



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



THIAGO ARAÚJO DE MEDEIROS BRITO

INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Metternichia princeps* J. C. Mikan
(SOLANACEAE)

JOÃO PESSOA – PB

2021

THIAGO ARAÚJO DE MEDEIROS BRITO

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Metternichia princeps* J. C. Mikan
(SOLANACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração: Farmacoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
Coorientador: Dr. Lucas Silva Abreu

JOÃO PESSOA – PB

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

B862i Brito, Thiago Araújo de Medeiros.

Investigação fitoquímica de *Metternichia princeps* J. C.
Mikan (Solanaceae) / Thiago Araújo de Medeiros Brito. -
João Pessoa, 2021.
166 f. : il.

Orientação: Marcelo Sobral da Silva.
Coorientação: Lucas Silva Abreu.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Fitoquímica. 2. *Metternichia*. 3. Amidas fenólicas.
4. Amidas fenilpropanoídicas. 5. Lignanamidas. I.
Silva, Marcelo Sobral da. II. Abreu, Lucas Silva. III.
Título.

UFPB/BC

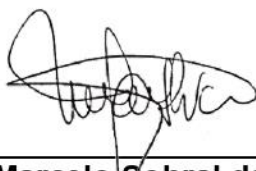
CDU 581.19(043)

THIAGO ARAÚJO DE MEDEIROS BRITO

INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Metternichia princeps* (SOLANACEAE)

APROVADA EM 19/08/2021

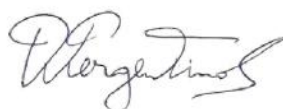
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
Doutor em Química Orgânica
Universidade Federal da Paraíba - Campus I
(Presidente)



Prof. Dr. Héctor Henrique Ferreira Koolen
Doutor em Química
Universidade do Estado do Amazonas
(Examinador externo)



Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa
Doutor em Química Orgânica - UFSCAR
Universidade Federal da Paraíba - Campus I
(Examinador interno)

**JOÃO PESSOA - PB
2021**

Dedico este trabalho aos meus Pais, Telma Maria e Maynard, por todo suporte, por acreditar nos meus sonhos, me apoiar, incentivar e me proporcionar muito amor.

Aos demais familiares que me apoiaram na realização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela dádiva da vida e por ter nos oferecido o seu amor primeiramente e gratuitamente, além de tudo que tem me proporcionado na jornada da vida, principalmente a fé, a esperança e o amor.

Aos meu pais, Telma Maria de Medeiros Fernandes e Maynard Araújo Brito por todo suporte, carinho, incentivo, por acreditar no meu potencial e nos meus sonhos e todo amor. Por mostrar o caminho correto, através dos seus exemplos de vida, me conduzindo ao melhor trajeto, além do conhecimento da integridade e da perseverança em condições difíceis às quais vocês superaram. Sou eternamente grato por fazerem parte da minha vida.

Aos meus avós paternos, Manoel Oliveira de Brito e Maria Inês de Araújo Brito, por todas as palavras de apoio, carinho, amor e sua história de superação e exemplo de fé, que fortificam e embasam minha natureza e minha postura no dia a dia.

Aos meus avós maternos, meu avô (*in memoriam*) Francisco Pedro de Medeiros (Chico Pedro da Farmácia), o qual foi fundamental para o meu despertar para busca do conhecimento das ciências naturais e da área da saúde, por meio da sua trajetória de vida profissional, atuando como alternativa à promoção da saúde em uma época que o acesso era escasso. E à minha avó Francisca Fernandes de Medeiros pelo incentivo, carinho e amor.

Aos meus familiares, ao meu tio Francisco Pedro de Medeiros Fernandes, minhas tias, Maria Olindina de Medeiros e Wanda Maria de Medeiros, Maria Santana de Brito, Maria das Graças de Brito, e aos meus primos por todo apoio. Especialmente a meu primo que tenho como irmão, Vinicius de Brito Medeiros, pela amizade e companheirismo no dia a dia, seja a distância ou presencialmente.

À minha namorada, Andréa Cristina da Silva Souza por toda atenção, carinho e companheirismo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva, pela oportunidade de desenvolver esse trabalho, suporte e a confiança depositada em mim.

Ao meu co-orientador, Dr. Lucas Silva Abreu, por toda a disponibilidade, atenção, esforço, paciência, incentivo, sugestões, contribuições prestadas a mim, os quais foram indispensáveis na construção de todo esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Josean Fechine Tavares, por todas as sugestões, ideias, contribuições e por se mostrar sempre solícito para ajudar no desenvolvimento desse trabalho, desde o seu início até o fim.

Ao Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa, por se mostrar sempre solícito para tirar dúvidas da prática laboratorial, pelos conselhos, palavras amigas, momentos vividos e todo suporte fornecido durante o mestrado.

Ao Prof. Dr. Eudes da Silva Velozo, pela realização da coleta do material vegetal utilizado nesse estudo.

À Prof. Dr. Domingos Benício Oliveira Silva Cardoso, pela identificação do material vegetal utilizado nesse estudo.

Aos técnicos do LMCA, Marcelo e Evandro pelas contribuições acerca da obtenção de espectros de RMN e a manutenção de equipamentos. Além disso, pelos agradáveis momentos compartilhados no dia a dia.

Ao técnico Raimundo Nonato da Silva Filho, pela ajuda fornecida na minha adaptação aos laboratórios de fitoquímica.

À técnica Glória pelos conselhos e ajuda fornecida nos laboratórios de fitoquímica.

Ao técnico Dr. Yuri Manguiera do Nascimento, pela ajuda quando ainda era doutorando e agora como técnico de laboratório.

A Júnior sempre solícito e disposto em nos ajudar, prestando seus serviços diariamente, e por toda a boa relação construída durante esse tempo.

Ao meu amigo Jociano, pela amizade e companheirismo, momentos de alegria e de dificuldade que pudemos superar nesses anos de pesquisa intensa, de muitos horários extrapolados de trabalho para seguirmos firmes em nosso objetivo.

Ao meu pequeno grupo de pesquisa formado no laboratório, com Jociano e Nikole, por todos os momentos de discussão, construção do conhecimento e também momentos de alegria vivenciados.

A todos os componentes do grupo de pesquisa, especialmente os metrandos e doutorandos, Jociano, Edileuza, Nikole, Pedro, Thallison, Joanda, Arthur, Natan, Anderson, Kaio, Gabriela, Ana Rita, Juliana, Rodrigo, Laisla.

Aos colegas da farmacoquímica que se constituiu uma grande relação de amizade, Kimberly, Carlos, Joice, Neves, Natan, Erika, Neto e Jociano.

Aos demais componentes da turma de mestrado, especialmente à Camyla, Catarina e Júnior Patrício, meu muito obrigado.

Aos professores do PgPNSB, por todas contribuições ao meu desenvolvimento no ambiente acadêmico, social e pessoal.

A todos aqueles que colaboraram de forma direta ou indiretamente para realização do presente trabalho.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, fornecendo-me uma bolsa de mestrado e pelo suporte técnico científico através do portal periódicos.

Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam, e a prova das coisas que não se veem (Hebreus 11:1).

RESUMO

BRITO, Thiago Araújo de Medeiros. **Investigação Fitoquímica de *Metternichia princeps* J. C. Mikan (Solanaceae)**. 166 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2021.

A posição de maior biodiversidade mundial atribuída ao Brasil, proporciona um vasto potencial para descoberta de novos produtos naturais vegetais utilizados no tratamento de várias enfermidades desde os primórdios da civilização. Adicionalmente, muitos desses produtos têm importância econômica na indústria alimentícia, cosmética e de perfumaria. A aplicação de produtos vegetais como fontes de medicamentos naturais requer uma ampla abordagem química e biológica para segurança no seu uso. O pouco conhecimento da composição química da flora nacional, é um empecilho primário para exploração desse vasto potencial, o que é perceptível no bioma mata atlântica onde existem espécies da família Solanaceae, a saber *Metternichia princeps* que nunca foi alvo de estudos fitoquímicos mais detalhados, apesar de serem relatados eventos de toxicidade animal devido a ingestão desse vegetal. Assim, esse trabalho teve por objetivo realizar a investigação fitoquímica de *Metternichia princeps*. Para tanto, a espécie foi coletada no município Boa Vista do Tupim – BA e submetida a técnicas extrativas e cromatográficas para o fracionamento inicial. O isolamento dos constituintes químicos foi realizado utilizando cromatografia líquida de alta eficiência em escala analítica e preparativa. A caracterização estrutural dos constituintes químicos foi realizada por análise de dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, espectrometria de massas de alta resolução e a comparação com dados disponíveis na literatura. Foram isolados e identificados os primeiros dez metabólitos secundários classificados como amidas fenólicas da espécie em estudo, sendo as amidas fenilpropanoídicas: *N-trans*-sinapoilactapamina (MP-1 e MP-3), possivelmente como isômeros ópticos, *N-trans*-feruloilactapamina (MP-2), *N-trans*-feruloiltiramina (MP-4), *N-cis*-feruloiltiramina (MP-5), *N-trans*-p-cumaroiltiramina (MP-6), *N-trans*-feruloil-3-metoxitiramina (MP-7) e *N-trans*-sinapoiltiramina (MP-8), em mistura, e as lignanamidas: *N-trans*-grossamida (MP-9) e *N-cis*-grossamida (MP-10), em mistura. O presente trabalho contribuiu para o conhecimento do gênero *Metternichia*, por meio da primeira investigação fitoquímica de *Metternichia princeps*, e do isolamento e identificação de dez produtos naturais classificados como amidas fenólicas, sendo oito amidas fenilpropanoídicas e duas lignanamidas.

Palavras-chave: Fitoquímica, *Metternichia*, amidas fenólicas, amidas fenilpropanoídicas, lignanamidas.

ABSTRACT

BRITO, Thiago Araújo de Medeiros. **Phytochemical investigation of *Metternichia princeps* J. C. Mikan (Solanaceae)**. 166 p. Dissertation (Master in Natural and Bioactive Synthetic Products) Health Sciences Center, Federal University of Paraíba. João Pessoa, 2021.

The position of greatest biodiversity in the world, attributed to Brazil, offers a vast potential for discovering new natural products used in the treatment of various diseases since the dawn of civilization. In addition, many products are economically important in the food, cosmetic and perfume industry. The application of plant products as sources of natural medicines requires a broad chemical and biological approach for safe use. The little knowledge of the chemical composition of the national flora is a primary obstacle to exploring this vast potential, which is noticeable in the Atlantic Forest biome where there are species of the Solanaceae family, how *Metternichia princeps*, that has never been the target of more detailed phytochemical studies, although existing studies animal toxicity events due to ingestion of this vegetable. Thus, this work aimed to carry out a phytochemical investigation of *Metternichia princeps*. Therefore, the species was collected in Boa Vista do Tupim - BA and submitted to extractive and chromatographic techniques for initial fractionation. The isolation of chemical constituents was carried out using high performance liquid chromatography in analytical and preparative scale. The structural characterization of the chemical constituents was performed by analyzing ^1H and ^{13}C one- and two-dimensional NMR spectroscopic data, high-resolution mass spectrometry and comparison with data available in the literature. The first ten secondary metabolites classified as phenolic amides of the species under study were identified and identified, as phenylpropanoid amides: *N-trans*-sinapoyloctapamine (MP-1 and MP-3), possibly as optical isomers, *N-trans*-feruloyloctapamine (MP -2), *N-trans*-feruloyltyramine (MP-4), *N-cis*-feruloyltyramine (MP-5), *N-trans*-p-coumaroyltyramine (MP-6), *N-trans*-feruloyl-3-methoxytyramine (MP -7) and *N-trans*-sinapoyltyramine (MP-8), in mixture, and as lignanamides: *N-trans*-grossamide (MP-9) and *N-cis*-grossamide (MP-10), in mixture. The present work contributed to the knowledge of the genus *Metternichia*, through the first phytochemical investigation of *Metternichia princeps*, and the isolation and identification of ten natural products classified as phenolic amides, eight phenylpropanoid amides and two lignanamides.

Keywords: Phytochemistry, *Metternichia*, phenolic amides, phenylpropanoid amides, lignanamides.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica da família Solanaceae Juss. no mundo representada em verde.	27
Figura 2 - Metabólitos secundários da família Solanaceae utilizados como fármacos na terapêutica.....	32
Figura 3 - Distribuição geográfica do gênero <i>Metternichia</i> J. G. Mikan no mundo representada em verde.	35
Figura 4 - Estrutura base dos precursores e da <i>N-trans</i> -fenetilcinamida.....	37
Figura 5 - Proposta de via biossintética para amidas fenilpropanoídicas e ligananamidas de <i>Metternichia princeps</i>	39
Figura 6 - Proposta de mecanismo para biossíntese de lignanamidas em <i>Metternichia princeps</i>	40
Figura 7 - Obtenção e particionamento do EEB de <i>Metternichia princeps</i>	48
Figura 8 - Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do EEB das raízes de <i>Metternichia princeps</i>	50
Figura 9 - Cromatograma da fração 32-48 em 254 nm com identificação das substâncias isoladas de <i>M. princeps</i>	51
Figura 10 - Espectro de IES-EMAR de MP-1 ($[M + Na]^+$, modo de ionização positivo).	53
Figura 11 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1.....	54
Figura 12 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 6,0 a 7,8 ppm).	55
Figura 13 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 4,1 a 5,0 ppm).	55
Figura 14 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 3,2 a 3,8 ppm).	56
Figura 15 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1.	57
Figura 16 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 95 a 170 ppm).....	58
Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 44 a 78 ppm).....	58
Figura 18 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1.	59

Figura 19 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 3,4-3,6 e 46-51.5 ppm).	60
Figura 20 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 3,4-4,8 e 46-76 ppm).	60
Figura 21 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1.	61
Figura 22 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,3-7,7 e 70-170 ppm).	62
Figura 23 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,3-7,7 e 70-170 ppm).	62
Figura 24 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1.....	63
Figura 25 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,2-7,7 e 5,9-7,8 ppm).....	64
Figura 26 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,2-7,7 e 5,9-7,8 ppm).....	64
Figura 27 - Espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 expansão da região 3,4-7,2 e 3,0-7,0 ppm).....	65
Figura 28 - Mecanismo proposto para formação do artefato 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.	67
Figura 29 - Espectro de RMN de ^1H (400 mhz, CD_3OD) do composto 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.	67
Figura 30 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.....	68
Figura 31 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -sinapoilactapamina.....	68
Figura 32 - Estrutura química da 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.	69
Figura 33 - Espectro de IES-EMAR de MP-2 ($[\text{M} + \text{Na}]$, modo de ionização positivo).	72
Figura 34 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-2.....	73
Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 6,3 a 7,6 ppm).	74
Figura 36 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 3,3 a 4,9 ppm).	74

Figura 37 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-2.	76
Figura 38 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 112 a 170 ppm).....	77
Figura 39 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 36 a 88 ppm).....	77
Figura 40 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)-2-metoxietil] acrilamida.	78
Figura 41 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)-2-metoxietil] acrilamida.....	78
Figura 42 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -feruloilactapamina.	79
Figura 43 - Estrutura química da 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)-2-metoxietil] acrilamida.	79
Figura 44 - Espectro de IES-EMAR de MP-3 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, modo de ionização positivo).	82
Figura 45 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.....	84
Figura 46 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão na região 6,2 a 7,6 ppm).	84
Figura 47 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.	86
Figura 48 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão na região 105 a 160 ppm).....	86
Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão na região 47 a 83 ppm).....	87
Figura 50 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.	87
Figura 51 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 3,2-5,0 e 45-80 ppm).	88
Figura 52 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 5,9-7,6 e 90-145 ppm).	88
Figura 53 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.	89
Figura 54 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 6,5-7,50 e 80-170 ppm).	89
Figura 55 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 3,1-5,0 e 40-170 ppm).	90

Figura 56 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.....	90
Figura 57 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -sinapoilactapamina.....	91
Figura 58 - Sobreposição de cromatogramas das substâncias MP-1 e MP-3 injetados e analisados separadamente por CLAE.	91
Figura 59 - Espectro de IES-EMAR de MP-4 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, modo de ionização positivo).	94
Figura 60 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.....	96
Figura 61 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 6,2 a 8,1 ppm).	96
Figura 62 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 2,3 a 4,2 ppm).	97
Figura 63 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.	98
Figura 64 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 106 a 162 ppm).....	98
Figura 65 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 22 a 72 ppm).....	99
Figura 66 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.	100
Figura 67 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 2,2-4,1 e 30-65 ppm).	101
Figura 68 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 6,2-7,6 e 105-145 ppm).	101
Figura 69 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.	102
Figura 70 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 6,0-7,7 e 40-170 ppm).	102
Figura 71 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 2,6-4,0 e 30-170 ppm).	103
Figura 72 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.....	103
Figura 73 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.....	104
Figura 74 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -feruloiltiramina.	104

Figura 75 - Espectro de IES-EMAR de MP-5 ($[M + H]^+$, modo de ionização positivo).	108
Figura 76 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.	110
Figura 77 - Espectro de RMN de 1H (400 mhz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão na região 6,2 a 8,1 ppm).	110
Figura 78 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão na região 2,3 a 4,2 ppm).	111
Figura 79 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.	111
Figura 80 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão da região 5,7-7,5 e 110-145 ppm).	112
Figura 81 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão da região 2,6-4,1 e 35-65 ppm).	112
Figura 82 - Espectro de correlação $^1H \times ^1H$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.	113
Figura 83 - Espectro de correlação $^1H \times ^1H$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão da região 5,5-7,5 e 5,5-7,5 ppm).	113
Figura 84 - Espectro de correlação $^1H \times ^1H$ NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.	114
Figura 85 - Estrutura química da <i>N-cis</i> -feruloiltiramina.	114
Figura 86 - Espectro de IES-EMAR de MP-6 ($[M + H]^+$, modo de ionização positivo).	117
Figura 87 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.	119
Figura 88 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão na região 6,2 a 7,7 ppm).	119
Figura 89 - Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão na região 2,4 a 4,7 ppm).	120
Figura 90 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.	120
Figura 91 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão da região 6,3-7,5 e 110-145 ppm).	121
Figura 92 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão da região 2,7-3,9 e 34-60 ppm).	121

Figura 93 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.	122
Figura 94 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão da região 5,9-7,7 e 115-170 ppm).	122
Figura 95 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.....	123
Figura 96 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.....	123
Figura 97 - Espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.....	124
Figura 98 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -p-cumaroiltiramina.	124
Figura 99 - Espectro de IES-EMAR de MP-7,8 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, modo de ionização positivo).	127
Figura 100 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8....	129
Figura 101 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 6,3 a 7,6 ppm).....	129
Figura 102 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 2,5 a 4,1 ppm).....	130
Figura 103 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8.	132
Figura 104 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 104 a 160 ppm).....	132
Figura 105 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 31 a 63 ppm).....	133
Figura 106 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8.	134
Figura 107 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão da região 6,6-6,9 e 95-155 ppm).	134
Figura 108 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8.....	135
Figura 109 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -feruloil-3-metoxitiramina (MP-7).	136
Figura 110 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -sinapoil-tiramina (MP-8).	136
Figura 111 - Espectro de IES-EMAR de MP-9,10 ($[\text{M} + \text{Na}]$, modo de ionização positivo).....	141

Figura 112 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.	144
Figura 113 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão na região 5,8 a 7,5 ppm).....	144
Figura 114 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão na região 2,5 a 4,3 ppm).....	145
Figura 115 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP- 10,11.	148
Figura 116 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-8,9 (expansão na região 33 a 60 ppm).....	148
Figura 117 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-8,9 (expansão na região 33 a 60 ppm).....	149
Figura 118 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.	149
Figura 119 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 2,5-7,5 e 30-140 ppm).	150
Figura 120 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 2,5-4,3 e 30-60 ppm).	150
Figura 121 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.	151
Figura 122 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 6,3-7,6 e 40-170 ppm).	151
Figura 123 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.....	152
Figura 124 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 3,9-6,9 e 4,0-7,5 ppm).....	152
Figura 125 - Espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.....	153
Figura 126 - Estrutura química da <i>N-trans</i> -grossamida (MP-9).	154
Figura 127 - Estrutura química da <i>N-cis</i> -grossamida (MP-10).....	154
Figura 128 - Correlações chave HMBC (seta vermelha) e COSY (linhas grossas).	159
Figura 129 - Correlações chave HBMC (seta vermelha), COSY (linhas grossas)..	159

LISTAS DE QUADROS

Quadro 1 - Substâncias isoladas na família Solanaceae.	30
Quadro 2 - Substâncias isoladas na tribo Cestreae.	34
Quadro 3 - Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do EEB das raízes de <i>Metternichia princeps</i>	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-1 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -sinapoiloctapamina ^b .	70
Tabela 2 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-1 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b .	71
Tabela 3 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-2 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -feruloiloctapamina ^b .	81
Tabela 4 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-3 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -sinapoiloctapamina ^b .	92
Tabela 5 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-3 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b .	93
Tabela 6 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-4 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -feruloiltiramina ^b .	106
Tabela 7 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-4 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b .	107
Tabela 8 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-5 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-cis</i> -feruloiltiramina ^b .	115
Tabela 9 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-5 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b .	116
Tabela 10 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-6 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -p-cumaroiltiramina ^b .	125
Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-6 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b .	126
Tabela 12 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-7 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -feruloil-3-metoxitiramina ^b .	137
Tabela 13 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-7 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b .	138
Tabela 14 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-8 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -sinapoiltiramina ^b .	139
Tabela 15 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-8 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b .	140
Tabela 16 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-9 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -grossamida ^b .	155

Tabela 17 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-9 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b	156
Tabela 18 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-10 ^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da <i>N-trans</i> -grossamida ^b	157
Tabela 19 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-10 ^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC ^b	158

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

br. *d* – Duplete largo

CC - Cromatografia de coluna

CCDA - Cromatografia de Camada Delgada Analítica

CLAE – Cromatografia Líquida de alta eficiência

COSY - *Correlation Spectroscopy*

d - Duplete

dd – Duplo duplete

HMBC - *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HSQC - Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy

CLMP - Cromatografia Líquida de Média pressão

MS - Metabólitos secundários

NOESY - Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

Pág. - Página

RMN ¹³C – Ressonância magnética nuclear de Carbono 13

RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

s – Simpleto

t – Tripleto

δ – Descolamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	27
2.1 Considerações sobre a família Solanaceae Juss.	27
2.2 <i>Metternichia</i>: um gênero monotípico.....	32
2.3 Considerações sobre as amidas fenólicas	36
3 OBJETIVOS.....	42
4 MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1 Métodos cromatográficos.....	44
4.2 Métodos Espectroscópicos.....	45
4.2.1 Cromatografia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	45
4.3 Coleta e identificação do material vegetal	45
4.4 Processamento do material vegetal de <i>Metternichia princeps</i>	46
4.5 Avaliação do perfil de RMN dos extratos de <i>Metternichia princeps</i>	46
4.6 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de <i>Metternichia princeps</i>	46
4.7 Particionamento do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de <i>Metternichia princeps</i>	47
4.8 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica de <i>Metternichia princeps</i>	49
4.9 Monitoramento das frações obtidas por CLAE preparativo via IES-EMAR..	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 Identificação estrutural de MP-1	53
5.2 Identificação estrutural de MP-2	72
5.3 Identificação estrutural de MP-3	82
5.4 Identificação estrutural de MP-4	94
5.5 Identificação estrutural de MP-5	108

5.6 Identificação estrutural de MP-6	117
5.7 Identificação estrutural de MP-7 e MP-8.....	127
5.8 Identificação estrutural de MP-9 e MP-10.....	141
6 CONCLUSÕES	161
REFERÊNCIAS.....	162

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais vegetais são importantes fontes de materiais econômicos, a saber princípios ativos, protótipos de fármacos (CASANOVA; COSTA, 2017), óleos essenciais (LIMA et al., 2021), fitocosméticos (ALVES et al., 2020) e praguicidas (CARNEIRO et al., 2014). Nesse cenário, o Brasil ostenta uma posição privilegiada, visto ser o país com maior biodiversidade mundial, dispersas em seus 357 milhões de hectares de florestas tropicais, que em sua totalidade representam 30% das florestas tropicais do planeta (DE MELO et al., 2021).

A exploração desse vasto potencial esbarra na necessidade primária de conhecer a composição química dessas espécies vegetais, o que para o Brasil considera-se um grande desafio. Há cerca de 30 anos atrás desconhecia-se a composição química de 99,6% das plantas da flora nacional, estimadas entre 40 mil a 55 mil espécies, muito embora essa perspectiva tenha melhorado nos últimos anos, em parte, devido à busca de novas substâncias bioativas através da fitoquímica (SCHULTES, 1981; CARNEIRO et al., 2014).

O desenvolvimento de pesquisas em fitoquímica tem motivado esses avanços, visto que, através de métodos extrativos, cromatográficos e espectroscópicos, promove a extração, isolamento, purificação e caracterização ou elucidação estrutural de metabólitos secundários vegetais, corroborando para a ampliação do conhecimento sobre a composição química de espécies vegetais (PICOLLI et al., 2015).

Essas investigações tendem a se tornarem ainda mais eficientes, devido a utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) nos últimos anos. Essa técnica tem revolucionado o estudo fitoquímico, visto que traz como incrementos para a separação de constituintes químicos, a alta seletividade e eficiência de separação e posteriormente abre-se um leque enorme para sistemas de detecção que possam ser utilizados (ABREU et al., 2019).

A *Metternichia princeps* é uma dentre as várias espécies nacionais que nunca foram alvos de estudos fitoquímicos mais detalhados. Pertencente à família Solanaceae, ela se distribui em um território que abrange a mata atlântica desde o estado do Rio de Janeiro até a Bahia, onde foi associada a casos de intoxicação animal (MARAN et al., 2012).

Tendo por fundamento a importância do estudo fitoquímico de espécies da flora nacional por meio do uso de técnicas clássicas e modernas de análises. Esse trabalho se propõe a realizar a primeira investigação fitoquímica da espécie endêmica da mata atlântica e monotípica do gênero *Metternichia*, denominada *Metternichia princeps*, a qual se encontra associada a casos de intoxicação animal.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA



2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Solanaceae Juss.

A família Solanaceae, descrita por Jussieu em 1789, é uma importante família de angiospermas, distribuída nos principais continentes do mundo, sendo estimado um total de 98 gêneros e 2800 espécies (Figura 1). A maior biodiversidade, ocorre nos neotrópicos, especialmente na América do Sul, onde são estimadas 1680 espécies dessa família. Nacionalmente, encontra-se expressiva representatividade atribuída a cerca de 35 gêneros e 475 espécies dispersas praticamente por toda extensão territorial brasileira, sendo constatado 47% de espécies endêmicas (DUPIN et al., 2016; PALCHETTI; CANTERO; BARBOZA, 2020).

Figura 1 - Distribuição geográfica da família Solanaceae Juss. no mundo representada em verde.



Fonte: <http://legacy.tropicos.org/Name/42000282?tab=maps>, acessado em: 05 de mai. 2020.

A distribuição das espécies nos gêneros da família Solanaceae apresenta-se não uniforme. O gênero *Solanum* mais representativo da família, alberga mais de 50% das espécies e se encontra sucedido por *Lycianthes* (Dunal) Hassl., *Cestrum* L., *Nolana* L. f. e *Nicotiana* L., *Physalis* e *Lycium* L. entre os sete gêneros mais representativos (CHRISTENHUSZ et al., 2017; CHASE et al., 2018). Se por um lado

existem gêneros dotados de alta representatividade, outros exemplares são formados por um pequeno número de espécies. O gênero *Metternichia* é considerado monotípico, motivado principalmente pelas características únicas do seu cariótipo, que pode se refletir em particularidades e semelhanças quanto à biossíntese de metabólitos secundários e outros aspectos fenotípicos a serem investigados (MARAN et al., 2012).

Fato é, que as espécies de Solanaceae tem participado de muitas necessidades da vida humana, e atraído a atenção de muitos pesquisadores, devido sua importância econômica e ecológica. Por serem dotadas da capacidade de biossintetizar substâncias que afetam: insetos, sejam herbívoros ou outras pragas. Além das propriedades inseticidas, atividade moluscicida, acaricida, nematocida, fungicida e bactericida (CHOWANSKI et al., 2016).

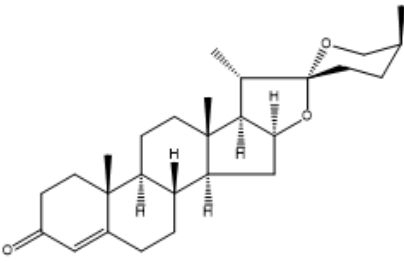
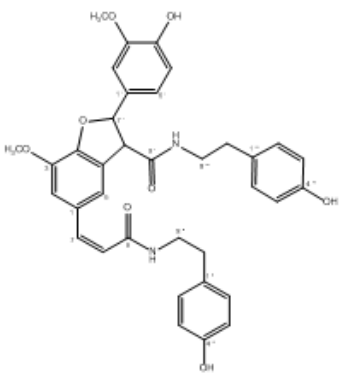
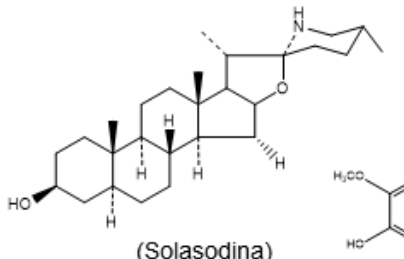
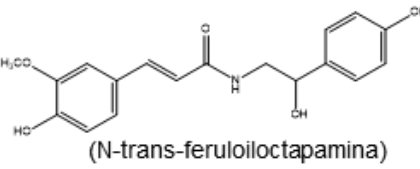
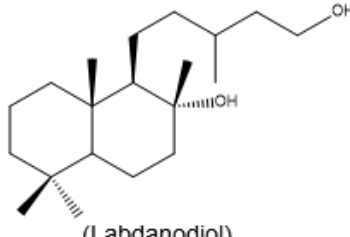
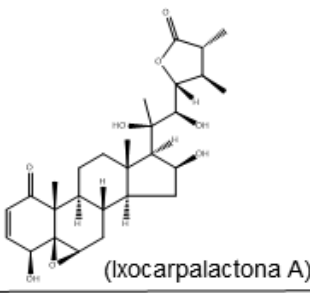
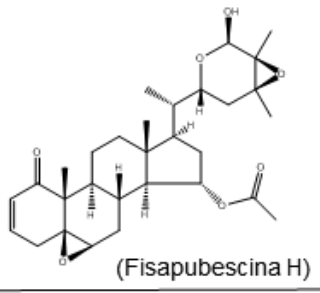
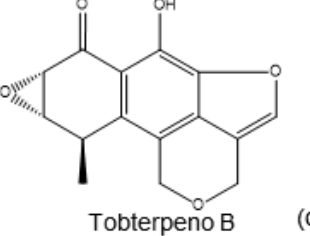
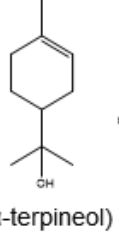
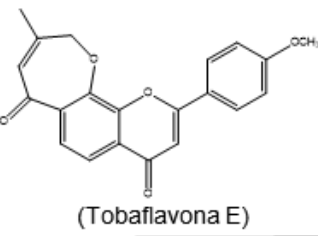
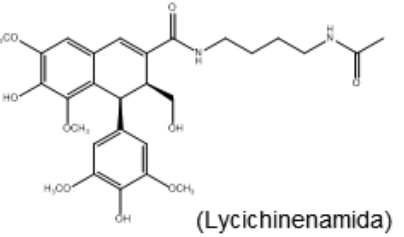
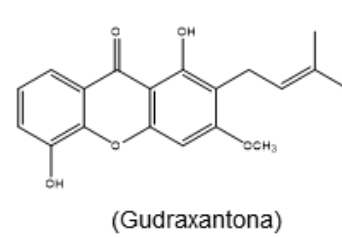
As substâncias bioativas isoladas na família Solanaceae atuam por diferentes mecanismos, não necessariamente associados à toxicidade seletiva. Algumas espécies conhecidas como “ervas enfeitiçadas”, são ricas em alcalóides, tóxicas ou até mortais. Essas foram utilizadas como fonte de substâncias recreativas, venenos, medicamentos e adjuvantes de caça, magia e guerra. O seu perfil de alcalóides contém majoritariamente alcalóides tropânicos anticolinérgicos, como a hiosciamina e escopolamina, antagonista de receptores muscarínicos que se expressam no músculo liso, glândulas exócrinas e no sistema nervoso (FATUR; KREFT, 2021).

No gênero *Solanum*, já foram identificados cerca de 670 compostos, nos quais se incluem a classes das saponinas esteroidais consideradas fitomarcadores do gênero, alcalóides esteróides e outros alcalóides, glicosídeos pregnanos, terpenos, flavonóides, lignanas, cumarinas, cumarino lignóides e cumestanos, esteróis, amidas fenilpropanoídicas e outros compostos fenólicos (KAUNDA; ZHANG, 2019).

A constituição química das espécies do gênero *Lycianthes* se caracteriza por uma maior presença de antocianidinas, catequinas, taninos e triterpenos, contrastando com o gênero *Solanum* (VASQUÉZ, 2014). Os diterpenos lábdanos são o grupo de metabólitos secundários mais relatado no gênero *Nolana* (CIFUENTES et al., 2020). A maior fonte de vitanolídeos ou vitaesteróides se encontram nas espécies do gênero *Physalis* (HUANG et al., 2020), enquanto o gênero *Nicotiana* se destaca pelos diterpenos e compostos aromáticos, voláteis a exemplo dos sesquiterpenóides presentes na composição de óleos essenciais (JASSBI et al., 2017). O gênero *Lycium*

tem sua posição de destaque ocupada pelos fenilpropanóides, lignanamidas e outros compostos fenólicos (Quadro 1) (DUMONT et al., 2020; HUANG et al., 2019).

Quadro 1 - Substâncias isoladas na família Solanaceae.

Gênero	Substância isolada	Referência
<i>Solanum</i>	 (Diosgenina)	LOPEZ et al., 2010
	 (Grossamida)	DA CRUZ et al., 2019
	 (Solasodina)	SUN et al., 2014
	 (N-trans-feruloilactapamina)	SUN et al., 2015
<i>Nolana</i>	 (Labdanodiol)	CHAMMY; PIOVANO; GABARINO, 2002
<i>Physalis</i>	 (Ixocarpalactona A)	HUANG et al., 2020
	 (Fisapubescina H)	
<i>Nicotiana</i>	 Tobterpeno B	JASSBI et al., 2017
	 (α -terpineol)	
<i>Lycium</i>	 (Tobaflavona E)	HUANG et al., 2019
	 (Lycichinenamida)	
	 (Gudraxantona)	

Fonte: próprio autor

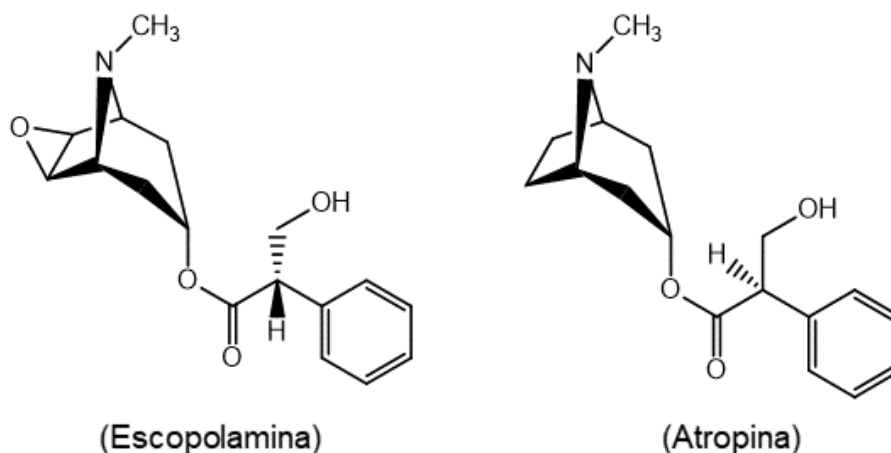
Essa relevância econômica é fomentada por culturas de relevância mundial. O tabaco (*Nicotiana tabacum*), mandrágora (*Mandragora officinarum*), beladona (*Atropa belladonna*) e Jimson weed (*Datura stramonium*), são exemplos de plantas medicinais, enquanto as petúnias como a *Petunia exserta*, são comercializadas como plantas ornamentais (GHATAK et al., 2017; HE; LI; HE, 2019). Na área de alimentos, a batata (*Solanum tuberosum*), o tomate (*Solanum lycopersicum*), a berinjela (*Solanum melongena*) e a pimenta (*Capsicum annuum*) ocupam, representativos 39% e 66% da produção hortícola do mundo e da Europa, respectivamente. (MORRIS; TAYLOR, 2017).

Os metabólitos secundários de *Atropa belladonna* são responsáveis por várias propriedades farmacológicas associadas ao seu uso. A hiosciamina possui atividade antiespasmódica para o tratamento de cólicas abdominais e dor, capacidade de reduzir a rigidez e tremores característicos do parkinsonismo, além de ser um agente antiarrítmico efetivo para casos agudos. A quercetina é um flavonóide usado para o tratamento da febre, úlcera péptica, inflamação, asma, gota, infecções virais e síndrome da fadiga crônica. Enquanto a 6,7-Dihidroxi-8-metoxi-cumarina, evidencia propriedade antifúngica e anti-inflamatória (MAURYA et al., 2020).

A atropina é um fármaco utilizado na composição de medicamentos indicados para realização de exames de fundo de olho, exames de refração, prevenção de aderência da íris ao cristalino nas irites, iridoclitites e coroidites e nas ceratites (Figura 2). Por meio de antagonismo competitivo da ação da acetilcolina e dos agonistas muscarínicos, o fármaco provoca bloqueio da resposta do esfíncter muscular da íris e do músculo ciliar do cristalino à estimulação dos nervos pós-ganglionares colinérgicos, produzindo midríase e cicloplegia (ALLERGAN, 2021).

A escopolamina é utilizada na forma de butilbrometo de escopolamina, o princípio ativo de um medicamento indicado para o tratamento sintomático de cólicas do trato gastrointestinal e genitourinário, assim como cólicas e discinesias das vias biliares (Figura 2). O fármaco promove ação anticolinérgica nos gânglios intramurais das vísceras ocas e atividade antimuscarínica, provocando atividade espasmolítica sobre a musculatura lisa de órgãos pertencentes a esses sistemas (PRATI-DONADUZZI, 2021).

Figura 2 - Metabólitos secundários da família Solanaceae utilizados como fármacos na terapêutica.



Fonte: próprio autor

2.2 *Metternichia*: um gênero monotípico

Vários gêneros da família Solanaceae apresentam problemas para definição de suas relações e delineamentos. O gênero *Metternichia* teve sua posição sistemática amplamente debatida ao longo dos anos, e devido semelhanças morfológicas com o Gênero *Sessea* Ruiz & Pav. foi considerado inicialmente como pertencente à Tribo Metternichieae Miers., subsequentemente transferido para a Tribo Cestreae G. Don (LISCOVSKY; COSA; BARBOZA, 2009).

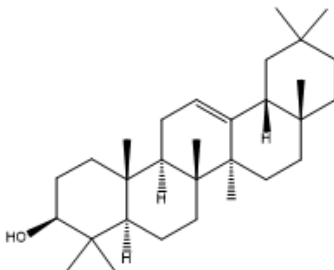
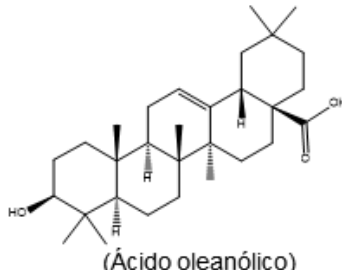
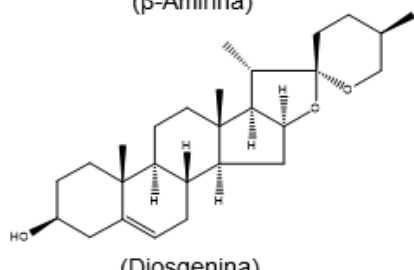
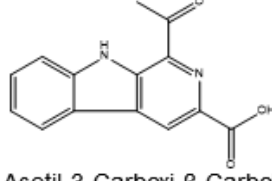
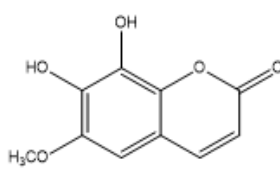
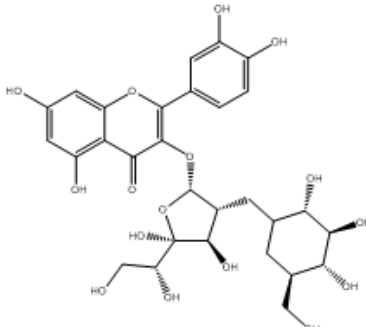
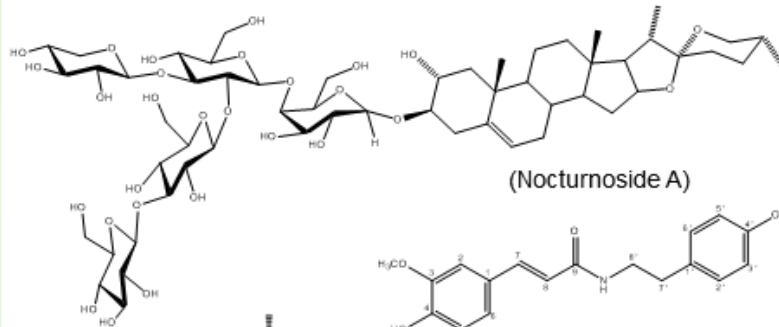
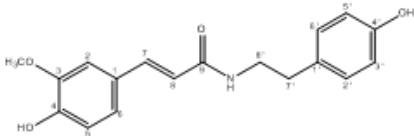
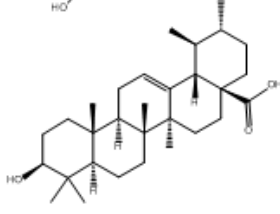
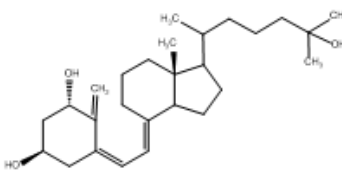
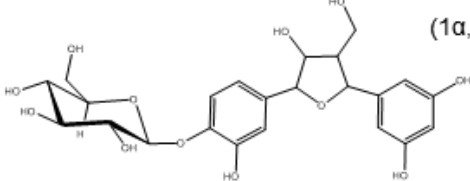
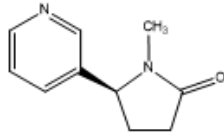
A reclassificação recente do Gênero *Metternichia* e a sua separação da tribo Cestreae para a tribo monotípica Metternichieae Miers, foi motivada pelas diferenças morfológicas da semente, e a excassez de endosperma. O número de cromossomos ($x=13$) da tribo Metternichieae Miers, frente aos cariótipos $x=8$, comumente encontrados na tribo Cestreae suportaram a proposição (LISCOVSKY; COSA; BARBOZA, 2009; URDAMPILLETA et al., 2014).

A tribo Cestreae se apresenta formada por três gêneros: *Cestrum*, *Sessea* e *Vestia*. O gênero *Sessea* separado de *Metternichia* diferenciando-se morfológicamente por traços de pólen, antera e semente, apresenta um cenário de pesquisa, parecido ao encontrado no gênero *Metternichia*. Apesar de existirem relatos de intoxicação animal (bovinos) pela ingestão acidental de suas espécies, as mesmas nunca foram alvos de estudos fitoquímicos mais detalhados (CANELLA; TOKARNIA; DÖBEREINER, 1968).

No gênero *Vestia*, entretanto, já foram identificados um flavonóide glicosilado denominado quercetina-3- α -(2-O- β -D-glicopiranosil)-D-glicofuranosídeo (ERAZO et al., 1971), dois triterpenos pentacíclicos, β -amirina e ácido oleanólico, fraxetina, 1-acetil-3-carboxi- β -carbolina, e a saponina esteroidal diosgenina (Quadro 2) (FAINI et al., 1980).

Enquanto, no gênero *Cestrum* foram encontradas lignanamidas e alcalóides, contrastando com os demais gêneros da Tribo. Entre as várias substâncias isoladas, já foram identificados nocturnoside A (saponina esteroidal), cotinina (alcalóide), cestrumoside (lignanamida), ácido ursólico e oleanólico (triterpenos), 1 α , 25-colecalciferol e a amida fenilpropanoídica *N-trans*-feruloiltiramina (Quadro 2) (BEGUM; GOYAL, 2007).

Quadro 2 - Substâncias isoladas na tribo Cestreae.

Gênero	Substância isolada	Referência
<i>Vestia</i>	 (β-Amirina)	FAINI et al., 1980
	 (Ácido oleanólico)	
	 (Diosgenina)	
	 (1-Acetil-3-Carboxi-β-Carbolina)	ERAZO et al., 1971
	 (Fraxetina)	
	 Quercetina-3-α-(2-O-β-D-glicopiranosil)-D-glicofuranosídeo	
<i>Cestrum</i>	 (Nocturnoside A)	BEGUN; GOYAL, 2007
	 (N-trans-feruloiltiramina)	
	 (Ácido ursólico)	
	 (1α, 25-dihidroxicolecalciferol)	
	 (Cestrumoside)	
	 (Cotina)	

Fonte: próprio autor

O gênero *Metternichia* é monotípico; formado por uma única espécie denominada *Metternichia princeps* J. C. Mikan, a qual consiste em uma árvore endêmica da mata atlântica localizada do estado do Rio de Janeiro até a Bahia (Figura 3). Segundo o conhecimento popular essas plantas recebem o nome de “café-do-mato”, “trombeteira” e “jasmin-do-morro” (MARAN et al., 2012).

A espécie *M. princeps* J. C. Mikan endêmica da mata atlântica, compreende *M. princeps* var. *princeps*, variedade que ocorre nas encostas do Jardim botânico do Rio de Janeiro e nas matas do Parque Nacional da Tijuca, e *M. princeps macrocalyx* Carv., nativa da Bahia e de Minas Gerais (ARAÚJO; SONKIN., 1984).

Figura 3 - Distribuição geográfica do gênero *Metternichia* J. G. Mikan no mundo representada em verde.



Fonte: <http://legacy.tropicos.org/Name/40018186?tab=maps>, acessado em: 05 de mai. 2020.

Embora fosse notada sua distribuição sobre a mata atlântica desde o estado do Rio de Janeiro até a Bahia, um primeiro surto de intoxicação de animais relatado se deu em caprinos no município de Itaguaí, estado do Rio de Janeiro onde a espécie *M. princeps* foi responsabilizada por mortes em uma criação de cabras. A sua toxicidade foi comprovada por ensaio de intoxicação experimental em caprinos e coelhos. Em caprinos as alterações foram essencialmente renais, enquanto em coelhos predominaram as alterações cardíacas e hepáticas (MARAN et al., 2012; PRADO et al., 2012).

Outros testes de intoxicação experimental demonstraram a sensibilidade de ovinos e bovinos à intoxicação por *M. princeps*, embora a dose letal tenha sido superior à de caprinos (CALDAS et al., 2012).

Posteriormente ao caso de Itaguaí, foi evidenciado um surto de intoxicação por *M. princeps* em caprinos no estado da Bahia. O incidente provocou a morte de 3 dentre 8 caprinos. Na necropsia, os rins apresentaram acentuada necrose de coagulação do epitélio tubular além de túbulos com regeneração epitelial (PEDROSO et al., 2015).

2.3 Considerações sobre as amidas fenólicas

As amidas fenilpropanoídicas são tipos de amidas pertencentes a uma classe de compostos derivados do ácido cinâmico e da 2-feniletilamina, onde seus derivados são conectados via uma ligação amida. A ocorrência desses metabólitos secundários na família Solanaceae, perpassa pelos gêneros *Capsicum*, *Datura*, *Lycianthes*, *Lycium*, *Lycopersicon*, *Solanum* e *Withania*, no que parece ser uma biossíntese comum à família (SUN et al., 2015).

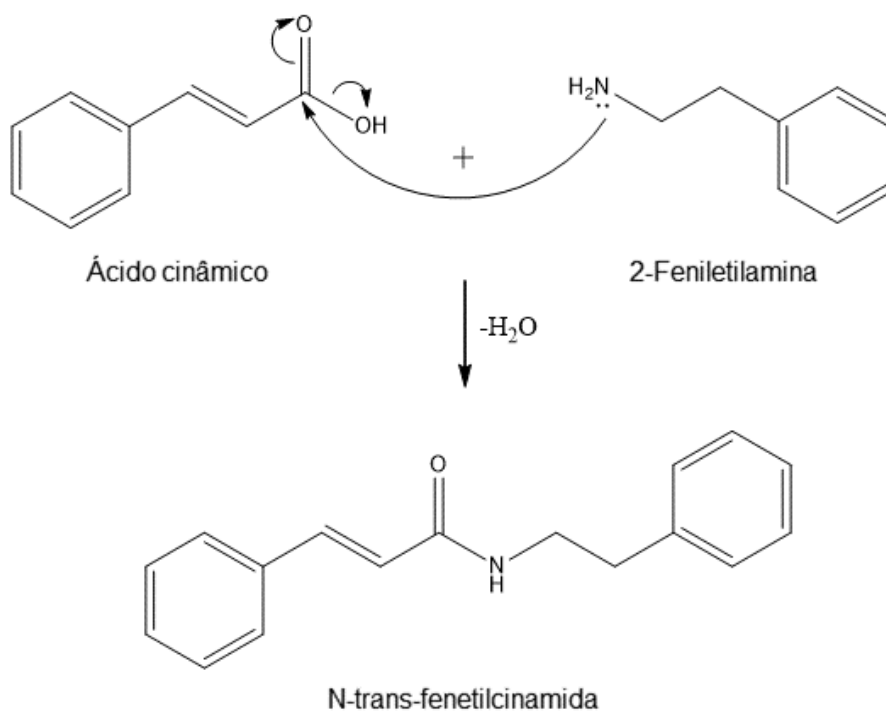
Essas amidas fenilpropanoídicas são denominadas também de alcalóides de fenetilcinamida. São classificadas, portanto, como protoalcalóides, por serem biogeneticamente derivadas dos aminoácidos fenilalanina e/ou tirosina via tiramina, e não apresentarem o nitrogênio em um sistema heterocíclico. Essas substâncias são semelhantes aos alcalóides de fenetilaminas como a tiramina; um de seus precursores, diferenciando-se por sua biossíntese de via mista (TELES et al., 2019).

A estrutura base de uma amida fenilpropanoídica varia de acordo com o derivado de ácido cinâmico e 2-feniletilamina utilizados como substratos na biossíntese. A estrutura mais simples dessa classe, no entanto, é a *N-trans*-fenetilcinamida (Figura 4, pág. 38). Essa substância está relacionada a processos de defesa do vegetal frente a microorganismos, por possuir a capacidade de inibir mecanismos de *quorum sensing* (QS), no qual bactérias usam pequenas moléculas de sinalização química para coordenar expressão gênica da planta, regulando sua virulência e induzindo doenças no vegetal (DAVID et al., 2018).

A primeira cinamoilfeniletilamina foi isolada e estruturalmente elucidada a mais de 50 anos por meio de estudos fitoquímicos. A distribuição dos derivados de cinamoilfeniletilamina é ampla no reino vegetal, sendo conhecidas cerca de 30 famílias com a capacidade de biossintetizar esses metabólitos de grande interesse,

por estarem associados a várias atividades biológicas. A feruloiltiramina e p-cumaroiltiramina são os exemplares mais onipresentes dessa classe (PEDERSEN et al., 2010).

Figura 4 - Estrutura base dos precursores e da N-trans-fenetilcinamida.



Fonte: próprio autor.

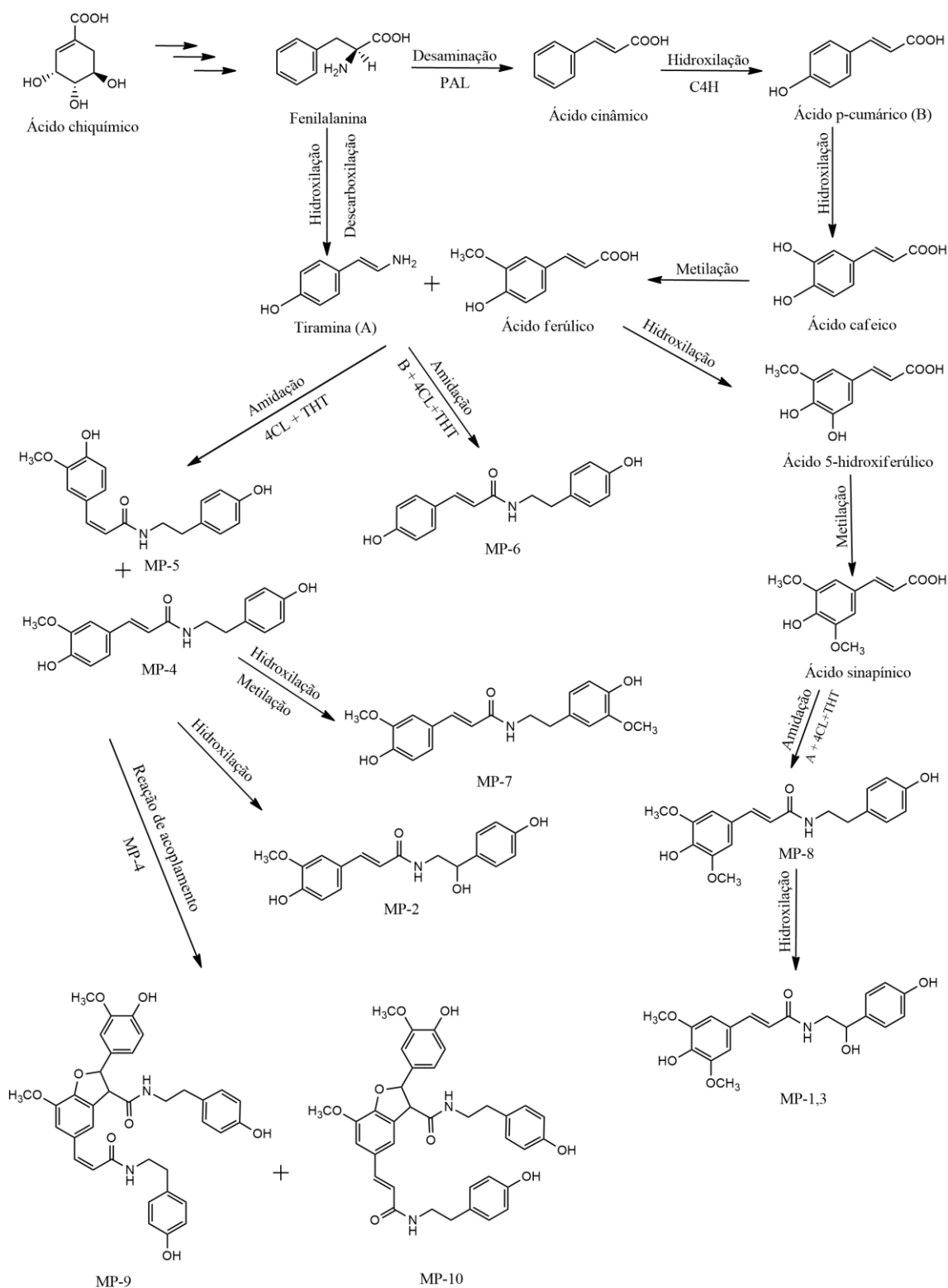
Essas amidas são biossintetizadas em plantas via ácido chiquímico por meio de derivados da fenilalanina e tirosina. A Amônia-liase da fenilalanina (PAL) catalisa a reação de desaminação da fenilalanina em ácido cinâmico. A 4-hidroxilase do cinamato (C4H) permite a conversão de ácido cinâmico em ácido p-cumárico, o qual por hidroxilação, seguida de metilação pode ser convertido em ácido cafeico e ácido ferúlico respectivamente. Os ácidos hidroxinâmicos formados sofrem esterificação catalisada pela ligase da 4-(hidroxi)-cinamoil-CoA para produção dos ésteres de hidroxicinamoil-CoA. A tiramina obtida via hidroxilação e descarboxilação da fenilalanina sofre condensação em conjunto com os ésteres de hidroxicinamoil-CoA e sob ação catalítica da transferase de hidroxicinamoil-CoA: tiramina N-(hidroxicinamoil) (THT) para formação das amidas fenilpropanoídicas (Figura 5, pág. 40). A enzima THT

apresenta-se em exemplares da família Solanaceae como *Solanum tuberosum* e *Nicotiana tabacum* (LEONARD et al., 2020; WANG et al., 2017).

O mecanismo biossintético detalhado das lignanamidas ainda não está definido, no entanto sabe-se que em vegetais, esses metabólitos secundários são derivados de um acoplamento oxidativo de amidas fenilpropanoídicas (Figura 5, pág 39) (LEONARD et al., 2020). Possivelmente, esse mecanismo de acoplamento se inicia através da abstração de um hidrogênio da função fenol da molécula, para formação de um radical. O elétron desemparelhado é deslocado para obtenção de diferentes estruturas de ressonância da molécula. O acoplamento das estruturas de ressonância B e D, acarreta na extinção das formas radicalares e formação do anel 2,3-dihidrofurano tetrassubstituindo da grossamida. A presença de monômeros *N-cis*-feruloiltiramina ou *N-trans*-feruloiltiramina, nessa proposta, determinam a formação da *N-cis*-grossamida ou *N-trans*-grossamida (Figura 6).

As lignanamidas como grossamida e cannabisina D e G apresentaram um potencial farmacológico onde já foram evidenciadas atividade citotóxica, enquanto algumas amidas fenilpropanoídicas demonstraram atividade anti-inflamatória, antineoplásica, analgésica, assim como citotóxica (LÓPEZ et al., 2014).

Figura 5 - Proposta de via biossintética para amidas fenilpropanoídicas e ligananamidas de *Metternichia princeps*.



PAL: Amonia-liase da fenilalanina

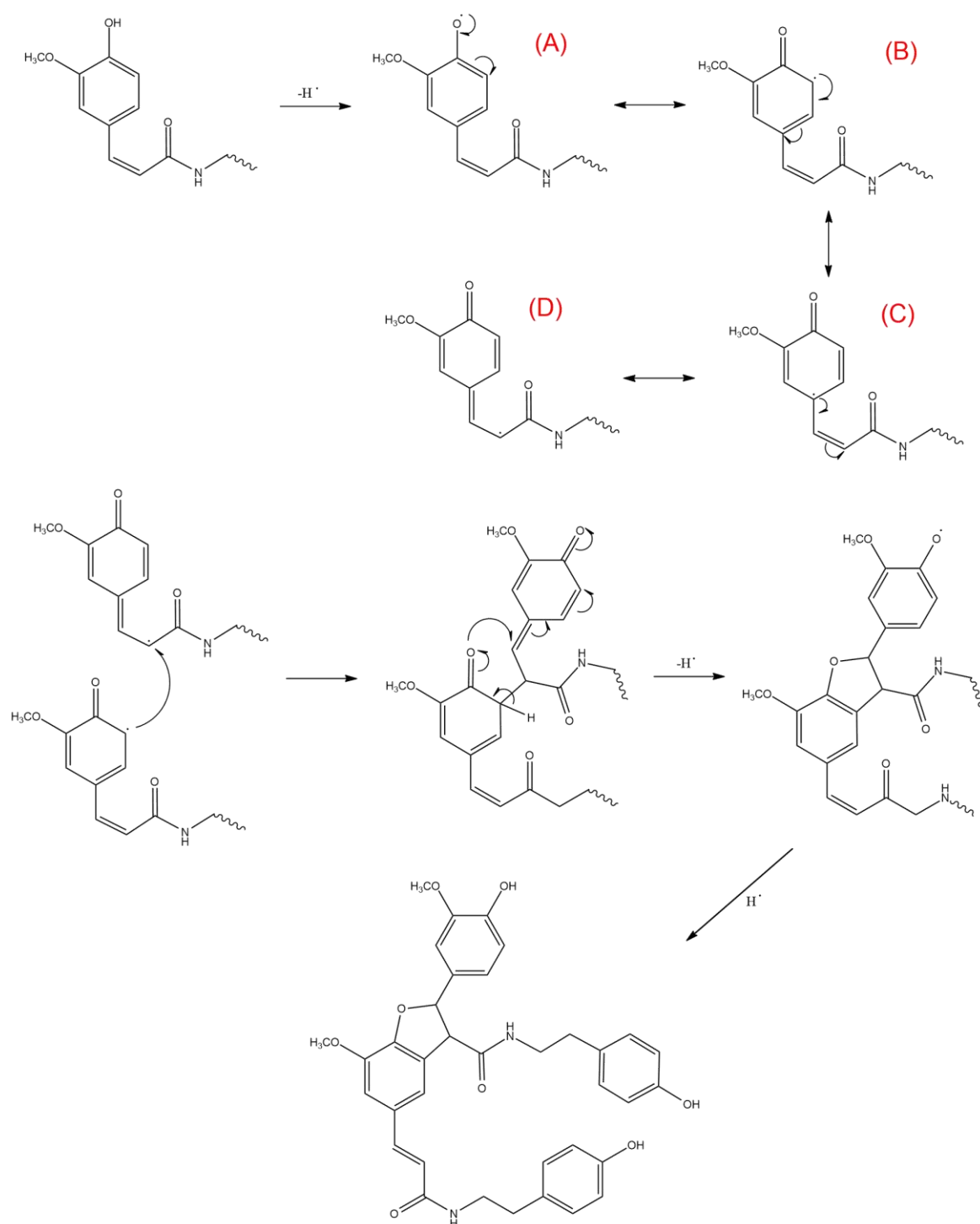
CH4: 4-hidroxilase do cinamato

4CL: Ligase da 4-(hidroxi)cinamoil-CoA

THT: Transferase da hidroxicinamoil-CoA:tiramina N-(hidroxicinamoil)

Fonte: próprio autor

Figura 6 - Proposta de mecanismo para biossíntese de lignanamidas em *Metternichia princeps*.



