

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

HARLEY DA SILVA ALVES

NOVOS FLAVONÓIDES MONOTERPÊNICOS E OUTROS CONSTITUINTES
QUÍMICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DE *Piper* (PIPERACEAE)

JOÃO PESSOA – PB

2008

HARLEY DA SILVA ALVES

**NOVOS FLAVONÓIDES MONOTERPÊNICOS E OUTROS CONSTITUINTES
QUÍMICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DE *Piper* (PIPERACEAE)**

Tese Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de
Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba,
como requisito para a obtenção do título de Doutor em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de concentração
Farmacoquímica.

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

João Pessoa – PB

2008

A474n Alves, Harley da Silva.

Novos flavonóides monoterpênicos e outros constituintes químicos isolados de espécies de Piper(PIPERACEAE) / Harley da Silva Alves. -- João Pessoa : [s.n.], 2008.

325 f : il.

Orientadora: Maria Célia de Oliveira Chaves.

Tese (Doutorado) – UFPB /CCS.

1.Produutos naturais. 2.Farmoquímica. 3.Piper(PIPERACEAE).

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

HARLEY DA SILVA ALVES

**NOVOS FLAVONÓIDES MONOTERPÊNICOS E OUTROS CONSTITUINTES
QUÍMICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DE *Piper* (PIPERACEAE)**

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Maria Célia de Oliveira Chaves (Universidade Federal da Paraíba)

Orientadora

Prof^a Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques (Instituto Agronômico de Campinas-SP)

Examinadora externa

Prof^a Dra. Danielly Albuquerque da Costa (Universidade Federal de Campina Grande-PB)

Examinadora externa

Prof^a. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza (Universidade Federal da Paraíba)

Examinadora interna

Prof^a. Dra. Antonia Lúcia de Souza (Universidade Federal da Paraíba)

Examinadora interna

A meus pais e irmãos pelo incondicional e inigualável desvelo e apoio que sempre me ofereceram e são, sem dúvida alguma, coresponsáveis por mais esse êxito: Carlos, Edna, Hussein, Hoardy e Carolina.

A Fernanda Fernandes, pelo carinho e compreensão depositada, em virtude da distância que se fez necessária nesta caminhada.

Ao povo brasileiro.

AGRADECIMENTOS

A professora Maria Célia de Oliveira Chaves, não apenas pelos ensinamentos científicos e éticos que serão de total proveito em toda a minha carreira acadêmica, mas também por me mostrar uma paixão pela ciência que se vê em poucos, motivada mesmo diante das condições precárias que se é fazer pesquisa no país

A todos os meus professores da pós-graduação que passaram parte de seus saberes para a edificação de minha intelectualidade.

A meus tios e primos que me acolheram por um bom tempo e me trataram como um igual: Edmar, Salete, Bruno, Viviane e Lorena.

A todos os meus colegas e agora amigos de turma e de laboratório, que unidos se ajudam a superar o drama existencial que, creio eu, aflige boa parte das pessoas que fazem pós-graduação: Irinaldo, Jackson, Karla, Aldeídia, Enrique, Juliannely, Túlio, Rossana, Raissa, Josimar, Rita, Josean, Roosevelt, Rafael, Marcelo, George, Caroline, Danielle, Anna Cláudia, Gabriela, Roberto, Kristerson, Ticiano, Antonio, Kiriaki, Ionaldo, Xirley, Marcílio, Wermesson, Fernando e Alessandra.

Ao amigo, que mesmo longe, foi um idealizador junto comigo dessa empreitada: Fabiano.

A Stanley Juan Chávez, novo amigo e que me auxiliou em algumas reações químicas e nas “broncas” do computador (tem que formatar!!!).

Aos professores da banca de qualificação que contribuíram no engrandecimento dessa tese: Prof^o. Davi Antas e Silva, Prof^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza e Prof^a. Antonia Lúcia de Souza.

Ao Prof^o. José Maria Barbosa Filho pela disposição em contribuir com esse trabalho científico.

Ao Prof^o. Edilberto, Daniel, Renata e ao CENAUREMN pela obtenção de espectros de RMN e acolhimento na UFC.

Aos técnicos do LTF que são essenciais no andamento de nossas pesquisas: Vicente Carlos, Sócrates Golzio, Alessandro, Ataíde, Wellington e Nonato.

A Maria das Graças Zoghbi e Sr. Ferdinando pelo fornecimento do material botânico.

Ao professor Raimundo Braz Filho pelo auxílio na elucidação de alguns compostos.

Aos professores Celso Câmara e Tânia Sarmento pela disponibilidade de reagentes.

Aos professores do Departamento de Fisiologia e Patologia, pela convivência agradável, em especial a professora Regina.

A todos os meus amigos e familiares que além de me apoiarem, apesar da enorme distância que se fez entre nós nesses últimos anos, em virtude da falta de tempo que se acomete, não me fizeram esquecer que existe vida do outro lado da muralha da Universidade. Todos sempre se fazem presente em minha mente.

A todos os outros funcionários do LTF, principalmente àqueles que tentam fazer a “máquina andar”.

A todos que de alguma forma contribuíram na elaboração desse projeto científico.

Ao CNPq, pelo auxílio na forma de bolsa de pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE QUADROS.....	XX
LISTA DE ESQUEMAS.....	XXI
LISTA DE TABELAS.....	XXII
RESUMO.....	XXV
ABSTRACT.....	XXVI
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 – OBJETIVOS.....	8
2.1 – Geral.....	9
2.2 – Específicos.....	9
3 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	10
3 – Aspectos botânicos.....	11
3.1 – Ordem Piperales.....	11
3.2 – Descrição botânica da família Piperaceae Baill.....	11
3.3 – Gênero <i>Piper</i> Linnaeus.....	12
3.4 – Distribuição geográfica de espécies da família Piperaceae no mundo.....	13
3.5 – Classificação taxonômica das espécies de <i>piper</i> estudadas nesta pesquisa, segundo Cronquist (1946).....	13
3.6 – Considerações sobre <i>Piper carniconnectivum</i> C. DC.....	14
3.7 – Constituintes químicos isolados de <i>Piper glandulosissimum</i>	15
3.8 – Constituintes químicos isolados de <i>Piper montealegreanum</i>	16
4 – COMPOSTOS FENÓLICOS: CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	17
4.1 – Flavonóides.....	19
4.1 – Conceitos gerais.....	19

4.1.2 – Distribuição e localização.....	20
4.1.3 – Importância dos flavonóides para os vegetais.....	20
4.1.4 – Atividades biológicas dos flavonóides.....	21
4.1.5 – Aspectos químicos.....	22
4.1.6 – Classes dos flavonóide.....	25
4.1.7 - Possível rota biossintética para os flavonóides.....	27
4.2 – Flavonóides isolados no gênero <i>Piper</i>	32
4.2.1 – Diidrochalconas (1) e chalconas (2).....	32
4.2.2 - Flavanonas (3).....	38
4.2.3 – Flavonas (4).....	41
4.3 - Flavonoides monoterpênicos	44
4.4 – Espectrometria de massas de flavonóides.....	45
4.5 - Considerações sobre as outras classes de constituintes químicos isolados de <i>Piper montealegreanum</i> e <i>Piper carniconnectivum</i>	47
4.5.1 – Biossíntese dos derivados do ácido chiquímico e do ácido cinâmico	47
4.5.2 – Biossíntese dos ácidos graxos.....	49
4.6 – Terpenóides e esteróides.....	50
4.6.1 – Considerações gerais.....	50
4.6.2 - Aspectos biossintéticos dos esteróides.....	50
4.7 – Feofitinas.....	55
 5 – EXPERIMENTAL.....	 57
5.1 - Equipamentos, técnicas e reagentes.....	58
5.1.1 – Infravermelho.....	58
5.1.2 – Ultravioleta.....	58
5.1.3 - Ressonância Magnética Nuclear.....	58
5.1.4 – Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas	59
5.1.5 – Aparelho de ponto de fusão.....	59

5.1.6 – Métodos cromatográficos.....	60
5.1.7 – Eluentes.....	60
5.1.8 – Evaporação do solvente do material botânico e amostras.....	61
5.1.9 – Determinação do grau de pureza das amostras.....	61
5.2 - Reações de derivatização.....	61
5.2.1 - Reação de acetilação.....	61
5.3 – Isolamento dos constituintes químicos de <i>Piper montealegreanum</i> Yuncker.....	62
5.3.1 – Coleta do material botânico.....	62
5.3.2 – Obtenção dos extratos.....	62
5.3.3 – Triagem fitoquímica preliminar.....	63
5.3.4 - Fracionamento do EEB, isolamento e purificação dos constituintes químicos.....	64
5.4 - Isolamento dos constituintes químicos de <i>Piper carniconectivum</i> C.DC.....	68
5.4.1 – Coleta do material botânico.....	68
5.4.2 – Obtenção dos extratos.....	68
5.4.3 - Fracionamento do EEB, isolamento e purificação dos constituintes químicos.....	69
5.5 – Isolamento dos constituintes químicos de <i>Piper glandulosissimum</i> Yuncker.....	73
5.5.1 - Coleta e Identificação do Material Vegetal.....	73
5.5.2 - Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Piper glandulosissimum</i> Yuncker.....	73
6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
6 – CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE <i>Piper montealegreanum</i> Yuncker.....	77
6.1 – Elucidação estrutural de Pmt-1.....	78
6.1.1 – Pmt-1 acetilado.....	106
6.2 - Elucidação estrutural de Pmt-2.....	111
6.2.1 – Pmt-2 acetilado.....	138
6.3 – Elucidação estrutural de Pmt-3.....	142
6.4 – Elucidação estrutural de Pmt-4.....	156
6.5 – Identificação de Pmt-5.....	176

7 – CONSTITUENTES ISOLADOS DE <i>Piper carniconnectivum</i> C.DC.....	195
7.1 - Identificação estrutural de Pc-1.....	196
7.2 – Identificação estrutural de Pc-2.....	212
7.3 – Identificação estrutural de Pc-3.....	229
7.4 – Elucidação estrutural de Pc-4.....	246
7.5 – Identificação estrutural de Pc-5.....	265
7.6 - Identificação estrutural de Pc-6.....	278
7.7 – Identificação estrutural de Pc-7.....	287
 8 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pg-1.....	 294
 9 – CONCLUSÕES E PESPECTIVAS.....	 310
 10 – REFERÊNCIAS.....	 312

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
APT	Attached Proton Test
°C	Graus Celsius
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
C ₃ D ₆ O	Acetona deuterada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CHCl ₃	Clorofórmio
C ₅ D ₅ N	Piridina deuterada
COSY	Correlation Spectroscopy
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
<i>ddd</i>	Duplo dupleto dobrado
δ	Deslocamento químico
EtOH	Etanol
FeCl ₃	Cloreto férrico
Fr.	Fração
g	Grama
H ₂ O	Água
Hex.	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multi Bond Coherence
HMQC	Heteronuclear Multi Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
² <i>J</i>	Acoplamento a duas ligações
³ <i>J</i>	Acoplamento a três ligações
Kg	Kilograma

LTF	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
<i>m</i>	Multiplete
OCH ₃	Metoxila
Me	Metila
MeOD	Metanol deuterado
MeOH	Metanol
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
p.	Página
P.A.	Para análise
Pc	<i>Piper carniconnectivum</i>
Pg	<i>Piper glandulosissimum</i>
Pmt	<i>Piper montealegreanum</i>
Rf	Fator de retenção
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
<i>s</i>	Simpleto
<i>t</i>	Triplete
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UV	Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Compostos de acentuada atividade farmacológica isolados de plantas.....	4
Figura 2	Distribuição geográfica de espécies da família Piperaceae no mundo.....	13
Figura 3	Padrão de prenilação encontrado nos flavonóides.....	24
Figura 4	Via biossintética proposta para a formação de diidrochalcona isoprênica.....	44
Figura 5	Biossíntese do ácido chiquímico.....	47
Figura 6	Origem biossintética do ácido cinâmico.....	48
Figura 7	Rota biossintética dos ácidos graxos.....	49
Figura 8	Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pmt-1.....	87
Figura 9	Espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pmt-1.....	88
Figura 10	Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1.....	89
Figura 11	Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1.....	90
Figura 12	Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1.....	91
Figura 13	Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1.....	91
Figura 14	Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1.....	91
Figura 15	Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1.....	92
Figura 16	Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1.....	92
Figura 17	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pmt-1.....	93
Figura 18	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pmt-1.....	94
Figura 19	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pmt-1.....	94
Figura 20	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1.....	95
Figura 21	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1	96
Figura 22	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1.....	96
Figura 23	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1.....	97
Figura 24	Espectro de correlação heteronuclear HMBC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1.....	98
Figura 25	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1.....	99

Figura 26	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	99
Figura 27	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	100
Figura 28	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	100
Figura 29	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	101
Figura 30	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	101
Figura 31	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	102
Figura 32	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	102
Figura 33	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1.....	103
Figura 34	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-1.....	104
Figura 35	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-1.....	104
Figura 36	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-1.....	104
Figura 37	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-1.....	104
Figura 38	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-1.....	105
Figura 39	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C de Pmt-1 acetilado.....	109
Figura 40	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C de Pmt-1 acetilado.....	109
Figura 41	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C de Pmt-1 acetilado.....	110
Figura 42	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C de Pmt-1 acetilado.....	110
Figura 43	Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pmt-2.....	119
Figuras 44	Espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pmt-2.....	120
Figura 45	Espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	121

Figura 46	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	122
Figura 47	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	122
Figura 48	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	123
Figura 49	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	123
Figura 50	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	124
Figura 51	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	124
Figura 52	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	125
Figura 53	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	125
Figura 54	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	126
Figura 55	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	127
Figura 56	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	127
Figura 57	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	128
Figura 58	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2.....	128
Figura 59	Expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2.....	129
Figura 60	Expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2.....	130
Figura 61	Expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2.....	130
Figura 62	Espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2.....	131
Figura 63	Expansões dos espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2.....	132
Figura 64	Expansões dos espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2.....	132
Figura 65	Expansões dos espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2.....	133
Figura 66	Espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2.....	134
Figura 67	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2.....	135
Figura 68	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2.....	135
Figura 69	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$	

	de Pmt-2.....	135
Figura 70	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2.....	136
Figura 71	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2.....	137
Figura 72	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2.....	137
Figura 73	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2.....	137
Figura 74	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2 acetilado.....	141
Figura 75	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2 acetilado.....	141
Figura 76	Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3.....	146
Figura 77	Expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3.....	147
Figura 78	Expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3.....	147
Figura 79	Expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3.....	148
Figura 80	Expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3.....	148
Figura 81	Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pmt-3.....	149
Figura 82	Expansões do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pmt-3.....	150
Figura 83	Expansões do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3.....	150
Figura 84	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	151
Figura 85	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	152
Figura 86	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	152
Figura 87	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	152
Figura 88	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	153

Figura 89	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	153
Figura 90	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	153
Figura 91	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	154
Figura 92	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	154
Figura 93	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	154
Figura 94	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	155
Figura 95	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	155
Figura 96	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3.....	155
Figura 97	Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pmt-4.....	162
Figura 98	Espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	163
Figura 99	Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	164
Figura 100	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	165
Figura 101	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	165
Figura 102	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	166
Figura 103	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	166
Figura 104	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	167
Figura 105	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	168
Figura 106	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-4.....	168
Figura 107	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	169
Figura 108	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	169

Figura 109	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	170
Figura 110	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	170
Figura 111	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	170
Figura 112	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	171
Figura 113	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	171
Figura 114	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	172
Figura 115	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	172
Figura 116	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	173
Figura 117	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4.....	173
Figura 118	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4.....	174
Figura 119	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4.....	174
Figura 120	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4.....	174
Figura 121	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4.....	175
Figura 122	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4.....	175
Figura 123	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4.....	175
Figura 124	Comparação dos dados de RMN ^{13}C de Pmt-5 com feofitina a.....	179
Figura 125	Interações NOE da feofitina a.....	179

Figura 126	Espectro no Infravermelho ($\lambda_{\max}$, KBr, cm^{-1}) de Pmt-5.....	183
Figura 127	Espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pmt-5.....	184
Figura 128	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pmt-5.....	185
Figura 129	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pmt-5.....	185
Figura 130	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pmt-5.....	186
Figura 131	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pmt-5.....	187
Figura 132	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pmt-5.....	188
Figura 133	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pmt-5.....	188
Figura 134	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5.....	189
Figura 135	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5.....	190
Figura 136	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5.....	190
Figura 137	Espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5.....	191
Figura 138	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5.....	192
Figura 139	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5.....	192
Figura 140	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5.....	193
Figura 141	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5.....	193
Figura 142	Expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5.....	193
Figura 143	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5.....	194
Figura 144	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5.....	194
Figura 145	Expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5.....	194

Figura 146	Interações NOE de PC-1.....	199
Figura 147	Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-1.....	202
Figura 148	Espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pc-1.....	203
Figura 149	Espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-1.....	204
Figura 150	Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-1.....	205
Figura 151	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-1.....	206
Figura 152	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-1.....	207
Figura 153	Espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-1.....	208
Figura 154	Expansão do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-1.....	209
Figura 155	Espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-1.....	210
Figura 156	Espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-1.....	211
Figura 157	Interações NOE de Pc-2.....	215
Figura 158	Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-2.....	218
Figura 159	Espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pc-2.....	219
Figura 160	Espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-2.....	220
Figura 161	Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-2.....	221
Figura 162	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-2.....	222
Figura 163	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2.....	223
Figura 164	Expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2.....	224
Figura 165	Espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2.....	225
Figura 166	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2.....	226
Figura 167	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2.....	226

Figura 168	Expansão do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-2.....	227
Figura 169	Espectros de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-2.....	228
Figura 170	Espectros de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-2.....	228
Figura 171	Interações NOE de Pc-3.....	231
Figura 172	Espectro no IV (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-3.....	235
Figura 173	Espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pc-3.....	236
Figura 174	Espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Pc-3.....	237
Figura 175	Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Pc-3.....	238
Figura 176	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Pc-3.....	239
Figura 177	Espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-3.....	240
Figura 178	Expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-3.....	241
Figura 179	Espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-3.....	242
Figura 180	Expansão do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-3.....	243
Figura 181	Expansão do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-3.....	244
Figura 182	Expansão do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-3.....	245
Figura 183	Espectro no IV (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-4.....	253
Figura 184	Espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4.....	254
Figura 185	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4.....	255
Figura 186	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4.....	255
Figura 187	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4.....	256
Figura 188	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4.....	257

Figura 189	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HSQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4.....	258
Figura 190	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HSQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4.....	258
Figura 191	Espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4.....	259
Figura 192	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4.....	260
Figura 193	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4.....	260
Figura 194	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4.....	261
Figura 195	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4.....	261
Figura 196	Expansão do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de PC-4....	262
Figura 197	Espectros de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-4.....	263
Figura 198	Espectros de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-4.....	263
Figura 199	Espectro de massas de Pc-4.....	264
Figura 200	Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-5.....	270
Figura 201	Espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-5.....	271
Figura 202	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-5.....	272
Figura 203	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-5.....	272
Figura 204	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-5.....	273
Figura 205	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-5.....	273
Figura 206	Espectros de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-5.....	274
Figura 207	Espectros de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-5.....	274
Figura 208	Espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-5.....	275

Figura 208	Espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-5.....	275
Figura 210	Espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-5.....	276
Figura 211	Espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-5.....	277
Figura 212	Espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-6.....	282
Figura 213	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-6.....	283
Figura 214	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-6.....	283
Figura 215	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-6.....	284
Figura 216	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-6.....	285
Figura 217	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-6.....	285
Figura 218	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-6.....	286
Figura 219	Espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-7.....	290
Figura 220	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-7.....	291
Figura 221	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-7.....	291
Figura 222	Expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-7.....	292
Figura 223	Espectros de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-7.....	293
Figura 224	Espectros de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-7.....	293
Figura 225	Espectro de RMN no Infravermelho (λ , KBr, cm^{-1}) de Pg-1.....	300
Figura 226	Espectro no ultravioleta ($\lambda_{\text{max.}}$, MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pg-1.....	301
Figura 227	Espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, MeOD) de Pg-1.....	302
Figura 228	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, MeOD) de Pg-1.....	303
Figura 229	Expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, MeOD) de Pg-1.....	303
Figura 230	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, MeOD) de Pg-1.....	304
Figura 231	Espectro de correlação heteronuclear HSQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pg-1.....	305

Figura 232	Espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pg-1.....	306
Figura 233	Espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pg-1.....	306
Figura 234	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pg-1.....	307
Figura 235	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pg-1.....	307
Figura 236	Expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pg-1.....	307
Figura 237	Espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pg-1.....	308
Figura 238	Espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pg-1.....	309

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Classificação taxonômica das espécies de <i>Piper</i> estudadas nesta pesquisa....	13
Quadro 2	Nomes e estruturas das classes de flavonóides.....	25
Quadro 3	Diidrochalconas isoladas de <i>Piper</i>	33
Quadro 4	Chalconas isoladas de <i>Piper</i>	37
Quadro 5	Flavanonas isoladas de <i>Piper</i>	39
Quadro 6	Flavonas isoladas de <i>Piper</i>	41
Quadro 7	Triagem fitoquímica preliminar do EEB das partes aéreas de <i>P. montealegreanum</i>	63
Quadro 8	Constituintes químicos isolados de <i>Piper montealegreanum</i>	77
Quadro 9	Constituintes químicos isolados de <i>Piper carniconnectivum</i>	195

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Possível rota biossintética para a formação de chalconas e flavanonas.....	29
Esquema 2	Tipos de fragmentação ocorrentes em flavonóides	46
Esquema 3	Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (1ª etapa).....	52
Esquema 4	Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (2ª etapa).....	53
Esquema 5	Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (3ª etapa).....	54
Esquema 6	Formação das feofitinas.....	55
Esquema 7	Marcha sistemática e fracionamento do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Piper montealegreanum</i> Y.....	64
Esquema 8	Marcha sistemática para isolamento dos compostos flavonoídicos da fase hexânica das partes aéreas de <i>P. montealegreanum</i>	65
Esquema 9	Marcha sistemática para isolamento dos outros compostos da fase hexânica das partes aéreas de <i>P. montealegreanum</i>	66
Esquema 10	Fracionamento da fase clorofórmica das partes aéreas de <i>P. montealegreanum</i>	67
Esquema 11	Marcha sistemática e fracionamento do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Piper carniconnectivum</i> C.DC.....	69
Esquema 12	Marcha sistemática para isolamento dos compostos flavonoídicos da fase hexânica das partes aéreas de <i>Piper carniconnectivum</i>	70
Esquema 13	Fracionamento do filtrado metanólico da fase clorofórmica das partes aéreas de <i>Piper carniconnectivum</i>	71
Esquema 14	Fracionamento da fase hexânica das partes aéreas de <i>Piper carniconnectivum</i>	72
Esquema 15	Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Piper glandulosissimum</i> Yuncker.....	74
Esquema 16	Marcha sistemática para isolamento de Pg-1 obtido da fase hexânica das partes aéreas de <i>P. glandulosissimum</i>	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Cronologia da descoberta de fármacos protótipos de categorias terapêuticas, a partir de plantas.....	3
Tabela 2	Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico.	18
Tabela 3	Distribuição de diidrochalconas no gênero <i>Piper</i>	36
Tabela 4	Distribuição das chalconas no gênero <i>Piper</i>	38
Tabela 5	Distribuição de flavanonas no gênero <i>Piper</i>	40
Tabela 6	Distribuição de flavonas no gênero <i>Piper</i>	43
Tabela 7	Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ (ppm).....	85
Tabela 8	Dados comparativos de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-1 com dados da literatura (δ , CD_3OD , 600 e 150 MHz) (TRAKOONTIVAKORN et al, 2001)	86
Tabela 9	Dados de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Pmt-1 e Pmt-1 acetilado registrados em CDCl_3 e δ (ppm).....	108
Tabela 10	Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ (ppm).....	117
Tabela 11	Dados comparativos de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-2 com dados da literatura (δ , CD_3OD , 600 e 150 MHz) (TRAKOONTIVAKORN et al, 2001).....	118
Tabela 12	Dados de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Pmt-2 e Pmt-2 acetilado registrados em CDCl_3 e δ (ppm).....	140
Tabela 13	Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pmt-3 e correlações obtidas em experimentos HMQC e HMBC registrados em CDCl_3 , J (Hz) e δ (ppm).....	145
Tabela 14	Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) e correlações obtidas em experimentos HMQC e HMBC registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ	

	(ppm).....	160
Tabela 15	Dados comparativos de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-4 com dados da literatura (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (GALINIS et al, 1993)	161
Tabela 16	Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pmt-5 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em clorofórmio, J(Hz) e δ (ppm).....	181
Tabela 17	Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) de Pmt-5 com a literatura (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (SCHWIKKARD et al., 1998).....	182
Tabela 18	Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em acetona- d_6 , J(Hz) e δ (ppm).....	200
Tabela 19	Dados comparativos de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-1 com dados da literatura ($\text{DMSO}-\text{d}_6$, 400 MHz e 100MHz) (ASIN, 2002)..	201
Tabela 20	Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em acetona, J(Hz) e δ (ppm).....	216
Tabela 21	Dados comparativos de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-2 com dados da literatura (CDCl_3 , 360 MHz e 90MHz) (AMPOFO, 1987)..	217
Tabela 22	Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de PC-3 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em acetona- d_6 , J(Hz) e δ (ppm).....	233
Tabela 23	Dados comparativos de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-3 e apigenina (δ , CD_3OD , 200 e 50 MHz), (SILVA, 2004).....	234
Tabela 24	Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pc-4 e correlações obtidas em experimentos HMQC e HMBC registrados em piridina, J(Hz) e δ (ppm).....	251
Tabela 25	Dados comparativos de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de PC-4 com dados de RMN de ^1H (360 MHz) e ^{13}C (90 MHz) da literatura registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ (ppm) (AMPOFO et al, 1987).....	252
Tabela 26	Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-6 e correlações	

	obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em CDCl ₃ , J(Hz) e δ (ppm).....	268
Tabela 27	Dados comparativos de RMN de ¹ H e ¹³ C do palmitato de fitila com dados da literatura (δ , CDCl ₃ , 200 e 50 MHz) (FILHO et al, 1990).....	269
Tabela 28	Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 200 e 50 MHz) da mistura Pc-6.....	280
Tabela 29	Dados comparativos da mistura de Pc-6 (δ , CDCl ₃ , 200 e 50 MHz) com dados da literatura (δ , C ₅ D ₅ N, 400 e 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990)....	281
Tabela 30	Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ¹ H e ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 200 e 50 MHz) de Pc-7 com a literatura (δ , CDCl ₃ , 300 e 75 MHz) (SCHWIKKARD et al., 1998).....	289
Tabela 31	Dados de RMN de ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) de Pg-1 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em MeOH, J(Hz) e δ (ppm).....	298
Tabela 32	Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ¹ H e ¹³ C (δ , MeOD, 500 e 125 MHz) de Pg-1 com a literatura (AGRAWAL, 1989).....	299

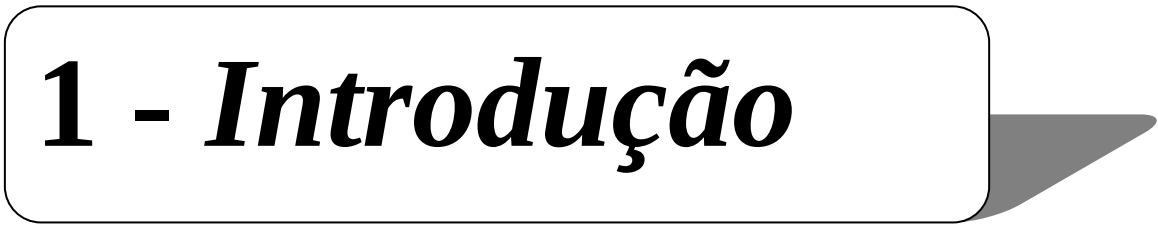
RESUMO

Piper montealegreanum Yuncker, *Piper carniconnectivum* C.DC. e *Piper glandulosissimum* Yuncker são pequenos arbustos pertencentes a família Piperaceae e provenientes da região Amazônica. Não se conhece nenhum uso destas plantas na medicina popular. Do ponto de vista químico-farmacológico estas espécies foram pouco estudadas. Das partes aéreas de *Piper montealegreanum* foram previamente isolados dois flavonóides inéditos e a mistura destes mostrou efeito espasmolítico sobre anéis de aorta e de traquéia de ratos e cobaias, respectivamente (ALVES, 2004). Neste trabalho continuamos a prospecção fitoquímica desta planta, da qual foram isolados cinco compostos: dois novos flavonóides, dois fenilalcanóides também inéditos e uma feofitina. De *Piper carniconnectivum* já foram isoladas ciclopentanodionas e alguns flavonóides (FACUNDO et al, 2003 e 2004). Nossa pesquisa com esta espécie resultou no isolamento de três flavonóides (dentre os quais dois isolados pela primeira vez no gênero), um novo derivado do ácido benzóico, um cerídeo isolado pela primeira vez da família, dois esteróides e a feofitina a. De *Piper glandulosissimum* foi isolada uma diidrochalcona nova no gênero. A determinação estrutural das substâncias foi realizada utilizando-se métodos espectroscópicos como infravermelho, ultravioleta, espectrometria de massas e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, além de comparações com dados da literatura.

ABSTRACT

Piper montealegreanum Yuncker, *Piper carniconnectivum* C.DC. and *Piper glandulosissimum* Yuncker are small shrubs of Piperaceae family native of Amazonian region. The use of this plant in folk medicine is still unknown. There are only a few studies regarding chemical and pharmacological studies of this species. In a previous study from the aerial parts of *Piper montealegreanum* were isolated two unpublished flavonoids and their mixture presented spasmolytic effect in aorta and trachea rings of rats and guinea-pig, respectively. (ALVES, 2004). In this work we continued the phytochemistry studies with plant and isolated five compounds: two new flavonoids, two phenylalkanoids unpublished and one phaeophytin. From *Piper carniconnectivum* were already isolated ciclopentanodiones and some flavonoids (FACUNDO et al, 2003 e 2004). In our research we isolated three flavonoids (two isolated for the time first in the *genus*), one new benzoic acid derivative, one cerid with its first report in the family, two steroids and a phaeophytin a. From *Piper glandulosissimum* (SANTOS, 2004) a flavonoid was isolated. They structures of the compounds were established by spectroscopic analyses (UV, IR, MS and ^1H , ^{13}C NMR, including 2D NMR), besides comparison with scientific literature.

1 - *Introdução*



1 – INTRODUÇÃO

A descoberta de fármacos pela indústria farmacêutica é considerada uma atividade complexa, multifatorial, cara, demorada, envolvendo a aplicação de técnicas e metodologias modernas, e cuja produtividade é questionada com base em dados que demonstram a relação inversamente proporcional entre os investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) e a descoberta de novas entidades químicas (LIMA, 2007).

Ao longo das últimas décadas, o processo de descoberta de fármacos, segundo o paradigma industrial, presenciou e beneficiou-se do advento de várias tecnologias, acompanhadas da premissa de que sua introdução levaria à obtenção de um número maior de fármacos, com redução de custos. Entretanto, à despeito do significativo aumento nos investimentos em P&D, do impacto do Projeto Genoma Humano e do inquestionável avanço das tecnologias empregadas no processo de descoberta de fármacos, a produtividade da Indústria Farmacêutica, mensurada por sua capacidade de introduzir no mercado novos fármacos, vem observando significativo declínio na última década (MILNE, 2003).

Nesse contexto, os produtos naturais vêm recuperando espaço e importância na Indústria Farmacêutica, seja *per se*, seja como fonte inspiradora de novos padrões moleculares bioativos (VIEGAS-JR et al, 2006).

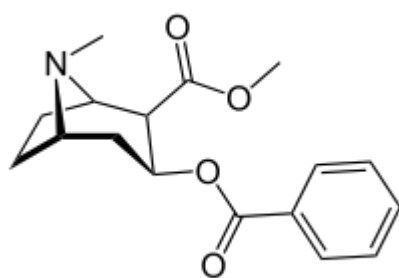
A importância histórica das substâncias ativas obtidas de plantas como protótipo para o desenvolvimento de fármacos pode ser sucintamente demonstrada pela cronologia constante na tabela 1 (p. 3).

Tabela 1: cronologia da descoberta de fármacos protótipos de categorias terapêuticas, a partir de plantas

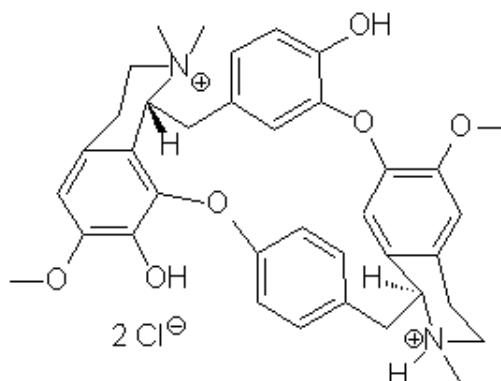
Gênero	Fármaco	Data do isolamento	Categoria terapêutica
<i>Digitalis</i>	Digitoxina	1785	Cardiotônico
Papaver	Morfina	1805	Hipnoanalgésico
Cinchona	Quinina	1820	Antimalárico
Atropa	Atropina	1833	Anticolinérgico
Physostigma	Fisostigmina	1864	Anticolinesterásico
Pilocarpus	Pilocarpina	1875	Colinérgico
Ephedra	Efedrina	1887	Adrenérgico
Erythroxylum	Cocaína	1895	Anestésico local
Chondodendrum	tubocurarina	1895	Bloqueador neuromuscular
Claviceps	Ergotamina	1922	Bloqueador adrenérgico
Melilotus	Dicumarol	1941	Anticoagulante
Rauwolfia	Reserpina	1952	Neuroléptico

SIMÕES et al, 2004

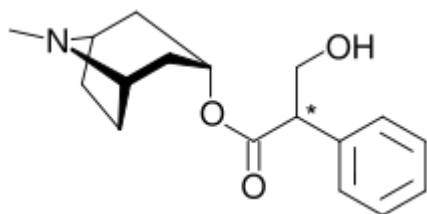
É importante ressaltar que, em muitas situações, a descoberta da atividade destas substâncias não representou apenas o surgimento de um grupo novo de substâncias, mas originou a identificação de uma nova possibilidade de intervenção terapêutica. Exemplificando, não se conheciam anestésicos locais, bloqueadores musculares, anticolinérgicos, antes do isolamento e estudo da atividade da cocaína, tubocurarina e atropina, respectivamente (SIMÕES et al, 2004). Além disso, muitos dos atuais compostos antitumorais conhecidos como a vincristina, a vimblastina e o paclitaxel (Figura 1, p. 4) são provenientes de plantas (CRAGG et al, 1997).



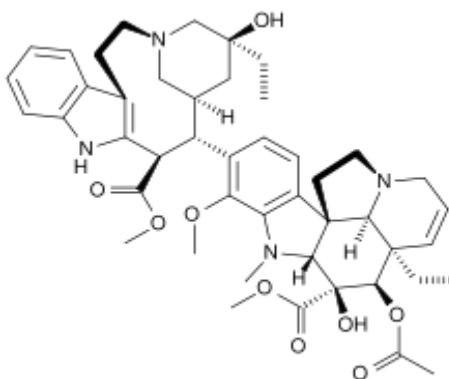
Cocaína



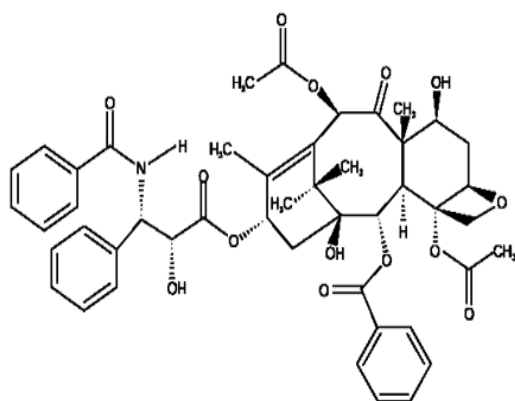
Tubocurarina



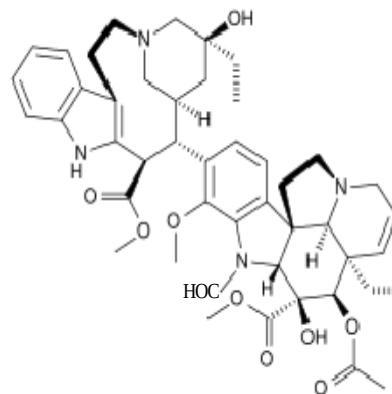
Atropina



Vimblastina



Paclitaxel



Vincristina

Figura 1: compostos de acentuada atividade farmacológica isolados de plantas.

Uma vez sendo frutos de um processo evolutivo comum e concomitante a todos os seres, os produtos naturais possuem marcantes atividades sobre sistemas biológicos, razão pela qual tais compostos têm sido aplicados na agricultura (como agentes polinizadores, alelopáticos e sinalizadores) e nas indústrias alimentícia, cosmética química e farmacêutica (KUTCHAN, 2001).

As modernas técnicas de obtenção e rastreamento da atividade biológica de substâncias químicas sintéticas também podem ser usadas como ferramentas para o estudo de compostos naturais. Pesquisas realizadas através da Genética Química têm mostrado a especificidade com a qual alguns produtos naturais interagem com proteínas (SCHEREIBER, 1998). Alvos enzimáticos amplamente utilizados como modelos biológicos, e que exigem uma quantidade mínima de substâncias, também podem ser ferramentas poderosas para o teste de produtos naturais (BARBOSA-FILHO et al, 2006). Além do mais, o desenvolvimento de métodos analíticos de separação, aliado ao uso de técnicas hifenadas (CL-UV, CL-MS, CL-RMN) tem facilitado a elucidação destas substâncias (QUEIROZ et al, 2006; MONTANARI et al, 2001).

A principal matéria-prima dos compostos do metabolismo secundário continua sendo as plantas. A Organização Mundial da Saúde recomendou aos países membros o desenvolvimento de pesquisas visando à utilização destas plantas com propósito terapêutico. Cerca de quatro bilhões de pessoas dependem, para tratar suas doenças, de plantas medicinais (McCHESNEY et al, 2007). Na França, por exemplo, 60% da população utiliza algum fitoterápico para tratamento de sua saúde, e na Índia e China esse número chega a 80%. A indústria de fitoterápicos movimenta mais de U\$40 bilhões por ano, ficando mais de 90% dessa parcela com os países mais desenvolvidos que detêm uma biodiversidade restrita. O Brasil, país extremamente rico em biodiversidade, retém apenas uma pequena parcela desse montante (FERRO, 2006).

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (SIMÕES et al, 2004) e que poderia ser utilizada para estimular o desenvolvimento da pesquisa brasileira, para implementar uma Indústria Farmacêutica de âmbito nacional, promover a interação e investigação de vários grupos de pesquisa nas áreas da Botânica, Química, Farmacologia, Ciências Farmacêuticas, Agronomia, Toxicologia e desenvolver matrizes medicamentosas de fácil produção e baixo custo (exemplo: fitoterápicos) acessíveis à população.

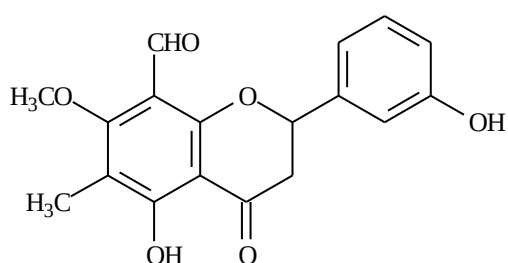
Diante das atividades biológicas registradas e visto o interesse dos químicos de produtos naturais por compostos farmacologicamente ativos, espécies de *Piper* estão sendo fonte de pesquisas em várias partes do mundo (OLIVEIRA, 2003).

O gênero *Piper* pertence a família Piperaceae e apresenta cerca de 700 espécies distribuídas em ambos os hemisférios (PARMAR et al, 1997). Muitas espécies são utilizadas por suas propriedades etnomedicinais. Na medicina popular indiana as raízes de *Piper sylvaticum* e *Piper boemerifolium* são utilizadas no tratamento de tumores, bronquite e doenças pulmonares (DUKE, 1985). Na China, *Piper betle* é usada contra artrite reumática e asma. No Brasil, *Piper marginatum* é utilizada como flavorizante, antiofídico, em doenças do fígado e vesícula biliar (MARQUES, 2000) e *Piper tuberculatum* como estimulante, estomática e carminativa (MATOS, 1997).

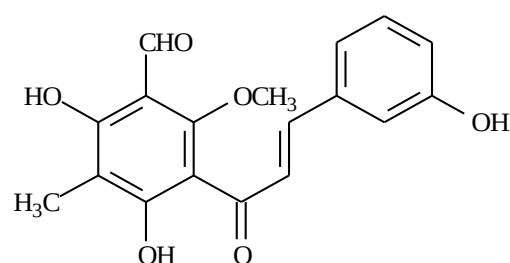
Dentre as várias atividades farmacológicas e biológicas registradas no gênero, ressaltam-se as propriedades antitumorais do extrato clorofórmico de *Piper aborescens*, testado contra cultura de células KB de carcinoma nasofaríngeo e células P388 de leucemia linfocítica (GERAN et al, 1972), atividades antifúngicas e antioxidante de aristolactamas de *Piper umbellatum* (TABOITA et al, 2008), potente atividade antiplasmodial de flavonóides de *Piper hostmannianum* (PORTET et al, 2007) o efeito

mutagênico de pipartina, um alcalóide isolado de *Piper tuberculatum* (BEZERRA et al, 2008) e a atividade sedativa, relacionada com a transmissão dopaminérgica e serotoninérgica, de *Piper methysticum* (SIMÕES et al, 2004). Estudos farmacológicos realizados no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) com flavonóides isolados de *Piper glandulosissimum* mostraram atividade antifúngica contra *Trichophyton mentagrophytes* e *Microsporium canis* e ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (SANTOS, 2004), efeito espasmolítico com o extrato de *Piper marginatum* (SANTOS, 2000) e atividade hipotensora do extrato diclorometano de *Piper caldense* (CARDOZO-JÚNIOR, 1998).

Uma variedade de compostos têm sido isolada de espécies de *Piper*, incluindo amidas, lignanas, neolignanas, hidroquinonas, alcalóides, terpenos, derivados do ácido benzóico e aristolactamas (PARMAR et al, 1997; WU et al, 1997; YAMAGUCHI et al, 2006). Frequentemente, observa-se o isolamento de flavonóides, representados por flavonas, diidrochalconas, chalconas e flavanonas (SENGUPTA & RAY, 1997). O grupo de pesquisa do LTF, liderado pela Professora Maria Célia de Oliveira Chaves, tem trabalhado com algumas espécies de *Piper* oriundas do Norte-Brasileiro e isolado compostos peculiares, como os dois flavonóides inéditos apresentados a seguir (ALVES, 2004).



8-formil-3',5-dihidroxi-6-metil-7-metoxiflavanona



5'-formil-2',3-dihidroxi-3-metil-6-metoxichalcona

2 – Objetivos

2 - OBJETIVOS

2.1 – OBJETIVO GERAL:

- Dar continuidade aos estudos fitoquímicos de Piperaceae da Amazônia, visando, sobretudo, isolar moléculas biologicamente ativas, contribuir com a quimiotaxonomia da família e identificar novas substâncias.

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Estudar a composição química através do isolamento, purificação, identificação e/ou elucidação estrutural dos metabólitos secundários das espécies: *Piper montealegreanum* Yuncker., *Piper glandulosissimum* Yuncker, *Piper carniconnectivum* C.DC.
- Contribuir para a fitotaxonomia do gênero *Piper*.
- Disponibilizar as substâncias químicas isoladas para testes farmacológicos.

3 - *Fundamentação teórica*

3 – ASPECTOS BOTÂNICOS

3.1 – ORDEM PIPERALES

No sistema de Engler, a ordem Piperales é considerada como um dos grupos mais primitivos das dicotiledôneas. Segundo CRONQUIST (1998), as Piperales são Magnoliidae com flores reduzidas e óvulos ortótropos. Porém, a ausência de perianto nas flores de elementos desta ordem não parece ser uma característica primitiva. As famílias que integram a ordem são: Hidnoroaceae, Aristolochiaceae, Saururaceae e Piperaceae (TUCKER & DOUGLAS, 1996). A mais primitiva delas, a das Saururaceae, apresenta xilema constituído de vasos com pontuações escalariformes ou intermediárias, nas paredes laterais. As Piperales apresentam células oleíferas, e na grande maioria são plantas herbáceas e tropicais. No Brasil estão representadas por espécies de Piperaceae e de Chloranthaceae.

3.2 – DESCRIÇÃO BOTÂNICA DA FAMÍLIA PIPERACEAE BAILL

Em termos econômicos, científicos e culturais, a família Piperaceae talvez seja a família mais importante da ordem Piperales. As plantas desta família são geralmente encontradas nas florestas tropicais sendo frequentemente plantas trepadeiras ou plantas lenhosas que se fixam a troncos de árvores por meio de raízes adventícias (ANGELY, 1958, KINGHORN, 1996; BLANCO, 1998). As folhas são inteiras, alternadas ou em espiral, estipuladas, com nervuras fortes e evidentes e ainda acuminadas em sua extremidade, formando um ápice que auxilia no desvio de excesso de água na epiderme (ANGELY, 1958). Os caules são articulados, nodosos e ramificados envolvidos por um tecido seco e carnoso. As flores são sésseis, pequenas, opostas e carnosas, dispostas em

densas espigas, aclamídeas, hermafroditas, protegidas por bractéolas; o androceu é formado de 1 a 10 estames; nas espécies brasileiras de 2 a 6 estames livres (YUNCKER, 1972), com anteras bitecas ou unitecas, rimosas, ovário súpero, unilocular, uniovulado, formado de 1 a 5 carpelos, com 1 a 5 estigmas (STAFFORD & WARREN, 1991). Os frutos são indeiscentes e carnosos, se encontram em baga drupiforme ou em aquênio. São sésseis ou aglomerados e, então, um pouco angulosos, ou mais afastados uns dos outros e, neste caso, redondos, ou ainda pediculados. As sementes possuem perispermas ou endospermas, com um embrião muito pequeno, rodeado de albúmem e perisperma (NAVICKIENE, 2002). A família Piperaceae compreende cerca de 1950 espécies distribuídas em 14 gêneros. O Brasil possui em torno de 460 espécies em cinco gêneros nativos: *Photomorphe* Miq., *Sarcorhachis* Trel., *Peperomia* Ruiz et Pav., *Piper* L. e *Ottonia* Spreng (MABBERLEY, 1997).

3.3 – GÊNERO *PIPER* LINNAEUS

O nome *Piper* é originário da palavra árabe que designa pimenta. Segundo YUNCKER, 1972, o gênero compreende arbustos ou pequenas árvores, algumas escandentes, raramente sub-herbáceo. Folhas alternas, simples, inteiras, frequentemente não-equiláteras na base, com um lado preso ao pecíolo menor que o outro, glabras ou pubescentes, frequentemente escabras, algumas vezes rugosas ou buladas, palmadas ou então com venação pinada; pecíolo usualmente canuleto na base, com as margens do sulco freqüentemente aladas. Inflorescência oposta às folhas. Flores pequenas, perfeitas ou imperfeitas; brácteas sésseis, de forma variada, geralmente pilosas, algumas glabras; fimbriadas. Androceu com 2-6 estames. Gineceu com um óvulo, 2-4 estigmas, sésseis a subsésseis. Fruto drupáceo, pequeno, de forma variada.

3.4 – DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA PIPERACEAE NO MUNDO

Espécies da família Piperaceae são distribuídas em todo o mundo, especialmente na região tropical como visto na figura abaixo.



Figura 2: distribuição geográfica de espécies da família Piperaceae no mundo, em <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/orders/piperalesweb2.htm>, acessado em 30/06/08.

3.5 – CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DAS ESPÉCIES DE *PIPER* ESTUDADAS NESTA PESQUISA, SEGUNDO CRONQUIST (1946)

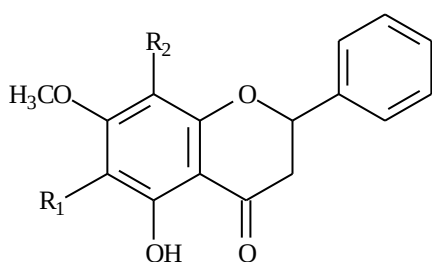
REINO	Plantae
DIVISÃO	Magnoliophyta
CLASSE	Magnoliopsida
SUB-CLASSE	Magnoliidae
ORDEM	Piperales
FAMÍLIA	Piperaceae
GÊNERO	<i>Piper</i>
ESPÉCIES	<i>Piper carniconnectivum</i>
	<i>Piper glandulosissimum</i>
	<i>Piper montealegreanum</i>

Quadro 1: classificação taxonômica das espécies de *Piper* estudadas nesta pesquisa

3.6 – CONSIDERAÇÕES SOBRE *Piper carniconnectivum* C. DC.

Piper carniconnectivum, conhecida pelo nome vernacular “pimenta longa”, é uma espécie encontrada na região Amazônica, no Norte do Brasil (RIBEIRO et al, 1999). Na literatura consta o isolamento dos seguintes compostos:

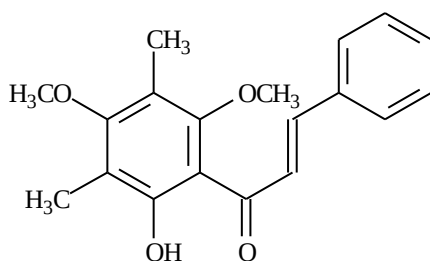
- Flavonóides - (FACUNDO et al, 2004).



1 - 5-hidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona

2 - 5-hidroxi-7-metoxi-8-metilflavanona

3 - 5-hidroxi-7-metoxi-6,8-dimetilflavanona

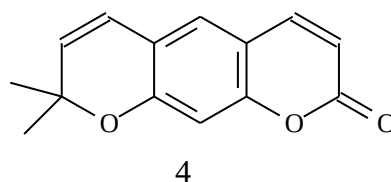
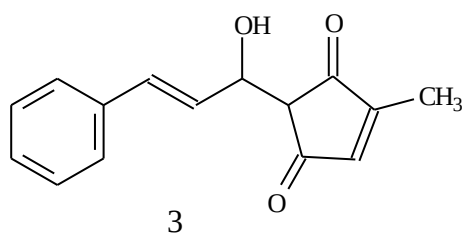
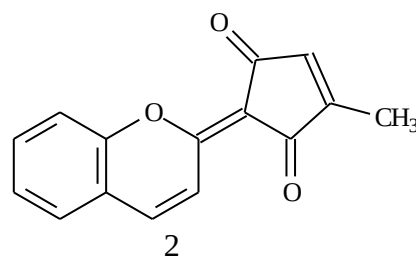
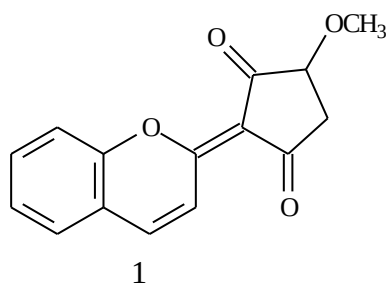


4 - 2'-hidroxi-4'-6'-dimetoxi-3',5'-dimetilchalcona

- Óleos essenciais (FACUNDO et al, 2006)

A extração das folhas realizada em CG/EM forneceu como componente majoritário o óxido de cariofileno (21,3%). Já na extração do caule, os componentes majoritários obtidos foram o espatulenol (23,7%) e β -pineno (19,0%).

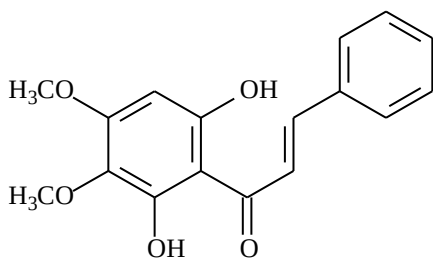
- Ciclopentenodionas: sendo uma mistura de cromenilidenos (1 e 2) e a hidroxifenilpropenilidenociclopentenediona (3) mais uma cumarina conhecida por xantiletina (4) (FACUNDO et al, 2004)



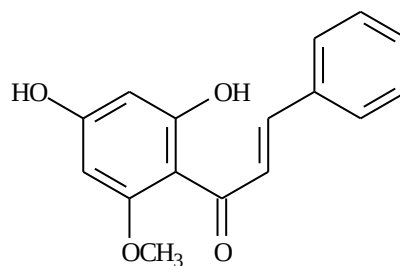
3.7 – CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *PIPER GLANDULOSISSIMUM*

Desta espécie já foram isolados os seguintes grupos de substâncias químicas:

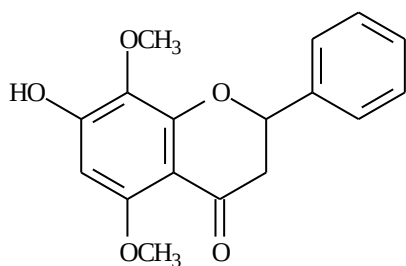
- Flavonóides (SANTOS, 2004)



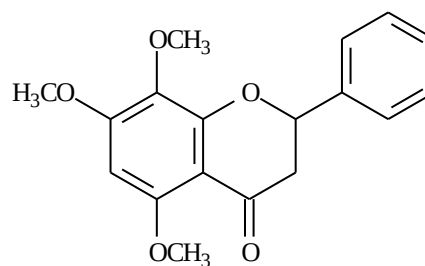
2',6'-dihidroxi-3',4'-dimetoxichalcona



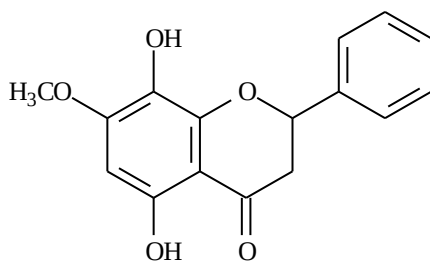
2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona



7-hidroxi-5,8-dimetoxiflavanona



5,7,8-trimetoxiflavanona



5,8-dihidroxi-7-metoxiflavanona

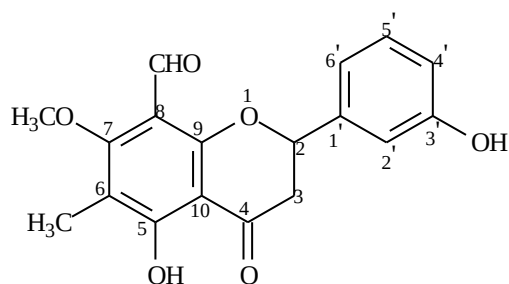
- Óleos essenciais (ANDRADE & ZOGHBI, 2007)

Foram isolados 66 constituintes voláteis, sendo que os compostos majoritários foram óxido cariofileno (caule – 15,3%, folhas 2,3%) e o β –cariofileno (caule 12,6%, folhas 9,3%).

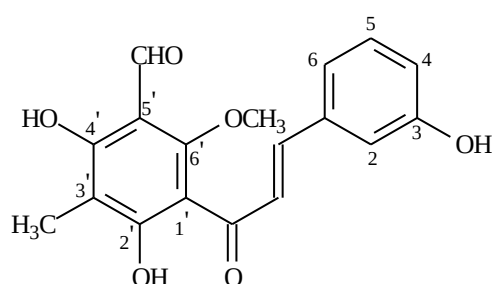
3.8 – CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *PIPER MONTEALEGREANUM*

Assim como *Piper glandulosissimum*, pouco se conhece a respeito dessa espécie e as únicas substâncias isoladas dela foram:

- Flavonóides (ALVES, 2004)

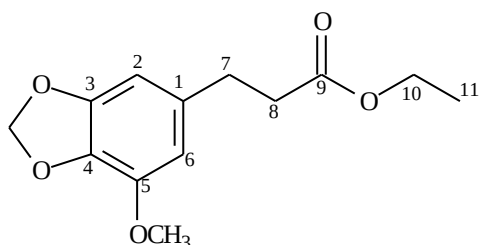


8-formil-3',5-dihidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona



5'-formil-3,4'-dihidroxi-6'-metoxi-3'-metilchalcona

- Derivado do ácido cinâmico



3,4-metilenodioxo-5-metoxi-7,8-diidrocinamoil-etil éster.

4 – COMPOSTOS FENÓLICOS: CONSIDERAÇÕES GERAIS

Substâncias fenólicas constituem uma classe de compostos que incluem uma grande diversidade de estruturas simples até outras com alto grau de polimerização (BRAVO, 1998), que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila (CARVALHO et al, 2004). Estão amplamente distribuídos no reino vegetal e têm sido estudados pelo fato de apresentarem atividades farmacológicas e por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (NAGEN et al, 1992; GAMACHE et al, 1993; IVANOVA et al, 1997; AZIZ et al, 1998; FERNANDEZ et al, 1998; HOLLMAN & KATTAN, 1998) além de participarem de processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (PELEG et al, 1998).

Diversos pesquisadores têm trabalhado no isolamento, identificação, quantificação e utilização dos compostos fenólicos em alimentos, pois além de englobarem uma gama enorme de substâncias, eles são, na maioria das vezes de grande polaridade, muito reativos e susceptíveis à ação de enzimas (KING & YOUNG, 1999).

Os compostos fenólicos podem ser classificados segundo o tipo de esqueleto principal, conforme representado na tabela 2 (SIMÕES et al, 2004), onde C_6 corresponde ao anel benzênico e C_x à cadeia substituinte com X átomos de carbono

Tabela 2: classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico

Esqueleto básico	Classe de compostos fenólicos
C_6	Fenóis simples, benzoquinonas
C_6-C_1	Ácidos fenólicos
C_6-C_2	Acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C_6-C_3	Fenilpropanóides: ácidos cinâmicos, fenilpropenos, cumarinas e cromonas
C_6-C_4	Naftoquinonas
$C_6-C_1-C_6$	Xantonas
$C_6-C_2-C_6$	Estilbenos, antraquinonas
$C_6-C_3-C_6$	Flavonóides
$(C_6-C_3)_2$	Lignanas
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Biflavonóides
$(C_6)_n$	Melaninas vegetais
$(C_6-C_3)_n$	Ligninas
$(C_6-C_1)_n$	Taninos hidrolisáveis
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Taninos condensados

Os compostos fenólicos podem ser formados através de duas rotas biossintéticas: pela via do ácido chiquímico ou pela via do acetato-polimalato que inicia com acetil-COA. A origem biossintética determina o padrão de substituição do composto fenólico resultante. Dessa maneira, pela via do ácido chiquímico obtém-se compostos com grupos O-H em posição *orto*, que se formam a partir do ácido cinâmico. Por outro lado, a via do acetato-polimalato origina compostos com grupos O-H dispostos em *meta* (GEISSMAN & CRONT, 1969).

4.1 – FLAVONÓIDES

4.1.1 – CONCEITOS GERAIS

Os flavonóides são um dos mais diversos e variados grupos de constituintes naturais, apresentando mais de 8.000 compostos conhecidos (ZUANAZZI & MONTANHA, 2004; BOHM, 1998). O termo flavonóide deriva do latim *flavus*, que significa amarelo, em virtude da cor que confere às flores (FERRO, 2006). São substâncias de baixo peso molecular, encontradas em todas as plantas vasculares, são fenilbenzopironas, com um sortimento de estruturas básicas (HARBORNE, 1994).

Flavonóides existem na natureza por mais de 1 bilhão de anos e, assim, têm interagido com diversos organismos. O longo tempo de associação dos flavonóides de plantas com várias espécies de animais e outros organismos pode ter determinado uma variedade extraordinária de atividades farmacológicas e bioquímicas destes compostos em mamíferos e outros sistemas celulares (SWAIN, 1975; ECKBERG & PEROTTI, 1983).

4.1.2 – Distribuição e localização

Os flavonóides compreendem uma série de compostos do metabolismo secundário, que ocorrem especialmente nas angiospermas (HARBORNE, 1976; DI STASI, 1996). Podem aparecer em sua forma livre ou ainda ligados a açúcares como glicosídeos. Além dos derivados glicosilados, também ocorrem derivados metilados, acetilados ou prenilados (ROBBERS et al, 1999).

Os flavonóides são encontrados em frutos, sementes, caules e flores, sendo constituintes importantes na dieta humana. São componentes proeminentes de frutas cítricas e outras fontes alimentícias (HERMANN, 1976). Em média, a dieta diária ocidental contém aproximadamente 1 g de mistura de flavonóides (KUHNAN, 1976), uma quantidade que pode prover concentrações farmacológicas significativas nos tecidos e fluidos corporais (proporcionando uma boa absorção no trato gastrointestinal).

4.1.3 – Importância dos flavonóides para os vegetais

Os flavonóides apresentam efeitos relevantes na bioquímica e fisiologia das plantas, agindo como antioxidantes, inibidores enzimáticos e precursores de substâncias tóxicas (HARBORNE & MABRY, 1982). Ainda estão envolvidos na fotossíntese, na ação dos hormônios do crescimento das plantas, na expressão gênica (SMITH, 1986), proteção dos vegetais contra a incidência dos raios UV e visível e na atração de animais com finalidade de polinização (HARBORNE, 1994).

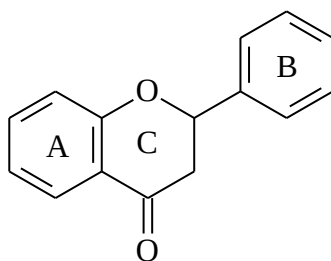
4.1.4 – Atividades biológicas dos flavonóides

O marcante efeito biológico dos flavonóides é comumente atribuído à presença de grupos fenólicos, que apresentam alta afinidade por proteínas e também agem como inibidores enzimáticos (PRUSKY & KEEN, 1993). A importância biológica destes compostos para os humanos é exercida pelas seguintes funções: protetor da integridade vascular, agente antiosteoporótico (BERETZ & CAZENOVE, 1998) antihepatotóxico (SOIKE & PESCHLOW, 1987), antiespasmódico, antiúlcera, antifúngico e antibacteriano, além de propriedades contra alguns tipos de câncer (BRACK et al, 1988; DESCHNER et al, 1991). Nos vasos sanguíneos, os flavonóides são encontrados sob a forma de vitamina P, que tem a função de manter a permeabilidade vascular normal (DI CARLO et al, 1999). Pesquisas recentes mostram algumas outras atividades dos flavonóides, tais como: inibidores das proteínas de resistência a multidrogas (MPR-1 e MPR-2) (ZANDEN et al, 2005), uso no tratamento da diabetes (ENOMOTO et al, 2004), como agente antituberculose (LIN et al, 2002).

As ações de alguns flavonóides podem estar relacionadas com a sua capacidade de interagir com o óxido nítrico (NO), que é um mediador de vários sistemas biológicos (MONCADA et al, 1991). Outras atividades importantes como agentes antioxidantes e antirradicais livres (BURDA & OLESZEK, 2001) também são relatadas.

4.1.5 – Aspectos químicos

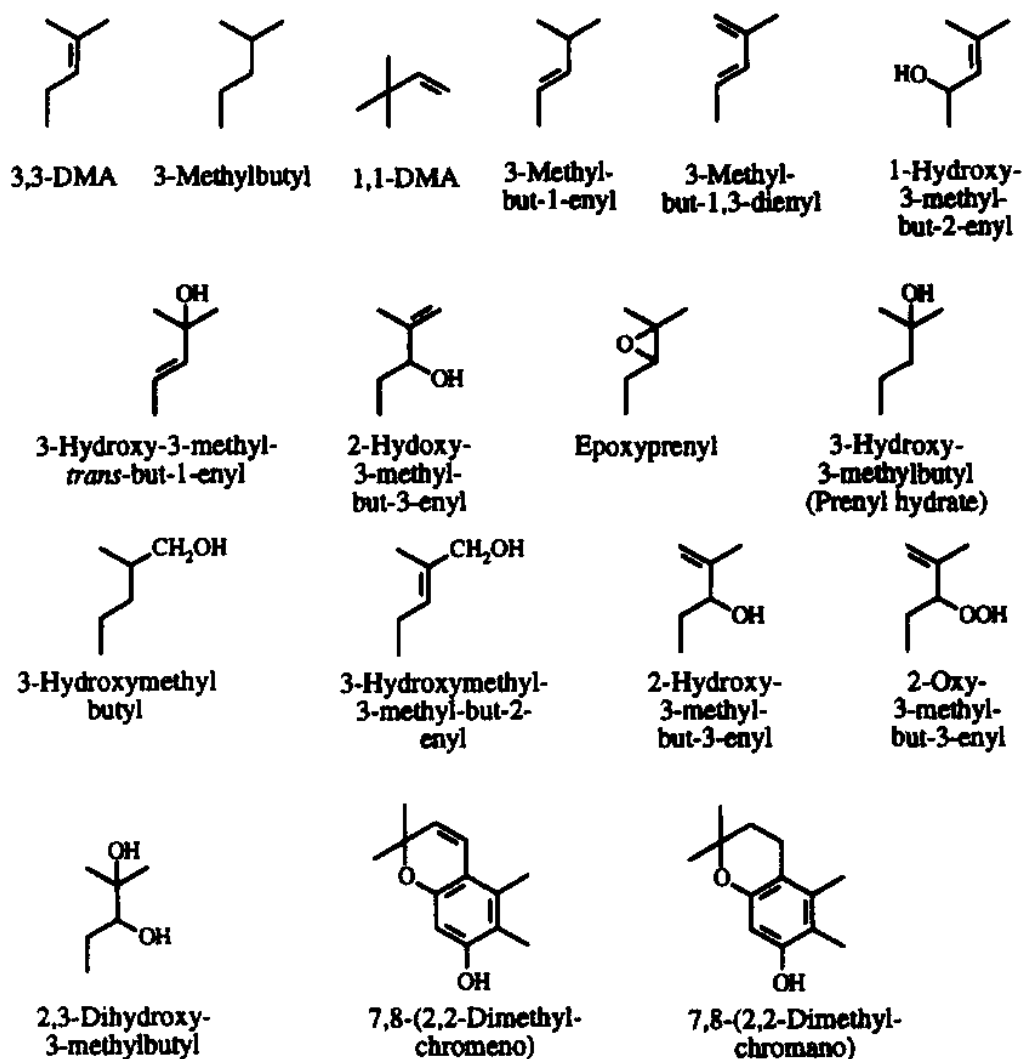
Os flavonóides contêm 15 átomos de carbonos em seus núcleos básicos e estão organizados numa configuração $C_6-C_3-C_6$. Cada C_6 representa um anel aromático. Estes anéis aromáticos estão unidos por 3 átomos de carbono, que formam um terceiro anel heterocíclico, por ciclização com um dos anéis aromáticos via um átomo de oxigênio. Em alguns casos, o anel heterocíclico de 6 membros é substituído por um de 5 membros (auronas), ou aparece numa forma isomérica de cadeia aberta (chalconas). Os anéis aromáticos são designados como anel A e B e o anel heterocíclico como anel C. Usualmente possuem um grupo ceto na posição 4, resultando no esqueleto de origem 2-fenil-cromano (AGRAWAL, 1989; COSTA, 2002), como mostrado abaixo:



Esqueleto flavonoídico

Estas substâncias são usualmente oxigenadas e possuem como substituintes hidroxila, metoxila, metilenodioxila e prenila (PIETTA, 2000). Um grande número de flavonóides ocorre como O-glicosídios, nos quais um ou mais grupos hidroxilas podem estar ligados a um açúcar ou açúcares. Esta forma, chamada conjugada, também é conhecida como heterosídio. Nos flavonóides C-glicosídios o açúcar está ligado a um átomo de carbono. Quando o metabólito ocorre sem conjugação com estes carboidratos ou então, quando é submetido à hidrólise ácida, é denominado aglicona ou genina (ZUANAZZI, 2004).

Um desses padrões de substituição mostra-se bastante interessante, do ponto de vista químico-farmacológico: são os flavonóides prenilados. O termo “prenil” tem sido usado geralmente para representar derivados furano/dimetilcromano com grupos prenil, isopentenil, geranil ou farnesil ligados, substituintes esses de origem isoprênica. A figura 3 mostra tipos de substituintes prenilados encontrados nos flavonóides.



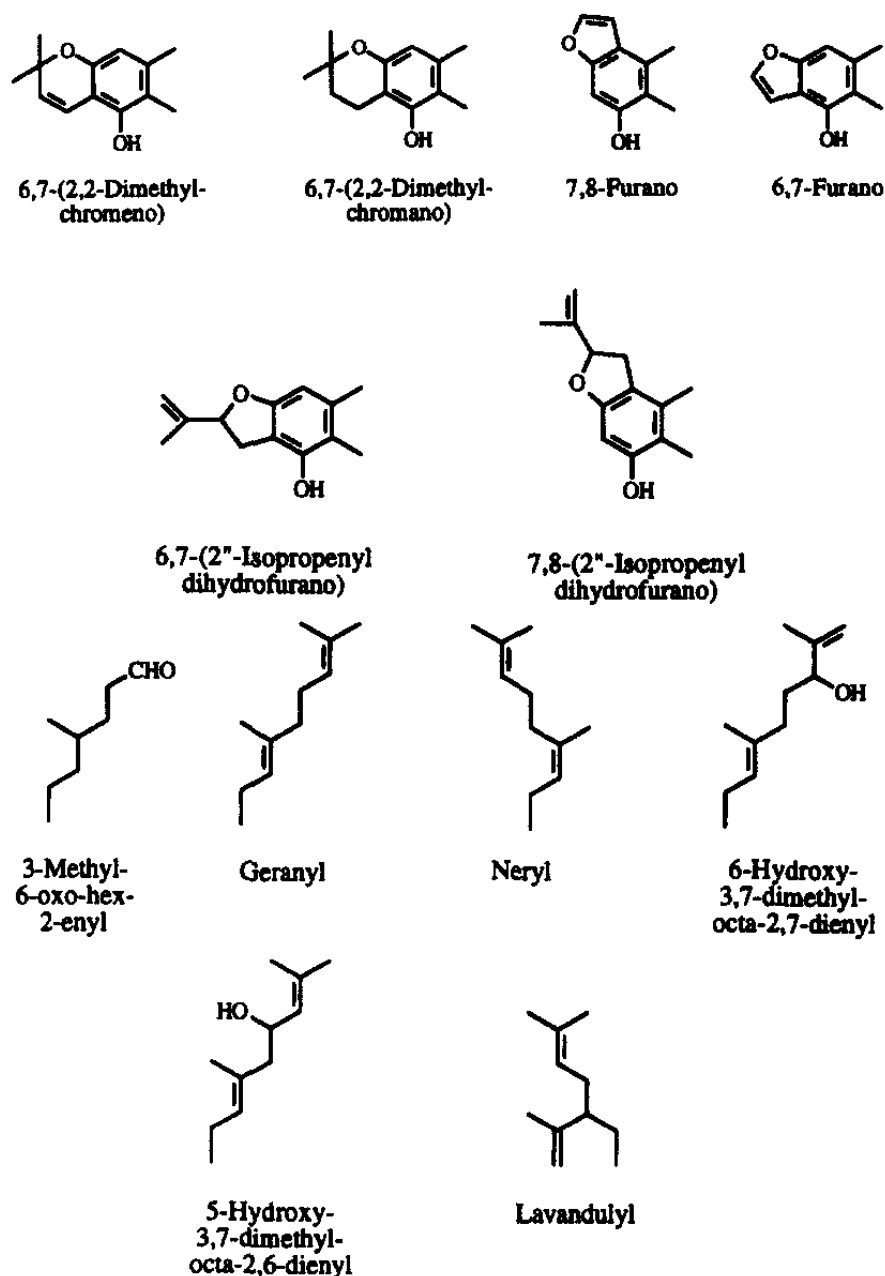


Figura 3: padrão de prenilação encontrado nos flavonóides (BARRON & IBRAHIM, 1996).

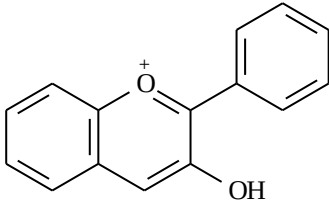
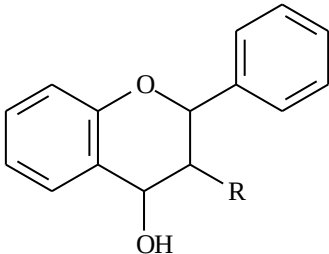
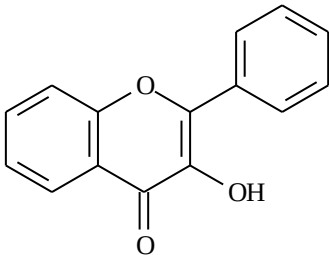
Flavonóides que têm grupos prenilas conjugados apresentam um aumento em sua lipofilicidade e, conseqüentemente, uma maior interação com as membranas celulares (MORIARTY et al, 2006). Pesquisas têm mostrado que essas substâncias atuam como inibidores da aromatase, enzima que catalisa o passo final e limitante da

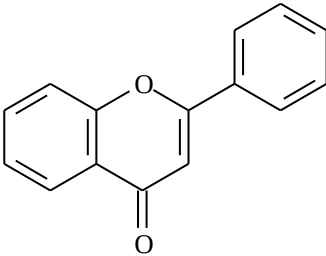
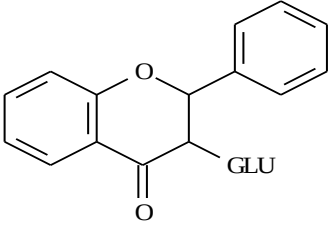
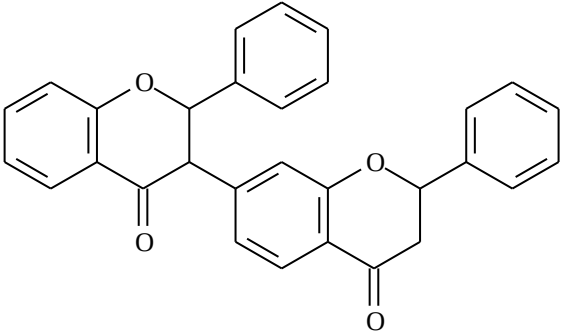
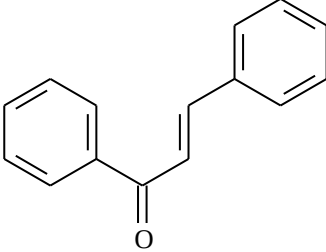
biossíntese do estrogênio, um dos responsáveis pela formação de tumores (YANG et al, 2001; REN et al, 2003).

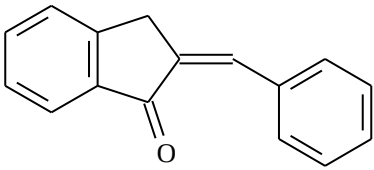
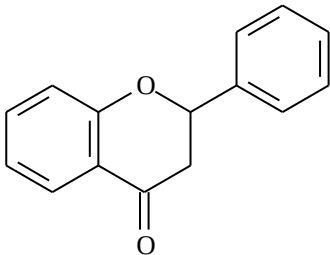
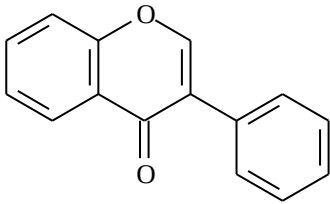
4.1.6 – Classes dos flavonóides

Os flavonóides estão representados por 10 classes estruturais mostradas no quadro abaixo:

QUADRO 2. Nomes e estruturas das classes de flavonóides.

CLASSES DOS FLAVONÓIDES	ESTRUTURAS QUÍMICAS
ANTOCIANINA	
LEUCOANTOCIANIDINA	
FLAVONOL	

FLAVONA	 <chem>O=C1C(=C2C(=C1)O=C(C=C2)C3=CC=CC=C3)C4=CC=CC=C4</chem>
GLICOFLAVONÓIDE	 <chem>O=C1C(=C2C(=C1)O=C(C=C2)C3=CC=CC=C3)C(OC4OC(CO)C(O)C(O)C4O)C5=CC=CC=C5</chem>
BIFLAVONÓIDE	 <chem>O=C1C(=C2C(=C1)O=C(C=C2)C3=CC=CC=C3)C4=CC=CC=C4C5=CC6=C(C=C5)O=C(C=C6)C7=CC=CC=C7</chem>
CHALCONA	 <chem>O=C(C=Cc1ccccc1)c2ccccc2</chem>

AURONA	
FLAVANONA	
ISOFLAVONA	

Fonte: HARBORNE, 1976; HARBORNE, 1994.

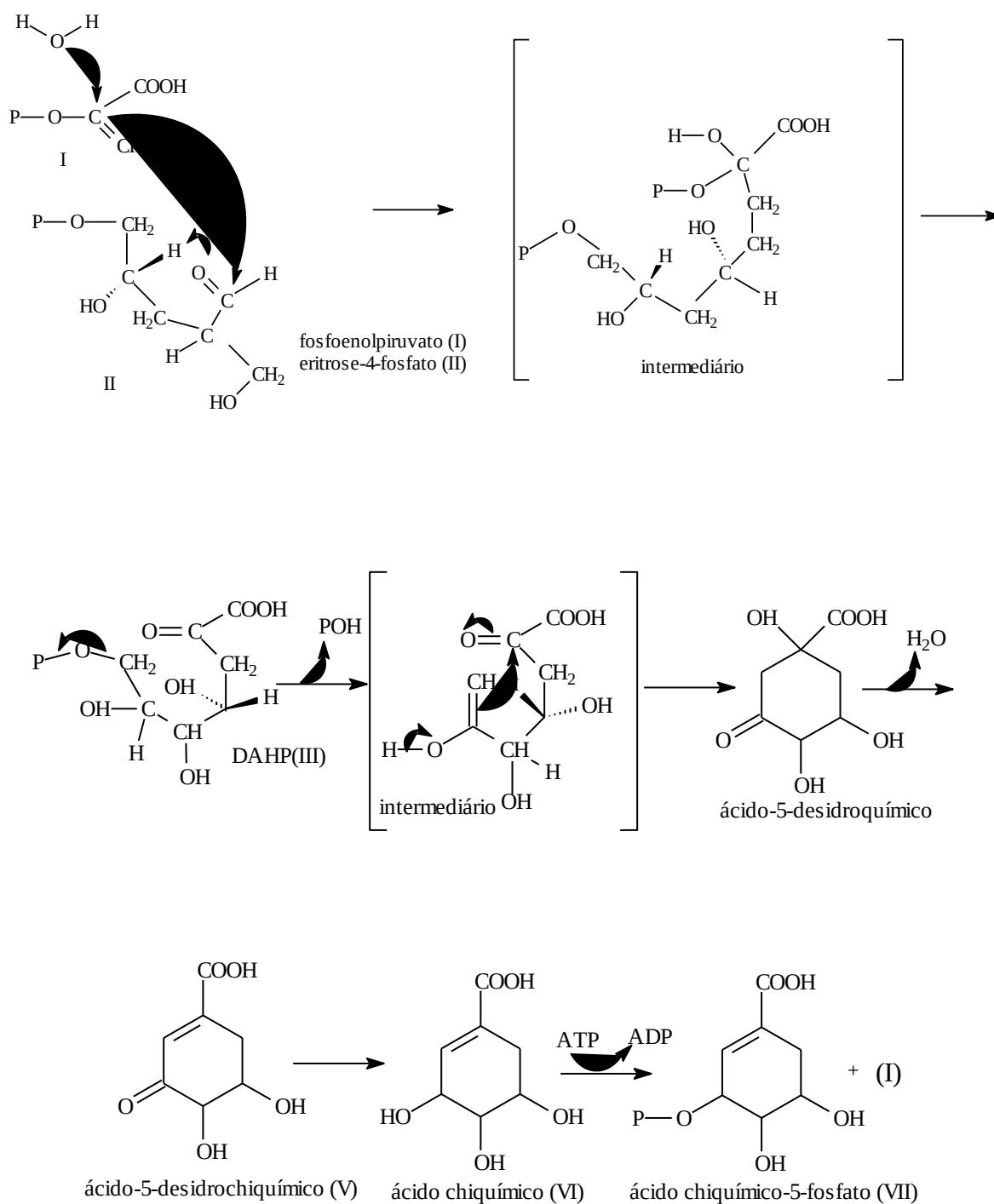
4.1.7 - Possível rota biossintética para os flavonóides

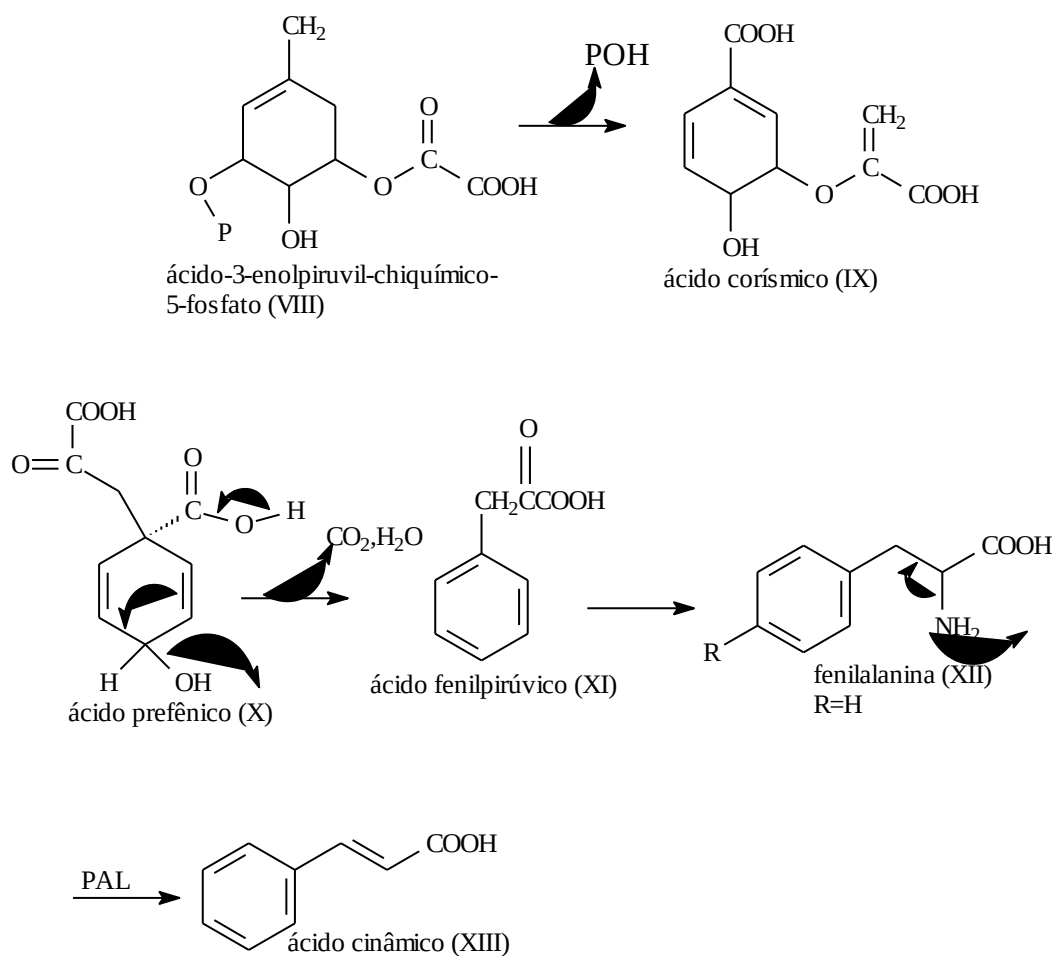
O esqueleto básico dos flavonóides, dois anéis aromáticos conectados por uma ponte de 3 átomos ($C_6-C_3-C_6$), resulta de rotas biossintéticas separadas: a do ácido chiquímico e a do acetato. A primeira origina fenilalanina, o precursor do ácido cinâmico, responsável pelo anel aromático B e a ponte de 3 carbonos. A segunda resulta no outro anel aromático (anel A) do esqueleto básico dos flavonóides (SIMÕES et al, 2004).

Na 1ª etapa da biossíntese do ácido chiquímico (ESQUEMA 1, p. 29), o fosfoenolpiruvato (I) reage com a eritrose-4-fosfato (II) produzindo o ácido 3-desoxi-D-arabino heptulosômico-7-fosfato-DAHP (III) através de uma reação aldólica (MANN, 1994). O produto é então ciclizado a ácido 5-desidroquímico (IV) pela perda do grupo fosfato. O ácido 5-desidrochiquímico (V) é formado a partir do composto (IV) pela perda de água e, em seguida, reduzida a ácido chiquímico (VI) que após fosforilação na posição 5, origina o ácido chiquímico 5-fosfato (VII) que reage com o fosfoenolpiruvato (I) formando o ácido 3-enolpirúvil chiquímico -5-fosfato (VIII). Este composto origina o ácido corísmico (IX) por eliminação de um grupo fosfato e um próton (COSTA, 2000 cita LUCKNER, 1972). O ácido corísmico (IX), por sua vez, sofre uma reordenação períclica do tipo Claisen levando ao ácido prefênico (X), que por descarboxilação, origina o ácido fenilpirúvico (XI). Este, após transaminação, seguida de descarboxilação, produz a fenilalanina (XII) (COSTA, 2002 cita BRUNETON, 1991). A fenilalanina (XII), pela ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), perde uma molécula de amônia, originando o ácido cinâmico (XIII), o precursor da maioria dos compostos classificados como fenilpropanóides (ArC_3), compostos aromáticos com uma cadeia lateral de 3 átomos de carbonos ligada ao anel aromático (MANN, 1994; SIMÕES et al, 2004).

ESQUEMA 1. Possível rota biossintética para a formação de chalconas e flavanonas.

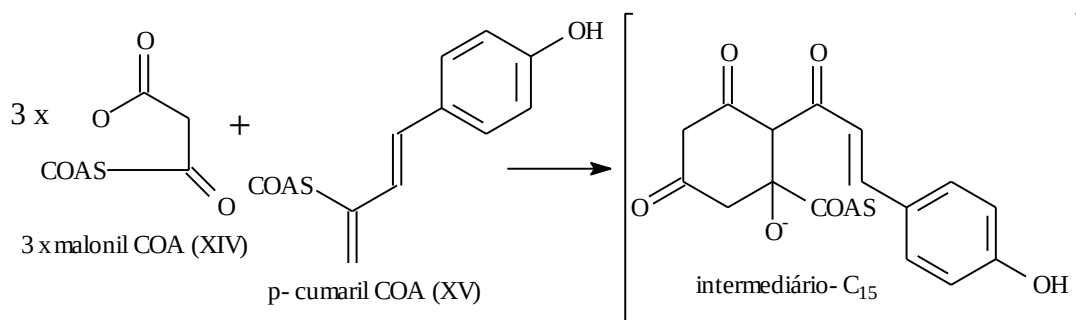
1º etapa: formação do ácido cinâmico via ácido chiquímico.



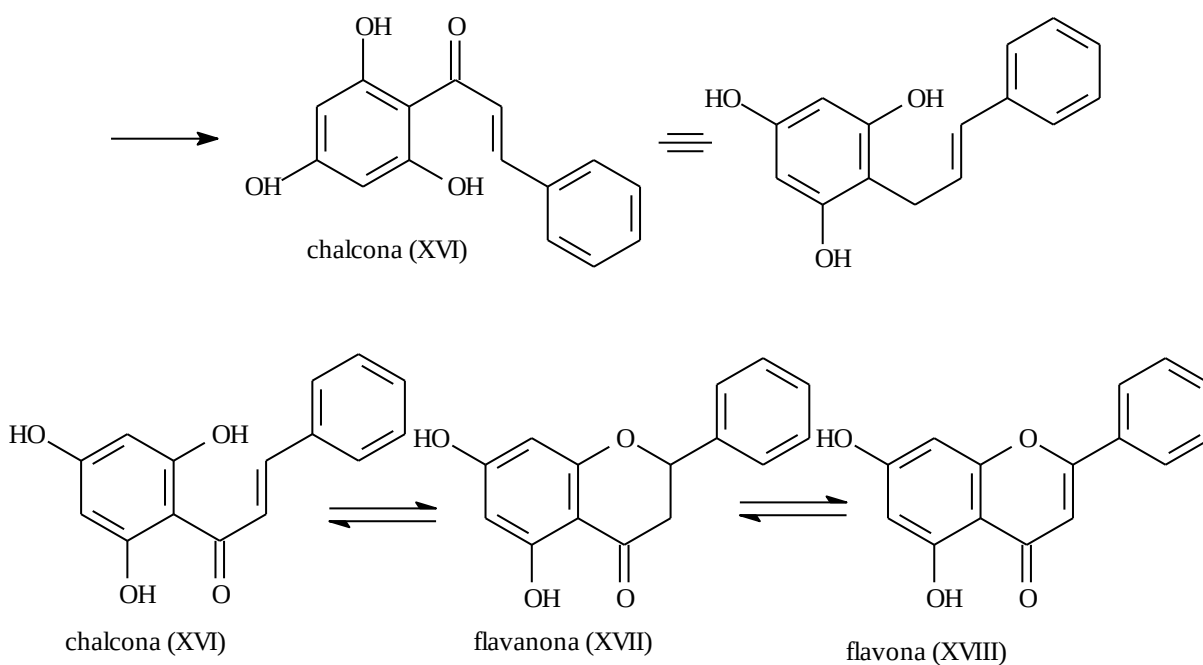


Na segunda etapa da biossíntese ocorre a condensação de 3 moléculas de acetato com um derivado do ácido cinâmico. Provavelmente, cada molécula do acetil-CoA é primeiramente convertida em malonil-CoA (XIV), enquanto que a do ácido cinâmico é convertida em p-cumaril-CoA (XV), ambas intermediárias ativas transformadas por uma coenzima-A. Após a condensação, forma-se um intermediário de 15 átomos de carbono, que catalisado pela enzima chalcona sintase sofre ciclização originando a chalcona (XVI), o intermediário comum a todos os flavonóides (LUCKNER, 1972).

2ª etapa. Condensação de 3 unidades de acetato com um derivado do ácido cinâmico para a formação da chalcona.



Geralmente as chalconas (XVI) dão origem as flavanonas (XVII), e quando em solução aquosa, ambas permanecem em equilíbrio, normalmente mantidas por uma enzima. A desidrogenação subsequente da flavanona leva à formação da flavona (XVIII) (LUCKNER, 1972).



Os compostos flavonoídicos representam cerca de 12% de todas as estruturas isoladas no gênero *Piper* quando comparadas com as outras quantidades de metabólitos secundários. Uma apreciação das estruturas dessa classe de compostos pode engrandecer a compreensão das relações quimiotaxonômicas entre o gênero *Piper* e outros gêneros e pode também proporcionar novas perspectivas de estudo da biossíntese de flavonóides.

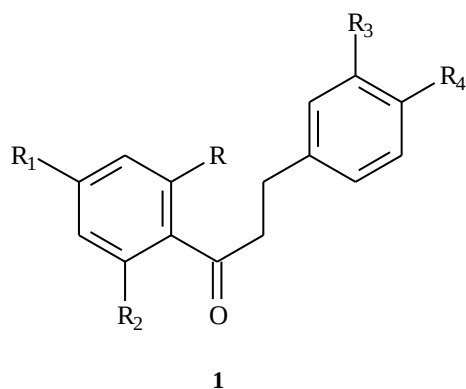
Os compostos dessa classe que foram isolados em *Piper* mostram um padrão particular de substituição – um anel B não substituído na maioria das estruturas (MOREIRA et al, 2000). Os tipos de flavonóides que têm sido encontrados em espécies de *Piper* incluem diidrochalconas (1), chalconas (2), flavanonas (3) e flavonas (4).

4.2 – FLAVONÓIDES ISOLADOS NO GÊNERO *PIPER*

4.2.1 – Diidrochalconas (1) – (quadro 3, p. 33) e chalconas (2) – (quadro 4, p. 37)

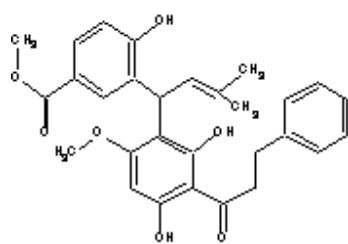
Dezenove diidrochalconas (tabela 3, p. 36) e quinze chalconas (tabela 4, p. 38), foram isoladas no gênero *Piper*. A maioria tem um padrão de oxigenação nas posições C-2', C-4' e C-6'. As exceções são a aesebogenina (1f), 2'-hidroxi-4,4',6'-trimetoxichalcona (2e) e 2',4'-dihidroxi-4',6'-dimetoxichalcona (2h), 2',4'-dihidroxi-4',6'-dimetoxidiidrochalcona (1c), 2',4'-dihidroxi-4',6',3'-trimetoxidiidrochalcona (1d) e 6',4'-dihidroxi-2',4'-dimetoxichalcona (2j), que são oxigenadas no carbono da posição 3 e/ou 4. O composto 3'-formil-3,4',6'-trihidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona (2m) foi o primeiro isolado de *Piper montealegreanum* e é um dos poucos flavonóides formilados na natureza (ALVES, 2004). Piperaduncina A-C (1g-1h), adunctina A-E (1j-1n) e metilindaretina (1o) são diidrochalconas não-típicas isoladas de *Piper aduncum*.

Diidrochalconas incomuns com substituintes prenilados (1o-1s) foram isoladas de *Piper hostmannianum*. (Tabelas 3 e 4, p. 36 e 38, respectivamente).

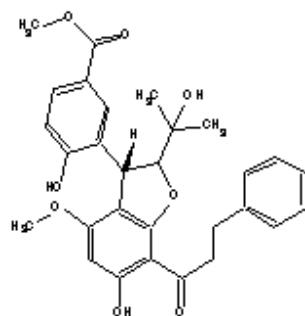


QUADRO 3: diidrochalconas isoladas de *Piper*

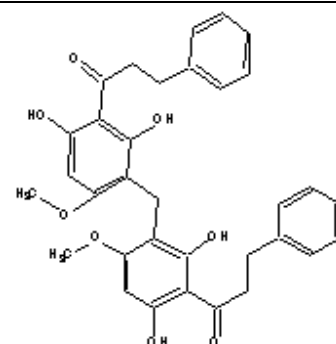
	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1a	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	H
1b	OH	OCH ₃	OH	H	H
1c	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OH
1d	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH
1e	OH	OH	OH	H	H
1f	OH	OCH ₃	OH	H	OH



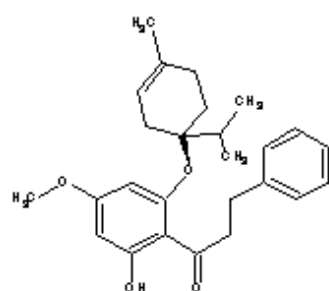
1g



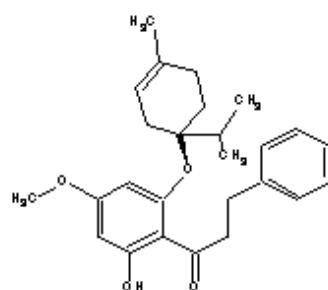
1h



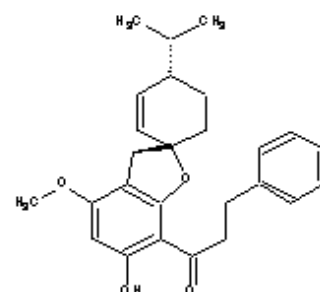
1i



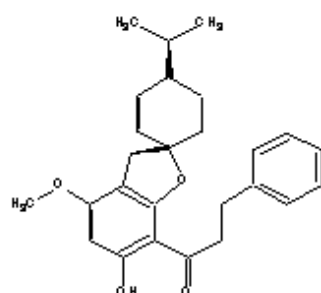
1j



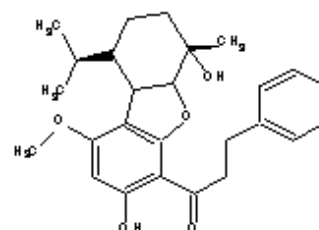
1k



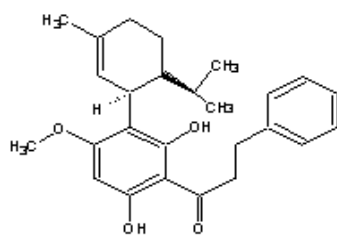
1l



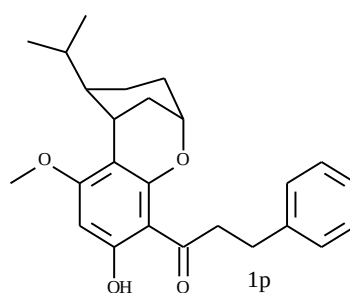
1m



1n



1o



1p

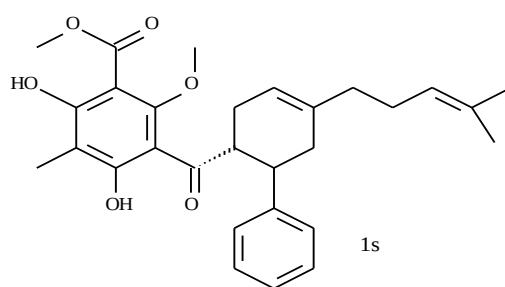
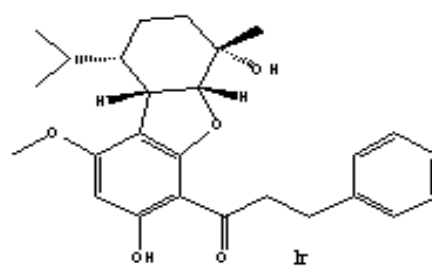
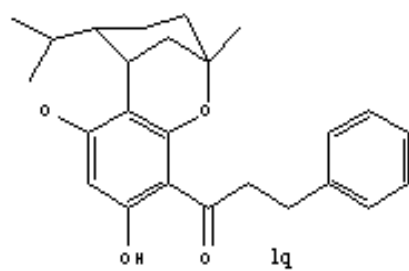
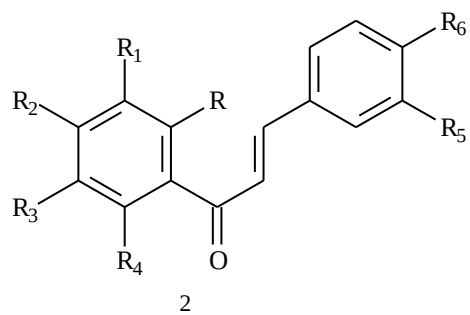


TABELA 3: distribuição de diidrochalconas no gênero *Piper*

Composto	Origem	Referências
1a: 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxidiidrochalcona	<i>P.aduncum</i>	Moreira et al., 1998
1b: 2',6'-dihidroxi-4'-metoxidiidrochalcona	<i>P. aduncum</i> <i>P. fadyenii</i> <i>P. hispidum</i> <i>P. hostmannianum</i>	Parmar et al., 1998 Burke & Nain., 1986 Vieira et al., 1980 Portet et al, 2007
1c: 2',4-dihidroxi-4',6'-dimetoxidiidrochalcona	<i>P.aduncum</i>	Moreira et al., 1998
1d: 2',4-dihidroxi-4',6',3-trimetoxidiidrochalcona	<i>P. aduncum</i>	Moreira et al., 1998
1e: 2',4',6'-trihidroxiidrochalcona	<i>P. aduncum</i>	Orjala et al., 1994
1f: 2',6',4-trihidroxi-4'-metoxidiidrochalcona	<i>P. aduncum</i> <i>P. elongatum</i> <i>P.longicaudatum</i>	Orjala et al., 1994 Masuoka et al., 1997 Joshi et al., 2001
1g: piperaduncina A	<i>P. aduncum</i>	Orjala et al., 1994
1h: piperaduncina B	<i>P. aduncum</i> <i>P. longicaudatum</i>	Orjala et al., 1994 Joshi et al., 2001
1I: piperaduncina C	<i>P. aduncum</i>	Orjala et al., 1994
1j: adunctina A	<i>P. aduncum</i>	Orjala et al., 1993
1k: adunctina B	<i>P. aduncum</i>	Orjala et al., 1993
1l: adunctina C	<i>P. aduncum</i>	Orjala et al., 1993
1m: adunctina D	<i>P. aduncum</i>	Orjala et al., 1993
1n: adunctina E	<i>P. aduncum</i> <i>P. hostmannianum</i>	Orjala et al., 1993 Portet et al, 2007
1o: methillinderatina	<i>P.aduncum</i> <i>P. hostmannianum</i>	Orjala et al., 1993 Portet et al, 2007
1p: 2'hidroxi-4'-metoxi'5',6-'O-(4β-isopropil-1β-metil-ciclohexano-1-O-5-il) diidrochalcona (hostmanin A)	<i>P. hostmannianum</i>	Portet et al, 2007
1q: hostmanin B	<i>P. hostmannianum</i>	Portet et al, 2007
1r: hostmanin C	<i>P. hostmannianum</i>	Portet et al, 2007
1s: hostmanin D	<i>P.hostmannianum</i>	Portet et al, 2007



QUADRO 4: chalconas isoladas de *Piper*

	R	R1	R2	R3	R4	R5	R6
2a	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
2b	OH	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
2c	OH	H	OCH ₃	H	OH	H	H
2d	OCH ₃	H	OH	H	OH	H	H
2e	OH	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H
2f	OH	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
2g	OH	H	OH	H	OH	H	H
2h	OH	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OH	H
2i	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	OH	H	H
2j	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	OH	H	H
2l	OCH ₃	CH ₃	OCH ₃	CH ₃	OH	H	H
2m	OCH ₃	CHO	OH	CH ₃	OH	H	OH
2n	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OH	H	OCH ₃
2o	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OH	H	H
2p	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OH	H	OH

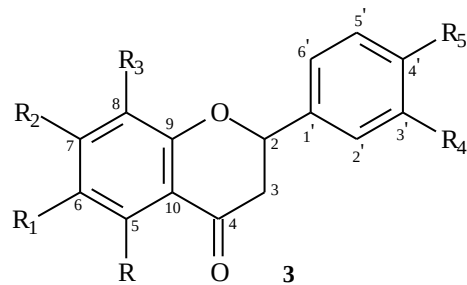
TABELA 4 - distribuição das chalconas no gênero *Piper*

Composto	Origem	Referências
2a: 2'-hidroxi-3',4',6'-trimetoxichalcona	<i>P. hispidum</i> <i>P. dilatatum</i>	Vieira et al., 1980 Terreaux et al.,1998
2b: 2',3'-dihidroxi-4',6'-dimetoxichalcona	<i>P. hispidum</i> <i>P. dilatatum</i>	Vieira et al., 1980 Terreaux et al.,1998
2c: 2',6'-dihidroxi-4'-metoxichalcona	<i>P. aduncum</i>	Moreira et al., 1998 Okunade et al., 1997
2d: 4',6'-dihidroxi-2'-metoxichalcona	<i>P. dilatatum</i> <i>P. glandulosissimum</i>	Terreaux et al.,1998 Santos, 2004
2e: 2'-hidroxi-4,4',6'-trimetoxichalcona	<i>P. methysticum</i>	Som et al., 1983
2f: 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxichalcona	<i>P. methysticum</i> <i>P. dilatatum</i>	Haensel et al., 1963 Terreaux et al.,1998
2g: 2',4',6'-trihidroxichalcona	<i>P. lanceaefolium</i>	López et al., 2002
2h: 2',4'-dihidroxi-4',6'-dimetoxichalcona	<i>P. methysticum</i> <i>P. marginatum</i>	Som et al., 1983 Dutta & Som., 1978
2i: 6',4'-dihidroxi-2',4'-dimetoxichalcona	<i>P. murrayanum</i>	Seeram et al., 1996
2j: 4',6'-dihidroxi-2',5'-dimetoxihalcona	<i>P. glandulosissimum</i>	Santos, 2004
2l: 2'-hidroxi4',6'-dimetoxi3',5'-dimetilchalcona	<i>P. carniconnectivum</i>	Facundo & Braz-Filho, 2004
2m:3'-formil-3,4',6'-trihidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona	<i>P. montealegreanum</i>	Alves, 2004
2n: 6'-hidroxi-2',4',4'-trimetoxichalcona (flavokavina A)	<i>P. methysticum</i>	Meissner & Haberlein, 2005
2o: 6'-hidroxi-2',4'-dimetoxichalcona (flavokavina B)	<i>P. methysticum</i>	Meissner & Haberlein, 2005
2p: 4',6'-dihidroxi-2',4'-dimetoxichalcona (flavokavina C)	<i>P. methysticum</i>	Meissner & Haberlein, 2005

4.2.2 - Flavanonas (3) – (quadro 5, p. 39)

Além da ausência de uma dupla ligação entre os carbonos das posições 2 e 3, as flavanonas têm um centro quiral no carbono 2, que geralmente dispõe o anel B em posição α (BOHM, 1998). Os compostos isolados no gênero *Piper* (tabela 5, p. 40) apresentam substituintes oxigenados apenas no anel A, exceto a narigenina (3c) e a sakuranetina (3e) nas quais os grupos hidroxilas estão no C-4' do anel B (tabela 5). 7-hidroxi-5,8-dimetoxiflavanona (3l) foi isolada de *Piper glandulosissimum* (SANTOS,

2004). O novo composto 8-formil-3',5-dihidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona (3p) foi isolado de *Piper montealegreanum* e mostra um grupo formila no C-8 com a presença de uma rara hidroxila isolada presa ao C-3' do anel B (ALVES, 2004).



Quadro 5: flavanonas isoladas de *Piper*

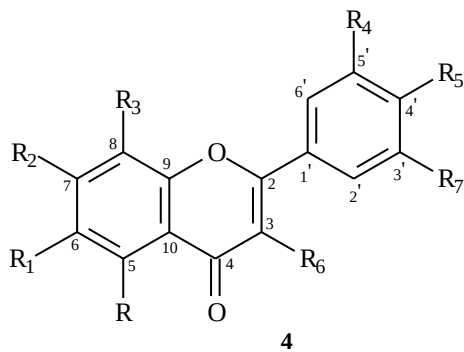
	R	R1	R2	R3	R4	R5
3a	OH	H	OCH ₃	H	H	H
3b	OH	H	OH	H	H	H
3c	OH	H	OH	H	H	OH
3d	OH	CH ₃	OCH ₃	CH ₃	H	H
3e	OH	H	OCH ₃	H	H	OH
3f	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	H	H
3g	OCH ₃	H	OH	H	H	H
3h	OCH ₃	H	OCH ₃	OH	H	H
3i	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H	H
3j	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H
3k	OH	H	OCH ₃	OH	H	H
3l	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	H	H
3m	OH	CH ₃	OCH ₃	H	H	H
3n	OH	H	OCH ₃	CH ₃	H	H
3o	OH	CH ₃	OCH ₃	CH ₃	H	H
3p	OH	CH ₃	OCH ₃	CHO	OH	H

TABELA 5: distribuição de flavanonas no gênero *Piper*

Composto	Origem	Referências
3a: 5-hidroxi-7-metoxiflavanona (pinostrobina)	<i>P. aduncum</i> <i>P. fadyenni</i> <i>P. hispidum</i> <i>P. steerni</i> <i>P. guanacastensis</i> <i>P. methysticum</i>	Burke et al., 1986 Nair et al., 1986 Vieira et al., 1980 Posso et al., 1994 Pereda-Miranda et al, 1994 Wu et al., 2002
3b: 5,7-dihidroxiflavanona (pinocembrina)	<i>P. hostmannianum</i> <i>P. steerni</i> <i>P. lanceaefolium</i>	Diaz et al., 1987 Posso et al., 1994 López et al., 2002
3c: 5,7,4'-trihidroxiflavanona (narigenina)	<i>P. crassinervium</i>	Danelutte et al., 2003
3d: 5-hidroxi-7-metoxi-6,8-dimetilflavanona	<i>P. hostmannianum</i>	Diaz et al., 1987
3e: 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavanona (sakuranetina)	<i>P. aduncum</i> <i>P. crassinervium</i> <i>P. lhotzkyanum</i> <i>P. marginatum</i>	Orjala et al., 1994 Danelutte et al., 2003 Moreira et al., 2000 Reigada, 2007
3f: 6-hidroxi-5,7-dimetoxiflavanona	<i>P. hispidum</i>	Vieira et al., 1980
3g: 7-hidroxi-5-metoxiflavanona (alpinetina)	<i>P. aduncum</i>	Moreira et al., 1998
3h: 8-hidroxi-5,7-dimetoxiflavanona	<i>P. hispidum</i>	Vieira et al., 1980
3i: 5,7-dimetoxiflavanona	<i>P. methysticum</i>	Wu et al., 2002
3j: 5,7,8-trimetoxiflavanona	<i>P. hispidum</i> <i>P. glandulosissimum</i>	Vieira et al., 1980 Santos, 2004
3k: 5,8-dihidroxi-7-metoxiflavanona	<i>P. glandulosissimum</i>	Santos, 2004
3l: 7-hidroxi-5,8-dimetoxiflavanona	<i>P. glandulosissimum</i>	Santos, 2004
3m: 5-hidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona	<i>P. carniconnectivum</i>	Facundo & Braz-Filho, 2004
3n: 5-hidroxi-7-metoxi-8-metilflavanona	<i>P. carniconnectivum</i>	Facundo & Braz-Filho, 2004
3o: 5-hidroxi-7-dimetoxi-6,8-dimetilflavanona	<i>P. carniconnectivum</i>	Facundo & Braz-Filho, 2004
3p: 8-formil-3',5-dihidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona	<i>P. montealegreanum</i>	Alves, 2004
3q: strobopinina	<i>P. hostmannianum</i>	Portet et al, 2007
3r: 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavanona	<i>P. marginatum</i>	Reigada, 2007

4.2.3 – Flavonas (4) – (quadro 6, p. 41)

As flavonas isoladas do gênero *Piper* geralmente são tri ou tetraoxigenadas (tabela 6, p. 43). Algumas C- ou O-glicosilflavonas foram isoladas de *Piper nigrum* e outras poucas espécies (PARMAR et al, 1997).



QUADRO 6: flavonas isoladas de *Piper*

	R	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
4a	OH	H	OH	H	H	H	H	H
4b	H	H	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	H	OH
4c	OH	H	OCH ₃	H	H	H	H	H
4d	OH	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H
4e	OH	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
4f	OH	H	OH	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H
4g	OH	H	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	H
4h	OH	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	H
4i	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H	H	H	H
4j	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
4k	OH	glu	O-glu	H	H	H	OCH ₃	H
4l	OH	glu	O-glu	H	H	H	OCH ₃	H

4m	OH	H	OCH ₃	glu	H	H	H	H
4n	OH	H	OH	H	OH	H	O-glu	H
4o	OH	H	OH	H	OH	O-gal	OH	H
4p	OH	H	OH	H	OH	O-rha	OH	H
4q	OH	H	OH	H	OH	O-rut	OH	H
4r	OH	H	OH	H	OH	O-rut	OCH ₃	H
4s	OH	H	OCH ₃	H	O-glu	O-glu	O-glu	H
4t	OH	H	OH	H	H	O-glu	OH	H
4u	OH	H	O-rha	H	H	O-ara	OH	H
4v	OH	H	OH	glu	H	H	OH	H
4w	OH	H	OH	glu	H	H	OCH ₃	H
4x	OH	H	OH	OCH ₃	H	H	O-glu	H
4y	OH	H	OCH ₃	H	OH	OH	H	H
4z	OH	H	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	H	H
4z1	OH	H	OCH ₃	H	H	OH	H	H
4z2	OH	H	OH	H	H	H	OH	H
4z3	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	CH ₂ O ₂	H	CH ₂ O ₂

TABELA 6: distribuição de flavonas no gênero *Piper*

Composto	Origem	Referências
4a: 5,7-diidroxiflavona (chrysina)	<i>P. guanacastensis</i>	Pereda-Miranda et al., 1997
4b: 3'-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona	<i>P. auritum</i>	Ampofo et al., 1987
4c: 5-hidroxi-7-metoxiflavona (tectochrysina)	<i>P. falconeri</i> <i>P. manii</i> <i>P. sylvaticum</i> <i>P. aduncum</i>	Parmar et al., 1993 Parmar et al., 1998 Malhotra et al., 1990 Moreira et al., 1998
4d: 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona	<i>P. falconeri</i> <i>P. khasiana</i> <i>P. manauense</i> <i>P. manii</i> <i>P. peepuloides</i> <i>P. sylvaticum</i>	Parmar et al., 1997 Parmar et al., 1998 DeDiaz et al., 1990 Parmar et al., 1998 Parmar et al., 1998 Parmar et al., 1998
4e: 5-hidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona	<i>P. peepuloides</i> <i>P. sylvaticum</i>	Parmar et al., 1998 Malhotra et al., 1990
4f: 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona (acacetina)	<i>P. guanacastensis</i>	Pereda-Miranda et al., 1997
4g: 5,3'-dihidroxi-7,4'-dimetoxiflavone (pilloína)	<i>P. auritum</i> <i>P. sylvaticum</i>	Ampofo et al., 1987 Banerji & Pal, 1982
4h: 5,4'-dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona (velutina)	<i>P. clarkii</i>	Jensen et al., 1994
4i: 5,7-dimetoxiflavona	<i>P. caninum</i>	Ahmad et al., 1997
4j: 5,7,3',4',5'-pentametoxiflavona	<i>P. caninum</i>	Ahmad et al., 1997
4k: 5-hidroxi-6-C β -D-glucosilpiranosil-7-O-glucosilacetina	<i>P. brachystachyum</i>	Parmar et al., 1997
4l: 5-hidroxi-6-C β -D-galactosilpiranosil-7-O-glucosilacetina	<i>P. brachystachyum</i>	Parmar et al., 1997
4m: 5-hidroxi-7-metoxi-8-C- β -glucosilflavona (kaplanin)	<i>P. lhotzkyanum</i>	Moreira et al., 2000
4n: quercetina 3-glucopiranosídeo (Isoquercetina)	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4o: quercetina 3-O- β -D-galactosídeo (hiperosídeo)	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4p: quercetina 3-ramnosídeo (quercitrina)	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4q: quercetina 3- β -D-rutinosídeo (rutina)	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4r: isoramnetina 3-O- β -D-rutinosídeo	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4s: ramnetina O-triglucosídeo	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4t: kaempferol 3-O- β -D-glucosídeo (astragalina)	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4u: kaempferol 3-O-arabinosídeo-7-O-rhamnosídeo	<i>P. nigrum</i>	Voesgen et al., 1980
4v: vitexin 8-gentobiosídeo (marginatosídeo)	<i>P. marginatum</i>	Tillequin et al., 1978
4w: 8-C- β -D-glucosil-4'-O-metilapigenina (trematina)	<i>P. bogotense</i>	Pena et al., 2000
4x: vitexina	<i>P. marginatum</i>	Tillequin et al., 1978
4y: 3',4',5-trihidroxi,7-metoxiflavona	<i>P. carniconnectivum</i>	Alves et al., 2006
4z: 3',5-dihidroxi,4',7-dimetoxiflavona	<i>P. auritum</i> <i>P. carniconnectivum</i>	Ampofo et al., 1987 Alves et al., 2006
4z1: 4',5-dihidroxi,7-metoxiflavona	<i>P. carniconnectivum</i>	Alves et al., 2006
4z2: 3,5,7-trihidroxi,7-metoxiflavona (galangina)	<i>P. aleyreanum</i>	Facundo et al., 2003
4z3: 5,5',7-trimetoxi-3',4'-metilenodioxiflavona	<i>P. alatabaccum</i>	Facundo et al., 2004

4.3 - FLAVONÓIDES MONOTERPÊNICOS

O número de novas diidrochalconas isopreniladas reportadas na literatura de 1992 a 2003 é inferior a trinta estruturas. Muitas dessas diidrochalconas são caracterizadas por apresentarem substituintes prenila, geranila, furano e pirano, que são excepcionais em termos estruturais (ØYVIND & KENNETH, 2006). Costumeiramente, um grupo de diidrochalconas isopreniladas (2',4',6') *orto* substituídas são mais comuns, sendo encontradas especialmente em Annonaceae e Piperaceae (*Piper aduncum* e *Piper caudatum*) (ORJALA et al, 1994, JOSHI et al, 2001).

Uma das maiores características da estrutura química de chalconas e diidrochalconas é a sua habilidade em reagir como um dienófilo em reações enzimáticas catalisadas por reagentes tipo Diels-Alder. Os dienos que participam dessa reação são chamados de adutos Diels-Alder e competem a eles a ligação de unidades isoprênicas a compostos como cumarinas e flavonóides (ØYVIND & KENNETH, 2006).

De acordo com o esquema biossintético proposto por HANO (1992) foi possível prever como um aduto inicial reagiu com a 2',4',2,4-tetrahidroxichalcona para formar a diidrochalcona monoterpênica via uma reação de Diels-Alder. (Figura 3).

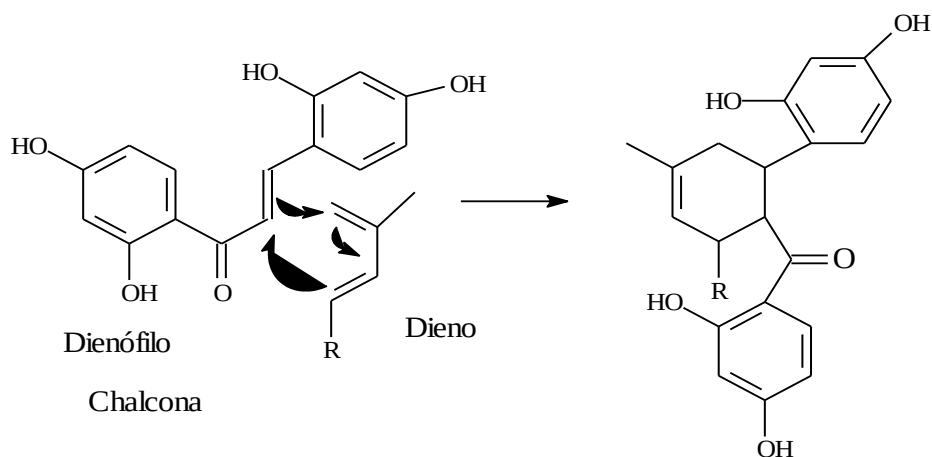
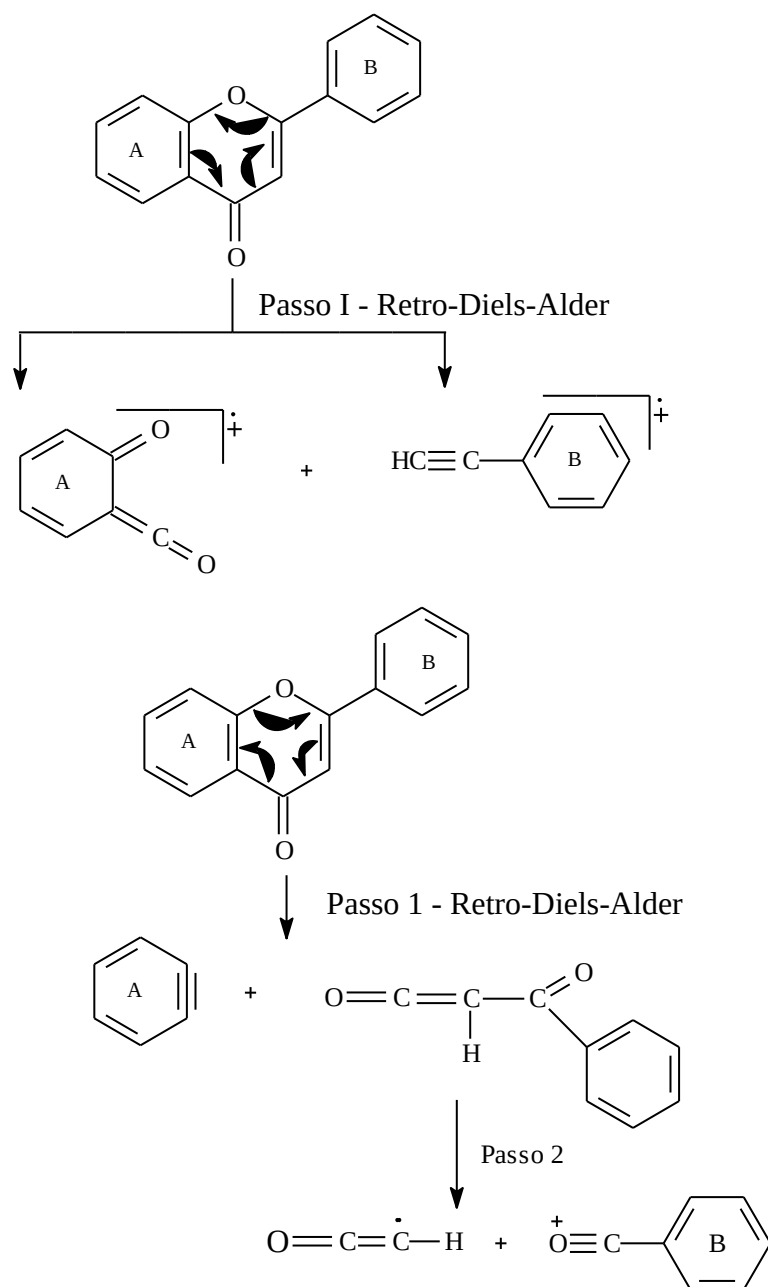


Figura 4: via biossintética proposta para a formação de diidrochalcona isoprênica.

4.4 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE FLAVONÓIDES

Por muito tempo se tem obtido espectros de massas de flavonóides por impacto eletrônico, principalmente aqueles que possuem estruturas mais simples. As amostras de flavonóides precisam ser suficientemente voláteis e estáveis às temperaturas usadas no espectrômetro. Temperaturas mais altas são necessárias em casos de compostos mais polares. Flavonóides pouco voláteis ou glicosilados devem ser derivatizados de modo a permitir a volatilização (AGRAWAL, 1989). Neste último caso, é conveniente utilizar-se também a Espectrometria de Massas por Bombardeamento Atômico Rápido (FAB-MS), pois este método permite a formação de um forte pico do íon molecular, indicando o número e o tipo de unidades de açúcar presentes sem a necessidade de derivatização. A técnica de FAB-MS é particularmente importante na determinação dos pontos de ligação com oligossacarídeos (HARBORNE, 1994).

Fragmentos característicos em espectros de massas de flavonóides resultam da abertura dos anéis A e C, envolvendo normalmente dois passos (Esquema 2, p.46), nos quais ocorrem fragmentações do tipo Retro Diels-Alder.



Esquema 2 - Tipos de fragmentação ocorrentes em flavonóides (NKENGFACK et al., 1993; CHEN et al., 1997; CHEN & MONTANARI, 1998).

4.5 - CONSIDERAÇÕES SOBRE AS OUTRAS CLASSES DE CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Piper montealegreanum* e *Piper carniconectivum*

Além dos flavonóides, outras classes de constituintes químicos foram isolados das espécies pesquisadas neste trabalho, entre eles: fenilalcanóides, cerídeo (trata-se de um ácido graxo unido a um álcool; nessa tese o exemplo de álcool foi o diterpeno fitol unido ao ácido palmítico), esteróides e feofitinas. A seguir será feito um breve relato sobre cada uma dessas classes englobando características gerais e aspectos biossintéticos.

4.5.1 – Biossíntese dos derivados do ácido chiquímico e do ácido cinâmico

O ácido chiquímico é formado pela condensação aldólica de dois metabólitos de glicose: o fosfenolpiruvato e a eritrose-4-fosfato (Figura 5, p. 47). Uma vez formado, o ácido chiquímico pode ser metabolizado em ácido corísmico ou ácido gálico. Como o pH prevalente na planta torna os ácidos ionizáveis, poder-se-ia designar esses metabólitos como chiquimato, corismato e galato, respectivamente (SIMÕES et al, 2004).

