitem atribuir δ_{C} 175,6 e δ_{C} 132,3 para os carbonos 7 e 10 e confirmam a atribuição dos sinais em δ_{C} 105,2 e δ_{C} 41,1 para a posições 11/15 e 8; δ_{H} 3,22/ δ_{C} 31,4; δ_{C} 132,3 e δ_{C} 175,6 que confirmaram as atribuições dos carbonos 9, 10 e 7; δ_{H} 6,46/ δ_{C} 31,4, δ_{C} 105,2, δ_{C} 133,0 e δ_{C} 146,9 que permite confirmar os sinais em δ_{C} 31,4 e δ_{C} 105,2 para as posições 9 e 11/15 e atribuir os sinais em δ_{C} 133,0; δ_{C} 132,3 e δ_{C} 146,9 para as posições 10/13 e 12/14; δ_{H} 3,85/ δ_{C} 146,9 que permite confirmar δ_{C} 146,9 para os carbonos 12 /14, os quais sustentam as metoxilas.

Também no HMBC (Figura 107, p. 131) observou-se a correlação do hidrogênio metilênico do anel 2-(1*H*)-piridona em δ_{H} 3,95 com o sinal de carbono em δ_{C} 175,6 sugerindo que este anel está ligado ao carbono 7. Os sinais de carbono em δ_{C} 125,9, δ_{C} 145,2, δ_{C} 24,7 e δ_{C} 41,0 foram atribuídos aos carbonos das posições 3, 4, 5 e 6, respectivamente quando observadas as seguintes correlações nos espectros de HMQC (Figura 104 e 105, p. 130): δ_{H} 5,97/ δ_{C} 125,9; δ_{H} 6,86/ δ_{C} 145,2; δ_{H} 3,95/ δ_{C} 24,7 e δ_{H} 2,36/ δ_{C} 41,0. As correlações a longa distância (HMBC) (Figura 107, p. 131) δ_{H} 3,95/ δ_{C} 165,4 e δ_{C} 175,6 foi assinalados respectivamente para as carbonilas das posições 2 e 7 e que permitem atribuir inequivocamente o sinal δ_{H} 3,95 para a posição 6.

Após a análise de espectros de massas, IV e RMN (Tabela 15, p. 122) e investigação na literatura (Tabela 16, p. 123) este composto foi determinado como sendo o *N*-(12,14-

dimetoxi-13-hidroxi-dihidrocinamoil)- Δ^3 -piridin-2-ona (Figura 91, p. 122), relatado pela primeira vez na literatura.

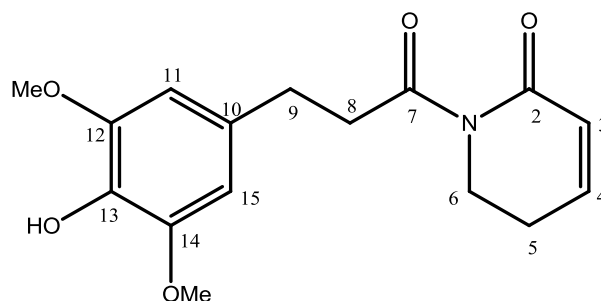


Figura 91: *N*-(12,14-dimetoxi-13-hidroxi-dihidrocinamoil)- Δ^3 -piridin-2-ona

Tabela 15: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) e ^1H x ^1H (COSY e NOESY) de Pa-9 registrados em CDCl_3

Posição	HMQC (^1H x ^{13}C)		HMBC (^1H x ^{13}C)		COSY (^1H x ^1H)	NOESY (^1H x ^1H)
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J		
2		165,4				
3	5,97 (dt, <i>J</i> 9,5 e 2,0, 1H)	125,9			H-4	H-5
4	6,86 (dt, <i>J</i> 9,5 e 4,5, 1H)	145,2			H-3; H-5	H-4; H-6
5	2,36 (m, 2H)	24,7	C-4; C-6	C-3	H-4; H-6	H-5
6	3,95 (t, <i>J</i> 6,5, 2H)	41,0	C-5	C-2; C-4; C-7	H-5	
7		175,6				H-9; H-11; H-15
8	3,22 (t, <i>J</i> 6,5, 2H)	41,1	C-7; C-9	C-10	H-9	H-8; H-11; H-15
9	2,90 (t, <i>J</i> 6,5, 2H)	31,4			H-8	
10		132,3				
11	6,46 (s)	105,2	C-12	C-9; C-13; C-15		H-8; H-9
12		146,9				
13		133,0				
14		146,9				
15	6,46 (s)	105,2	C-14	C-9; C-13; C-11		H-8; H-9
12-OMe	3,85 (s)	56,3		C-12		
14-OMe	3,85 (s)	56,3		C-14		

Tabela 16: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-9 (CDCl_3 , 500/125 MHz) com modelos encontrados na literatura COSTA, 2011 (CDCl_3 , 500/125 MHz) e DODSON, et al., 2000 (CDCl_3 , 270/68 MHz)

Posição	Pa-9		COSTA, 2011		DODSON, et al., 2000	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		165,4		165,6		166,0
3	5,97 (dt, J = 9,5 e 2,0 Hz)	125,9	5,96 (dt, J = 9,5 Hz)	125,8	6,03 (dt, J = 9,6 e 2,0 Hz)	126,1
4	6,86 (dt, J = 9,5 e 4,5 Hz)	145,2	6,86 (dt, J = 9,5 Hz)	145,2	6,93 (dt, J = 9,6 e 4,2 Hz)	145,6
5	2,36 (m)	24,7	2,40 (m)	24,6	2,56 (m)	24,5
6	3,95 (t, J = 6,5 Hz)	41,0	3,94 (t, J = 8,0 Hz)	40,9	4,03 (t, J = 6,6 Hz)	41,4
7		175,6		175,5		169,3
8	3,22 (t, J = 6,5 Hz)	40,1	3,24 (m)	41,0	7,38 (d, J = 15,3 Hz)	119,8
9	2,90 (t, J = 6,5 Hz)	31,4	2,91 (t, J = 8,0 Hz)	31,5	7,68 (d, J = 15,3 Hz)	144,6
10		132,3		136,2		126,9
11	6,46 (s)	105,2	6,44 (s)	105,5	6,81 (s)	105,5
12		146,9		153,1		147,5
13		133,0		136,3		137,5
14		146,9		153,1		147,5
15	6,46 (s)	105,2	6,44 (s)	105,5	6,81 (s)	105,5
OMe-12	3,85 (s)	56,3	3,81 (s)	56,0	3,91 (s)	56,3
OMe-13			3,78 (s)	60,8		
OMe-14	3,85 (s)	56,3	3,81 (s)	56,0	3,91 (s)	56,3

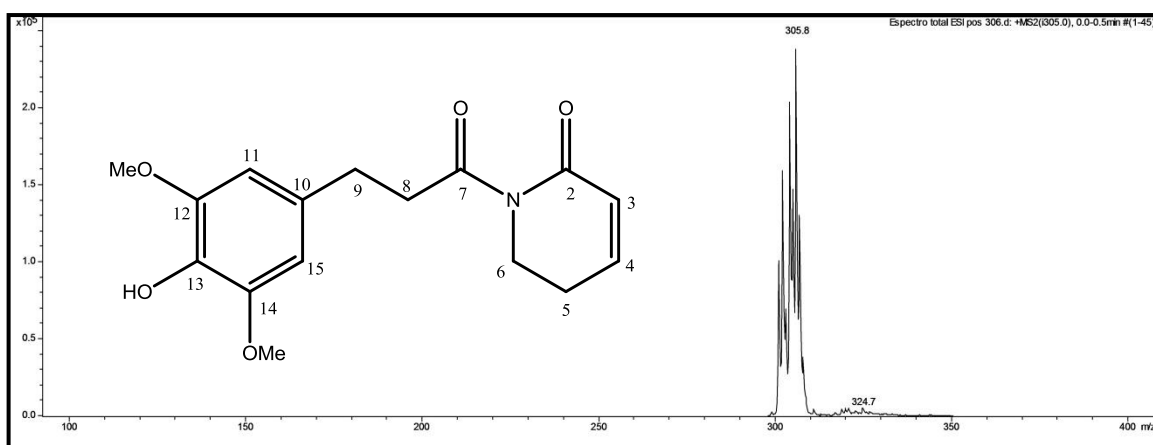
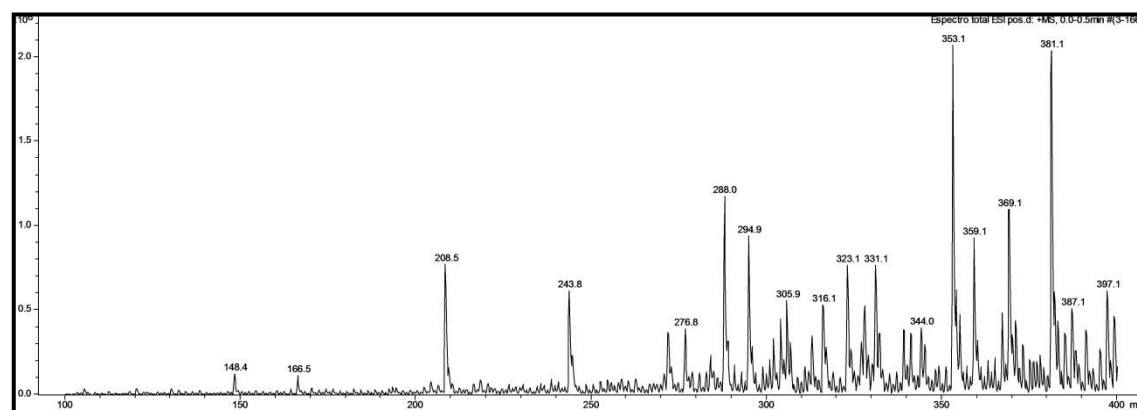