Fonte: próprio autor

OBJETIVOS



3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar a investigação fitoquímica de *Metternichia princeps* (Solanaceae).

3.2 Objetivos específicos

- Extrair os metabólitos secundários presentes em *Metternichia princeps*.
- Desenvolver metodologia analítica CLAE-DAD e promover transposição para escala preparativa para isolamento e purificação de metabólitos secundários presentes na espécie.
- Identificar e caracterizar as estruturas dos compostos isolados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C (uni e bidimensionais) e espectrometria de massas de alta resolução.

MATERIAIS E MÉTODOS



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Métodos cromatográficos

O isolamento, purificação e análise dos constituintes químicos foram realizados utilizando-se de cromatografia líquida de média pressão (CLMP), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia de camada delgada analítica (CCDA). Na etapa de triagem, os métodos espectroscópicos foram associados com métodos cromatográficos de análise.

Para a CLMP utilizou-se sílica gel (SiliaFlash® G60 de partículas com dimensões entre 60-200 μm), tendo como suporte colunas específicas de comprimento e diâmetro compatível com a quantidade de amostra a ser aplicada. A fase móvel foi composta por solventes comerciais para eluição, a saber, n-hexano, acetato de etila (AcEOt) e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias adicionados em gradiente crescente de polaridade.

Na CLAE foi utilizado um cromatógrafo da Shimadzu constituído de duas bombas de alta pressão LC-10ADvp, detector de arranjo de diodos SPD-M10Avp, forno CTO10Avp, controlador SCL-10Avp, desgaseificador DGU-14a e injetor manual com alça de amostragem de 20 μL e 100 μL , para CLAE analítico e preparativo, respectivamente. Foram utilizadas colunas cromatográficas da marca ACE C18, com 5 μm de tamanho de partícula e dimensões de 250 x 4,6 mm (analítica) e 250 x 21,2 mm (preparativa). Foi utilizado também, para o preparo das amostras o aparelho de banho de ultrassom (Unique-USC-1600) e filtros para seringa em PVDF com 0,45 μm de diâmetro de poro e diâmetro de 30 mm (Allcrom).

Para análise do processo de isolamento e purificação das frações obtidas, compreensão do perfil de separação cromatográfico e definição dos sistemas de eluição apropriados, foi utilizada a cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), composta por cromatofolha de alumínio – Sílica gel 60 F₂₅₄ da MERCK. A revelação das substâncias em análise foi proporcionada pela exposição das cromatoplasas à radiação ultravioleta (UV) sob os comprimentos de onda de 254 e 366 nm, em câmara escura ultravioleta. As semelhanças e diferenças entre os fatores de retenção (R_f) inerentes às substâncias, direcionaram a reunião das frações. De forma alternativa ou complementar foi gerado um perfil de RMN ¹H para algumas frações.

4.2 Métodos Espectroscópicos

4.2.1 Cromatografia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE III HD (400 MHz), no laboratório multiusuário de caracterização e análise da UFPB (LMCA-UFPB). As amostras foram preparadas dissolvendo-se as mesmas em solventes deuterados; clorofórmio deuterado (CDCl_3), acetona (acetona-d_6) e metanol (CD_3OD) da marca Cambridge Isotope Laboratories.

Os deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. Os picos característicos dos hidrogênios pertencente às frações não deuteradas do clorofórmio (7,26 ppm), acetona (2,05) e metanol (4,87 ppm), serviram de referência para o RMN ^1H . Para os espectros de RMN de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram referenciados pelos sinais de carbono evidenciados pelo solvente deuterado: CDCl_3 (77,16 ppm), acetona (29,84 ppm) e metanol (49,00 ppm).

Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos por meio da técnica de APT, convencionando-se sinais positivos atribuídos aos carbonos não hidrogenados (C) e carbonos metilênicos (CH_2), enquanto os sinais negativos foram relacionados aos carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH_3).

Os espectros de RMN de hidrogênio foram otimizados pelas seguintes técnicas bidimensionais: HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation), NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy) e COSY (Correlation Spectroscopy).

4.3 Coleta e identificação do material vegetal

As raízes, caules, caules finos (galhos) e folhas de *M. princeps* foram coletados em 15 de janeiro de 2019, na localidade próxima à sede da Fazenda Esperança do estado, situada no município de Boa Vista do Tupim-BA. A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. Domingos Benício Oliveira Silva Cardoso do departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Foi produzida uma exsicata do material vegetal coletado, identificada pelo código ALCB 138826, a qual se encontra depositada no

Herbário Alexandre Leal Costa – ALCB da UFBA. A atividade utilizando essa espécie vegetal foi cadastrada no Sisgen e recebeu o número AA54545.

4.4 Processamento do material vegetal de *Metternichia princeps*

O material vegetal foi submetido à secagem, a uma temperatura de 40 °C, em estufa de circulação de ar por um período de 72 horas. Esse material desidratado foi triturado em moinho mecânico para obtenção do pó seco das raízes (4,38 Kg), caules (1,88 Kg), folhas (1 Kg) e galhos (1,10 Kg).

4.5 Avaliação do perfil de RMN dos extratos de *Metternichia princeps*

Para nortear a pesquisa fitoquímica, foram realizados dois tipos de microextrações sobre o pó das raízes, caules, galhos e folhas. Na extração 1 foram utilizados 10 g de pó para cada 120 mL de solução 80% v/v EtOH/H₂O sob maceração por um período de 72 horas. A extração 2 consistiu no emprego de 10 g de pó para cada 120 mL de solução (95% EtOH + 5% de uma solução 5% v/v Amônia/H₂O). Nesse processo a solução de amônia 5% foi adicionada previamente. O macerado foi filtrado para obtenção de um extrato líquido que após concentrado em evaporador rotativo a 40 °C foi transferido para um vidro de peso estimado. O líquido residual foi eliminado por dessecador acoplado a um sistema de vácuo. O peso final foi aferido em balança analítica.

Uma alíquota de cada extrato foi solubilizada em dimetilsulfóxido deuterado e submetida à espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) em um espectrômetro de RMN Bruker Ascend 400 MHz. Os dados espectrais foram processados através do software Mnova 6.0.2.

4.6 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de *Metternichia princeps*

O material vegetal seco e pulverizado das raízes (3,38 Kg) foi submetido à maceração em etanol 95% (v/v) por um período de 72 horas. Após a coleta do primeiro extrato outras bateladas foram realizadas, totalizando 3 extrações.

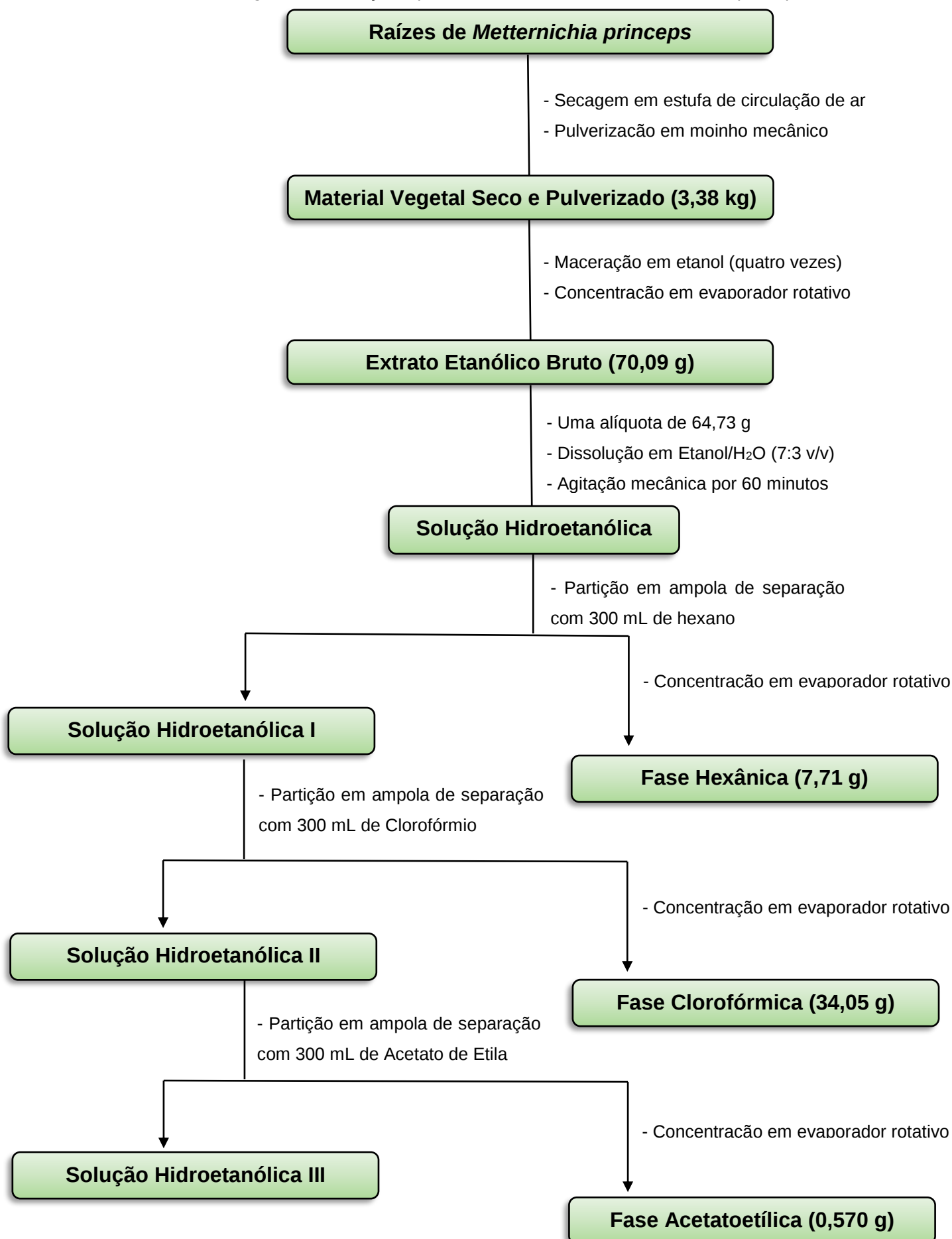
A suspensão foi submetida a uma filtração comum com papel de filtro preguado. O extrato líquido obtido por filtração foi concentrado em evaporador rotativo, a uma temperatura média de 40 °C, culminando na obtenção de 70,09 g de EEB, com rendimento de 2,07% em relação ao peso seco da planta.

4.7 Particionamento do extrato etanólico bruto (EEB) das raízes de *Metternichia princeps*

Uma alíquota do EEB (64,73 g) foi suspensa em 300 mL de uma solução EtOH:H₂O 7:3 (v/v) e homogeneizado sob agitação mecânica. A solução hidroetanólica foi submetida a uma partição líquido-líquido, em ampola de separação, utilizando os respectivos solventes em gradiente crescente de polaridade: hexano, clorofórmio e acetato de etila.

As fases obtidas em estado líquido foram concentradas em evaporador rotativo, a uma temperatura de 40 °C. O líquido residual foi eliminado em dessecador para pesagem, obtendo-se 7,71 g da fase hexânica (FHX), 34,05 g de fase clorofórmica (FCL), 570 mg da fase acetatoetílica (FAE) e 16,41 g fase hidroetanólica (FHE) (Figura 7).

Figura 7 - Obtenção e particionamento do EEB de *Metternichia princeps*.



4.8 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica de *Metternichia princeps*

Uma alíquota de 3,0 g da fase clorofórmica foi submetida à MPLC, utilizando-se como fase estacionária sílica flash G60 (partículas com dimensões entre 60-200 μm) e como fase móvel hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade. As frações foram coletadas em tubos de ensaio mediante diferença de coloração a olho nu, resultando em 12 frações. Essas 12 frações foram concentradas em evaporador rotativo a uma temperatura de 35 °C (Quadro 3, pag. 50).

As frações 32-39, 40-42 e 43-48 foram analisadas por CCDA utilizando diferentes sistemas de eluição. Valores de R_fs semelhantes revelados por meio da luz ultravioleta, justificou a reunião dessas frações, resultando na Fração 32-48 (130 mg) e outras 9 frações.

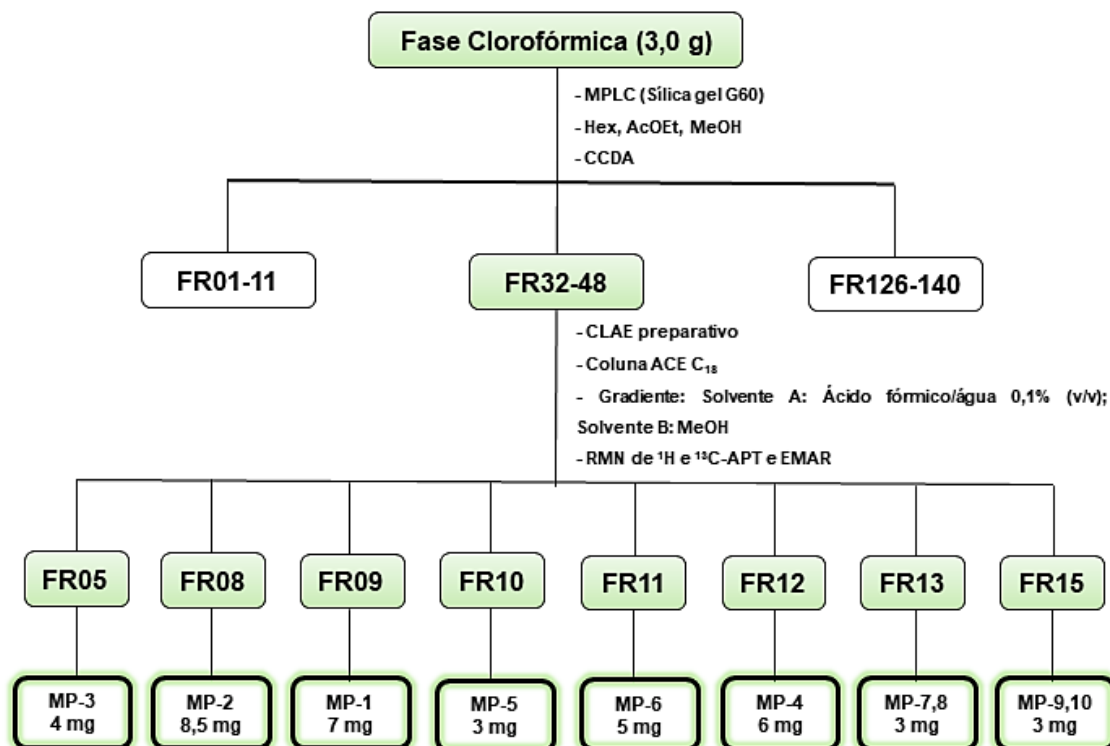
A fração 32:48 foi submetida à CLAE em escala analítica e posteriormente foi submetida ao fracionamento em escala preparativa utilizando o seguinte gradiente de eluição: solvente A = ácido fórmico/água 0,1% (v/v); solvente B = MeOH; eluição em gradiente iniciando com 5% de B e aumentando para 35% em 45 min, consecutivamente aumentado para 45% em 25 min, 70% em 50 min, 100% em 5 min, com platô de 15 min, retorno até 5% de B até 5 min, e platô final de 20 min. A eluição foi observada no comprimento de onda de 220 nm e 254 nm, o volume de injeção foi de 100 μL e taxa de fluxo de 8 mL/min, e o tempo de corrida: 165 min; fornecendo 15 frações (Figura 9, pág. 51). A análise dos espectros de RMN ^1H e APT permitiu a identificações de 10 compostos (Figura 8, pág. 50).

Quadro 3 - Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do EEB das raízes de *Metternichia princeps*.

Frações	Solvente
01-11	Hexano:AcOEt (7:3)
12-16	Hexano:AcOEt (6:4)
17-24	AcOEt:Hexano (6:4)
25-31	AcOEt:Hexano (8:2)
32-39	AcOEt:Hexano (9:1)
40-42	AcOEt:Hexano (95:05)
43-48	AcOEt (100%)
49-72	AcOEt:Metanol (9:1)
73-102	AcOEt:Metanol (8:2)
103-109	AcOEt:Metanol (6:4)
110-125	AcOEt:Metanol (1:1)
126-140	Metanol (100%)

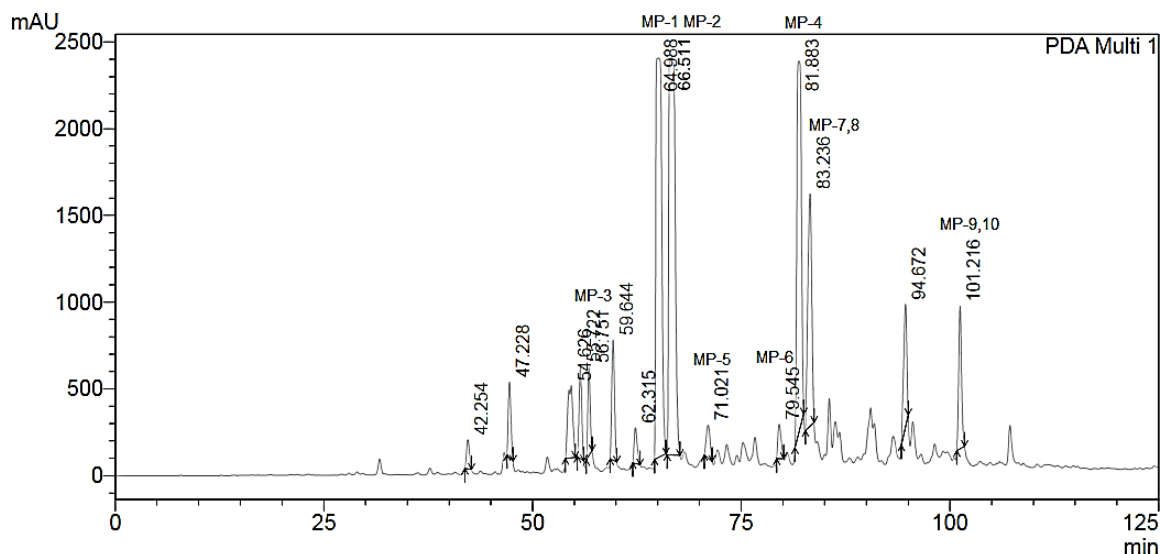
Fonte: Próprio autor

Figura 8 - Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do EEB das raízes de *Metternichia princeps*.



Fonte: Próprio autor.

Figura 9 - Cromatograma da fração 32-48 em 254 nm com identificação das substâncias isoladas de *M. princeps*.



Fonte: próprio autor

4.9 Monitoramento das frações obtidas por CLAE preparativo via IES-EMAR

Durante o processo de coleta e secagem das frações obtidas por CLAE preparativo, uma alíquota de 500 μ L das frações coletadas, foram submetidas via infusão direta da amostra, à análise por espectrometria de massas de alta resolução. As análises foram realizadas utilizando um espectrômetro de massas de alta resolução (Brucker, MicroTOF-II) situado no LMCA-UFPB, por meio da técnica de ionização por eletrospray, no modo positivo.

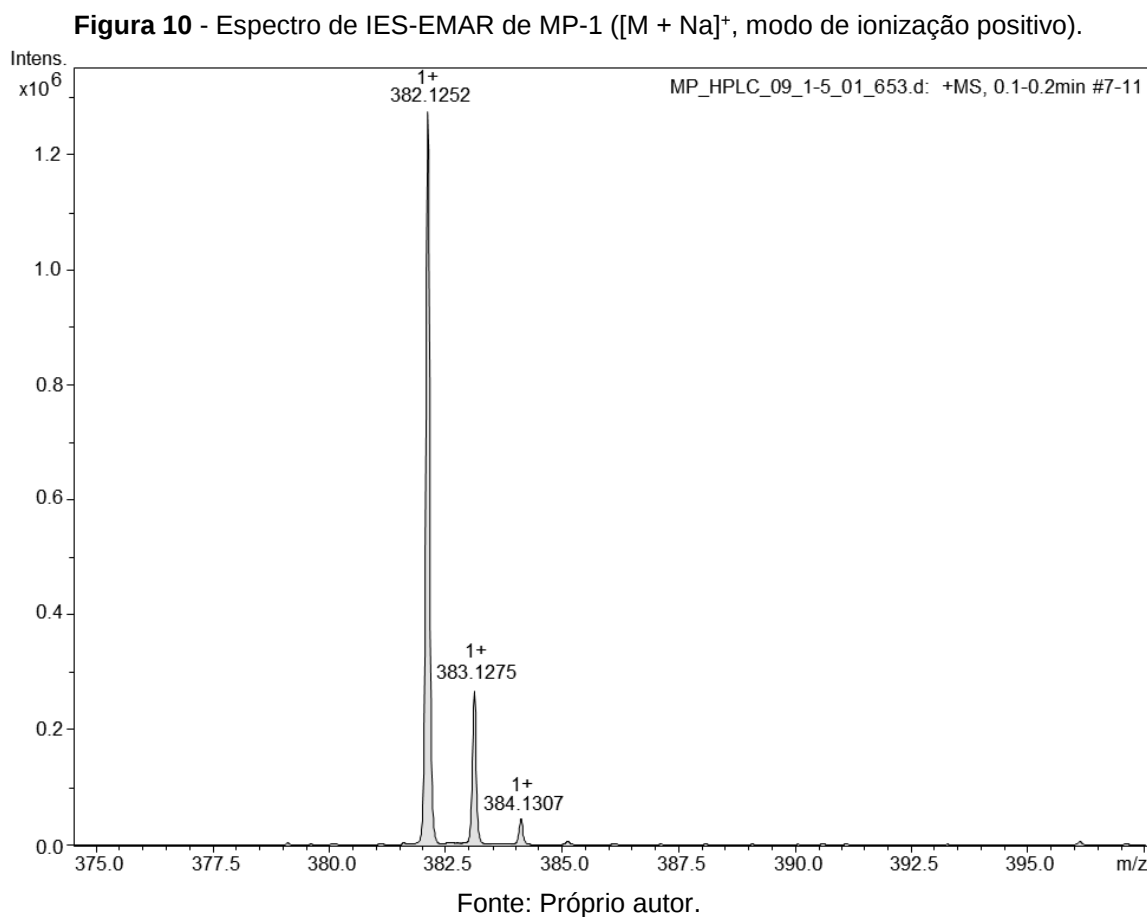
Os parâmetros de análise foram: capilar 4,5 kV, IES no modo íon positivo, offset da placa final -500 V, nebulizador 8.0 psi, gás seco (N_2) com fluxo de 4,0 l/min e 180 $^{\circ}$ C. Os espectros (m/z 50-1500) foram registrados a cada 2,0 s.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação estrutural de MP-1

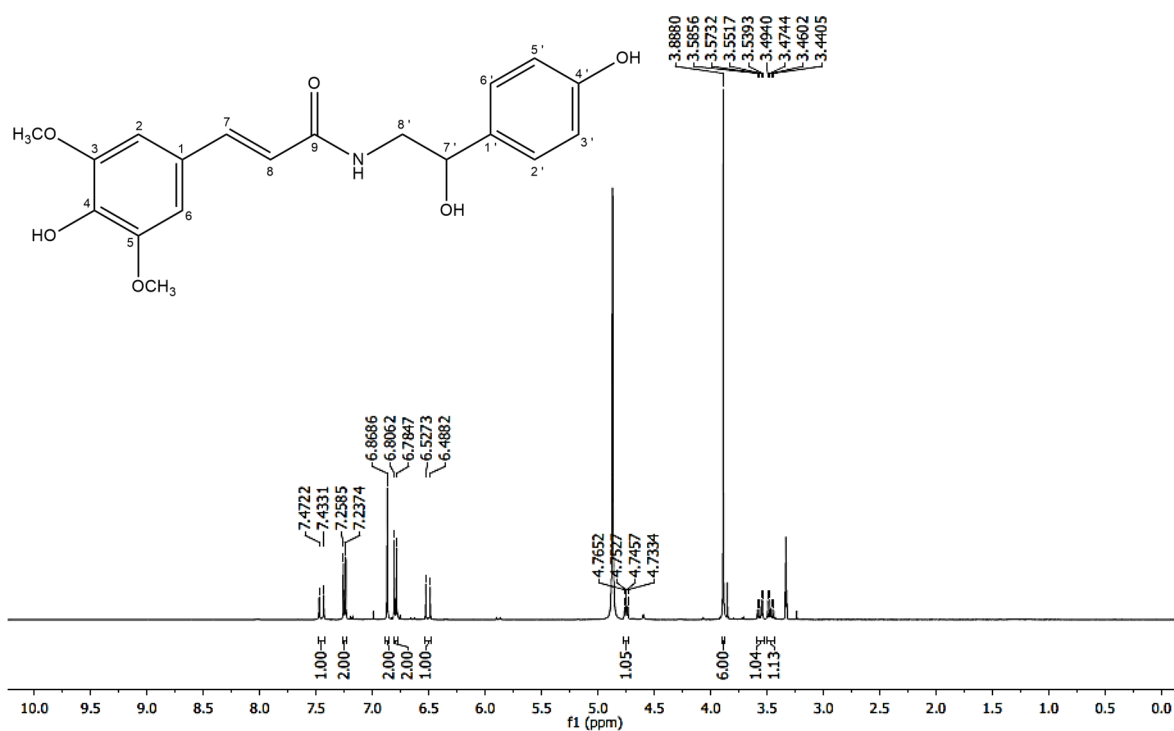
A substância codificada como MP-1, foi isolada na forma de uma resina incolor. Sua fórmula molecular foi definida como $C_{19}H_{21}NO_6$ por IES-EMAR (+) com m/z 382.1252 $[M + Na]^+$ (calculado para $C_{19}H_{21}NNaO_6$, 382,1261, $\Delta = 2,5$ ppm). Por conseguinte, foi indicado um índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a dez (Figura 10).



O espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi possível observar um duplete em δ_H 7,23 (2H, $J = 8,4$ Hz), atribuído aos H-2',6'; um simpleto em δ_H 6,87 (2H) atribuído aos H-2,6 e um duplete em δ_H 6,80 (2H, $J = 8,6$ Hz) atribuído aos H-3',5', evidenciando a existência de dois anéis aromáticos; um anel 1,3,4,5-tetrassubstituído e outro apresentando um sistema tipo AA'BB' de substituição. Se fez notável, a presença de dupletos em δ_H

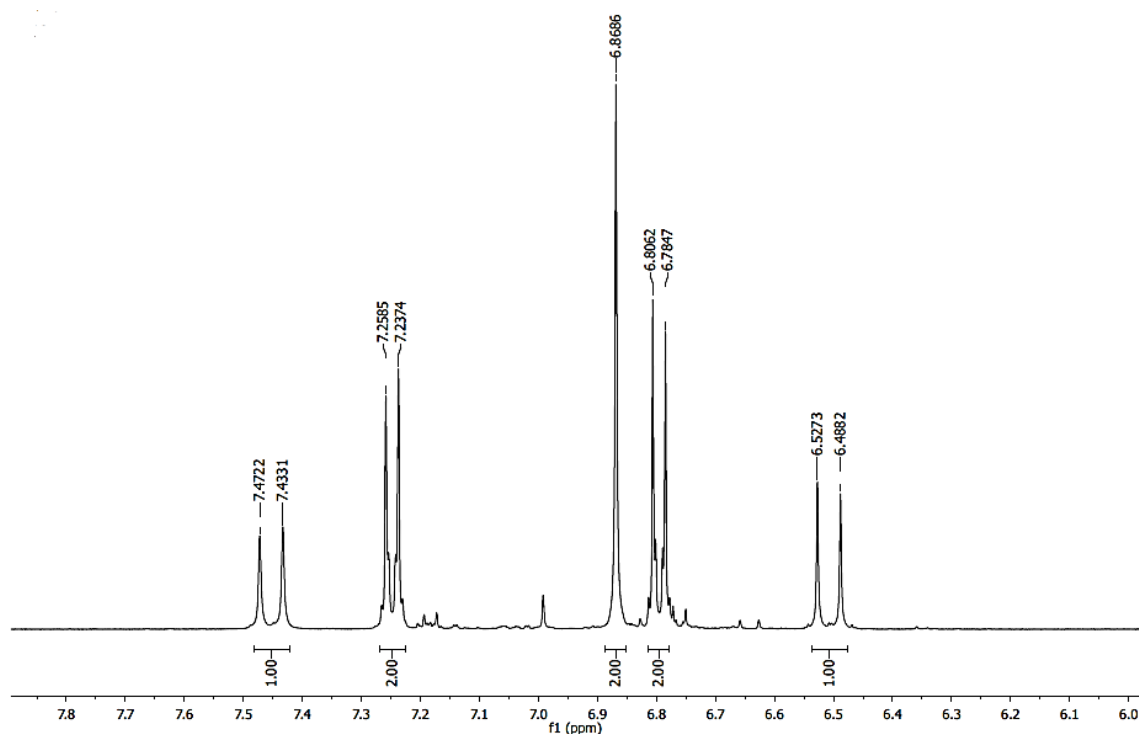
7,45 (1H, $J = 15,6$ Hz) e δ_H 6,51 (1H, $J = 15,6$ Hz), atribuídos a hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 15,6 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação. Observou-se ainda, a presença de um duplo duplete em δ_H 4,75 (1H, $J = 7,8; 5,0$ Hz), atribuído ao H-7', um simpleto em δ_H 3,89 (6H), atribuído às duas metoxilas (3,5-OCH₃), além disso, dois duplos dupletos foram evidenciados em δ_H 3,56 (1H, $J = 13,6; 5,0$) e δ_H 3,47 (1H, $J = 13,5; 7,8$ Hz), os quais foram atribuídos aos H-8a' e H-8b', respectivamente (Figura 11-14).

Figura 11 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD₃OD) do composto MP-1.



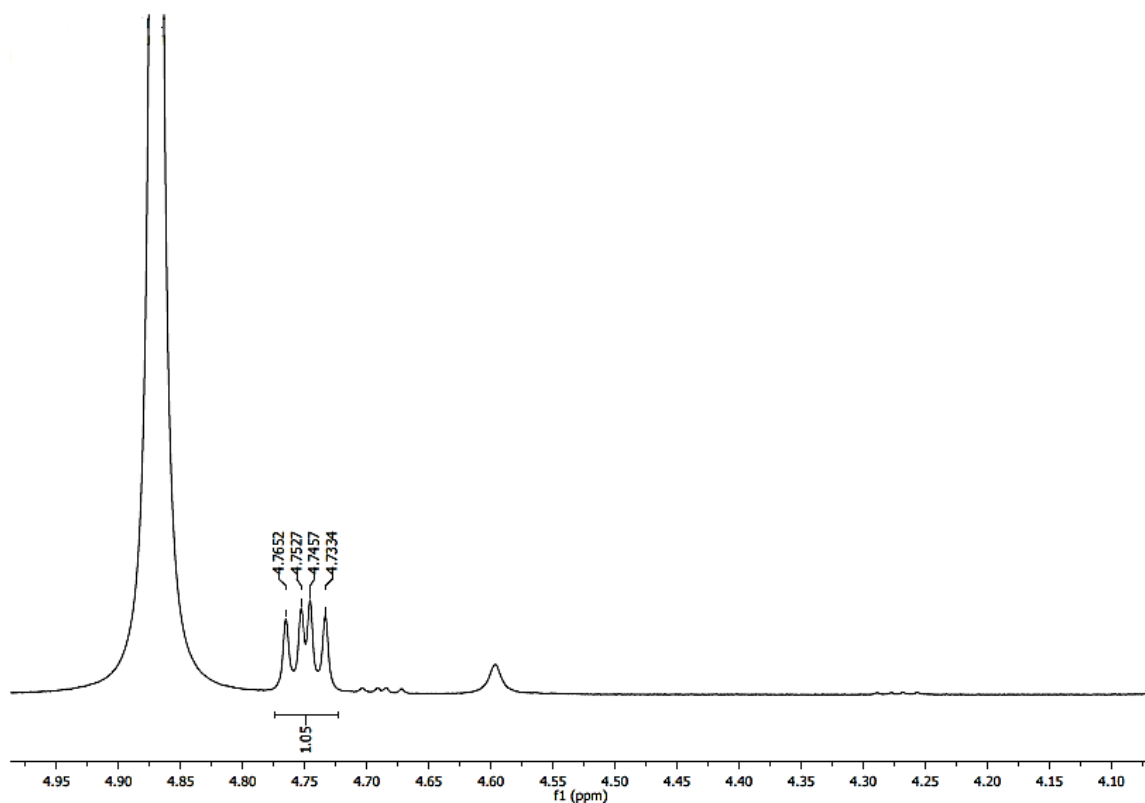
Fonte: próprio autor.

Figura 12 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 6,0 a 7,8 ppm).



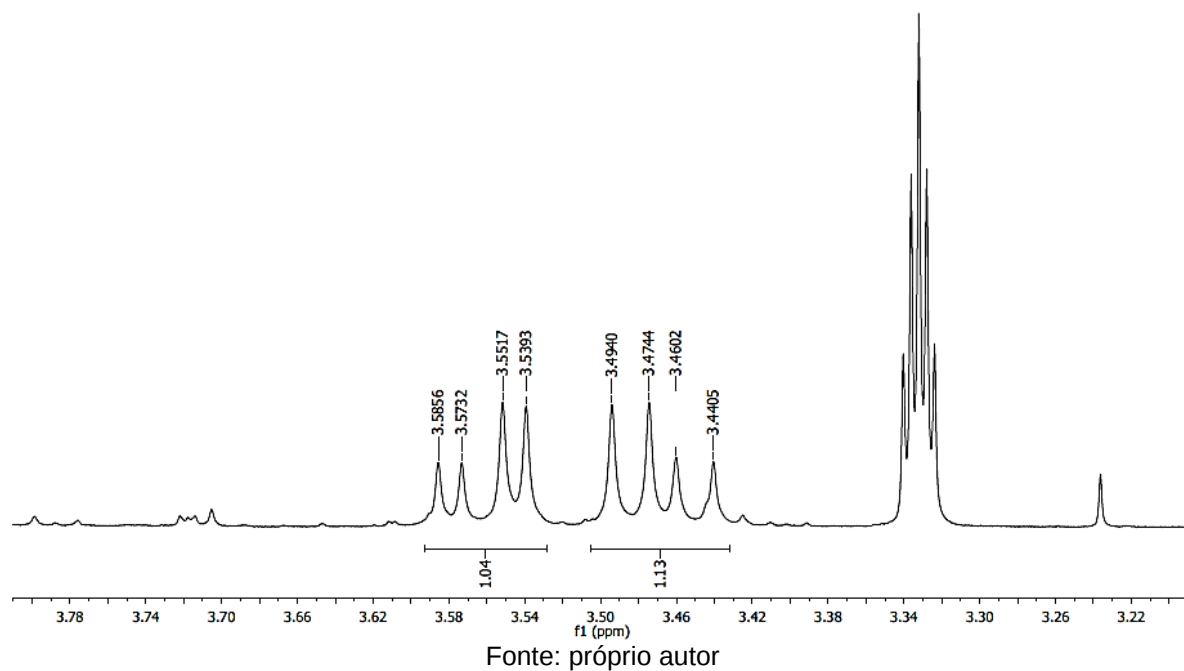
Fonte: próprio autor.

Figura 13 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 4,1 a 5,0 ppm).



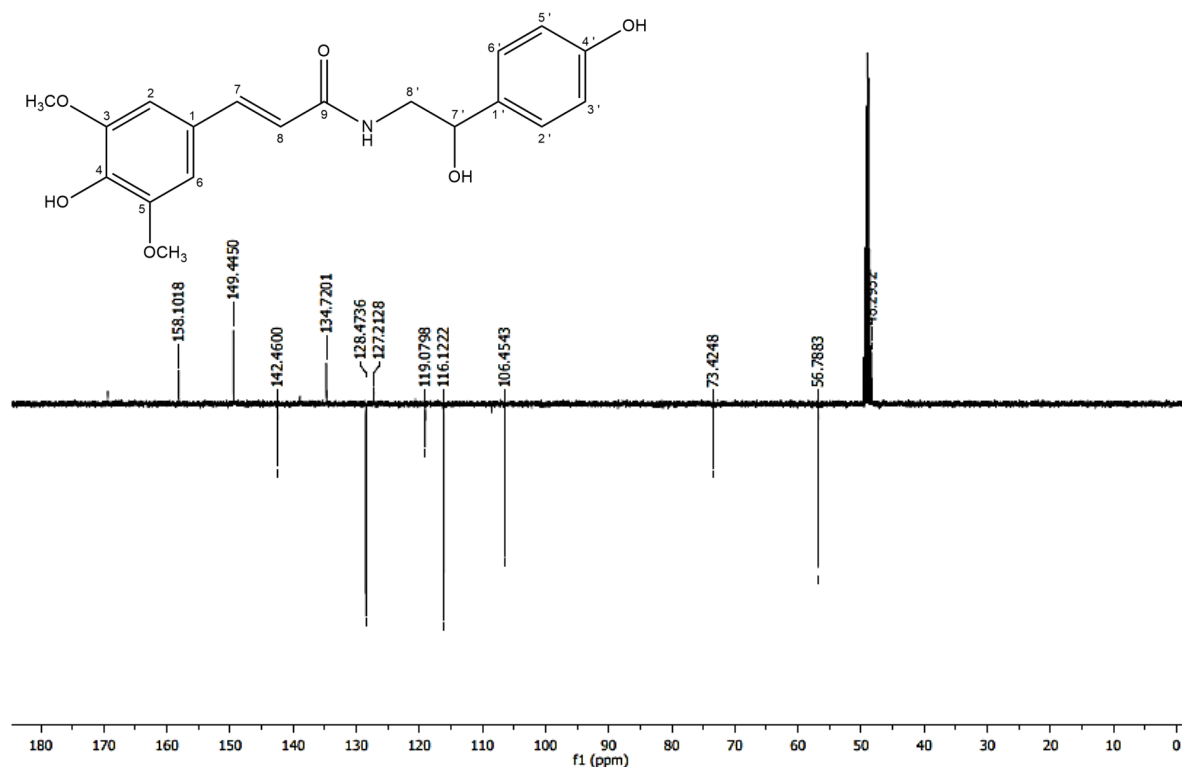
Fonte: próprio autor.

Figura 14 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 3,2 a 3,8 ppm).



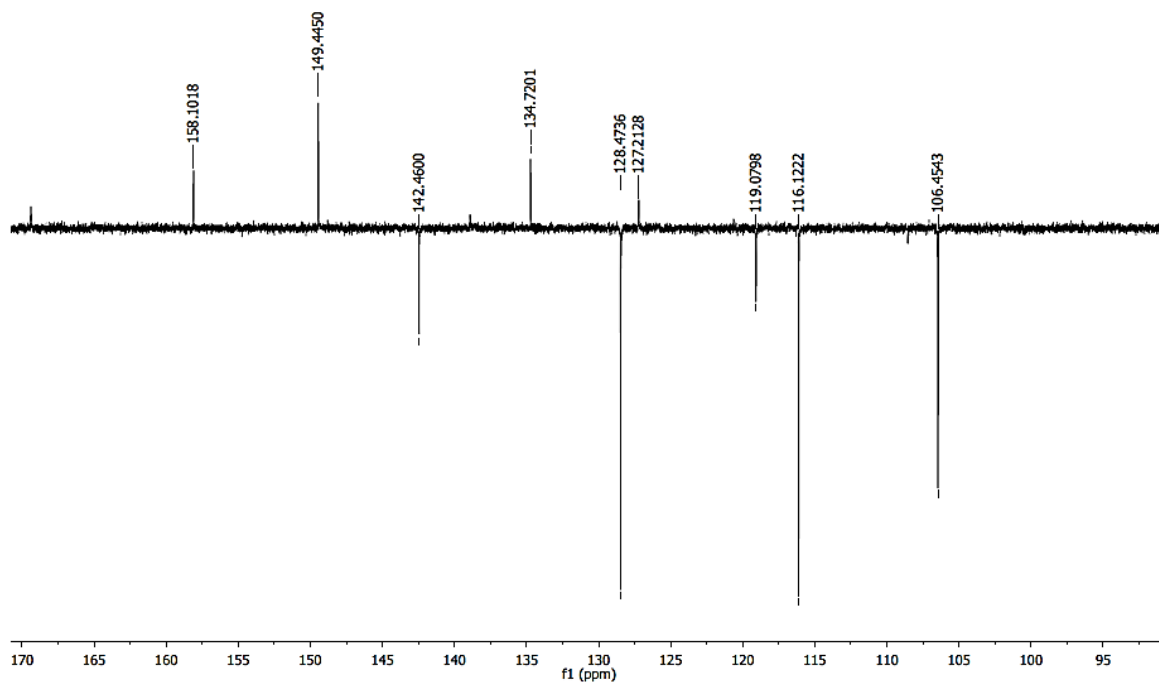
O espectro de RMN de ^{13}C -APT de MP-1, obtido em CD_3OD a 100 MHz (Figura 15-17), possibilitou a identificação de 14 sinais de carbono, sendo seis deles não hidrogenados, seis metínicos, um metilênico, e uma metila relacionada às metoxilas quimicamente equivalentes. Foi possível confirmar a presença do anel aromático 1,3,4,5-tetrassubstituído por meio dos sinais em δ_{C} 149,4 (C-3,5); 138,9 (C-4)^c, 127,2 (C-1); 106,5 (C-2,6); 56,8 (3,5- OCH_3). Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 142,5 (C-7) e δ_{C} 119,1 (C-8), se mostraram compatíveis com sistemas α - β conjugados à carbonila cuja presença foi confirmada por meio do sinal em δ_{C} 169,4 (C-9)^c. A confirmação do anel aromático com sistema do tipo AA'BB' de substituição, se deu por meio dos sinais em δ_{C} 158,1 (C-4'), δ_{C} 134,7 (C-1'), 128,5 (C-2',6') e 116,1 (C-3',5'). Foi evidenciado também a presença do carbono metileno nitrogenado por meio do sinal δ_{C} 48,3 (C-8'), enquanto a metina hidroxilada foi confirmada pelo deslocamento químico em δ_{C} 73,4 (C-7'). Esses dados também dispostos na tabela 1 (pág. 71), confirmam a proposição do *N-trans*-sinapoilactapamina.

Figura 15 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1.



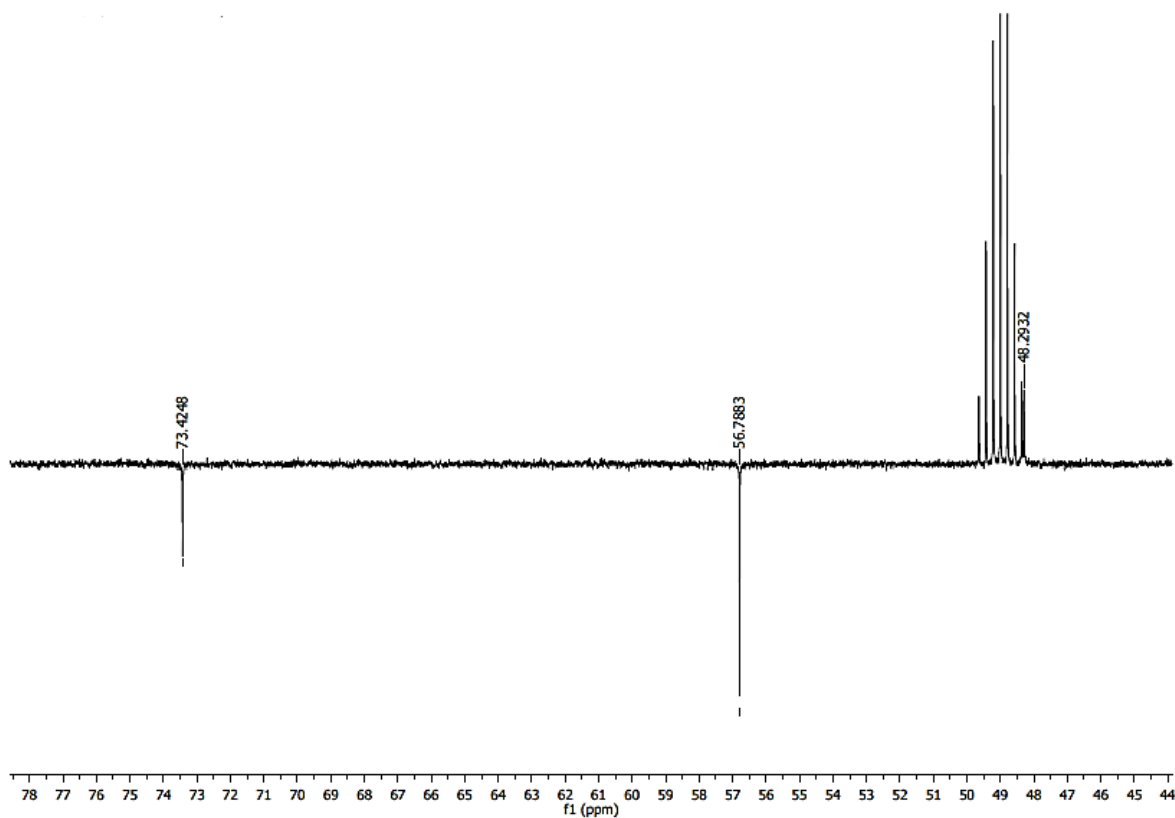
Fonte: próprio autor

Figura 16 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão na região 95 a 170 ppm).



Fonte: próprio autor

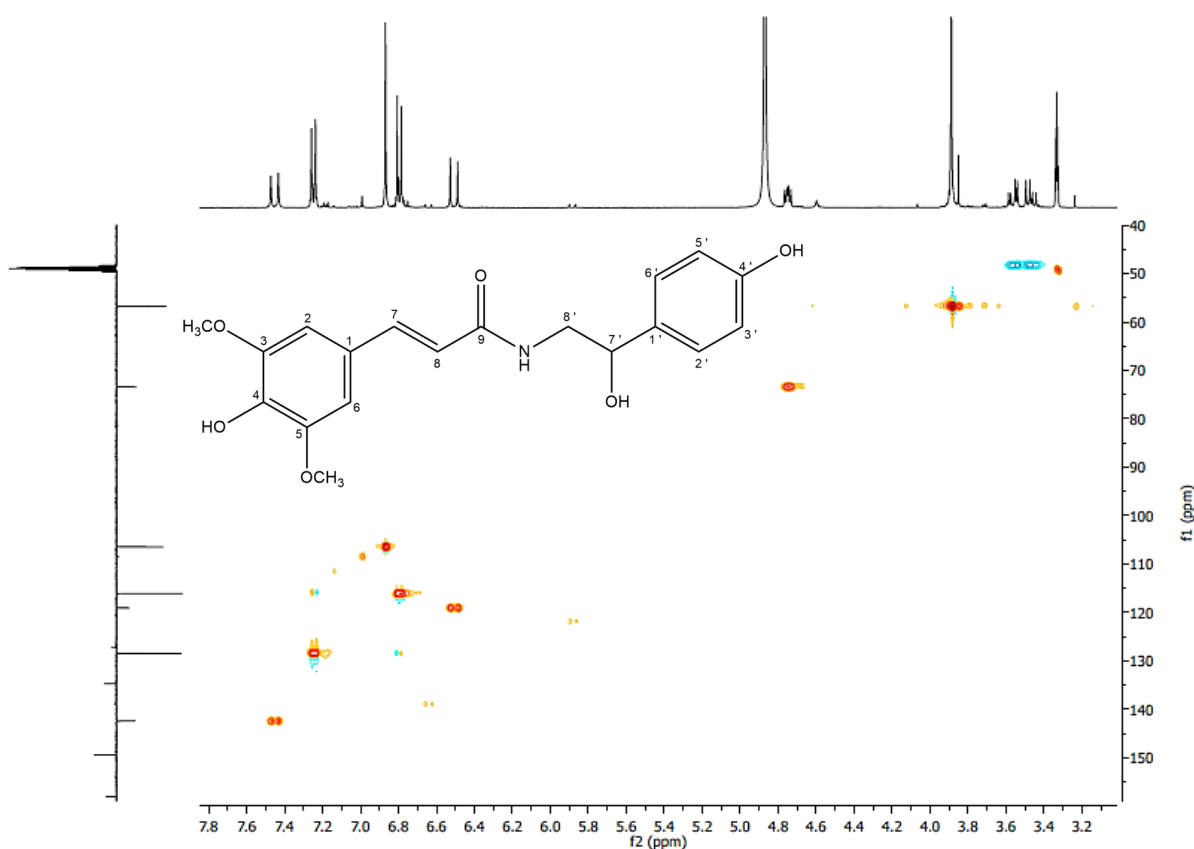
Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 44 a 78 ppm).



Fonte: próprio autor

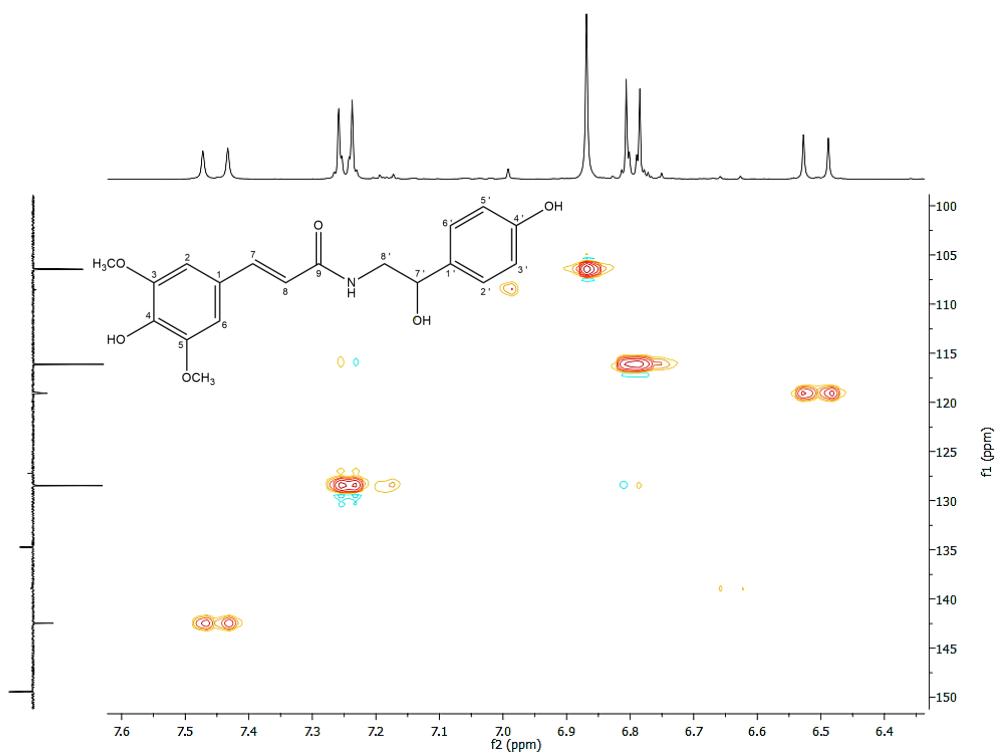
O espectro de correlação heteronuclear HSQC da substância MP-1 obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz (Figura 18-20, pág 58-59) mostrou a correlação do duplo duplete em δ_H 3,56 (1H, $J = 13,6; 5,0$) e δ_H 3,47 (1H, $J = 13,5; 7,8$ Hz) com δ_C 48,3 (C-8'), confirmando a atribuição a H-8'. Foi possível também, confirmar a atribuição a H-7' por meio da correlação do duplo duplete em δ_H 4,75 (1H, $J = 7,8; 5,0$ Hz) com δ_C 73,4 (C-7'), caracterizando uma porção octapamina. As demais correlações estão compiladas na tabela 2 (pág. 72).

Figura 18 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD₃OD) do composto MP-1.



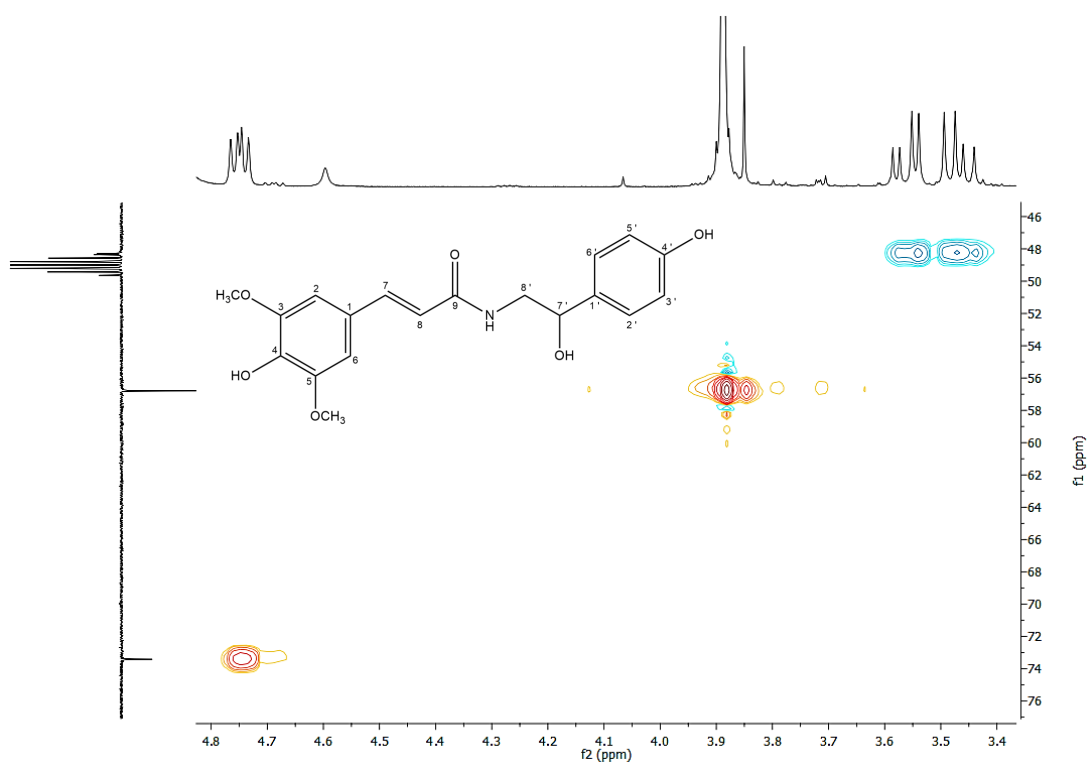
Fonte: próprio autor.

Figura 19 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 3,4-3,6 e 46-51.5 ppm).



Fonte: próprio autor.

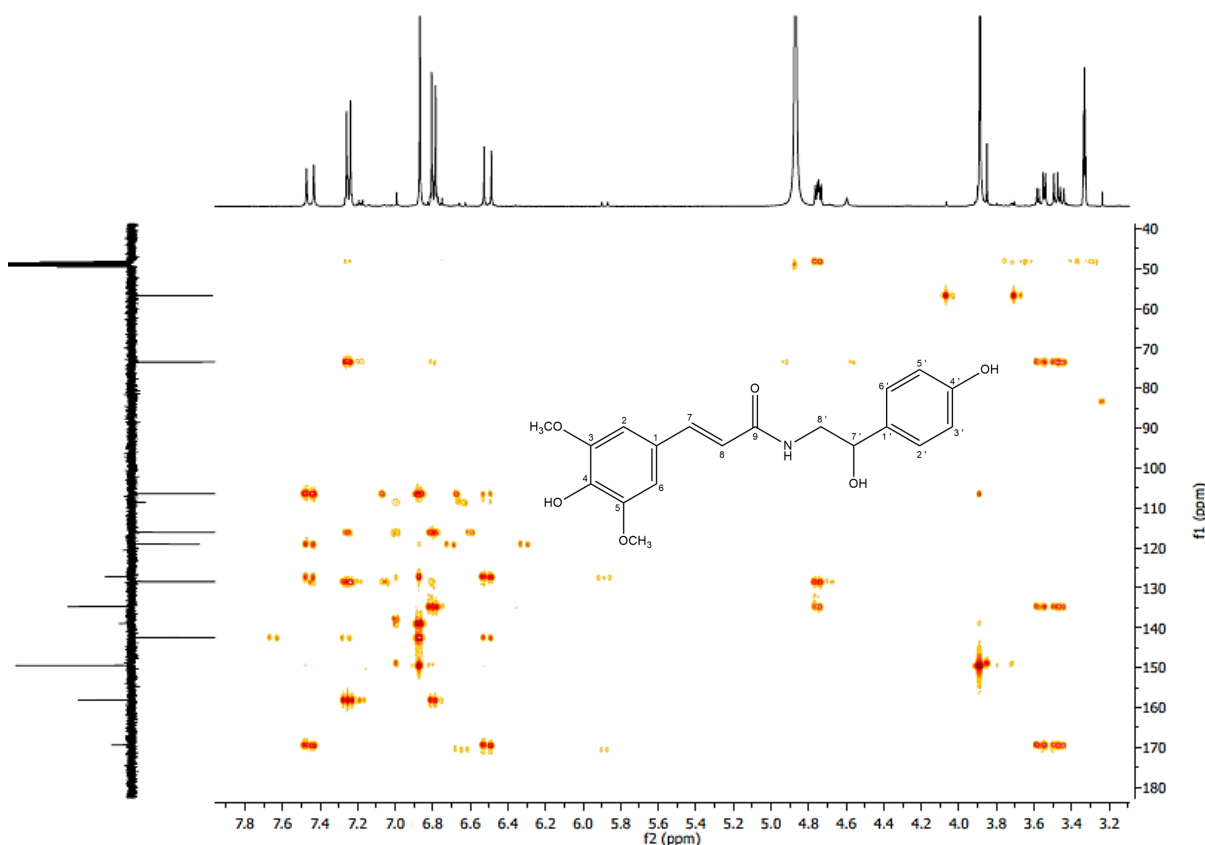
Figura 20 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 3,4-4,8 e 46-76 ppm).



Fonte: próprio autor.

