

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

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÈCIE *Piper arboreum*
AUBLET (PIPERACEAE)**

JACQUELINE IRIS VASCONCELOS COSTA

JOÃO PESSOA - PB

2011

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Piper arboreum*
AUBLET (PIPERACEAE)**

JACQUELINE IRIS VASCONCELOS COSTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, com vistas a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de concentração Farmacoquímica.

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

JOÃO PESSOA – PB

2011

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Piper arboreum*
AUBLET (PIPERACEAE)**

JACQUELINE IRIS VASCONCELOS COSTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, com vistas a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de concentração Farmacoquímica.

Aprovado em: ____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA

.....
Prof^a. Dr^a. Maria Raquel Figueiredo
Examinadora Externa

.....
Prof^a. Dr^a. Maria Fátima Vanderlei de Souza
Examinadora Interna

.....
Prof^a. Dr^a. Maria Célia de Oliveira Chaves
Orientadora

C837c Costa, Jacqueline Iris Vasconcelos.
*Contribuição ao estudo fitoquímico da
espécie Piper arboreum aublet (piperaceae) /
Jacqueline Iris Vasconcelos Costa.-- João Pessoa,
2011.*

175f. : il.

*Orientadora: Maria Célia de Oliveira Chaves
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCS*

*1. Produtos Naturais. 2. Piperaceae. 3. Piper.
4. Piper arboreum. 5. Amida. 6. Aristolactama.*

Aos meus pais Socorro e João Vasconcelos e ao meu esposo Cleber pelo amor, carinho e dedicação.

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

À Danielle Serafim Pinto pelos ensinamentos desde a época da iniciação científica, pelo apoio durante todo o mestrado e principalmente pela amizade.

Aos alunos de iniciação científica: Moises, pela dedicação e ajuda no desenvolvimento deste trabalho e Mayza pela companhia sempre agradável.

À Jeane pela amizade e companheirismo.

À Professora Dr^a. Micheline Lima pela coleta do material vegetal.

Ao Professor Dr. Carlos Alberto Garcia pela identificação do material vegetal.

A Fernando Vasconcelos pelo o apoio imprescindível para minha entrada na Universidade.

A meus irmãos Jackson e Pedro pelo carinho e incentivo.

Aos meus tios e primos pelo incentivo e torcida.

À Fabíola, pelo o companheirismo e paciência durante a seleção e disciplinas do mestrado.

A Ana Silvia, Isis e Paula, pelo apoio e pelos momentos de frustração, tristezas e alegrias que compartilhamos, durante esta jornada. E também pelos empréstimos das inúmeras vidrarias, solventes, entre outros (importantíssimo para execução deste trabalho).

Aos colegas da turma de mestrado, em especial aos da Farmacoquímica companheiros de estresse (principalmente durante a disciplina Métodos Físicos I): Ana Sílvia, Antonilene, Augusto, Denise, Fabiana, Ingrid, Isis, Lázaro, Paula, Paloma, Raquel, Severino, Severino Gonçalves e Yana. Cada um, com seu jeito e particularidade, tornaram mais agradável e proveitoso esses dois últimos anos. Foi um imenso prazer! E desculpem qualquer coisa?

Aos colegas do laboratório Ricardo, Otemberg Viviane, Gabriela, Analúcia, Vítor, Thaisa, Daysianne, Fabio, Narlize, pelo convívio diário e agradáveis conversas.

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

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

À capes pelo apoio financeiro.

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

RESUMO

A família Piperaceae compreende cerca de 14 gêneros e 1950 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo e muito comum nas formações florestais brasileiras, principalmente na Mata Atlântica. *Piper arboreum*, popularmente conhecida como fruto de morcego, alecrim-de-Angola, pau-de-Angola ou beto-preto, é utilizada na medicina popular, na forma de decocto para o tratamento de reumatismo, bronquite, gripe e resfriado, além de também ser empregada contra doenças venéreas e do trato urinário. Do ponto de vista químico-farmacológico poucos relatos têm sido evidenciados com esta espécie, dentre estes tem-se o estudo das folhas de *Piper arboreum* dos quais foram isoladas: N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(E),9 (Z)-pentadienoil]-pirrolidina; arboreumine; N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(E)-pentaenoil]-pirrolidina; N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(E),9(E)-pentadienoil]-pirrolidina) e o 3-geranil-4-hidroxibenzoato de metila. Farmacologicamente têm-se relatos de atividades: antifúngica, tripanomicida, leishmanicida, e antimicrobiana. Este trabalho reporta o isolamento e identificação estrutural de quatro amidas e duas aristolactamas, através do estudo fitoquímico da espécie *Piper arboreum*. Utilizando-se métodos cromatográficos usuais e técnicas espectroscópicas de IV e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e a comparação dos dados com a literatura foi possível isolar e identificar os constituintes Piplaroxido; Sintenpiridona; 3,4-Epoxi-8,9-dihidropiplartina; 8,9-Dihidropiplartina; 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama e 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama todos isolados pela primeira vez na espécie, apresentando, portanto, relevante importância quimiotaxonômica para a mesma.