Figura 92: Espectro de massas obtido por ESI positivo (ION TRAP) de Pa-9

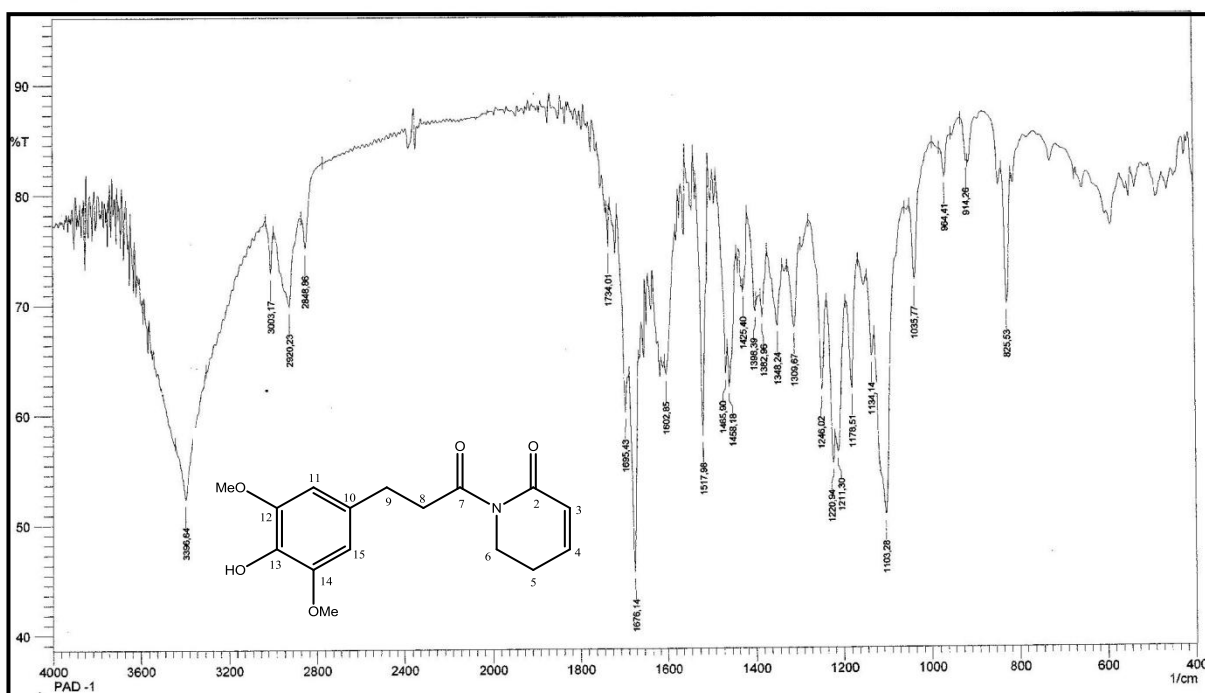


Figura 93: Espectro de IV em KBr de Pa-9

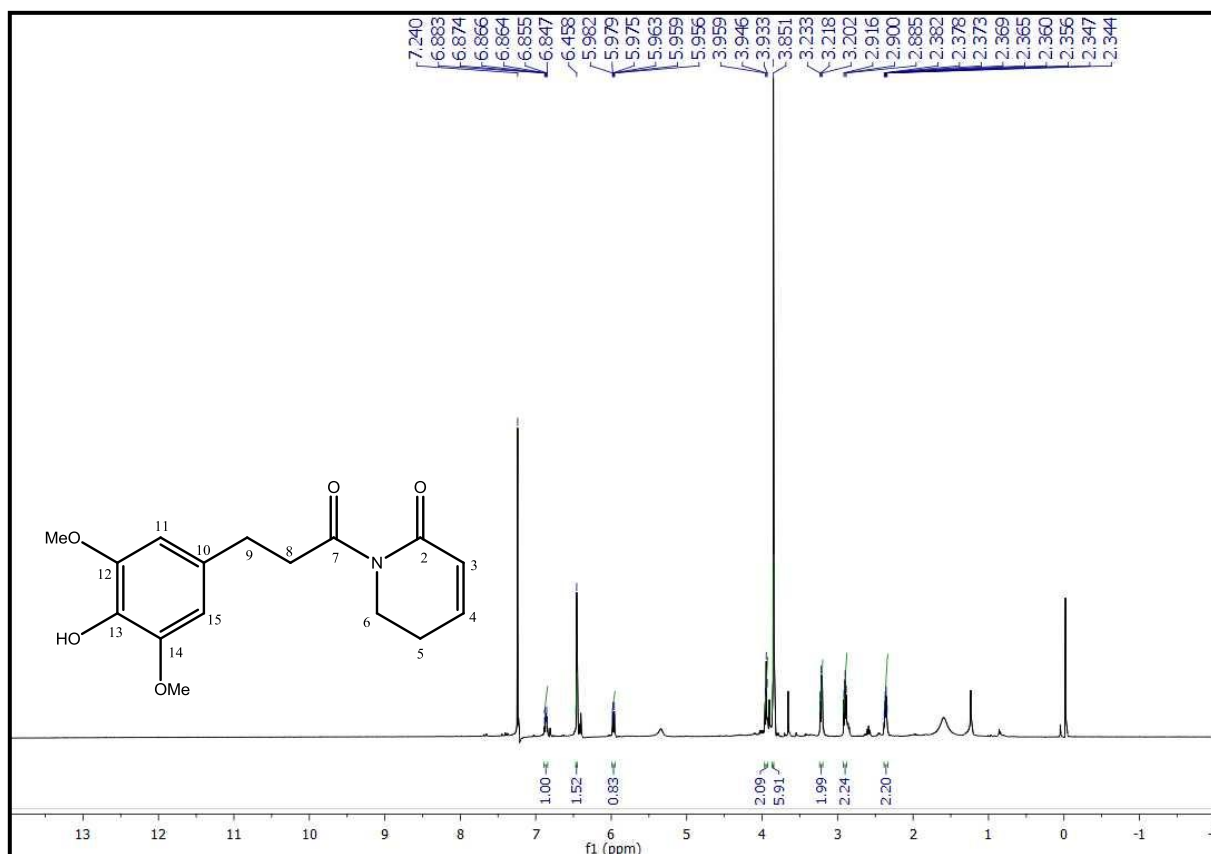


Figura 94: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) de Pa-9

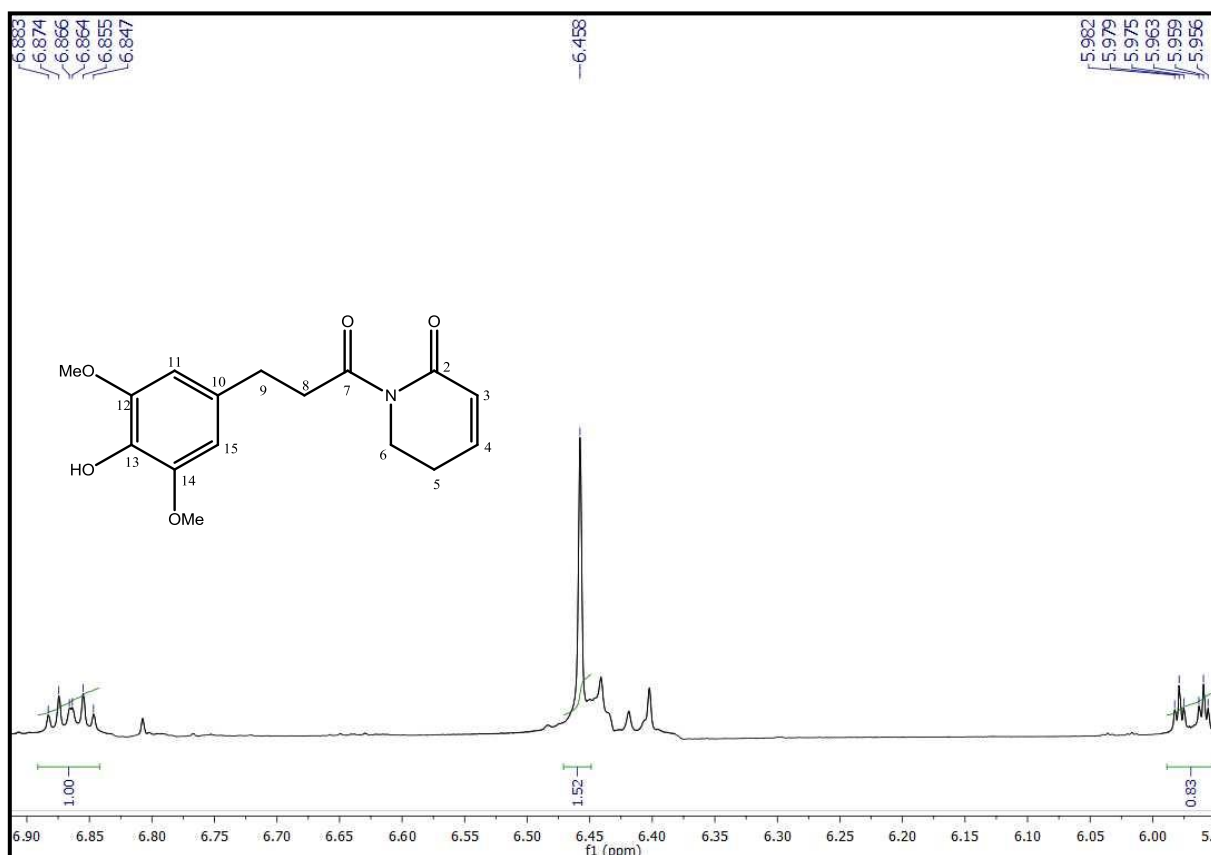


Figura 95: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 5,5-6,9) de Pa-9

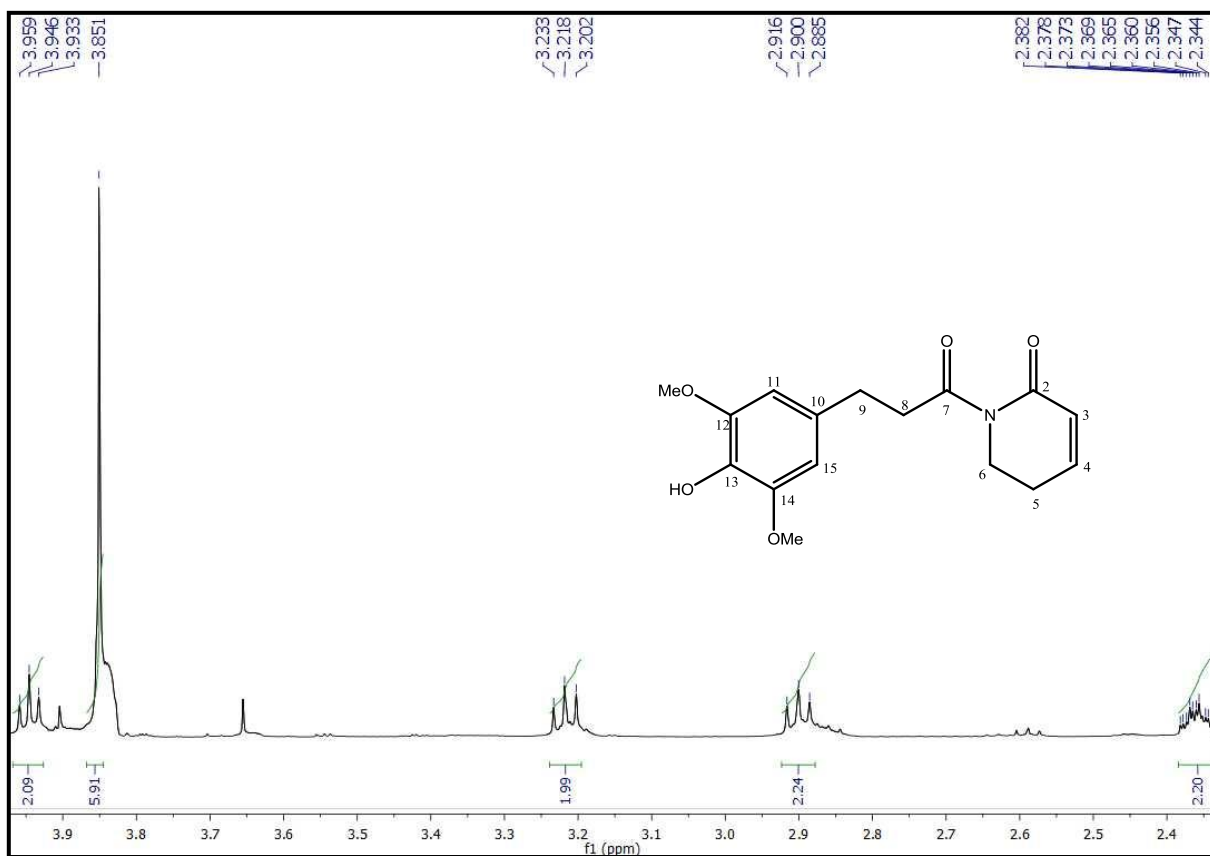


Figura 96: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 2,3-4,0) de Pa-9

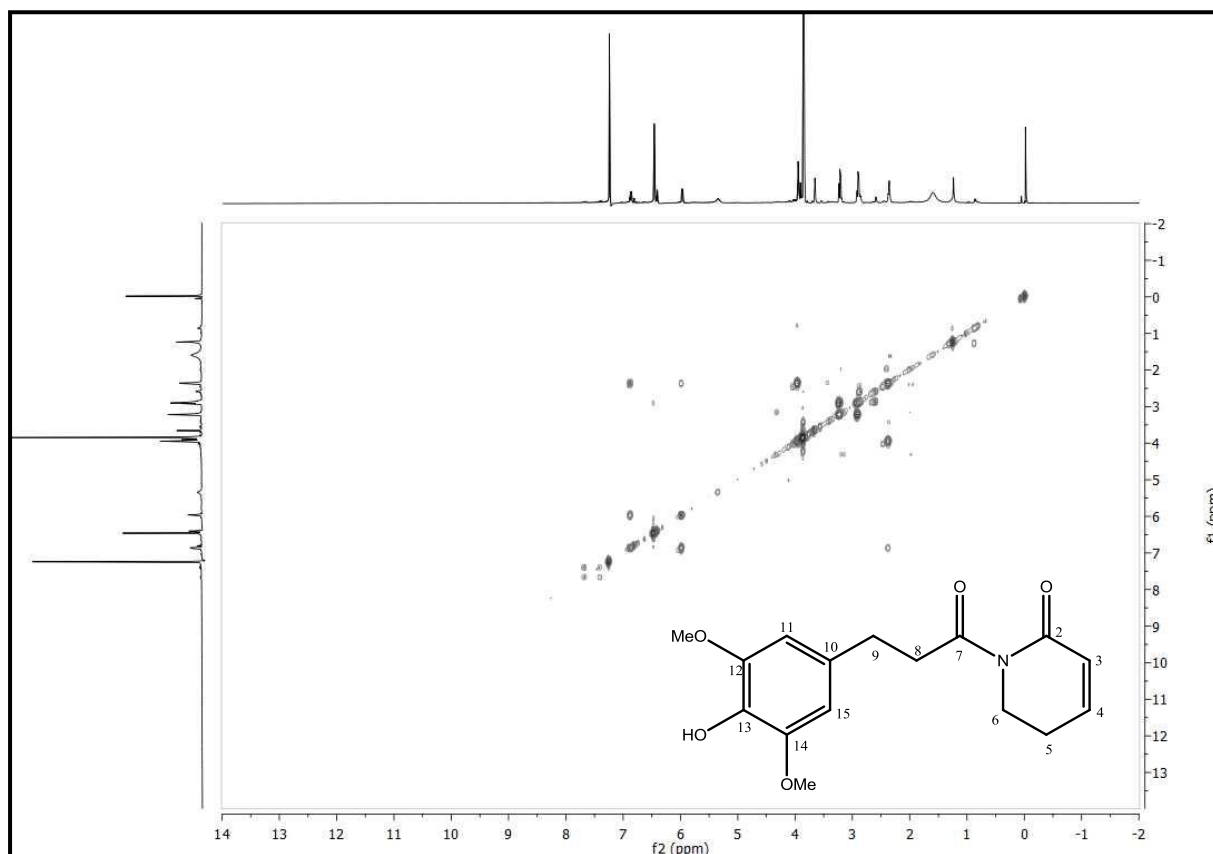


Figura 97: Espectro de Correlação Homonuclear COSY ^1H x ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-9

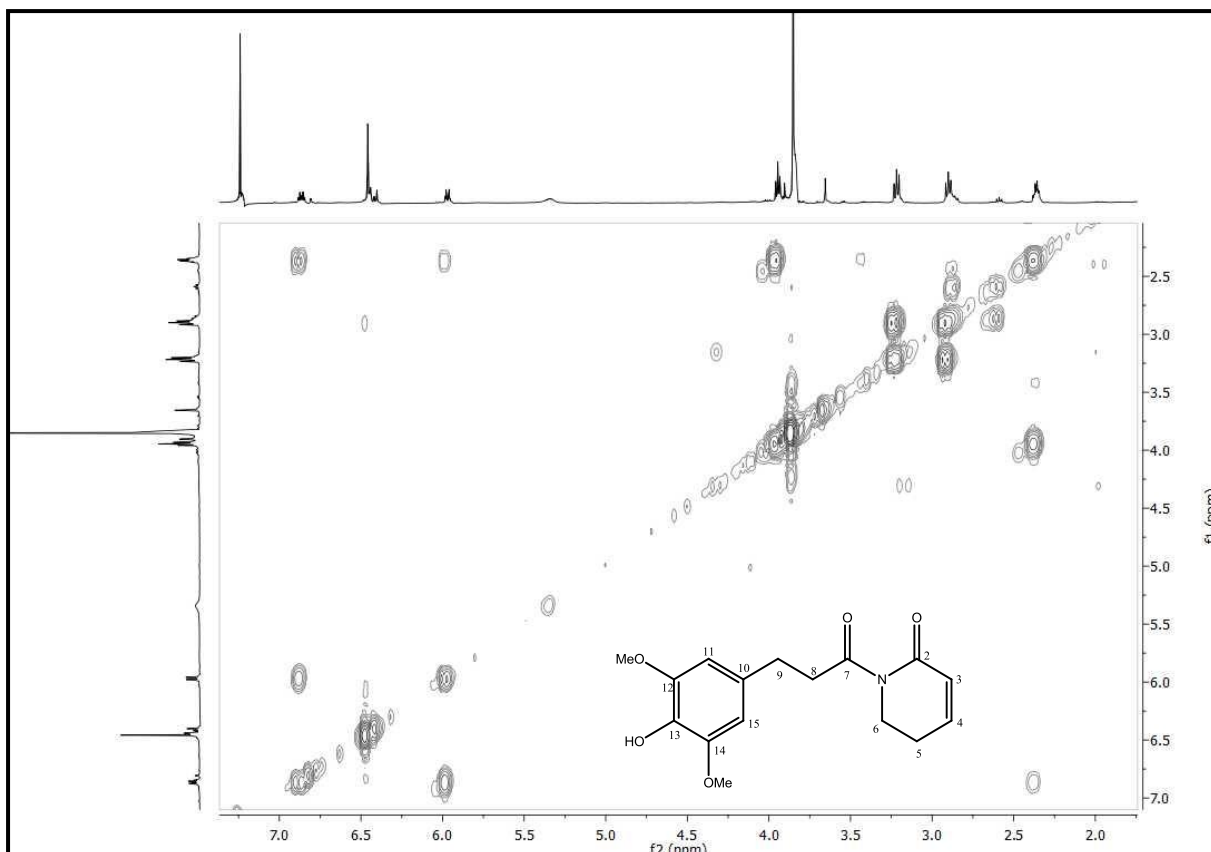


Figura 98: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 1,8-7,2) de Pa-9

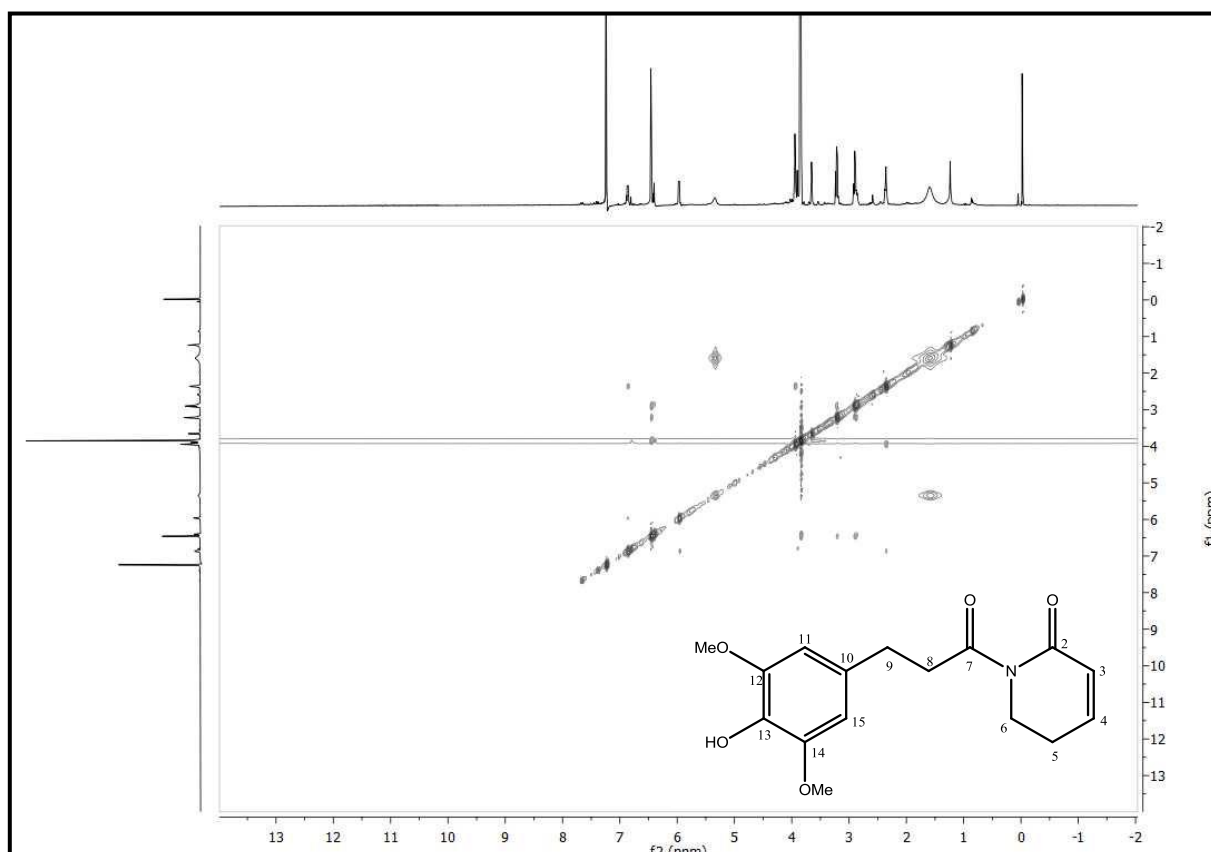


Figura 99: Espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-9

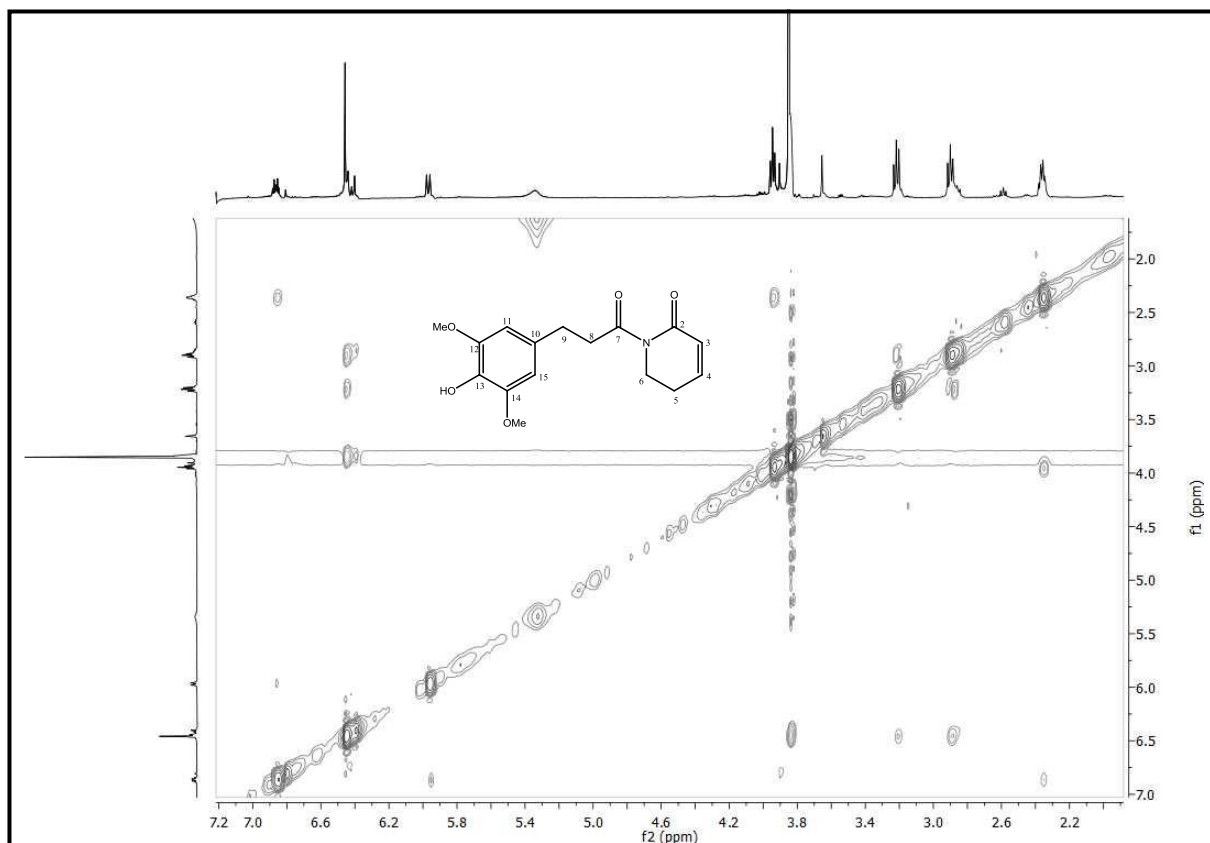


Figura 100: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz, δ_{H} 2,2-7,2) de Pa-9