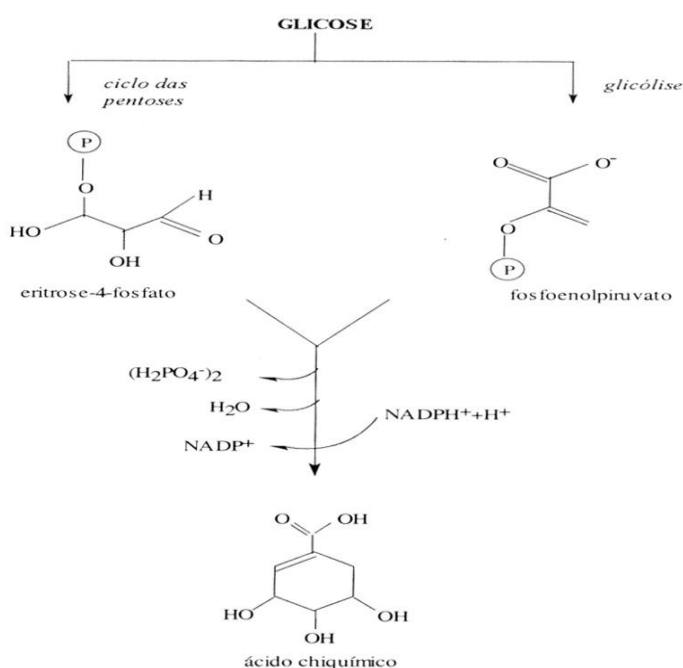


Figura 5 – Biossíntese do ácido chiquímico

O ácido corísmico, resultante de uma molécula de ácido chiquímico e uma de fosfoenolpiruvato, por sua vez, originam os aminoácidos aromáticos, precursores dos fenilpropanóides (Figura 6, p. 48).

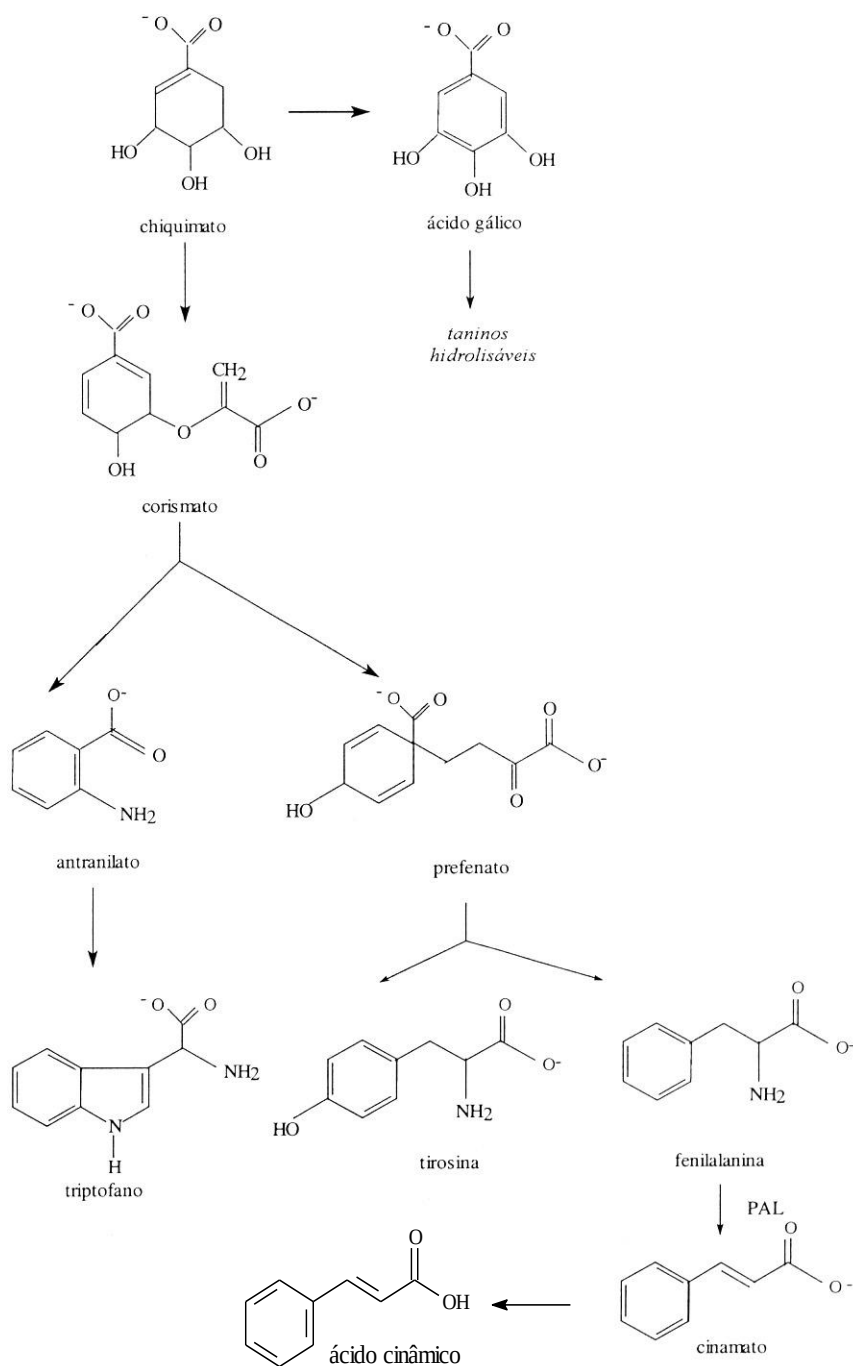


Figura 6 – Origem biossintética do ácido cinâmico

4.5.2 – Biossíntese dos ácidos graxos

A condensação de unidades de acetato, também conhecida como a rota biossintética do acilpolimalonato (Figura 7, p. 49), origina substâncias de longas cadeias carbonadas, os ácidos graxos.

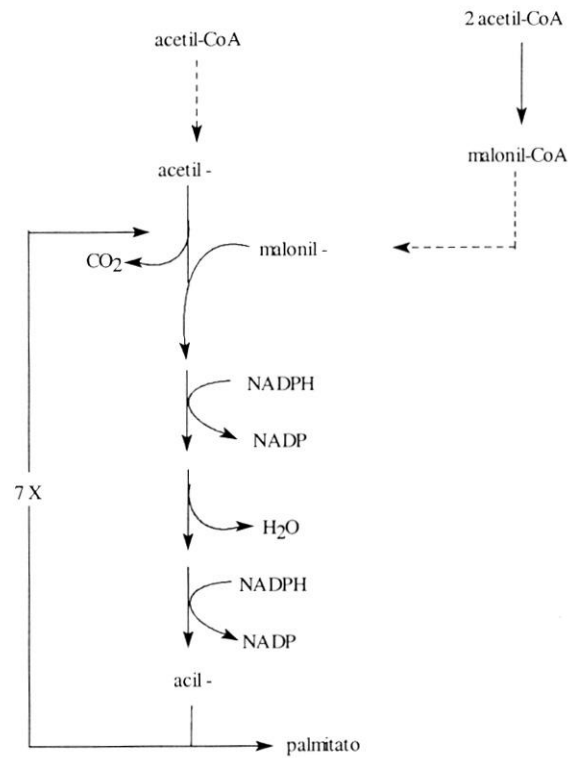


Figura 7 – Rota biossintética dos ácidos graxos

4.6 – TERPENÓIDES E ESTERÓIDES

4.6.1 – Considerações gerais

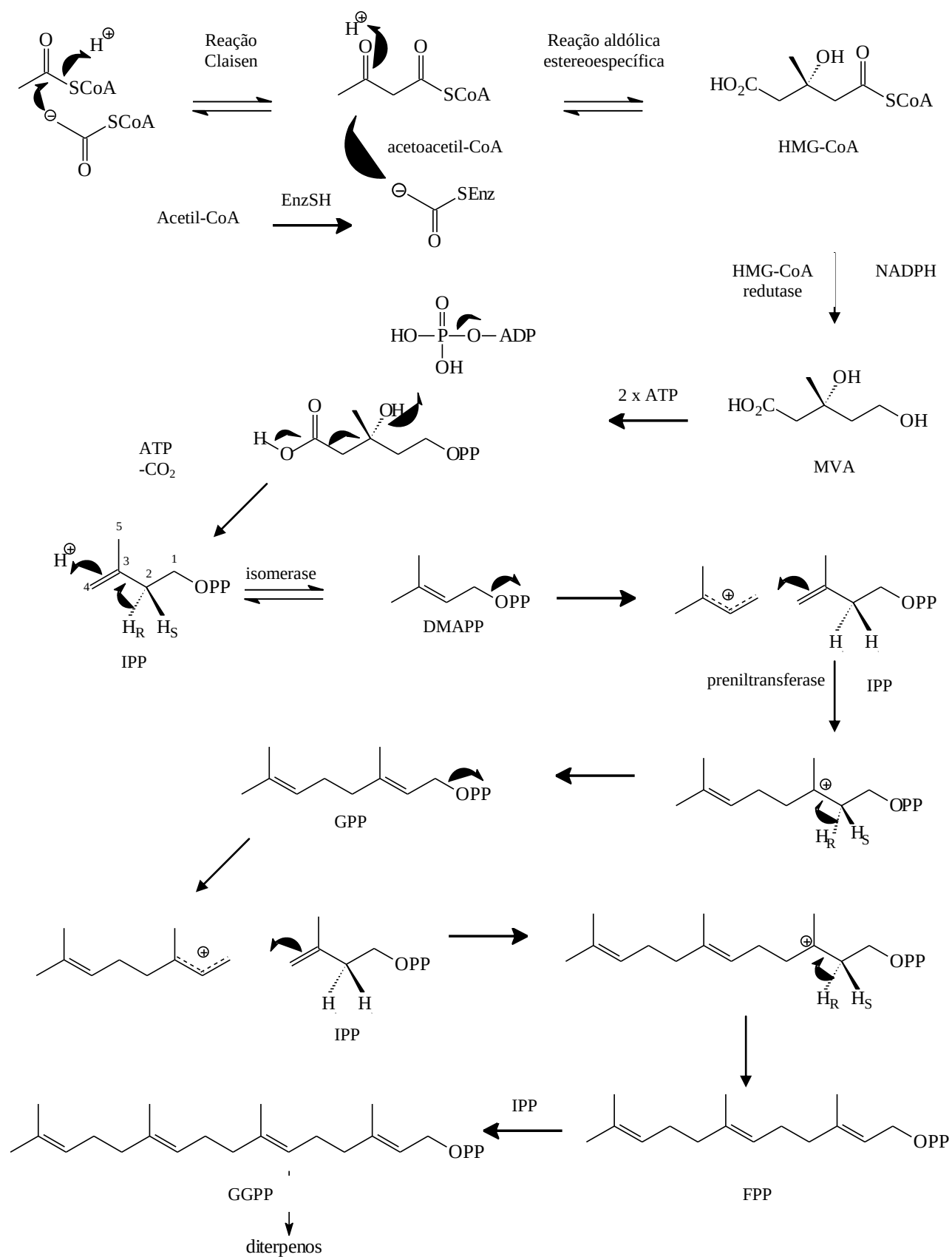
Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo que esse termo é empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades de isopreno, um precursor da via do ácido mevalônico.

Os esteróides constituem uma classe de compostos naturais com ampla distribuição na natureza, que apresentam em sua estrutura química um núcleo ciclopentanoperidrofenantreno. A diversidade das atividades biológicas desses metabólitos compreende o desenvolvimento e o controle do sistema reprodutor humano, indução da reprodução sexual em fungos aquáticos, entre outras. Além disso, têm uma gama de aplicações terapêuticas: podem funcionar como cardiotônicos, precursores de vitamina D, anticoncepcionais orais, agentes antiinflamatórios e agentes anabolizantes (ROBBERS, 1997).

4.6.2 - Aspectos biossintéticos dos esteróides

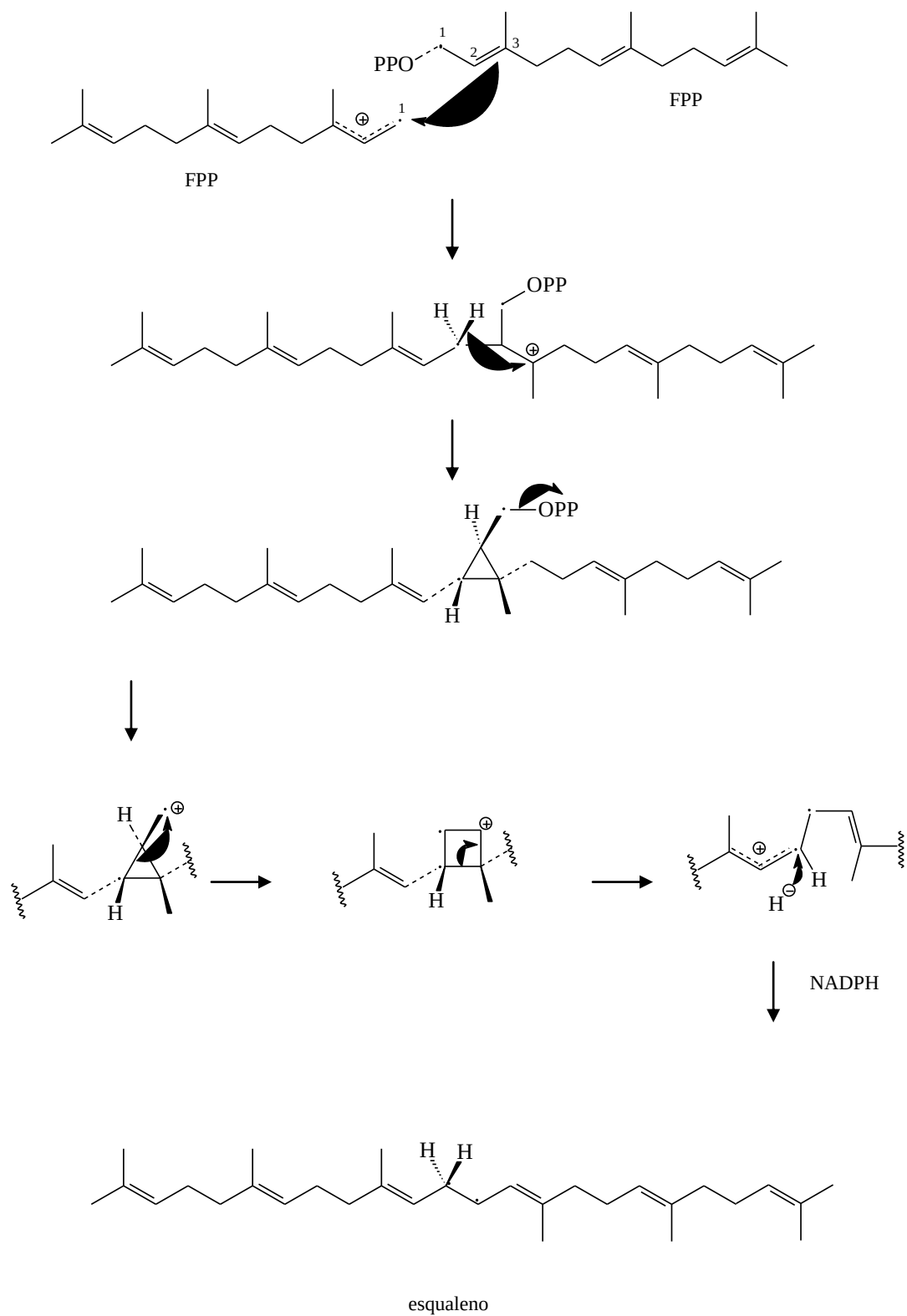
Os esteróides são derivados da via do ácido mevalônico, a partir da combinação de unidades de isopreno ativo. Na primeira etapa (Esquema 3, p.52), duas unidades de acetil-CoA combinam-se através de uma condensação de Claisen formando acetoacetil-CoA. A incorporação de uma terceira unidade de acetil-CoA via uma adição aldólica estereoespecífica fornece o éster β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) que é reduzido a ácido (3R)-mevalônico (MVA), num processo que depende de NADPH. Nos passos seguintes, o ácido mevalônico é fosforilado em sequência e produz 5-fosfato de mevalonato, que é então descarboxilado, formando isopentenil pirofosfato (IPP), ou

isopreno ativo, a unidade de construção C_5 da biossíntese dos esteróides e triterpenos. A isomerização do pirofosfato de isopentenila e sua conversão em 3,3-dimetilalil pirofosfato (DMAPP), com a subsequente condensação cabeça-cauda destas unidades C_5 (DMAPP + IPP), sob a influência da preniltransferase, origina o pirofosfato de geranila (GPP). Este por sua vez, pode sofrer adição sequencial de pirofosfato de isopentenila (IPP) por conjugação entre as extremidades superior e inferior (cabeça-cauda), produzindo-se pirofosfato de farnesila (FPP) e pirofosfato de geranilgeranila (GGPP) (Esquema 3, p.52). A dimerização entre as extremidades cabeça-cauda do pirofosfato de farnesila (FPP) forma o esqualeno (2ª etapa), precursor dos esteróides (Esquema 4, p. 53). A ciclização do esqualeno (3ª etapa) origina os triterpenos (C_{30}), como por exemplo, o lanosterol, que leva à formação dos esteróides (C_{27}), ou seja, triterpenos modificados contendo o anel tetracíclico do sistema lanosterol após a perda dos grupos metilas das posições C-4 e C-14. (Esquema 5, p. 54) (ROBBERS, 1997; DEWICK, 1997).

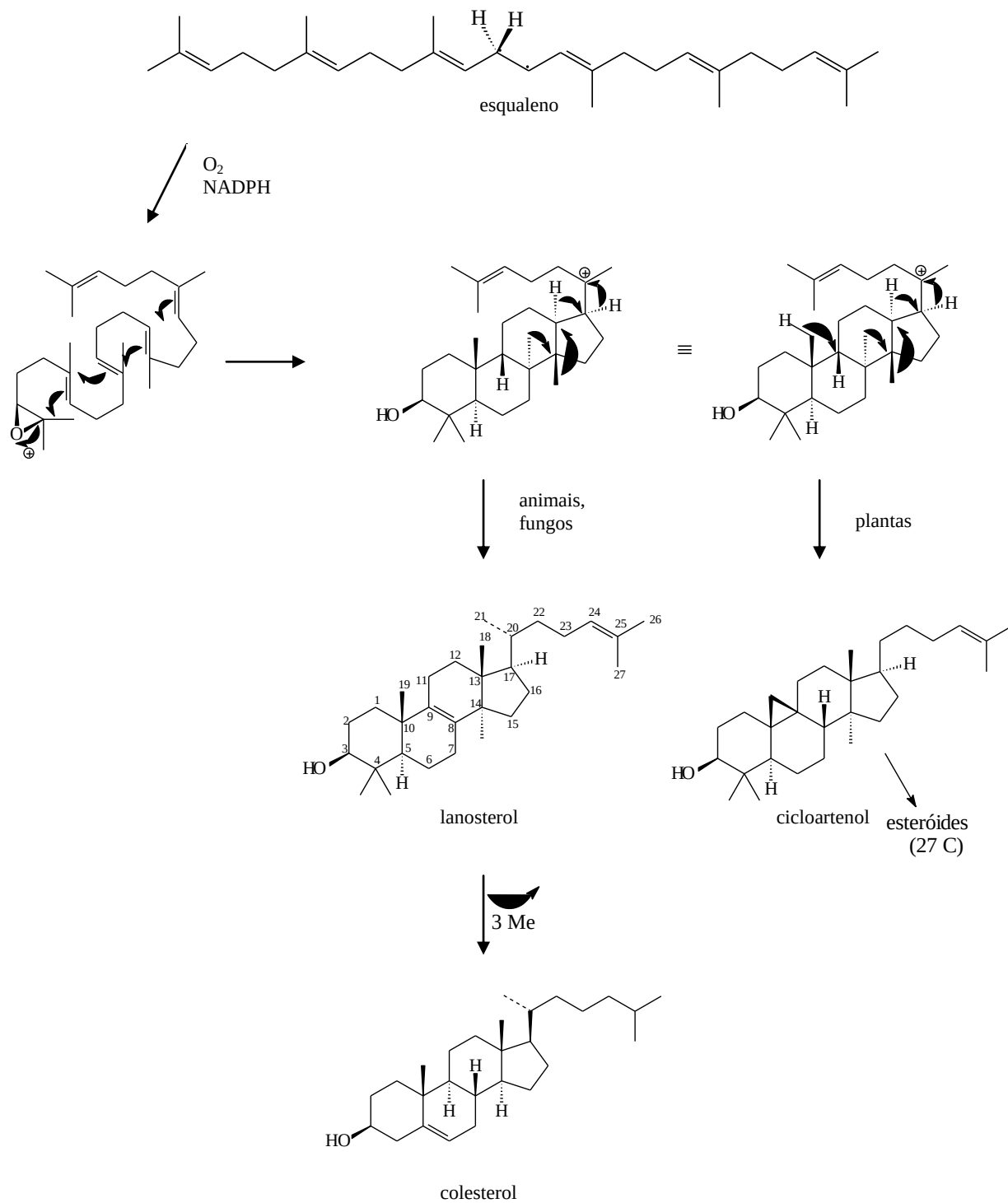


Esquema 3 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (1ª etapa)

(DEWICK, 1997)



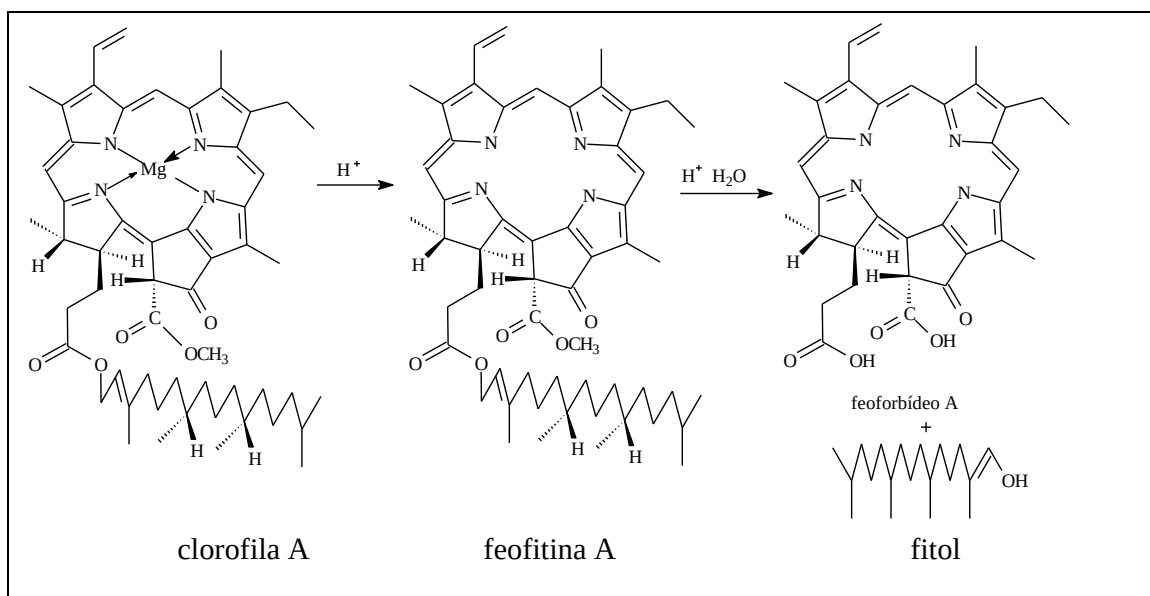
Esquema 4 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (2ª etapa) (DEWICK, 1997)



Esquema 5 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (3ª etapa) (DEWICK, 1997)

4.7 – FEOFITINAS

São substâncias contendo um sistema tetrapirrólico do tipo porfirínico. Originam-se biossinteticamente da clorofila A que sofre a perda de magnésio em meio ácido dando origem às feofitinas, as quais, por sua vez, são hidrolisadas na porção éster por ação da enzima clorofilase, produzindo o feoforbídeo A e o fitol (GREGORY, 1978; BARKER, 1977), como mostrado no esquema abaixo:



Esquema 6: formação das feofitinas

No entanto, alguns estudos demonstram que tais compostos possam existir *in natura* nas plantas, como foi demonstrado por SILVA et col. (2006) através do seguinte método: as partes aéreas da planta *Gossipium mustelinum* recém-coletadas foram extraídas com $CHCl_3$ e imediatamente analisadas com padrões em HPLC-UV.

O consumo de vegetais é um importante fator na dieta humana. Feofitinas, feoforbídeos e pirofeofitinas, assim com as clorofilas, são também conhecidas por serem benéficas à saúde na prevenção de doenças relacionadas à idade (JERZ et al, 2007). Diferentes atividades biológicas das porfirinas têm sido documentadas: por exemplo, a forte ação antioxidante das feofitinas nos extratos lipofílicos do chá verde

Cammelia sinensis (HIGASHI-OKAI et al, 2000). Também foram relatadas como substâncias citostáticas em modelos "in vitro", que podem servir como potentes agentes para o tratamento de tumores malignos e na prevenção do câncer (NAGATAWI et al, 1981; CHERMOMORSKI et al, 1999).

5 - *Experimental*

5 – EXPERIMENTAL

5.1 - EQUIPAMENTOS, TÉCNICAS E REAGENTES

5.1.1 – Infravermelho

Os dados espectrais na região do infravermelho foram obtidos em aparelho Perkin-Elmer, FT-IR-1750 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica/UFPB, utilizando-se de 1 a 3 mg de amostra em pastilhas de KBr, com frequência medida em cm^{-1} .

5.1.2 – Ultravioleta

A análise espectroscópica na região do ultravioleta (UV) foi realizada em aparelho da marca Vankel, modelo Vankel-50 UV-Vis, com cerca de 1 mg da amostra dissolvida em metanol. Foi utilizado como reagente de deslocamento o cloreto de alumínio anidro em metanol.

5.1.3 - Ressonância Magnética Nuclear

Utilizou-se espectrômetros BRUCKER-AC (UFC) a 500 (^1H) e 125 (^{13}C) MHz e MERCURY-VARIAN a 200 (^1H) e 50 (^{13}C) e 500 (^1H) e 125 (^{13}C) MHz [LTF/UFPB], otimizados para técnicas uni e bidimensionais, utilizando-se quantidades variáveis de amostras. Os solventes empregados foram CDCl_3 , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, MeOD e $\text{C}_6\text{D}_5\text{N}$ tendo-se como referência interna o tetrametilsilano (TMS).

5.1.4 – Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas

A análise do peso molecular e da fragmentação de massa das substâncias foi realizada em espectrômetro de massa acoplado a cromatógrafo a gás da marca SHIMADZU, modelo QCMS-QP5050A, com cerca de 1-5 mg de amostra. O aparelho é composto por uma coluna apolar (DB-1) com diâmetro interno de 0,25 mm e comprimento de 30m e tinha como fase estacionária o dimetilpolisiloxano. Para a análise de flavonóides, fez-se derivatização de cada amostra com 100 uL de trimetilsilano – CH_3Si (P.M.=73 u.m.a.) e 50 uL de piridina para que o composto pudesse ser vaporizado e fragmentado. Em seguida, a mistura da amostra com os reagentes foi aquecida a 60°C/5 minutos para então ser injetada (KITSON et al, 1996). (OBS: para a defesa da tese não foi possível realizar os espectros de massas das substâncias, mas a técnica acima pode ser utilizada como referência)

Para a análise do composto codificado por PC-4 foi utilizado um CLAE (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massas Quattro LC (Watter, Manchester-UK), equipado com uma fonte ESI Z-Spray empregando-se uma coluna C-18 (4,6mm x 250 mm x 5 um). A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de ácido fórmico a 0,1% em acetonitrila (15:85 V/V).

5.1.5 – Aparelho de ponto de fusão

Foi utilizado um aparelho digital de ponto de fusão MQAPF – 302 numa faixa de 25°C – 500°C com uma razão de aquecimento de 2°C/min.

5.1.6 – Métodos Cromatográficos

Para as cromatografias em coluna utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e Sephadex LH-20 (Merck), tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada.

A cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) foi empregada para a análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna. Foram utilizadas placas de vidro com dimensões de 5x20, 10x20 e 20x20 cm, preparadas com uma suspensão de sílica gel PF₂₅₄ Art. 7749 e Art. 7731 (Merck) em água destilada na proporção de 1:2 (P/V), seguindo técnica descrita por Matos (1997). As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta sob os comprimentos de onda de 254 e 366 nm e/ou pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo.

5.1.7 – Eluentes

Como eluentes foram utilizados hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, acetona e metanol puros ou em misturas binárias das marcas Vetec, Merck e/ou solventes comerciais destilados.

5.1.8 – Evaporação do solvente do material botânico e amostras

Rotaevaporadores das marcas JANNE & KUNKEL[®] e IKA WERK[®] foram utilizados para evaporação, sob pressão reduzida, das soluções extrativas e das frações de colunas.

5.1.9 – Determinação do grau de pureza das amostras

O grau de pureza das substâncias foi avaliado por CCDA, determinando-se a pureza quando observada uma única mancha, após eluição em diferentes sistemas de solventes.

5.2 - REAÇÕES DE DERIVATIZAÇÃO

Algumas substâncias isoladas tiveram seus respectivos derivados obtidos como forma de facilitar e comprovar a elucidação estrutural.

5.2.1 - Reação de acetilação

Quantidades variadas das substâncias (Pmt-1 e Pmt-2) foram dissolvidas em piridina e anidrido acético, seguindo-se a proporção de 0,5 e 1,0 mL, respectivamente, desses reagentes para 100 mg de amostra. A mistura de cada amostra foi deixada em repouso por um período de 24 a 96 horas, durante o qual se monitorou o progresso da reação por CCDA utilizando-se a mistura e composto de partida. Decorrido este tempo, a mistura foi tratada com gelo triturado e água destilada gelada até a formação de um precipitado, o qual foi filtrado várias vezes sob vácuo com água destilada. Em seguida, a solução aquosa foi particionada com CHCl_3 e colocada em um aparelho de Abdenhauder por 1 hora para a remoção da água remanescente (MATOS, 1988).

5.3 – ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Piper montealegreanum* Yuncker.

5.3.1 – Coleta do material botânico

As partes aéreas de *Piper montealegreanum* Yuncker foram coletadas em dezembro de 2002 no campus de pesquisas do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-PA. O material botânico foi identificado pela Professora Dra. Elsie Guimarães do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e uma exsicata foi depositada no herbário do Museu Emílio Goeldi sob nº MSP-010.

5.3.2 – Obtenção dos extratos

As partes aéreas de *Piper montealegreanum* recém coletadas foram desidratadas em estufa com circulação de ar sob temperatura média de 40° C durante 72 h e, em seguida, trituradas em moinho mecânico. O pó obtido (1.300 g) foi submetido à maceração com etanol a 95% por 3 dias consecutivos, repetindo-se este processo até extração exaustiva dos constituintes químicos.

O solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida à temperatura de 50° C, resultando em 115,0 g de extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 7, p. 64).

5.3.3 – Triagem fitoquímica preliminar

Os testes fitoquímicos preliminares foram realizados com o EEB das partes aéreas de *P. montealegreanum* Y., seguindo as reações descritas abaixo:

Quadro 7. Triagem fitoquímica preliminar do EEB das partes aéreas de *P. montealegreanum*.

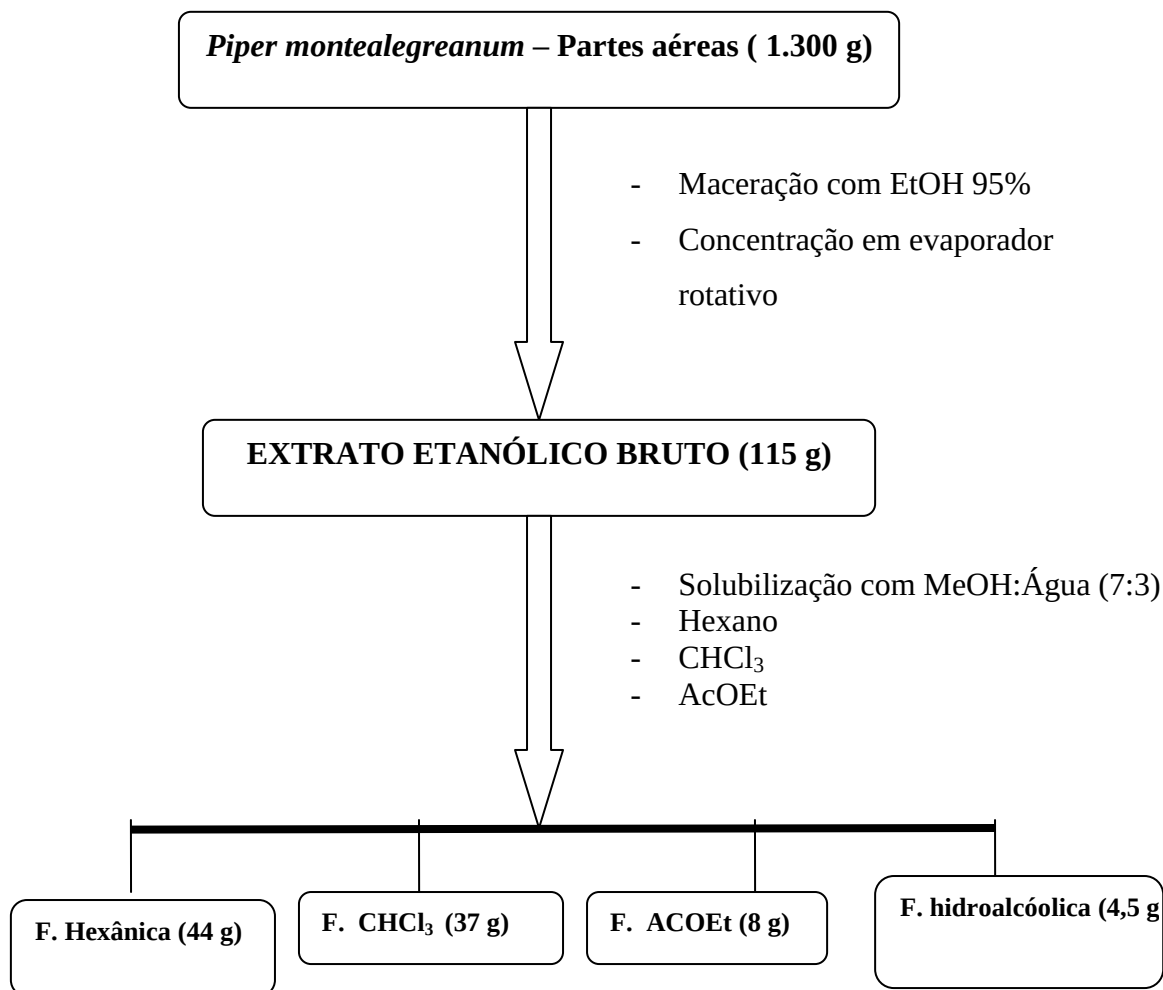
GRUPO PESQUISADO	QUÍMICO	TESTE	RESULTADOS
ALCALOIDES		Bouchardat	++
		Mayer	+
		Dragendorff	++
		Ácido tungstico	+
ESTERÓIDES		Liebermann-Bouchardat	-
TANINOS		FeCl ₃ a 2%	-
		Gelatina a 0,5%	-
FLAVONÓIDES		Fita de magnésio	+
		Fluorescência	++
SAPONINAS		Espuma	-

Fonte: Matos, 1997.

5.3.4 - Fracionamento do EEB, isolamento e purificação dos constituintes químicos.

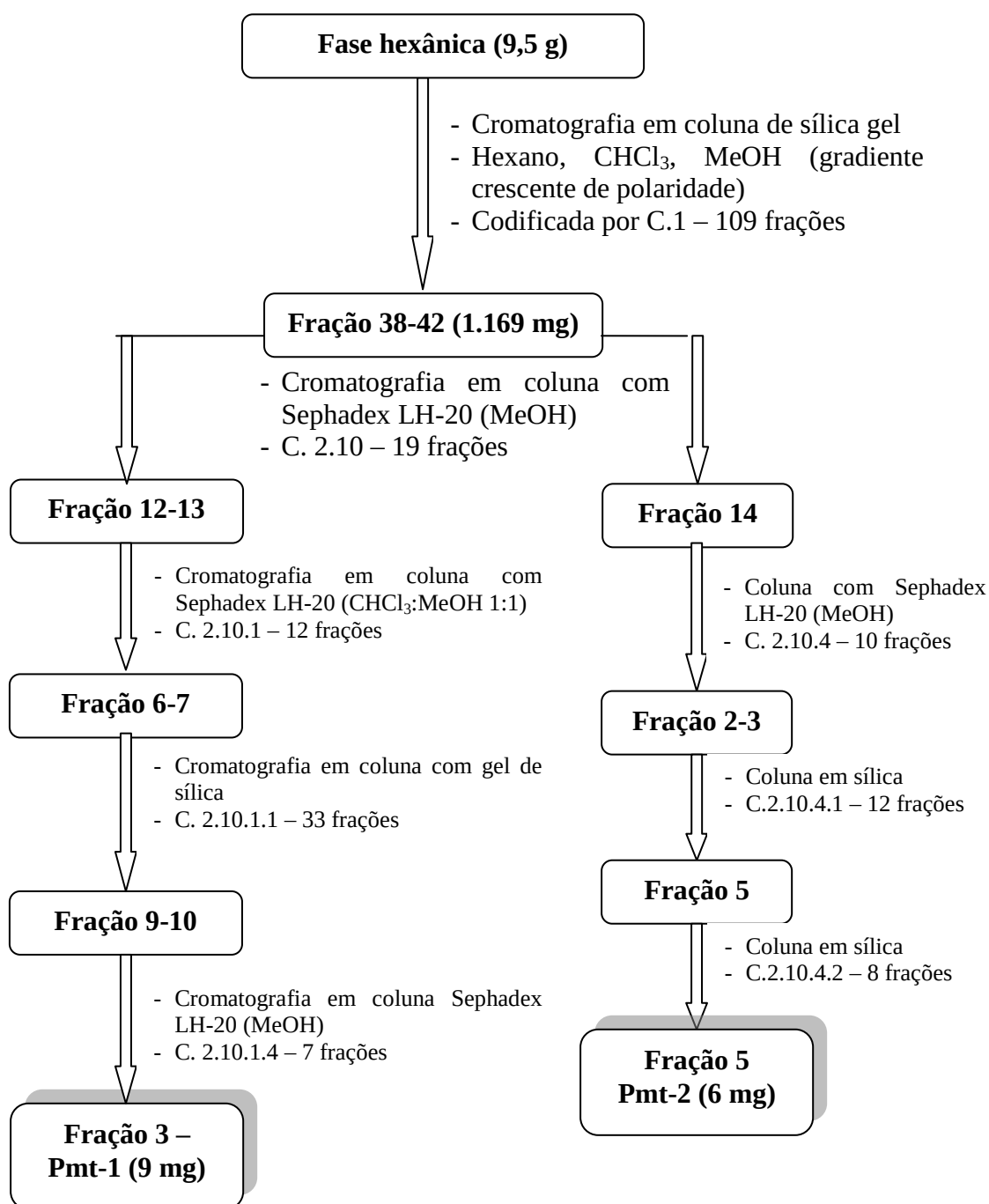
As partes aéreas de *Piper montelaegreanum*, após secas e trituradas em moinho mecânico, foram maceradas com etanol produzindo o extrato etanólico bruto (EEB), que foi redissolvido em metanol:H₂O (7:3) e particionado em solventes de polaridade crescente, de acordo com o esquema abaixo:

ESQUEMA 07. Marcha sistemática e fracionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Piper montealegreanum* Y.

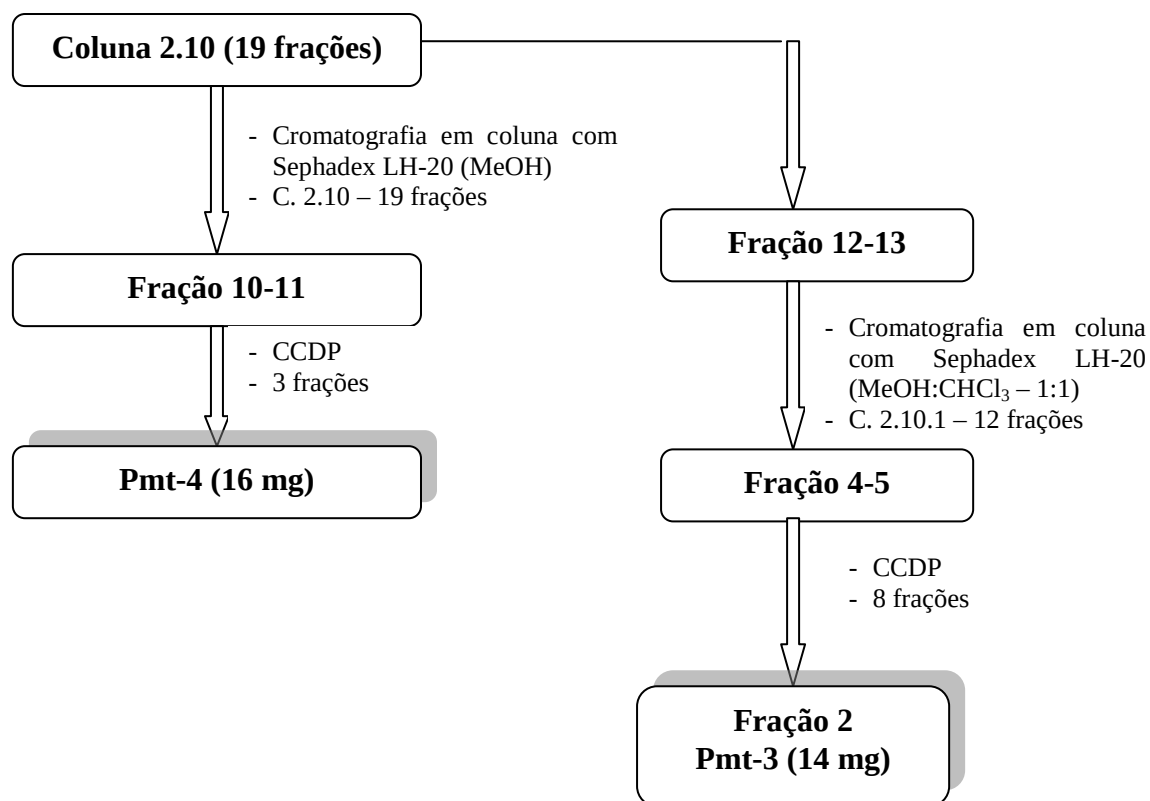


Da fração hexânica, cromatografada em sílica gel e Sephadex LH-20, foram obtidas as substâncias codificadas por Pmt-1, Pmt-2, Pmt-3 e Pmt-4, reveladas no comprimento de onda de 264 nm na luz ultravioleta de acordo com o esquema abaixo:

ESQUEMA 08. Marcha sistemática para isolamento de Pmt-1 e Pmt-2 da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *P. montealegreanum*.

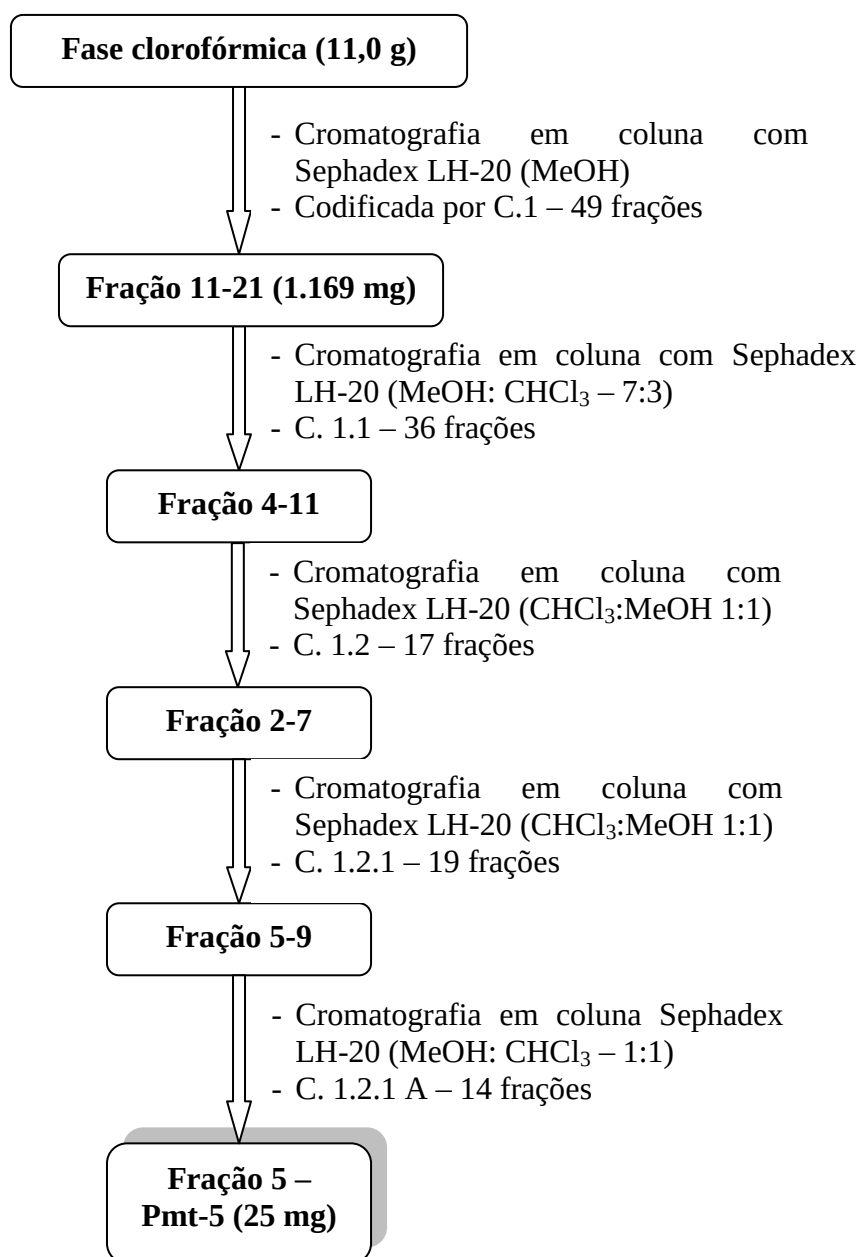


ESQUEMA 09. Marcha sistemática para isolamento de Pmt-3 e Pmt-4 da fase hexânica das partes aéreas de *P. montealegreanum*.



Da fase clorofórmica de *P. montealegreanum* foi obtida a substância codificada por Pmt-5. O esquema de fracionamento para o isolamento dessa substância está ilustrado abaixo:

ESQUEMA 10. Fracionamento da fase clorofórmica das partes aéreas de *P. montealegreanum*.



5.4 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Piper carniconnectivum* C.DC.

5.4.1 – Coleta do material botânico

As partes aéreas de *Piper carniconnectivum* C.DC. foram coletadas em dezembro de 2002 no campus de pesquisas do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-PA. O material botânico foi identificado pela professora Dra. Elsie Guimarães do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e uma exsicata foi depositada no herbário do Museu Emílio Goeldi sob n° MSP-009.

5.4.2 – Obtenção dos extratos

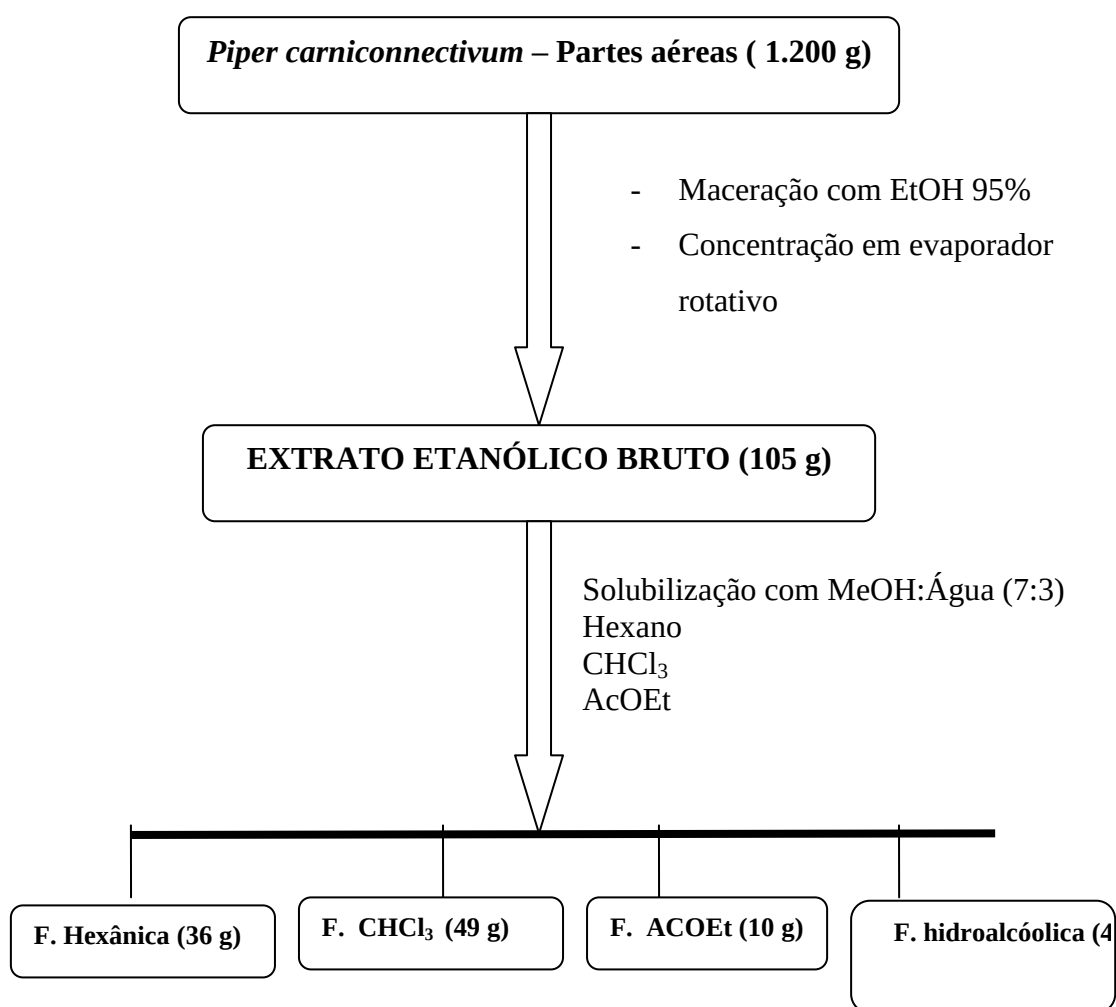
As partes aéreas de *Piper carniconnectivum* recém coletadas foram desidratadas em estufa com circulação de ar sob temperatura média de 40° C durante 72 h e, em seguida, trituradas em moinho mecânico. O pó obtido (1.200 g) foi submetido à maceração com etanol a 95% por 3 dias consecutivos, repetindo-se este processo até extração exaustiva dos constituintes químicos.

A solução extrativa obtida foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida à temperatura de 50° C, resultando em 105 g de extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 11, p. 69).

5.4.3 - Fracionamento do EEB, isolamento e purificação dos constituintes químicos.

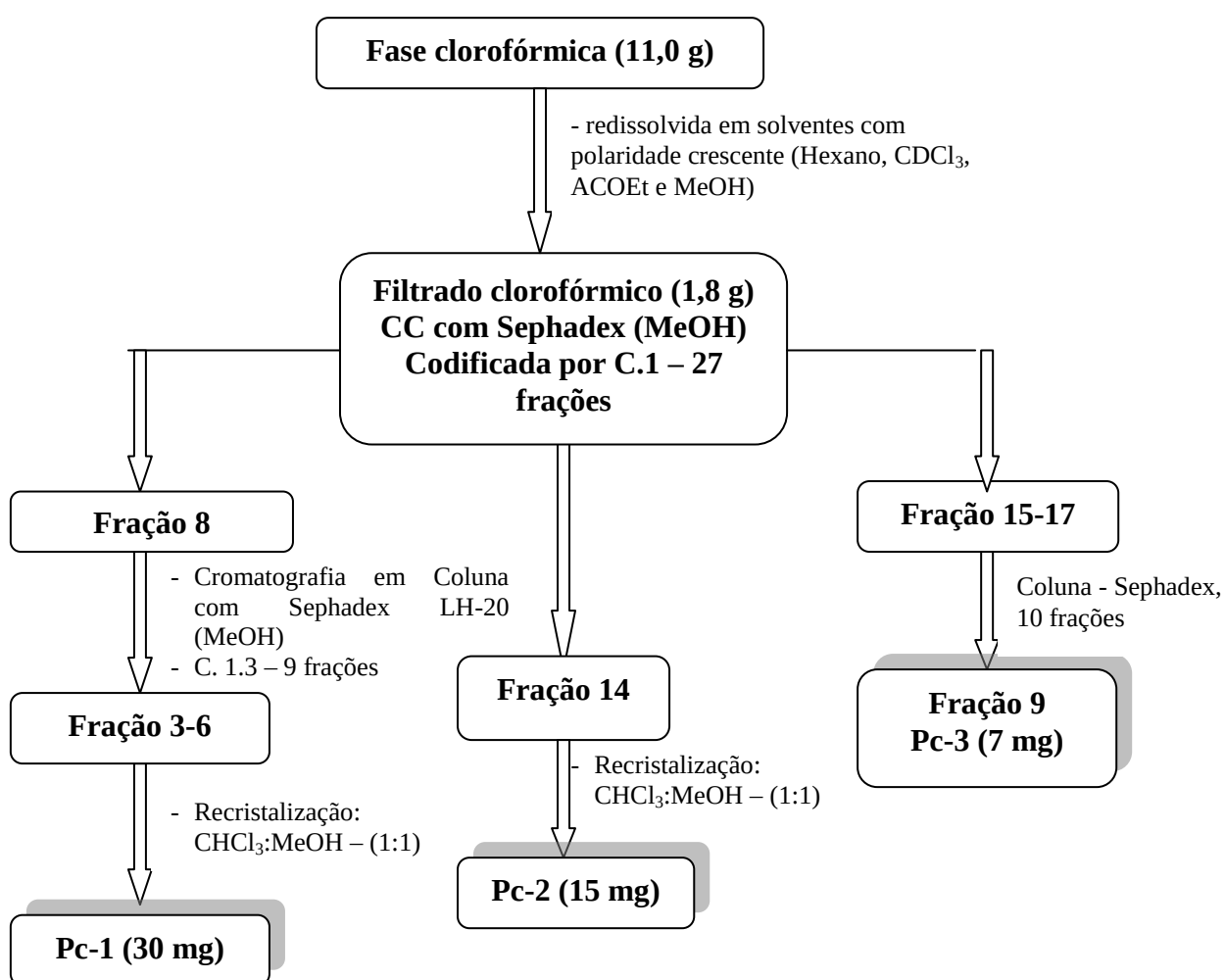
Das partes aéreas secas de *Piper carniconnectivum* foi obtido o extrato etanólico bruto, o qual foi redissolvido em solução de metanol:H₂O (7:3) e particionado em solventes com polaridade crescente, de acordo com o esquema abaixo:

ESQUEMA 11. Marcha sistemática e fracionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Piper carniconnectivum* C.DC.

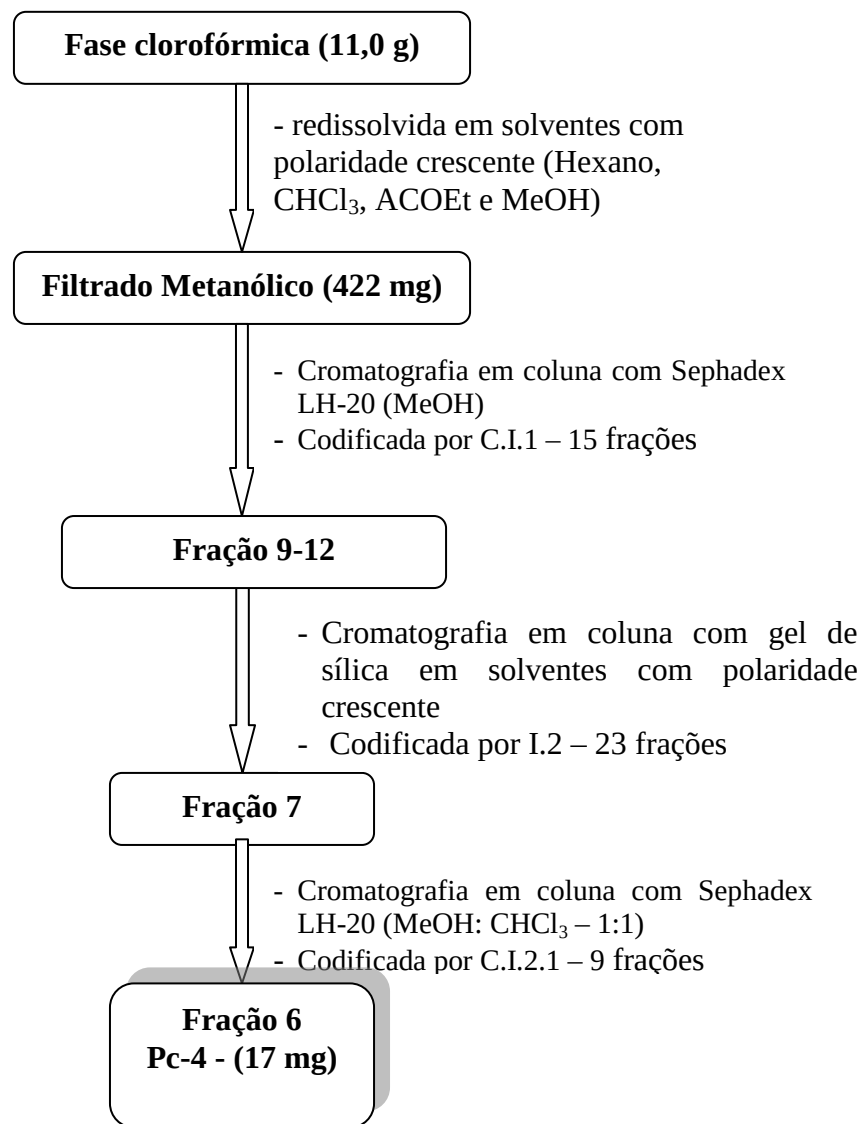


Da fase clorofórmica de *Piper carniconnectivum* foram obtidas quatro substâncias, codificadas por Pc-1, Pc-2 e Pc-3 (Esquema 12, p. 70) e Pc-4, respectivamente (Esquema 13, p. 71). Da fase hexânica foram obtidas Pc-5, Pc-6 (Pc-6a e Pc-6b) e Pc-7 (Esquema 14, p. 72).

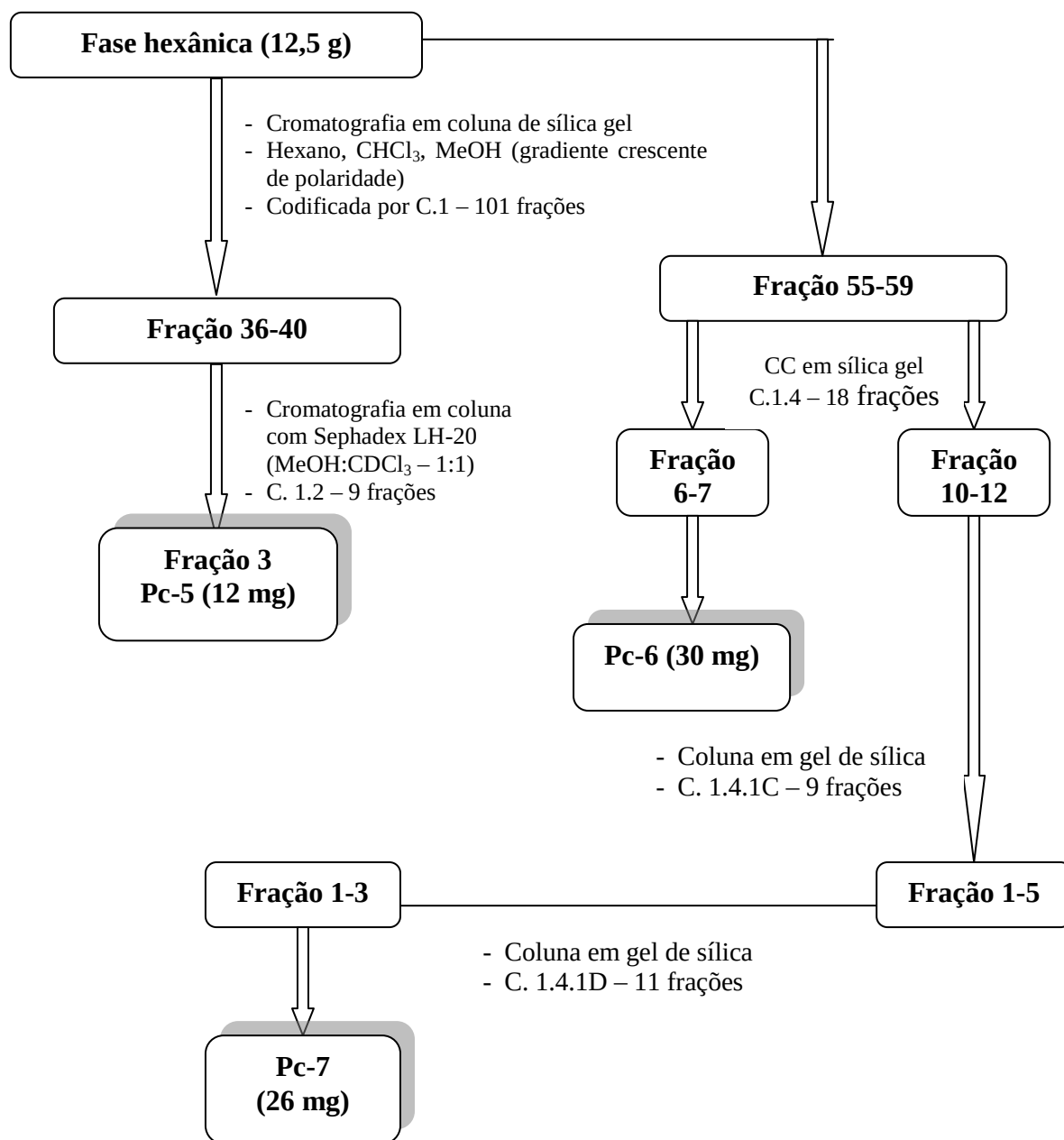
ESQUEMA 12. Marcha sistemática para isolamento de Pc-1, Pc-2 e Pc-3 da fase clorofórmica do EEB das partes aéreas de *Piper carniconnectivum*.



ESQUEMA 13. Fracionamento do filtrado metanólico da fase clorofórmica do EEB das partes aéreas de *Piper carniconnectivum*.



ESQUEMA 14. Fracionamento da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *Piper carniconektivum*.



5.5 – ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Piper glandulosissimum* Yuncker.

5.5.1 - Coleta e Identificação do Material Vegetal

As partes aéreas de *Piper glandulosissimum* Yuncker foram coletadas por Ferdinando Nascimento em maio de 2002 e enviadas juntamente com a exsicata (número MG 165.227, Herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi – MPEG-, Belém, PA), identificada pela Dra. Graça Zoghbi do mesmo museu.

5.5.2 - Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Piper glandulosissimum* Yuncker

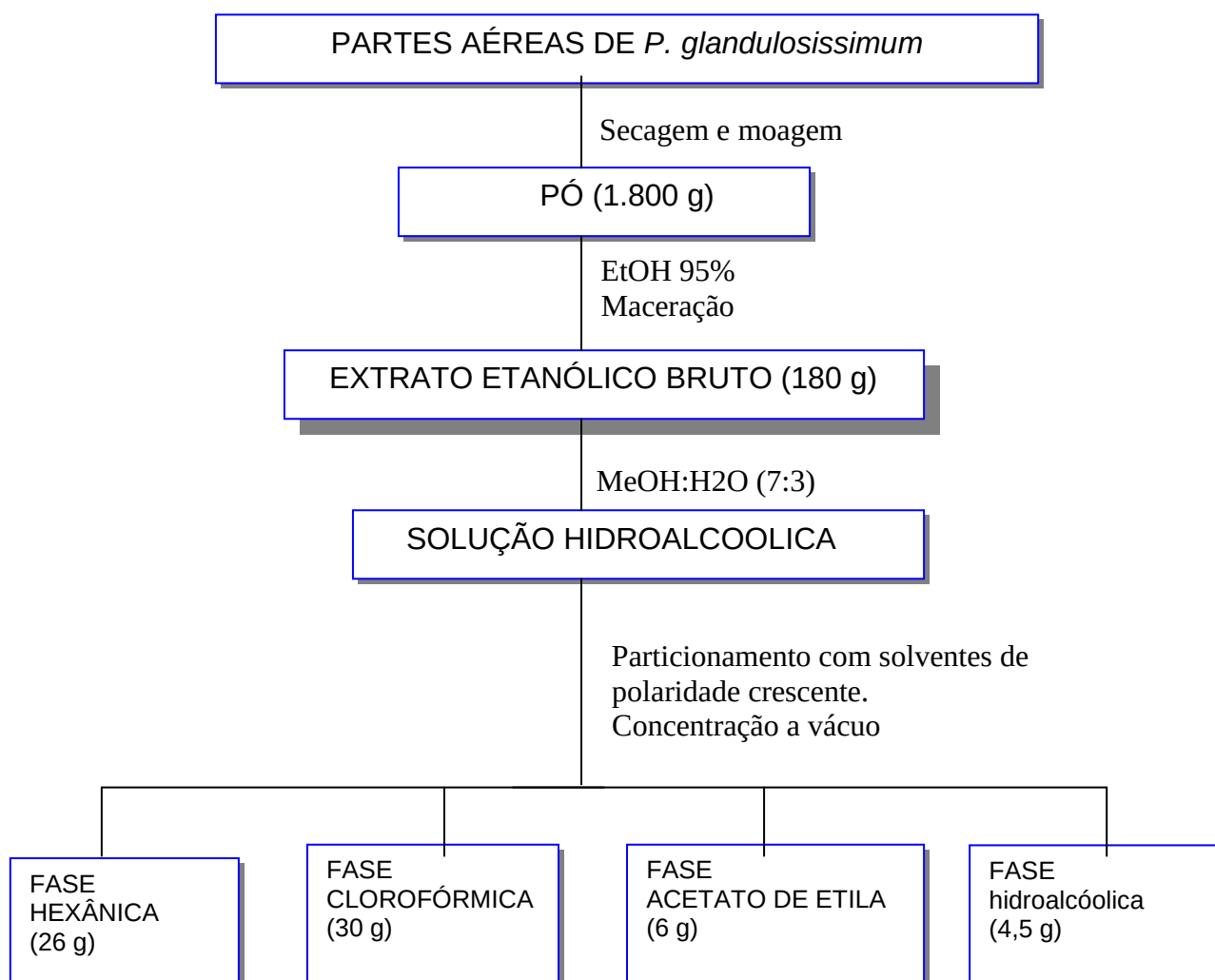
As partes aéreas (2.200 g) de *P. glandulosissimum* foram secas em estufa com circulação de ar em temperatura média de 45°C durante 48 h. Posteriormente, foi realizada a trituração mecânica do material.

O pó obtido (1.800 g) foi submetido à maceração exaustiva com etanol a 95% por um período de 72 h; o processo foi repetido até a extração exaustiva dos constituintes químicos.

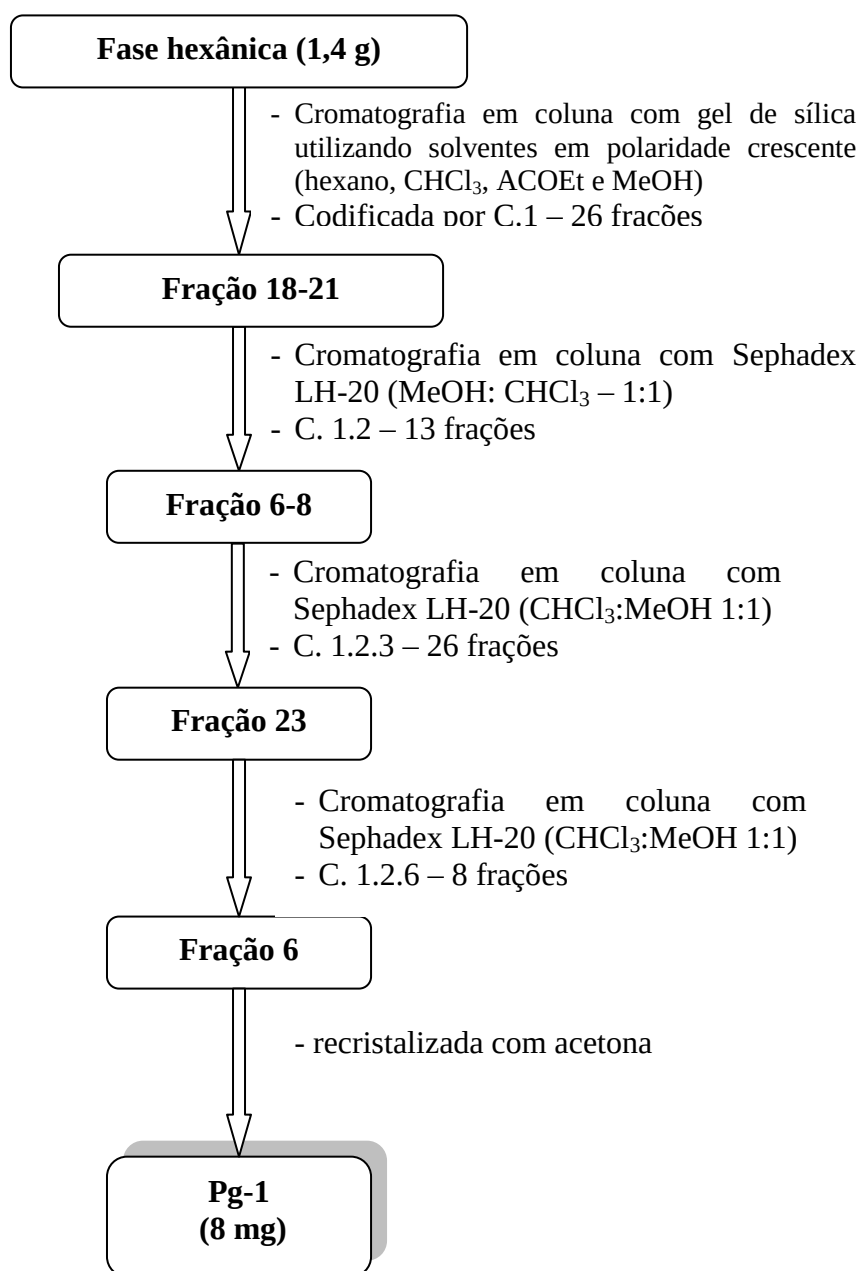
O macerado foi concentrado em evaporador rotativo sob baixa pressão, fornecendo 180 g de extrato etanólico bruto, o que corresponde a um rendimento de aproximadamente 10% em relação ao peso inicial do pó desidratado e triturado (Esquema 15, p. 74).

Cerca de 90 g do extrato etanólico bruto foi solubilizado em banho-maria em uma solução metanol:água (7:3) em quantidade suficiente para fornecer 300 ml de solução hidroalcoolica do extrato bruto. Tal solução foi particionada com solventes de polaridade crescente em funil de separação dando origem, após concentradas em evaporador rotativo, às fases hexânica (26 g), clorofórmica (30 g), acetato de etila (6 g) e metanol:água (4,5 g). Todas as extrações e partições foram feitas à temperatura ambiente (Esquema 15, p. 74).

ESQUEMA 15: Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Piper glandulosissimum* Yuncker.



ESQUEMA 16. Marcha sistemática para isolamento de Pg-1 obtido da fase hexânica das partes aéreas de *P. glandulosissimum*.

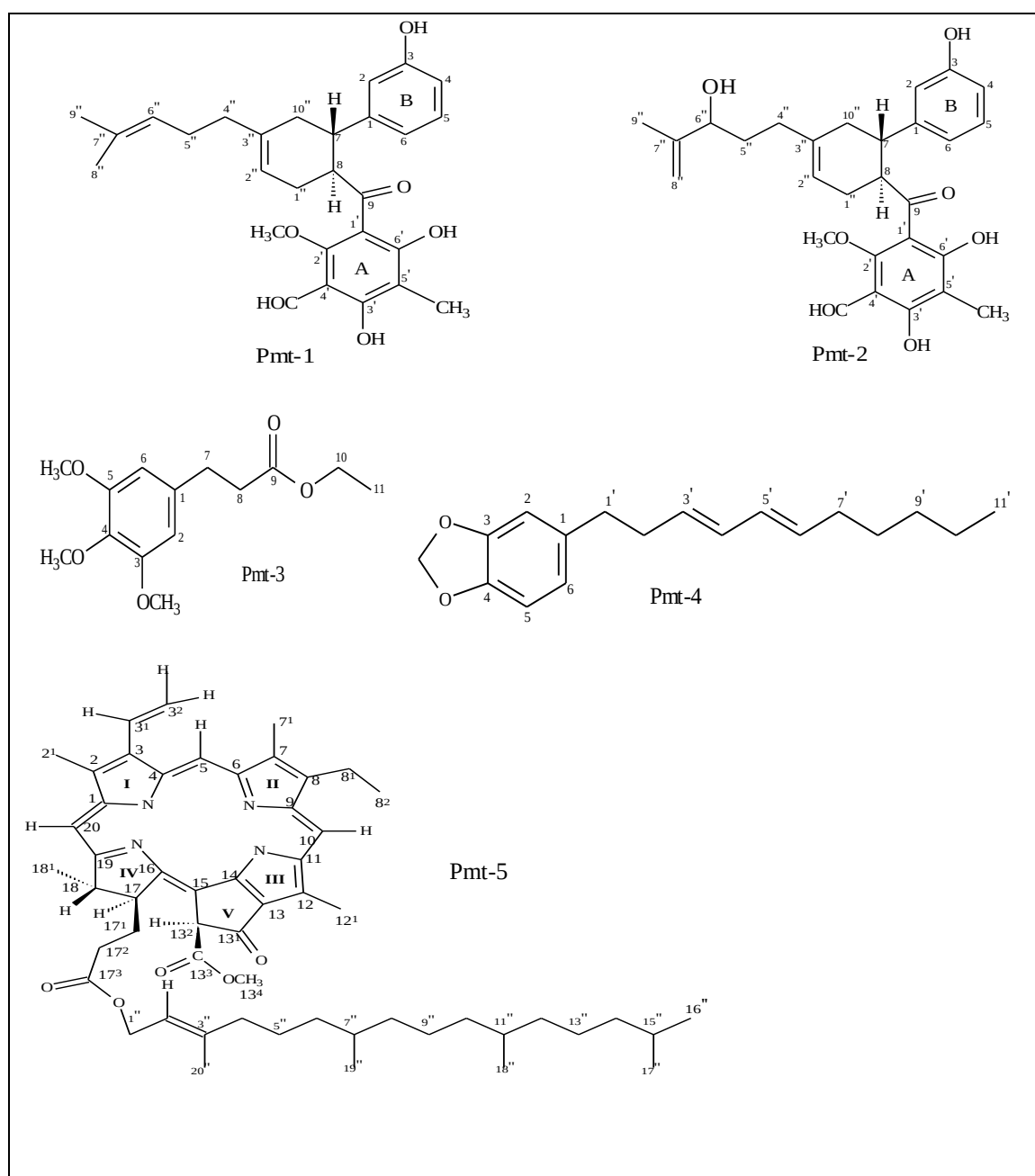


6 - *Resultados e Discussão*

6 – CONSTITUENTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Piper montealegreanum*

Yuncker

Das partes aéreas de *Piper montealegreanum* foram isolados e purificados, por meio de técnicas cromatográficas, cinco constituintes químicos, sendo dois flavonóides, dois fenilalcanóides e uma feofitina (Quadro 8, p. 77). Suas identificações estruturais foram realizadas por meio de métodos espectroscópicos, tais como IV, EM e RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais.



Quadro 8: constituintes químicos isolados de *Piper montealegreanum*

6.1 – Elucidação estrutural de Pmt-1:

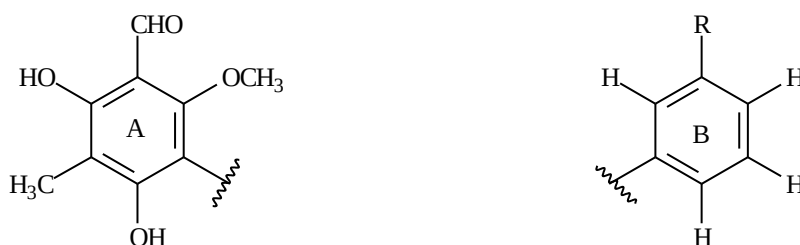
O constituinte químico identificado por Pmt-1 apresentou-se com um aspecto oleoso, amarelado, solúvel em CHCl_3 .

O espectro no IV (Figura 8, p. 87) apresentou uma banda larga em 3.433 cm^{-1} , sugestiva da presença de hidroxila quelada na substância analisada. As absorções em 2.960 e 2.922 cm^{-1} podem ser atribuídas a estiramentos C-H de grupos metilênicos e metílicos, respectivamente. A banda fraca em 2.850 cm^{-1} é indicativa de estiramento C-H de substituinte formila. Foi observada também uma banda intensa em 1.618 cm^{-1} que sugere presença de carbonila de cetona na forma enólica., em frequência mais baixa que a usual para carbonila de cetona (1.715 cm^{-1}) (PAVIA et al, 2001). As bandas em 1.458 e 1.491 cm^{-1} são características de deformações C=C de anel aromático e as bandas em 1.313 e 1.186 cm^{-1} de estiramento e deformação C-O e C=O, respectivamente. Além disso, as bandas fracas em 781 , 700 e 592 são sugestivas da presença de um anel aromático meta-substituído (PAVIA et al, 2001).

O espectro de ultravioleta de Pmt-1 (Fig. 9, p. 88) em MeOH mostrou duas regiões de absorção em 338 e 274 nm referentes as bandas II e I dos anéis A e B de flavonóides, respectivamente. O uso de AlCl_3 na amostra provocou deslocamento batocrômico da banda I para 299 nm e da banda II para 371 nm , numa magnitude de 25 e 33 nm , respectivamente. O aumento do comprimento de onda ocorreu, possivelmente, devido a complexação do Al^{+3} do AlCl_3 com o sistema 4-ceto-5-hidroxi de flavonóides. Tais dados sugerem a presença de um flavonóide tipo diidrochalcona (BOHM, 1998; ØYVIND & KENNETH, 2006).

O espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) mostrou a presença de 5 singletos em: δ $12,88$ (1H), $12,46$ (1H), $10,04$ (1H), $3,90$ (3H) e $1,89$ (3H), (Figura 10,

p. 89) sendo os dois primeiros característicos de hidrogênios de hidroxilas queladas e os outros de hidrogênios de grupos formila, metoxila e metila, respectivamente. Na região de hidrogênios aromáticos foi possível identificar os seguintes sinais: δ 6,94 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 6,64 (dd, $J=7,5$ e 1,5 Hz, 1H), 6,58 (dd, $J=2,5$ e 1,5 Hz, 1H) e 6,48 (ddd, $J=7,5$, 2,5 e 1,0 Hz, 1H) (Figura 11, p. 90). Todos os sinais citados anteriormente sugerem a presença de um anel A hexassubstituído e um anel B 1,3-dissubstituído, respectivamente, dados esses fortalecidos pela literatura (CHUN-LIN YE, 2003; ALVES, 2004).

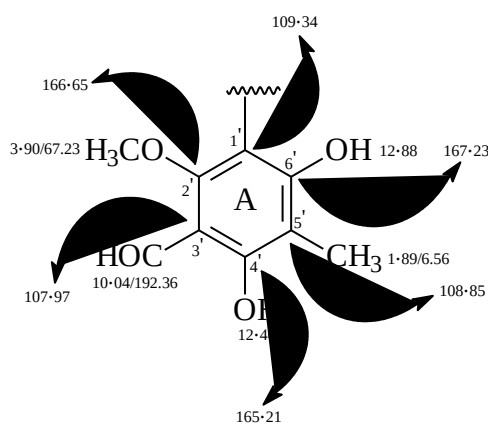


A ausência de hidrogênios α , β carbonílicos, aliada a presença dos sinais em δ 4,13 (dt, $J=11,0$ e 5,5 Hz, 1H) e 3,01 (dt, $J=11,0$ e 5,5 Hz, 1H), (Figuras 13 e 15, p. 91) e de uma carbonila vista no espectro de RMN de ^{13}C , utilizando a técnica APT, em δ 209,55 (Figura 17, p. 93) além de dados da referência (SHEN et LIN, 2001) confirmam que a estrutura trata-se de uma diidrochalcona. Contudo, como observado no espectro de RMN de ^1H , a substância em questão possui, ainda, mais um radical de substituição. Isso pode ser evidenciado através dos sinais em δ 5,53 (m, 1H) e δ 5,12 (qt, $J=7,0$ e 1,5 Hz, 1H) (Figura 12, p. 91) característicos de hidrogênios em carbonos insaturados. Na região de hidrogênios alifáticos foram vistos também os sinais em: δ 2,40 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 2,02 (m, 2H), 2,14 (m, 2H), 2,23 (m, 1H) e 2,20 (m, 1H). (Figura 15, p. 92). Outros dois sinais em δ 1,62 (d, $J=0,5$ Hz, 3H) e 1,70 (d, $J=1,0$ Hz, 3H) (Figura 16, p.

92) são sugestivos de metilas isoprênicas ligadas a carbono quaternário (SHEN et al, 2001).

O espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) mostrou a presença de 28 sinais (Figuras 17, 18 e 19, p. 93 e 94 sendo onze para carbonos quaternários (δ : 209,55, 167,23, 166,62, 165,22, 155,46, 145,56, 137,41, 131,70, 109,34, 108,85 e 107,97), nove para carbonos metínicos (δ : 192,36, 129,35, 124,02, 119,82, 118,73, 114,48, 113,30, 51,06 e 45,19), quatro para carbonos metilênicos (δ : 37,23, 36,88, 29,79 e 26,38) e quatro para carbonos metílicos (δ : 67,23, 25,69, 17,84 e 6,56).

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (Figuras 24, 25 e 26, p. 98 e 99) mostrou as correlações: δ 12,88/ 167,23, 109,34 e 108,85 e δ 12,46/165,21, 107,97, 108,85 que permitem atribuir os sinais em δ 12,88 e δ 12,46 respectivamente para as hidroxilas das posições 6' e 4' e δ 167,23, δ 108,85 e δ 165,21 para os carbonos das posições 6', 5' e 4' e, atribuir, δ 109,34 e δ 107,97 para C-1' e C-3'. As correlações δ 10,04/107,97 e δ 1,89/108,85 reforçam as atribuições feitas para as posições 3' e 5' e, juntamente com as correlações δ 3,90/ 166,65 atribuída a posição 2', definir o padrão de substituição do anel A.

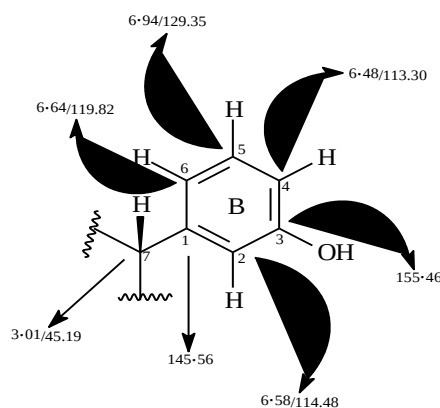


As feições dos sinais em δ 6,94 (t, 1H) e 6,64 (dd, 1H), 6,58 (dd, 1H), 6,48 (ddd, 1H), (Figura 11, p. 90) e a existência de correlação, dos carbonos metínicos com os

hidrogênios citados acima, vista no HMQC entre δ 6,58/114,48, δ 6,48/113,30, δ 6,94/129,35, δ 6,64/119,82 (Figuras 20 e 21, p. 95 e 96), permitem propor a existência de substituinte hidroxila em C-3 e sugerir essas correlações a $^1J_{(CH)}$ para as posições 2, 4, 5 e 6 do anel B, respectivamente. Foram vistas ainda correlações a $^3J_{(CH)}$ entre δ 6,58 e 6,64/45,19 (Figura 24, p. 98), fato esse que permitiu atribuir δ 3,01/45,19 (Figura 19, p. 94), vista no HMQC, para a posição 7.

No HMBC também puderam ser observadas as seguintes correlações:

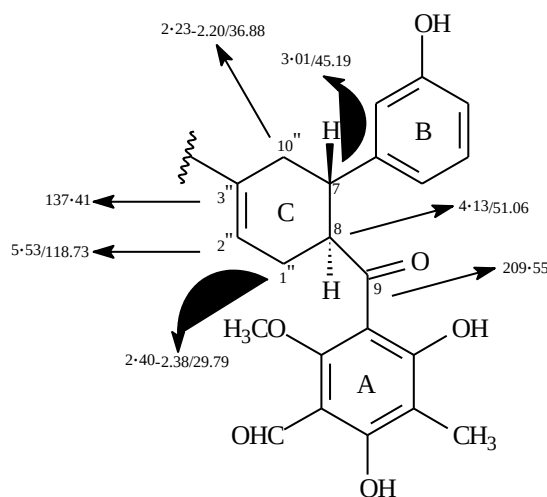
- δ 6,58/113,30, 119,82 e 45,19, além de δ 6,64/114,48, 113,30 e 45,19, corroborando os deslocamentos químicos de H-2 e H-6, respectivamente (Figuras 27, 28 e 24, p. 100 e 98, respectivamente).
- 6,48/114,48 e 119,82 e δ 6,94/145,56 e 155,46, o que confirmou o deslocamento de H-4 e H-5, respectivamente e, sugeriu δ 145,56 para o C-1 e δ 155,46 para o C-3 (Figuras 27 e 28, p. 100).
- A correlação a $^2J_{(CH)}$ entre δ 3,01/145,56 confirmou a atribuição para o C-1 e, por exclusão, δ 155,46 para o C-3, sendo que esse último deslocamento ainda pode ser corroborado pela correlação de δ 6,58/155,46 (Figuras 27, 28, 29 e 30, p. 100 e 101, respectivamente).



No HMQC foram observadas correlações de δ 4,13/51,06 (Figura 20, p. 95), δ 2,23 e 2,20/36,88 (Figuras 20 e 23, p. 95 e 97) além de δ 2,40 e 2,38/29,79 (Figuras 23, p. 97), o que permitiu sugerir esses deslocamentos químicos para as posições 8, 10'' e 1'', respectivamente. O sinal para o H-7 (δ 3,01) mostrou correlações a $^2J_{(CH)}$ com δ 51,06 e 36,88 e a $^3J_{(CH)}$ com δ 29,79 (Figura 31, p. 102), o que confirmou δ 51,06, 36,88 e 29,79 para os carbonos 8, 10'' e 1''. Da correlação a $^2J_{(CH)}$ de 4,13/45,19, 29,79 e 209,55 e a $^3J_{(CH)}$ com δ 36,88 (Figuras 24 e 31, p. 97 e 101) foi possível reafirmar os deslocamentos de C-8, C-10'' e C-1'', além da presença de uma carbonila cetônica em δ 209,55 (C-9), corroborada pela presença de uma OH quelada em δ 12,88.

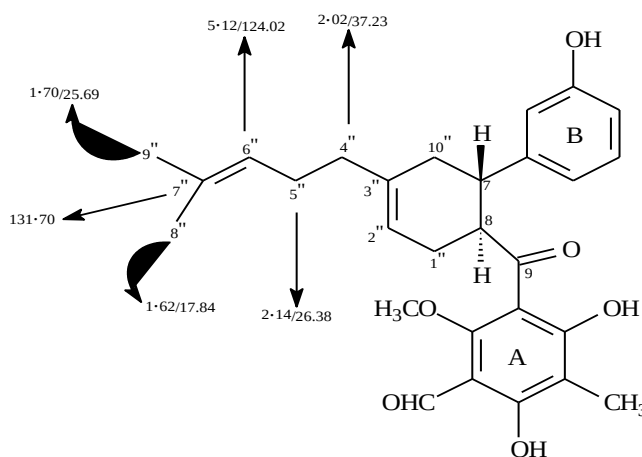
No espectro de correlação homonuclear COSY – $^1H \times ^1H$ foi possível observar uma correlação entre δ 2,40 e 2,38/5,53 (Figura 36, p. 104), o que sugeriu, auxiliada pela correlação direta de δ 5,53/118,73 (Figura 20, p. 94), a presença de um carbono sp^2 na posição 2''.

Os sinais em δ 2,23 e 2,20 atribuído para os H-10'' (Figura 30, p. 101) também mostraram correlações a $^2J_{(CH)}$ com um carbono não-hidrogenado em δ 137,41, o que permitiu sugerir, aliado aos dados da literatura (CHEN & MONTANARI, 1998) a presença de um terceiro anel (anel C) na estrutura como mostrado abaixo:

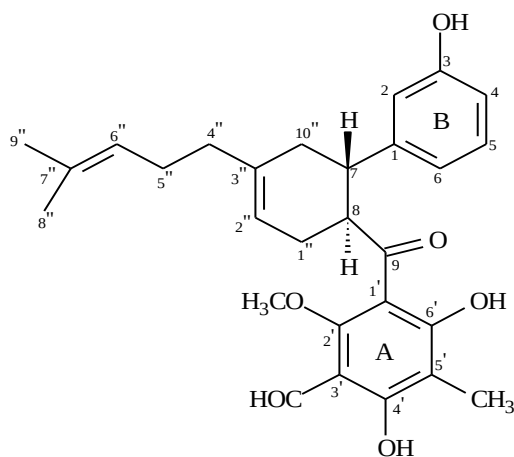


A correlação direta de δ 2,02/37,23 (Figuras 22 e 23, p. 95 e 96), a $^3J_{(CH)}$ de δ 2,23 e 2,20/37,23 (Figuras 31 e 32, p. 101) e a correlação vista no espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1H \times ^1H$ entre 2,02/5,53 (Figura 38, p. 105) confirmou o deslocamento dos H-4'' e H-2'', respectivamente.

No HMQC ainda foram vistas correlações entre: δ 2,14/26,38 e δ 5,12/124,02, (Figuras 21, 22 e 23, p. 96 e 97) sugeridas para as posições 5'' e 6'', respectivamente. Esses deslocamentos foram confirmados através do HMBC pelas correlações a $^2J_{(CH)}$ de δ 2,02/26,38 e δ 2,14/124,02 (Figuras 24, 29, 30, 31, 32 e 33, p. 98, 101, 102 e 103). O perfil dos sinais em δ 1,62 (d, 3H) e δ 1,70 (d, 3H) (Figura 16, p. 92) aliado as correlações diretas entre δ 1,62/17,84 e δ 1,70/25,69 (Figuras 22 e 23, p. 96 e 97), além das correlações a $^3J_{(CH)}$ de δ 1,62 e 1,70/124,02 (Figura 30, p. 101), permitiu definir a presença de duas metilas isoprênicas em C-8'' e C-9'', respectivamente, ligadas a um carbono quaternário em δ 131,70 (C-7''), atribuição esta confirmada pelo acoplamento a $^2J_{(CH)}$ de δ 1,62 e 1,70/131,70 (Figura 30, p. 101).



Os dados relatados, sumarizados na tabela 7 (p. 85), permitem elucidar que a diidrochalcona monoterpênica (ØYVIND & KENNETH, 2006) codificada por Pmt-1 trata-se de (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(7''-dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona, substância inédita ainda não relatada na literatura científica.



Pmt-1

Os compostos conhecidos por 4'-hidroxipanduratina A e panduratina A, (TRAKOONTIVAKORN et al, 2001), duas diidrochalconas monoterpênicas (estrutura abaixo) isoladas de *Boesenbergia pandurata*, mostraram potente efeito antimutagênico inibindo a N-hidroxilação da Trp-P-2. A reação de N-hidroxilação é considerada a reação chave das mutagêneses químicas catalisadas pelo citocromo P-450.

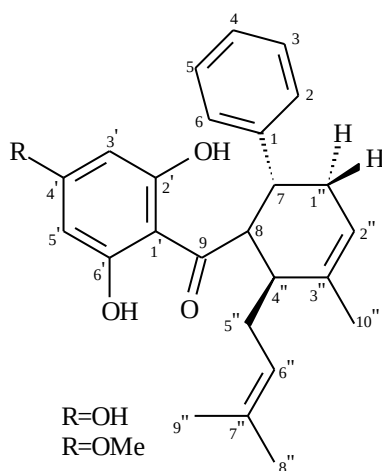


TABELA 7: dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-1 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em CDCl_3 , J (Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC		NOESY
	δC	δH	$^2\text{J}_{(\text{CH})}$	$^3\text{J}_{(\text{CH})}$	
C					
1	145,56		H-7	H-5	
3	155,46		H-2	H-5	
9	209,55		H-8		
1'	109,34			OH-6'	
2'	166,65			OMe-2'	
3'	107,97		H-8'	OH-4'	
4'	165,21		OH-4'	H-8', 3H-7'	
5'	108,85		3H-7'	OH-4', OH-6'	
6'	167,23		OH-6'	3H-7'	
3''	137,41		2H-4'', 2H-10''	2H-5''	
7''	131,70		H-6'', 3H-8'', 3H-9''		
CH					
2	114,48	6,58 (dd, J=2,5 e 1,5 Hz)		H-4, H-6	
4	113,30	6,48 (ddd, J=7,5, 2,5 e 1,5 Hz)		H-2, H-6	
5	129,35	6,94 (t, J=7,5 Hz)			
6	119,82	6,64 (dd, J=7,5 e 1,5 Hz)		H-2, H-4	
7	45,19	3,01 (dt, J=11,0 e 5,5 Hz)	H-8	2H-1'', H-2, H-6	
8	51,06	4,13 (dt, J=11,0 e 5,5 Hz)	H-7	2H-10''	
8'	192,36	10,04 (s)			
2''	118,73	5,53 (m)			H-4''
6''	124,02	5,12 (qt, J=7,0 e 1,5 Hz)	2H-5''	3H-8'', 3H-9''	
CH₂					
1''	29,79	2,40 (m), 2,38 (m)	H-8	H-7	
4''	37,23	2,02 (m)	2H-5''		H-2''
5''	26,38	2,14 (m)	2H-4''		
10''	36,88	2,23 (m), 2,20 (m)	H-7	H-8	
CH₃					
7'	6,56	1,89 (s)			
OMe-2'	67,23	3,90 (s)			
8''	17,84	1,62 (d, 0,5 Hz)		3H-9''	
9''	25,69	1,70 (d, J=1,0 Hz)		3H-8''	
OH-4'		12,46 (s)			
OH-6'		12,88 (s)			

Chemical structures of compounds 1 and 2 are shown. Structure 1 (left) is a complex polycyclic molecule with a central ring system (A and B) and a side chain. It features a methoxy group (H₃CO), a methyl group (CH₃), and a hydroxyl group (OH). The side chain includes a double bond and a terminal group. Structure 2 (right) is a similar polycyclic molecule, but with a different side chain and a different terminal group. It also features a methoxy group (H₃CO), a methyl group (CH₃), and a hydroxyl group (OH). The structures are labeled with numbers 1 through 10 and 1' through 10'.

	δC	δH		δC	δH
C			C		
1	145,56		1	?	
3	155,46		3	128,10	
9	209,55		9	205,70	
1'	109,34		1'	104,70	
2'	166,65		2'	164,10	
3'	107,97		3'	94,80	
4'	165,21		4'	164,30	
5'	108,85		5'	94,80	
6'	167,23		6'	164,10	
3''	137,41		3''	-	
7''	131,70		7''	130,60	
CH			CH		
2	114,48	6,58 (dd, J=2,5 e 1,5 Hz)	2	126,90	
4	113,30	6,48 (ddd, J=7,5, 2,5 e 1,5 Hz)	4	125,30	
5	129,35	6,94 (t, J=7,5 Hz)	5	128,10	5,76 (s)
6	119,82	6,64 (dd, J=7,5 e 1,5 Hz)	6	126,90	
7	45,19	3,01 (dt, J=11,0 e 5,5 Hz)	7	36,40	3,36 (ddd, J=6,4, 10,6 e 11,6 Hz)
8	51,06	4,13 (dt, J=11,0 e 5,5 Hz)	8	52,80	4,75 (dd, J=4,7 e 11,6 Hz)
-	-		3	128,10	
2''	118,73	5,53 (m)	2''	120,90	5,41 (ddd, J=1,9, 2,8 e 4,5 Hz)
6''	124,02	5,12 (qt, J=7,0 e 1,5 Hz)	6''	124,30	4,90 (dd, J=7,1 e 7,1 Hz)
8'	192,36	10,04 (s)	4''	28,40	
CH₂			CH₂		
1''	29,79	2,40 (m), 2,38 (m)	1''	35,70	1,98 (ddddq, J=1,6, 1,9, 2,8, 10,6 e 18,1), 2,33 (dddq, J=1,9, 4,5, 6,4 e 18,1 Hz)
4''	37,23	2,02 (m)	5''	28,40	2,05 (ddd, J=4,5, 7,1 e 15,2), 2,25 (ddd, J=7,1, 7,2 e 15,2)
5''	26,38	2,14 (m)	-	-	
10''	36,88	2,23 (m), 2,20 (m)	-	-	
CH₃			CH₃		
7'	6,56	1,89 (s)	10''	17,60	1,77 (ddd, J=1,9, 1,9 e 1,9 Hz)
OMe-2'	67,23	3,90 (s)	-	-	
8''	17,84	1,62 (d, 0,5 Hz)	8''	17,60	1,51 (s)
9''	25,69	1,70 (d, J=1,0 Hz)	9''	25,50	1,51 (s)
OH-4'		12,46 (s)	-	-	
OH-6'		12,88 (s)	-	-	

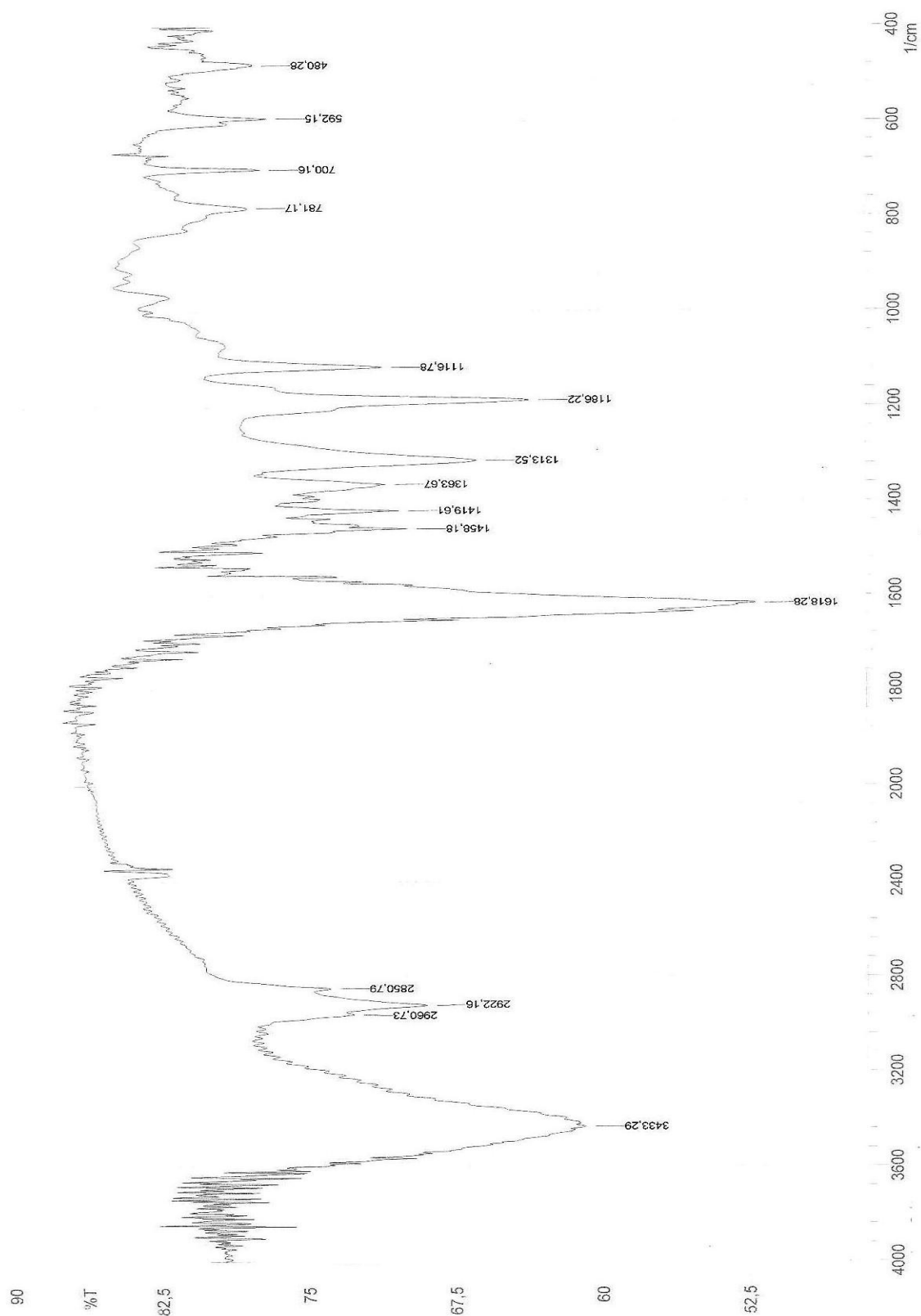


Figura 8: espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pmt-1

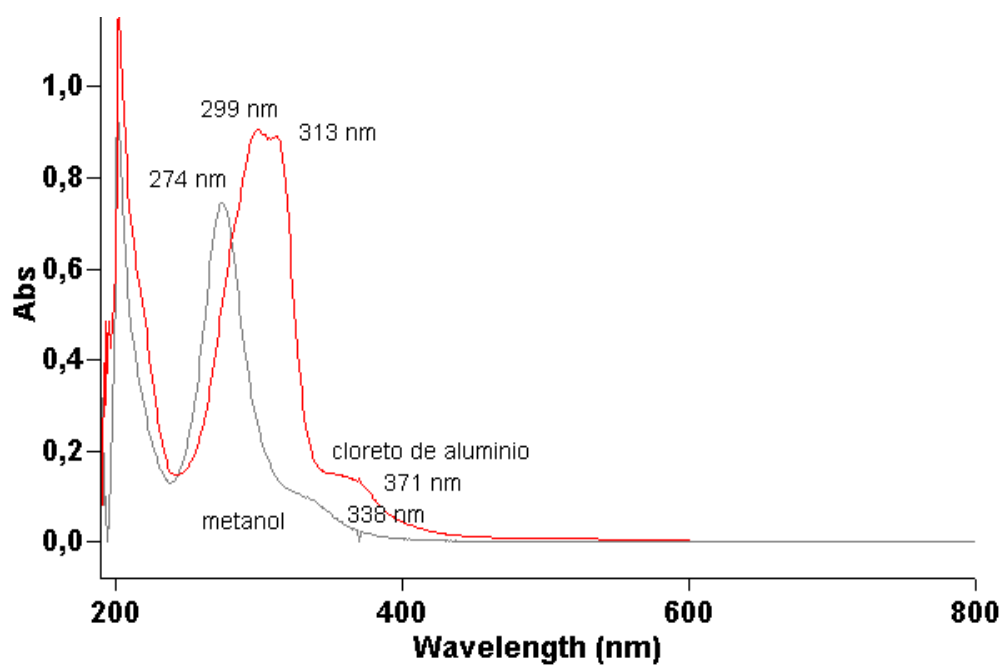


Figura 9: espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pmt-1

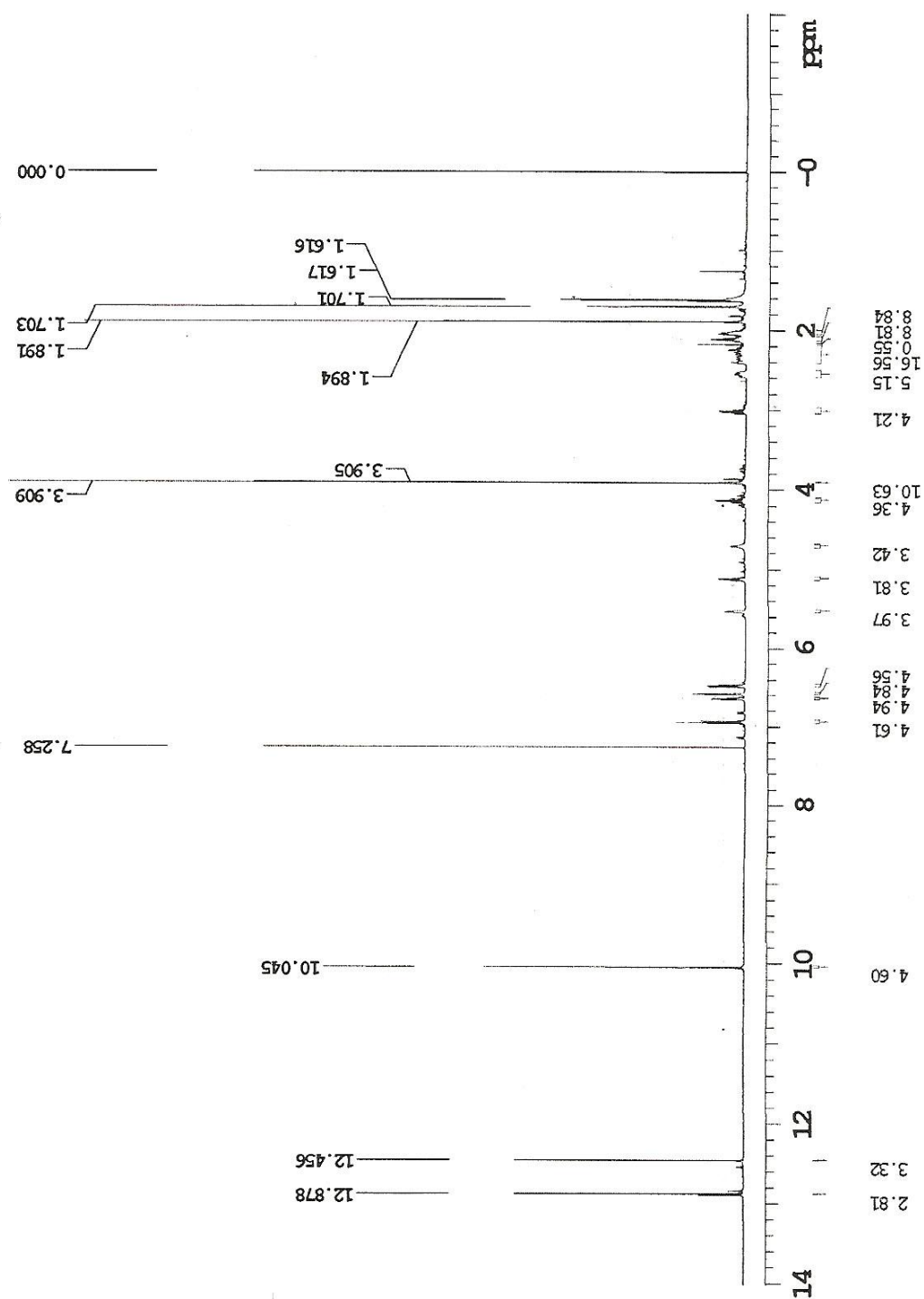


Figura 10 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1

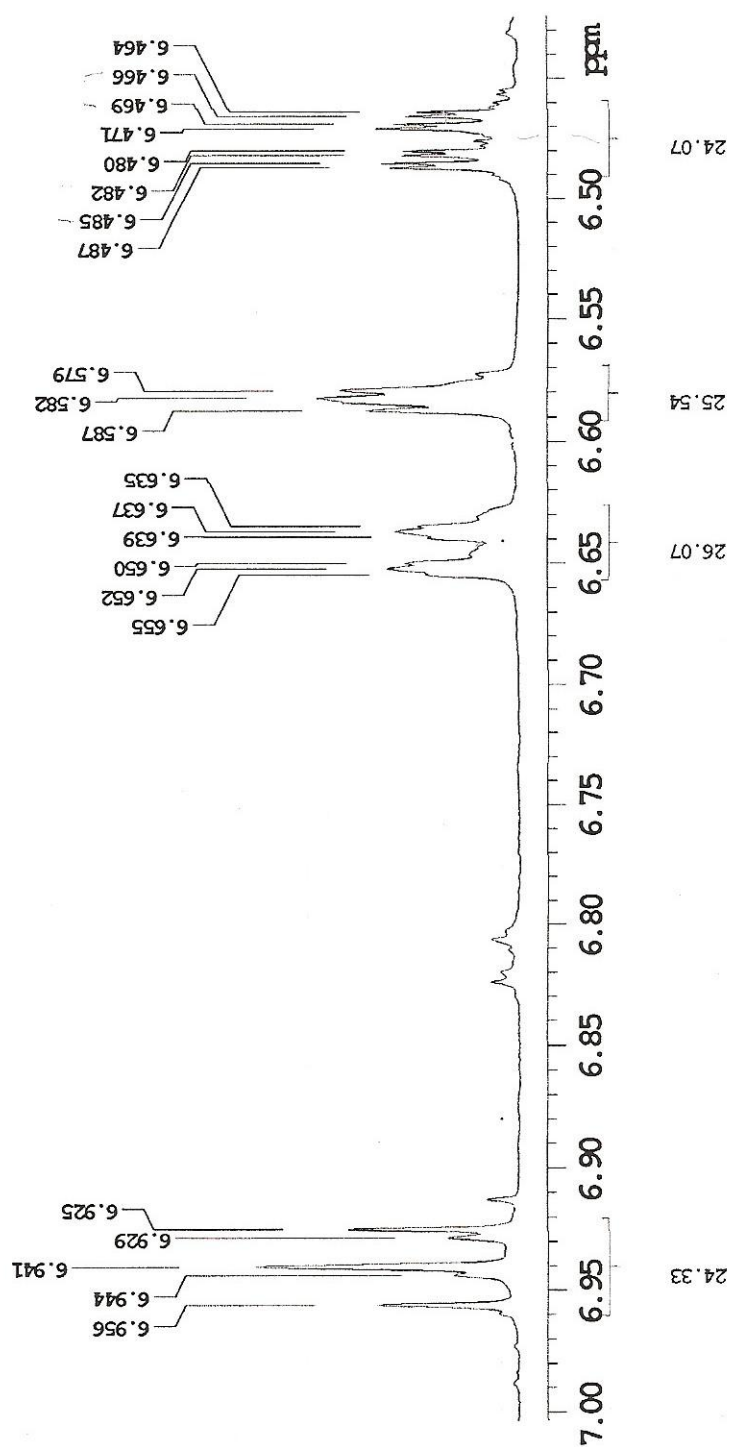


Figura 11 – expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1

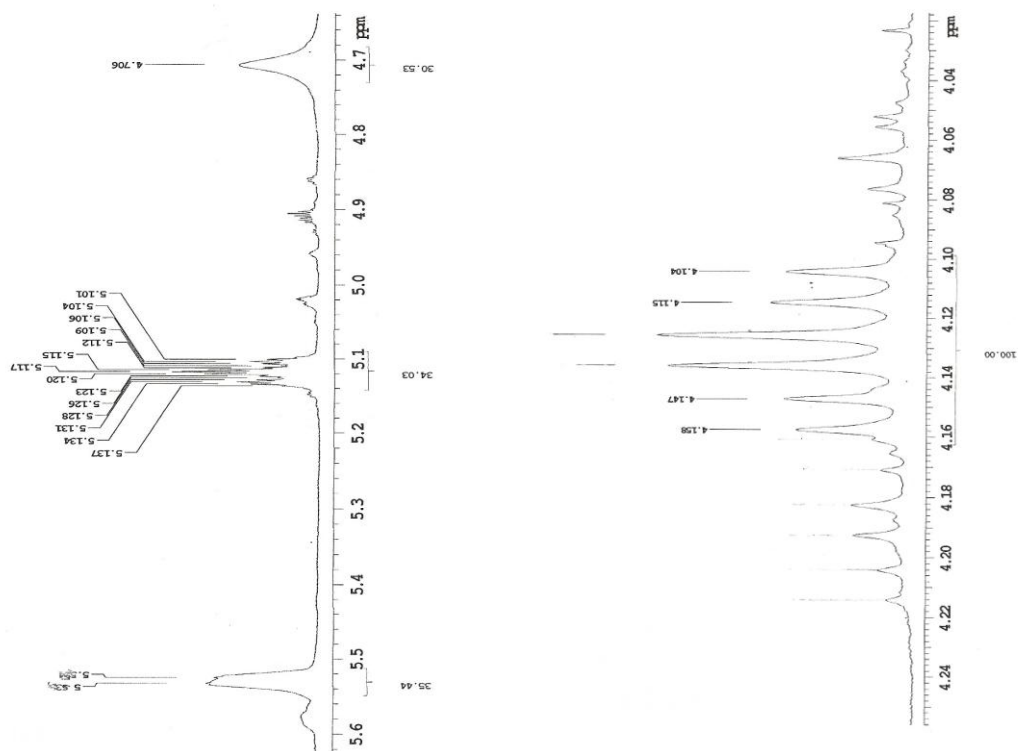


Figura 12, 13 e 14 – expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1

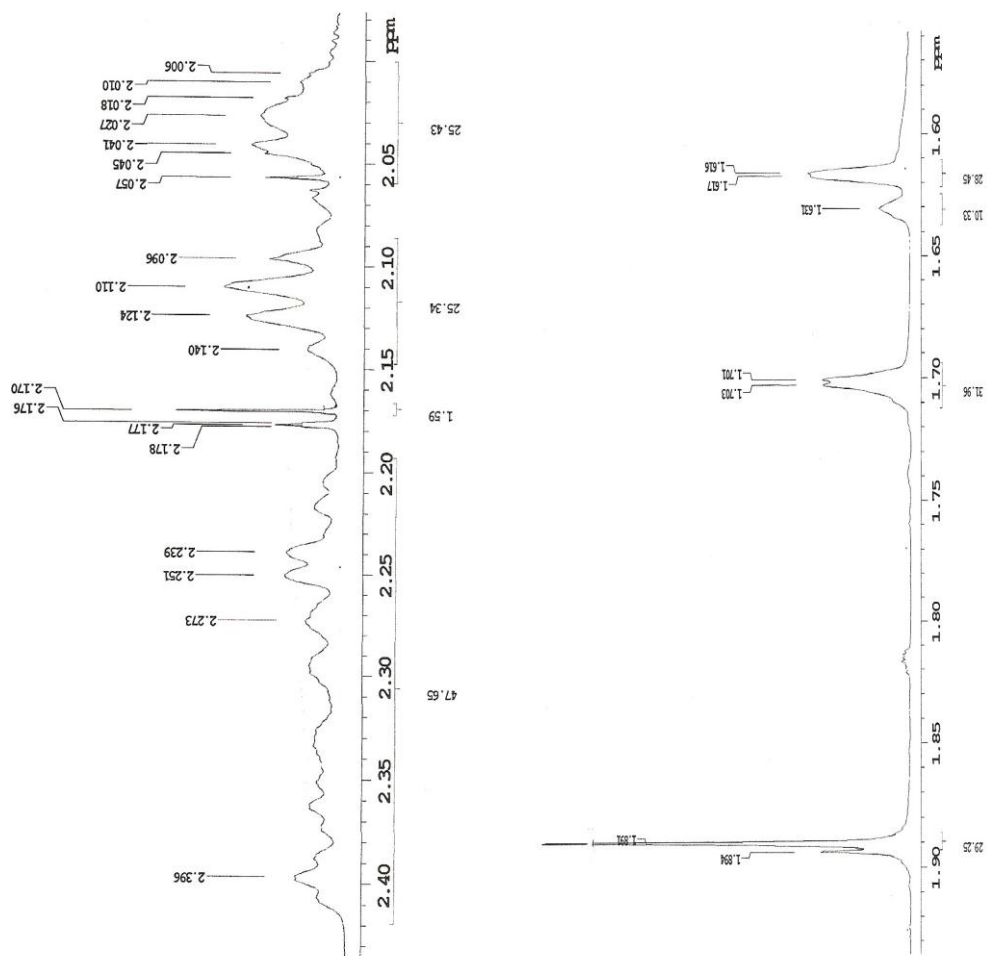


Figura 15 e 16 – expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-1

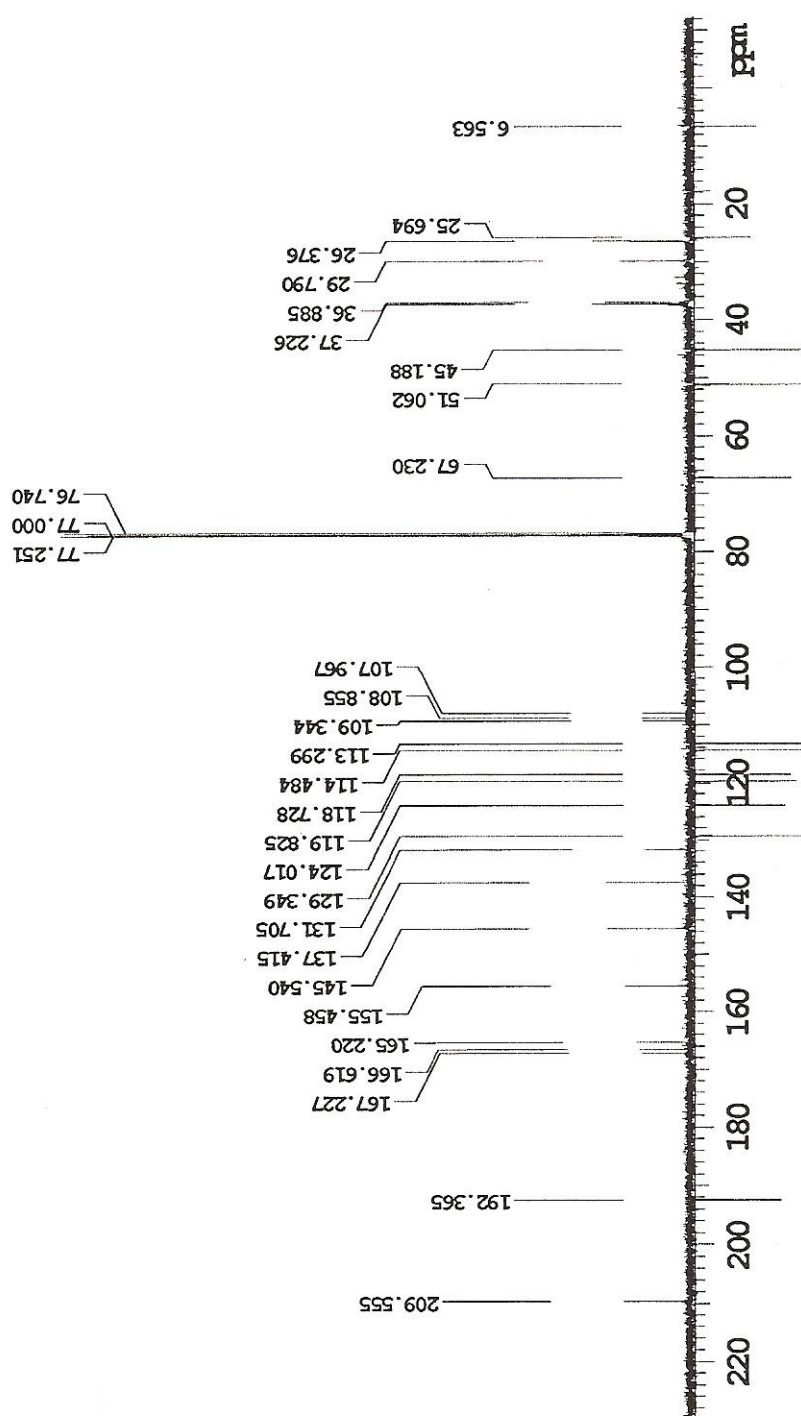


Figura 17 – espectro de RMN de ^{13}C , técnica APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pmt-1

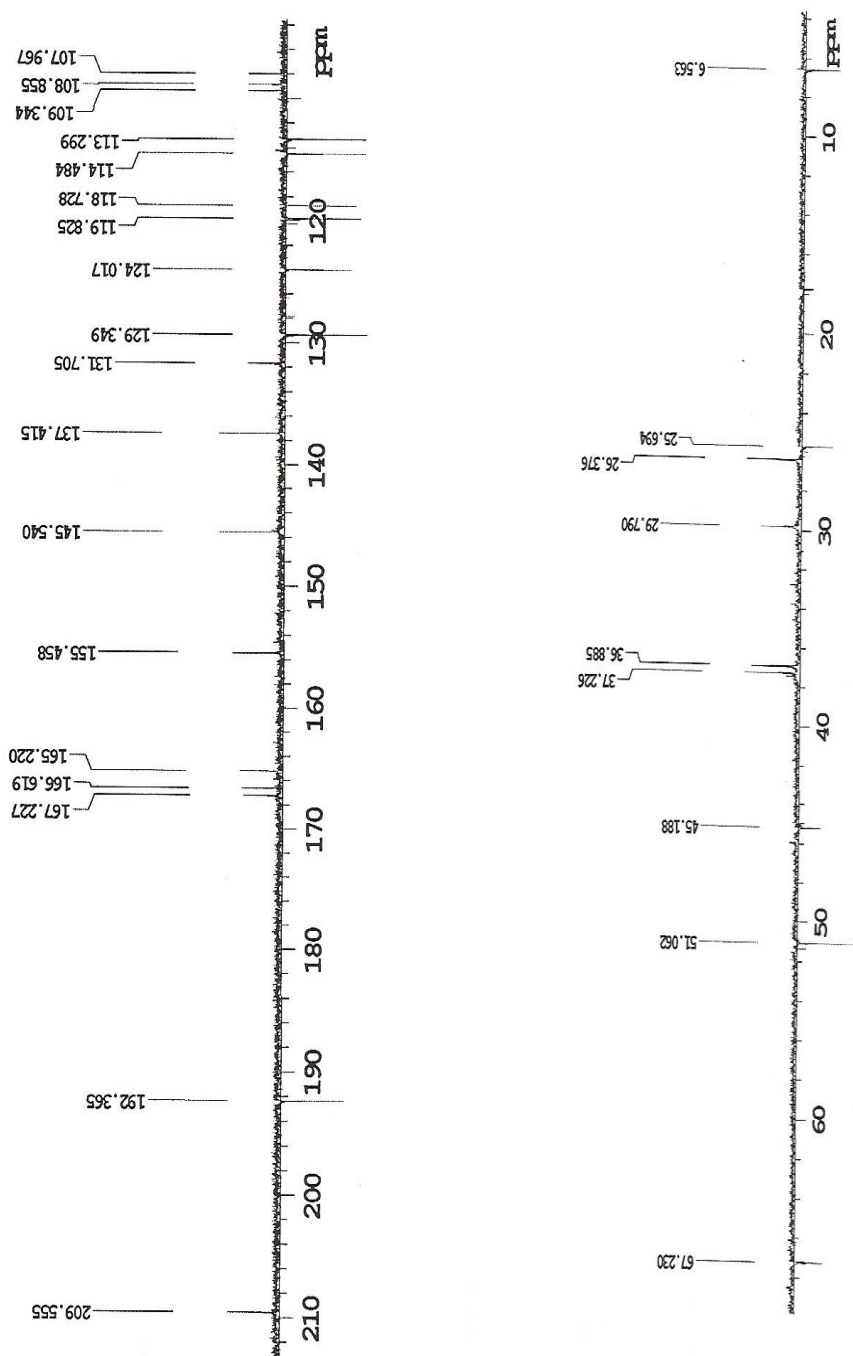


Figura 18 e 19 – expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pmt-1

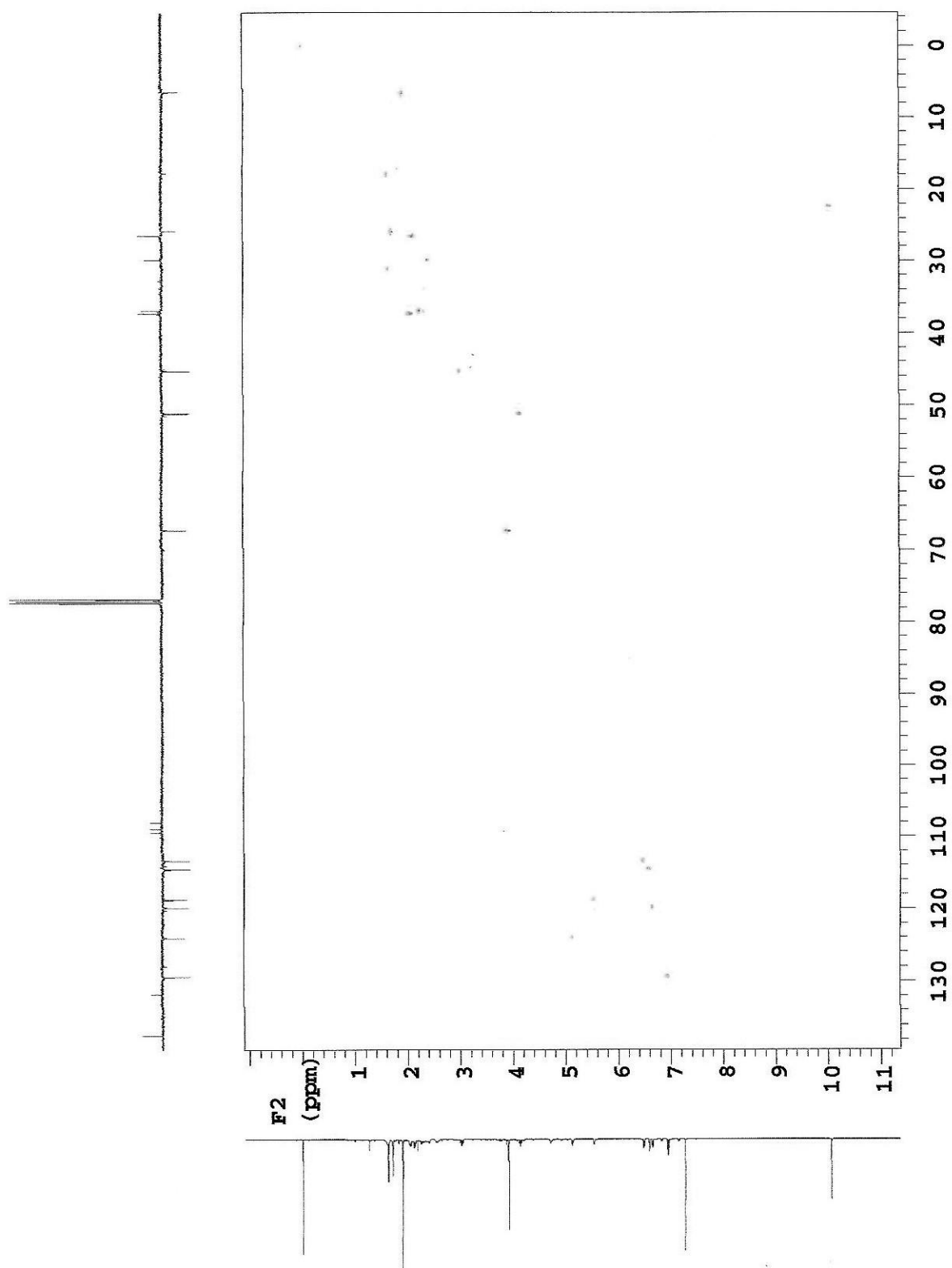


Figura 20 – espectro de correlação heteronuclear HMQC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1