ABSTRACT

The Piperaceae Family is made up of 14 genus and 1950 species, distributed in the tropical regions of the globe being common in Brazil, especially in the Atlantic Forest. *Piper arboreum*, popularly known as “fruto de morcego”, “alecrim-de-Angola”, “pau-de-Angola” or “beto-preto”, is used in popular medicine in the form of tea in order to treat rheumatism, bronchitis, cold and other illnesses of the urinary apparatus as well as venereal diseases. Under a chemical and pharmacological point of view, only a few reports are related to this species. Among the substances isolated are N-[10-(13,14-Metylenodioxyphenyl)-7(E),9(Z)-pentadienoyl]-pyrrolidine; arboreumine; N-[10-(13,14-Metylenodioxyphenyl)-7(E)-pentaenoyl]-pyrrolidine; N-[10-(13,14-Metylenodioxyphenil)-7(E),9(E)-pentadienoyl]-pyrrolidine e o metil-3-geranyl-4-hidroxybenzoate. In this work, the literature relates pharmacological activities such as parasite and antibiotic. Consulting the chemical data in the literature, was possible to isolate and identify, through phytochemical analysis, four compounds of *Piper arboreum*: four amides e two aristolactams. Through chromatography and spectroscopic experiments using infrared and 1D and 2D NMR and comparison with the literature data, the following compounds were isolated: Piplaroxide; Sintenpiridone; 3,4-Epoxy-8,9-dihydropiplartine; 8,9-Dihydropiplartine; 10-Metilamina-4-hidroxy-2,3-dimetoxifenantrene-1-carboxylic acid-lactam e 10-Metilamina-4-hidroxy-3-metoxifenantrene-1-carboxylic acid-lactam. All these compounds are reported for the first time in this species displaying considerable value to the chemical taxonomy of the plant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica do gênero Piper.	32
Figura 2: Espécie <i>Piper arboreum</i> .	34
Figura 3: Espectro de IV de Pa-1, em pastilha de KBr.	69
Figura 4: Espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz).	70
Figura 5: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz).	71
Figura 6: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz).	72
Figura 7: Expansão do Espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz).	72
Figura 8: Expansão do Espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz).	73
Figura 9: Expansão do Espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz).	74
Figura 10: Espectro de Correlação Homonuclear RMN ^1H x ^1H - COSY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz).	75
Figura 11: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear RMN ^1H x ^1H - COSY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz).	76
Figura 12: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear RMN ^1H x ^1H - COSY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz).	77
Figura 13: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear RMN ^1H x ^1H - NOESY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz).	78
Figura 14: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Pa-1 (CDCl_3 , 125 MHz).	79

Figura 15: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Pa-1 (CDCl_3 , 125 MHz).	80
Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C -BB de Pa-1 (CDCl_3 , 125 MHz).	81
Figura 17: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -BB de Pa-1 (CDCl_3 , 125 MHz).	82
Figura 18: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de Pa-1 (CDCl_3 , 200/50 MHz).	83
Figura 19: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de Pa-1 (CDCl_3 , 200/50 MHz).	84
Figura 20: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de Pa-1 (CDCl_3 , 200/50 MHz).	85
Figura 21: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de Pa-1 (CDCl_3 , 200/50 MHz).	86
Figura 22: Espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pa-1– HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz).	87
Figura 23: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de Pa-1 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	88
Figura 24: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de Pa-1 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	89
Figura 25: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de Pa-1 (CDCl_3 , 200/50 MHz).	90
Figura 26: Espectro de IV Pa-2 em pastilhas de KBr.	98
Figura 27: Espectro de RMN ^1H de Pa-2 (CDCl_3 , 500MHz).	99
Figura 28: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-2 (CDCl_3 , 500MHz).	100

Figura 29: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-2 (CDCl_3 , 500MHz).	101
Figura 30: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-2 (CDCl_3 , 500MHz).	102
Figura 31: Espectro de correlação ^1H x ^1H -COSY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz).	103
Figura 32: Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -COSY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz).	104
Figura 33: Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -COSY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz).	105
Figura 34: Espectro de correlação ^1H x ^1H -NOESY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz).	106
Figura 35: Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -NOESY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz).	107
Figura 36: Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H -NOESY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz).	108
Figura 37: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pa-2 (CDCl_3 , 125 MHz).	109
Figura 38: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Pa-2 (CDCl_3 , 125 MHz).	110
Figura 39: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Pa-2 (CDCl_3 , 125 MHz).	111
Figura 40: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-2 (CDCl_3 , 125 MHz).	112
Figura 41: Espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	113
Figura 42: Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	114
Figura 43: Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	115

Figura 44: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	116
Figura 45: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	117
Figura 46: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	118
Figura 47: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	119
Figura 48: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	120
Figura 49: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	121
Figura 50: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	122
Figura 51: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	123
Figura 52: Correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de Pa-3.	125
Figura 53: Espectro de IV Pa-3 em pastilhas de KBr.	128
Figura 54: Espectro de RMN ^1H de Pa-3 (CDCl_3 , 500 MHz).	129
Figura 55: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-3 (CDCl_3 , 500 MHz).	130
Figura 56: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY de Pa-3 (CDCl_3 , 500 MHz).	131
Figura 57: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY de Pa-3 (CDCl_3 , 500 MHz).	132