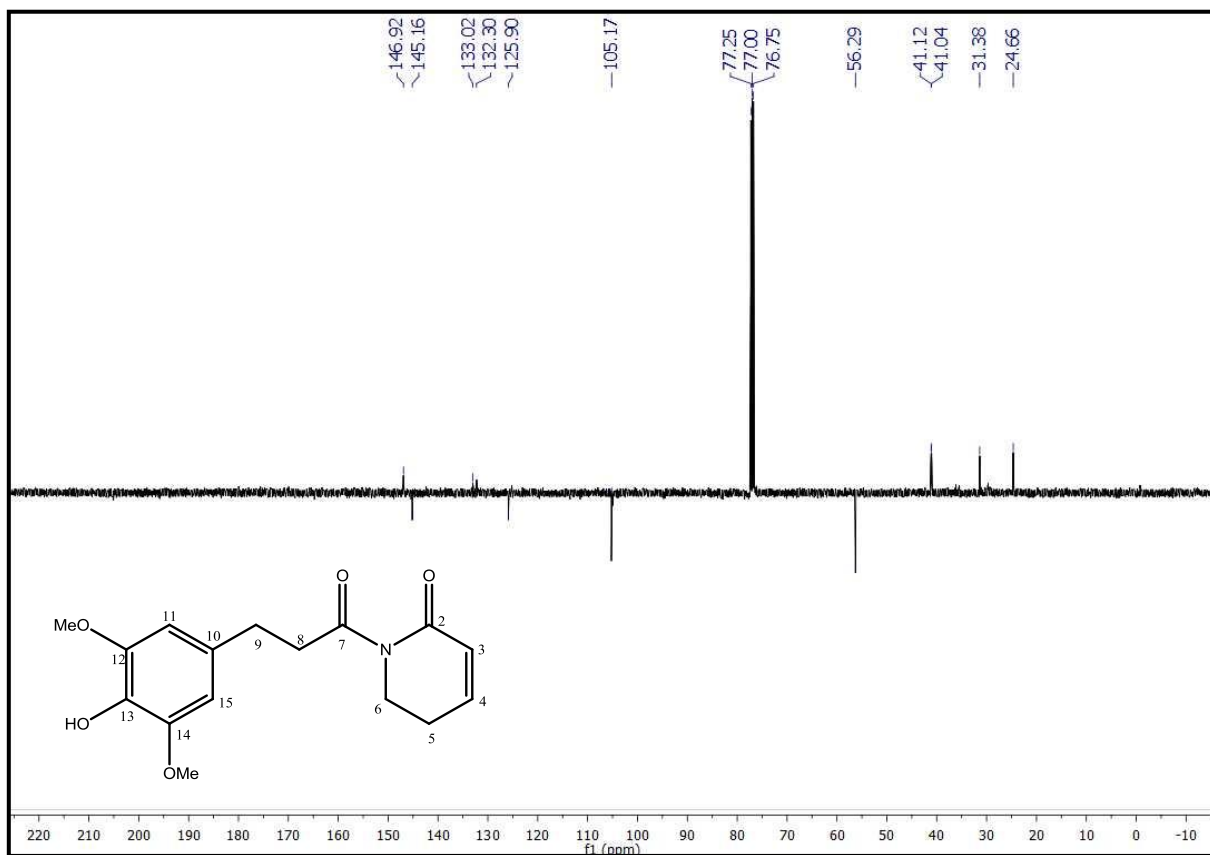


Figura 101: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-9

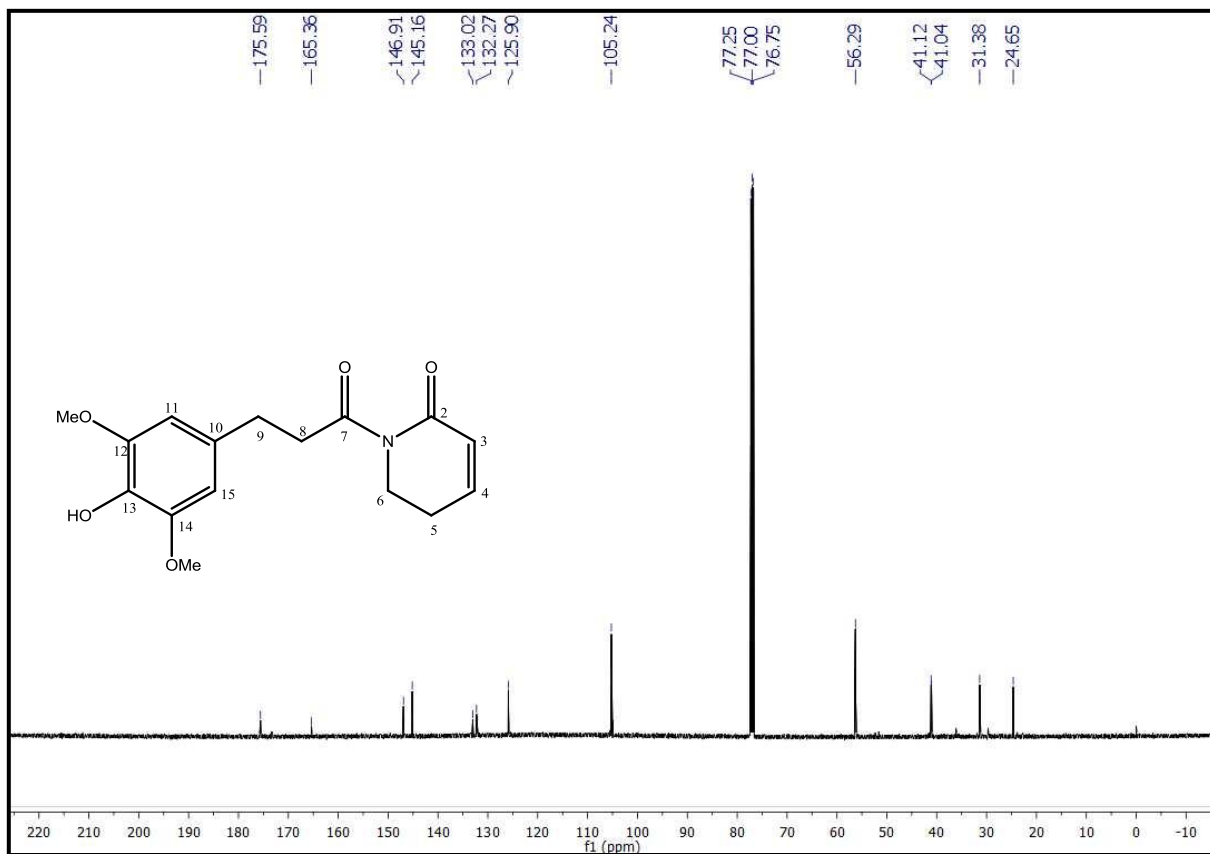


Figura 102: Espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-9

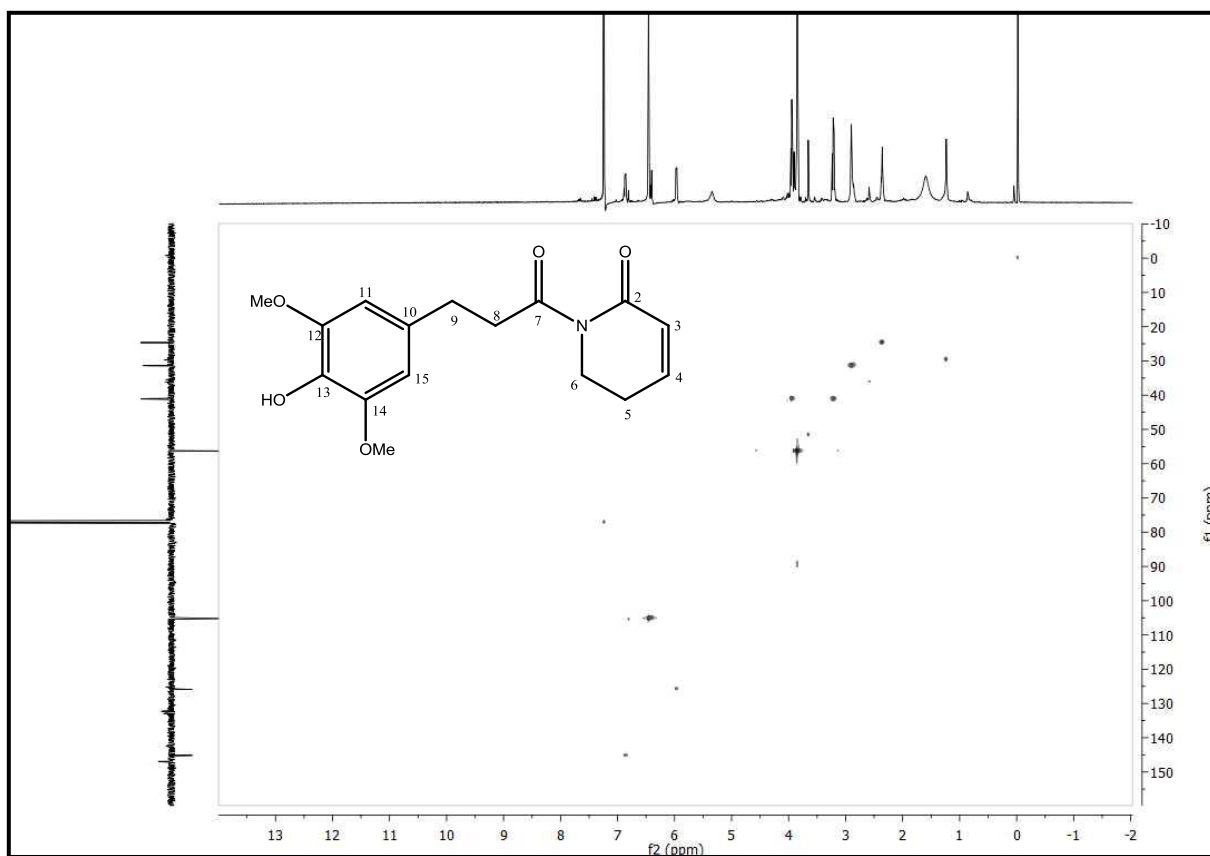


Figura 103: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz,) de Pa-9

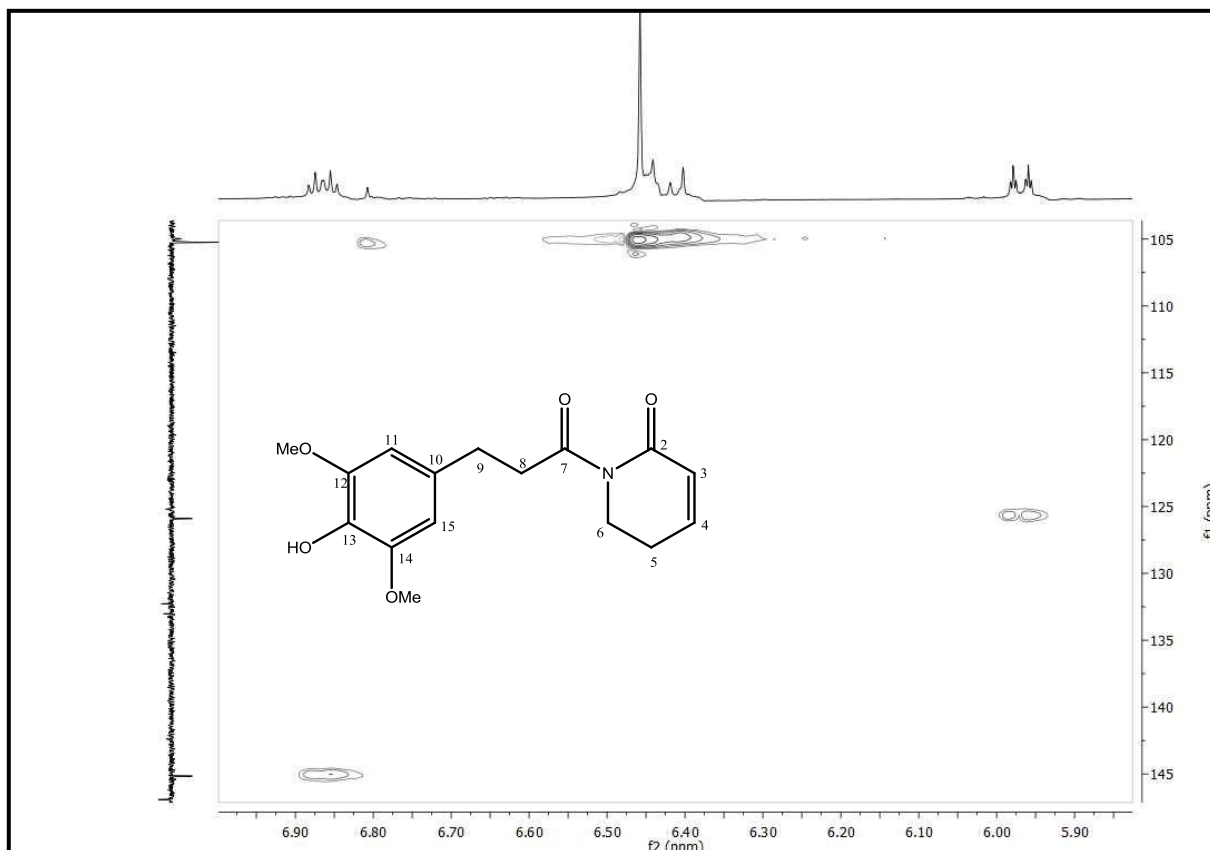


Figura 104: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 5,8-7,0) de Pa-9

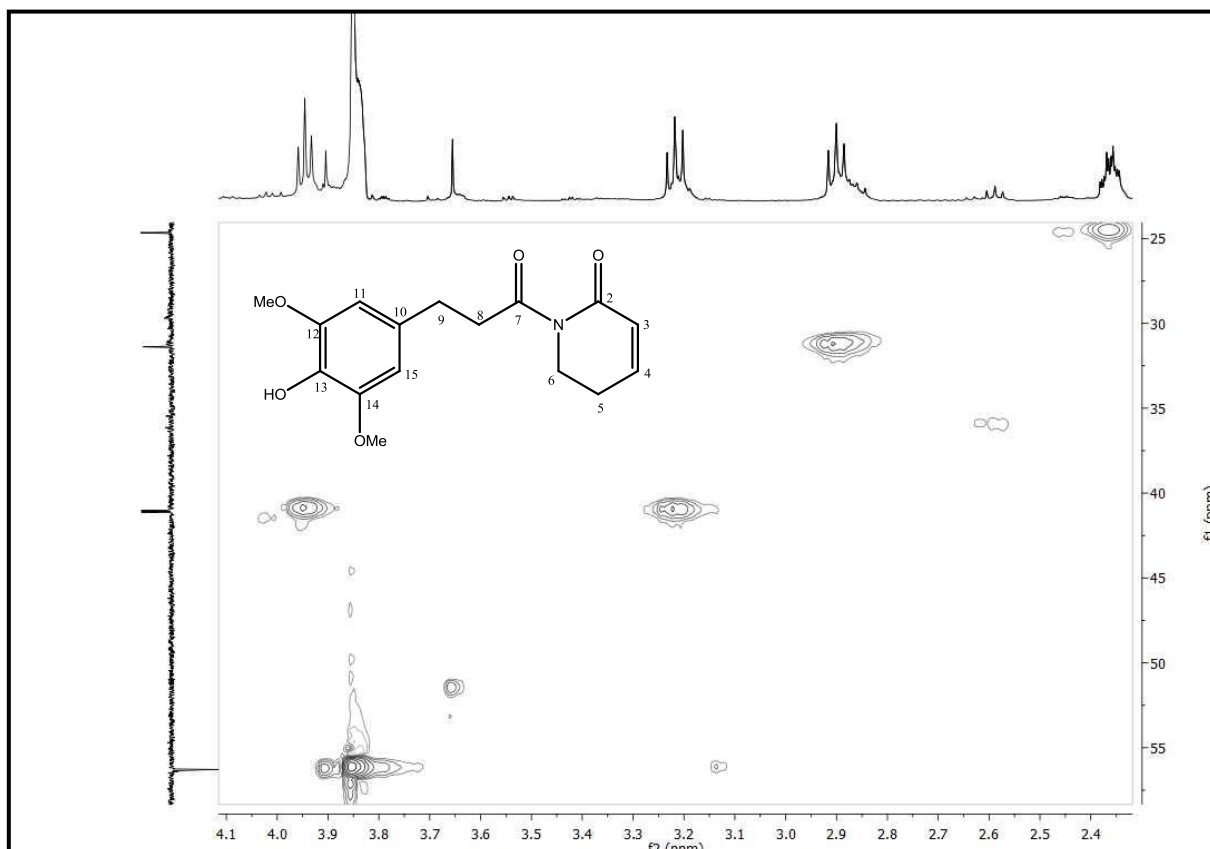


Figura 105: Expansão do Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 2,3-4,1) de Pa-9

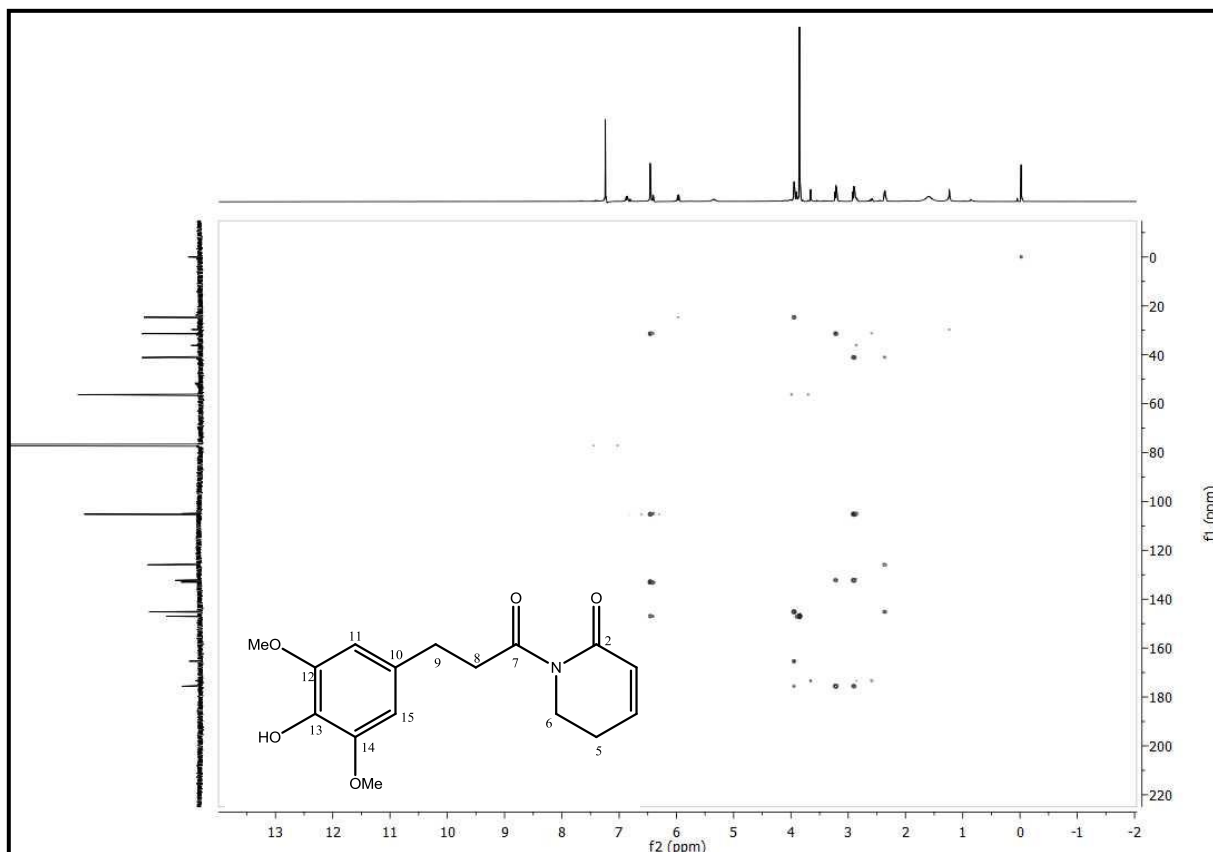


Figura 106: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-9

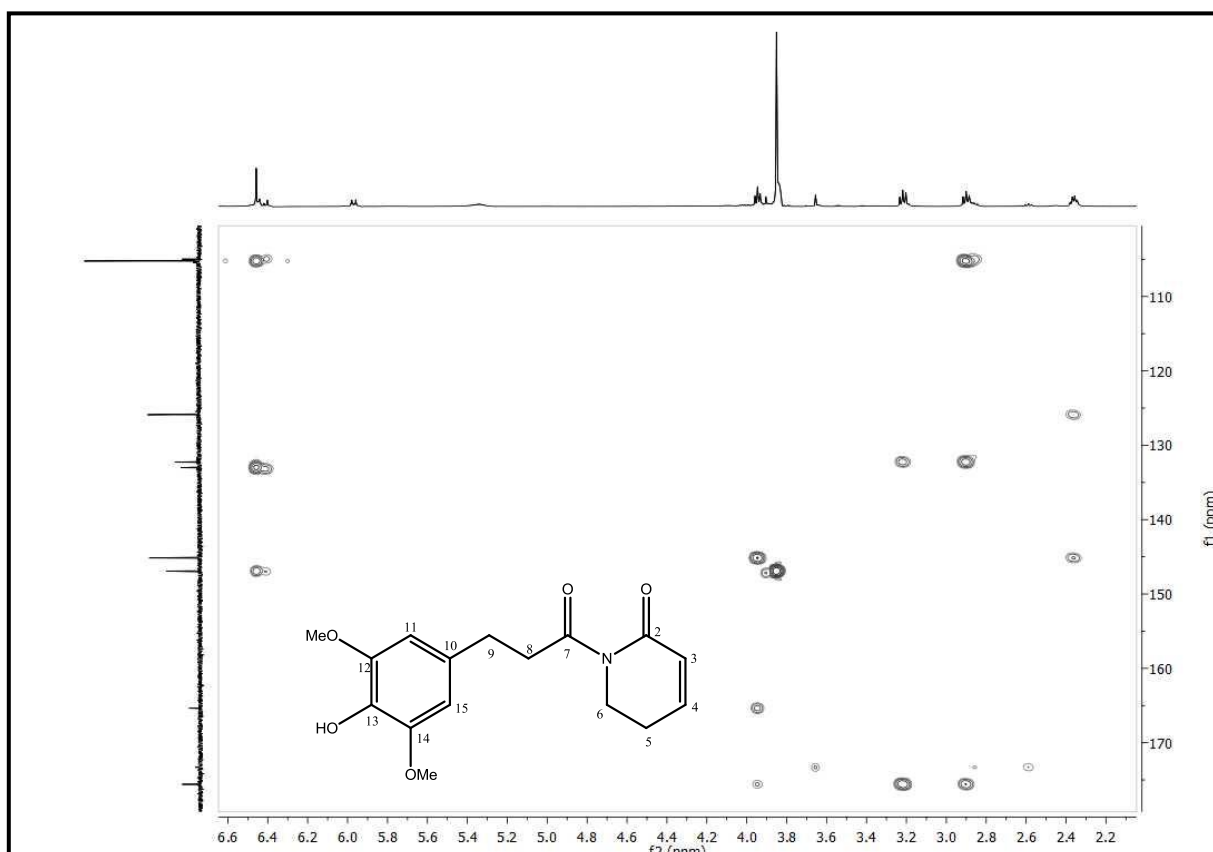


Figura 107: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 2,2-6,5) de Pa-9

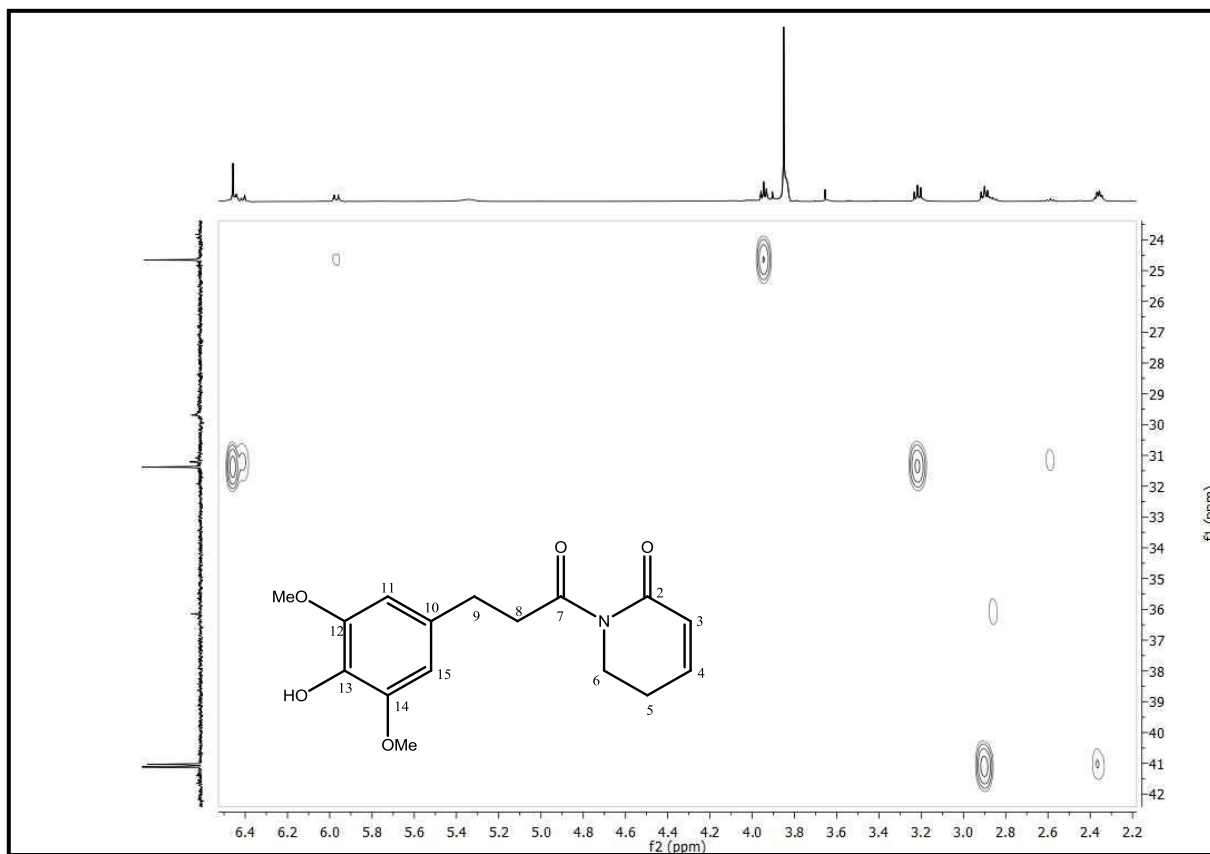


Figura 108: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 2,2-6,5) de Pa-9

5.1.9 Determinação estrutural de Pa-10

A substância codificada como Pa-10, solúvel em metanol, apresentam-se na forma de cristais brancos.

Os espectros de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) (Figura 110 a 112, p. 135 e 136) revelaram a presença de um dubleto em δ_{H} 2,15 ($J = 16,9$ e $6,8$ Hz, 1H) e um duplo dubleto em δ_{H} 2,50 ($J=16,9$ Hz, 1H) característico de hidrogênios metilênicos com acoplamento geminal, atribuídos a H-2a e H-2b. Também foi observada a presença de uma hidroxila indicada pelo sinal hidroximetínico em δ_{H} 4,31 (dd, $J = 3,2$ e $6,2$ Hz, 1H), assinalados para as posições H-10/H9'.

Ainda neste espectro foi observada a presença de quatro metilas representadas pelos singletos em δ_{H} 1,91, δ_{H} 1,03 e δ_{H} 1,01 e um dupleto em 1,23 (d, $J = 6,4$ Hz), ambos integrando para três hidrogênios, atribuídos para as posições H-12/H-11', H-13/H-12', H-14/H-13' e H-11/H-10', respectivamente.

Nos espectros de RMN ^{13}C (CD_3OD , 50 MHz) (Figura 113 e 114, p. 136 e 137) demonstraram a presença de 12 sinais para 21 carbonos, sendo 3 sinais para 5 carbonos não hidrogenados: δ_{C} 201,2 (C-4), δ_{C} 167,5 (C-5/C-4') e δ_{C} 42,4 (C-3/C-3'), 4 sinais para 8 carbonos metínicos: δ_{C} 136,9 (C-9/8'), δ_{C} 129,9 (C-8/7'), δ_{C} 127,1 (C-6/5') e δ_{C} 68,6 (C-10/9'), um sinal para 2 carbonos metilênicos: δ_{C} 50,7 (C-2/2') e 4 sinais para 8 carbonos metílicos em δ_{C} 24,5 (C-14/13'), δ_{C} 23,8 (C-11/10'), δ_{C} 23,5 (C-13/12') e δ_{C} 19,6 (C-12/11').

A análise espectral de RMN ^1H e ^{13}C de Pa-01 e comparação realizada com modelo da literatura (SILVA, et al., 2002) (Tabela 17, p. 134) tornou possível identificar a substância como sendo a Arboreumina (Figura 109, p. 133), cuja presença foi observadas apenas nas folhas da espécie em estudo. A Arboreumina demonstrou atividade antifúngica contra a espécie *Cladosporium sphaerospermum* (SILVA et al., 2002).