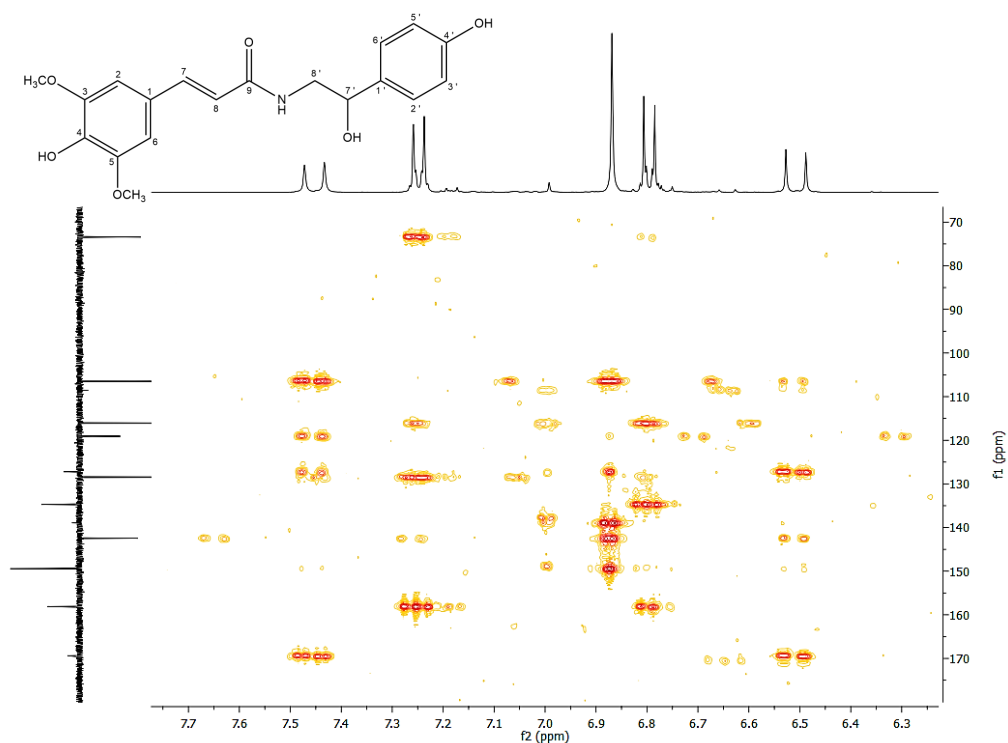
O espectro de correlação heteronuclear HMBC da substância MP-1 obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz (Figura 21-23), possibilitou observação de uma correlação entre o simpleto em δ_H 6,87 com um sinal em δ_C 138,9, o qual foi atribuído ao C-4. Um sinal em δ_C 169,4 foi atribuído ao C-9, por meio da cofirmação apresentada pela correlação com os sinais em δ_H 7.45, δ_H 6.51, δ_H 3.56 e δ_H 3.47. Foi possível observar também, uma correlação do duplete em δ_H 7,45 (1H, $J = 15,6$ Hz) com o sinal em 106,5 (C-2,6), 127,2 (C-1), δ_C 119,1 (C-8), δ_C 169,4 (C-9), confirmando a existência da carbonila alpha-beta insaturada conjugada ao anel aromático, como esperado de uma porção estrutural derivada do ácido sinapínico. As demais correlações estão disponíveis na tabela 2 (pág. 71).

Figura 21 - Espectro de correlação 1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD₃OD) do composto MP-1.



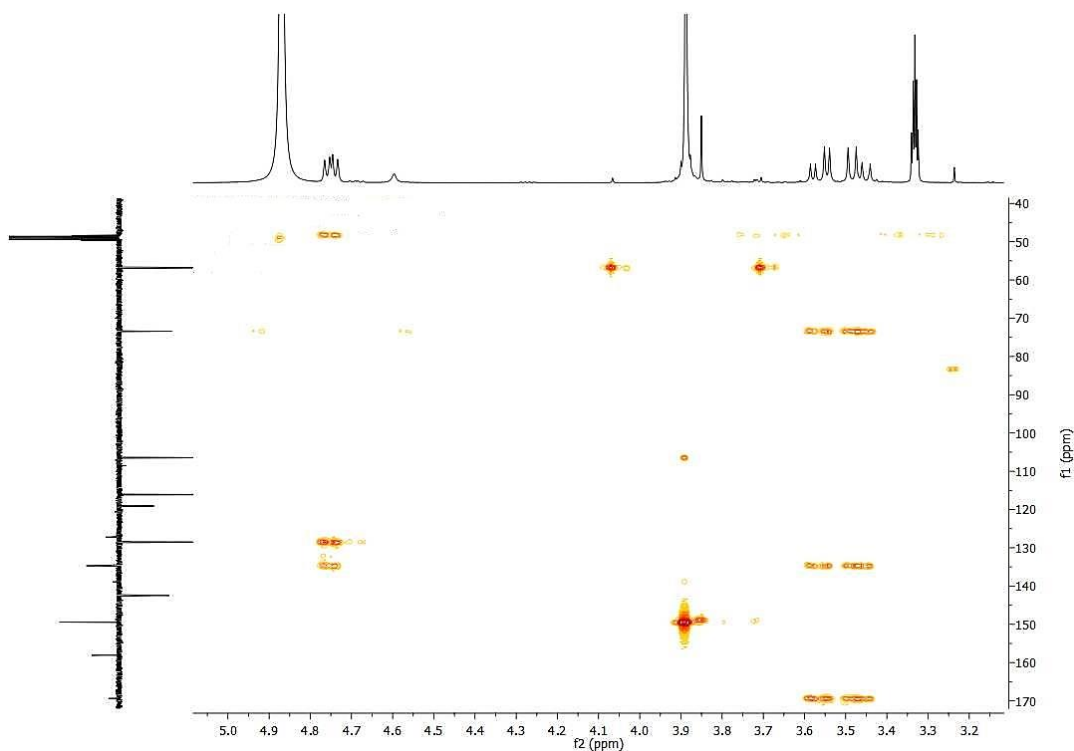
Fonte: próprio autor.

Figura 22 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,3-7,7 e 70-170 ppm).



Fonte: próprio autor.

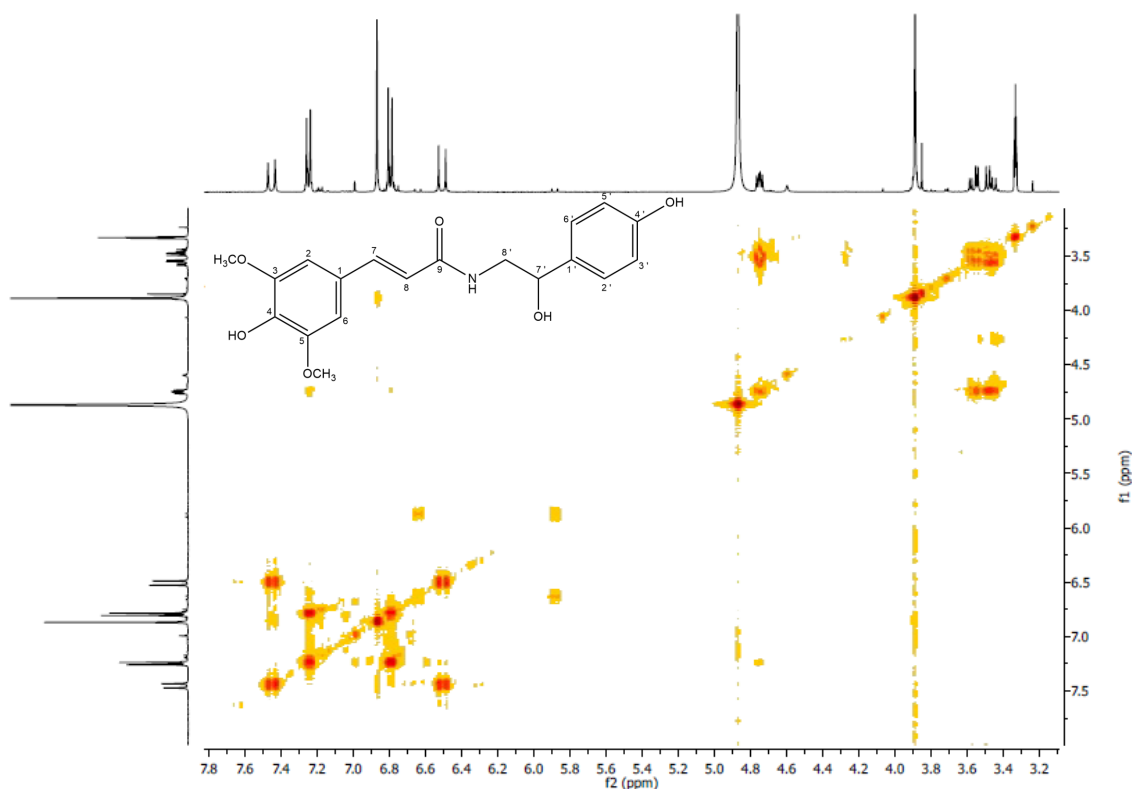
Figura 23 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,3-7,7 e 70-170 ppm).



Fonte: próprio autor.

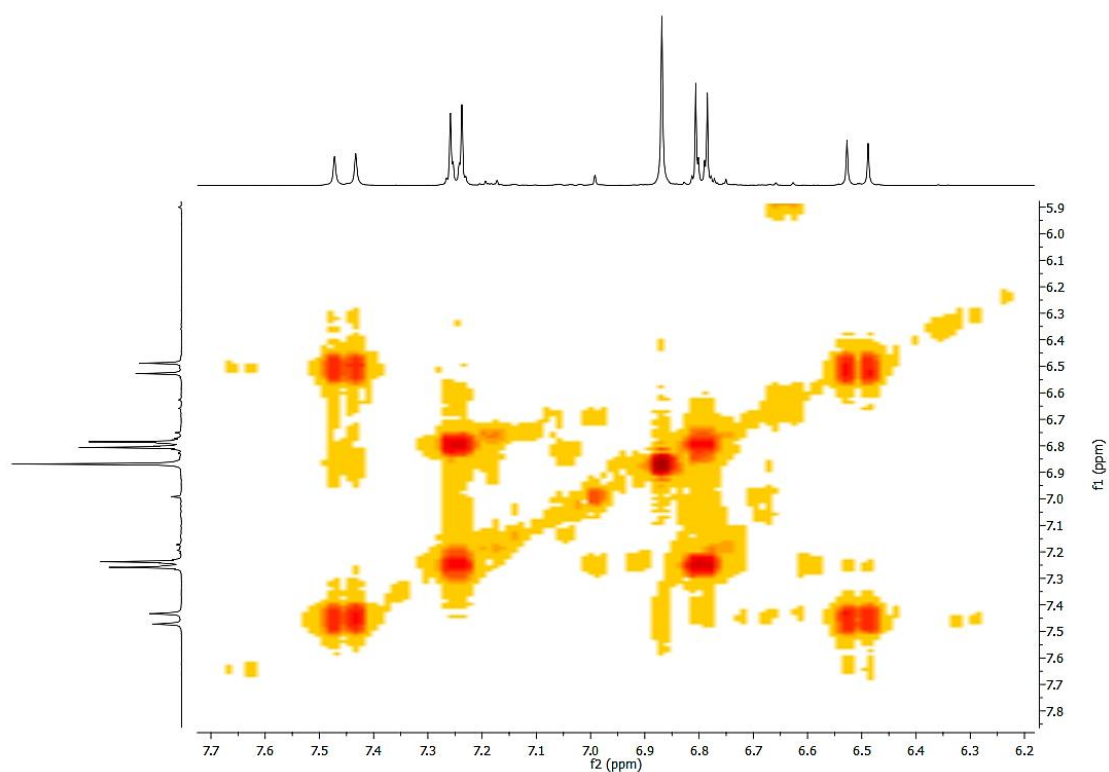
No espectro de correlação homonuclear COSY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figuras 24-26, pág. 64-65), foi possível confirmar as atribuições referentes aos anéis aromáticos. Foi evidenciada uma correlação do duplete em δ_H 7,23 com duplete em δ_H 6,80, corroborando o sistema AA'BB' de substituição. Foram confirmadas também as atribuições aos H-8a', H-8b' e H-7', por meio da correlação de δ_H 4,75 com δ_H 3,56 e δ_H 3,47.

Figura 24 - Espectro de correlação $^1H \times ^1H$ COSY (400 MHz, CD₃OD) do composto MP-1.



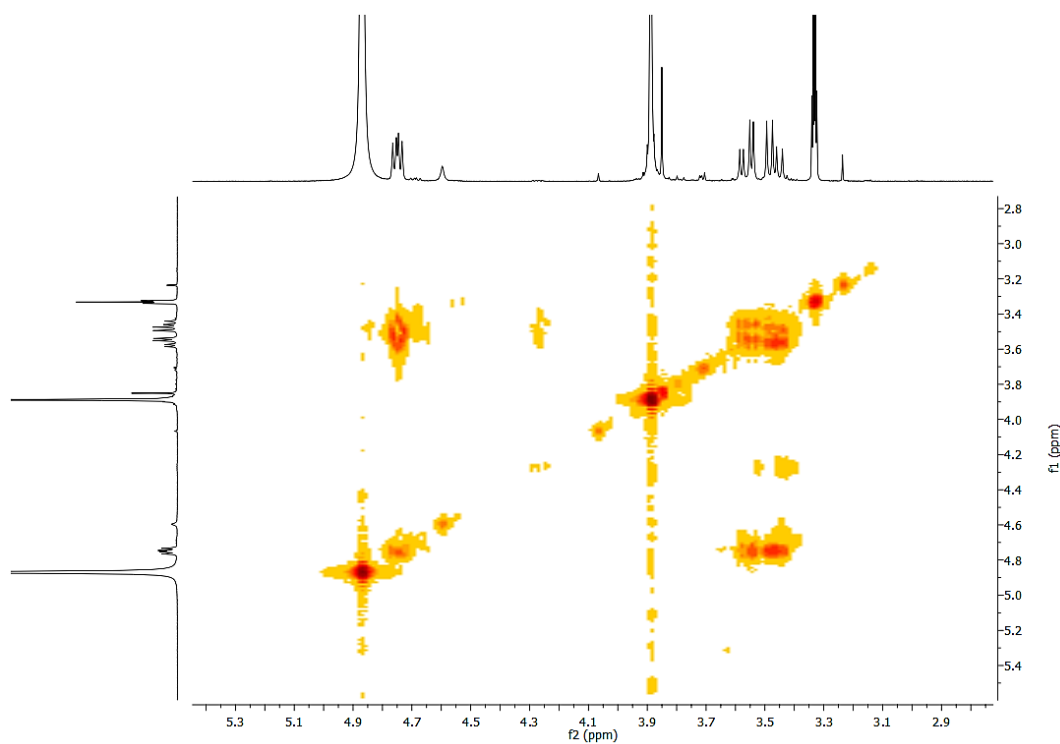
Fonte: próprio autor.

Figura 25 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,2-7,7 e 5,9-7,8 ppm).



Fonte: próprio autor.

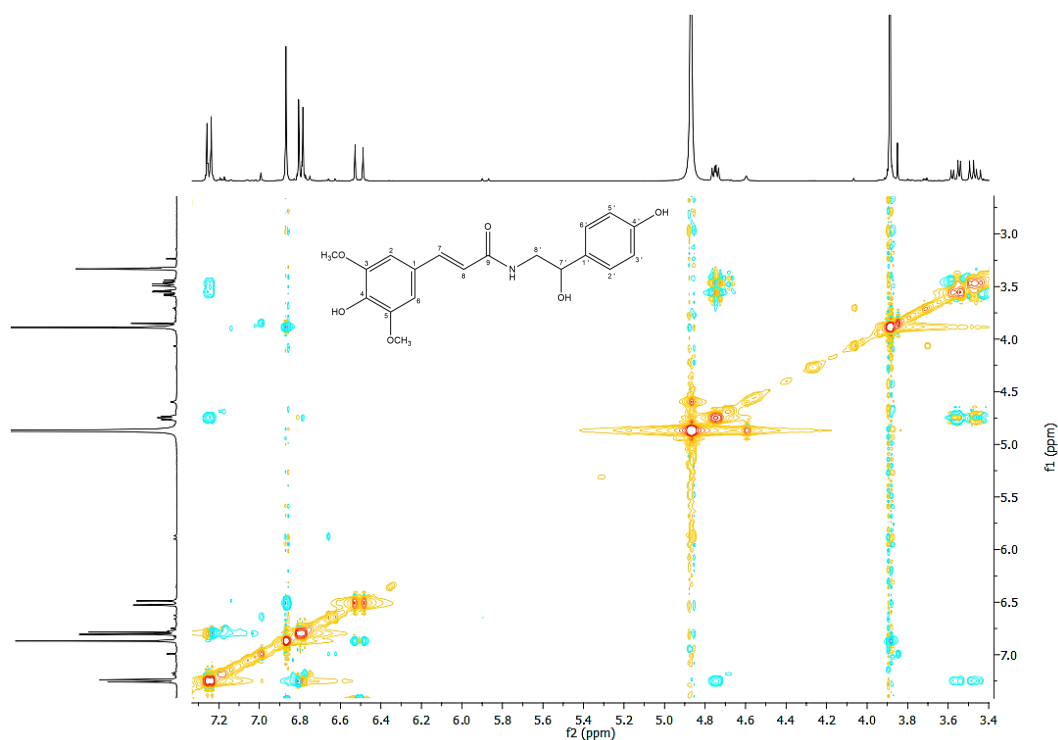
Figura 26 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-1 (expansão da região 6,2-7,7 e 5,9-7,8 ppm).



Fonte: próprio autor.

No espectro de correlação homonuclear NOESY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figuras 27), foi possível observar a correlação de duplo dupletos em δ_H 3,56 e δ_H 3,47 com o duplete em δ_H 7,23 do sistema AA'BB' de substituição, confirmando um ambiente químico compatível com a porção octapamina da substância.

Figura 27 - Espectro de correlação $^1H \times ^1H$ NOESY (400 MHz, CD₃OD) do composto MP-1 expansão da região 3,4-7,2 e 3,0-7,0 ppm).



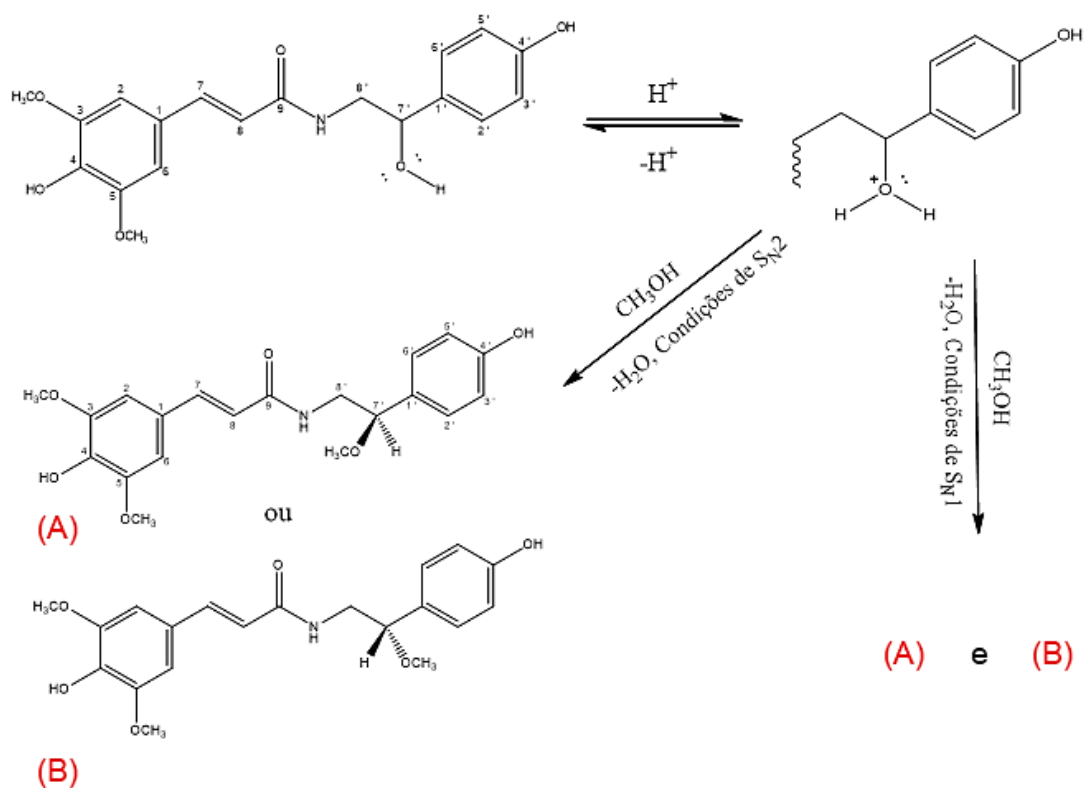
Fonte: próprio autor.

Durante o processo de coleta das frações e concentração em evaporador rotativo à 40 °C, um evento de degradação foi evidenciado por meio do monitoramento da fração por LC-MS, RMN de ^1H e ^{13}C -APT. Parte da fração concentrada em evaporador rotativo a 40 °C, apresentou íon de m/z maior do que m/z 382.1251 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. No espectro de RMN ^1H foi possível observar um simpleto em δ_{H} 3,85 (6H) atribuído às duas metoxilas aromáticas (3,5- OCH_3), um simpleto em δ_{H} 3,20, atribuído a uma metoxila alifática ligada na posição C-7', o que foi confirmado no RMN de ^{13}C -APT onde foram observados sinais em δ_{C} 83,0 e 82,9 (C-7'), além de sinais em δ_{C} 56,8 (3- OCH_3) e 56,7 (7'- OCH_3), que confirmam a presença de 3 metoxilas, sendo uma delas quimicamente distinta das demais (Figura 29-30, pág. 67-68).

Devido a existência de dados sugestivos de degradação, o restante da fração passou por uma secagem sobre um fluxo de nitrogênio gasoso, evitando-se a degradação por influência da temperatura, restando apenas os demais fatores como a presença de metanol e ácido fórmico sob agitação. O sucesso desse método de concentração alternativo permitiu que a fração apresentasse os respectivos dados anteriormente mencionados pelos quais foi possível caracterizá-la como *N-trans*-sinapoilactapamina.

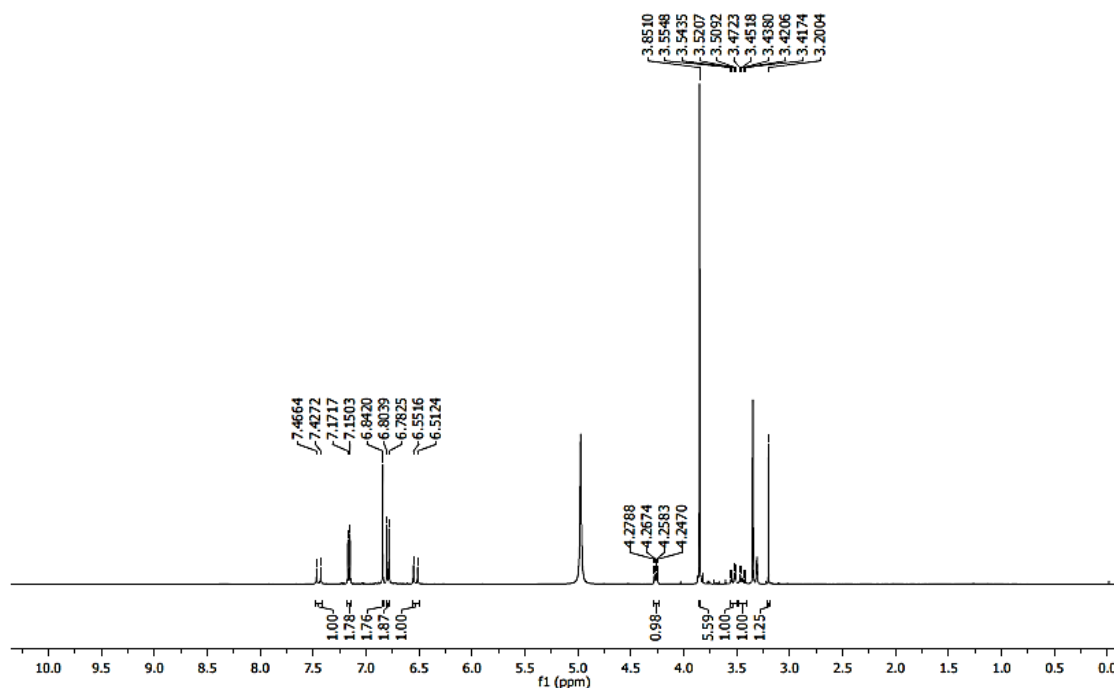
O mecanismo proposto para a formação do artefato, sugere que a molécula sofreu uma substituição nucleofílica, tendo por nucleófilo o metanol e o ácido fórmico como catalisador da reação (ácido fórmico/Água 0,1% v/v), sob agitação oriunda do processo de concentração em rotaevaporador. O eletrófilo da reação foi caracterizado pelo carbono secundário C-7', o qual se apresentava ligado a uma hidroxila e consequentemente dotado de uma carga parcial positiva. Essa hidroxila possivelmente protonada, promoveu um aumento do caráter eletrofílico de C-7', além de corroborar com a reação atuando como um melhor grupo de saída (Figura 28) O resultado da reação foi a formação do artefato denominado 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida (Figura 32, pág. 69).

Figura 28 - Mecanismo proposto para formação do artefato 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.



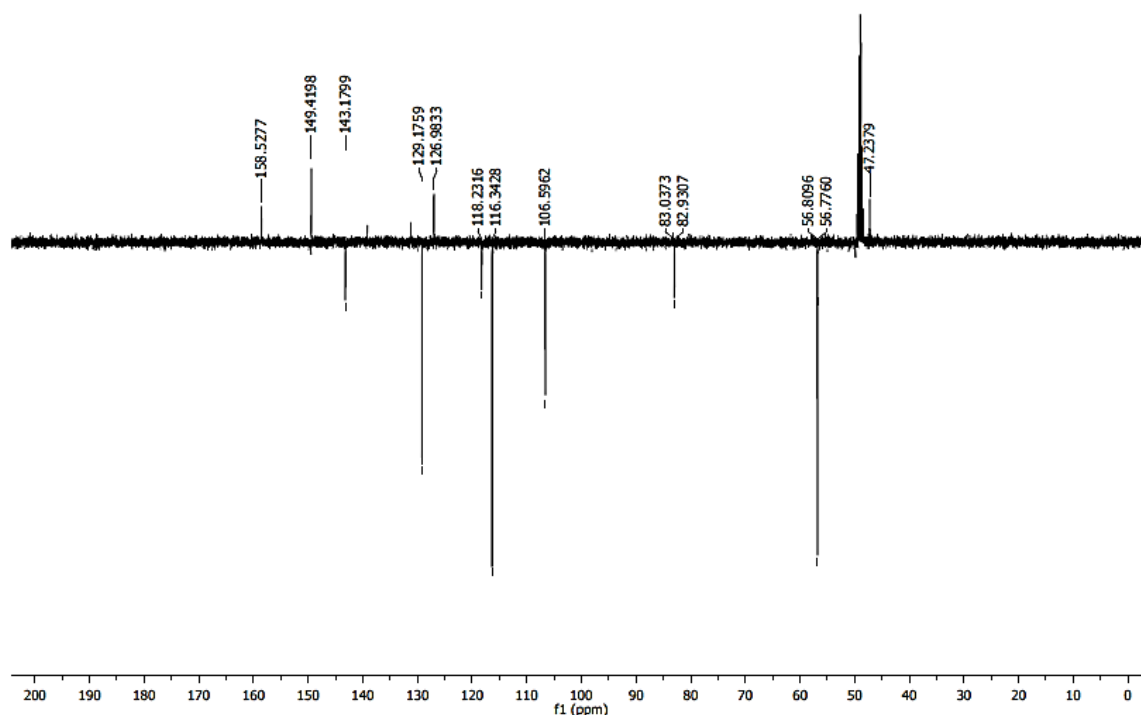
Fonte: próprio autor.

Figura 29 - Espectro de RMN de 1H (400 mhz, CD_3OD) do composto 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.



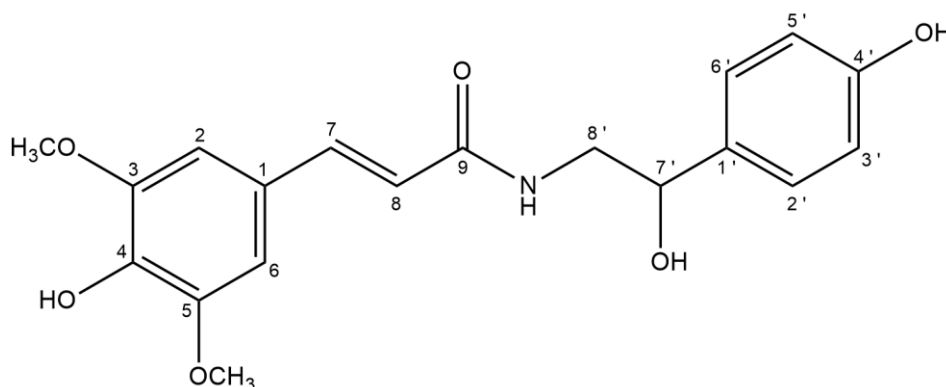
Fonte: próprio autor.

Figura 30 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.



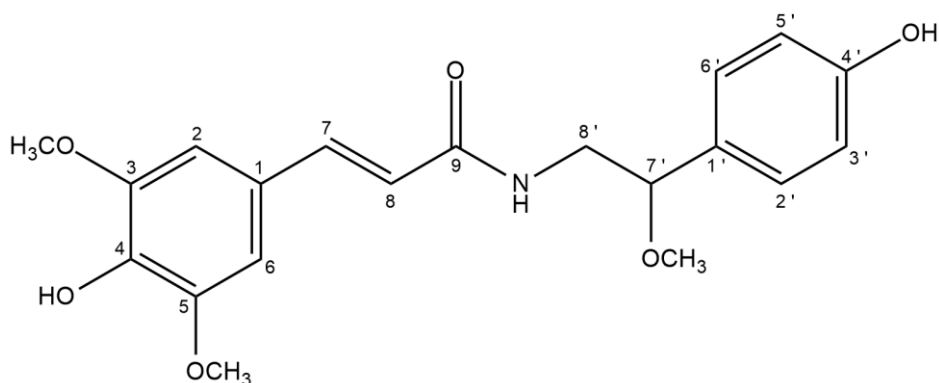
Após análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e dados de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além dos espectros de correlação homonuclear COSY e NOESY obtido em CD_3OD a 400 MHz e a comparação com dados da literatura (SUN et al., 2015), foi possível concluir que MP-1 trata-se de uma *N-trans*-sinapoilactapamina (Figura 30). Esse composto solúvel em metanol em meio ácido (ácido fórmico 0,1%) sob uma temperatura de 40°C , pode sofrer uma reação de substituição nucleofílica para formação do artefato 3-(4-Hidróxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida (Figura 31).

Figura 31 - Estrutura química da *N-trans*-sinapoilactapamina.



Fonte: próprio autor.

Figura 32 - Estrutura química da 3-(4-Hidroxi-3,5-Dimetoxifenil)-N-[2-(4-Hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.



Fonte: próprio autor.

Esse composto foi previamente sintetizado por Wu et al. (2012) e seu primeiro relato de ocorrência natural foi evidenciado nas raízes da espécie *Solanum melongena* L. (Solanaceae) (SUN et al., 2015). Entretanto, este não somente é o primeiro relato de *N-trans*-sinapoilactapamina no gênero *Metternichia*, assim como também pode ser considerada uma dentre as 10 primeiras substâncias isoladas na espécie *Metternichia princeps* J. C. Mikan, e naturalmente no gênero monotípico *Metternichia* J. C. Mikan.

Quando testada por WU et al. (2012) relativa à atividade inibitória de tirosinase, apresentou inibição próxima, mas inferior aos padrões ácido ascórbico e terc-butil-hidroquinona. Sua atividade antioxidante foi evidenciada na avaliação quanto à capacidade sequestradora de radicais DPPH. De acordo com, Nesterenko, Putt e Hergenrother (2003), essa substância não apresentou atividade antitumoral associada à indução de apoptose em glóbulos brancos cancerosos.

Tabela 1 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-1^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da *N-trans*-sinapoilactapamina^b.

posição	MP-1		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		127.2, C		127.7, C
2	6.87, s	106.5, CH	6.86, s	106.8, CH
3		149.4, C		150.0, C
4		138.9, C ^c		135.2, C
5		149.4, C		150.0, C
6	6.87, s	106.5, CH	6.86, s	106.8, CH
7	7.45, d (15,6)	142.5, CH	7.43, d (15,5)	143.0, CH
8	6.51, d (15,6)	119.1, CH	6.49, d (15,5)	119.5, CH
9		169.4, C ^c		169.9, C
1'		134.7, C		139.4, C
2'	7.25, d (8,4)	128.5, CH	7.22, d (8,5)	128.9, CH
3'	6.80, d (8,6)	116.1, CH	6.77, d (8,5)	116.6, CH
4'		158.1, C		158.6, C
5'	6.80, d (8,6)	116.1, CH	6.77, d (8,5)	116.6, CH
6'	7.25, d (8,4)	128.5, CH	7.22, d (8,5)	128.9, CH
7'	4.75, dd (7.8, 5.0)	73.4, CH	4.72, dd (7.5, 5.0)	73.9, CH
8'		48.3, CH ₂		48.8, CH ₂
8a'	3.56, dd (13.6, 5.0)		3.53, dd (14.0, 5.0)	
8b'	3.47, dd (13.5, 7.8)		3.44, dd (14.0, 8.0)	
3,5-OCH ₃	3.89, s	56.8, CH ₃	3.87, s	57.3, CH ₃

^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz.
^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.
^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD)

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa e de SUN et al. (2015).

Tabela 2 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-1^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1		127,2, C		
2	6,87, s	106,5, CH	C-1, C-3	C-7
3		149,4, C		
4		138,9, C		
5		149,4, C		
6	6,87, s	106,5, CH	C-1, C-5	C-7, C-4
7	7,45, d (15,6)	142,5, CH	C-1, C-8	C-2, C-6, C-9
8	6,51, d (15,6)	119,1, CH	C-7, C-9	C-1
9		169,4, C		
1'		134,7, C		
2'	7,25, d (8,4)	128,5, CH	C-3'	C-4', C-7'
3'	6,80, d (8,6)	116,1, CH	C-1'	C-2', C-4'
4'		158,1, C		
5'	6,80, d (8,6)	116,1, CH	C-1'	C-4', C-6'
6'	7,25, d (8,4)	128,5, CH	C-5'	C-4', C-7'
7'	4,75, dd (7.8, 5.0)	73,4, CH	C-1', C-8'	C-2', C-6'
8'		48,3, CH ₂		
8a'	3,56, dd (13.6, 5.0)		C-7'	C-1', C-9
8b'	3,47, dd (13.5, 7.8)		C-7'	C-1', C-9
3,5-OCH ₃	3.89, s	56,8, CH ₃	C-3	C-3

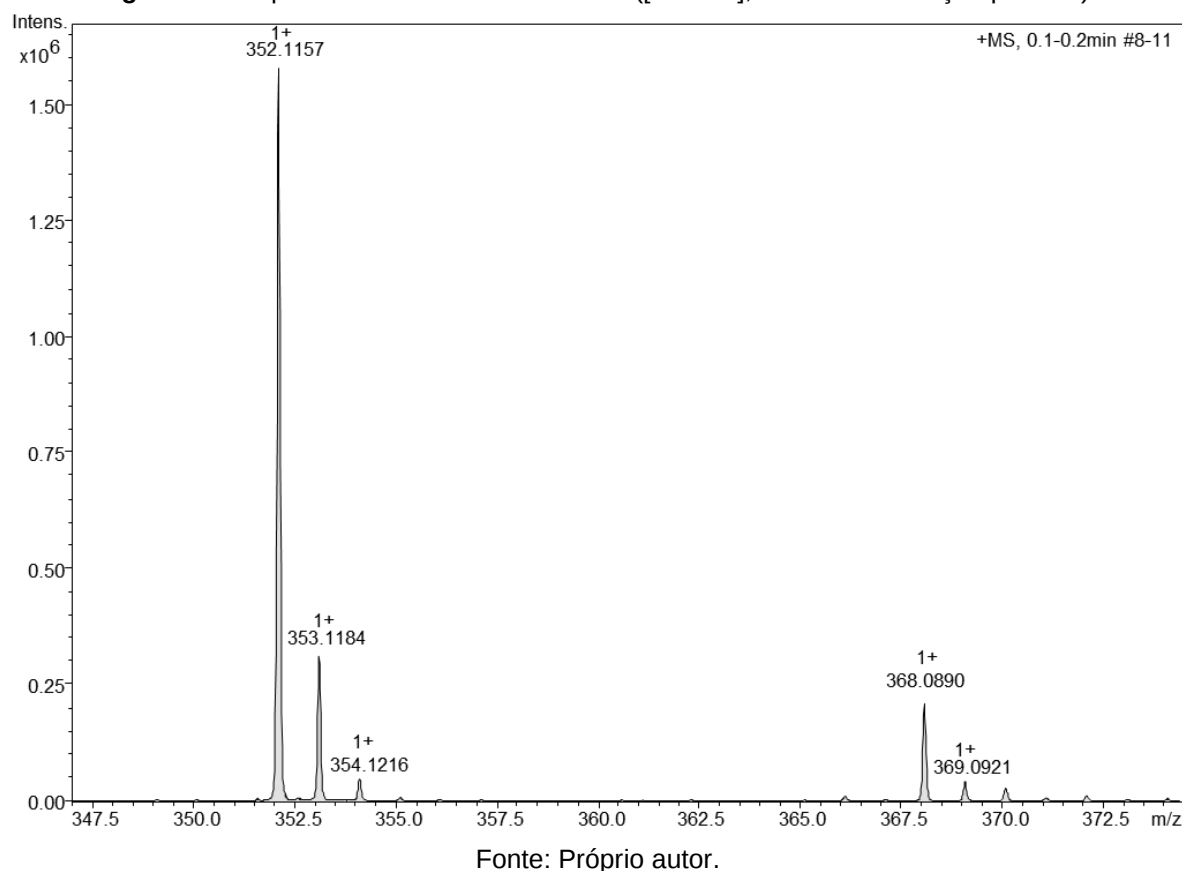
^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz (δ em ppm e J em Hz).

^bDados de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC e HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

5.2 Identificação estrutural de MP-2

A substância codificada como MP-2, foi isolada na forma de uma resina branca. Sua fórmula molecular foi definida como $C_{18}H_{19}NO_5$ por IES-EMAR (+) com m/z 352.1157 $[M + Na]^+$ (calculado para $C_{18}H_{19}NNaO_5$, 352.1155, $\Delta = 0,4$ ppm). Por conseguinte, foi indicado um índice de deficiência de hidrogênio igual a dez (Figura 33).

Figura 33 - Espectro de IES-EMAR de MP-2 ($[M + Na]$, modo de ionização positivo).



Fonte: Próprio autor.

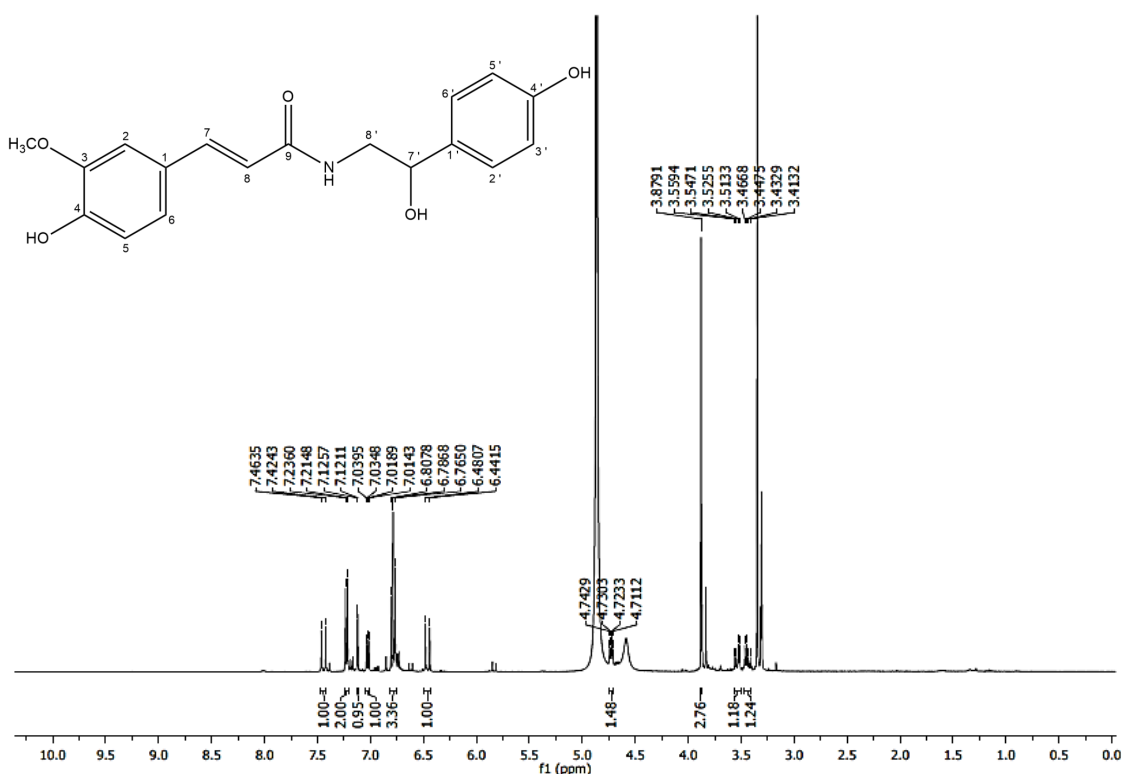
O espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi evidenciado um sistema ABX de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,12 (1H, $J = 1,8$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-2, um duplo duplete em δ_H 7,03 (1H, $J = 8,2, 1,9$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-6, e um duplete em δ_H 6,80 (1H, $J = 8,4$ Hz), atribuído ao hidrogênio 5. O valor da integral nesse sinal, pôde ser justificado por uma parcial sobreposição de sinais, envolvendo os hidrogênios H-3',5'. No espectro de RMN 1H da *N-trans*-feruloilactapamina, operado em 500 MHz, Sun et al. (2015) mostrou uma diferença de 0,02 no

deslocamento químico desses hidrogênios, uma vez que essa leve diferença de deslocamento químico (0,02) poderia se aproximar a uma aparente sobreposição de sinais.

Seguindo essa linha, observou-se a existência de um segundo anel aromático apresentando o sistema AA'BB' de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,23 (2H, $J = 8,5$ Hz), atribuído aos H-2',6' e um sinal de duplete em δ_H 6,78 (1H, $J = 8,2$ Hz), por justificada parcial sobreposição, atribuído aos H-3',5'. Se fez notável também, a presença de dupletos em δ_H 7,44 (1H, $J = 15,7$ Hz) e δ_H 6,46 (1H, $J = 15,7$ Hz), atribuído aos hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 15,7 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação.

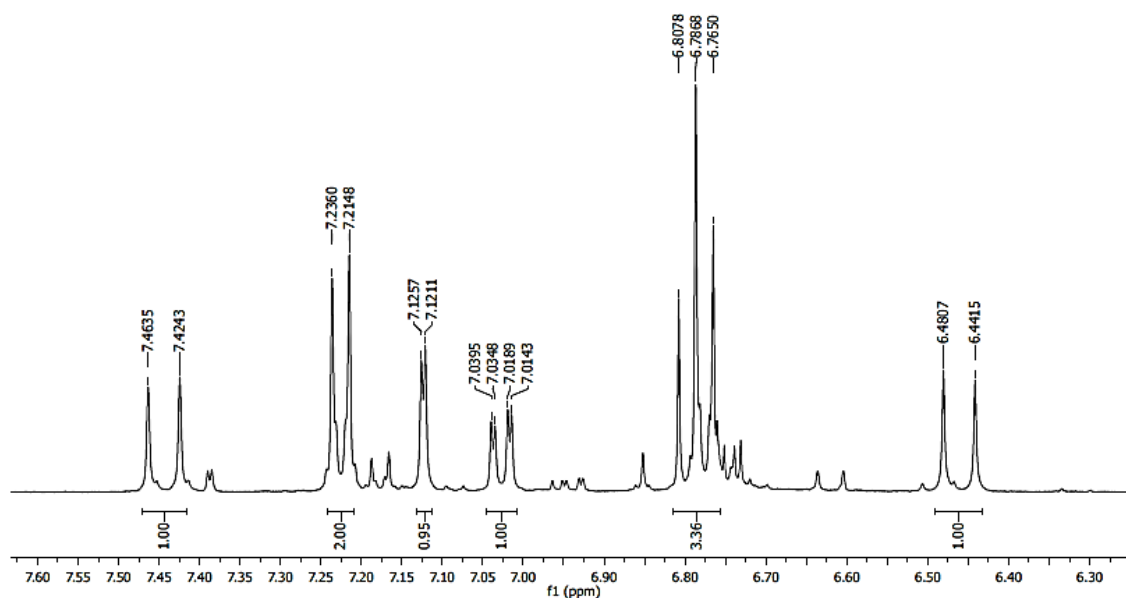
Observou-se ainda, a presença de um simpleto em δ_H 3,88 (3H), atribuído aos hidrogênios da metoxila ligada ao carbono três (3-OCH₃). Um duplo duplete em δ_H 4,73 (1H, $J = 7,8; 5,0$ Hz), atribuído ao H-7', um multiplete em δ_H 3,54 (1H) e δ_H 3,44 (1H), atribuído aos H-8a' e H-8b' (Figura 34-36).

Figura 34 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) do composto MP-2.



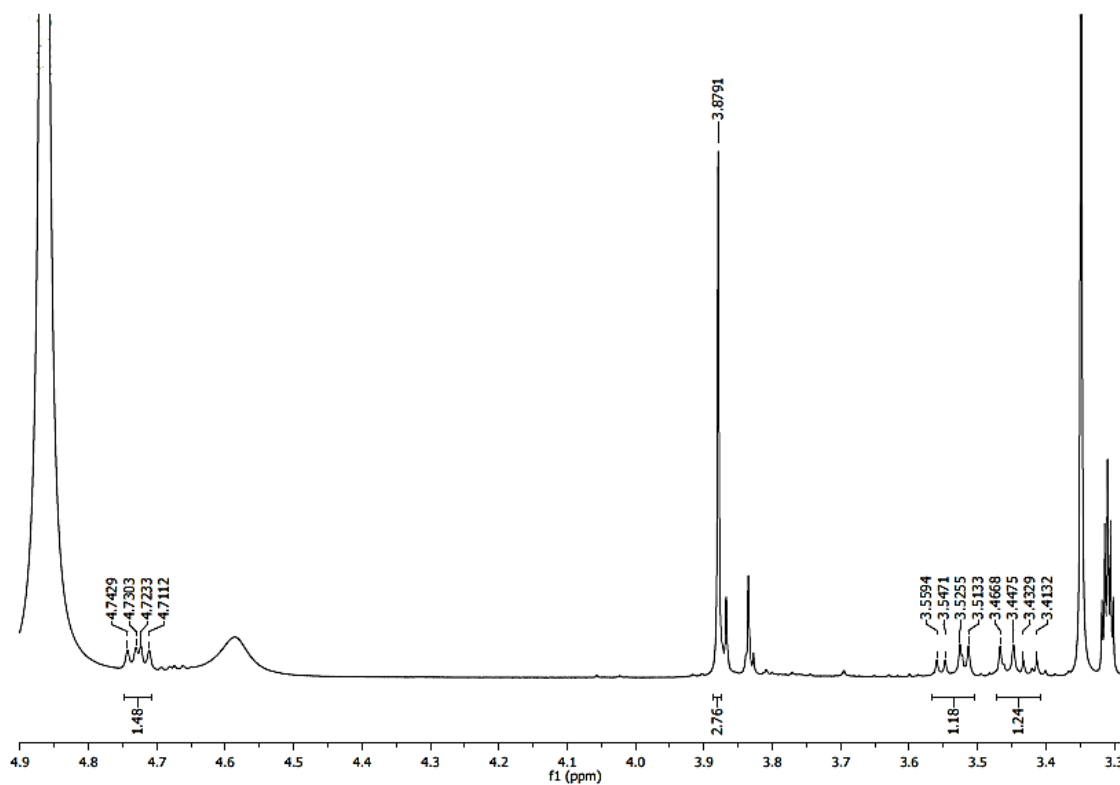
Fonte: próprio autor.

Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 6,3 a 7,6 ppm).



Fonte: próprio autor

Figura 36 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 3,3 a 4,9 ppm).



Fonte: próprio autor.

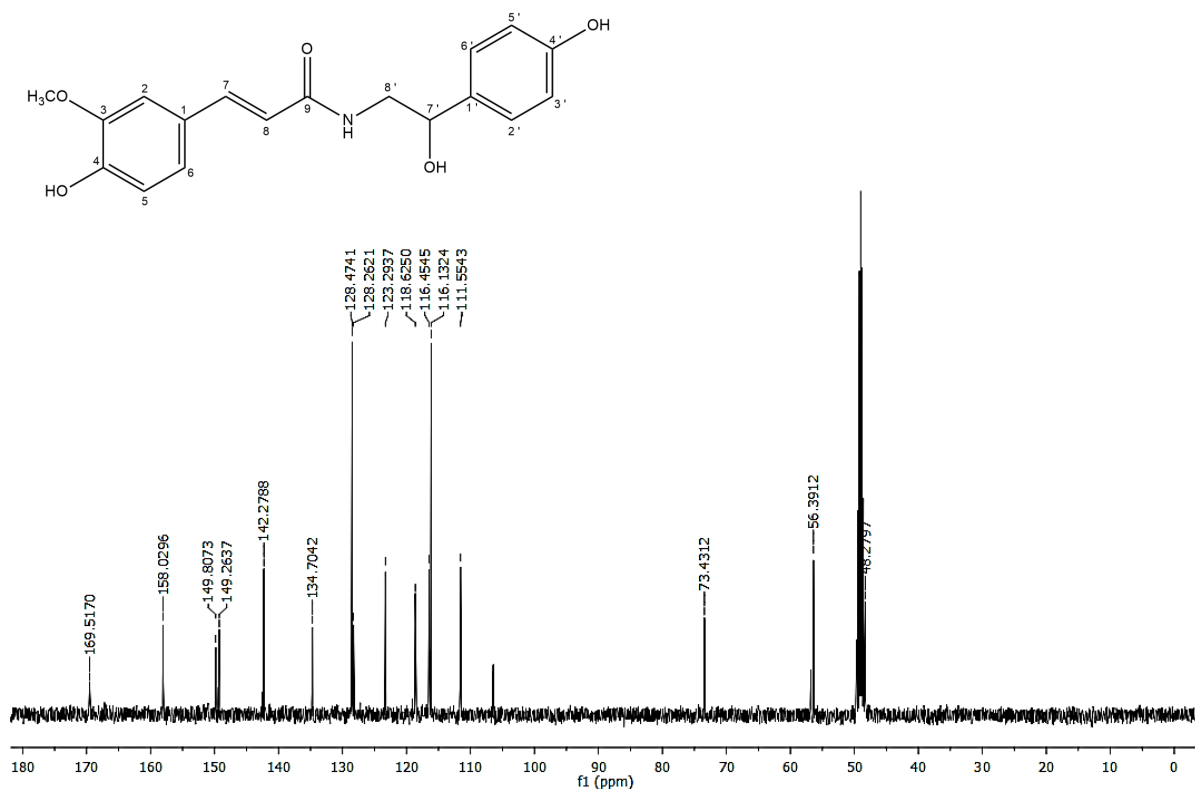
O espectro de RMN de ^{13}C de MP-2, obtido em CD_3OD a 100 MHz, possibilitou a identificação de 16 sinais de carbono, sendo seis deles não hidrogenados, oito metínicos, um metilênico, e uma metila inerente à metoxila (3-OCH_3). Foi possível confirmar a presença do anel aromático 1,3,4-trissubstituído por meio dos sinais de carbonos não hidrogenados em δ_{C} 149,8 (C-4), δ_{C} 149,3 (C-3) e δ_{C} 128,3 (C-1), além dos metínicos em δ_{C} 123,3 (C-6), 116,5 (C-5) e 111,6 (C-2) em consonância com o sugerido sistema ABX de substituição. Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 142,3 (C-7) e δ_{C} 118,6 (C-8), se mostraram compatíveis com sistemas α - β conjugados à carbonila. O sinal em δ_{C} 169,5 foi atribuído ao carbono da carbonila (C-9). A confirmação do anel aromático com sistema AA'BB' de substituição, se deu por meio dos sinais em δ_{C} 158,0 (C-4'), δ_{C} 134,7 (C-1'), δ_{C} 128,5 (C-2',6') e δ_{C} 116,1 (C-3',5'). Foi evidenciado também a presença do carbono metileno nitrogenado por meio do sinal δ_{C} 48,3 (C-8'). O sinal em δ_{C} 73,4, foi atribuído ao carbono hidroxilado (C-7'), enquanto o sinal em δ_{C} 56,4 foi atribuído à metoxila aromática (3-OCH_3). Esses dados também dispostos na tabela 3 (pág. 82), confirmam a proposição da *N-trans*-feruloiloctapamina (Figura 37-39, pág. 76-77).

Durante o processo de coleta das frações e concentração em evaporador rotativo o mesmo evento de degradação detectado na MP-1, se apresentou na substância MP-2. Parte da fração coletada e concentrada em evaporador rotativo a 40 °C, apresentou um íon de m/z superior a 352.1157 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. No espectro de RMN ^1H foi possível observar um simpleto em δ_{H} 3,86 (3H) atribuído à metoxila aromática (3-OCH_3), além de um simpleto em δ_{H} 3.20, atribuído a uma metoxila alifática ligada na posição C-7', o que foi confirmado por RMN de ^{13}C -APT, onde foram observados sinais em δ_{C} 83,2 e 83,1 (C-7'), além de sinais em δ_{C} 56,8 (3-OCH_3) e 56,4 (7'- OCH_3), que confirmam a presença de duas metoxilas, em detrimento de uma única que seria esperada na *N-trans*-feruloiloctapamina.

Os resultados da substância na sua forma íntegra foram obtidos utilizando-se de secagem sob fluxo de nitrogênio, evitando-se a degradação por influência da temperatura, metanol e ácido fórmico sob agitação. A fração apresentou os respectivos dados pelos quais foi possível caracteriza-la como *N-trans*-feruloiloctapamina. O mecanismo proposto para a reação de formação do artefato seguiu-se de forma equivalente ao que foi apresentado para a *N-trans*-sinapoiloctapamina, sendo o artefato formado denominado 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida.

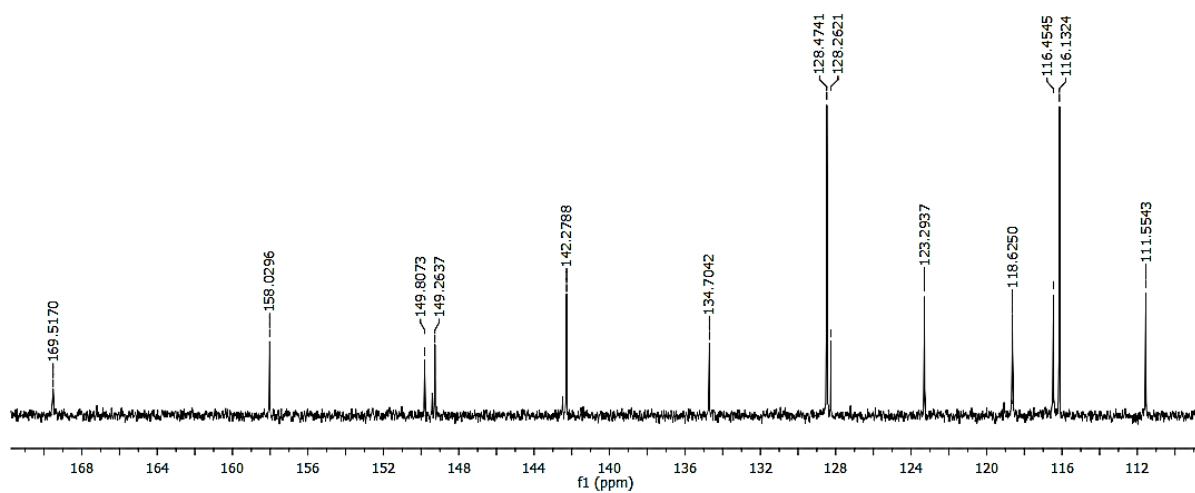
O mecanismo proposto para a formação do artefato, sugere que a molécula sofreu uma substituição nucleofílica, tendo por nucleófilo o metanol e o ácido fórmico como catalisador da reação (ácido fórmico/água 0,1% v/v) sob agitação. O eletrófilo da reação foi caracterizado pelo carbono secundário C-7', o qual se apresentava ligado a uma hidroxila possivelmente protonada levando à formação de uma carga parcial positiva nesse carbono, o que aumentou o seu caráter eletrofílico. A protonação da hidroxila corroborou tornando-a também um melhor grupo de saída. O resultado da reação foi a formação do artefato denominado 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)-2-Metoxietil] Acrilamida (Figura, 40-41, pág.78).

Figura 37 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-2.



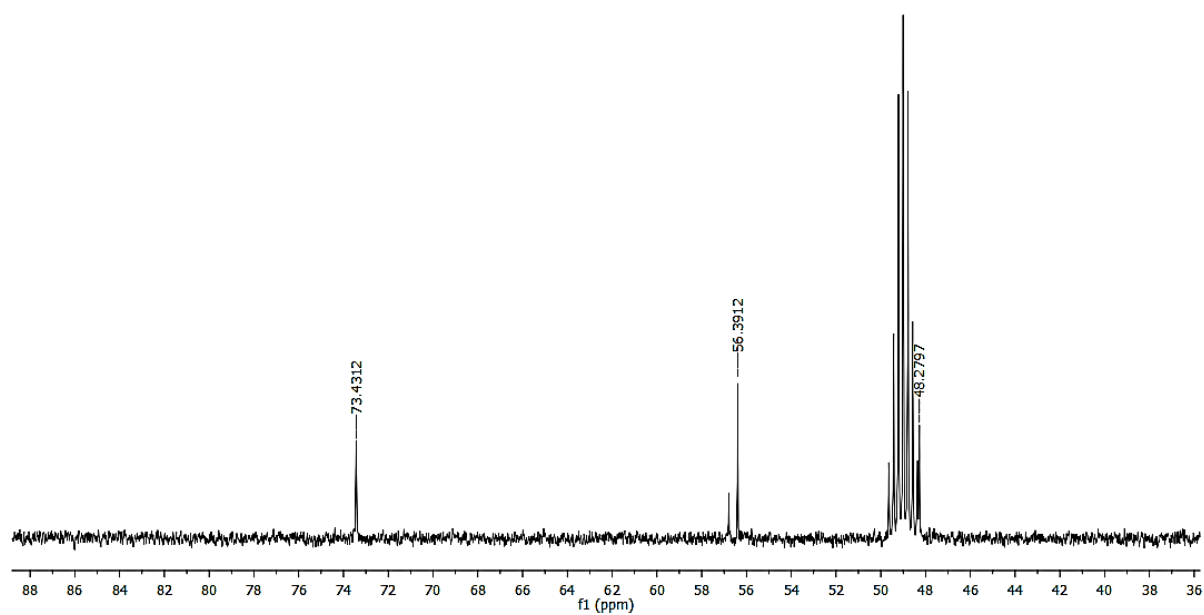
Fonte: próprio autor.

Figura 38 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 112 a 170 ppm).



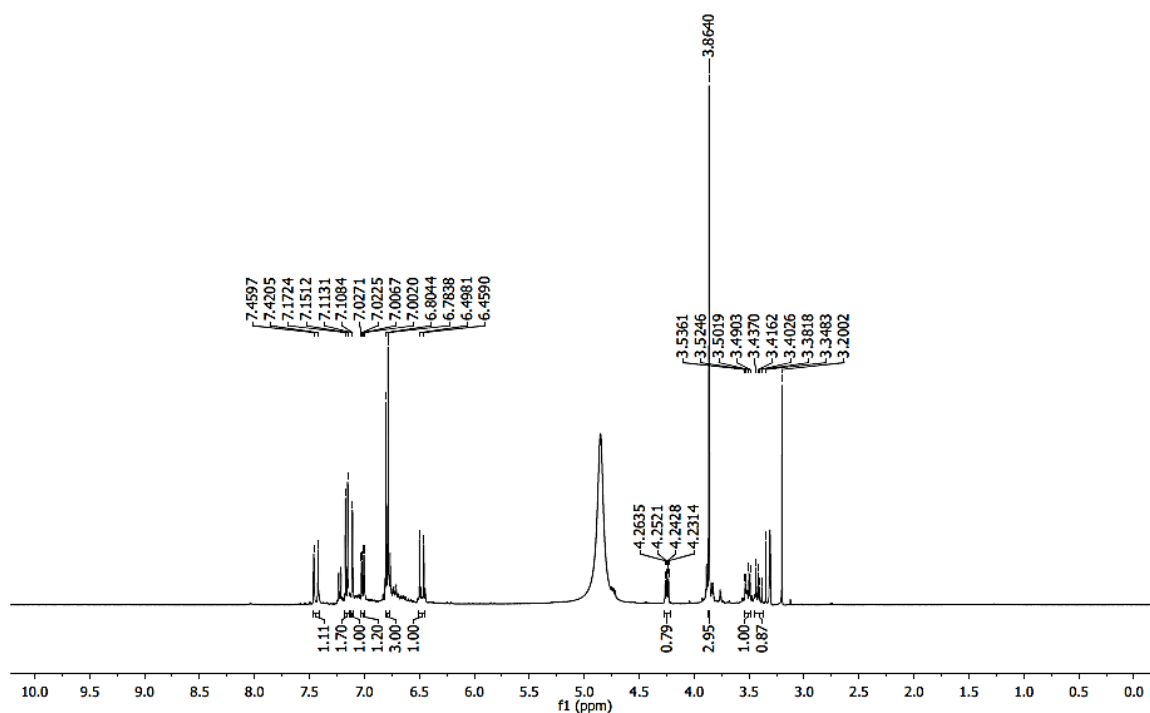
Fonte: próprio autor.