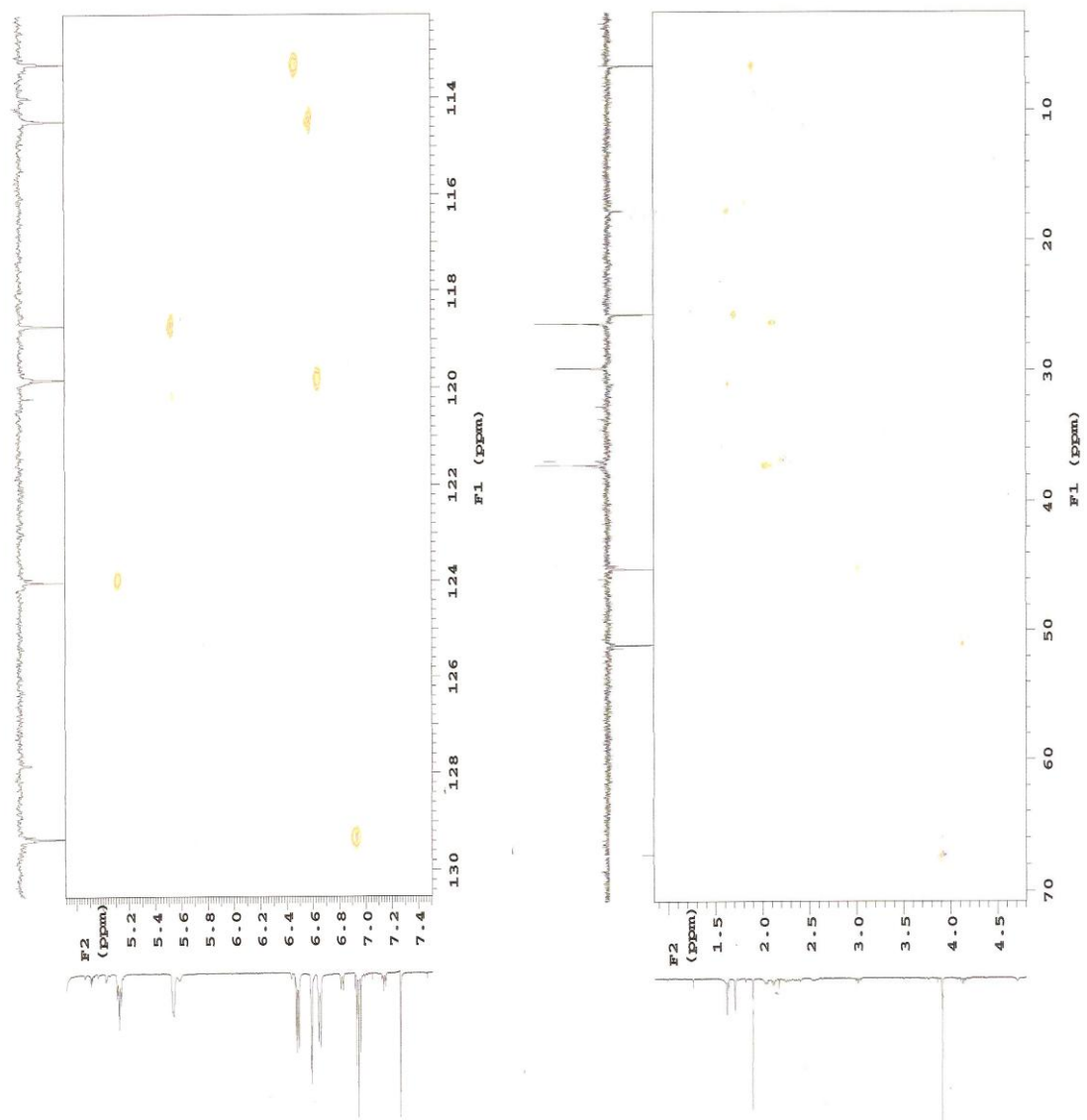


Figura 21 e 22 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1

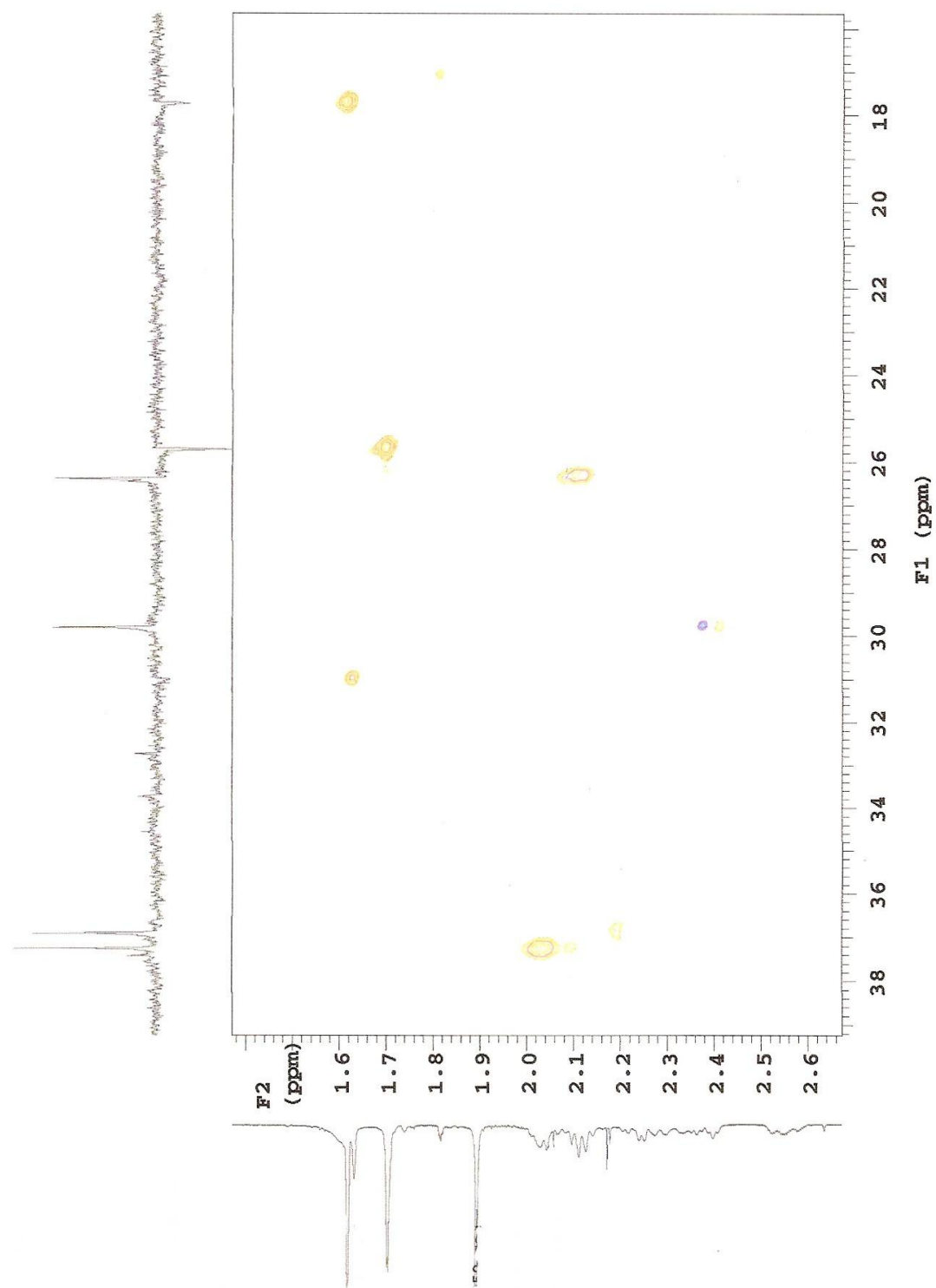


Figura 23 – expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1

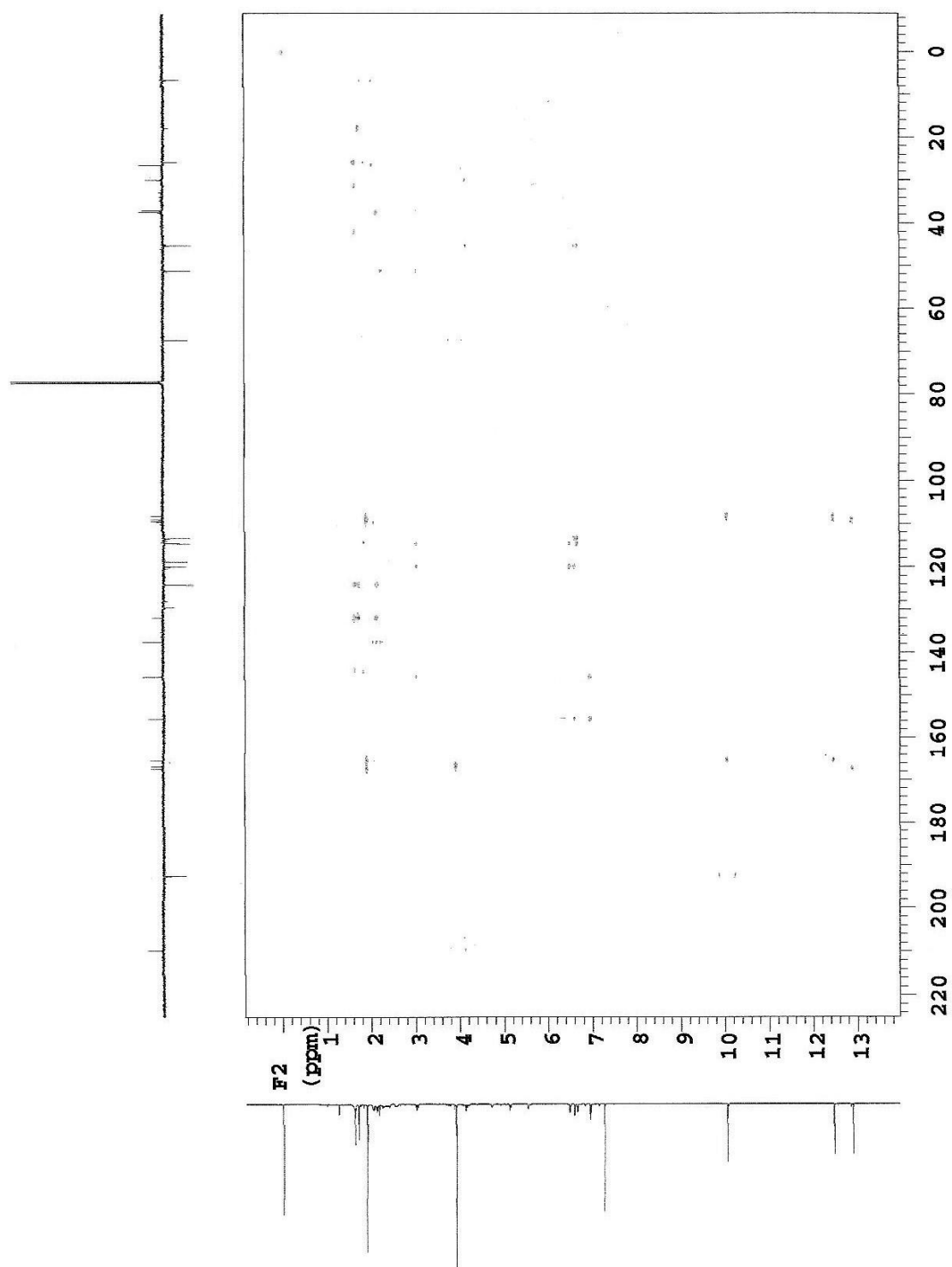


Figura 24 – espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1

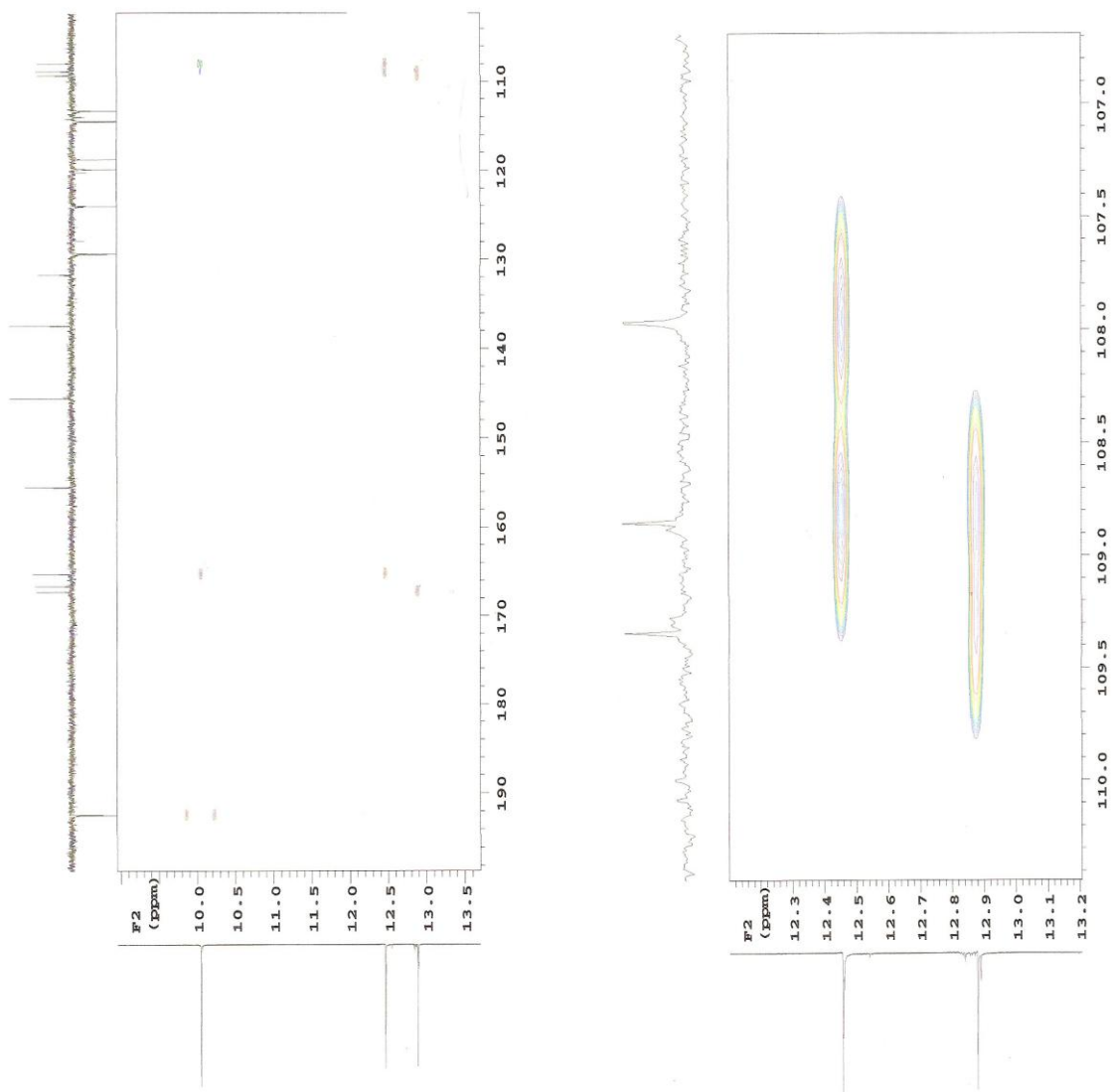


Figura 25 e 26 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1

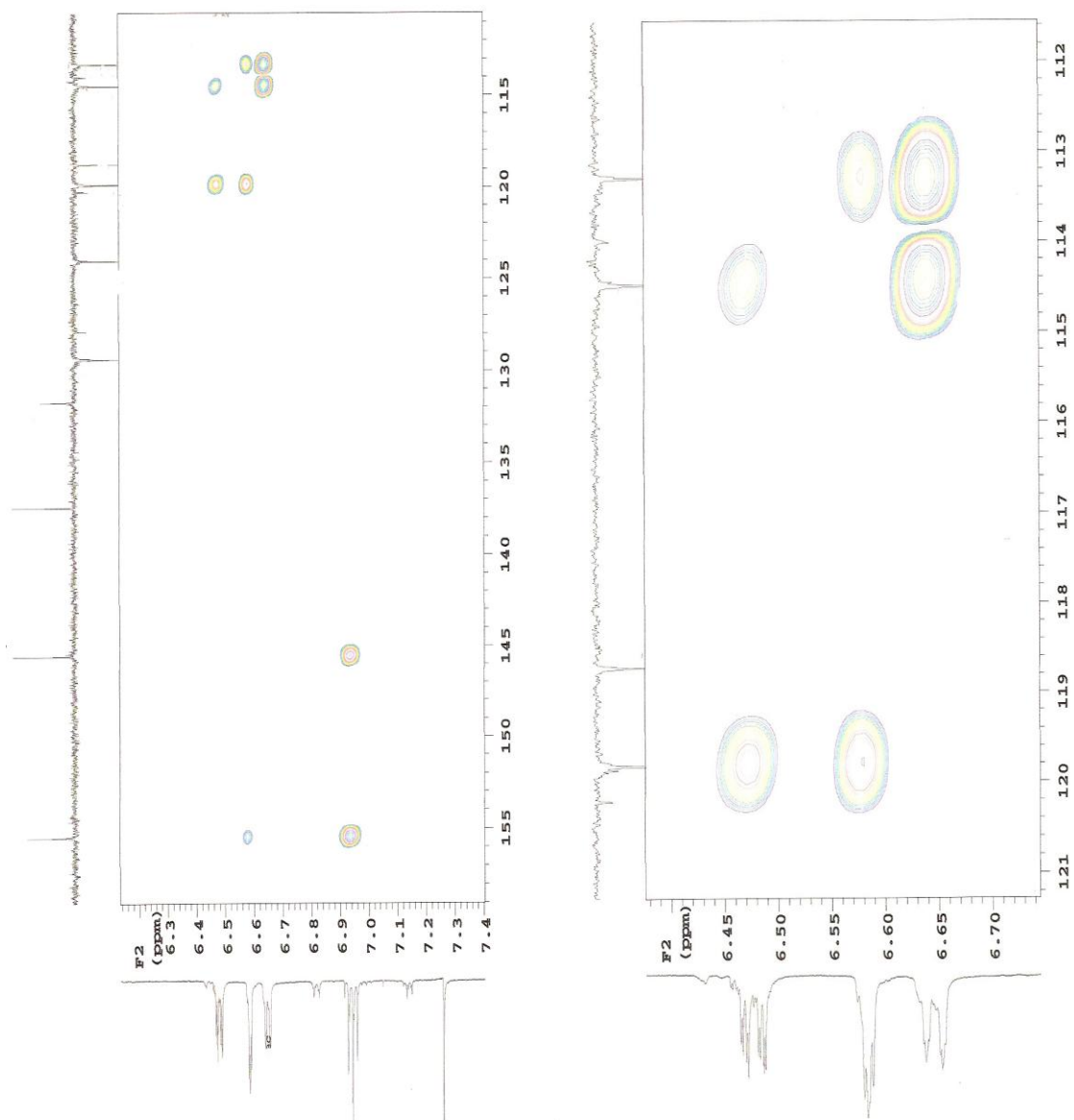


Figura 27 e 28 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1

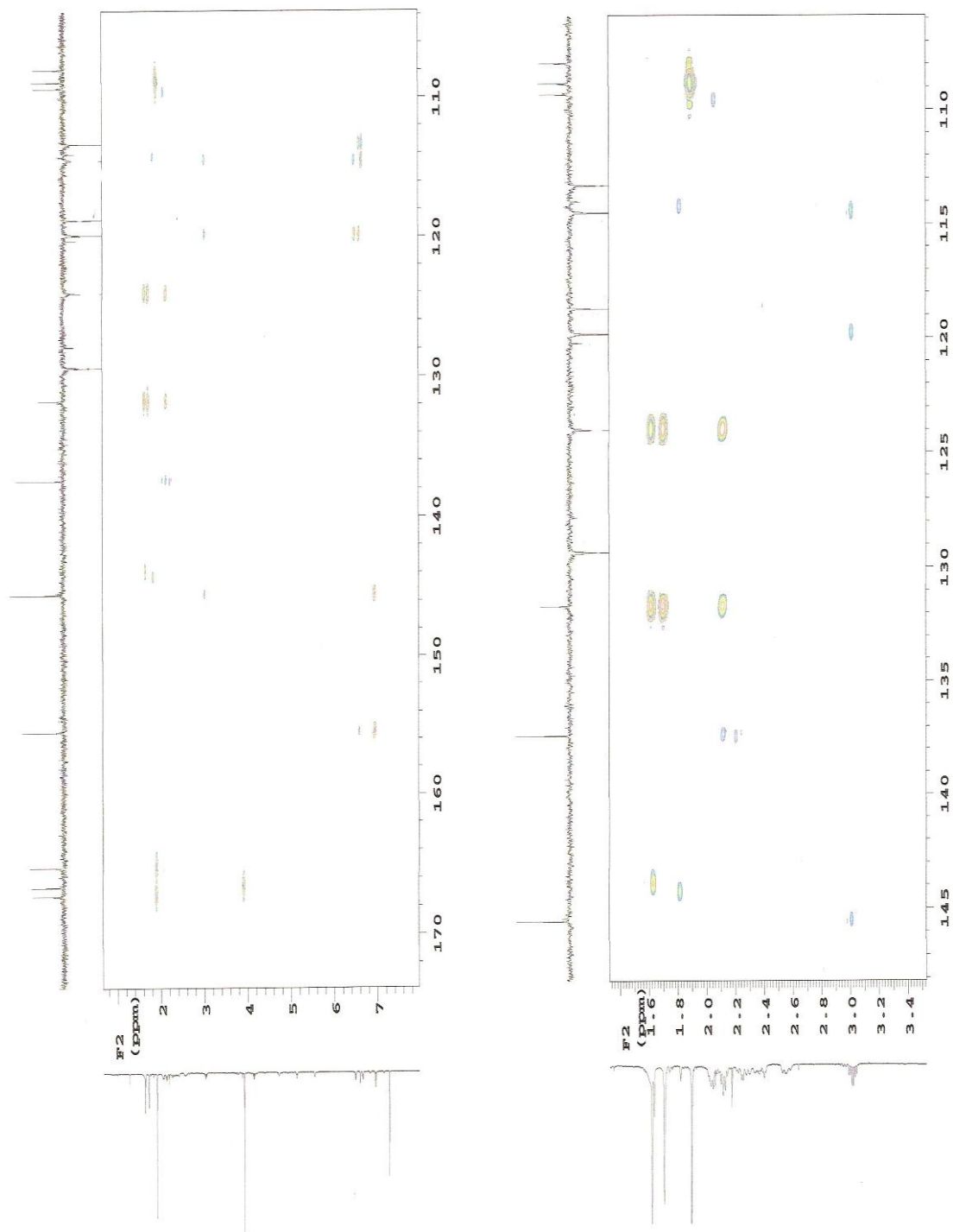


Figura 29 e 30 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1

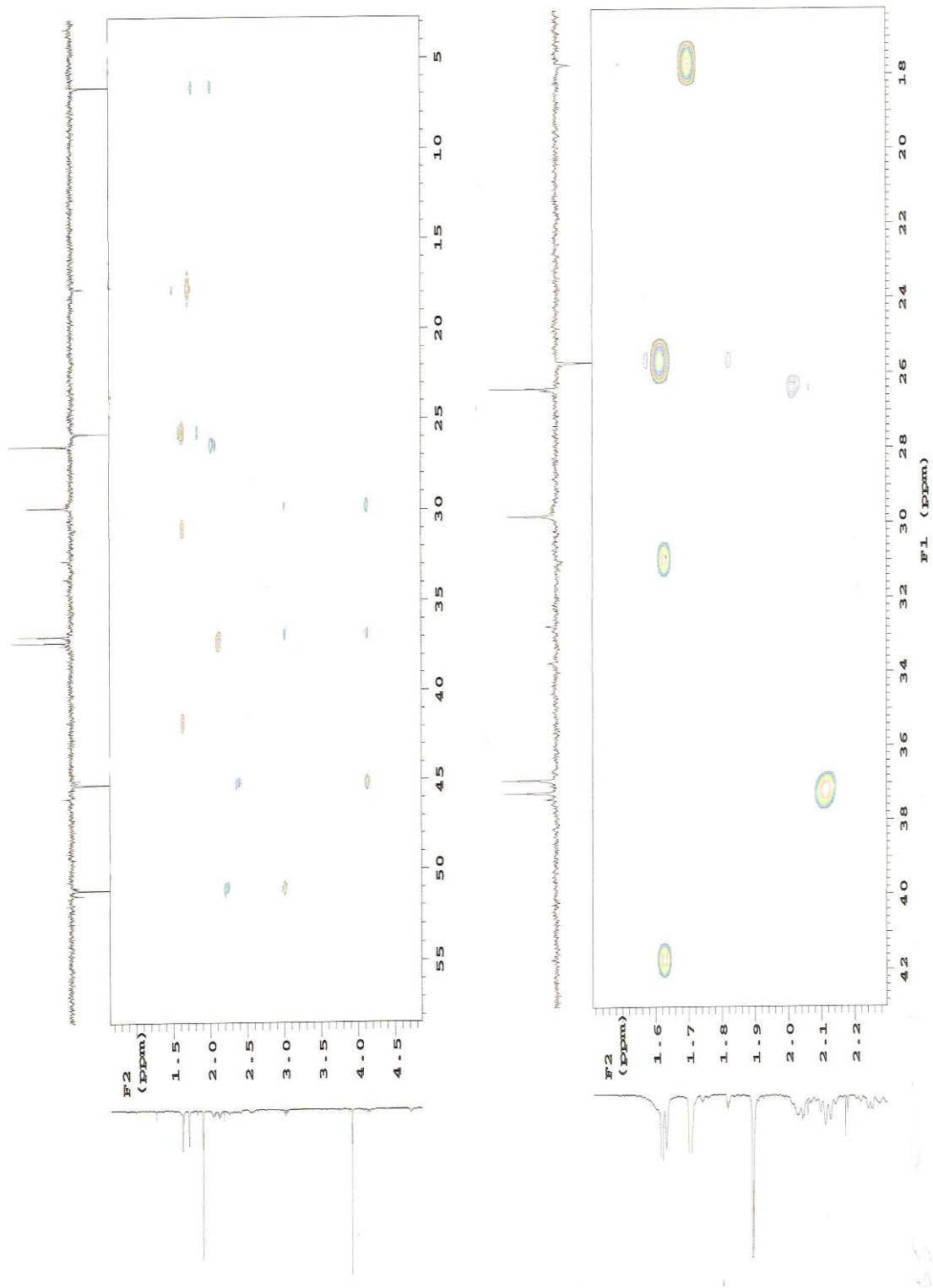


Figura 31 e 32 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-1

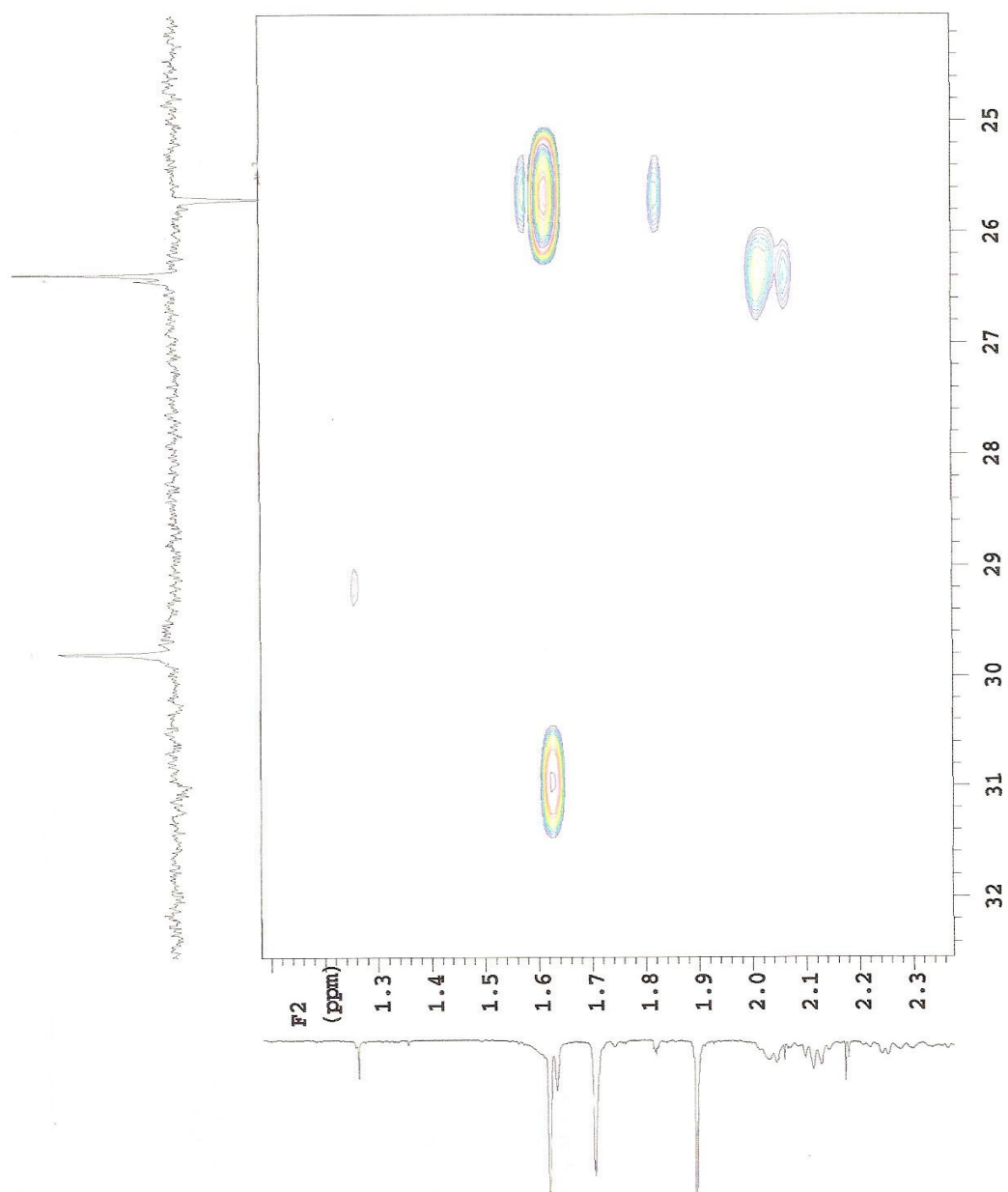


Figura 33 – expansão do espectro de correlação heteronuclear HMBC – ^1H x ^{13}C de Pmt-1

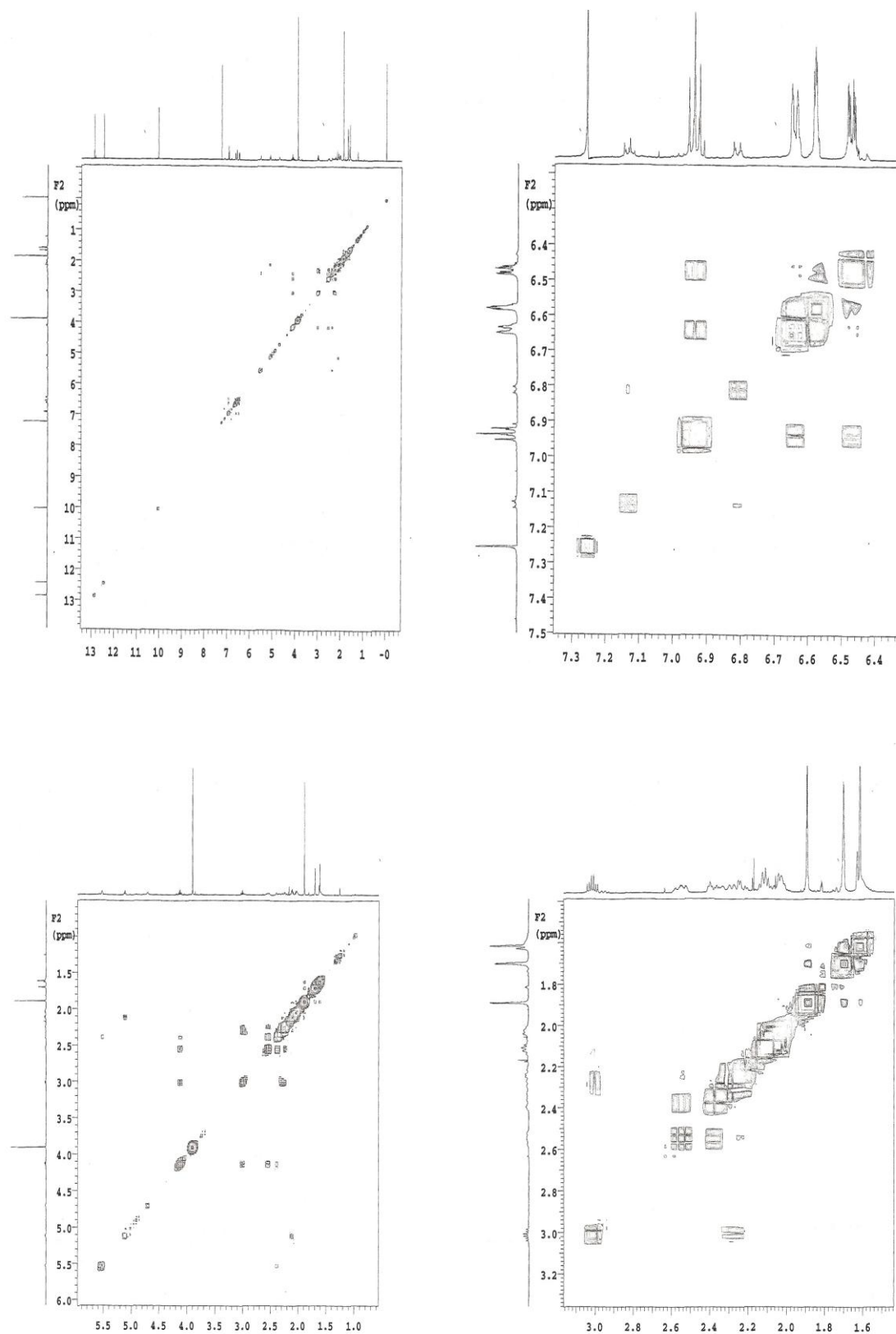


Figura 34-37 – expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-1

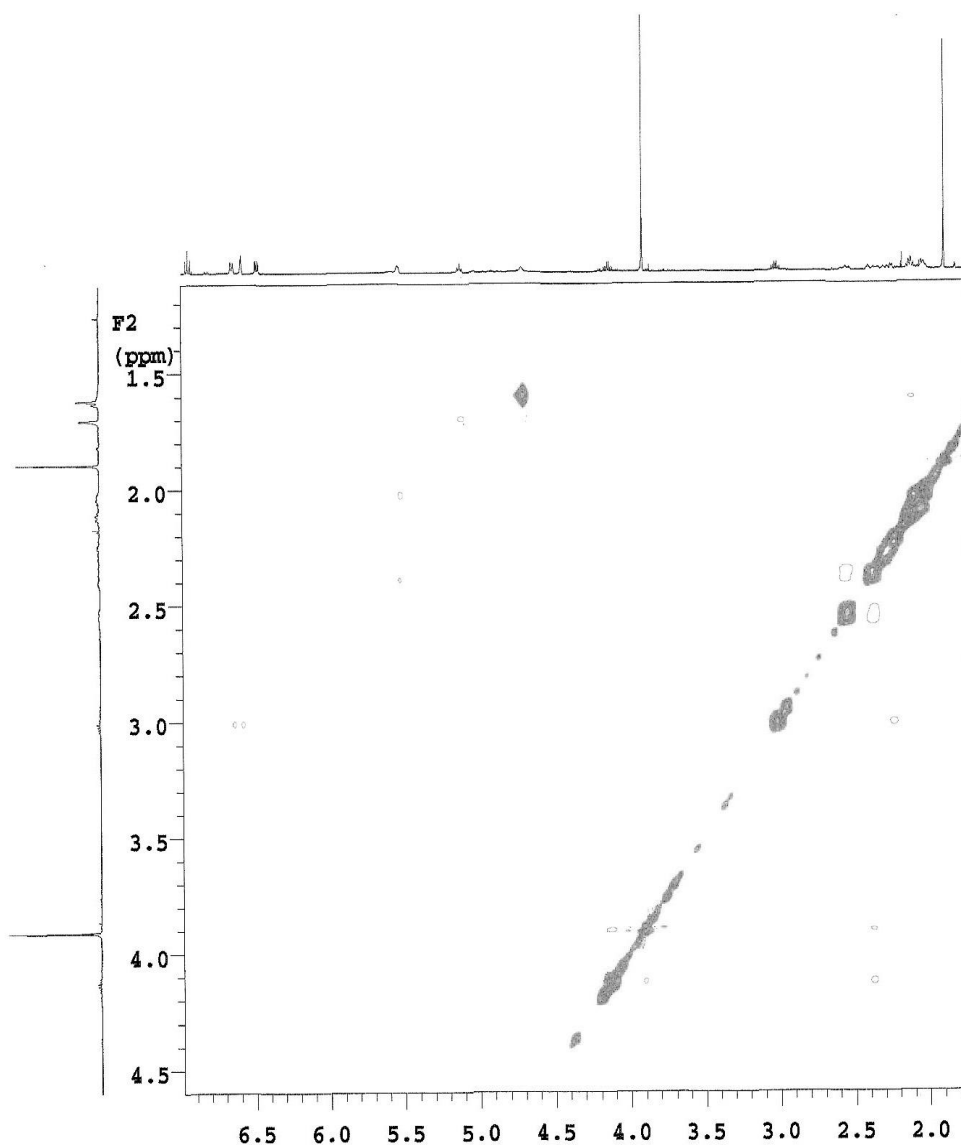


Figura 38: expansão do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-1

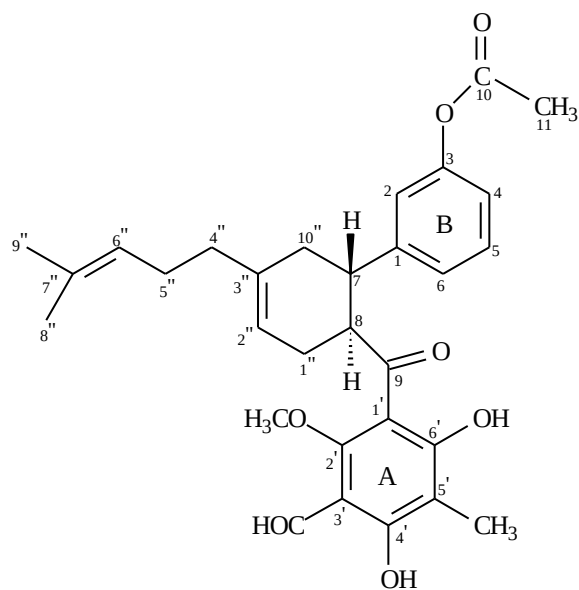
6.1.1 – Pmt-1 ACETILADO

O principal objetivo da acetilação de Pmt-1 foi comprovar a existência de uma hidroxila em *meta* no anel B da estrutura, hidroxila esta não muito comum como único substituinte no anel B de flavonóides (PARMAR et al, 1997). As hidroxilas das posições 4' e 6' de Pmt-1 não foram acetiladas, pois tratam-se de hidroxilas queladas (quimicamente bem mais estáveis que a hidroxila livre do anel B). Além disso, as condições brandas da reação sem aquecimento, catalisador e/ou agitação favoreceram a acetilação apenas da hidroxila livre.

Os dados de RMN de ^{13}C , técnica APT (δ , 125 MHz, CDCl_3), (Figuras 39-42, p. 109 e 110), permitiram corroborar a presença da hidroxila no carbono 3 do anel B e confirmar que ela foi acetilada, visto comparação com os dados de RMN de ^{13}C do composto de partida (Pmt-1) (Tabela 7, p. 85).

Pode-se observar também que houve uma desproteção magnética dos C-2 e C-4 em *orto* e do C-6 em posição *para* de 5.7, 6.1 e 5.2 ppm, respectivamente, dados esses condizentes com a acetilação de grupos OH em anel aromático (PAVIA, 1994). Além disso, a presença do grupo acetato foi confirmada pela absorção do carbono metílico em δ 20,86 (Figura 42, p. 110) e da carbonila δ 169,05 (Figura 39, p. 109).

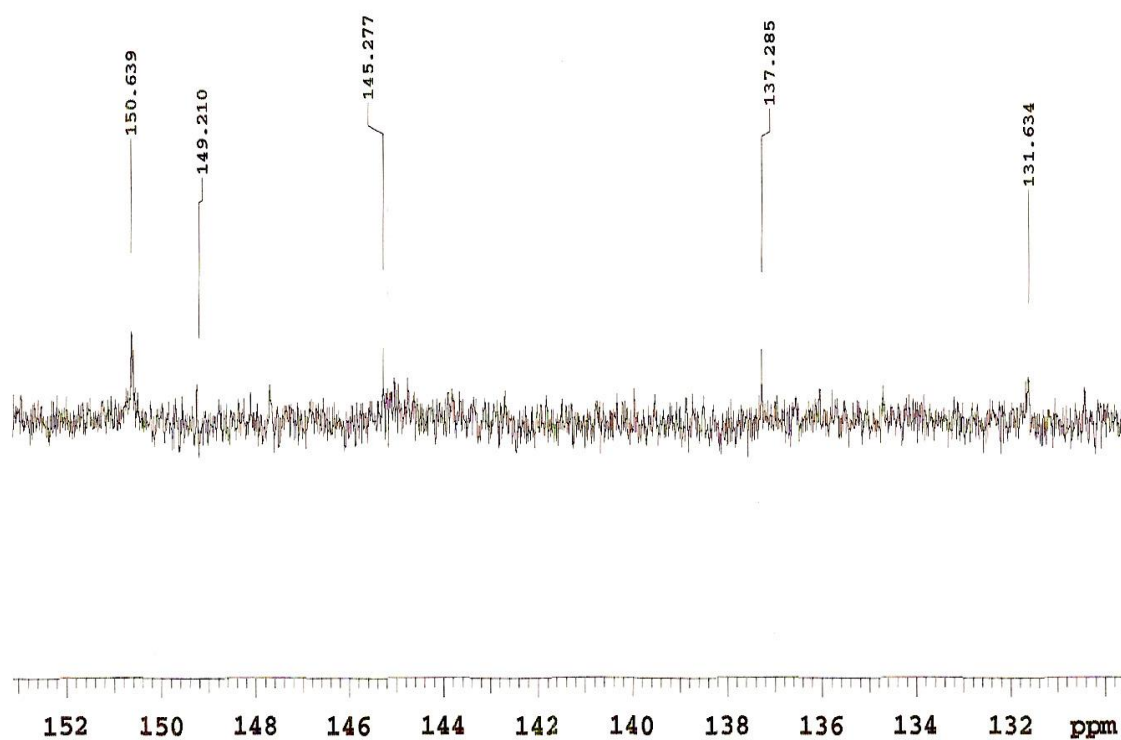
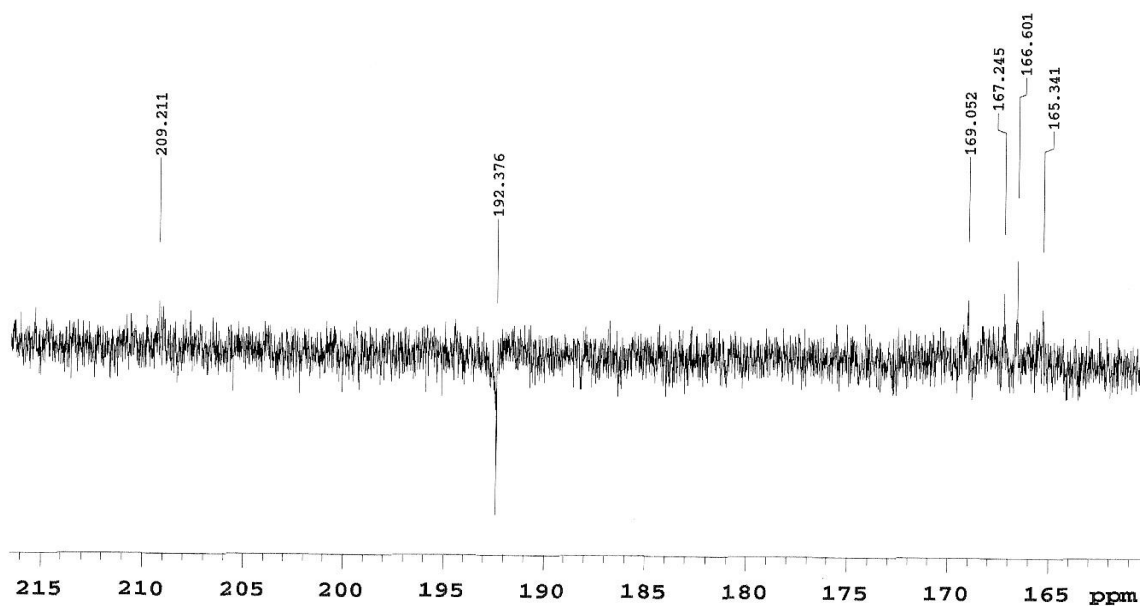
Os dados relatados, sumarizados na tabela 9 (p. 108), permitem descrever que a diidrochalcona monoterpênica acetilada, codificada por Pmt-1 acetilado, trata-se de (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(7''-dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-acetil)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona.



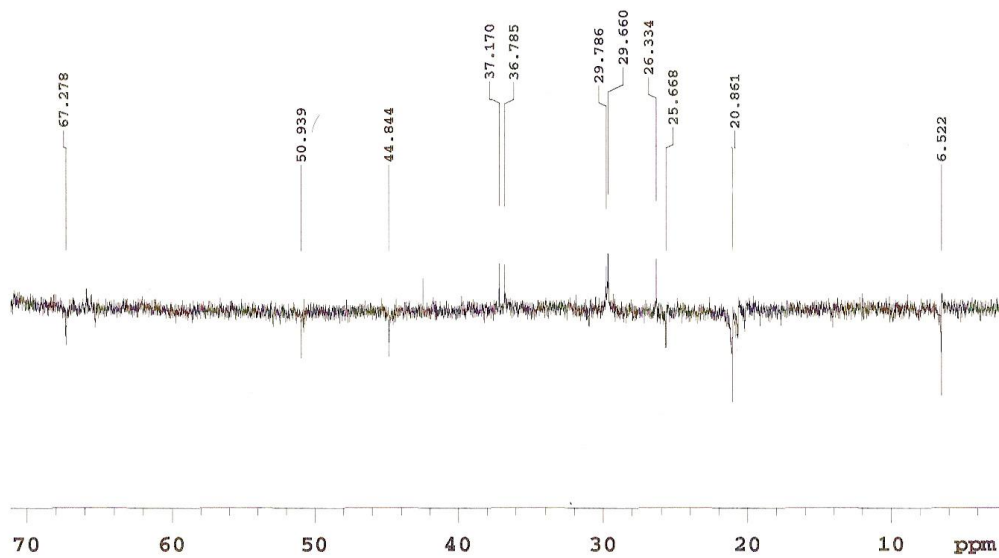
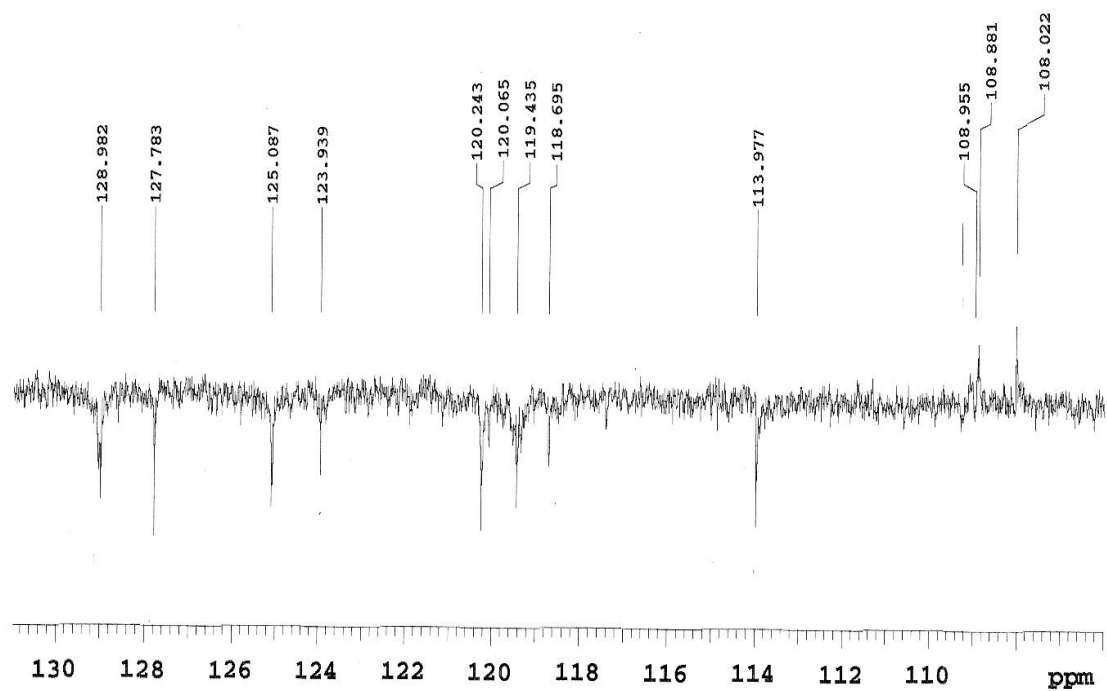
Pmt-1 ACETILADO

TABELA 9: dados de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Pmt-1 e Pmt-1 acetilado registrados em CDCl_3 e δ (ppm).

	Pmt-1	Pmt-1 acetilado
	δC	δC
C		
1	145,56	144,27
3	155,46	150,63
9	209,55	209,21
1'	109,34	108,95
2'	166,65	166,60
3'	107,97	108,22
4'	165,21	165,34
5'	108,85	108,88
6'	167,23	167,24
3''	137,41	137,28
7''	131,70	131,63
10	-	169,05
CH		
2	114,48	120,24
4	113,30	119,43
5	129,35	128,98
6	119,82	125,08
7	45,19	44,84
8	51,06	50,93
8'	192,36	192,37
2''	118,73	118,69
6''	124,02	123,93
CH₂		
1''	29,79	29,78
4''	37,23	37,17
5''	26,38	26,33
10''	36,88	36,78
CH₃		
7'	6,56	6,52
OMe-2'	67,23	67,27
8''	17,84	18,00
9''	25,69	25,66
11	-	20,86



Figuras 39 e 40 – expansões do espectro de RMN de ^{13}C (APT) de Pmt-1 acetilado



Figuras 41 e 42 – expansões do espectro de RMN de ^{13}C (APT) de Pmt-1 acetilado

6.2 - ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE Pmt-2

O constituinte químico codificado por Pmt-2, semelhantemente a Pmt-1, apresentou-se com um aspecto oleoso, amarelado e solúvel em CHCl_3 .

O espectro de IV (Figura 43, p. 119) apresentou uma banda larga em 3.429 cm^{-1} sugestiva da presença de hidroxila quelada na estrutura. Uma outra banda de pouca intensidade em 2.924 cm^{-1} é sugestiva de ligação C-H na molécula. Em 1.716 e 1.620 cm^{-1} observou-se uma banda fraca e uma banda intensa características de carbonilas de aldeído conjugada a anel aromático e de carbonila de cetona em ponte de hidrogênio, respectivamente. A banda de fraca intensidade em 1.454 cm^{-1} sugeriu deformação C=C de anel aromático. Já a banda em 1.419 cm^{-1} é sugestiva da deformação de C=C de vinila terminal. Além disso, foi também possível observar uma banda característica de estiramento de grupo C-O em 1.313 cm^{-1} . Em 1.188 e 1.118 cm^{-1} foram vistas bandas de média intensidade sugestivas de deformação C-O. Ainda em 783 e 594 cm^{-1} observou-se a presença de bandas de fraca intensidade características da presença de anel aromático com substituinte na posição *meta* (PAVIA et al, 2001; SILVERSTEIN et al, 1994).

No espectro de ultravioleta de Pmt-2 em MeOH (Figura 44a, p. 120) foi possível observar a presença de uma banda de absorção em 274 nm além de um ombro em 338 nm referentes as bandas I e II dos anéis B e A de flavonóides, respectivamente. O uso de AlCl_3 , como reagente de deslocamento, provocou um deslocamento batocrômico da banda I para 312 nm e da banda II para 368 nm (Figura 44b, p. 120), dados esses sugestivos da presença de uma diidrochalcona na estrutura em questão (BOHM, 1998; ØYVIND & KENNETH, 2006).

No espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) foram observados cinco singletos em δ $12,83$ (s, 1H), $12,44$ (s, 1H), $10,04$ (s, 1H), $3,94$ (s, 3H) e $1,89$ (s, 3H)

(Figuras 45, 46, 49 e 52, p. 121, 122, 123 e 125) sendo os dois primeiros característicos de hidroxilas queladas e os três últimos, auxiliados pela correlação vista no HMQC entre δ 10,03/192,35, δ 3,90/67,24 e δ 1,87/6,57 (Figuras 60 e 62, p. 130), sugestivos de grupos aldeído, metoxila e metila aromática, respectivamente. Além destes, ainda foram vistos sinais para prótons aromáticos em δ 6,56 (dd, $J=4,0$ e $2,5$ Hz, 1H), δ 6,47 (md, 1H), δ 6,92 (dt, $J=7,5$ e $2,0$ Hz, 1H) e δ 6,62 (md, 1H) (Figura 47, p. 122) que mostraram correlação direta com os carbonos δ 114,40, 113,35, 129,27 e 119,79 (Figura 59, p. 129), respectivamente. Todos esses dados, aliados a presença de uma carbonila vista no espectro de RMN de ^{13}C , experimento APT, em δ 209,40 (Figuras 54 e 55, p. 126 e 127) sugere que a estrutura trata-se de uma diidrochalcona com o anel A hexassubstituído e o anel B 1,3-disubstituído.

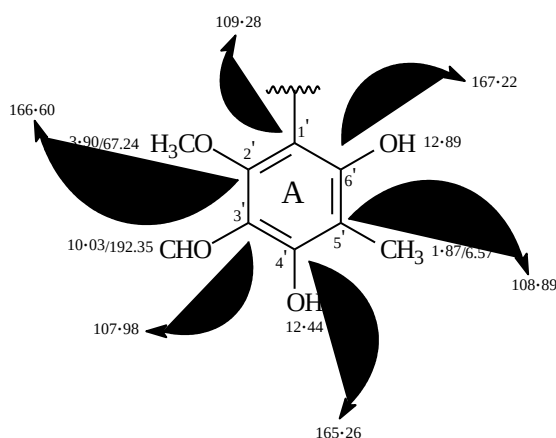
Outros sinais vistos no espectro de hidrogênio foram: δ 5,55 (m, 1H), δ 4,93 (m, 1H), δ 4,84 (m, 1H), δ 4,09 (m, 1H), δ 4,08 (m, 1H), δ 3,00 (dt, $J=11,0$ e $5,5$ Hz, 1H), δ 2,42-2,37 (m, 2H), δ 2,23-2,18 (m, 4H), δ 1,73 (s, 3H) e δ 1,65 (m, 2H) (Figuras 48-53, p. 123-125), sugestivos da presença de um radical com hidrogênios em carbonos insaturados e alifáticos.

O espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) evidenciou 28 sinais de carbonos, dos quais onze para carbonos quaternários (δ : 209,40, 167,22, 166,60, 165,26, 155,52, 147,37, 145,39, 137,17, 109,27, 108,89 e 107,98), nove para carbonos metínicos (δ : 192,35, 129,37, 119,79, 119,15, 114,47, 113,35, 75,73, 51,01 e 45,08), cinco para carbonos metilênicos (δ : 111,19, 33,20, 36,67, 29,79 e 32,89) e três para carbonos metílicos (δ : 6,57, 67,24 e 17,63) (Figuras 54-58, p. 126-128).

No espectro HMBC foi possível observar as seguintes correlações:

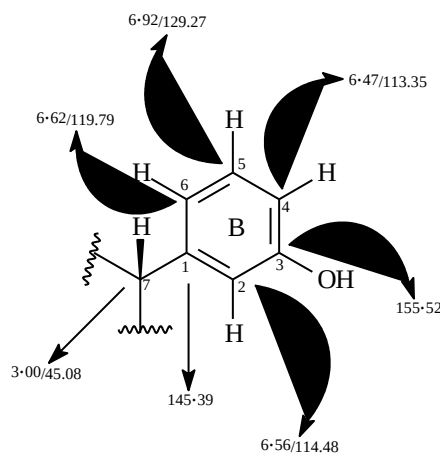
- δ 12,89/167,22, 109,28 e 108,89 (Figuras 62, 63 e 64, p. 131-132), o que permitiu confirmar δ 167,22 para a posição 6' e sugerir δ 109,28 e 108,89 para as posições C-1' e C-5', respectivamente.
- δ 12,44/107,98, 165,26 e 108,89 (Figuras 62, 63 e 64, p. 131-132), o que permitiu confirmar δ 165,26 para o C-4', sugerir δ 107,98 e 108,89 e para os C-3' e C-5', respectivamente.
- δ 10,03/107,98 e 165,26 (Figuras 63 e 64, p. 132), correlações estas que permitiram atribuir δ 107,98 para o C-3'.
- δ 1,87/108,89, 165,26 e 167,22 (Figura 62, 63 e 64, p. 131-132), o que confirmou a presença de metila ligada ao C-5' e corroborou os deslocamentos dos C-3', C-4' e C-6', respectivamente.
- Por exclusão e, ainda subsidiada pela correlação de δ 3,90/166,60 (Figura 63, p.132), foi possível atribuir δ 166,60 para o C-2'.

No espectro de NOESY foi vista uma correlação espacial entre δ 3,90/10,03 (Figura 66, p. 134), o que corrobora a presença de metoxila ligada ao C-2'.



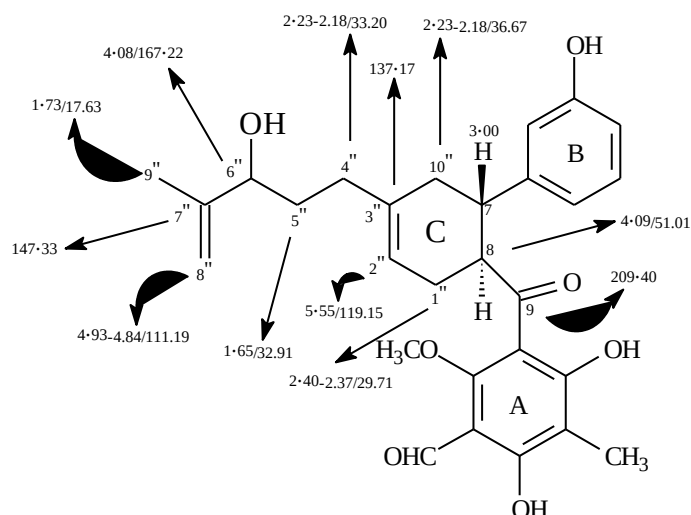
Para os hidrogênios aromáticos foram vistas as seguintes correlações no HMBC:

- δ 6,58 e 6,62/113,35 (Figuras 62 e 66, p. 132-133), o que sugeriu δ 6,56 e 6,62 para os H-2 e H-6, respectivamente e δ 113,35 para o C-4.
- δ 6,58/119,79 e 6,62/114,40 (Figuras 62 e 64, p. 131-132), o que confirmou os deslocamentos químicos de H-6 e H-2. Além disso, foi visto no COSY uma correlação de δ 6,62/6,92 (Figuras 70 e 71, p. 136-137), o que permitiu sugerir δ 6,92 para a posição 5.
- δ 6,92/145,39 e 155,52, correlações essas usadas para sugerir δ 145,39 e 155,52 para os carbonos 1 e 3, respectivamente. Ainda no COSY, foi vista também uma correlação de δ 6,92/6,47 (Figuras 70 e 71, p. 136-137), sugerindo que δ 6,47 trata-se de H-4.
- δ 6,47/119,79, o que permitiu confirmar δ 6,47 como sendo o H-4 (Figura 64, p. 132)
- δ 3,00/119,79 e 114,40 (Figura 64, p. 132). Essas correlações permitiram confirmar δ 119,79 para o C-6 e δ 114,40 para o C-2 e sugerir δ 3,00 para a posição 7. A correlação a $^1J_{\text{CH}}$ de δ 3,00/45,08 e de δ 4,09/51,01 (Figura 60, p. 130), além das correlações no HMBC de δ 3,00/51,01 (Figura 65, p.133) permitiram definir δ 45,08 para o C-7 e δ 51,01 para o C-8.



No HMQC foram vistas também correlações de δ 2,23-2,18/36,67, δ 2,40-2,37/29,71 e δ 5,55/119,15 (Figuras 59 e 61, p. 129 e 130) sugestivas para as posições 10'', 1'' e 2'', respectivamente. No COSY foi observada a correlação de δ 3,00/2,23-2,18 (Figura 73, p. 137) que confirmou δ 2,23-2,18 para os H-10'' e de δ 5,55/2,40-2,37, que com o auxílio das correlações no NOESY de δ 4,09/2,42-2,37 e δ 5,55/2,42-2,37 (Figuras 66, 68 e 69, p. 134 e 135), permitiram confirmar δ 2,42-2,37 e δ 5,55 para os H-1'' e H-2'', respectivamente.

Outras correlações diretas ainda foram observadas: δ 2,23-2,18/33,20, δ 1,65/32,91, δ 4,08/75,73, δ 4,93 e 4,84/111,19 e δ 1,73/17,63 (Figuras 59-61, p. 129 e 130), sugestivas para as posições 4'', 5'', 6'', 8'' e 9'', respectivamente. A correlação entre δ 2,23-2,18/1,65 vista no COSY (Figura 73, p. 137) permitiu confirmar δ 2,23-2,18 para o H-4'' e δ 1,65 para o H-5''. Por comparação com Pmt-1 foi possível evidenciar que o C-6'' sofreu oxidação, com mudança no seu deslocamento químico para campo mais alto de δ 124,02 para δ 75,73. Foi possível observar também a correlação no HMBC de δ 4,08/111,19 (Figura 64, p. 132), o que confirmou δ 4,08 para o H-6'' e evidenciou a redução sofrida pelo carbono da posição 8'' para campo mais baixo em δ 111,19. O H-8'' (δ 4,93 e 4,84) também mostrou correlação a $^3J_{(CH)}$ com δ 17,63 (Figura 65, p. 133) e o H-9'' (δ 1,73) com δ 111,79 e 75,73 (Figura 64, p. 132), confirmando, respectivamente, o deslocamento químico das posições 8'' e 9''. Por fim, evidenciou-se uma correlação a $^2J_{(CH)}$ entre δ 1,73/147,33 (Figura 63, p. 132), permitindo atribuir δ 147,33 para o C-7'' e, por exclusão, δ 137,17 para o carbono quaternário restante da posição 3''.



Os dados relatados, sumarizados na tabela 10 (p. 117), além de comparação com dados da literatura (TRAKOONTIVAKORN et al, 2001), permitiram definir que Pmt-2 trata-se de (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(6''-hidroxi 7''-metilpentenil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona, diidrochalcona monoterpênica inédita ainda não relatada na literatura científica.

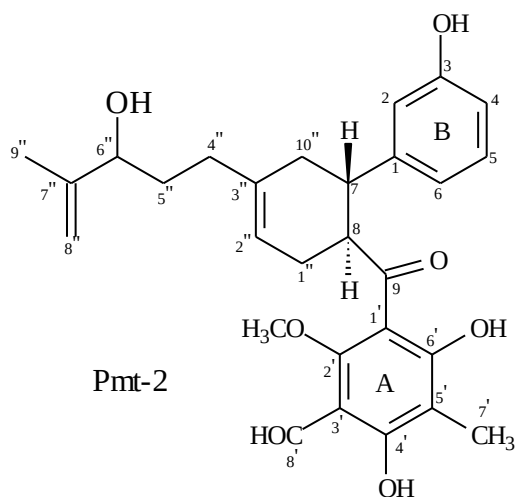


TABELA 10: dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-2 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC		NOESY
	δC	δH	$^2\text{J}_{(\text{CH})}$	$^3\text{J}_{(\text{CH})}$	
C					
1	145,39			H-5	
3	155,52			H-5	
9	209,40				
1'	109,28			OH-6'	
2'	166,60			OMe-2'	
3'	107,98		H-8'	OH-4', 3H-7'	
4'	165,26		OH-4'	H-8', 3H-7'	
5'	108,89		3H-7'	OH-4', OH-6'	
6'	167,22		OH-6'	3H-7'	
3''	137,17				
7''	147,33		3H-9''		
CH					
2	114,40	6,56 (m)		H-7, H-6	
4	113,35	6,47 (md)		H-2, H-6	
5	129,27	6,92 (dt, J=7,5 e 2,0Hz)			
6	119,79	6,62 (md)		H-2, H-4, H-7	
7	45,08	3,00 (dt, J=11,0 e 5,5 Hz)		H-2, H-6	
8	51,01	4,09 (m)	H-7		H-1''
8'	192,35	10,03 (s)			
2''	119,15	5,55 (m)			H-1'', H-4''
6''	75,73	4,08 (m)		2H-8'', 3H-9''	
CH₂					H-8, H-2''
1''	29,71	2,42 (m), 2,37 (m)			
4''	33,20	2,23-2,18 (m)			H-2''
5''	32,91	1,65 (m)			
8''	111,19	4,93 (m), 4,84 (m)		H-6'', 3H-9''	
10''	36,67	2,23 (m), 2,18 (m)			
CH₃					
7'	6,57	1,87 (s)			
OMe-2'	67,24	3,90 (s)			
8''					
9''	17,63	1,73(s)		2H-8''	
OH-4'		12,44 (s)			
OH-6'		12,89 (s)			

TABELA 11: dados comparativos de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-2 com dados da literatura (δ , MeOD, 600 e 150 MHz) (TRAKOONTIVAKORN et al, 2001)

	δC	δH		δC	δH
C			C		
1	145,39		1	?	
3	155,52		3	128,10	
9	209,40		9	205,70	
1'	109,28		1'	104,70	
2'	166,60		2'	164,10	
3'	107,98		3'	94,80	
4'	165,26		4'	164,30	
5'	108,89		5'	94,80	
6'	167,22		6'	164,10	
3''	137,17		3''	-	
7''	147,33		7''	130,60	
CH			CH		
2	114,40	6,56 (m)	2	126,90	
4	113,35	6,47 (md)	4	125,30	
5	129,27	6,92 (dt, J=7,5 e 2,0Hz)	5	128,10	5,76 (s)
6	119,79	6,62 (md)	6	126,90	
7	45,08	3,00 (dt, J=11,0 e 5,5 Hz)	7	36,40	3,36 (ddd, J=6,4, 10,6 e 11,6 Hz)
8	51,01	4,09 (m)	8	52,80	4,75 (dd, J=4,7 e 11,6 Hz)
8'	192,35	10,03 (s)	3	128,10	
2''	119,15	5,55 (m)	2''	120,90	5,41 (ddd, J=1,9, 2,8 e 4,5 Hz)
6''	75,73	4,08 (m)	6''	124,30	4,90 (dd, J=7,1 e 7,1 Hz)
CH₂			4''	28,40	
1''	29,71	2,42 (m), 2,37 (m)	CH₂		
4''	33,20	2,23-2,18 (m)	1''	35,70	1,98 (ddddq, J=1,6, 1,9, 2,8, 10,6 e 18,1), 2,33 (dddq, J=1,9, 4,5, 6,4 e 18,1 Hz)
5''	32,91	1,65 (m)	5''	28,40	2,05 (ddd, J=4,5, 7,1 e 15,2), 2,25 (ddd, J=7,1, 7,2 e 15,2)
8''	111,19	4,93 (m), 4,84 (m)	-	-	
10''	36,67	2,23 (m), 2,18 (m)	-	-	
CH₃			CH₃		
7'	6,57	1,87 (s)	10''	17,60	1,77 (ddd, J=1,9, 1,9 e 1,9 Hz)
OMe-2'	67,24	3,90 (s)	-	-	
8''			8''	17,60	1,51 (s)
9''	17,63	1,73(s)	9''	25,50	1,51 (s)
OH-4'		12,44 (s)	-	-	
OH-6'		12,89 (s)	-	-	

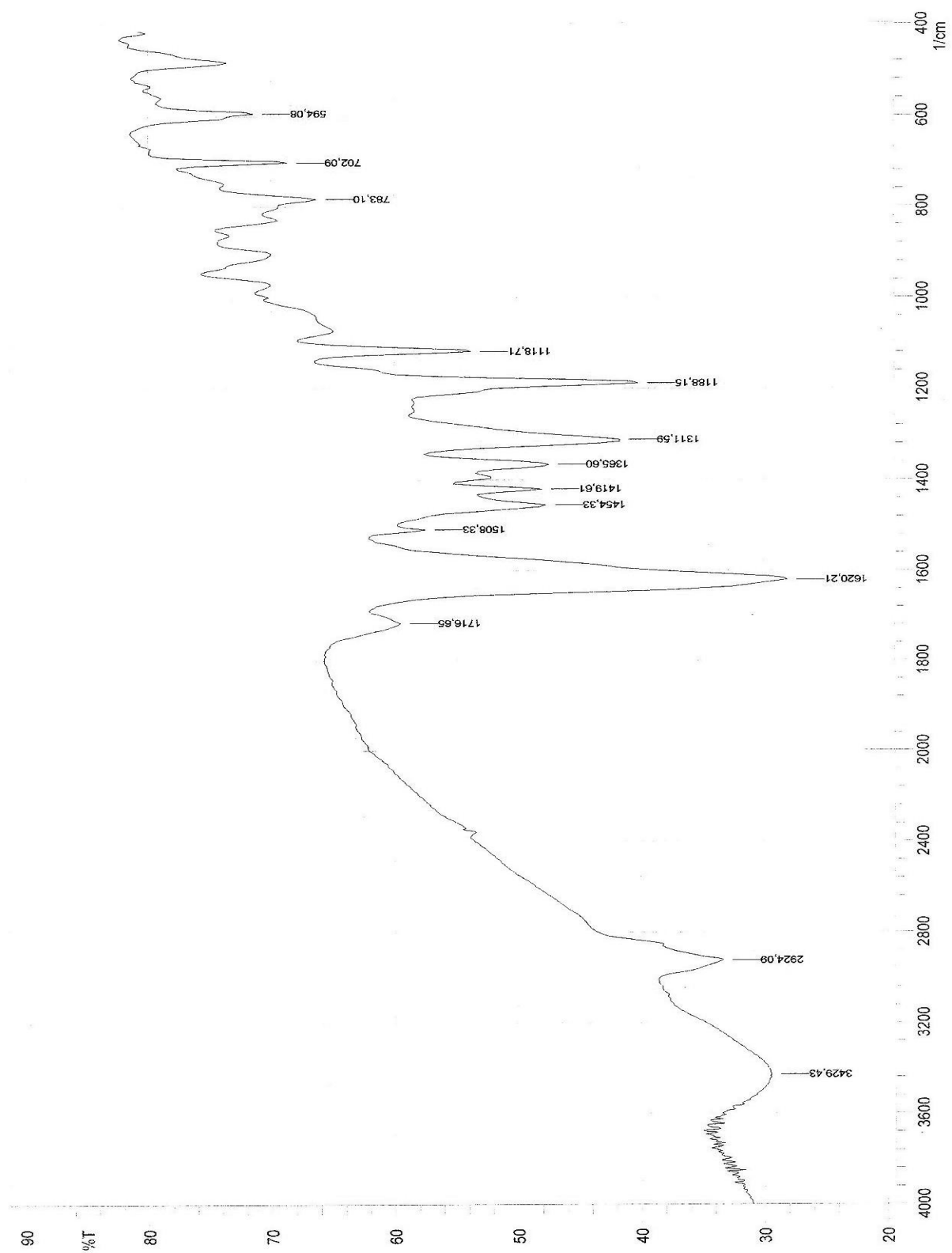
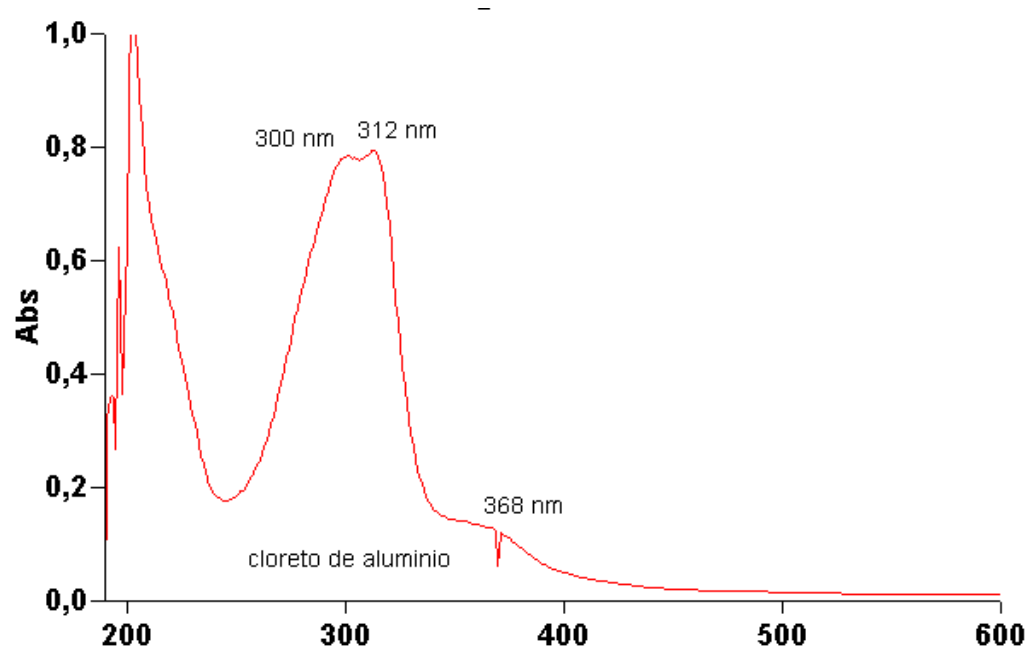
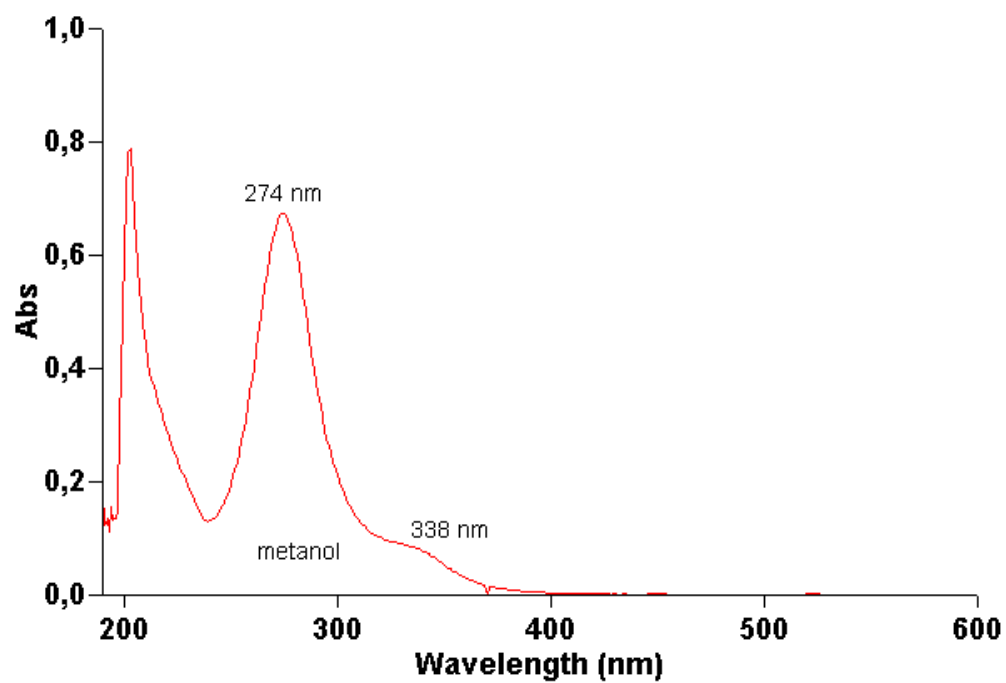


Figura 43: espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pmt-2



Figuras 44a e 44b: espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl₃) de Pmt-2

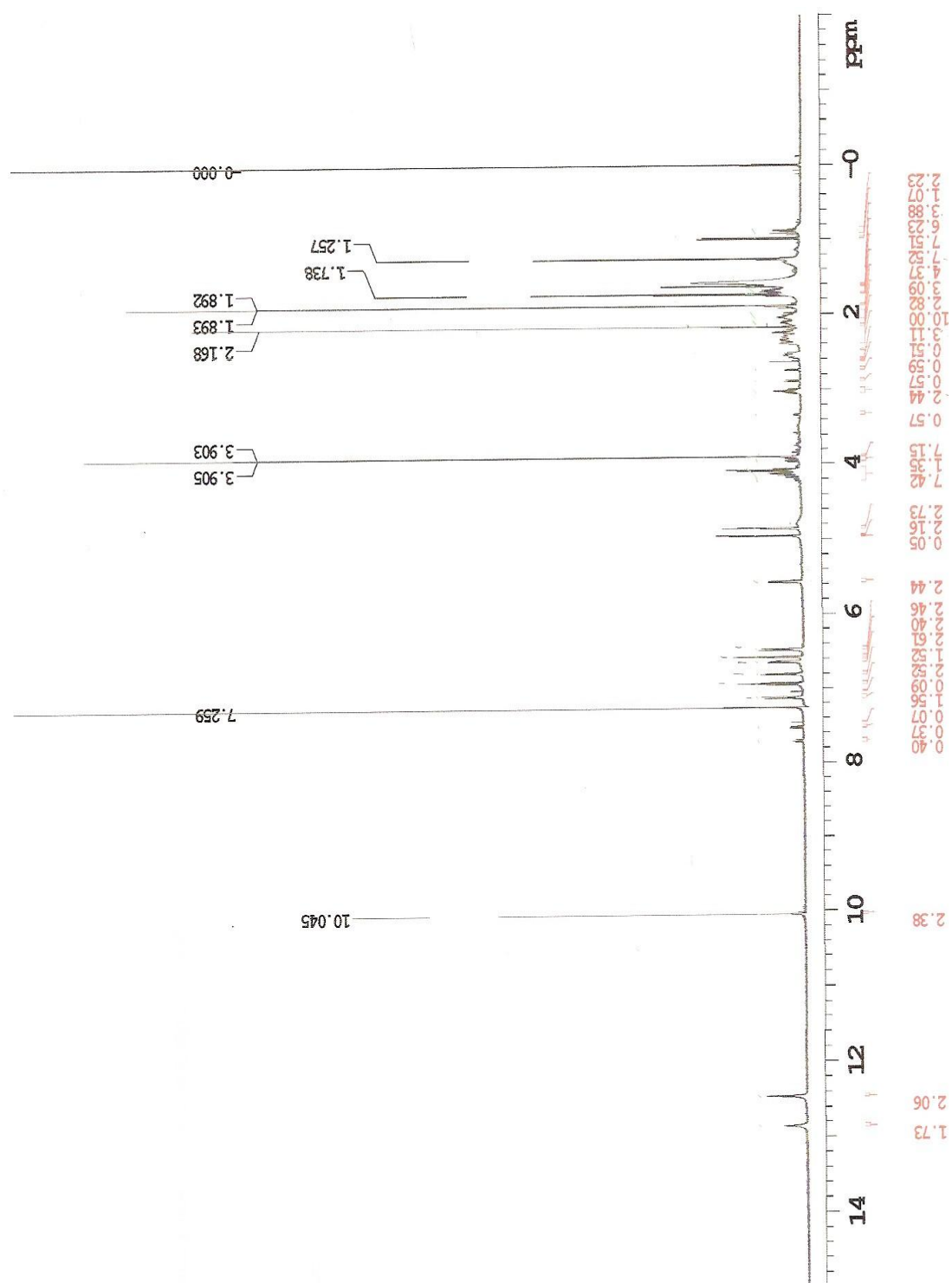


Figura 45: espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

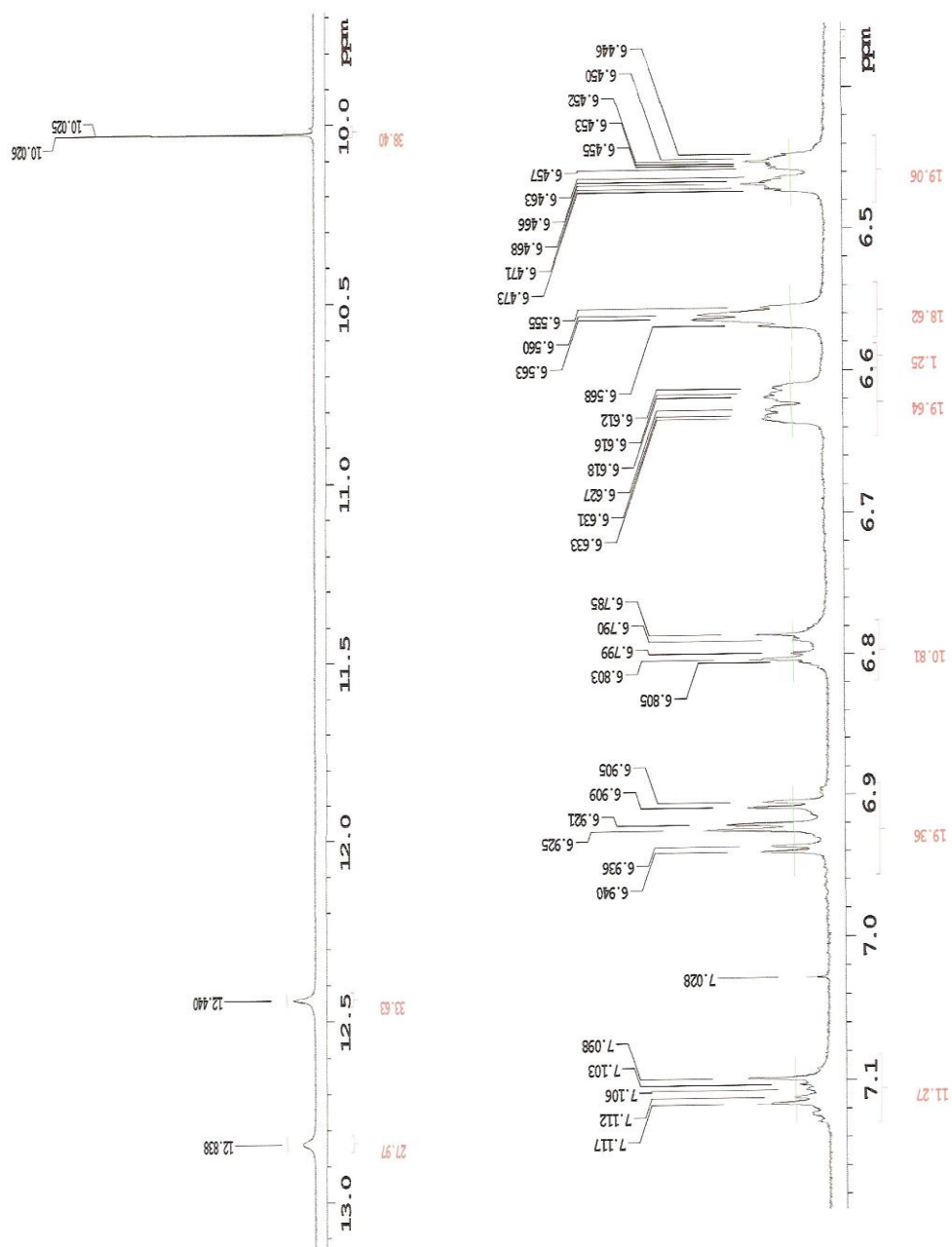


Figura 46 e 47: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

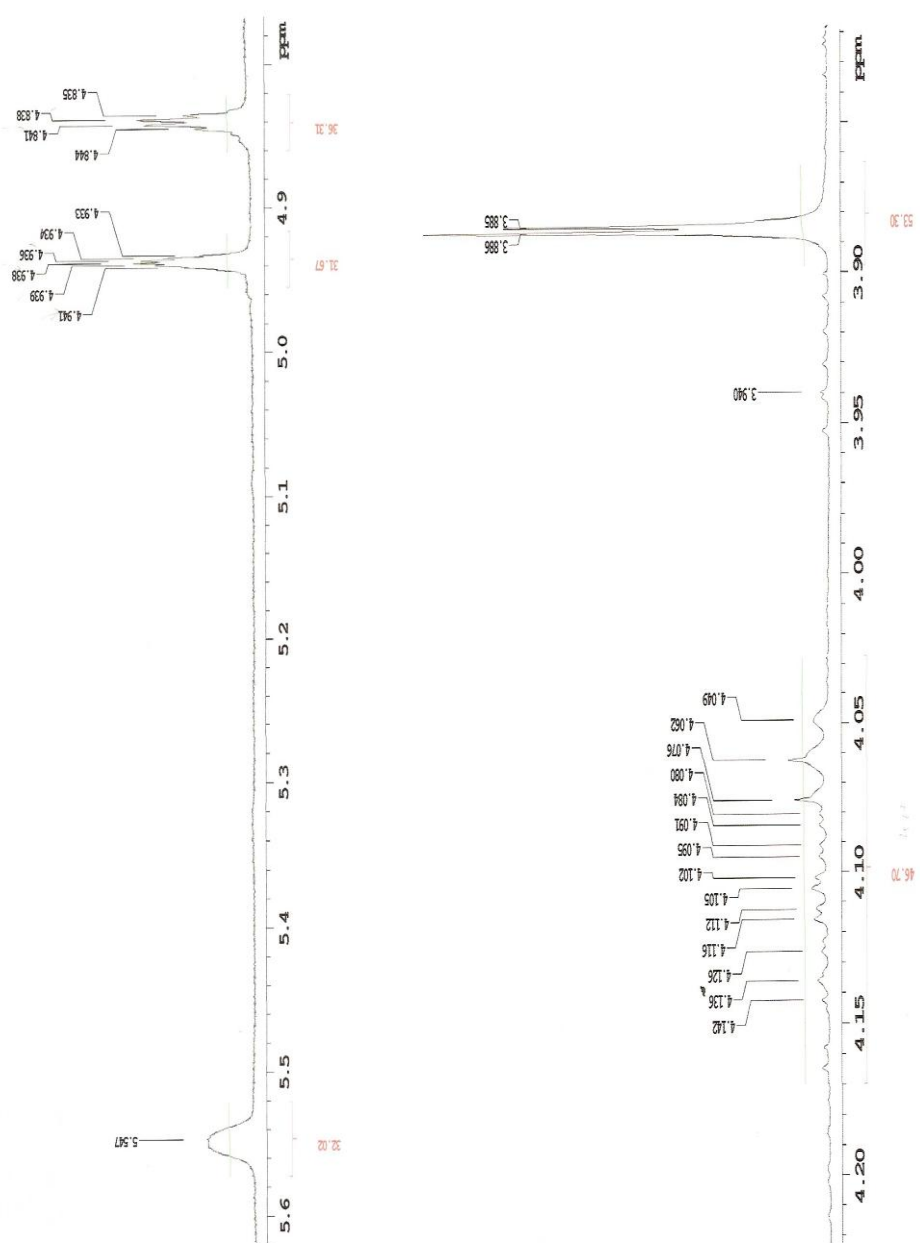


Figura 48 e 49: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

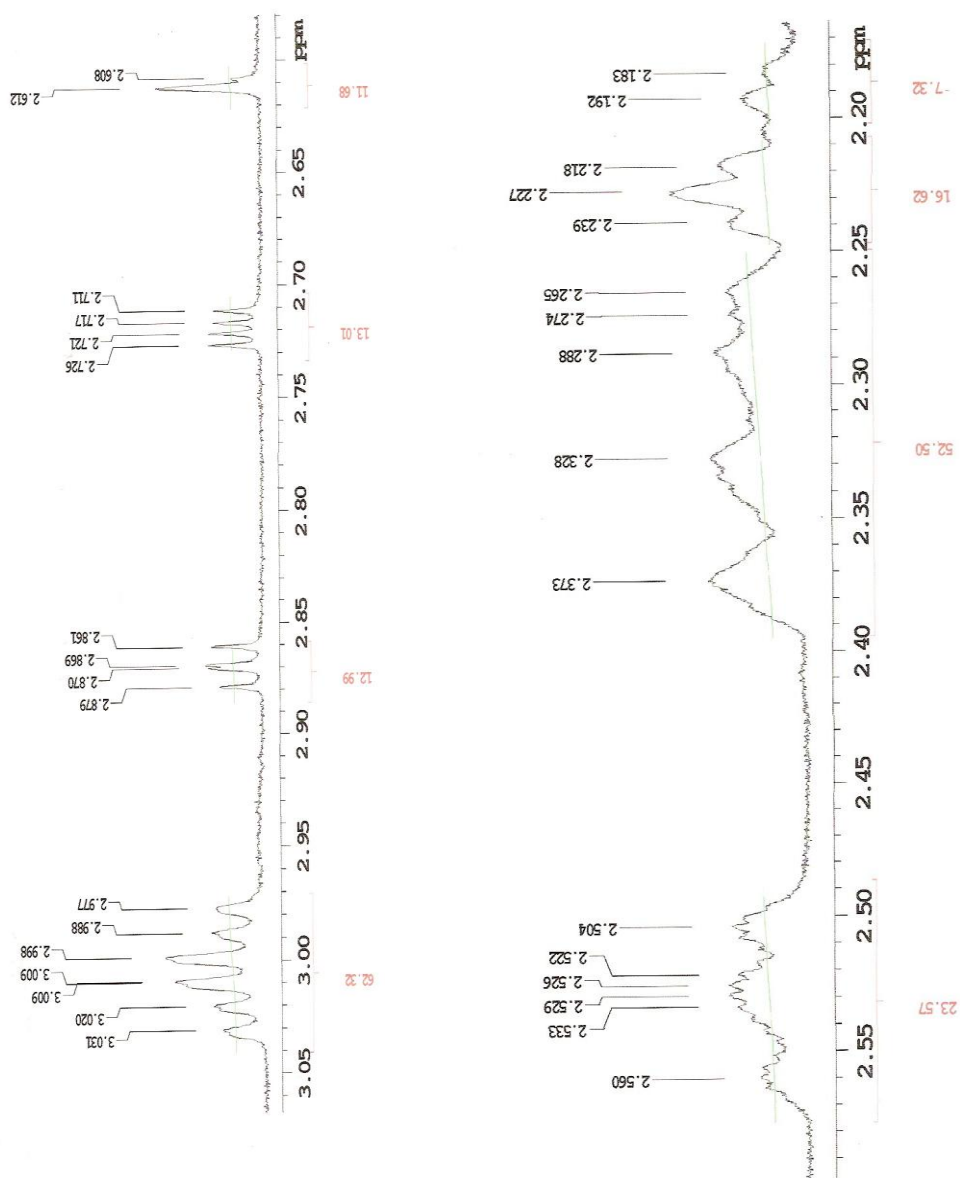


Figura 50 e 51: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

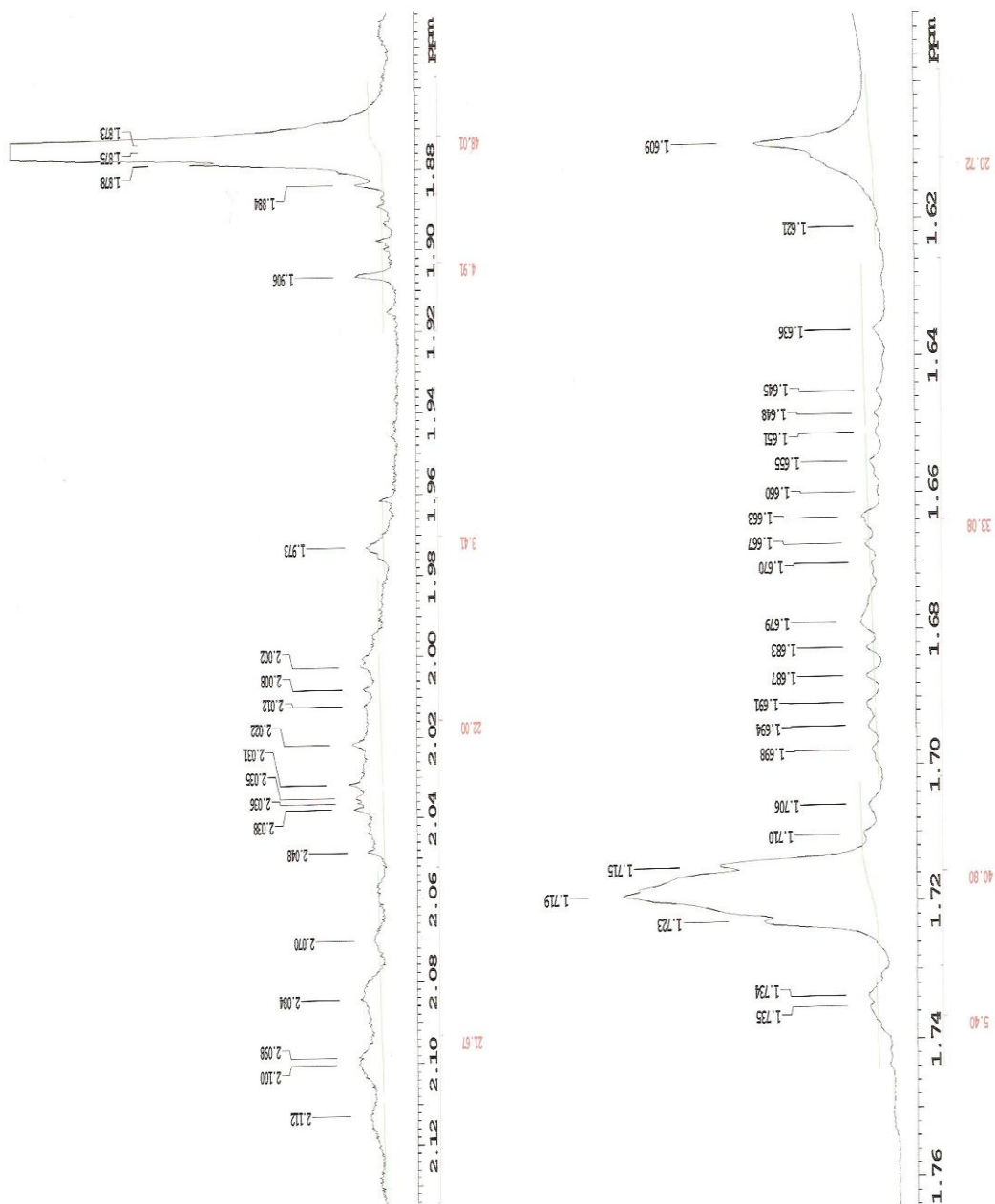


Figura 52 e 53: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

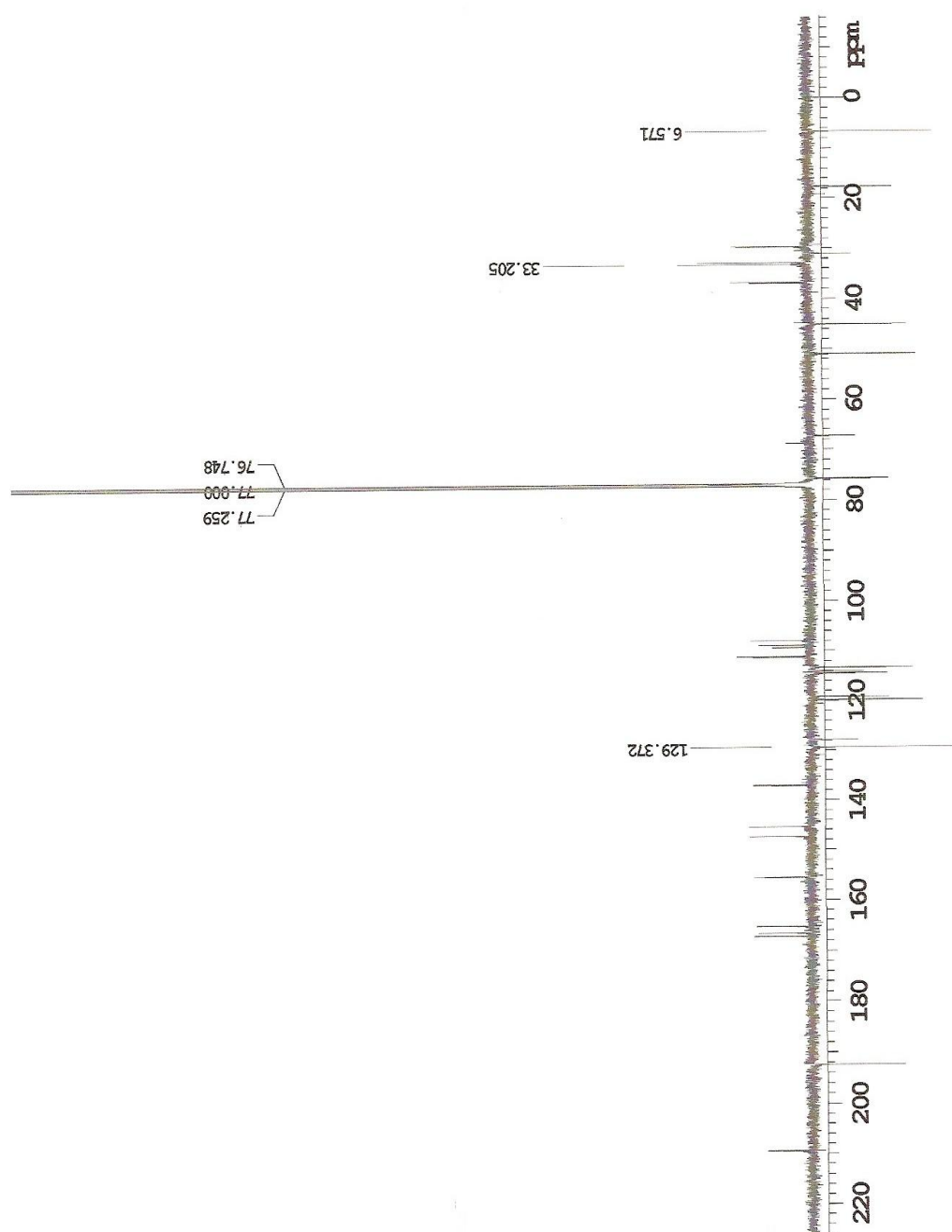


Figura 54: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

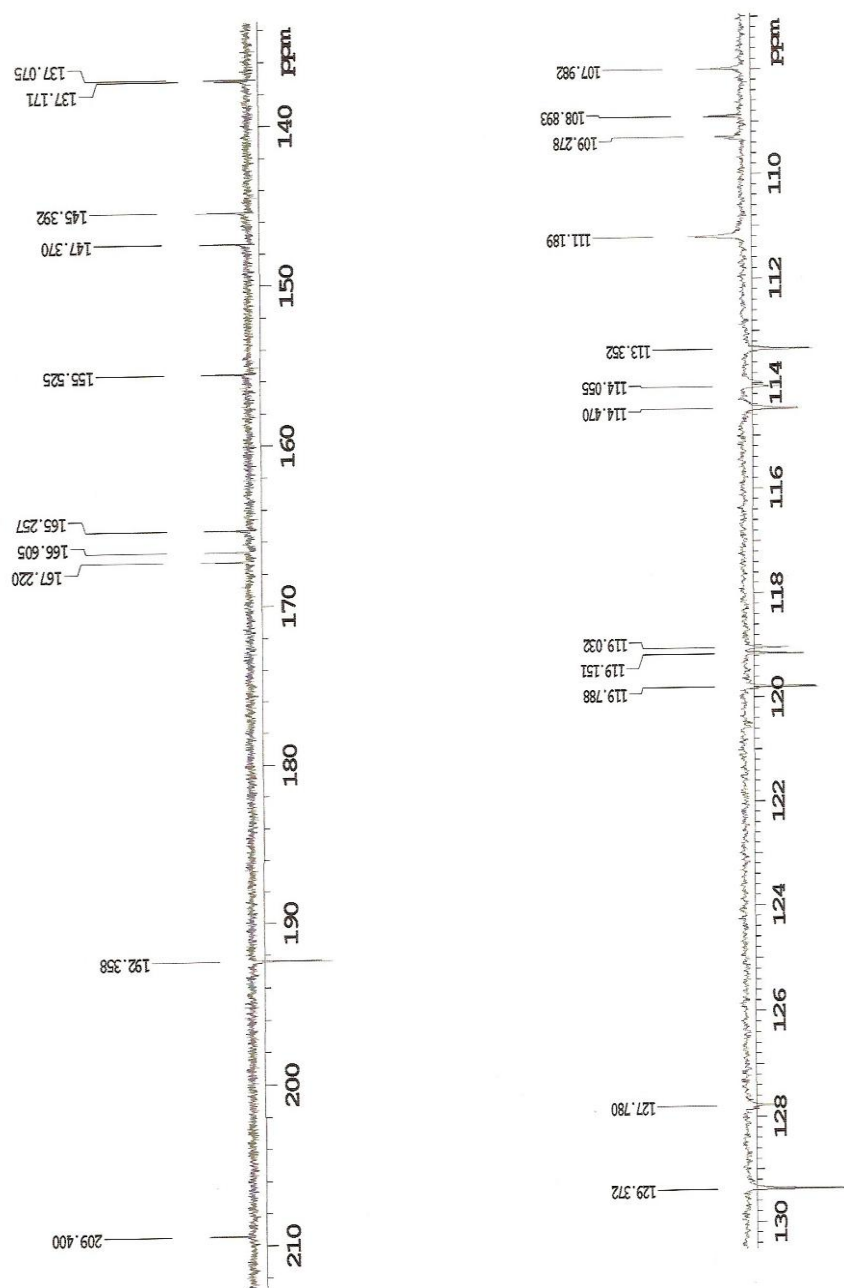


Figura 55 e 56: expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

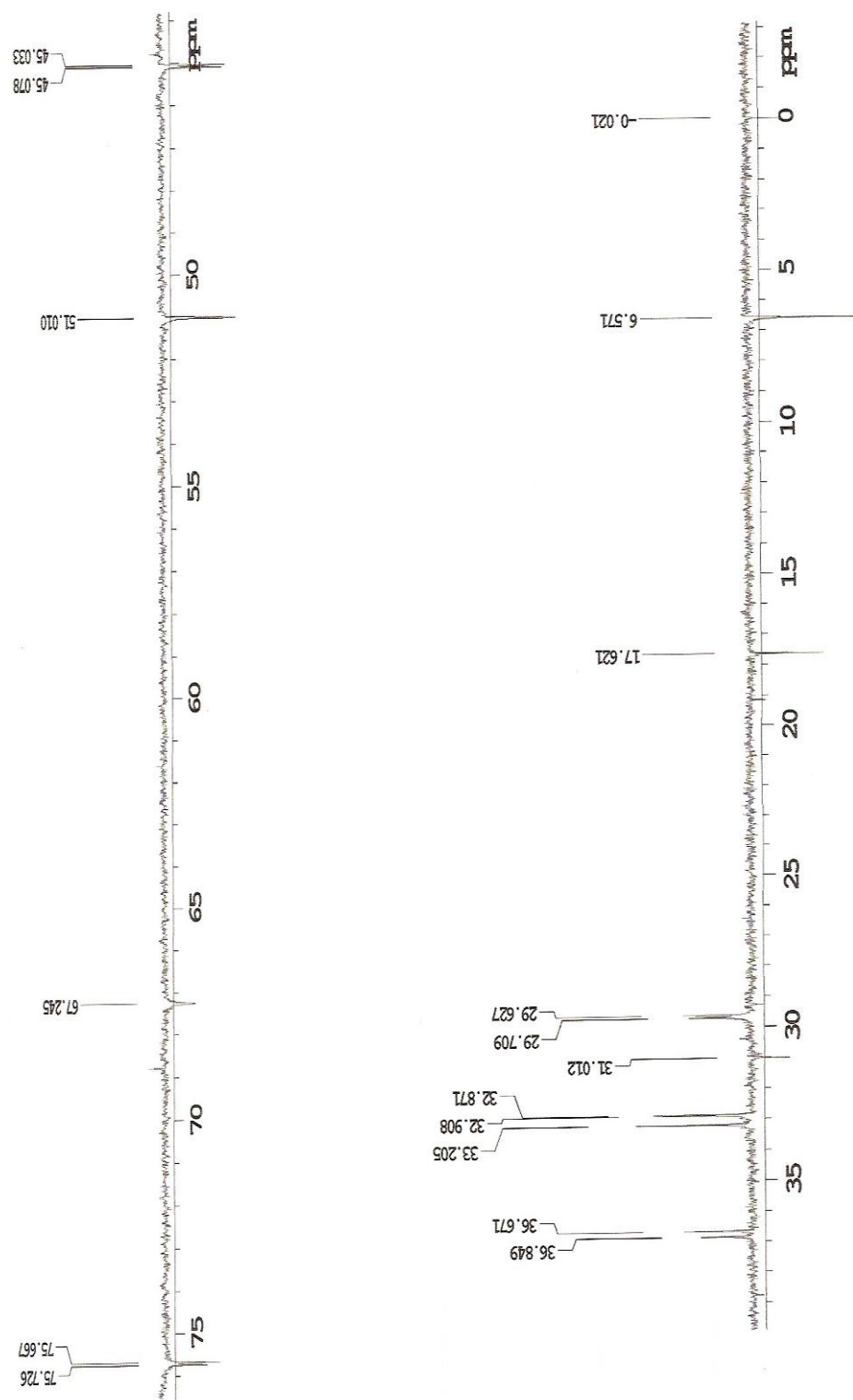


Figura 57 e 58: expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-2

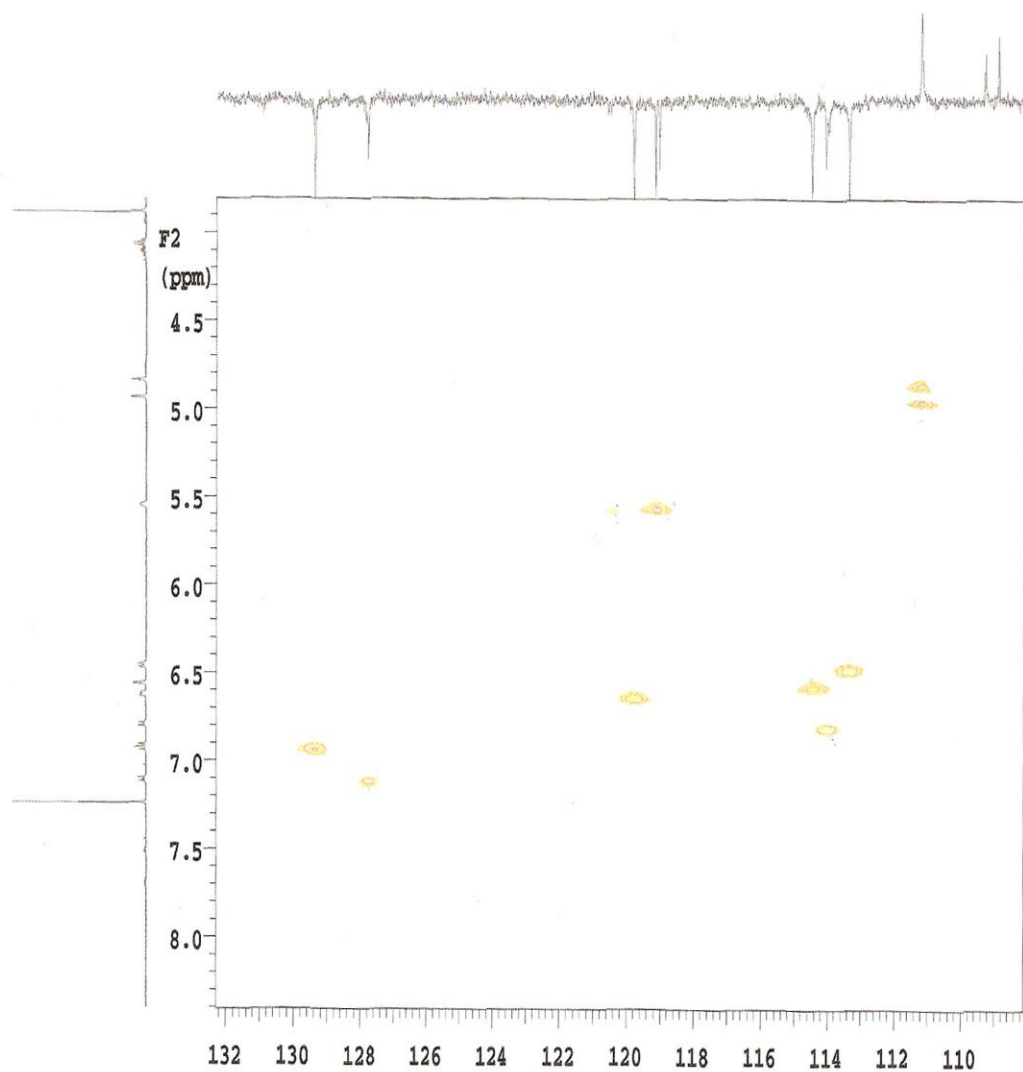


Figura 59: expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – ^1H x ^{13}C de Pmt-2