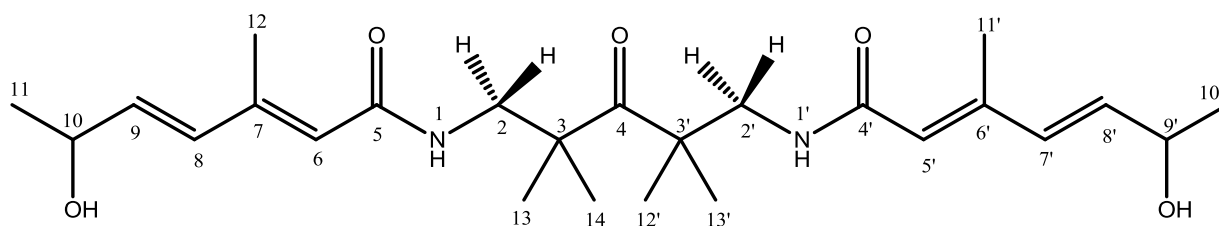


Figura 109: Arboreumina

Tabela 17: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-10 com modelo

Posição	Pa-10 (CD ₃ OD, 200/50 MHz)		Modelo-Literatura (CDCl ₃ , 500/125 MHz)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1, 1'				2,80 (s, 1H)
2a, 2'a	50,7	2,15 (d, J = 16,9 Hz, 1H)	49,5	2,15 (d, J = 17,0 Hz, 1H)
2b, 2'b		2,50 (dd, J = 16,9 e 6,5 Hz, 1H)		2,37 (d, J = 17,0 Hz, 1H)
3, 3'	42,4		40,9	
4	201,2		198,3	
5, 4'	167,5		163,9	
6, 5'	127,1	5,78 (s, 1H)	126,1	5,81 (q, J = 1,0 Hz, 1H)
7, 6'				
8, 7'	129,9	5,84 (d, J = 15,8 Hz, 1H)	128,6	5,70 (dd, J = 15,5 e 1,0 Hz, 1H)
9, 8'	136,9	5,84 (d, J = 15,8 Hz, 1H)	135,5	5,76 (dd, J = 15,5 e 5,0 Hz, 1H)
10, 9'	68,6	4,31 (dd, J = 3,2 e 6,2 Hz, 1H)	67,3	4,29 (dq, J = 5,0 e 6,5 Hz, 1H)
11, 10'	23,8	1,23 (d, J = 6,4 Hz, 3H)	23,4	1,20 (d, J = 6,5 Hz, 3H)
12, 11'	19,6	1,91 (s, 3H)	19,0	1,83 (s, 3H)
13, 12'	23,5	1,03 (s, 3H)	22,7	1,00 (s, 3H)
14, 13'	24,5	1,01 (s, 3H)	23,8	0,95 (s, 3H)

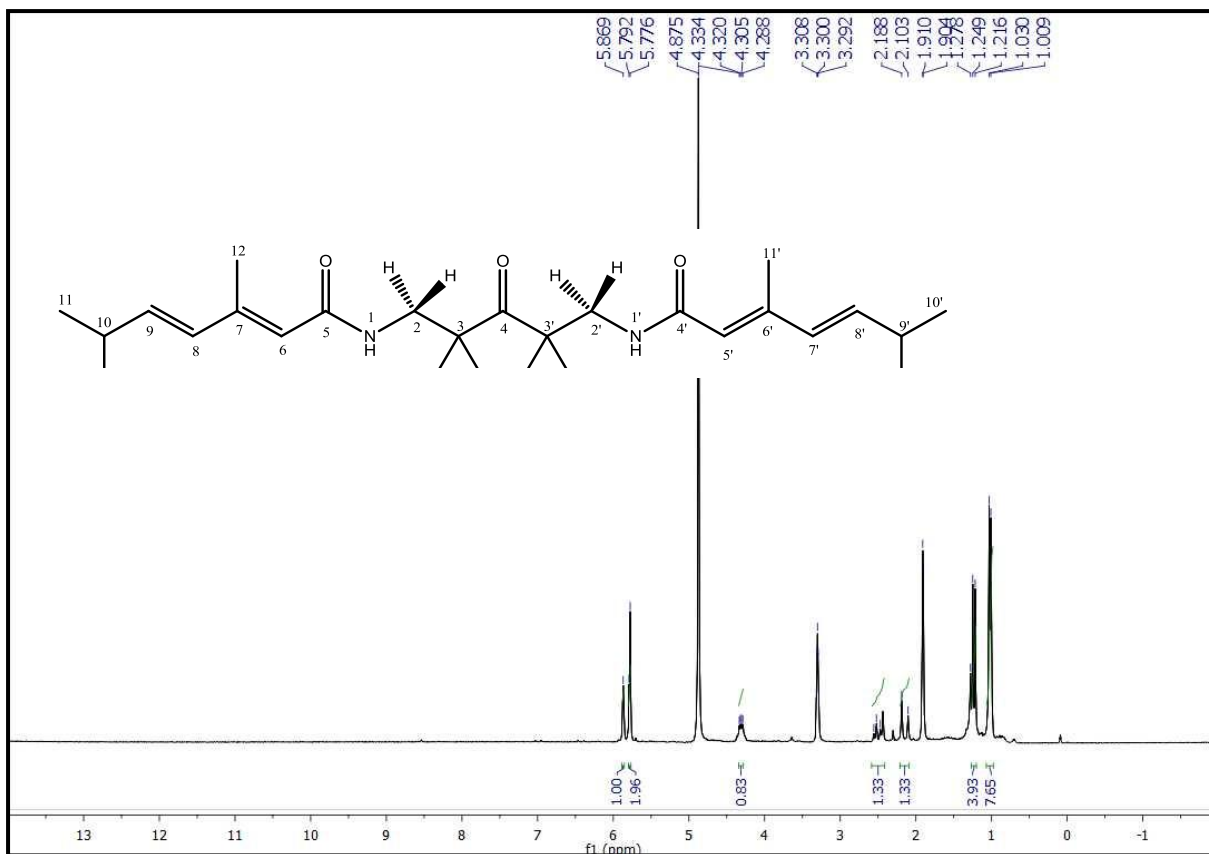


Figura 110: Espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) de Pa-10

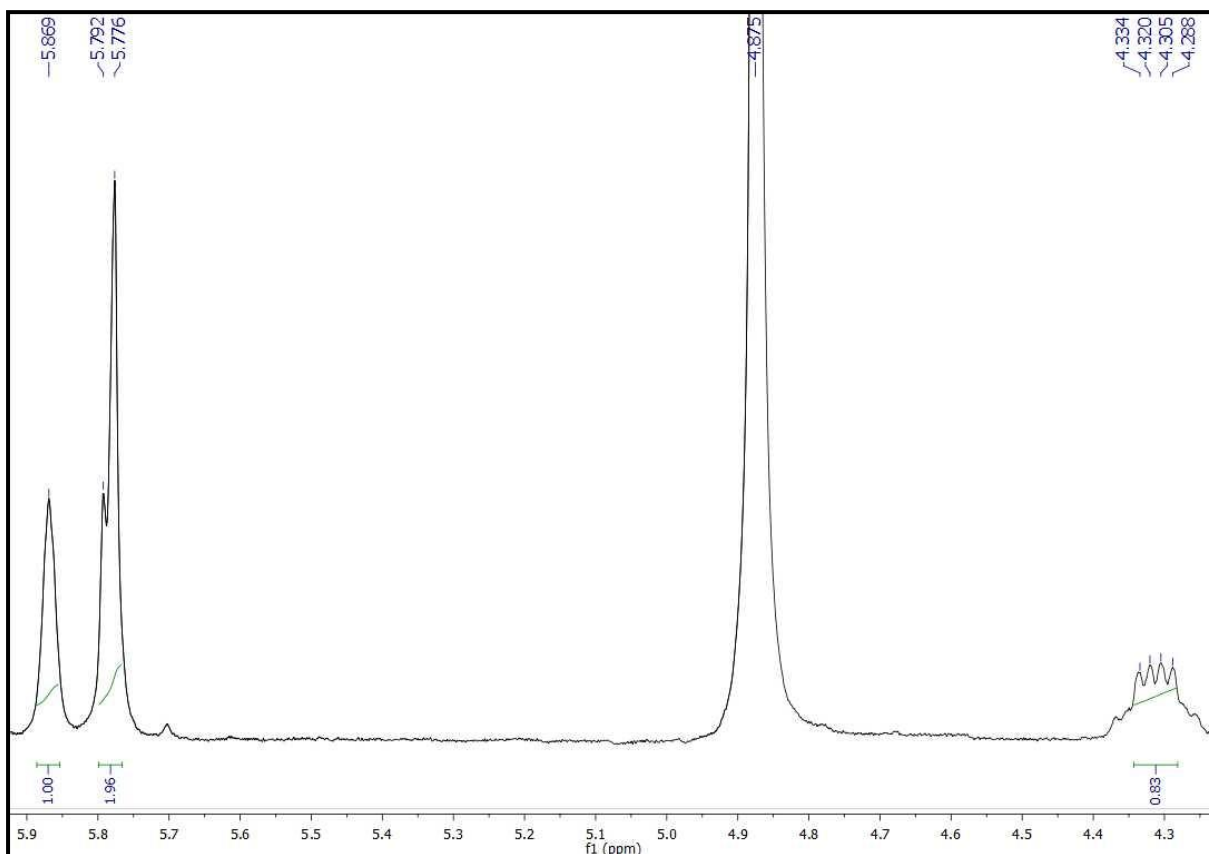


Figura 111: Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz, δH 4,3-5,9) de Pa-10

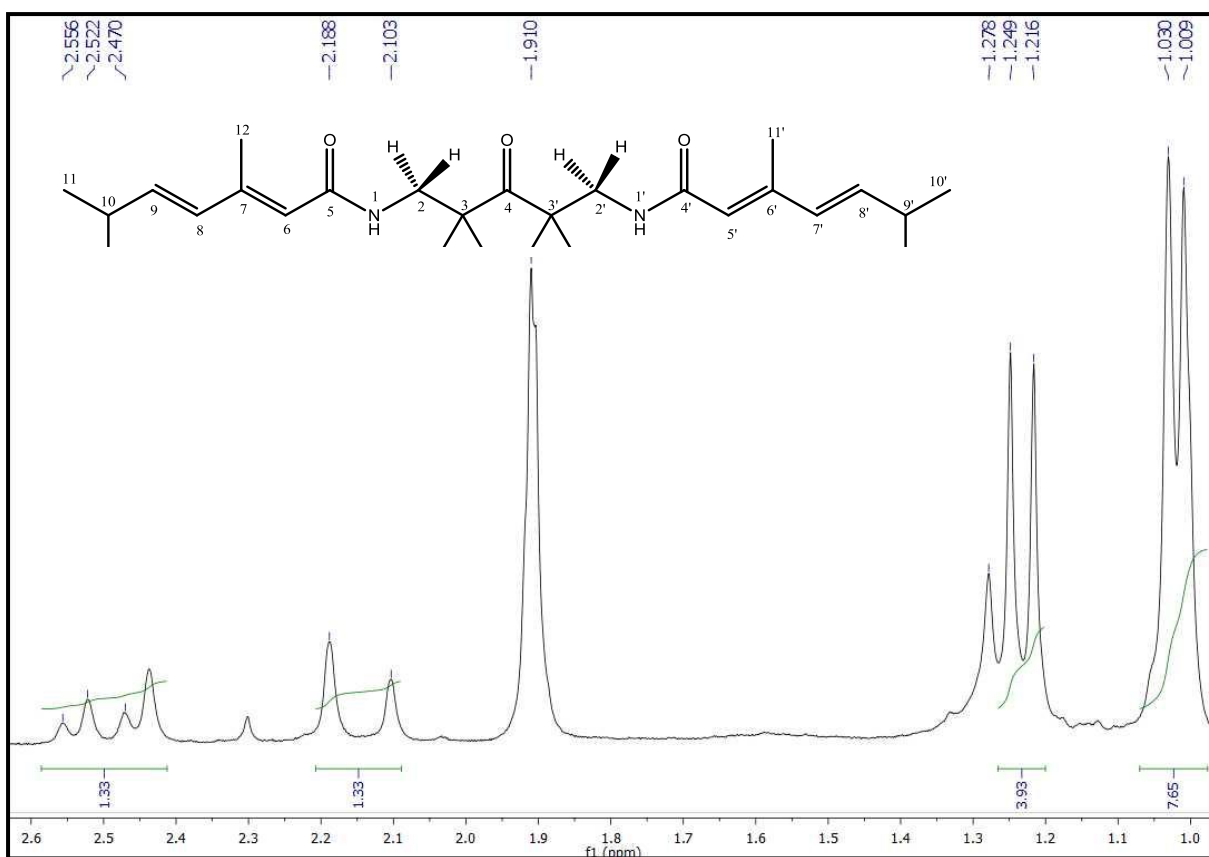


Figura 112: Expansão do espectro de RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz, δH 1,0-2,6) de Pa-10

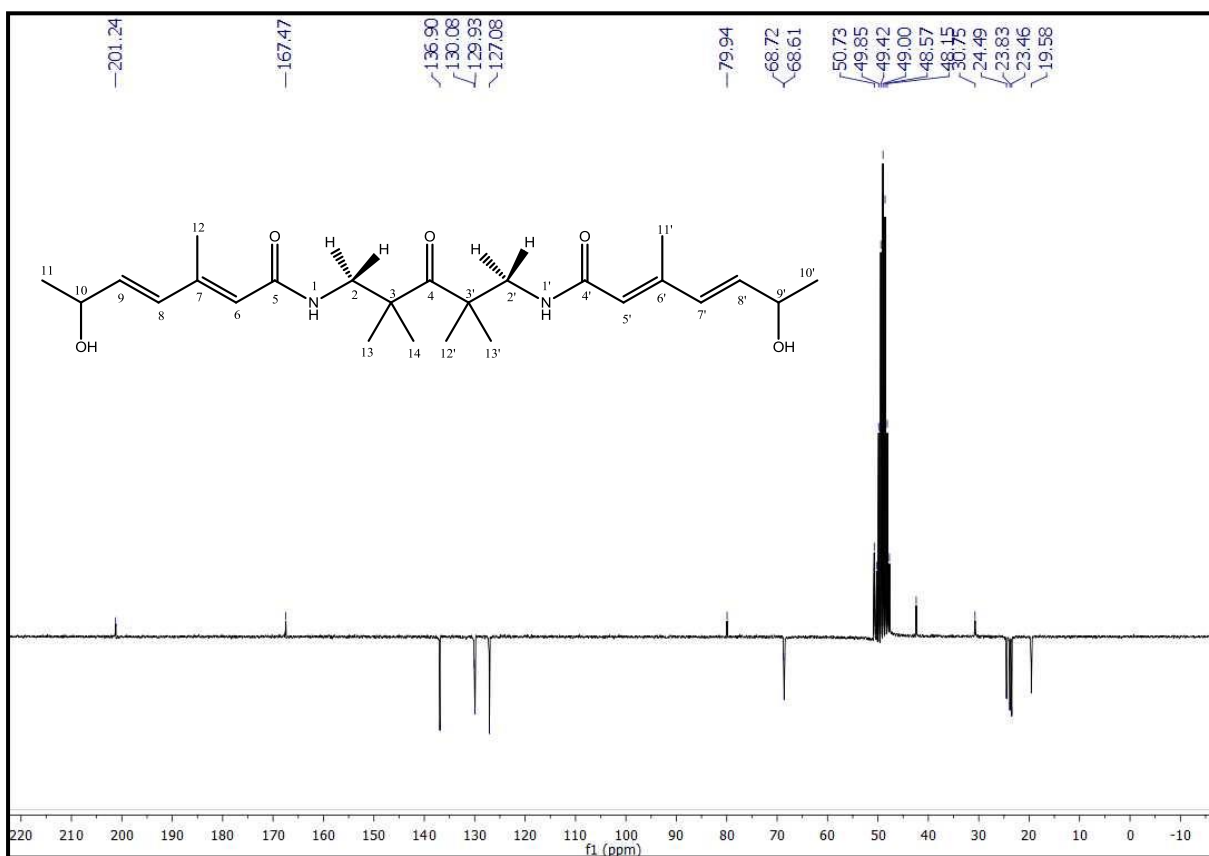


Figura 113: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD , 200 MHz) de Pa-10

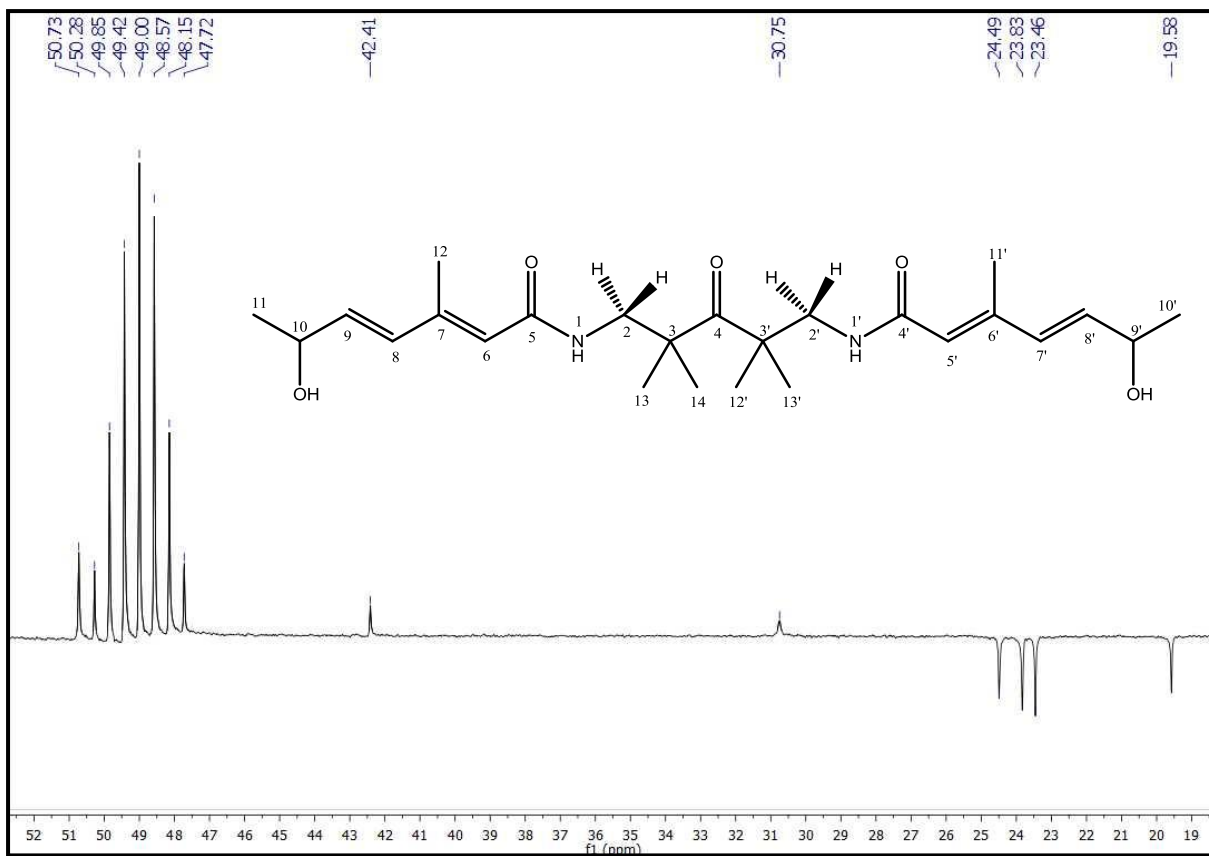


Figura 114: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CD_3OD , 200 MHz, δC 18,0-53,0) de Pa-10

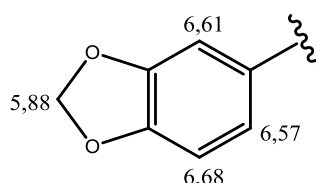
5.1.10 Determinação estrutural de Pa-11

A substância codificada como Pa-11 apresentou-se como sólido amorfo amarelo, solúvel em clorofórmio.

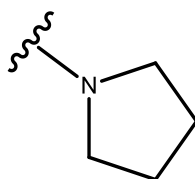
O espectro de massas obtido por ESI positivo (ION TRAP) (Figura 116, p. 142) mostrou um pico em m/z 299,9 $[M+H]^+$, correspondente a fórmula molecular $C_{18}H_{21}O_3N$.

O espectro de IV de Pa-11 (Figura 117, p. 142) mostrou uma absorção em 1634 cm^{-1} característica de estiramento de carbonila, a qual juntamente com uma banda de estiramento C-N em 1388 cm^{-1} , permitiu inferir a presença de um grupo amídico na molécula. Uma banda em 1246 cm^{-1} foi inferida a estiramento de C-O de éter. A existência de anel aromático foi evidenciada pelas bandas de absorções em 1489 e 1502 cm^{-1} , atribuídas a estiramento de C=C de aromático.

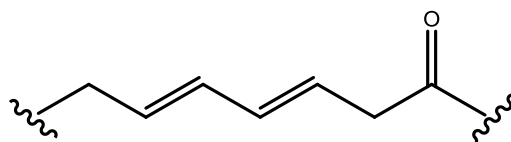
Os espectros de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 118 a 120, p. 143 e 144), mostraram na região de hidrogênios aromáticos um duplo dubleto em δ_{H} 6,57 (dd, $J = 8,0$ e $1,5$ Hz, 1H) acoplando *orto* com o dubleto em δ_{H} 6,68 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) e *meta* com o dubleto em δ_{H} 6,61 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), sinais estes característicos de um anel aromático trissubstituído. Verificou-se também um singlete em δ_{H} 5,88, integrando para dois hidrogênios, o que permitiu inferir um substituinte metilenodíoxi para o anel aromático.



Ainda no espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz), na região de hidrogênios alifáticos (Figura 120, p. 144), observou-se sinais característicos de anel pirrolidínico: δ_{H} 3,41 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H), δ_{H} 3,38 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H), δ_{H} 1,90 (quin, $J = 7,0$ Hz, 2H) e δ_{H} 1,80 (quin, $J = 7,0$ Hz, 2H) (SILVA, et al., 2002).



Além destes sinais também foi possível observar: $\delta_{\text{H}} 6,05$ (m, 1H), $\delta_{\text{H}} 6,03$ (m, 1H), $\delta_{\text{H}} 5,71$ (dd, $J = 7,0$ e $14,5$ Hz, 1H), $\delta_{\text{H}} 5,66$ (dd, $J = 7,0$ e $14,5$ Hz, 1H), $\delta_{\text{H}} 3,27$ (d, $J = 7,0$ Hz) e $\delta_{\text{H}} 3,05$ (d, $J = 7,0$ Hz) (Figura 119 e 120, p. 143 e 144), os quais no espectro homonuclear COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 121 e 122, p. 144 e 145), apresentaram correlações cruzadas: $\delta_{\text{H}} 3,27 / \delta_{\text{H}} 5,66$, $\delta_{\text{H}} 5,66 / \delta_{\text{H}} 6,03$, $\delta_{\text{H}} 6,05 / \delta_{\text{H}} 5,71$ e $\delta_{\text{H}} 5,71 / \delta_{\text{H}} 3,05$, indicando a presença de uma cadeia 8(*E*),10(*E*)-heptadienoil.



Os espectros RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) (Figura 123 a 125, p. 145 e 146) revelou 18 sinais para 18 carbonos. Sendo 4 para carbonos não hidrogenados: ($\delta_{\text{C}} 169,4$, $\delta_{\text{C}} 147,5$, $\delta_{\text{C}} 145,7$ e $\delta_{\text{C}} 133,9$), 7 para carbonos metínicos ($\delta_{\text{C}} 132,8$, $\delta_{\text{C}} 132,1$, $\delta_{\text{C}} 130,8$, $\delta_{\text{C}} 124,9$, $\delta_{\text{C}} 121,2$, $\delta_{\text{C}} 109,0$ e $\delta_{\text{C}} 108,1$) e 7 carbonos metilênicos ($\delta_{\text{C}} 100,7$, $\delta_{\text{C}} 46,6$, $\delta_{\text{C}} 45,7$, $\delta_{\text{C}} 39,0$, $\delta_{\text{C}} 38,5$, $\delta_{\text{C}} 26,0$ e $\delta_{\text{C}} 24,3$).