Figura 39 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-2 (expansão na região 36 a 88 ppm).



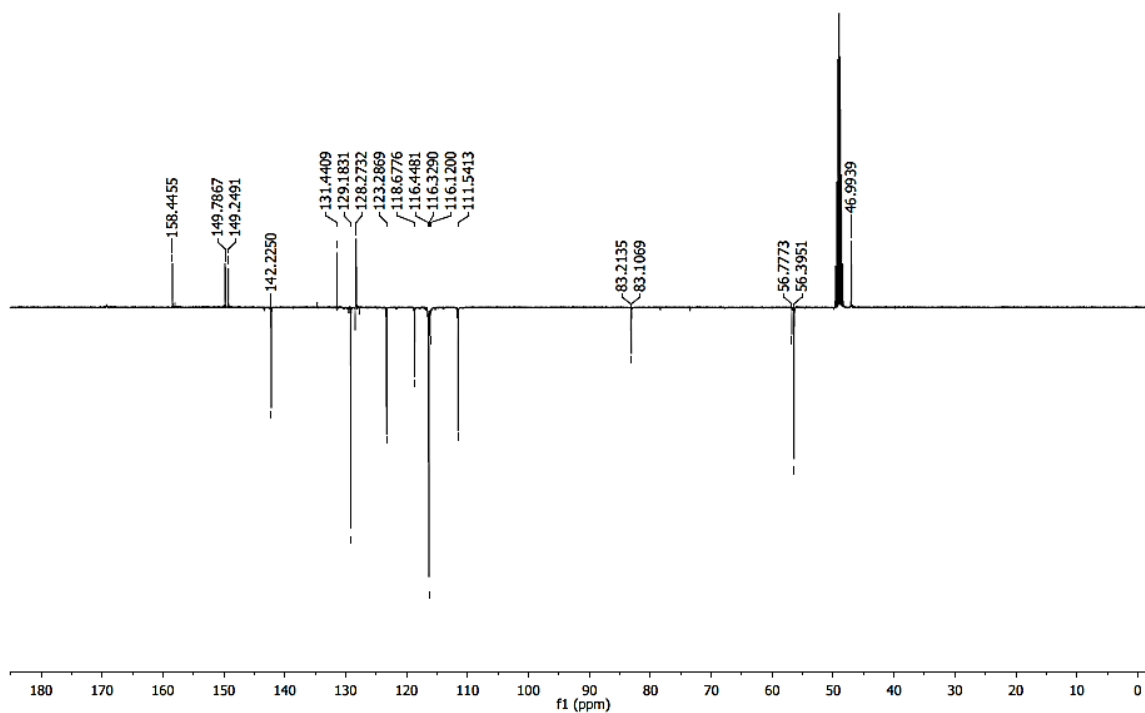
Fonte: próprio autor.

Figura 40 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)-2-metoxietil] acrilamida.



Fonte: próprio autor.

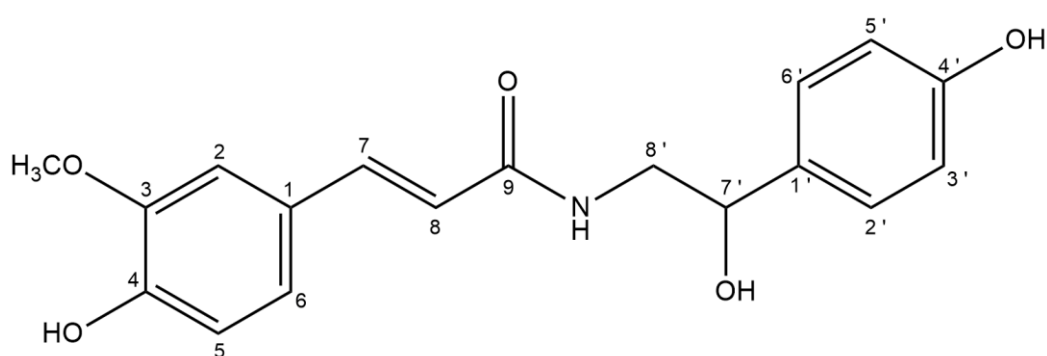
Figura 41 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-[2-(4-hidroxifenil)-2-metoxietil] acrilamida.



Fonte: próprio autor.

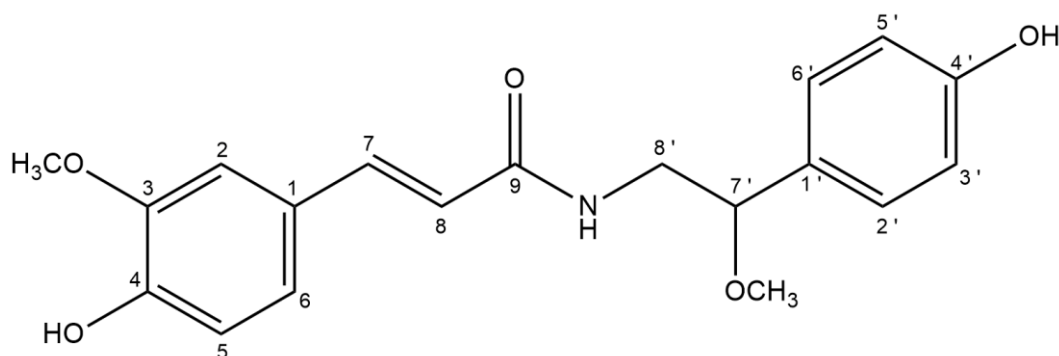
Após análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e a comparação com dados da literatura (SUN et al., 2015), foi possível concluir que a substância codificada como MP-2 trata-se de uma *N-trans*-feruloilactapamina (Figura 42). Esse composto solúvel em metanol em meio ácido (ácido fórmico/água 0,1% v/v) sob uma temperatura de 40 °C, pode sofrer uma reação de substituição nucleofílica para formação da 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-[2-(4-hidroxifenil)-2-metoxietil] acrilamida (Figura 43).

Figura 42 - Estrutura química da *N-trans*-feruloilactapamina.



Fonte: próprio autor

Figura 43 - Estrutura química da 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-[2-(4-hidroxifenil)-2-metoxietil] acrilamida.



Fonte: próprio autor

Quando a *N-trans*-feruloilactapamina foi isolada a primeira vez, foi constatada sua alta bioatividade como um antioxidante primário proveniente das cascas do alho. Os experimentos tendo ratos como modelos indicaram essa substância como um regulador endógeno importante, apresentando potencial terapêutico para tratamento da esteato-hepatite não alcoólica (WU et al., 2014). A relação estrutura-atividade indicou que a significativa atividade antioxidante da *N-trans*-feruloilactapamina pode ser afetada pelo grupo $-\text{OCH}_3$ presente em C-3 (LI et al., 2012).

Outro estudo realizado por BAI et al. (2017), evidenciou atividade antitumoral *in vitro* relacionada à forte habilidade dessa amida fenólica em inibir a proliferação celular e a invasão em células HCC. Em estudos relacionados ao SARS-CoV (Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave), a *N-trans*-feruloilooctapamina exibiu significativa atividade inibitória da protease semelhante à papaína (PLpro), que desempenha um papel importante na mediação da replicação do RNA viral (SONG et al., 2014).

Tabela 3 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-2^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da N-trans-feruloilactapamina^b.

posição	MP-2		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		128,3, C		128,3, C
2	7,12, d (1,8)	111,6, CH	7,11, d (1,5)	111,6, CH
3		149,3, C		149,3, C
4		149,8, C		149,9, C
5	6,80, d (8,4)	116,5, CH	6,79, d (8,5)	116,5, C
6	7,03, dd (8.2, 1.9)	123,3, CH	7,02, dd (8.5, 1.5)	123,2, CH
7	7,44, d (15,7)	142,3, CH	7,44, d (15,5)	142,2, CH
8	6,46, d (15,7)	118,6, CH	6,46, d (15,5)	118,6, CH
9				169,5, C
1'		134,7, C		134,7, C
2'	7,23, d (8,5)	128,5, CH	7,22, d (8,5)	128,5, CH
3'	6,78, d (8,7)	116,1, CH	6,77, d (8,5)	116,5, CH
4'		158,0, C		158,1, C
5'	6,78, d (8,7)	116,1, CH	6,77, d (8,5)	116,5, CH
6'	7,23, d (8,5)	128,5, CH	7,22, d (8,5)	128,5, CH
7'	4,73, dd (7.8, 5.0)	73,4, CH	4,72, dd (7.0, 5.0)	73,4, CH
8'		48,3, CH ₂		48,3, CH ₂
8a'	3,54, m		3,53, dd (13.5, 5.0)	
8b'	3,44, m		3,45, dd (13.5, 8.0)	
3-OCH ₃	3,88, s	56,4, CH ₃	3,87, s	56,4, CH ₃

^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz.

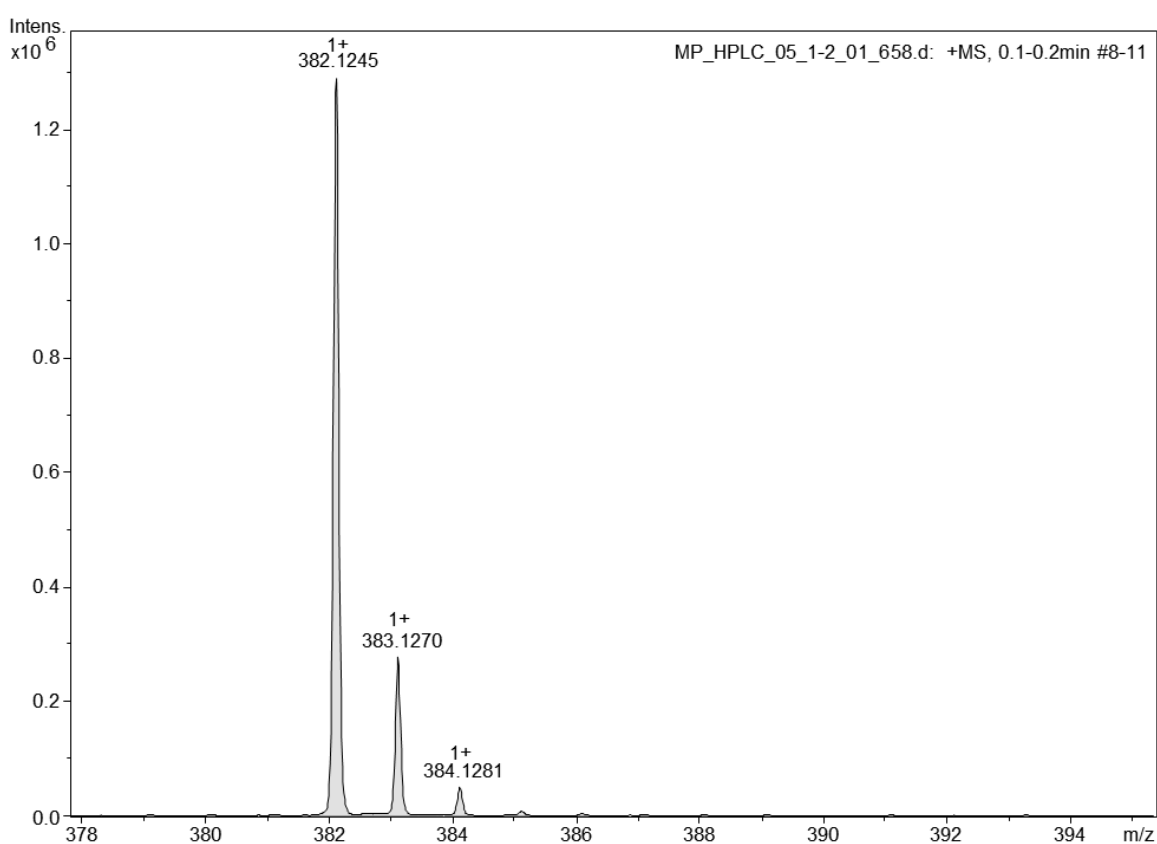
^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa e de SUN et al. (2015).

5.3 Identificação estrutural de MP-3

A substância codificada como MP-3, foi isolada na forma de uma resina incolor. Sua fórmula molecular foi definida como $C_{19}H_{21}NO_6$ por IES-EMAR (+) com m/z 382.1245 $[M + Na]^+$ (calculado para $C_{19}H_{21}NNaO_6$, 382.1261, $\Delta = 4,1$ ppm). Por conseguinte, foi indicado um índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a dez (Figura 44).

Figura 44 - Espectro de IES-EMAR de MP-3 ($[M + Na]^+$, modo de ionização positivo).

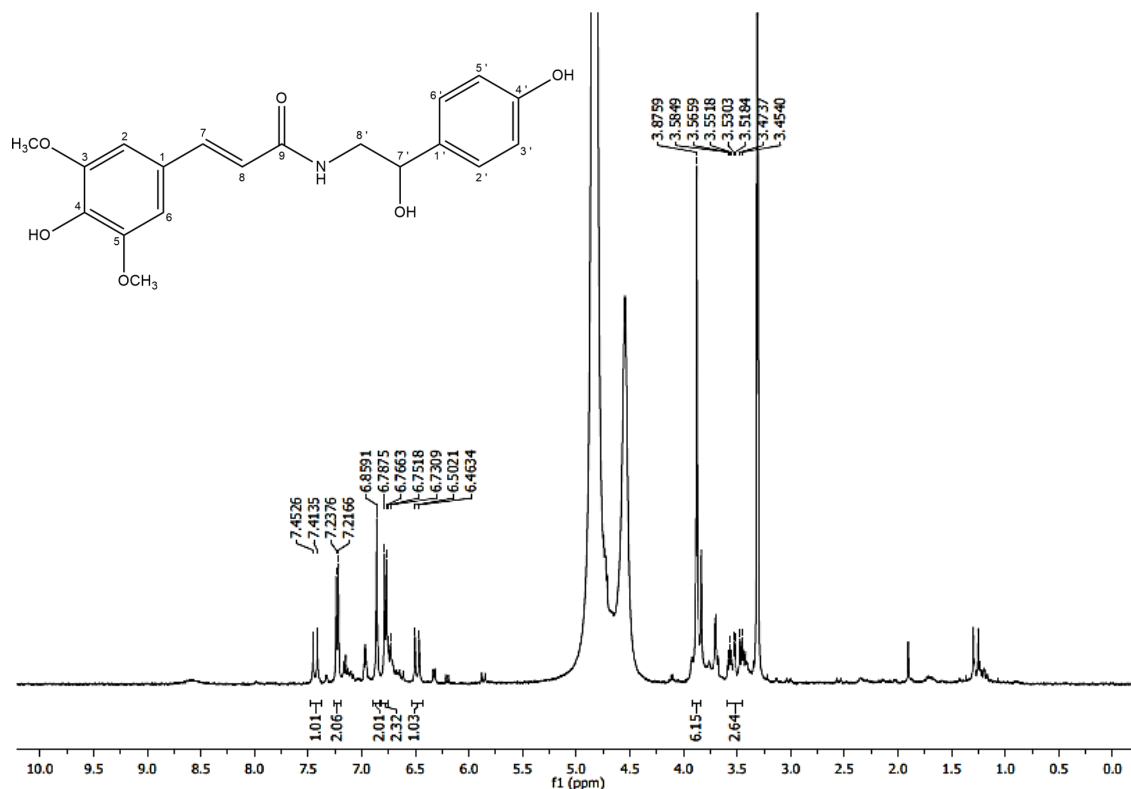


Fonte: Próprio autor.

O espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi possível observar um duplete em δ_H 7,23 (2H, $J = 8,4$ Hz), atribuído aos H-2',6'; um simpleto em δ_H 6,86 (2H) atribuído aos H-2,6 e um duplete em δ_H 6,78 (2H, $J = 8,5$ Hz) atribuído aos H-3',5', evidenciando a existência de dois anéis aromáticos; um anel 1,3,4,5-tetrassubstituído e outro apresentando um sistema tipo AA'BB' de substituição. Se fez notável, a presença de dupletos em δ_H 7,43 (1H, $J = 15,6$ Hz) e δ_H 6,48 (1H, $J = 15,5$ Hz), atribuídos a hidrogênios olefínicos

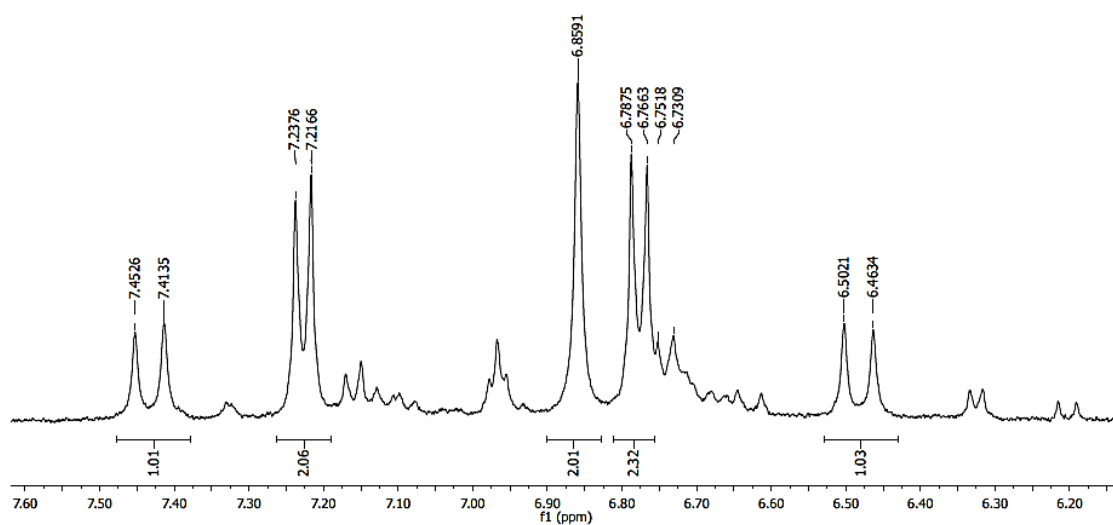
conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento de aproximadamente 15,6 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação. Não foi possível observar a presença de um duplo duplete em δ_{H} 4,75 (1H, $J = 7,8; 5,0$ Hz), que seria atribuído ao H-7', devido uma sobreposição de sinal causada pelo solvente. No entanto, se apresentou um simpleto em δ_{H} 3,89 (6H), atribuído às duas metoxilas (3,5-OCH₃), além, de dois duplos dupletos evidenciados em δ_{H} 3,56 (1H, $J = 13,6; 5,0$) e δ_{H} 3,47 (1H, $J = 13,5; 7,8$ Hz), os quais foram atribuídos aos H-8a' e H-8b', respectivamente (Figura 45-46).

Figura 45 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.



Fonte: próprio autor.

Figura 46 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão na região 6,2 a 7,6 ppm).

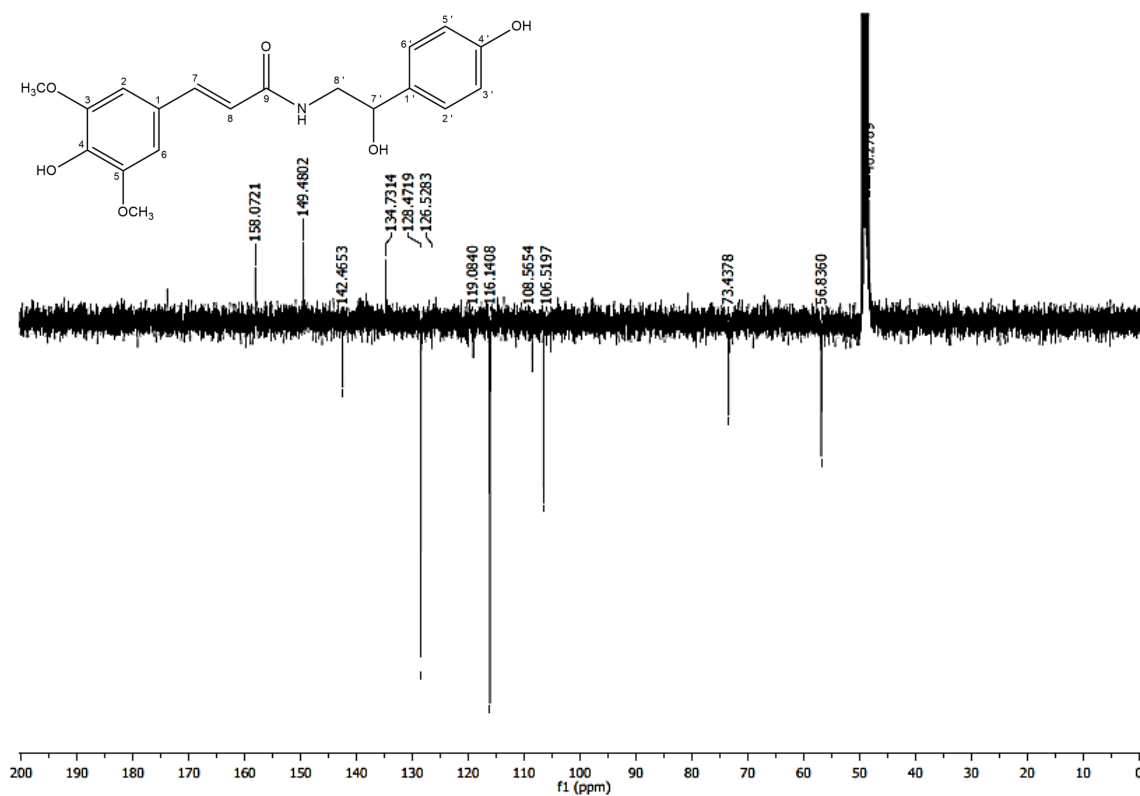


Fonte: próprio autor.

O espectro de RMN de ^{13}C -APT de MP-3, obtido em CD_3OD a 100 MHz, possibilitou a identificação de 14 sinais de carbono, sendo seis deles não hidrogenados, seis metínicos, um metilênico, e uma metila. Foi possível confirmar a presença do anel aromático 1,3,4,5-tetrassubstituído por meio dos sinais em δ_{C} 149,5 (C-3,5); 138,9 (C-4); 126,5 (C-1); 106,5 (C-2,6); 56,8 (3,5- OCH_3). Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 142,5 (C-7) e δ_{C} 119,1 (C-8), se mostraram compatíveis com sistemas α - β conjugados à carbonila. O sinal em δ_{C} 169,4 foi atribuído ao carbono da carbonila (C-9). A confirmação do anel aromático com sistema do tipo AA'BB' de substituição, se deu por meio dos sinais em δ_{C} 134,6 (C-1'), 158,1 (C-4'), 128,5 (C-2',6') e 116,1 (C-3',5'). Foi evidenciado também a presença do carbono metileno nitrogenado por meio do sinal δ_{C} 48,3 (C-8'), enquanto a metina hidroxilada foi confirmada pelo deslocamento químico em δ_{C} 73,4 (C-7') corroborando a afirmação de que o sinal em 4,75 ppm no RMN ^1H teria sido realmente sobreposto pelo sinal do solvente (Figura 47-49, pág 86-87). Esses dados também estão dispostos na tabela 4, pág. 92.

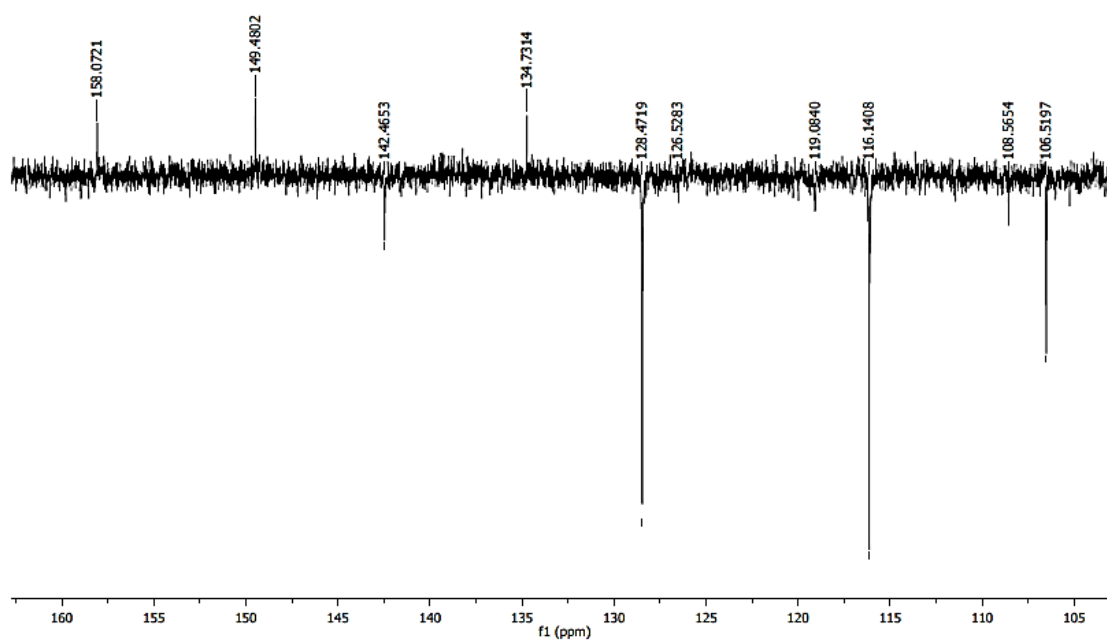
O confirmação de que o sinal parcialmente sobreposto em δ_{H} 4,75 ppm trata-se de H-7', torna-se mais evidente por meio da correlação observada no espectro de correlação heteronuclear HSQC entre δ_{H} 4,75 e δ_{C} 73,4. Os demais dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC e os dados de HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além dos espectros de correlação homonuclear COSY obtido em CD_3OD a 400 MHz, também estão dispostos na tabela 5, pág. 94 (Figura 50-56, pág. 87-90)., confirmam a proposição da *N-trans*-sinapoilactapamina (Figura 57, pág. 91).

Figura 47 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.



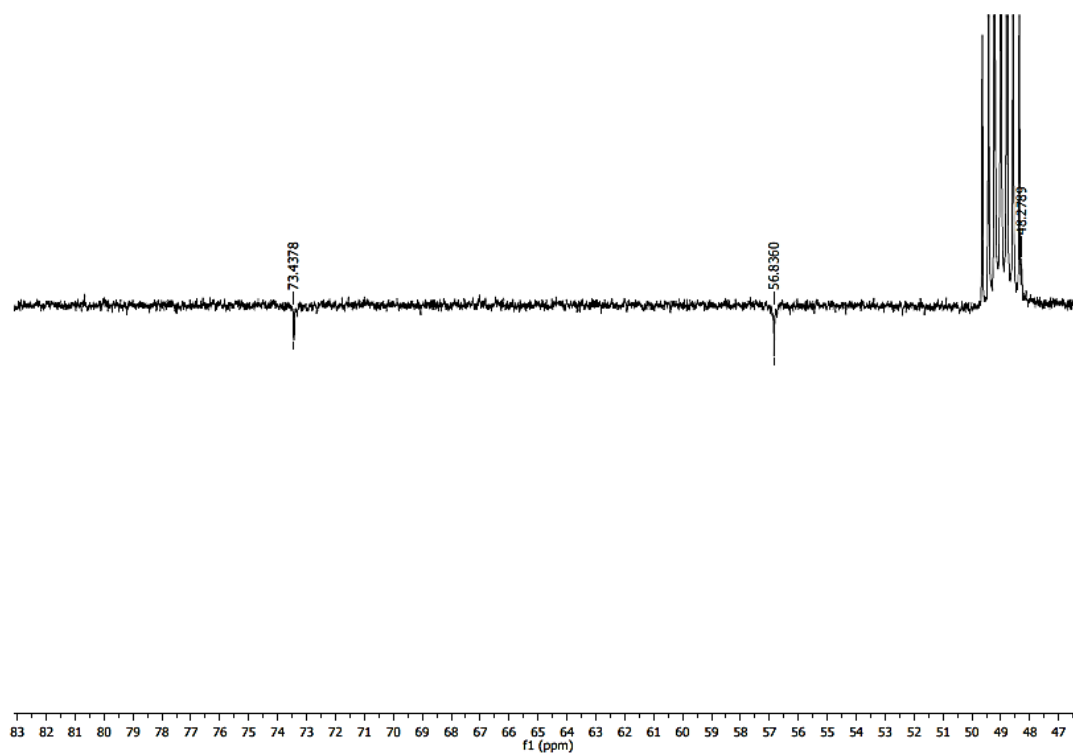
Fonte: próprio autor

Figura 48 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão na região 105 a 160 ppm).



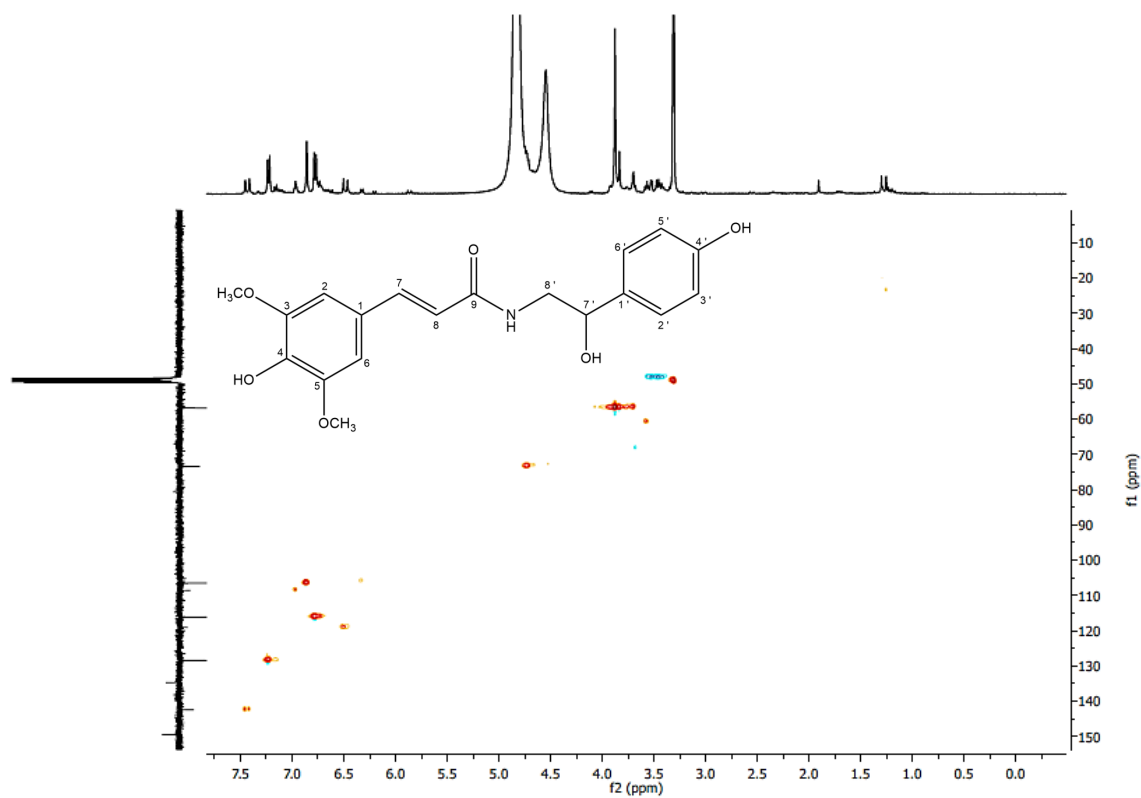
Fonte: próprio autor.

Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão na região 47 a 83 ppm).



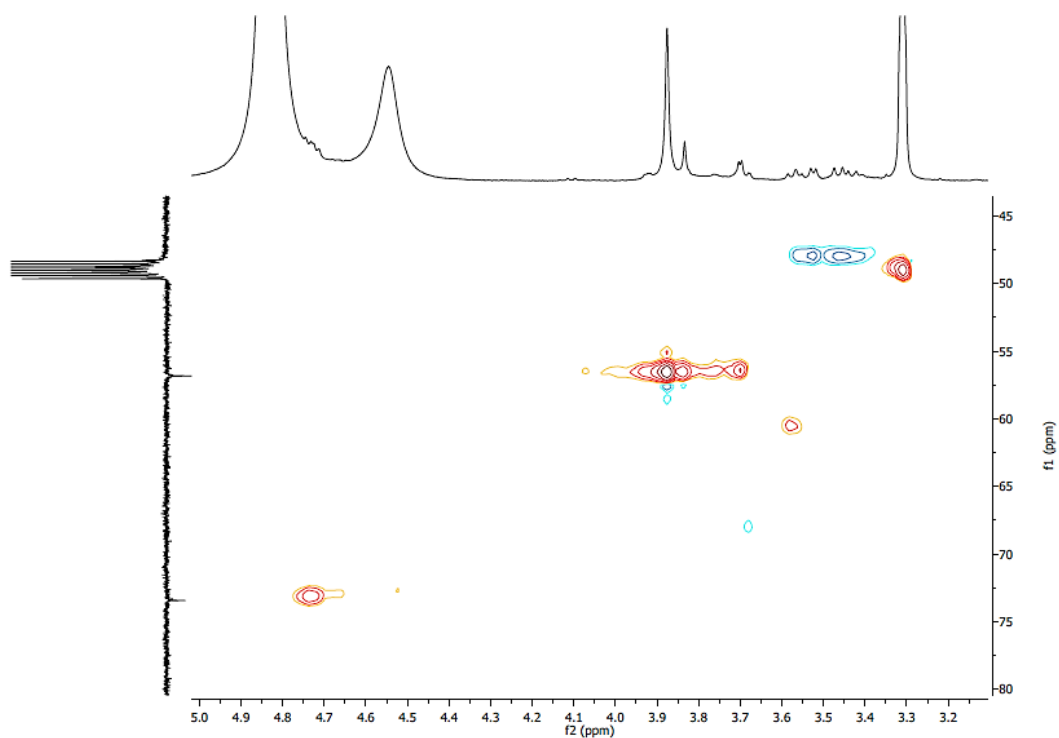
Fonte: próprio autor.

Figura 50 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.



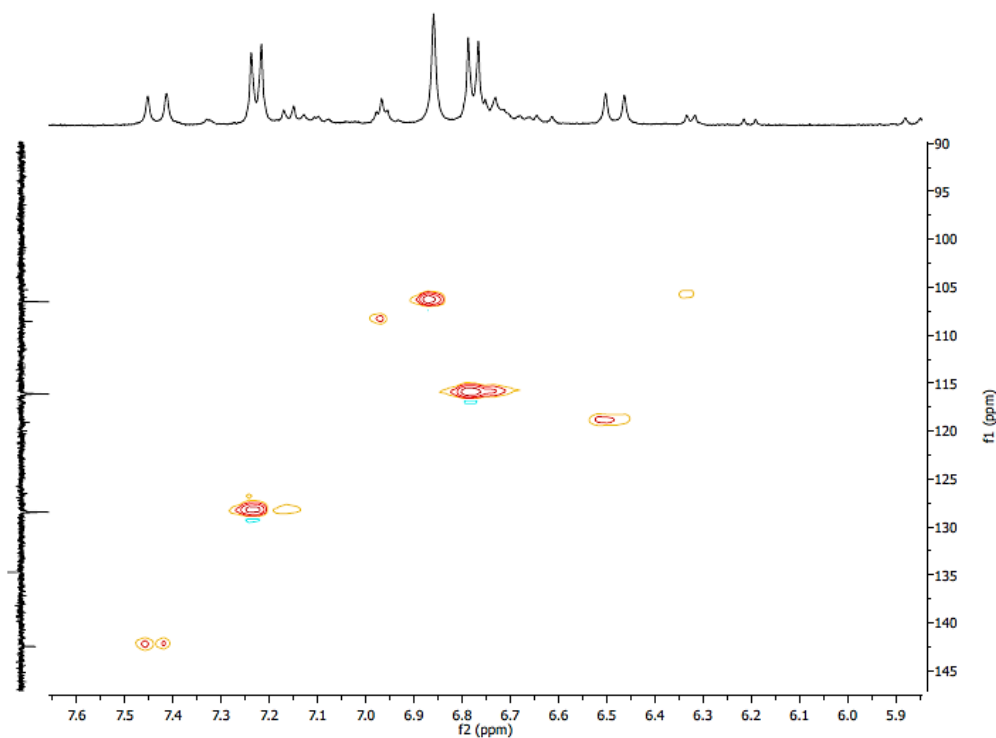
Fonte: próprio autor.

Figura 51 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 3,2-5,0 e 45-80 ppm).



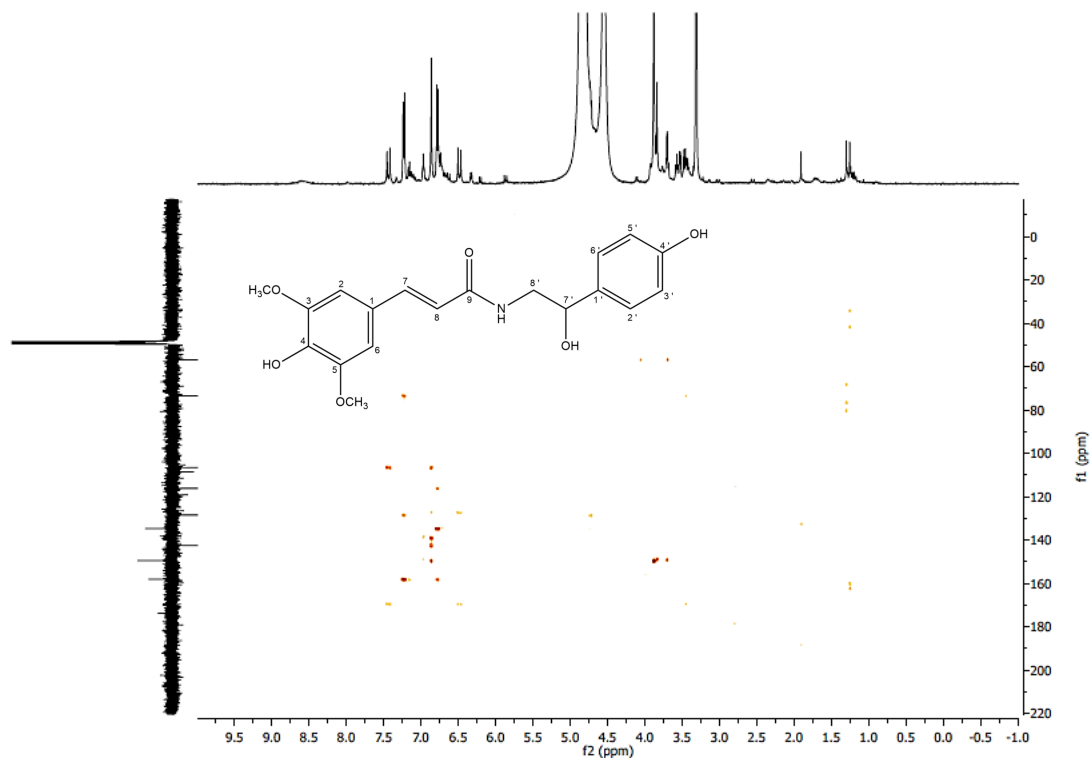
Fonte: próprio autor.

Figura 52 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 5,9-7,6 e 90-145 ppm).



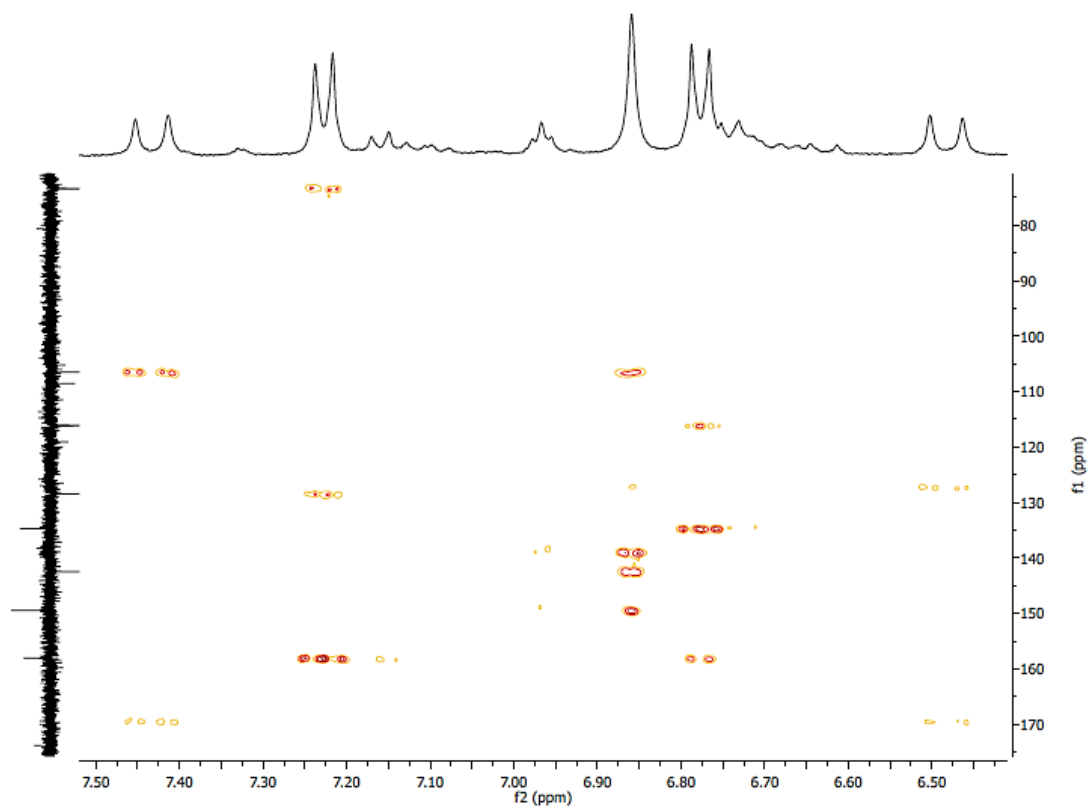
Fonte: próprio autor.

Figura 53 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.



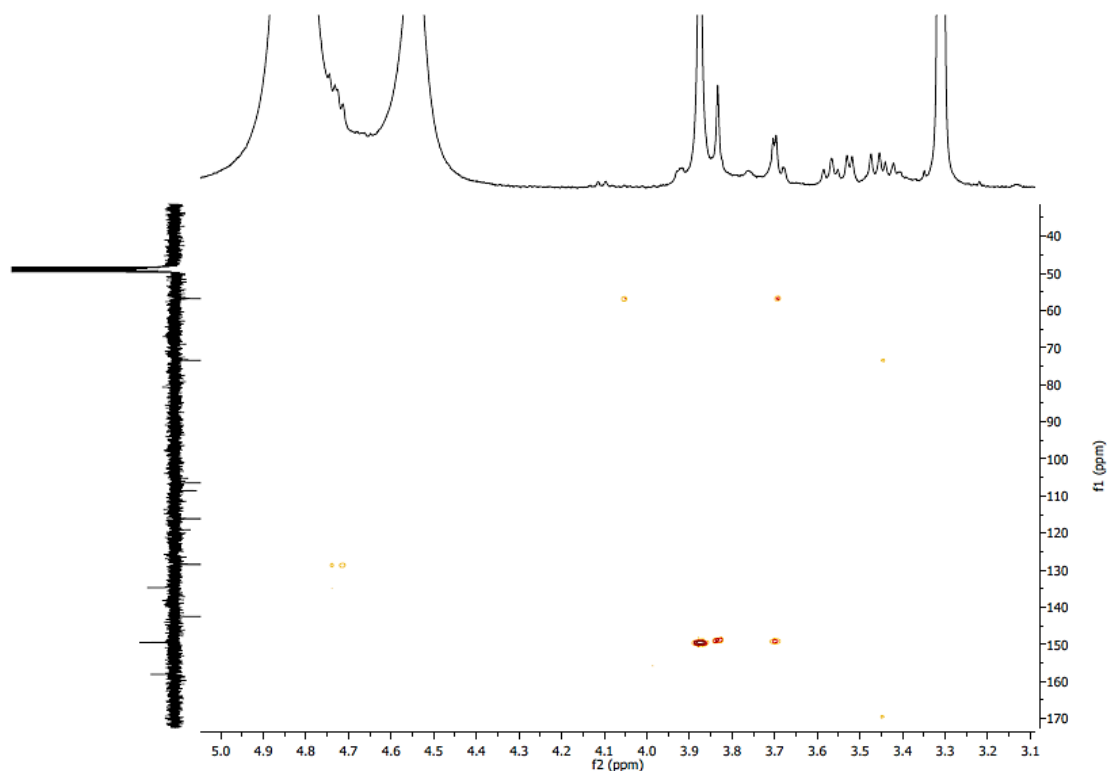
Fonte: próprio autor.

Figura 54 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 6,5-7,50 e 80-170 ppm).



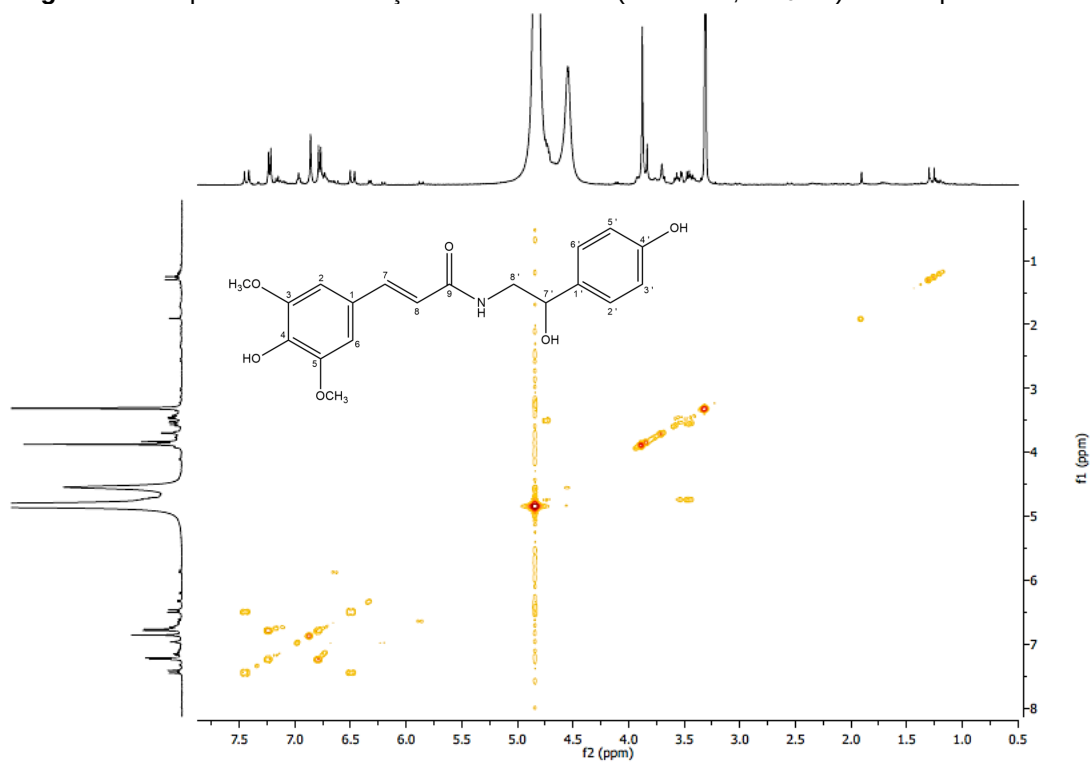
Fonte: próprio autor.

Figura 55 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-3 (expansão da região 3,1-5,0 e 40-170 ppm).



Fonte: próprio autor.

Figura 56 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-3.

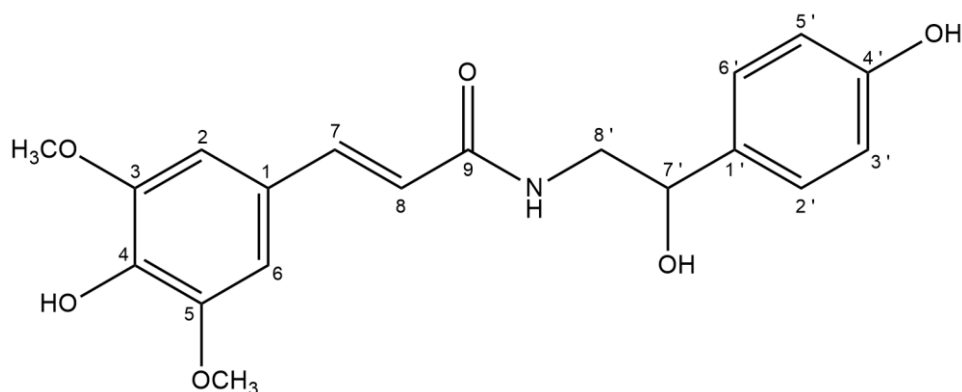


Fonte: próprio autor.

Após análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e dados de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY obtido em CD_3OD a 400 MHz e a comparação com dados da literatura (SUN et al., 2015), foi possível concluir que MP-3 assim como a MP-1, trata-se de uma *N-trans*-sinapoilactapamina (Figura 57), sendo possivelmente diferenciadas por isomeria óptica relativa ao carbono quiral C-7'.

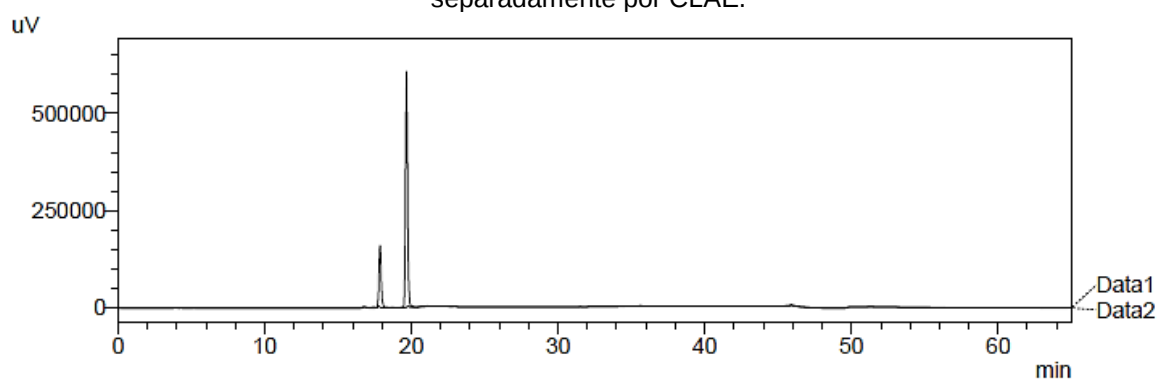
Essa substância (MP-3) foi coletada em CLAE preparativo em um tempo de retenção distinto em relação à MP-1. A injeção individual dessas substâncias em CLAE analítico, mantendo-se as mesmas condições de análise, possibilitou a confirmação da evidenciada distinção em tempos de retenção, pela sobreposição dos cromatogramas obtidos (Figura 58).

Figura 57 - Estrutura química da *N-trans*-sinapoilactapamina.



Fonte: próprio autor.

Figura 58 - Sobreposição de cromatogramas das substâncias MP-1 e MP-3 injetados e analisados separadamente por CLAE.



Fonte: próprio autor.

Tabela 4 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-3^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da N-trans-sinapoilactopamina^b.

posição	MP-3		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		126,5, C ^c		127,7, C
2	6,86, s	106,5, CH	6,86, s	106,8, CH
3		149,5, C		150,0, C
4		138,9, C ^c		135,2, C
5		149,5, C		150,0, C
6	6,86, s	106,5, CH	6,86, s	106,8, CH
7	7,43, d (15,6)	142,5, CH	7,43, d (15,5)	143,0, CH
8	6,48, d (15,6)	119,1, CH	6,49, d (15,5)	119,5, CH
9		169,4, C ^c		169,9, C
1'		134,6, C ^c		139,4, C
2'	7,23, d (8,4)	128,5, CH	7,22, d (8,5)	128,9, CH
3'	6,78, d (8,5)	116,1, CH	6,77, d (8,5)	116,6, CH
4'		158,1, C		158,6, C
5'	6,78, d (8,5)	116,1, CH	6,77, d (8,5)	116,6, CH
6'	7,23, d (8,4)	128,5, CH	7,22, d (8,5)	128,9, CH
7'	4,72 (m) ^d	73,4, CH	4,72, dd (7.5, 5.0)	73,9, CH
8'		48,3, CH ₂		48,8, CH ₂
8a'	3,54, dd (13.4, 4.8)		3,53, dd (14.0, 5.0)	
8b'	3,47, dd (13.2, 7.9)		3,44, dd (14.0, 8.0)	
3,5-OCH ₃	3,88, s	56,8, CH ₃	3,87, s	57,3, CH ₃

^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz.
^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.
^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD)
^dAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC (100 e 400 MHz, CD₃OD)

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa e de SUN et al. (2015).

Tabela 5 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-3^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1		126,5, C		
2	6,86, s	106,5, CH	C-3	C-4, C-7
3		149,5, C		
4		138,9, C		
5		149,5, C		
6	6,86, s	106,5, CH	C-5	C-4, C-7
7	7,43, d (15,6)	142,5, CH	C-1	C-2, C-6, C-9
8	6,48, d (15,6)	119,1, CH	C-9	C-1
9		169,4, C		
1'		134,6, C		
2'	7,23, d (8,4)	128,5, CH	C-3'	C-4', C-7'
3'	6,78, d (8,5)	116,1, CH	C-1', C-4'	
4'		158,1, C		
5'	6,78, d (8,5)	116,1, CH	C-1', C-4'	
6'	7,23, d (8,4)	128,5, CH	C-5'	C-4', C-7'
7'	4,72 (m)	73,4, CH		C-2', C-6'
8'		48,3, CH ₂		
8a'	3,54, dd (13,4, 4,8)	48,3, CH ₂		C-9
8b'	3,47, dd (13,2, 7,9)	48,3, CH ₂	C-7'	C-9
3,5-OCH ₃	3,88, s	56,8, CH ₃	C-3, C-5	

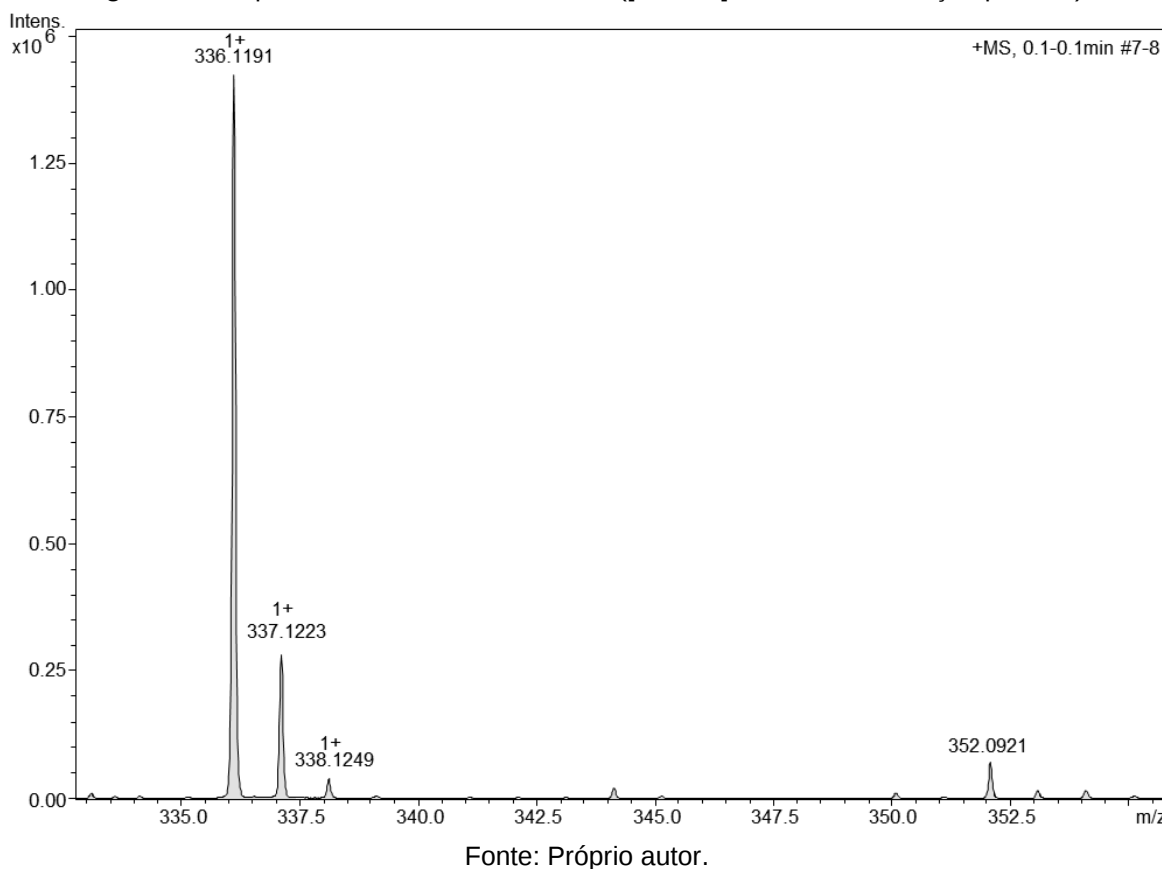
^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz (δ em ppm e J em Hz).

^bDados de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC e HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

5.4 Identificação estrutural de MP-4

A substância codificada como MP-4, foi isolada na forma de uma resina marrom. Sua fórmula molecular foi definida como $C_{18}H_{19}NO_4$ por IES-EMAR (+) com m/z 336.1191 $[M + Na]^+$ (calculado para $C_{18}H_{19}NNaO_4$, 336.1206, $\Delta = 4,5$ ppm). Por conseguinte, foi indicado um índice de deficiência de hidrogênio igual a dez (Figura 59).

Figura 59 - Espectro de IES-EMAR de MP-4 ($[M + Na]^+$, modo de ionização positivo).



Fonte: Próprio autor.

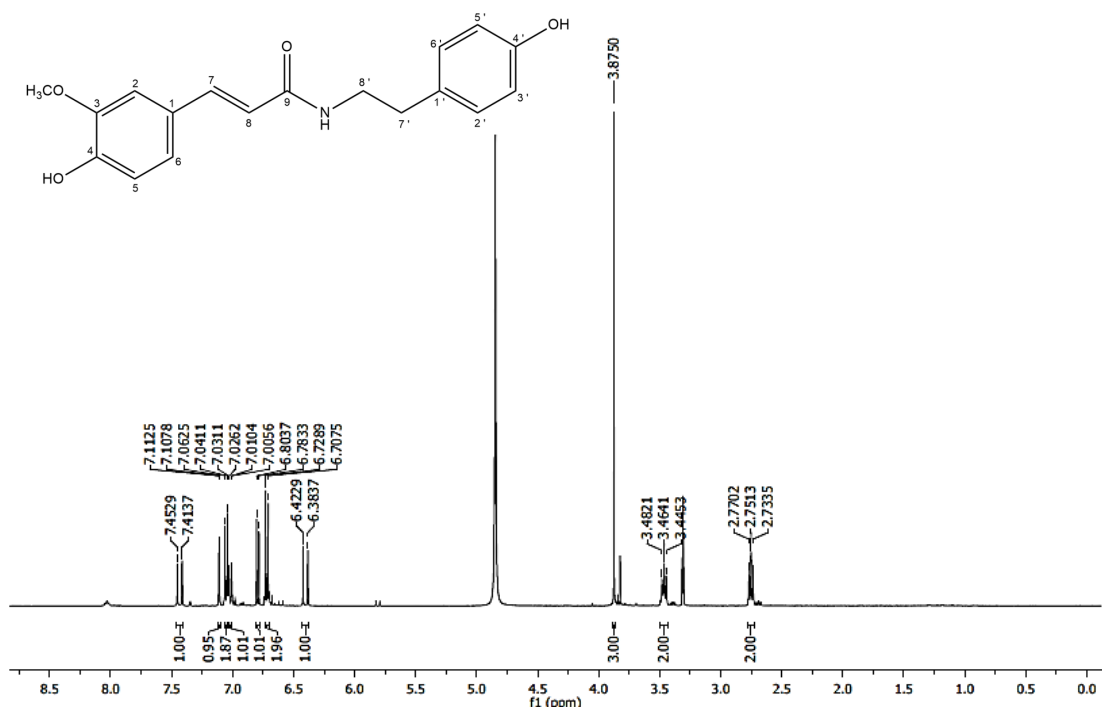
O espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi evidenciado um sistema ABX de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,11 (1H, $J = 1,9$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-2, um duplo duplete em δ_H 7,02 (1H, $J = 8,3, 2,0$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-6, e um duplete em δ_H 6,79 (1H, $J = 8,0$ Hz), atribuído ao H-5.