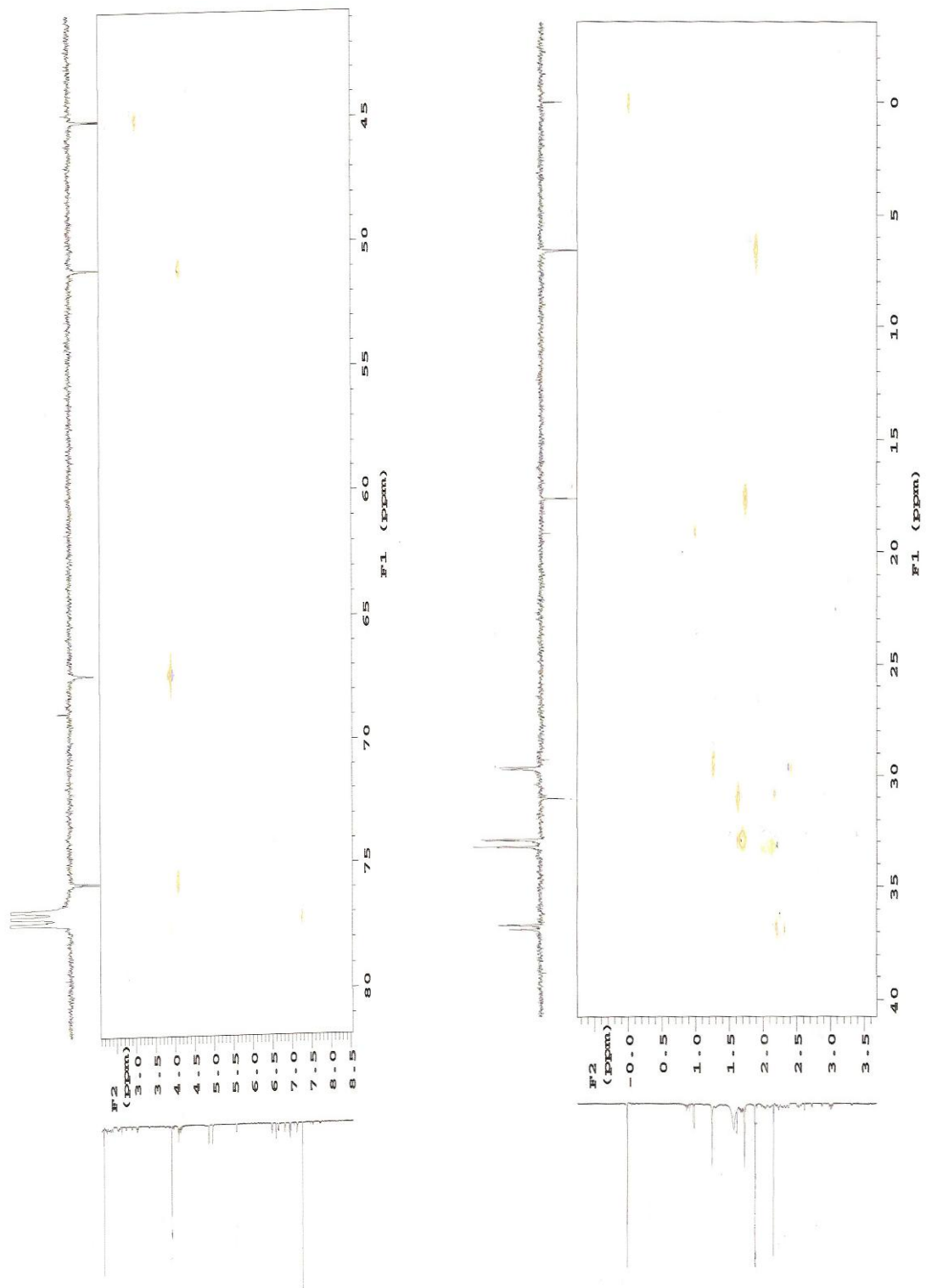


Figura 60 e 61: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2

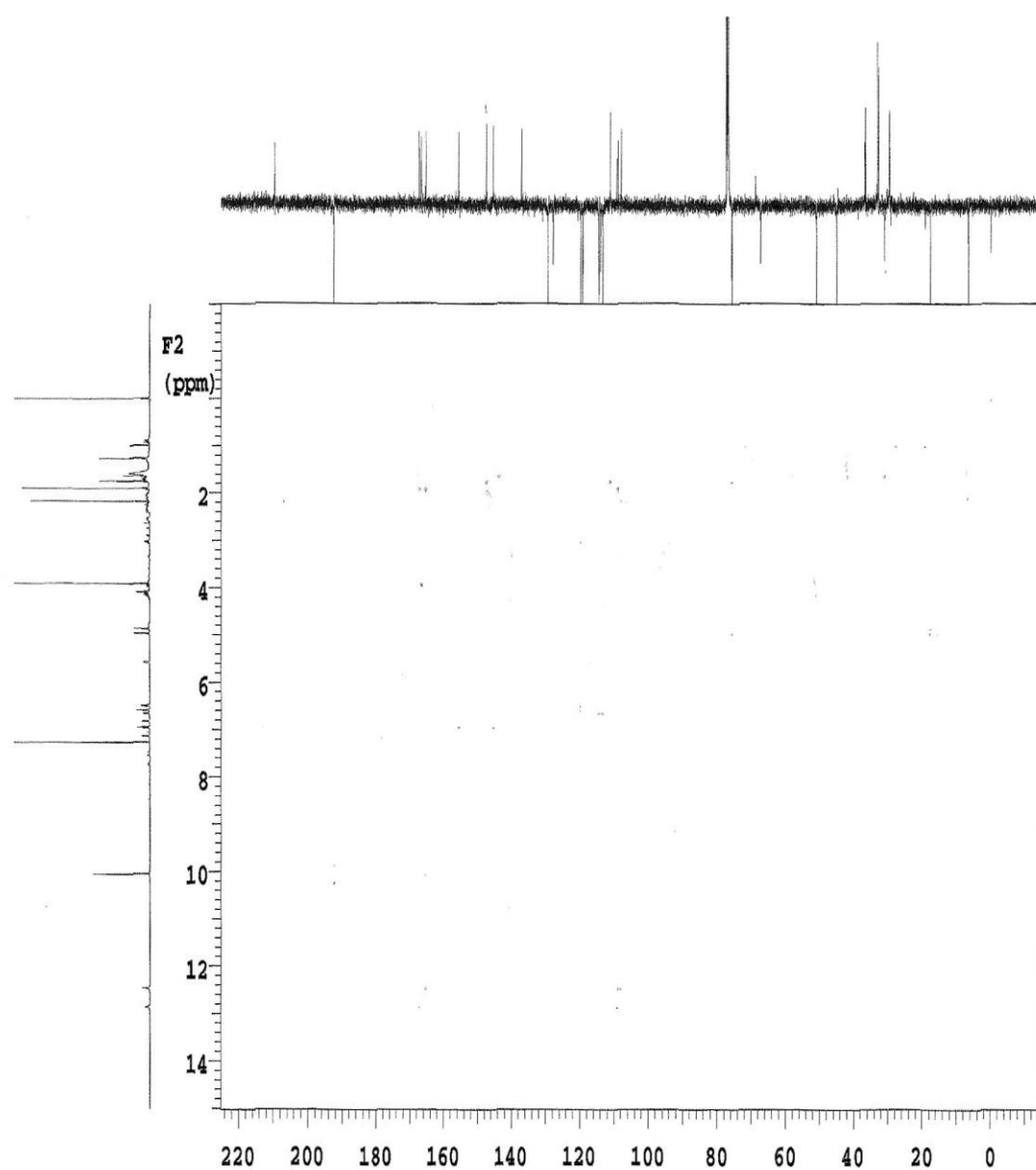


Figura 62: espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2

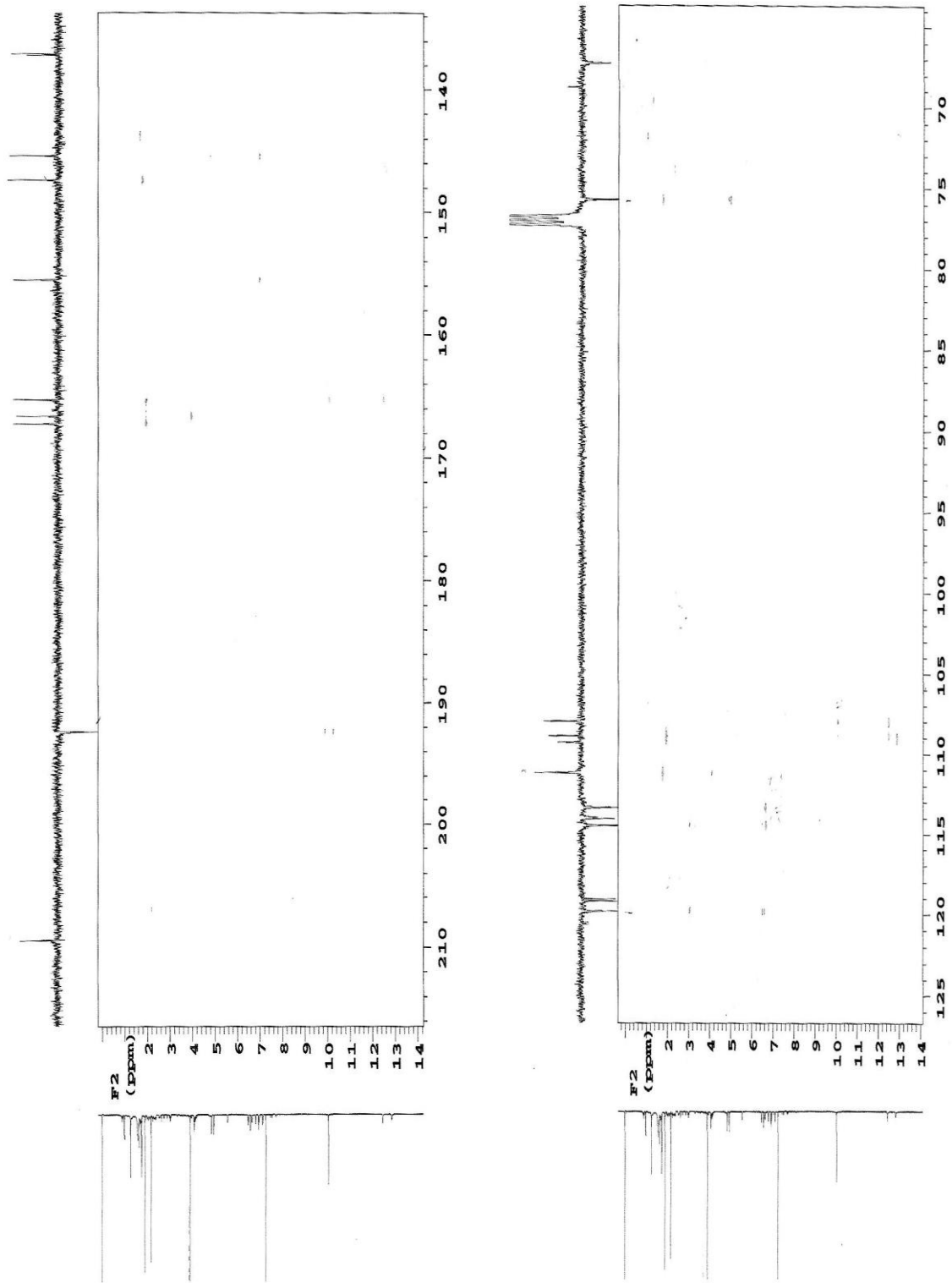


Figura 63 e 64: espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2

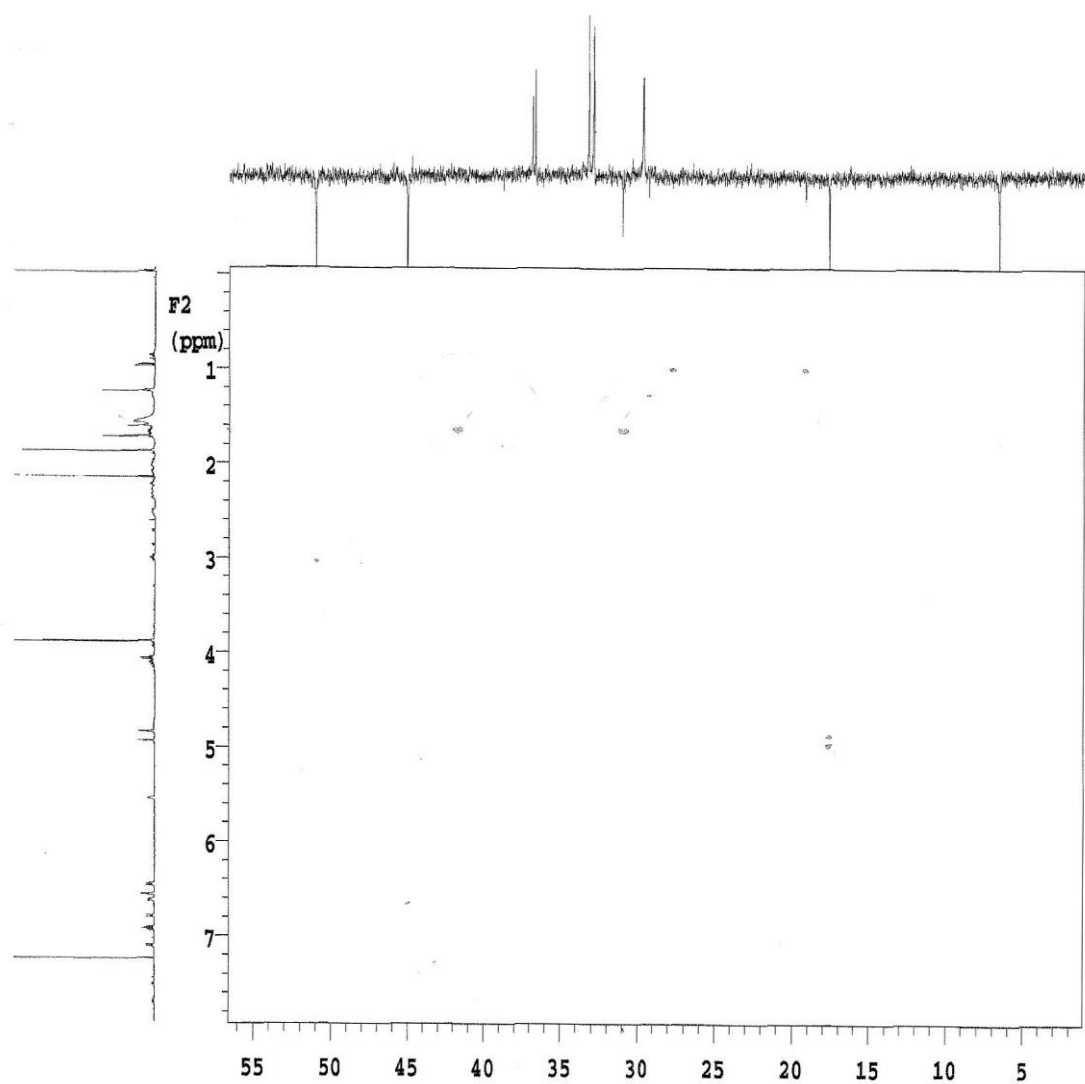


Figura 65: expansão do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-2

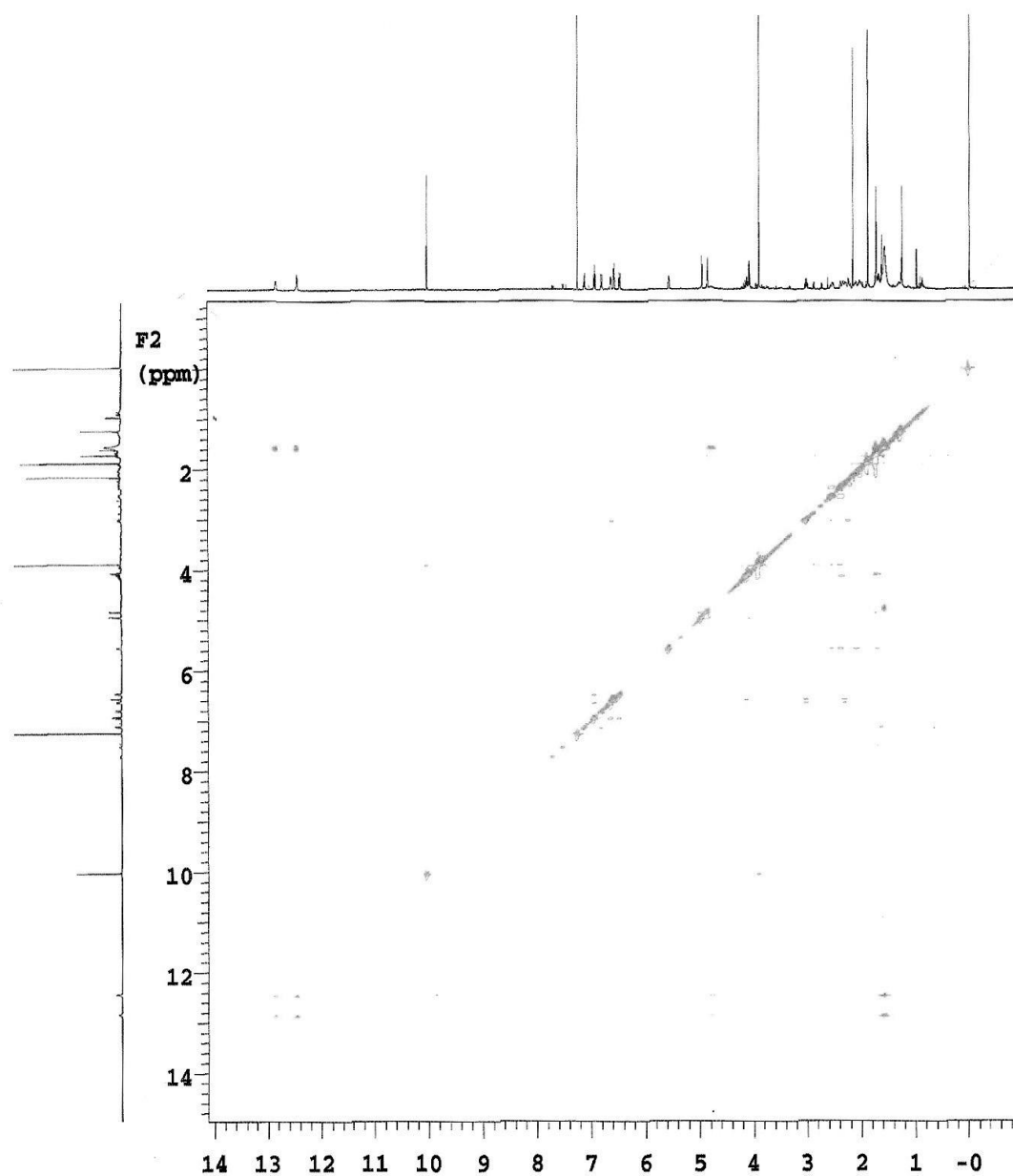


Figura 66: espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2

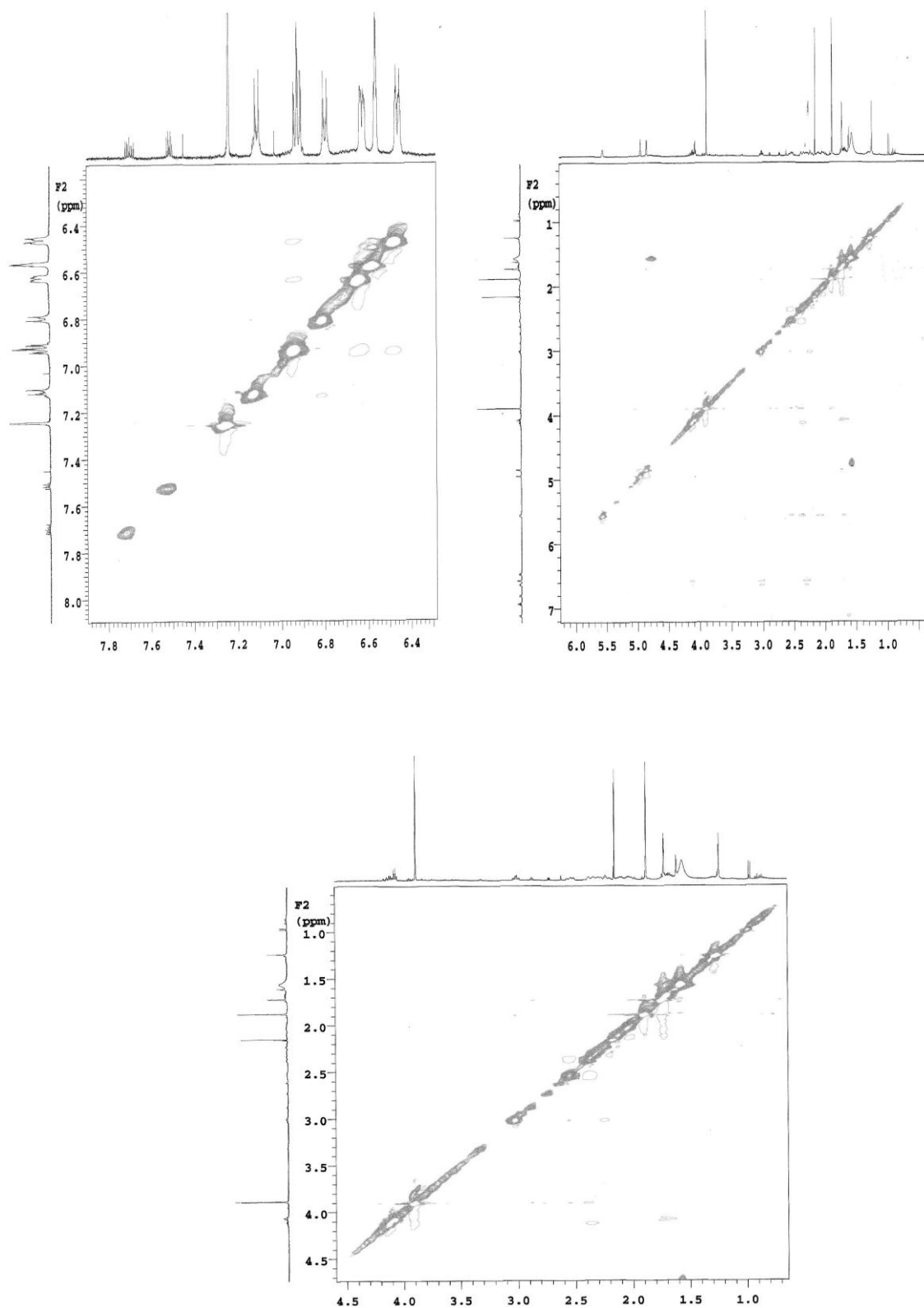


Figura 67, 68 e 69: expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – ^1H x ^1H de Pmt-2

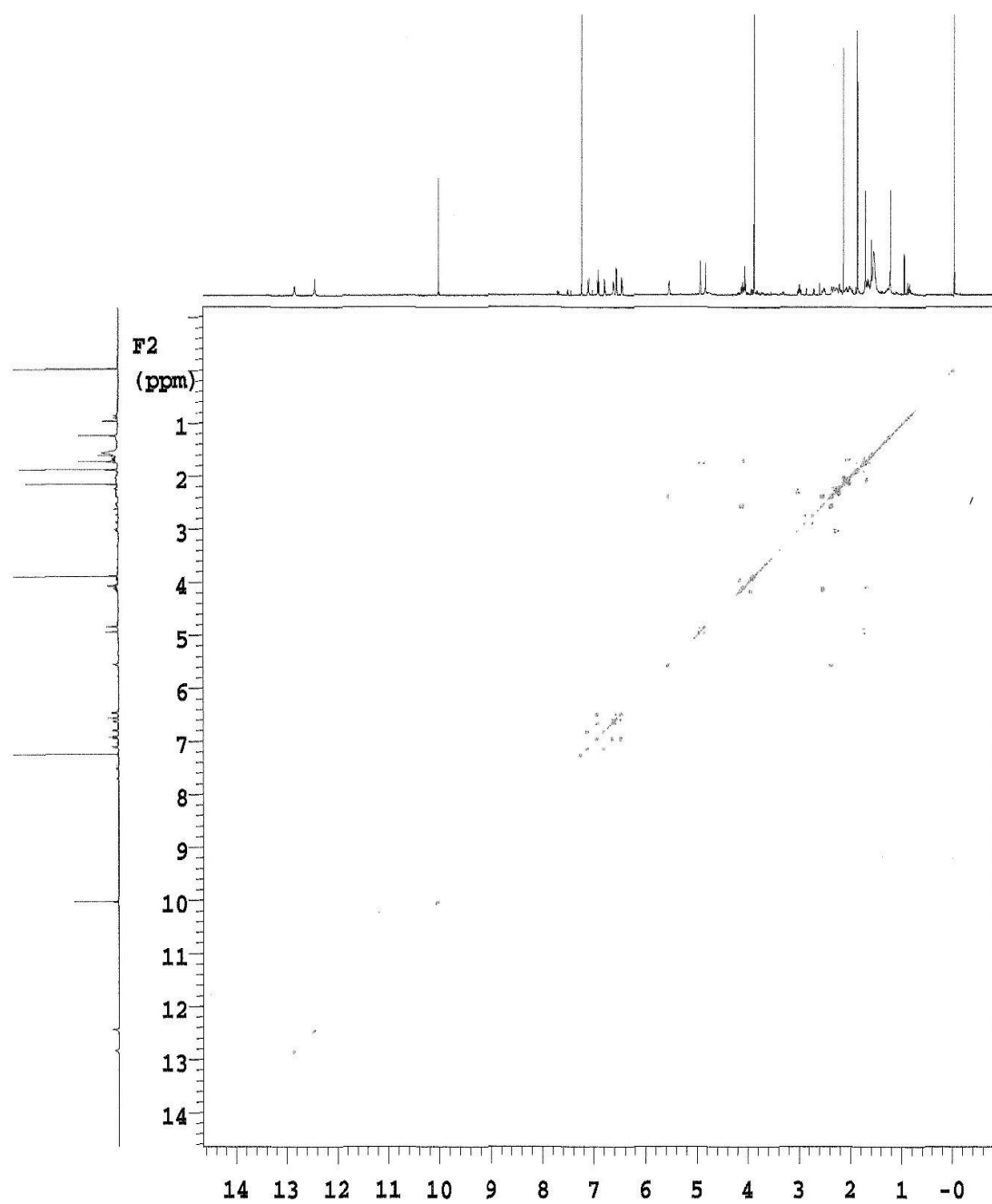


Figura 70: espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2

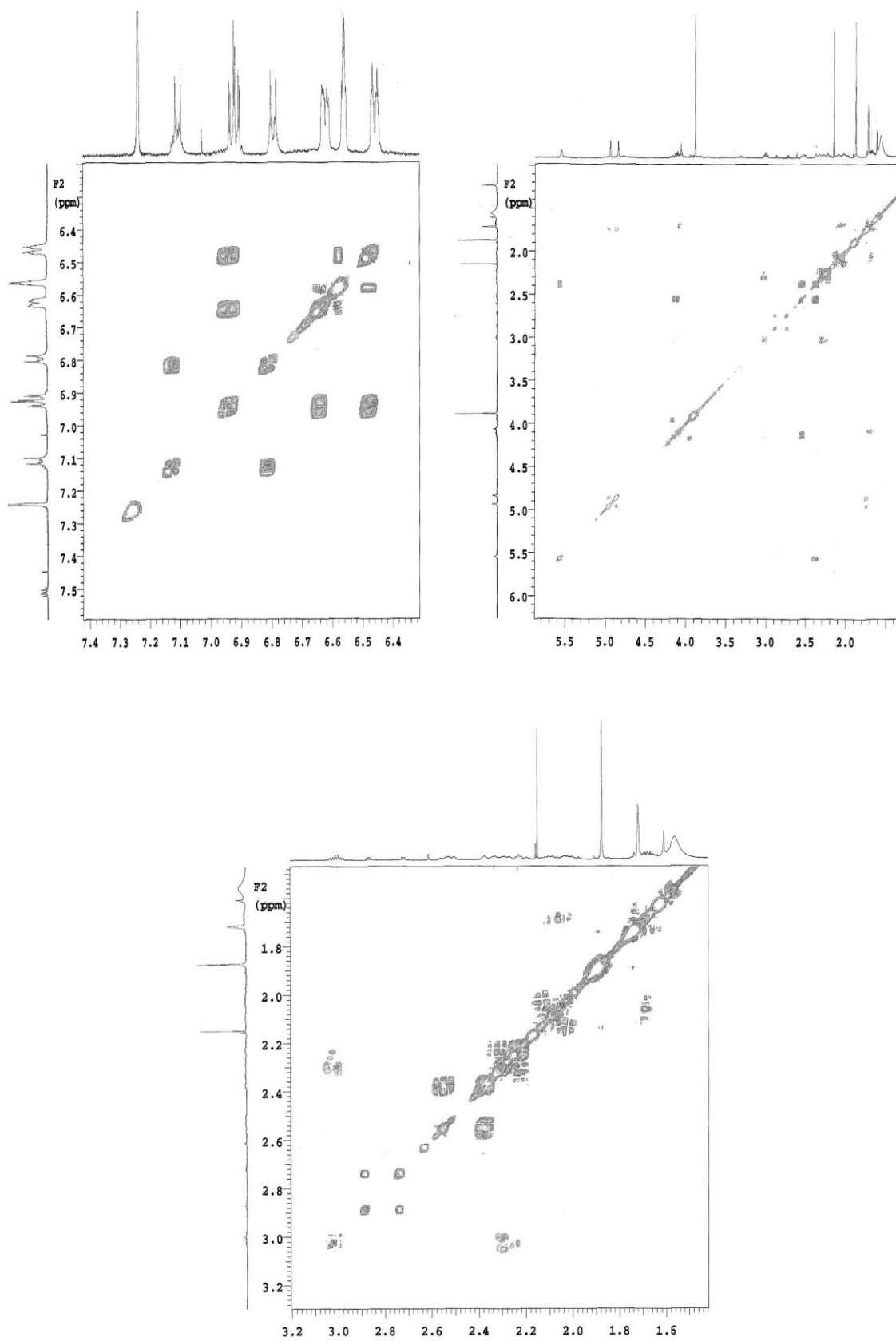


Figura 71, 72 e 73: expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-2

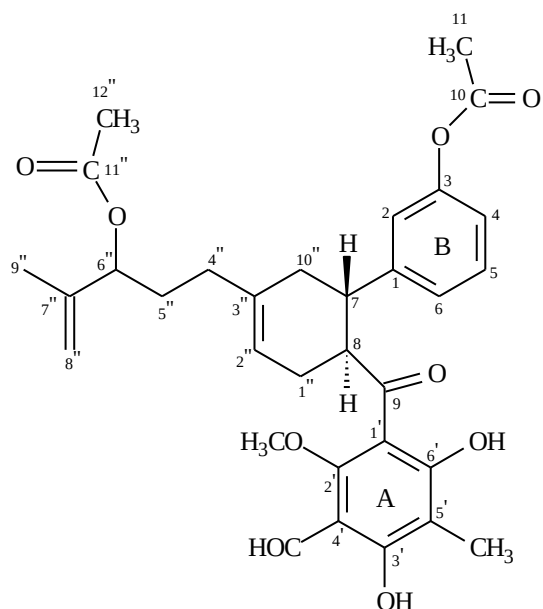
6.2.1 – Pmt-2 ACETILADO

A proposta para a acetilação de Pmt-2 foi também comprovar a presença da OH-3 no anel B, além da OH-6'' na unidade monoterpênica da estrutura.

O espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) (Figuras 78 e 79, p. 141) mostrou absorções referentes aos carbonos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 em: δ 145,14, 120,30, 150,66, 119,35, 127,82 e 124,97. Em comparação com os dados do composto de partida (tabela 10, p. 116) foi possível observar que houve uma desproteção dos carbonos das posições *orto* (C-2 e C-4) e *para* (C-6) após a acetilação da OH ligada ao C-3. Contrariamente, os carbonos em *meta* (C-1 e C-5) sofreram deslocamento para campo mais alto. Esses dados são condizentes com os efeitos causados por grupos retiradores de elétrons como o acetato (PAVIA, 1994).

Observou-se que houve uma mudança nos deslocamentos químicos para campo mais alto do C-6'', sugerindo que o grupo OH dessa posição foi também acetilado. Essa sugestão foi corroborada pelas outras mudanças do deslocamento químico dos carbonos vizinhos ao C-6''.

Os dados relatados, sumarizados na tabela 12 (p. 140), permitiram decrever que Pmt-2 acetilado trata-se de (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(6''-acetil, 7''-metilpentenil)-7-fenil-(3-acetil)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona.



Pmt-2 ACETILADO

TABELA 12: dados de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Pmt-2 e Pmt-2 acetilado registrados em CDCl_3 e δ (ppm).

	Pmt-2	Pmt-2 acetilado
	δC	δC
C		
1	145,39	145,14
3	155,52	150,66
9	209,40	209,03
1'	109,28	109,00
2'	166,60	166,65
3'	107,98	108,06
4'	165,26	165,36
5'	108,89	109,00
6'	167,22	167,28
3''	137,17	136,36
7''	147,33	145,14
10	-	170,30
CH		
2	114,40	120,30
4	113,35	119,35
5	129,27	127,82
6	119,79	124,97
7	45,08	44,79
8	51,01	50,87
8'	192,35	192,41
2''	119,15	119,53
6''	75,73	71,17
CH₂		
1''	29,71	29,79
4''	33,20	30,60
5''	32,91	30,37
8''	111,19	112,98
10''	36,67	36,76
CH₃		
7'	6,57	6,56
OMe-2'	67,24	67,33
8''	-	
9''	17,63	18,07
11	-	21,08

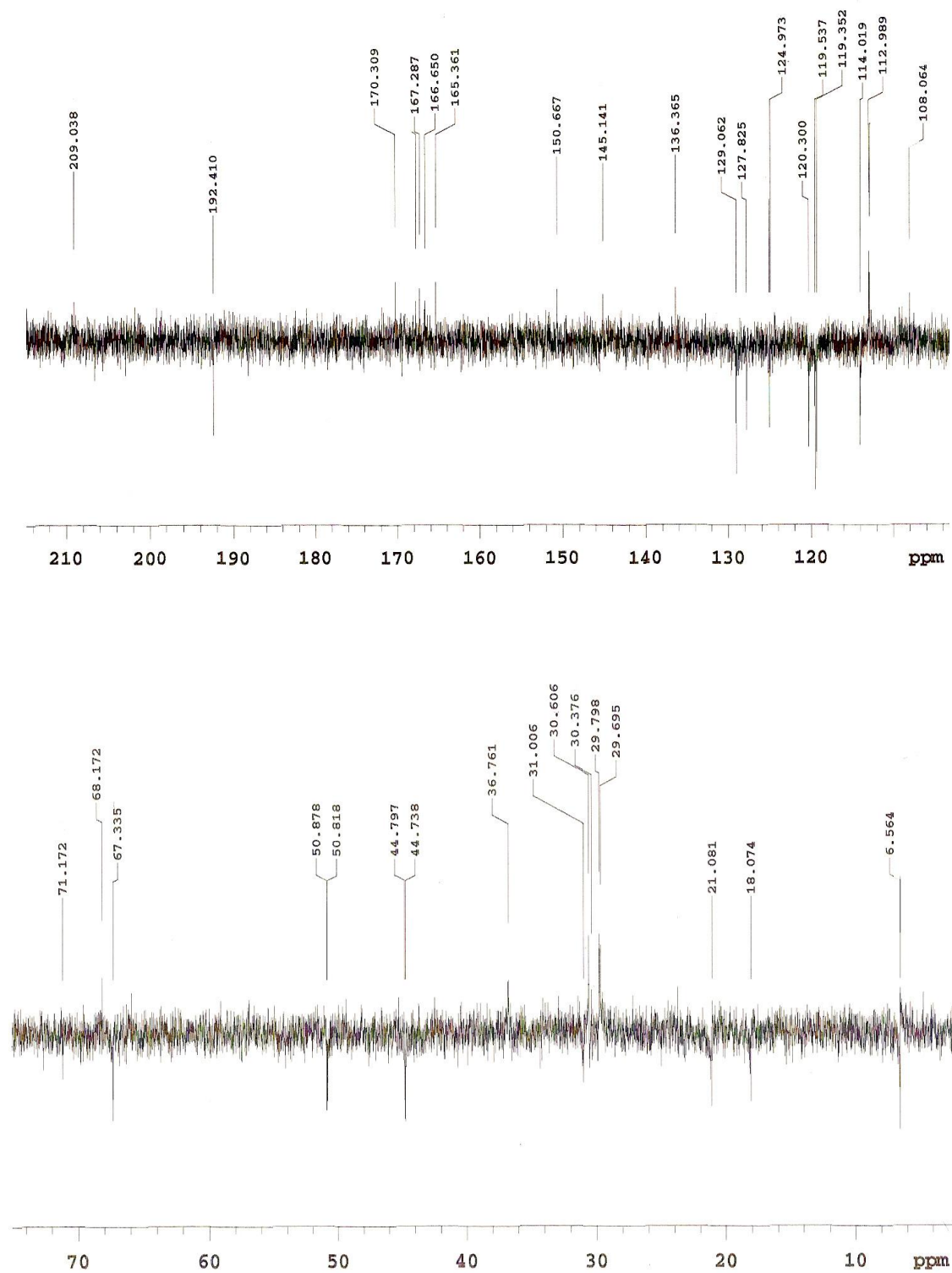


Figura 74 e 75: expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-2 acetilado

6.3 – ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE Pmt-3

A elucidação estrutural de Pmt-3, a partir dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , mostrou uma mistura de duas substâncias, sendo que a majoritária trata-se de Pmt-1 (Tabela 7, p. 85).

O espectro de RMN de ^1H da substância em análise mostrou a presença de 3 singletos em δ 6,40 (s, 2H), δ 3,82 (s, 6H) e δ 3,80 (s, 3H), sendo os dois últimos característicos de metoxilas ligadas a anel aromático. Esse perfil sugere a presença de um anel aromático tetrasubstituído na estrutura sendo os hidrogênios H-2 e H-6 equivalentes. Outros sinais foram vistos em: δ 2,87 (t, $J=8,0$ Hz, 2H), δ 2,59 (t, $J=8,0$ Hz, 2H), δ 4,10 (m, 2H) e δ 1,22 (t, $J=7,0$ Hz, 3H) (Figuras 76-80, p. 146-148).

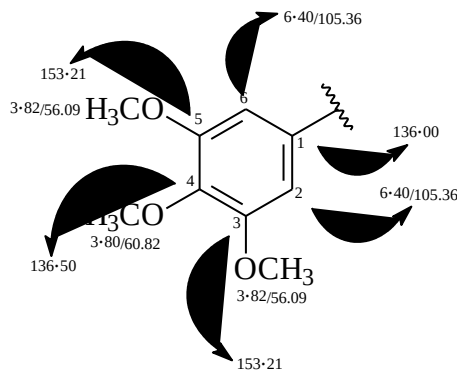
Dos 39 sinais vistos no espectro de RMN de ^{13}C (experimento APT), 11 sinais foram atribuídos a Pmt-3 (Figuras 81-83, p. 149 e 150), sendo quatro para carbonos quaternários [δ 136,00, 153,21 (2C), 136,50 e 173,80, este último sugestivo de carbonila de grupo éster], um para carbono metínico [δ 105,36 (2C)], três para carbonos metilênicos (δ 31,37, 36,09 e 60,47) e três para carbonos metílicos [δ 60,82, 56,09 (2C) e 14,22].

O espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ mostrou as seguintes correlações: δ 6,40/105,36 (Figuras 84 e 85, p. 151 e 152), sugestivo para as posições 2 e 6, δ 3,82/56,09 e δ 3,80/60,82 (Figuras 88 e 90, p. 151 e 152), sinais condizentes com a presença de três metoxilas ligadas a anel benzeno.

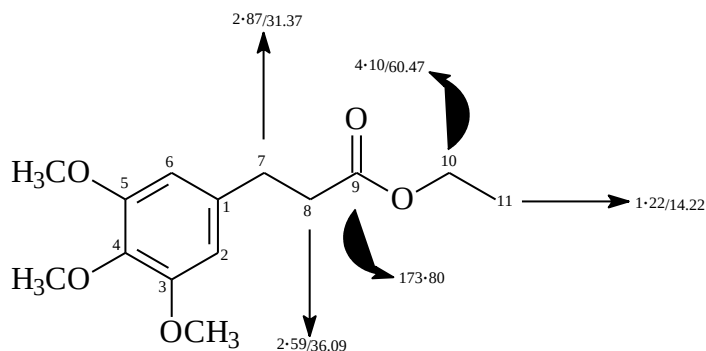
O espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ mostrou as correlações :

- $^2J_{(\text{CH})}$ de 6,40/136,00 (Figura 88, p. 153) , e a $^3J_{(\text{CH})}$ de δ 6,40/136,50 (Figura 88, p. 153), confirmando δ 6,40 para as posições 2 e 6 e, sugerindo, δ 136,00 e δ 136,50 para as posições 1 e 4, respectivamente.

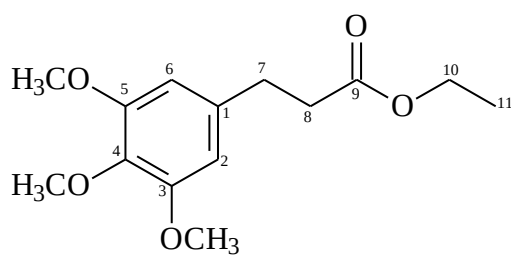
- $^3J_{(CH)}$ de δ 3,80/136,50 e δ 3,82/153,21 (Figuras 88, 89, 90, 94, 95 e 96, p. 153 e 155), o que permitiu confirmar δ 136,50 para a posição 4 (em campo mais alto devido efeito *orto*-protetor das metoxilas vizinhas) e atribuir δ 153,21 para as posições 3 e 5.



No espectro HMQC ainda foram observadas correlações de δ 2,87/31,37, δ 2,59/36,09, δ 4,10/60,47 e δ 1,22/14,22 (Figuras 84 e 87, p. 151 e 152), sugeridas para as posições 7, 8, 10 e 11, respectivamente. A correlação a longa distância vista no HMBC mostrou acoplamento de δ 2,87/136,00, 36,09, 173,80 e 105,36 (Figuras 89, 90, 91 e 93, p. 153 e 154) e de δ 2,59/173,80, 31,37 e 136,00 (Figuras 89, 91 e 92, p. 153 e 154), o que permitiu afirmar que δ 2,87 e δ 2,59 são os hidrogênios das posições 7 e 8, confirmar δ 136,00 para o C-1 e δ 173,80 para a carbonila da posição 9. O acoplamento a $^2J_{(CH)}$ de δ 1,22/60,47 (Figura 93, p. 154) confirmou δ 60,47 para o C-10 e, por exclusão, δ 14,22 para o C-11.



A interpretação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C , usando técnicas 1D e 2D, e sumarizados na tabela 13 (p. 145) permitiu identificar a estrutura como sendo éster 3,4,5-trimetoxi-7,8-diidrocinamoilato de etila, substância essa ainda não relatada na literatura científica.



Pmt-3

TABELA 13. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-3 e correlações obtidas em experimentos HMQC e HMBC registrados em CDCl_3 , J (Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC	
	δH	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^1\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^2\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^3\text{J})$
C				
1		136,00	H-2/H-6, 2H-7	2H-8
3,5		153,21		OMe-3, OMe-5
4		136,50		OMe-4, H-2/H-6
9		173,80	2H-8	2H-7
CH				
2,6	6,40 (s)	105,36		2H-7
CH_2				
7	2,87 (t, J=8,0 Hz)	31,37	2H-8	
8	2,59 (t, J=8,0 Hz)	36,09	2H-7	
10	4,10 (m, 2H)	60,47	3H-11	
CH_3				
11	1,22 (t, J=7,0Hz)	14,22		
OMe-3	3,82 (s)	56,09	H-2	
OMe-4	3,80 (s)	60,82		
OMe-5	3,82 (s)	56,09	H-6	

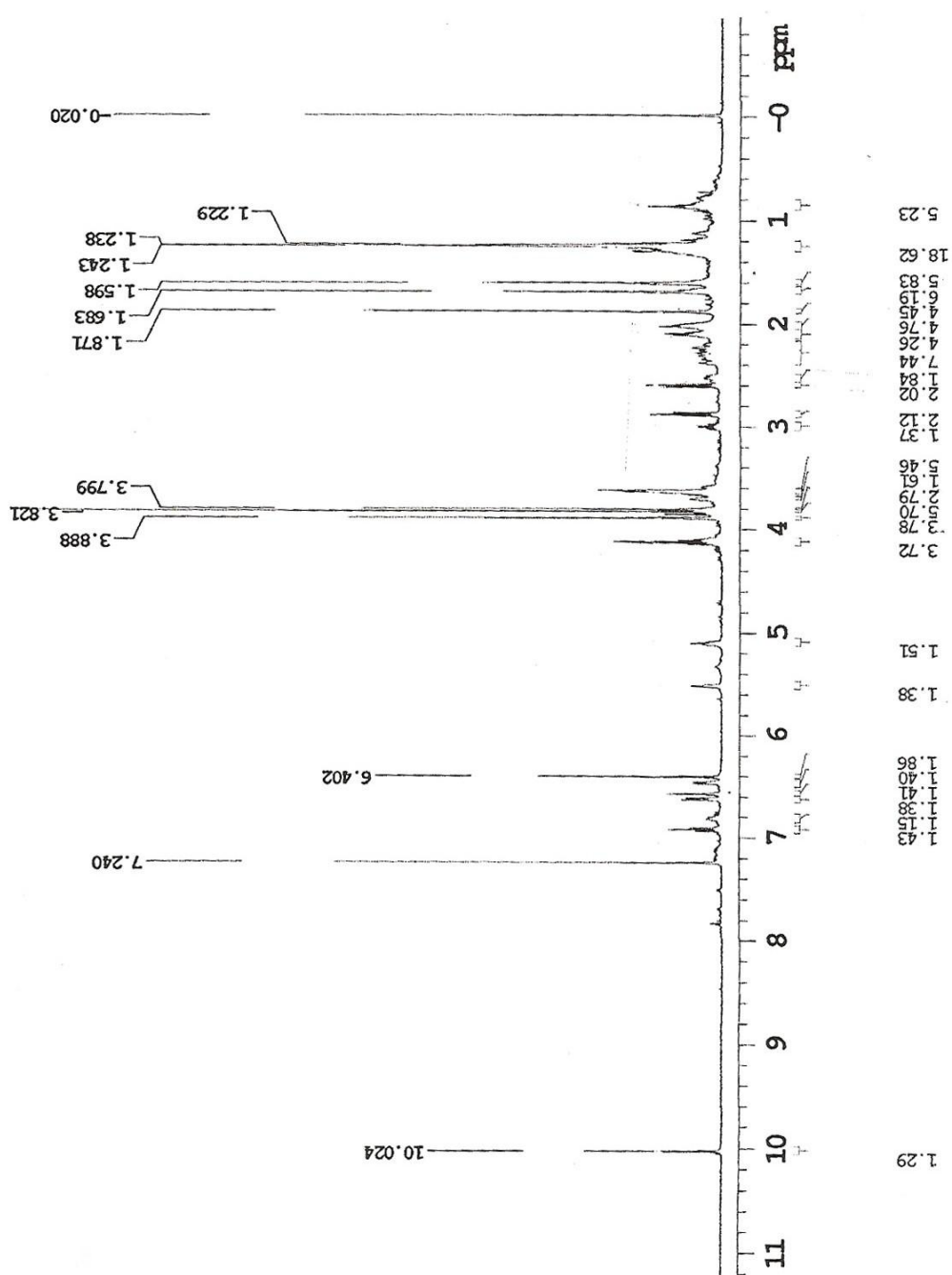


Figura 76 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3

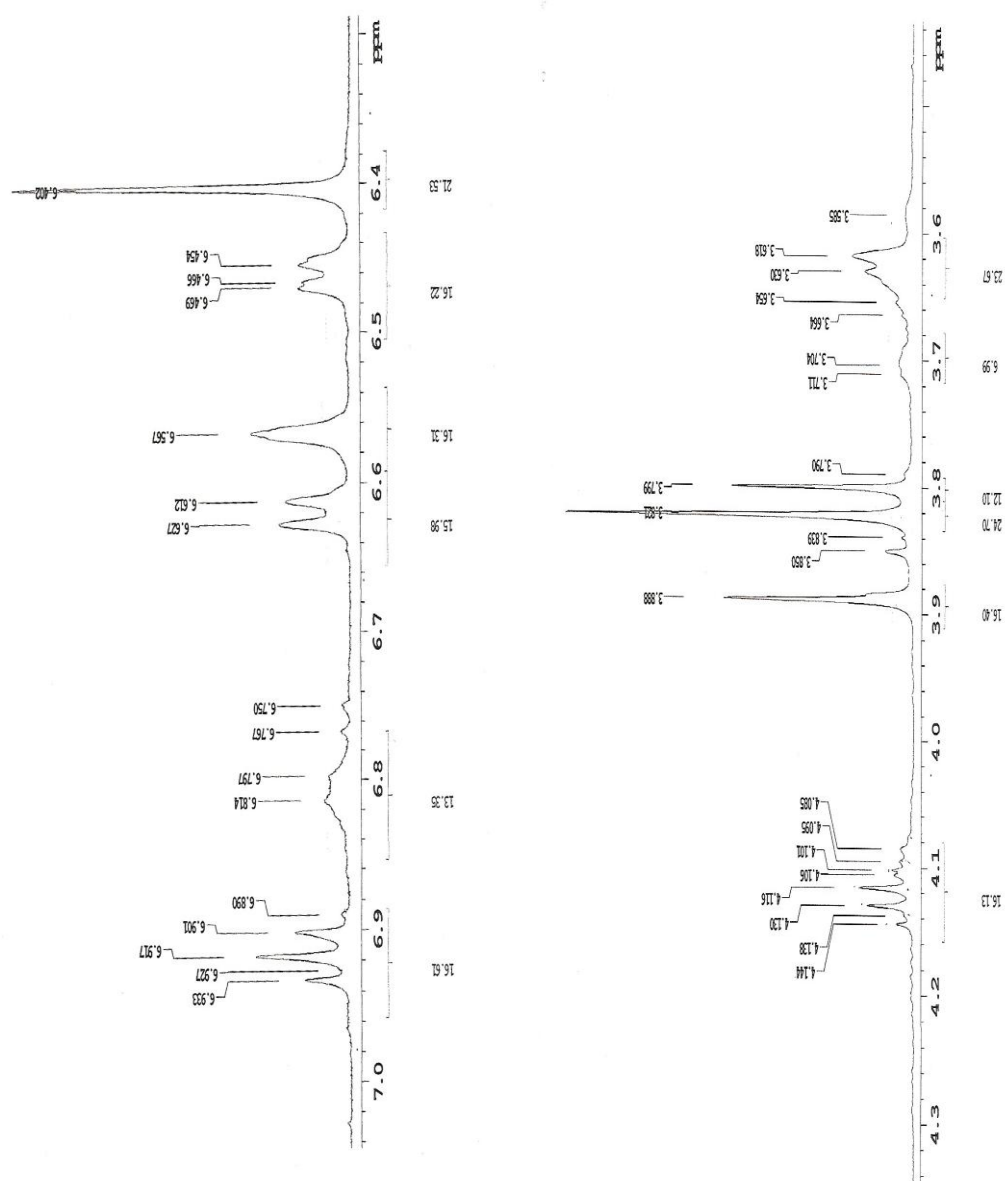


Figura 77 e 78— expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3

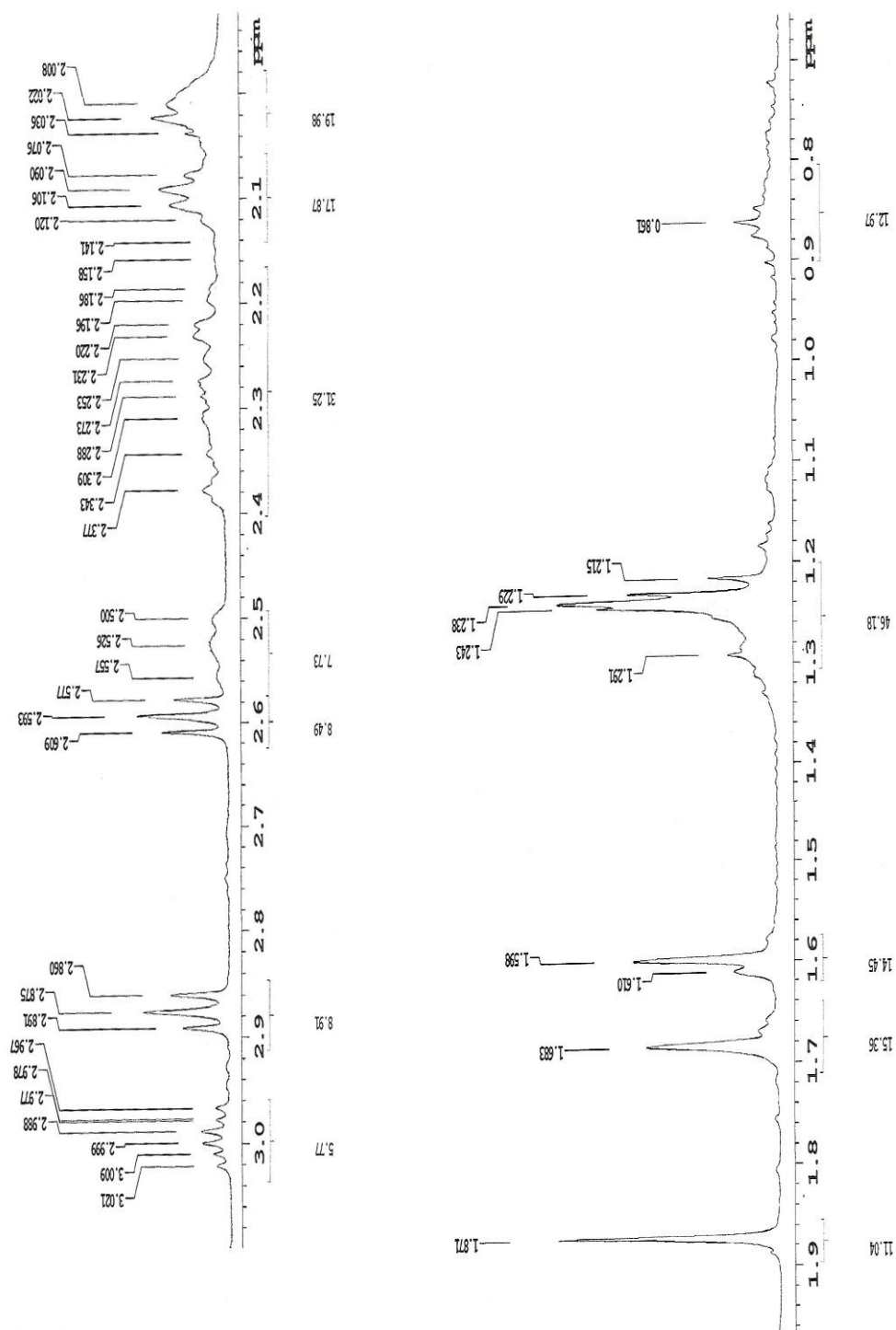


Figura 79 e 80 – expansões do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3

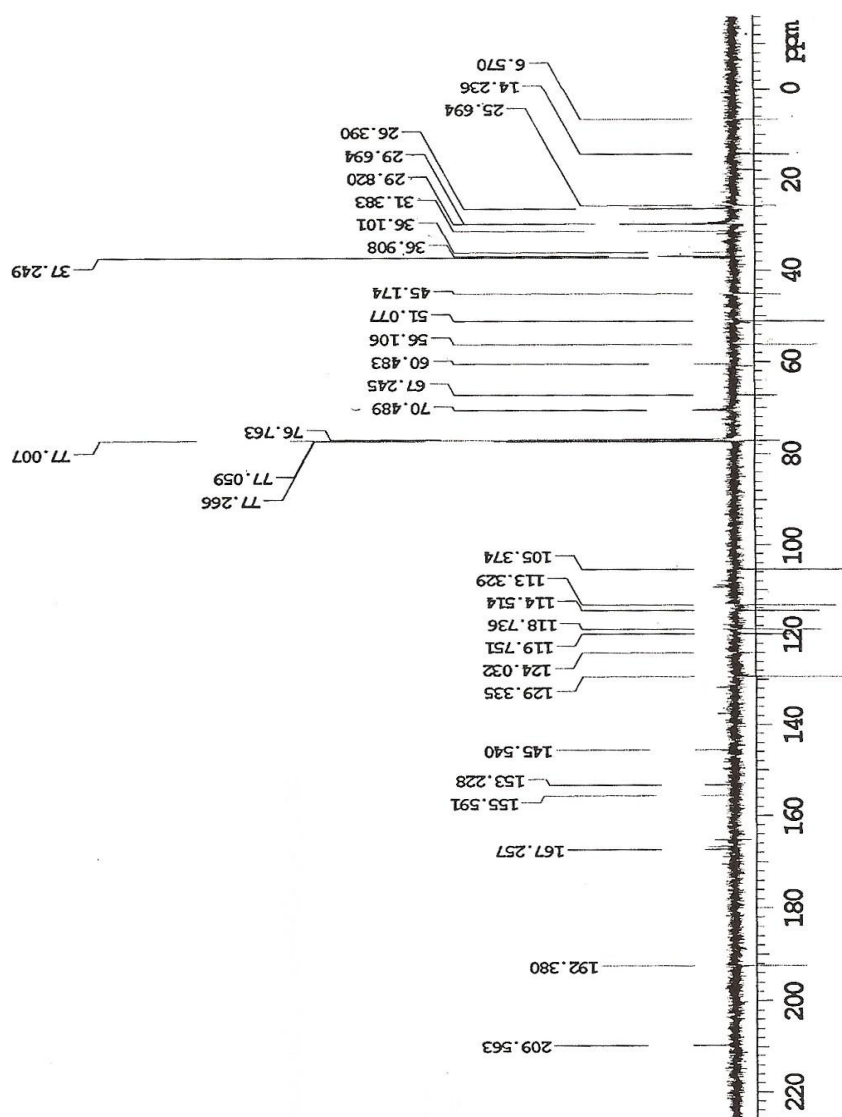


Figura 81 – espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 500 MHz) de Pmt-3

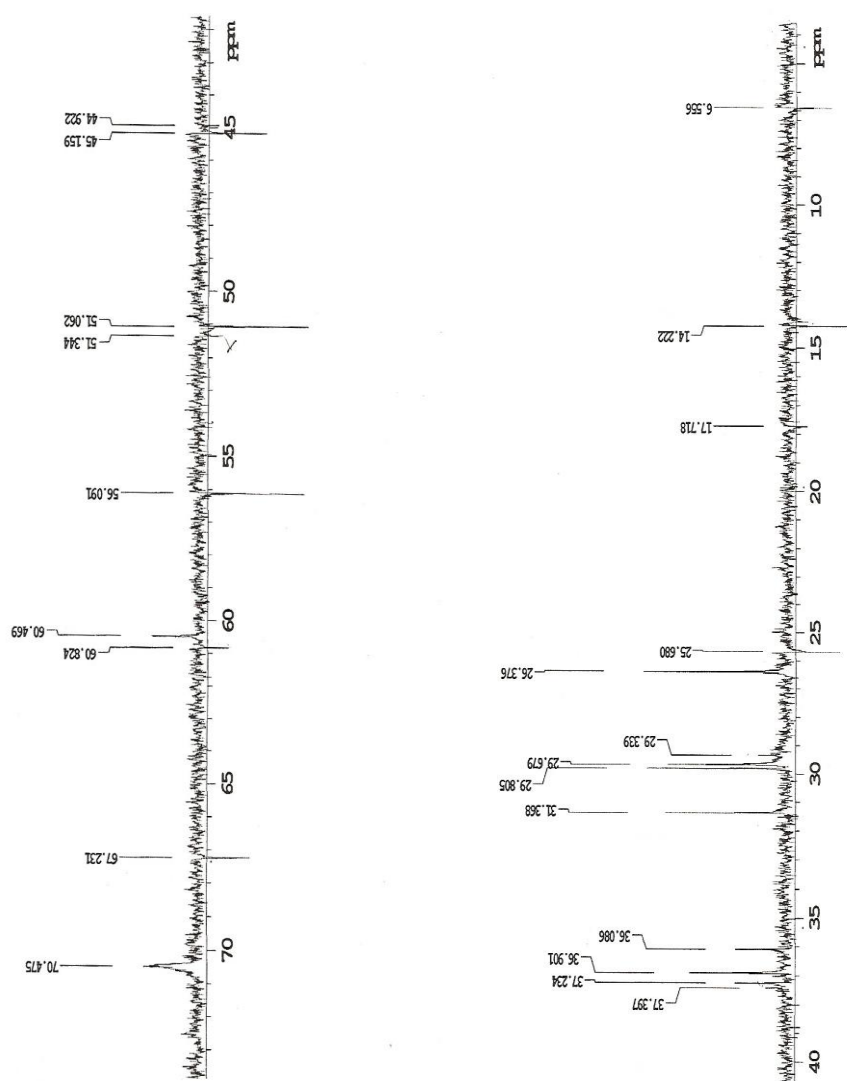


Figura 82 e 83 – expansões do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pmt-3

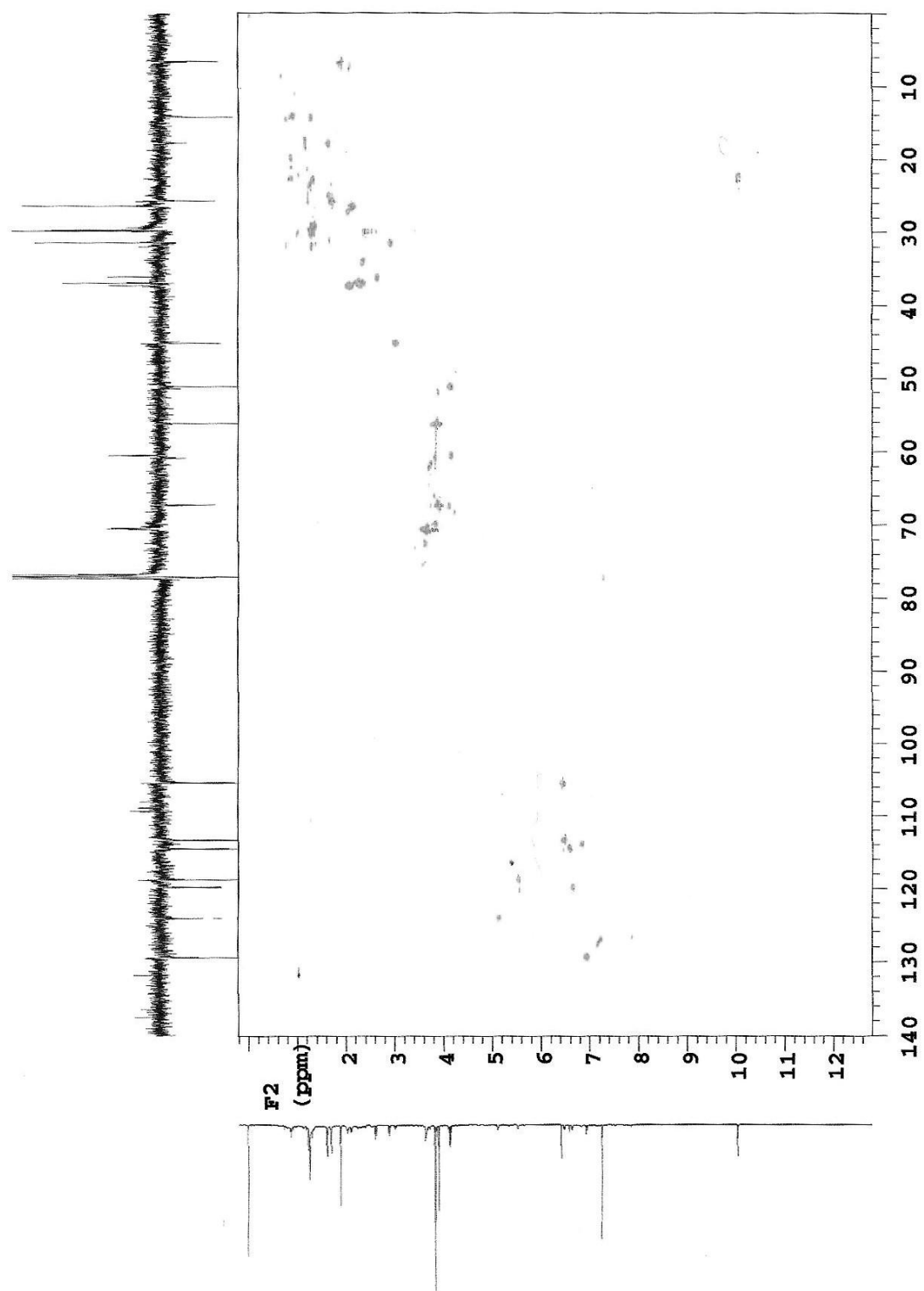


Figura 84 – espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3

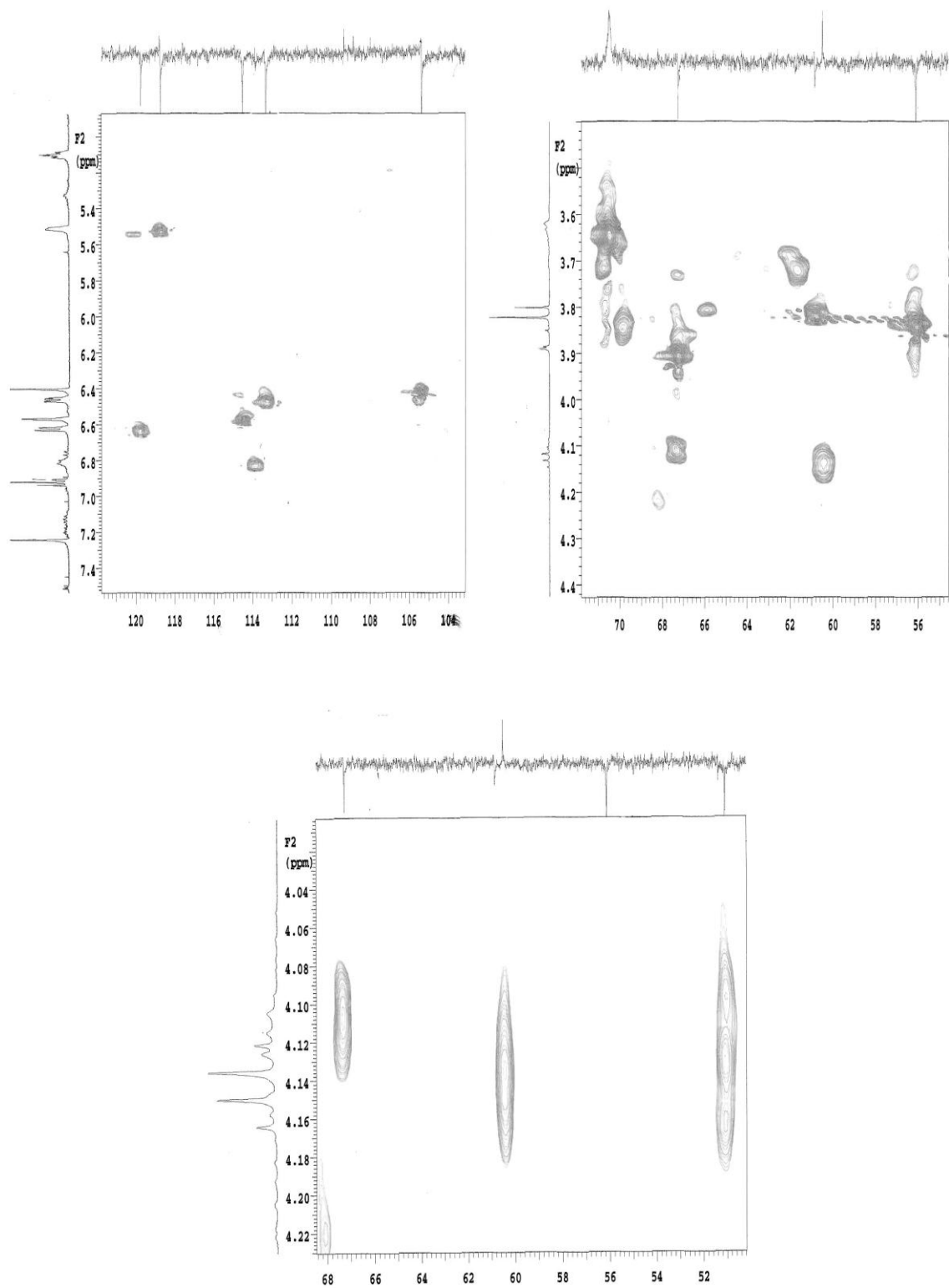


Figura 85, 86 e 87 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3

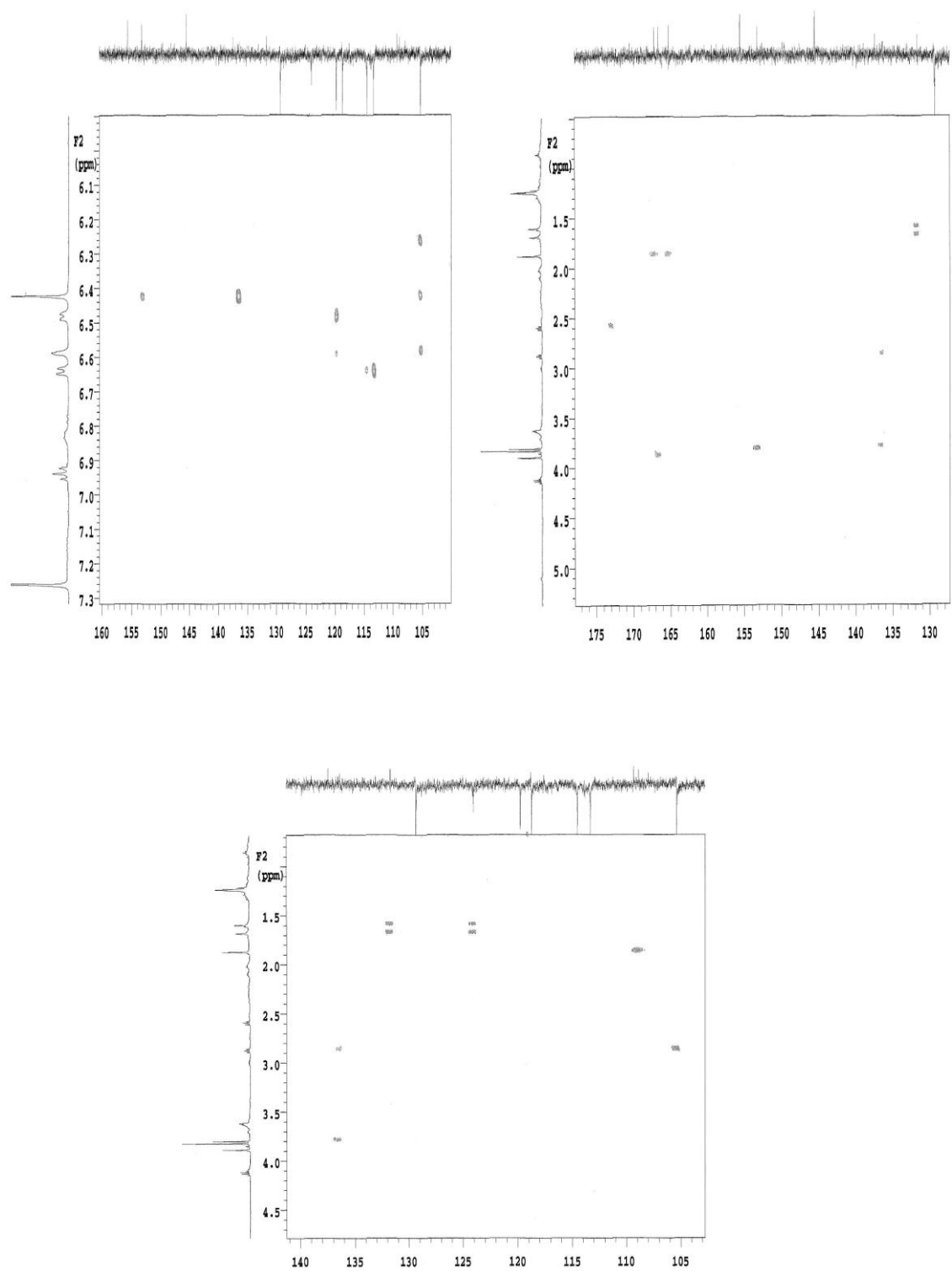


Figura 88, 89 e 90 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3

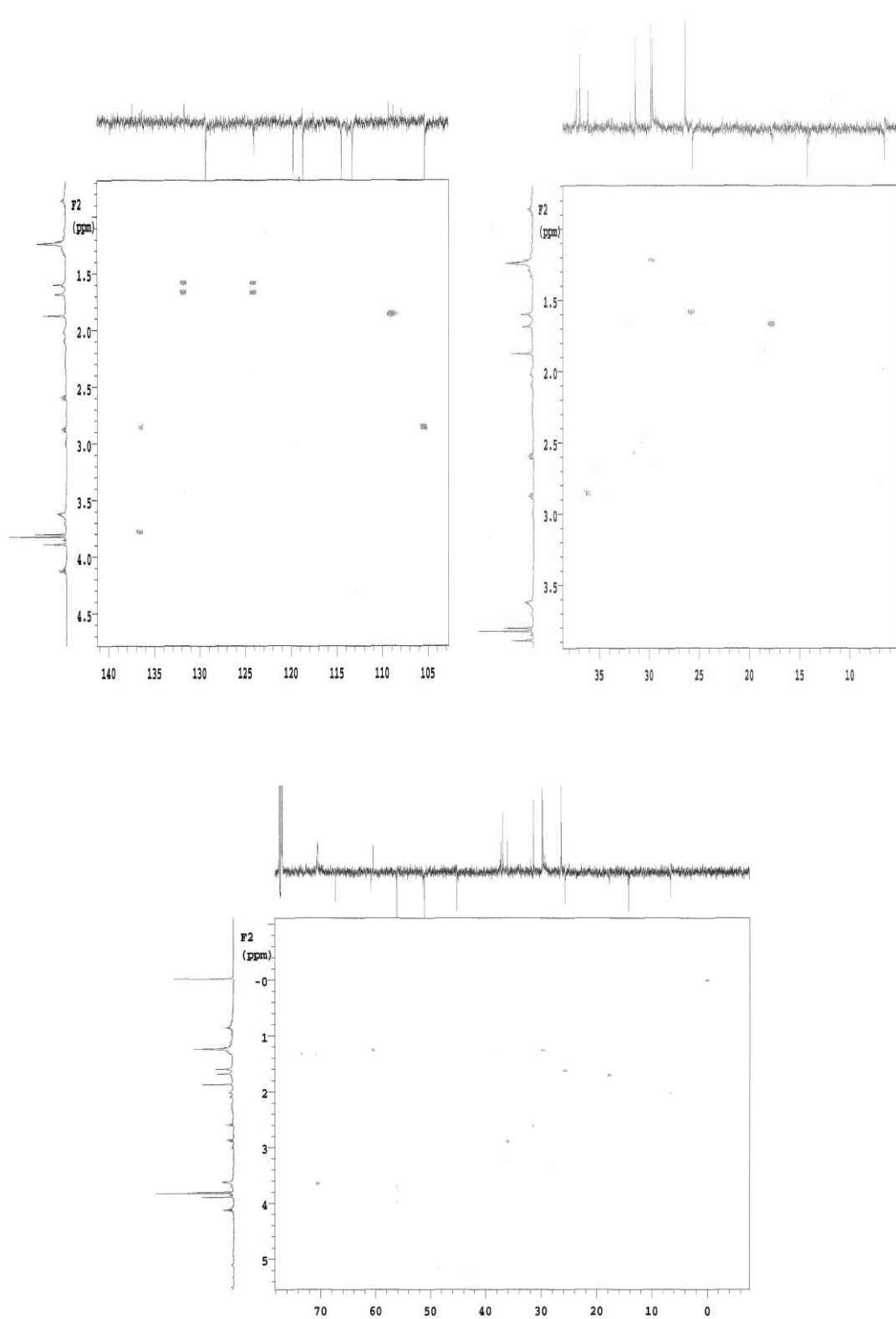


Figura 91, 92 e 93 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3

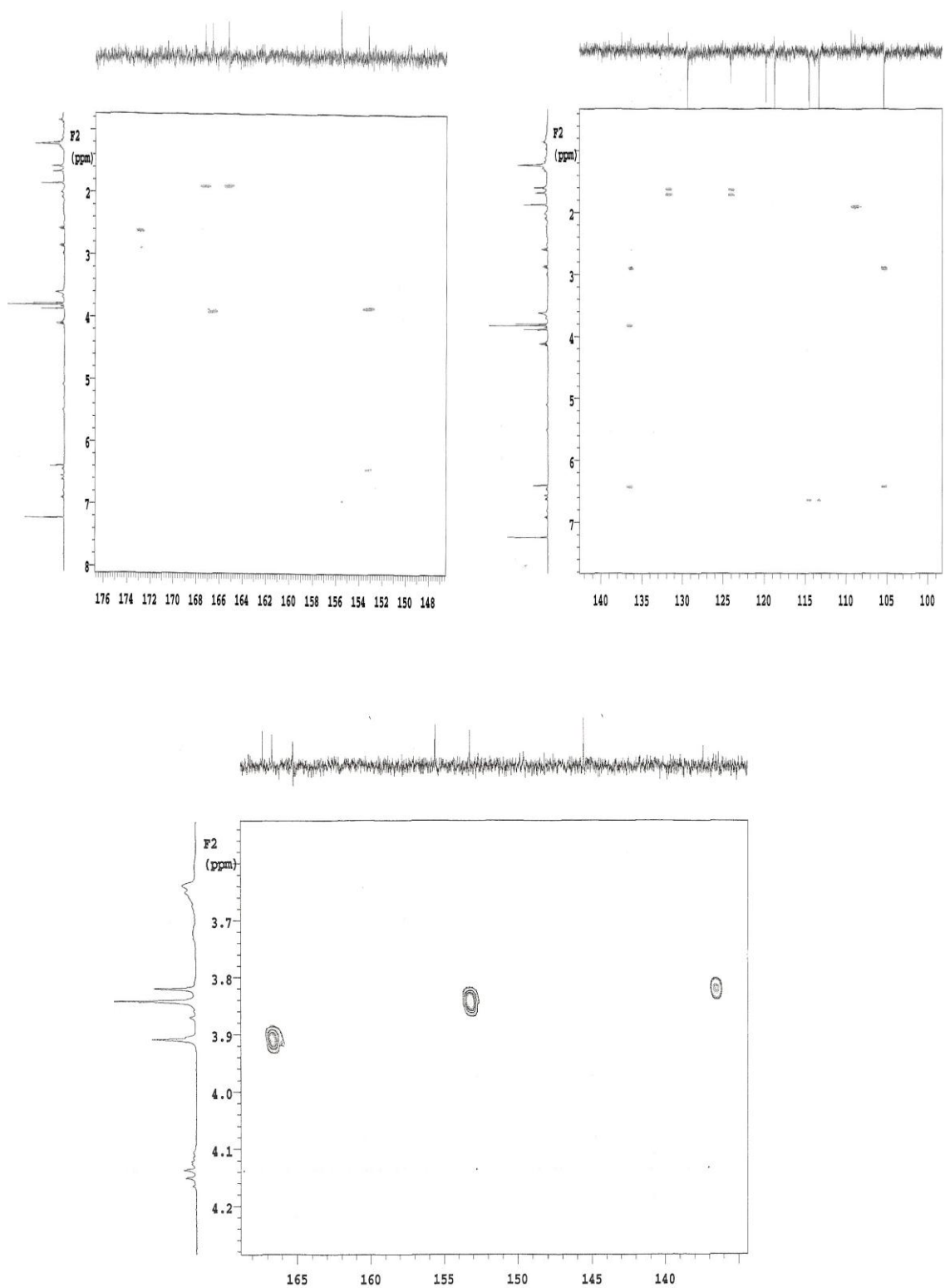
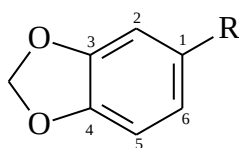


Figura 94, 95 e 96 – expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-3

6.4 – ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE Pmt-4

O espectro de IV (Figura 97, p. 162) mostrou bandas características de estiramento de C-H alifático em 2.924 e 2.852 cm^{-1} . Na região de 1.718 e 1.653 cm^{-1} foram observadas bandas fracas sugestivas de C=C conjugadas com estereoquímica *trans*, proposta condizente com a banda em 939 cm^{-1} vista no mesmo espectro. Foram observadas também bandas em 1.489, 1.442 e 1.246 cm^{-1} condizentes com a presença de estiramento C=C de anel aromático, deformação de C-H alifático e estiramento C-O, respectivamente. A presença de uma banda de fraca intensidade em 810 cm^{-1} sugere anel aromático trissubstituído (SILVERSTEIN et al, 1994).

O espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) mostrou na região de hidrogênios aromáticos (Figuras 98 e 99, p. 163 e 164) a presença de 3 sinais: δ 6,70 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 6,65 (dl, $J=1,5$ Hz, 1H) e 6,60 (dd, $J=8,0$ e 1,5 Hz, 1H), que associado a presença de um singlete em δ 5,89 (2H), característico de substituinte metilenodióxido, reforçam a presença de um anel aromático trissubstituído.



Foram vistos também os seguintes sinais: δ 5,99 (tt, $J=14,5$ e 1,0 Hz, 2H), 5,58-5,52 (m, 2H), 2,59 (t, $J=7,5$ Hz, 2H), 2,30 (td, $J=7,5$ e 8,0 Hz, 2H), 2,02 (td, $J=7,5$ e 7,0 Hz, 2H), 1,35-1,31 (m, 2H), 1,29-1,26 (m, 4H) e 0,86 (t, $J=7,0$ Hz, 3H) sugestivos de uma cadeia acíclica poliinsaturada composta por uma metila alifática terminal (Figuras 101, 102 e 103, p. 165 e 166).

No espectro de RMN de ^{13}C , utilizando a técnica APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) foi possível observar a presença de 18 sinais, sendo três para carbonos quaternários (δ : 147,47, 145,54 e 135,80), sete para carbonos metínicos (δ : 133,10, 130,99, 130,84, 130,08, 121,08, 108,85, 108,05), 7 para carbonos metilênicos (δ : 100,69, 35,62, 34,70, 32,59, 31,89, 29,40, 22,67) e um para carbono metílico (δ 14,12) (Figuras 104, 105 e 106, p. 167 e 168).

No espectro de correlação heteronuclear HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ foram vistos os acoplamentos de δ 6,70/108,05, 6,65/108,85, 6,60/121,08 (Figuras 107, 108 e 109, p. 169 e 170) sugeridos para os hidrogênios 5, 2 e 6, respectivamente. Além do mais, observou-se a correlação direta de δ 5,89/100,69 (Figura 109, p. 170), corroborando a presença do grupo metilenodióxido.

No espectro de correlação heteronuclear HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ foram vistas correlações a $^3J_{(\text{CH})}$ de δ 6,70/147,47, 135,80 e 121,10, de δ 6,65/145,54 e 121,08 e de δ 6,60/145,54 e 108,85, que aliada as correlações de δ 5,89/147,47 e 145,54 (Figuras 112 e 113, p. 171), permitiram confirmar a presença do CH_2O_2 ligado aos carbonos 3 e 4 do anel aromático e os deslocamentos químicos em δ 6,70, 6,65 e 6,60 para os hidrogênios das posições 5, 2 e 6, respectivamente. As correlações vistas a ^3J entre δ 6,65 e 6,60/35,62 (Figura 117, p. 173) e a ^2J de δ 2,59/135,80 (Figura 114, p. 172) forneceram indícios de que a cadeia lateral estava ligada ao carbono quaternário da posição 1 em δ 135,80 e que o sinal em δ 35,62 trata-se do carbono 1'. Esses deslocamentos foram confirmados pela correlação direta de δ 2,59/35,62 (Figura 110, p.170) e por outras correlações a longa distância de δ 2,59/121,07, 108,84 e 34,75 (Figuras 114 e 115, p. 172), sugerindo, ainda, δ 34,75 para o carbono 2'. O acoplamento de δ 2,30/2,59 observado no espectro de correlação homonuclear COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (Figuras 118 e 120, p.

174) e de δ 2,30/135,80 no HMBC (Figura 114, p. 172) confirmou o deslocamento de δ 2,30/34,70 visto no HMQC (Figura 110, p. 170) para a posição 2'.

Outras correlações foram vistas no HMQC (Figura 108 e 110, p. 169 e 170):

- δ 5,58-5,52/130,84 e 133,10
- δ 5,99/131,01 e 130,08
- δ 2,02/32,59
- 1,29-1,26/31,92 e 22,68
- 1,35-1,31-29,40

O sinal em δ 5,58-5,52, sugestivo de hidrogênio insaturado (integral para 2H visto no espectro de RMN de ^1H) mostrou as seguintes correlações no HMBC:

- δ 5,58-5,52/35,62, 34,70, 130,99 e 130,04 (Figuras 113 e 117, p. 171 e 173), o que permitiu atribuir um deles para a posição 3'; e δ 5,58-5,52/32,59 o que permitiu sugerir δ 32,59 para a posição 7'.

- δ 5,99/34,70 e 32,59 (Figura 117, p. 173), que confirmou um dos hidrogênios em δ 5,99 para a posição 4' e sugeriu o outro para a posição 5'. Além do mais, através dessas correlações foi possível comprovar que os hidrogênios em δ 5,58-5,52 não são vizinhos.

No espectro COSY observou-se correlações de δ 5,58-5,52/2,30 e 2,02 (Figura 118, p. 174), fato esse que corroborou o deslocamento do H-3' e permitiu confirmar o outro hidrogênio em δ 5,58-5,52 para a posição 6'. Além disso, por exclusão, foi possível confirmar o outro próton em δ 5,99 para a posição 5'.

Ainda no HMQC foi possível observar correlações de δ 5,99/ 32,59, δ 1,35-1,31/29,40, δ 1,29-1,26/ 31,92, 1,29-1,26/29,68 e δ 0,86/ 14,08 (Figuras 107, 109 e 111, p. 169 e 170), que foram sugeridas para as posições 7', 8', 9', 10' e 11', respectivamente.

No HMBC foram vistas as correlações de:

- δ 5,99/ 32,59 o que confirmou δ 32,59 para o C-7' (Figura 112, p. 171).
- δ 2,02/ 29,40, 133,10 e 130,08 (Figuras 114, 115 e 116, p. 172 e 173) que juntamente com as correlações vistas no COSY entre δ 2,02/1,35-1,31 (Figuras 121 e 123, p. 175) e no NOESY de δ 1,35/ 2,02 (Figuras 118 e 120, p. 174) permitiram atribuir δ 29,40 para o C-8'.
- δ 1,29-1,26/ 29,40 (Figuras 115 e 116, p. 172), que aliada à correlação vista no NOESY entre 1,29/ 2,02 (Figura 120, p. 174) permitiu atribuir δ 1,29-1,26 para o H-9'.
- O outro sinal em δ 1,29-1,26 mostrou correlação no HMBC com δ 31,92 (Figuras 115 e 116, p. 172) e NOESY e no COSY com δ 0,84 (Figuras 120 e 123, p. 174 e 175, respectivamente), fato esse que permitiu a atribuição de δ 1,29-1,26 para o H-10'.
- δ 0,86/ 31,92 e 22,68 (Figuras 115 e 116, p. 172). Estas correlações corroboraram os deslocamentos químicos dos C-9' e C-10', além de confirmar o deslocamento da metila terminal no C-11'.

Os dados relatados de RMN de ^1H e ^{13}C e IV, sumarizados na tabela 14 (p. 160), e em conjunto com comparações de amostra autêntica da literatura (GALINIS et al, 1993), permitiu concluir que Pmt-4 trata-se de: 3,4-metilenodioxibenzil-1-(3'E-5'E)-undecadieno, relatado pela primeira vez na literatura científica.

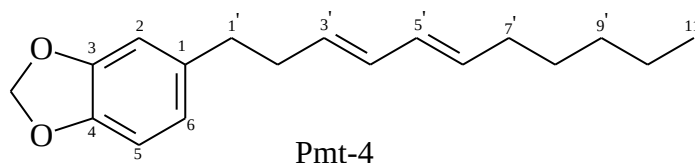
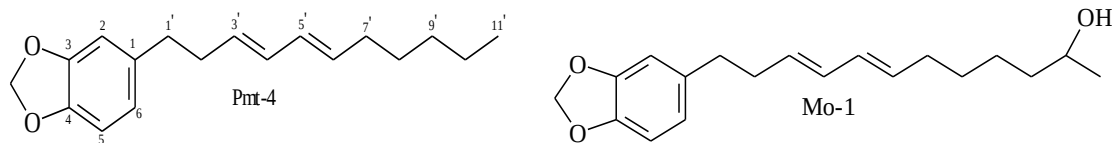


Tabela 14: dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-4 e correlações obtidas em experimentos HMQC e HMBC registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ (ppm).

HMQC			HMBC	
	δC	δH	$^2\text{J}_{(\text{CH})}$	$^3\text{J}_{(\text{CH})}$
C				
1	135,80		H-1'	H-5, H-2'
3	147,47			H-5, H-7
4	145,54			H-6, H-2, H-7
CH				
2	108,85	6,65 (dl, J=1,5 Hz)		H-1'
5	108,05	6,70 (d, J=8,0 Hz)		
6	121,08	6,60 (dd, J=8,0 e 1,5 Hz)		H-2, H-1'
3'	130,84	5,58-5,52 (m)		H-1'
4'	130,99	5,99 (tt, J=14,5 e 1,0 Hz)		H-2', H-3', H-6'
5'	130,08	5,99 (tt, J=14,5 e 1,0 Hz)		H-7', H-3'
6'	133,10	5,58-5,52 (m)	H-7'	
CH₂				
7	100,69	5,89 (s)		
1'	35,62	2,59 (t, J=7,5 Hz)	H-2'	H-2, H-6, H-3'
2'	34,70	2,30 (td, J=7,5 e 8,0 Hz)	H-1', H-3'	H-4'
7'	32,59	2,02 (td, J=7,0 e 7,5 Hz)	H-6'	H-5', H-8'
8'	29,40	1,35-1,31 (m)	H-7'	
9'	31,92	1,29-1,25 (m)	H-10'	H-11'
10'	22,68	1,29-1,25 (m)	H-9', H-11'	
CH₃				
11'	14,12	0,86 (t, J=7,0 Hz)		

TABELA 15: dados comparativos de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pmt-4 com dados da literatura (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (GALINIS et al, 1993)



	δC	δH	δC	δH
C				
1	135,80		135,77	
3	147,47		147,48	
4	145,54		145,56	
CH				
2	108,85	6,65 (dl, J=1,5 Hz)	108,86	6,67 (s)
5	108,05	6,70 (d, J=8,0 Hz)	108,07	6,72 (d, J= 7,9 Hz)
6	121,08	6,60 (dd, J=8,0 e 1,5 Hz)	121,09	6,62 (d, J= 7,9 Hz)
3'	130,84	5,58-5,52 (m)	130,37	5,56 (m)
4'	130,99	5,99 (tt, J=14,5 e 1,0 Hz)	131,05	6,03 (m)
5'	130,08	5,99 (tt, J=14,5 e 1,0 Hz)	130,92	6,03 (m)
6'	133,10	5,58-5,52 (m)	132,57	5,56 (m)
11'	-	-	68,12	3,78 (m)
CH₂				
7	100,69	5,89 (s)	100,70	5,91 (s)
1'	35,62	2,59 (t, J=7,5 Hz)	39,62	2,61 (t, J=8,0 Hz)
2'	34,70	2,30 (td, J=7,5 e 8,0 Hz)	35,64	2,34 (td, J=7,9 e 6,9 Hz)
7'	32,59	2,02 (td, J=7,0 e 7,5 Hz)	34,70	2,06 (m)
8'	29,40	1,35-1,31 (m)	29,39	1,41 (m)
9'	31,92	1,29-1,25 (m)	25,33	1,41 (m)
10'	22,68	1,29-1,25 (m)	32,53	1,41 (m)
CH₃				
11'	14,12	0,86 (t, J=7,0 Hz)	-	-
12'	-	-	23,53	1,18 (d, J=6,2 Hz)

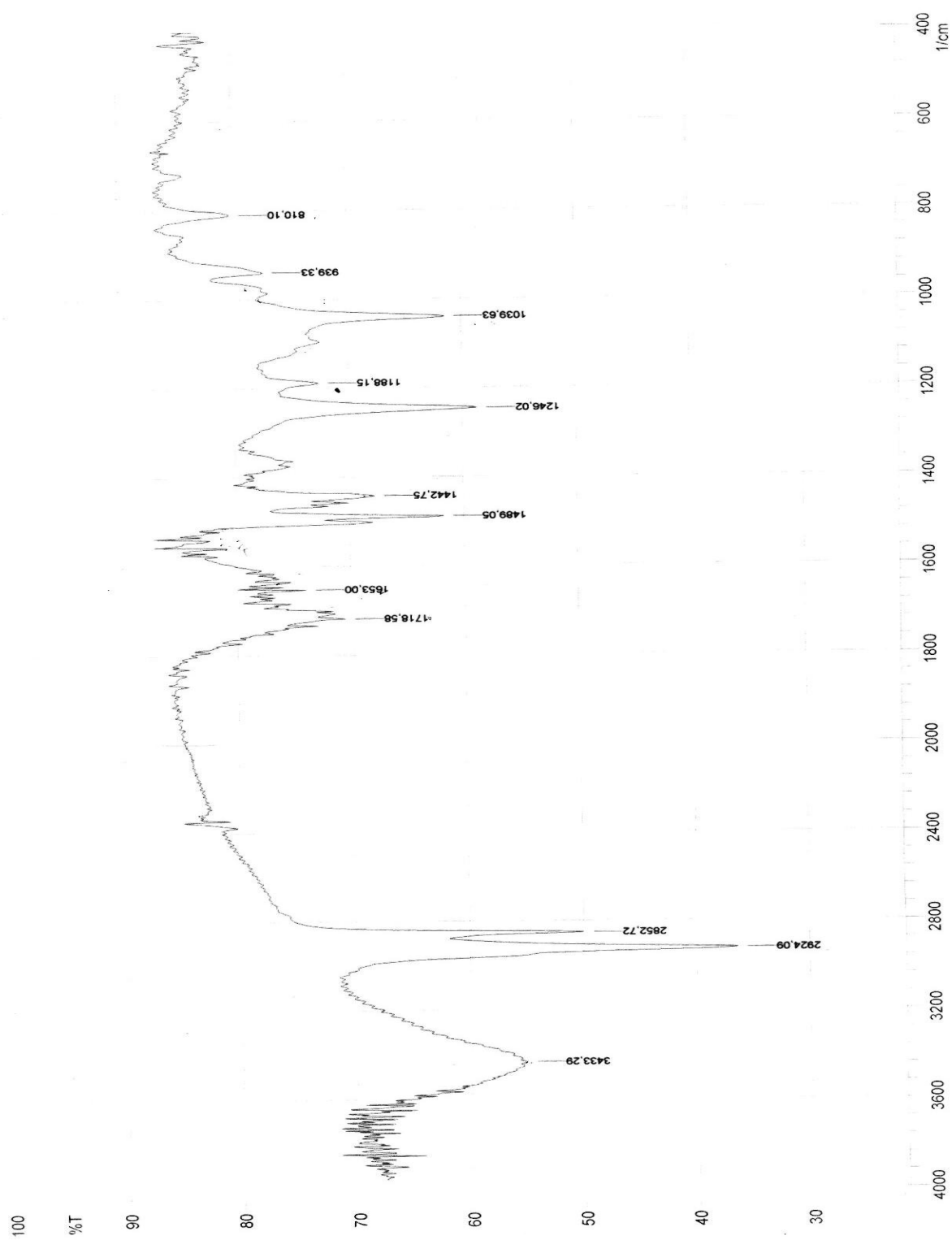


Figura 97: espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pmt-4

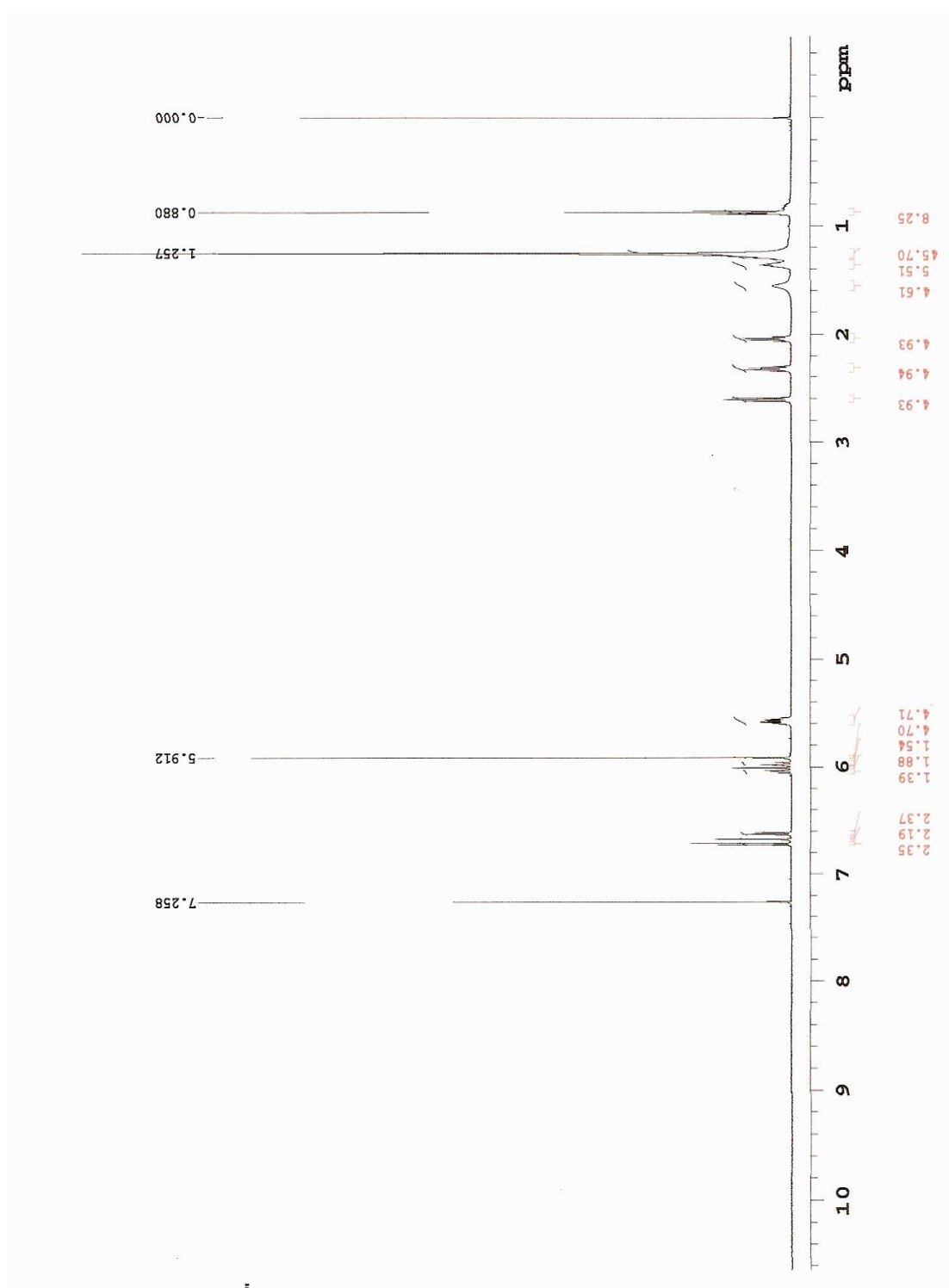


Figura 98: espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4

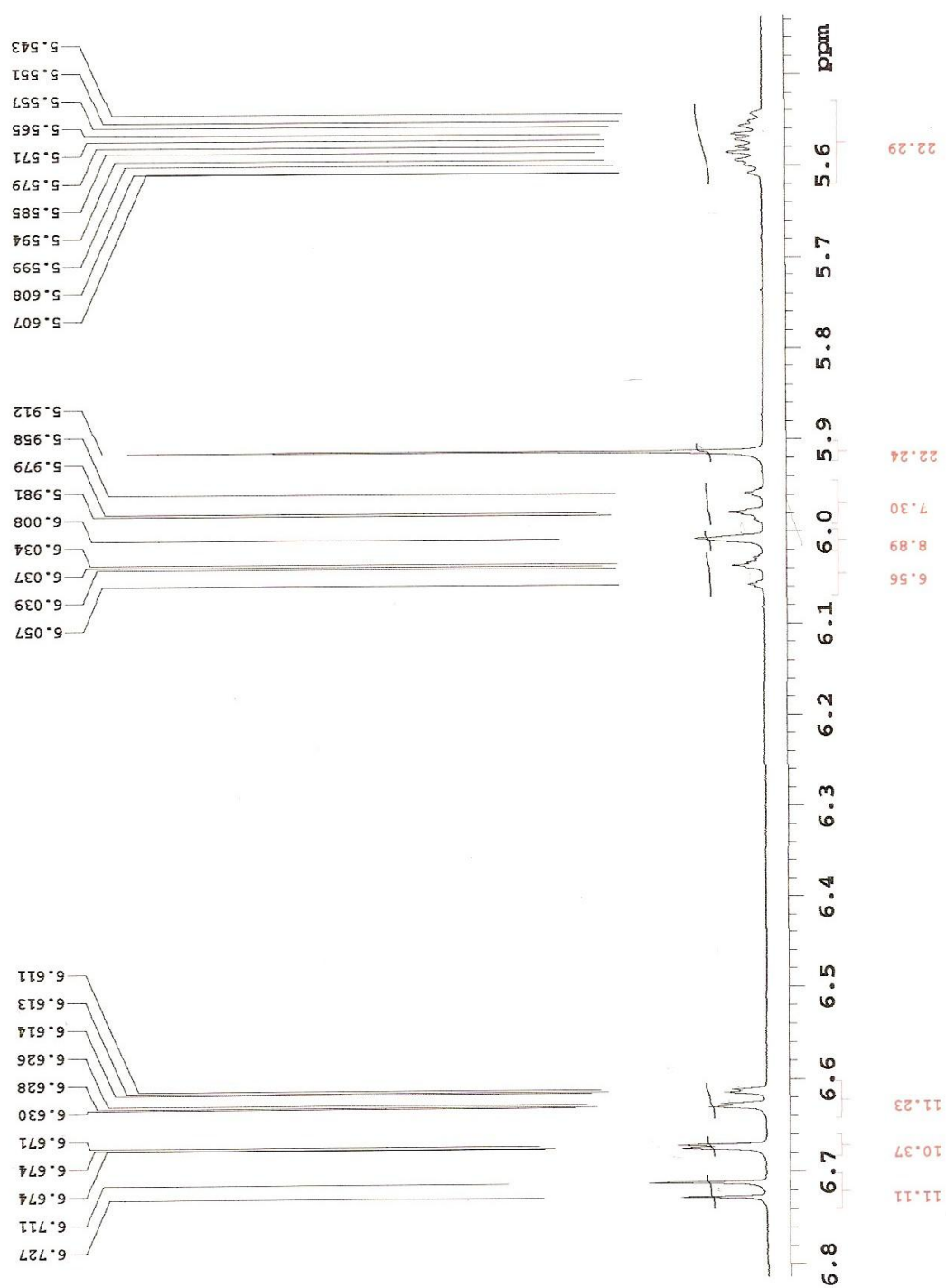
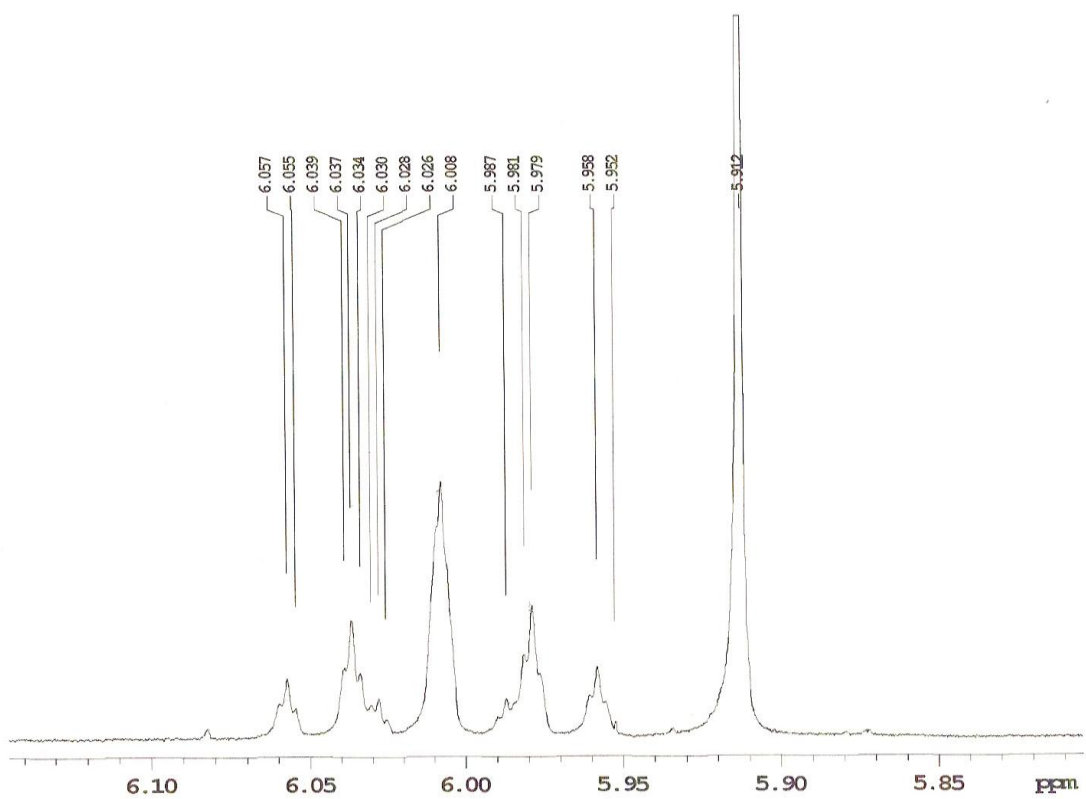
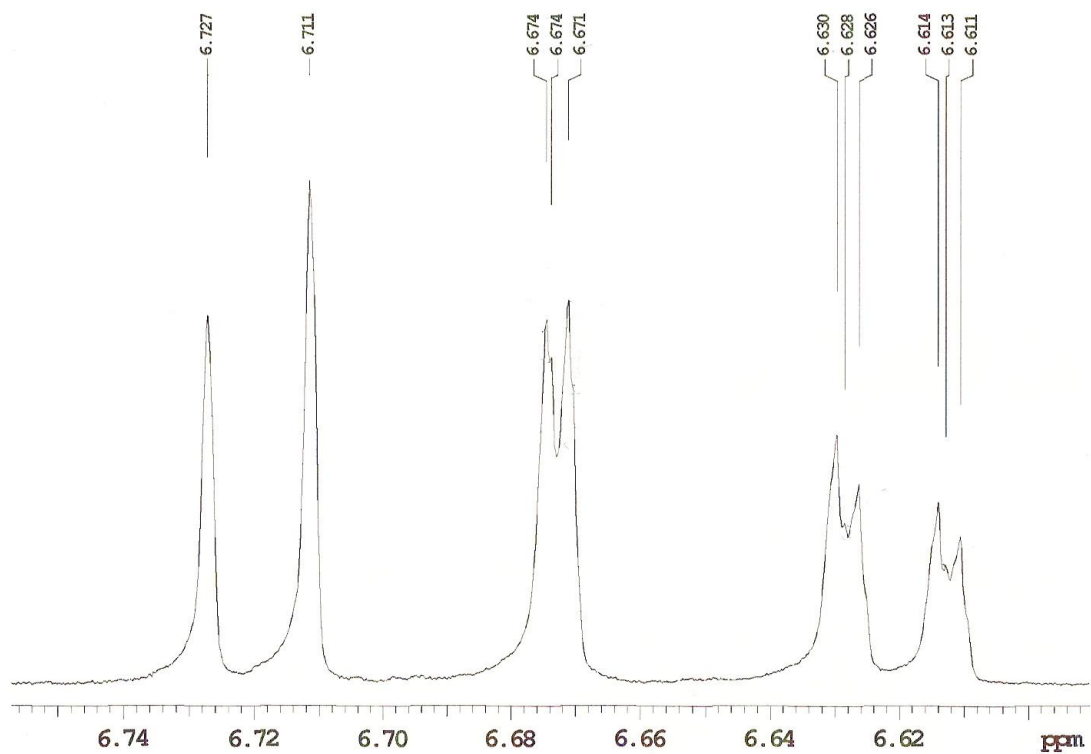
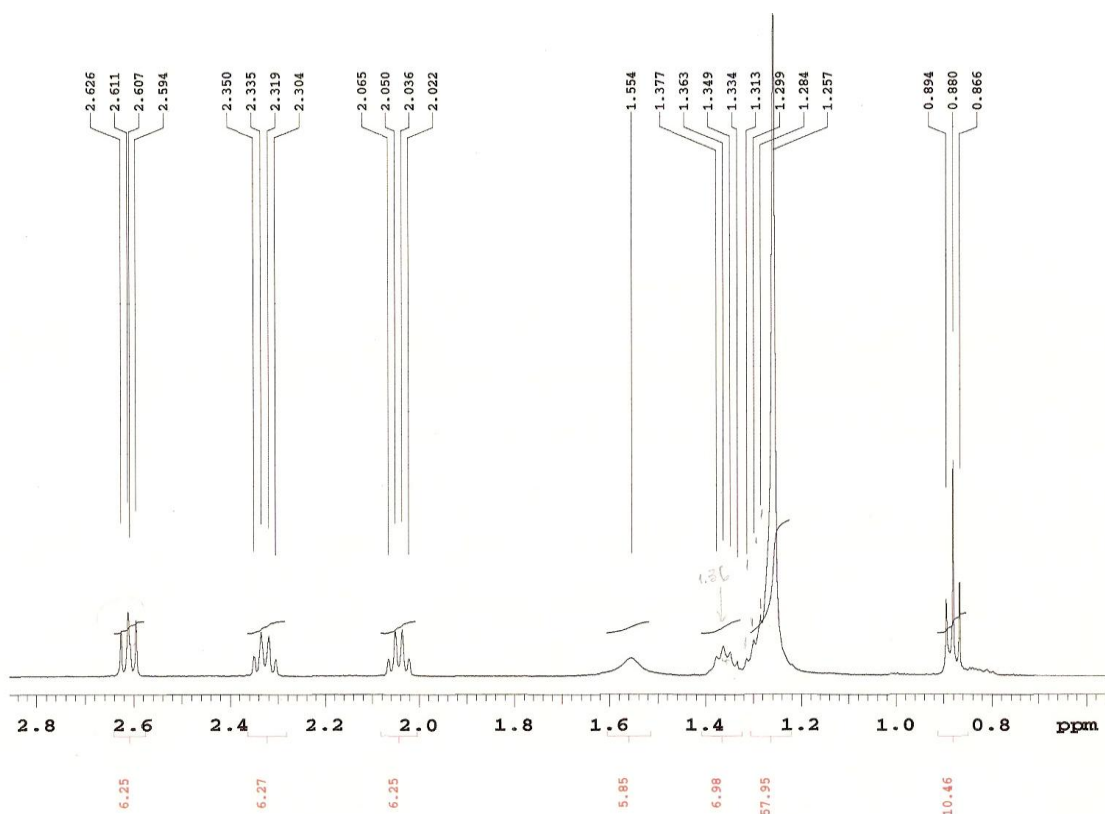
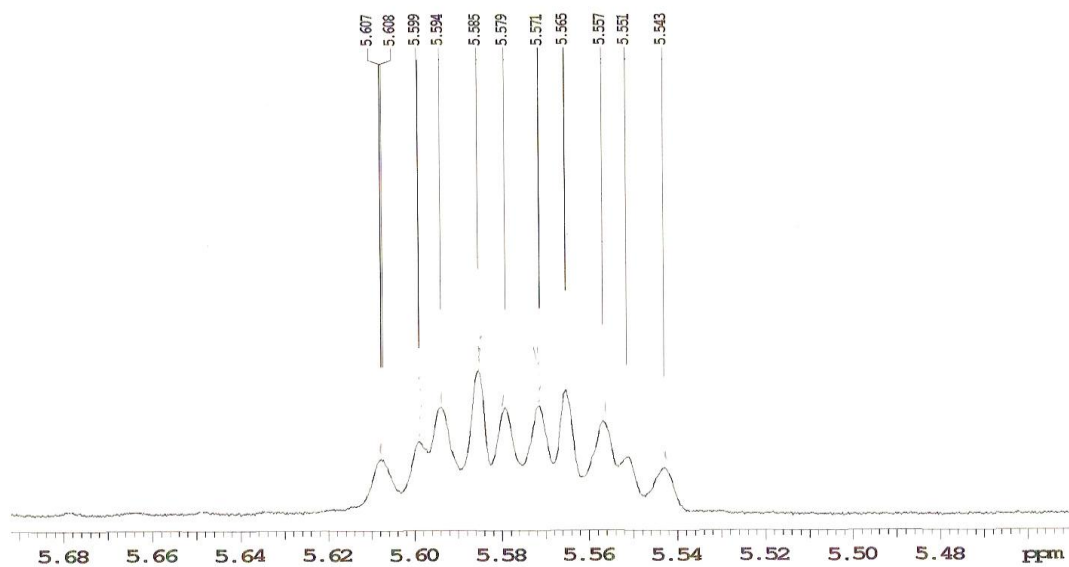


Figura 99: expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4



Figuras 100 e 101: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4



Figuras 102 e 103: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, CDCl_3) de Pmt-4

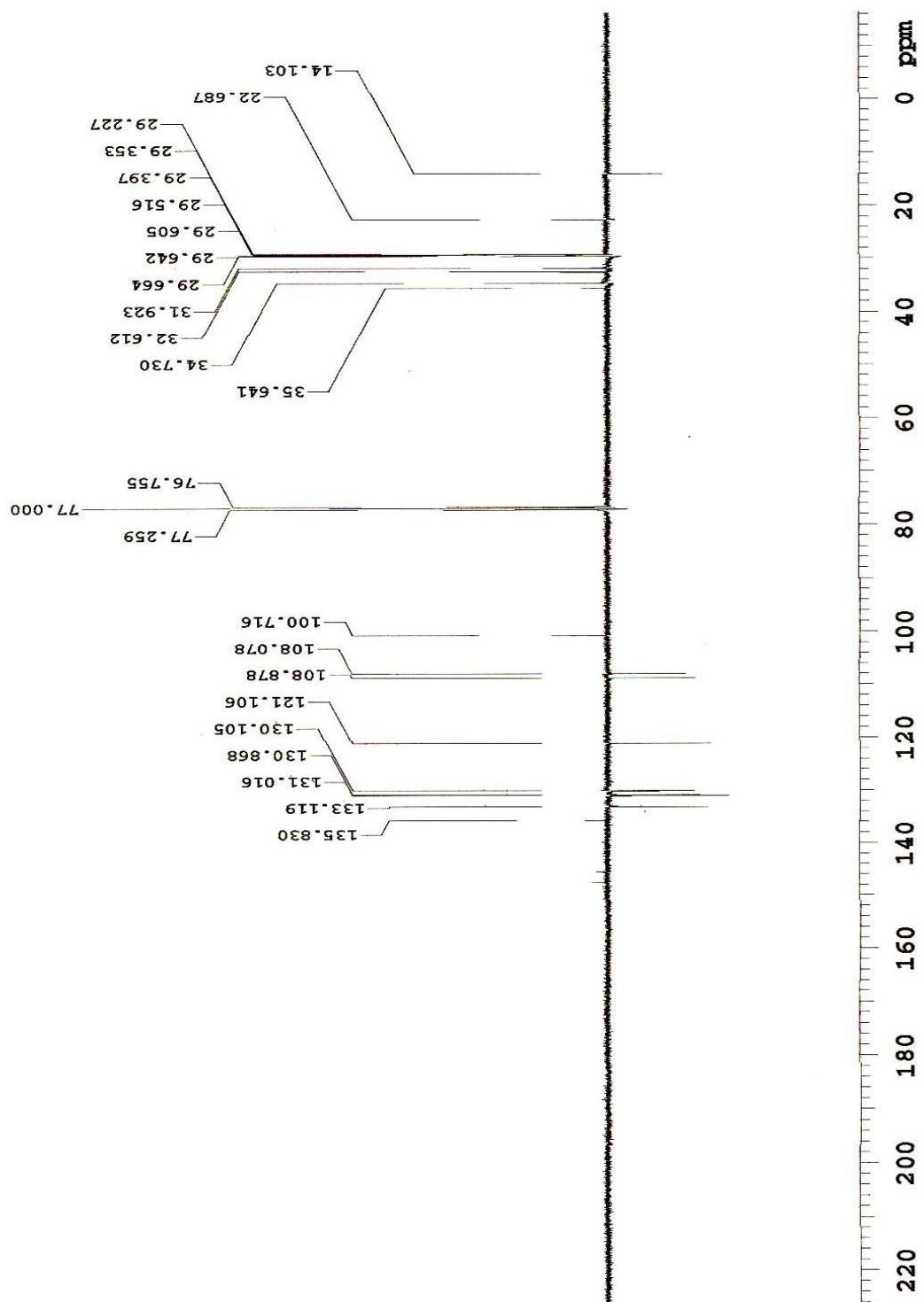
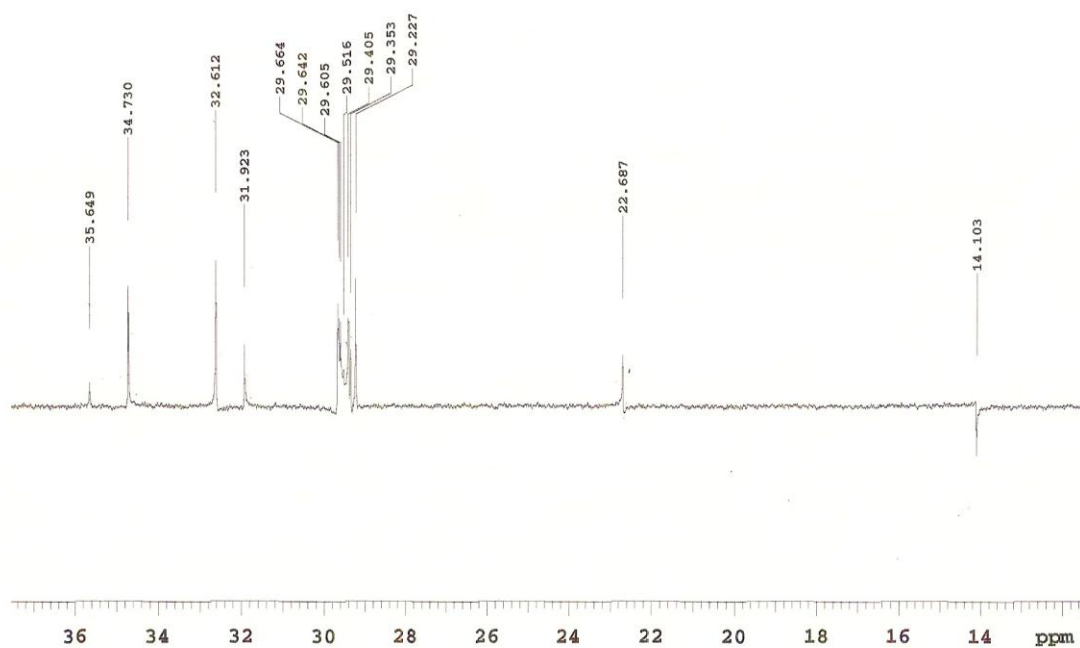
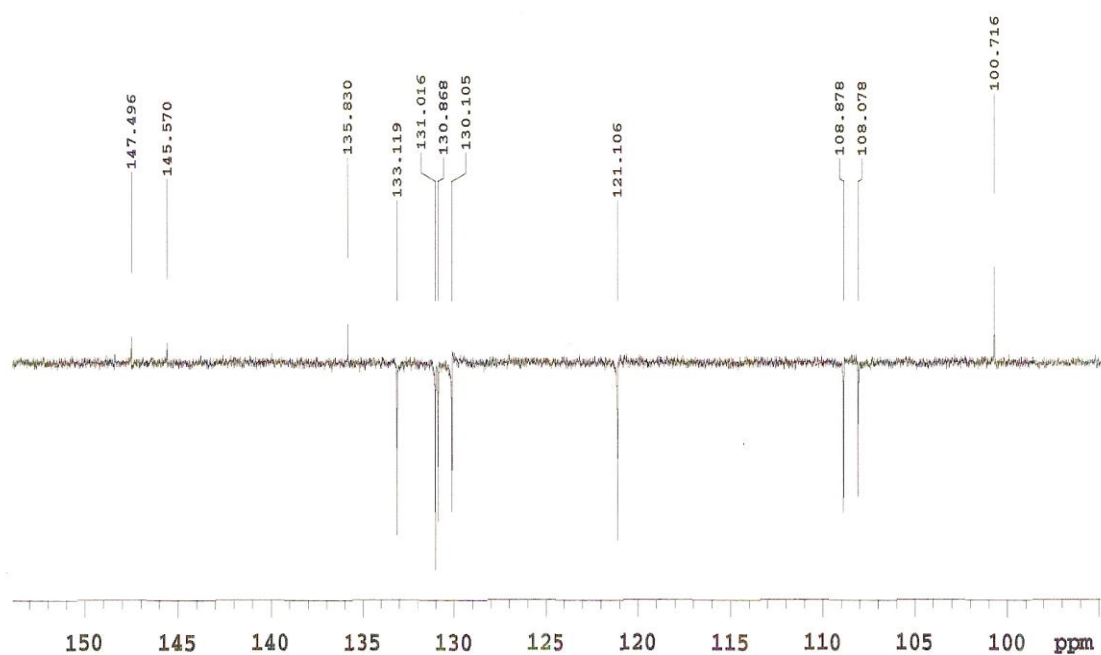
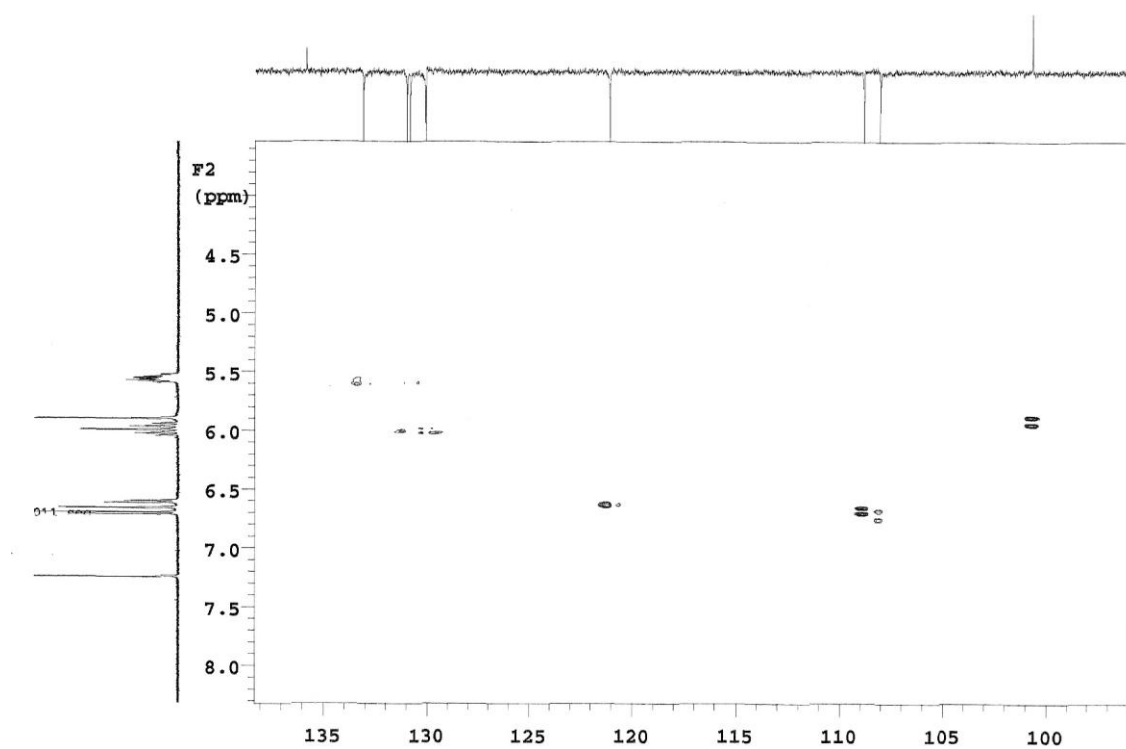
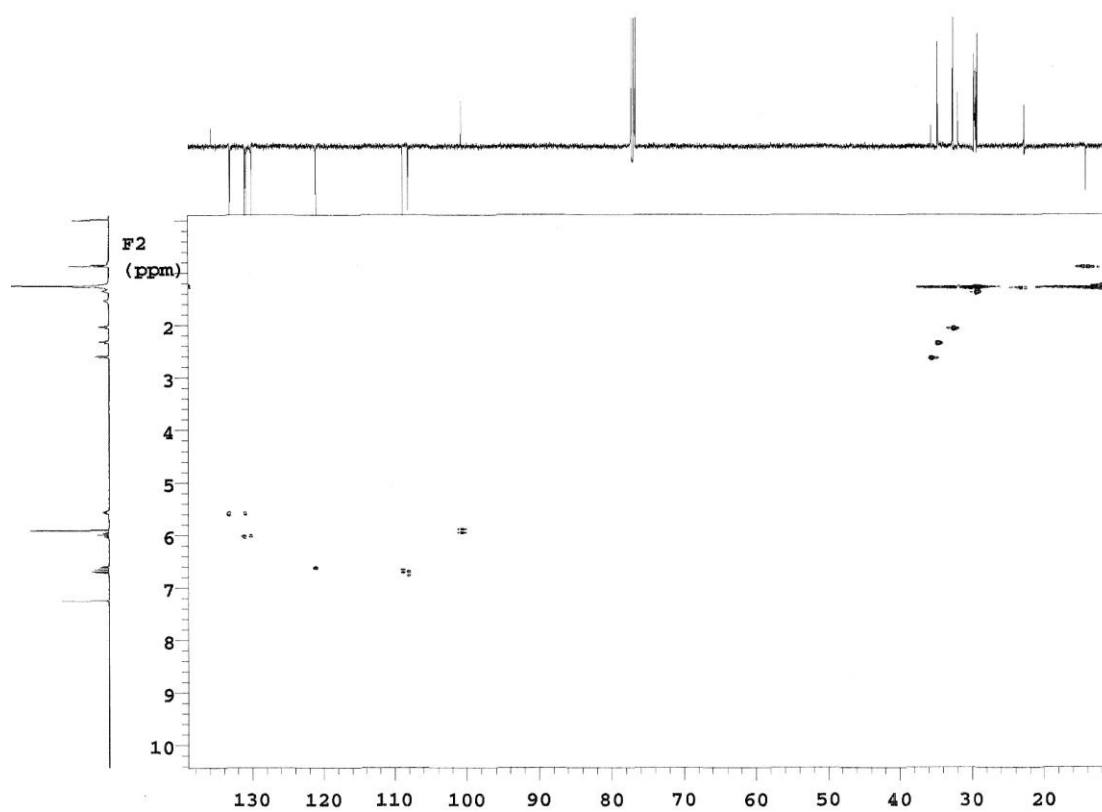


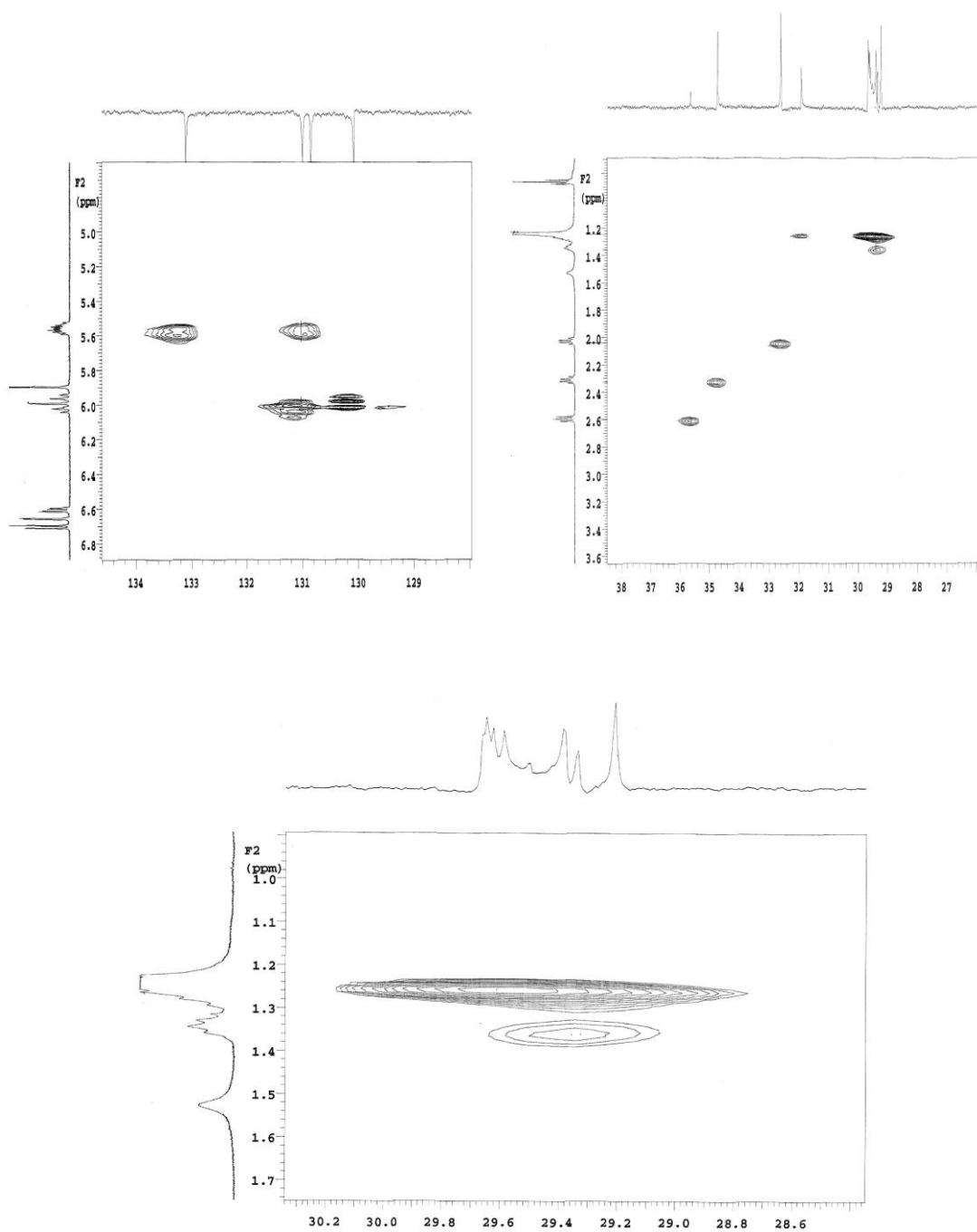
Figura 104: espectro de RMN de ¹³C (δ, 125 MHz, CDCl₃) de Pmt-4



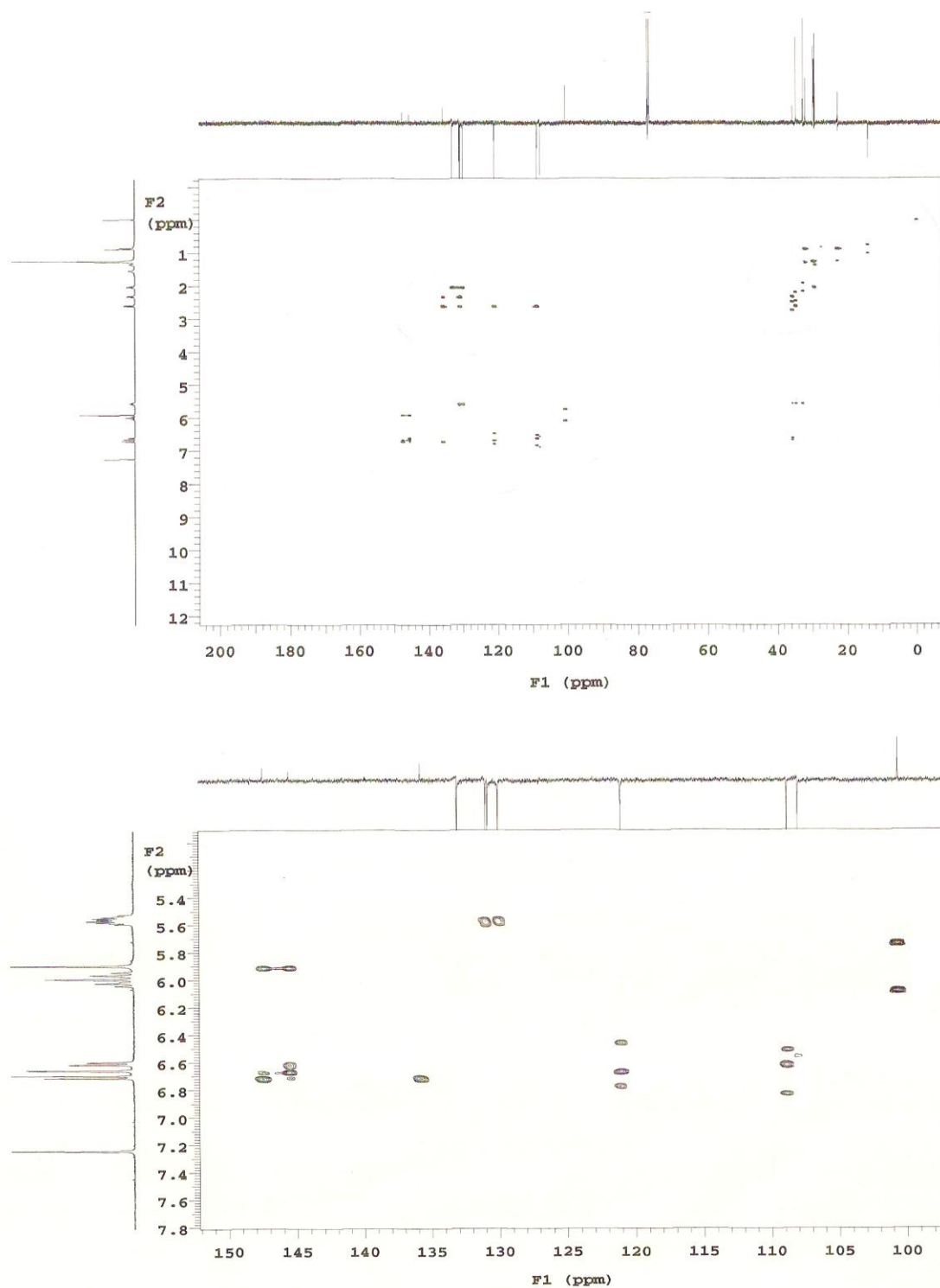
Figuras 105 e 106: expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, CDCl_3) de Pmt-4



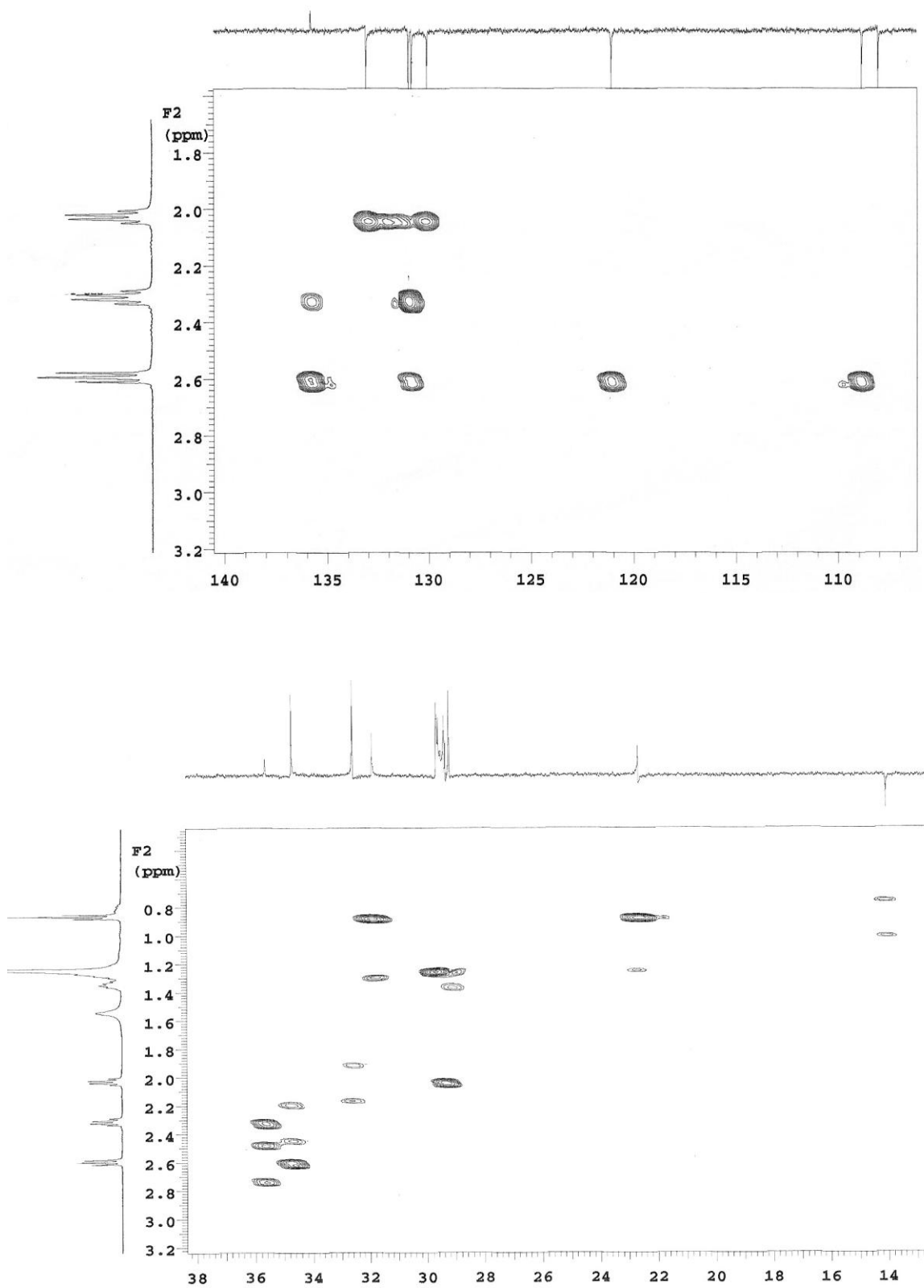
Figuras 107 e 108: espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4



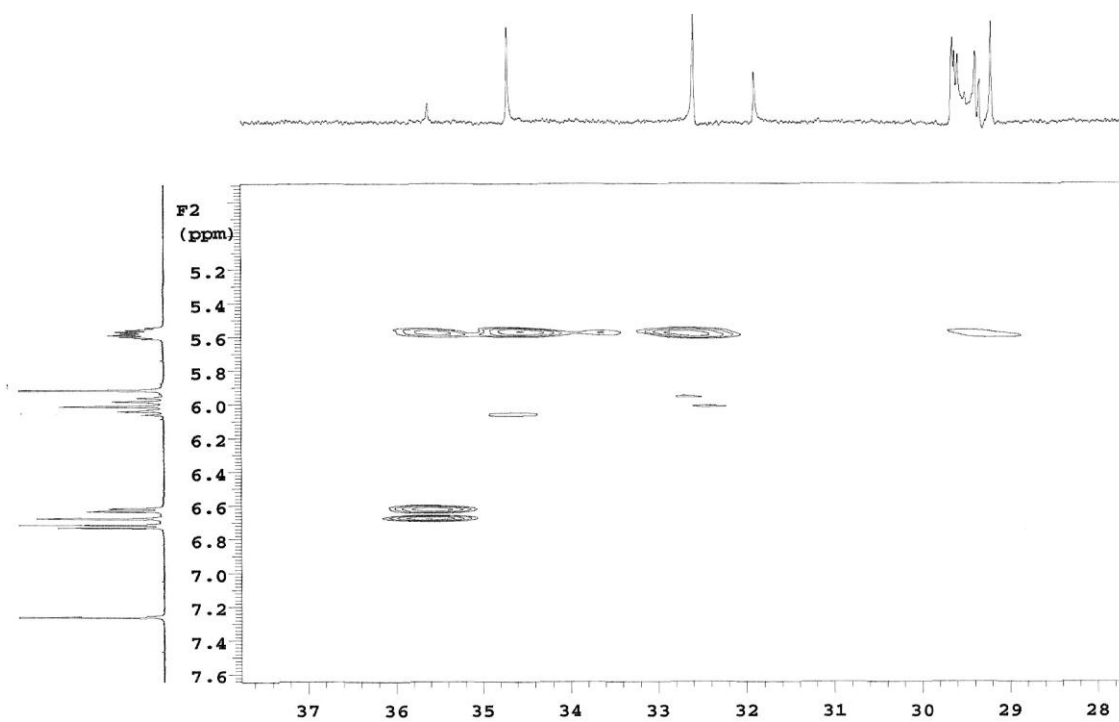
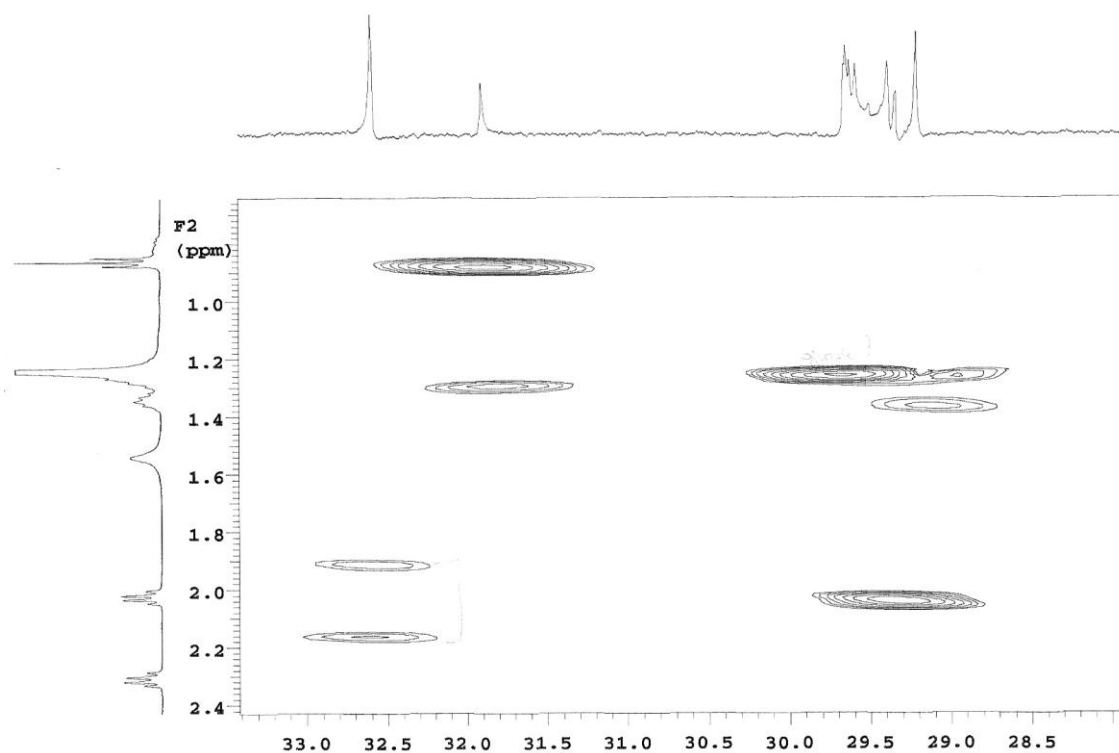
Figuras 109, 110 e 111: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4



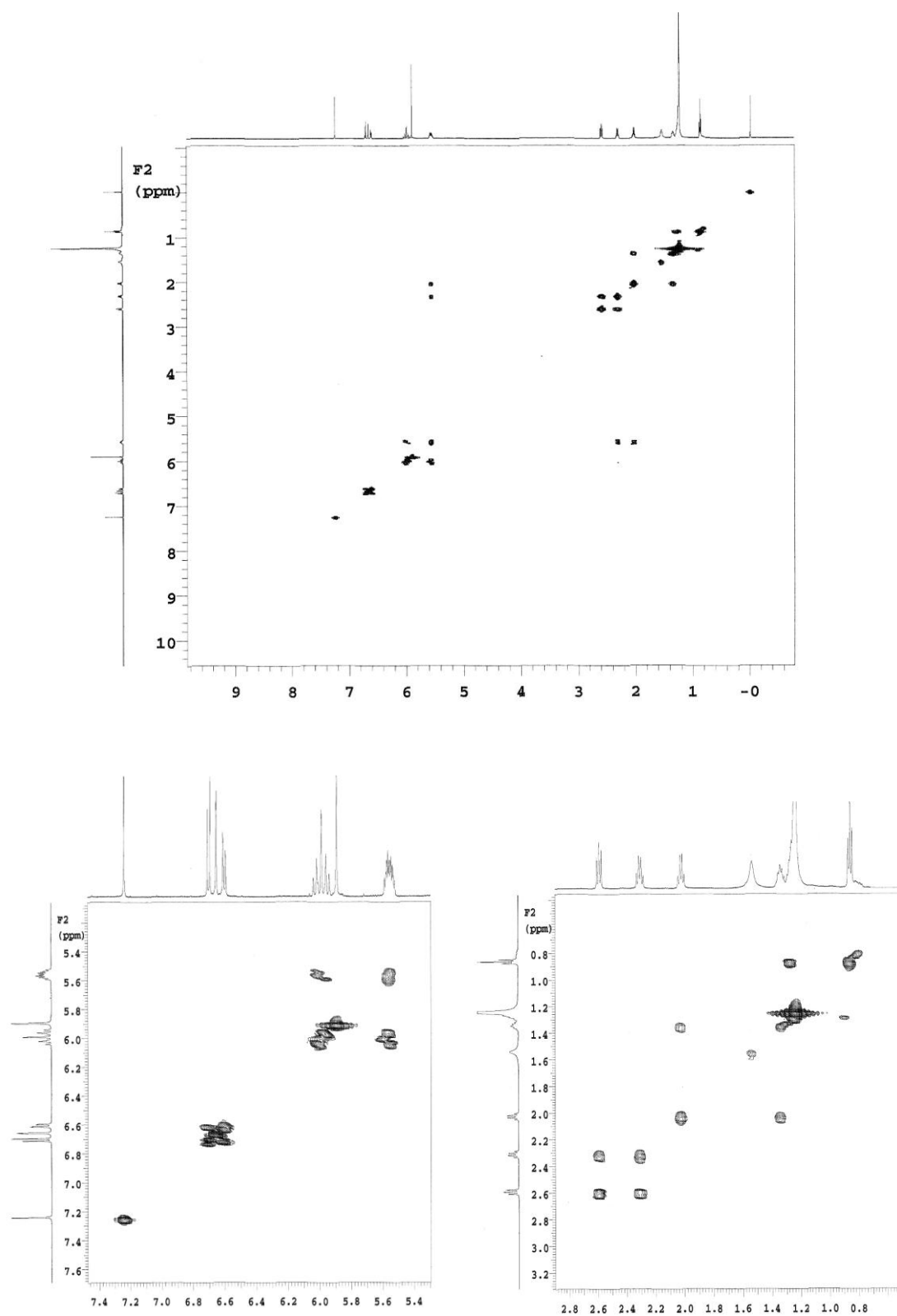
Figuras 112 e 113: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4



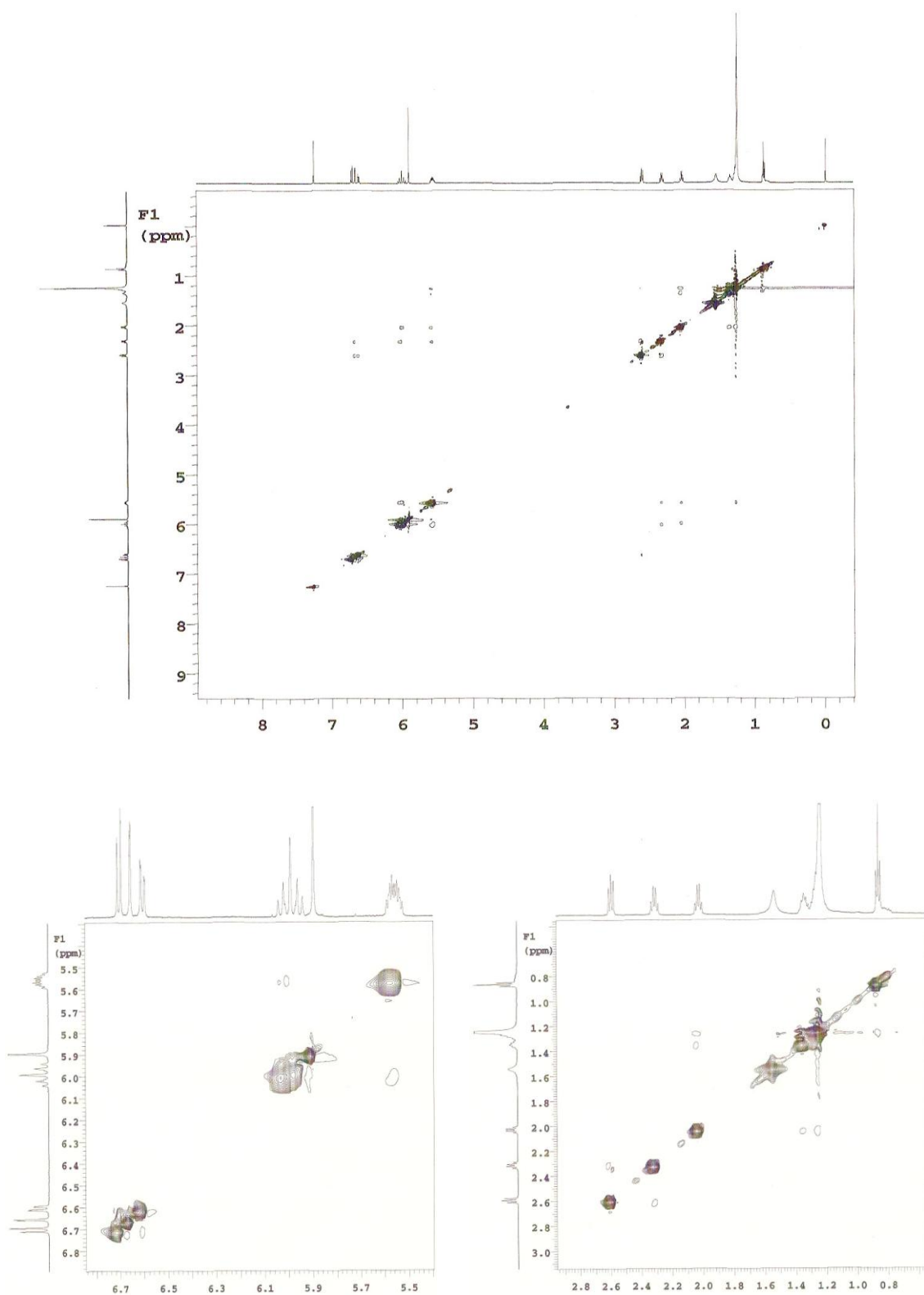
Figuras 114 e 115: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4



Figuras 116 e 117: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-4



Figuras 118, 119 e 120: expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4



Figuras 121, 122 e 123: expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-4

6.5 – IDENTIFICAÇÃO DE Pmt-5

A substância codificada por Pmt-5 apresentou-se como um pó amorfo verde-escuro solúvel em CHCl_3 .