No espectro de correlação heteronuclear HMQC (CDCl_3 , 500/125 MHz) (Figura 126 a Figura 128, p. 147 e 148) observa-se as seguintes correlações: $\delta_{\text{H}} 5,88 / \delta_{\text{C}} 100,7$; $\delta_{\text{H}} 6,61 / \delta_{\text{C}} 109,0$; $\delta_{\text{H}} 6,68 / \delta_{\text{C}} 108,1$ e $\delta_{\text{H}} 6,57 / \delta_{\text{C}} 121,2$, podendo sugerir os sinais de carbono em $\delta_{\text{C}} 109,0$; $\delta_{\text{C}} 108,1$ e $\delta_{\text{C}} 121,2$ para as posições C-14, C-17 e C-18, respectivamente e o sinal em $\delta_{\text{C}} 100,7$ para o carbono do grupo metilenodioxí.

Nos espectros de correlação heteronuclear HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz) (Figura 129 a 132, p. 148 a 150) quando observa-se as correlações, $\delta_{\text{H}} 5,88 / \delta_{\text{C}} 147,5$ e $\delta_{\text{C}} 145,7$; $\delta_{\text{H}} 6,68 / \delta_{\text{C}} 147,5$, $\delta_{\text{C}} 145,7$ e $\delta_{\text{C}} 133,9$; $\delta_{\text{H}} 6,61 / \delta_{\text{C}} 147,5$, $\delta_{\text{C}} 145,7$, $\delta_{\text{C}} 121,2$ e $\delta_{\text{C}} 38,5$ e $\delta_{\text{H}} 6,57 / \delta_{\text{C}} 145,7$, $\delta_{\text{C}} 109,0$ e $\delta_{\text{C}} 38,5$, podemos confirmam os sinais de carbono em $\delta_{\text{C}} 109,0$, $\delta_{\text{C}} 108,1$ e $\delta_{\text{C}} 121,2$ para as posições C-14, C-17 e C-18, respectivamente e inferir os sinais em $\delta_{\text{C}} 147,5$, $\delta_{\text{C}} 145,7$, $\delta_{\text{C}} 133,9$ e $\delta_{\text{C}} 38,5$ para as posições C-15, C-16, C-13 e C-12, respectivamente.

Através das seguintes correlações do HMQC (CDCl_3 , 500/125 MHz) (Figura 126 a Figura 128, p. 147 e 148): $\delta_{\text{H}} 3,41 / \delta_{\text{C}} 45,7$, $\delta_{\text{H}} 3,38 / \delta_{\text{C}} 46,6$, $\delta_{\text{H}} 1,90 / \delta_{\text{C}} 26,0$ e $\delta_{\text{H}} 1,80 / \delta_{\text{C}} 24,3$, aliada a correlação a longa distância (HMBC) (Figura 130, p. 149) dos hidrogênios em $\delta_{\text{H}} 3,41$ e $\delta_{\text{H}} 3,38$ com o sinal de carbono em $\delta_{\text{C}} 169,4$, atribuído a carbonila, foi possível confirmar que a molécula trata-se de uma amida pirrolidínica. E os sinais em $\delta_{\text{C}} 46,6$, $\delta_{\text{C}} 45,7$,

δ_C 26,0 e δ_C 24,3, podem ser atribuídos para as posições C-5, C-2, C-3 e C-4, respectivamente.

Ainda no espectro de HMQC (Figura 126 a 128, p. 147 e 148) pode-se observar as correlações dos hidrogênios da cadeia 8(*E*),10(*E*)-heptadienoil com os seus respectivos carbonos: δ_H 6,05/ δ_C 130,8, δ_H 6,03/ δ_C 132,8, δ_H 5,71/ δ_C 124,1, δ_H 5,66/ δ_C 132,1, δ_H 3,27/ δ_C 38,5, δ_H 3,05/ δ_C 39,0 e quando observa-se correlações no HMBC δ_H 3,27/ δ_C 132,1 e δ_C 130,8 sugere estes sinais para as posições C-11 e C-10, δ_H 5,66/ δ_C 38,5 e δ_C 132,8 sugere este sinal para a posição C-9, e as correlações δ_H 5,71/ δ_C 39,0 e δ_C 168,4; δ_H 3,05/ δ_C 124,9 e δ_C 169,4 pode-se assinalar os sinais em δ_C 124,9, δ_C 39,0 e δ_C 169,4 para as posições C-8, C-7 e C-6, respectivamente.

Após análise de dados espectrais de Massas, Infravermelho e RMN 1H e ^{13}C , sumarizados na Tabela 19 (p.141), este composto foi determinado como sendo o *N*-[12-(15,16-metilenedioxifenil)-8(*E*),10(*E*)-heptadienoil-pirrolidina (Figura 115, p. 141), relatado pela primeira vez na literatura.

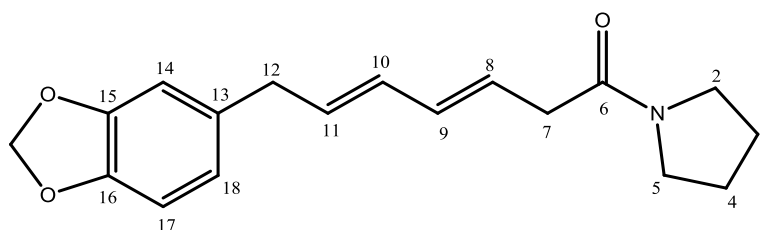


Figura 115: *N*-[12-(15,16-metilenedioxifenil)-8(*E*), 10(*E*)-heptadienoil-pirrolidina

Tabela 19: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) e ^1H x ^1H (COSY) de Pa-11 registrados em CDCl_3

Posição	HMQC (^1H x ^{13}C)		HMBC (^1H x ^{13}C)		COSY (^1H x ^1H)
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J	
2	3,41 (t, J 7,0 Hz)	45,7	C-3	C-4; C-5; C-6	H-3
3	1,90 (quin)	26,0	C-2; C-4	C-5	H-2
4	1,80 (quin)	24,3	C-3; C-5	C-4	H-5
5	3,38 (t, J 7,0 Hz)	46,6	C-4	C-2; C-3; C-6	H-4
6		169,4			
7	3,05 (d, J 7,0 Hz)	39,0	C-6; C-8	C-9	H-8
8	5,71 (dd, J 7,0 e 14,5 Hz)	124,9	C-7	C-6	H-7
9	6,03 (m)	132,8		C-7	
10	6,05 (m)	130,8		C-12	
11	5,66 (dd, J 7,0 e 14,5 Hz)	132,1	C-12	C-9	H-12
12	3,27 (d, J 7,0 Hz)	38,5	C-11; C-13	C-10; C-18	H-11
13		133,9			
14	6,61 (d, J 1,5 Hz)	109,0	C-14	C-12; C-16; C-18	
15		147,5			
16		145,7			
17	6,68 (d, J 8,0 Hz)	108,1	C-16	C-13; C-15	
18	6,57 (dd, J 8,0 e 1,5 Hz)	121,2		C-12; C-14; C-16	
OCH₂O	5,88 (s)	100,7			

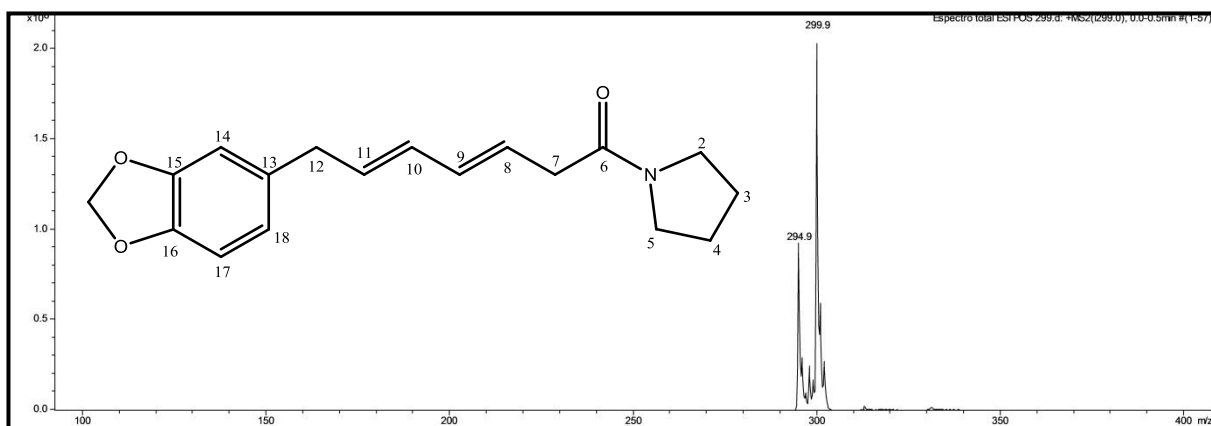
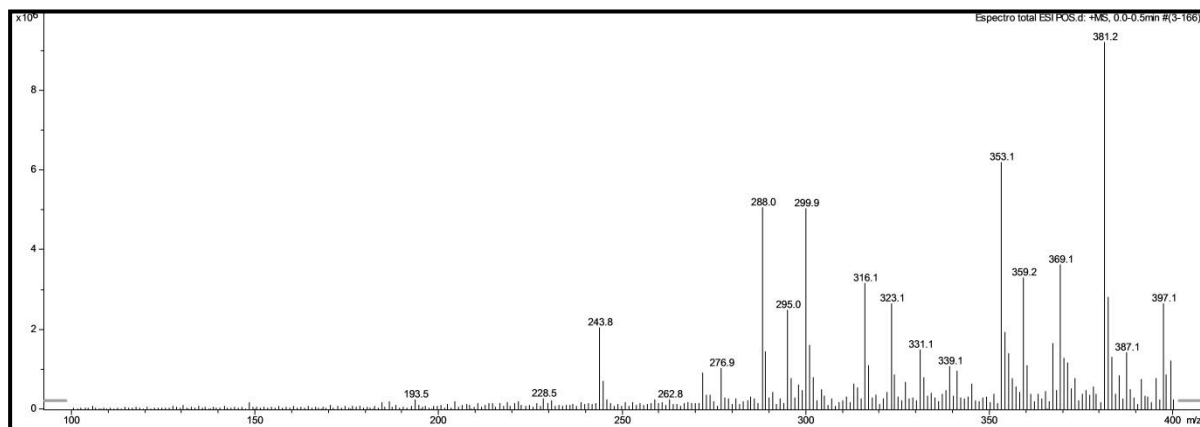


Figura 116: Espectro de massas obtido por ESI positivo (ION TRAP) de Pa-11

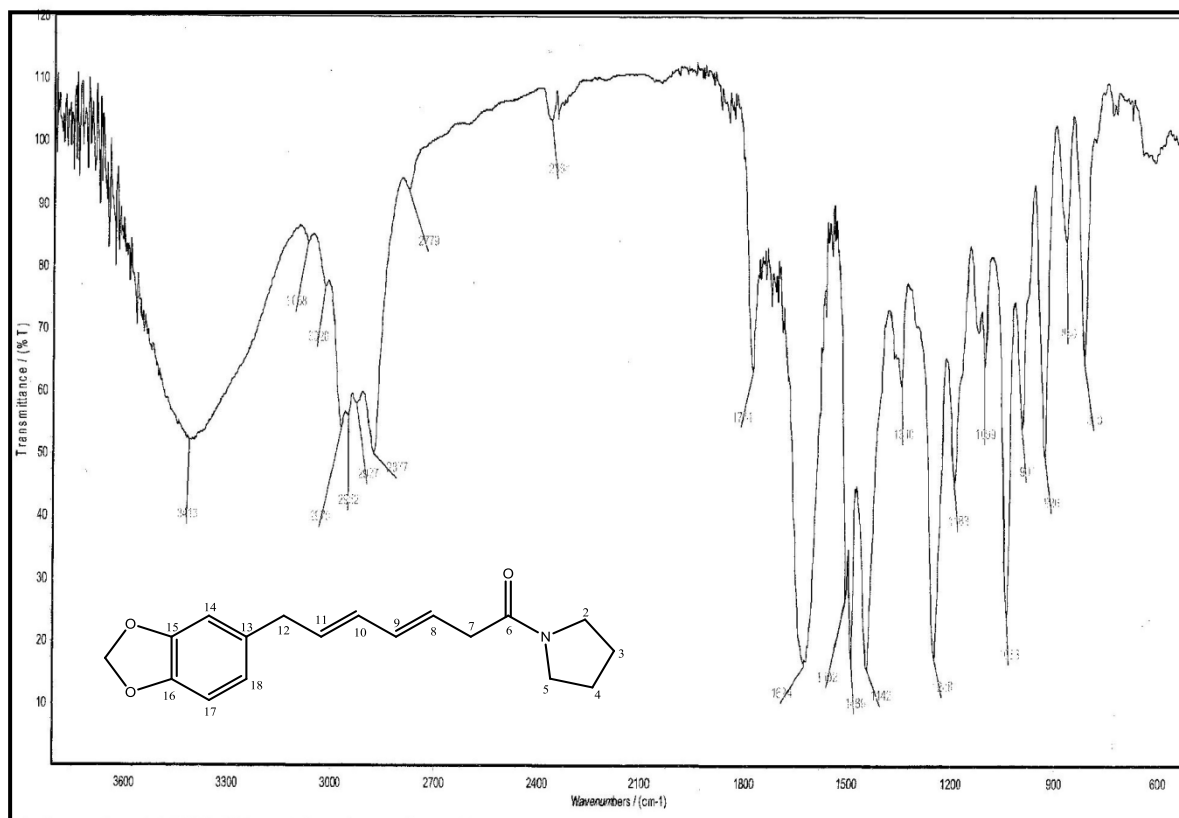


Figura 117: Espectro de IV em KBr de Pa-11

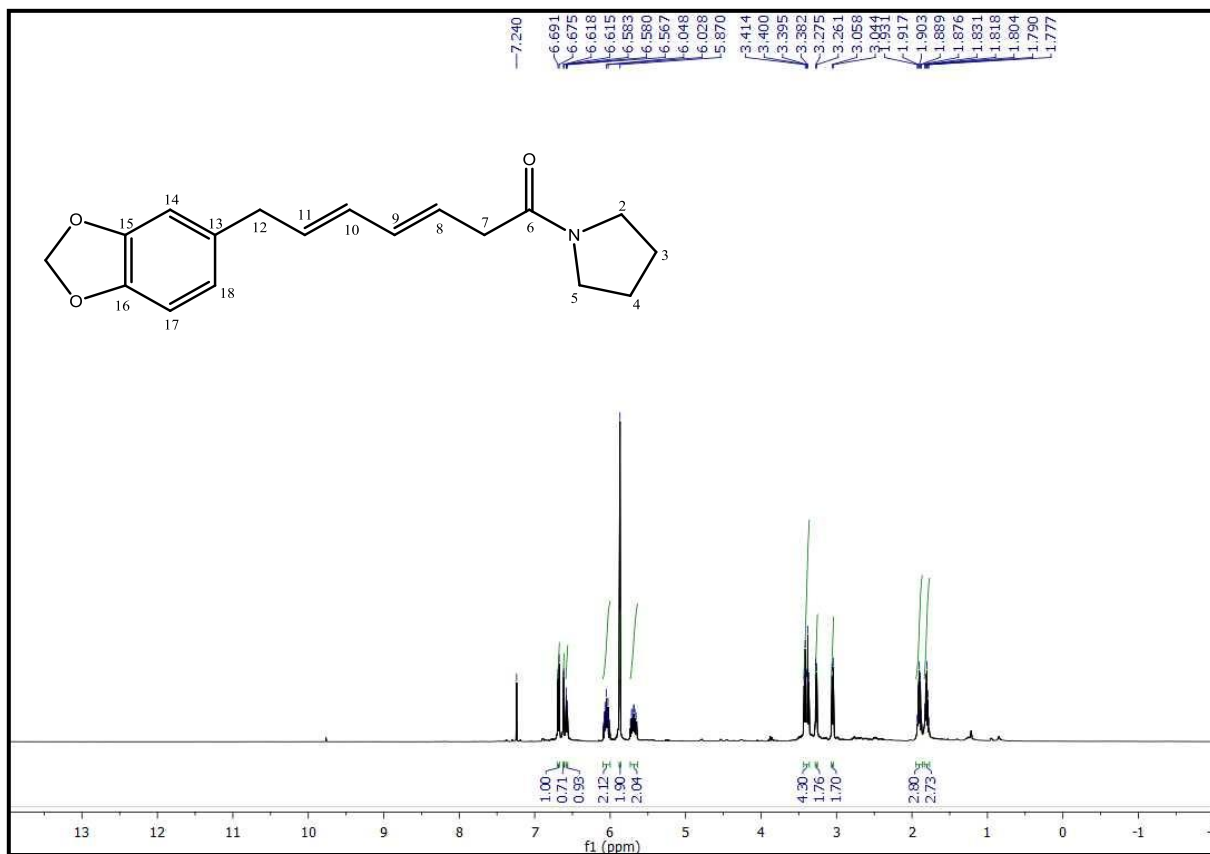


Figura 118: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-11

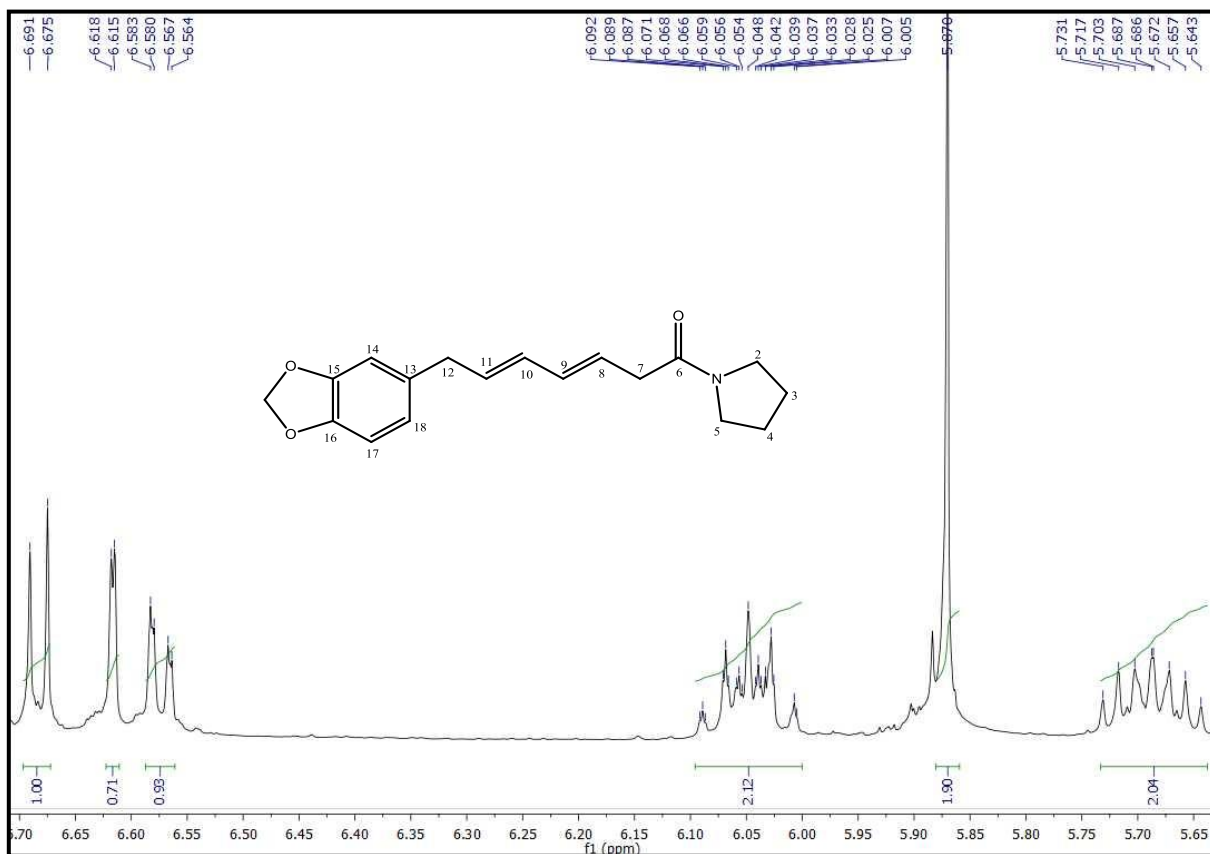


Figura 119: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δH 5,6-6,7) de Pa-11