Seguindo essa linha, observou-se a existência de um segundo anel aromático apresentando o sistema AA'BB' de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,05 (2H, $J = 8,6$ Hz), atribuído aos H-2',6' e um duplete em δ_H 6,72 (2H, $J = 8,6$ Hz),

atribuído aos H-3',5'. Se fez notável também, a presença de dupletos em δ_H 7,43 (1H, $J = 15,7$ Hz) e δ_H 6,40 (1H, $J = 15,7$ Hz), atribuído aos hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 15,6 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação.

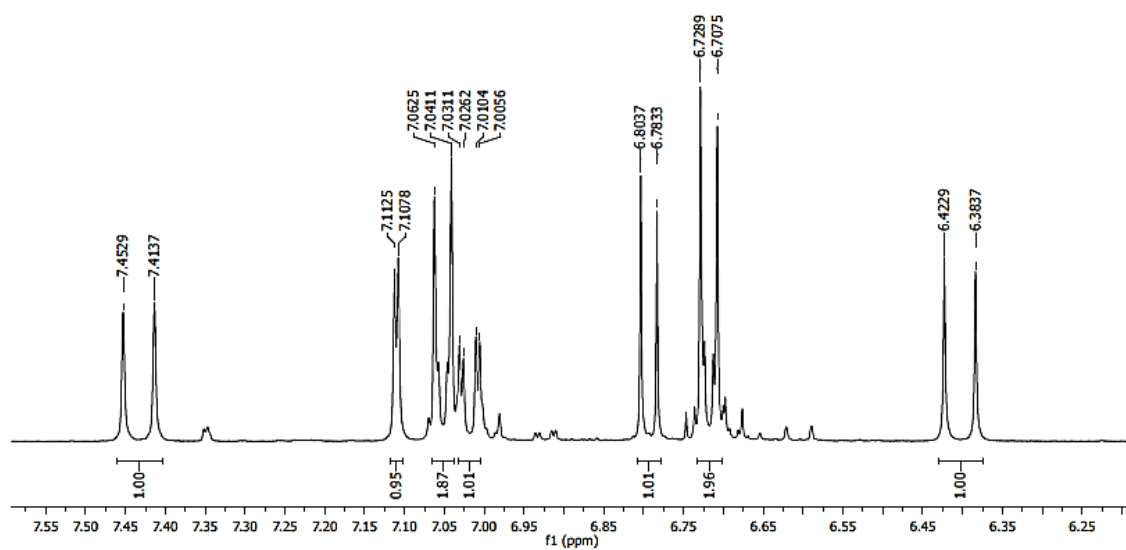
Observou-se ainda, a presença de um simpleto em δ_H 3,88 (3H), atribuído aos hidrogênios da metoxila ligada ao carbono três (3-OCH₃). Um tripleto em δ_H 3,46 (2H, $J = 7,5$ Hz) e um tripleto em δ_H 2,75 (2H, $J = 7,6$ Hz) atribuído aos H-8' e H-7', respectivamente (Figura 60-62, pág. 96-97).

Figura 60 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.



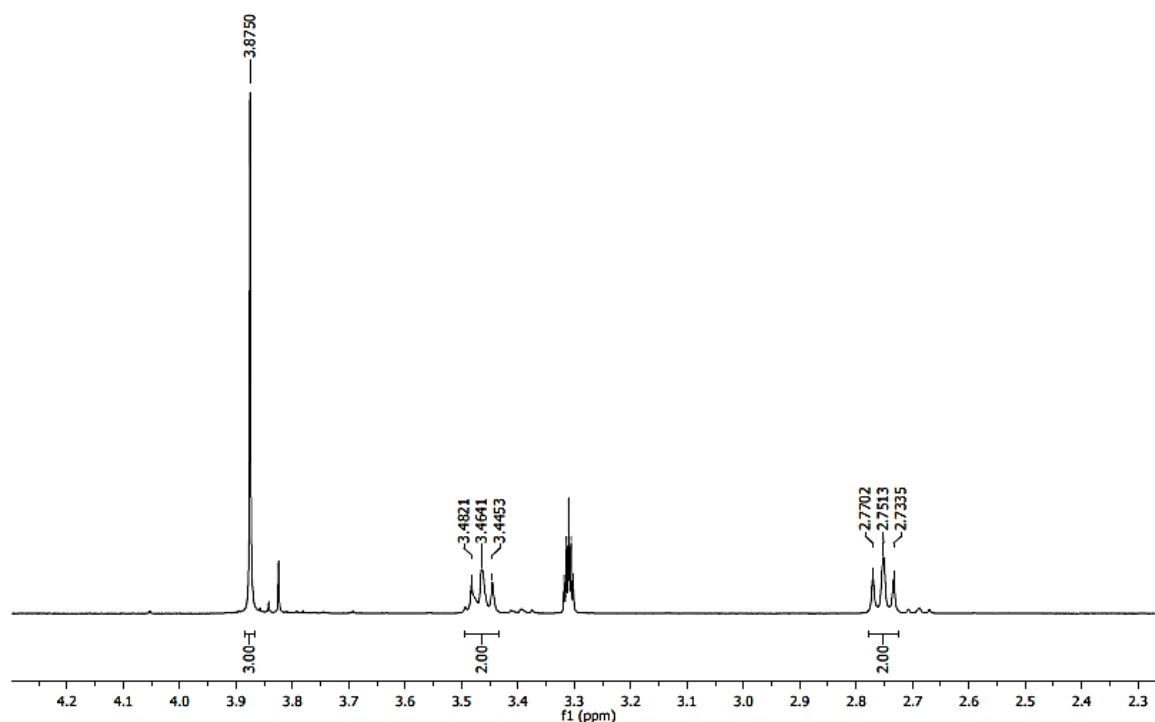
Fonte: próprio autor.

Figura 61 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 6,2 a 8,1 ppm).



Fonte: próprio autor.

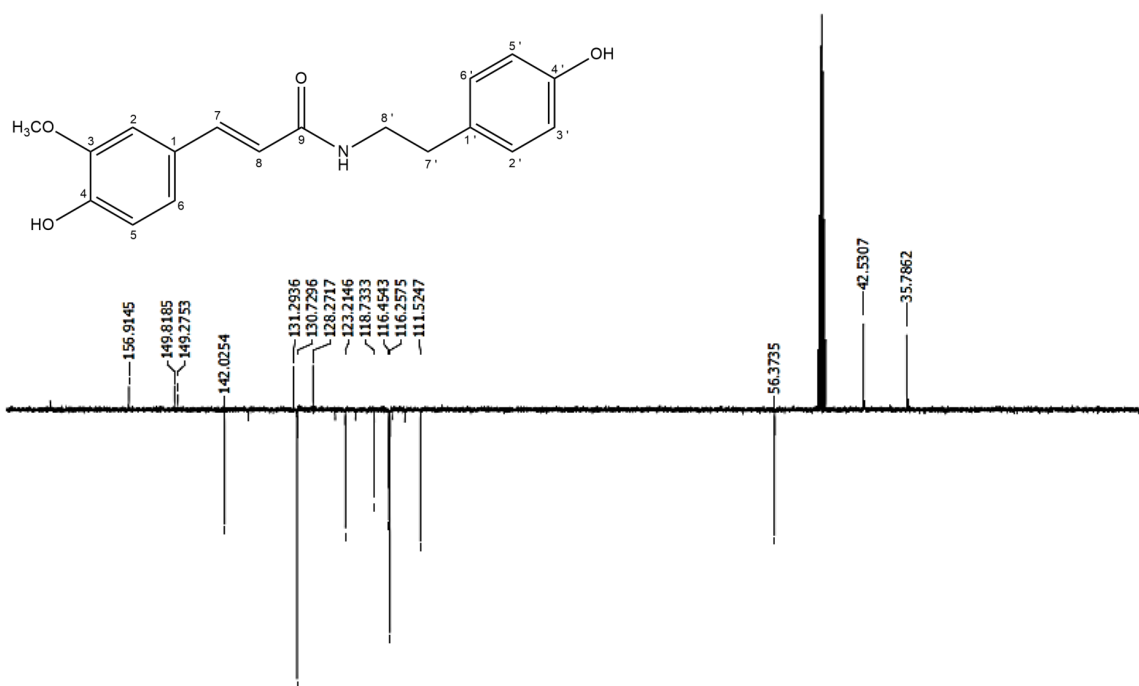
Figura 62 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 2,3 a 4,2 ppm).



Fonte: próprio autor

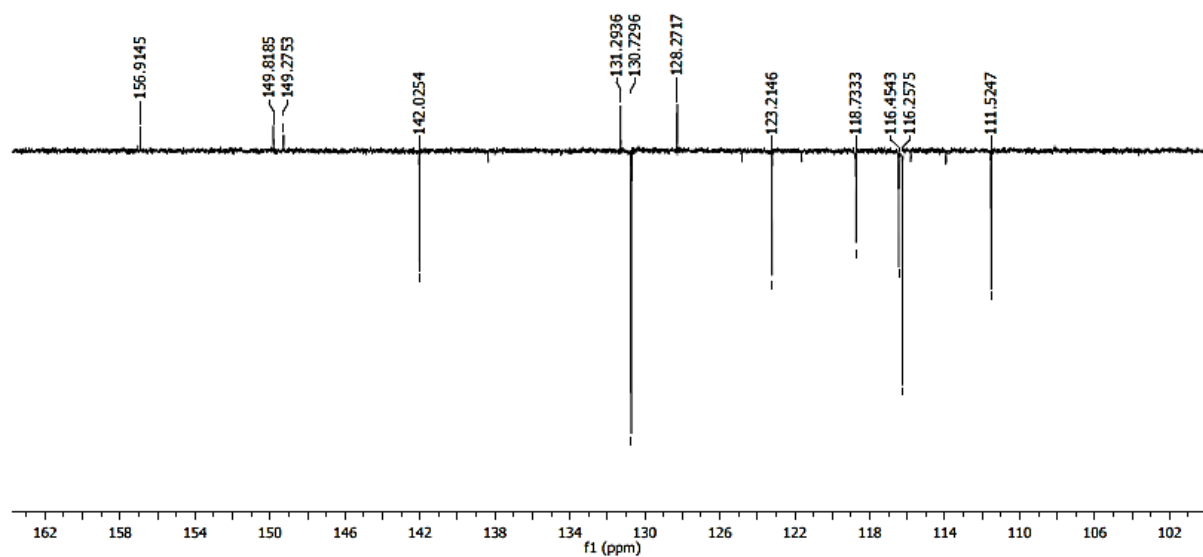
O espectro de RMN de ^{13}C -APT de MP-4, obtido em CD_3OD a 100 MHz, possibilitou a identificação de 16 sinais de carbono, sendo seis deles não hidrogenados, sete metínicos, dois metilênicos, e uma metila relacionada à metoxila (3-OCH_3). Foi possível confirmar a presença do anel aromático 1,3,4-trissubstituído por meio dos sinais em δ_{C} 149,8 (C-4); 149,3 (C-3), 128,3 (C-1) e 56,4 (3-OCH_3). Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 142,0 (C-7) e δ_{C} 118,7 (C-8), se mostraram compatíveis com sistemas α - β conjugados à carbonila. O sinal em δ_{C} 169,1, atribuído ao carbono da carbonila (C-9). A confirmação do anel aromático dissustituído com sistema do tipo AA'BB' de substituição evidenciado no espectro de hidrogênio, se deu por meio dos sinais em δ_{C} 156,9 (C-4'), 131,3 (C-1'), 130,7 (C-2',6') e 116,3 (C-3',5'). Foi evidenciado também a presença de um sinal em δ_{C} 42,5, atribuído carbono metileno nitrogenado C-8', e um sinal em δ_{C} 35,8, atribuído ao carbono metileno C-7' (Figura 63-65). Esses dados também estão dispostos na tabela 6, pág. 106.

Figura 63 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.



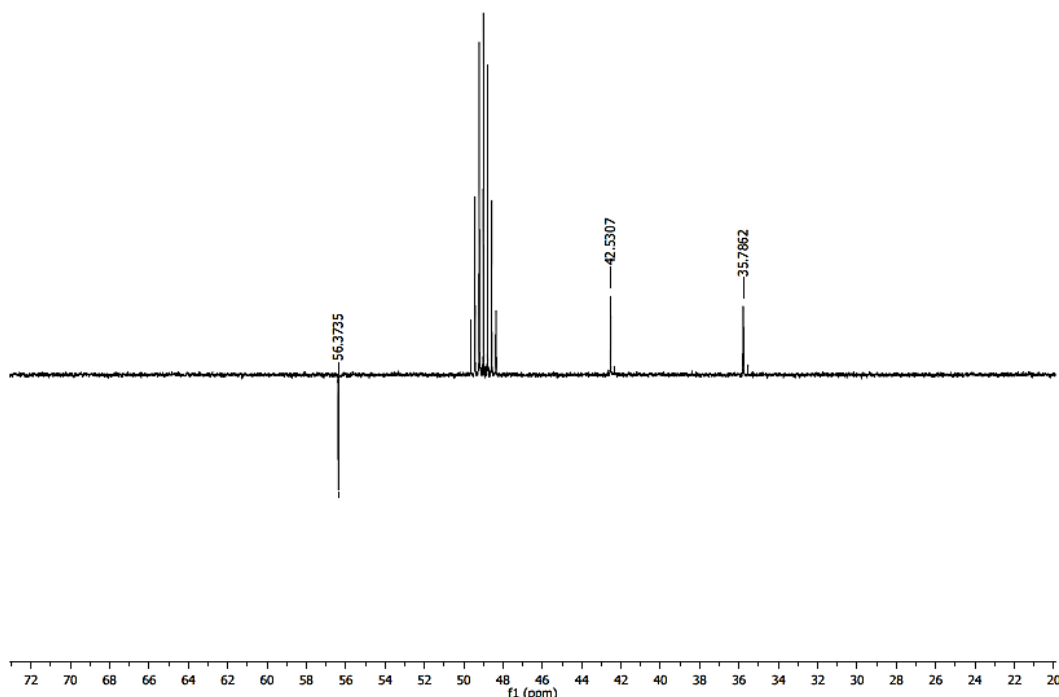
Fonte: próprio autor.

Figura 64 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 106 a 162 ppm).



Fonte: próprio autor.

Figura 65 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão na região 22 a 72 ppm).



Fonte: próprio autor.

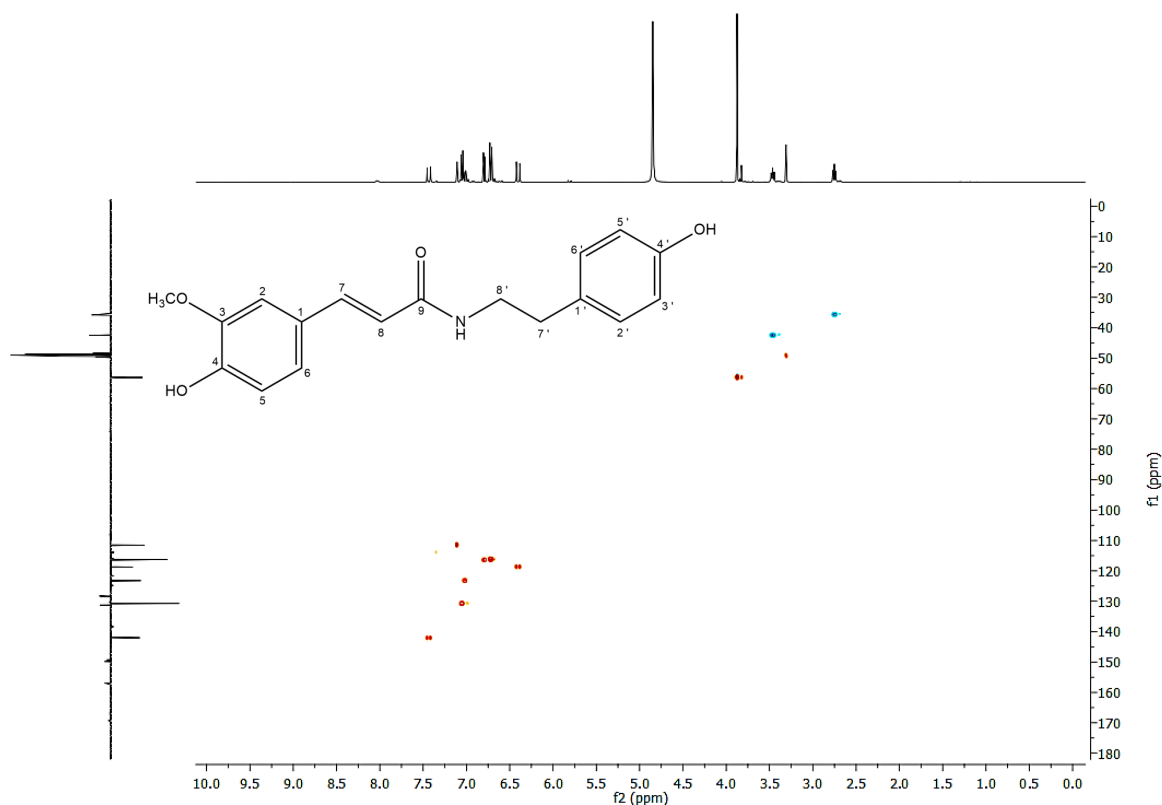
No espectro de correlação heteronuclear HSQC da substância MP-4 obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz (Figura 66-68, pág. 100-101) foi possível observar a correlação do tripleto em δ_{H} 2,75 (2H, $J = 7,5$ Hz) com δ_{C} 35,8 (C-7'), confirmando a atribuição a H-7' e a correlação de um outro tripleto em δ_{H} 3,46 (2H, $J = 7,6$ Hz) com δ_{C} 42,5 (C-8'), confirmando a atribuição a H-8'. A correlação do sinal em δ_{H} 7,11 (1H, $J = 1,9$ Hz) com δ_{C} 111,5, δ_{H} 7,02 (1H, $J = 8,3$, 2,0 Hz) com δ_{C} 123,2 e δ_{H} 6,79 (1H, $J = 8,0$ Hz) com δ_{C} 116,5, confirmam as atribuições a C-2, C-5 e C-6, respectivamente, relacionadas ao anel aromático da porção feruloil. E a correlação do sinal em δ_{H} 7,05 (2H, $J = 8,6$ Hz) com δ_{C} 130,7 e δ_{H} 6,72 (2H, $J = 8,6$ Hz) com δ_{C} 116,3, confirmam as atribuições a C-2',6' e C-3',5', respectivamente, e relaciona-se ao anel aromático da porção tiramina da substância. As demais correlações estão compiladas na tabela 7, pág. 107.

O espectro de correlação heteronuclear HMBC da substância MP-4 obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz (Figura 69-71, pág. 102-103), possibilitou observação de uma correlação do duplete em 7,43 (1H, $J = 15,7$ Hz) com os sinais em δ_{C} 111,5 (C-2), 123,2 (C-6), além demonstrar correlação com δ_{C} 169,1 (C-9). Enquanto isso, foi possível perceber uma correlação entre δ_{H} 3,46 (2H, $J = 7,6$ Hz) e os sinais em δ_{C} 35,8

(C-7'), 131,1 (C-1') e 169,1 (C-9), sendo confirmada a conexão entre as porções feruloil e tiramina. As demais correlações estão compiladas na tabela 7, pág. 107.

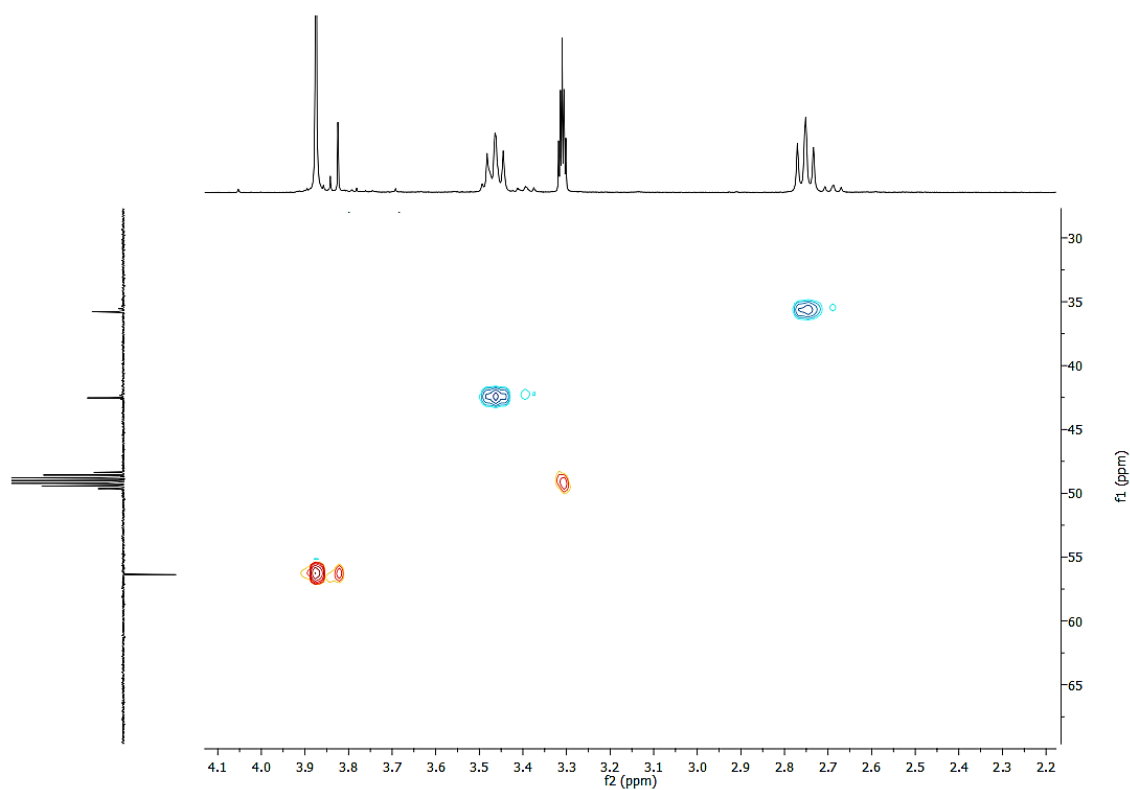
Os dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY e NOESY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figura 72-73, pág. 103-104), confirmam a proposição da N-trans-feruloiltiramina (Figura 74, pág. 104).

Figura 66 - Espectro de correlação ¹H e ¹³C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD₃OD) do composto MP-4.



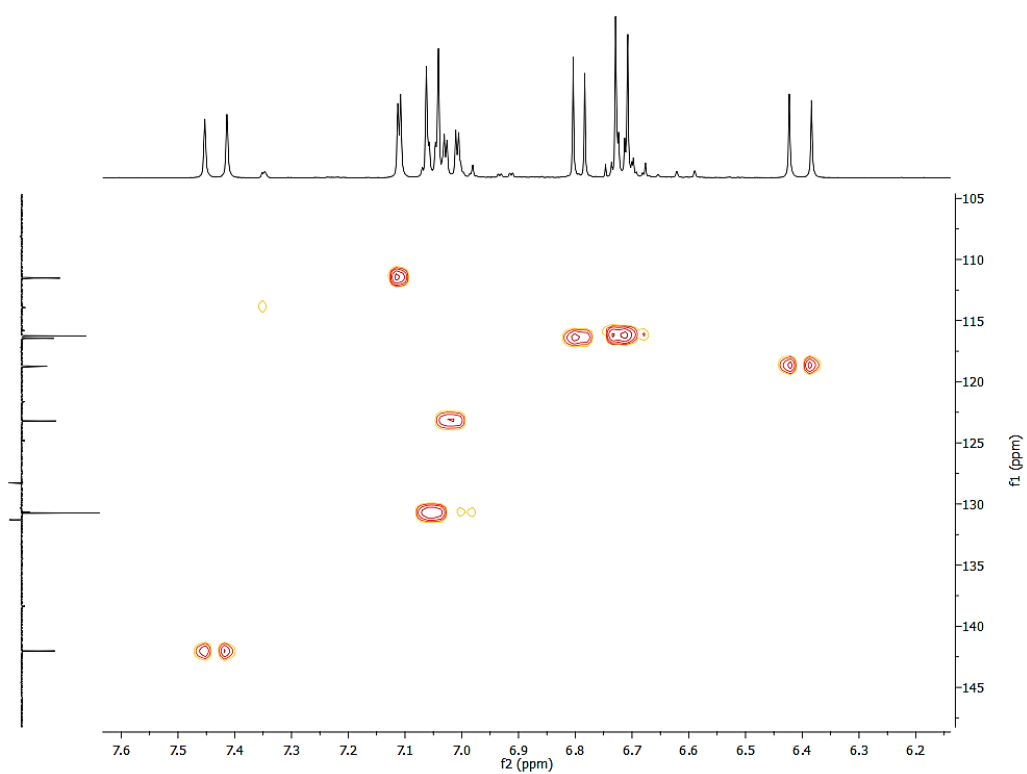
Fonte: próprio autor.

Figura 67 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 2,2-4,1 e 30-65 ppm).



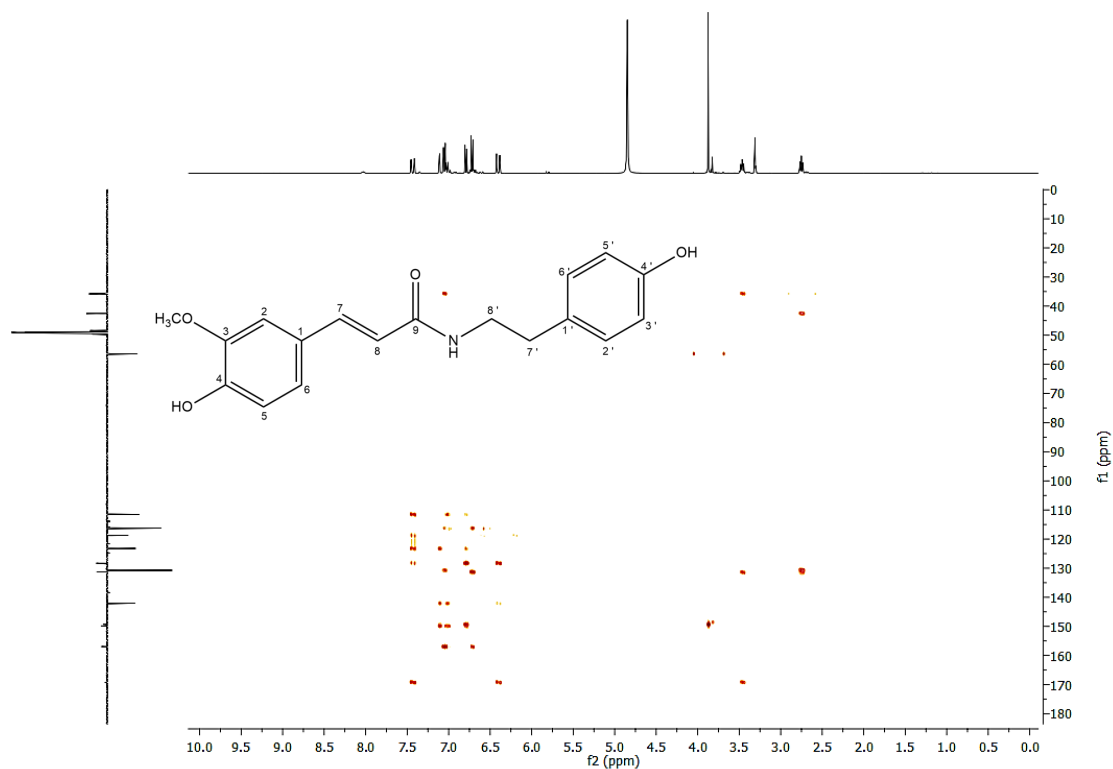
Fonte: próprio autor

Figura 68 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 6,2-7,6 e 105-145 ppm).



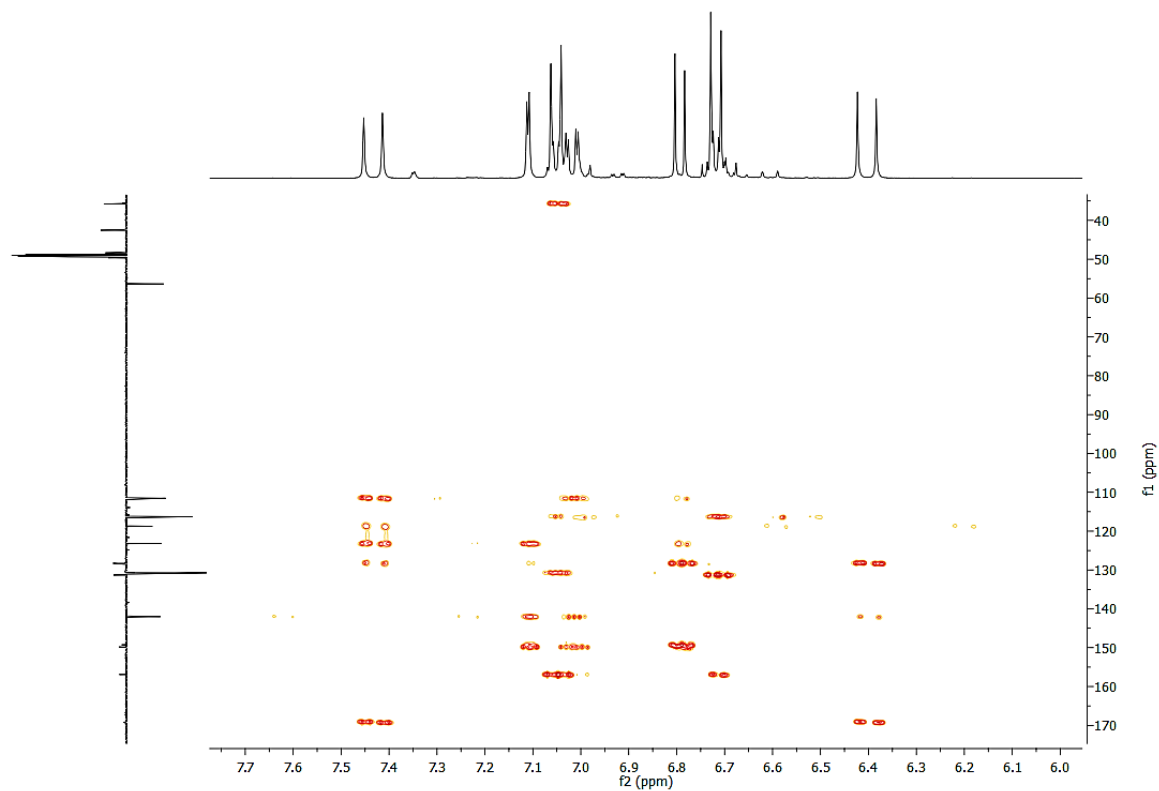
Fonte: próprio autor.

Figura 69 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.



Fonte: próprio autor.

Figura 70 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 6,0-7,7 e 40-170 ppm).



Fonte: próprio autor.

Figura 71 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-4 (expansão da região 2,6-4,0 e 30-170 ppm).

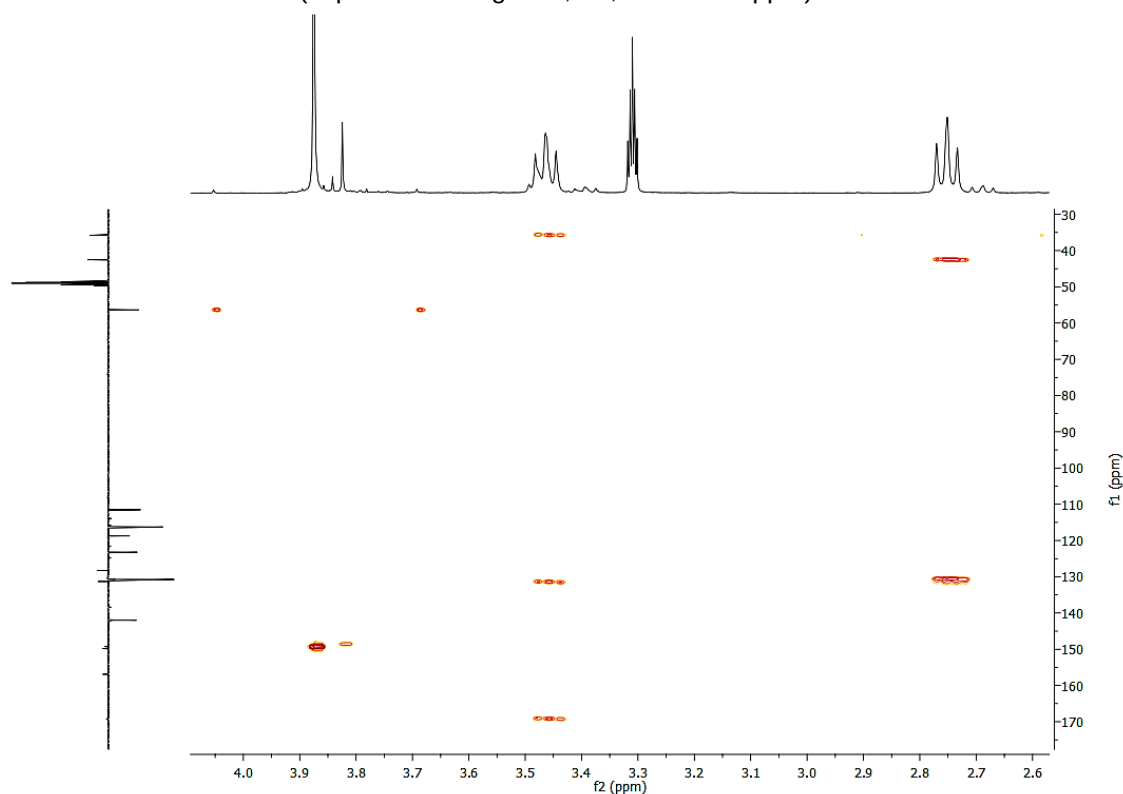
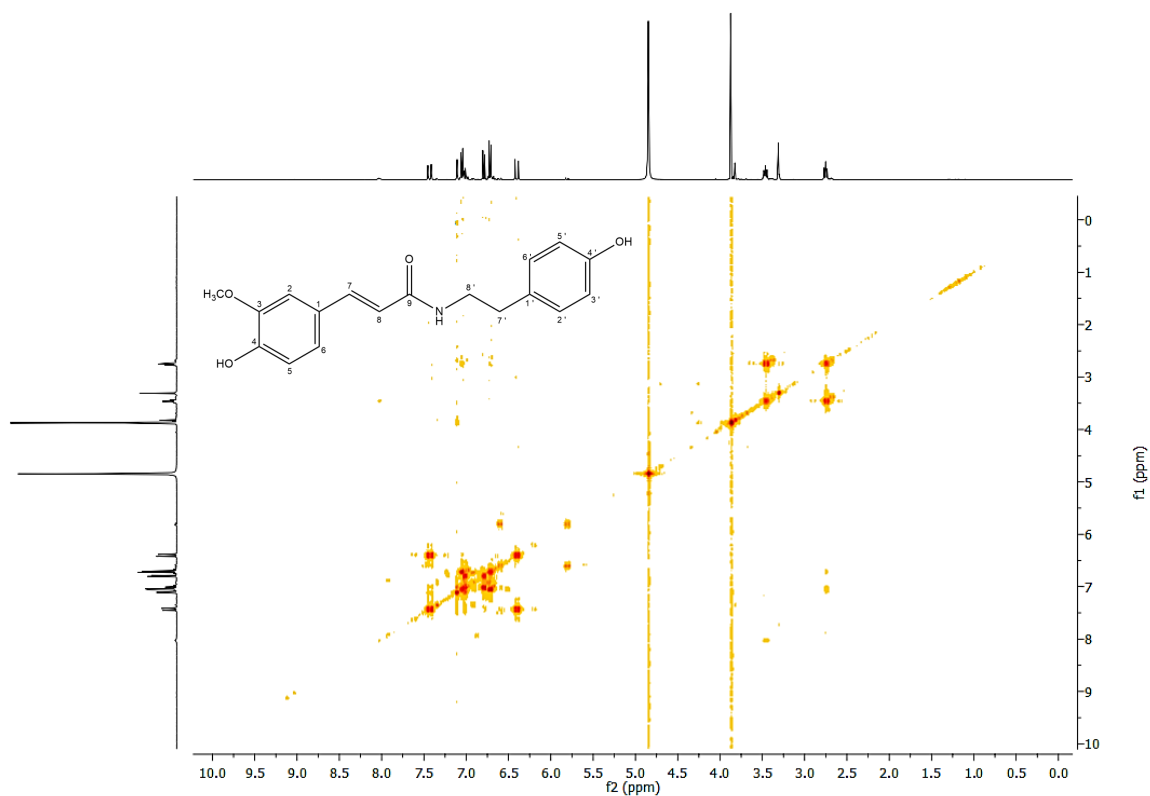
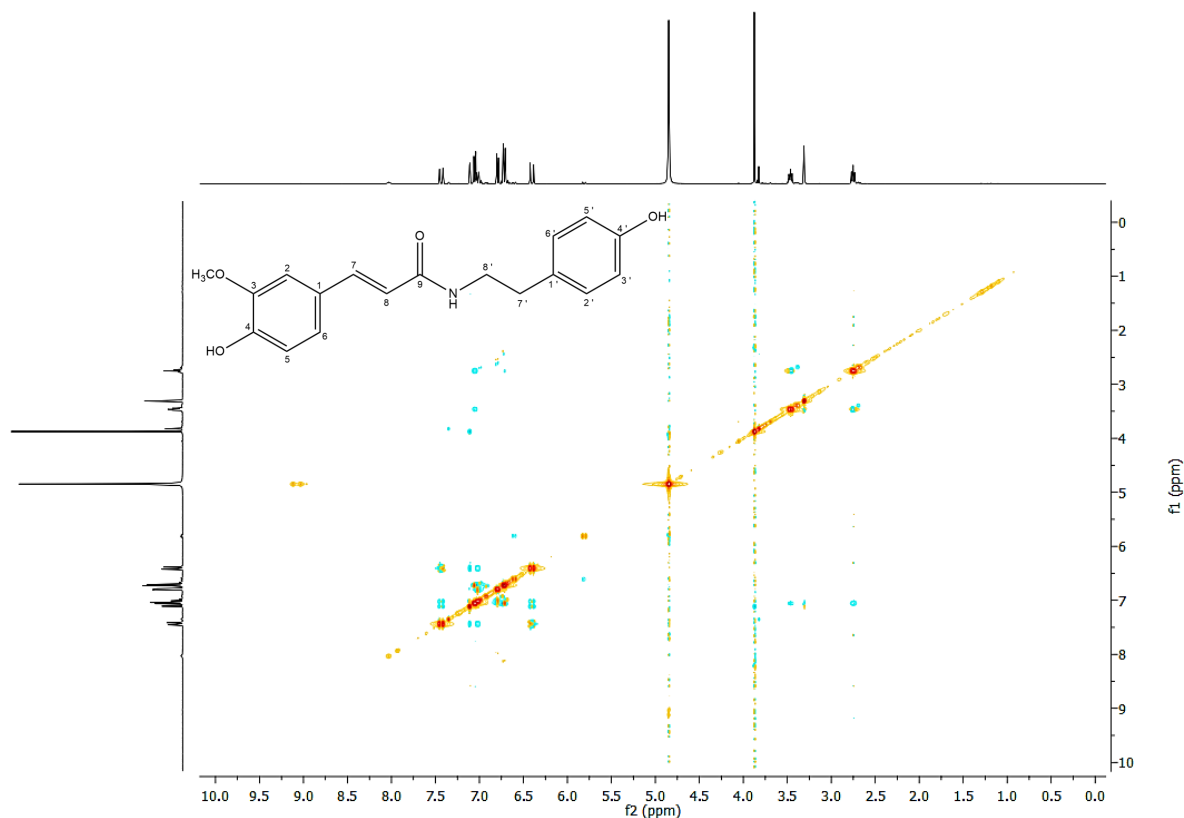


Figura 72 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4.

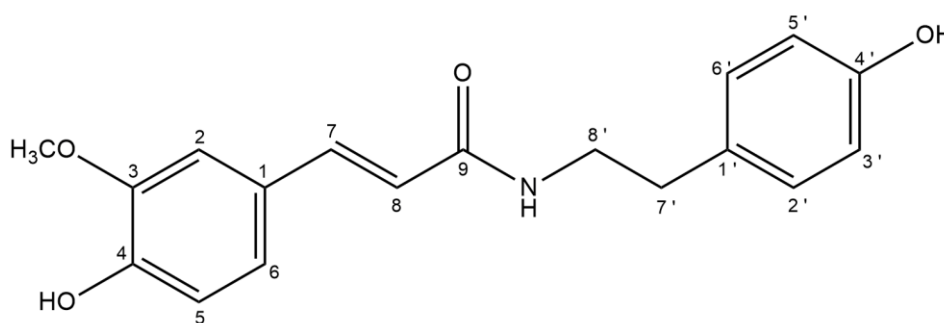


Fonte: próprio autor.

Figura 73 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-4

Fonte: próprio autor

Após análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e dados de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY obtido em CD_3OD a 400 MHz e a comparação com dados da literatura (SUN et al., 2015), foi possível concluir que MP-4, trata-se de uma *N-trans-feruloiltiramina* (Figura 74).

Figura 74 - Estrutura química da *N-trans-feruloiltiramina*.

Fonte: próprio autor.

A *N-trans*-feruloiltiramina também conhecida como moupinamida, em uma análise de docking de compostos, apresentou um valor de energia de ligação que sugere uma potencial ação inibitória de metaloproteinases de matriz (MMPs) e melhores pontos de interação e afinidade de ligação do que fármacos de medicamentos já disponíveis no mercado, destinados a essa finalidade. Estudos posteriores devem ser realizados no sentido de comprovar a potência e eficiência dessa substância para o tratamento de algum tipo de câncer (ARIYA; JOSEPH; CHRISTY, 2020).

Tabela 6 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-4^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da *N-trans-feruloiltiramina*^b.

posição	MP-4		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		128,3, C		126,4, C
2	7,11, d (1,9)	111,5, CH	7,12, d (1,5)	109,7, CH
3		149,3, C		147,4, C
4		149,8, C		148,0, C
5	6,79, d (8,0)	116,5, CH	6,80, d (8,5)	114,6, CH
6	7,02, dd (8,3, 2,0)	123,2, CH	7,03, dd (8,5, 1,5)	121,3, CH
7	7,43, d (15,7)	142,0, CH	7,44, d (15,5)	140,1, CH
8	6,40, d (15,7)	118,7, CH	6,40, d (15,5)	116,9, CH
9		169,1, C ^c		167,3, C
1'		131,3, C ^c		129,4, C
2'	7,05, d (8,6)	130,7, CH	7,06, d (8,5)	128,9, CH
3'	6,72, d (8,6)	116,3, CH	6,73, d (8,5)	114,4, CH
4'		156,9, C		155,1, C
5'	6,72, d (8,6)	116,3, CH	6,73, d (8,5)	114,4, CH
6'	7,05, d (8,6)	130,7, CH	7,06, d (8,5)	128,9, CH
7'	2,75, t (7,5)	35,8, CH ₂	3,47, t (7,5)	34,0, CH ₂
8'	3,46, t (7,6)	42,5, CH ₂	2,76, t (7,5)	40,7, CH ₂
3-OCH ₃	3,88, s	56,4, CH ₃	3,89, s	54,5, CH ₃

^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz.
^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.
^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD)
^dAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC (100 e 400 MHz, CD₃OD)

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa e de SUN et al. (2015).

Tabela 7 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-4^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(^2J)	(^3J)
1		128,3, C		
2	7,11, d (1,9)	111,5, CH	C-1, C-3	C-6, C-4, C-7
3		149,3, C		
4		149,8, C		
5	6,79, d (8,0)	116,5, CH	C-4, C-6	C-1, C-3
6	7,02, dd (8,3, 2,0)	123,2, CH	C-4, C-5	C-2, C-7
7	7,43, d (15,7)	142,0, CH	C-1, C-8	C-2, C-6, C-9
8	6,40, d (15,7)	118,7, CH	C-7, C-9	C-1
9		169,1, C		
1'		131,3, C		
2'	7,05, d (8,6)	130,7, CH	C-3'	C-4', C-7'
3'	6,72, d (8,6)	116,3, CH	C-4'	C-1'
4'		156,9, C		
5'	6,72, d (8,6)	116,3, CH	C-4'	C-1'
6'	7,05, d (8,6)	130,7, CH	C-5'	C-4', C-7'
7'	2,75, t (7,5)	35,8, CH ₂	C-8'	C-2', C-6'
8'	3,46, t (7,6)	42,5, CH ₂	C-7'	C-1', C-9
3-OCH ₃	3,88, s	56,4, CH ₃	C-3	

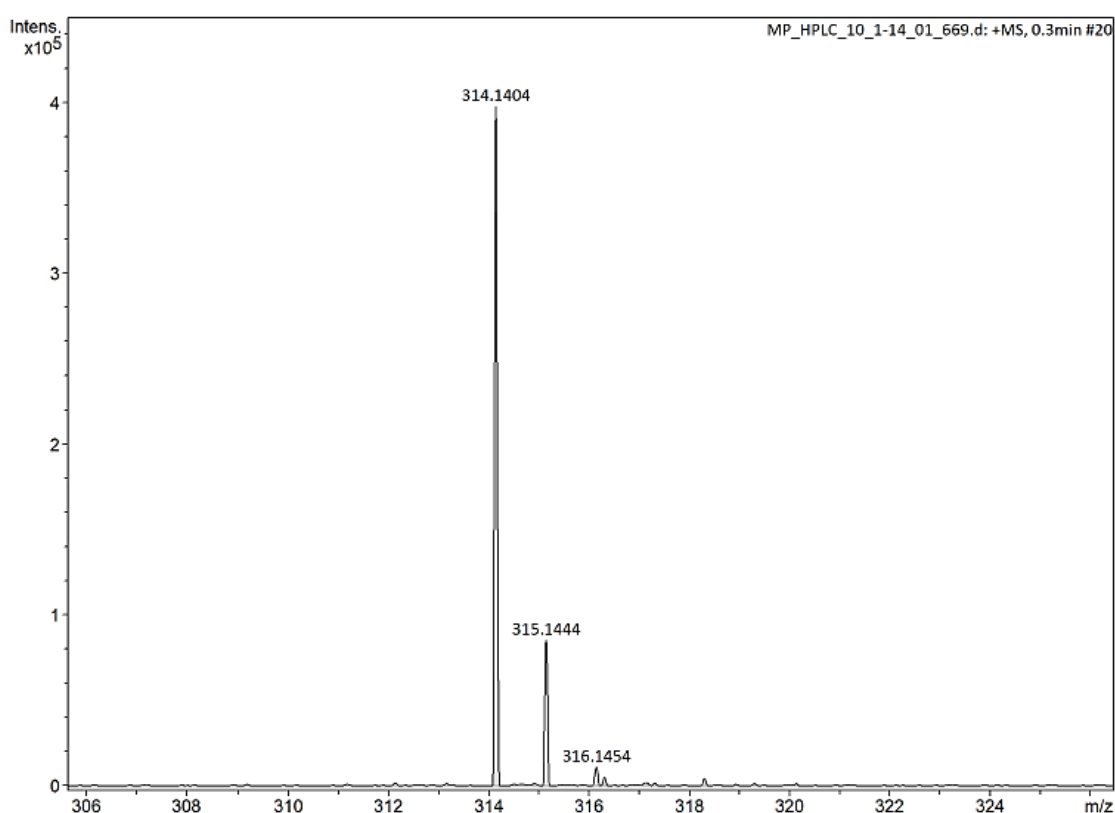
^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz (δ em ppm e J em Hz).

^bDados de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC e HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

5.5 Identificação estrutural de MP-5

A substância codificada como MP-5, foi isolada na forma de uma resina branca. Sua fórmula molecular foi definida como $C_{18}H_{19}NO_4$ por IES-EMAR (+) com m/z 314.1404 $[M + H]^+$ (calculado para $C_{18}H_{20}NO_4$, 314.1387, $\Delta = 5,6$ ppm). Por conseguinte, foi indicado um índice de deficiência de hidrogênio igual a dez (Figura 75).

Figura 75 - Espectro de IES-EMAR de MP-5 ($[M + H]^+$, modo de ionização positivo).



Fonte: próprio autor.

O espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi evidenciado um sistema ABX de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,36 (1H, $J = 2,0$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-2, um duplo duplete em δ_H 6,93 (1H, $J = 8,3, 2,3$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-6, e um duplete em 6,74 (1H, $J = 8,2$ Hz), atribuído ao hidrogênio 5.

Seguindo essa linha, observou-se a existência de um segundo anel aromático apresentando o sistema AA'BB' de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,00 (2H, $J = 8,6$ Hz), atribuído aos H-2',6' e um duplete em δ_H 6.69 (2H, $J = 8,6$ Hz),

atribuído aos H-3',5'. Se fez notável também, a presença de dupletos em δ_H 6,61 (1H, $J = 12,7$ Hz) e δ_H 5,81 (1H, $J = 12,7$ Hz), atribuído aos hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 12,7 Hz estabeleceu a configuração *cis* para a dupla ligação.

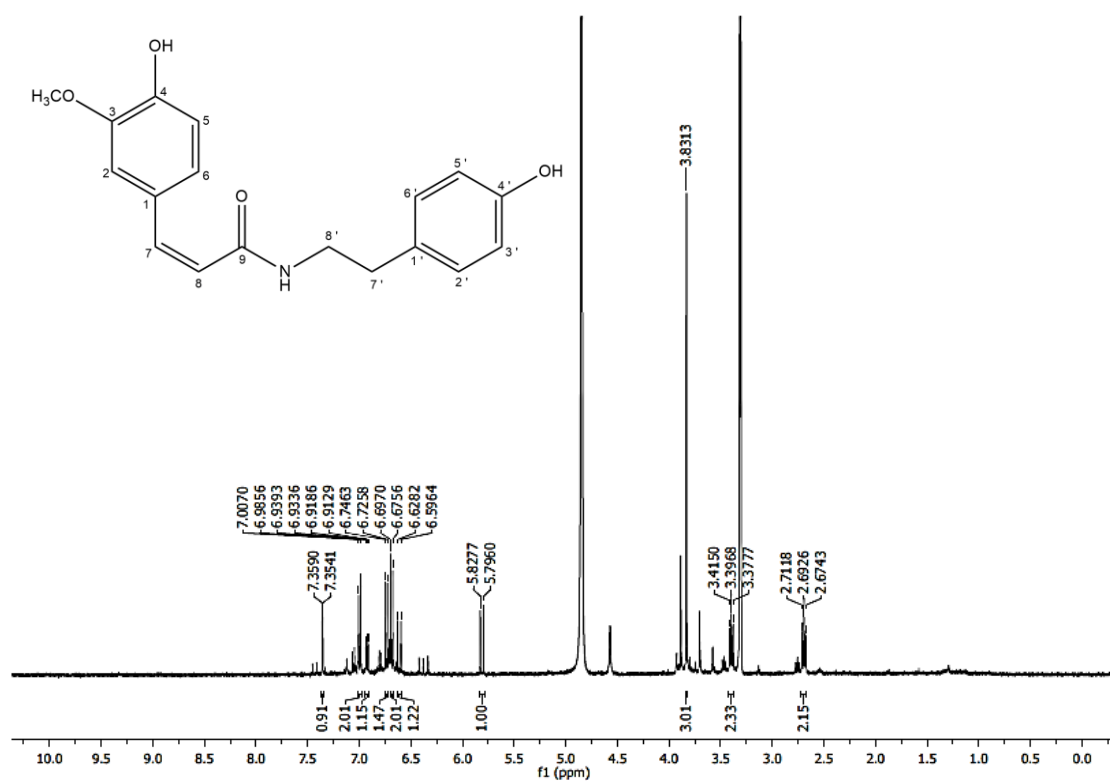
Observou-se ainda, a presença de um simpleto em δ_H 3,83 (3H), atribuído aos hidrogênios da metoxila ligada ao carbono três (3-OCH₃). Um tripleto em δ_H 3,40 (2H, $J = 7,3$ Hz) e um tripleto em δ_H 2,69 (2H, $J = 7,7$ Hz) atribuído aos H-8' e H-7', respectivamente (Figura 76-78, pág. 110-111). Os demais dados estão dispostos na tabela 8, pág. 115.

No espectro de correlação heteronuclear HSQC da substância MP-5 obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz (Figura 79-81, pág. 111-112), foi possível observar a correlação de δ_H 6,61 com δ_C 138,4, confirmando a atribuição a C-7 e a correlação de δ_H 5,81 com δ_C 121,7, confirmando a atribuição a C-8. Essas atribuições aos carbonos, foram compatíveis com os dados esperados para *N-cis*-feruloiltiramina evidenciada no trabalho de Sun et al. (2015). Os demais dados estão dispostos na tabela 9, pág. 116).

No espectro de correlação homonuclear COSY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figuras 82-83, pág. 113), foi possível confirmar a correlação entre os hidrogênios olefínicos δ_H 6,61 e δ_H 5,81, que diferenciam a *N-cis*-feruloiltiramina da *N-trans*-feruloiltiramina.

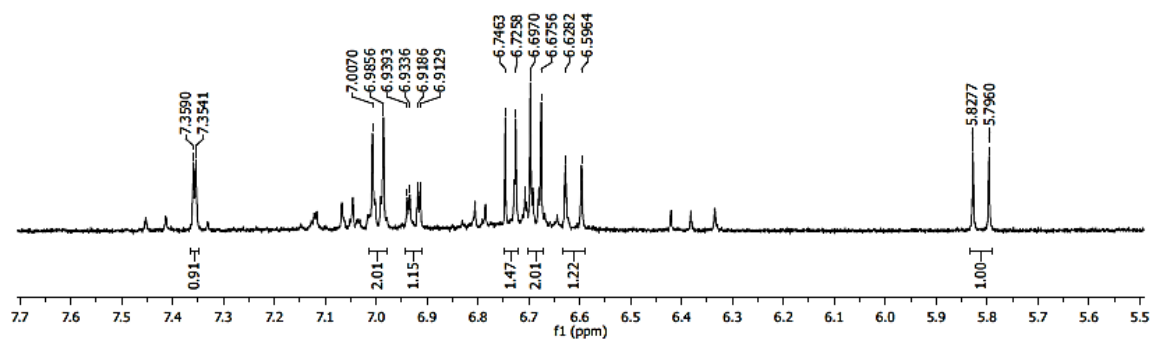
Os demais dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz, além do demais dados de espectro de correlação homonuclear COSY e NOESY obtidos em CD₃OD a 400 MHz (Figura 79-84, pág. 111-114), confirmam a proposição da *N-cis*-feruloiltiramina (Figura 85, pág. 114).

Figura 76 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.



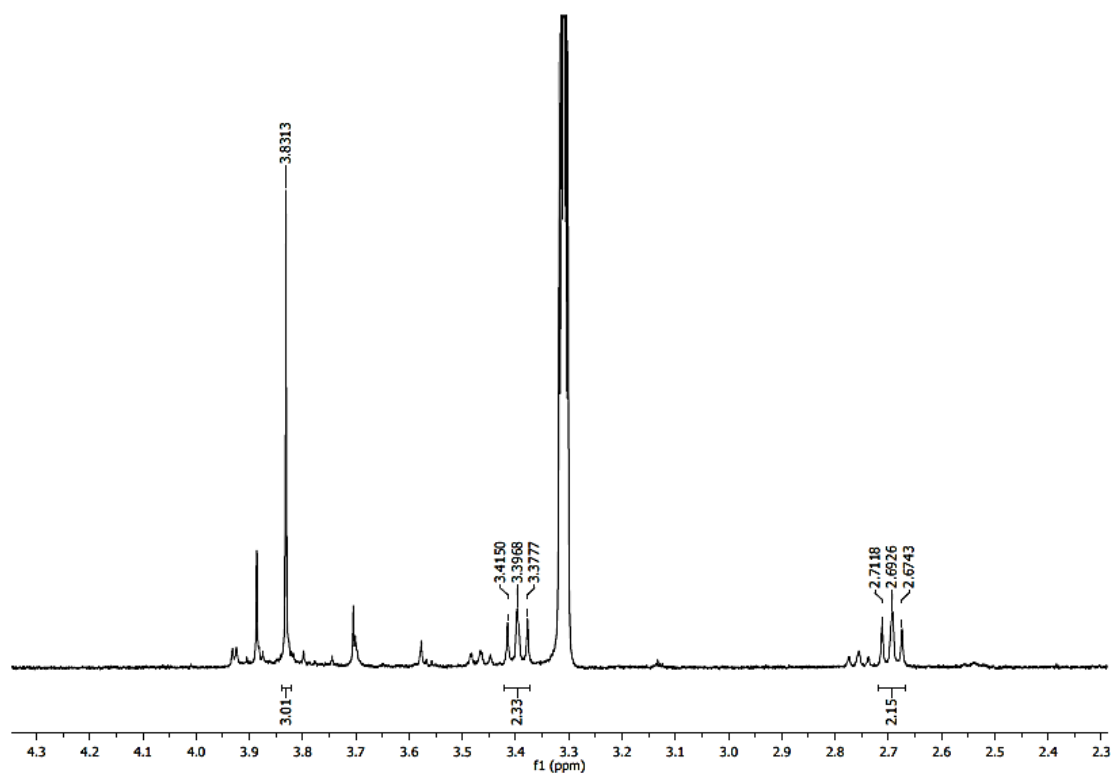
Fonte: próprio autor.

Figura 77 - Espectro de RMN de ^1H (400 mhz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão na região 6,2 a 8,1 ppm).



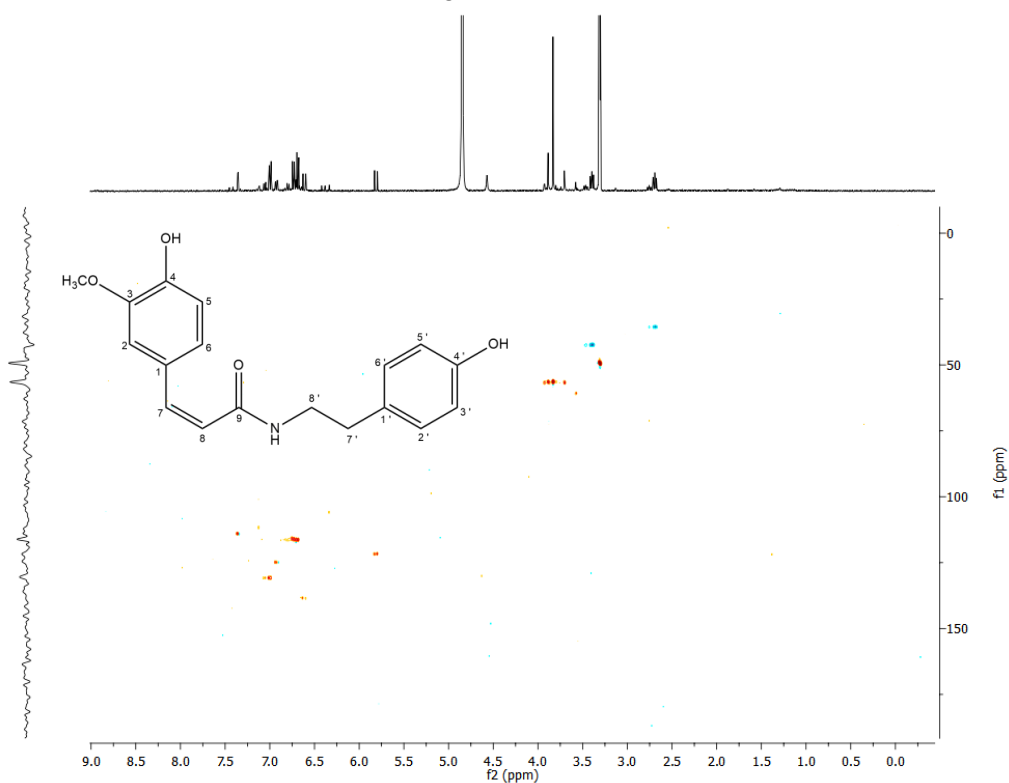
Fonte: próprio autor.

Figura 78 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão na região 2,3 a 4,2 ppm).