O espectro de IV (Figura 126, p. 183) de Pmt-5 mostrou bandas características de estiramento de C-H alifático em 2924 e 2850 cm^{-1} , bem como bandas em 3433 cm^{-1} , sugestivas de deformação axial de N-H de amins ou de O-H de álcool. Uma outra banda, observada em 1377 cm^{-1} , fortaleceu a sugestão da presença de grupo amino, por tratar-se de deformação axial de ligação C-N conjugada. Esta observação, aliada à presença de uma banda em 1620 cm^{-1} , condizente com a absorção de ligação dupla em sistemas conjugados, está de acordo com estruturas contendo núcleo porfirínico. Em 1731 e 1.701 cm^{-1} observaram-se duas bandas de absorção características de deformação axial de grupo carbonílico de éster não conjugado e de cetona conjugada, respectivamente (SILVERSTEIN et al., 1996).

O espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) (Figuras 127-130, p. 184-186) revelou absorções referentes a três metilas olefinicas em δ 3,17, 3,37 e 3,65, sinais referentes a hidrogênios vinílicos em δ 7,93 (m, 1H), 6,27 (dd, 1H), 6,14 (dd, 1H) e três hidrogênios olefinicos em δ 9,46 (s, 1H), 9,31 (s, 1H), 8,53 (s, 1H) (Tabela 16, p. 181) condizentes com absorções de hidrogênios 5, 10 e 20 do núcleo porfirínico das feofitinas (MATSUO et al, 1996; DUAN et al, 2002), descartando a presença de ligação O-H de álcool na molécula e confirmando a sugestão proferida pelos dados de IV para a presença de estrutura porfirínica. Além do mais, foi possível observar deslocamento químico sugestivo de hidrogênios metoxílicos em δ 3,86 (Figura 129, p. 185). A presença de picos na região alifática (Figura 130, p. 186) sugere a presença de grupamento fitol na molécula, na qual foi possível observar um envelope de sinais entre

The chemical structure shows a macrocycle composed of five pyrrole rings labeled I, II, III, IV, and V. The rings are interconnected by methylene and methyl groups. A long, branched side chain is attached to the macrocycle, featuring a terminal methyl group and several internal methyl branches. The structure is highly detailed with numerous atom labels (1-21, 1'-20') and stereochemical indicators (wedges, dashes).

O espectro de RMN de ^{13}C , técnica APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) mostrou a presença de 55 átomos de carbono (Figuras 131-133, p. 187 e 188) sendo 19 para carbonos quaternários (δ : 141,99, 131,82, 136,45, 136,22, 155,59, 136,20, 145,16, 150,92, 137,88, 128,60, 129,01, 149,61, 105,17, 161,22, 172,20, 189,64, 173,97, 172,95, 142,85), 11 para carbonos metínicos (δ : 129,03, 97,47, 104,37, 64,66, 51,08, 50,07, 93,00, 117,64, 32,72, 32,58, 27,93), 14 carbonos metilênicos (δ : 122,76, 19,41, 29,67, 31,15, 61,44, 39,75, 24,97, 37,39, 37,22, 24,38, 37,28, 36,60, 24,74, 39,30) e 11 carbonos metílicos (δ : 12,09, 11,19, 16,26, 12,09, 52,85, 22,69, 17,40, 19,69, 19,62, 22,59, 23,06).

O espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY confirmou a presença de hidrogênios vinílicos através da correlação em δ 7,96 (H-3¹)/6,27 (H-3² - trans) e 6,14 (H-3² - cis) (Figuras 141 e 142, p. 193). O espectro de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY (Figuras 143-145, p.194) corroborou esses deslocamentos químicos através das correlações espaciais δ 6,14 e 6,27/7,93, 3,17 e 3,37.

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC mostrou correlação de δ 6,14 e 6,27/136,45 (Figuras 138 e 139, p. 192), sugerindo δ 136,45 para o carbono 3 e das metilas vinílicas em δ 3,17/141,99 e 136,45, δ 3,37/145,16 e 136,20 e δ 3,65/137,88, 128,60 e 129,01 (Figuras 138 e 139, p. 192), confirmando esses grupamentos para as posições 7¹, 2¹, e 12¹, respectivamente. Foram vistas ainda as seguintes correlações: δ 8,53/131,82, 9,31/136,22 e 9,46/150,92 (Figura 139, p. 192). Estas correlações permitiram estabelecer, com o auxílio da correlação direta HMQC (ver tabela 15), os deslocamentos químicos dos hidrogênios das posições 20, 5 e 10 dos anéis da porfirina, bem como a atribuição parcial dos carbonos dos anéis I, II, III e IV, sendo as demais feitas por comparação com a literatura (SCHWIKKARD et al, 1998). As atribuições das posições 13² e 13¹ do anel V foram vistas pela correlação de δ 6,29/189,64 (Figura 138, p. 192) e da metoxila em δ 3,86 (H-13⁴) através do acoplamento a J³ com δ 169,60 (Figura 139, p. 192) e corroboradas pela análise do HMQC.

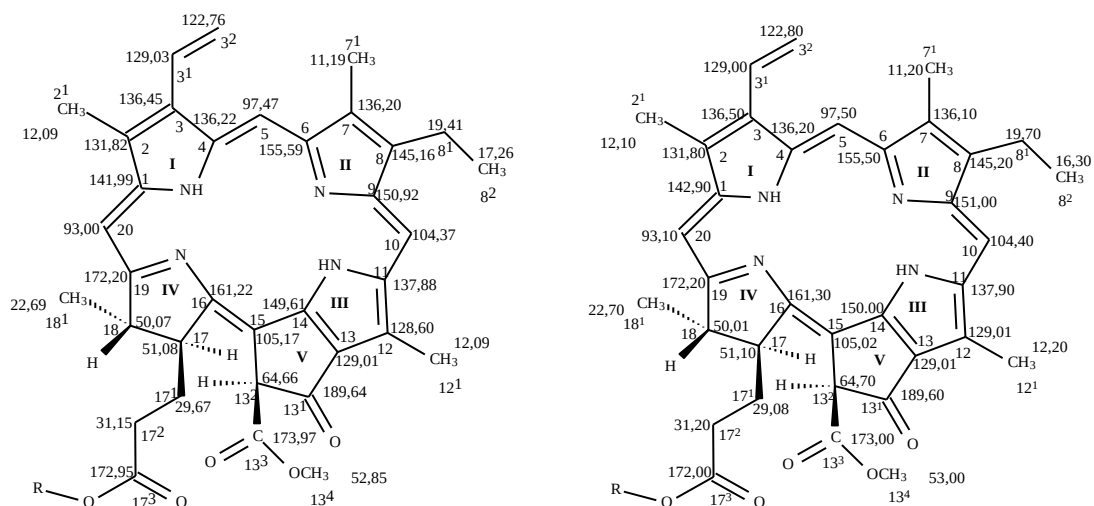


Figura 124 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C de Pmt-5 com feofitina a

O NOESY mostrou ainda o acoplamento espacial de δ 8,53 (H-20)/1,81 (H-18¹) e 4,45 (H-18), de δ 4,45 (H-18)/4,17 (H-17) e de δ 9,46 (H-10)/3,65 (H-12¹) (Figuras 143-145, p. 194) corroborando a presença desses deslocamentos químicos para os seus respectivos hidrogênios.

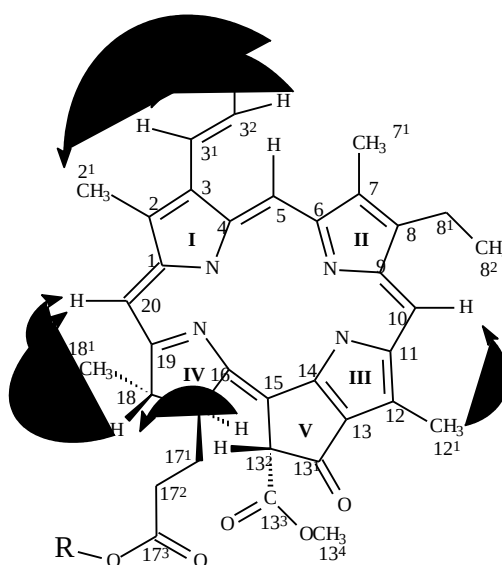


Figura 125: interações NOE da feofitina a.

Dos 55 picos referentes aos átomos de carbono mostrados no espectro de RMN de ^{13}C -APT, 20 são condizentes ao grupamento fitol (Figuras 131 e 133, p. 187 e 188), sendo 1 para carbono quaternário (δ 142,85), 10 para carbonos metilênicos (δ : 61,44, 39,75, 24,97, 37,39, 37,22, 24,38, 37,28, 36,60, 24,74, 39,30), 5 para carbonos metílicos

(δ : 17,40, 19,69, 19,62, 22,59, 23,06) e 4 para carbonos metínicos (δ : 117,64, 32,72, 32,58, 27,93).

No HMBC (Figura 138, p. 192) foi possível observar correlação de δ 5,11/39,75 e 17,40 e no HMQC (Figura 135 e 136, p. 190) correlações entre δ 5,11/117,64, δ 1,80/39,75 e δ 1,55/17,40 confirmando, portanto, δ 117,64, 39,75 e 17,40 para os carbonos 2'', 4'' e 20'', respectivamente. Observou-se também no HMBC (Figura 139, p. 192) correlação de δ 4,45 (H-1'')/142,85 (C-3'') e no HMQC (Figura 135, p. 190) de δ 4,45/61,44 (C-1''), deslocamentos condizentes para tais posições. Todos os outros dados referentes ao fitol foram confirmados através da comparação com a literatura (CHAVES, 1996; PEREIRA-JÚNIOR et al, 1990).

Os dados relatados, sumarizados na tabela 16 (p. 181) e comparados com dados da literatura (SCHWIKKARD et al., 1998), permitem sugerir que Pmt-5 trata-se da feofitina a, anteriormente descrita em algumas famílias, tais como: Anthocerotaceae (BUCHANAN et al, 1996), Poaceae (PORRA et al, 1993), Plagiochilaceae (MATSUO et al, 1996), Amaranthaceae (JERZ et al, 2007), Malvaceae (SILVA et al, 2006), Fabaceae (DIAS et al, 2007) e Dichapetalaceae (SCHWIKKARD et al, 1998), sendo pela primeira vez relatada no gênero *Piper*.

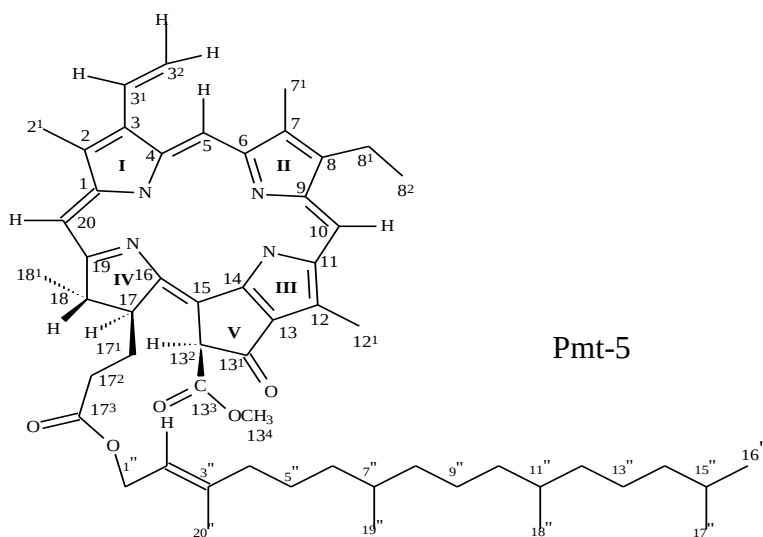


Tabela 16 - dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em clorofórmio, J(Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC		NOESY
	δC	δH	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^2\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^3\text{J})$	
C					
1	141,99			H-2 ¹ , H-20	
2	131,82				
2¹	12,09	3,17 (s)			H-3 ²
3	136,45			H-3 ² , H-3 ² , H-2 ¹	
3¹	129,03	7,93 (m)			H-3 ²
3²	122,76	6,14 (m) 6,27 (m)			H-3 ¹ , H-7 ¹
4	136,22		H-5		
5	97,47	9,31 (s)			
6	155,59				
7	136,20		H-7 ¹		
7¹	11,19	3,37 (s)			H-3 ²
8	145,16			H-7 ¹	
8¹	19,41	3,65 (m)			
8²	16,26	1,65 (m)			
9	150,92		H-10		
10	104,37	9,46 (s)			H-12 ¹
11	137,88			H-12 ¹	
12	128,60		H-12 ¹		
12¹	12,09	3,65 (s)			H-10
13	129,01			H-12 ¹	
13¹	189,64		H-13 ²		
13²	64,66	6,29 (s)			
13³	173,97			H-13 ⁴	
13⁴	52,85	3,86 (s)			
14	149,61				
15	105,17				
16	161,22				
17	51,08	4,17 (m)			H-18
17¹	29,67				
17²	31,15				
17³	172,95				
18	50,07	4,45 (m)			H-20, H-17
18¹	22,69	1,81 (d, J=9,8 Hz)			H-20
19	172,20				
20	93,00	8,53 (s)			H-18 ¹ , H-18
3''	142,85			H-1''	
CH₂					
1''	61,44	4,45 (m)			
4''	39,75	1,80 (m)		H-2''	
5''	24,97	1,3-0,9 (m)			
6''	37,39	1,3-0,9 (m)			
8''	37,22	1,3-0,9 (m)			
9''	24,38	1,3-0,9 (m)			
10''	37,28	1,3-0,9 (m)			
12''	36,60	1,3-0,9 (m)			
13''	24,74	1,3-0,9 (m)			
14''	39,30	1,3-0,9 (m)			
CH					
2''	117,64	5,11 (m)			
7''	32,72	1,7-1,3 (m)			
11''	32,58	1,7-1,3 (m)			
15''	27,93	1,7-1,3 (m)			
CH₃					
16''	23,06	0,82 (d, J=6,6 Hz)			
17''	22,59	0,82 (d, J=6,6 Hz)			
18''	19,62	0,82 (d, J=6,6 Hz)			
19''	19,69	0,82 (d, J=6,6 Hz)			
20''	17,40	1,55 (sl)		H-2''	

Tabela 17 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) de Pmt-5 com o padrão autêntico da literatura (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (SCHWIKKARD et al., 1998)

C	δC	δH	δC	δH
1	141,99		142,00	
2	131,82		131,80	
2 ¹	12,09	3,17 (s)	12,10	3,39 (s)
3	136,45		136,50	
3 ¹	129,03	7,93 (m)	129,00	7,98 (dd, J=15,2 e 11,4 Hz)
3 ²	122,76	6,14 (m) 6,27 (m)	122,80	6,28 [E (dd, J=15,2 e 2,29 Hz)], 6,17 [Z (dd, J=11,4 e 2,28 Hz)]
4	136,22		136,22	
5	97,47	9,31 (s)	97,50	9,36 (s)
6	155,59		155,50	
7	136,20		136,10	
7 ¹	11,19	3,37 (s)	11,20	3,21 (s)
8	145,16		145,20	
8 ¹	19,41	3,65 (m)	19,70	3,66 (q, J=8,35 Hz)
8 ²	16,26	1,65 (m)	16,30	1,68 (t, J=8,35 Hz)
9	150,92		153,05	
10	104,37	9,46 (s)	104,00	9,50 (s)
11	137,88		137,90	
12	128,60		129,00	
12 ¹	12,09	3,65 (s)	12,10	3,68 (s)
13	129,01		129,00	
13 ¹	189,64		189,60	
13 ²	64,66	6,29 (s)	64,70	6,26 (s)
13 ³	173,97		173,00	
13 ⁴	52,85	3,86 (s)	53,00	3,88 (s)
14	149,61		150,00	
15	105,17		105,20	
16	161,22		161,30	
17	51,08	4,17 (m)	51,10	4,20 (m)
17 ¹	29,67		29,80	
17 ²	31,15		31,20	
17 ³	172,95		172,00	
18	50,07	4,45 (m)	50,01	4,45 (m)
18 ¹	22,69	1,81 (d, J=9,8 Hz)	22,70	1,80 (d, J=7,59 Hz)
19	172,20		170,00	
20	93,00	8,53 (s)	93,01	8,55 (s)
3''	142,85			
CH ₂				
1''	61,44	4,45 (m)	61,0	4,35 (dd, J=5,3 e 7,7 Hz)
4''	39,75	1,80 (m)	39,5	2,0 (t, J=7,8 Hz)
5''	24,97	1,3-0,9 (m)	24,8	1,3-0,9 (m)
6''	37,39	1,3-0,9 (m)	37,0	1,3-0,9 (m)
8''	37,22	1,3-0,9 (m)	37,0	1,7-1,3 (m)
9''	24,38	1,3-0,9 (m)	24,2	1,3-0,9 (m)
10''	37,28	1,3-0,9 (m)	37,0	1,3-0,9 (m)
12''	36,60	1,3-0,9 (m)	36,5	1,3-0,9 (m)
13''	24,74	1,3-0,9 (m)	25,0	1,3-0,9 (m)
14''	39,30	1,3-0,9 (m)	40,0	1,3-0,9 (m)
CH				
2''	117,64	5,11 (m)	118,00	5,10 (t, J=5,32 Hz)
7''	32,72	1,7-1,3 (m)	32,5	1,7-1,3 (m)
11''	32,58	1,7-1,3 (m)	32,5	1,7-1,3 (m)
15''	27,93	1,7-1,3 (m)	28,0	1,7-1,3 (m)
CH ₃				
16''	23,06	0,82 (d, J=6,6 Hz)	22,7	0,85 (d, J=6,9 Hz)
17''	22,59	0,82 (d, J=6,6 Hz)	22,6	0,85 (d, J=6,9 Hz)
18''	19,62	0,82 (d, J=6,6 Hz)	19,6	0,80 (s)
19''	19,69	0,82 (d, J=6,6 Hz)	16,4	0,79 (s)
20''	17,40	1,55 (sl)	16,2	0,76 (s)

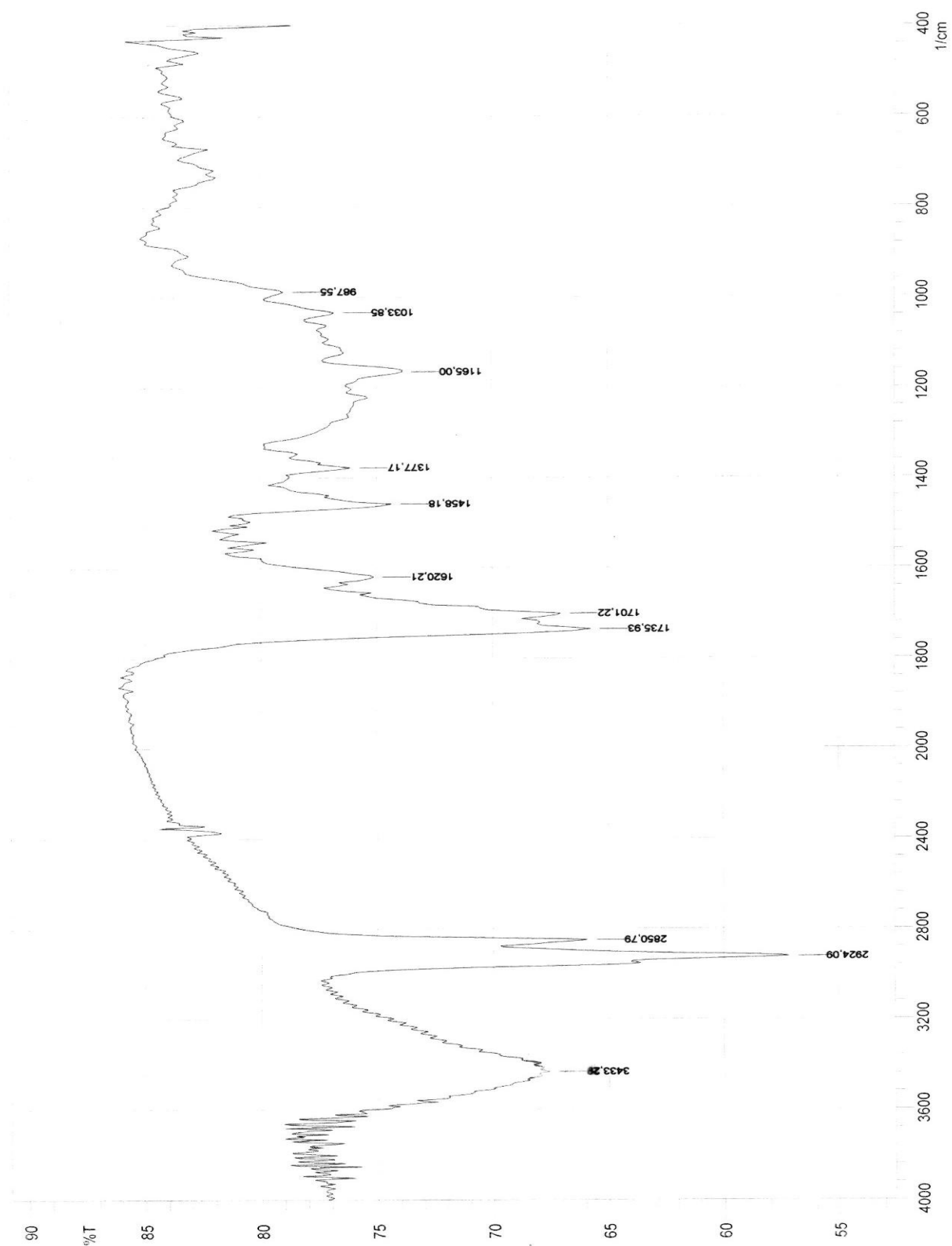


Figura 126: espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pmt-5

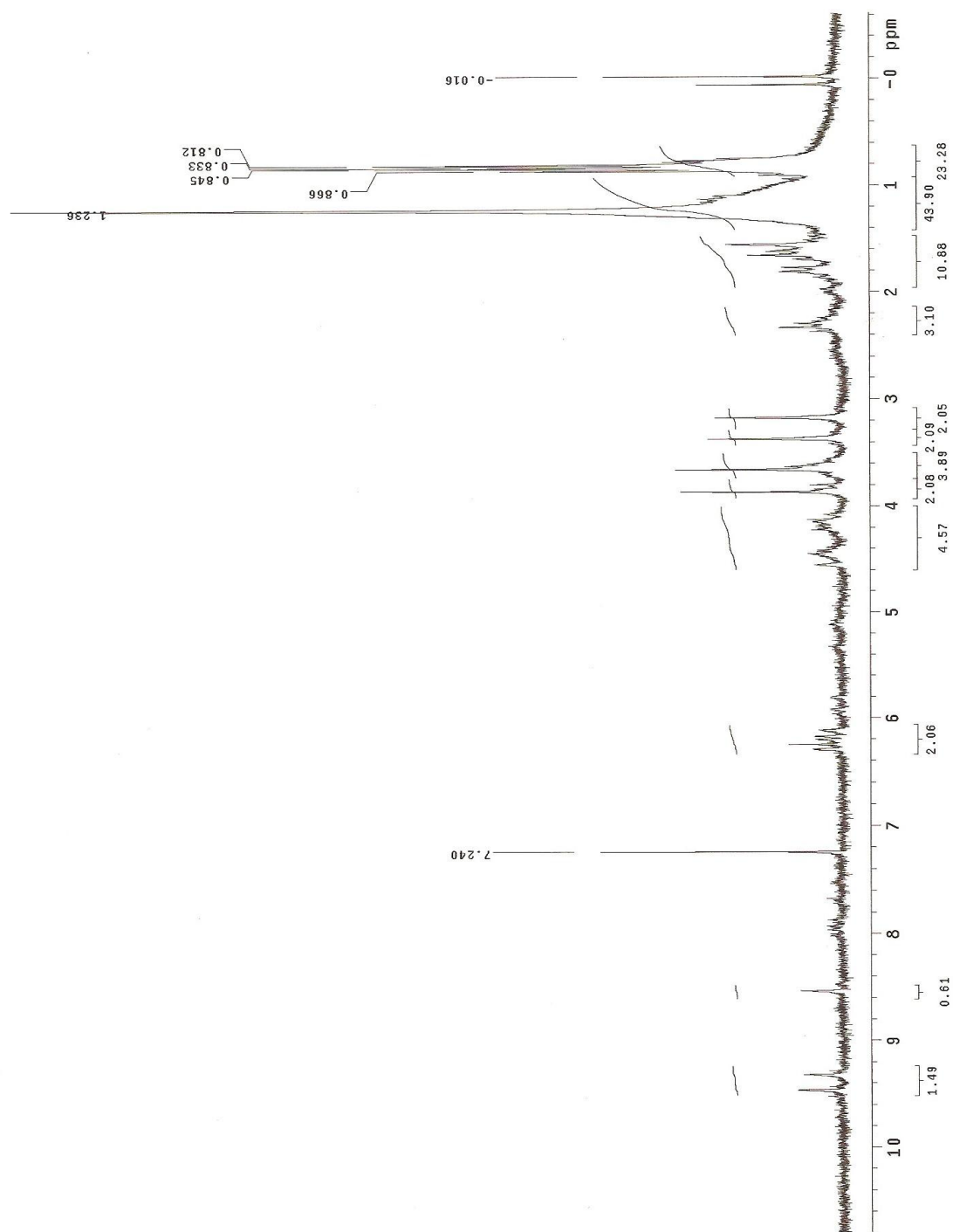


Figura 127: espectro de RMN de ¹H (δ, 200 MHz, CDCl₃) de Pmt-5

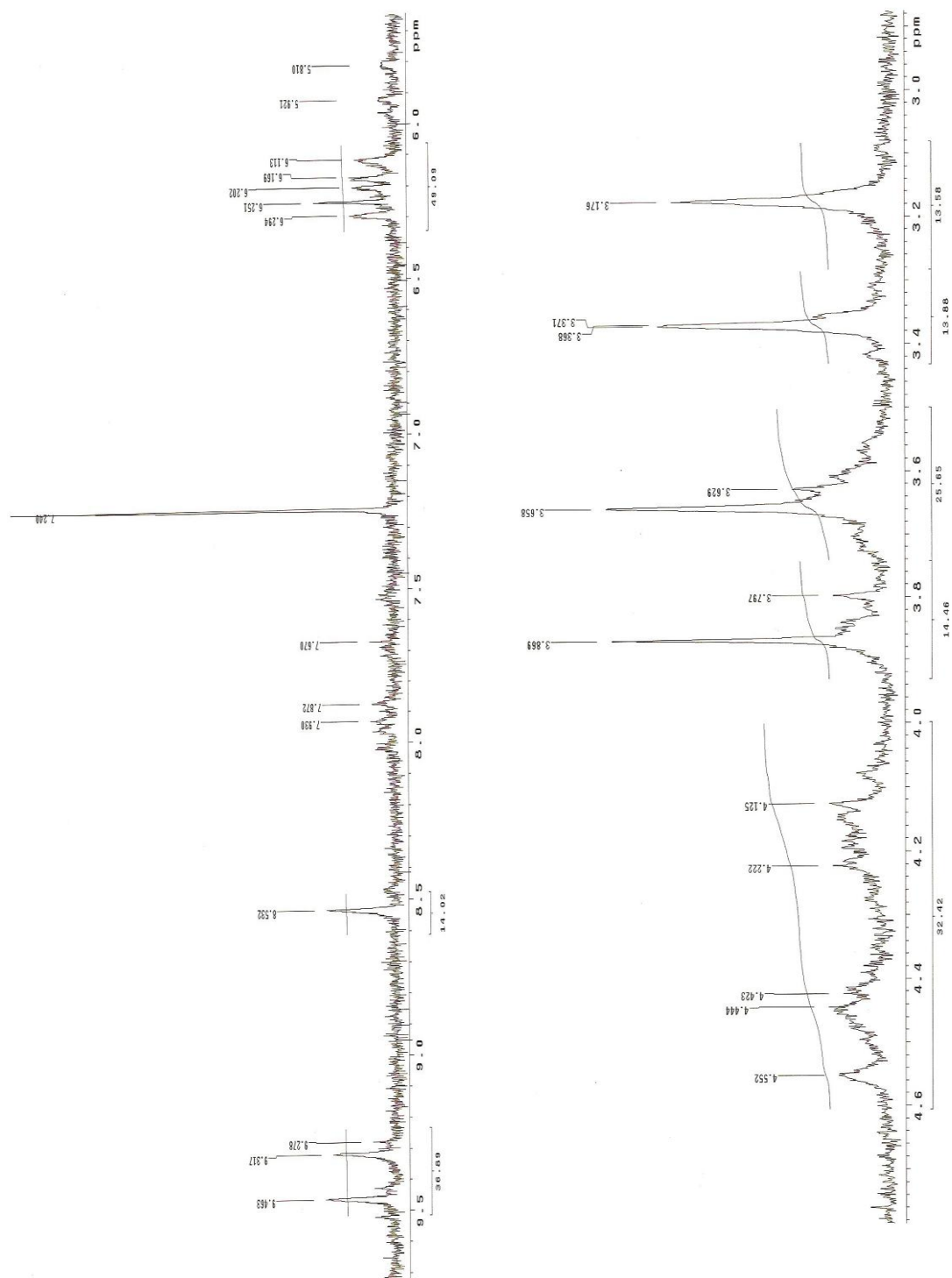


Figura 128 e 129: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pmt-5

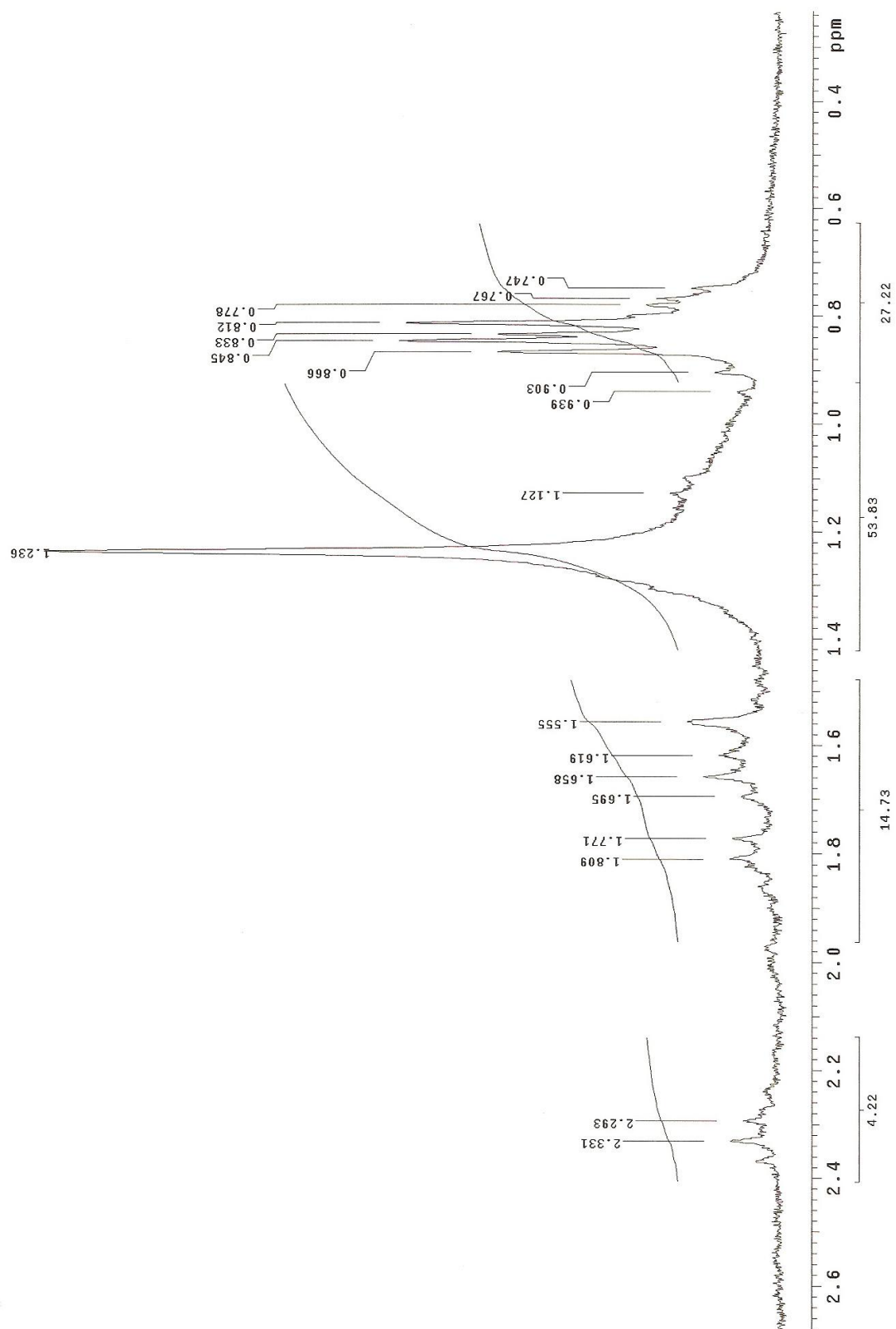


Figura 130: expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pmt-5

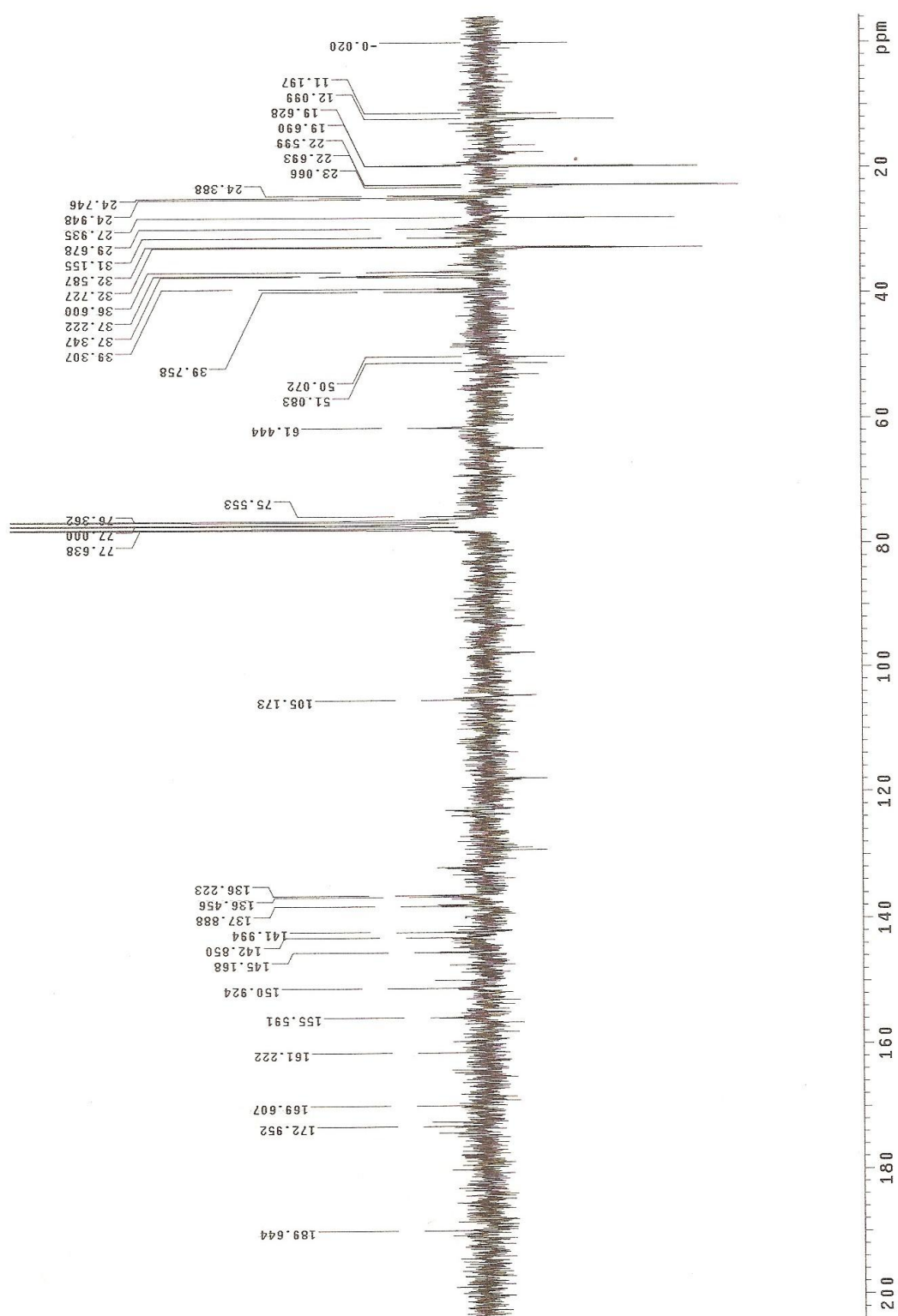


Figura 131: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pmt-5

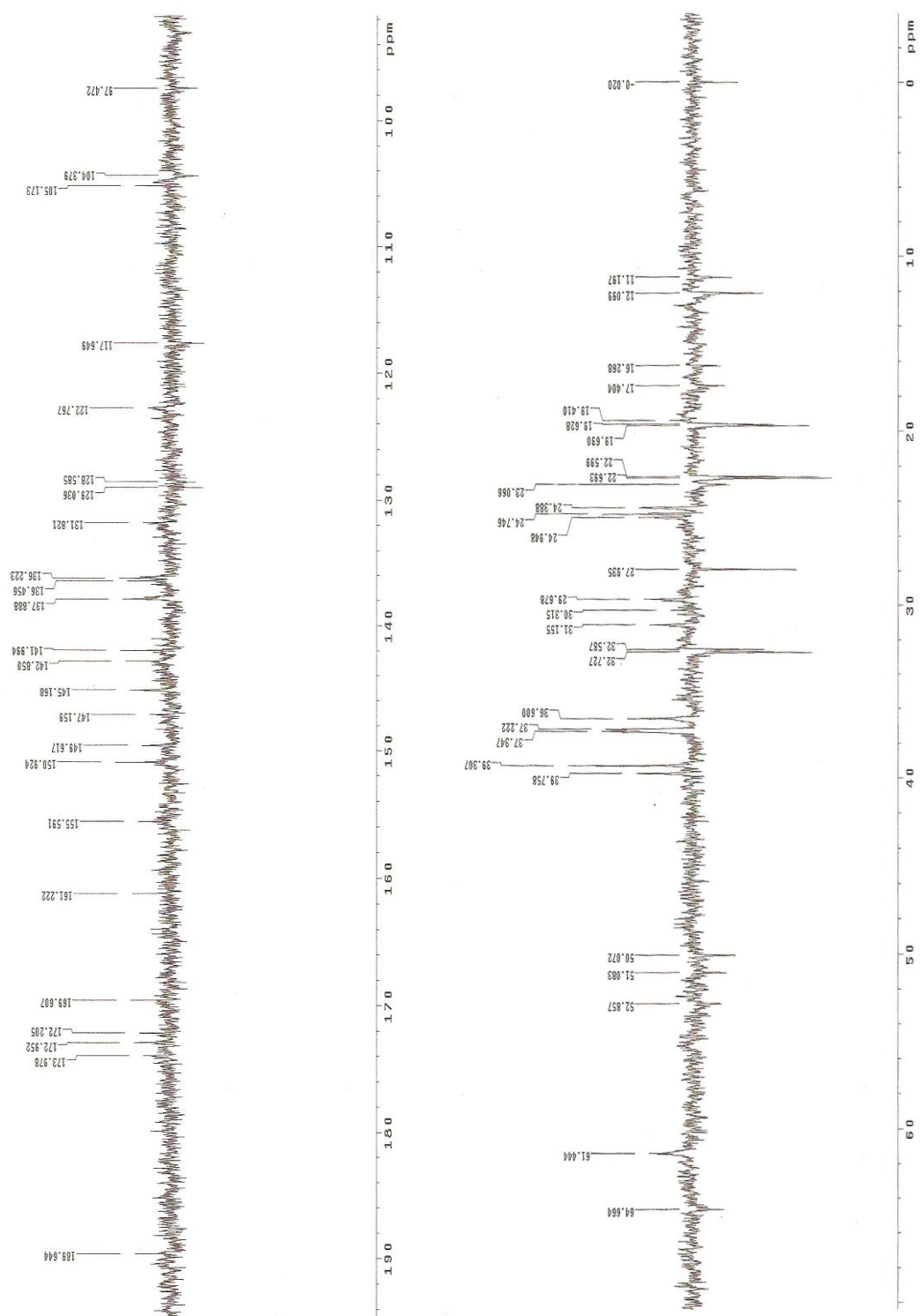


Figura 132 e 133: expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pmt-5

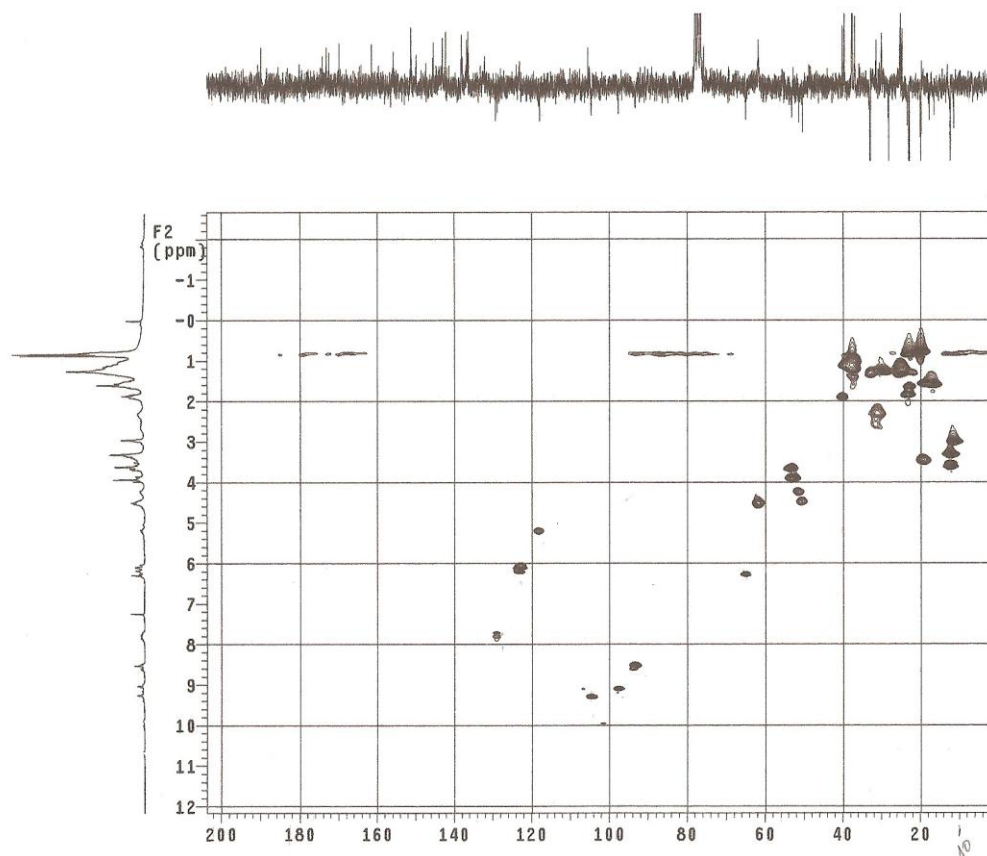


Figura 134: espectro de correlação heteronuclear HMQC – ^1H x ^{13}C de Pmt-5

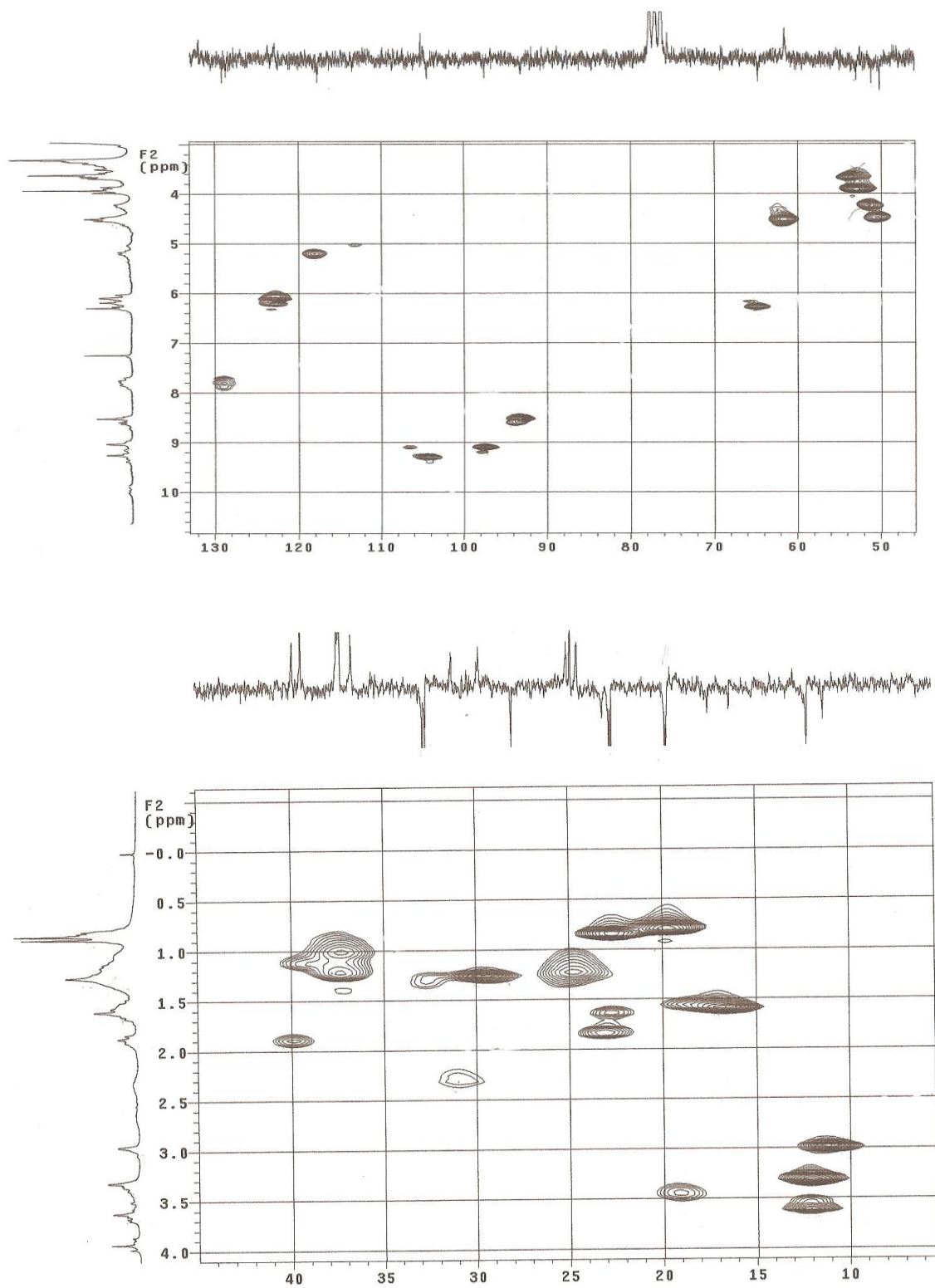


Figura 135 e 136: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5

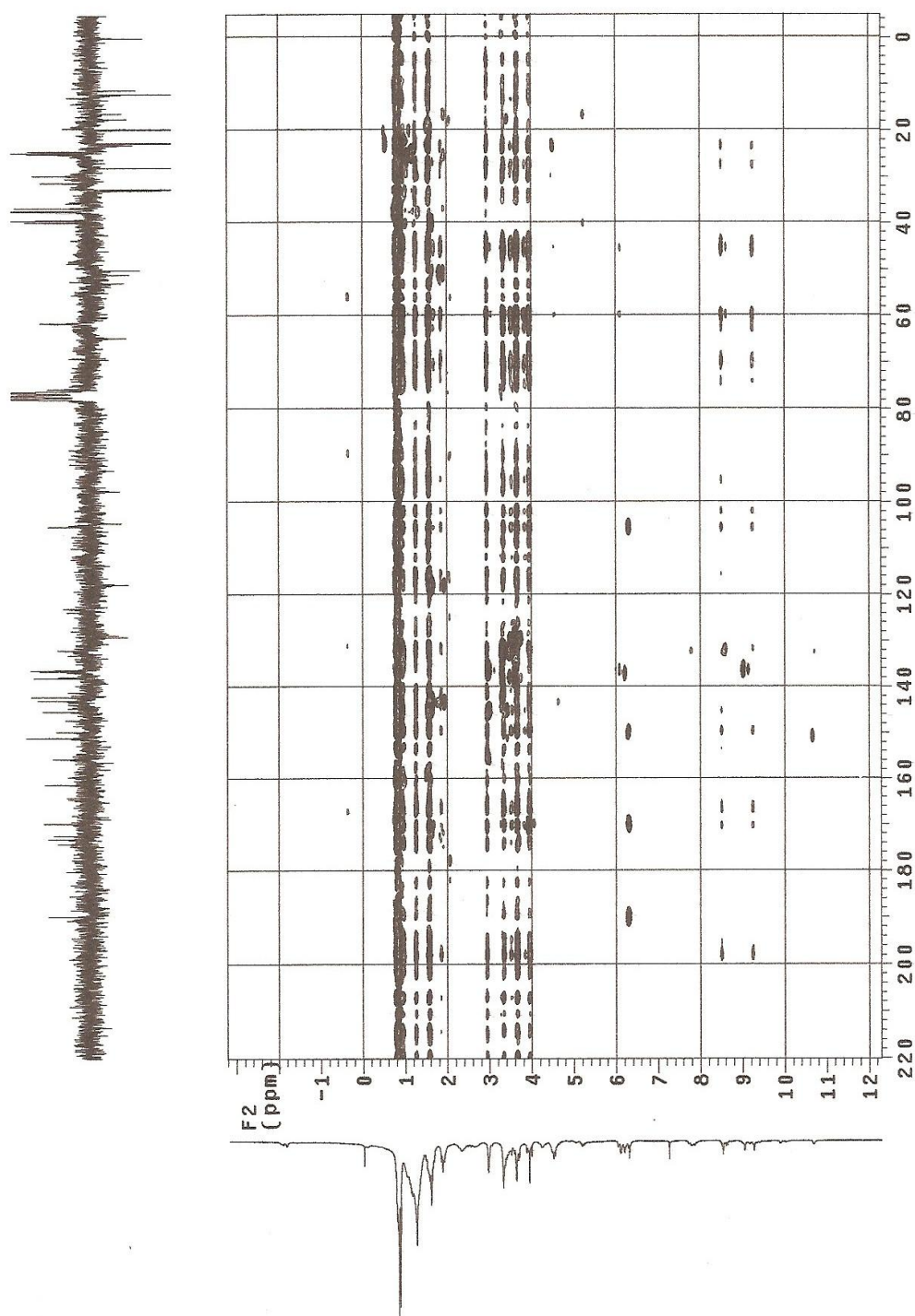


Figura 137: espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5

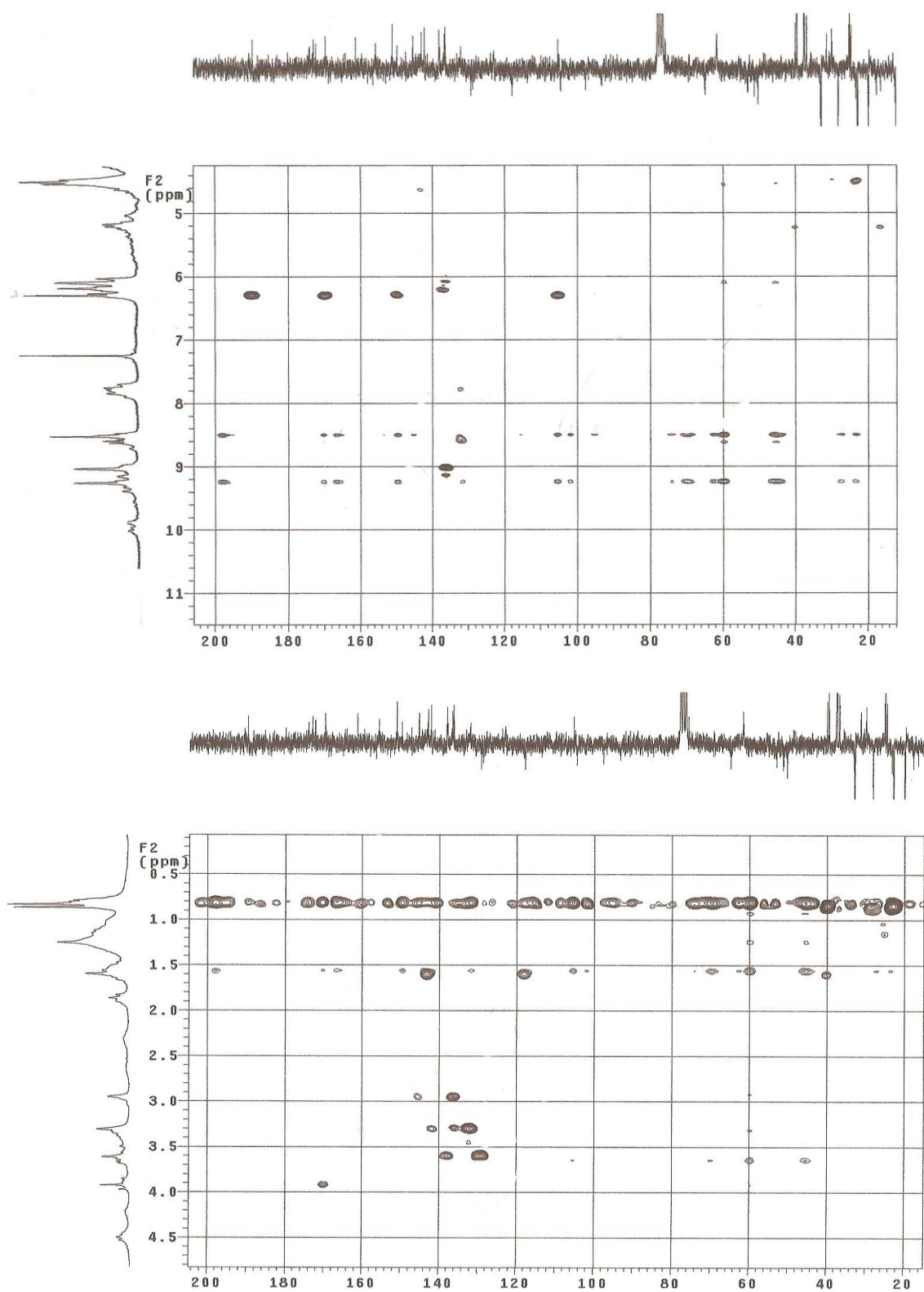


Figura 138 e 139: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pmt-5

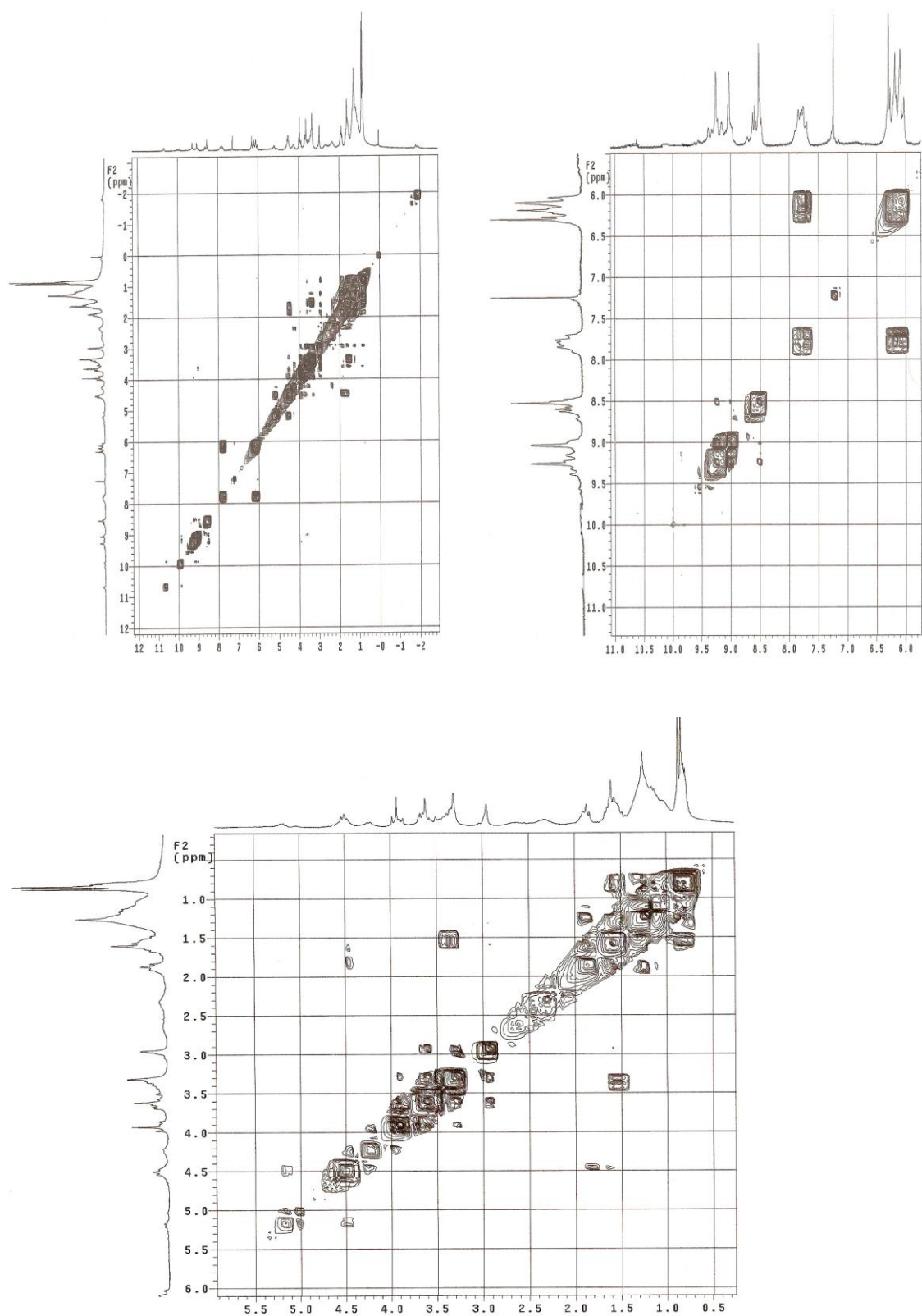


Figura 140, 141 e 142: expansões do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5

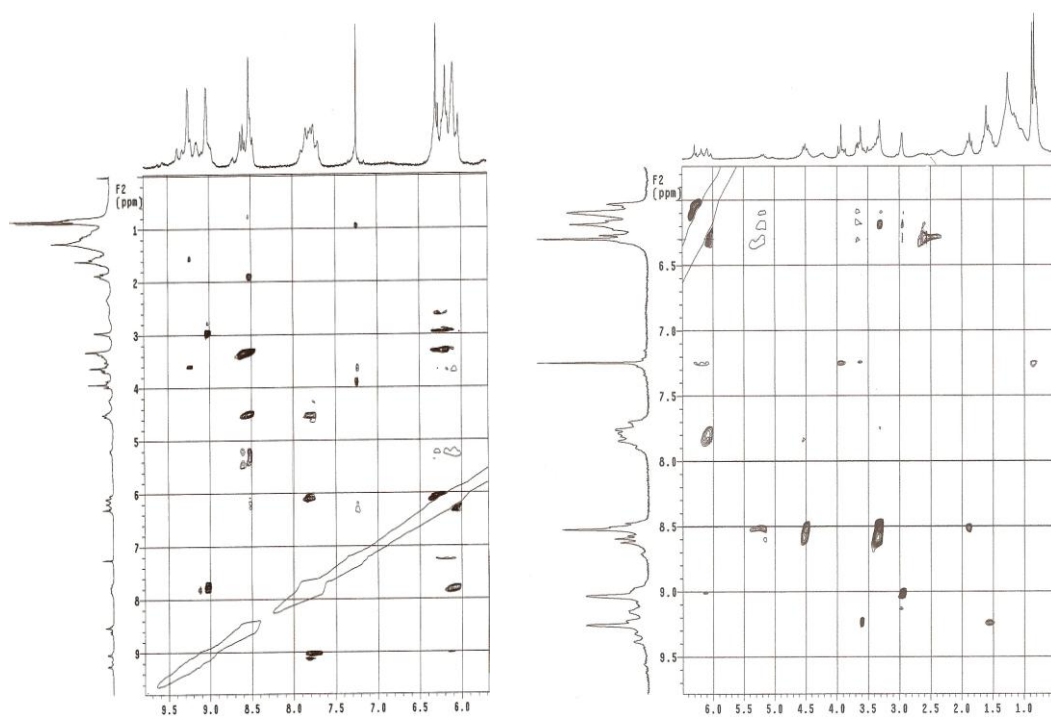
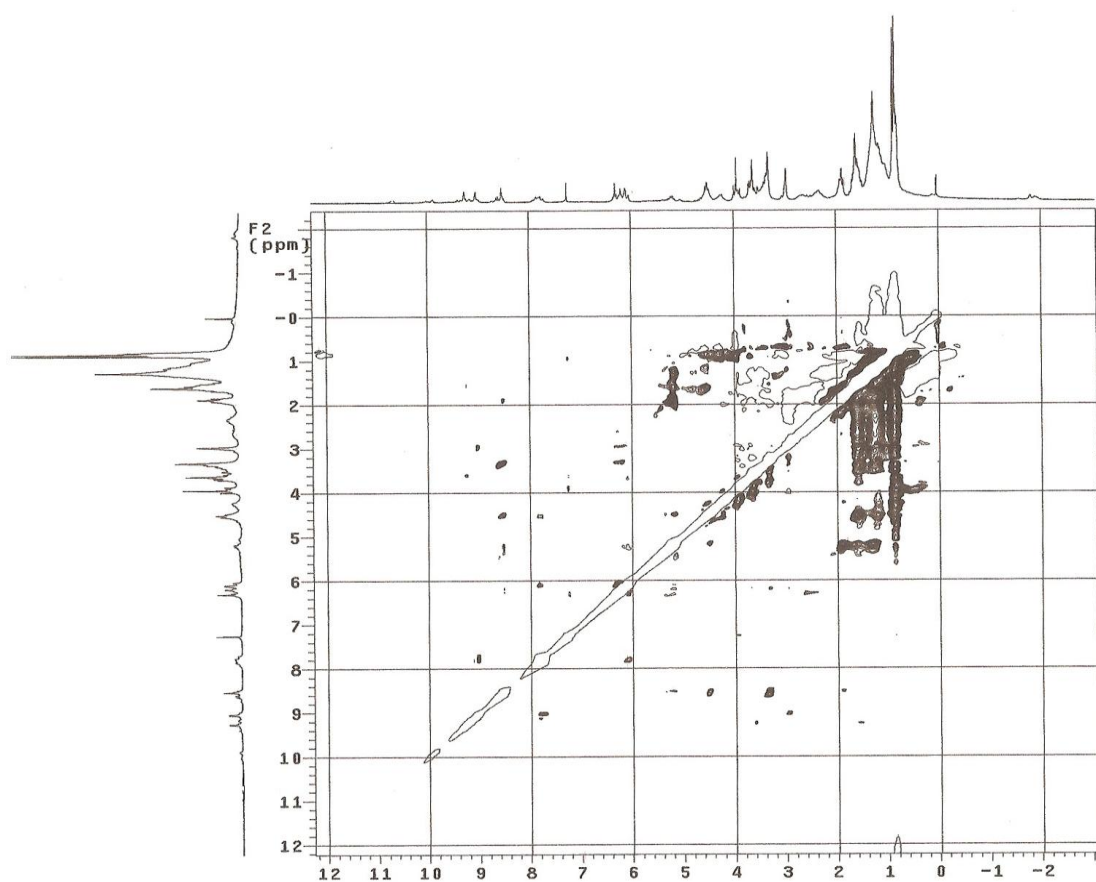
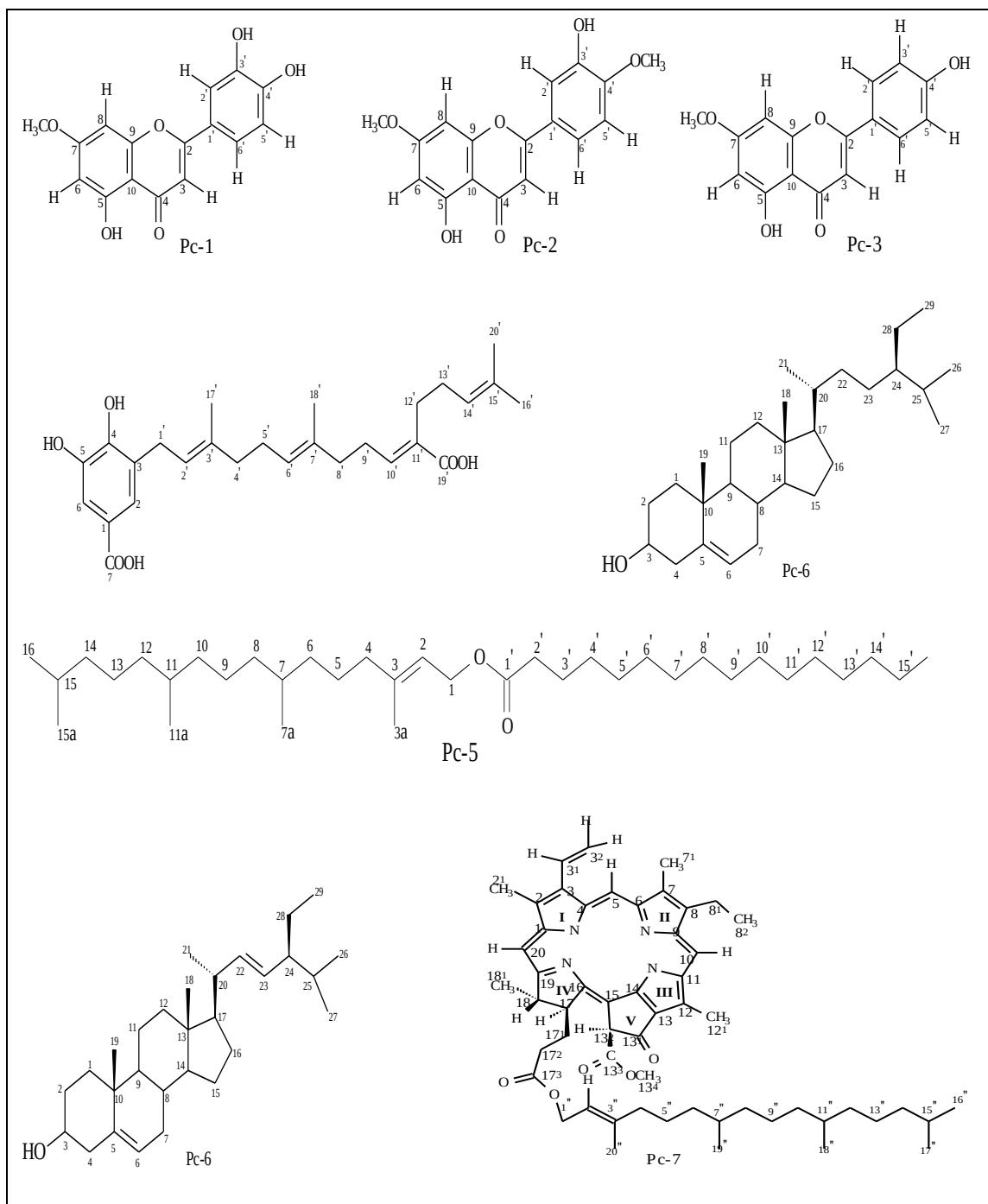


Figura 143, 144 e 145: expansões do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pmt-5

7 – CONSTITUENTES ISOLADOS DE *Piper carniconnectivum* C.DC

Das partes aéreas de *Piper carniconnectivum* foram isolados três flavonóides, um derivado do ácido benzóico, um cerídeo, dois esteróides e uma feofitina (Quadro 5). A identificação estrutural destes constituintes foi feita através dos mesmos métodos espectroscópicos utilizados para as substâncias isoladas de *Piper montealegreanum*.



Quadro 5: Constituintes químicos isolados de *Piper carniconnectivum*

7.1 - IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pc-1.

O constituinte químico codificado por Pc-1 mostrou-se como cristais em agulha, amarelados e solúveis em acetona, apresentando um P.F.=265-267 °C.

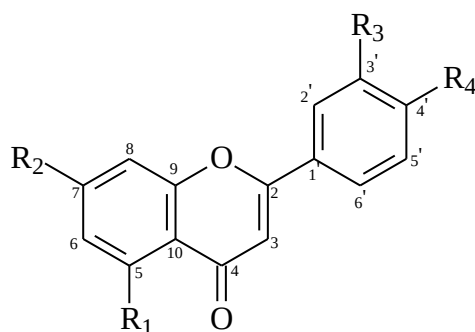
Pela análise do espectro de IV (Figura 147, p. 202) observou-se uma banda de absorção em 3417 cm^{-1} , típica de deformação axial de O-H em ligação hidrogênio intramolecular (SILVERSTEIN et al., 1994). Uma absorção adicional em 1377 cm^{-1} , referente à deformação angular no plano de O-H, corroborou com a presença de hidroxila de fenol e/ou álcool na molécula. A existência de anel aromático pôde ser inferida a partir de um conjunto de bandas observado entre 1597 e 1498 cm^{-1} , referentes à deformação axial de C=C de aromático. Uma banda em 1653 cm^{-1} sugeriu a presença de uma carbonila em ponte, condizente com a absorção atribuída para deformação axial de O-H em ligação hidrogênio intramolecular referida acima. Tais absorções são comuns em espectros de IV de flavonóides com hidroxila na posição C-5. Uma banda ainda em 1267 cm^{-1} foi atribuída a estiramento de grupo C-O (PAVIA et al, 1996).

O espectro de UV (Figura 148, p. 203) mostrou duas bandas de absorção em 254 e 345 nm referentes as bandas II e I, sugestivas dos anéis A e B de flavonóides, respectivamente. Após o uso de AlCl_3 foi possível observar um deslocamento batocrômico das bandas II e I para 274 e 400 nm, sendo que o elevado valor observado para o deslocamento da banda I é sugestivo de uma complexação do AlCl_3 com o sistema 5-hidroxi-4-ceto presente no núcleo de flavonas (BOHM, 1998).

O espectro de RMN de ^1H (δ , acetona- d_6 , 200 MHz) mostrou 5 sinais simples em δ 12.98 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 6.61 (s, 1H) e 3.91 (s, 3H) (Figuras 149 e 150, p. 204 e 205). O primeiro sinal é característico de hidroxila quelada, com absorção em campo baixo normalmente observada em espectros de flavonóides (KINOSHITA & FERMAN, 1996). O segundo e terceiro sinal sugerem a presença de substituintes

oxigenados na molécula. O singlete em δ 6.61 é sugestivo de hidrogênio na posição 3 de flavonas, que de acordo com HARBORNE (1994) absorve entre δ 6.39-6.94. O quinto sinal sugere a presença de metoxila ligada a anel aromático. O espectro ainda mostra os seguintes sinais: δ 7.50 (d, 1H, $J=2,2$ Hz), 7.45 (dd, 1H, $J=2,2$ e 8,0 Hz), 6.99 (d, 1H, $J=8,0$ Hz), característicos de um anel aromático trissubstituído com um padrão de substituição típico de um sistema ABX (Figura 150, p. 205). Os sinais em δ 6.67 (d, 1H, $J=2,3$ Hz) e 6.30 (d, 1H, $J=2,3$ Hz) sugerem hidrogênios aromáticos em acoplamento meta com um substituinte oxigenado entre eles devido ao deslocamento desses hidrogênios para campo mais baixo, os quais normalmente absorveriam entre δ 6.39-6.59 e 6.16-6.25, respectivamente (HARBORNE, 1994).

O espectro de RMN de ^{13}C , técnica APT (δ , acetona- d_6 , 50 MHz) mostrou 15 sinais (Figura 151, p. 206), dentre os quais 9 para carbonos quaternários (δ : 183.12, 166.50, 165.37, 162.97, 158.60, 150.00, 146.57, 123.49, 102.90) 6 para carbonos metínicos (δ : 120.07, 116.61, 114.14, 104.18, 98.62, 93.14) e 1 sinal para carbono metílico em δ 56.34, dados que estão de acordo com o esqueleto estrutural do flavonóide sugerido anteriormente.



No espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (Figuras 153 e 154, p. 208 e 209) foi possível observar as correlações entre δ

7.45/165.37, 146.57, 114.15, de δ 6.99/146.57 e 123.49 e, ainda, de δ 7.50/150.00 e 123.49. Esses dados aliados as correlações observadas no espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC entre δ 7.45/120.08, δ 6.99/116.62 e δ 7.50/114.15 (Figura 151, p. 206) permitiram atribuir esses deslocamentos para os hidrogênios das posições 6', 5' e 2', respectivamente e δ 123.49 para a posição 1'. A correlação a 3 ligações entre δ 7.48/146.57 (Figura 153, p. 208) confirmou a presença de hidroxila na posição 4' e por exclusão a outra hidroxila na posição 3' em δ 150.00.

Correlações observadas no HMBC entre δ 6.61/165.37 e 102.90 (Figura 153, p. 208) e no HMQC entre δ 6.61/104.18 (Figura 151, p. 203) e no espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de δ 6.61/7.48 (Figura 156, p. 211) permitiu atribuir δ 6.61 para a posição 3 e δ 165.37 para a posição 2, esta última confirmada pela correlação a ^3J de δ 7.48/165.37 e sugerir δ 102.90 para a posição 10.

Foram também vistas as seguintes correlações no HMBC: δ 12.98/162.97, 102.90, 98.62 (Figura 153, p. 208) que sugerem presença de hidroxila na posição 5 quelada com carbonila na posição 4 em δ 183.12. Correlações no HMBC de δ 6.30/166.50 e 162.97 e de δ 6.67/158.60 e 98.62 (Figura 154, p. 209), no NOESY em δ 3.91/6.30 e 6.67 (Figura 156, p. 211), além dos acoplamentos no HMQC entre δ 6.30/98.62 e δ 6.67/93.15 (Figura 152, p. 207), permitem atribuir esses sinais para os hidrogênios das posições 6 e 8, respectivamente e sugerir a presença de uma metoxila para a posição 7. A presença da metoxila na posição proposta foi corroborada pelas correlações vistas no HMBC de δ 3.91/166.50 (Figura 153, p. 208) e no HMQC de δ 3.91/56.34 (Figura 152, p. 207). Os deslocamentos dos carbonos 9 e 10 foram atribuídos pelas correlações a ^2J entre δ 6.67/158.60 e a ^3J de δ 6.61 e 12.98/102.90, respectivamente (Figuras 153 e 154, p. 208 e 209).

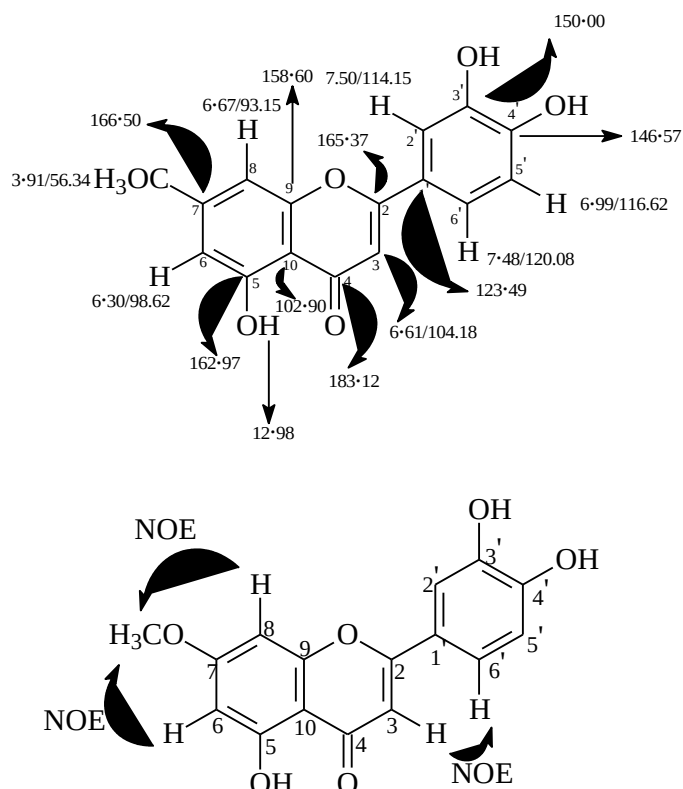
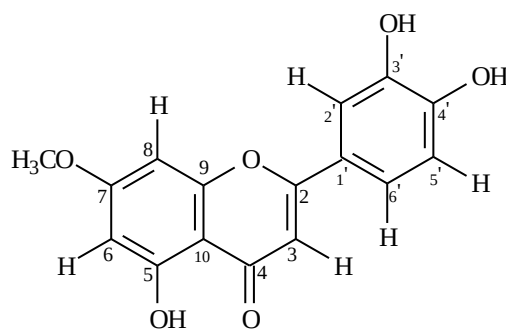


Figura 146: interações NOE de Pc-1

Os dados relatados, sumarizados na tabela 18 (p. 200), permitiram sugerir que PC-1 trata-se de: 3',4',5 – trihidroxi- 7-metoxiflavona, conhecida também por luteolin-7-metil éter, anteriormente descrita em outras ordens: Asterales (BOHM, 1999), Lamiales (AHMAD et al, 2000), Malvales (WANG et al, 2008), Solanales (WOLLENWEBER et al, 1995), Sapindales (AHMED et al, 2001). Essa é a primeira vez que PC-1 é descrita no gênero *Piper*.



Pc-1

TABELA 18: dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-1 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em acetona- d_6 , J(Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC		NOESY
	δC	δH	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^2\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^3\text{J})$	
1					
2	165.37		H-3	H-6'	
3	104.18	6.61 (s, 1H)			H-6'
4	183.12				
5	162.97		OH-5, H-6		
6	98.62	6.30 (d, 1H, J=2,3Hz)		OH-5, H-8	OCH ₃ -7
7	166.50		H-6	OCH ₃ -7	
8	93.15	6.67 (d, 1H, J=2,3Hz)			OCH ₃ -7
9	158.60		H-8		
10	102.90			H-3, OH-5	
1'	123.49		H-2'	H-5'	
2'	114.15	7.50 (d, 1H, J=2,2Hz)		H-6'	
3'	150.00		H-2'		
4'	146.57		H-5'	H-6'	
5'	116.62	6.99 (d, 1H, J=8,0)			
6'	120.08	7.45 (dd, 1H, J=8,0 e 2,2 Hz)			
OH-5		12.98 (s, 1H)			
OCH₃-7	56.34	3.91 (s, 3H)			

TABELA 19: dados comparativos de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-1 com dados da literatura (DMSO- d_6 , 400 MHz e 100MHz) (ASIN, 2002)

	δC	δH	δC	ΔH
1				
2	165.37		164.2	
3	104.18	6.61 (s, 1H)	104.2	6.57 (s,1H)
4	183.12		181.7	
5	162.97		161.2	
6	98.62	6.30 (d, J=2,3Hz, 1H)	97.9	6.39 (d, J=2,0 Hz, 1H)
7	166.50		165.1	
8	93.15	6.67 (d, J=2,3Hz, 1H)	92.5	6.58 (d, J=2,0 Hz, 1H)
9	158.60		157.2	
10	102.90		104.6	
1'	123.49		121.5	
2'	114.15	7.50 (d, J=2,2Hz,1H)	113.5	7.30 (d, J=2,2 Hz, 1H)
3'	150.00		145.7	
4'	146.57		162.6	
5'	116.62	6.99 (d, J=8,0, 1H)	114.5	6.99 (d, J=7,8 Hz, 1H)
6'	120.08	7.48 (dd, J=8,0 e 2,2 Hz, 1H)	119.0	7.38 (dd, J=7,8 e 2,2 Hz, 1H)
OH-5		12.98 (s, 1H)		
OCH₃-7	56.34	3.91 (s, 3H)	57.5	3.87 (s, 3H)

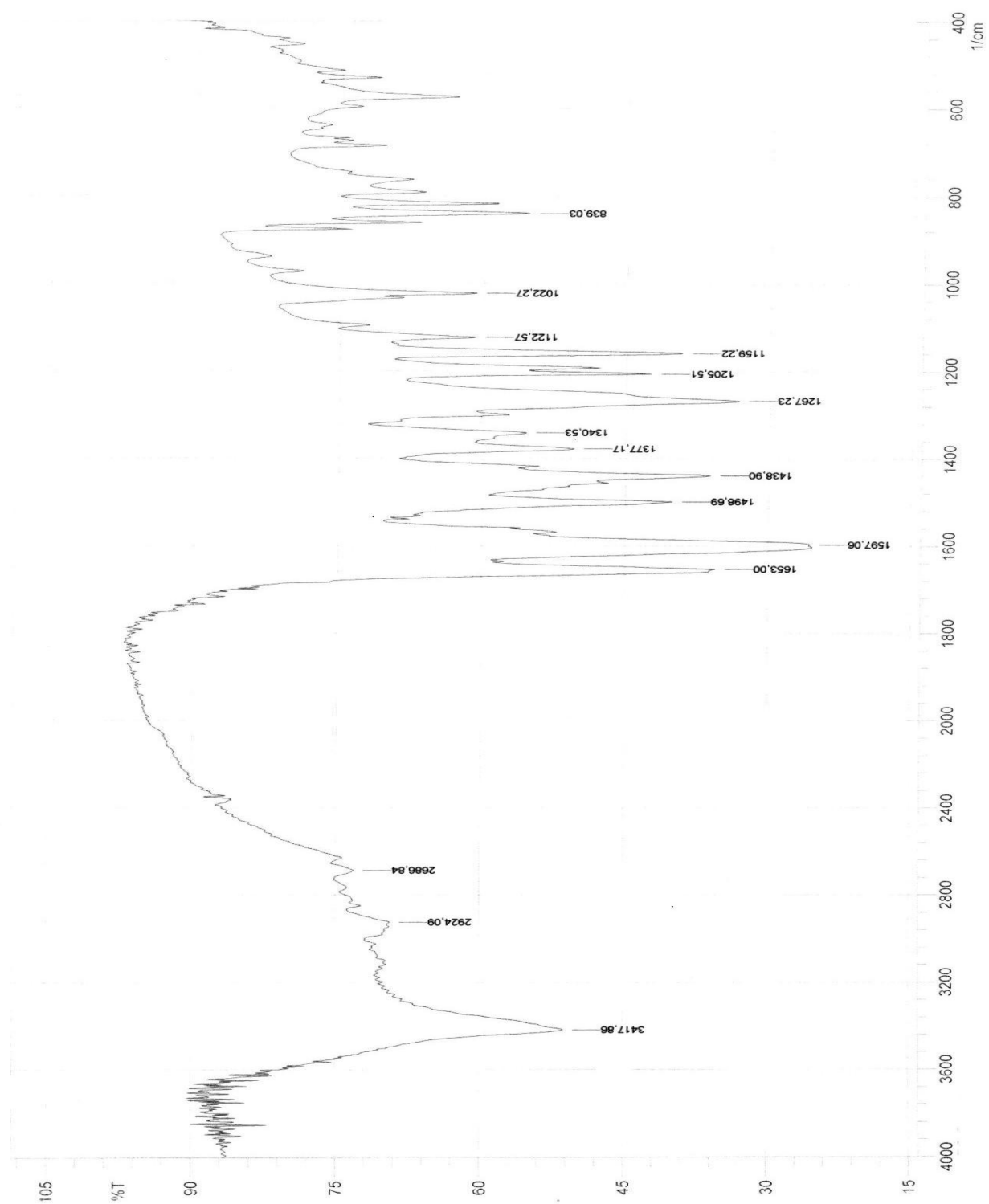


Figura 147: espectro no IV (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-1

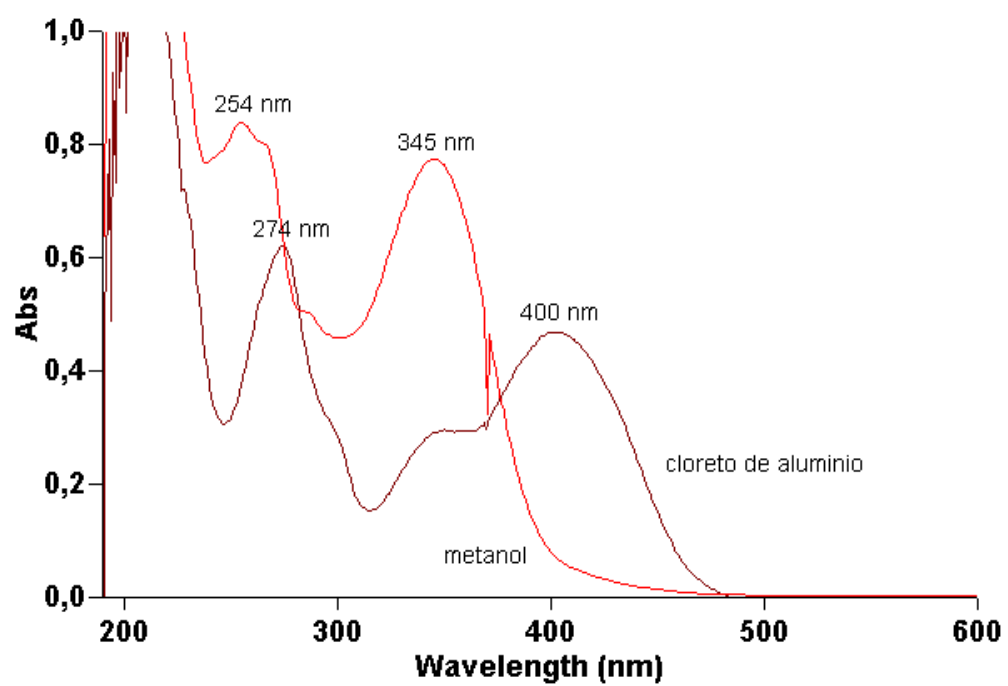


Figura 148: espectro no ultravioleta ($\lambda_{\text{max.}}$, MeOH; MeOH + AlCl_3) de Pc-1

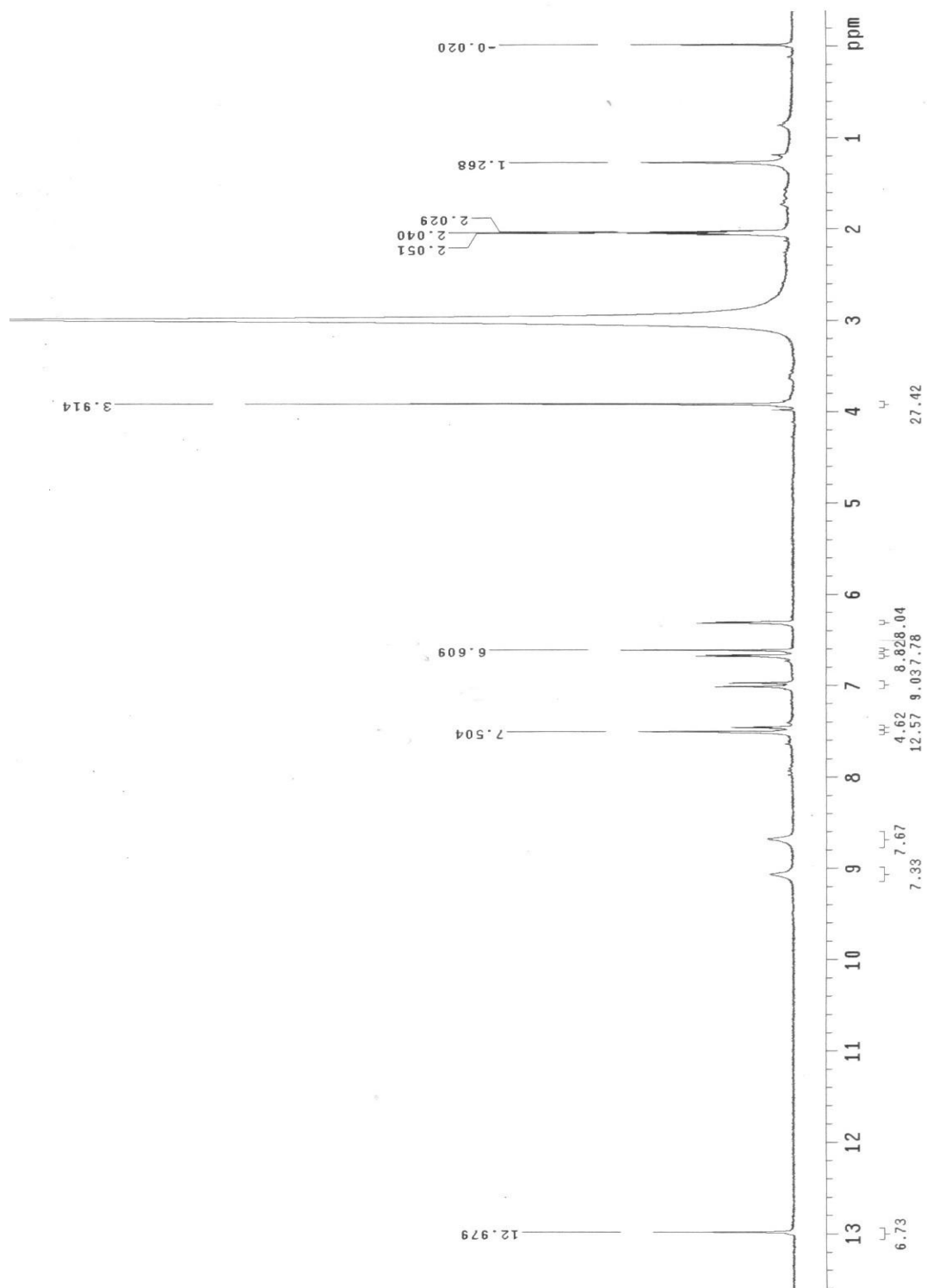


Figura 149: espectro de RMN de ¹H (δ, 200 MHz, C₃D₆O) de Pc-1

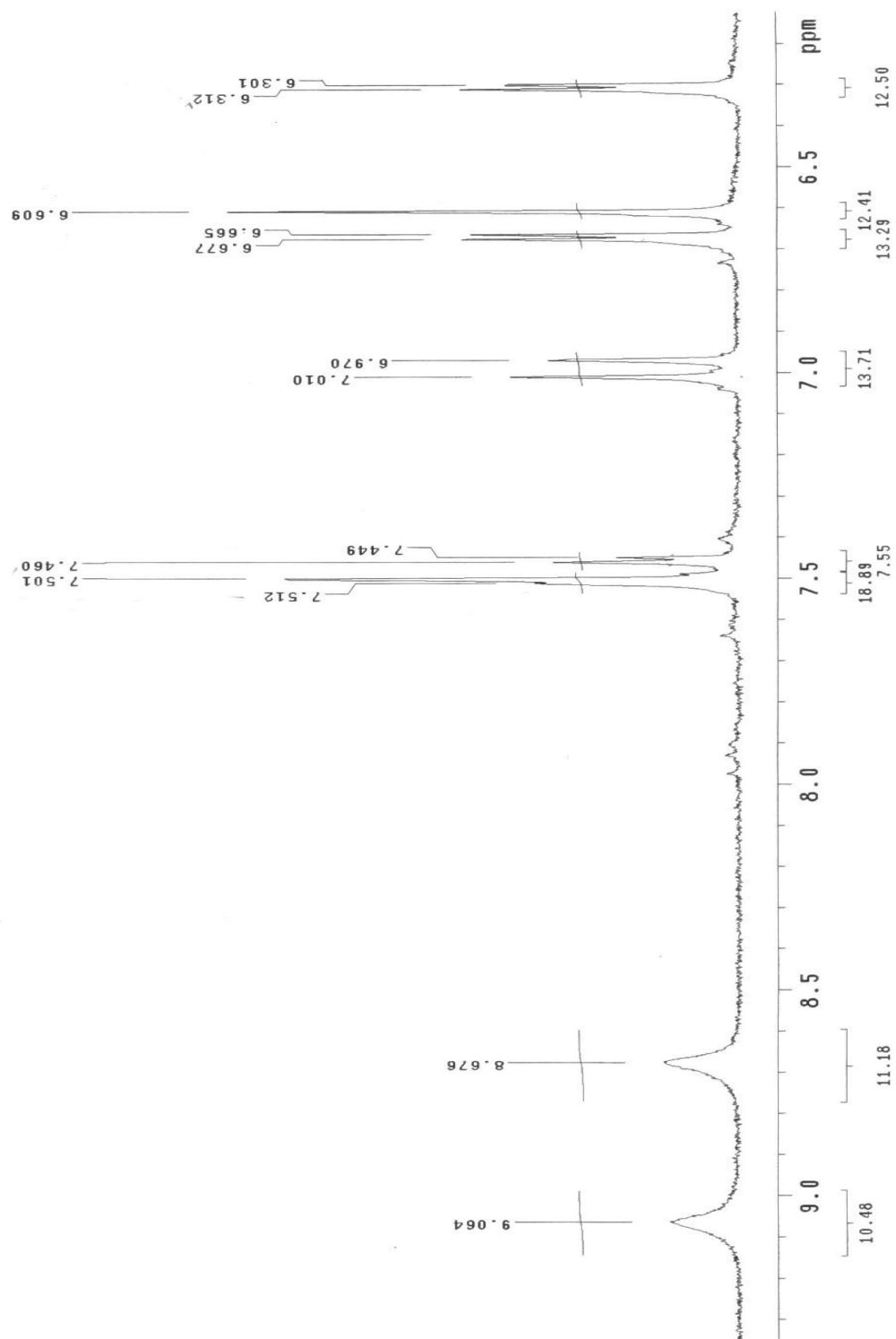


Figura 150: expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Pc-1

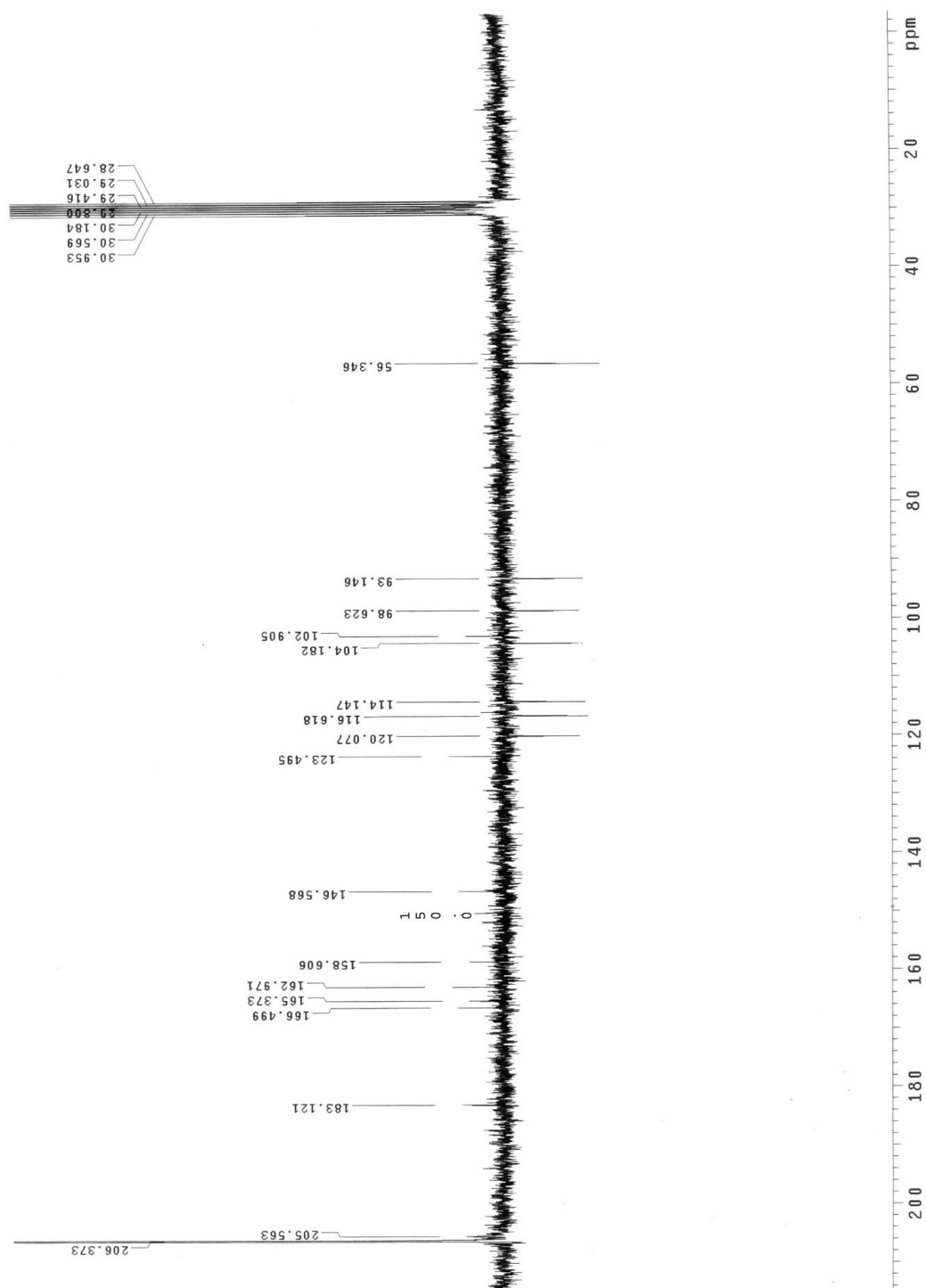


Figura 151: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, C₃D₆O) de Pc-1

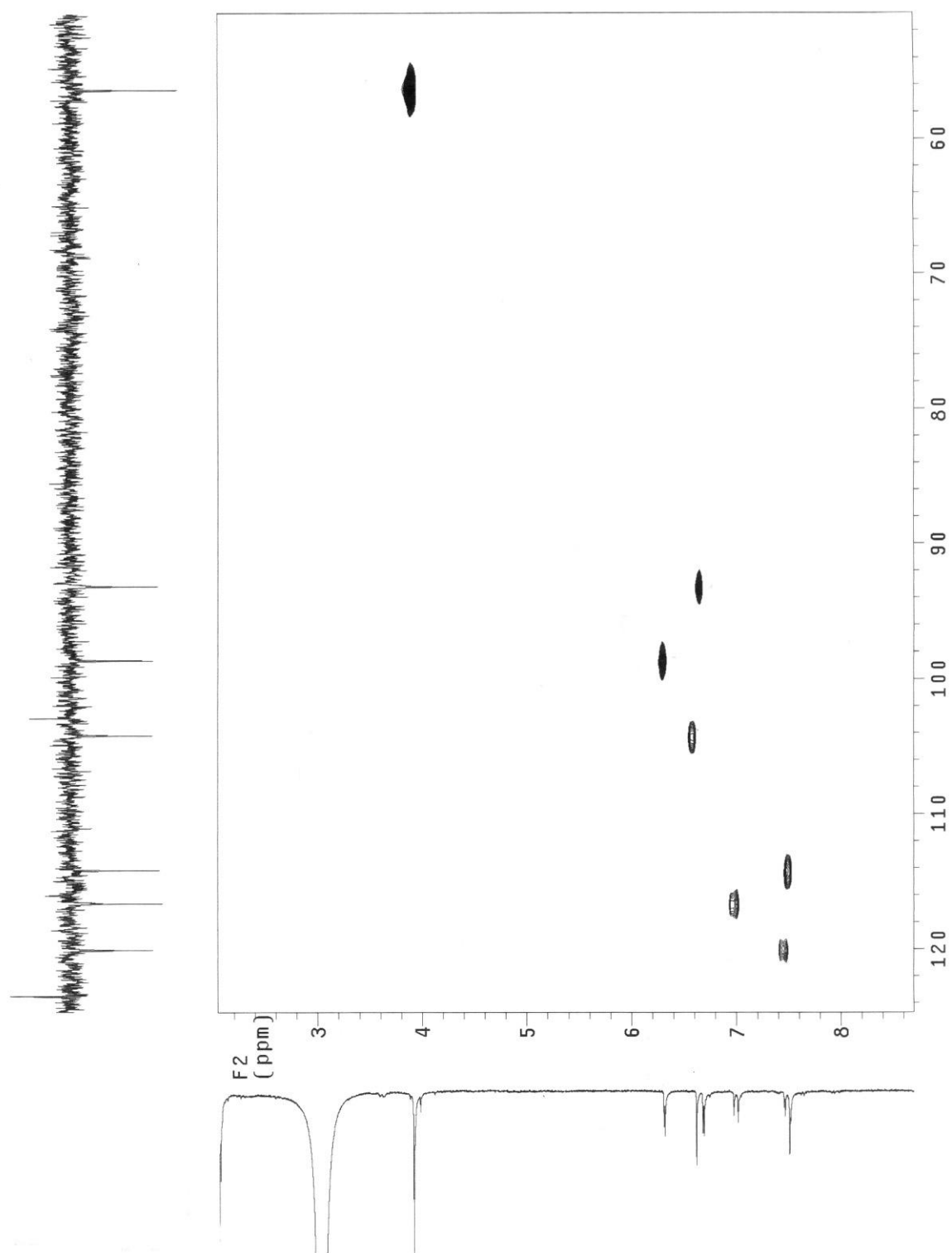


Figura 152: espectro de correlação heteronuclear HMOC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-1

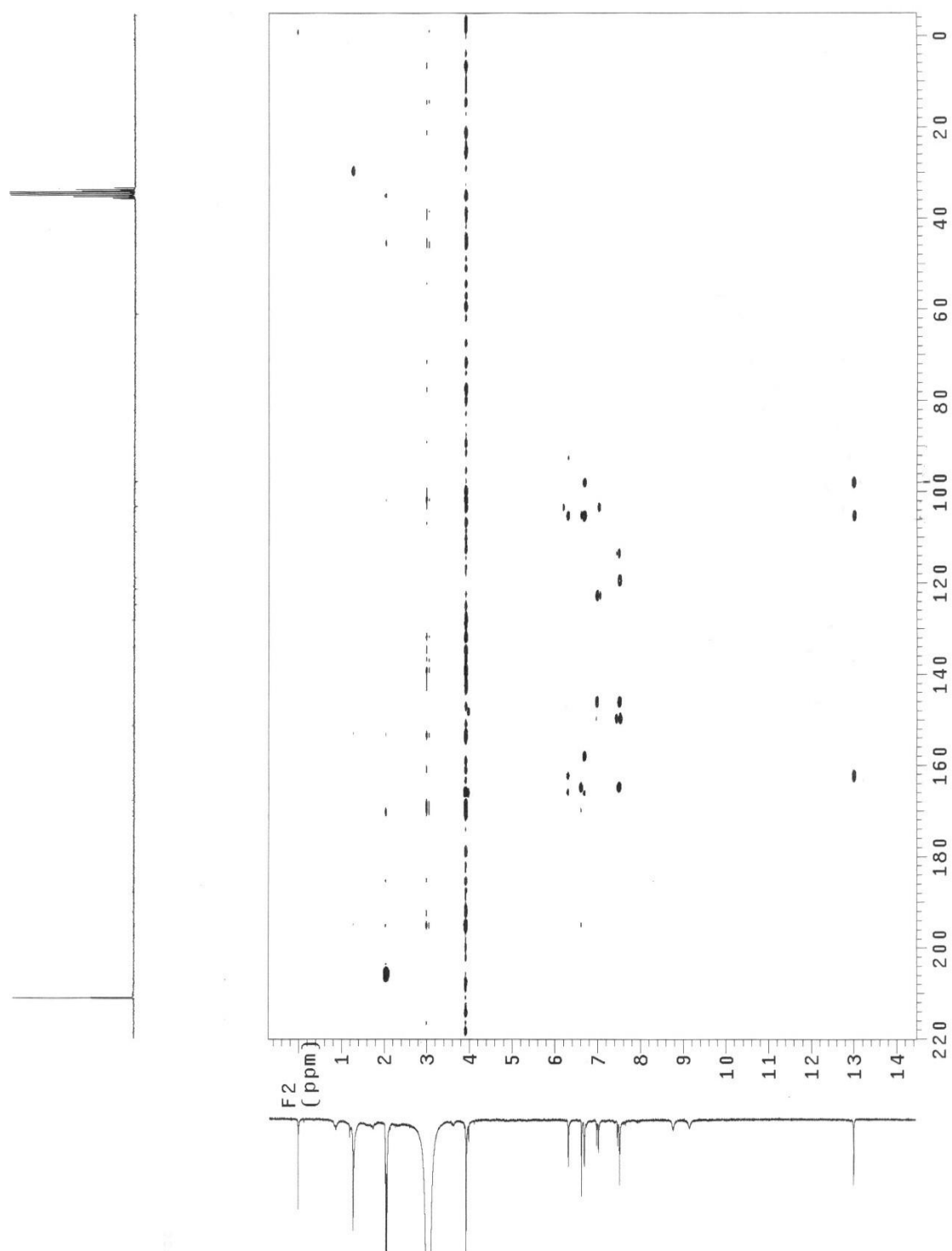


Figura 153: espectro de correlação heteronuclear HMBC – ^1H x ^{13}C de Pc-1

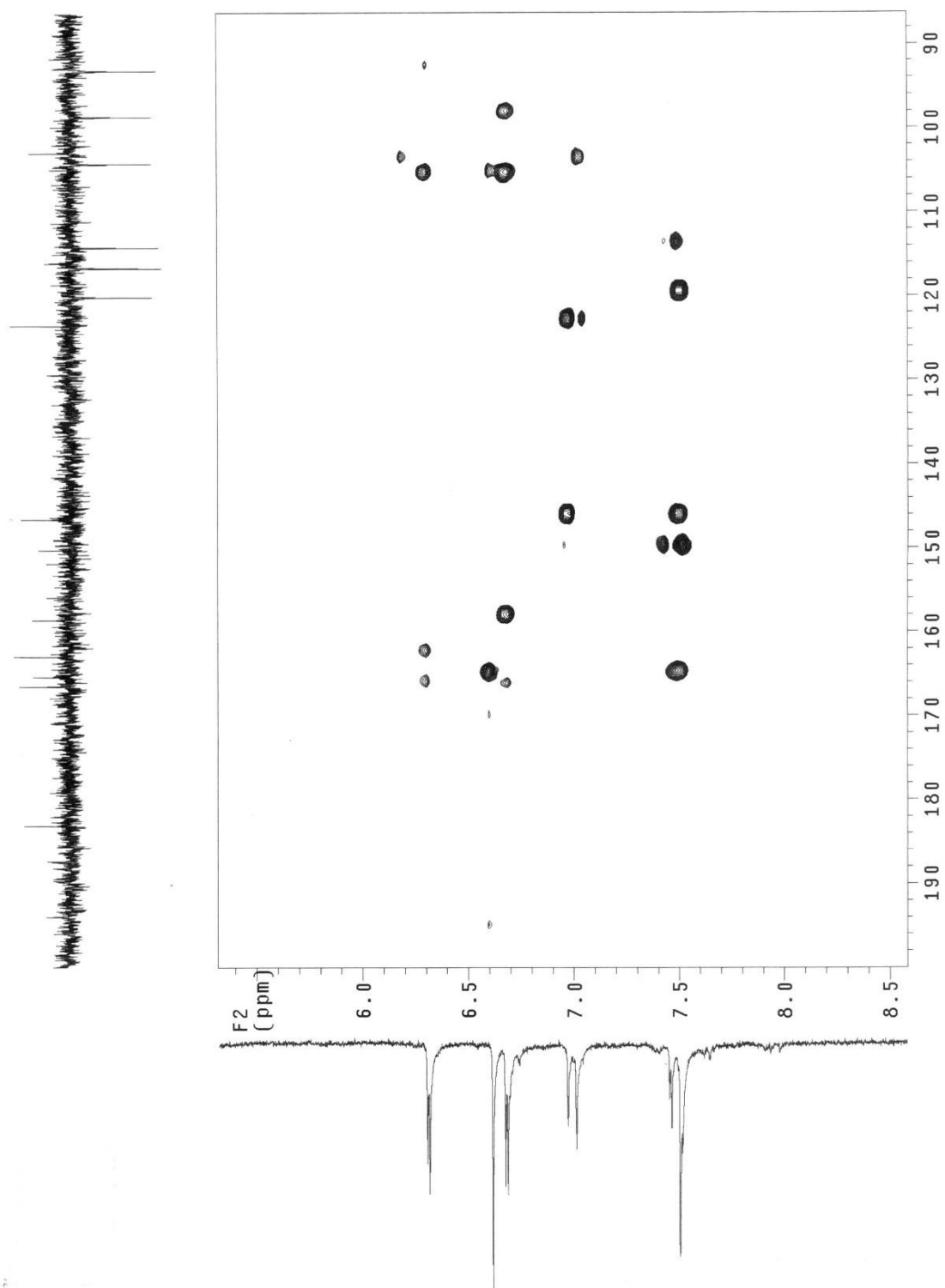


Figura 154: expansão do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-1

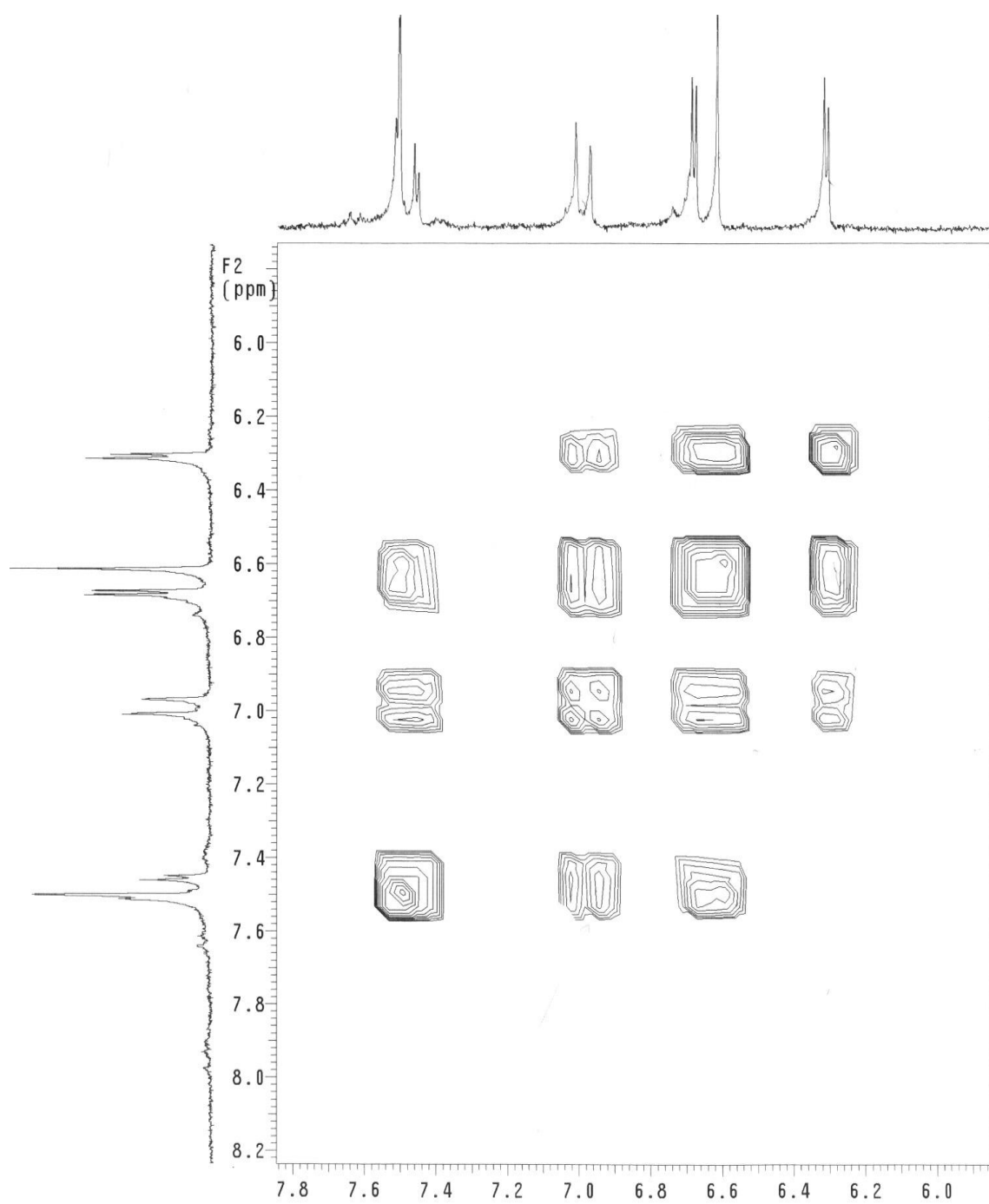


Figura 155: espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-1

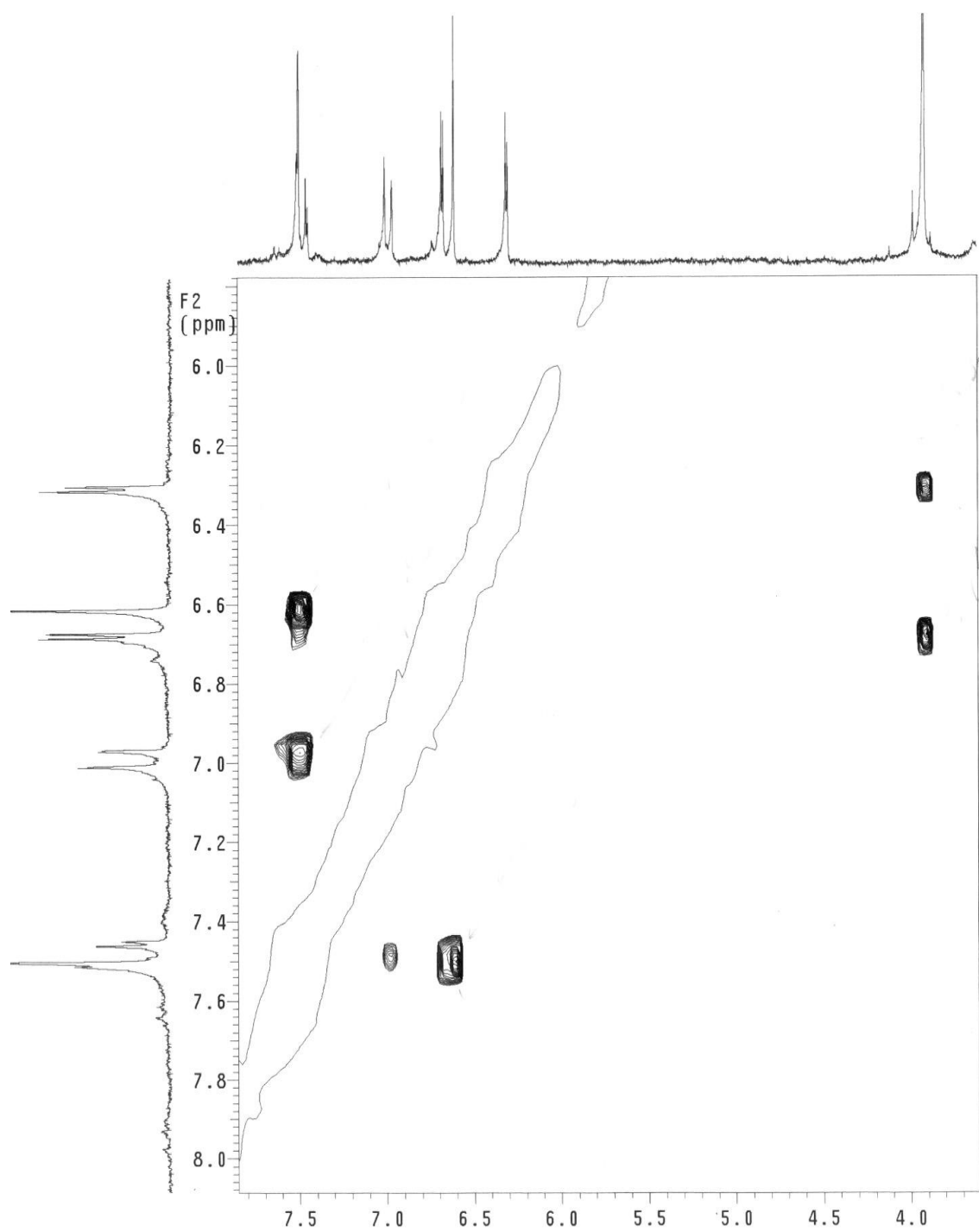


Figura 156: espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-1

7.2 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pc-2

A substância codificada por Pc-2 apresentou-se como cristais amarelados, solúveis em acetona e com P.F=232-234 °C.