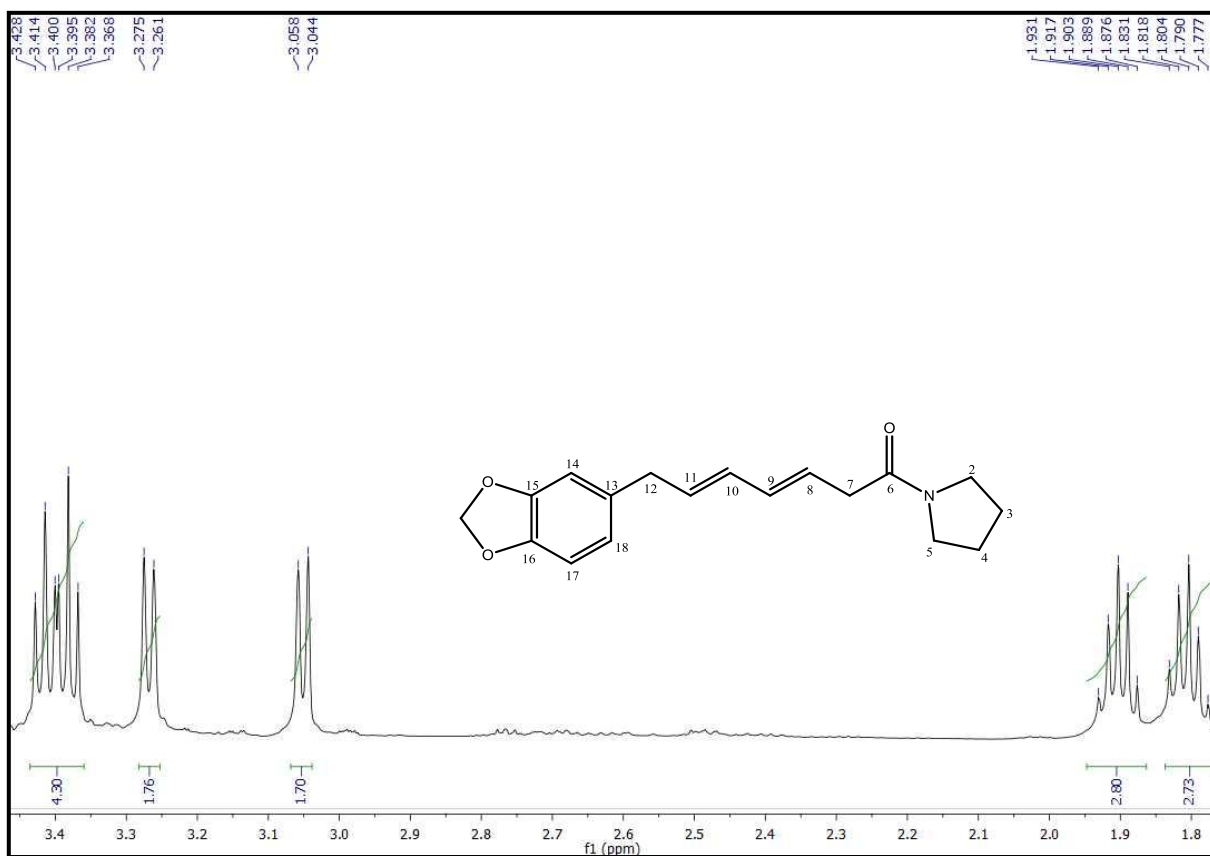


Figura 120: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δH 1,7-3,5) de Pa-11

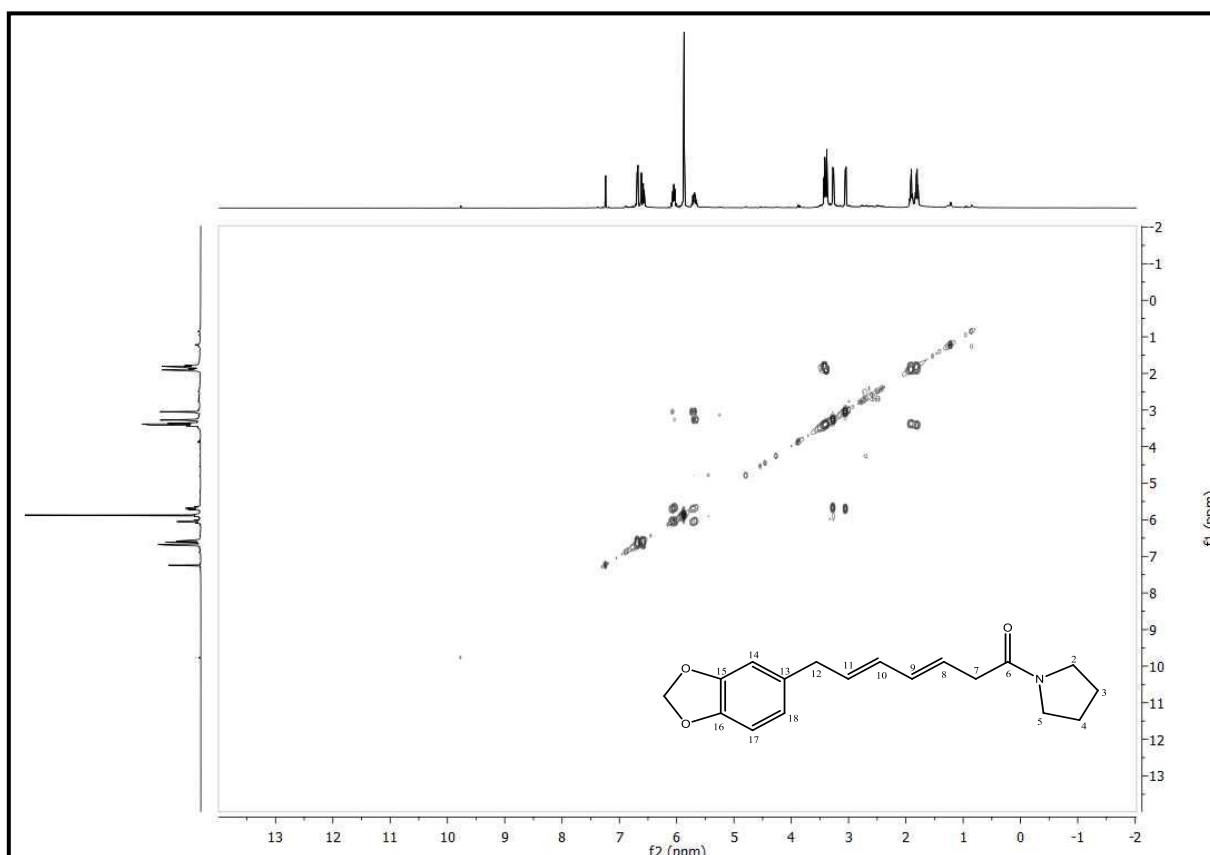


Figura 121: Espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN ^1H x ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-11

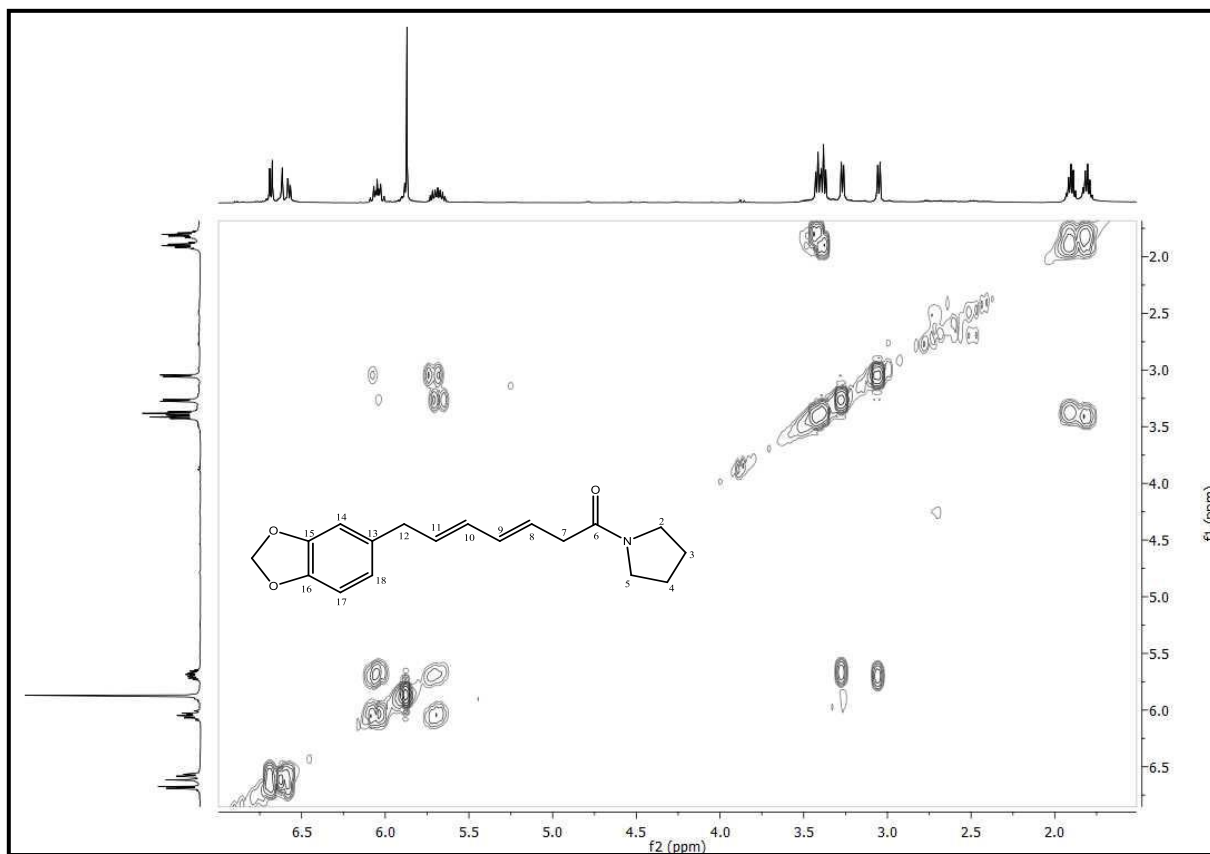


Figura 122: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear COSY RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (CDCl_3 , 500 MHz) de Pa-11

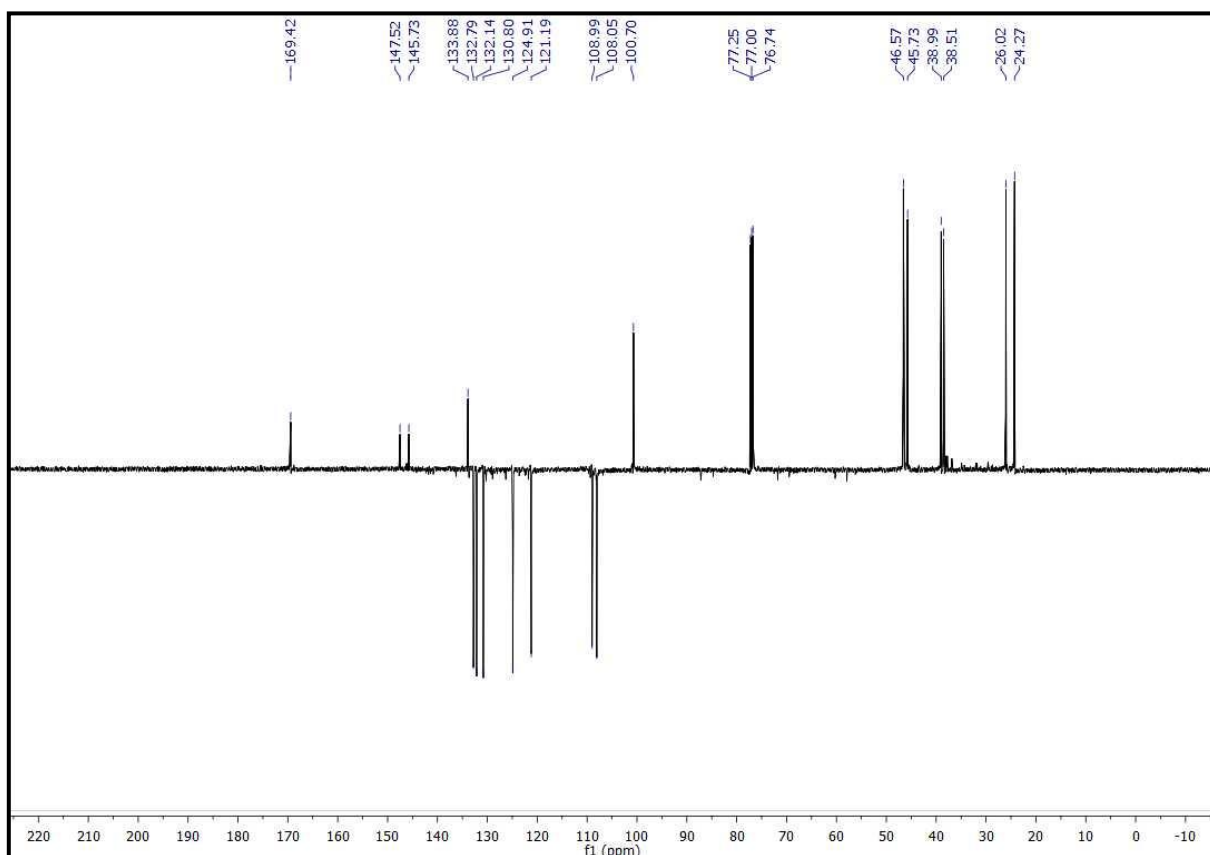


Figura 123: Espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-11

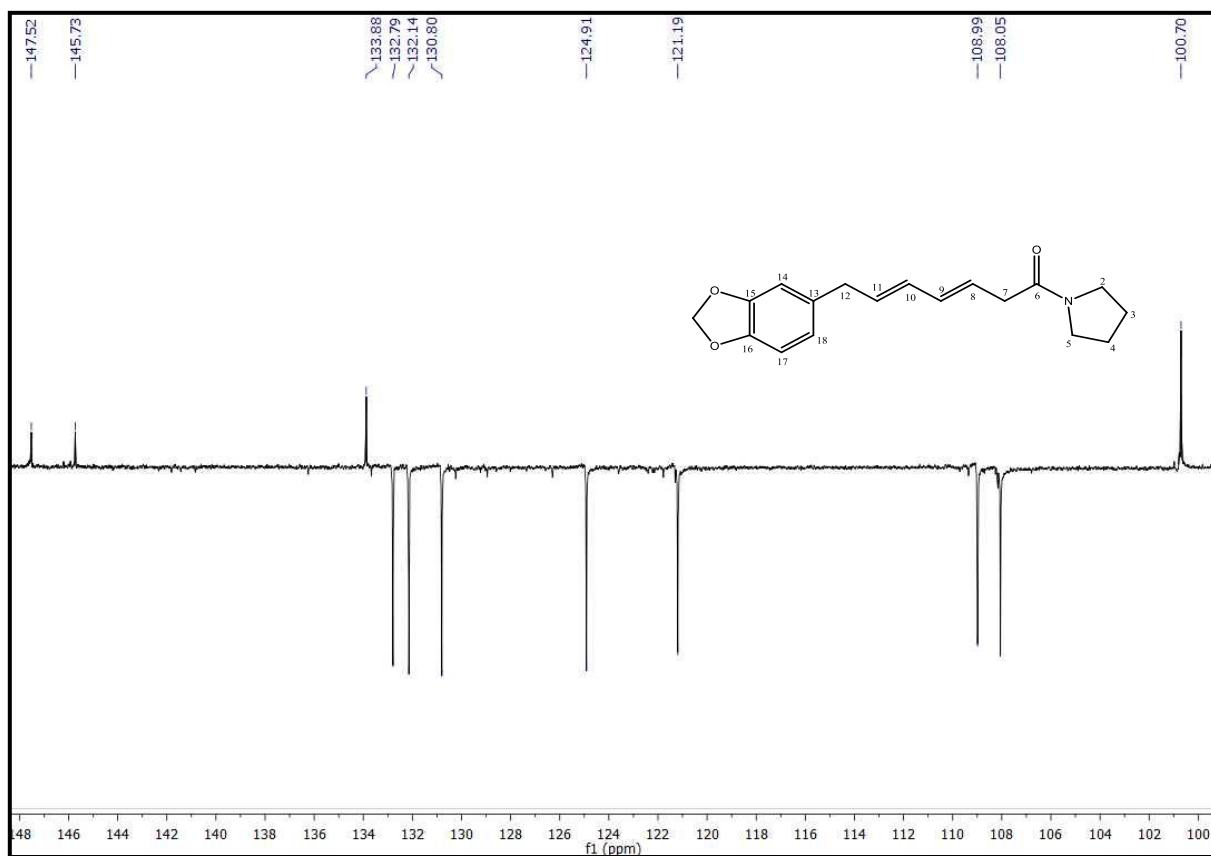


Figura 124: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δC 100,0-148,0) de Pa-11

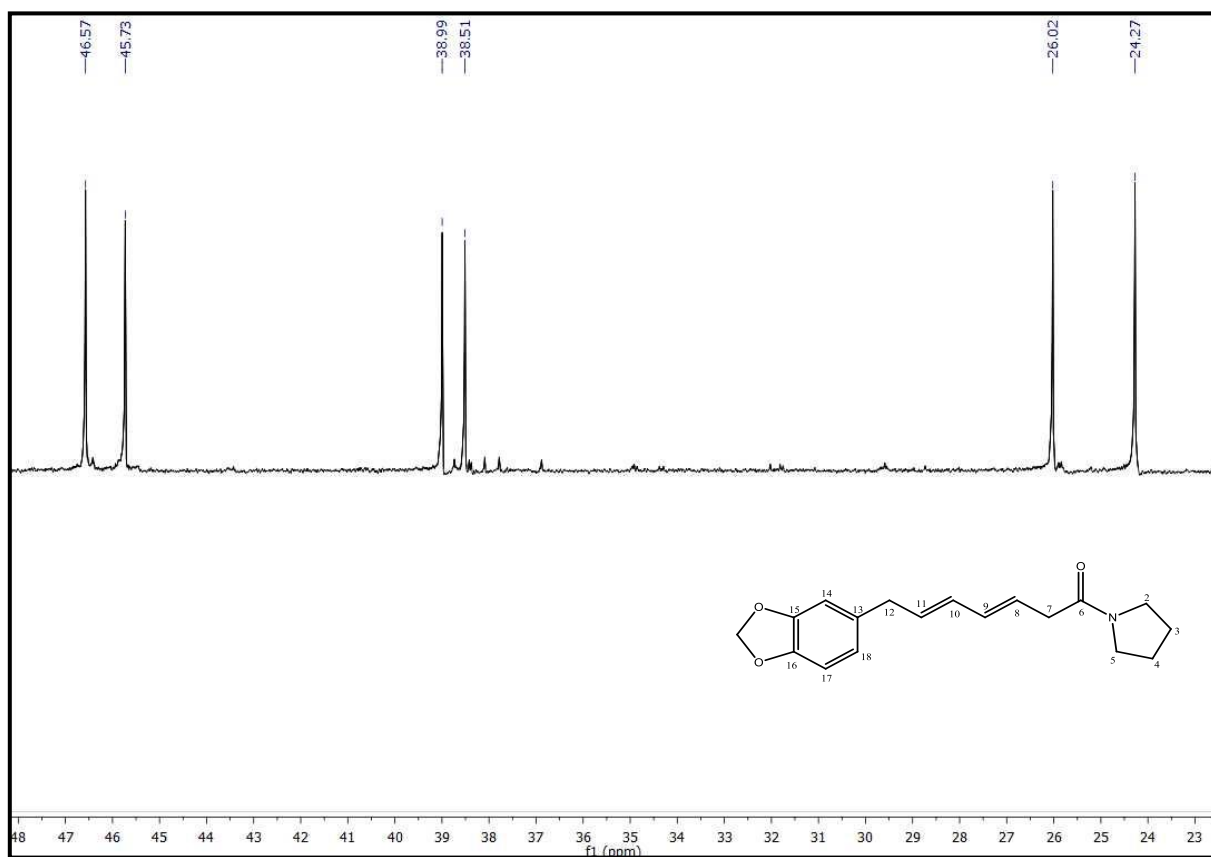


Figura 125: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz, δC 23,0-48,0) de Pa-11

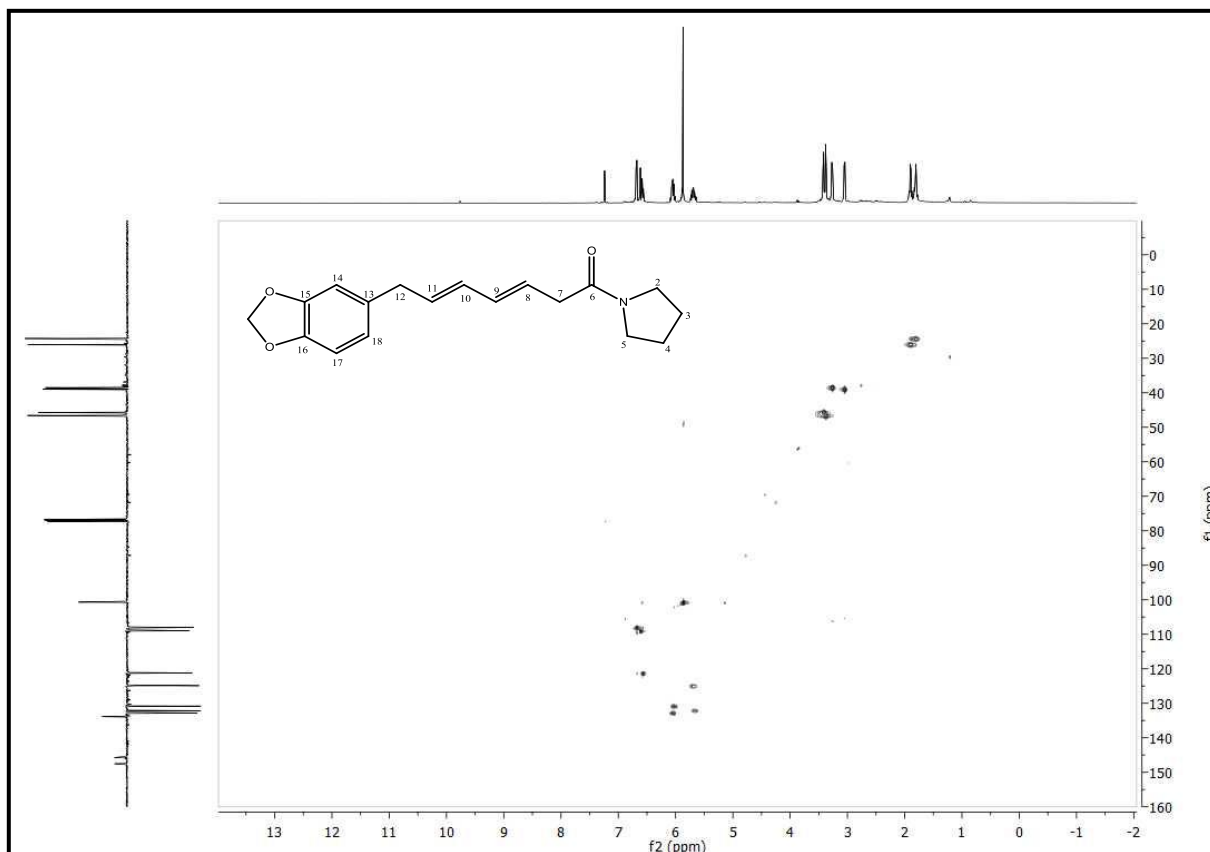


Figura 126: Espectro de Correlação Heteronuclear HMQC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-11