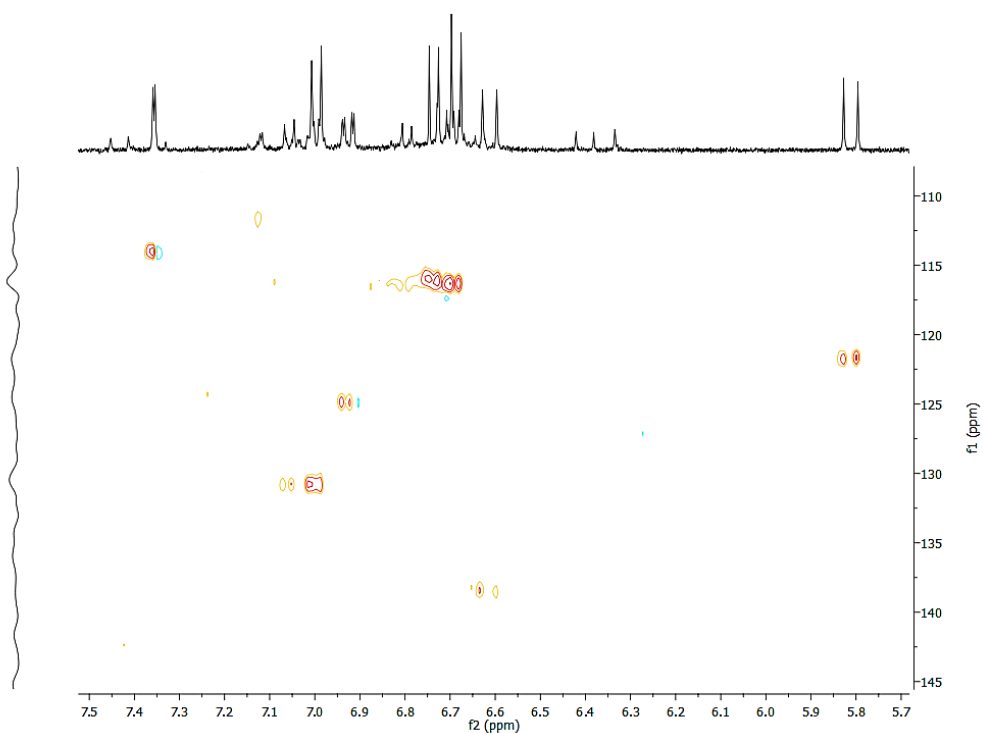
Fonte: próprio autor.

Figura 79 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.



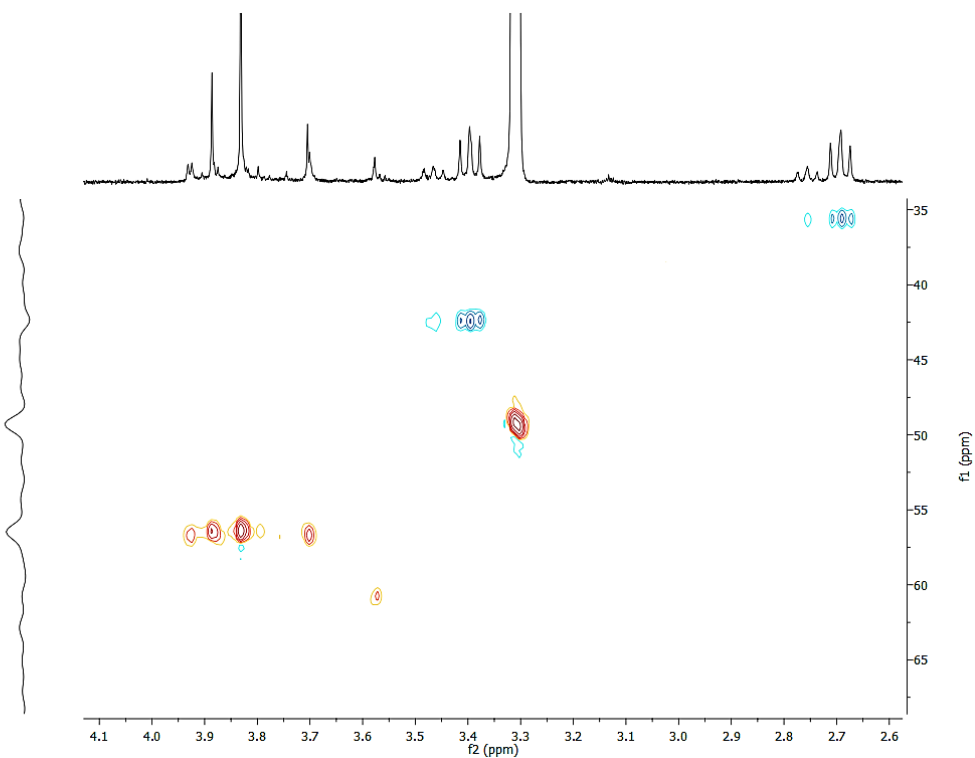
Fonte: próprio autor.

Figura 80 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão da região 5,7-7,5 e 110-145 ppm).



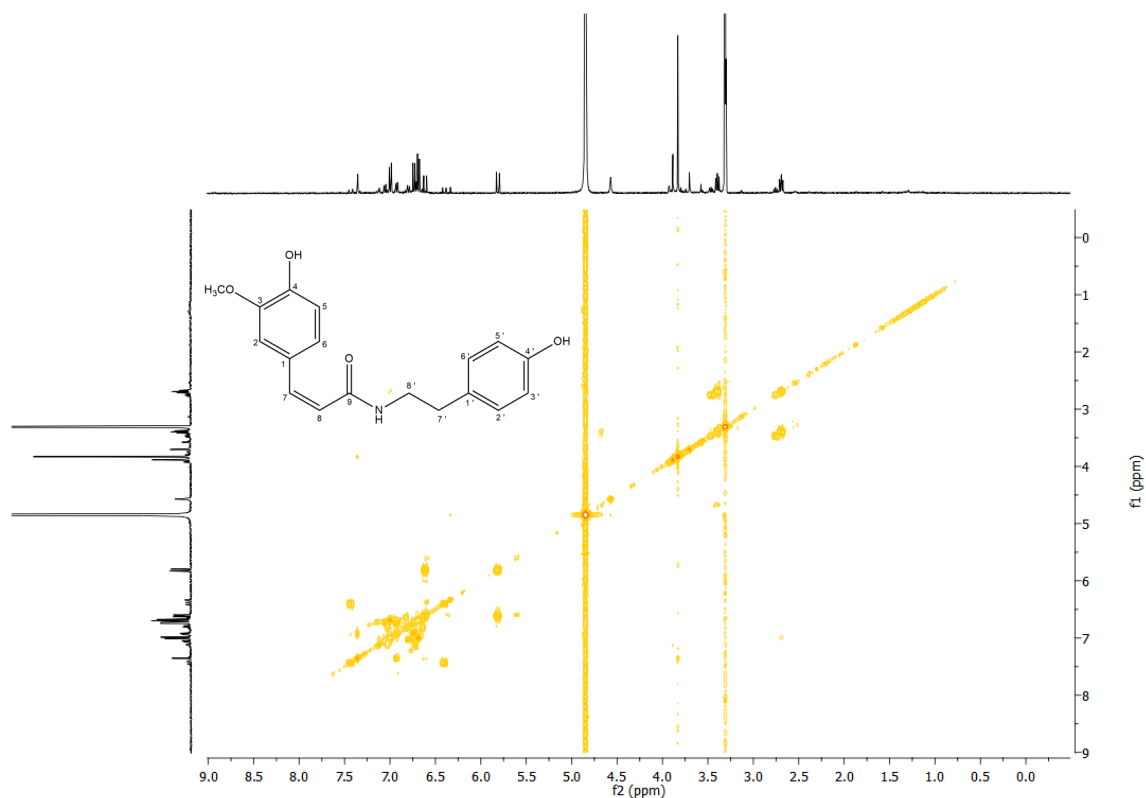
Fonte: próprio autor.

Figura 81 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão da região 2,6-4,1 e 35-65 ppm).



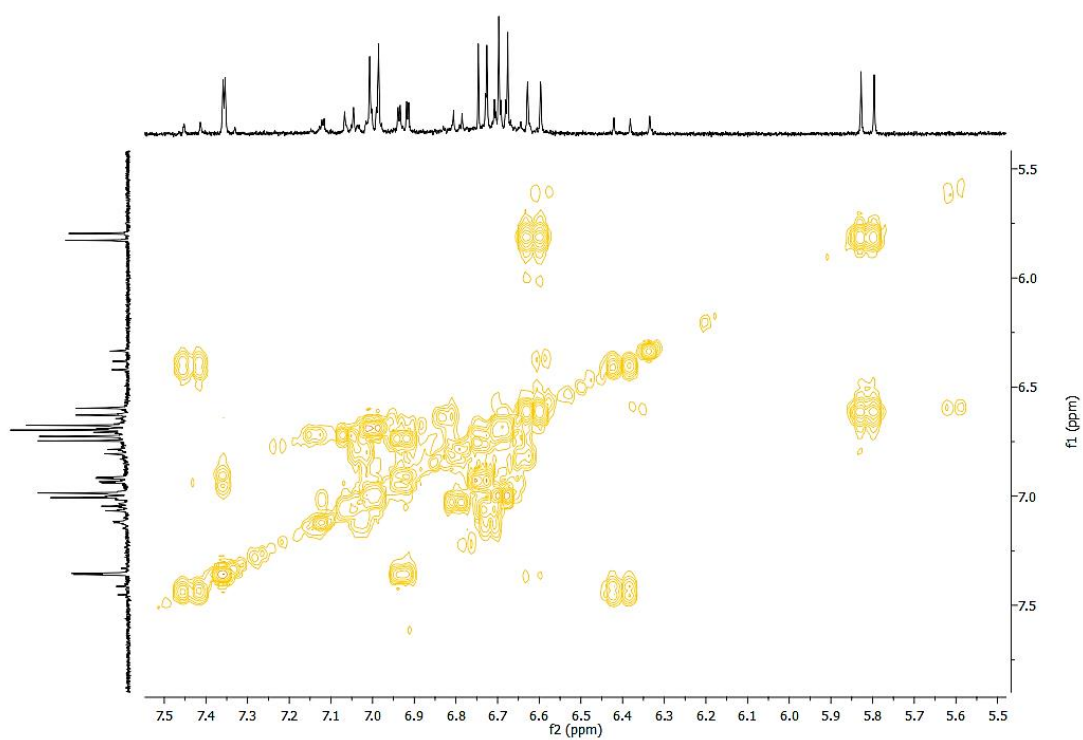
Fonte: próprio autor.

Figura 82 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.



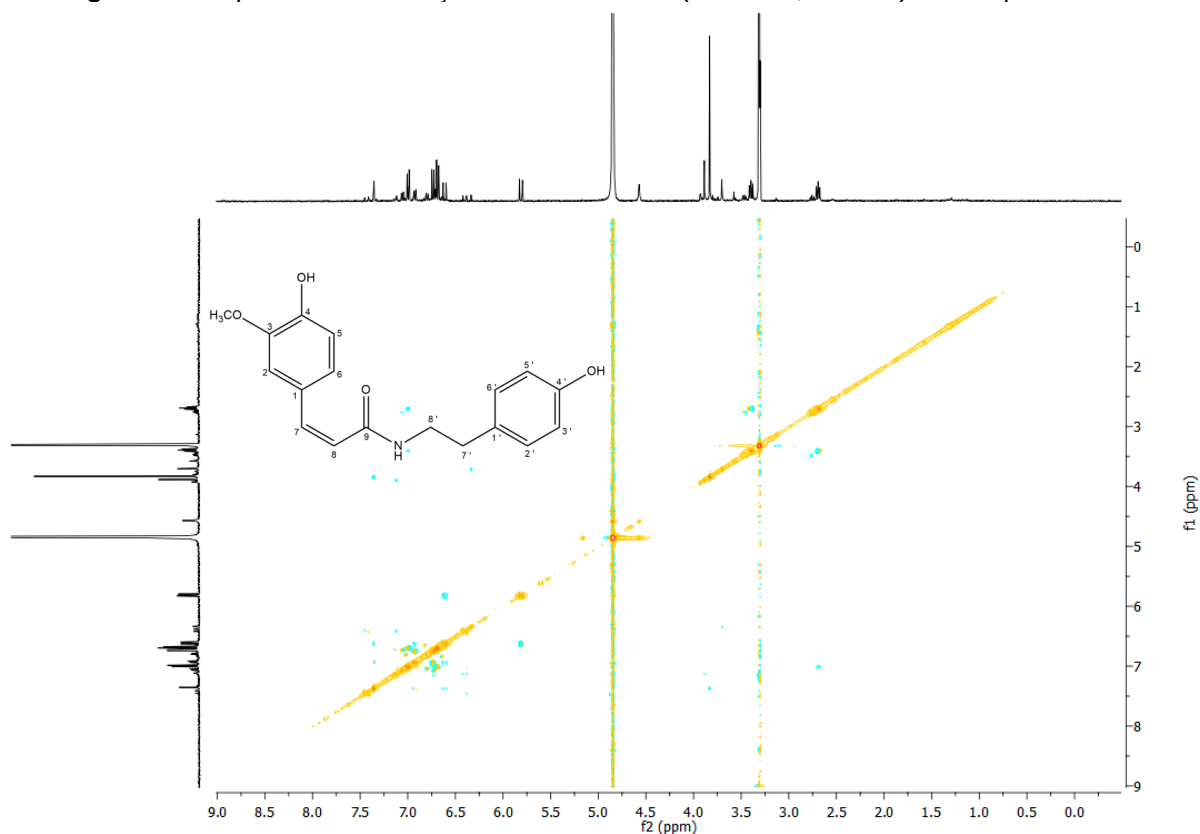
Fonte: próprio autor.

Figura 83 - Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5 (expansão da região 5,5-7,5 e 5,5-7,5 ppm).



Fonte: próprio autor.

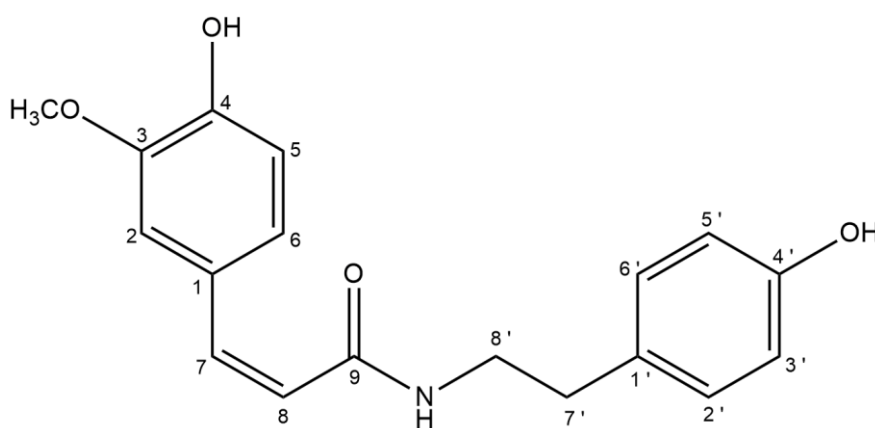
Figura 84 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-5.



Fonte: próprio autor.

Após análise de todos os dados de RMN de ^1H , em conjunto com dados do espectro de correlação heteronuclear HSQC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY e NOESY obtido em CD_3OD a 400 MHz e a comparação com dados da literatura (SUN et al., 2015), foi possível concluir que MP-5, trata-se de uma *N*-cis-feruloiltiramina (Figura 85).

Figura 85 - Estrutura química da *N*-cis-feruloiltiramina.



Fonte: próprio autor.

Tabela 8 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-5^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da *N-cis-feruloiltiramina*^b.

posição	MP-5		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		129.0, C ^c		128.4, C
2	7.36, d (2,0)	114.0, CH ^d	7.36, d (1,5)	114.0, CH
3		149.2, C ^c		148.5, C
4		149.0, C ^c		148.6, C
5	6.74, d (8,2)	115.9, CH ^d	6.74, d (8,5)	116.2, CH
6	6.93, dd (8.3, 2.3)	124.9, CH ^d	6.93, dd (8.5, 1.5)	124.6, CH
7	6.61, d (12,7)	138.4, CH ^d	6.62, d (12,5)	138.3, CH
8	5.81, d (12,7)	121.7, CH ^d	5.82, d (12,5)	121.5, CH
9		170.7, C ^c		170.0, C
1'		131.6, C ^c		131.2, C
2'	7.00, d (8,6)	130.8, CH ^d	7.00, d (8,5)	130.5, CH
3'	6.69, d (8,6)	116.4, CH ^d	6.69, d (8,5)	115.6, CH
4'		157.3, C ^c		156.9, C
5'	6.69, d (8,6)	116.4, CH ^d	6.69, d (8,5)	115.6, CH
6'	7.00, d (8,6)	130.8, CH ^d	7.00, d (8,5)	130.5, CH
7'	2.69, t (7,7)	35.6, CH ₂ ^d	2.76, t (7,5)	35.5, CH ₂
8'	3.40, t (7,3)	42.4, CH ₂ ^d	3.41, t (7,5)	42.2, CH ₂
3-OCH ₃	3.83, s	56.4, CH ₃ ^d	3.84, s	56.4, CH ₃

^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz.
^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.
^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD)
^dAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC (100 e 400 MHz, CD₃OD)

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa e de SUN et al. (2015).

Tabela 9 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-5^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1		129,0, C		
2	7,36, d (2,0)	114,0, CH	C-3	
3		149,2, C		
4		149,0, C		C-4
5	6,74, d (8,2)	115,9, CH	C-4	
6	6,93, dd (8.3, 2.3)	124,9, CH		
7	6,61, d (12,7)	138,4, CH		
8	5,81, d (12,7)	121,7, CH		C-1
9		170,7, C		
1'		131,6, C		
2'	7,00, d (8,6)	130,8, CH		C-4'
3'	6,69, d (8,6)	116,4, CH	C-1'	
4'		157,3, C		
5'	6,69, d (8,6)	116,4, CH		
6'	7,00, d (8,6)	130,8, CH		C-4'
7'	2,69, t (7.7)	35,6, CH ₂		
8'	3,40, t (7.3)	42,4, CH ₂	C-1'	C-2', C-6'
3-OCH ₃	3,83, s	56,4, CH ₃	C-3	

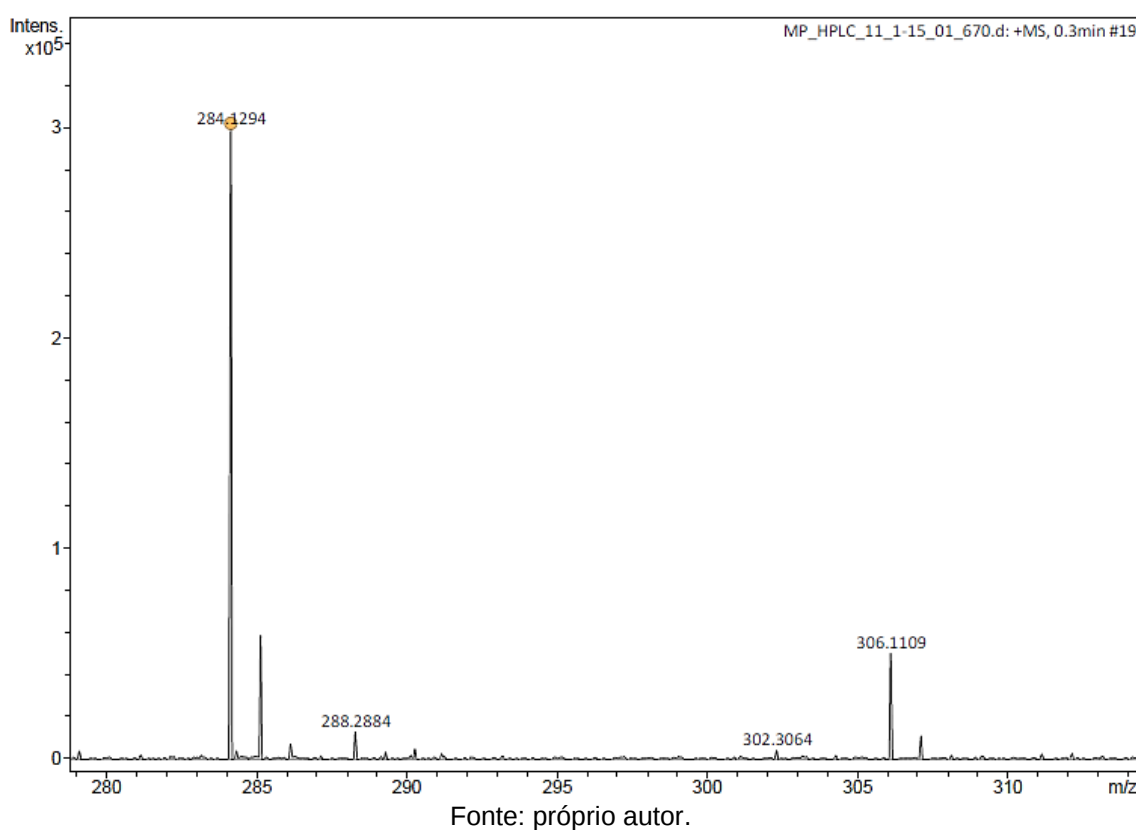
^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz (δ em ppm e J em Hz).

^bDados de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC e HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

5.6 Identificação estrutural de MP-6

A substância codificada como MP-6, foi isolada na forma de uma resina branca. Sua fórmula molecular foi definida como $C_{17}H_{17}NO_3$ por IES-EMAR (+) com m/z 284.1294 $[M + H]^+$ (calculado para $C_{17}H_{18}NO_3$, 284.1281, $\Delta = 4,6$ ppm). Por conseguinte, foi indicado um índice de deficiência de hidrogênio igual a dez (Figura 86).

Figura 86 - Espectro de IES-EMAR de MP-6 ($[M + H]^+$, modo de ionização positivo).



O espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi evidenciado um sistema AA'BB' de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,40 (2H, $J = 8,6$ Hz), atribuído aos H-2,6 e um duplete em δ_H 6,79 (2H, $J = 8,5$ Hz), atribuído aos H-3,5.

Observou-se ainda, a existência de um segundo anel aromático apresentando o sistema AA'BB' de substituição, caracterizado por um duplete em δ_H 7,05 (2H, $J = 8,4$ Hz), atribuído aos H-2',6' e um duplete em δ_H 6,72 (2H, $J = 8,6$ Hz), atribuído aos H-3',5'.

Os dupletos em δ_H 7,44 (1H, $J = 15,8$ Hz) e δ_H 6,38 (1H, $J = 15,7$ Hz), foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 15,7 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação. Enquanto isso, o tripleto em δ_H 3,40 (2H, $J = 7,3$ Hz) e o tripleto em δ_H 2,69 (2H, $J = 7,7$ Hz), foram atribuídos aos H-8' e H-7', respectivamente (Figura 87-89, pág. 119-120). Esses e os demais dados estão dispostos na tabela 10, pág. 125.

A partir dos dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz (Figura 90-92, pág. 120-121), foi possível observar correlações do sinal em δ_H 7,40 com δ_C 130,6, δ_H 6,79 com δ_C 116,9, δ_H 7,05 com δ_C 130,8 e δ_H 6,72 com δ_C 116,4, confirmando as atribuições frente aos dados de Zhang et al. (2011) aos hidrogênios H-2,6, H-3,5, H-2',6' e H-3',5', respectivamente. Os demais dados estão dispostos na tabela 11, pág. 126.

A partir dos dados de correlação homonuclear COSY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figuras 95-96, pág. 123), foi possível observar a correlação entre os prótons aromáticos δ_H 7,40 com δ_H 6,79, assim como δ_H 7,05 com δ_H 6,72, confirmando as atribuições e acoplamentos entre esses sinais e a presença da porção p-cumaroil.

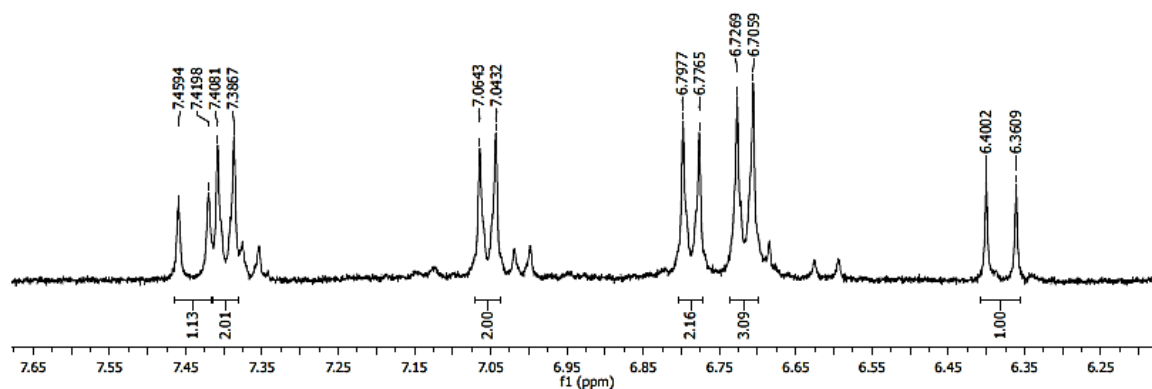
Na sua totalidade, os dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY e NOESY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figura 90-97, pág. 120-124), confirmam a proposição da *N-trans*-p-cumaroiltiramina (Figura 98, pág. 124).

Figura 87 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.



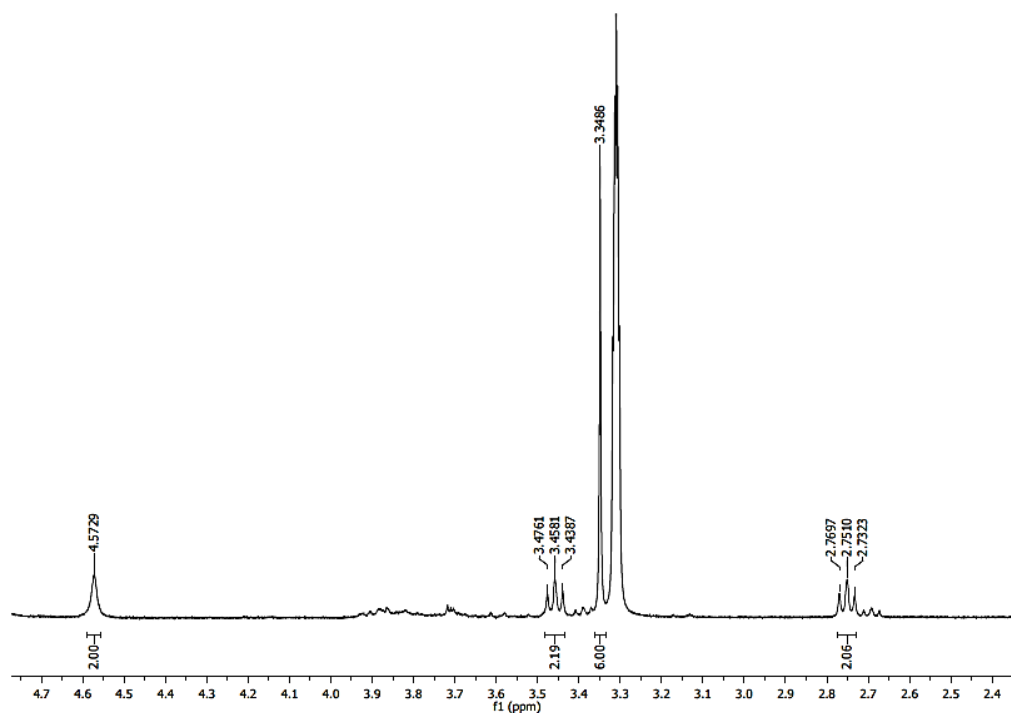
Fonte: próprio autor.

Figura 88 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão na região 6,2 a 7,7 ppm).



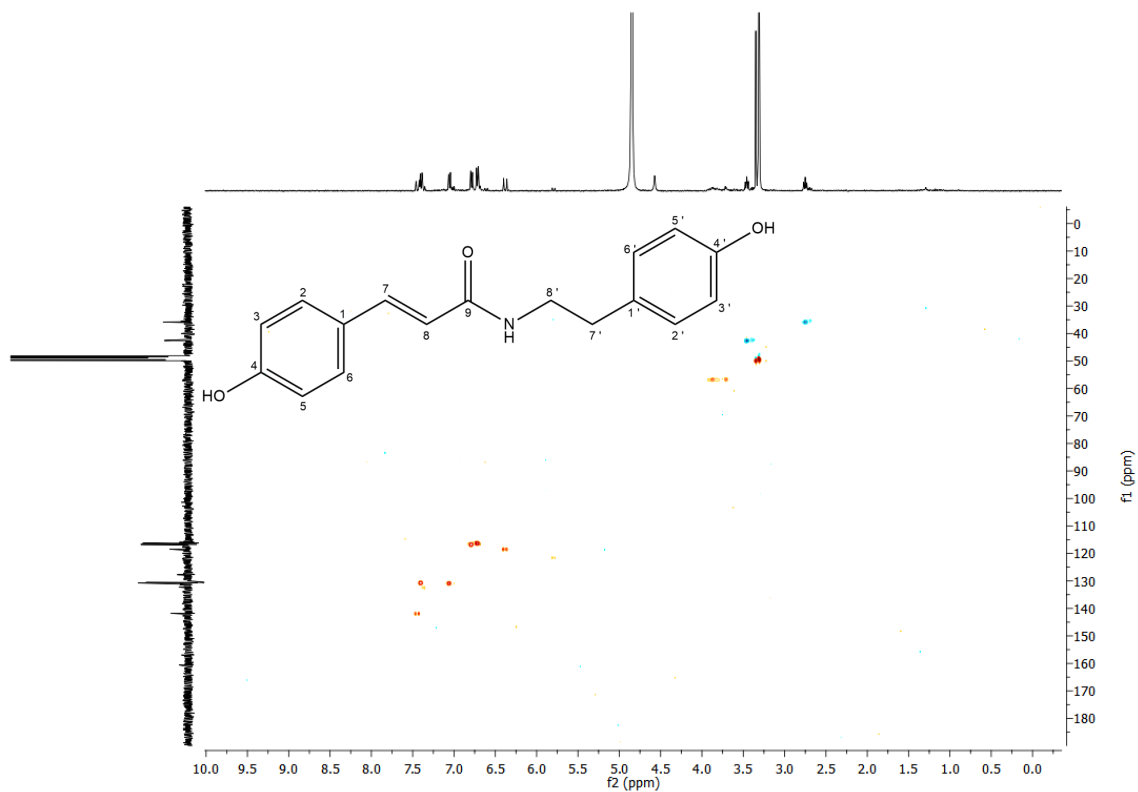
Fonte: próprio autor.

Figura 89 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão na região 2,4 a 4,7 ppm).



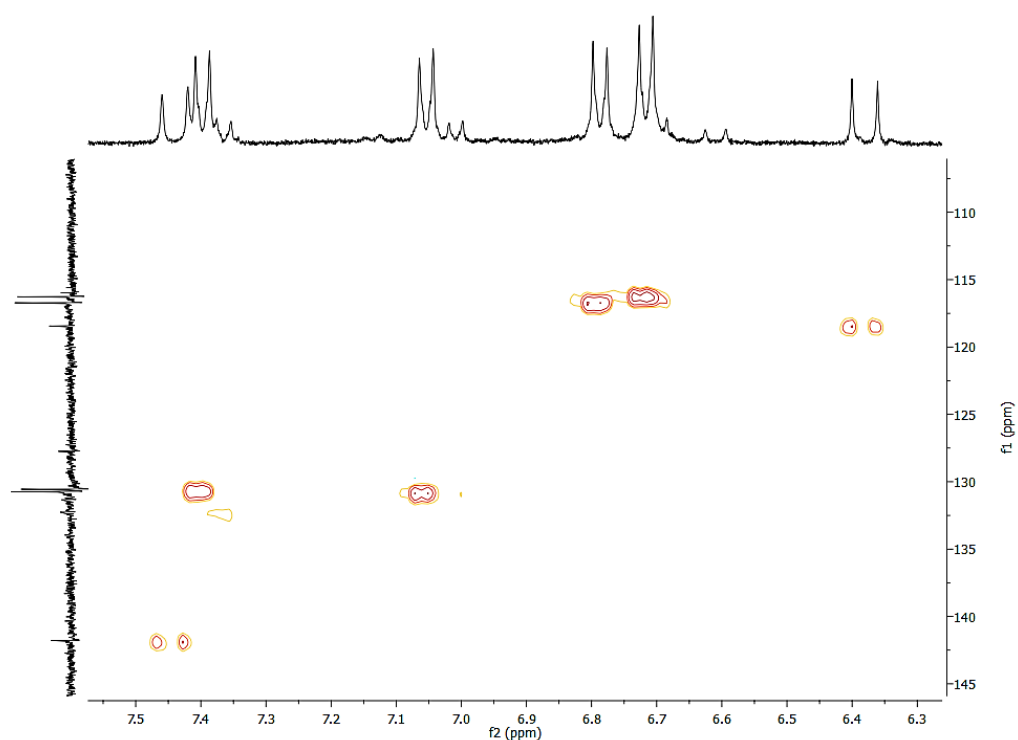
Fonte: próprio autor.

Figura 90 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.



Fonte: próprio autor

Figura 91 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão da região 6,3-7,5 e 110-145 ppm).



Fonte: próprio autor.

Figura 92 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão da região 2,7-3,9 e 34-60 ppm).

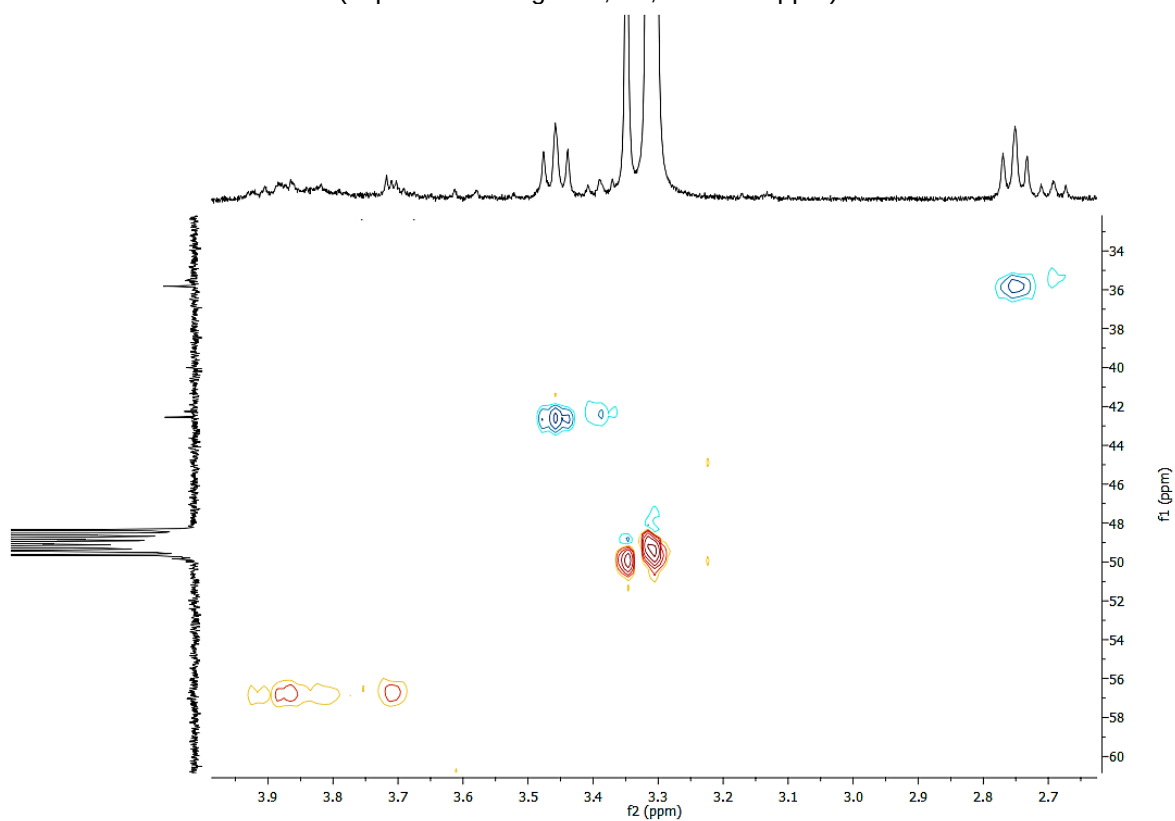
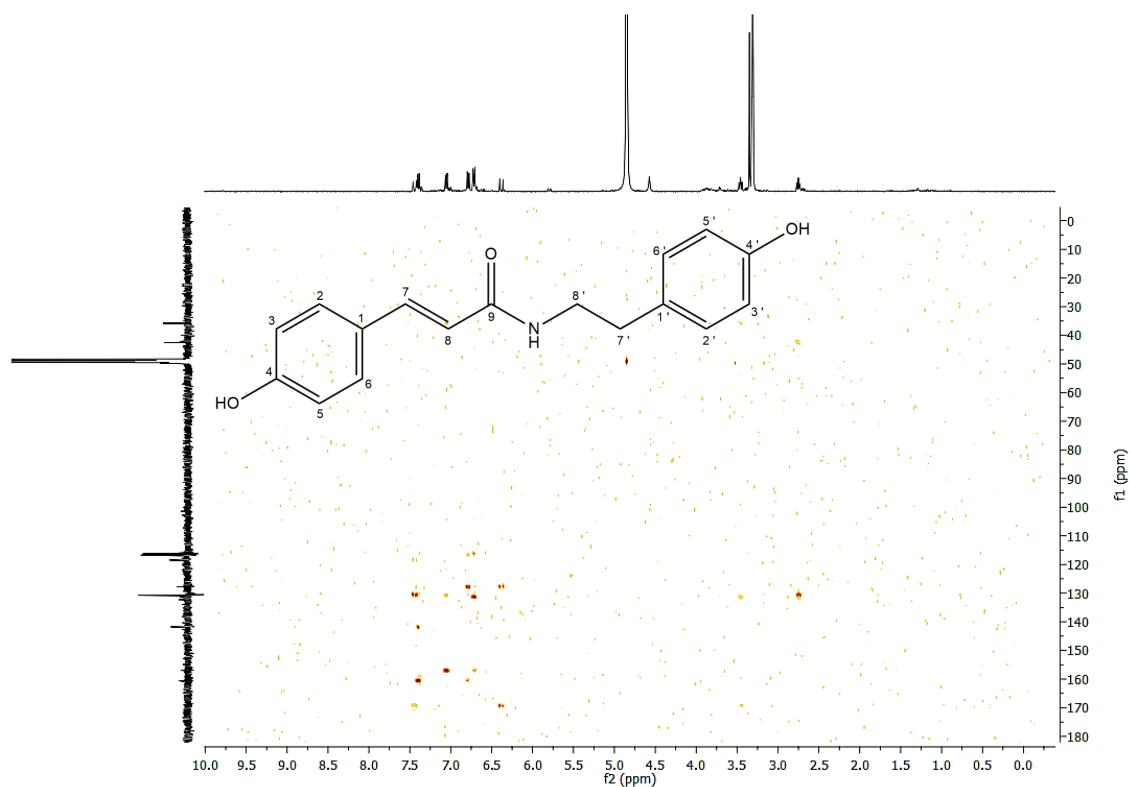


Figura 93 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.



Fonte: próprio autor.

Figura 94 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-6 (expansão da região 5,9-7,7 e 115-170 ppm).

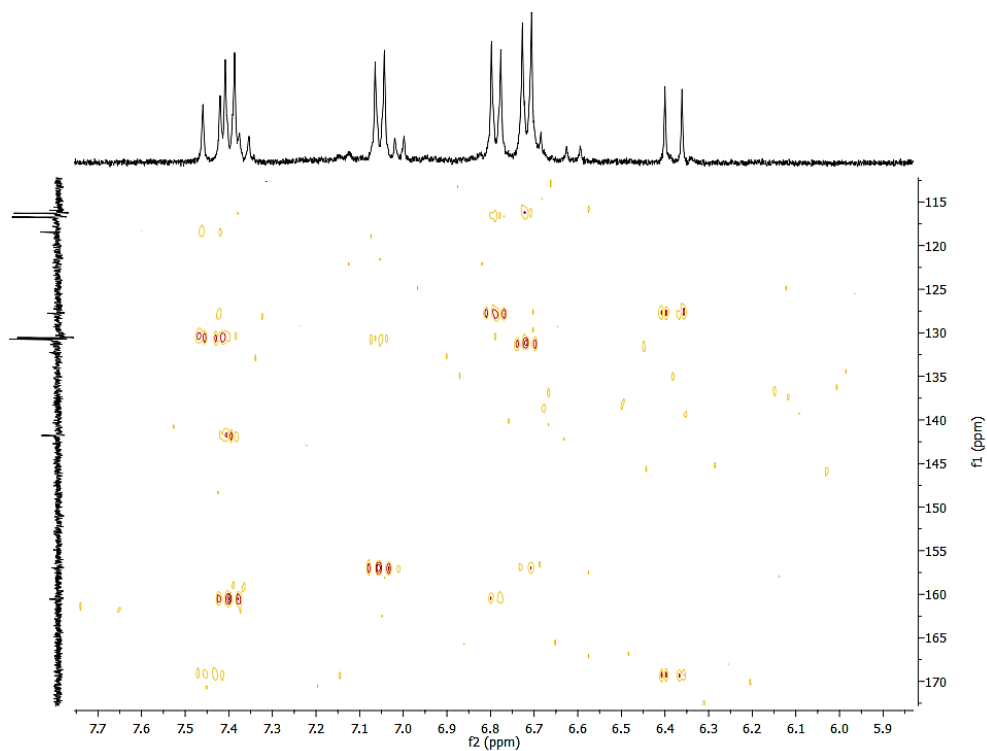
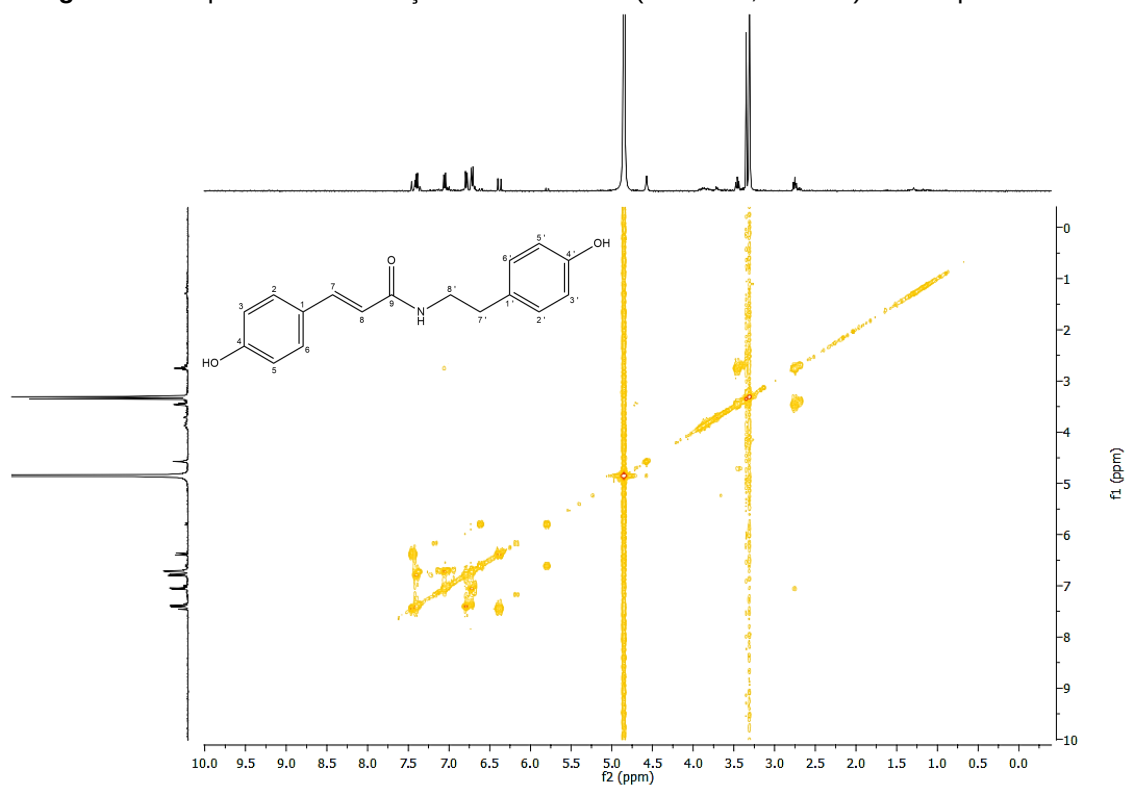
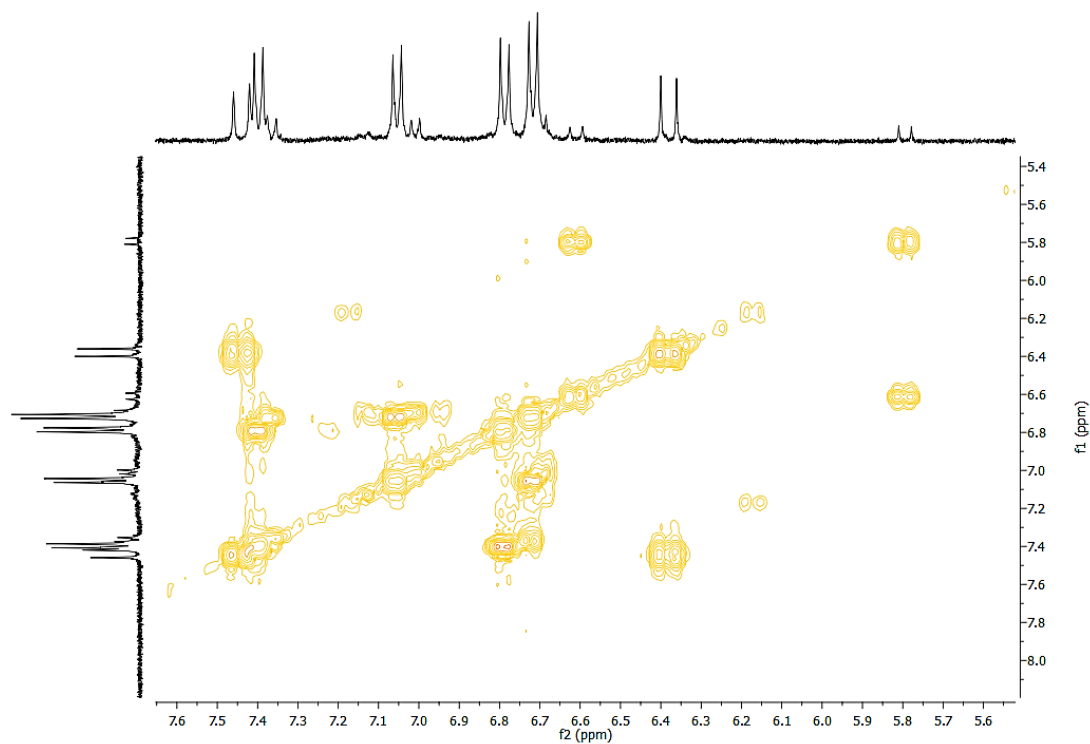


Figura 95 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.



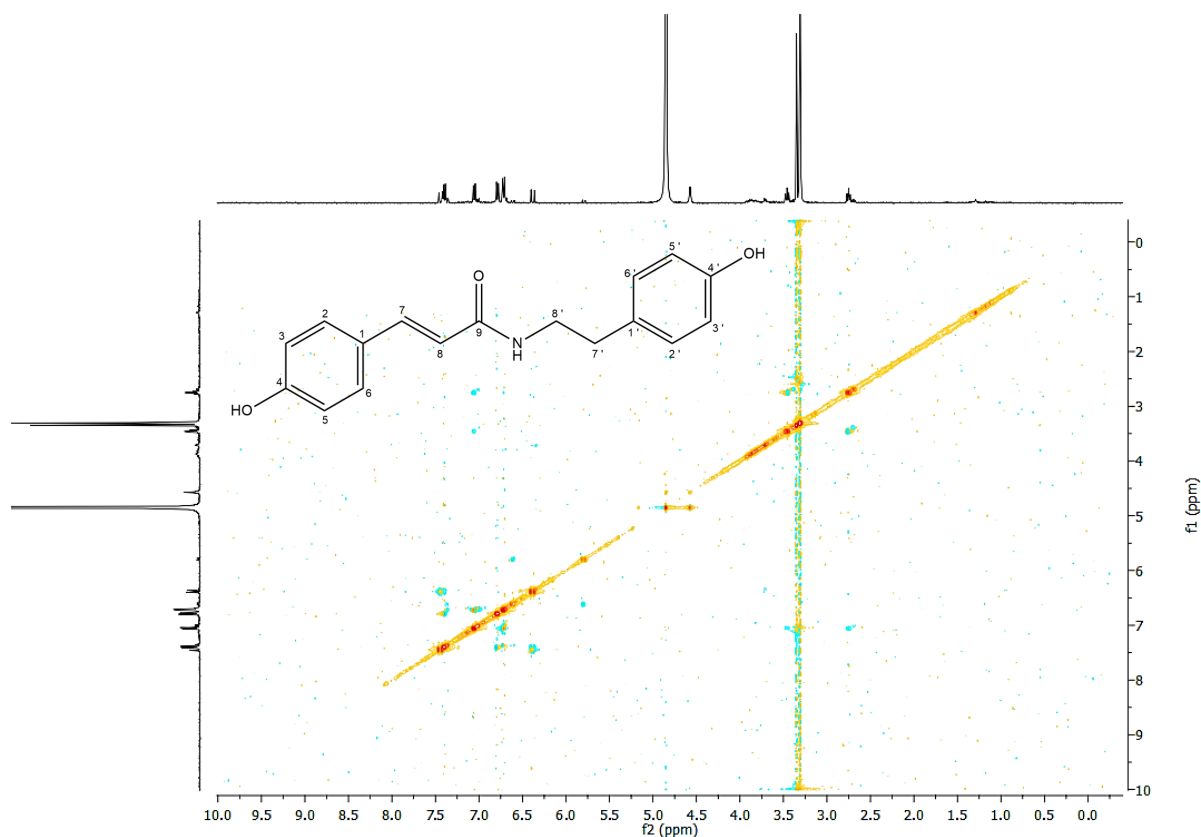
Fonte: próprio autor.

Figura 96 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.



Fonte: próprio autor.

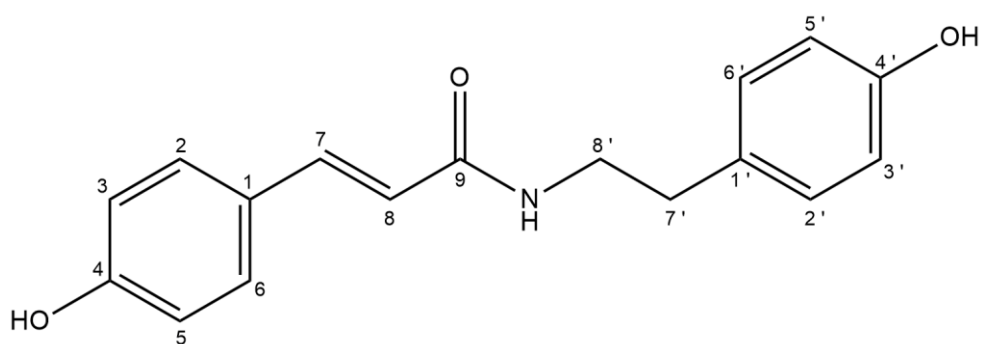
Figura 97 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-6.



Fonte: próprio autor.

Após análise de todos os dados de RMN de ^1H em conjunto com dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY e NOESY obtido em CD_3OD a 400 MHz a comparação com dados da literatura (ZHANG et al., 2011), foi possível concluir que MP-6, trata-se de uma *N-trans*-p-cumaroiltiramina (Figura 98).

Figura 98 - Estrutura química da *N-trans*-p-cumaroiltiramina.



Fonte: próprio autor.

A *N-trans*-p-cumaroiltiramina demonstrou ser um inibidor não competitivo da α -glicosidase; enzima responsável pela transformação do amido em monômeros de glicose. Essa substância por tanto causa retardo de absorção da glicose, possuindo um potencial para o tratamento da diabetes como possível antidiabético hipoglicemiante (LIU; LUO; KONG, 2011).

Tabela 10 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-6^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da *N-trans*-p-cumaroiltiramina^b.

posição	MP-6		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		127,7, C ^c		126,3, C
2	7,40, d (8,6)	130,6, CH ^d	7,41, d (8,6)	129,1, CH
3	6,79, d (8,5)	116,9, CH ^d	6,80, d (8,6)	115,3, CH
4		160,5, C ^c		159,1, C
5	6,79, d (8,5)	116,9, CH ^d	6,80, d (8,6)	115,3, CH
6	7,40, d (8,6)	130,6, CH ^d	7,41, d (8,6)	129,1, CH
7	7,44, d (15,8)	141,9, CH ^d	7,45, d (15,7)	140,3, CH
8	6,38, d (15,7)	118,4, CH ^d	6,39, d (15,7)	117,0, CH
9		169,1, C ^c		167,8, C
1'		131,2, C ^c		129,9, C
2'	7,05, d (8,4)	130,8, CH ^d	7,07, d (8,5)	129,3, CH
3'	6,72, d (8,4)	116,4, CH ^d	6,73, d (8,5)	114,8, CH
4'		157,0, C ^c		155,5, C
5'	6,72, d (8,4)	116,4, CH ^d	6,73, d (8,5)	114,8, CH
6'	7,05, d (8,4)	130,8, CH ^d	7,07, d (8,5)	129,3, CH
7'	2,75, t (7,5)	35,8, CH ₂ ^d	2,76, t (7,5)	34,4, CH ₂
8'	3,46, t (7,2)	42,1, CH ₂ ^d	3,47, t (7,5)	41,1, CH ₂

^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz.
^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.
^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD)
^dAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC (100 e 400 MHz, CD₃OD)

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa e de ZHANG et al. (2011).

Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-6^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1		127,7, C		
2	7,40, d (8,6)	130,6, CH		C-4, C-7
3	6,79, d (8,5)	116,9, CH	C-4	C-1
4		160,5, C		
5	6,79, d (8,5)	116,9, CH	C-4	C-1
6	7,40, d (8,6)	130,6, CH		C-4, C-7
7	7,44, d (15,8)	141,9, CH	C-8	C-2, C-6, C-9
8	6,38, d (15,7)	118,4, CH	C-9	C-1
9		169,1, C		
1'		131,2, C		
2'	7,05, d (8,4)	130,8, CH		C-4'
3'	6,72, d (8,4)	116,4, CH	C-4'	C-1'
4'		157,0, C		
5'	6,72, d (8,4)	116,4, CH	C-4'	C-1'
6'	7,05, d (8,4)	130,8, CH		C-4'
7'	2,75, t (7.5)	35,8, CH ₂	C-1', C-8'	
8'	3,46, t (7.2)	42,1, CH ₂		C-1'

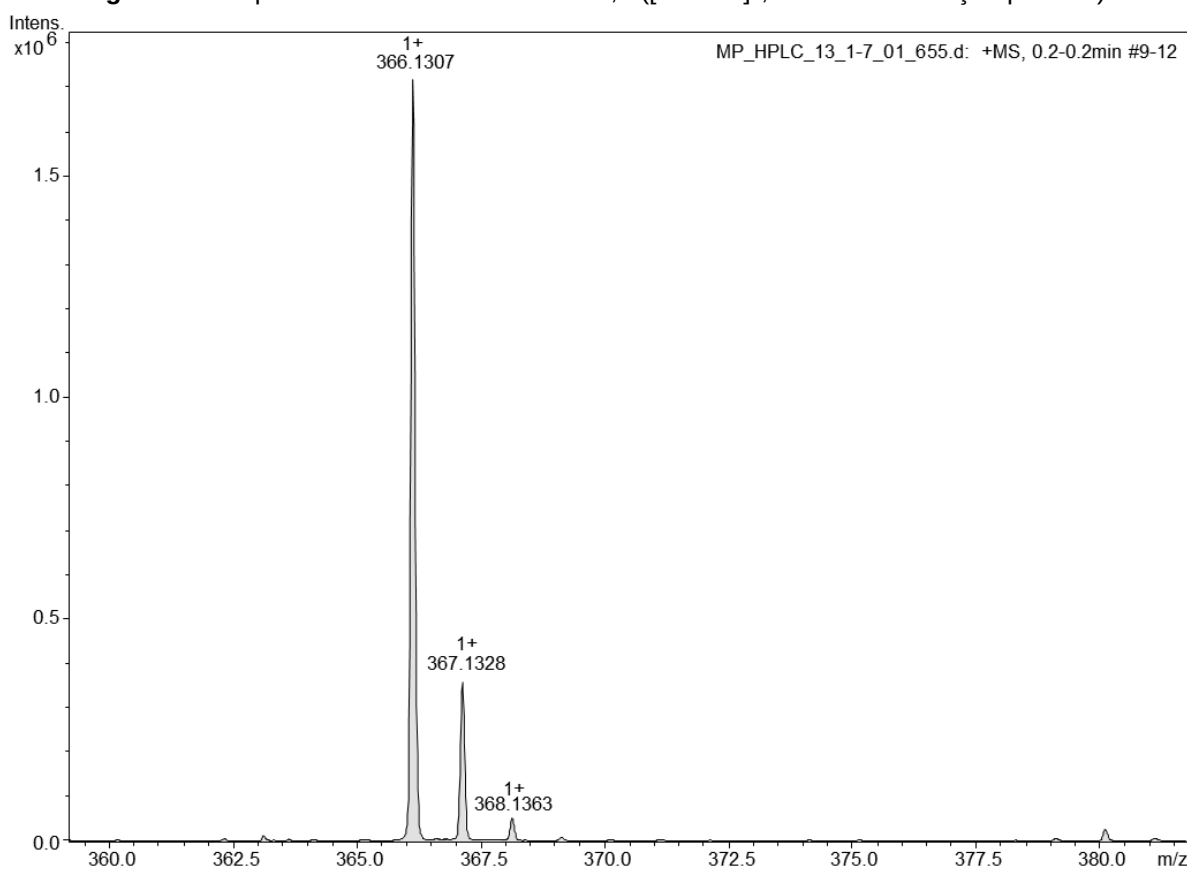
^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz (δ em ppm e J em Hz).

^bDados de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC e HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

5.7 Identificação estrutural de MP-7 e MP-8

As substâncias codificadas como MP-7 e MP-8, foram identificadas em mistura na FR-13, e nessa condição se apresentaram na forma de uma resina branca. As duas substâncias corresponderam à mesma fórmula molecular, definida como $C_{19}H_{21}NO_5$ por IES-EMAR (+) com m/z 366.1307 $[M + Na]^+$ (calculado para $C_{19}H_{21}NNaO_5$, 366.1312, $\Delta = 1,2$ ppm). Por conseguinte, foi calculado um índice de deficiência de hidrogênio igual a dez (Figura 99).

Figura 99 - Espectro de IES-EMAR de MP-7,8 ($[M + Na]^+$, modo de ionização positivo).



Fonte: Próprio autor.

O espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi evidenciado sinais característicos de dois sistemas ABX de substituição, um sistema AA'BB' de substituição e hidrogênios olefínicos apresentando-se aos pares, sugerindo, por conseguinte uma mistura de isômeros de amidas fenilpropanoídicas.

No que se refere à caracterização estrutural da substância MP-7, foi evidenciado no espectro de RMN de 1H na região de prótons aromáticos, sinais

correspondentes a dois sistemas ABX de substituição, sendo o primeiro deles caracterizado por um duplete em δ_H 7,11 (1H, $J = 2,0$ Hz) atribuído ao H-2, um duplo duplete δ_H 7,02 (1H, $J = 8,2, 2,0$ Hz) atribuído ao H-6 e um duplete em δ_H 6,79 (1H, $J = 8,2$ Hz) atribuído ao H-5.

O segundo anel aromático com sistema ABX de substituição, foi caracterizado por um duplete em δ_H 6,82 (1H, $J = 1,9$ Hz) atribuído ao H-2', um duplete em δ_H 6,72 (1H, $J = 8,2$ Hz) atribuído ao H-5' e um duplo duplete em δ_H 6,67 (1H, $J = 8,0, 2,0$ Hz) atribuído ao H-6'.

Os dupletos em δ_H 7,44 (1H, $J = 15,7$ Hz) e δ_H 6,41 (1H, $J = 15,7$ Hz), foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 15,7 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação.