O espectro no infravermelho de Pc-2 (Figura 158, p. 218) mostrou uma banda larga em 3433 cm^{-1} , típica de deformação axial de O-H, sugerindo hidroxila na estrutura da molécula. Absorções em 2924 e 2848 cm^{-1} , referem-se a estiramentos C-H de grupos metílicos, metilênicos e/ou metínicos. A presença de carbonila conjugada ou em ponte de hidrogênio pôde ser proposta por uma banda forte em 1653 cm^{-1} . Na região compreendida entre 1598 e 1431 cm^{-1} verificaram-se absorções de forte intensidade característicos de C=C de anel aromático, sugerindo a presença deste tipo de núcleo na substância em análise (PAVIA et al., 2001).

No espectro de UV (Figura 159, p. 219) foi possível observar bandas de absorção em 265 e 340 nm, que juntamente com as absorções em 275 e 384 nm, vistas após o uso do AlCl_3 , permitiram sugerir a presença de um núcleo flavonoídico tipo flavona para Pc-2 (BOHM, 1998).

O espectro de RMN de ^1H (δ , acetona, 200 MHz) mostrou 4 sinais simples em δ 12,98 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 3,98 (s, 3H) e 3,91 (s, 3H) (Figura 160, p. 220). O primeiro sinal é característico de hidroxila quelada e os dois últimos de metoxilas ligadas a anel aromático, sugestão corroborada pela presença de dois carbonos metílicos em δ 56,51 e 56,34 vistos no espectro de RMN de ^{13}C -APT (δ , acetona, 50 MHz) (Figura 162, p. 222). Dois dubletos em δ 6,70 (d, $J=2,2\text{ Hz}$, 1H) e 6,31 (d, $J=2,2\text{ Hz}$, 1H), juntamente com os sinais em δ 12,98 e 3,91 sugerem a presença de um anel aromático tetrassubstituído (Figuras 160 e 161, p. 220 e 221). Os sinais em δ 7,64 (sl, 1H), 7,62 (dd, $J=2,0$ e $9,0\text{ Hz}$, 1H), 7,00 (d, $J=9,0\text{ Hz}$, 1H), além das absorções em δ 151,51 e 148,84 mostrados no espectro de ^{13}C -APT (Figura 162, p. 222) sugerem a presença de

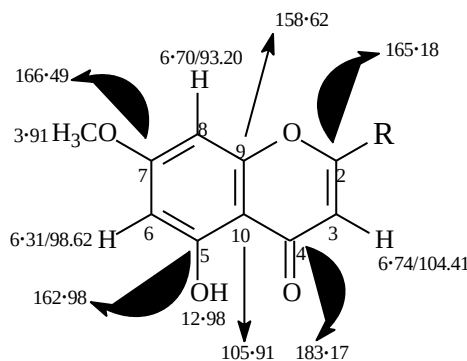
um outro anel aromático, este trissubstituído. A presença de dois anéis aromáticos associados às absorções em δ 165,18 e δ 6,74, reforçam a presença de um núcleo flavonoídico tipo flavona (SILVA, 2004).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 164, p. 224) mostrou a presença de 17 sinais, sendo 9 para carbonos quaternários (δ : 183,17, 166,49, 165,18, 162,98, 158,62, 151,51, 148,84, 123,35, 105,91) 6 para carbonos metínicos (δ : 121,35, 116,34, 110,45, 104,41, 98,62, 93,20) e 2 para carbonos metílicos (δ : 56,51 e 56,34).

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC foi possível observar correlações entre δ 6,31/166,49, 162,98, 105,91 e 93,20 e de δ 6,70/166,49, 158,62, 105,91 e 98,62 (Figuras 165 e 166, p. 225 e 226), além dos acoplamentos vistos no espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC entre δ 6,31/98,62 e δ 6,70/93,20 (Figura 163, p. 223), confirmando esses deslocamentos químicos para os hidrogênios e carbonos das posições 6 e 8, respectivamente e sugeriu os δ 162,98, 166,49, 158,62 e 105,91 para as posições 5, 7, 9 e 10, conseqüentemente. A correlação a longa distância entre δ 12,98/162,98, 105,91 e 98,62 (Figura 165, p. 225) confirma δ 162,98 e 105,91 para as posições 5 e 10, respectivamente. A correlação vista no HMQC entre δ 3,91/56,34 (Figura 163, p. 223) e no HMBC de δ 3,91/166,49 (Figura 167, p. 226) permitiu atribuir tal deslocamento para o carbono da posição 7. Por exclusão, o deslocamento em campo baixo de δ 158,62 e em campo mais alto para δ 105,91 foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos 9 e 10.

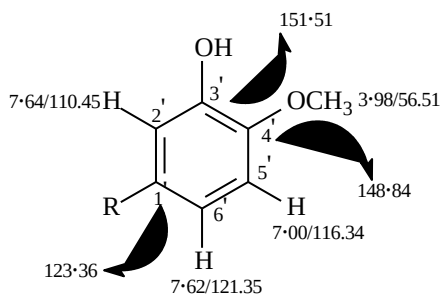
O sinal δ 6,74 mostrou correlação direta com δ 104,41 (Figura 164, p. 224) a duas ligações com δ 183,17 e 165,18 (Figura 166, p. 226) e a três ligações com δ 105,91 e 123,36 (Figura 166, p. 226) confirmando δ 6,74 para a posição 3, sugerindo δ 183,17 e

165,18 e 123,36 para as posições 4, 2 e 1', respectivamente e, além disso, corroborando o δ 105,88 para o carbono da posição 10.



Foram vistas também as seguintes correlações no HMQC: δ 7,64/110,45, 7,62/121,35 e 7,00/116,34 (Figura 163, p. 223) e, de acordo com as feições desses sinais, sugerem tais deslocamentos para as posições 2', 6' e 5', respectivamente. No HMBC (Figuras 165 e 166, p. 225 e 226) foi possível observar correlações de δ 7,64/165,18, 151,51, 121,35, δ 7,62/165,18, 123,36 e 110,45 e δ 7,00/151,51, 123,36 confirmando δ 7,64, 7,62, 7,00 para os hidrogênios das posições 2', 6', 5' e δ 165,18 e 123,36 para os carbonos das posições 2 e 1', respectivamente.

A correlação direta de δ 3,98/56,51 (Figura 163, p. 223) e a múltiplas ligações de δ 7,62 e 7,00/148,84 e de δ 3,98/148,84 (Figuras 166 e 167, p. 226) permitiu atribuir a presença da segunda metoxila a posição 4' e, por exclusão, um substituinte hidroxilado na posição 3'.



No espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY (realizado no aparelho de RMN a 500 MHz com piridina) foi possível reafirmar a metoxila em δ 3,91 na posição 7 (Figuras 169 e 170, p. 228). Foram vistas ainda as seguintes correlações: δ 7,62/3,98 (Figura 170, p. 228) corroborando a presença da outra metoxila na posição 4', respectivamente. No espectro COSY (Figura 168, p. 227) foram observadas as correlações dos hidrogênios aromáticos vizinhos em δ 7,62/7,0.

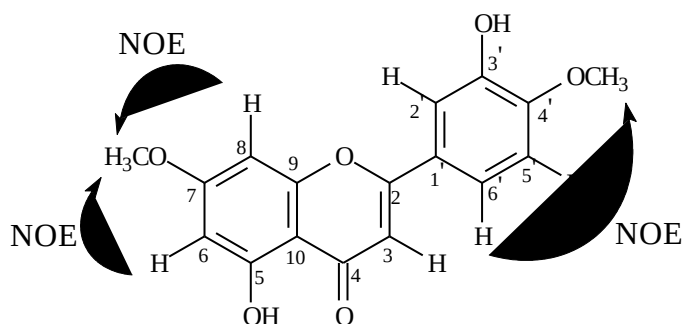


Figura 157: interações NOE de Pc-2

Os dados relatados, sumarizados na tabela 20 (p. 216), permitem sugerir que Pc-2 trata-se de: 3',5 – dihidroxi- 4',7-dimetoxiflavona, conhecida também por luteolin-4',7-dimetil éter, anteriormente descrita nas ordens Isoetales (SEIJAS et al, 2004), Lamiales (NIKLOVA & GEVRENOVA, 2007), Oxalidales (WOLLENWEBER et al, 2000). Esse composto já foi descrito no gênero *Piper*, mais especificamente em: *Piper auritum* (AMPOFO, 1987) e *Piper sylvaticum* (AVIJIT, 1982), sendo a primeira vez descrito em *Piper carniconnectivum*.

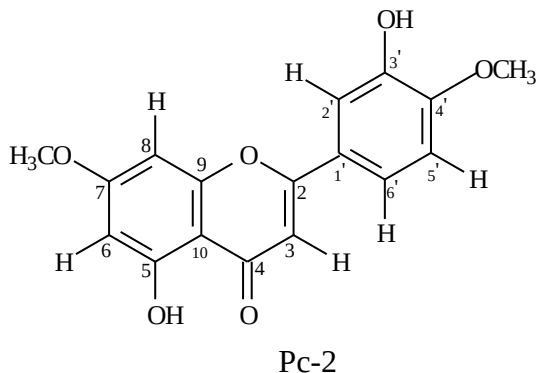


TABELA 20: dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-2 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, J(Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC		NOESY
	δC	δH	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^2\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^3\text{J})$	
1					
2	165,18		H-3	H-6', H-2'	
3	104,41	6,74 (s, 1H)			
4	183,17		H-3		
5	162,98		H-6	OH-5	
6	98,62	6,31 (d, 1H, J=2,2Hz)		H-8, OH-5	OCH ₃ -7
7	166,49		H-6, H-8	OCH ₃ -7	
8	93,20	6,70 (d, 1H, J=2,2Hz)		H-6	OCH ₃ -7
9	158,62		H-8		
10	105,91			H-6, H-8, OH-5, H-3	
1'	123,35		H-6'	H-5', H-3	
2'	110,45	7,64 (sl, 1H)		H-6'	
3'	151,51		H-2'	H-5'	
4'	148,84		H-5'	H-6', OCH ₃ -4'	
5'	116,34	7,00 (d, 1H, J=9,0 Hz)			
6'	121,35	7,62 (dd, 1H, J=2,0 e 9,0 Hz)			H-6' e OCH ₃ -4'
OH-5		12,98 (s, 1H)			
OCH₃-4'	56,51	3,98 (s, 3H)			
OCH₃-7	56,34	3,91 (s, 3H)			

TABELA 21: dados comparativos de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-2 com dados da literatura (CDCl_3 , 360 MHz e 90MHz) (AMPOFO, 1987)

	δC	δH	δC	δH
1				
2	165,18		165,4	
3	104,41	6,61 (s, 1H)	104,5	6,01 (s,1H)
4	183,17		182,3	
5	162,98		162,1	
6	98,62	6,30 (d, J=2,3Hz, 1H)	98,0	6,37 (d, J=2,2 Hz, 1H)
7	166,49		165,4	
8	93,20	6,67 (d, J=2,3Hz, 1H)	92,6	6,49 (d, J=2,0 Hz, 1H)
9	158,62		154,1	
10	105,91		105,5	
1'	123,35		123,3	
2'	110,45	7,50 (d, J=2,2Hz,1H)	108,2	7,33 (d, J=1,9 Hz, 1H)
3'	151,51		146,8	
4'	148,84		149,1	
5'	116,34	6,99 (d, J=8,0, 1H)	115,0	7,03 (d, J=8,4 Hz, 1H)
6'	121,35	7,48 (dd, J=8,0 e 2,2 Hz, 1H)	120,7	7,48 (dd, J=8,4 e 1,9 Hz, 1H)
OH-5		12,98 (s, 1H)		
OCH₃-4'	56,51	3,98 (s, 3H)	56,1	4,00 (s, 3H)
OCH₃-7	56,34	3,91 (s, 3H)	55,7	3,88 (s, 3H)

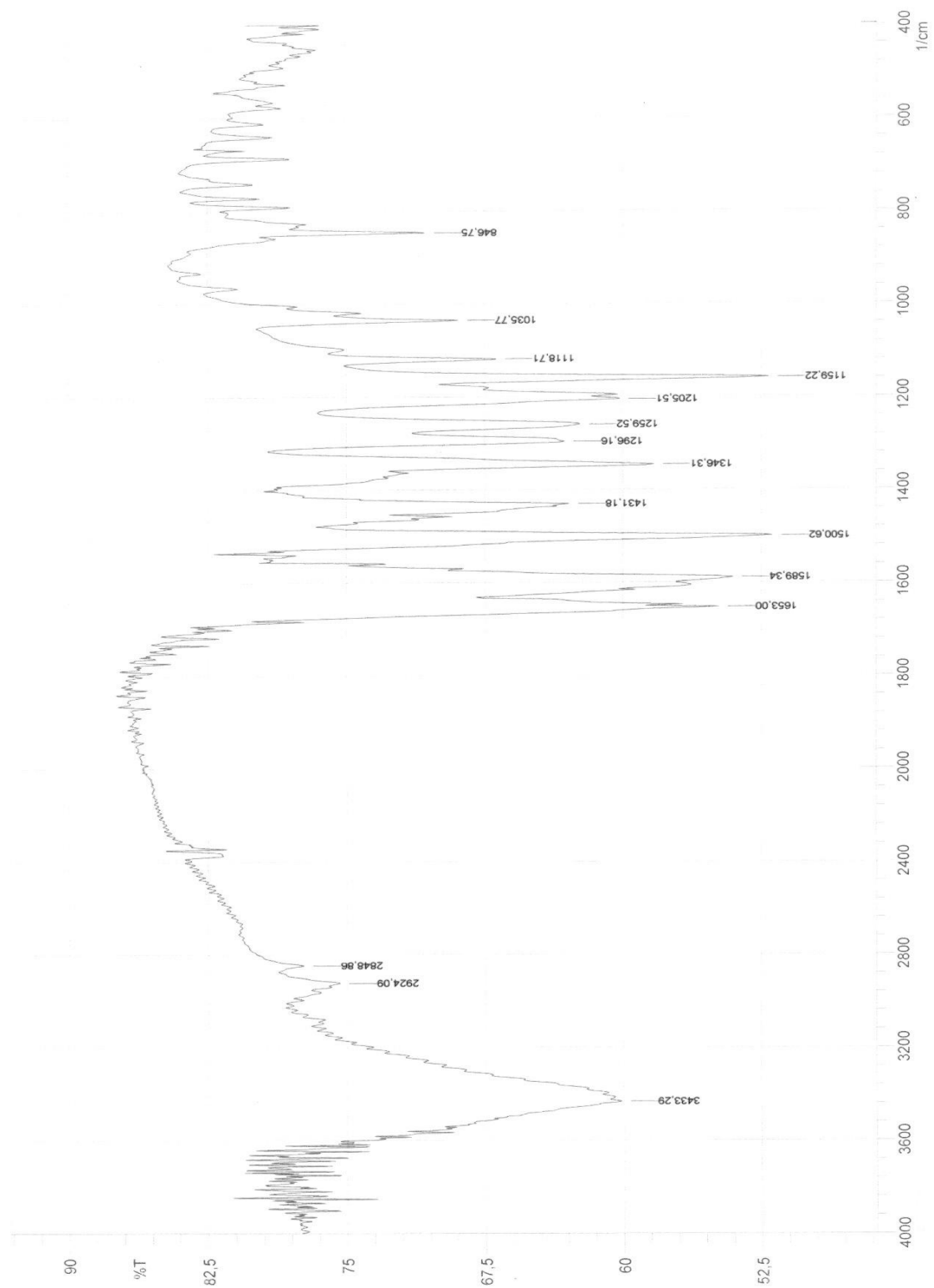


Figura 158: espectro no IV (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-2

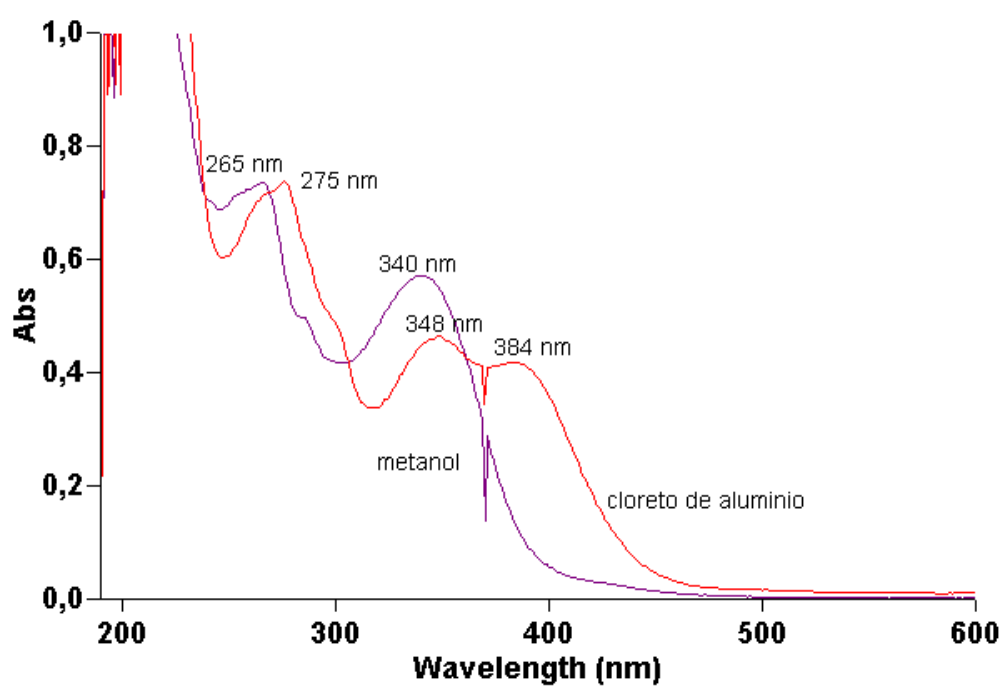


Figura 159: espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl₃) de Pc-2

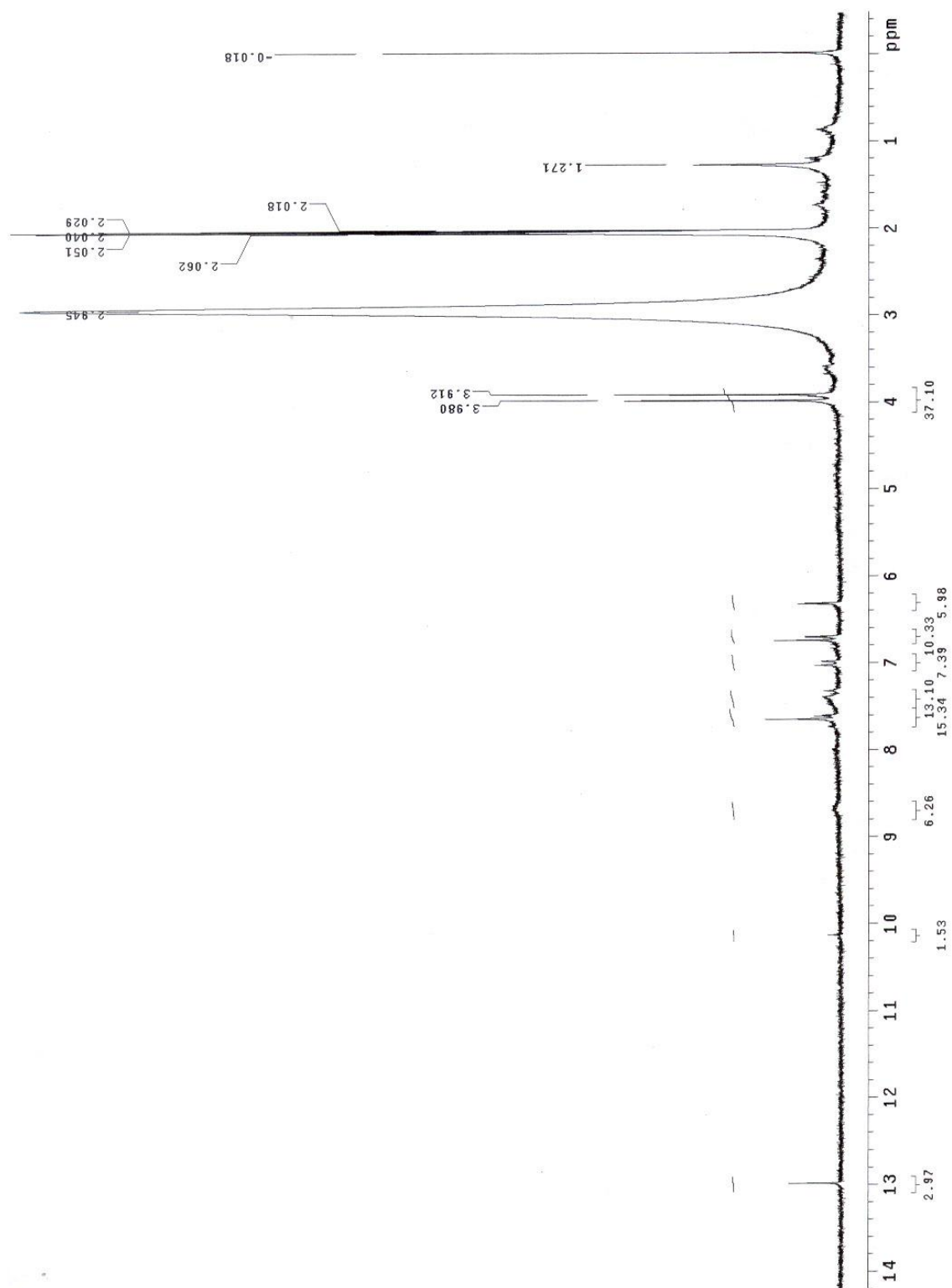


Figura 160: espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, C₃D₆O) de Pc-2

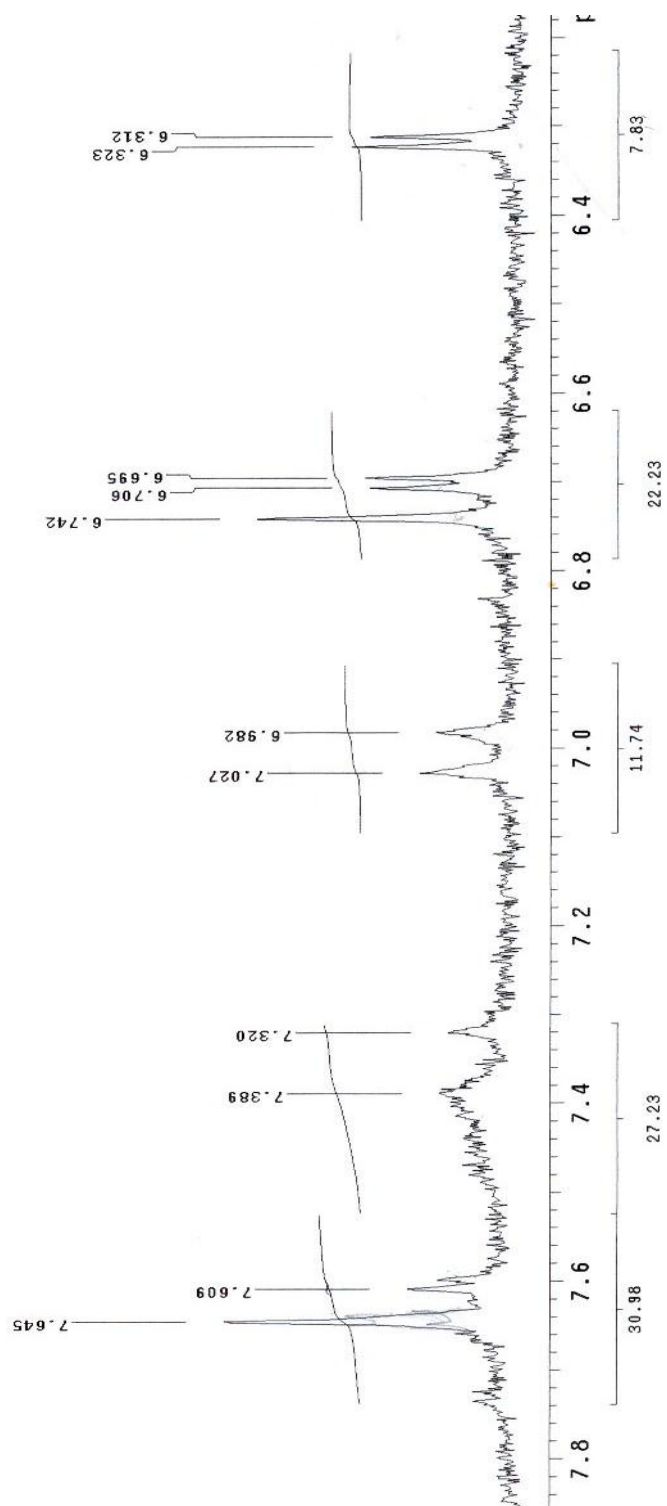


Figura 161: expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Pc-2

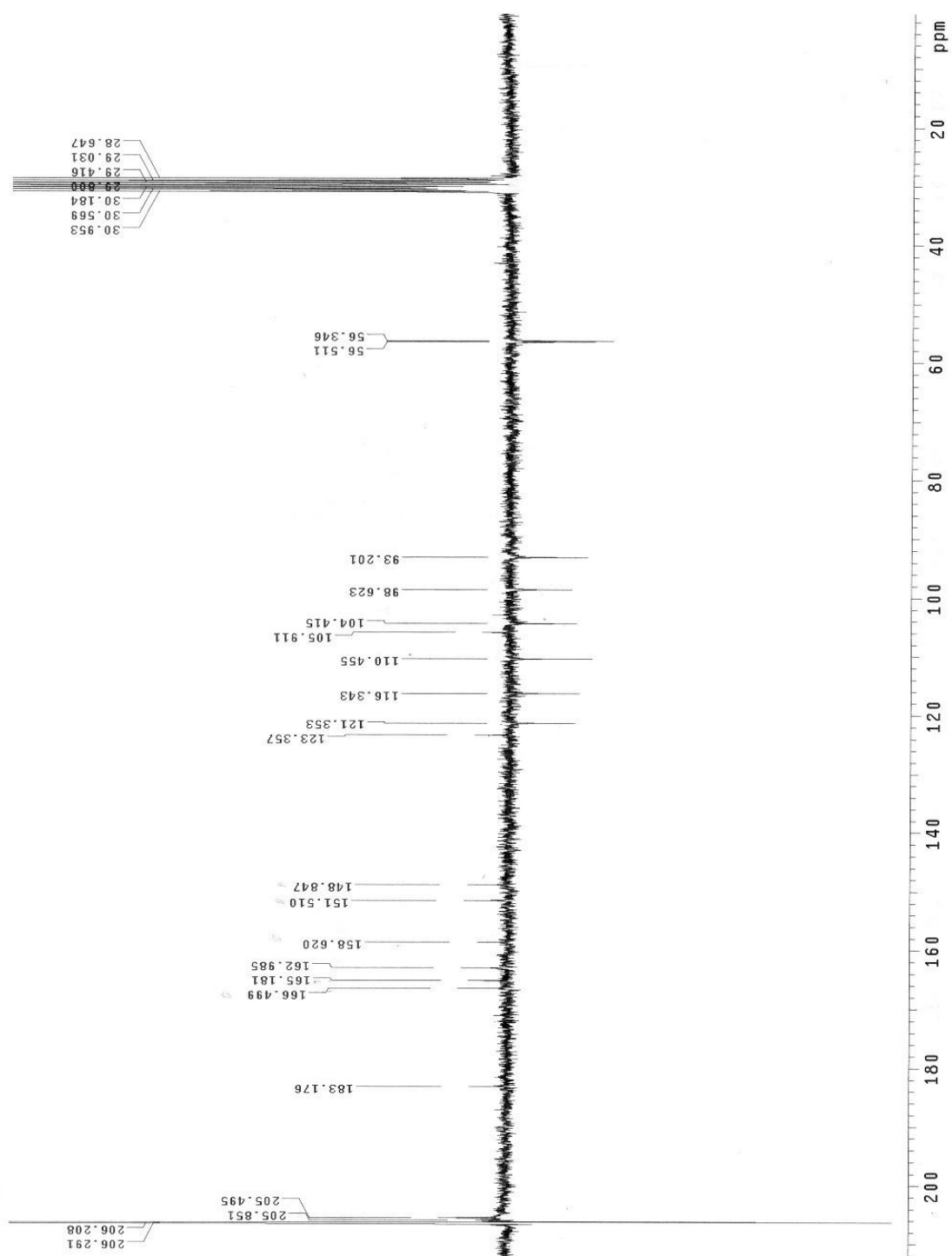


Figura 162: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, C₃D₆O) de Pc-2

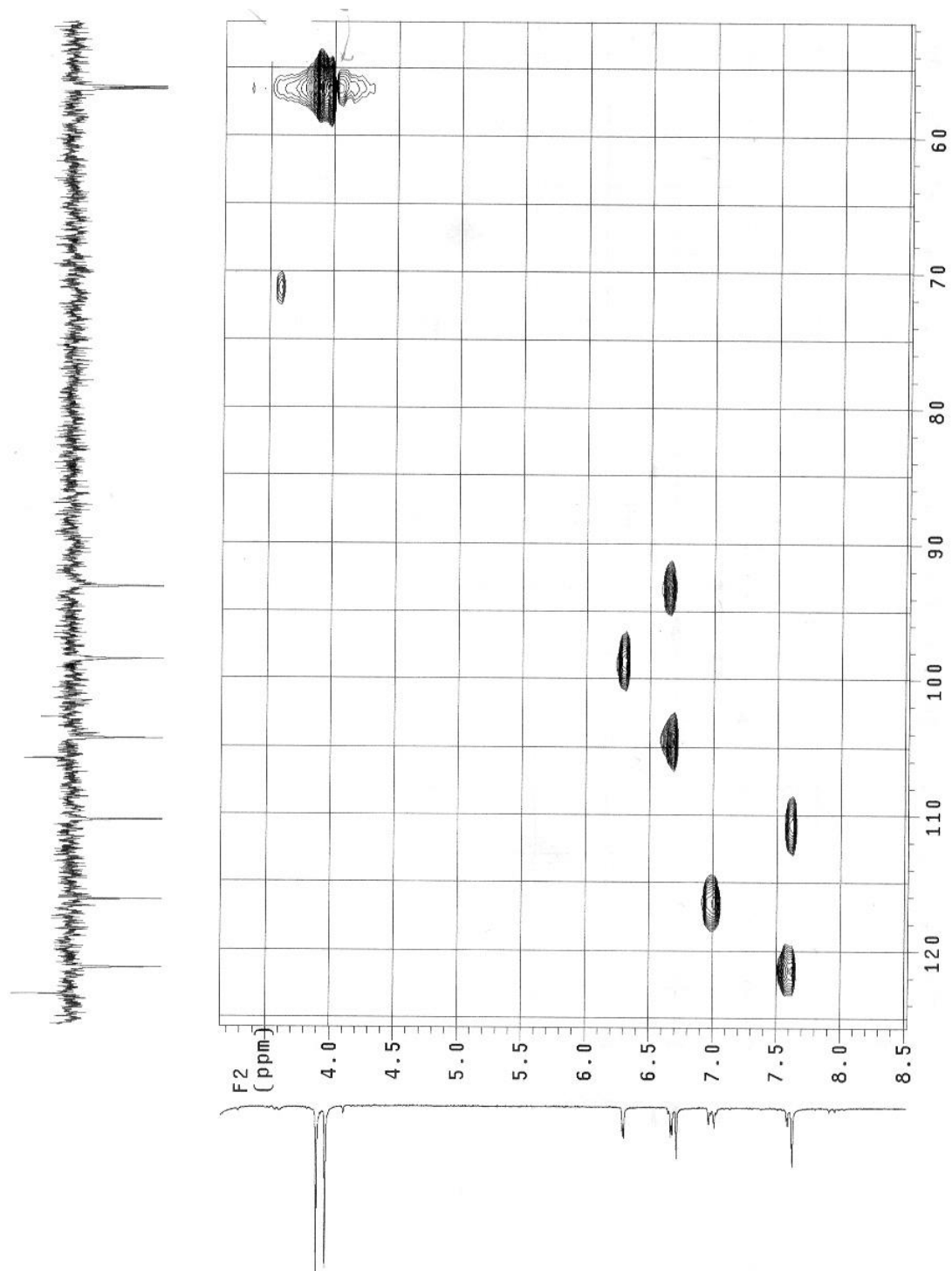


Figura 163: espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2

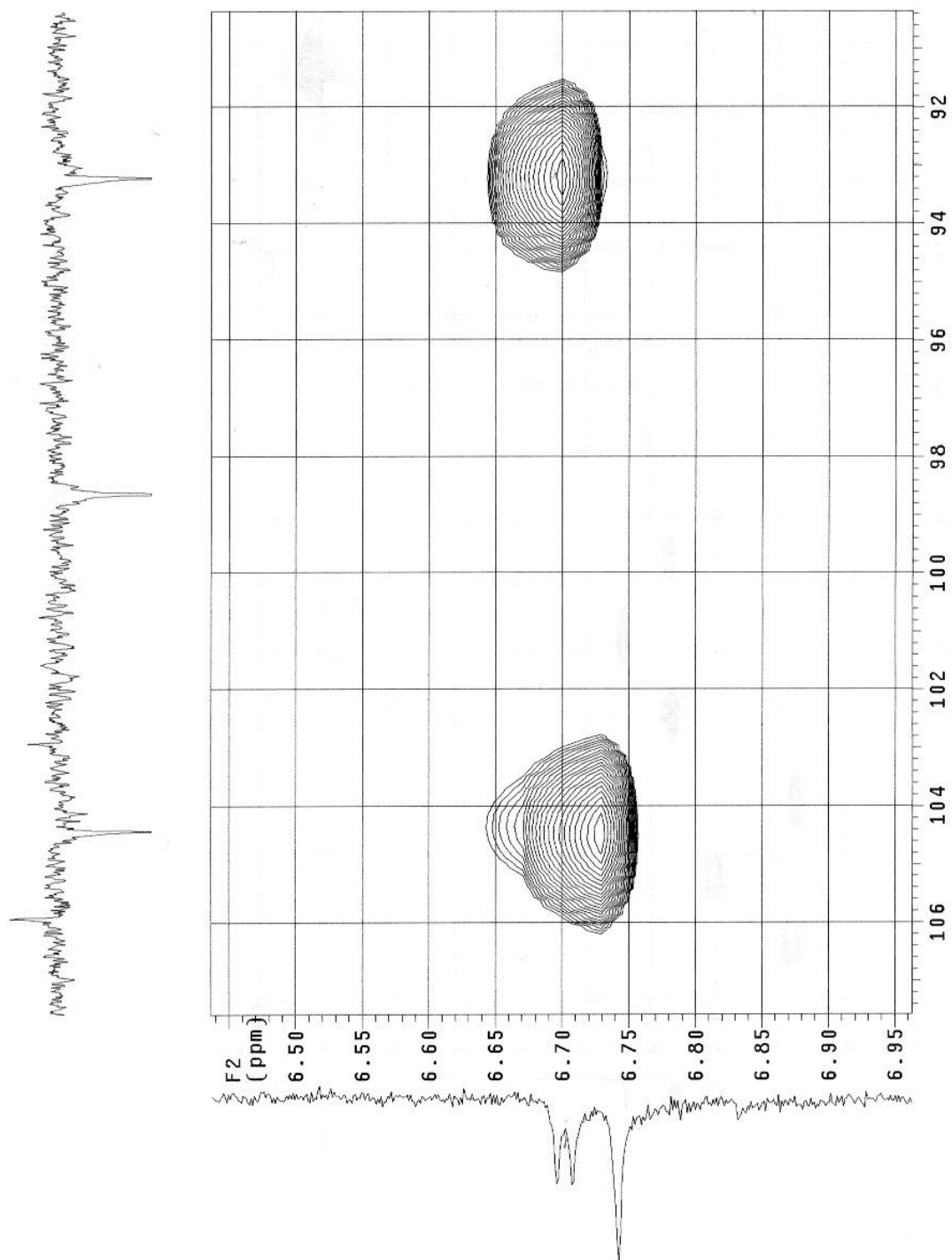


Figura 164: expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2

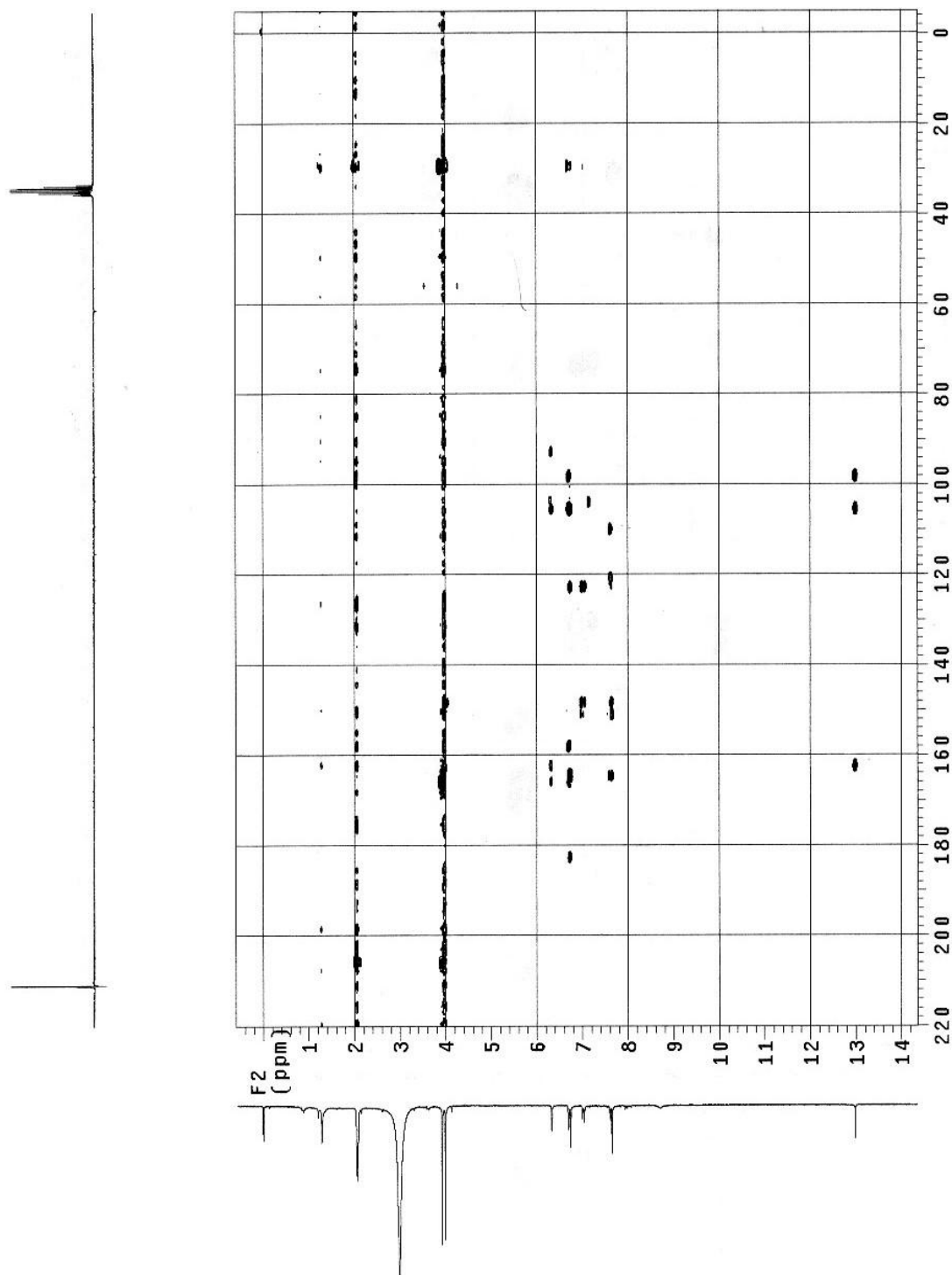


Figura 165: espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2

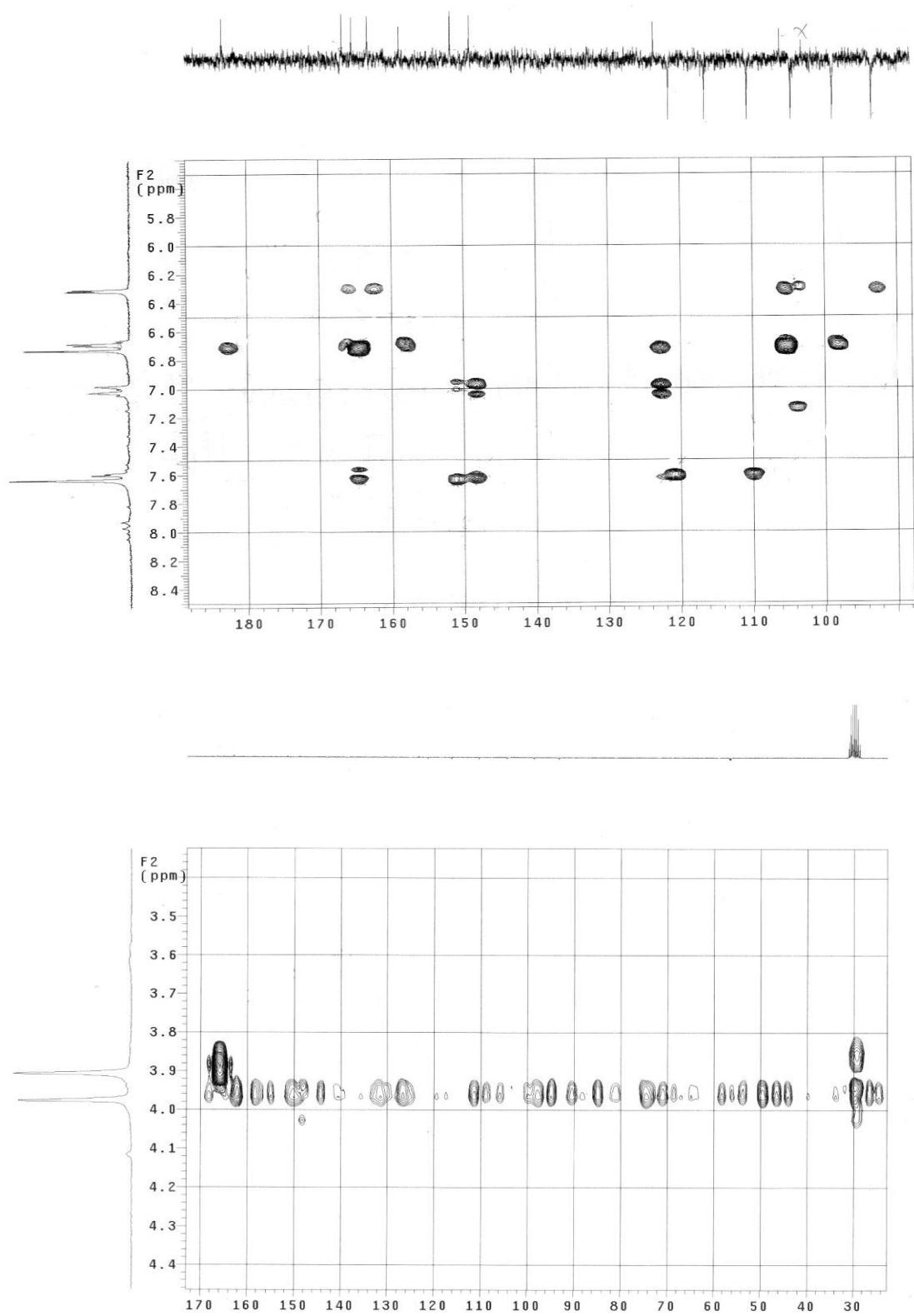


Figura 166 e 167: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-2

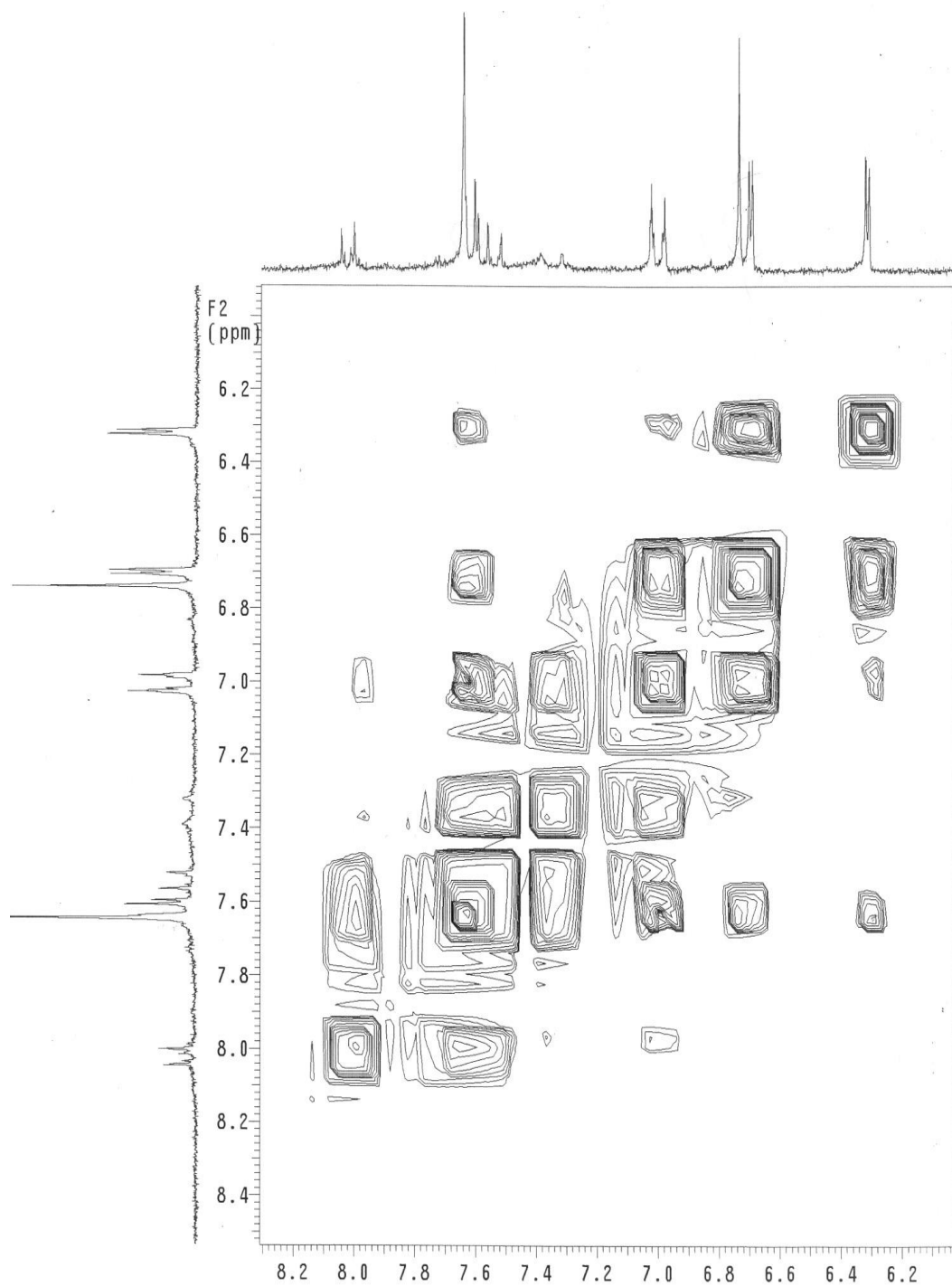
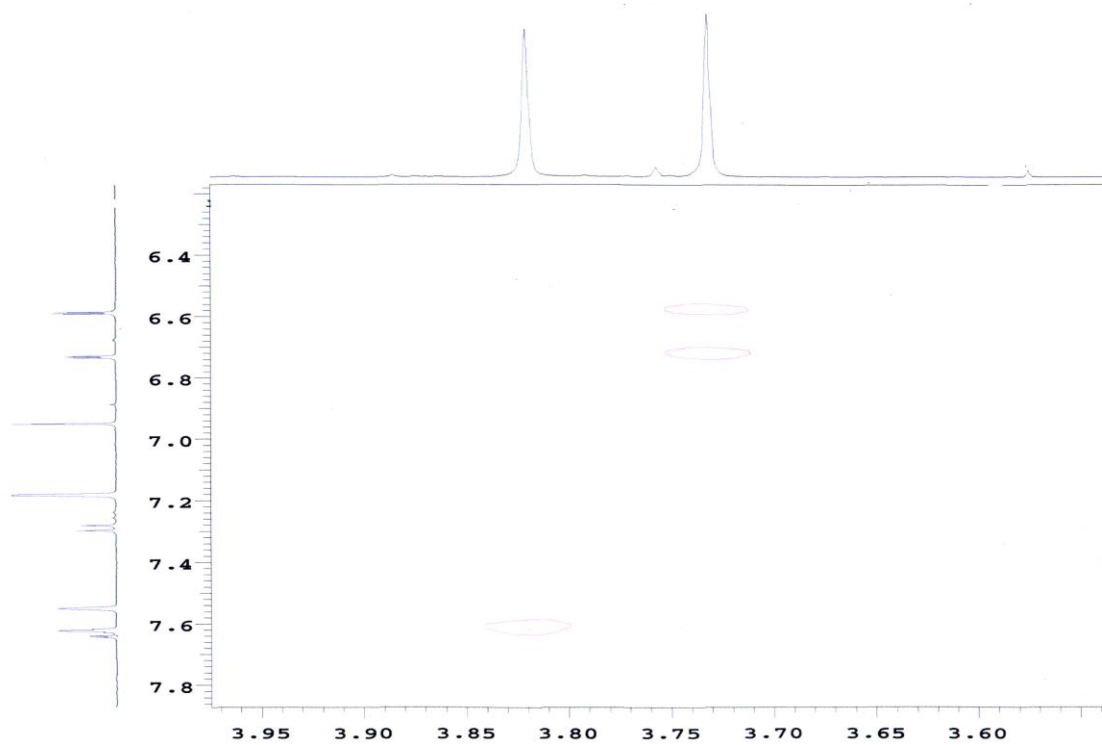
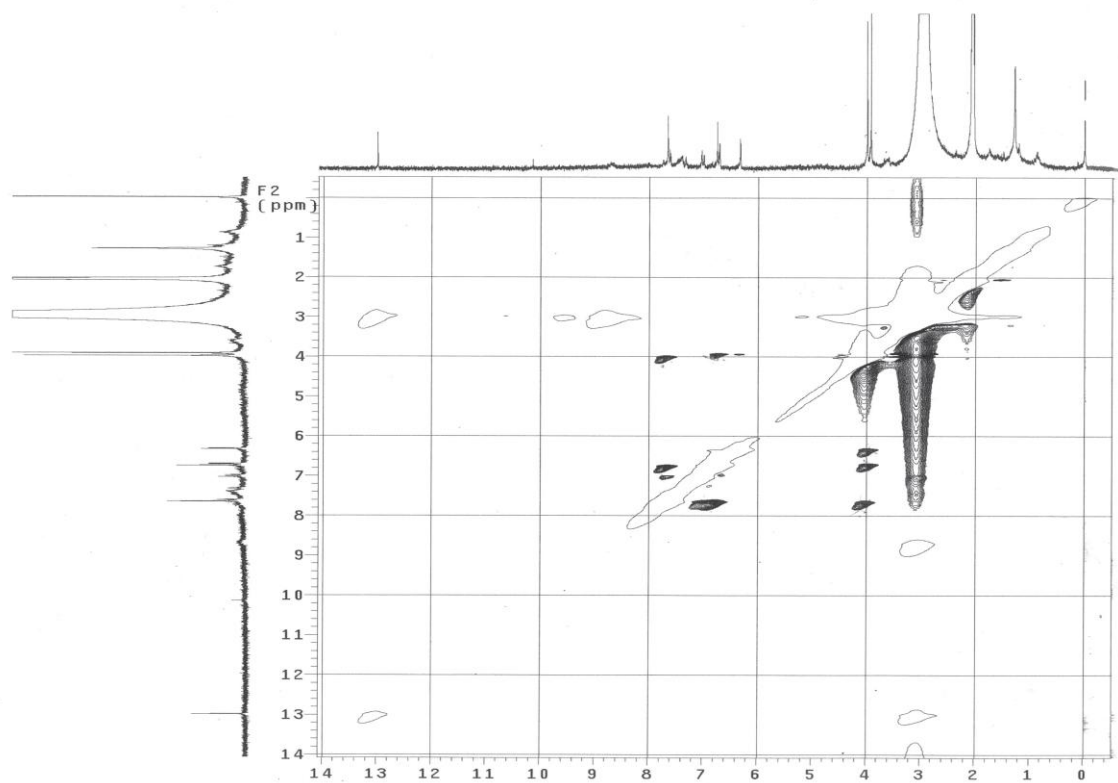


Figura 168: expansão do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-2



Figuras 169 e 170: espectros de correlação homonuclear NOESY – ^1H x ^1H de Pc-2

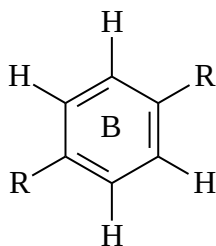
7.3 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pc-3.

Pc-3 apresentou-se como cristais amarelos, com P.F=286-288 °C e solúveis em acetona.

O espectro de IV de Pc-3 (Figura 172, p. 235) mostrou bandas semelhantes às observadas para Pc-1 e Pc-2 com as principais absorções em: 3.414, 2.924 e 2850, 1.664, 1.602 e 1.500 nm que são sugestivos da presença dos seguintes grupos na molécula em estudo: OH quelada, estiramento C-H de grupos metílicos e metínicos, carbonila em ponte de hidrogênio e ligação C=C de anel aromático, respectivamente.

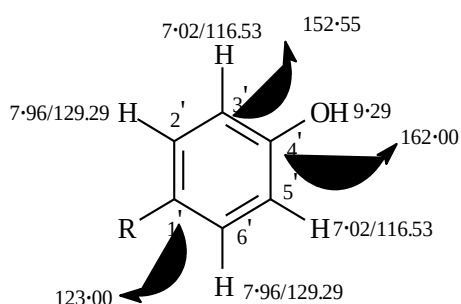
O espectro de UV (Figura 173, p. 236) também mostrou bandas de absorção semelhantes às de Pc-1 e Pc-2 em: 267 e 339 nm, referentes aos anéis A e B (bandas II e I), respectivamente. O uso do reagente de deslocamento AlCl_3 provocou um deslocamento batocrômico dessas bandas para 277 e 384 nm, respectivamente, dados esses sugestivos também da presença de flavona na molécula em questão.

O espectro de RMN de ^1H (δ , acetona- d_6 , 200 MHz) mostrou a presença de 4 singletos. Os singletos em δ 12,98 (s, 1H) e δ 3,91 (s, 3H), associados às feições dos sinais em δ 6,31 (d, $J=2,2$ Hz, 1H) e 6,69 (d, $J=2,2$ Hz, 1H) (Figuras 174 e 175, p. 237 e 238) sugerem a presença de um anel A tetrassubstituído. As feições dos sinais em δ 7,02 (dd, $J=8,8$ e 2,0 Hz, 2H) e 7,96 (dd, $J=8,8$ e 2,0 Hz, 2H) além do singlete em δ 9,29 (s, 1H), associados às correlações vistas no espectro bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC entre δ 7,02/116,53 e 7,96/129,29 (Figura 178 e 179, p. 241 e 242) permitiram sugerir a presença de um anel B com um sistema tipo AA'BB'. O sinal em δ 6,67 (s, 1H) é característico de hidrogênio na posição 3 de flavonóides tipo flavona (Figura 175, p. 238).



O espectro de RMN de ^{13}C , técnica APT (δ , acetona- d_6 , 50 MHz) mostrou a presença de 14 sinais (Figura 176, p. 239), sendo 8 para carbonos quaternários (δ : 183,17, 166,53, 165,28, 163,02, 162,00, 158,65, 123,00, 105,93), 5 para carbonos metínicos (δ : 104,00, 98,63, 93,17, 129,28 e 116,85) e 1 carbono metílico em δ 56,36.

As correlações vistas no espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H x ^{13}C – HMBC (Figura 179 e 180, p. 242 e 243) entre δ 7,96 e 7,02/162,00 permitiram atribuir esse último deslocamento para o carbono 4' e sugerir δ 7,96 e 7,02 para os hidrogênios das posições 2'-6' e 3'-5', respectivamente. A correlação entre δ 7,96 e 6,67/165,28 (Figura 180, p. 243) permitiu atribuir δ 165,28 para a posição 2 e δ 6,67 para o hidrogênio 3 e confirmar δ 7,96 para os hidrogênios 2' e 6', além de corroborar por exclusão o deslocamento das absorções em δ 7,02. Foi vista ainda a correlação de δ 6,67/123,00 (Figura 180, p. 243), atribuindo esse deslocamento para o carbono 1'.



No COSY foram vistas as correlações entre os hidrogênios em δ 7,96/7,02 (Figura 181, p. 244) que juntamente com as correlações observadas no NOESY entre δ

7,96/7,02 e δ 7,96/6,67 (Figura 182, p. 245) permitiram corroborar esses deslocamentos químicos para os hidrogênios das posições 6', 5' e 3, respectivamente.

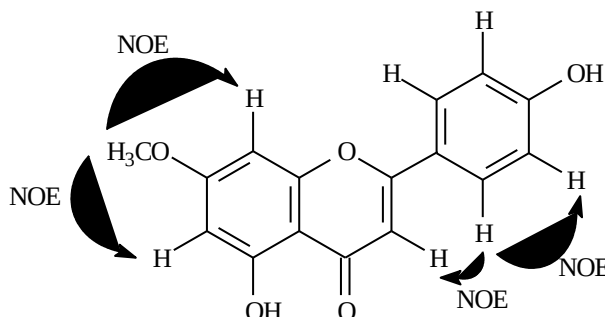
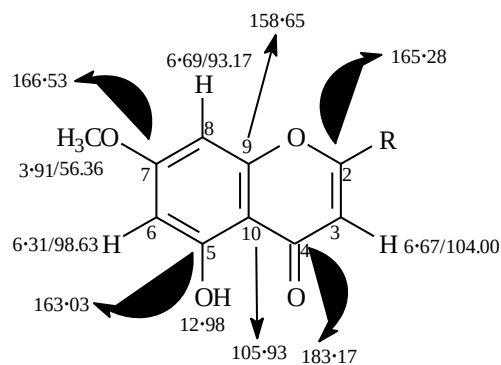


Figura 171: interações NOE de Pc-3

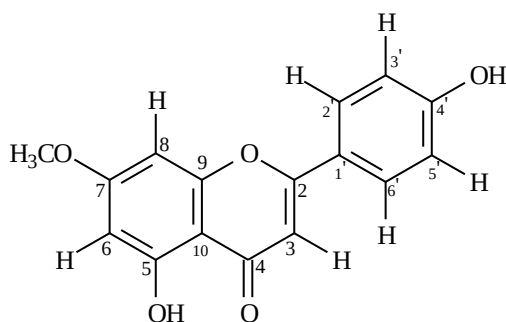
A correlação de δ 6,67/183,17 (Figura 180, p. 243) vista no HMBC, sendo esta última absorção característica de carbonila de cetona, permite atribuir tal deslocamento para o carbono 4.

Foram vistas também as seguintes correlações no HMBC: δ 6,31/166,53, 163,03, 105,93, 93,17 e de δ 6,69/166,53, 105,93, 98,63 (Figura 180, p. 243) e no HMQC: δ 6,31/98,63 e 6,69/93,17 (Figura 178, p. 241) o que permite atribuir δ 6,31 e 6,69 para os hidrogênios 6 e 8, respectivamente. A correlação no HMQC entre δ 3,91/56,36 (Figura 177, p. 240) e no HMBC de δ 3,91/166,53 (Figura 179, p. 242), além das correlações no NOESY de δ 3,91/6,31 e 6,69 (Figura 182, p. 245) permitiram confirmar a metoxila para a posição 7 e, por exclusão, a hidroxila quelada em δ 12,98 para o carbono da posição 5, sugestão corroborada pela correlação a ^2J entre δ 6,31/163,03 (Figura 180, p. 243).

Foram observadas também no HMBC as correlações de δ 6,69/158,65 e 105,93 e de δ 6,31/ 105,93 (Figura 180, p. 243), confirmando os deslocamentos em δ 158,65 e 105,93 para os carbonos das posições 9 e 10, respectivamente.



Os dados relatados, sumarizados na tabela 22 (p. 233) e comparados com dados autênticos da literatura (SILVA, 2004), permitem identificar Pc-3 como: 4',5 – dihidroxi- 7-metoxiflavona, também relatada por apigenina-7-metil éter, anteriormente descrita nas seguintes ordens: Fabales (AYUMI et al, 2006), Lamiales (PEREZ-FONS et al, 2006), Asterales (SCHINOR et al, 2004), Saxifragales (O'ROURKE, 2005), Ginkgoales (HOU, et al, 2008), Oxalidales (WOLLENWEBER et al, 2000), Solanales (WOLLENWEBER et al, 1995). Essa é a primeira vez que Pc-3 é descrita no gênero *Piper*.



Pc-3

TABELA 22: dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-3 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em acetona- d_6 , J(Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC		NOESY
	δC	δH	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^2\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^3\text{J})$	
1					
2	165,28		H-3	H-2', H-6'	
3	104,00	6,67 (s, 1H)			H-6'
4	183,17		H-3		
5	163,03		H-6		
6	98,63	6,31 (d, 1H, J=2,2Hz)		H-8	OCH ₃ -7
7	166,53		H-6, H-8	OCH ₃ -7	
8	93,17	6,69 (d, 1H, J=2,2Hz)		H-6	OCH ₃ -7
9	158,65		H-8		
10	105,93			H-6, H-8	
1'	123,00		H-2', H-6'	H-3	
2'	129,29	7,96 (dd, 2H, J=8,8 e 2,0Hz)			
3'	115,53	7,02 (dd, 2H, J=8,8 e 2,0Hz)			
4'	162,00	9,29 (s, 1H)	H-3', H-5'	H-2', H-6'	
5'	116,53	7,02 (dd, 2H, J=8,8 e 2,0Hz)			
6'	129,29	7,96 (dd, 2H, J=8,8 e 2,0Hz)			H-5'
OH-5		12,98 (s, 1H)			
OCH₃-7	56,36	3,91 (s, 3H)			

TABELA 23: dados comparativos de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) de Pc-3 e apigenina (δ , CD_3OD , 200 e 50 MHz), (SILVA, 2004).

	δC	δH	δC	δH
1				
2	165,28		166,11	
3	104,00	6,67 (s, 1H)	103,82	6,57 (s, 1H)
4	183,17		183,88	
5	163,03		163,20	
6	98,63	6,31 (d, 1H, $J=2,2\text{Hz}$)	100,17	6,19 (d, $J = 2,0\text{ Hz}$, 1H)
7	166,53		166,29	
8	93,17	6,69 (d, 1H, $J=2,2\text{Hz}$)	95,07	6,43 (d, $J = 2,0\text{ Hz}$, 1H)
9	158,65		159,41	
10	105,93		105,29	
1'	123,00		123,25	
2'	129,29	7,96 (dd, 2H, $J=8,8$ e $2,0\text{Hz}$)	129,44	7,83 (d, $J = 8,8\text{ Hz}$, 1H)
3'	115,53	7,02 (dd, 2H, $J=8,8$ e $2,0\text{Hz}$)	117,02	6,91 (d, $J = 8,8\text{ Hz}$, 1H)
4'	162,00	9,29 (s, 1H)	162,74	
5'	116,53	7,02 (dd, 2H, $J=8,8$ e $2,0\text{Hz}$)	117,02	6,91 (d, $J = 8,8\text{ Hz}$, 1H)
6'	129,29	7,96 (dd, 2H, $J=8,8$ e $2,0\text{Hz}$)	129,44	7,83 (d, $J = 8,8\text{ Hz}$, 1H)
OH-5		12,98 (s, 1H)		-
OCH₃-7	56,36	3,91 (s, 3H)	-	-

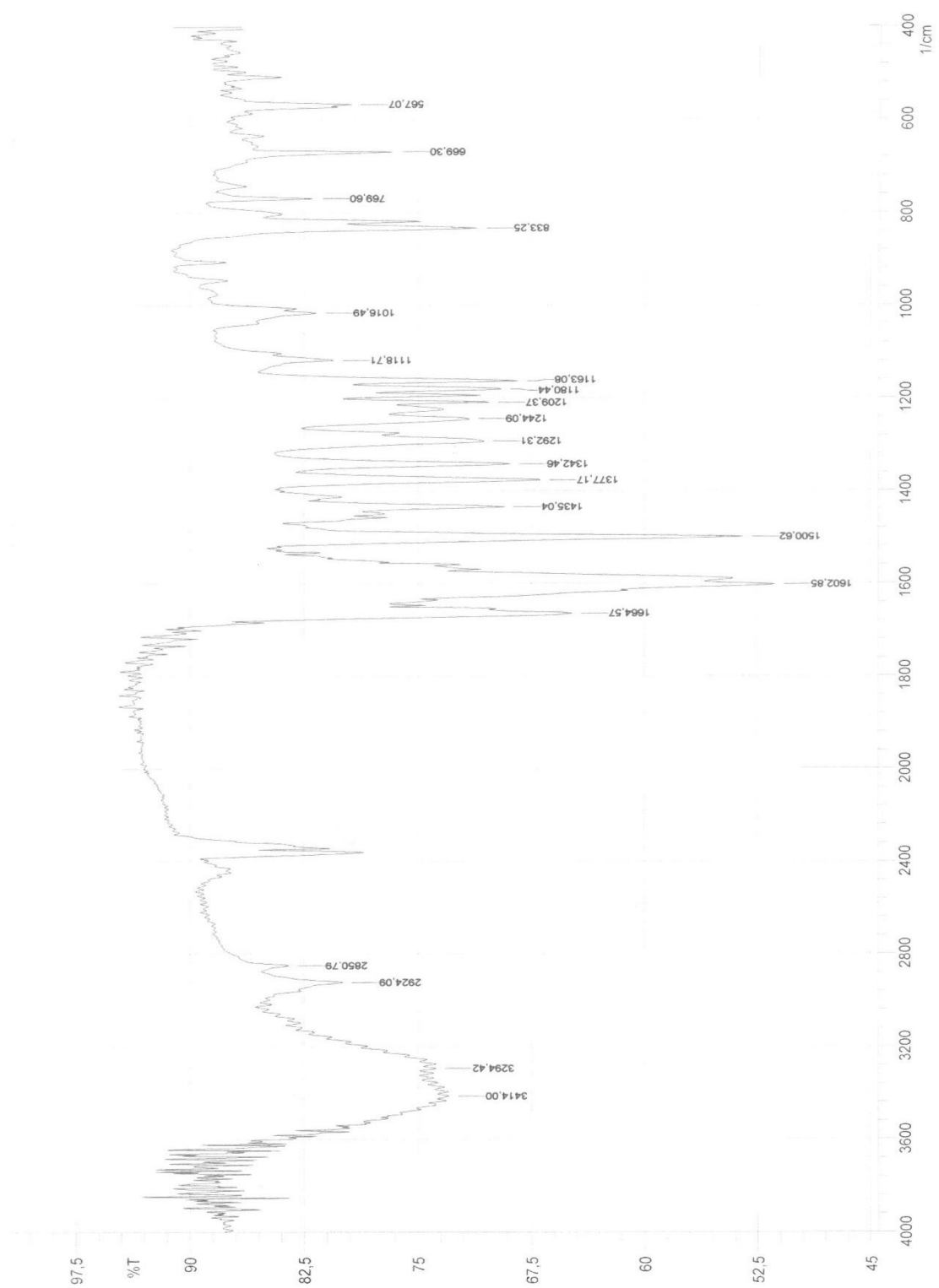


Figura 172: espectro no IV (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-3

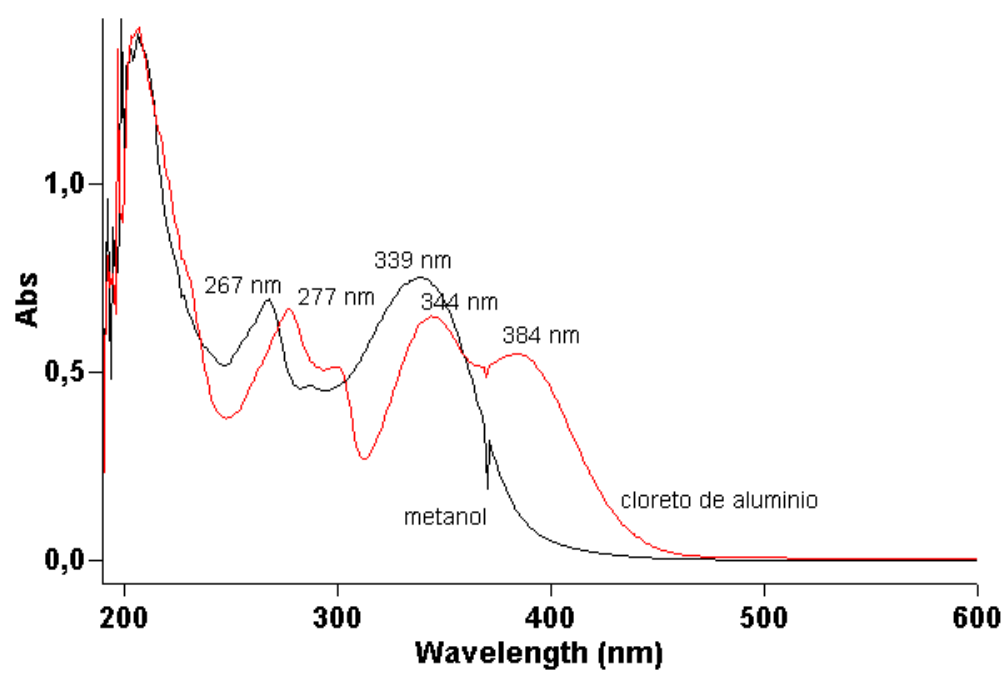


Figura 173: espectro no ultravioleta ($\lambda_{\text{max.}}$, MeOH; MeOH + AlCl₃) de Pc-3

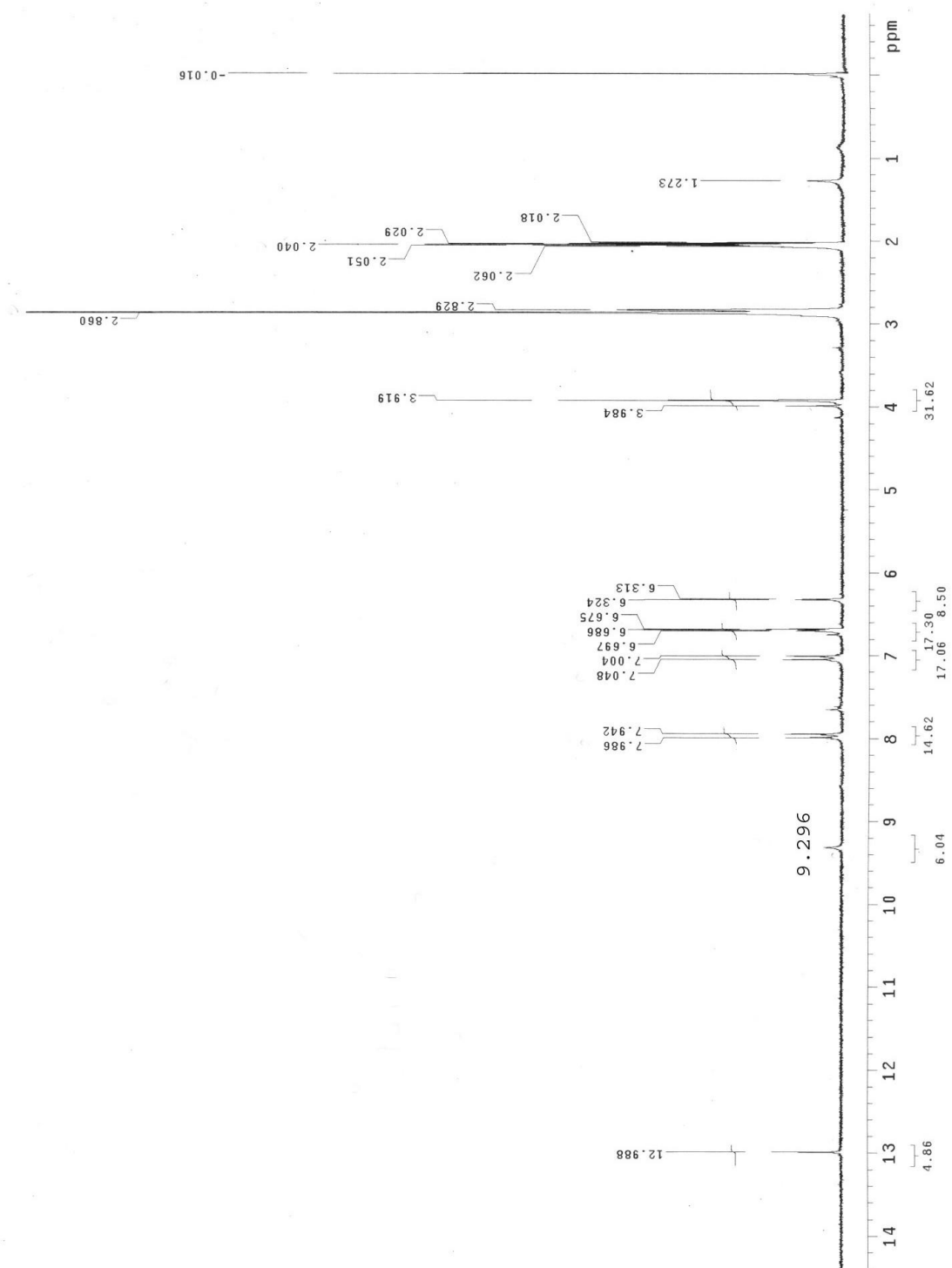


Figura 174: espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, C₃D₆O) de Pc-3

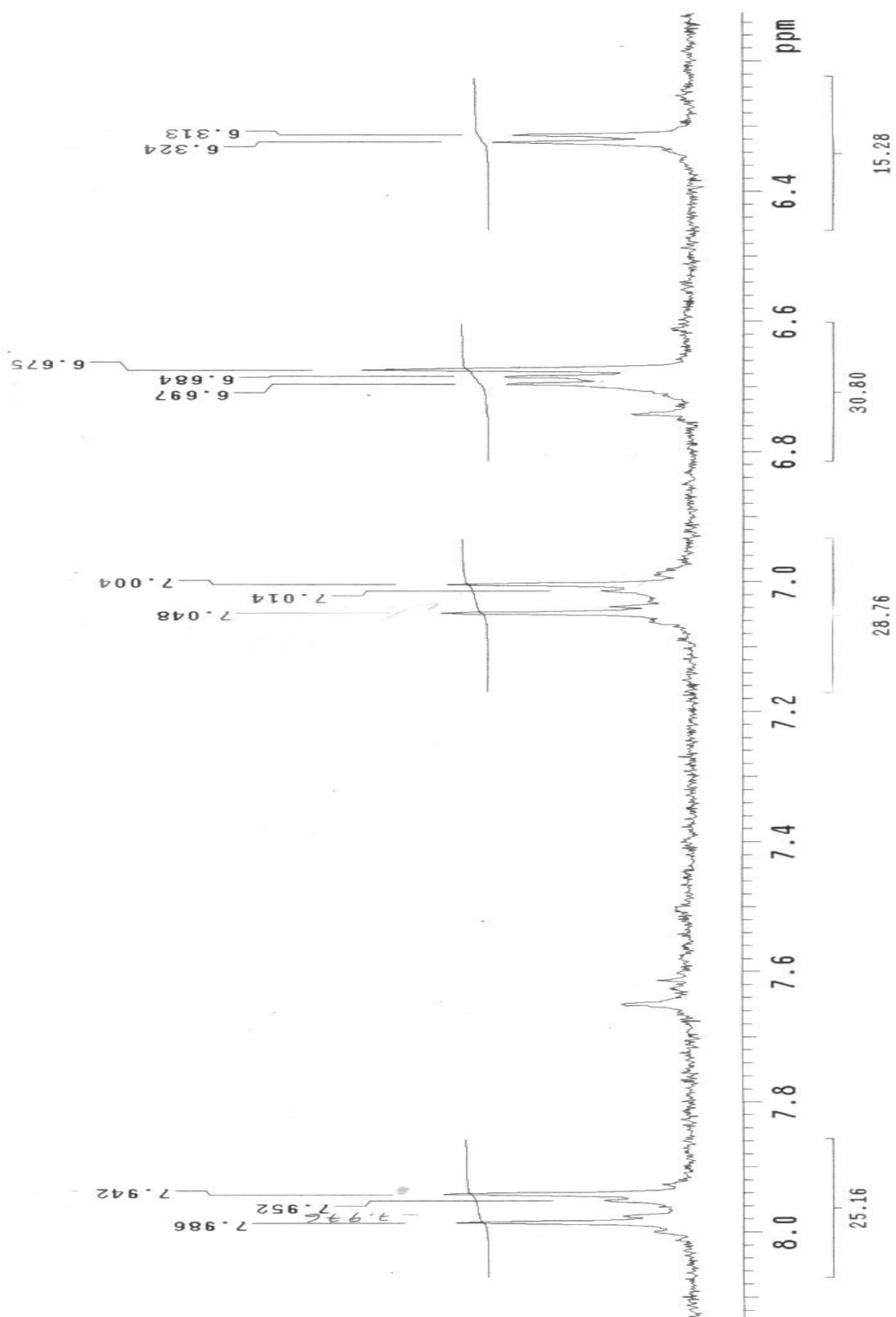


Figura 175: expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Pc-3

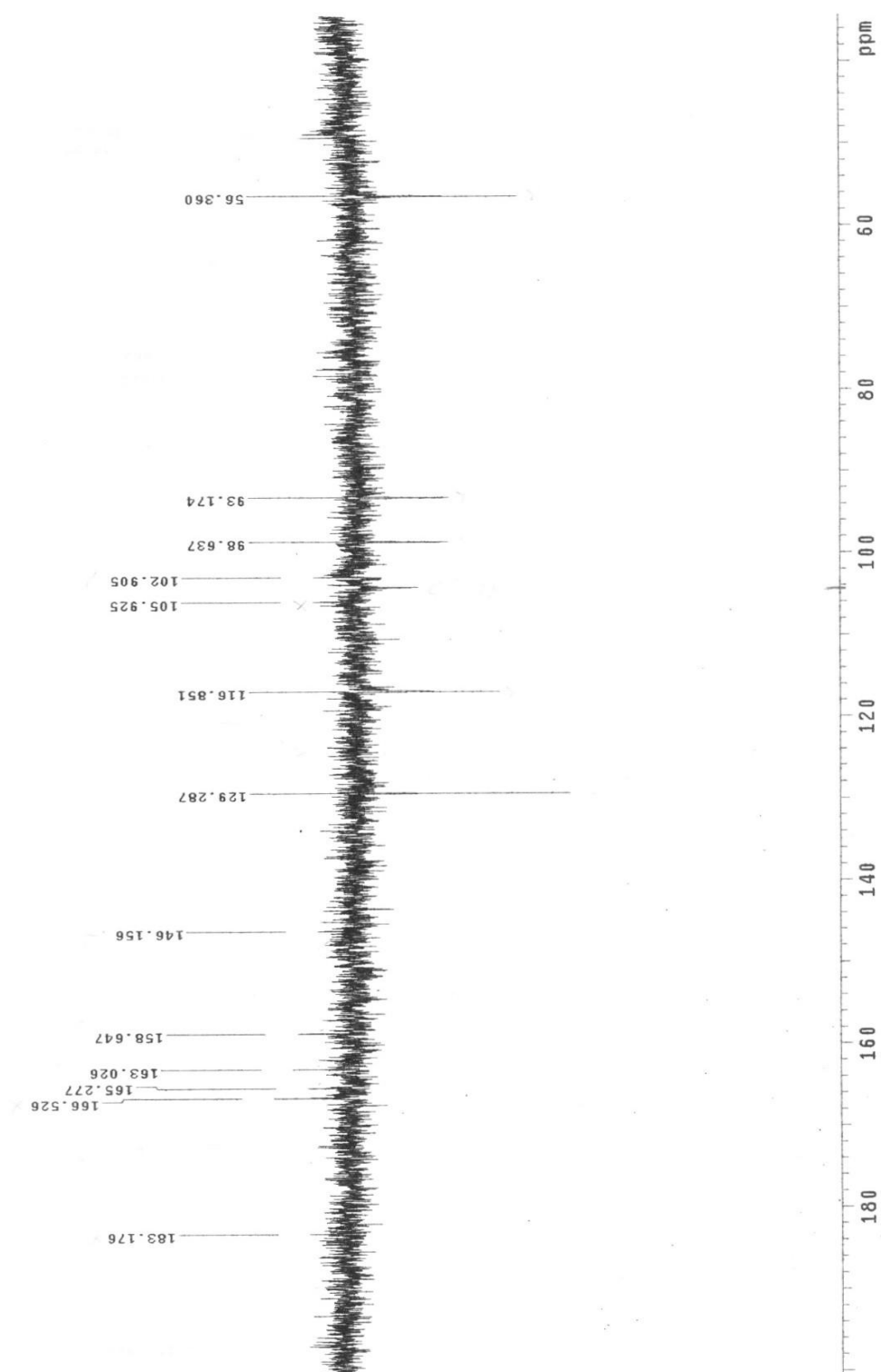


Figura 176: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) de Pc-3

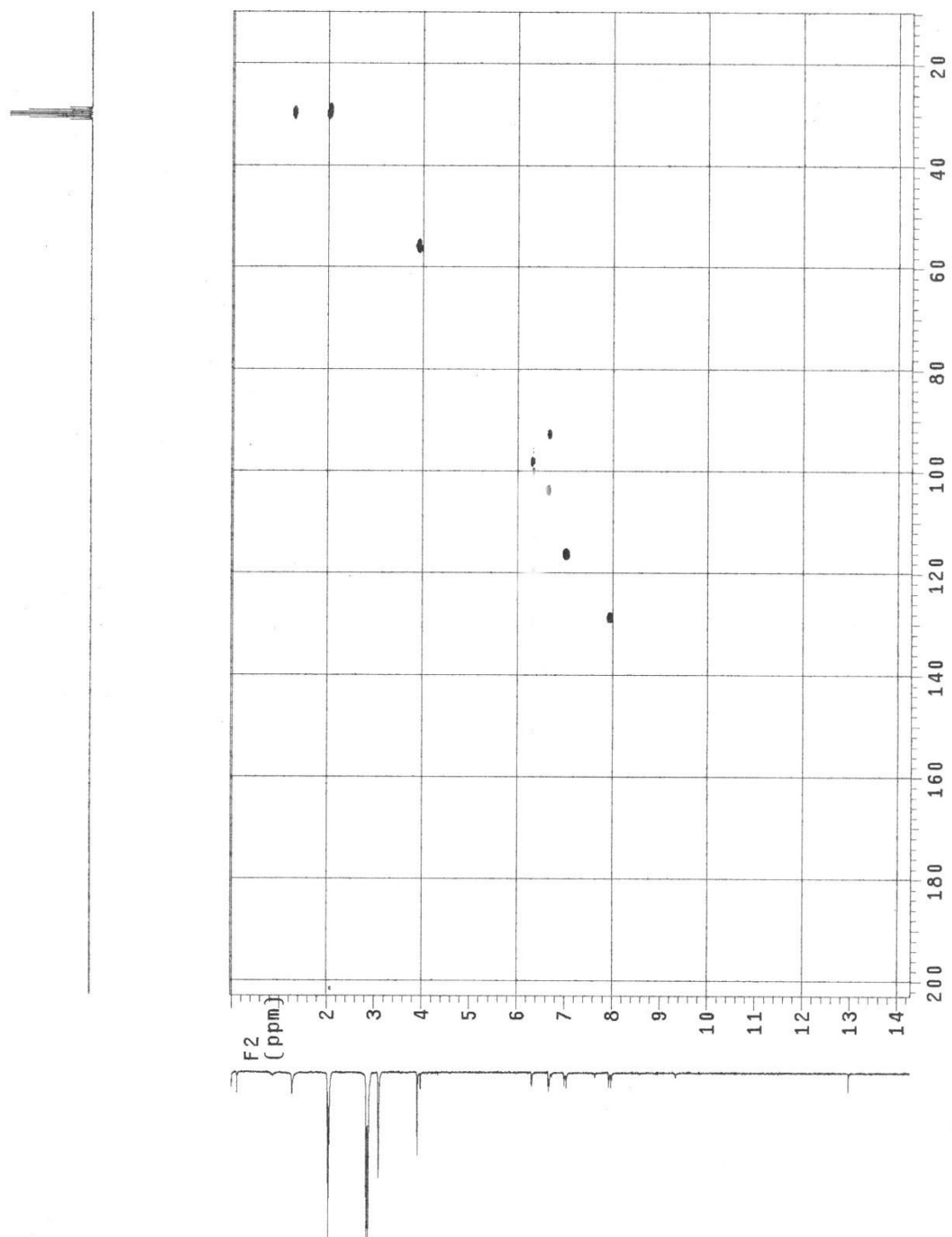


Figura 177: espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-3

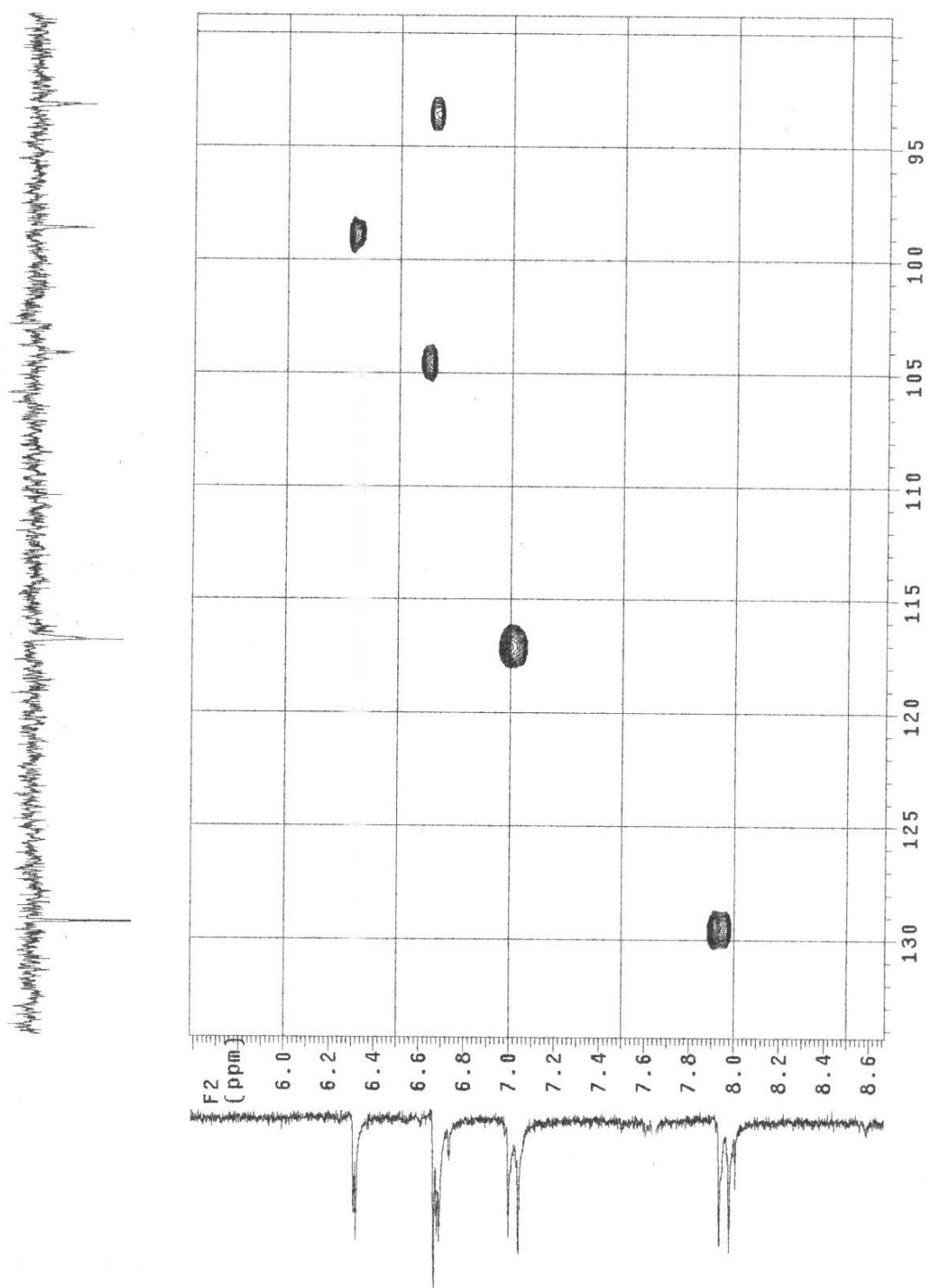


Figura 178: expansão do espectro de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-3

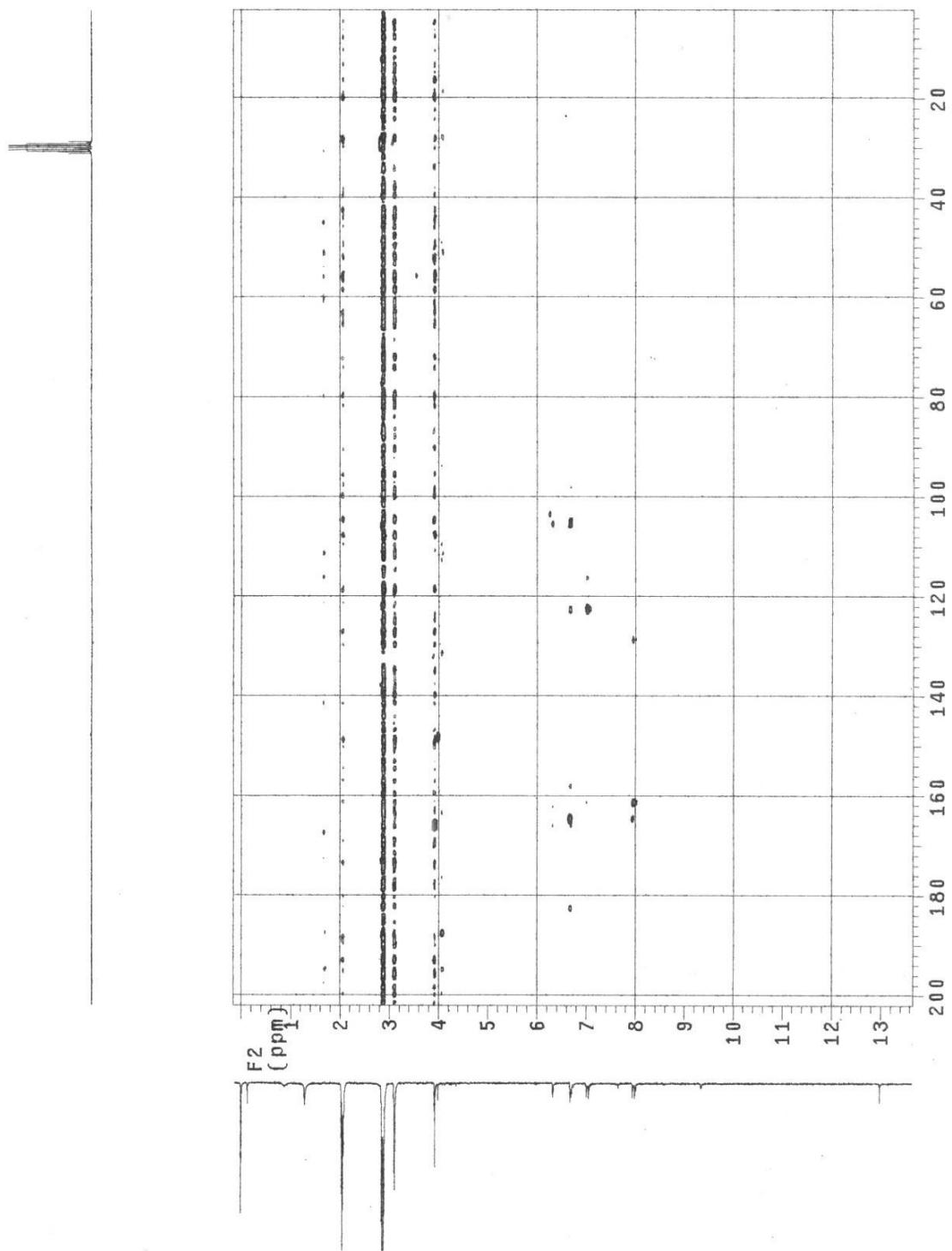


Figura 179: espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-3

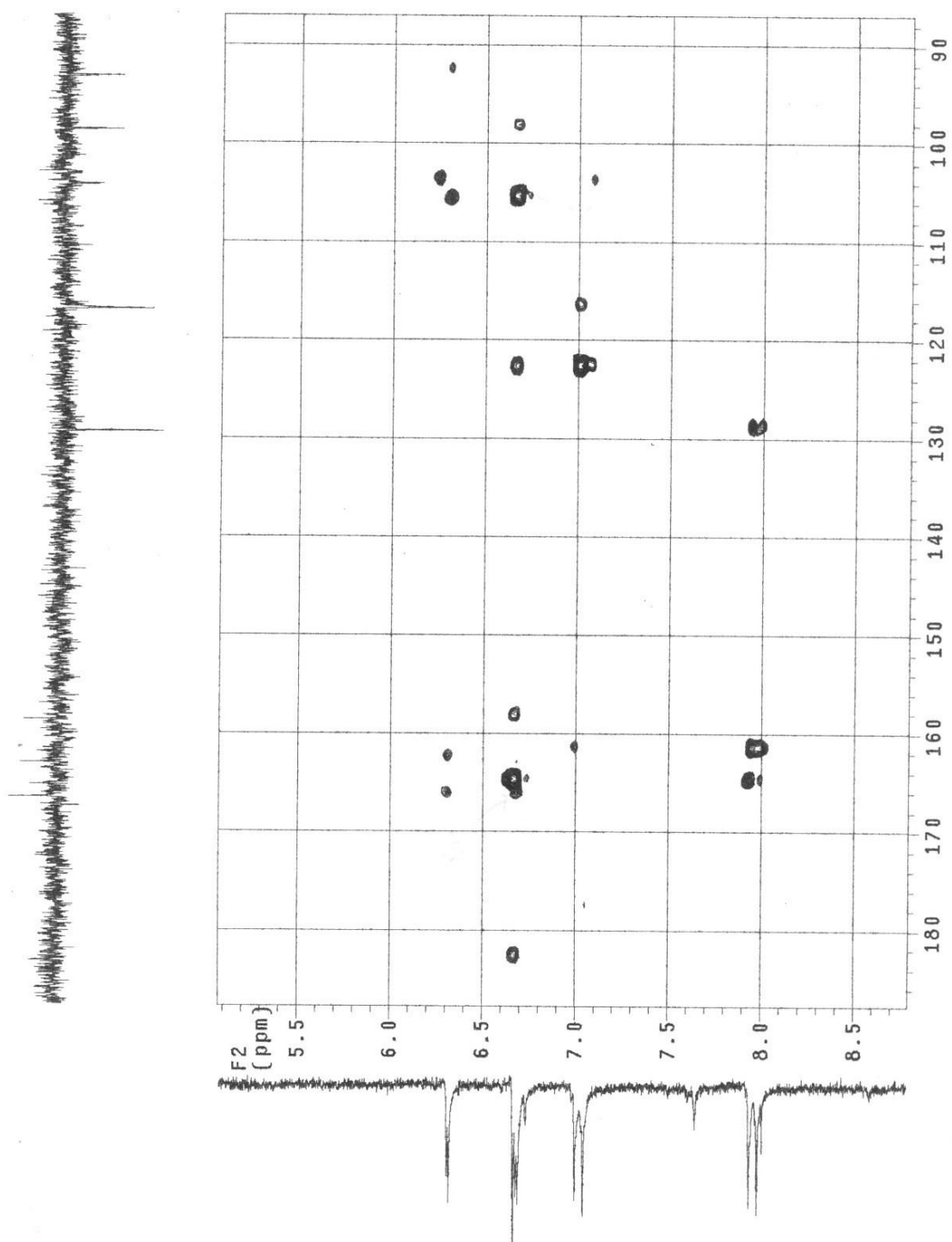


Figura 180: expansão do espectro de correlação heteronuclear HMBC – ^1H x ^{13}C de Pc-3

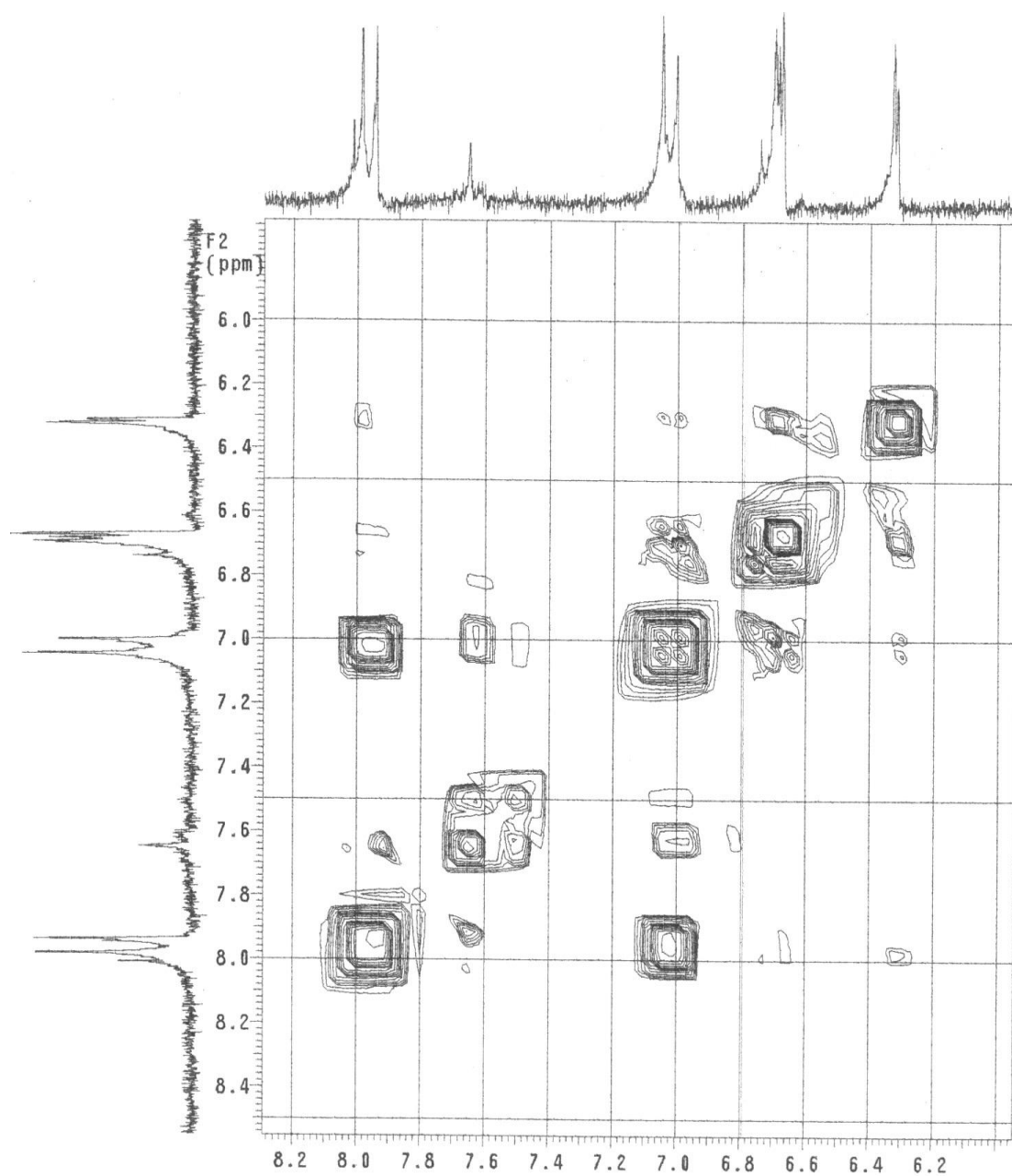


Figura 181: expansão do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-3

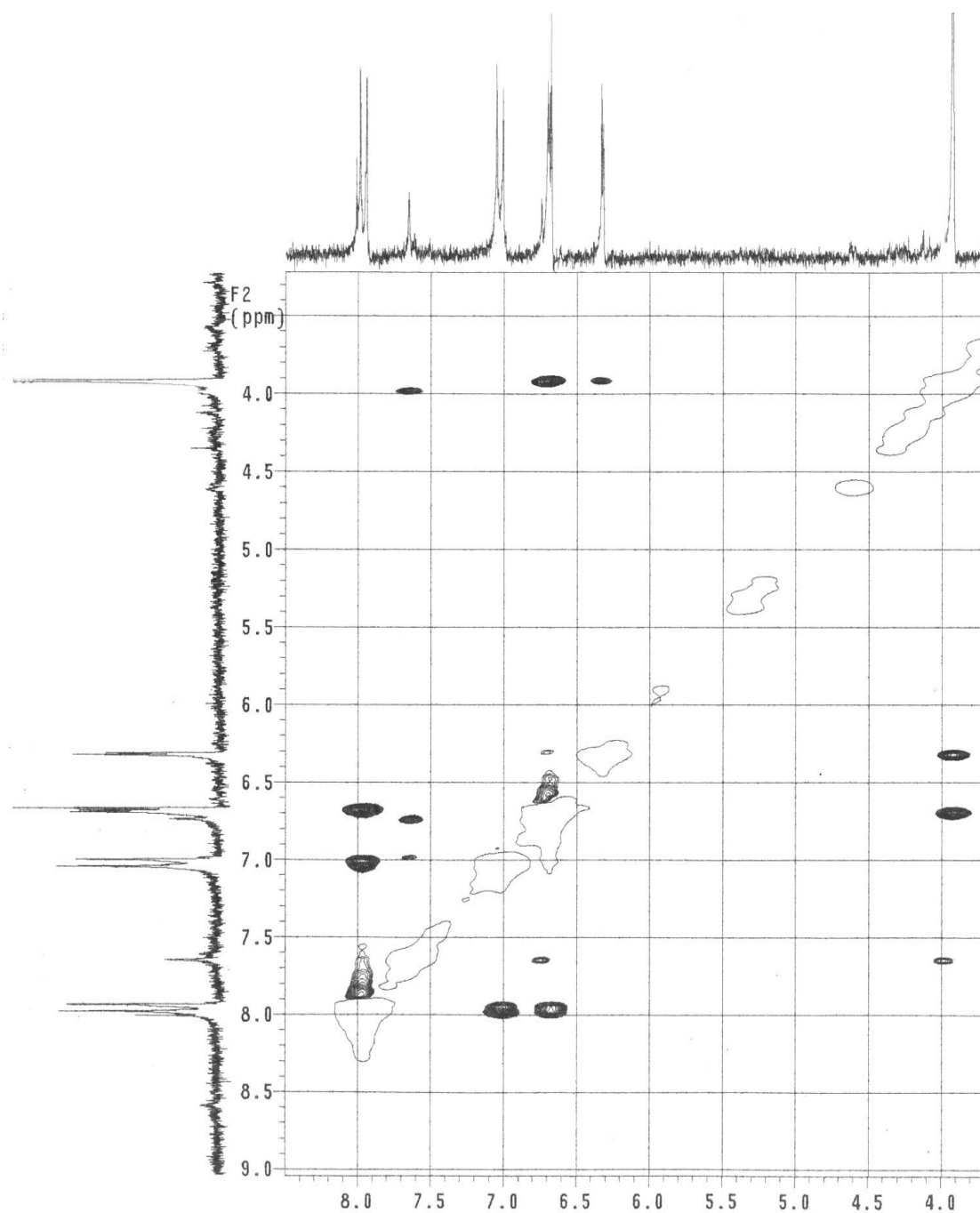


Figura 182: expansão do espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-3

7.4 – ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE Pc-4

A substância codificada por Pc-4 apresentou-se com um aspecto oleoso, de cor amarelada e solúvel em piridina.

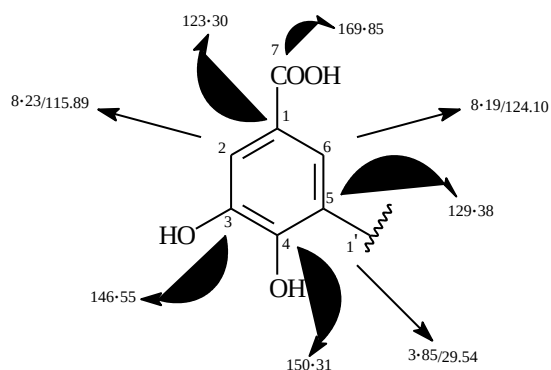
O espectro de IV (Figura 183, p. 253) apresentou uma banda larga de média intensidade em 3.438 cm^{-1} sugestiva da presença de hidroxila fenólica na substância analisada (PAVIA et al, 2001). Em 2.560 cm^{-1} observou-se uma banda de pequena intensidade característica de estiramento O-H de ácido, Em 1.686 cm^{-1} foi observada uma banda característica da presença de carbonila. Os sinais em 1.599 , 1.558 e 1443 cm^{-1} são sugestivos de ligação de C=C de anel aromático. Além disso, foram vistas bandas de média e forte intensidade em 1.300 e 1.215 cm^{-1} sugestivas de estiramento C-O de ácido e C-O de álcool, respectivamente. Em 989 , 949 e 893 cm^{-1} foram observadas bandas sugestivas de deformação O-H e de anel aromático tetrassubstituído (PAVIA, et al, 2001; SILVERSTEIN et al, 1994).

O espectro de RMN de ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) mostrou a presença de apenas dois sinais para prótons aromáticos em δ 8,23 (d, $J=1,75\text{ Hz}$, 1H) e 8,19 (d, $J=1,75\text{ Hz}$, 1H), cuja disposição sugere acoplamento *meta* e a presença de um anel aromático tetrassubstituído (Figuras 184 e 185, p. 254 e 255). O espectro mostrou também sinais de absorção em: δ 7,21 (t, $J=7,35\text{ Hz}$, 1H), 5,81 (t, $J=7,2\text{ Hz}$, 1H), 5,34 (ql, $J=5,5\text{ Hz}$, 1H) (Figura 189, p. 255). As absorções em δ 3,85 (d, $J=7,2\text{ Hz}$, 2H), 2,67 (t, $J=7,7\text{ Hz}$, 2H), 2,44-2,40 (m, 8H), 2,20 (m, 8H) e 2,15 (m, 2H) sugerem deslocamentos para prótons metilênicos. Além disso, os sinais em 1,84 (s, 3H), 1,69 (s, 3H) e 1,65 (s, 6H) permitem sugerir a presença de quatro grupos metílicos na molécula (Figura 186, p. 255).

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) mostrou a presença de 27 sinais para carbonos (Figuras 187 e 188, p. 256 e 257), sendo dez para carbonos não-hidrogenados (δ : 123,30, 146,55, 150,31, 129,38, 169,85, 136,40, 134,79, 133,81, 132,25 e 170,66, sendo que os deslocamentos em δ 169,85 e 170,66 são sugestivos da presença de grupos carboxílicos na molécula), seis para carbonos metínicos (δ : 115,89, 124,10, 123,79, 125,80, 142,44 e 125,10), sete para carbonos metilênicos [δ : 29,54, 40,40, 27,41, 39,42, 28,80, 28,05 (para dois carbonos)] e quatro para carbonos metílicos (δ : 18,10, 16,71, 16,42 e 26,15).

No HSQC foram vistas correlações de δ 8,19/124,10 e δ 8,23/115,89 (Figura 189, p. 258), sugestivas para as posições 2 e 6, respectivamente. O sinal em δ 8,23 mostrou correlações a longa distância com δ 146,55, 150,31, 169,85 e 124,10 (Figuras 191 e 192, p. 259 e 260), o que permitiu atribuir δ 146,55 e 150,31 para os carbonos com substituintes oxigenados das posições 3 e 4, δ 169,85 para o grupo ácido na posição 7 e δ 124,10 para o C-6, respectivamente. Já o sinal em δ 8,19 mostrou correlação no HMBC com δ : 150,31 169,85, 115,89 e 29,54 (Figuras 191 a 193, p. 259 e 260), o que corroborou o deslocamento em δ 150,31 e 169,85 para os C-4 e C-7, respectivamente, além de confirmar δ 115,89 para o C-2 e, sugerir, δ 29,54 para o carbono metilênico da posição 1'. Conseqüentemente, o deslocamento em δ 123,30 foi atribuído ao C-1.

A correlação direta de δ 3,85/29,54 (Figura 190, p. 258), a $^2J_{\text{CH}}$ de δ 3,85/129,38 e a $^3J_{\text{CH}}$ de δ 3,85/150,31 (Figura 193, p. 260) permitiram confirmar δ 29,54 para o C-1', δ 129,38 para o C-5 e reafirmar δ 150,31 para o C-4.



A correlação direta de δ 5,81/123,79, δ 2,15/40,40 e de 1,84/16,71 (Figuras 189 e 190, p. 258) e a longa distância de δ 5,81/29,54, 40,40 e 16,71 (Figura 191, p. 259) permitiu propor δ 123,79, 40,40 e 16,71 para os carbonos das posições 2', 4' e 17', respectivamente. Os hidrogênios metílicos da posição 17' em δ 1,84 mostraram correlações no HMBC com δ 136,40, 123,79 e 40,40 (Figuras 191 a 193, p. 259 e 260), que juntamente com as correlações de δ 3,85/129,38 e 123,79 e de δ 2,15/136,40 (Figura 193, p. 260) possibilitou atribuir δ 136,40, 123,79 e 40,40 para os C-3', C-2' e C-4'.

O sinal em δ 2,15 ainda mostrou correlações no HMBC com δ 27,41, 123,79, 125,80 e 16,71 (Figuras 191, 193 e 195, p. 259, 260 e 261), reafirmando δ 123,79 e 16,71 para os C-2' e C-17' e, sugerindo, δ 27,41 e 125,80 para os C-5' e C-6'. As correlações a $^1J_{(CH)}$ de δ 2,20/27,41 (Figura 190, p. 258) e de δ 5,34/125,80 (Figura 189, p. 258), além das correlações a $^2J_{(CH)}$ de δ 2,20/ 40,40 e 125,80 (Figuras 191, 193 e 195, p. 259, 260 e 261), de δ 5,34/27,41 (Figura 194, p. 261) e a $^3J_{(CH)}$ de δ 2,20/136,40 e 134,79 (Figura 193, p. 260) e δ 5,34/39,42 e 16,42 (Figura 194, p. 261) confirmou o deslocamento dos C-5' e C-6' e sugeriu δ 134,79, 39,42 e 16,42 para os C-7', C-8' e C-18', respectivamente. Os C-8' e C-18' mostraram correlação direta com δ 2,20 e 1,65 (Figura 190, p. 258), respectivamente, que aliada às correlações no HMBC de δ 2,20/134,79, 125,80 e 16,42 e de δ 1,65/134,79, 125,80 e 39,42 (Figuras 193 e 195, p. 260 e 261) confirmaram δ 2,20/39,42 para o C-8' e δ 1,65/16,42 para o C-18'.

Outras correlações foram vistas no HMBC entre:

- δ 2,20/142,44, δ 2,44-2,40/142,44, 39,42, 134,79 e 133,81 (Figuras 193 e 195, p. 260 e 261), que juntamente com a correlação vista no HSQC de δ 2,44-2,40/28,80 (Figura 190, p. 258) e δ 7,21/142,44 (Figura 189, p. 258) permitiram atribuir δ 28,80 e 142,44 para os C-9' e C-10' e, sugerir, δ 133,81 para o C-11'.

- δ 7,21/133,81, 170,66, 39,42 (Figuras 192 e 194, p. 260 e 261) que confirmou δ 133,81 para o C-11' e, ainda permitiu sugerir, que o segundo grupo carboxílico, estava ligado ao C-11'. A correlação no HSQC entre δ 2,67/28,05 (Figura 190, p. 258) e no HMBC entre δ 2,67/170,66 (Figura 193, p. 260) confirmou a presença da carbonila ácida na posição 19' (ligado ao C-11') e sugeriu δ 2,67/28,05 para a posição 12'.

- δ 2,67/133,81, 28,05, 142,44 e 125,10 (Figuras 191, 193 e 195, p. 260 e 261), além das correlações diretas de δ 2,44-2,40/28,05 (Figura 190, p. 258) e δ 5,34/125,10 (Figura 189, p. 258), permitiram confirmar δ 28,05 para o C-12', sugerir o outro sinal em δ 28,05 para o C-13' e δ 125,10 para o C-14'.

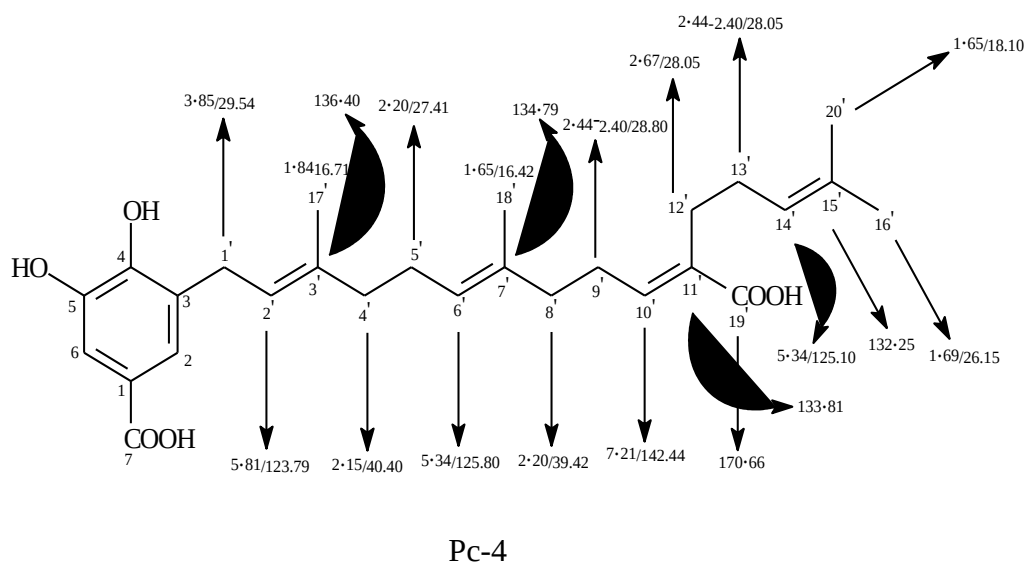
- δ 2,44-2,40/28,05, 125,10, 133,81, 132,25 (Figuras 193 e 195, p. 260 e 261) confirmou δ 125,10 para o C-14' e sugeriu δ 132,25 para o C-15'.