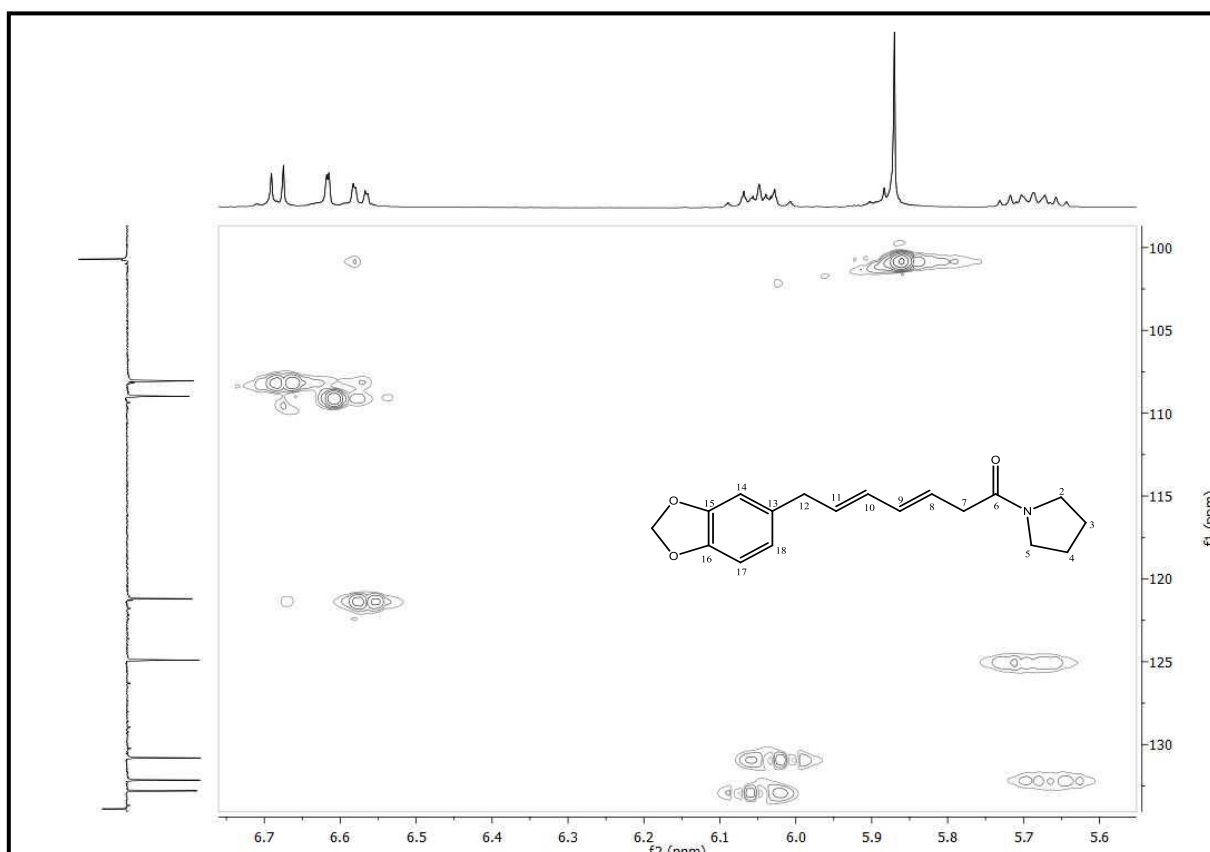


Figura 127: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δH 5,60-6,80) de Pa-11

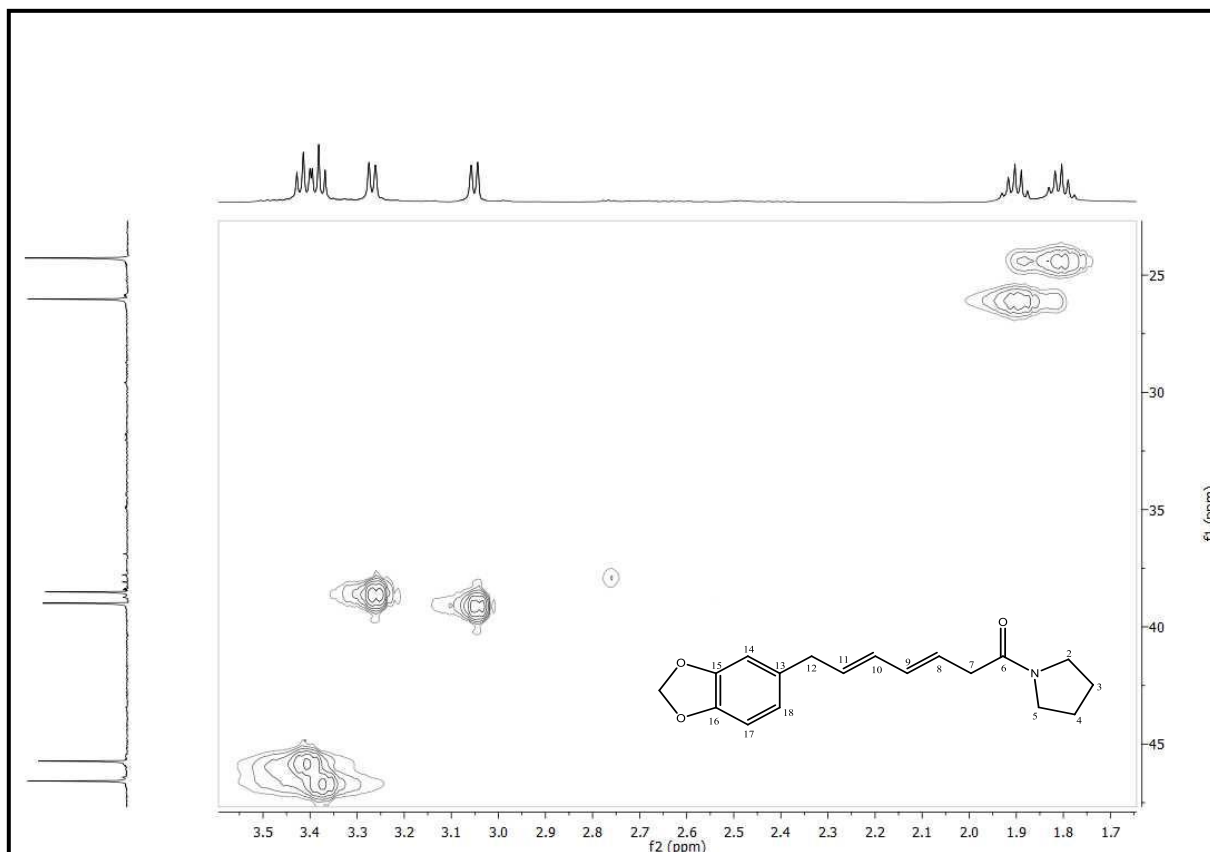


Figura 128: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δ_{H} 1,7-3,6) de Pa-11

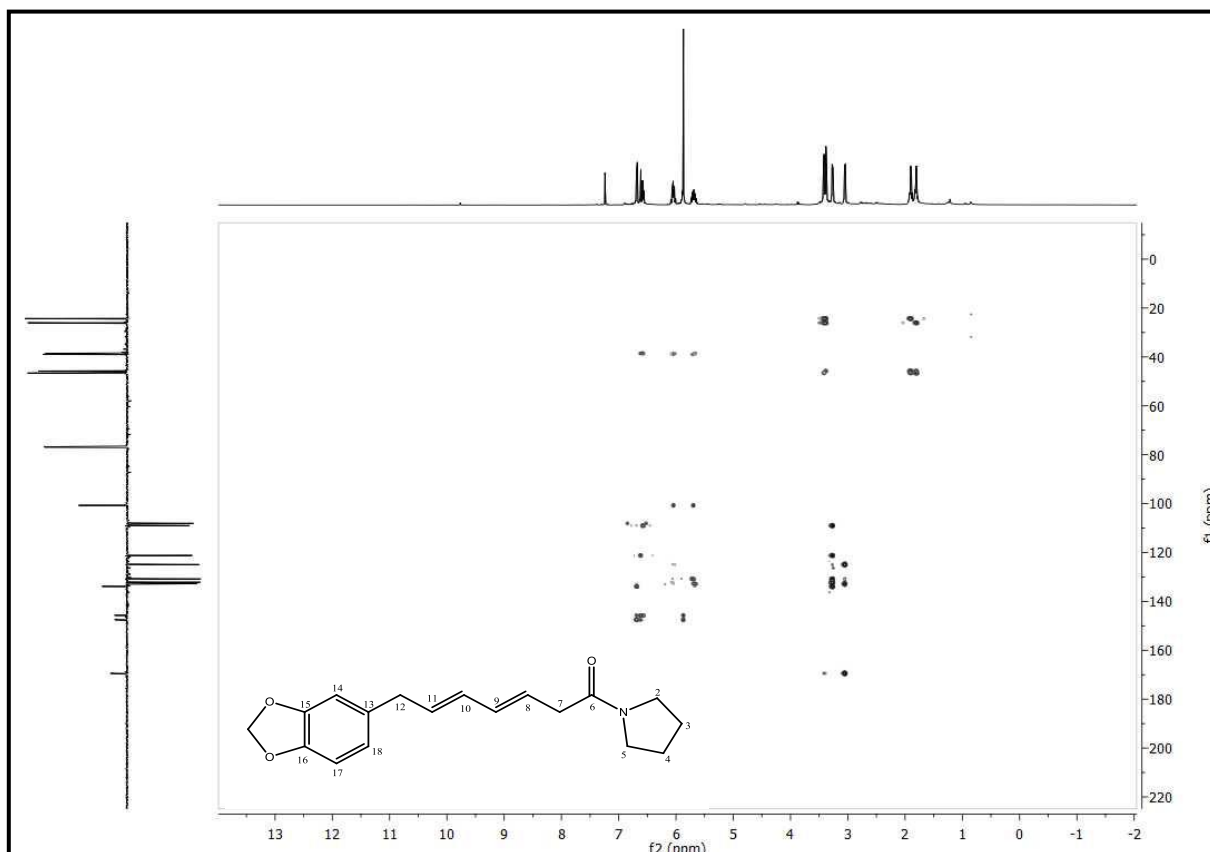


Figura 129: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz) de Pa-11

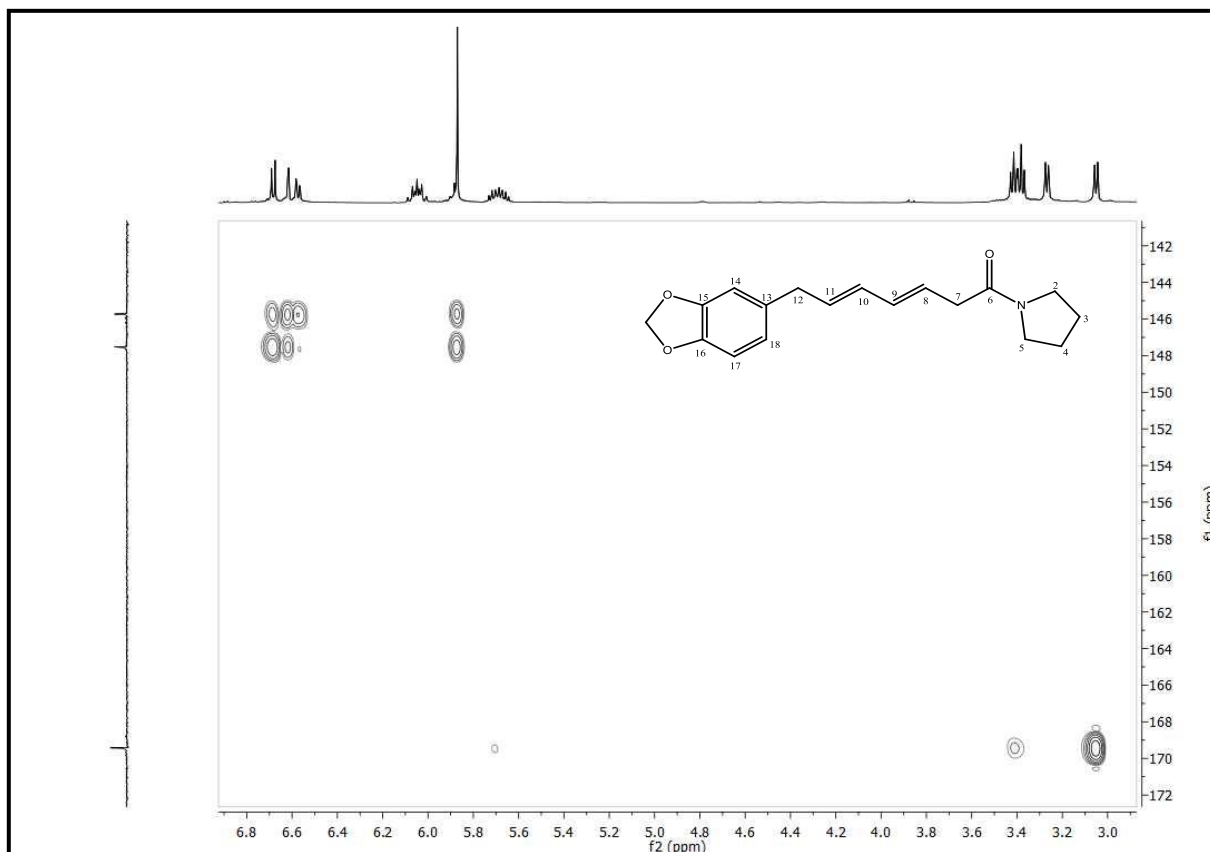


Figura 130: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δH 3,0-6,8) de Pa-11

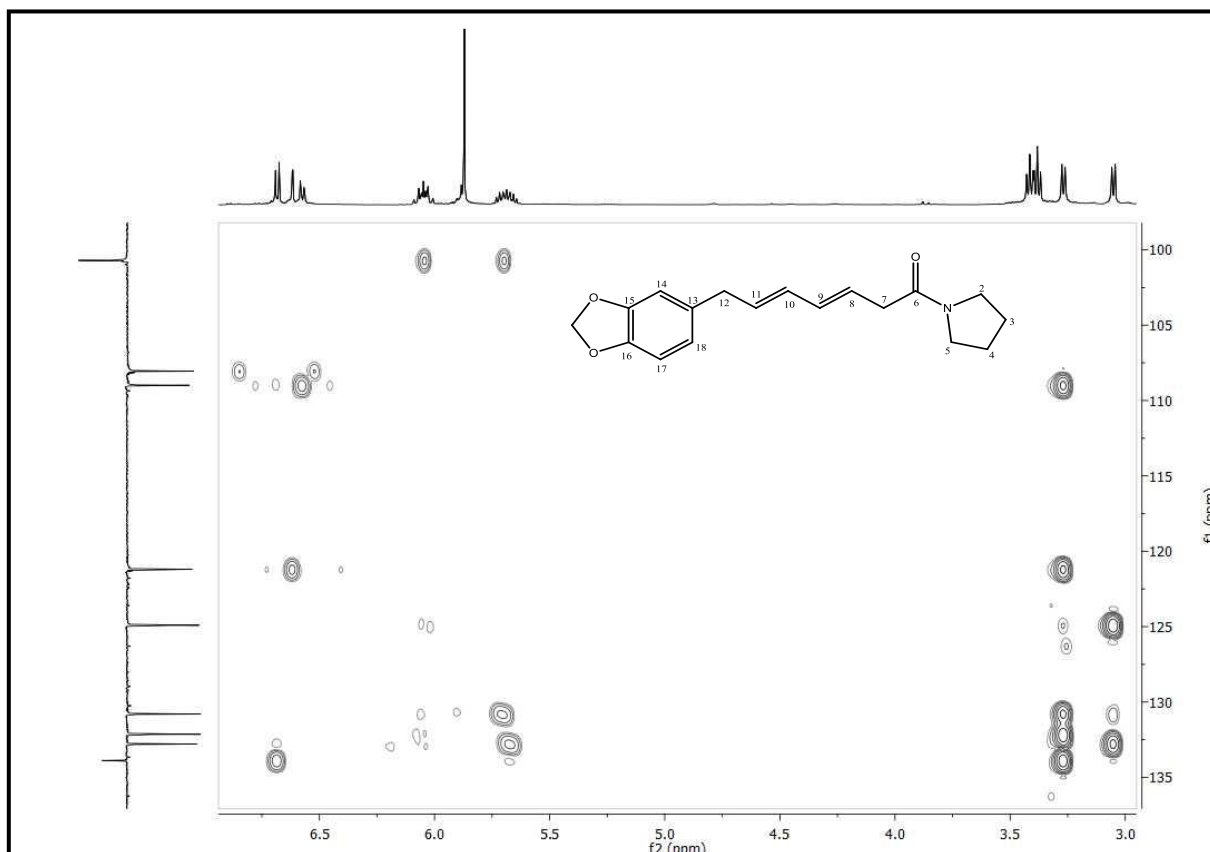


Figura 131: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (CDCl_3 , 500/125 MHz, δH 3,00-6,60) de Pa-11

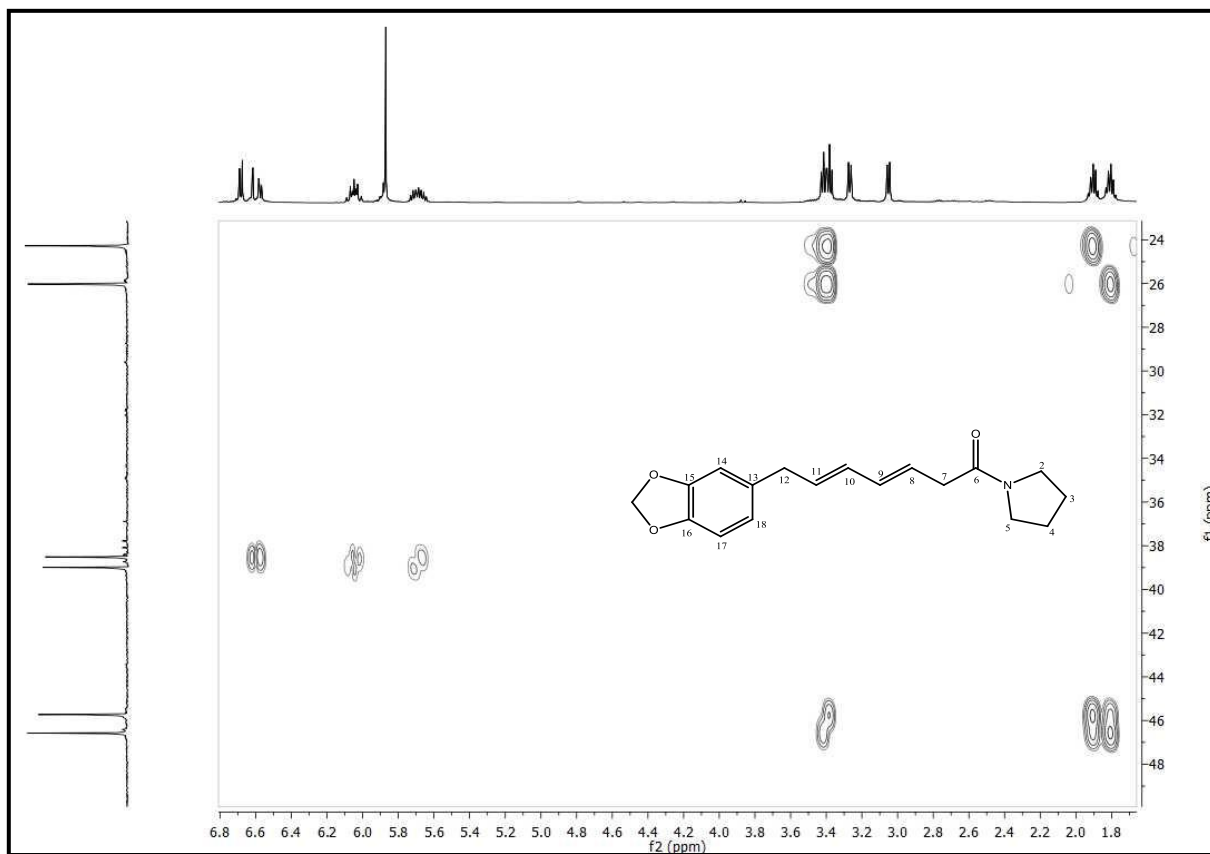


Figura 132: Espectro de Correlação Heteronuclear HMBC RMN ^1H x ^{13}C (CDCl_3 , 500/125 MHz, δH 1,7-6,8) de Pa-11

Conclusões

6. CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico das folhas e caules de *Piper arboreum* Aublet (Piperaceae) realizado por meio de métodos cromatográficos usuais permitiu isolar e identificar por técnicas espectroscópicas de IV, EM, RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais onze substâncias, sendo elas dois esteroides: β -sitosterol (Pa-1a), estigmasterol (Pa-1b), quatro aristolactamas: Piperolactama C (Pa-2), Piperolactama A (Pa-3), Piperolactama B (Pa-4) e Cefaranona A (Pa-5), três fenilpropanoides: Ácido 3,4,5-trimetoxi-fenil-propanóico (Pa-6), Ácido 3,4,-dimetoxifenil-propanóico (Pa-7) e Ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil-propanóico (Pa-8) e três amidas: *N*-(12,14-dimetoxi-13-hidroxi-dihidrocinamoil)- Δ^3 -piridin-2-ona (Pa-9), Arboreumina (Pa-10) e *N*-[12-(15,16-metilenedioxifenil)-8(E),10(E)-heptadienoil]-pirrolidina (Pa-11) contribuindo, dessa forma, para o conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Piper* L. e da espécie botânica investigada, uma vez que há poucos relatos de estudos referentes a *Piper arboreum* Aublet.

Os compostos codificados como Pa-1a/1b, Pa-8 e Pa-10 foram isolados das folhas da espécie estudada e os demais do caule.

Os compostos codificados como Pa-9 e Pa-11, estão sendo relatados pela primeira vez na literatura. O composto codificado como Pa-10, anteriormente isolado das folhas da *Piper arboreum*, neste estudo relata seu isolamento no caule da mesma espécie. E os demais compostos, Pa-1a/Pa-1b, Pa-2, Pa-3, Pa-4, Pa-5, Pa-6, Pa-7 e Pa-8, estão sendo descritas pela primeira vez na espécie estudada.