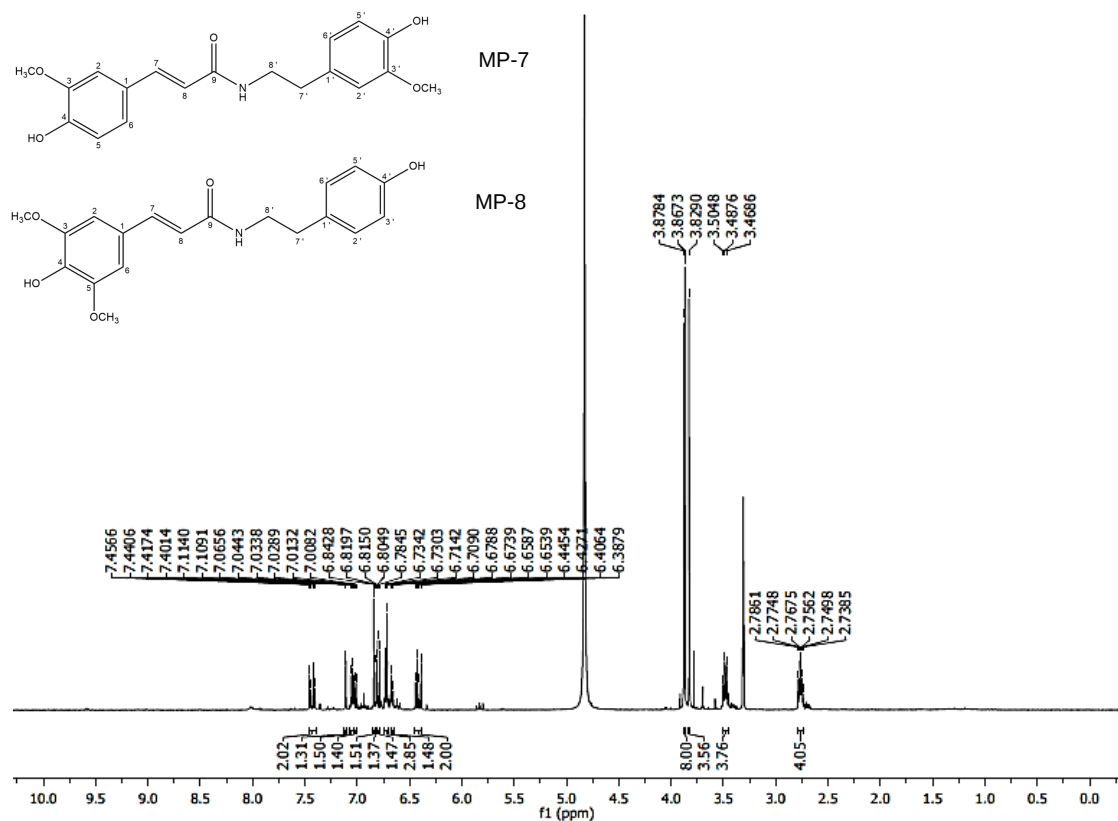
Dois simpletos intensos observados em δ_H 3,88 (3H) e 3,83 (3H), foram atribuídos aos hidrogênios das metoxilas ligadas ao C-3 e C-3', respectivamente. Essas metóxilas aromáticas sustentam o sistema ABX de substituição, uma vez que geram esse perfil de assimetria nos anéis aromáticos para-hidroxilados. Enquanto isso, os tripletos em δ_H 3,49 (2H, $J = 7,6$ Hz) e δ_H 2,77 (2H, $J = 7,4$ Hz), foram atribuídos aos H-8' e H-7', respectivamente (Figura 100-102, pág. 129-130).

Na caracterização estrutural da substância MP-8, o espectro de RMN de 1H , apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi possível observar um duplete em δ_H 7,05 (2H, $J = 8,4$ Hz), atribuído aos H-2',6'; um simpleto em δ_H 6,84 (2H) atribuído aos H-2,6 e um duplete em δ_H 6,72 (2H, $J = 8,5$ Hz) atribuído aos H-3',5', evidenciando a existência de dois anéis aromáticos; um anel 1,3,4,5-tetrassubstituído e outro apresentando um sistema do tipo AA'BB' de substituição.

Se fez notável, a presença de dupletos em δ_H 7,42 (1H, $J = 15,7$ Hz) e δ_H 6,43 (1H, $J = 15,6$ Hz), atribuídos a hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 15,6 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação.

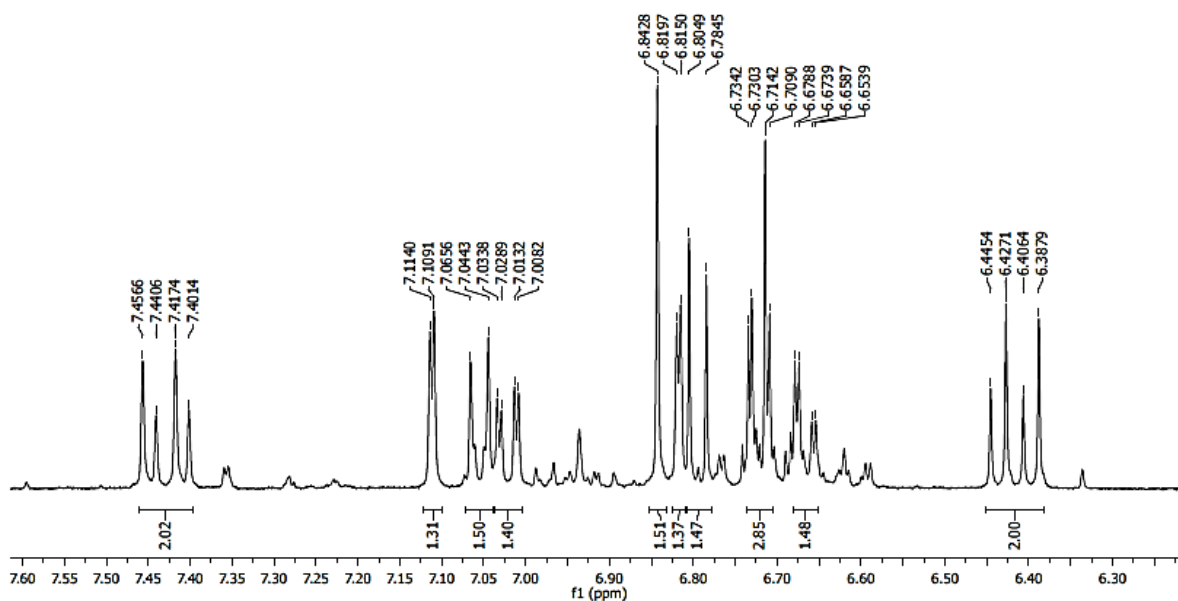
Observou-se ainda, a presença de um simpleto em δ_H 3,87 (6H) atribuído aos hidrogênios das metoxilas ligadas na posição C-3 e C-5 (3,5-OCH₃). Os tripletos evidenciados em 3,49 (2H, $J = 7,6$ Hz) e 2,76 (2H, $J = 7,4$ Hz) foram atribuídos aos H-8' e H-7', respectivamente (Figura 100-102).

Figura 100 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8.



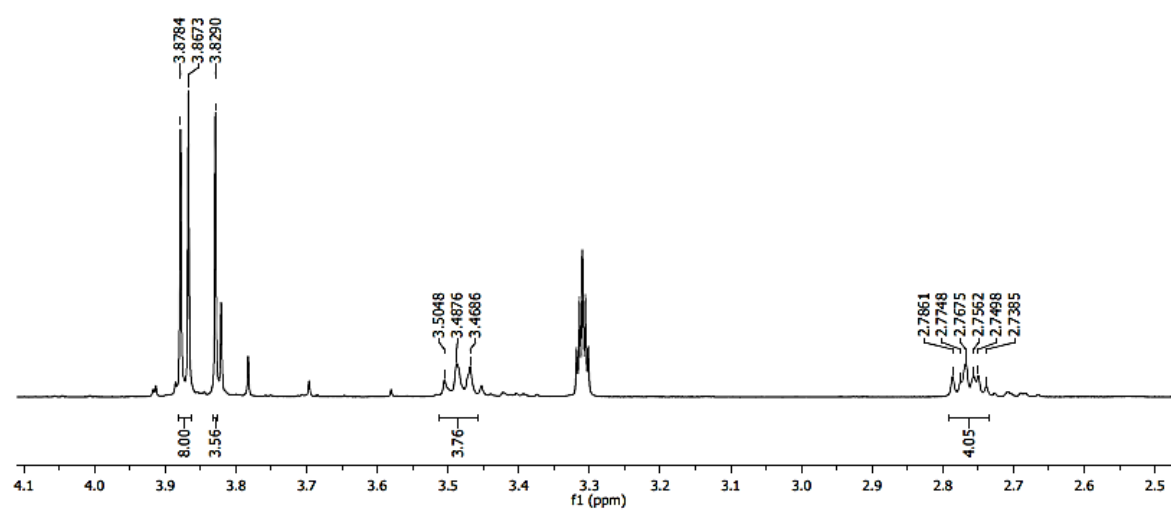
Fonte: próprio autor.

Figura 101 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 6,3 a 7,6 ppm).



Fonte: próprio autor

Figura 102 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 2,5 a 4,1 ppm).



Fonte: próprio autor.

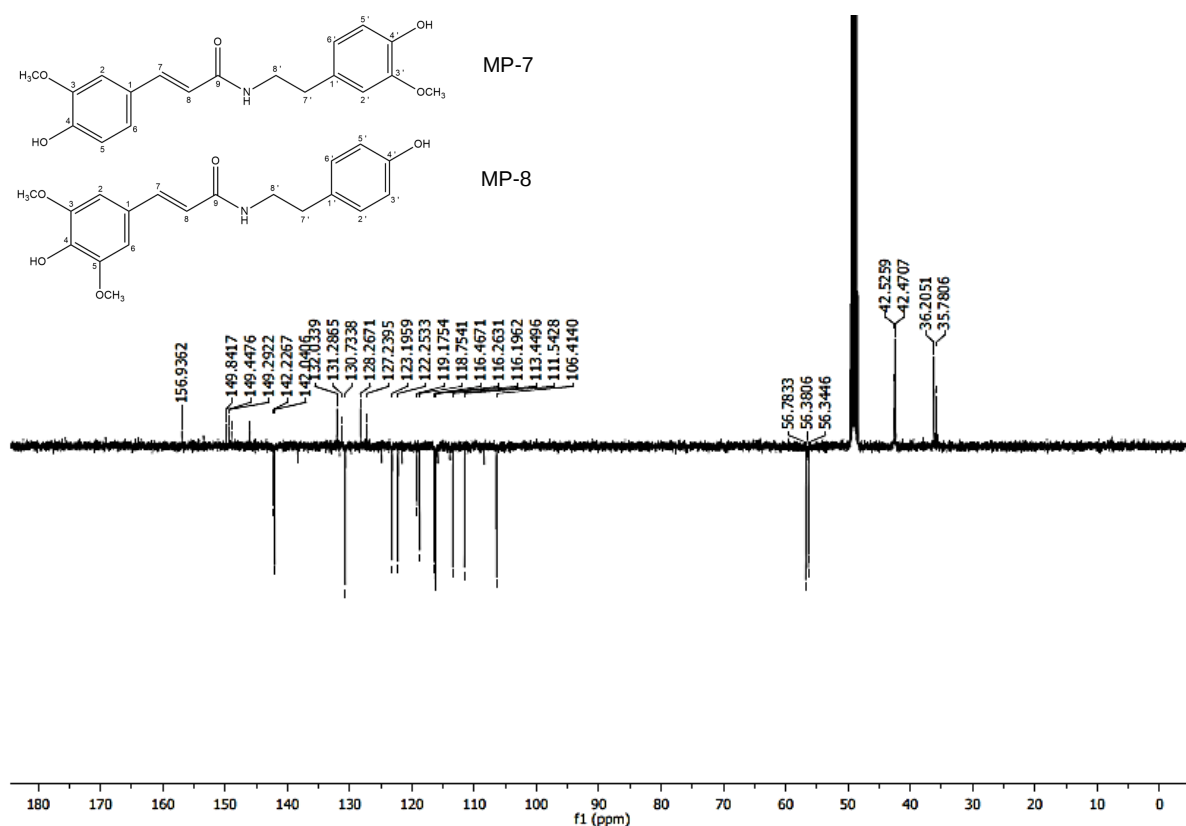
O espectro de RMN de ^{13}C -APT da MP-7,8, obtido em CD_3OD a 100 MHz, possibilitou a identificação de 31 sinais de carbono. Para a substância codificada MP-7 foram atribuídos 19 sinais, sendo sete deles não hidrogenados, oito metínicos, dois metilênicos, e duas metilas relacionadas às metoxilas ($3,3'\text{-OCH}_3$). Por meio dessa análise, foi possível confirmar a presença do anel aromático 1,3,4-trissubstituído por meio dos sinais em δ_{C} 149,3 (C-4); 149,8 (C-3), 132,0 (C-1), 123,2 (C-6), 116,3 (C-5), 111,5 (C-2) e 56,4 (3-OCH_3). Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 142,0 (C-7) e δ_{C} 118,8 (C-8), se mostraram compatíveis com sistemas α - β conjugados à carbonila. O sinal em δ_{C} 169,2 foi atribuído ao carbono da carbonila (C-9).

A confirmação do segundo anel aromático 1,3,4-trissubstituído com sistema ABX de substituição evidenciado no espectro de hidrogênio, se deu por meio dos sinais em δ_{C} 149,4 (C-3'), 146,0 (C-4'), 128,3 (C-1'), 122,3 (C-6'), 116,5 (C-5'), 113,4 (C-2') e 56,3 ($3'\text{-OCH}_3$). Foi evidenciado também a presença de um sinal em δ_{C} 42,5, atribuído ao carbono metileno nitrogenado C-8', e um sinal em δ_{C} 36,2 atribuído ao carbono metileno C-7' (Figura 103-105, pág. 132-133). Esses dados também estão dispostos na tabela 12, pág. 137.

No que se refere à substância MP-8, foram atribuídos 12 sinais de carbono dentre os 31 sinais observados anteriormente, sendo quatro deles não hidrogenados, cinco metínicos, 2 metilênicos e um sinal de metila relacionada às duas metoxilas em situação de simetria ($3,5\text{-OCH}_3$). Por meio dessa análise, foi possível confirmar a presença do anel 1,3,4,5-tetrassubstituído evidenciado-se os sinais em δ_{C} 148,9 (C-3,5), 127,2 (C-1), 106,2 (C-2,6) e 56,8 ($3,5\text{-OCH}_3$). Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 142,2 (C-7) e δ_{C} 119,2 (C-8), se mostraram compatíveis com sistemas α - β conjugados à carbonila.

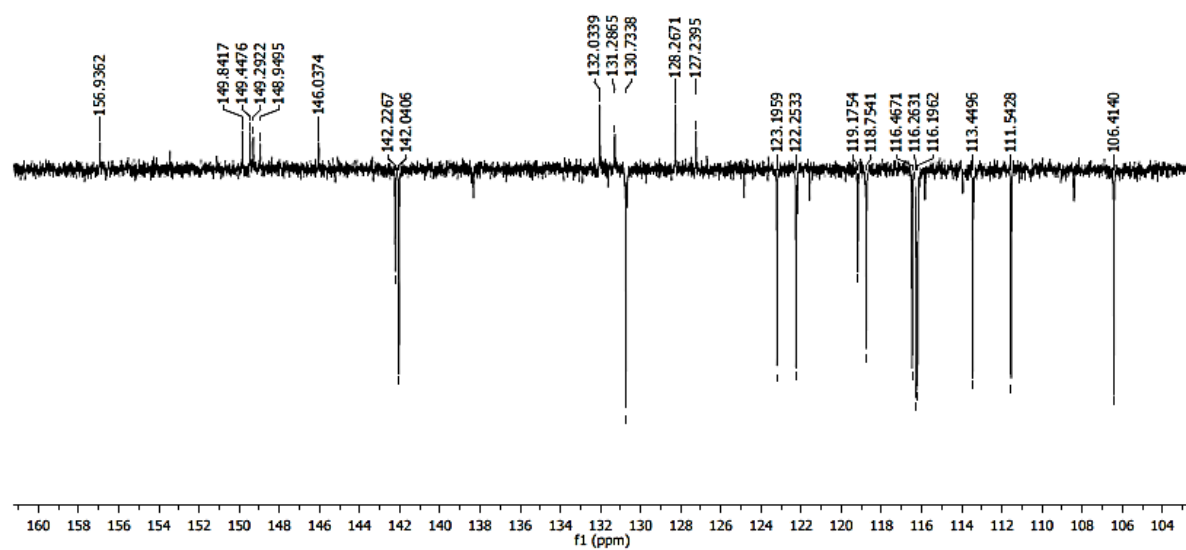
A caracterização do segundo anel aromático 1,4-dissubstituído com sistema AA'BB' de substituição, foi determinada pelos sinais em δ_{C} 156,9 (C-4'), 131,3 (C-1'), 130,7 (C-2',6') e 116,2 (C-3',5'). Além disso, foi evidenciado também a presença de um sinal em δ_{C} 42,5, atribuído ao carbono metileno nitrogenado C-8', e um sinal em δ_{C} 35,8 atribuído ao carbono metileno C-7' (Figura 103-105, pág. 132-133). Esses dados também dispostos na tabela 14, pág. 139.

Figura 103 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8.



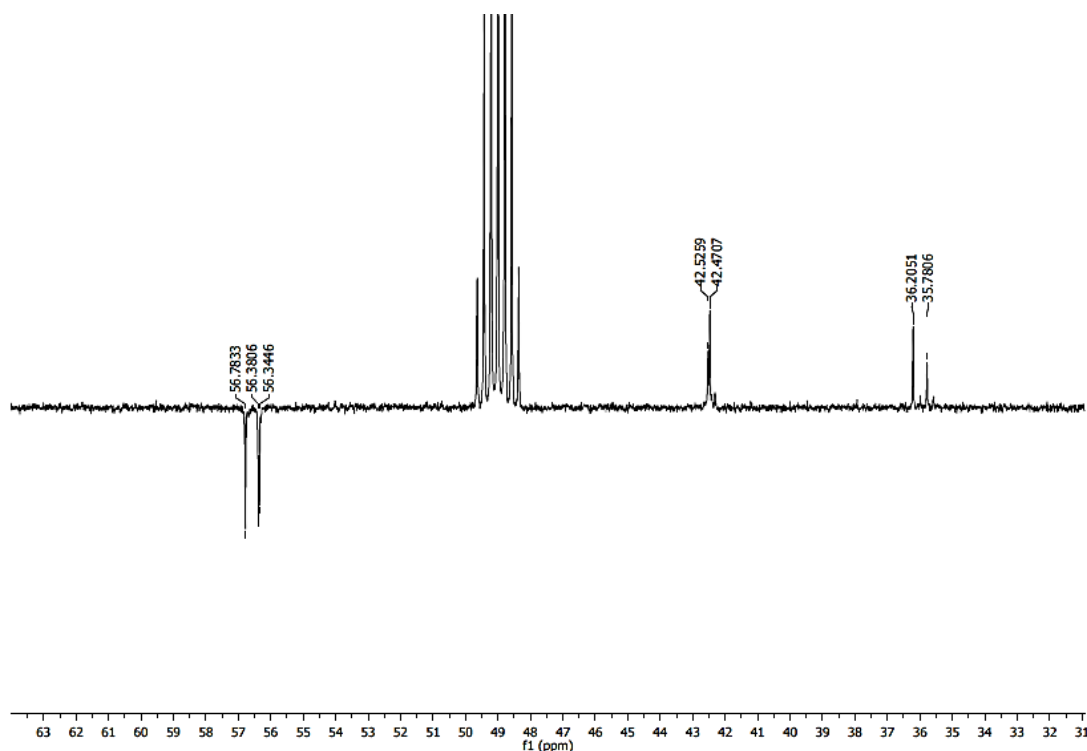
Fonte: próprio autor.

Figura 104 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 104 a 160 ppm).



Fonte: próprio autor.

Figura 105 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão na região 31 a 63 ppm).

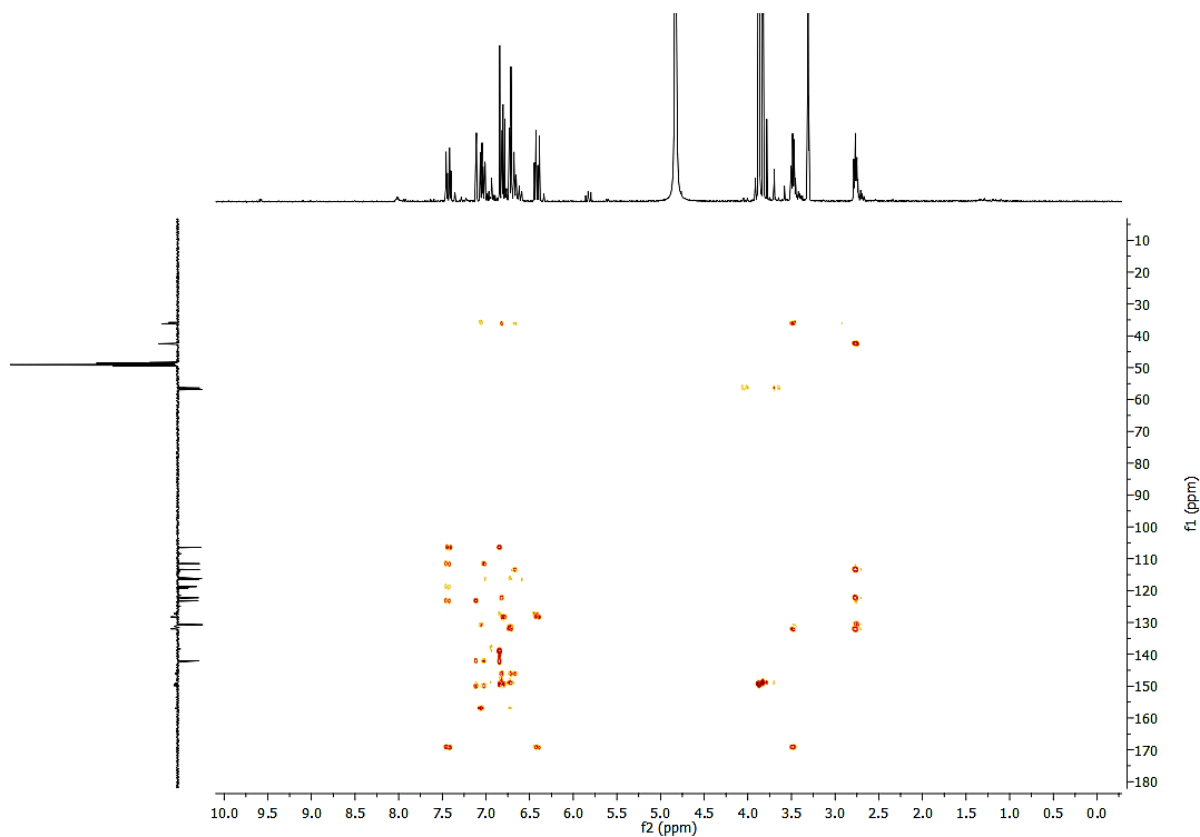


Fonte: próprio autor.

A partir dos dados de espectros de correlação heteronuclear HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, foi possível observar a correlação do simpleto em δ_{H} 6,84 com δ_{C} 142,2, em consonância com a caracterização da porção sinapoil na substância MP-8. E a correlação do duplete em δ_{H} 6,82 com δ_{C} 122,3 e δ_{C} 146,0, corroborando a caracterização da porção 3-metoxi-tiramina da substância MP-7. Os demais dados estão dispostos na tabela 13-15, pág. 138-140.

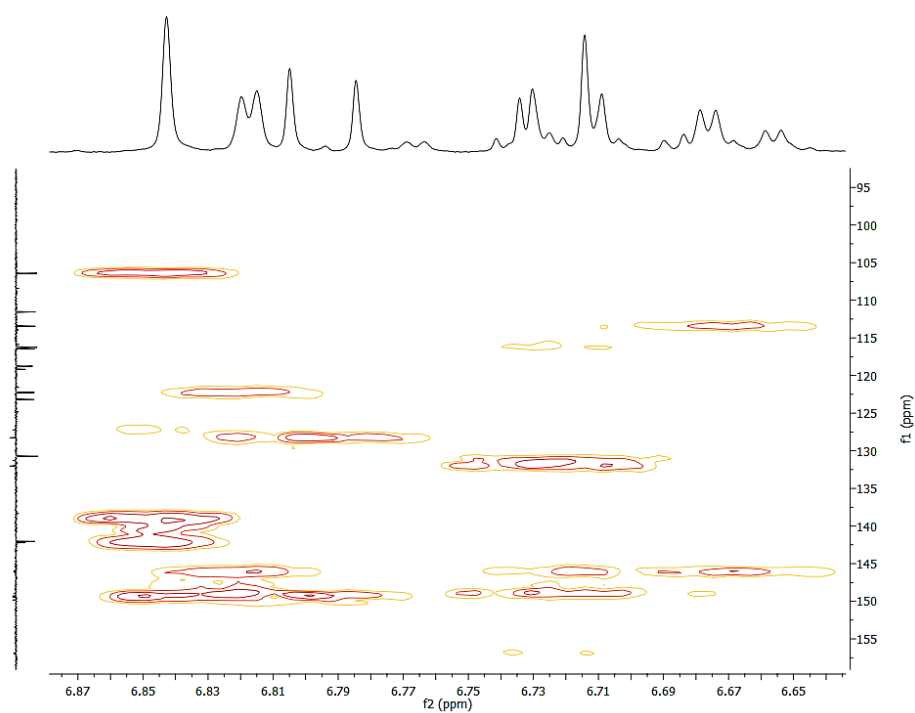
Esses e o restante dos dados compilados a partir espectro de correlação heteronuclear HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY obtido em CD_3OD a 400 MHz (Figura 106-109, pág. 134-136), confirmam a proposição da *N-trans*-sinapoil-tiramina e da *N-trans*-feruloil-3-metóxitiramina (Figura 109-110, pág. 136).

Figura 106 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8.



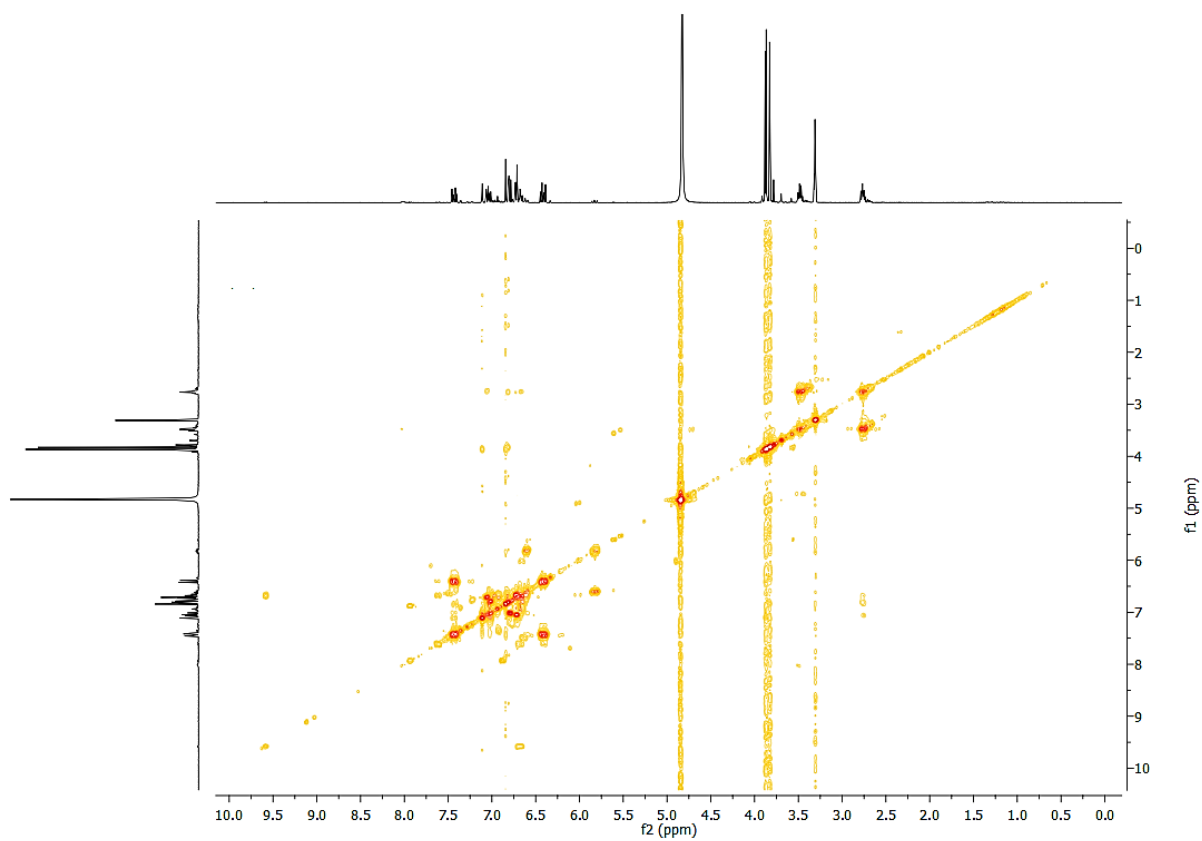
Fonte: próprio autor.

Figura 107 - pectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8 (expansão da região 6,6-6,9 e 95-155 ppm).



Fonte: próprio autor.

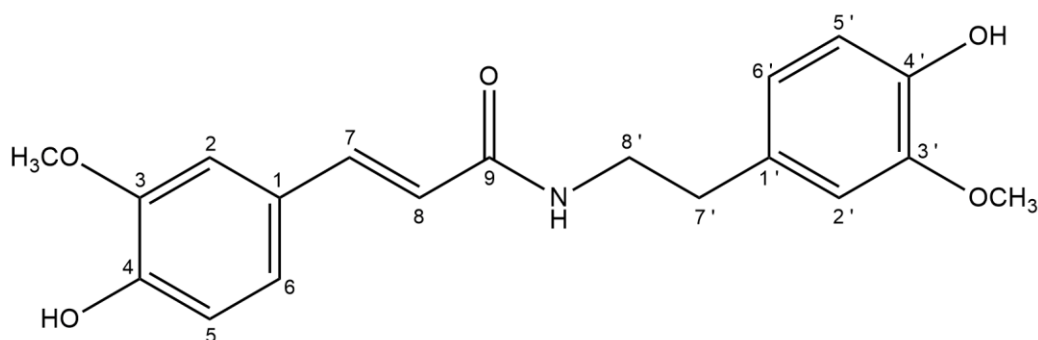
Figura 108 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-7,8.



Fonte: próprio autor.

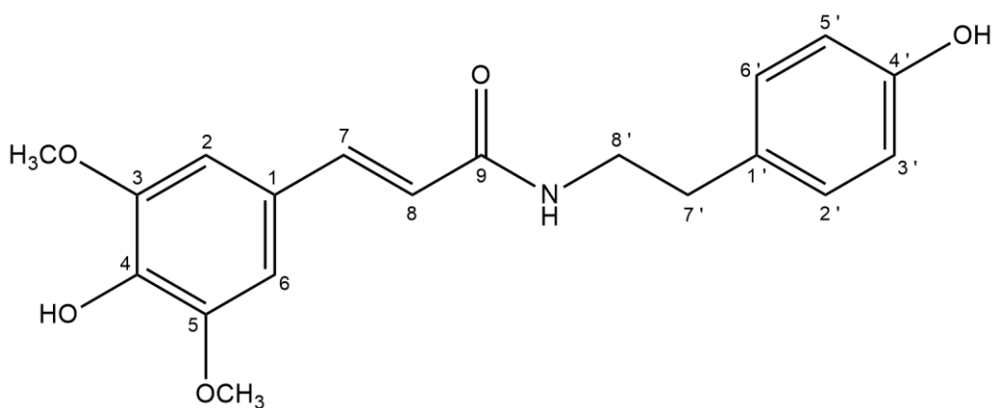
Após análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C em conjunto com dados de espectros de correlação heteronuclear HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY obtido em CD_3OD a 400 MHz e a comparação com dados da literatura (SUN et al., 2015; CHOI et al., 2016), foi possível concluir que a FR13 se apresentou composta por uma mistura de isômeros constitucionais de posição, sendo a substância codificada como MP-7, denominada *N-trans*-feruloil-3-metoxitiramina (Figura 109) e a MP-8, denominada *N-trans*-sinapoiltiramina (Figura 110).

Figura 109 - Estrutura química da *N-trans*-feruloil-3-metoxitiramina (MP-7).



Fonte: próprio autor.

Figura 110 - Estrutura química da *N-trans*-sinapoiltiramina (MP-8).



Fonte: próprio autor.

Tabela 12 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-7^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da N-trans-feruloil-3-metoxitiramina^b.

posição	MP-7		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		132,0, C		132,0, C
2	7,11, d (2,0)	111,5, CH	7.09, d (1,5)	111,5, CH
3		149,8, C		149,8, C
4		149,3, C		148,9, C
5	6,79, d (8,2)	116,3, CH	6.79, d (8,5)	116,2, CH
6	7,02, dd (8,2, 2,0)	123,2, CH	7.00, dd (8.5, 1.5)	123,2, CH
7	7,44, d (15,7)	142,0, CH	7.44, d (15,5)	142,0, CH
8	6,41, d (15,7)	118,8, CH	6.41, d (15,5)	118,7, CH
9		169,2, C ^c		169,2, C
1'		128,3, C		128,2, C
2'	6,82, d (1,9)	113,4, CH	6.78, d (1,5)	113,4, CH
3'		149,4, C		149,2, C
4'		146,0, C		146,0, C
5'	6,72, d (8,0)	116,5, CH	6.72, d (8,0)	116,5, CH
6'	6,67, dd (8,0, 2,0)	122,3, CH	6.65, dd (8.0, 1.5)	122,2, CH
7'	2,77, t (7,4)	36,2, CH ₂	2.76, t (7,5)	36,1, CH ₂
8'	3,49, t (7,6)	42,5, CH ₂	3.48, t (7,5)	42,4, CH ₂
3-OCH ₃	3,88, s	56,4, CH ₃	3.85, s	56,4, CH ₃
3'-OCH ₃	3,83, s	56,3, CH ₃	3.81, s	56,3, CH ₃

^aDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.

^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.

^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa e de SUN et al. (2015).

Tabela 13 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-7^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	MP-7		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1		128,3, C		
2	7,11, d (2,0)	111,5, CH	C-3	C-6, C-7
3		149,8, C		
4		149,3, C		
5	6,79, d (8,2)	116,3, CH	C-4	C-3
6	7,02, dd (8.2, 2.0)	123,2, CH		C-2, C-4, C-7
7	7,44, d (15,7)	142,0, CH	C-8	C-2, C-6
8	6,41, d (15,7)	118,8, CH	C-9	C-1
9		169,2, C		
1'		132,0, C		
2'	6,82, d (1,9)	113,4, CH		C-3', C-4', C-6'
3'		149,4, C		
4'		146,0, C		
5'	6,72, d (8,0)	116,5, CH	C-4'	C-1', C-3'
6'	6,67, dd (8.0, 2.0)	122,3, CH		C-2', C-4'
7'	2,77, t (7.4)	36,2, CH ₂	C-6', C-8'	C-1'
8'	3,46, t (7.2)	42,5, CH ₂	C-1', C-7'	C-9
3-OCH ₃	3,88, s	56,4, CH ₃	C-3	
3'-OCH ₃	3,83, s	56,3, CH ₃	C-3'	

^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz (δ em ppm e J em Hz).

^bDados de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC e HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

Tabela 14 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-8^a comparado aos dados de RMN de ^1H ^{13}C da N-trans-sinapoitiramina^b.

posição	MP-8		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		127,2, C		126,9, C
2	6,84, s	106,4, CH	6,86, s	104,5, CH
3		148,9, C		148,0, C
4				135,8, C
5		148,9, C		148,0, C
6	6,84, s	106,4, CH	6,86, s	104,5, CH
7	7,42, d (15,7)	142,2, CH	7,43, d (15,5)	140,0, CH
8	6,43, d (15,6)	119,2, CH	6,42, d (15,5)	118,5, CH
9				167,4, C
1'		131,3, C		129,8, C
2'	7,05, d (8,5)	130,7, CH	7,06, d (8,5)	129,3, CH
3'	6,72, d (8,5)	116,2, CH	6,72, d (8,5)	114,8, CH
4'		156,9, C		155,5, C
5'	6,72, d (8,5)	116,2, CH	6,72, d (8,5)	114,8, CH
6'	7,05, d (8,5)	130,7, CH	7,06, d (8,5)	129,3, CH
7'	2,76, t (7,5)	35,8, CH ₂	2,76, t (7,5)	34,4, CH ₂
8'	3,49, t (7,6)	42,5, CH ₂	3,47, t (7,5)	41,2, CH ₂
3,5-OCH ₃	3,87, s	56,8, CH ₃	3,88, s	55,4, CH ₃

^aDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.
^bDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa, de SUN et al. (2015) e CHOI et al. (2016).

Tabela 15 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-8^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	MP-8		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1		127,2, C		
2	6,84, s	106,4, CH	C-1, C-3	C-7
3		148,9, C		
4				
5		148,9, C		
6	6,84, s	106,4, CH	C-1, C-5	C-7
7	7,42, d (15,7)	142,2, CH		C-2
8	6,43, d (15,6)	119,2, CH	C-9	C-1
9				
1'		131,3, C		
2'	7,05, d (8,5)	130,7, CH		C-4'
3'	6,72, d (8,5)	116,2, CH		
4'		156,9, C		
5'	6,72, d (8,5)	116,2, CH		
6'	7,05, d (8,5)	130,7, CH		C-4'
7'	2,76, t (7,5)	35,8, CH ₂	C-2', C-6'	
8'	3,49, t (7,6)	42,5, CH ₂	C-1'	
3,5-OCH ₃	3,87, s	56,8, CH ₃	C-3, C-5	

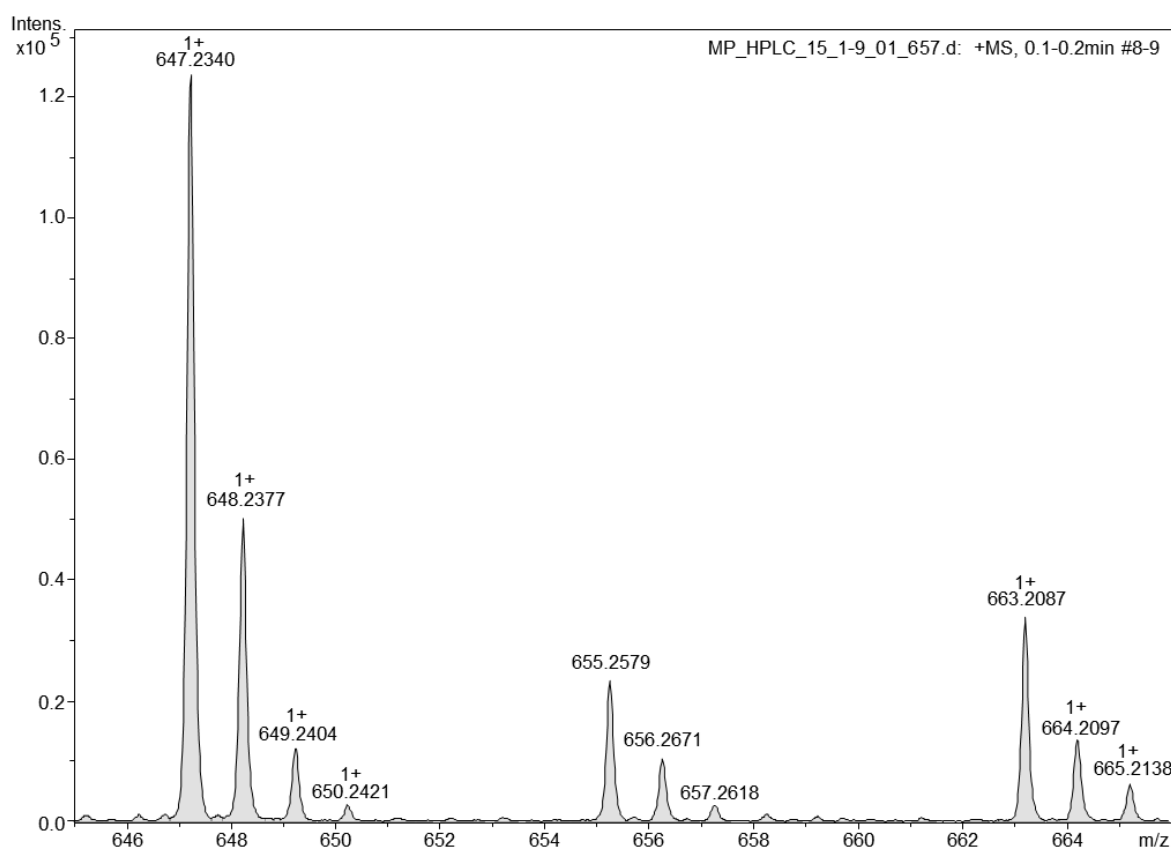
^aDados de RMN ^1H obtidos em 400 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 100 MHz (δ em ppm e J em Hz).

^bDados de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC e HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

5.8 Identificação estrutural de MP-9 e MP-10

As substâncias codificadas como MP-9 e MP-10, foram identificadas em mistura na FR-15, e nessa condição se apresentaram na forma de uma resina branca. As duas substâncias corresponderam à mesma fórmula molecular, definida como $C_{36}H_{36}N_2O_8$ por IES-EMAR (+) com m/z 647.2340 $[M + Na]^+$ (calculado para $C_{36}H_{36}N_2NaO_8$, 647.2364, $\Delta = 3,7$ ppm). Por conseguinte, foi calculado um índice de deficiência de hidrogênio igual a vinte (Figura 111).

Figura 111 - Espectro de IES-EMAR de MP-9,10 ($[M + Na]$, modo de ionização positivo).



Fonte: Próprio autor.

No que se refere à caracterização estrutural da substância MP-9, o espectro de RMN 1H , obtido em CD_3OD a 400 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos. Foi evidenciado um duplete largo em δ_H 7,12 (1H, $J = 0,9$ Hz, atribuído ao H-6 e um outro duplete largo em δ_H 6,75 (1H, $J = 1,4$ Hz), atribuído ao H-2, sugerindo um anel 1, 3, 4, 5 - tetrassubstituído. Foi verificado também a presença de um duplete em δ_H 6,91 (1H, $J = 2,0$ Hz), atribuído ao H-2', um simpleto em δ_H 6,79, atribuído ao

H-5', e um multipletto semelhante a um duplo dupletto em δ_H 6,80 (1H), atribuído ao H-6', sugerindo a presença de um anel 1', 3',4' – trissubstituído.

Foram observados dupletos em δ_H 7,43 (1H, $J = 15,7$ Hz) e δ_H 6,39 (1H, $J = 15,7$ Hz), atribuídos a hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-8, respectivamente. A constante de acoplamento 15,7 Hz estabeleceu a configuração *trans* para dupla ligação. Por meio dos dupletos em δ_H 5,89 (1H, $J = 8,4$ Hz), atribuído ao H-7' e δ_H 4,15 (1H, $J = 8,2$ Hz), atribuído ao H-8', foi sugerido a presença de um anel 2,3-dihidrofurano tetrassubstituído.

Logo foi possível suspeitar de que se tratava de amidas fenilpropanoídicas diméricas, sendo o anel aromático 1,3,4,5-tetrassubstituído e os hidrogênios olefínicos H-7 e H-8, componentes de um monômero. Enquanto o anel aromático 3',4'-dissubstituído somado aos H-7' e H-8' na forma de um anel 2,3-dihidrofurano tetrassubstituído, componente do segundo monômero.

As demais porções desse dímero foram caracterizadas pela presença de um dupletto em δ_H 7,06 (1H, $J = 8,6$ Hz), atribuído ao H-2'', 6'', um dupletto em δ_H 7,03 (1H, $J = 8,5$ Hz), atribuído ao H-2''', 6''', e dois dupletos em δ_H 6,72, cada um com integral para 1 hidrogênio e $J = 8,5$ Hz, atribuído aos H-3'', 3''', 5'', 5'''. Essa multiplicidade de sinais é característica de duas porções tiramina, concernente à estrutura dimérica. Os multipletos observados em δ_H 2,72 e δ_H 3,46, atribuídos respectivamente à H-7'', 7''' e H-8'', 8''', corroboram com essa afirmação, visto que as porções tiramina são compostas de metilenos que tendem a se apresentar na forma de tripletos em δ_H 2,72 e δ_H 3,46 (Figura 112-114, pág. 144-145), como pode ser observado também no espectro de RMN de 1H da *N-trans*-feruloiltiramina (Figura 60-62, pág. 96-97).

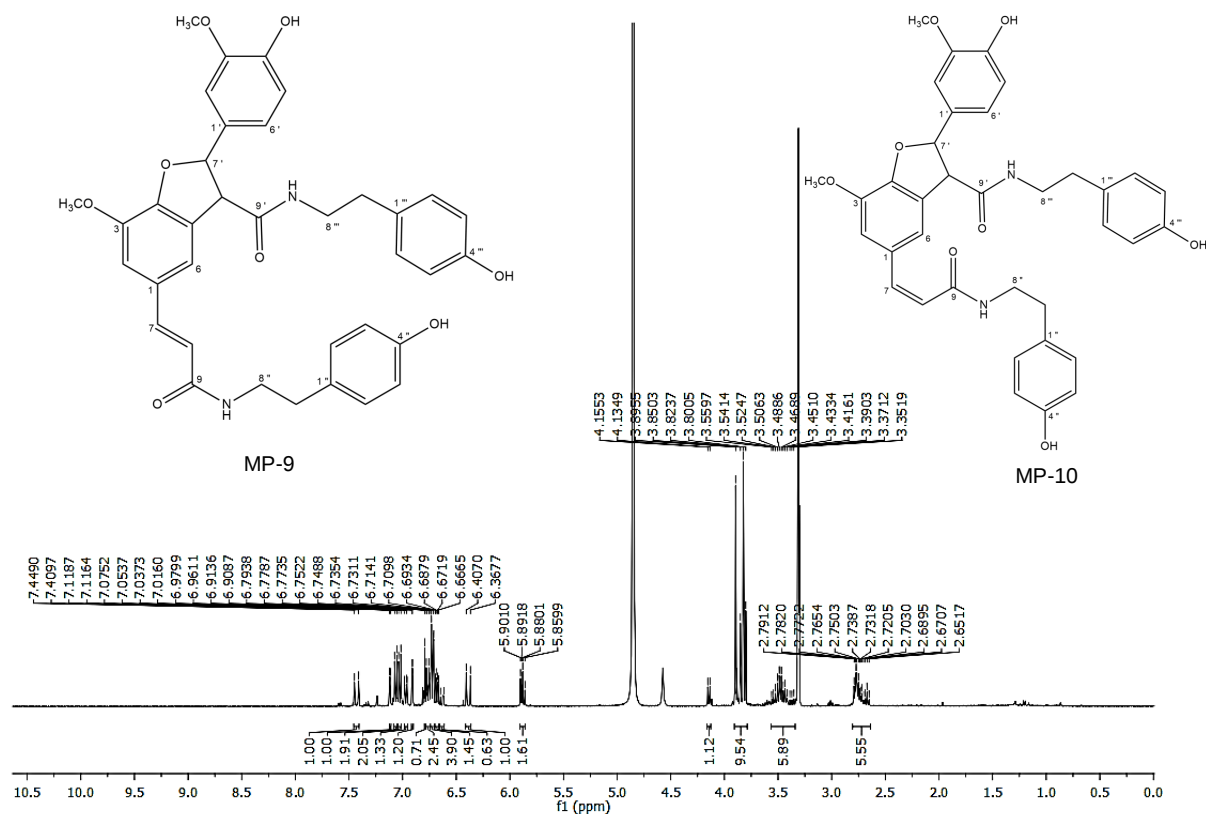
No que concerne à caracterização estrutural da substância MP-10, foi possível observar no espectro de RMN de 1H que os dupletos em δ_H 7,06 e 7,03 e os dois em δ_H 6,72, apresentaram uma integral para 2 hidrogênios, cada. Isso pode ser justificado por uma sobreposição de sinais entre esses isômeros, tendo em vista que MP-9 e MP-10 apresentaram a mesma fórmula molecular. Então esses dupletos receberam a mesma atribuição para a substância MP-9, juntamente com os sinais de multipletos observados em δ_H 2,72 e δ_H 3,46, atribuídos respectivamente à H-7'', 7''' e H-8'', 8''', e esses dados permitiram a caracterização das duas porções tiraminas nessa molécula.

Os sinais cruciais para determinação do tipo de isomeria dessas substâncias foram observados como dupletos em δ_H 6,63 (1H, $J = 12,6$ Hz) e δ_H 5,88 (1H, $J = 12,8$ Hz), atribuídos a hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila, sendo eles, H-7 e H-

8, respectivamente. A constante de acoplamento 12,7 Hz estabeleceu a configuração *cis* para dupla ligação, constatando de que a mistura se tratava de um par de isômeros geométricos (Figura 112-114, pág. 144-145).

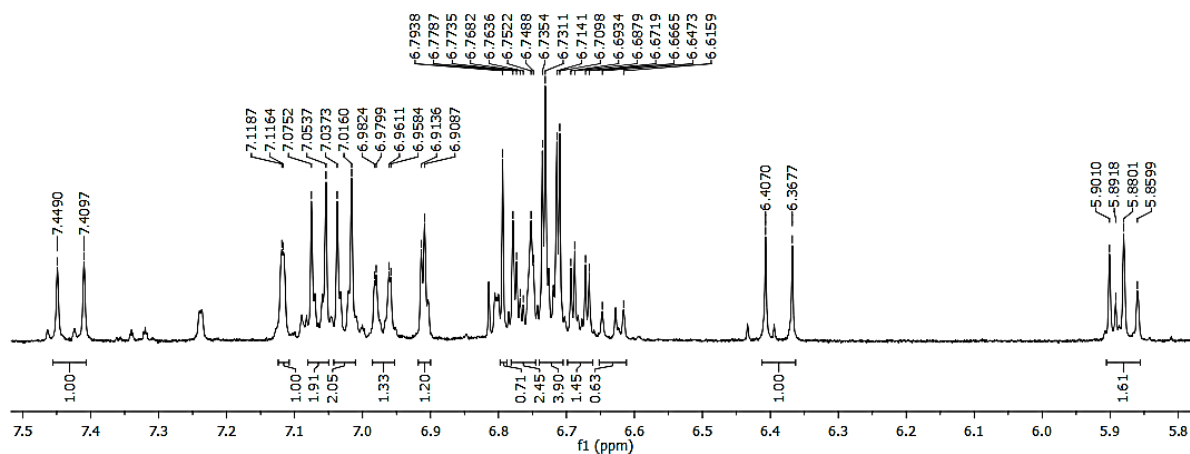
Embora a substância MP-10 tenha se apresentado em uma menor concentração, foi possível observar sinais intensos como simpletos em δ_H 3,85 (3H) e δ_H 3,80 (3H), atribuídos às metoxilas 3'-OCH₃ e 3-OCH₃, respectivamente. E foi possível discriminar pelo valor da integral a presença de seus multipletos em δ_H 3,46 atribuído ao H-8'' e H-8''' e em δ_H 2,72, atribuído aos H-7'' e H-7''' em sobreposição com os sinais referentes às mesmas porções de tiramina da substância MP-9 (Figura 114, pág. 145).

Figura 112 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.



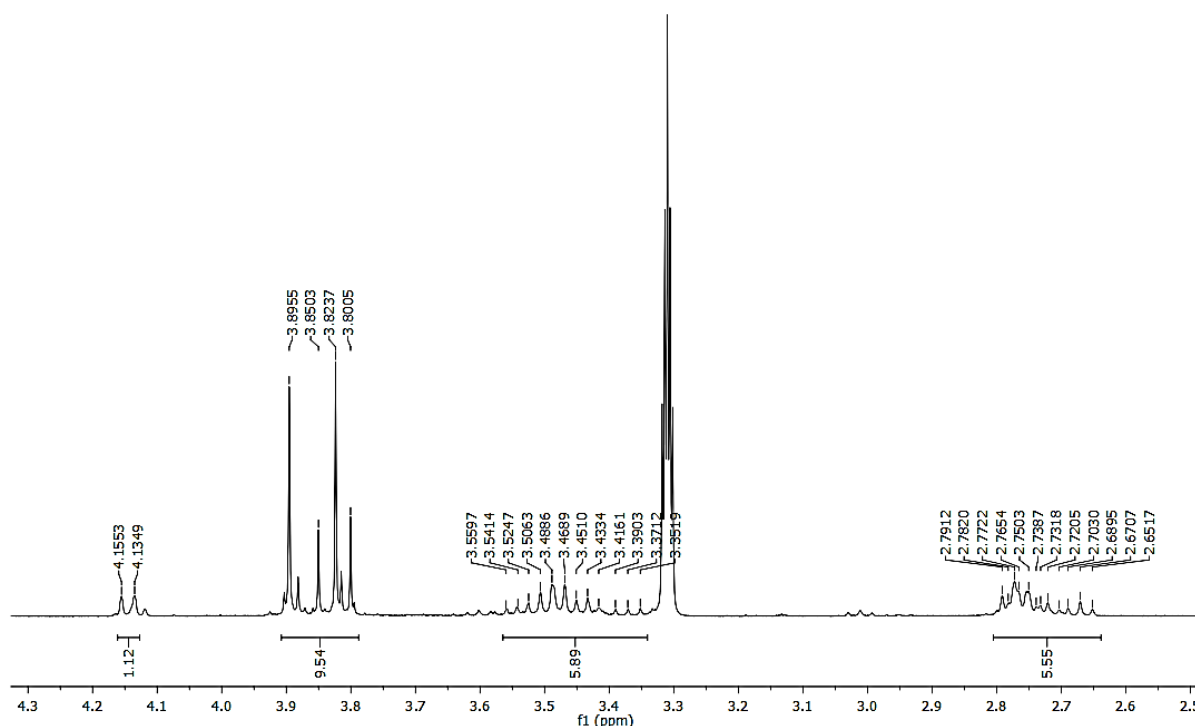
Fonte: próprio autor.

Figura 113 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão na região 5,8 a 7,5 ppm).



Fonte: próprio autor.

Figura 114 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão na região 2,5 a 4,3 ppm).



Fonte: próprio autor.

O espectro de RMN de ^{13}C -APT da MP-9,10, obtido em CD_3OD a 100 MHz, possibilitou a identificação de 47 sinais de carbono. Para a substância codificada MP-9 foram atribuídos 29 sinais, sendo quatro deles não hidrogenados, doze metínicos, quatro metilênicos, e duas metilas relacionadas às metoxilas ($3,3'\text{-OCH}_3$). Por meio dessa análise, foi possível confirmar a presença do anel aromático 1,3,4,5-tetrassubstituído por meio dos sinais em δ_{C} 113,2 (C-6), 118,1 (C-2) e 56,8 (3-OCH_3), além de atribuições realizadas por HMBC, com sinais em δ_{C} 130,5 (C-1), 146,0 (C-3) e 151,0 (C-4). A presença do anel 2,3-dihidrofurano tetrassubstituindo foi caracterizada pelo sinais em δ_{C} 89,9 (C-7') e 58,7 (C-8'). Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 141,8 (C-7) e δ_{C} 110,6 (C-8), se mostraram compatíveis com sistemas α - β conjugados à carbonila.

Corroborando com a caracterização do anel aromático 1', 3',4' – trissubstituído, foram observados sinais em δ_{C} 148,0 (C-3'), 132,7 (C-1), 110,6 (C-2'), 116,5 (C-5'), 120,0 (C-6') e 56,4 ($3'\text{-OCH}_3$). Também foram evidenciados sinais compatíveis com as porções de tiramina sugeridas para cada monômero, uma delas apresentando

sinais em δ_c 130,9 (C-2'',6''), 116,3 (C-3'',5''), além de sinais atribuídos a carbonos metilênicos em 42,2 (C-8'') e 35,8 (C-7''). E a outra porção, caracterizada por sinais em δ_c 130,8 (C-2'',6'') e δ_c 116,3 (C-3'',5''), além de sinais em δ_c 42,6 (C-8''), 35,3 (C-7''), atribuído aos carbonos metilênicos. Esses dados também dispostos na tabela 16, pág. 155, confirmam a proposição da *N-trans*-grossamida (Figura 115-117, pág. 148-149).

No que se refere à substância MP-10, dentre os 47 sinais de carbono observados no espectro de RMN de ^{13}C -APT, foram atribuídos 18 sinais, sendo um deles não hidrogenado, nove metínicos, quatro metilênicos, e duas metilas relacionadas às metoxilas (3,3'-OCH₃).

Por meio dessa análise, foi possível confirmar a presença do anel 1,3,4,5-tetrassubstituído evidenciado-se os sinais em δ_c 129,4 (C-5), e 56,8 (3-OCH₃) e por meio do HMBC a atribuição de δ_c 115,2 (C-2). A presença do anel 2,3-dihidrofurano tetrassubstituído foi caracterizado pelos sinais em δ_c 58,9 (C-7') e δ_c 90,0 (C-8'). Somente um sinal apresentou padrão de deslocamento químico de carbono olefínico em δ_c 138,0 (C-7), compatível com sistemas α - β conjugados à carbonila, sendo o C-7, um carbono β conjugado à carbonila, dotado portanto de uma acentuada desproteção.

Corroborando com a caracterização do anel aromático 1',3',4' – trissubstituído foram observados um sinal em δ_c 110,6 (C-2'), 132,7 (C-1') e dois sinais referentes à metoxilas aromáticas em δ_c 56,4 (3'-OCH₃) e 56,8 (3-OCH₃). Também foram evidenciados sinais compatíveis com as porções de tiramina sugeridas para cada monômero, uma delas apresentando sinais em δ_c 130,7 (C-2'',6'') e δ_c 116,4 (C-3'',5''), além de sinais atribuídos a carbonos metilênicos em 42,5 (C-8'') e 35,6 (C-7''). E a outra porção tiramina, foi caracterizada por sinais em δ_c 130,8 (C-2'',6'') e δ_c 116,4 (C-3'',5''), além de sinais em δ_c 42,4 (C-8''), 35,5 (C-7''), atribuído aos carbonos metilênicos. Os demais dados estão dispostos na tabela 18, pág. 157.

A baixa concentração do isômero na forma *Cis* levou a um número limitado de sinais a serem detectados na análise por RMN de ^1H e principalmente em RMN de ^{13}C -APT. Isso pode ser evidenciado pelo baixo número de carbonos quaternários apresentados no espectro. A proporção observada nas integrais entre as duas substâncias, também confirmam essa proposição.

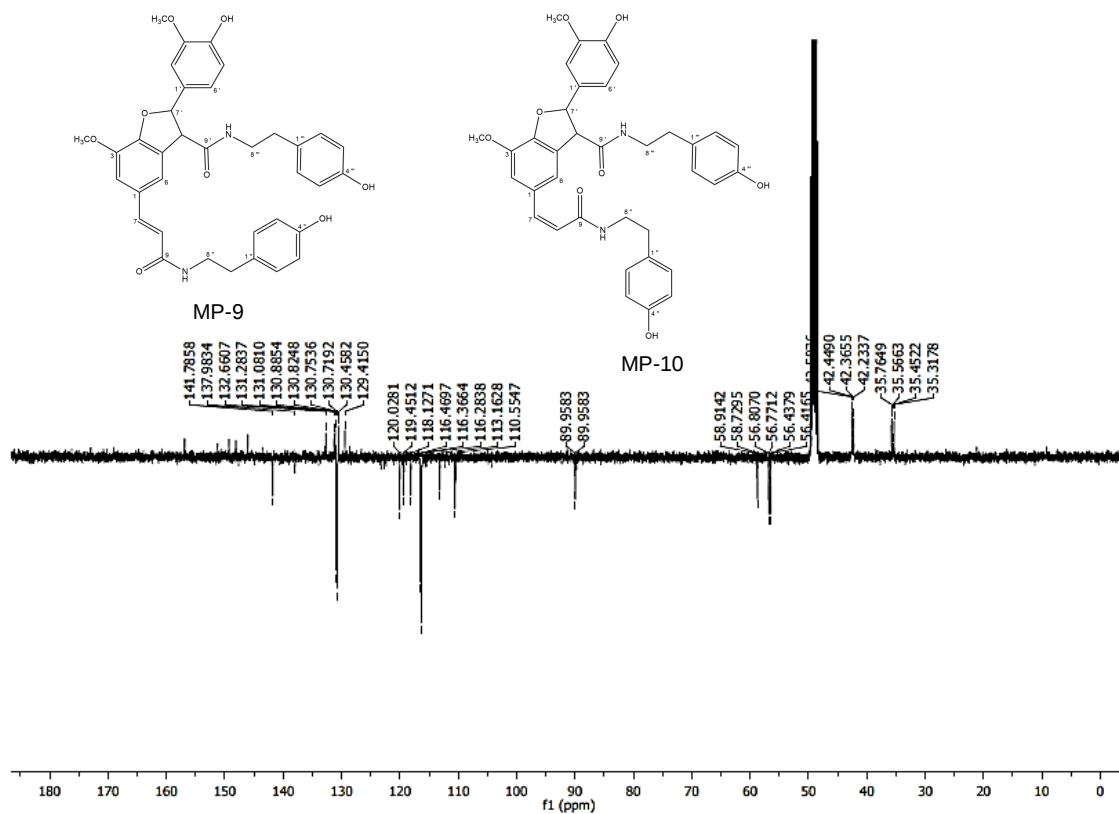
A partir dos dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz (Figura 118-120, pág. 149-150), foi possível observar

a correlação do sinal em δ_H 5,89 com δ_C 89,9, confirmando a atribuição a C-7' e a correlação do sinal em δ_H 4,15 com δ_C 58,7, confirmando a atribuição a C-8'. Esses valores para C-7' e C-8' são consequência da formação do anel 2,3-dihidrofurano tetrassubstituindo, mostrando essa nítida diferença entre H-7' e C-7', H-8' e C-8' de *N-trans*-feruloiltiramina e *N-cis*-feruloiltiramina, os quais são os monômeros formados desse dímero. Os demais dados em conjunto com o dados de espectro de correlação heteronuclear HMBC obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz, estão dispostos na tabela 17, pág. 156.