- δ 1,65/132,25, 125,10, 26,15 e δ 1,69/132,25, 125,10 e 18,10 (Figuras 193 e 195, p. 260 e 261). Tais atribuições permitiram confirmar δ 132,25 para o C-15' e δ 26,15 e 18,10 para as metilas das posições 20' e 16', respectivamente, ligadas ao C-15'.

A estereoquímica das duplas ligações dos carbonos 2', 6' e 10' foram confirmadas por análise dos espectros de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY (Figuras 197 e 198, p. 263). Foi possível observar correlação da Me-17' (δ 1,84)/H-1' (δ 3,85) e do H-2' (δ 5,81)/H-4' (δ 2,15). Além disso, não foi vista correlação do H-2'/Me-17', o que corrobora a estereoquímica *trans* para o C-2'. Para o C-6' foi definida

também a configuração *trans* corroborada pelas correlações da Me-18' (δ 1,65)/H-5' (δ 2,20) e H-9' (δ 2,44) e pela ausência de correlação da Me-18'/H-6'. A estereoquímica *trans* do C-10' foi determinada pela presença de correlação, apenas, de H-10' (δ 7.21)/H-9' (δ 2.44-2.40) e H-8' (δ 2.20) e pela ausência de correlação do H-10' (δ 7,21)/H-12' (2,67).

O espectro de massas (Figura 199, p. 264) de **Pc-4** revelou o pico do íon molecular em m/z 455.12 [$M^+ - 1$], que está de acordo com a fórmula molecular $C_{27}H_{36}O_6$, sugerida para esse composto.

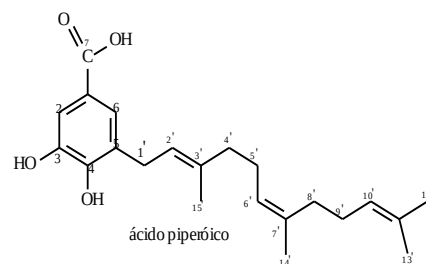
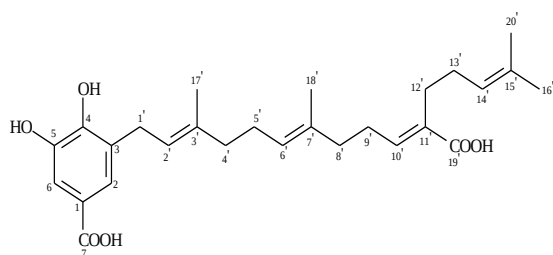


Os dados relatados, sumarizados na tabela 24 (p. 251), juntamente com comparação de valores de amostra semelhante da literatura (tabela 25, p. 252), permitem elucidar **Pc-4** como: 3,4-dihidroxi-5-(11'-carboxila-3',7',15'-trimetilhexadeca-2'E, 6'E, 10'E, 14'-tetraenil) ácido benzóico, substância inédita como produto natural.

TABELA 24: dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pc-4 e correlações obtidas em experimentos HMQC e HMBC registrados em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, J(Hz) e δ (ppm).

	^1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$	^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$		
	δC	δH	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C				
1	123.3			
3	129.4		2H-1'	
4	150.3			H-2, H-6, 2H-1'
5	146.6		H-6	
7	169.9			H-2, H-6
3'	136.4		2H-1', Me-17'	2H-4', 2H-5'
7'	134.8		2H-8', Me-18'	2H-5', 2H-9'
11'	133.8		H-10', 2H-12'	2H-13', 2H-9'
15'	132.3		Me-16', Me-20'	2H-13'
19'	170.7			H-10', 2H-12'
CH				
2	124.1	8.19 (d, J =1,7 Hz, 1H)		H-6
6	115.9	8.23 (d, J =1,7 Hz, 1H)		H-2
2'	123.8	5.81 (t, J =7,2Hz, 1H)	2H-1'	2H-4', Me-17'
6'	125.8	5.34 (brq, J =5,5 Hz, 2H)	2H-5'	2H-4', 2H-8', Me-18'
10'	142.4	7.21 (t, J =7,3 Hz, 1H)	2H-9'	2H-8', 2H-12'
14'	125.1	5.34 (brq, J =5,5 Hz, 2H)	2H-13'	2H-12', Me-16', Me-20'
CH₂				
1'	29.5	3.85 (d, J =7,2Hz, 2H)	H-2'	H-2
4'	40.4	2.15 (m, 2H)	2H-5'	H-2', CH-17'
5'	27.4	2.20 (m, 4H)	2H-4', H-6'	
8'	39.4	2.20 (m, 4H)	2H-9'	H-6', H-10', CH-18'
9'	28.8	2.44-2.40 (m, 4H)	2H-12'	
12'	28.1	2.67 (brt, J =7,7 Hz, 2H)	2H-13'	H-10'
13'	28.1	2.44-2.40 (m, 4H)	2H-8'	
CH₃				
16'	26.2	1.69 (s, 3H)		CH-20'
17'	16.7	1.84 (s, 3H)		H-2', 2H-4'
18'	16.4	1.65 (s, 6H)		H-6', 2H-8'
20'	18.1	1.65 (s, 6H)		CH-16'

TABELA 25: dados comparativos de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pc-4 com dados de RMN de ^1H (360 MHz) e ^{13}C (90 MHz) da literatura registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ (ppm) (AMPOFO et al, 1987)



	δC	δH		δC	δH
C			C		
1	123,30		1	127,8	
3	146,55		3	147,9	
4	150,31		4	142,9	
5	129,38		5	120,6	
7	169,85		7	172,2	
3'	136,40		3'	138,4	
7'	134,79		7'	135,7	
11'	133,81		11'	131,3	
15'	132,25		15'	-	
19'	170,66		19'	-	
CH			CH		
2	115,89	8,23 (d, J=1,7 Hz, 1H)	2	115,0	7,51 (sl)
6	124,10	8,19 (d, J=1,7 Hz, 1H)	6	125,0	7,51 (sl)
2'	123,79	5,81 (t, J=7,2Hz, 1H)	2'	121,8	5,31 (tl, J=6,8 Hz)
6'	125,80	5,34 (brq, J=5,5 Hz, 2H)	6'	123,8	5,15 (td, J=6,8 Hz)
10'	142,44	7,21 (t, J=7,3 Hz, 1H)	10'	124,4	5,08 (td, J=5,3 e 1,3 Hz)
14'	125,10	5,34 (brq, J=5,5 Hz, 2H)	14'	-	
CH			CH		
1'	29,54	3,85 (d, J=7,2Hz, 2H)	1'	28,5	3,38 (d, J=7,1 Hz)
4'	40,40	2,15 (m, 2H)	4'	39,7	1,87-2,21 (m)
5'	27,41	2,20 (m, 4H)	5'	26,4	1,87-2,21 (m)
8'	39,42	2,20 (m, 4H)	8'	32,1	1,87-2,21 (m)
9'	28,80	2,44-2,40 (m, 4H)	9'	26,7	1,87-2,21 (m)
12'	28,05	2,67 (t, J=7,7 Hz, 2H)	12'	-	
13'	28,05	2,44-2,40 (m, 4H)	13'	-	
CH₃		169,85	CH₃		
16'	18,10	1,65 (s, 6H)	12'	25,6	1,58 (s)
17'	16,71	1,84 (s, 3H)	13'	17,6	1,76 (s, J=0,6 Hz)
18'	16,42	1,65 (s, 6H)	14'	23,5	1,61 (s)
20'	26,15	1,69 (s, 3H)	15'	16,0	1,66 (s)

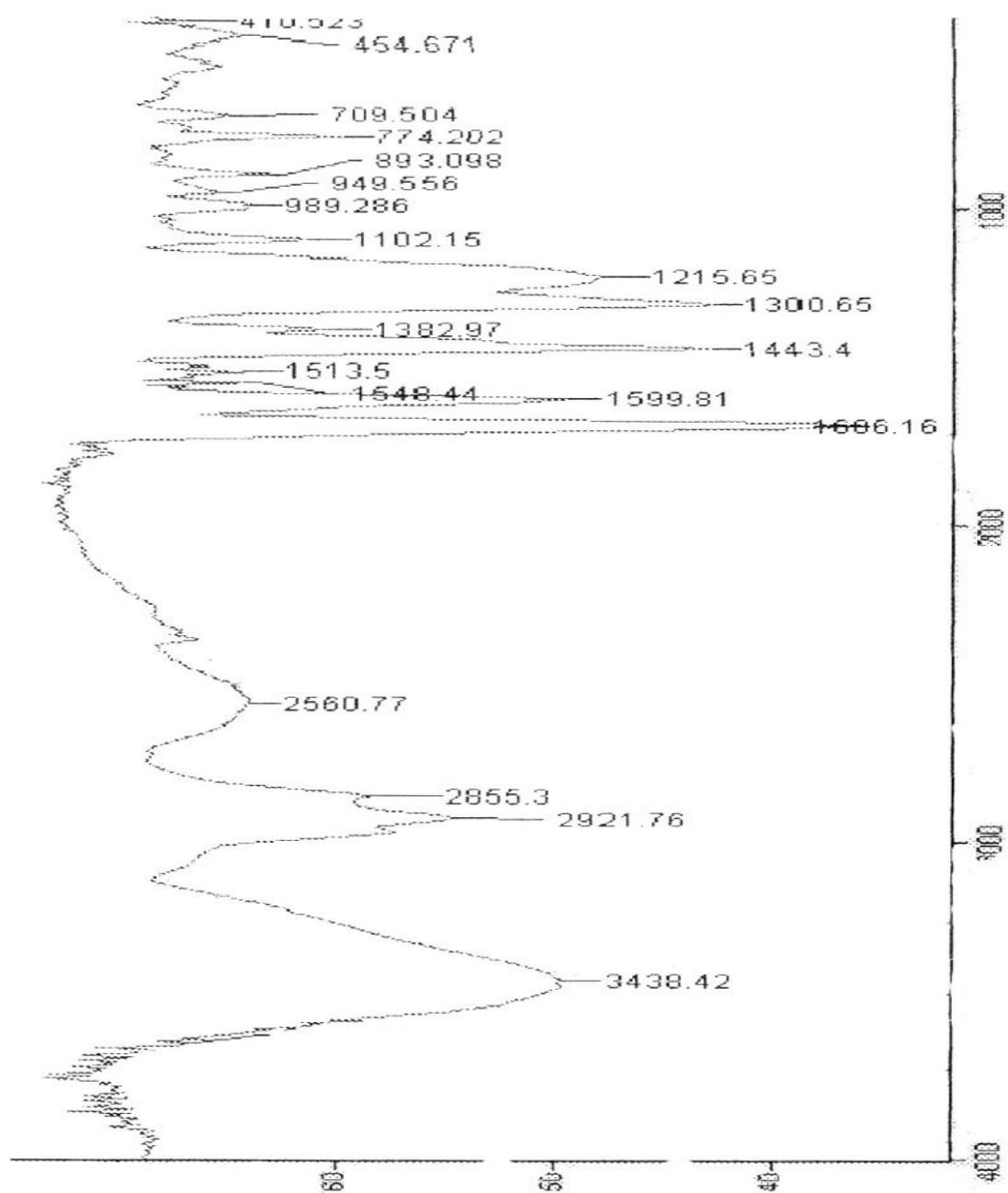


Figura 183: espectro no IV (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-4

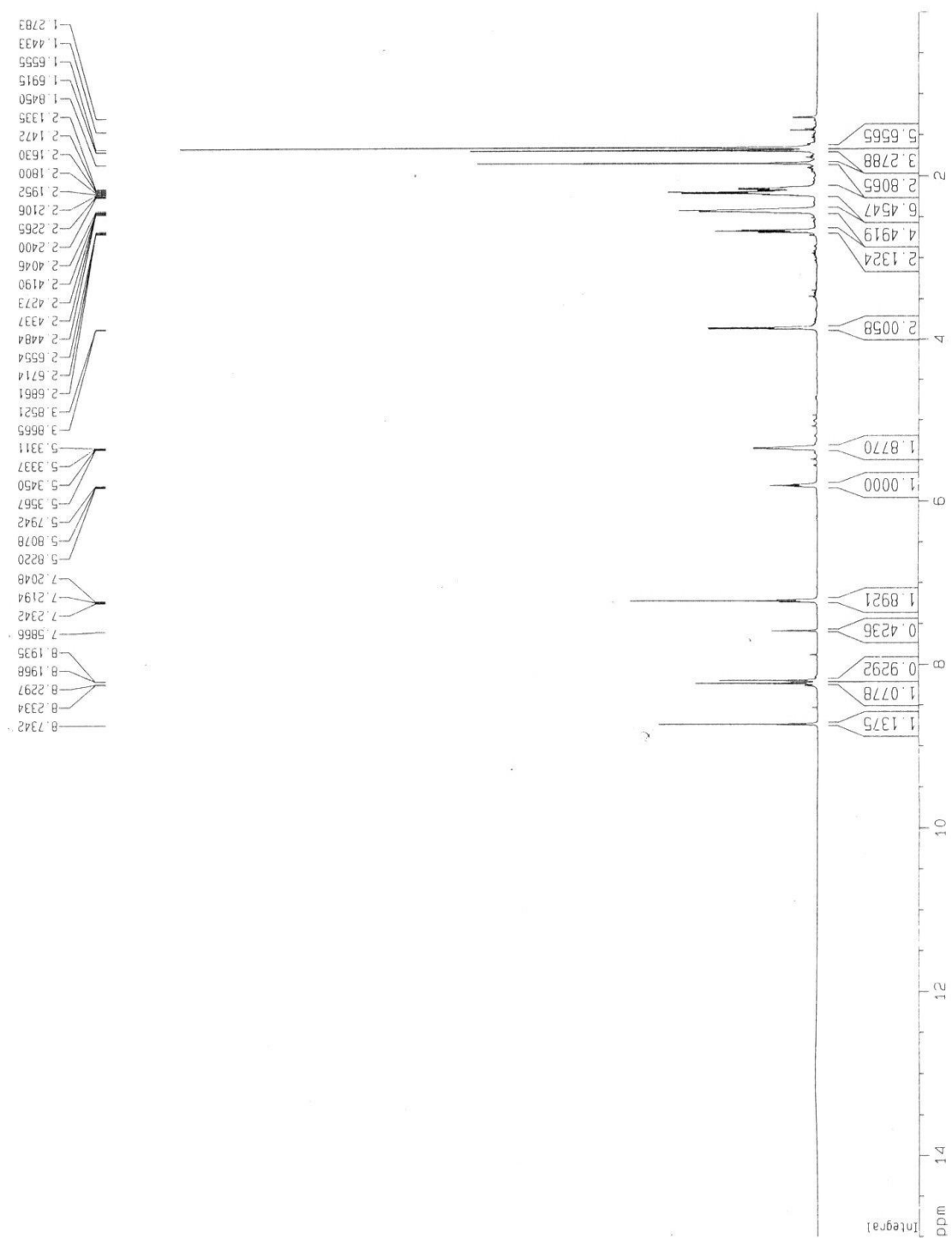
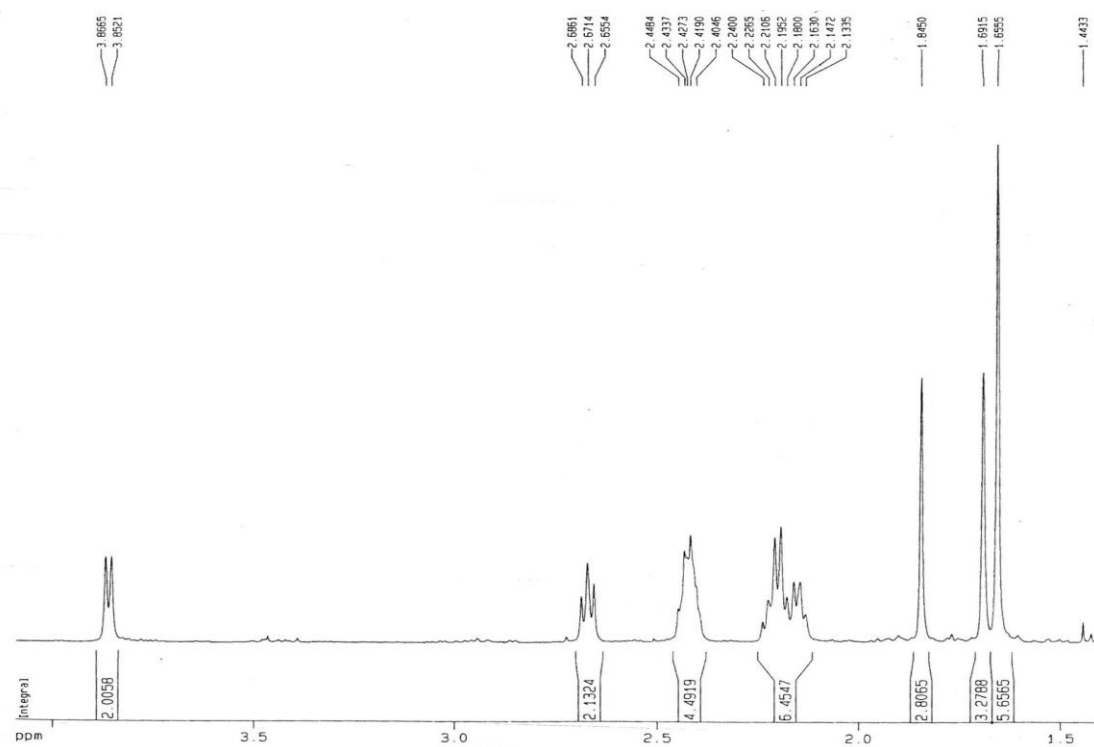
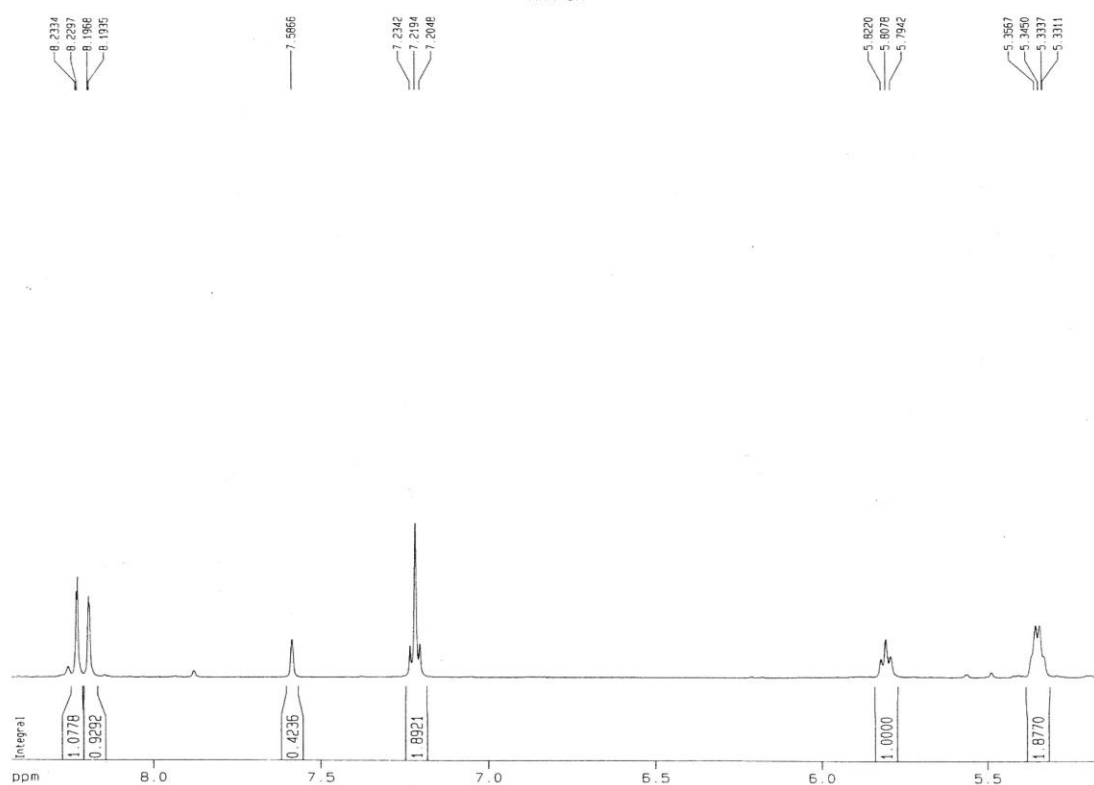


Figura 184: espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4



Figuras 185 e 186: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4

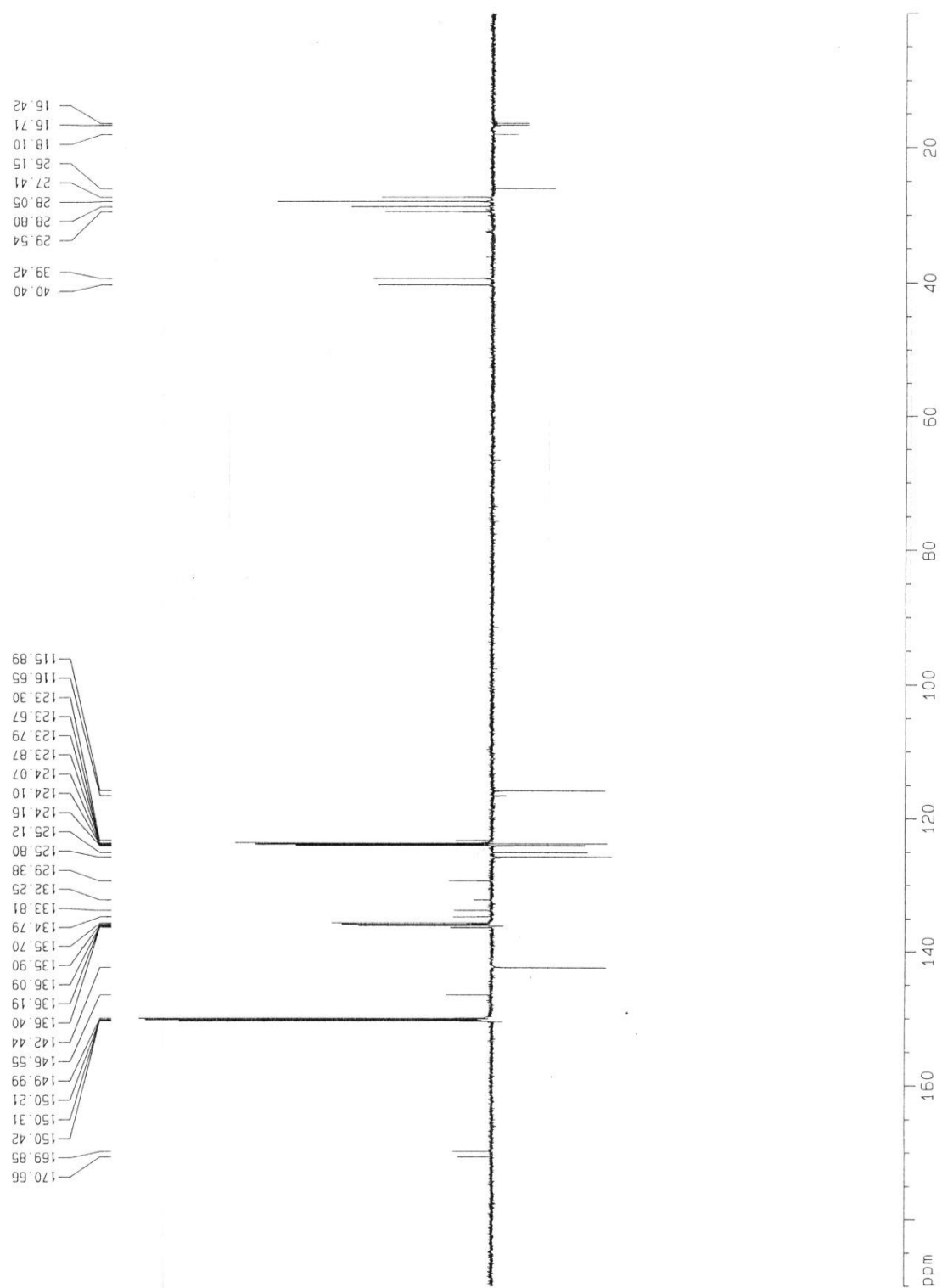


Figura 187: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4

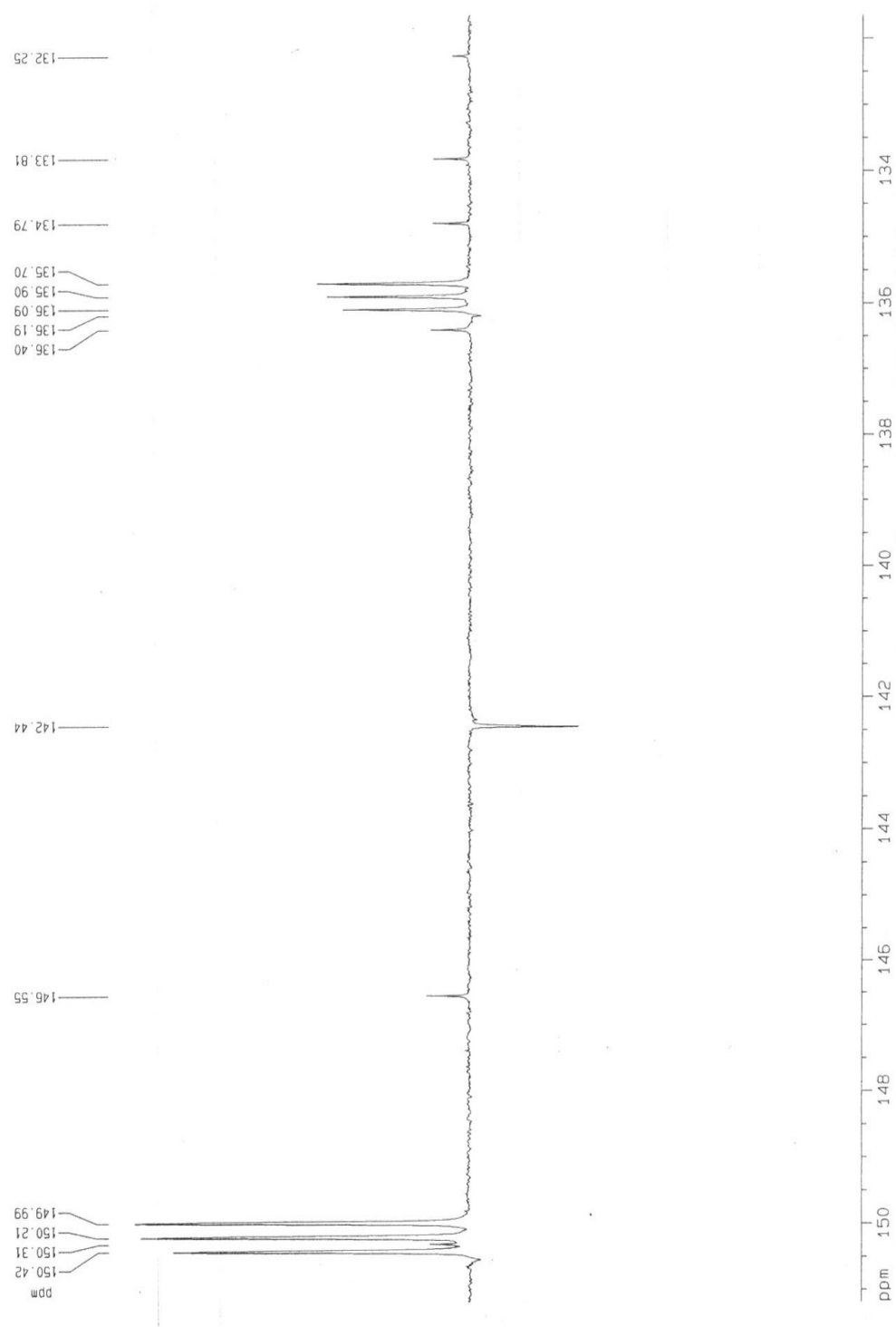
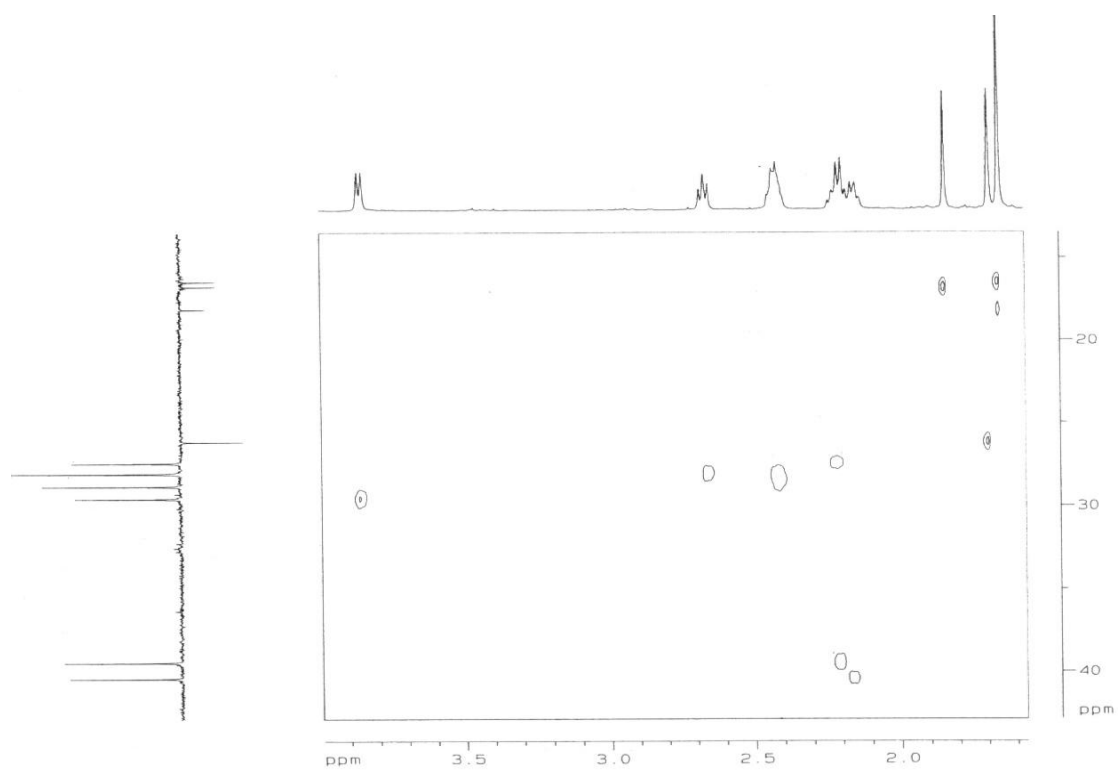
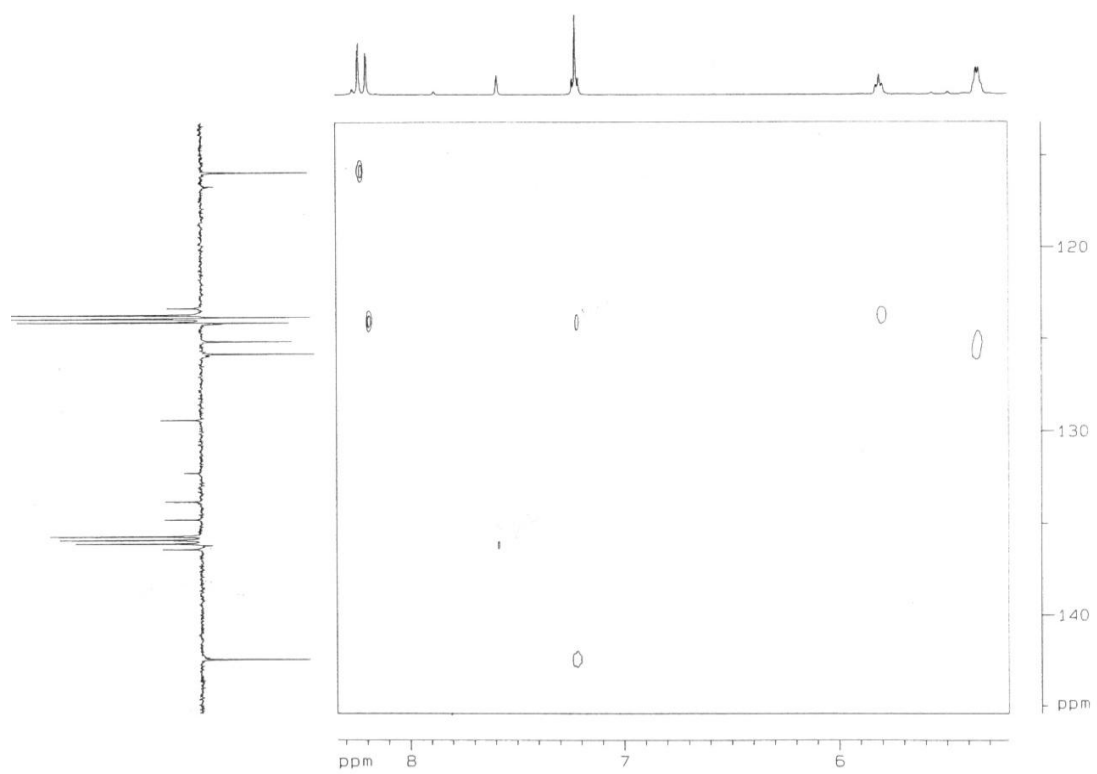


Figura 188: expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de Pc-4



Figuras 189 e 190: expansões do espectro de correlação heteronuclear HSQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4

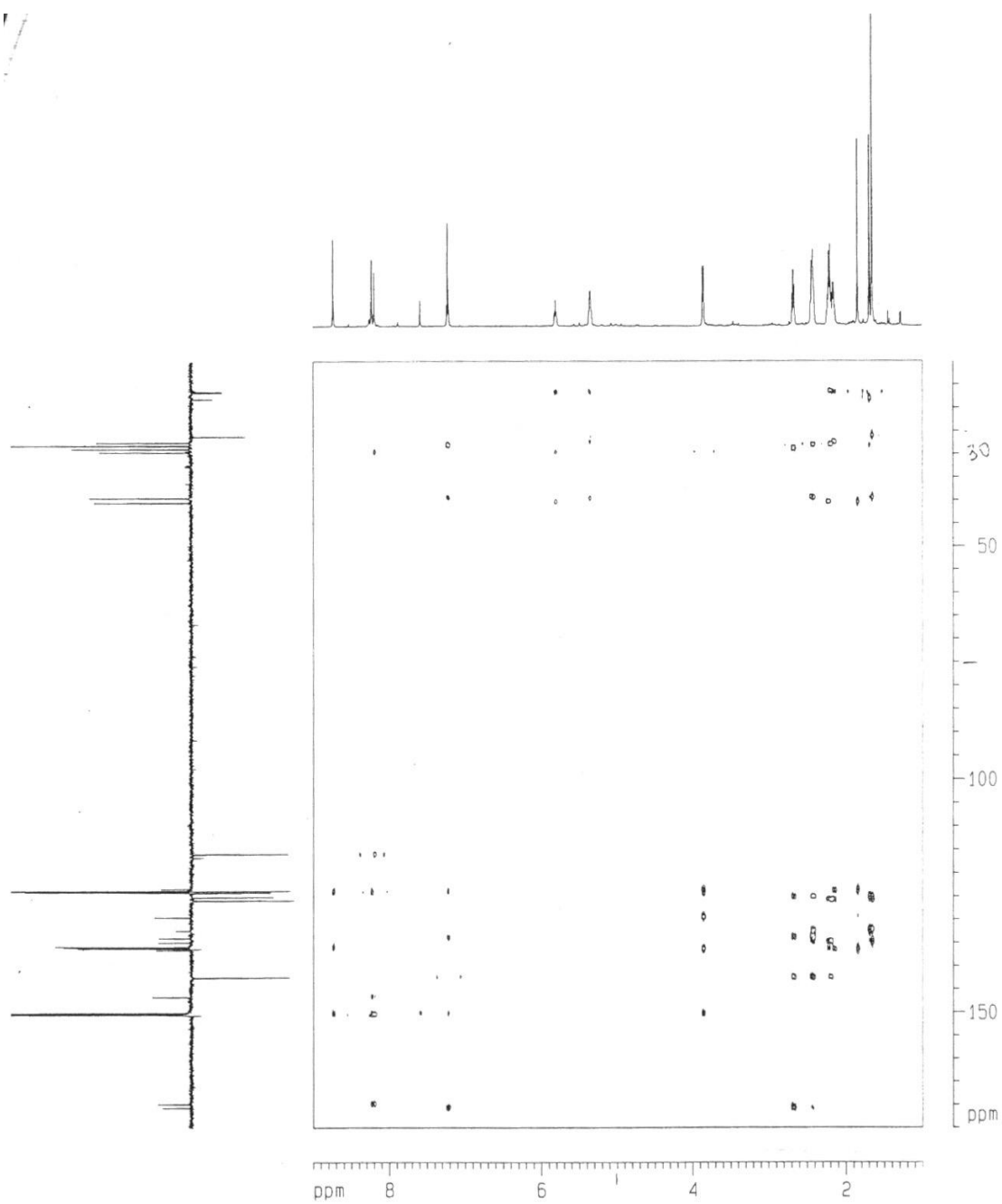
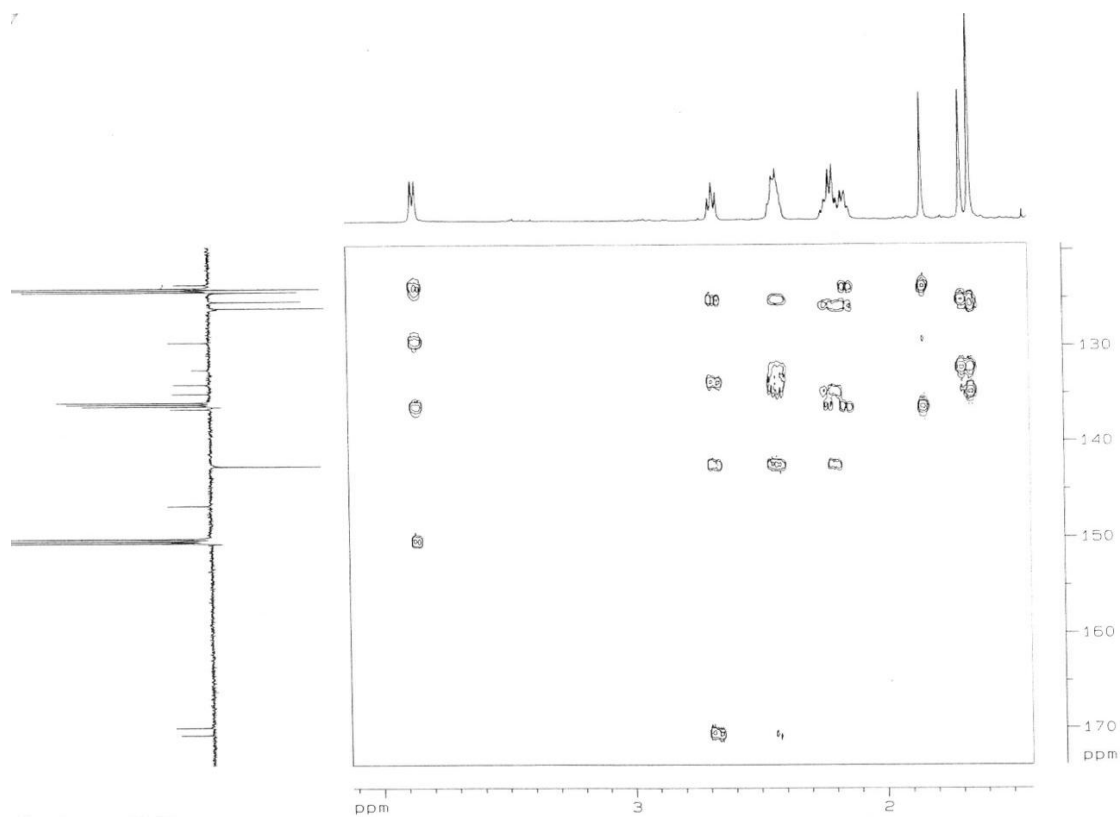
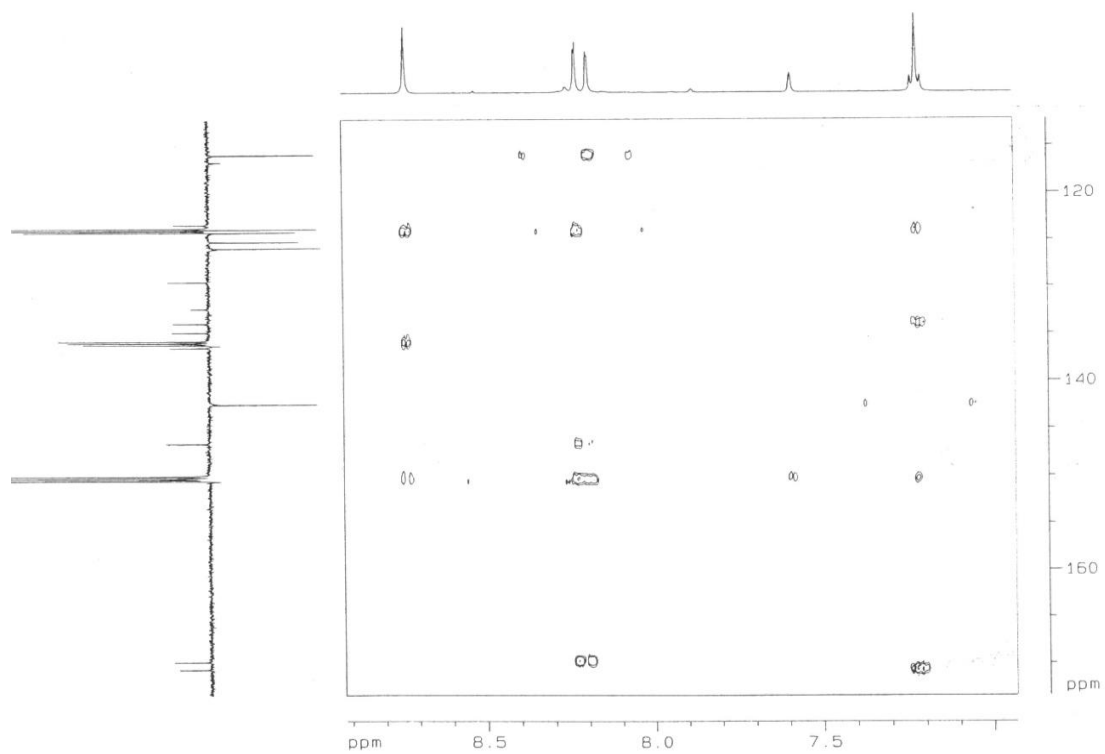
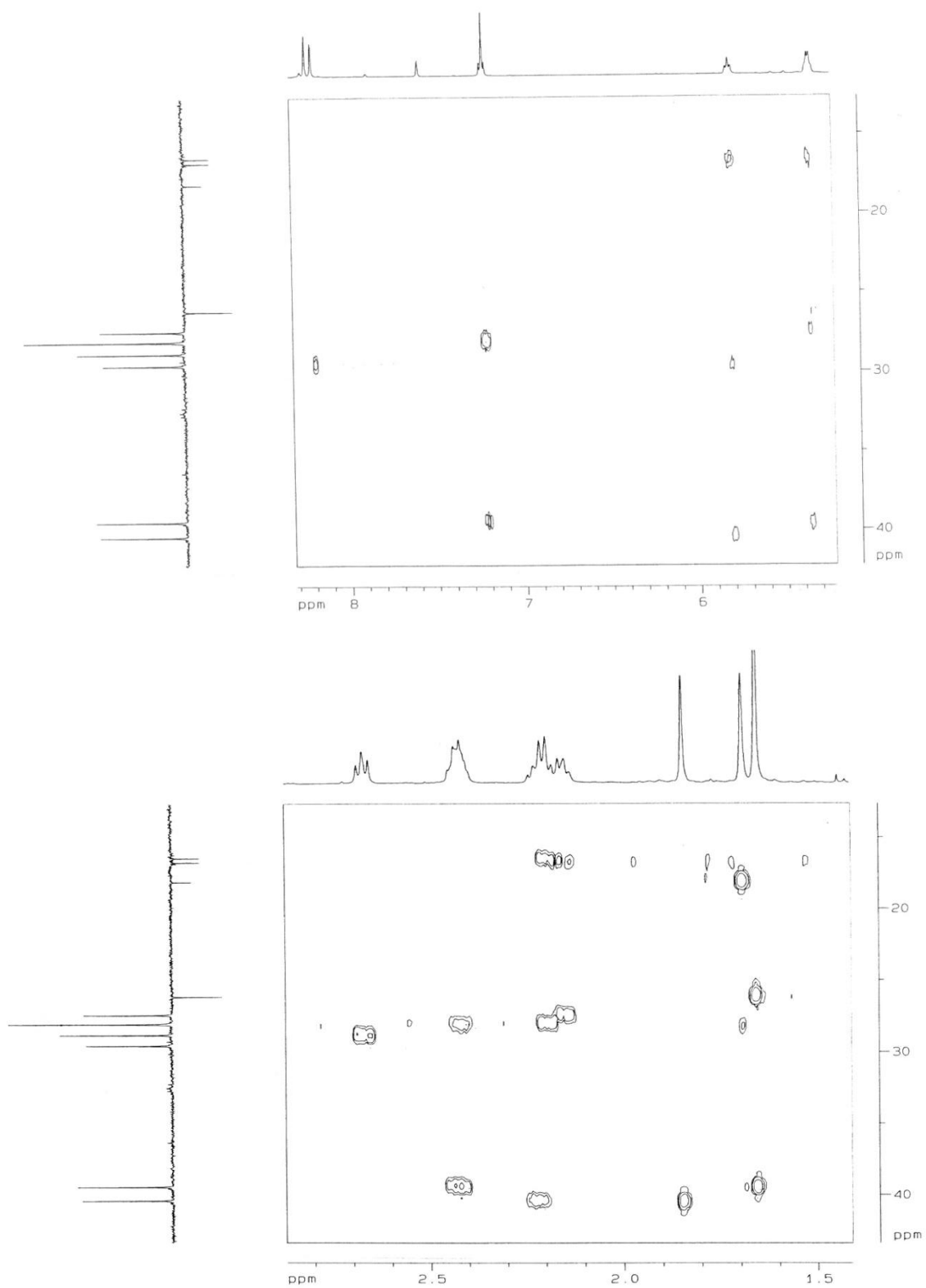


Figura 191: espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4



Figuras 192 e 193: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4



Figuras 194 e 195: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-4

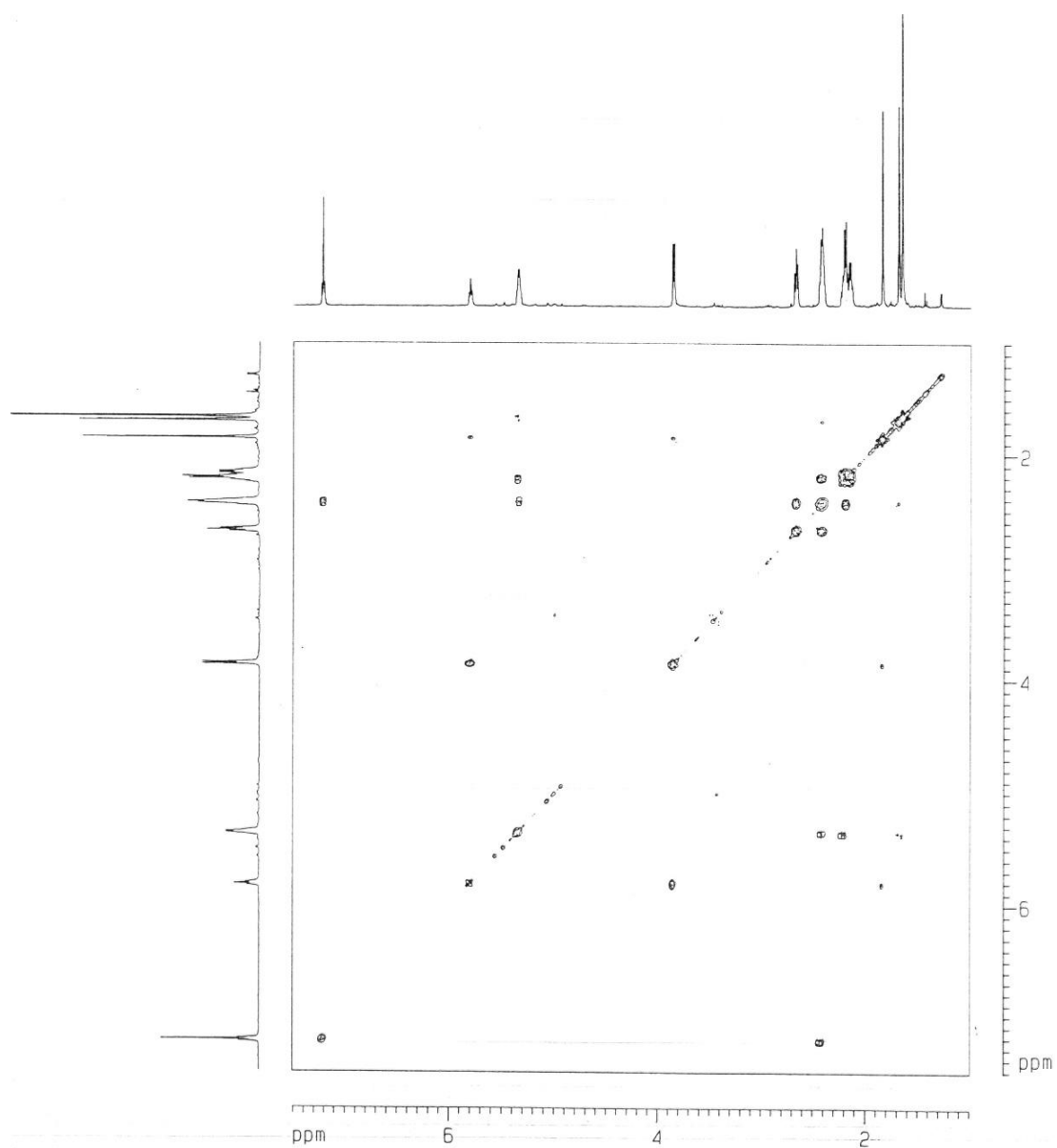
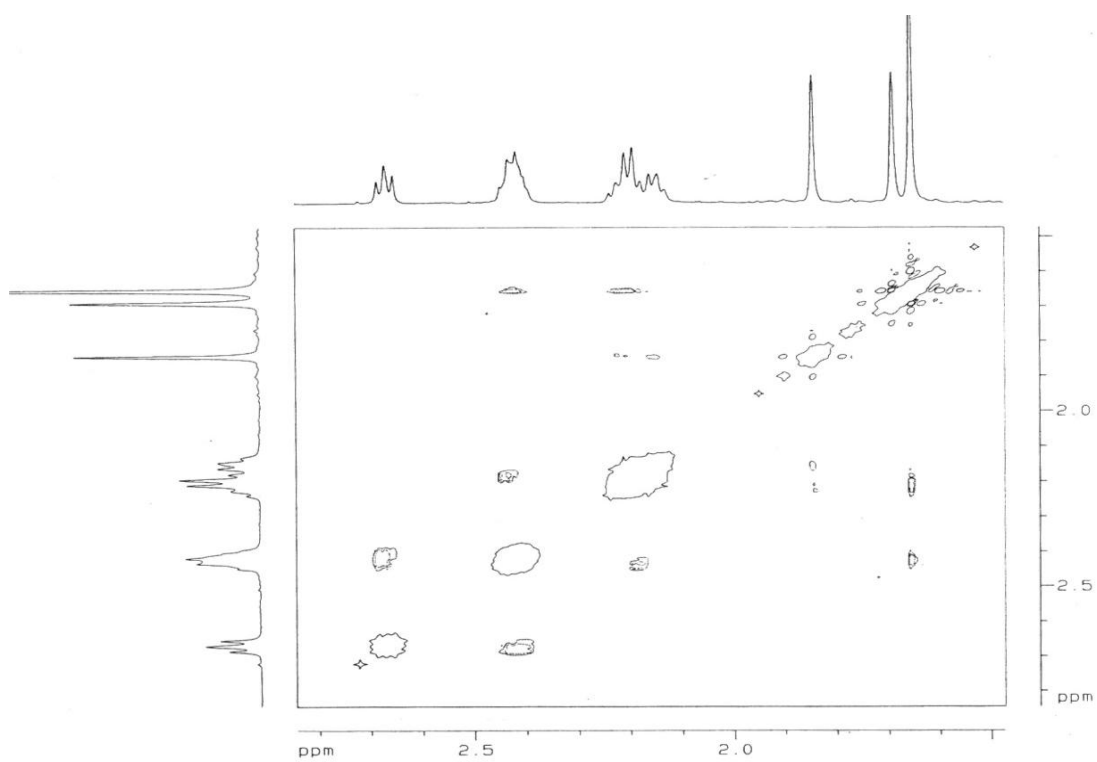
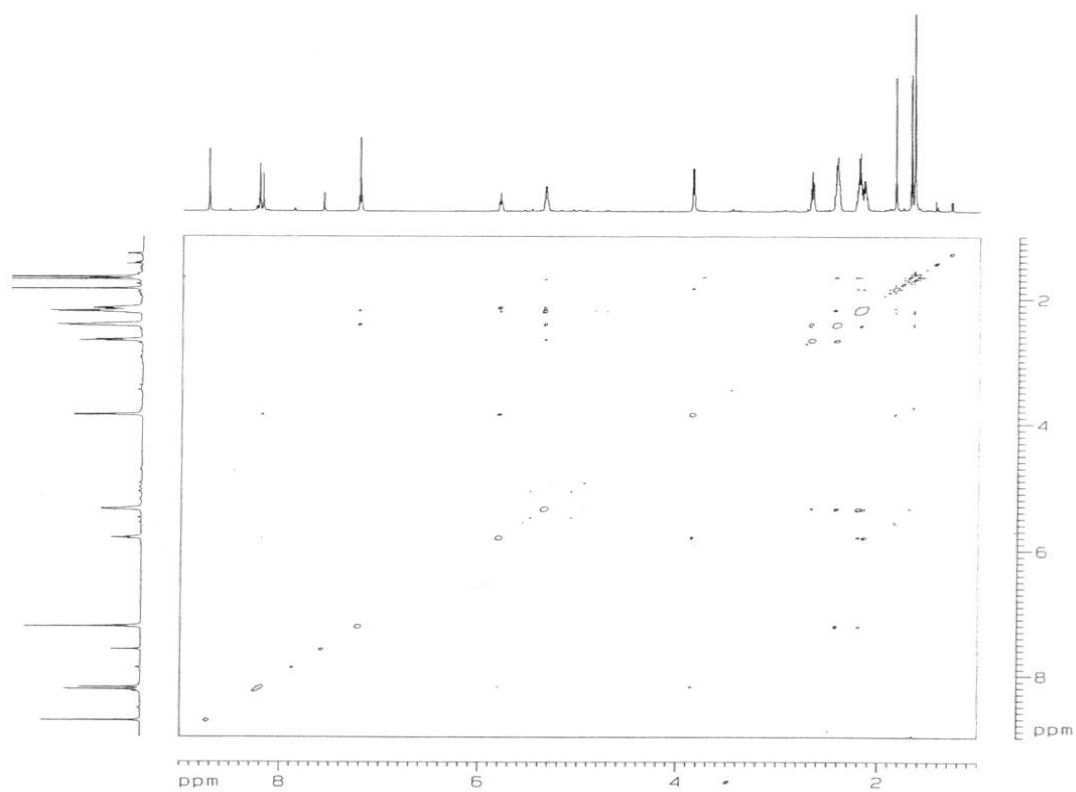


Figura 196: expansão do espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-4



Figuras 197 e 198: espectros de correlação homonuclear NOESY – ^1H x ^1H de Pc-4

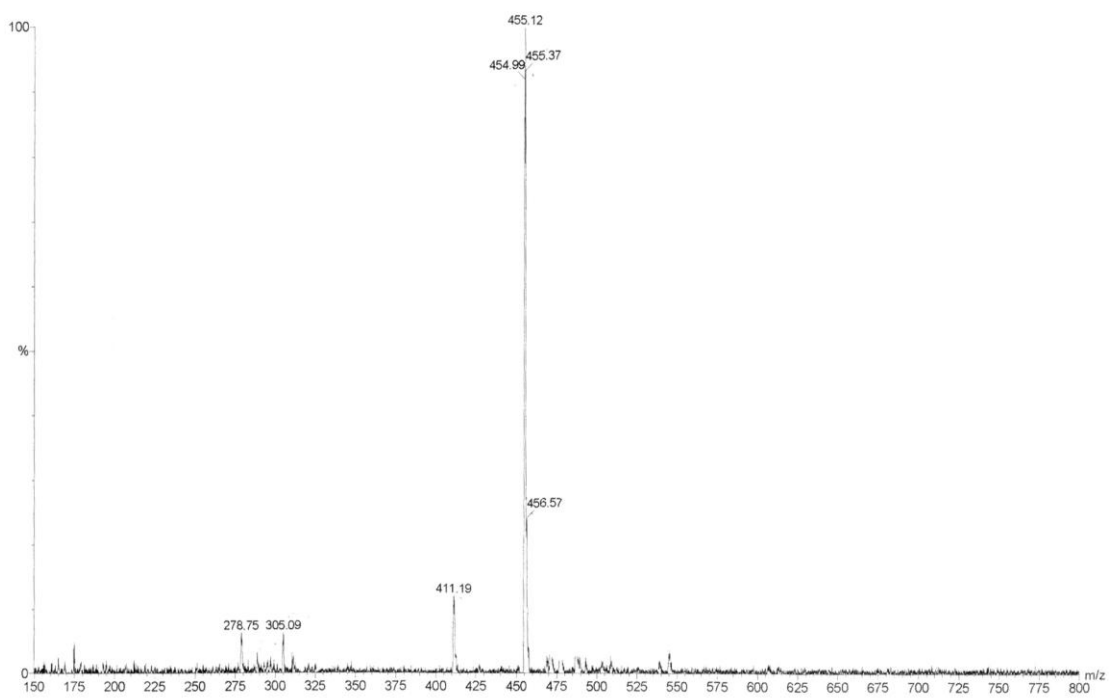


Figura 199: espectro de massas de Pc-4

7.5 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pc-5

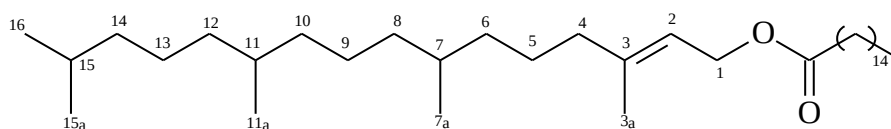
O constituinte químico codificado por Pc-5 apresentou-se como uma substância oleosa e amarelada.

O espectro de IV (Figura 200, p. 270) mostrou duas bandas intensas em 2.926 e 2.854 cm^{-1} características de estiramento C-H de grupos metílicos, metilênicos e/ou metínicos. Em 1.734 cm^{-1} foi possível observar uma banda intensa sugestiva de carbonila de éster. Em 1.463 cm^{-1} também foi observada uma banda de média intensidade sugestiva de deformação de grupo CH_2 , o que corrobora a presença de grupos metilênicos na molécula. Uma banda um pouco larga e de média intensidade foi vista em 1.172 cm^{-1} , característica de estiramento C-O.

O espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) mostrou a presença dos seguintes sinais: δ 5,31 (t, $J=7,0\text{Hz}$, 1H), 4,56 (d, $J=7,0\text{ Hz}$, 1H), 2,27 (t, $J=7,6\text{ Hz}$, 2H), 1,97 (t, $J=7,6\text{ Hz}$, 2H), 1,66 (sl, 3H), 1,59 (m, 2H), 1,40-1,39 (m, 1H), um envelope de sinais entre δ 1,30-0,9, característicos de hidrogênios alifáticos e absorções em δ 0,9 (t, $J=6,65\text{ Hz}$), 0,84 (d, $J=6,4\text{ Hz}$, 6H), 0,82 (d, $J=5,6\text{ Hz}$, 6H), sugestivos de metilas terpênicas (Figuras 201, 202 e 203, p. 271 e 272).

O espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) experimento APT (Figuras 204 e 205, p. 273), permitiu reconhecer dois sinais de átomos de carbonos não protonados (δ : 173,72 e 142,32), quatro carbonos metínicos, sendo um sugestivo de sp^2 (δ 118,20) e três de sp^3 (δ : 32,73, 32,60 e 27,91), cinco carbonos metílicos [δ : 22,56 (2 carbonos), 19,66, 19,63, 16,26 e 14,06] e 24 carbonos metilênicos [δ : 61,07, 39,78, 39,32, 37,38, 37,31, 37,24, 36,56, 34,29, 31,90, 29,68 (6 carbonos), 29,45, 29,35, 29,24, 29,12, 24,96 (2 carbonos), 24,77, 24,42 e 22,65)].

A presença de 36 átomos de carbono, sendo um deles sugestivo de carbono carbinólico (δ 61,07), aliado a presença de carbonila (δ 173,72; λ 1.734 cm^{-1}) permitiu sugerir uma fórmula molecular = $\text{C}_{36}\text{H}_{70}\text{O}_2$ e sugerir para a estrutura a unidade álcool como tetraisoprênica (C_{20}) e uma ácida como oriunda do ácido palmítico (C_{16}) (PEREIRA-JÚNIOR et al, 1990). A junção entre essas duas unidades pode ser confirmada pelos deslocamentos químicos do C-1 (δ 61,07), pois quando esse átomo de carbono não se encontra esterificado ele absorve em torno de δ 58 ppm e seus átomos de hidrogênio em δ (4,20 d, $J = 7,0$ Hz) (CHAVES, 1996; PEREIRA-JÚNIOR et al, 1990).



No espectro de correlação heteronuclear HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (Figuras 206 e 207, p. 274) foi possível observar correlação de δ 4,61/61,07, sugerindo essa posição para o carbono carbinólico da posição 1. No HMBC (Figura 208 e 209, p. 275) foram vistas as correlações de δ 4,61/173,72, 142,32 e 118,20, o que confirmou o deslocamento para o C-1 e sugeriu δ 173,72, 142,32 e 188,20 para os carbonos das posições 1', 3 e 2, respectivamente. A correlação direta de δ 5,31/118,20 permitiu confirmar δ 5,35 para o hidrogênio da posição 2, posição esta corroborada pelo acoplamento visto no espectro de correlação homonuclear COSY (Figura 210, p. 276) e NOESY - $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (Figura 211, p. 277) entre δ 5,35/4,61. O hidrogênio em δ 5,35 ainda mostrou correlação a $^3J_{(\text{CH})}$ com δ 16,26 e 39,78, o que sugeriu esses deslocamentos para as posições 3a e 4, respectivamente. O deslocamento químico em δ 16,26 é sugestivo de grupo metila que sofreu efeito gama protetor do carbono metilênico ($\text{CH}_2\text{O} - 1$).

As correlações vistas no HMBC de δ 1,97/142,32, 118,20, 24,96 e 16,26 e δ 1,66/142,32, 118,20, 39,78 (Figura 209, p. 275), além das correlações no NOESY de δ 1,97/5,35 e δ 1,97/1,66 (Figura 211, p. 277) permitiu atribuir, através das correlações diretas δ 1,97/39,78 (Figura 207, p. 274) para a posição 4 e δ 1,66/16,26 para a metila 3a e, ainda, sugerir δ 24,96 para a posição 5. No entanto, foram também vistas correlações no HMBC entre δ 2,27/173,72, 24,96 e 29,12 (Figura 209, p. 275), sugerindo que δ 24,96 seja o deslocamento químico para dois átomos de carbono em posições diferentes, fato esse confirmado pela intensidade do sinal no espectro de ^{13}C -APT (Figura 205, p. 273). A correlação vista no COSY de δ 1,97/1,59 (Figura 210, p. 276) permitiu atribuir δ 1,59/24,96 para a posição 5 e, sugerir esse deslocamento, também para a posição 3'. A correlação direta vista entre δ 2,27/34,29, além da correlação no COSY de δ 2,27/1,59, permitiu confirmar δ 2,27 para a posição 2' e δ 1,59 para a 3'.

Todos os outros deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos foram atribuídos através da comparação com dados da literatura (tabela 26, p. 268). Tais dados permitem confirmar que a estrutura química em questão trata-se do palmitato de fitila, conhecida quimicamente por palmitato de 3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-ol, isolada em *Guarea carinata*, uma planta da família Meliaceae (PEREIRA-JÚNIOR et al, 1990), sendo relatada pela primeira vez no gênero *Piper*.

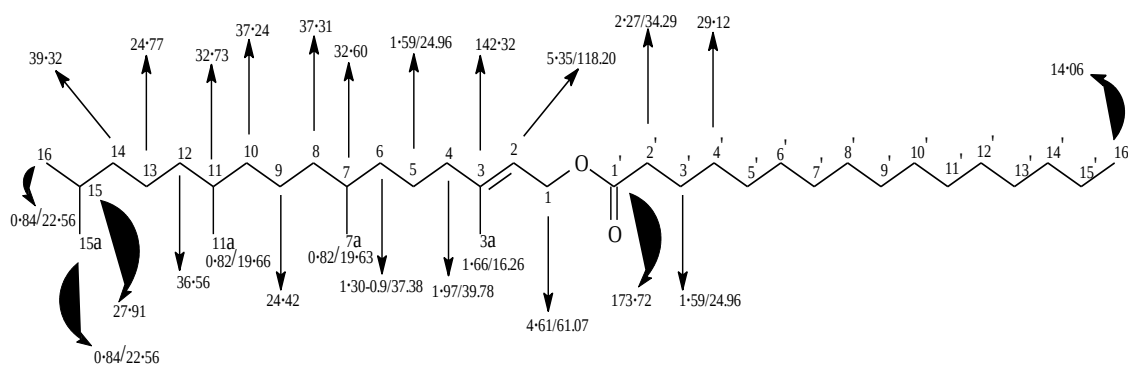


Tabela 26: dados de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em CDCl_3 , J(Hz) e δ (ppm).

	δC	δH	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^2\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^3\text{J})$	NOESY
1	61,07	4,56(d, J=7,0Hz, 2H)			H-2
2	118,20	5,31 (t, J=7,0 Hz, 1H)	H-1	H-4, H3a	H-4, H-1
3	142,32		H-3a	H-1, H-4	
4	39,78	1,97 (t, J=7,6 Hz, 2H)		H-2, H3a	H-2, H-3 ^a
5	24,96	1,59 (m, 2H)	H-4		
6	37,38	1,3-0,9 (m, 2H)			
7	32,60	1,4-1,39 (m, 1H)			
8	37,38	1,3-0,9 (m, 2H)			
9	24,42	1,3-0,9 (m, 2H)			
10	37,24	1,3-0,9 (m, 2H)			
11	32,73				
12	36,56				
13	24,77				
14	39,32	1,3-0,9 (m, 2H)			
15	27,91				
16	22,56	0,84 (d, J=6,4 Hz, 3H)			
3a	16,26	1,66 (sl, 3H)		H-2, H-4	H-4
7a	19,63	0,82 (d, J=5,6 Hz, 3H)			
11a	19,66	0,82 (d, J=5,6 Hz, 3H)			
15a	22,56	0,84 (d, J=6,4 Hz, 3H)			
1'	173,72		H-2'	H-1	
2'	34,29	2,27 (t, J=7,6 Hz, 2H)			
3'	24,96	1,59 (m, 2H)	H-2'		
4'	29,12	1,3-0,9 (m, 2H)		H-2'	
5'	29,24	1,3-0,9 (m, 2H)			
6'	29,45	1,3-0,9 (m, 2H)			
7'-12'	29,68	1,3-0,9 (m, 2H)			
13'	29,35	1,3-0,9 (m, 2H)			
14'	31,90	1,3-0,9 (m, 2H)			
15'	22,65	1,3-0,9 (m, 2H)			
16'	14,06	0,9 (t, J=6,6, 3H)			

Tabela 27: dados comparativos de RMN de ^1H e ^{13}C do palmitato de fitila com dados da literatura (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) (PEREIRA-JÚNIOR et al, 1990)

	δC	δH	δC	δH
1	61,07	4,61(d, J=7,0Hz, 2H)	61,19	4,70 (d, J=7,0Hz, 2H)
2	118,20	5,35 (t, J=7,0 Hz, 1H)	118,15	5,30 (t, J=7,0 Hz, 1H)
3	142,32		142,40	
4	39,78	1,97 (t, J=7,6 Hz, 2H)	39,86	2,0 (t, J=7,8 Hz, 2H)
5	24,96	1,59 (m, 2H)	25,03	1,3-0,9 (m, 2H)
6	37,38	1,3-0,9 (m, 2H)	37,43	1,3-0,9 (m, 2H)
7	32,60	1,4-1,39 (m, 1H)	32,67	1,7-1,3 (m, 1H)
8	37,38	1,3-0,9 (m, 2H)	37,34	1,3-0,9 (m, 2H)
9	24,42	1,3-0,9 (m, 2H)	24,45	1,3-0,9 (m, 2H)
10	37,24	1,3-0,9 (m, 2H)	37,28	1,3-0,9 (m, 2H)
11	32,73		32,79	1,7-1,3 (m, 1H)
12	36,56		36,61	1,3-0,9 (m, 2H)
13	24,77		24,78	1,3-0,9 (m, 2H)
14	39,32	1,3-0,9 (m, 2H)	39,37	1,3-0,9 (m, 2H)
15	27,91		27,97	1,7-1,3 (m, 1H)
16	22,56	0,84 (d, J=6,4 Hz, 3H)	22,60	0,86 (d, J=6,4 Hz, 3H)
3a	16,26	1,66 (sl, 3H)	16,36	1,67 (sl, 3H)
7a	19,63	0,82 (d, J=5,6 Hz, 3H)	19,70	0,84 (d, J=6,0 Hz, 3H)
11a	19,66	0,82 (d, J=5,6 Hz, 3H)	19,70	0,82 (d, J=6,0 Hz, 3H)
15a	22,56	0,84 (d, J=6,4 Hz, 3H)	22,60	0,86 (d, J=6,4 Hz, 3H)
1'	173,72		174,00	
2'	34,29	2,27 (t, J=7,6 Hz, 2H)	34,39	2,29 (t, J=7,6 Hz, 2H)
3'	24,96	1,59 (m, 2H)	25,03	1,7-1,3 (m, 2H)
4'	29,12	1,3-0,9 (m, 2H)	29,15	1,3-0,9 (m, 2H)
5'	29,24	1,3-0,9 (m, 2H)	29,27	1,3-0,9 (m, 2H)
6'	29,45	1,3-0,9 (m, 2H)	29,48	1,3-0,9 (m, 2H)
7'-12'	29,68	1,3-0,9 (m, 2H)	29,69	1,3-0,9 (m, 2H)
13'	29,35	1,3-0,9 (m, 2H)	29,36	1,3-0,9 (m, 2H)
14'	31,90	1,3-0,9 (m, 2H)	31,91	1,3-0,9 (m, 2H)
15'	22,65	1,3-0,9 (m, 2H)	22,70	1,3-0,9 (m, 2H)
16'	14,06	0,9 (t, J=6,6, 3H)	14,11	0,9 (t, J=6,1, 3H)

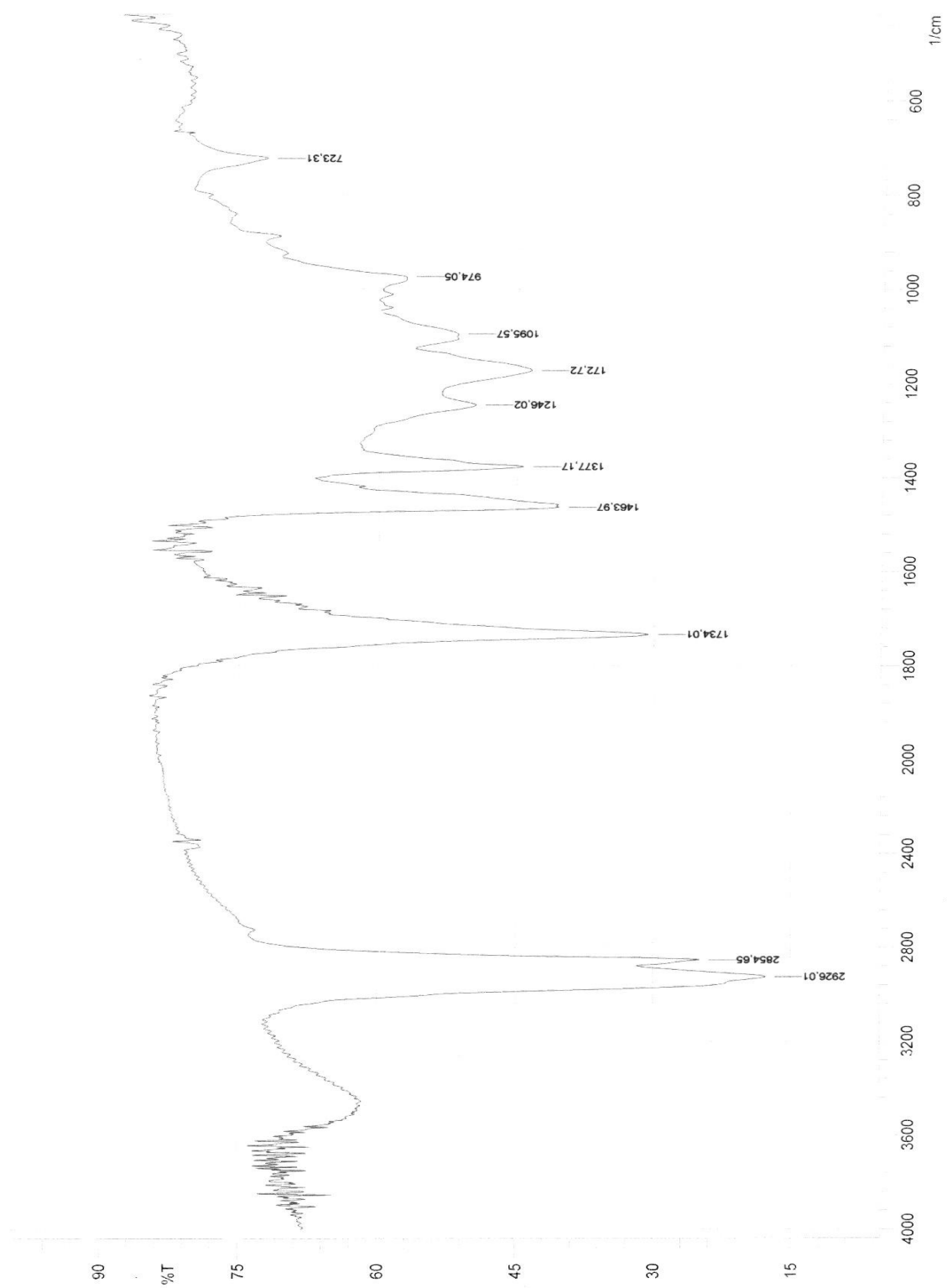


Figura 200: espectro no IV (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) de Pc-5

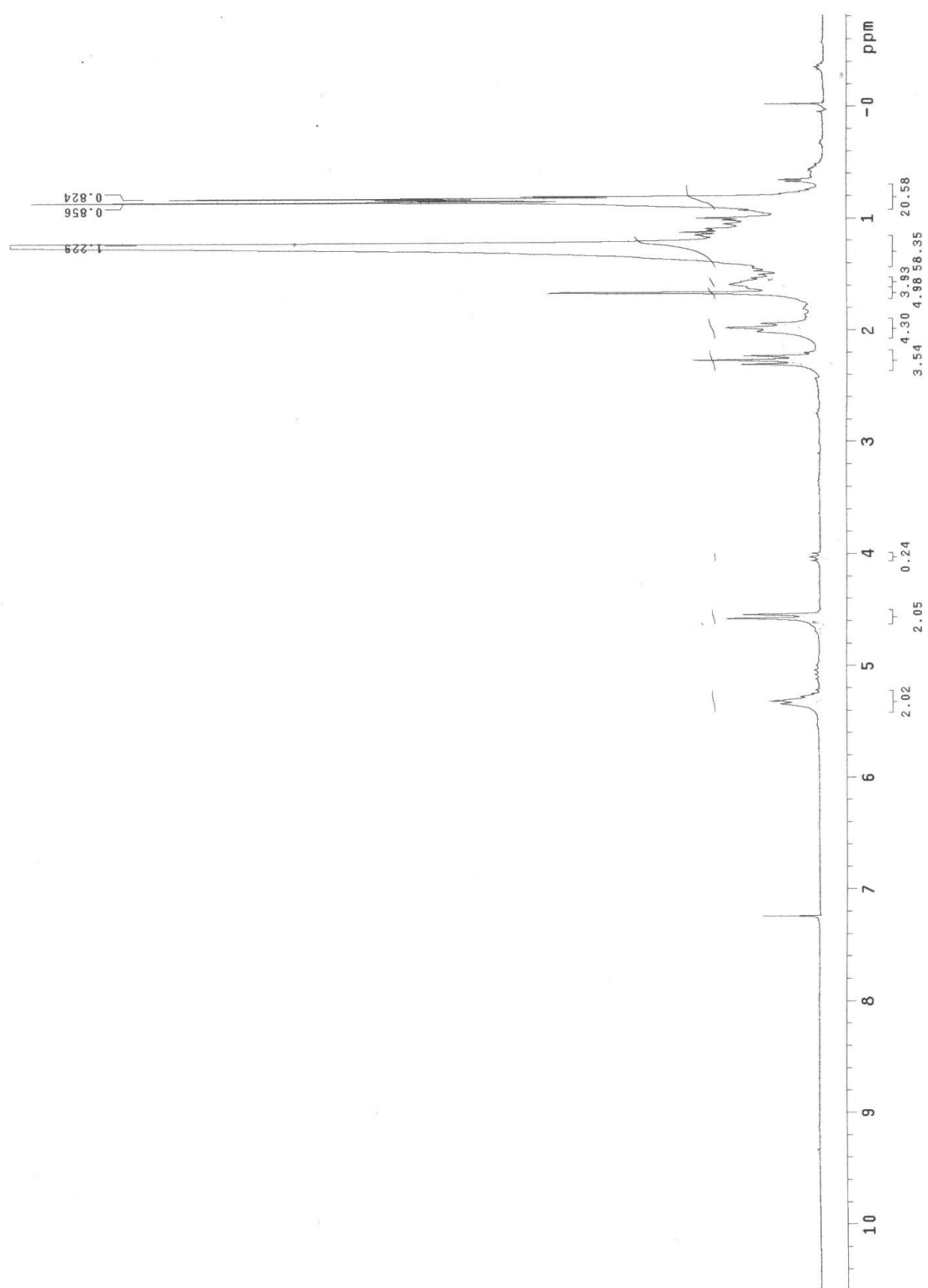
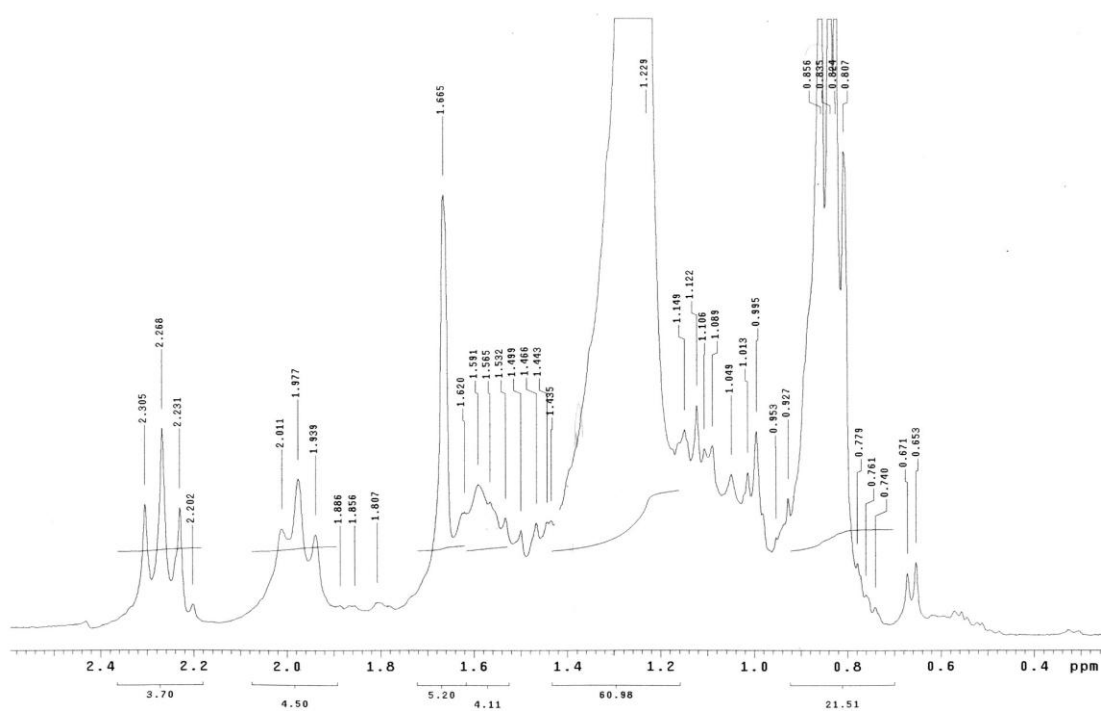
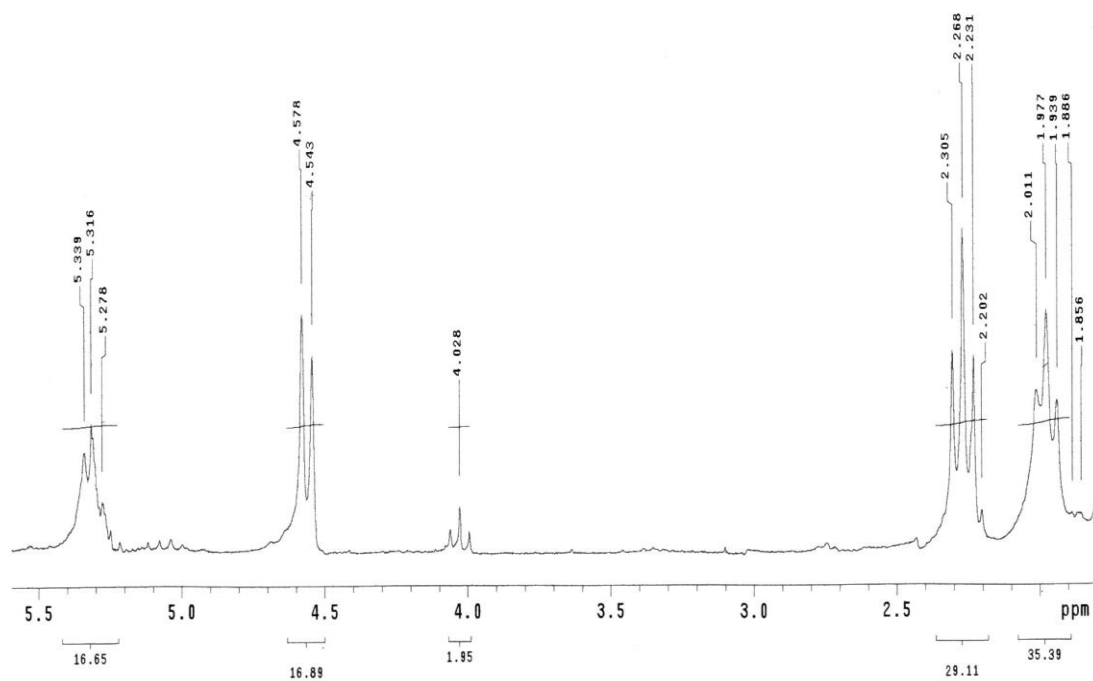
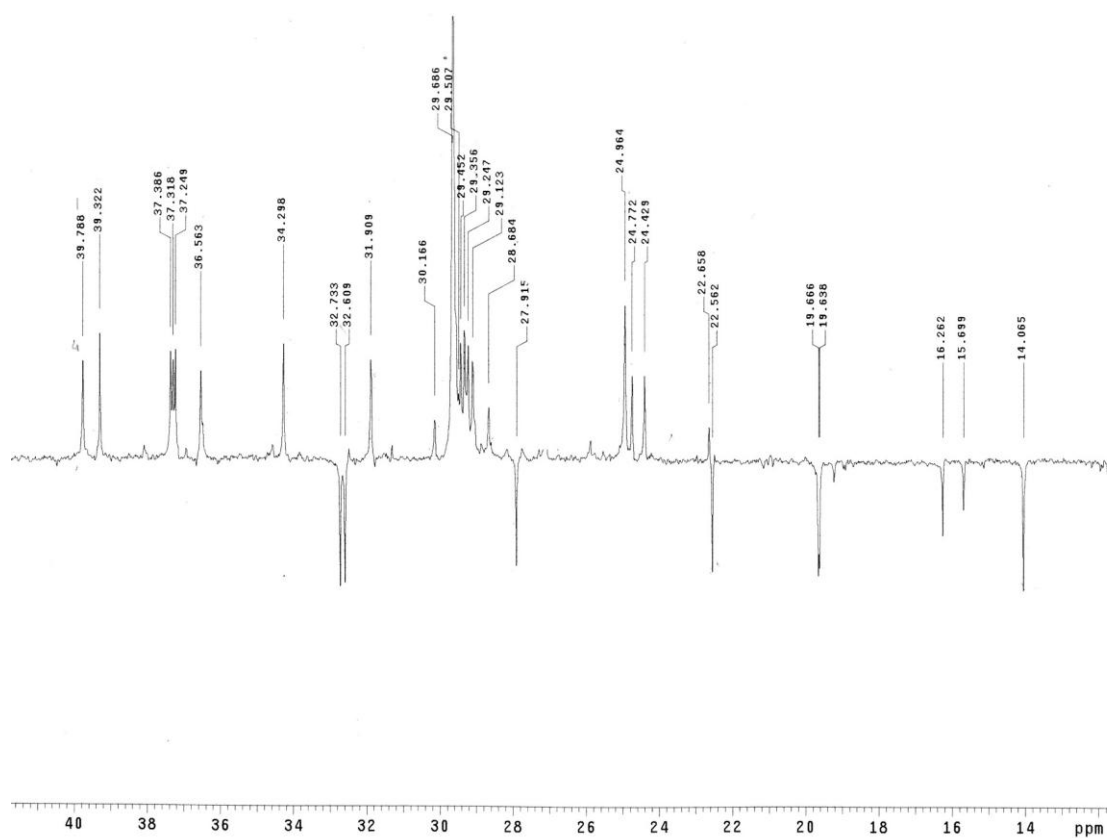
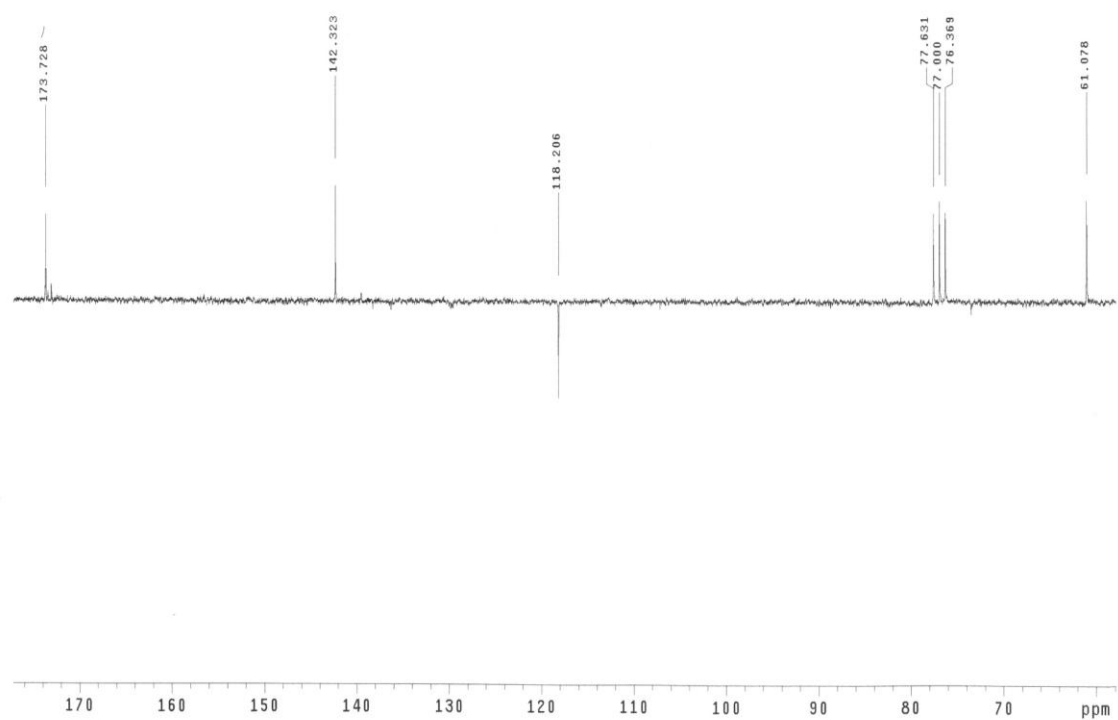


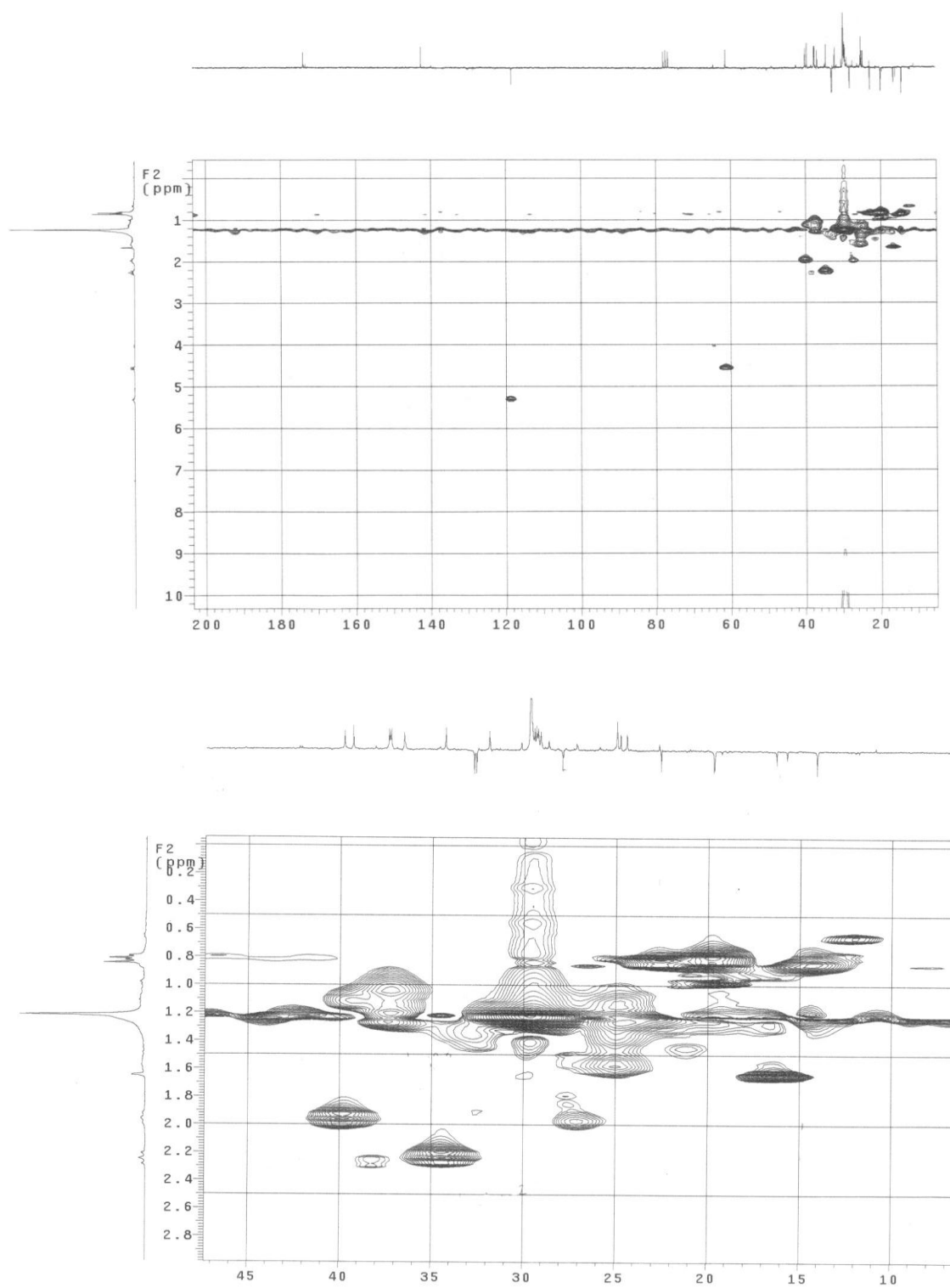
Figura 201: espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-5



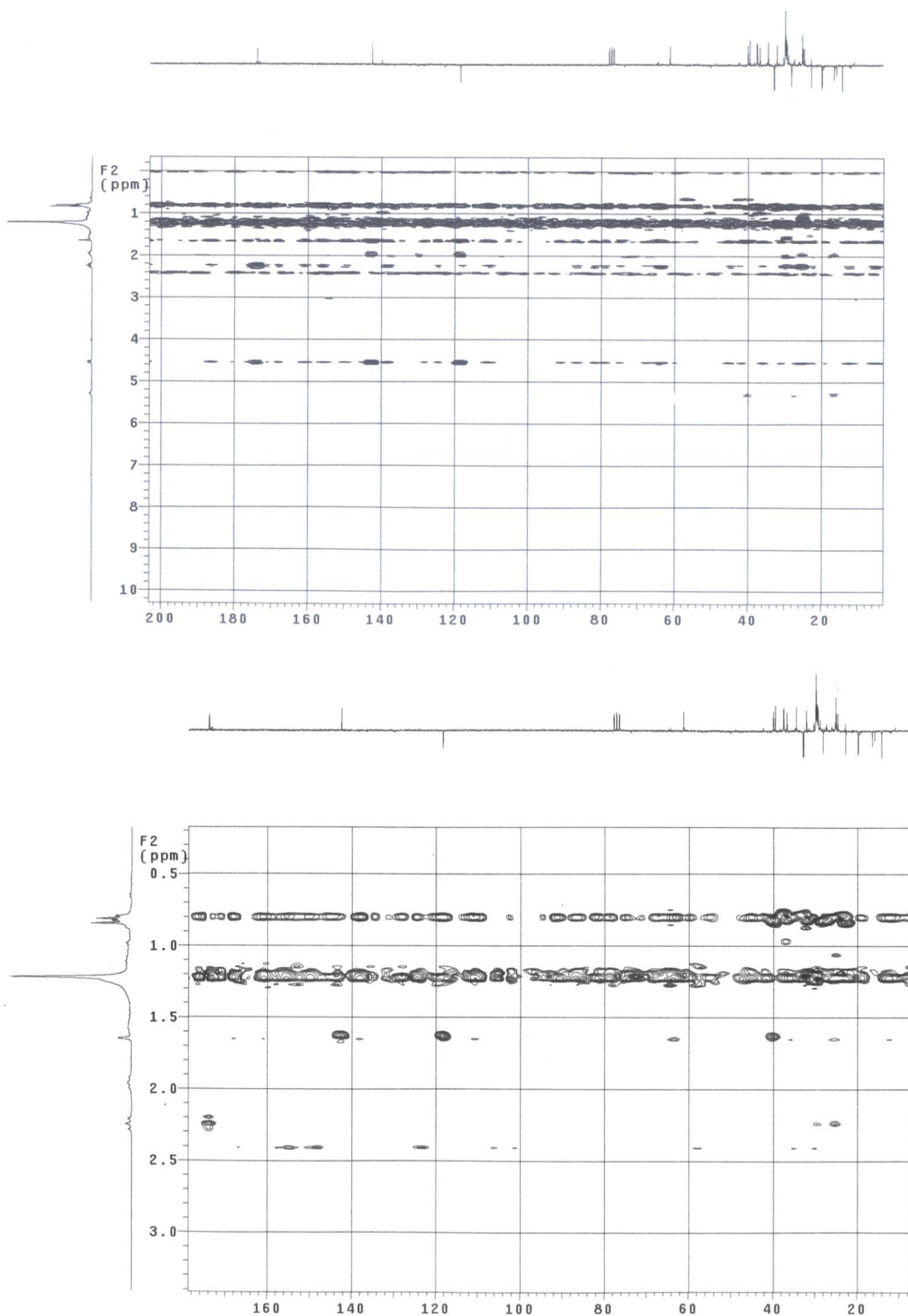
Figuras 202 e 203: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-5



Figuras 204 e 205: expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-5



Figuras 206 e 207: espectros de correlação heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-5



Figuras 208 e 209: espectros de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pc-5

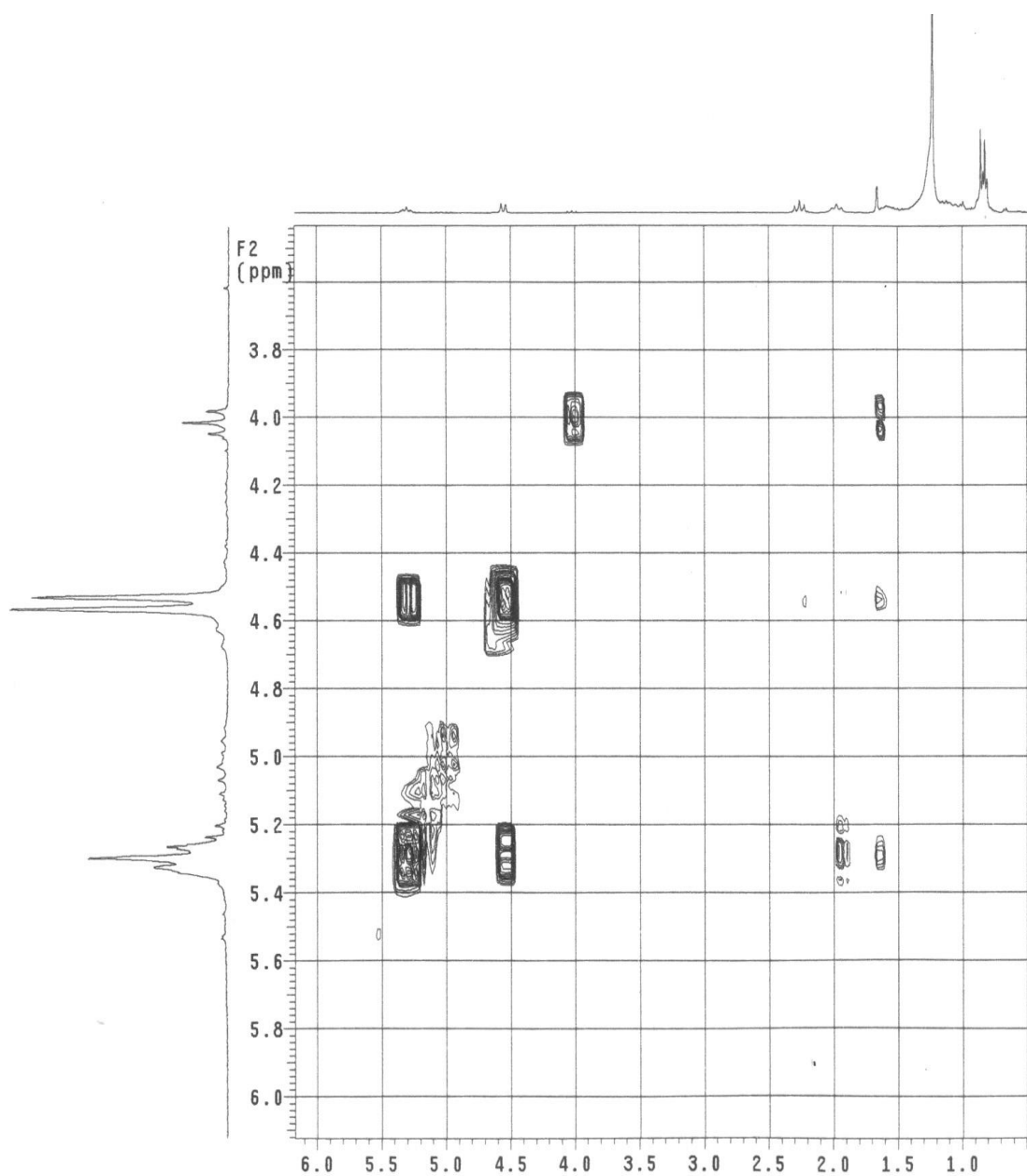


Figura 210: espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-5

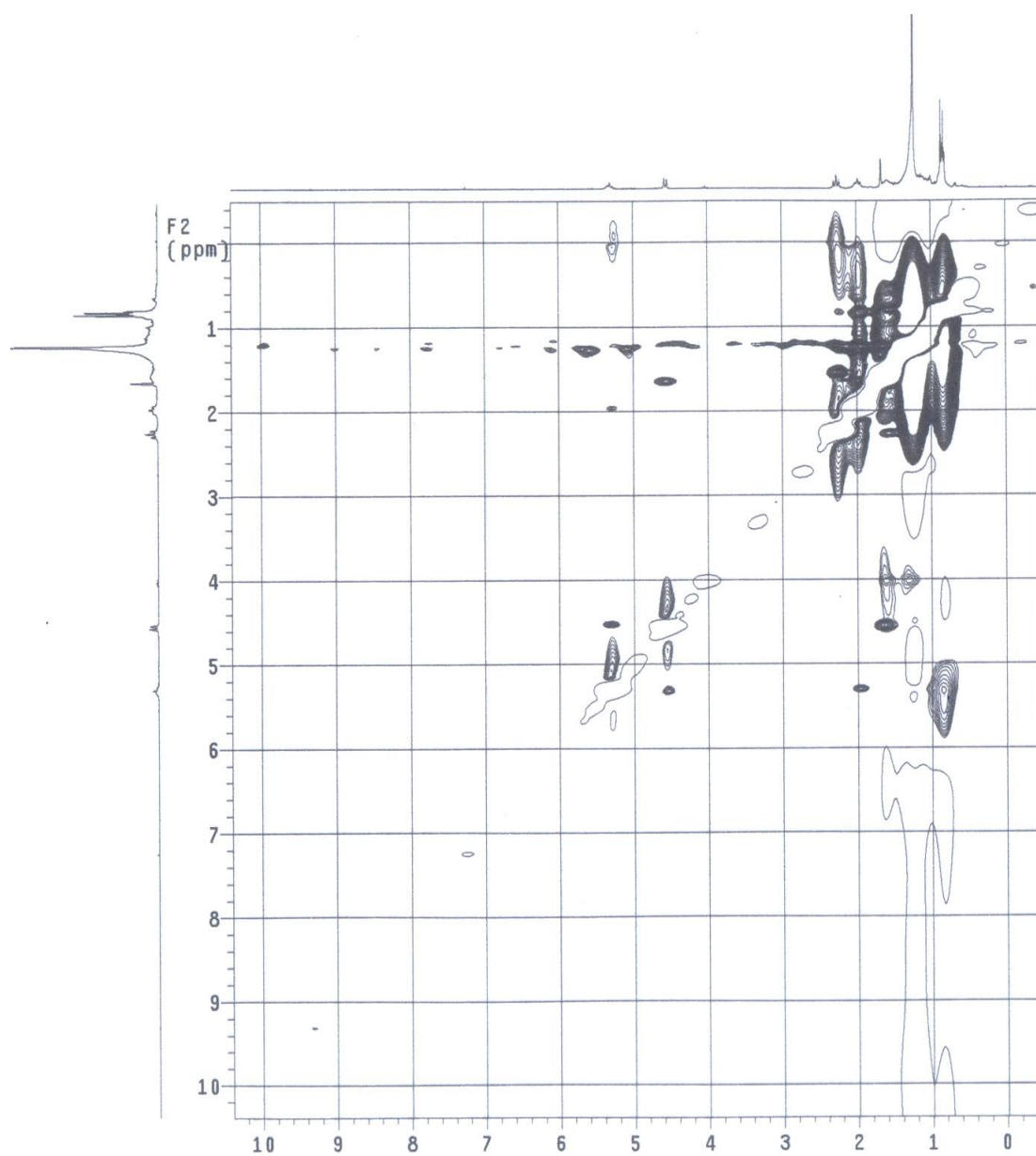


Figura 211: espectro de correlação homonuclear NOESY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pc-5

7.6 - IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pc-6

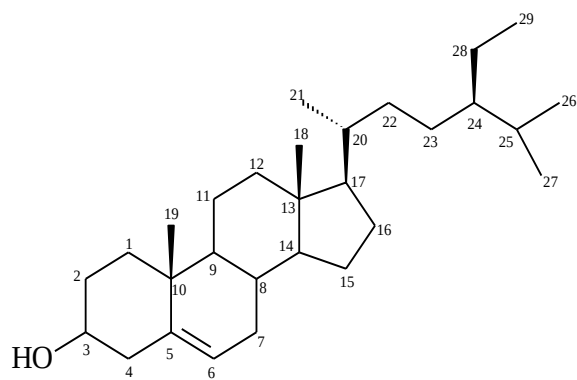
A substância química codificada por Pc-6 apresentou-se como cristais brancos, solúveis em CDCl_3 .

Através da análise do espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) foi possível observar um conjunto de absorções entre δ 2,24-0,63 (Figuras 212 e 214, p. 282 e 283), comuns de hidrogênios metilênicos e metílicos de triperpenos e esteróides. Foram observados também um multipeto em δ 3,47 (m, 1H), sugestivo de hidrogênio carbinólico (KOJIMA et al, 1990) e mais dois sinais em δ 5,30 (m, 1H) e δ 5,17-4,90 (m, 2H) (Figura 213, p. 283), o primeiro característico de hidrogênio olefínico de esteróides (H-6) (AHMED et al, 2001) e o segundo referente a hidrogênios olefínicos 22 e 23 da estrutura de estigmasterol, sugerindo que a substância em questão trata-se de uma mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol.

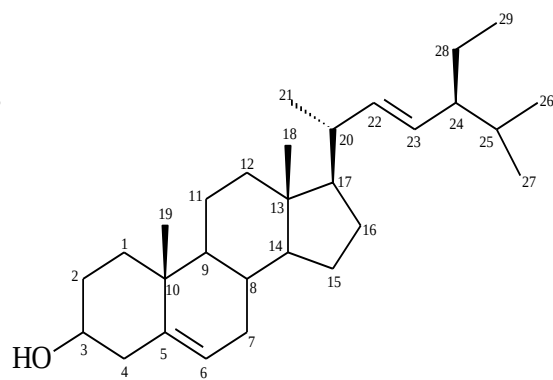
O espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) permitiu confirmar a sugestão dada pelos espectros de RMN de ^1H para metilas de esteróides ao exibir valores entre δ 11,77 e 21,16 (Figuras 215 e 218, p. 284 e 286), característicos de carbonos de metilas de esteróides. Absorções em δ 71,61, 140,64 e 121,58, correspondem, respectivamente, aos carbonos carbinólicos (C-3) e olefínicos (C-5 e C-6) do esqueleto de esteróides como o β -sitosterol e o estigmasterol, sendo que, para o último, observaram-se, ainda, dois sinais em δ 138,26 e 129,14 (Figura 216, p. 285) que se referem aos carbonos olefínicos 22 e 23, respectivamente, reforçando a sugestão dada para uma mistura de esteróides.

A interpretação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C , aliados aos valores comparativos (Tabelas 28 e 29, respectivamente. p. 280 e 281) da literatura (KOJIMA et

al, 1990; SILVA, 2004), permitiu identificar a mistura de esteróides como sendo de β -sitosterol e estigmasterol, isoladas pela primeira em *Piper carniconnectivum*.



β -sitosterol



Estigmasterol

Tabela 28 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) da substância Pc-6a e Pc-6b

C	β -sitosterol – (Pc-6a)		Estigmasterol – (Pc-6b)	
	δC	δH	δC	δH
5	140,64		140,64	
10	37,16		36,39	
13	42,20		42,09	
CH				
3	71,61	3,47 (m, 1H)	71,61	3,47 (m, 1H)
6	121,58	5,30 (m, 1H)	121,58	5,30 (m, 1H)
8	31,78		31,78	
9	51,15		50,02	
14	56,65		56,76	
17	55,95		55,82	
20	36,06		40,46	
22	-		138,26	
23	-		129,14	
24	45,69		51,15	
25	29,01			
CH ₂				
1	37,16		37,16	
2	31,41		31,45	
4	39,67		42,09	
7	34,29		31,41	
11	20,98		20,98	
12	39,67		39,58	
15	24,20		24,27	
16	28,16		28,86	
22	33,61			5,17-4,90 (m, 1H)
23	25,93			5,17-4,90 (m, 1H)
28	22,94		22,94	
CH ₃				
18	11,77	0,65 (d, J=3,8 Hz, 3H)	11,96	0,65 (d, J=3,8 Hz, 3H)
19	18,91	0,96 (s, 3H)	19,4	0,96 (s, 3H)
21	18,70	0,96 (s, 3H)	21,03	0,96 (s, 3H)
26	19,74	0,90 (d, 3H)	19,32	0,90 (d, 3H)
27	21,16	0,89 (s, 3H)	21,16	0,89 (s, 3H)
29	11,96	0,79 (d J=5,8 Hz, 3H)	12,19	0,79 (d J=5,8 Hz, 3H)

Tabela 29 – Dados comparativos da substância Pc-6a e Pc-6b (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) com dados da literatura (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990).

C	β-sitosterol δC	Literatura δC	Estigmasterol δC	Literatura δC
5	140,64	140,7	140,64	140,7
10	37,16	36,5	36,39	36,5
13	42,20	42,3	42,09	42,2
CH				
3	71,61	71,8	71,61	71,8
6	121,58	121,7	121,58	121,7
8	31,78	31,9	31,78	31,9
9	51,15	50,1	50,02	50,1
14	56,65	56,8	56,76	56,8
17	55,95	56,0	55,82	55,9
20	36,06	36,1	40,46	40,5
22	-	33,9	138,26	138,3
23	-	26,0	129,14	129,2
24	45,69	45,8	51,15	51,2
25	29,01	29,1		
CH₂				
1	37,16	37,2	37,16	37,2
2	31,41	31,6	31,45	31,6
4	39,67	42,3	42,09	42,3
7	34,29	31,9	31,41	31,9
11	20,98	21,1	20,98	21,1
12	39,67	39,8	39,58	39,7
15	24,20	24,3	24,27	24,4
16	28,16	28,2	28,86	28,9
22	33,61	33,9		
23	25,93	26,0		
28	22,94	23,0	22,94	23,49
CH₃				
18	11,77	11,9	11,96	12,0
19	18,91	19,4	19,4	19,4
21	18,70	18,8	21,03	21,2
26	19,74	19,8	19,32	19,8
27	21,16	19,0	21,16	19,0
29	11,96	12,0	12,19	12,0

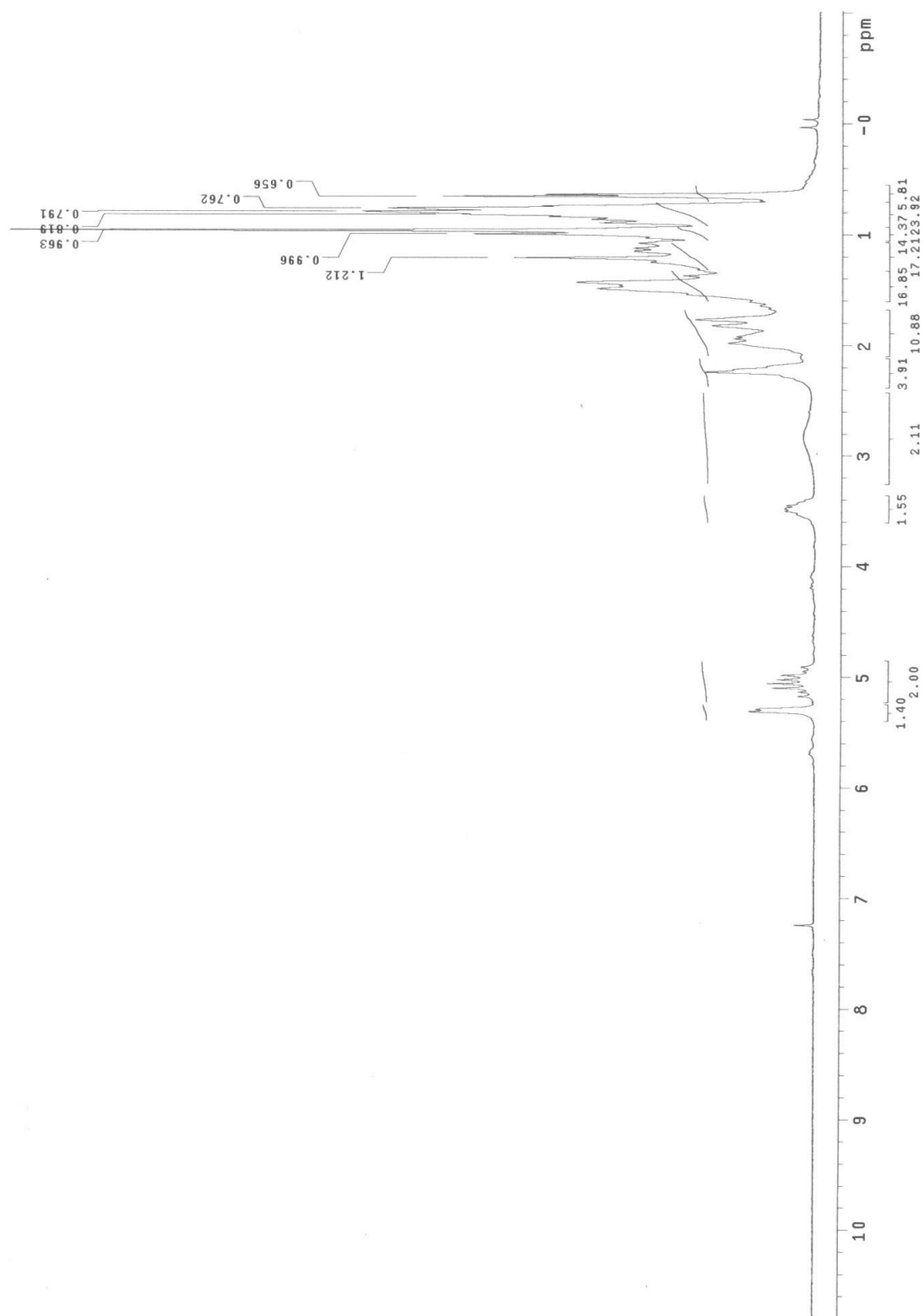
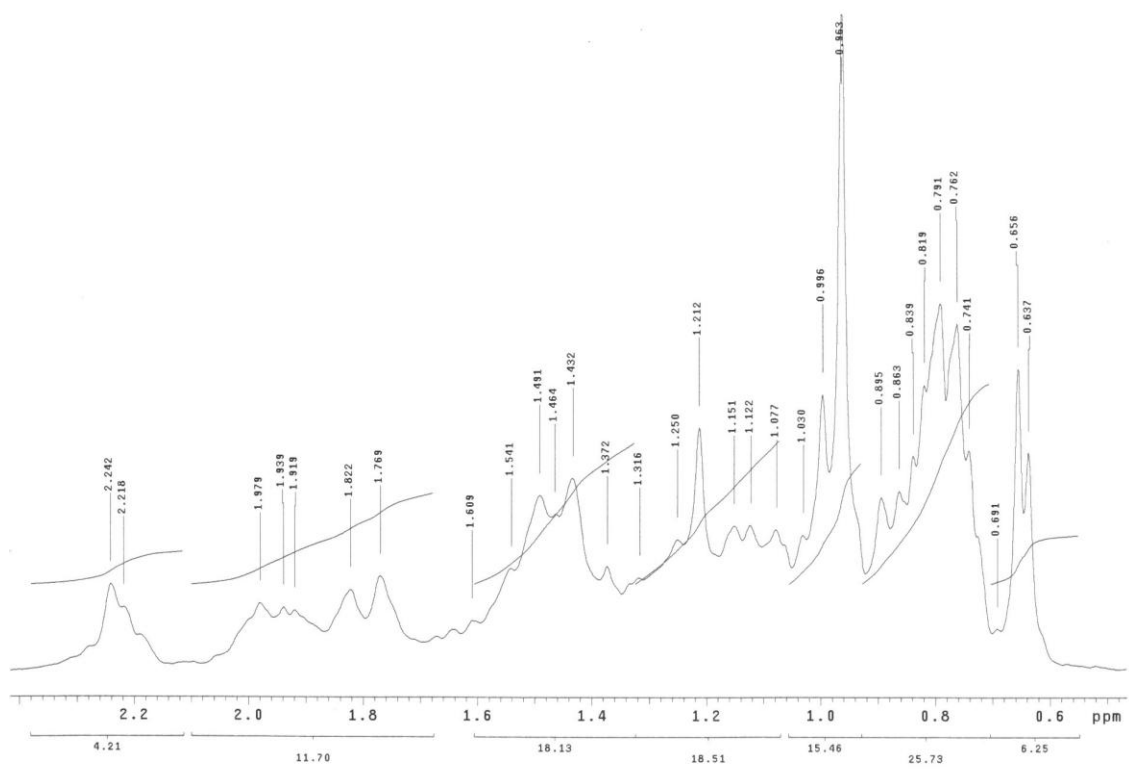
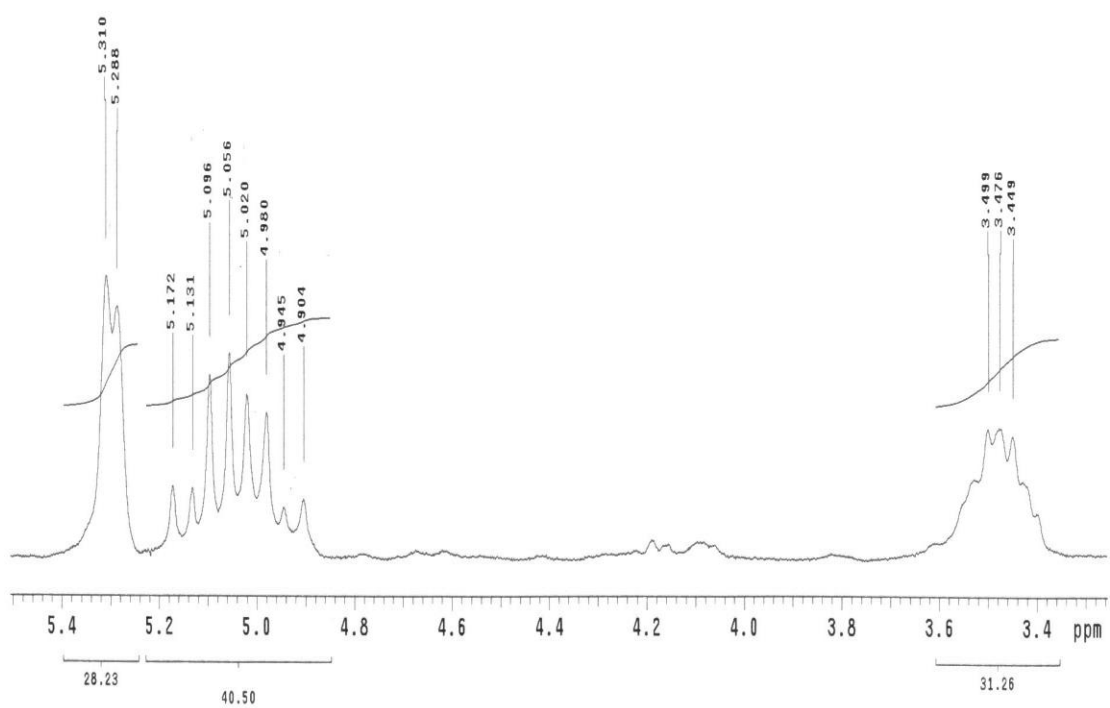


Figura 212: espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-6



Figuras 213 e 214: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-6

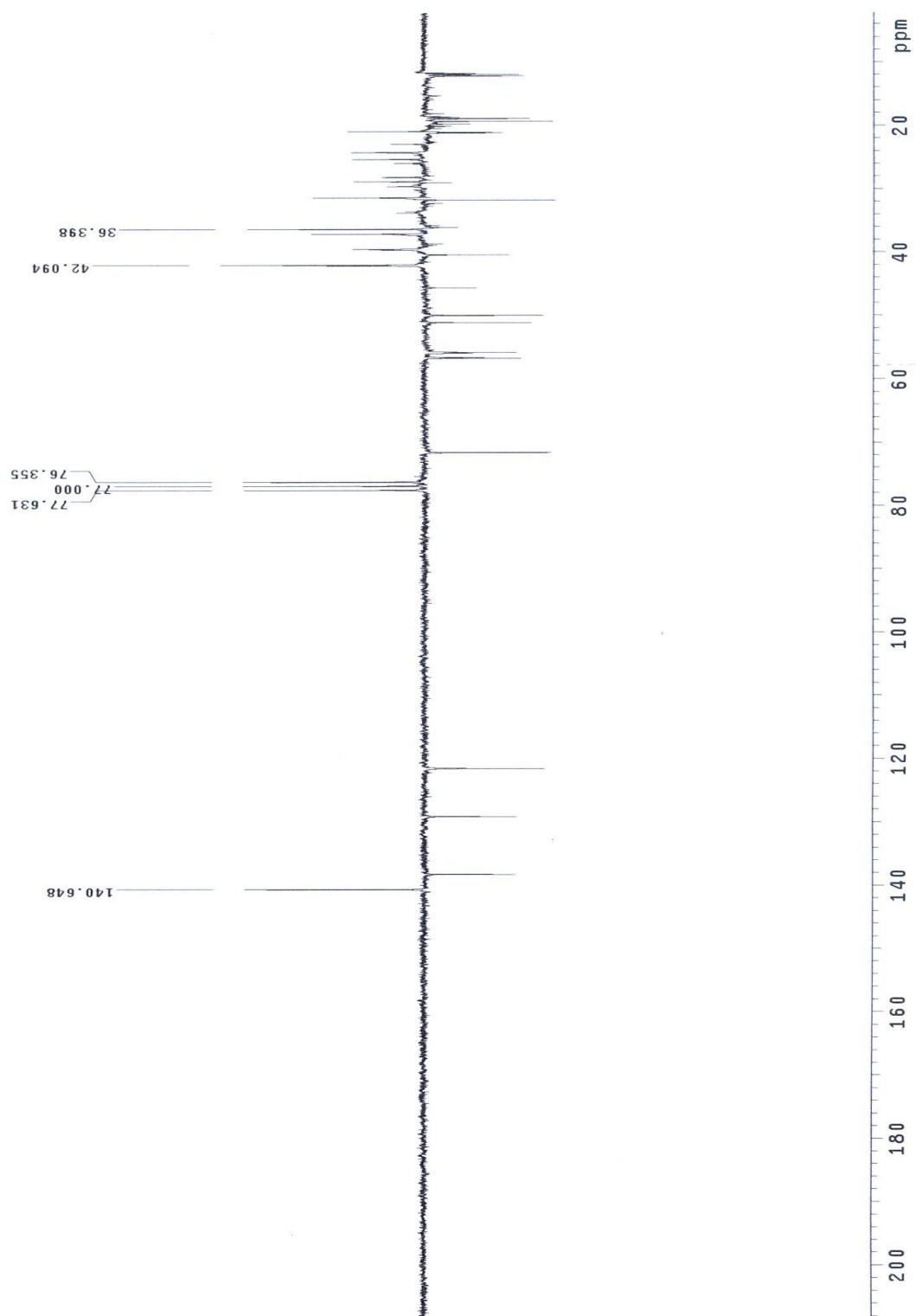
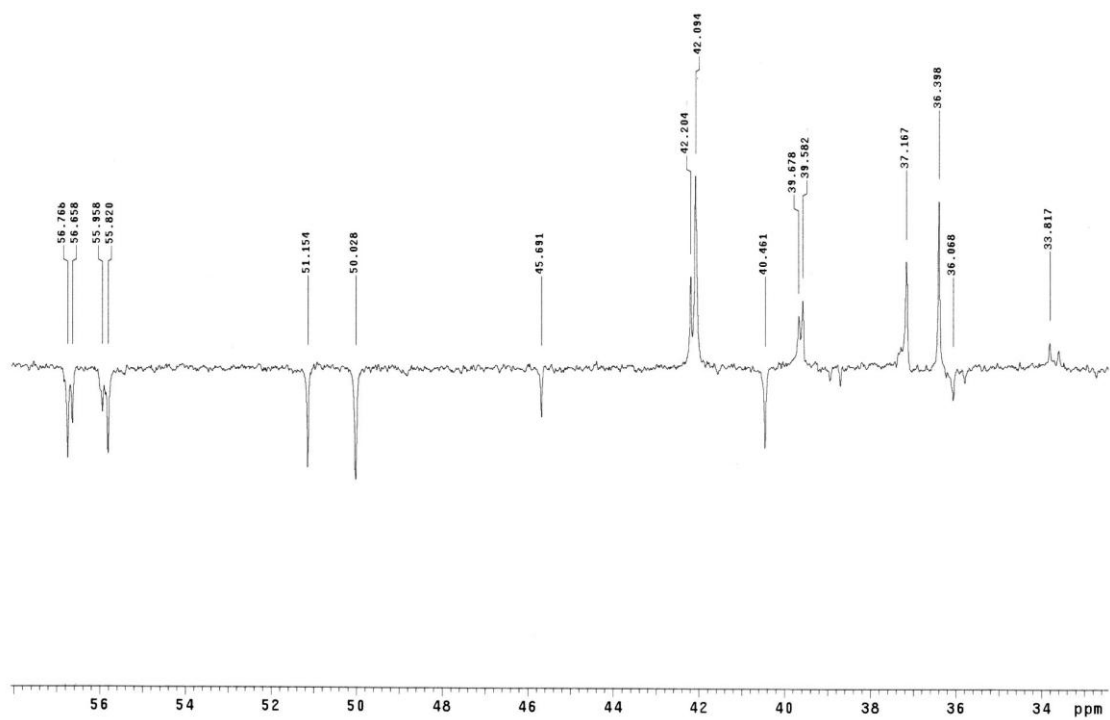
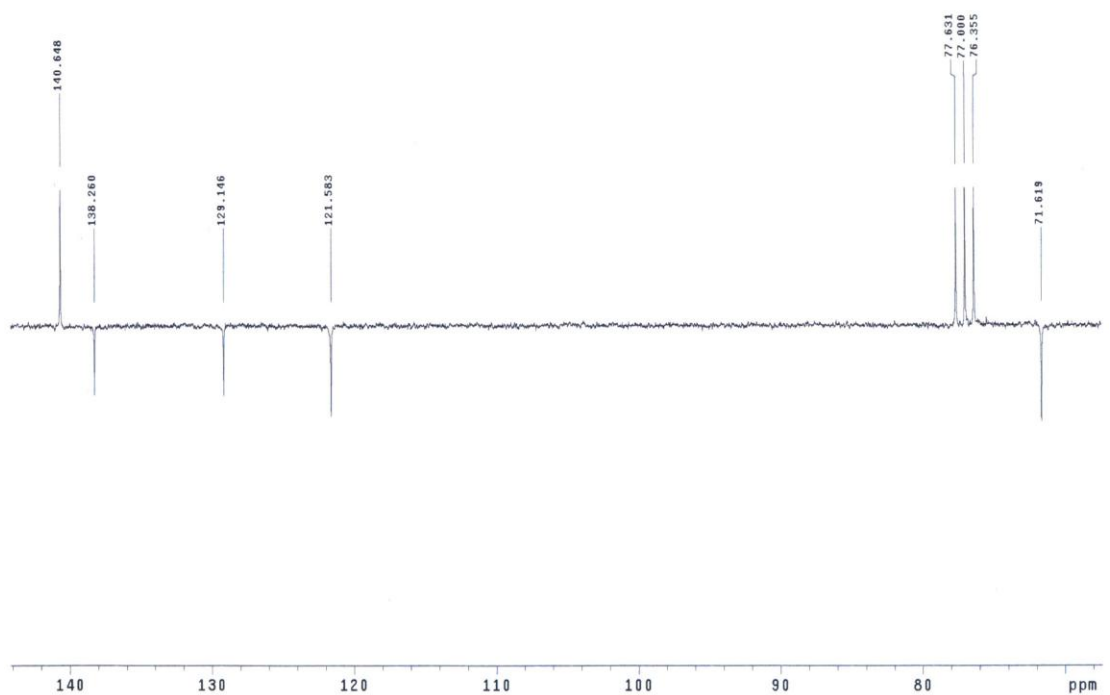


Figura 215: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-6



Figuras 216 e 217: expansões do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-6

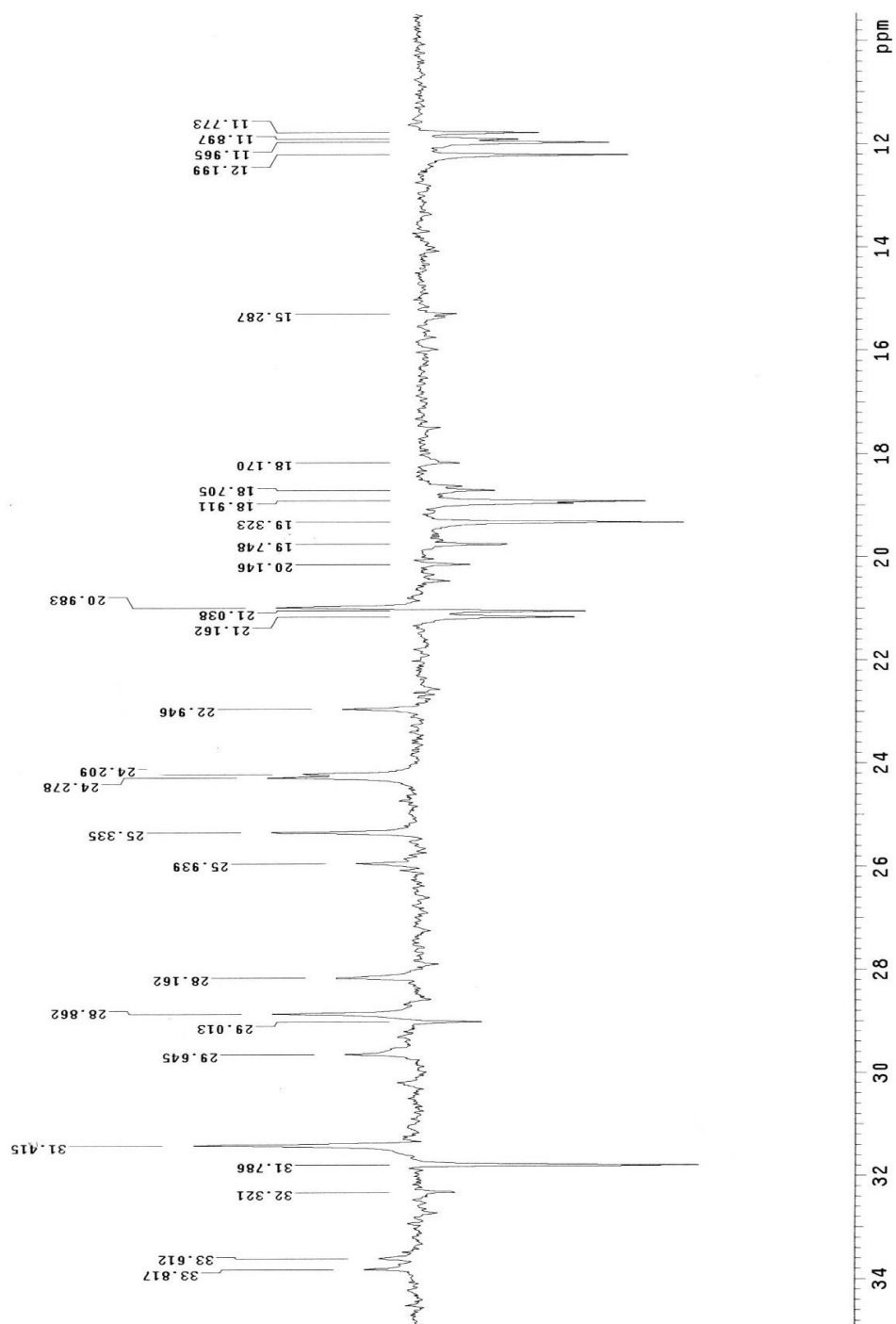


Figura 218: expansão do espectro de RMN de ^{13}C (δ , 50 MHz, CDCl_3) de Pc-6

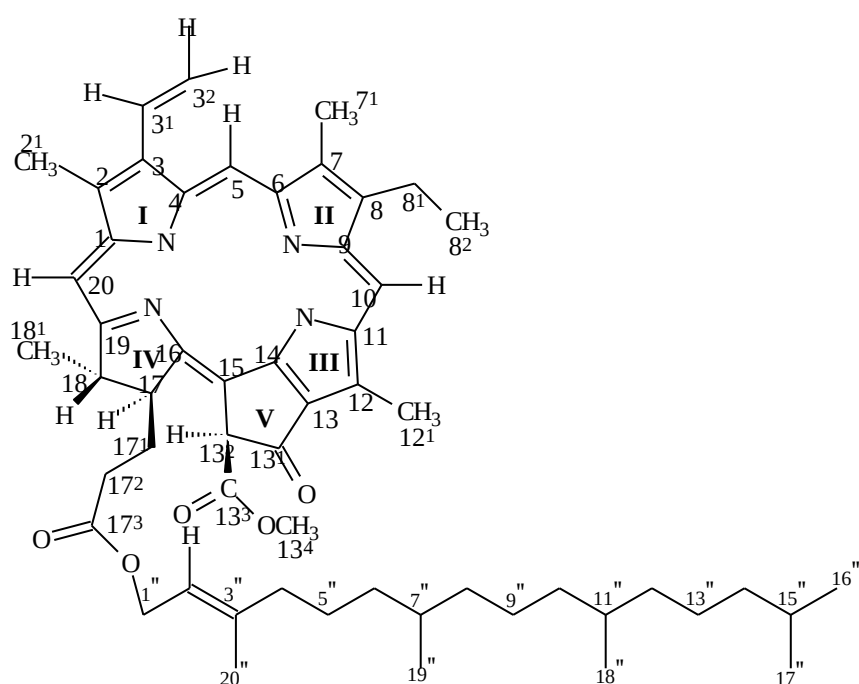
7.7 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pc-7

O espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) (Figuras 219 - 222, p. 290 - 292) evidenciou a presença de três metilas em δ 3,17 (s, 3H), 3,37 (s, 3H) e 3,66 (s, 3H), que juntamente com as absorções de um grupo de hidrogênios vinílicos em δ 7,93 (m, 1H), 6,27 (m, 1H) e 6,14 (m, 1H), além de três hidrogênios de carbonos olefílicos com absorção de δ 9,46 (s, 1H), 9,31 (s, 1H) e 8,53 (s, 1H) condizentes com absorções de hidrogênios 5, 10 e 20 do núcleo porfirínico das feofitinas (MATSUO et al, 1996; DUAN et al, 2002, JERZ et al, 2007). Além do mais, foi possível observar deslocamento químico sugestivo de hidrogênios metoxílicos em δ 3,86 (s, 3H). A presença de picos na região alifática sugere a presença de grupamento fitol na molécula, na qual foi possível observar um envelope de sinais entre δ 1,70-1,20, outro envelope de δ 1,10-0,90, além da presença de metilas entre δ 0,86-0,81. O sinal em δ 1,55 (sl) é característico de metila ligada a carbono sp^2 . Os sinais em δ 4,44 (m, 2H) e δ 5,11 (m, 1H), sugestivos de hidrogênio próximo a grupo retirador de elétrons e hidrogênio em carbono sp^2 , respectivamente, corroboram a presença de fitol na estrutura de acordo com dados da literatura (CHAVES, 1996; PEREIRA-JÚNIOR et al, 1990).