Referências

7. REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H. & KARL, W. Constituents of *Piper methysticum*. III. Investigation of the acids from Kawa (*Piper methysticum*). **Chemische Berichte**, v. 104(5), p. 1468-77, 1971.
- AGRA F. M.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18(3), p. 472-508, 2008.
- AHMED, W.; AHMAD, Z.; MALIK, A. Stigmasteryl galactoside from *Rhynchosia minima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 4038-4039, 1992.
- ALVES, H. S. **Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Piper montealegrianum* Yuncker (Piperaceae)**. Dissertação, Laboratorio de Tecnologia Farmaceutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 2004.
- ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; DA CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 44(3), p. 559-561, 1997.
- BALDOQUI, D. C.; BOLZANI V. S., FURLAN, M.; KATO, M. J., MARQUES, M. O. M. Flavonas, lignanas e terpenos de *Piper umbellatum* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 32(5), p. 1107-1109, 2009.
- BATISTA-JÚNIOR, J. M.; LOPES, A. A.; AMBROSIO, D. L.; REGASINI, L. O.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; CICARELLI, R. M. B. ; FURLAN, M. Natural chromenes and chromene derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, p. 538-540, 2008.
- BAUMGARRT, A. M. K. **Avaliação da atividade das espécies *Piper mollicomum* e *hedyosmum brasiliense* frente às espécies de *Candida* spp.** Trabalho de Conclusão de (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2007.
- BEZERRA, D. P.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; ALENCAR, N. M. N. D.; MESQUITA, R. O.; LIMA, M. W.; ALVES, E. R.; COSTA-LOTUFO, L. V. *In vivo* grow inhibition of sarcoma 180 by piperlangumine, an alkaloid amide from the *Piper* species. **Journal of Applied toxicology**. v. 28, p. 599-607, 2008.

- BODIWALA, H. S.; Singh, G.; Dey, C. S.; SRAMA, S. S.; BHUTANI, K. K.; SINGH, I. P. 2007. Antileishmanial amids and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. **Journal of Natural Medicines**. v. 61, p. 418, 2007.
- BRANDÃO, H. N., DAVID, J. P., COUTO, R. D., NASCIMENTO, J. A. P. Química e Farmacologia de Quimioterapicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33(6), p. 1359-1369, 2010.
- BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33(1), p. 229-239, 2010.
- CECHINEL-FILHO, V. & YUNES, R. A. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais: sob a ótica de química medicinal moderna**. Chapecó-SC: Ed. Argos, p.17-42, 2001.
- CHAVES, M. C. O., & DA CUNHA, E. V. L. Two amides from *Piper tuberculatum* fruits. **Fitoterapia**, v. 72, p. 197-199, 2001.
- CHAVES, M. C. O. & SANTOS, B. V. O. Constitutents from *Piper marginatum* fruits. **Fitoterapia**, v. 73(6), p. 547-549, 2002.
- CHAVES, M. C. O.; SANTOS, B. V. O.; DE OLIVEIRA, A. 1-Cinnamoyl pirrolidide from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 31, p.1213-1214, 2003.
- CHAVES, M. C. O.; De OLIVEIRA, A. H., SANTOS, B. V. O. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 34, p. 75-77, 2006.
- CHEN, Y. C.; CHEN, J. J.; CHANG, Y. L.; TENG, C. M.; LIN, W. Y.; WU, C. C.; CHEN, I. S. A New Aristolactam Alkaloid and Anti-Platelet Aggregation constituents from *Piper taiwanense*. **Planta Medica**. v. 70, p. 174-177, 2004.
- CHEN, Y. C.; LIAO, C. H.; CHEN, I. S. Lignans, amid and anti-platelet activities from *Piper philippinum*. **Phytochemistry**., v. 68, p. 2101, 2007.
- CHEN, S.; GAO, H.; LU, C.; ZHAO, R.; Yao, X. Alkaloids and amides from *Houttuynia cordata*. **Shenyang Yaoke Daxue Xuebao**, v. 30(11), p. 846-850, 2013a.

CHEN, S.; HUANG, H.; CHENG, M.; WU, C.; ISHIKAWA, T.; PENG, C.; CHANG, H.; WANG, C.; WONG, S.; CHEN, I. Neolignans and phenylpropanoids from the roots of *Piper taiwanense* and their antiplatelet and antitubercular activities. **Phytochemistry**, v. 93, p. 203-209, 2013b.

CHOI, Y. L.; KIM, J. K.; CHOI, S. U.; MIN Y. K.; BAE, M. A.; KIM B. T.; HEO, J. N. Synthesis of aristolactam analogues and evaluation of their antitumor activity. **Bioorgan Med Chem Lett**, v. 19, p. 3036-3040, 2009.

COTINGUIBA, F. et al. Piperamides and their derivatives as potential anti-trypanosomal agents. Medicinal. **Chemistry Research**, v. 18, p. 703-711, 2009.

COSTA, M. A.; COLLINS, R. E.; ANTERLA, A. M.; COCHRANE, F.; DAVIN, L. B.; LEWIS, N. G. An in silico assessment of gene function and organization of the phenylpropanoid pathway metabolic networks in *Arabidopsis thaliana* and limitations thereof. **Phytochemistry**, v. 64, p. 1097-1112, 2003.

COSTA, J. I. V. **Contribuição ao estudo fitoquímico da espécie *Piper arboreum* Aublet (Piperaceae)**. Dissertação, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 2011.

CORDOVA, S. M. et al. Análise da atividade antimicrobiana de extratos isolados de plantas nativas da flora brasileira frente a *Mycoplasma arginini*, *M. hominis* e *Ureaplasma urealyticum*. **RBAC**, vol. 42(4): 241-244, 2010.

CUNHA, E. V. L. & BARBOSA-FILHO, J. M. Alcalóides derivados do núcleo Isoquinolínico. In: Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. **Editora UNIVALI**. 1ª Edição, 2007.

DANELUTTE, A. P.; COSTANTINI, M. B.; DELGADO, G. E.; BRAZ-FILHO, R.; KATO, M. J. Divergence of secondary metabolism in cell suspension cultures and differentiated plants of *Piper cernuum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 16, p. 1425-1430, 2005.

DAS, B.; KASHINATHAM, A.; SRINIVAS, K. V. N. S. Alkamides and other constituents of *Piper longum*. **Planta Medica**, v. 62(6), p. 582, 1996.

- DEWICK, P. M.; *Medicinal Natural Products: a Biosynthetic Approach*, 2nd. ed., Wiley: New York, 2001.
- DODSON, C. D.; DYER, L. A.; SEARCY, J.; WRIGHT, Z.; LETOUNEAU, D. K. Cenocladamide, a dihydropyridone alkaloid from *Piper cenocladum*. **Phytochemistry**, v. 53(1), p. 51-54, 2000.
- DUH, C. Y.; WU, Y. C.; WAN, S. K. Cytotoxic pyridine alkaloids from *Piper aborescens*. **Journal of Natural**. v. 53(6), p. 1575-1577, 1990.
- DYER, L. A. & PALMER, A. D. N. *Piper: A model genus for studies os phytochemistry, ecologt and evolution*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2004.
- EFDI, M.; FUJITA, S.; INUZUKA, T.; KOKETSUD, M. Chemical studies on *Goniothalamus tapis* Miq. **Natural Products**, v. 24 (7), p. 657-662, 2010.
- FACUNDO, V. A.; POLLI, A. R.; RODRIGUE, R. V.; MILITAO, J. S. L. T.; STABELLI, R. G.; CARDOSO, C. T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. **Acta Amazonica**, v. 38(4), p. 743-748, 2008.
- FELIPE, C. B. Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomedicine**. v. 14, p. 605–612, 2007.
- FERNANDES G. G. **Avaliação Fitoquímica de *Sarcorrhachis obtusa*-Piperaceae**. Dissertação. Setor de Ciências Exatas, UFPR, 2006.
- FERREIRA, W. S.; FRANKLIM, T. N.; LOPES, N. D.; LIMA, M. E. F. Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como Antiparasitários. **Revista Virtual de Química**, v. 4(3), p. 208-224, 2012.
- FERREIRA, M. G. P. R.; KAYANO, A. M.; SILVA-JARDIM, I.; SILVA, T. O.; ZULIANI, J. P.; FACUNDO, V. A.; CALDERON, L. A.; SILVA, A. A.; CIANCAGLINI, P.; STÁBELI, R. G. Antileishmanial activity of 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian *Piper tuberculatum* Jacq., Piperaceae, fruits. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20(6), p. 1003-1006, 2010.

- GE, Y. W.; ZHU, S.; SHANG, M. Y.; ZANG, X. Y.; WANG, X.; BAI, Y. J.; LI, L.; KOMATSU, K.; CAI, S. Q. Aristololactams and aporphines from the stems of *Fissistigma oldhamii* (Annonaceae). **Phytochemistry**, v. 86, p. 201-207, 2013.
- GEISLER, J. G. & GROSS, G. G. The biosynthesis of piperine in *Piper nigrum*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 489-492, 1990.
- GERMAN-CASTELLI, P. **Diversidade Biocultural: Direitos de Propriedade Intelectual Versus Direitos dos Recursos Tradicionais**. Seropédica, Rio de Janeiro: UFRRJ, 2004.
- HAM, Y. M. et al. Chemical constituents from *Sargassum micracantum* and antioxidant activity. **Internacional Journal of Pharmacology**, v. 6, n. 2, p. 147-151, 2010.
- HERRMANN, K. M.; WEAVER, L. M. The shikimate pathway. **Annual review of plant Physiology and Plant molecular Biology**, v. 50, p.473-503, 1999.
- JARAMILLO, M. A.; & MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**. v. 88, p. 706-716, 2001.
- JIANG, Y.; LU, Y.; ZHANG, Y. Y.; CHEN, D. F. Anti-complementary constituents of *Houttuynia cordata* and their targets in complement activation cascade. **Natural Product Research**, v.28(6), p. 407-410, 2014.
- KAPLAN, M. C. Fitoquímica e atividade Leishhmanicida de espécies de Piperaceae. **XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**. Resumo F-165, 1996.
- KATO, M. J. & FURLAN, M. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, p. 529, 2007.
- KIM, S. K.; RYU, S. Y.; NO, J.; CHOI, S. U.; KIM, Y. S. Cytotoxic alkaloids from *Houttuynia cordata*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 24(6), p. 518-521, 2001.
- KOJIMA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.
- KUMAR, V.; POONAM.; PRASSAD, A. K.; PARAMAR, V. S. Naturally occurring aristolactms, aristolochic acids and dioxoaporphines and theirs biological activity. **Natural products Reports**. v. 20, p. 563-583, 2003.

- LAGO, J. H. G. et al. Benzoic Acid Derivatives from Piper Species and Their Fungitoxic Activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. **Jounal Natural Products**, v. 67, p. 1783-1788, 2004.
- LAGO, J. H.; YOUNG, M. C. M.; REIGADA, J. B.; SOARES, M. G., ROESLER, B. P.; KATO, M. J. Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *P. lhotzkyanum* (Piperaceae). **Quim. Nova**, v. 30(5), p.1222-1224, 2007.
- LAGO, J. H.; CHEN, A.; YOUNG, M. C. M.; GUIMARÃES, E. F.; OLIVEIRA, A.; KATO, M. J. Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* L. and *Piper hostmannianum* C. DC. (Piperaceae). **Phytochemistry**, v. 2, p. 96-98, 2009.
- LAN, Y. H.; LEU, Y. L.; PENG, Y. T.; THANG, T. D.; LIN, C. C.; BAO, B. Y. The First Bis-Retrochalcone from *Fissistigma latifolium*. **Planta Medica**, v. 77(18), p. 2019-2022, 2011.
- LEMOS, C. O. T. et al. **Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de extratos de Pariparoba**. VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, Maringá, 2011.
- LIN, C. F.; HWANG, T. L.; Chun-Chien CHIEN, C. C.; TU, H. Y.; LAY, H. L. A New Hydroxychavicol Dimer from the Roots of *Piper betle*. **Mollecules**, v. 18, p. 2563-2570, 2013.
- LOPES, A. A. *In vitro* activity of isolated compounds from *Piper crassinervium* against *Trypanosoma cruzi*. **Natural Products Research**, v. 22, p. 1040-1046, 2008.
- MBAH, J. A.; TANE, P.; NGADJUI, B. T.; CONNOLLY, J. D.; OKUNJI, C. C.; IWU, M. M.; SCHUSTER, B. M. Antiplasmodial agents from the leaves of *Glossocalyx brevipes*. **Planta Medica**, v. 70 (5), p. 437-440, 2004.
- MABBERLEY, D. J. **The plant book: a portable dictionary of the higher plants**. New York: Cambridge Univ. Press, 1997.
- MARQUES, J. V. Antifungal amides from *Piper scutifolium* and *Piper hoffmanseggianum*. **Jounal Natual Products**, v. 70, p. 2036-2039, 2007.

- MARQUES, J. V. **Atividade biológicas de amidas e analagos de espécies de *Piper* e estudos biossintéticos**. Tese, Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2009.
- MARTINS, R. C.; LATORRE, L. R.; SARTORELLI, P., KATO, M. J. Phenylpropanoids and tetrahydrofuran lignans from *Piper solmsianum*. **Phytochemistry**. v. 55, p, 843, 2002.
- MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; MORIKAWA, T.; YASUDA, D.; YAMAGUCHI, I.; YOSHIKAWA, M. Protective effects of amides constituents from fruit of *Piper chabaon* on d-galactosamine/TNF-[alpha]-induced cell death in mouse hepatocytes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.18, p. 2038-2042, 2008.
- MAXWELL A. & RAMPERSAD D. A new dihydropiplatine and piplatine dimer from *Piper rugosum*. **Journal Natural Products**. v.54, p. 1150-1152, 1991.
- MORANDIM, A. A.; BERGAMO, D. C. B., KATO, M. J., CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Circadian rhythm of anti-fungal prenylated chromene in leaves of *Piper aduncum*. **Phytochemistry Analysis**, v.16, p. 282, 2005.
- NAVICKIENE, M. D.; BOLZANI V. S.; KATO, M. J.; PEREIRA, A. M. S., BERTONI, B. W., FRANÇA, S. C., FURLAN, M. Quantitative determination of anti-fungal and insecticide amides in adult plants, plantlets and callus from *Pier tuberculatum* by reverse-phase high-performance liquid chromatography. **Phytochemistry Analysis**. v. 34, p.281-284, 2003.
- NAVARRO, L. B. **Variabilidade de fenilpropanóides, lignanas tetrahidrofurânicas e aristolactamas de *Piper solmsianum* C. DC**. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Química (Química Orgânica), Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- NEWMAN D. J., CRAGG G. M., SNADER K.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Periodo 1981-2002. **Journal Natural Products**, 66, 1022-1037, 2003.
- NICARETA, C. **Óleos essenciais e a interação de *Solanum* e a interação com morcegos frígívoros**. Departamento da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- NOLDIN, V.F. et al. Gênero *Calophyllum*: importância clínica e farmacológica. **Química Nova**, v.29, p.549-54, 2006.

- OLSEN, C. E.; TYAGI, O. D.; BOLL, P. M.; HUSSANI, F. A.; PARMAR, V.S.; SHARMAR, N. K.; TANEJA, P.; JAIN, S. C. An aristolactam from *Piper acutisleginum* and revision of the structures of piperolactam B and D. **Phytochemistry**. v. 33 (2), p. 518-520, 1993.
- PARMAR, V. S. JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O. D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v.46 (4), p. 597-673, 1997.
- PARK, B. S.; SON, D. J.; PARK, Y. H.; KIM, T. W.; LEE, S. E. Antiplatelet effects of acid amides isolated from the fruits of *Piper longum* L. **Phytomedicine**. v. 14, p. 853–855, 2007.
- PERES, V. F.; MOURA, D. J.; SPEROTTO, A.R.M.; DAMASCENO, F. C.; CAMARÃO, E. B.; ZINI, C. A.; SAFFI, J. Chemical composition and cytotoxic, mutagenic and genotoxic actives of the essencial oil from *Piper gaudichaudianum* Kunth leaves. **Food Chemical Toxicology**, v. 47, p. 2389-2395, 2009.
- RAMOS, C. S. & KATO, M. J. Hidrólise do benzoato de metila de *Piper arboreum* pelo besouro *Naupactus bipes*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20(3), p. 560-563, 2009.
- REGASINI, L. O., COTINGUIBA, F., MORANDIMA, A., KATO, M. J., MENDES-GIANNINI, M. J., BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. (Piperaceae) against opportunistic yeasts. **African journal of Biotechnology**, v. 8(12), p. 2866-2870, 2009a.
- REGASINI, L. O.; COTINGUIBA, F.; PASSERINI G. D.; BOLZANI, V. S.; CICARELLI, R. M. B.; KATO, M. J., M. J.; FURLAN, M. Trypanocidal activity of *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmcognosia**. v. 19(1B), p. 199-203, 2009b.
- RESEM – XXVI Reunião Annual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares. Evolução Metabólica em Espécies de Piperaceae. Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, livro de anais, p. 27, 2004.
- ROSA, S. M.; SOUZA, L. A.. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *medium* Liannaes (Piperaceae). **Acta Científica Venezuelana**, v. 55, p. 27-34, 2004.

- RUANGRUNGSI, N.; PRATHANTURARUG, S.; LANGE, H. L.; ORGAN, M. G. An N-methyl aristolactam and an oxygenated cyclohexane derivative from *Piper ribesoides*. **Phytochemistry**. v. 31, p. 2397–2400, 1992.
- SANTOS, B. V. O.; DA CUNHA, E. V. L., CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Phenylalkanoids from *Piper marginatum*. **Phytochemistr**. v. 49(5), p. 1381-1384, 1998.
- SHU, Y. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 8, p. 1053-1071, 1998.
- SILVA, R. V.; NAVICKIENE, H. M. D.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; MÉDA, C. I.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M. Antifungal Amides from *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 59, P. 521-527, 2002.
- SOUTO, R. N. P. **Avaliação das atividades repelente e inseticida de óleos essenciais de Piper da Amazônia em *Anopheles marajoara*, *Stegomyia aegypti* e *Solenopsis saevissima***. 2006, 221p. Tese de doutorado: Curso de Pós- Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará e Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém, Pará, 2006.
- SOUZA, L. A.; ALBIERO, A. L. M.; ALMEIDA O. J. G.; LOPES W. A. L.; MOURÃO K. S. M.; MOSCHETA, I. Estudo Morfo-anatomico da Folha e do Caule de *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. V. 28(1), p. 103-107, 2009.
- SRINIVASAN, K. Black peper and its Pugent Principle Piperine: A review Diverse Physiological Effects. **Food Science & Nutrition**, v. 47, p. 735, 2007.
- SUN, B.; YOSHIKAWA, M.; CHEN, Y.; WU, L. Chemistry study of *Stellaria dichotoma*. **Shenyang Yaoke Daxue Xuebao**, v. 23(2), p. 84-87, 2006.
- TABOPDA, T. K.; NGOUPAYO, J.; LIU, J.; MTAINE-OFFER, A. C.; TANOLI, S. A. K.; KHAN, S. N.; ALI, M.; NGADJUI, B. T.; TSAMO, E.;LACAILLE-DUBOIS, M. A.; LUU, B. Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. **Phytochemistry**. v. 69, p. 1726-1731, 2008.
- TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E. S.; GUEDES, G. M. M.; COSTA, J. I. V.; DUARTE, F. M. D.; CHAVES, M. C. O. SILVA, V. A.; PESSOA, H. L. F.; LIMA, M. A.; GARCIA, C. A.;

- COUTINHO, H. D. M. Modulatory antimicrobial activity of *Piper arboreum* extracts. **Acta Botanica Croatica**, v 73 (1), p. 281-289, 2014.
- TSAI, I. L.; LEE, F. P.; DUH, C. Y.; ISHIKAWA T.; CHEN, J. J.; CHEN, Y. C.; SEKI, H.; CHEN, I. S. New cytotoxic cyclobutanoid amides, a new furanoid lignan and anti-platelet aggregation constituents from *Piper arborescens*. **Planta Medica**. v. 71, p. 535-542, 2005.
- URZUA, A.; ESPINOZA, J.; OLGUIN, A.; SANTANDER, R. Phenolic aristolactams from leaves and stems of *Aristolochia chilensis*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v.12(5), p.537-542, 2013.
- VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista brasileira de farmacognosia**, vol.18 (2), p.308-313, 2008.
- VILEGAS, W. & CARDOSO, C. A. L. Controle Químico de qualidade de fitoterápicos e plantas medicinais. In: YUNES, R. A. & CECHINEL-FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 1^a ed. Itajaí: UNIVALI, p 157-182, 2007.
- WANKE S.; JARAMILLO, M. A.; BORSCH, T.; SAMAIN, M. S.; QUANDT D.; NEINHUIS, C. Evolution of Piperales-*matK* gene and *trnK* sequence data reveal lineage specific resolution contrast. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42(2), p. 477-497, 2007.
- WHITTON, P. A.; LAU, A.; SALISBURY, A.; WHITEHOUSE, J.; EVANS, C. S. Kava lactons and kava-kava controversy. **Phytochemistry**. v. 64, p. 673-679, 2003.
- WU, Q. L.; SHENG-PING, W.; GUANG-ZHONG, T.; YU-XIU, F.; JUN-SHAN, Y. Alkaloids from *Piper puberullum*. **Phytochemistry**. v. 44(4), p. 727-730, 1997.
- XUAN, T. D., FUKUTA, M., WEI, A. C., ELZAAWELLEY, A. A., KHANH, T. D., TAWATA, S. Efficacy of extracting solvents to chemical components of kava (*Piper methysticum*) roots. **Journal. Natural Medicines**, v. 62, p. 188–194, 2008.
- ZHANG, G.; SHOMOKAWA, S.; MOCHIZUKI, M.; KUMAMOTO, T.; NAKANISHI, W.; WATANABE, T.; ISHIKAWA, T.; MATSUMOTO, K.; TASHIMA, K.; HORIE, S.;

YOSHIHIRO, H.; DOMINGUEZ, O. P. Chemical Constituents of *Aristolochia constricta*: Antispasmodic Effects of Its Constituents in Guinea-Pig Ileum and Isolation of a Diterpeno-Lignan Hybrid. **Journal of Natural Products**, v. 71(7), p. 1167-1172, 2008.

YAMAGUCHI, L. F. et al. Antioxidant activity of prenylated hydroquinone and benzoic acid derivatives from *Piper crassinervium* Kunth. **Phytochemistry**, v. 67, p. 1838-1843, 2006.

YAO, C. Y.; WANG, J.; QIAN, F. G.; XIE, J.; PAN, S. L. Laetispicine, anamidealkaloid from *Piper laetispicum*, presents antidepressant and antinociceptive effects in mice. **Phytomedicine**, v. 16, p. 823-829, 2009.