No espectro de correlação homonuclear COSY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figuras 123-124, pág. 152), foi possível observar a correlação entre os hidrogênios δ_H 5,89 e δ_H 4,15, corroborando a atribuição a H-7' e H-8', além da correlação entre δ_H 5,88 e δ_H 6,63, referente aos hidrogênios olefínicos da *N-cis*-grossamida.

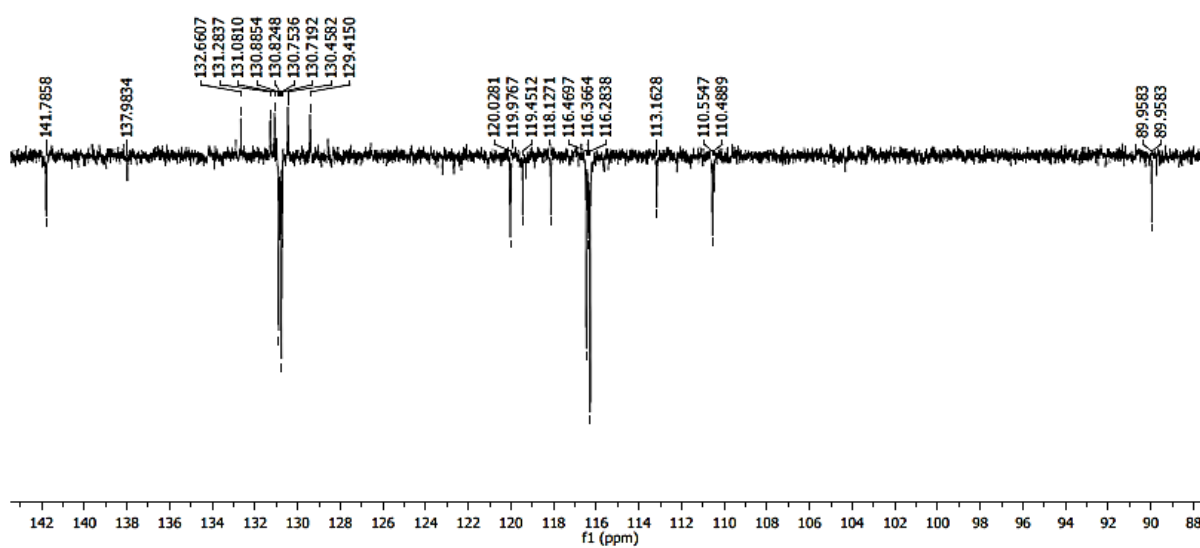
Na sua totalidade, os dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD₃OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY e NOESY obtido em CD₃OD a 400 MHz (Figura 118-125, pág. 149-153), confirmam a proposição da *N-trans*-grossamida (Figura 126, pág. 154) e da *N-cis*-grossamida (Figura 127, pág. 154). As correlações chave para confirmação das atribuições realizadas, estão dispostas na Figura 128-129, pág. 159.

Figura 115 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-10,11.



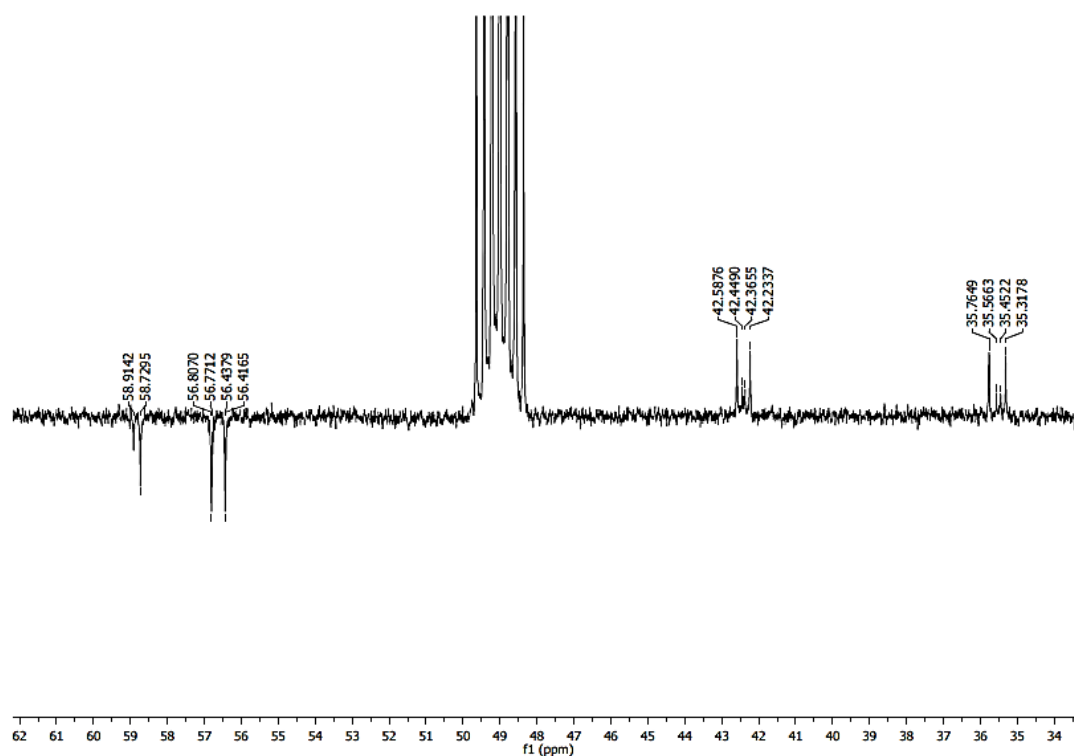
Fonte: próprio autor.

Figura 116 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-8,9 (expansão na região 33 a 60 ppm).



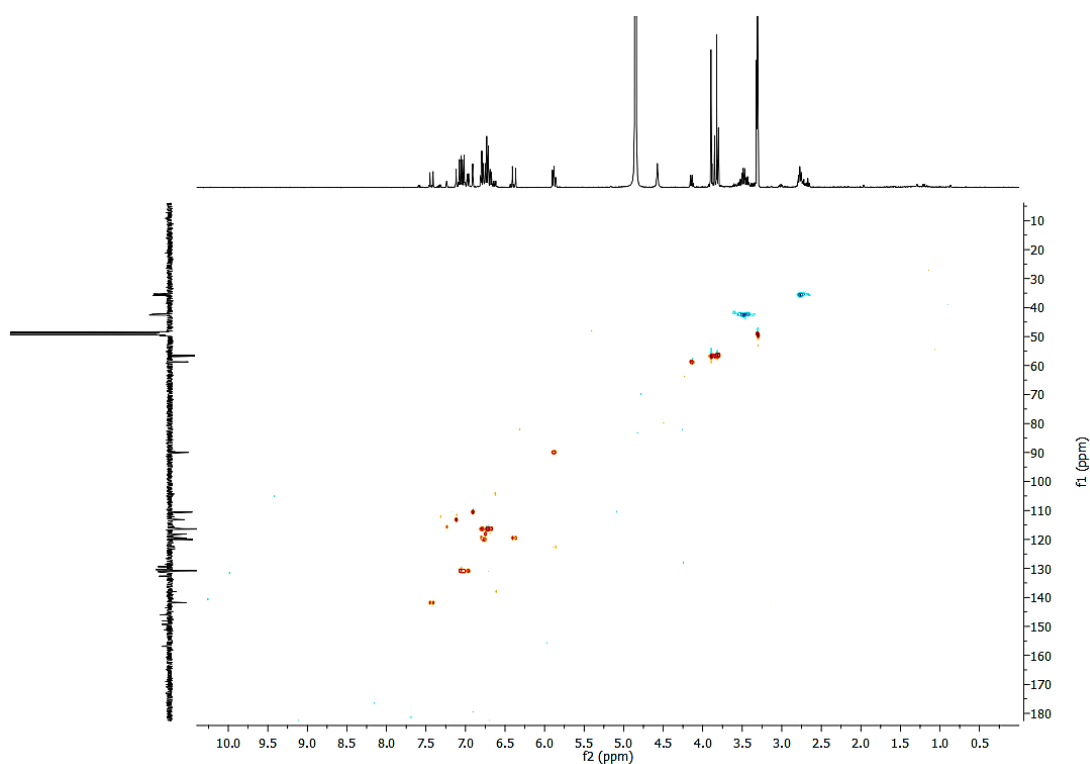
Fonte: próprio autor.

Figura 117 - Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CD_3OD) do composto MP-8,9 (expansão na região 33 a 60 ppm).



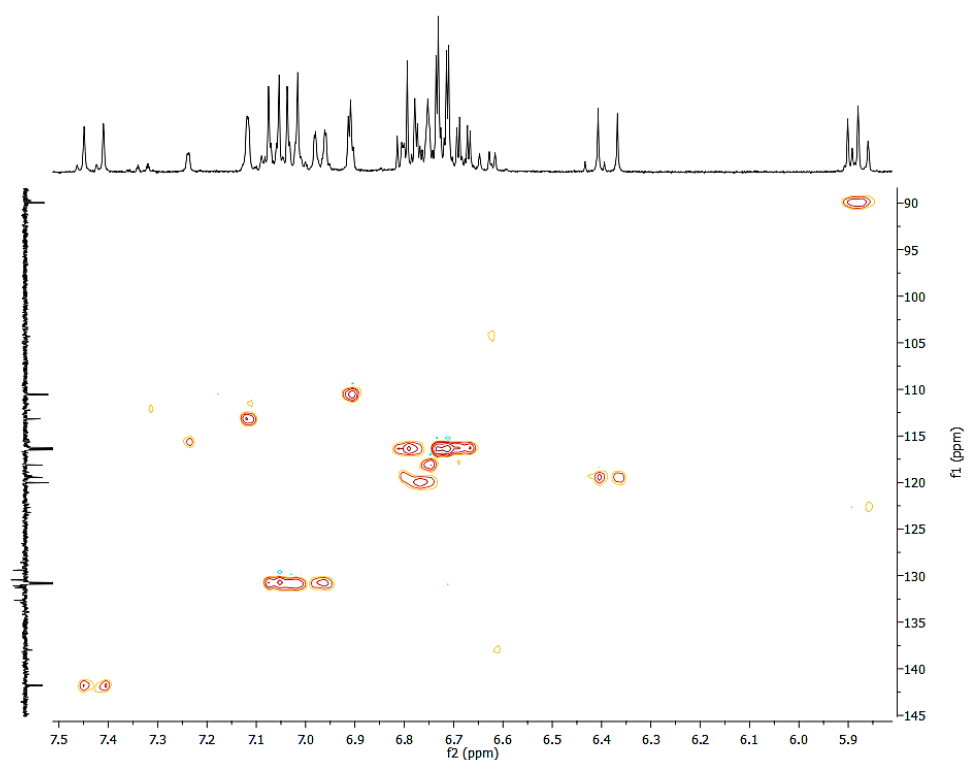
Fonte: próprio autor.

Figura 118 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.



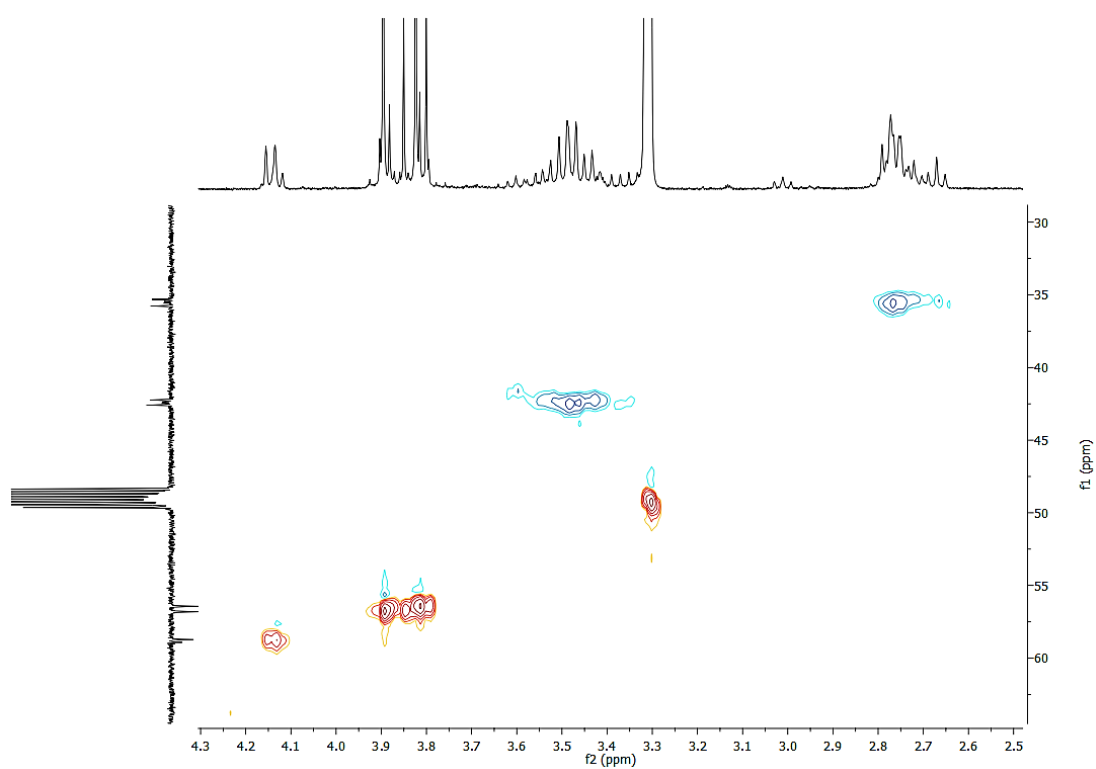
Fonte: próprio autor

Figura 119 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 2,5-7,5 e 30-140 ppm).



Fonte: próprio autor

Figura 120 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 2,5-4,3 e 30-60 ppm).



Fonte: próprio autor.

Figura 121 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.

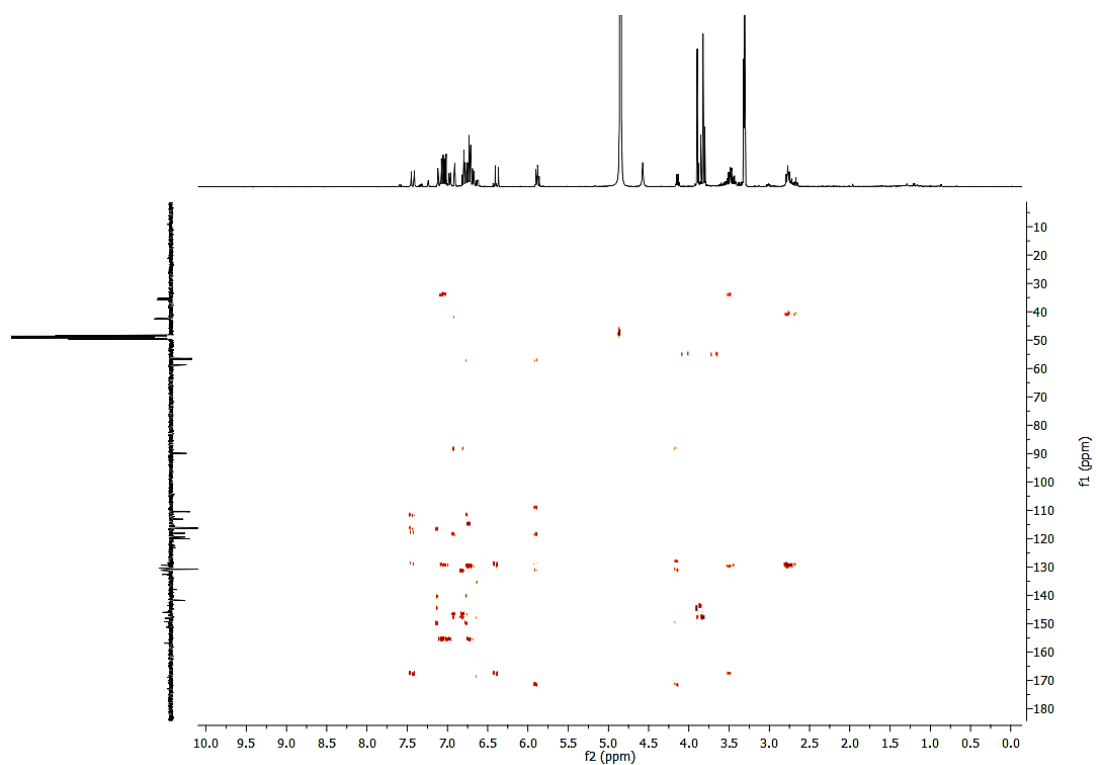
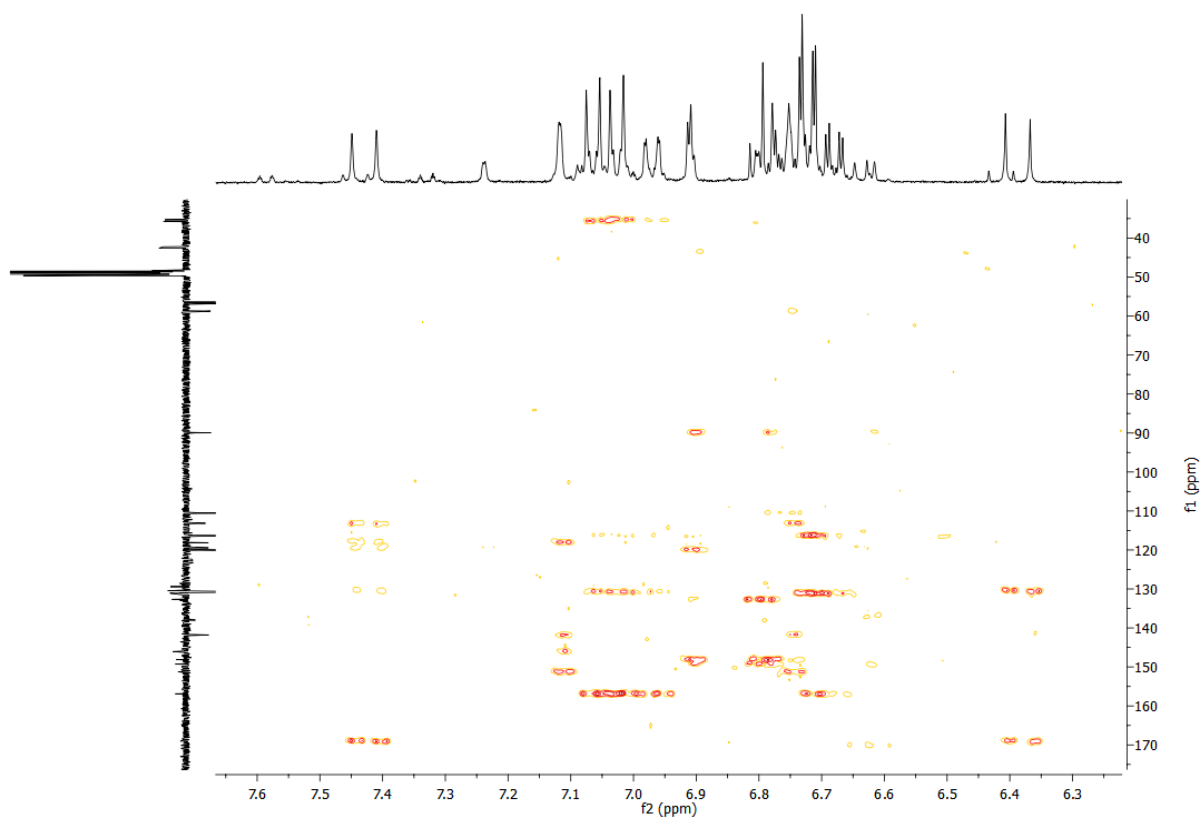
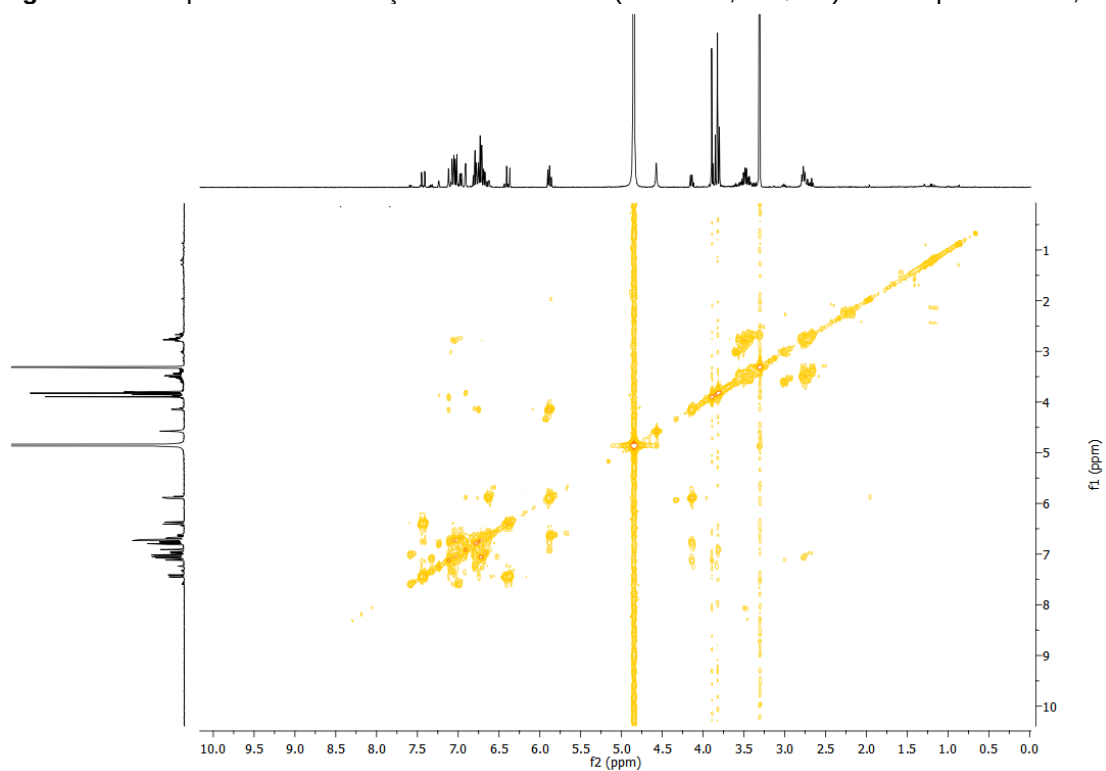


Figura 122 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (400 MHz e 100 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 6,3-7,6 e 40-170 ppm).



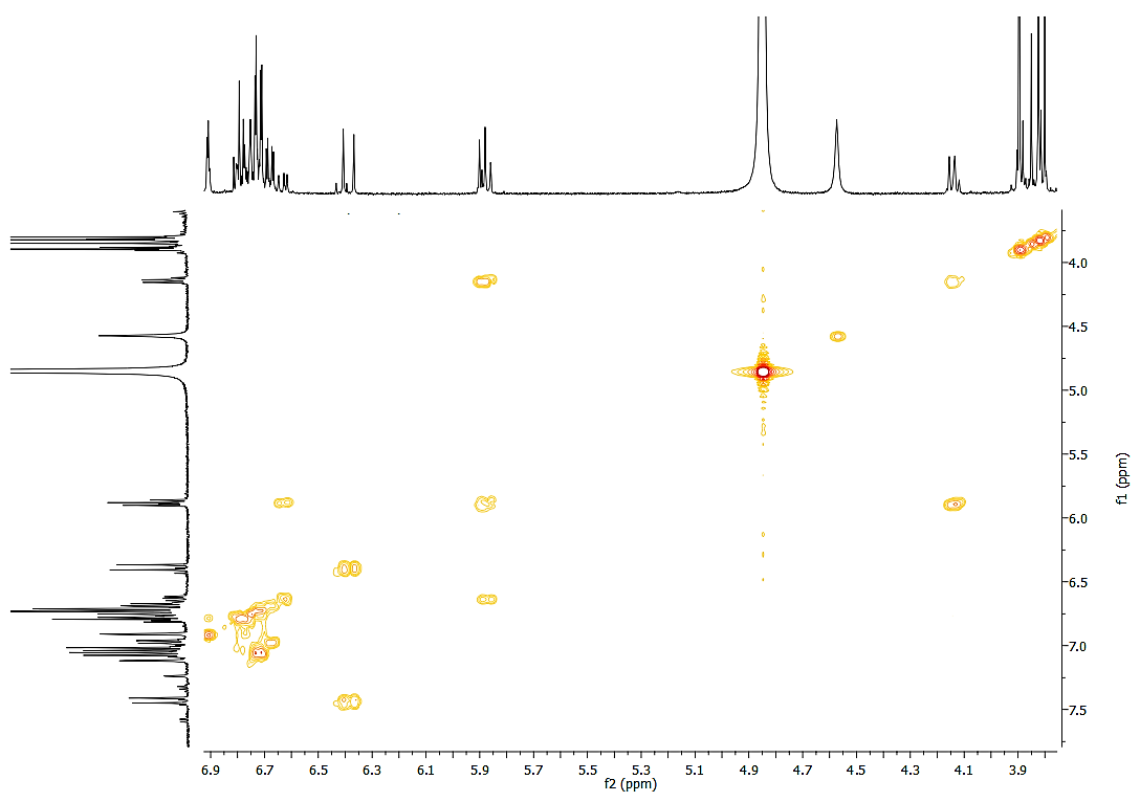
Fonte: próprio autor.

Figura 123 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.



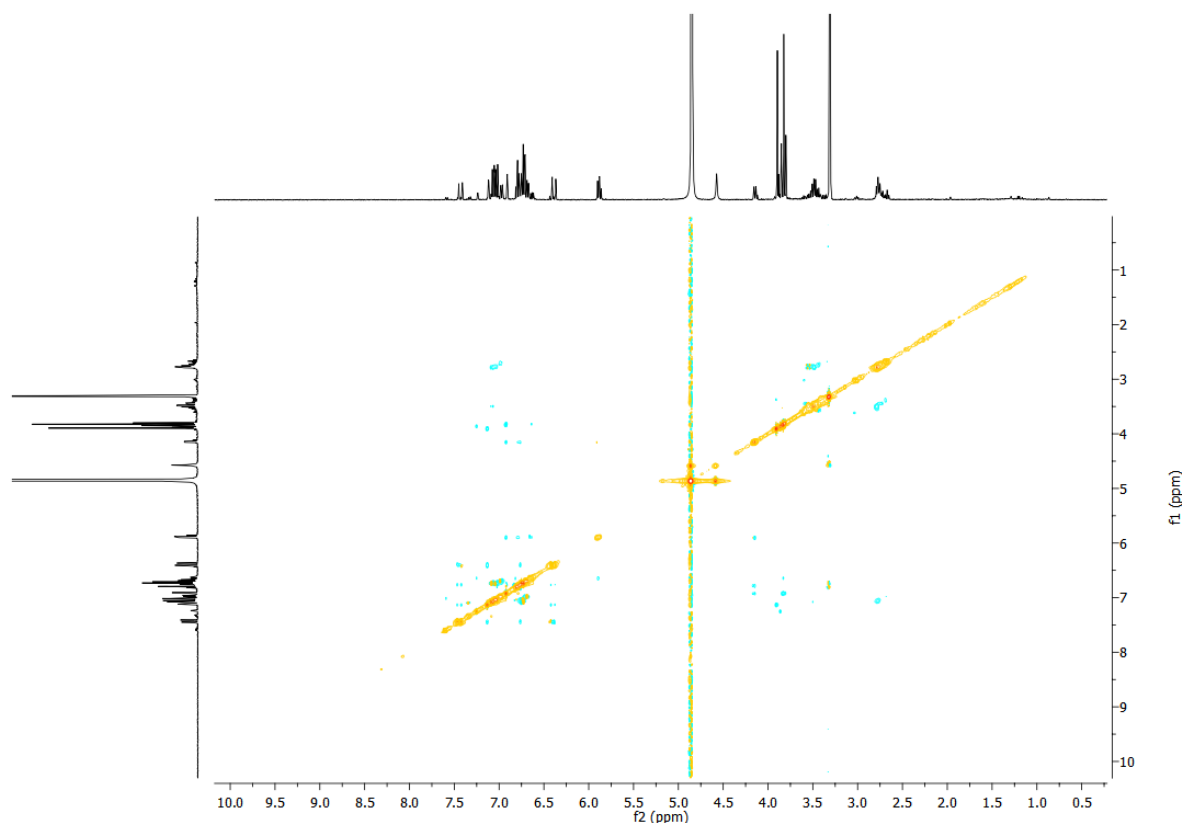
Fonte: próprio autor.

Figura 124 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10 (expansão da região 3,9-6,9 e 4,0-7,5 ppm).



Fonte: próprio autor.

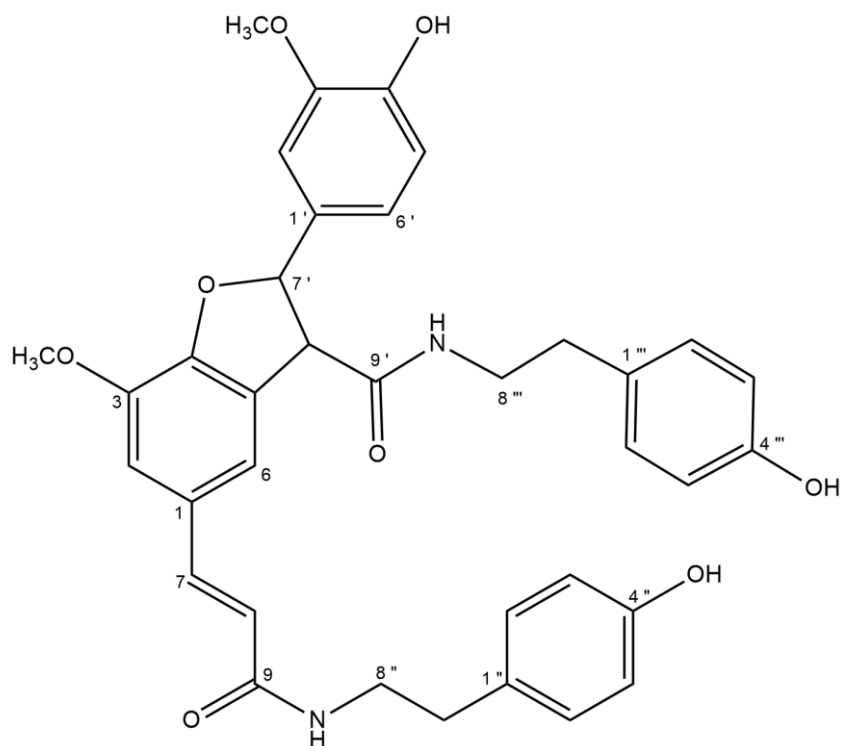
Figura 125 - Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (400 MHz, CD_3OD) do composto MP-9,10.



Apesar das limitações apresentadas, após análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C em conjunto com dados de espectros de correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em CD_3OD a 400 MHz e 100 MHz, além do espectro de correlação homonuclear COSY e NOESY obtido em CD_3OD a 400 MHz e a comparação com dados da literatura (SANTOS et al., 1996; SUN et al., 2015; CALHOUN, 2005), foi possível concluir que a FR-15 se apresentou composta por uma mistura de isômeros geométricos, sendo a substância codificada como MP-9, denominada *N-trans*-grossamida (Figura 126), e a MP-10, denominada *N-cis*-grossamida (Figura 127).

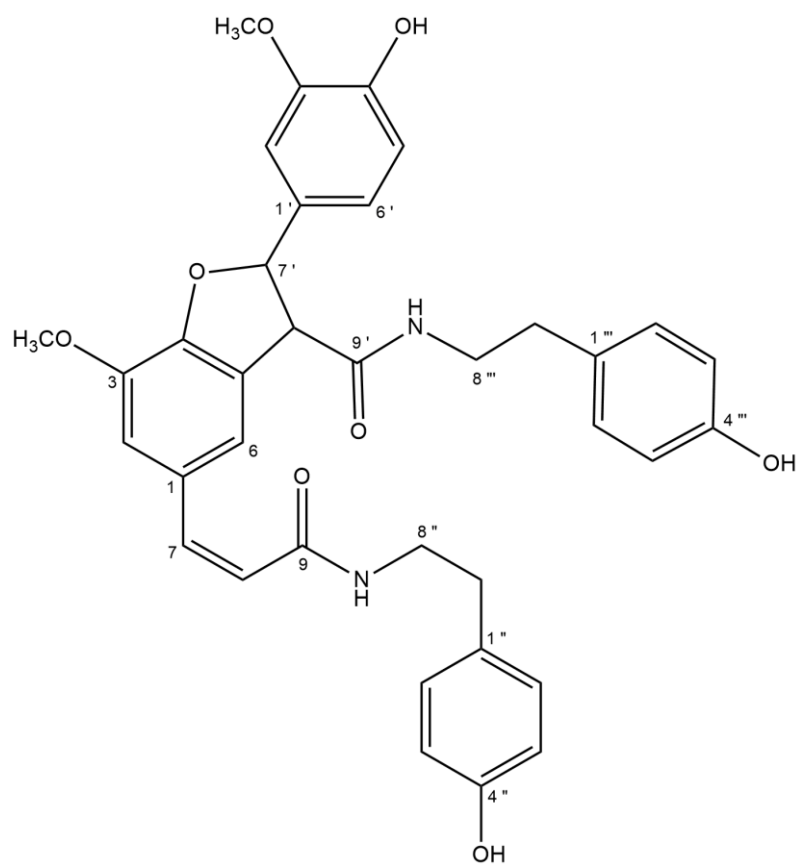
A *N-trans*-grossamida demonstrou ter a capacidade de inibir a produção de óxido nítrico (NO), o que pode ser uma estratégia importante para o tratamento de doenças inflamatórias, visto que o NO é uma molécula envolvida em processos de sinalização e desempenha um papel importante na modulação de distúrbios inflamatórios agudos e crônicos (SUN et al., 2014).

Figura 126 - Estrutura química da *N-trans*-grossamida (MP-9).



Fonte: próprio autor

Figura 127 - Estrutura química da *N-cis*-grossamida (MP-10).



Fonte: próprio autor.

Tabela 16 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-9^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da *N-trans-grossamida*^b.

posição	MP-9		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1		130,5, C ^c		148,2, C
2	6,75, br. d (1,4)	118,1, CH	6,90, d (1,5)	118,2, CH
3		146,0, C ^c		131,1, C
4		151,0, C ^c		156,9, C
5				132,8, C
6	7,12, br. d (0,9)	113,2, CH	7,11, d (1,4)	120,0, CH
7	7,43, d (15,7)	141,8, CH	7,42, d (15,7)	141,7, CH
8	6,39, d (15,7)	119,4, CH	6,37, d (15,7)	110,7, CH
9		168,9, C ^c		
1'		132,7, C		149,3, C
2'	6,91, d (2,0)	110,6, CH	6,78, s	119,5, CH
3'		148,0, C		131,3, C
4'		148,1, C		151,2, C
5'	6,79, s	116,5, CH	7,02, d (8,7)	116,5, CH
6'	6,80, m	120, CH	7,06, d (8,7)	113,4, CH
7'	5,89, d (8,4)	89,9, CH	4,13, d (8,3)	58,8, CH
8'	4,15, d (8,2)	58,7, CH	5,87, d (8,3)	90,0, CH
9'		173,0, C ^c		
3-OCH ₃	3,82, s	56,8, CH ₃	3,81, s	56,9, CH ₃
3'-OCH ₃	3,90, s	56,4, CH ₃	3,88, s	56,5, CH ₃
Tiraminas				
1'', 1'''		131,1, 131,3, C		130,9, C
2'', 2'''	7,03, d (8,5); 7,06, d (8,6)	130,8, 130,9, CH	6,74, dd (8,5; 1,0)	130,7, CH
3'', 3'''	6,72, d (8,5); 6,72, d (8,5)	116,3, CH	6,71, dd (8,5; 1,0)	116,3, CH
4'', 4'''		156,9, C ^c		156,9, C
5'', 5'''	6,72, d (8,5); 6,72, d (8,5)	116,3, CH	6,71, dd (8,5; 1,0)	116,3, CH
6'', 6'''	7,03, d (8,5); 7,06, d (8,6)	130,8, 130,9, CH	6,74, dd (8,5; 1,0)	130,7, CH
7'', 7'''	2,7, m	35,3, 35,8, CH ₂	2,8, m	35,3, 35,8, CH ₂
8'', 8'''	3,5, m	42,6, 42,2, CH ₂	3,5, m	42,6, 42,2, CH ₂

^aDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.

^bDados de RMN ^1H obtidos em 250 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 62,5 MHz.

^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

^dAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa, de SANTOS et al. (1996) e de KING e CALHOUN (2005).

Tabela 17 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-9^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1		130,5, C		
2	6,75, br. d (1,4)	118,1, CH		C-4
3		146,0, C		
4		151,0, C		
5				
6	7,12, br. d (0,9)	113,2, CH	C-3	C-2, C-4, C-7
7	7,43, d (15,7)	141,8, CH	C-1	C-2, C-6, C-9
8	6,39, d (15,7)	119,4, CH	C-9	C-1
9		168,9, C		
1'		132,7, C		
2'	6,91, d (2.0)	110,6, CH		C-4', C-6', C-7'
3'		148,0, C		
4'		148,1, C		
5'	6,79, s	116,5, CH		C-1', C-3'
6'	6,80, m	120,0 CH		
7'	5,89, d (8.4)	89,9, CH	C-1', C-8'	C-9'
8'	4,15, d (8.2)	58,7, CH	C-9'	
9'		173,0, C		
3-OCH ₃	3,82, s	56,8, CH ₃	C-3	
3'-OCH ₃	3,90, s	56,4, CH ₃	C-3'	
Tiraminas				
1'', 1'''		131,1, 131,3, C		
2'', 2'''	7,03, d (8,5); 7,06, d (8.6)	130,8, 130,9, CH	C-3 (C'', ''')	C-1, 7 (C'', ''')
3'', 3'''	6,72, d (8,5); 6,72, d (8,5)	116,3, CH	C-2, 4 (C'', ''')	
4'', 4'''		156,9, C		
5'', 5'''	6,72, d (8,5); 6,72, d (8,5)	116,3, CH	C-6, 4 (C'', ''')	
6'', 6'''	7,03, d (8,5); 7,06, d (8.6)	130,8, 130,9, CH	C-5 (C'', ''')	C-1, 7 (C'', ''')
7'', 7'''	2,7, m	35,3, 35,8, CH ₂		
8'', 8'''	3,5, m	42,6, 42,2, CH ₂		

^aDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.
^bDados de RMN ^1H obtidos em 250 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 62.5 MHz.

Tabela 18 - Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto MP-10^a comparado aos dados de RMN de ^1H e ^{13}C da N-trans-grossamida^b.

posição	MP-10		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	δ_{H}	δ_{C} , tipo
1				148,2, C
2		115,2, CH ^c	6,90, d (1,5)	118,2, CH
3				131,1, C
4				156,9, C
5		129,4, C		132,8, C
6			7,11, d (1,4)	120,0, CH
7	6,63, d (12,6)	138,0, CH	7,42, d (15,7)	141,7, CH
8	5,88, d (12,8)		6,37, d (15,7)	110,7, CH
9		169,0, C		
1'		132,7, C		149,3, C
2'		110,6, CH	6,78, s	119,5, CH
3'				131,3, C
4'				151,2, C
5'			7,02, d (8,7)	116,5, CH
6'			7,06, d (8,7)	113,4, CH
7'	5,89, d (8,4)	90,0, CH	4,13, d (8,3)	58,8, CH
8'	4,15, d (8,2)	58,9, CH	5,87, d (8,3)	90,0, CH
3-OCH ₃	3,80, s	56,8, CH ₃	3,81, s	56,9, CH ₃
3'-OCH ₃	3,85, s	56,4, CH ₃	3,88, s	56,5, CH ₃
Tiraminas				
1'', 1'''				130,9, C
2'', 2'''	6,97, d (8,5); 6,97, d (8,6)	130,7, 130,8, CH	6,74, dd (8,5; 1,0)	130,7, CH
3'', 3'''	6,68, d (8,6); 6,67, d (8,6)	116,4, CH	6,71, dd (8,5; 1,0)	116,3, CH
4'', 4'''		156,9, C ^c		156,9, C
5'', 5'''	6,68, d (8,6); 6,67, d (8,6)	116,4, CH	6,71, dd (8,5; 1,0)	116,3, CH
6'', 6'''	6,97, d (8,5); 6,97, d (8,6)	130,7, 130,8, CH	6,74, dd (8,5; 1,0)	130,7, CH
7'', 7'''	2,7, m	35,3, 35,8, CH ₂	2,8, m	35,3, 35,8, CH ₂
8'', 8'''	3,5, m	42,6, 42,2, CH ₂	3,5, m	42,6, 42,2, CH ₂

^aDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.

^bDados de RMN ^1H obtidos em 250 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 62,5 MHz.

^cAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HMBC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

^dAtribuição por espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C HSQC (100 e 400 MHz, CD₃OD).

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados da pesquisa, de SANTOS et al. (1996) e de KING e CALHOUN (2005).

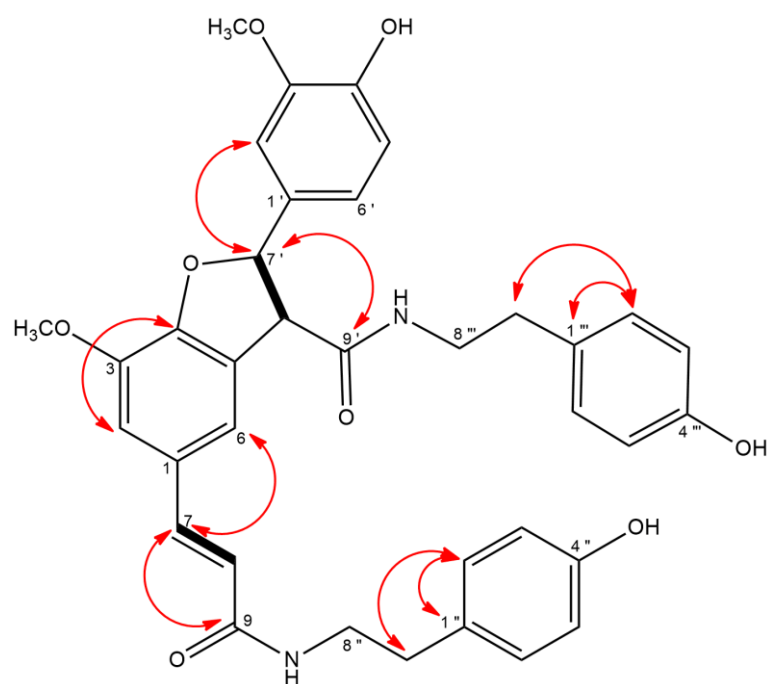
Tabela 19 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto de MP-10^a e correlações obtidas em HSQC e HMBC^b.

posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C} , tipo	(2J)	(3J)
1				
2		115,2, CH ^c		
3		145,3, C		
4				
5		129,4, C		
6				
7	6,63, d (12,6)	138,0, CH	C-2	
8	5,88, d (12,8)			
9		169,0, C		
1'		132,7, C		
2'		110,6, CH		
3'		149,2, C		
4'				
5'				
6'				
7'	5,89, d (8,4)	90,0, CH		
8'	4,15, d (8,2)	58,9, CH		
3-OCH ₃	3,80, s	56,8, CH ₃		
3'-OCH ₃	3,85, s	56,4, CH ₃		
Tiraminas				
1'', 1'''				
2'', 2'''	6,97, d (8,5); 6,97, d (8,6)	130,7, 130,8, CH	C-3 (C'', ''')	C-7 (C'', ''')
3'', 3'''	6,68, d (8,6); 6,67, d (8,6)	116,4, CH	C-2, 4 (C'', ''')	C-1 (C'', ''')
4'', 4'''		156,9, C		
5'', 5'''	6,68, d (8,6); 6,67, d (8,6)	116,4, CH	C-4, 6 (C'', ''')	C-1 (C'', ''')
6'', 6'''	6,97, d (8,5); 6,97, d (8,6)	130,7, 130,8, CH	C-5 (C'', ''')	C-7 (C'', ''')
7'', 7'''	2,7, m	35,3, 35,8, CH ₂	C-8 (C'', ''')	C-1 (C'', ''')
8'', 8'''	3,5, m	42,6, 42,2, CH ₂	C-7 (C'', ''')	C-2, 6 (C'', ''')

^aDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 125 MHz.

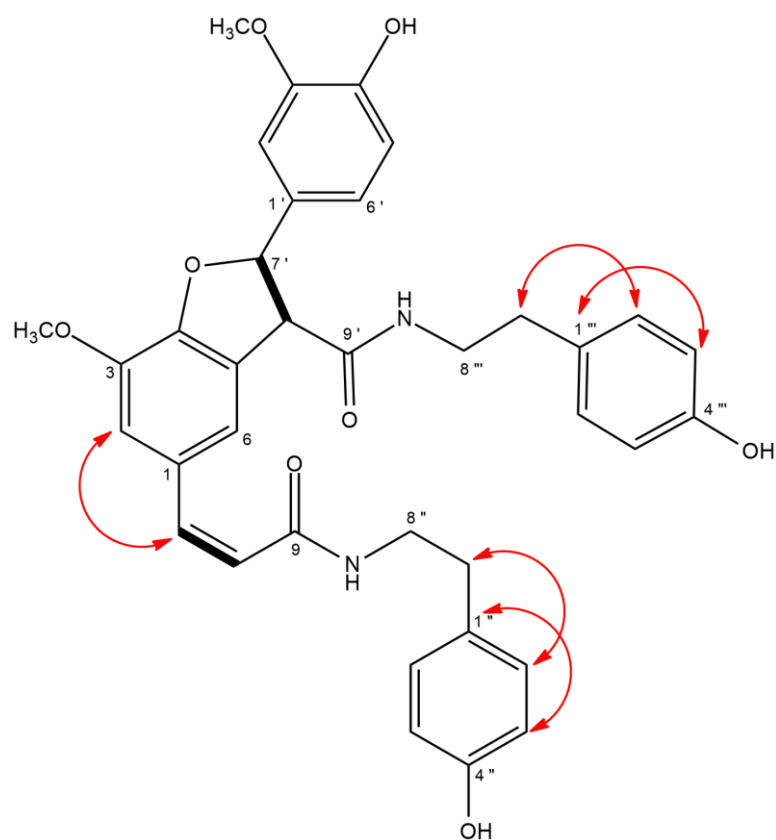
^bDados de RMN ^1H obtidos em 250 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em CD₃OD em 62,5 MHz.

Figura 128 - Correlações chave HMBC (seta vermelha) e COSY (linhas grossas).



Fonte: próprio autor.

Figura 129 - Correlações chave HBMC (seta vermelha), COSY (linhas grossas).



CONCLUSÕES



6 CONCLUSÕES

O presente estudo descreveu a investigação fitoquímica de *Metternichia princeps*, por meio da qual utilizando-se de técnicas analíticas clássicas e modernas, foi possível realizar o isolamento de 10 substâncias, sendo quatro delas apresentadas em misturas binárias de isômeros geométricos ou constitucionais de posição, 8 delas classificadas como amidas fenilpropanoídicas e 2 lignanamidas, compondo um total de 10 amidas fenólicas, encontradas nas raízes dessa espécie.

Através das técnicas de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais (HSQC, HMBC, COSY, NOESY), além da técnica de espectrometria de massas de alta resolução, foi possível identificar a *N-trans*-sinapoilactapamina, *N-trans*-feruloilactapamina, *N-trans*-feruloiltiramina, *N-cis*-feruloiltiramina, *N-trans*-p-coumaroiltiramina, uma mistura dos isômeros constitucionais de posição da *N-trans*-sinapoiltiramina e *N-trans*-feruloil-3-metoxitiramina, além de uma mistura de isômeros geométricos da *N-trans*-grossamida e *N-cis*-grossamida.

Essas 10 substâncias consistem nas primeiras a serem identificadas na espécie endêmica da mata atlântica, *Metternichia princeps*, assim como, no seu gênero monotípico *Metternichia*, consistindo no primeiro relato de investigação fitoquímica dessa espécie e gênero, após o levantamento nos principais bancos de dados.

Diante de tudo isso, o presente trabalho contribuiu para o conhecimento do gênero *Metternichia*, por meio da primeira investigação fitoquímica de *Metternichia princeps*, e do isolamento de 10 produtos naturais classificados como amidas fenólicas, sendo 8 amidas fenilpropanoídicas e 2 lignanamidas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. S. et al. Tri-and diterpenoids from *Stillingia loranthea* as inhibitors of Zika virus replication. **Journal of natural products**, v. 82, n. 10, p. 2721-2730, 2019.
- ALLERGAN. Bula do medicamento Atropina 0,5% e 1%. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/?nomeProduto=ATROPINA>>. Acesso em: 8 jul. 2021.
- ALVES, P. E. et al. Development and Characterization of Phytocosmetic Formulations with *Saccharum officinarum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, p. 406-415, 2020.
- ARAÚJO, P. A M.; SONKIN, L. C. Estrutura de *Metternichia principis* mikan (solanaceae). **Rodriguésia**, v. 36, n. 58, p. 85-88, 1984.
- ARIYA, S. S.; JOSEPH, B.; CHRISTY, J. Exploring the antineoplastic effect of phytochemicals from *Ipomea sepiaria* against matrix metallopeptidases: a pharmacoinformatics approach. **International Journal of Computational Biology and Drug Design**, v. 13, n. 3, p. 255-271, 2020.
- BAI, Z. et al. Inhibition of invasion by *N-trans*-feruloyloctopamine via AKT, p38MAPK and EMT related signals in hepatocellular carcinoma cells. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 27, n. 4, p. 989-993, 2017.
- BEGUM, A. S.; GOYAL, M. Phcog. Mag.: Review Article Research and Medicinal Potential of the genus *Cestrum* (Solanaceae)—A Review. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 2, 2007.
- CANELLA, C. F. C.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Sessea brasiliensis* Toledo em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 333-340, 1968.
- CARNEIRO, F. M. et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.
- CASANOVA, L. M.; COSTA, S. S. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 575-595, 2017.
- CHAMY, M. C.; PIOVANO, M.; GARBARINO, J. A. Diterpenoids from *Nolana elegans*. **Boletín de la Sociedad Chilena de Química**, v. 47, n. 4, p. 367-370, 2002.
- CHASE, M. W. et al. Unexpected diversity of Australian tobacco species (*Nicotiana* section *Suaveolentes*, Solanaceae). **Curtis's Botanical Magazine**, v. 35, n. 3, p. 212-227, 2018.
- CHOI, H. S. et al. Phenolics, acyl galactopyranosyl glycerol, and lignan amides from *Tetragonia tetragonioides* (Pall.) Kuntze. **Food science and biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 1275-1281, 2016.

CHOWAŃSKI, S. et al. A review of bioinsecticidal activity of Solanaceae alkaloids. **Toxins**, v. 8, n. 3, p. 60, 2016.

CHRISTENHUSZ, M. J. M. et al. **Plants of the World: an Illustrated Encyclopedia of Vascular Plants**. Kew–Chicago: Royal Botanic Gardens. 792 p. 2017.

CIFUENTES, F. et al. Fast isolation of flavonoids from the endemic species *nolana ramosissima* IM Johnst and its endothelium-independent relaxation effect in Rat Aorta. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 520, 2020.

DA CRUZ, I. L. S. et al. Alcaloide esteroidal, substância de *Solanum paludosum*, com atividade larvica sobre *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde**, v. 10, n. 1, p. 15-19, 2019.

DAVID, S. et al. Mining Plants for Bacterial Quorum Sensing Modulators. **ACS chemical biology**, v. 13, n. 1, p. 247-252, 2018.

DE MELO, D. B. et al. Intoxicação por plantas no Brasil: uma abordagem cienciométrica. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 40919-40937, 2021.

Disponível em:

<<https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/168148?nomeProduto=BUTILBROMETO%20DE%20ESCOPOLAMINA>>. Acesso em: 7 jul. 2021.

DUMONT, D. et al. Multi-Targeted Metabolic Profiling of Carotenoids, Phenolic Compounds and Primary Metabolites in Goji (*Lycium* spp.) Berry and Tomato (*Solanum lycopersicum*) Reveals Inter and Intra Genus Biomarkers. **Metabolites**, v. 10, n. 10, p. 422, 2020.

DUPIN, J. et al. Bayesian estimation of the global biogeographical history of the Solanaceae. **Journal of Biogeography**, v. 44, n. 4, p. 887-899, 2016.

ERAZO, S. et al. 3- α -(2-O- β -D-glucopiranosil)-D-glucofuranoside della quercetina: nuovo glucoside flavonico della *Vestia lycioides*. **Ann. Ist. Super. Sanità**, v. 7, n. 1, p. 23-30, 1971.

FAINI, F. et al. 1-Acetyl-3-carboxy- β -carboline, a new acid and other constituents of *Vestia lycioides*. **Planta Medica**, v. 38, n. 02, p. 128-132, 1980.

FATUR, K.; KREFT, S. Nixing the nightshades: Traditional knowledge of intoxicating members of the Solanaceae among hallucinogenic plant and mushroom users in Slovenia. **Plos one**, v. 16, n. 2, p. e0247688, 2021.

GHATAK, A. et al. Proteomics survey of Solanaceae family: current status and challenges ahead. **Journal of proteomics**, v. 169, p. 41-57, 2017.

GU, X. et al. Bioactive steroidal alkaloids from the fruits of *Solanum nigrum*. **Phytochemistry**, v. 147, p. 125-131, 2018.

HE, H.; LI, Y.; HE, L.-F. Aluminum toxicity and tolerance in Solanaceae plants. **South African journal of botany**, v. 123, p. 23-29, 2019.

HUANG, H. et al. A New Lignanamide Derivative and Bioactive Constituents of *Lycium chinense*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 55, n. 6, p. 1002-1006, 2019.

HUANG, M. et al. Withanolides from the genus *Physalis*: A review on their phytochemical and pharmacological aspects. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 5, p. 649-669, 2020.

JASSBI, A. R. et al. Ecological roles and biological activities of specialized metabolites from the genus *Nicotiana*. **Chemical reviews**, v. 117, n. 19, p. 12227-12280, 2017

KAUNDA, J. S.; ZHANG, Y. Chemical constituents from the fruits of *Solanum incanum* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 90, p. 104031, 2020.

KAUNDA, J. S.; ZHANG, Y. The Genus *Solanum*: An Ethnopharmacological, Phytochemical and Biological Properties Review. **Natural products and bioprospecting**, v. 9, n. 2, p. 77-137, 2019.

KING, R. R.; CALHOUN, L. A. Characterization of cross-linked hydroxycinnamic acid amides isolated from potato common scab lesions. **Phytochemistry**, v. 66, n. 20, p. 2468-2473, 2005.

LEONARD, W. et al. Lignanamides: sources, biosynthesis and potential health benefits—a minireview. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 61, n. 8, p. 1404-1414, 2020.

LI, W. J. et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of *Liriope muscari*. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 1797-1808, 2012.

LIMA, F. C. C. et al. A utilização de óleos essenciais de *Lavandula angustifolia*, *Pelargonium graveolens* e *Citrus bergamia* no combate à ansiedade. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 41031-41046, 2021.

LISCOVSKY, I. J.; COSA, M. T.; BARBOZA, G. E. Flower vascularisation in Solanaceae: a particular pattern in *Metternichia* JG Mikan. **Adansonia**, v. 31, n. 2, p. 413-425, 2009.

LÓPEZ, A. G. E. et al. *Cannabis sativa* L., una planta singular. **Revista mexicana de ciencias farmacéuticas**, v. 45, n. 4, p. 1-6, 2014.

LÓPEZ, M. L. et al. Induction of cell death on *Plasmodium falciparum* asexual blood stages by *Solanum nudum* steroids. **Parasitology international**, v. 59, n. 2, p. 217-225, 2010.

MAURYA, V. K. et al. Dark classics in chemical neuroscience: an evidence-based systematic review of belladonna. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 11, n. 23, p. 3937-3954, 2020.

MORRIS, W. L.; TAYLOR, M. A. The Solanaceous Vegetable Crops: Potato, Tomato, Pepper, and Eggplant. **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**, v. 3, n. 2, 2017.

- NESTERENKO, V.; PUTT, K. S.; HERGENROTHER, P. J. Identification from a combinatorial library of a small molecule that selectively induces apoptosis in cancer cells. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 48, p. 14672-14673, 2003.
- PALCHETTI, M. V.; CANTERO, J. J.; BARBOZA, G. E.; Solanaceae diversity in South America and its distribution in Argentina. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 2, 2020.
- PEDERSEN, H. A. et al. Synthesis and quantitation of six phenolic amides in *Amaranthus* spp. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 10, p. 6306-6311, 2010
- PICOLLI, A. L. et al. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de *Salvia officinalis* L.(Lamiaceae). **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 17, n. 4 supl I, p. 774-781, 2015.
- PRATI-DONADUZZI. Bula do medicamento Butilbrometo de escopolamina.
- QIAN, D. et al. Systematic review of chemical constituents in the genus *Lycium* (Solanaceae). **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 911, 2017.
- RADWAN, M. M. et al. Cytotoxic flavone glycosides from *Solanum elaeagnifolium*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 3, p. 1326-1330, 2015.
- SANTOS, L. P. et al. Grossamide and N-trans-caffeoyltyramine from *Annona crassiflora* seeds. **Planta medica**, v. 62, n. 1, 1996.
- SOLANACEAE SOURCE. Solanaceae. Disponível em: <<http://solanaceaesource.org/solanaceae/solanum>>. Acesso em: 18 Mai. 2020.
- SONG, Y. H. et al. Papain-like protease (PLpro) inhibitory effects of cinnamic amides from *Tribulus terrestris* fruits. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, n. 6, p. 1021-1028, 2014.
- SUN, J. et al. Anti-inflammatory lignanamides from the roots of *Solanum melongena* L. **Fitoterapia**, v. 98, p. 110-116, 2014.
- SUN, J. et al. Phenylpropanoid amides from the roots of *Solanum melongena* L. (Solanaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 58, p. 265-269, 2015.
- TELES, M. M. R. S. et al. Alkaloids of the Lauraceae. **The Alkaloids: Chemistry and Biology**, v. 82, p. 147-304, 2019.
- URDAMPILLETA, J. D. et al. Chromosomal differentiation of Tribe Cestreae (Solanaceae) by analyses of 18-5.8-26S and 5S rDNA distribution. **Plant Systematics and Evolution**, v. 301, n. 5, p. 1325-1334, 2014.
- VALERINO-DÍAZ, A. B. et al. New polyhydroxylated steroidal saponins from *Solanum paniculatum* L. leaf alcohol tincture with antibacterial activity against oral pathogens. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 33, p. 8703-8713, 2018.

VASQUÉZ, M. R. S. Estudio fitoquímico de las hojas, flores y frutos de *Solanum multifidum* Lam. y *Lycianthes lycioides* (L.) Hassl. (Solanaceae) procedentes del Cerro Campana. **Arnaldoa**, v. 21, n. 1, p. 91-104, 2014.

WANG, L. et al. Phenolic amides with anti-Parkinson's disease (PD) effects from *Nicandra physaloides*. **Journal of Functional Foods**, v. 31, p. 229-236, 2017.

WU, Z. et al. Synthesis and structure–activity relationships and effects of phenylpropanoid amides of octopamine and dopamine on tyrosinase inhibition and antioxidation. **Food chemistry**, v. 134, n. 2, p. 1128-1131, 2012.

WU, Z. et al. Two cinnamoyloctopamine antioxidants from garlic skin attenuates oxidative stress and liver pathology in rats with non-alcoholic steatohepatitis. **Phytomedicine**, v. 22, n. 1, p. 178-182, 2014.

ZHANG, L. et al. α -Glucosidase inhibitors from Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.). **Food chemistry**, v. 126, n. 1, p. 203-206, 2011.