O espectro de RMN de ^{13}C , técnica APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) mostrou a presença de 55 átomos de carbono (Figuras 223 e 224, p. 293) sendo 19 para carbonos quaternários (δ : 141,99, 130,86, 136,52, 136,22, 155,59, 136,20, 145,16, 151,00, 137,94, 128,60, 129,10, 149,61, 105,17, 161,22, 172,20, 189,64, 173,93, 172,95, 142,85), 11 para carbonos metínicos (δ : 129,10, 97,55, 104,43, 64,69, 51,15, 50,12, 93,10, 117,64, 32,79, 32,60, 27,96), 14 carbonos metilênicos (δ : 122,76, 19,41, 29,64, 31,91, 61,46, 39,36, 24,88, 37,37, 37,28, 24,40, 37,28, 36,60, 24,78, 39,36) e 11

carbonos metílicos (δ : 12,09, 11,19, 16,26, 12,09, 52,85, 22,70, 17,40, 19,72, 19,63, 22,61, 23,06).

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C de PC-7 (Tabela 30, p. 289), aliados aos dados da literatura (CHAVES, 1996; PEREIRA-JÚNIOR et al, 1990) descritos anteriormente, permitiram identificar a substância em questão feofitina a, isolada pela primeira vez em *Piper carniconnectivum*.



Pc-7

Tabela 30: Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) de Pc-7 com a literatura (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz) (SCHWIKKARD et al., 1998)

C	δC	δH	δC	δH
C				
1	141,99		142,00	
2	131,82		131,80	3,39 (s)
2 ¹	12,09	3,17 (s)	12,10	
3	136,52		136,50	7,98 (dd, J=15,2 e 11,4 Hz)
3 ¹	129,03	7,93 (m)	129,00	6,28 [E (dd, J=15,2 e 2,29 Hz)], 6,17 [Z (dd, J=11,4 e 2,28 Hz)]
3 ²	122,76	6,14 (m) 6,27 (m)	122,80	
4	136,22		136,22	9,36 (s)
5	97,47	9,31 (s)	97,50	
6	155,59		155,50	
7	136,20		136,10	3,21 (s)
7 ¹	11,19	3,37 (s)	11,20	
8	145,16		145,20	3,66 (q, J=8,35 Hz)
8 ¹	19,41	3,65 (m)	19,70	1,68 (t, J=8,35 Hz)
8 ²	16,26	1,65 (m)	16,30	
9	151,00		153,05	9,50 (s)
10	104,37	9,46 (s)	104,00	
11	137,94		137,90	
12	128,60		129,00	3,68 (s)
12 ¹	12,09	3,65 (s)	12,10	
13	129,01		129,00	
13 ¹	189,64		189,60	6,26 (s)
13 ²	65,03	6,29 (s)	64,70	
13 ³	173,93		173,00	3,88 (s)
13 ⁴	52,85	3,86 (s)	53,00	
14	149,61		150,00	
15	105,17		105,20	
16	161,22		161,30	4,20 (m)
17	51,08	4,17 (m)	51,10	
17 ¹	29,64		29,80	
17 ²	31,91		31,20	
17 ³	172,95		172,00	4,45 (m)
18	50,07	4,44 (m)	50,01	1,80 (d, J=7,59 Hz)
18 ¹	22,97	1,81 (d, J=9,8 Hz)	22,70	
19	172,20		170,00	8,55 (s)
20	93,00	8,53 (s)	93,01	
3''	142,85		143,01	
CH ₂				4,35 (dd, J=5,3 e 7,7 Hz)
1''	61,46	4,45 (m)	61,0	2,0 (t, J=7,8 Hz)
4''	39,36	1,80 (m)	39,5	1,3-0,9 (m)
5''	24,40	1,1-0,9 (m)	24,8	1,3-0,9 (m)
6''	37,37	1,1-0,9 (m)	37,0	1,7-1,3 (m)
8''	37,28	1,1-0,9 (m)	37,0	1,3-0,9 (m)
9''	24,78	1,1-0,9 (m)	24,2	1,3-0,9 (m)
10''	37,28	1,1-0,9 (m)	37,0	1,3-0,9 (m)
12''	36,60	1,1-0,9 (m)	36,5	1,3-0,9 (m)
13''	24,88	1,1-0,9 (m)	25,0	1,3-0,9 (m)
14''	39,36	1,1-0,9 (m)	40,0	
CH				5,10 (t, J=5,32 Hz)
2''	117,64	5,11 (m)	118,00	1,7-1,3 (m)
7''	32,79	1,7-1,2 (m)	32,5	1,7-1,3 (m)
11''	32,60	1,7-1,2 (m)	32,5	1,7-1,3 (m)
15''	27,96	1,7-1,2 (m)	28,0	
CH ₃				0,85 (d, J=6,9 Hz)
16''	22,70	0,82 (d, J=6,6 Hz)	22,7	0,85 (d, J=6,9 Hz)
17''	22,61	0,82 (d, J=6,6 Hz)	22,6	0,80 (s)
18''	19,63	0,82 (d, J=6,6 Hz)	19,6	0,79 (s)
19''	19,72	0,82 (d, J=6,6 Hz)	19,4	0,76 (s)
20''	17,40	1,55 (sl)	16,2	0,76 (s)

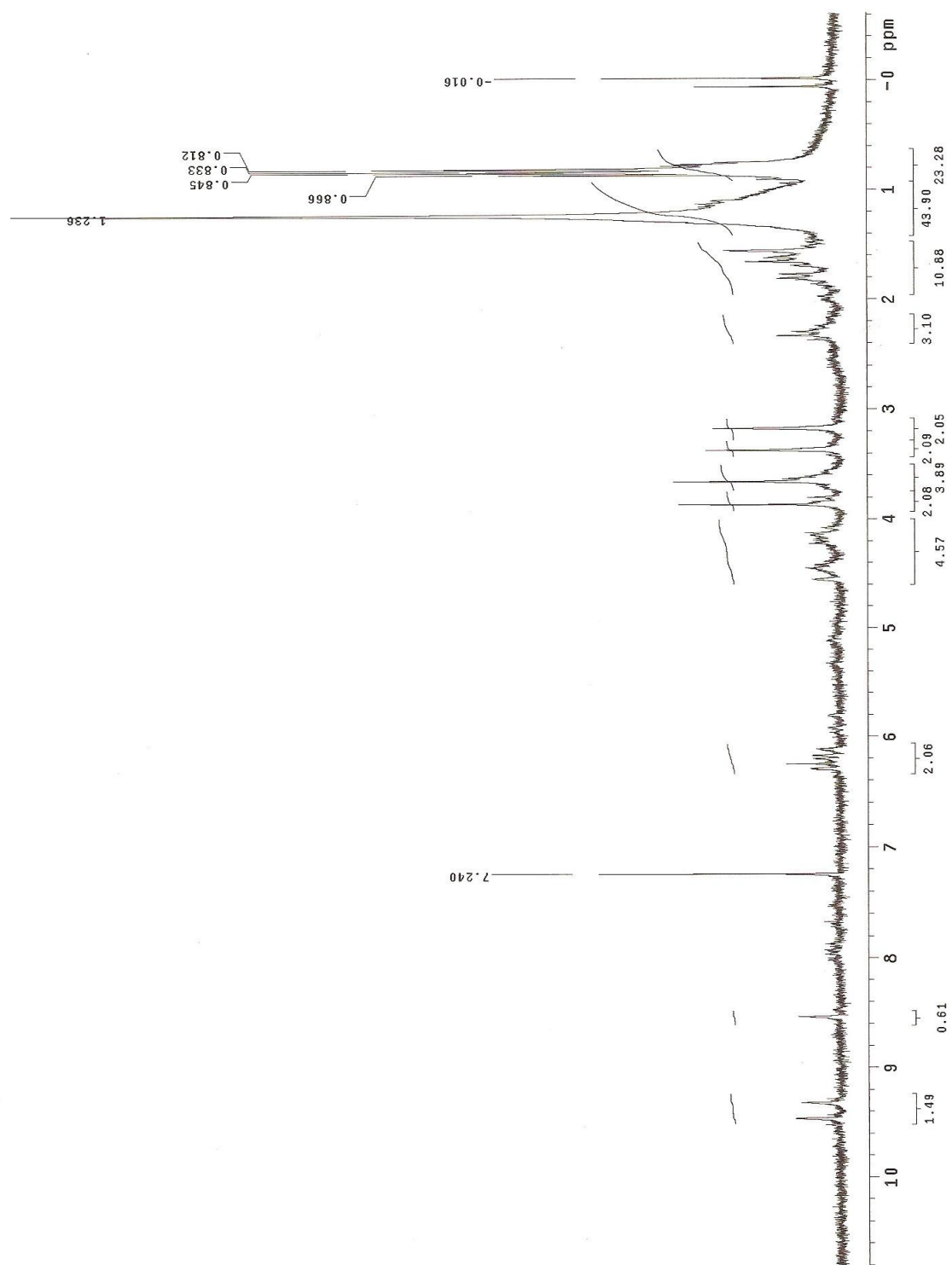
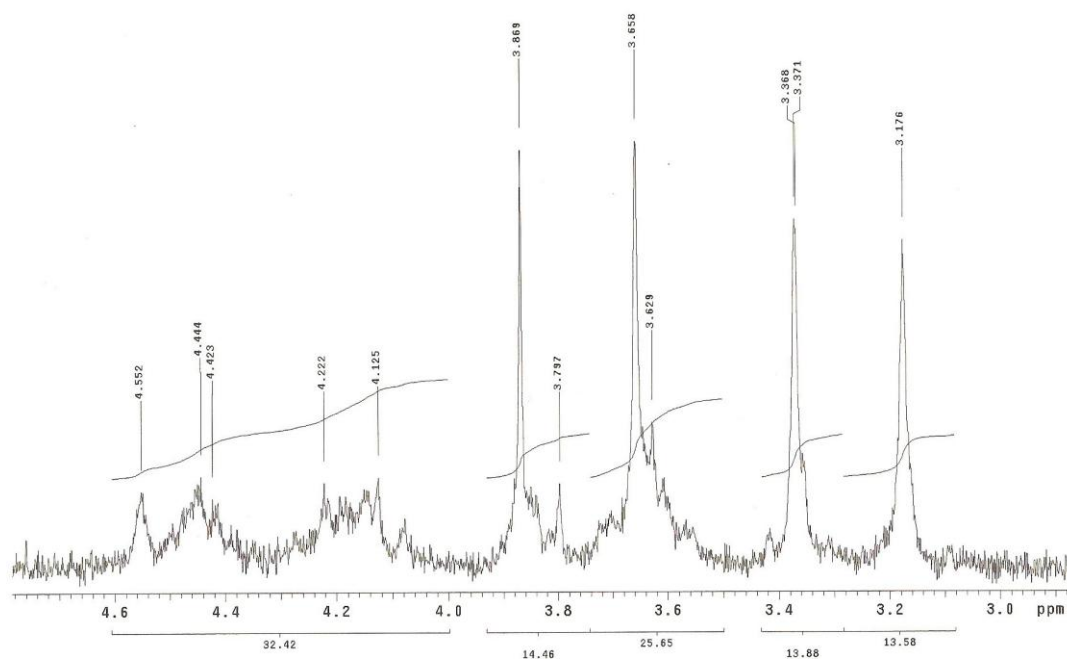
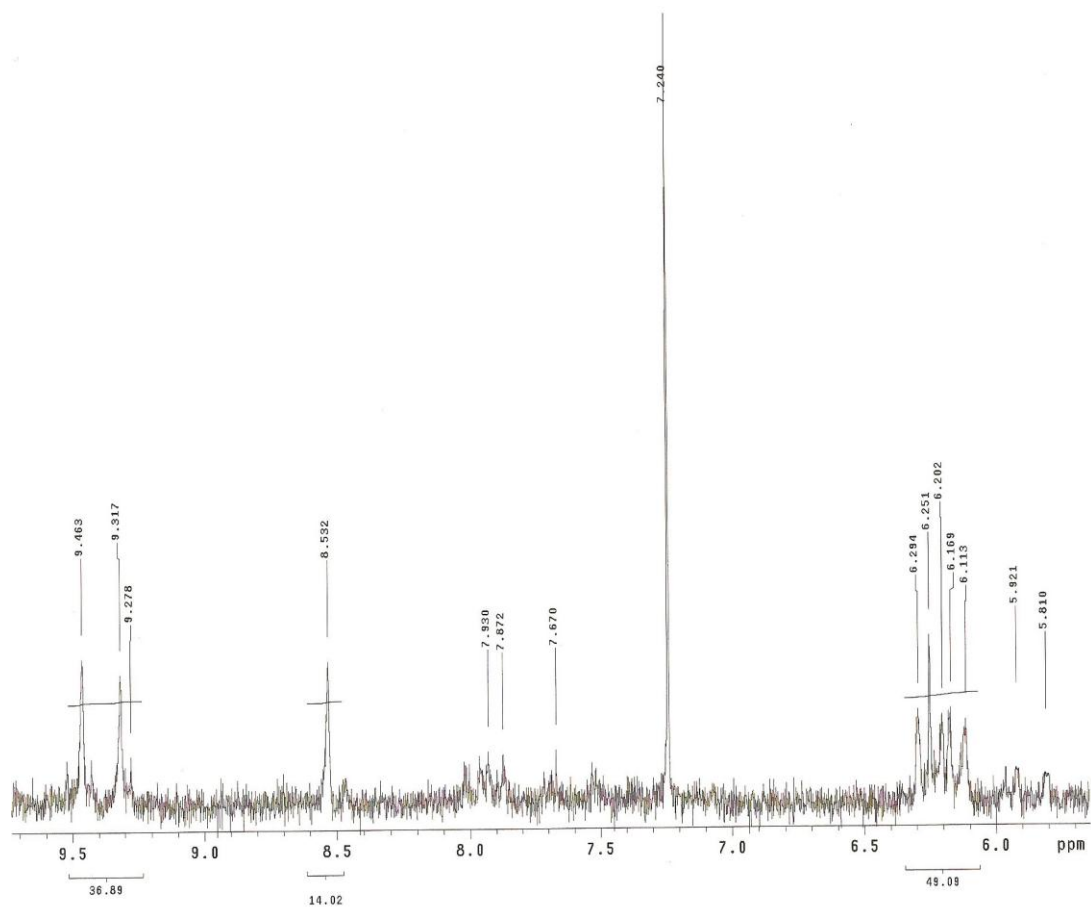


Figura 219: espectro de RMN de ¹H (δ, 200 MHz, CDCl₃) de Pc-7



Figuras 220 e 221: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-7

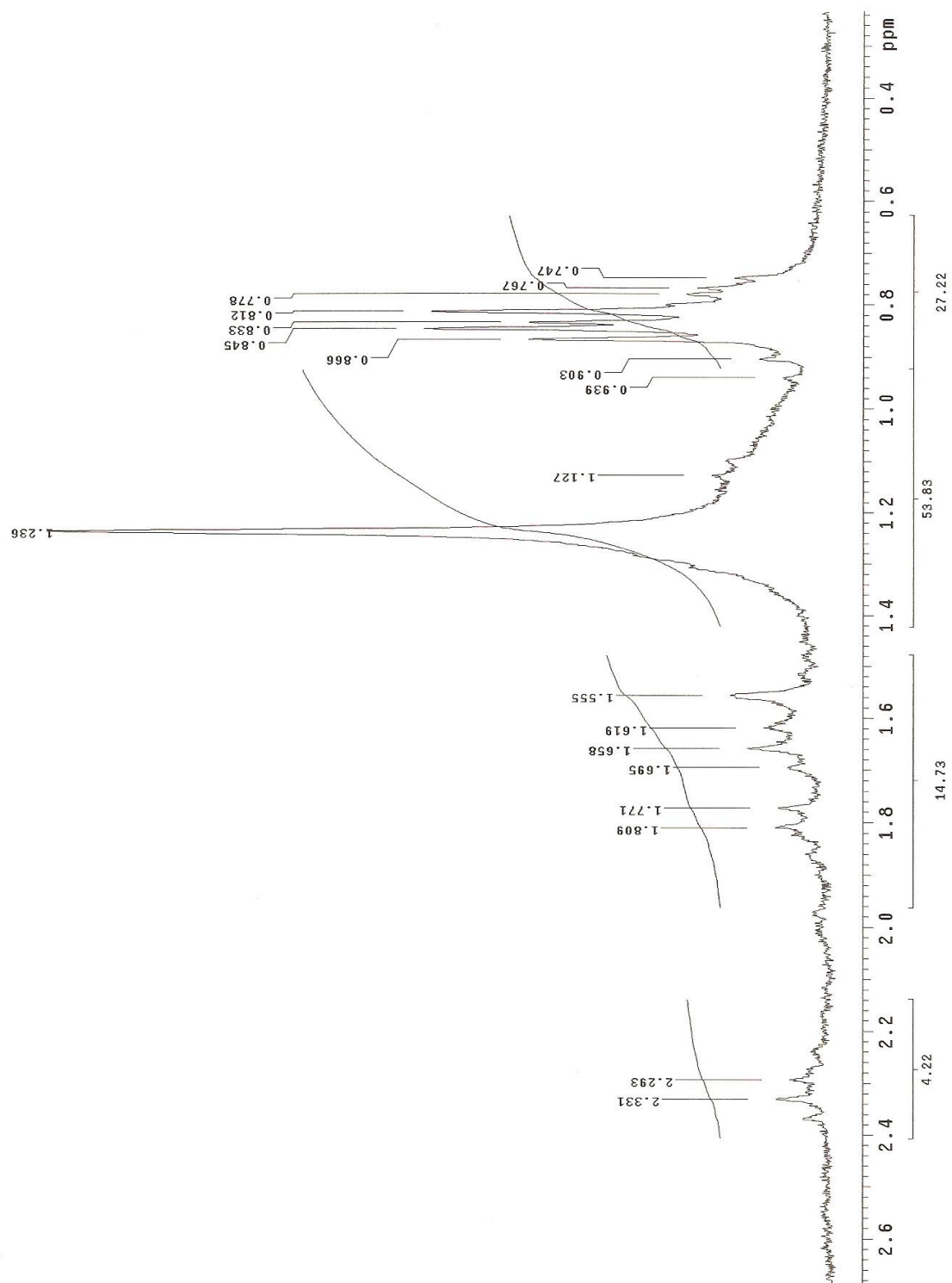
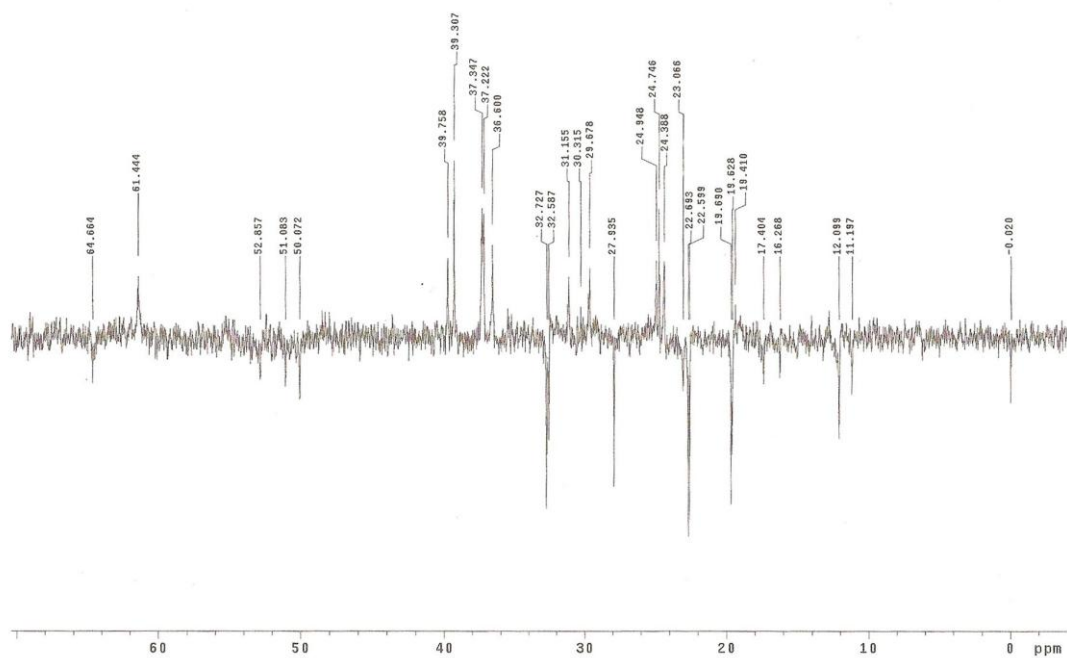
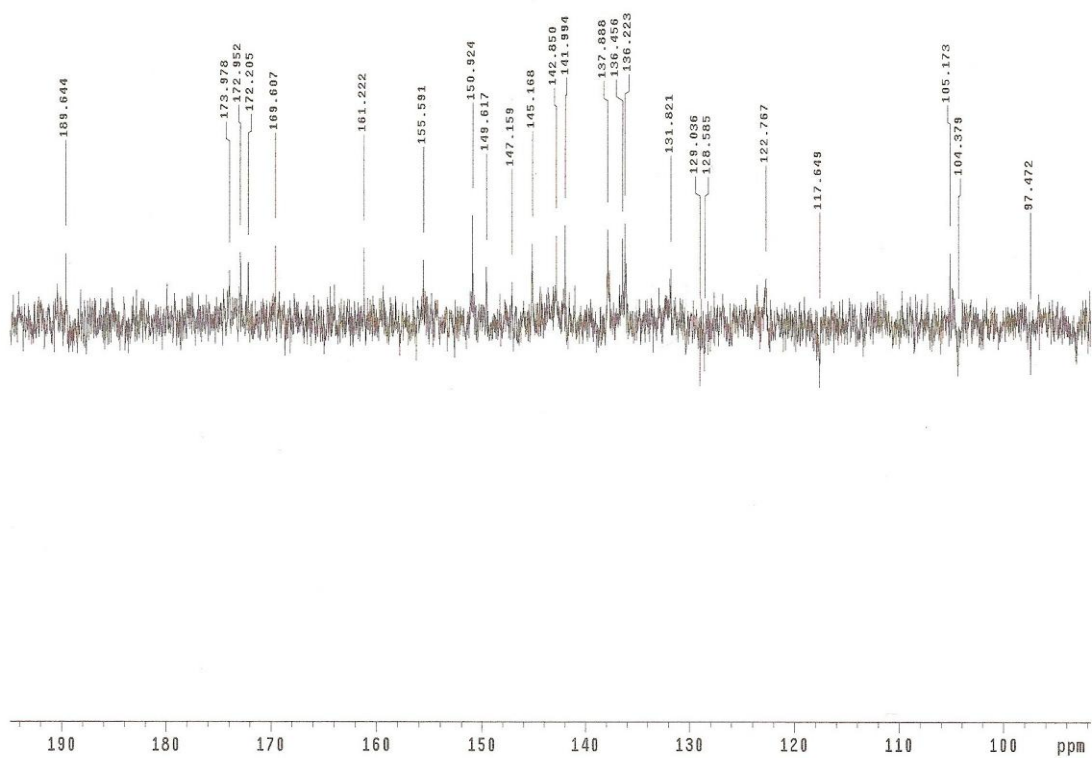


Figura 222: expansão do espectro de RMN de ^1H (δ , 200 MHz, CDCl_3) de Pc-7



Figuras 223 e 224: espectros de RMN de ¹³C (δ, 50 MHz, CDCl₃) de Pc-7

8 – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE Pg-1

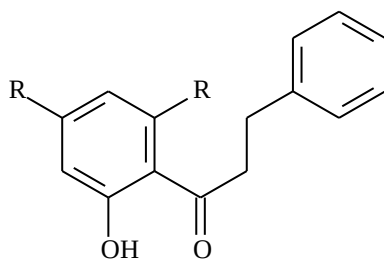
O constituinte químico codificado por Pg-1 apresentou-se como cristais amarelos, solúveis em MeOH e com P.F= 174-176 °C.

No espectro de IV (Figura 225, p. 300) observou-se uma banda de absorção em 3.292 cm^{-1} , típica de deformação axial de O-H em ligação hidrogênio intramolecular (SILVERSTEIN et al., 1994). Uma absorção adicional em 1.373 cm^{-1} , referente à deformação angular no plano de O-H, corroborou com a presença de hidroxila de fenol e/ou álcool na molécula. A existência de anel aromático pôde ser inferida a partir de um conjunto de bandas observado entre 1.618 e 1.568 cm^{-1} , referentes à deformação axial de C=C de aromático. Uma banda em 1653 cm^{-1} sugeriu a presença de uma carbonila em ponte, condizente com a absorção atribuída para deformação axial de O-H em ligação hidrogênio intermolecular referida acima. Bandas intensas ainda foram vistas em 1.298 e 1.195 cm^{-1} , sendo atribuídas a estiramento e deformação de grupo C-O, respectivamente.

O espectro de UV (Figura 226, p. 301) mostrou uma banda de absorção em 289 nm, além de um ombro em 332 nm. Essas absorções sugeriram a presença de um núcleo flavonóidico tipo diidrochalcona (BOHM, 1998). O uso de AlCl_3 provocou um deslocamento batocrômico das bandas II e I para 310 e 365 nm, respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, MeOD) mostrou a presença de 1 sinal simples em δ 3,86 (s, 3H) característico de metoxila ligada a anel aromático. Foram vistos ainda os seguintes sinais (Figuras 227-229, p. 302 e 303): δ 5,98 (d, $J=2,2\text{ Hz}$, 1H) e 5,92 (d, $J=2,2\text{ Hz}$, 1H), sugestivos de hidrogênios aromáticos em acoplamento meta e dispostos entre substituintes oxigenados; δ 7,29-7,23 (m, 4H) e 7,19-7,17 (m, 2H) que sugerem a presença de um anel aromático monossustituído; e δ 3,28 (t, $J=7,5\text{ Hz}$, 2H)

e 2,95 (t, J=7,5 Hz, 2H), característicos de hidrogênios α , β carbonílicos do esqueleto de diidrochalconas (Figura 229, p. 303).



O espectro de RMN de ^{13}C , experimento APT (δ , MeOD, 125 MHz) mostrou a presença de 13 sinais (Figura 230, p. 304), sendo seis para carbonos não-hidrogenados (δ : 205,83, 168,37, 166,60, 165,08, 143,22, 106,00), quatro para carbonos metínicos (δ : 129,56, 127,02, 97,13, 92,25), dois para carbonos metilênicos (δ : 47,11, 32,25) e um para carbono metílico (δ 56,27).

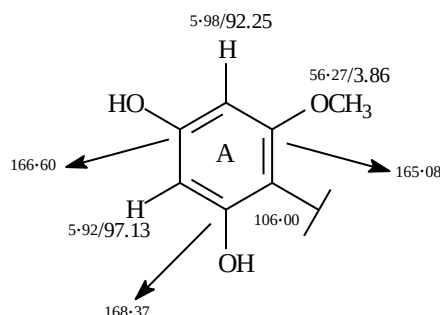
No espectro de correlação heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ foram observados os acoplamentos de δ 5,98/166,60, 106,00 e 97,13 e de δ 5,92/166,60, 106,00 e 92,25 (Figuras 232 e 235, p. 306 e 307) os quais, através da correlação direta vista no HSQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) entre δ 5,98/92,25 e δ 5,92/97,13 (Figura 231, p. 305), permitiram atribuir esses últimos sinais para as posições 3' e 5', respectivamente. As posições dos hidrogênios 3' e 5' foram corroboradas pela correlação homonuclear vista no experimento COSY entre δ 5,98/5,92 (Figura 237, p. 308).

Foram vistas ainda as seguintes correlações no HMBC:

- δ 3,86/165,08 (Figura 236, p. 307), cuja correlação direta mostrou acoplamento de δ 3,86/56,27 (Figura 231, p. 305). Além disso, a correlação espacial vista no espectro NOESY (Figura 238, p. 309) entre δ 3,86/5,98 permitiu atribuir a presença da metoxila na posição 6'.

- δ 5,98 e 5,92/106,00 (Figura 234, p. 307), o que permite atribuir δ 106,00 para a posição 1'.

- Correlação a $^2J_{(CH)}$ entre δ 5,92/168,37 e 166,60 (Figura 235, p. 307), confirmando os deslocamentos químicos desses carbonos para as posições 6' e 4', respectivamente.



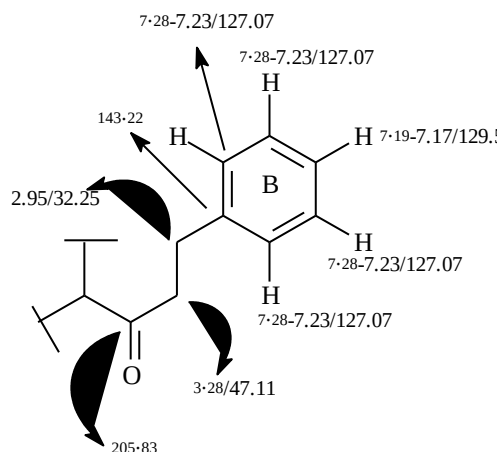
O sinal em δ 205,83 é sugestivo de carbonila de diidrochalconas (LAGO et al, 2007) que, através da correlação a $^2J_{(CH)}$ com δ 3,28 e a $^3J_{(CH)}$ com δ 2,95 (Figura 232, p. 306), além das correlações diretas de δ 3,28/47,11 e de δ 2,95/32,25 (Figura 231, p. 305), permitem confirmar a carbonila para a posição β' e, sugerir, δ 3,28 e 2,95 como hidrogênios α , β carbonílicos.

As feições dos sinais em δ 7,28-7,23 (m, 4H) e δ 7,19-7,17 (m, 2H) (Figura 227 e 228, p. 302 e 303), sugerem um anel B flavonoídico monossustituído. Para confirmar tal proposta estrutural foram observadas as seguintes correlações espectrais:

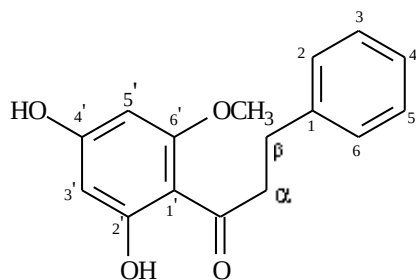
- No HSQC: δ 7,28-7,23/129,56 e de δ 7,19-7,17/127,07 (Figura 231, p. 305), sugerindo δ 7,28-7,23 e δ 7,19-7,17 para as posições 2, 3, 5 e 6 e 4 respectivamente, graças ao plano de simetria do anel.

- No HMBC: δ 7,28-7,23, 3,28 e 2,95/143,22 (Figuras 233 e 235, p. 306 e 307), que confirma δ 3,28 e 2,95 para as posições α e β , respectivamente e, conseqüentemente, δ 143,22 para o carbono 1; δ 7,28-7,23/129,56 e 127,07 (Figura 233, p. 306), confirmando o deslocamento em δ 7,28-7,23 para os hidrogênios 2, 3, 5 e 6 e, por exclusão, δ 7,19-7,17 para as posições 4, respectivamente.

- No espectro de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY: δ 7,28-7,23/7,19-7,17 (Figura 237, p. 308), o que corrobora a vizinhança entre os hidrogênios citados anteriormente.



Os dados relatados e sumarizados na tabela 31 (p. 298) permitem identificar Pg-1, como 2'-4'-dihidroxi,6'-metoxidiidrochalcona, conhecida como uvangoletina e anteriormente descrita nas famílias Chloranthaceae (WANG et al, 2007), Zingiberaceae (CHEENPRACHA et al, 2006), Myrtaceae (KUO et al, 2004), Annonaceae (ICHIMARU et al, 2004), Meliaceae (KOORBANALLY et al, 2002), Piperaceae (ISOBE et al, 2002), Papilionaceae (BARRERO et al, 1997), Polygonaceae (MIDIWO et al, 1992) e Pteridaceae (NILSSON et al, 1961) sendo relatada pela primeira vez no gênero *Piper*.



Pg-1

Tabela 31: dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de Pg-1 e correlações obtidas em experimentos HMQC, HMBC e NOESY registrados em MeOH, J(Hz) e δ (ppm).

	HMQC		HMBC		NOESY
	δC	δH	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^2\text{J})$	$\delta\text{C} \times \delta\text{H} (^3\text{J})$	
C					
1'	106,00			H-3', H-5'	
2'	168,37		H-3'		
3'	97,13	5,92 (d, J=2,2 Hz, 1H)		H-5'	OCH ₃ -6'
4'	166,60			OCH ₃ -6'	
5'	92,25	5,98 (d, J=2,2 Hz, 1H)		H-3'	
6'	165,08		H-5'		
α	47,11	3,28 (t, J=7,5 Hz, 2H)	H- β		
β	32,25	2,95 (t, J=7,5 Hz, 2H)	H- α		
β'	205,83		H- α	H- β	
1	143,22		H- β , H-2, H-6	H- α	
2	127,07	7,28-7,23 (m, 4H)		H-4, H-6	
3	129,56	7,28-7,23 (m, 4H)	H-2, H-4		
4	127,07	7,19-7,17 (m, 1H)		H-2, H-6	
5	129,56	7,28-7,23 (m, 4H)	H-4, H-6		
6	127,07	7,28-7,23 (m, 3H)		H-2, H-4	
OCH₃-6'	56,27	3,86 (s, 3H)			H-3'

Tabela 32: Comparação dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δ , MeOD, 500 e 125 MHz) de Pg-1 com a literatura (AGRAWAL, 1989)

	δC	δC
C		
1'	106,00	105,70
2'	168,37	164,50
3'	97,13	96,90
4'	166,60	165,60
5'	92,25	91,90
6'	165,08	168,03
A	47,11	46,20
B	32,25	31,40
β'	205,83	205,00
1	143,22	142,70
2	127,07	129,10
3	129,56	129,20
4	127,07	126,60
5	129,56	129,20
6	127,07	129,10
$\text{OCH}_3\text{-6'}$	56,27	57,59

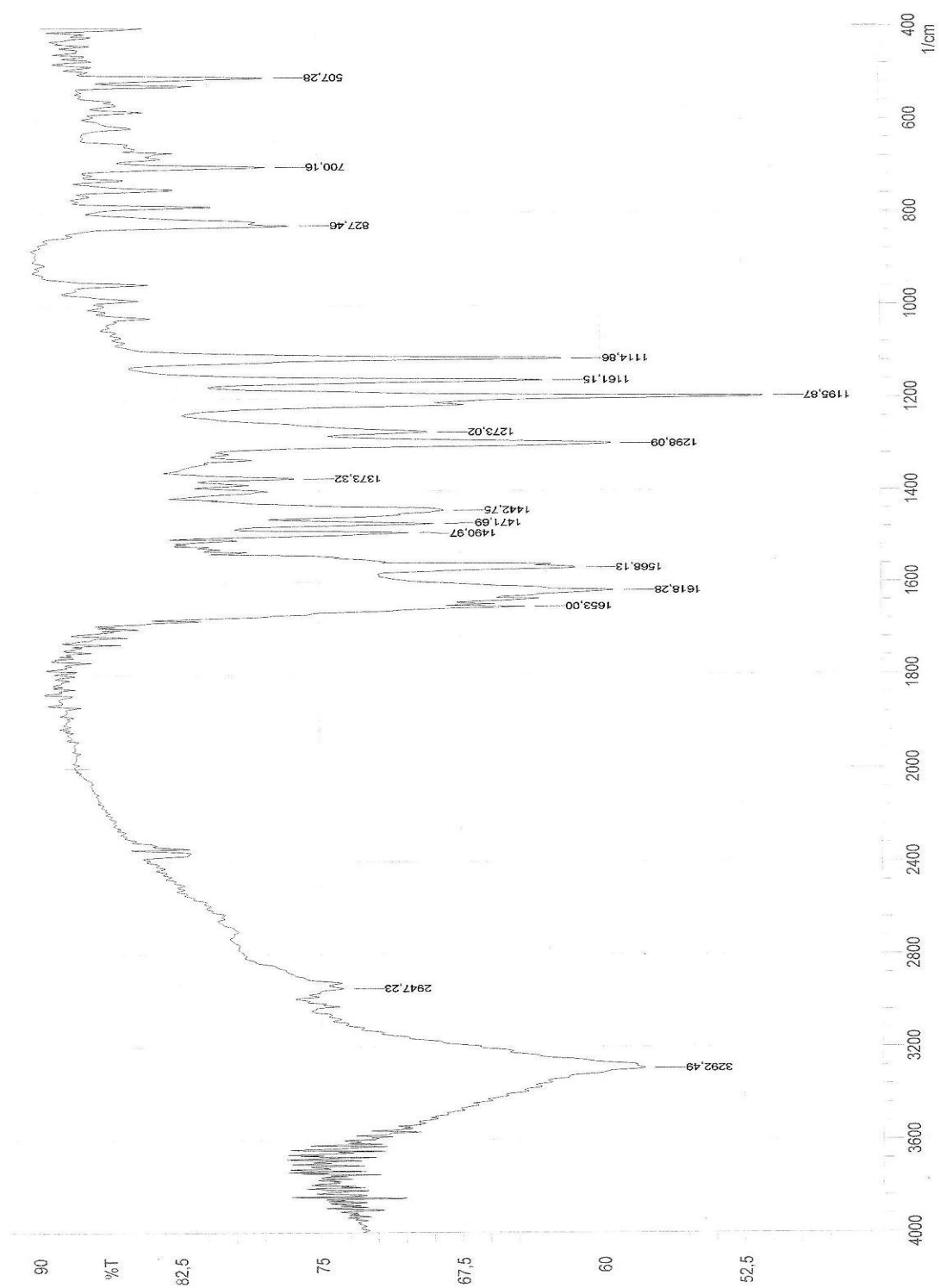


Figura 225: espectro de RMN no IV (λ , KBr, cm^{-1}) de Pg-1

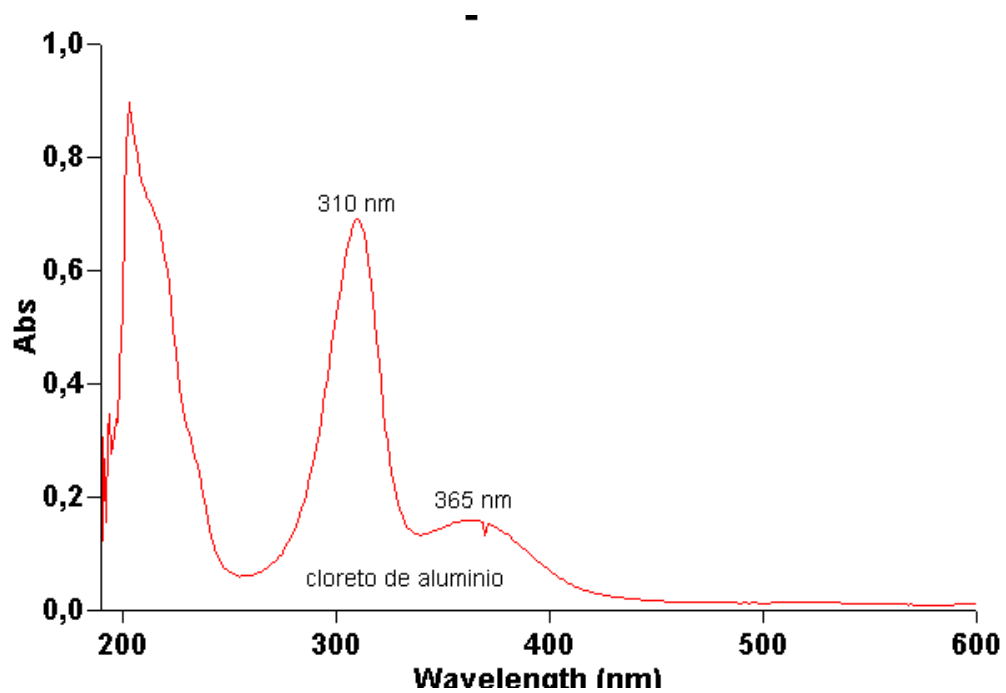
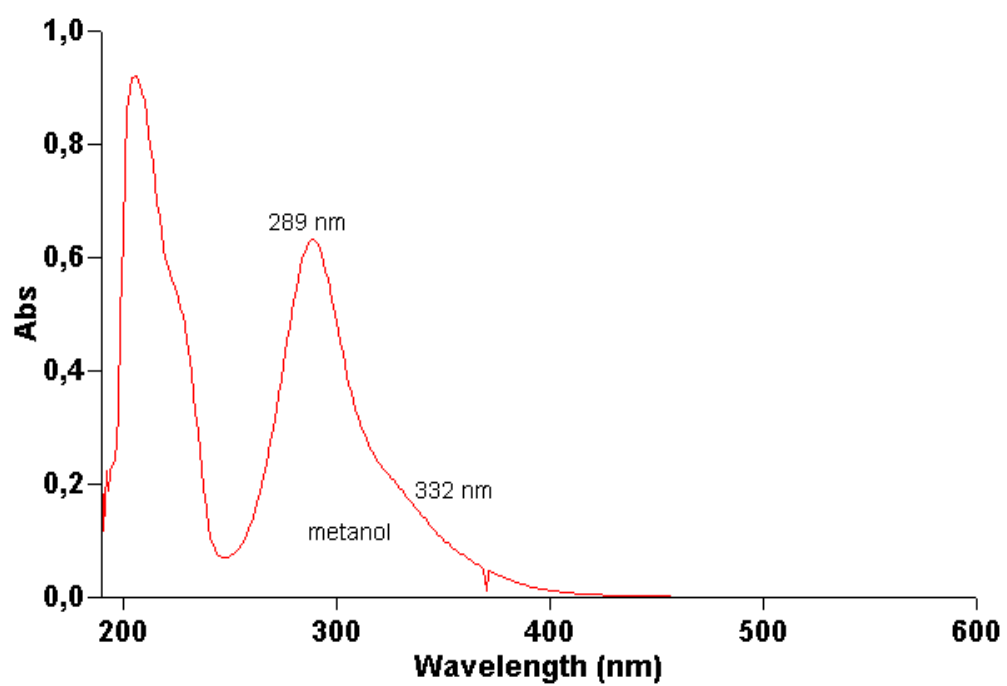


Figura 226: espectro no ultravioleta (λ_{max} , MeOH; MeOH + AlCl₃) de Pg-1

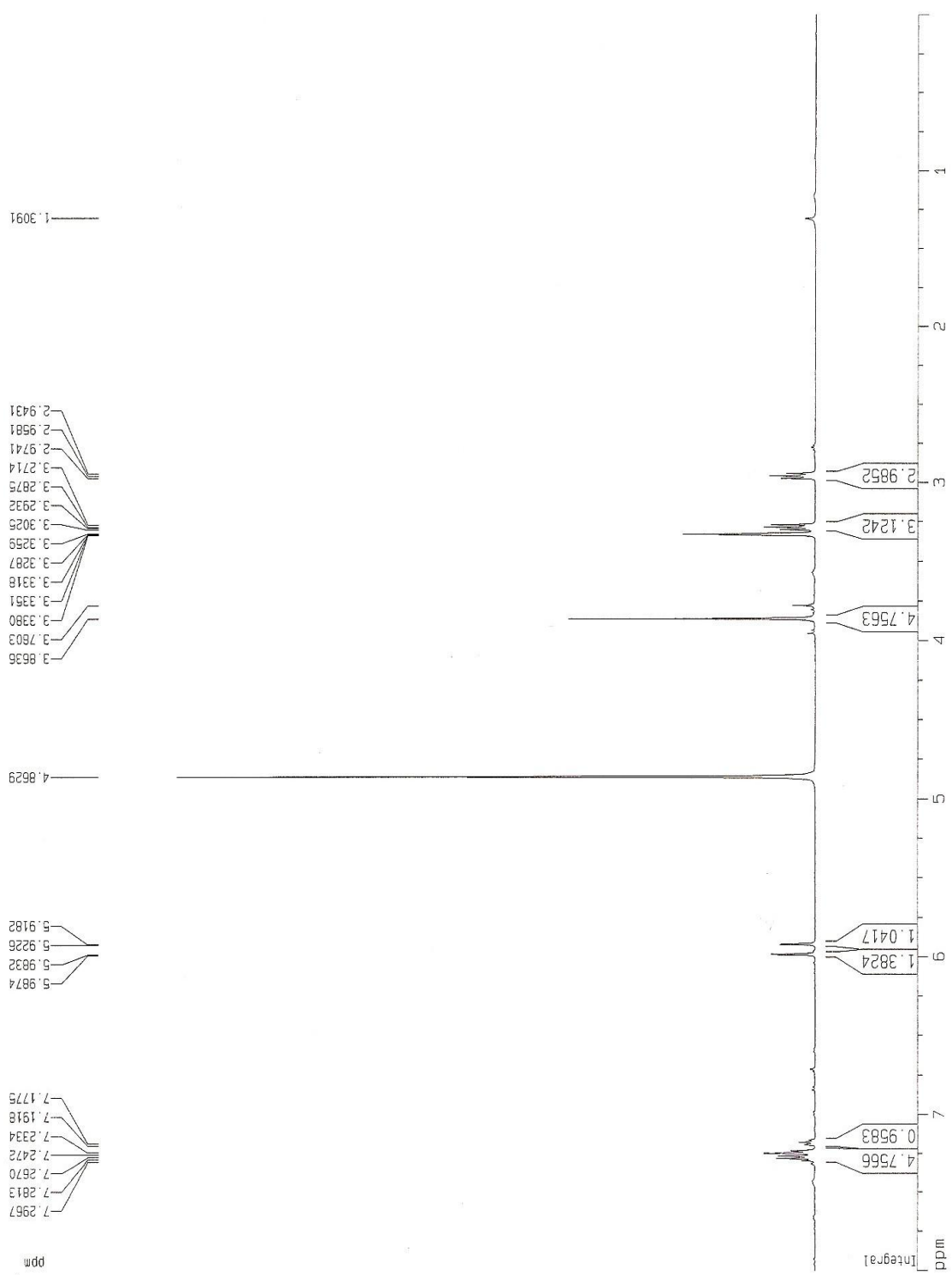
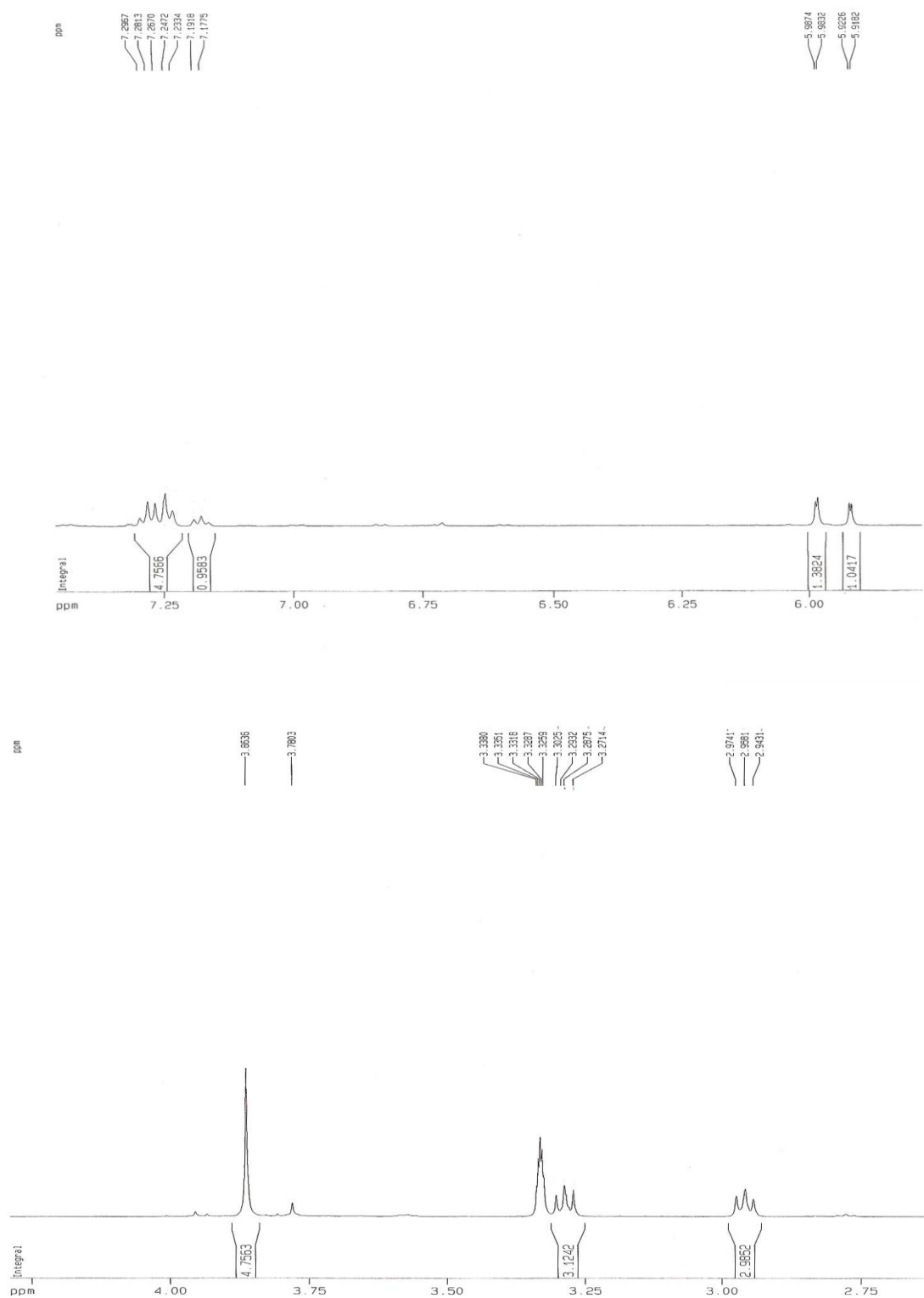


Figura 227: espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, MeOD) de Pg-1



Figuras 228 e 229: expansões do espectro de RMN de ^1H (δ , 500 MHz, MeOD) de Pg-1

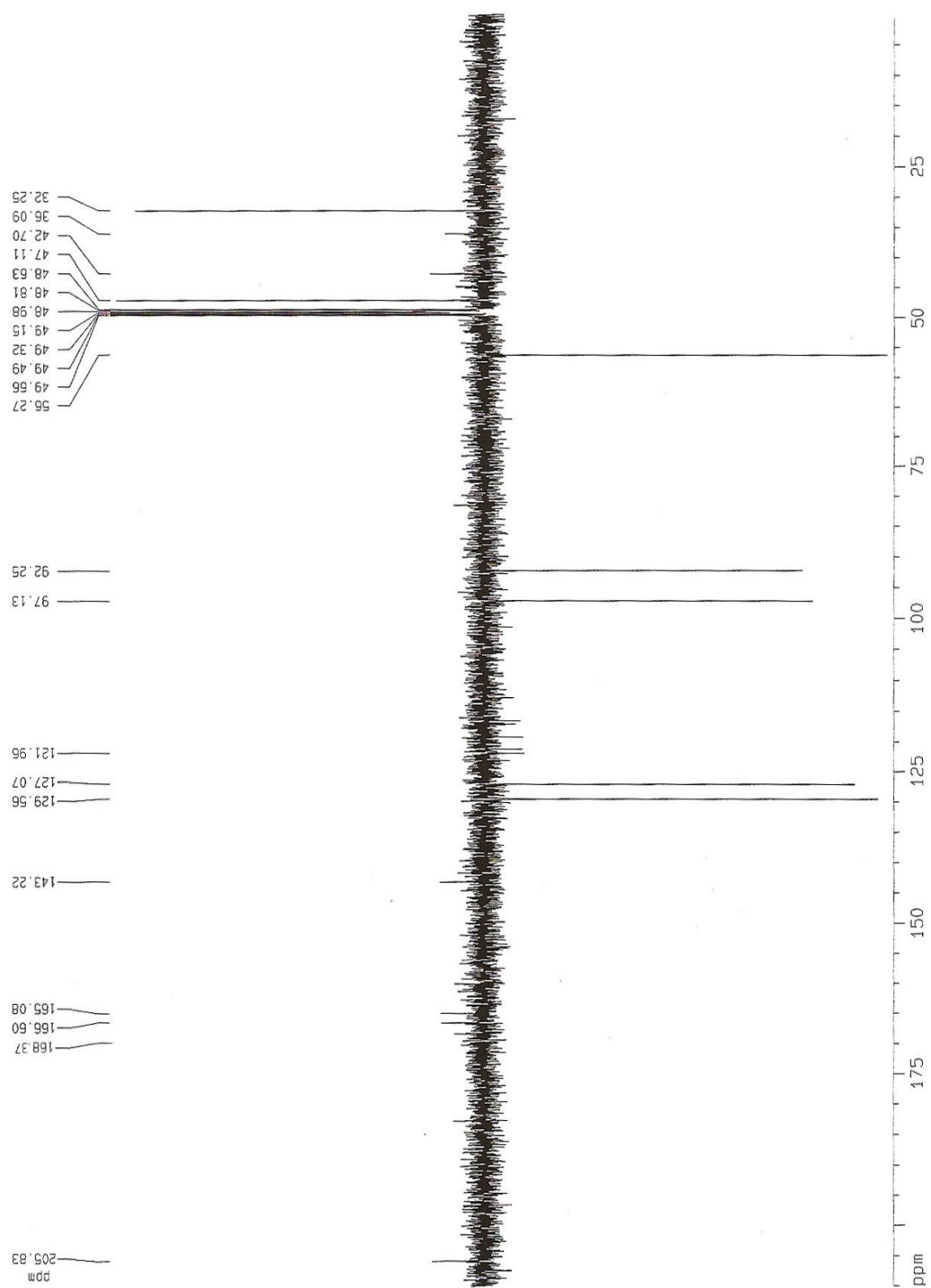


Figura 230: espectro de RMN de ^{13}C (δ , 125 MHz, MeOD) de Pg-1

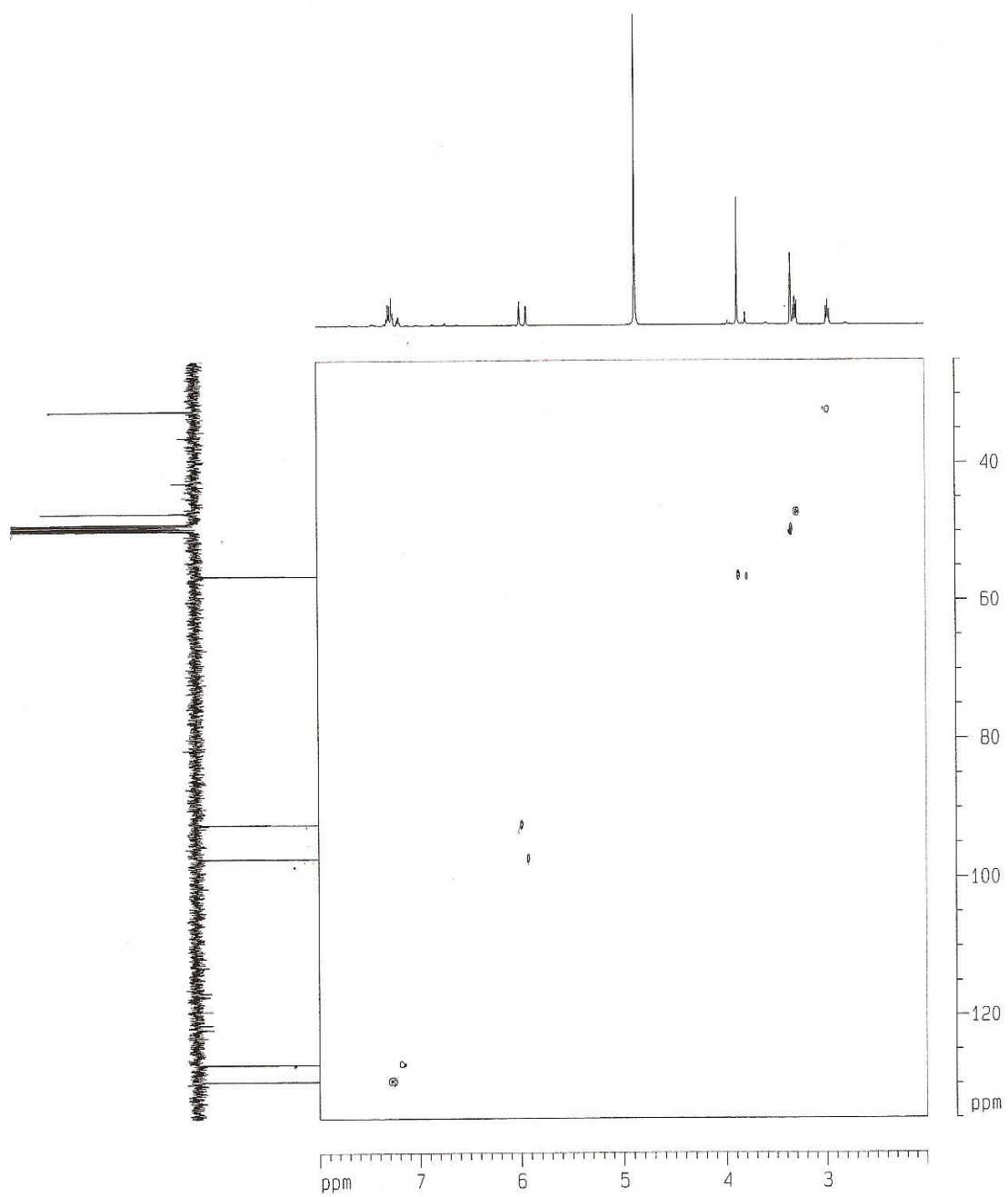
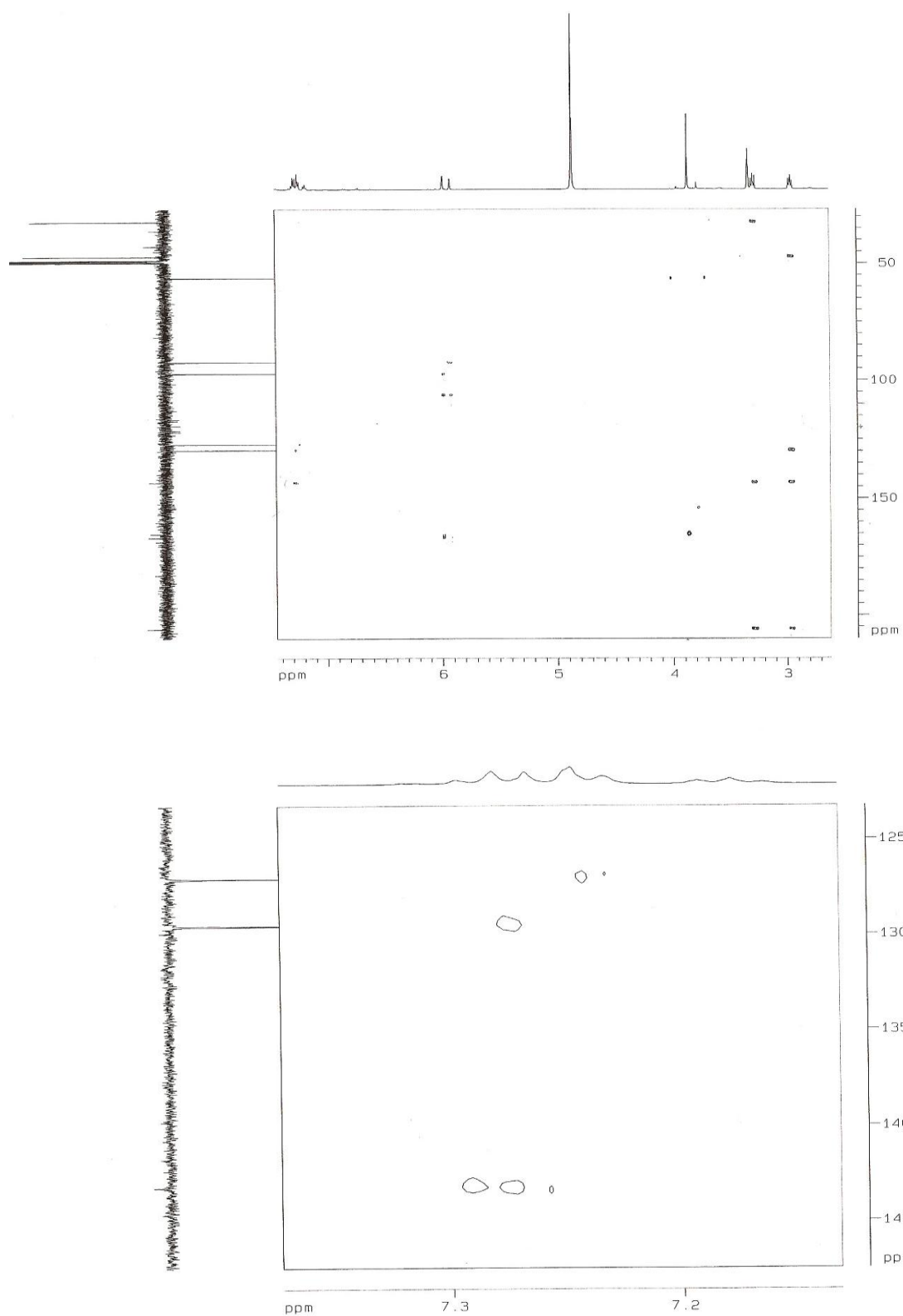
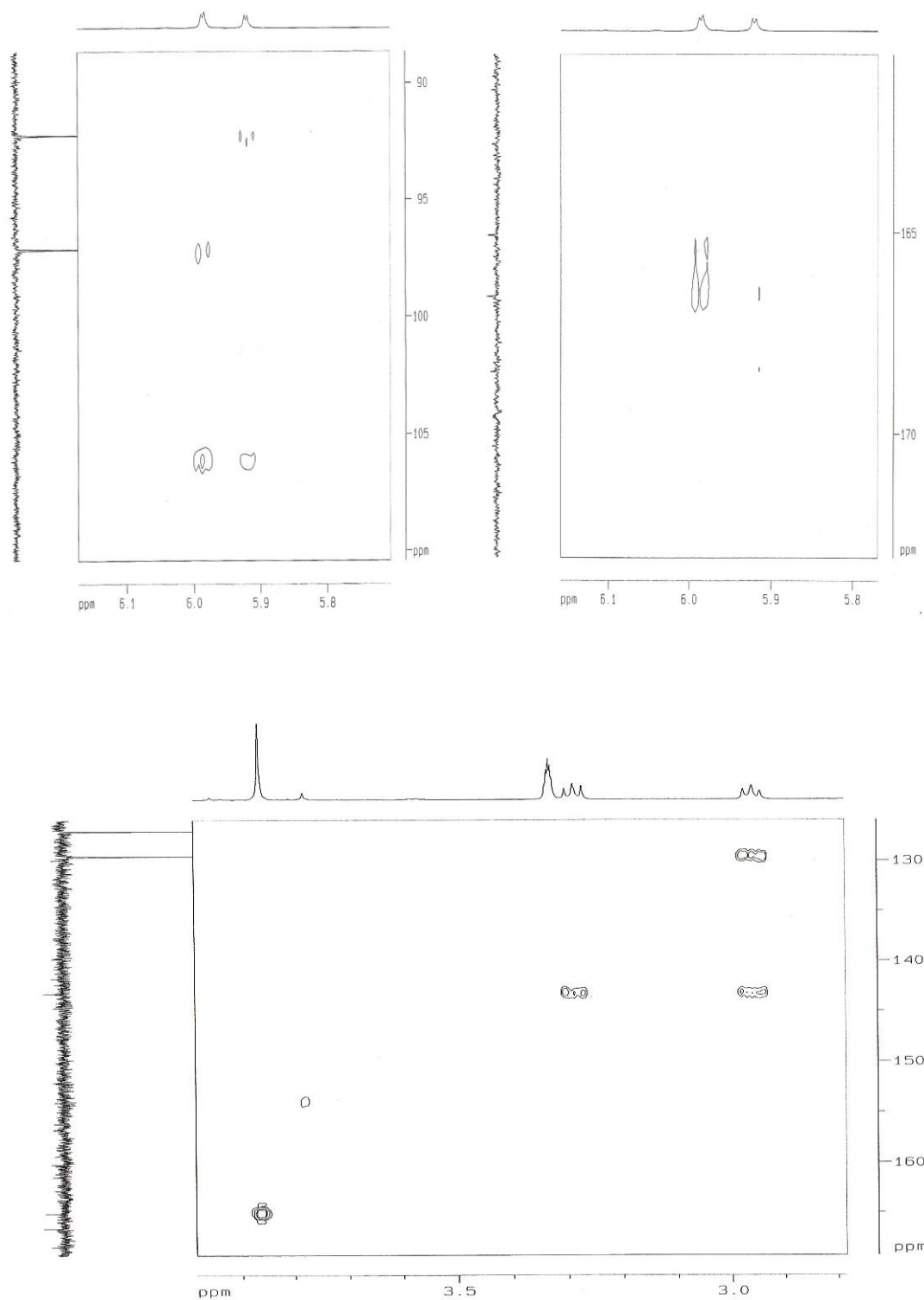


Figura 231: espectro de correlação heteronuclear HSQC – ^1H x ^{13}C de Pg-1



Figuras 232 e 233: espectros de correlação heteronuclear HMBC – ^1H x ^{13}C de Pg-1



Figuras 234, 235 e 236: expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC – ^1H x ^{13}C de Pg-1

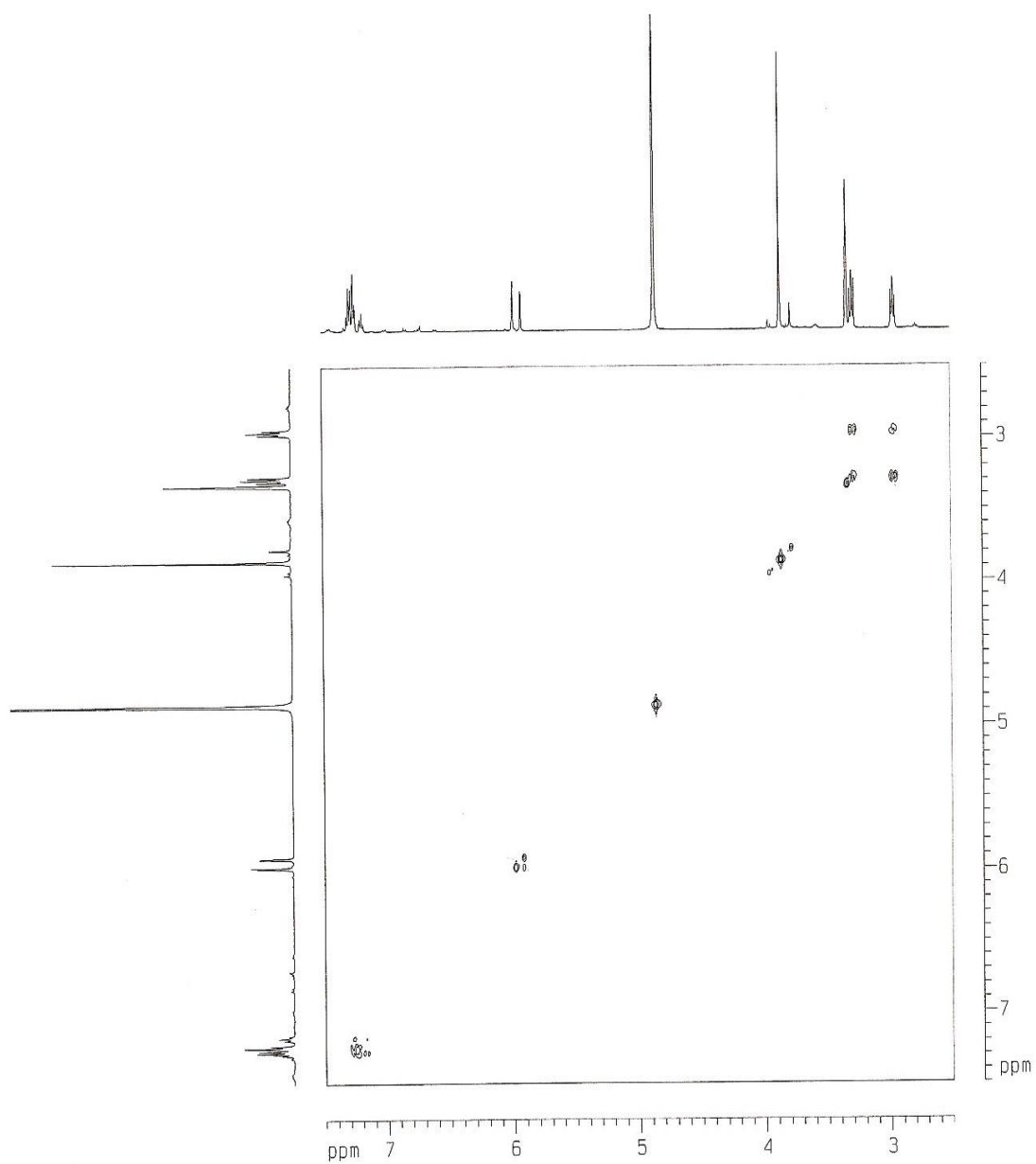


Figura 237: espectro de correlação homonuclear COSY – $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de Pg-1

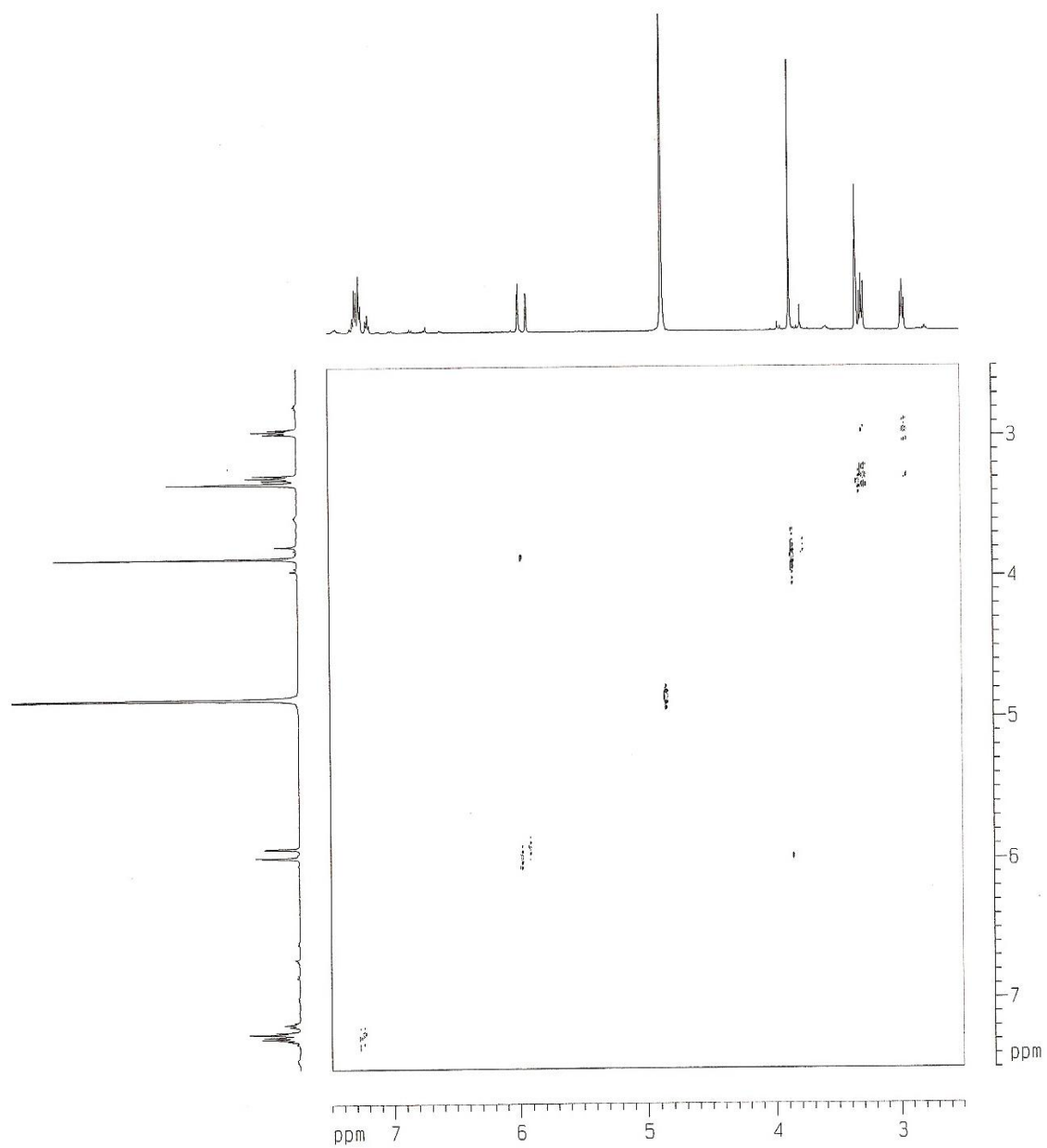


Figura 238: espectro de correlação homonuclear NOESY – ^1H x ^1H de Pg-1

9 – *Conclusões e Bibliografias*

9 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A investigação fitoquímica do extrato etanólico bruto de *Piper montealegreanum* Yuncker revelou a presença de duas novas diidrochalconas monoterpênicas (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(7''-dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona e (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(6''-hidroxi 7''-metilpentenil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]- metil-9-ona, codificadas como **Pmt-1** e **Pmt-2**, respectivamente), dois fenilalcanóides (3,4,5-trimetoxi-7,8-diidrocinamoil-etil éster e 3,4-metilenodioxibenzil-1-(3'E-5'E)-undecadieno, codificados por **Pmt-3** e **Pmt-4**, respectivamente) inéditos também como produtos naturais e a feofitina a (**Pmt-5**) isolada pela primeira vez no gênero *Piper*. Das partes aéreas de *Piper carniconnetivum* foram isoladas três flavonas (3',4',5 – trihidroxi-7-metoxiflavona - **Pc-1**; 3',5 – dihidroxi- 4',7-dimetoxiflavona - **Pc-2** e 4',5 – dihidroxi-7-metoxiflavona - **Pc-3**), sendo que Pc-1 e Pc-3 foram isoladas pela primeira vez no gênero. Além disso, foram isolados também um derivado do ácido benzóico (**Pc-4**), inédito como produto natural, um cerídeo (palmitato de fitila – **Pc-5**), dois esteróides (β -sitosterol e estigmasterol – Pc-6) e a feofitina a (Pc-7). De *Piper glandulosissimum* foi isolada uma diidrochalcona (**Pg-1**), relatada pela primeira vez no gênero. Essas estruturas químicas foram caracterizadas através de técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, IV, UV e EM.

Estudos microbiológicos preliminares com as fases das partições de cada uma destas espécies estão sendo realizados no DBM/UFPB. Algumas das substâncias isoladas serão disponibilizadas para futuros testes farmacológicos, como também derivatizadas para testes de estrutura atividade.

10 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids: Studies in Organic Chemistry** 39. Lucknov, India, Elsevier, 1989.

AHMAD, V.U., ALI, Z., ZAHID, M., ALAN, N., SABA, N., KHAN, T. Phytochemical study of *Salvia moorcroftiana*. **Fitoterapia**, 71, 84-85, 2000

AHMED, M.S., GALAL, A.M., ROSS, S.A., FERREIRA, D., IBRAHIM, A.S., MOSSA, J. S. A weakly antimalarial biflavanone from *Rhus retinorrhoea*. **Phytochemistry**, 58, 599-601, 2001

ALVES, H.S. **Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Piper montealegreanum* Yuncker**. Dissertação apresentada no curso de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais do LTF/UFPB. 2004.

ALVES, H.S., Zoghbi, M.G., Chaves, M.C.O. Flavonas isoladas de *Piper carnicornectivum* C.DC. XVIII Simpósio de Plantas Medicinais. Manaus-AM. 2006.

AMPOFO, S.A., ROUSSIS, V., WIEMER, D.F. New prenilated phenolics from *Piper auritum*. **Phytochemistry**, V.26, Nº 8, 2367, 1987

ANDRADE, E.H; ZOGHBI, M.G.B. Volatile constituents of the leaves and stems of *Piper glandulosissimum* Yunck. **Journal of essential oil research**. Sep/ Oct 2007.

ANGELY, T. **Tratado de botânica aplicada a Farmácia** 2º ed. Paraná. Edições Phiton, 1958.

ARAÚJO-JÚNIOR, J.X., CHAVES, M.C.O., DA CUNHA, E.V.L., GRAY, A.I., Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, 44, 559-561, 1997.

ARAÚJO-JÚNIOR, J.X., CHAVES, M.C.O., DA CUNHA, E.V.L., GRAY, A.I. Cepharanone b from *Piper tuberculatum*. **Biochem. Syst. Ecol.**, 27, 325-327, 1999.

ASIM, M. **Isolation and structural studies in the chemical constituents of *Salvia moorcroftiana* and *Euphorbia decipiens***. International Centre for Chemical Sciences. Pakistan. 2002

AVIJIT, B., SUDHIR, P. Constituents of *Piper sylvaticum*: structure of Sylvatesmin **Journal of Natural Products**, 45(6), 672-673, 1982

AYUMI, O., RITSUKO, Y., HARUKA, M., YOSHIYASU, F. Two Diterpene Rhamnosides, Mimosasides B and C, from *Mimosa hostilis*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 54 (12), 1728, 2006.

AZIZ, N.H.; FARAG, S.E.; MOUSA, L.A.; ABO-ZAID, M.A. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. **Micróbius**, v. 93, n.374, p. 43-54, 1998.

BANERJI, A., PAL, S. Constituents of *Piper sylvaticum*: structure of sylvatesmin. **J. Nat. Prod.**, 45 (6), 672-675, 1982

BARBOSA_FILHO, J.M; MEDEIROS, K.C.P; DINIZ, M.F.F.M; BATISTA. L.M; ATHAYDE-FILHO, F.; SILVA, M.S; CUNHA,E.V.L; ALMEIDA, T.R.G.S; QINTÁNS- JÚNIOR, L.T. **Rev.Bras. Farmacognosia**. 16, 258, 2006.

BARKER, R. **Organic Chemistry of Biological Compounds**. New Jersey: FMB, 1977.

BARRERO, A.F., HERRADOR, M.M., ARTEAGA, P., GARCIA, I.G. Resorcinol derivatives and flavonoids of *Ononis natrix* subspecies *ramosissima*. **Journal of Natural Products**, 60, 2, 1997.

BARRON, D; IBRAHIM, R.R. Isoprenylated flavonoids - a survey. **Phytochemistry**, v.43, n.5, 921-82, 1996.

BERETZ, A; CAZENOVE, J.P. Plant flavonoids in biology and medicine II : **Progress in clinical and biological research**. N.Y- USA: ALAN R.LISS, p. 187-200, 1998.

BEZERRA, D.P; MOURA, D.J.; ROSA,M.R; SILVEIRA, E.R; VASCONCELOS, M.C; SILVA, A.C.R; MORAES, M.O; LIMA, M.A.S; SAFFI, T. Evaluation of the genotoxicity of pipartine, an alkaloid of *P. Tubercutatum*, in yeast and mammalian. v.79 cells. **Mutation Research**. 652, 164-174, 2008.

BLANCO, A. Pesquisa mostra risco de extinção de plantas. **Folha de São Paulo**. p. A12. 1998.

BOHM, B. A. **Introduction to flavonoids**. 1º edição. Vancouver-CAN. British Library. v.2. 1998

BOHM, B.A. Major exudate flavonoids of *Dubautia arborea* (Asteraceae). *Biochem. Syst. Ecol.*, 27, 755, 1999.

BOLIN, B.A. **Introduction to flavonoids**. 1º ed. Vancouver - Canadá. British Library Cataloguing. v.2. 1998.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition reviews**, v. 56, n. 11, p.317-333, 1998.

BRACK, M.E; PESTEL, G; GASTRONOVO, G; FORDAST, J. M.; VOKAET, L.C.A.; MARCEL, M.M. Plant flavonoids in biology and medicine II: **Progress in clinical and biological research**. N. York- USA. T.B. LISS. 1988.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. Zaragoza: Acribia, 1991.

BUCHANAN, M.S., HASHIMOTO, T., ASAKAWA, Y. Phytol esters and phaeophytins from hornwort *Megaceros flagellaris*. **Phytochemistry**, 41 (5), 1373, 1996.

BURDA, S; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agriculture and food chemistry**. v.49. n.6. p.2774-2779, 2001.

BURKE, B., NAIR, M. Phenylpropene, benzoic acid and flavonoid derivatives from fruits of jamaican *Piper* species. **Phytochemistry** 25, 1427-1430, 1986.

CARDOZO-JÚNIOR, E.L. **Elucidação estrutural de constituintes químicos das raízes de *Piper tuberculatum* Jacq., var. *tuberculatum* e *Piper caldense* C. DC. e screening farmacológico do extrato de *Piper caldense* C. DC.** Dissertação de mestrado – LTF/UFPB, João Pessoa - PB. Brasil. 1998.

CARDOZO-JÚNIOR, E.L., CHAVES, M.C.O. Caldensin, a new natural N-methylaristolactam from *Piper caldense*. **Pharmaceutical Biology**, 41, 216-218, 2003.

CARVALHO, J.C.T; GOSMAN, G; SCHENKEL, E. P. Compostos. fenólicos simples e heterosídeos. In: Simões, M.A. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5º ed. Editora UFRGS/ UFSC. 2004.

CHAVES, M.H. **Estudo químico da *Porcelia macrocarpa* (Warm.) R.E. Fries (Annonaceae)** V.1. Tese de Doutorado. USP. São Paulo_SP. 1996.

CHAVES, M.C.O., SANTOS, B.V. Constituents from *Piper marginatum* fruits **Fitoterapia**, 73, 547-548, 2002.

CHAVES, M.C.O., SANTOS, B.V., OLIVEIRA, A.H.. 1-cinnamoyl pyrrolidide from *Piper marginatum*. **Biochem. Syst. Ecol.**, 31, 1213-1214, 2003.

CHAVES, M.C.O., SANTOS, B.V. JÚNIOR, A.G. de F. Amides from *Piper tuberculatum* fruits. **Fitoterapia**, 74, 181-183, 2003.

CHAVES, M.C.O., SANTOS, B.V. OLIVEIRA, A.H. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Biochem. Syst. Ecol.** 34, 75-77, 2006.

CHEENPRACHA, S., KARALAI, C., PONGLIMANONT, C., SUBHADHIRASAKUL, S., TEWTRAKUL, S. Anti-HIV-1 protease activity of compounds from *Boesenbergia pandurata*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 14(6), 1710-1714, 2006.

CHERMOMORSKY, S., SEGELMON, A., PORETZ, R. D. Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth. **Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis**. 19, 313-22, 1999.

CHEN, J.; MONTANARI, A. M.; WIDMER, W. W. Two New Polymethoxylated Flavones, a Class of Compounds with Potential Anticancer Activity, Isolated from Cold Pressed Dancy Tangerine Peel Oil Solids. **J. Agr. Food Chem.** V. 45, p. 364-368, 1997.

CHEN, J.; MONTANARI, A. M. Isolation and Identification of New

Polymethoxyflavonoids from Dancy Tangerine Leaves. **J. Agrc. Food Chem.** V. 46, p. 1235-1238, 1998.

COSTA, D.A. **Flavonas isoladas e identificadas das partes aéreas de *Herissantia tiubae* (K.Schim) Brizicky (Malvaceae).** Dissertação de mestrado. LTF/UFPB.João Pessoa-PB. Brasil. 2000.

CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, v.854, p. 435-442, 1998.

CRAGG, G.M., NEWMAN, D.J., SVADER, K.M. Natural products in drug discovery and development. **J. Nat. Prod.**, v. 60, p. 52, 1997.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification on the flowers plants.** 2º ed. New York Botanical Garden N. York – USA. 1998.

CUNHA, E.V.L., CHAVES, M.C.O. Two amides from *Piper marginatum* fruits. **Fitoterapia**, 72, 197-198, 2001.

CHUN-LI YE. Flavonoids from *Cleistocalix perculatus*. **Phytochemistry**. 2003.

DANELUTTE, A. P., LAGO, J. H. G., YOUNG, M. C. M., KATO, J. M. Antifungal flavanones from *Piper crassinervium* Kunth. **Phytochemistry**, 64, 555-559, 2003.

DESCHNER, E.E., RUPERTO, J., WONG, G., NEWMARK. H.L. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol - induced colonic neoplasia. **Carcinogenesis**, v. 12, p.1193- 1196, 1991.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach.** John Wiley & Sons Ltd., New York, 1997.

DIAZ, D. P. P., ARIAS, C. T., JOSEPH-NANTAN, P. A chromene, an isoprenylated methyl hydroxybenzoate and a C-methyl flavanone from the bark of *Piper hostmanianum*. **Phytochemistry**, 26, 809-811, 1987.

DIAS, B.B., CASTILHO, G., LEITE, M.L. **Avaliação dos teores de clorofila e feofitina em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae) submetidas à chuva ácida simulada.** VII EPUEPG. Ponta Grossa-PR. 2007.

DI CARLO, G. Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**. v. 65, nº4, p. 37-353, 1999.

DI STASI, L.C. (org.). **Plantas medicinais: Arte e ciência.** 1º reimpressão. S. Paulo-SP. Editora Unesp. 1996.

DUAN, H.; TAKAISH, Y.; MOMOTA, H.; OHMOTO, Y.; TAKI, T. Immunosuppressive constituents from *Saussurea medusa*. **Phytochemistry**, v. 59, n. 1, p. 85-90, 2002.

DUKE, J.A. **Handbook of medicinal herbs**. 1^o ed. CRC. N. York. 1985.

DUTTA, C. P., SOM, U. K. **Journal of India Chemistry Society**, 55, 932, 1978.

ECKBERG, W.R., PEROTKI, M.E. *Biol Bull.* 164, 62, 1983.

ENOMOTO, S., OKADA, Y., GUVENC, A., ERDWAK, C.S., COSKIM, M., OKUYAMA, T. **Biol. Pharm. Bull.** 27(7), 1140-143, 2004.

FACUNDO, V. A., SÁ, A. L., SILVA, S. A. F., MORAIS, S. M., MATOS, C. R. R., BRAZ-FILHO, R. Three new natural cyclopentenedione derivatives from *Piper carniconnectivum*. **J. Braz. Chem. Soc.**, 15, 140-145, 2003.

FACUNDO, V.A., BRAZ-FILHO, R. C- methylated flavonoids from the roots of *Piper carniconnectivum* C. DC (Piperaceae). **Bioch. Syst. Ecol**, v. 32, 12, 1215-17, 2004.

FACUNDO, V.A., REZENDE, C.M., PINTO, A. C. Essential oil of *Piper carniconnectivum* C.DC. leaves and stems.. **Journal of Essential Oil Reserch.** May/june 2006.

FACUNDO, V.A., SÁ, A.L., SILVA, S.A. F., MORAIS, S.M., MATOS, C.R.R., BRAZ- FILHO, R. **J. Chem. Soc.** v. 15, n^o 1, 2004.

FERNANDEZ M.A., SAENZ, M.T., GARCIA, M.D. Antiinflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 50, n^o. 10, p. 1183-1186, 1998.

FERRO, D. **Fitoterapia - conceitos clínicos**. 1^o ed. . São Paulo-SP. Edit. Atheneu 2006.

GALINIS, D. L., WIEMER, D. F. Villiramulins A and B: new phenol derivatives from *Piper villiramulum*. **Journal of Organic Chemistry**, 58(27), 7804-7, 1993.

GAMACHE, P., RYAN, E., ACWORTH, I.N. Analysis of phenolic and flavonoid compounds in juice beverages using high- performance liquid chromatography with coulometric array detection. **Journal of Chromatography**, v. 635, n.1, p.143-150, 1993.

GASSINEE, T., KAZUHIKO, N., HIROSHI, SHINMOTO, M., TAKENAKA, MAYUMI, O.K., HIROSHI, O., MITSURU, Y., TADAHIRO, N., TOJIRO, T.. Structural Analysis of a Novel Antimutagenic Compound, 4-Hydroxypanduratin A, and the Antimutagenic Activity of Flavonoids in a Thai Spice, Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* Schult.) against Mutagenic Heterocyclic Amines. **J. Agric. Food Chem.**, 49, 3046-3050, 2001.

GEISSMAN, T.A., CRONT, D.H.G. **Organic chemistry of secondary plant metabolism**. San Francisco-USA: Freeman, Cooper, p. 92- 181, 1969.

GREGORY, R. P. F. **Biochemistry of Photosynthesis**. 2nd ed. London: John Wiley & Sons LTD 1978.

HANO, Y. A novel way of determining the structure of artonin I, an optically active Diels–Alder type adduct, with the aid of an enzyme system of *Morus alba* cell cultures, **J. Chem. Soc. Chem. Commun.**, 1177, 1992.

HARBORNE, J.B. **Phytochemical methods**. 1^o ed. New York- USA. Great British Ltda. 1976.

HARBORNE. J.B; MABRY, T.Y. (eds). **The flavonoids: Advances in research**, Chapman and Hall, London-GRB. 1982.

HARBORNE, J.B. **The flavonoids (advances in research since 1986)**. 1^o ed. Chapman and Hall.London. GBR. 1994.

HERMAM, K. **J. Food technol.** 11, 433, 1976.

HIGASHI- OKAY, K. TAMGUCHI, M. OKAY, Y. Potent antioxidative actives of non-polyphenolic fraction of green tea - Association with phaeophytin a and b. **Journal of the science of food and agriculture**, 80, 117-120. 2000.

HOUGHTON, P.J. Chromatography of the chromone and flavonoids alkaloids. **Journal of Chromatography A**, 967, 75-84, 2002.

HOUGHTON, P.J. Chemistry and biological activities of natural and semi-synthetic chromone alkaloids. **Studies in Nat. prod. Chem.** v. 21, 123-53, 2000.

HOLLMAN, P.C.; KATAN, M.B. Bioavailability and health effects of dietary flavonoids in man. **Archives of Toxicology Supplement**, v.20, p. 237- 248, 1998.

HIRAYAMA, C; ONO, H; TOMURA, Y; NAKAMURA, M. C-prolinylquercetins from yellow cocoon shell of the silkworm *Bombyx mori*. **Phytochemistry**, 67, 576-83, 2006.

HOU, D., SONG, S., SONG, M., ZANG., YI-X., LI., X., WANG, J.H. Verification of bilobalide's absolute configuration using CD spectrum and chemical constituents of the extract from *Ginkgo biloba*. **Shenyang Yaoke Daxue Xuebao**, 25(4), 320, 2008.

ICHIMARU, M., NAKATANI, N., TAKAHASHI, T., NISHIYAMA, Y., MORIYASU, M., KATO, A., MATHENGE, S. G., JUMA, F. D., NGANGA, J. N. Cytotoxic C-benzylated dihydrochalcones from *Uvaria acuminata*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 52(1), 138-141, 2004.

ISOBE, T., OHSAKI, A., NAGATA, K. Antibacterial constituents against *Helicobacter pylori* of Brazilian medicinal plant, pariparoba. **Yakugaku Zasshi**, 122(4), 291-294, 2002. (CAN 137:291662)

IVANOVA, A., MILKOVA, T., GALABON, A.S., NIKOLAEVA, L., VOYNOVA, E. Transformation of cholanic acid derivatives into pharmacologically active esters of phenolic acids by heterogeneous Wittig reaction. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 36, n°7-8, p.516, 1997.

JENSEN, S., OLSEN, C.E., TYAGI, O.D., BOLL, P.M., HUSSAINI, F.A., GUPTA, S., BISHT, K.S., PARAMR, V.S. Neolignans and an isoprenylated phenol from *Piper clarkia*. **Phytochemistry**, 36, 789-792, 1994.

JERZ, G., ARREY, T.N., WRAY, V., DU, Q. Structural characterization of 13²-hydroxy-(13²-S)-phaeophytin a from leaves and stems of *Amaranthus tricolor* isolated by high speed countercurrent chromatography. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 8, 413, 2007.

JOSHI, A. S., LI, X. C., NINROD, A. C., ELISOHLY, H. N., WALKER, L. A., CLARK, A. M. Dihydrochalcones from *Piper longicaudatum*. **Planta Medica**, 67, 186-188, 2001.

KANCHANAPOOM, T; KASAI, R; CHUMYRI, P; YAMASAKY, K. **Tetrahedron Letters**, 43, 2941-43, 2002.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n.2, p. 213-218, 1999.

KINGHORN, A.D., SEO, E. Plants as source of drugs. **Agricultural Materials as Removable Resources**, v. 12, p. 179, 1996.

KINOSHITA, T; FERMAN, K. Highly oxygenated flavonoids from *Murraya paniculata*. **Phytochemistry**, v.42, n.4, 1207-15, 1996.

KISAKI, T; MIZUSAKI, S; TOMAKI, E. **Arch. Bioch. Biophys.**, 117. 677, 1966.

KITSON, F.G., LARSEN, B.S., MCEWEN, C.N. **Gas Chromatography and Mass Spectrometry**. 1^o edição. Academic Press. San Diego, CA-USA. 1996.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H.; Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

KOORBANALLY, N.A., RANDRIANARIVELOJOSIA, M., MULHOLLAND, D.A., QUARLES VAN UFFORD, L., VAN DEN BERG, A. J. J. Chalcones from the seed of *Cedrelopsis grevei* (Ptaeroxylaceae). **Phytochemistry**, 62(8), 1225-1229, 2003.

KUHNAU, J. **World Rev. Nut. Diet**, 24, 117, 1976.

KUO, Y.C., YANG, L.M., LIN, L.C. Isolation and immunomodulatory effect of flavonoids from *Syzygium samarangense*. **Planta Medica**, 70(12), 1237-1239, 2004

KUTCHAN, T.M. Ecological arsenal and developmental dispatcher: the paradigm of secondary metabolism. **Plant Physiology**, 125, 58-60, 2001.

LAGO, J.H., YOUNG, M.C. REIGADA, J.B., SOARES, M.G., KATO, M.J. Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *Piper lhotzkyanum* (PIPERACEAE). **Química Nova**, V.30, Nº 5, 1222, 2007.

LIMA, L.M. Química medicinal moderna: contribuições e desafios. **Química Nova**, 30, nº 6, 1456, 2007.

LIN, Y-M., ZHOU, Y., FLAVIN, M.T., ZHOU, L-M., CHEN, F-C. Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. **Biorganic & Medicinal Chemistry**, 10, 2795, 2002.

LOPEZ, A., MING, D. S., TOWERS, G. H. Antifungal activity of benzoic acid derivatives from *Piper lanceaefolium*. **Journal of Natural Products**, 65, 62-64, 2002.

LUCKNER, M. Secondary metabolism in plants and animals. 1º edição. Great Britain: Chapman and Hall. 1972.

MABBERLEY, D.J. **The plant-book: a portable dictionary of the higher plants**. New York: Cambrigde Univ. Press, 1997.

MALHOTRA, S., KOUL, S.K., TANEJA, S.C., PUSHPANGADAN, P., DHAR, K.L. Neolignan from *Piper sumatranum*. **Phytochemistry**, 29, 2733-2734, 1990.

MANN, J. Chemical aspects of biosynthesis. N. York: Oxford.science publications, 1994.

MASUOKA, C., ONO, M., ITO, Y., NOHARA, T. Antioxidative constituents from the aerial parts of *Piper elongatum* Vahl. **Food Science Technology Institute (Tokio)**, 3, 285-289, 1997.

MATOS, F.J.A. Apostila sobre técnicas de laboratório aplicadas a produtos naturais. USP. 1988.

MATOS, F.J.A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 2º edição. Fortaleza-CE. Editora UFC. 1997.

MATSUO, A.; ONO, K.; HAMASAKI, K.; NOZAKI, H. Phaeophytins from a cell suspension culture of the liverwort *Plagiochila ovalifolia*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 427-430, 1996.

McCHESNEY, J.D., VENKATARAMAN, S.K., HENRI, J.T. Plant Natural Products: back to the future or into extinction. **Phytochemistry**, 68, 2015, 2007.

MEISSNER, O., HABERLEIN, H. HPLC analysis of flavokavins and kavapyrones from *P. methysticum* Forst. **Journal of Chromatography B**, 826, 46-49, 2005.

MIDIWO, J.O., GIKONYO, N. K., WANJAU, D. O., MATASI, J. J., WATERMAN, P. G. Flavonoids of *Polygonum senegalense* (Meisn). Part II: More surface and internal tissue flavonoid aglycones. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, 6(2), 119-22, 1992 (CAN 119:24614).

MILNE, G.M. Ann. Rep. Med. Chem., 38, 383, 2003

MONCADA, S., PALMER, R.M.J., HIGGS, E.A. Nitric oxide-Physiology, patophysiology and pharmacology. **Pharmacology Reviews**, v. 43, 109, 1991.

MONTANARI, C.A., BOLZANI, V.S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v.24, nº 1, p.105, 2001.

MOREIRA, D.L., GUIMARÃES, E.F., KAPLAN, M.A.C. A chromone from *Piper aduncum* L. **Phytochemistry**, 48 (6), 1075, 1998.

MOREIRA, D.L., GUIMARÃES, E.F., KAPLAN, M.A.C. A C-glucosylflavone from *Piper ihotzkyanum*. **Phytochemistry**, 55 (7), 783, 2000.

NAGEN, T.J., ALBUQUERQUE, T.T.O., MIRANDA, L.C.G. Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 35, nº 1, 129, 1992.

NAIR, M. G., MANSINGH, A. P., BURKE, B. A. Inseticidal Properties of some metabolites of Jamaican Piper spp. and the amides synthesized from 5,6-Z and E-butenolides of *Piper fadyenii*. **Agriculture and Biological Chemistry** 50, 3053-3058, 1986.

NAKATAWI, Y., OURISSON, G., BECK, J-P. Chemistry and Biochemistry of Chinese drugs VII. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 29, 2261, 1981.

NAVICKIENE, H.D.M. **Estudo químico, biológico e biossintético de *Piper tuberculatum* (Piperaceae)**. Tese de doutorado, IQ/UNESP. Araraquara-SP, 2002.

NIKOLOVA, M., GEVRENOVA, R. A HPLC analysis on interpopulational variations in the flavonoid composition of *Veronica chamaedrys*. **International Journal of Botany**, 3(2), 7-10, 2007.

NILSSON, M. Dihydrochalcones from the fronds of *Pityrogramma chrysophylla*. **Acta Chemica Scandinavica**, 15 154-8, 1961 (CAN 55:118507).

NKENGFACK, A. E.; KOUAM, J; VOUFFO, W. T.; FOMUM, Z. T.; DAGNE, E.; STERNER, O.; BROWNE, L. M.; JI, G. Further Flavonoids from Erythrina species. **Phytochemistry**, v. 32, n. 5, p. 1305-1311, 1993.

OLIVEIRA, A.H. **Investigação fitoquímica do caule de *Piper marginatum* Jacq. Var. *marginatum* (Piperaceae)**. Dissertação de mestrado, LTF/UFPB. João Pessoa-PB. Brasil. 2003.

ONODERA, J.I., OBARA, H., SAITO, S. Hydrolysis of carthamin. **Chem. Lett.**, 1327, 1979.

ORJALA, J., ERDELMAYER, C. A. J., WRIGHT, A. D., RALI, T., STICHER, O.. **Planta Medica** 59, 546, 1993.

ORJALA, J. WRIGHT, A. D., STICHER, O., BEHRENDTS, H.G. Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper aduncum*. **Journal of Natural Products**, 57, 18, 1994.

O'ROURKE, C., BYRES, M., DELAZAR, A., KUMARASAMY, Y., NAHAR, L. STEWART, F., SARKER, D.S. Hirsutanonol, oreganin and genkwanin from the seeds of *Alnus glutinosa* (Betulaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, 33, 749-752, 2005

ØYVIND, M.A., KENNETH, R. M. **Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications** 1º edição. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. 2006

PARMAR, V.S., JAIN, S.C., BISHT, K.S., JAIN, R., TANELA, P., JHA, A., TYAGI, O.D., PRASAD, A.D., WENGEL, J., OLSEN, C.E., BOLL, P.M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, 49 (4), 597-673, 1997.

PARMAR, V.S., JAIN, S.C., GUPTA, S., OLIVER, H., WENGEL, J. Polyphenols and alkaloids from *Piper* species. **Phytochemistry**, 38, 3, 1998.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G.S. **Introduction to Spectroscopy – A guide for students of organic chemistry**. Third Edition, Brooks/Cole, U.S.A, 2001.

PELEG, H., BODINE, K.K., NOBLE, A.C. The influence of acids on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, v.23, n°3, p371, 1998.

PENA, L. A., AVELLA, E., PUENTES DIAZ, A. M. Prenylated benzoquinone and hydroquinone and others isolated constituents of *Piper bogotense* C.D.C. **Revista Colombiana de Quimica**, 29, 25-27, 2000.

PEREDA-MIRANDA, R., BERNARD, C.B., DURST, T., ARNASON, J.T., SANCHEZ-VINDAS, P., POVEDA, L. Methyl-4-hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl) benzoate, major insecticidal principle from *Piper guanacastensis*. **J. Nat. Prod.**, 60 (2), 282-284, 1997.

PEREIRA-JÚNIOR, O.L., FILHO, W.W., ROCHA, A.F.I., CARVALHO, M.G., FILHO, R.B. Diterpenos isolados de *Guarea carinata*. **Química Nova**, V.13, n° 4, 1990.

PEREZ-FONS, L., ARANDA, F.J., GUILLÉN, J., VILLALÁIN, J., MICOL, V. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes affect lipid polymorphism and fluidity in phospholipidic membranes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 453 (2), 224-236, 2006.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, nº 7, 1035, 2000.

PORRA, R.J., SCHAFER, W., CMIEL, E., SCHEER H. Derivation of the formyl group oxygen of chlorophyll b from molecular oxygen in greening leaves of a higher plant (*Zea mays*). **Federation of European Biochemical Socièts**, 323, number 1,2, 1993, 31.

PORTET, B., FABRE, N. ROUNY, V., GORNITZKA, H., BOURDY, G., MOULIS, S. Activity-guided isolation of antiplasmodial dihydrochalcones and flavanones from *Piper hostmannianum* var. berbicense. **Phytochemistry**, 68, 1312, 2007.

POSSO, O. R., DIAZ, P. P., De DIAZ, A. M. P. **Revista Colombiana de Química**, 23, 53, 1994 (Chemical Abstracts 122, 286624), 1993.

PRUSKY, D., KEEN, N.T., **Plant Dis.**, 77, 114, 1993.

QUEIROZ, E.F., HOSTYEMANN, K. A importância das técnicas acopladas para procura de princípios ativos. **Revista Fitos**, v.2, nº3, 2006.

REIGADA, J.B., TCACENCO, C.M., ANDRADE, L.H., KATO, M.J., PORTOB, A.L.M., LAGOC, J.H.G. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae)—antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by Candida antarctica lipase (Novozym 435). **Tetrahedron: Asymmetry**. 18, 1054, 2007.

REN, W., QUAO, Z., WANG, H., ZHU, L., ZHANG, L. **Med. Res. Rev.**, 23, 519, 2003.

RIBEIRO, J.E.L. da S., HOPKINS, M.J.G., VICENT, A., SOTHERS, C.A., COSTA, M.A.S., de BRITO, J.M., MARTINS, L.H.P., PROCOPIO, E.C. In: flora da reserva Ducke – **Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia central**, INPA-DFID. Manaus- AM. Brazil. p.181, 1999.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. Editorial Premier, 1997.

ROBBERS, J.E., SPEEDIE, M.K., TYLER, V.E. **Farmacognosia**. 1º edição. Editora Premier. 1999.

SANTOS, B.V.O. **Estudo fitoquímico de *Piper marginatum* var. *marginatum* e avaliação do seu efeito espasmódico**. Tese de doutorado. LTF/UFPB. João Pessoa-PB. 2000.

SANTOS, F.P. **Chalconas e flavanonas isoladas das partes aéreas de *Piper glandulosissimum***. Dissertação de mestrado. LTF/UFPB. João Pessoa-PB. 2004.

SANTOS, B.V.O., CHAVES, M.C.O., DA CUNHA, E.V.L., GRAY, A.I. Croweacin from *Piper marginatum*. **Biochem. Syst. Ecol.**, 25, 471-472, 1997.

SANTOS, B.V.O., CHAVES, M.C.O. Assignments of ^1H and ^{13}C resonance signals in 2-methoxy-4,5-methylenedioxypropiophenone with the assistance of 1D and 2D NMR experiments. *Acta Farm. Bonaerense*, 19, 45-47, 1998.

SANTOS, B.V.O., CHAVES, M.C.O., DA CUNHA, E.V.L., GRAY, A.I. Phenyl alkanoids from *Piper marginatum*. *Phytochemistry*, 49, 1381-1384, 1998.

SANTOS, B.V.O., CHAVES, M.C.O. (E,E)-N_isobutyl-2,4-octadienamide from *Piper marginatum*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 27, 113-114, 1999.

SANTOS, B.V.O., CHAVES, M.C.O. 2,4,5-trimethoxypropiophenone from *Piper marginatum*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 27, 539-541, 1999.

SCHINOR, E. C., SALVADOR, M.J., ITO, I.Y., ALBUQUERQUE, S., DIAS, D.A. Tripanocidal and antimicrobial activities of *Moquinia Kingii*. *Phytomedicine*. 11.(1), 224-229, 2004.

SCHWIKKARD, S.L., MULHOLLAND, D.A., HUTCHINGS, A. Phaeophytins from *Tapura fischeri*. *Phytochemistry*, 49, n°8, 2391, 1998.

SEERAM, N. P., JACOBS, H., MC LEAN, S., REYNOLDS, W. F. Prenilated hydroxybenzoic acid derivatives from *Piper murrayanum*. *Phytochemistry*, 43, 863-865, 1996.

SEIJAS, J. A.; VAZQUEZ-TATO, M. P.; CRESCENTE-CAMPO, J.; RAMIL-REGO, P., Romero, M.I; Fernandez, P. Flavonoids from the roots of *Isoetes longissimum*. *International Electronic Conferences on Synthetic Organic Chemistry*, Nov. 1-30, 935-937, 2002.

SENGUPTA S., RAY, A.B. The chemistry of *Piper* – a review. *Fitoterapia*, 58 (3), 1987.

SHEN, S-B, GAO, G-Y, YANG, J.S-S, XIAO, P-G. Aquileidine and iso-aquileidine, novel flavonoid alkaloid from *Aquilegia ecalcarata*. *J. Nat. Prod.*, 64, 85, 2001.

SILVA, D A. **ESTUDO FITOQUÍMICO DE DUAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA MALVACEAE: *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky e *Sida galheirensis* Ulbr.** Tese apresentada no LTF/UFPB. João pessoa – PB. 2004

SILVA, T.M.S, CAMARA, C.A., MEDEIROS, F.D., OLIVEIRA, E.J., AGRA, M.F., HARLEY, R.M., GIULIETTI, A.M. Phaeophytins from *Gossipium mustelinum* Miers ex Watt (Malvaceae). *Bioch. Syst Ecol.* 34, 2006, 263.

SILVERSTEIN, R.M., BASSLER, G.C., MORRIL, T.C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 5º edição. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro-RJ. 1994.

SIMÕES, C.M.O, SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5º edição. Porto Alegre-RS. Editora UFRGS/UFSC. 2004.

SMITH, D.A., BANK, S.W. **Plant flavonoids and Biology and Medicine: biochemical pharmacology and structure-activity relationship**. Alan R. Liss Inc. New York-USA. 1986.

STAFFORD, A., WARREN, G. **Plant cell and tissue culture**. New York-USA. Open University Press, 1991.

SOM, U. K., DUTTA, C. P., DUTTA, S. **National Academy of Science Letters**, 6, 271 (Chemical Abstracts, 101, 226686), 1983.

SWAIN, T. In: **The flavonoids** (eds J.B. Harborne, T.J. Mabry and M. Mabry). Chapman and Hall. London- GRB. p. 1026, 1975.

TABOPTA, T.K., NGOUPAYO, J., LIU, J., MITTAINE, OFFER, A-C., TANOLI, S.A.K., KHAN, S.N., ALI, M.S. Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. **Phytochemistry**, 69, 1726, 2008.

TERREAUX, C., GUPTA, M. P., HOSTTEMANN, K. Antifungal benzoic acid derivatives from *Piper dilatatum*. **Phytochemistry**, 49, 461-464, 1998.

TILLEQUIN, F., PARIS, M., JACQEMIN, H., PARIS, R. R. Flavonoids from *Piper marginatum*. Isolation of a new flavonoid, the marginatoside. **Planta Medica** 33, 46, 1978.

TOMAZ, A.C.A., NOGUEIRA, R.B.S.S, PINTO, D.S., AGRA, M.F., SOUZA, M.F.V., DA-CUNHA, E.V.L. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 18(1), 47-52, 2008.

TUCKER, S. C., & DOUGLAS, A. W. Floral structure, development, and relationships of paleoherbs: *Saruma*, *Cabomba*, *Lactoris*, and selected Piperales. P. 141-175, In D. W. Taylor and L. J. Hickey (eds.), **Flowering Plant Origin, Evolution and Phylogeny**. Chapman and Hall, New York. 1996.

VIEGAS-JR, C., BOLZANI, V.S., BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a Química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, nº2, 326, 2006.

VIEIRA, P., De ALVARENGA, M. A., GOTTLIEB, O. R., GOTTLIEB, H. E. The chemistry of Brazilian Piperaceae. Part III. 4-hexadecenilphenol and flavonoids from *Piper hispidum*. **Planta Medica** 39, 153-156, 1980.

VOESGEN, B., HERMANN, K. **Zeitschrift Lebensmen Untersuchung Forschung** 170, 204 (Chemical Abstracts, 93, 6293), 1980.

WANG, F., YUAN, S.T., ZHU, D.N. Active components of antitumor fraction from *Sarcandra glabra*. **Zhongguo Tianran Yaowu**, 5(3),174-178, 2007.(CAN 148:233903).

WANG, H.G., ZHOU, M.H., LU, J.J., YU, B.Y. Antitumor constituents from the leaves of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. **Linchan Huaxue Yu Gongye**, 28(2), 1-5, 2008.

WOLLENWEBER, E., DOERR, M. Exsudate flavonoids in some Solanaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, 23(4), 457-8, 1995.

WOLLENWEBER E., DOERR, M., ROZEFELDS, A.C., MINCHIN, P., FORSTER, P. I. Variation in flavonoid exudates in *Eucryphia* species from Australia and South America. **Biochemical Systematics and Ecology**, 28(2), 111-118, 2000.

WU, Q-L., WANG, S-P., TU, G.Z., FENG, Y., YANG, J.S. Alkaloids from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, 44, 727, 1997.

WU, D., NAIR, M. G., DEWITT, D. L. Novel compounds from *Piper methysticum* Forst (Kava Kava) roots and their effect on cyclooxygenase enzyme. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50, 701-705, 2002.

YAMAGUCHI, L.F., LAGO, J.H.G., TANIKAZI, T.M., MASCIO, P.D., KATO, M.J. Antioxidant activity of prenylated hydroquinone and benzoic acid derivatives from *Piper crassinervium* Kunth. **Phytochemistry**, 67, 1838, 2006.

YANG, C.S., LANDAN, J.M., HUANG, M.T. **Reviews Nutrition**, 21, 381, 2001.

YUNCKER, T.G. The Piperaceae of Brazil. **Hoehnea**, 2, 19-366, 1972.

ZANDEN, J.J.V., WORTELBOER, H.M., BYLSMA, S., PUNT, A., USTA, M., CNUBBEN, H.P. Quantitative structure activity relationship. Studies on the flavonoid mediated inhibition of multidrug resistance proteins 1 and 2. **Biochemical Pharmacology**, 69, 699, 2005.

ZUANAZZI, J.A.S., MONTANHA, J.A. Flavonóides. In: Simões, C.M.O.(editor). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5º edição. Porto Alegre-RS. Editora UFRGS/UFSC. 2004.