Figura 58: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY de Pa-3 (CDCl_3 , 500 MHz).	133
Figura 59: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY de Pa-3 (CDCl_3 , 500 MHz).	134
Figura 60: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-3 (CDCl_3 , 125 MHz).	135
Figura 61: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-3 (CDCl_3 , 125 MHz).	136
Figura 62: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-3 (CDCl_3 , 125 MHz).	137
Figura 63: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	138
Figura 64: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	139
Figura 65: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	140
Figura 66: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	141
Figura 67: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	142
Figura 68: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).	143
Figura 69: Correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de Pa-4.	145
Figura 70: Espectro de IV de Pa-4, em pastilha de KBr.	148
Figura 71: Espectro de RMN ^1H de Pa-4(CDCl_3 ,500MHz).	149
Figura 72: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-4(CDCl_3 ,500MHz).	150

Figura 73: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pa-4 (CDCl_3 , 500 MHz).	151
Figura 74: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Pa-4 (CDCl_3 , 500 MHz).	152
Figura 75: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Pa-4 (CDCl_3 , 500 MHz).	153
Figura 76: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-4 (CDCl_3 , 125 MHz).	154
Figura 77: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-4 (CDCl_3 , 125 MHz).	155
Figura 78: espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	156
Figura 79: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	157
Figura 80: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	158
Figura 81: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	159
Figura 82: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	160
Figura 83: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	161
Figura 84: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	162
Figura 85: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz).	163

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Amidas piridonas identificadas no gênero <i>Piper</i> .	35
Tabela 2: Aristolactamas identificadas no gênero <i>Piper</i> .	39
Tabela 3: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY) de Pa-1 registrados em CDCl_3 .	65
Tabela 4: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-1 com modelo encontrado na literatura (CAPRON & WIEMER, 1996).	66
Tabela 5: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-1a com Pa-1b (CDCl_3 , 500/125 MHz).	67
Tabela 6: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-1b com modelo encontrado na literatura (CHEN, et al., 2002).	68
Tabela 7: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY) de Pa-2a registrados em CDCl_3 .	94
Tabela 8: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2a com modelo encontrado na literatura (SEERAM, 1996).	95
Tabela 9: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2a com Pa-2b (CDCl_3 , 500/125 MHz).	96
Tabela 10: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2b com modelo encontrado na literatura (CHAVES, 2002).	97
Tabela 11: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMBC) de Pa-3 registrados em $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$.	126
Tabela 12: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-3 com modelo encontrado na literatura (CHEN, et al., 2004).	127

Tabela 13: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMBC) de Pa-4 registrados em CDCl_3 . 146

Tabela 14: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-4 com modelo encontrado na literatura (RUANGRUNGSI, 1992). 147

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Cromatografia em Coluna do Extrato Hexânico (m= 5,0 g)_Col.1.	48
Quadro 2: Frações Reunidas da Col.1.	49
Quadro 3: Cromatografia em Coluna da Fr 85-89 da Col 1 (m= 100,0 mg)_Col 1.1	49
Quadro 4: Frações Reunidas da Col 1.1	50
Quadro 5: Cromatografia em coluna da Fração 92-101 da Col 1 (m = 267,2 mg) _ Col 1.2	50
Quadro 6: Frações Reunidas da Col 1.2	51
Quadro 7: Cromatografia em coluna do Extrato Diclorometanico (m=20,0 g) _ Col 2	51
Quadro 8: Frações Reunidas da Col 2	52
Quadro 9: Cromatografia em coluna da Fr 20-26 da col 2(m = 1000,0 mg)_ Col 2.1	53
Quadro 10: Frações Reunidas da Col 2.1	53
Quadro 11: Cromatografia em coluna da Fr 29-76 da col 2.1(m = 206,6 mg)_ Col 2.1.1	54
Quadro 12: Frações Reunidas da Col 2.1.1	54
Quadro 13: Cromatografia em coluna da Fr 101-132 da col 2.1(m = 237,7 mg)_ Col 2.1.2	55
Quadro 14: Frações Reunidas da Col 2.1.2	55

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Extração do caule de <i>Piper arboreum</i> .	46
Esquema 2: Fracionamento do Extrato Hexânico	58
Esquema 3: Fracionamento da Fração 20-26 da Col 2 do Extrato Diclorometânico.	59

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

BB: Broad Band

CC: Cromatografia em Coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCDP: Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

(CD₃)₂CO: Acetona deuterada

CH₂Cl₂: Diclorometano

cm: centímetro

Col: Coluna

COSY: *Correlation Spectroscopy*

d: Duplete

dd: Duplo duplete

ddd: Duplo duplo duplete

dl: Duplete largo

dm: Duplo multiplete

dtl: duplo tripleto largo

Fr: Frações

g: Grama

Hex: Hexano

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HMQC: *Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

KBr: Brometo de Potássio

Kg: Quilograma

L: Litro

LTF: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

m: Multiplete

MeOH: Metanol

mg: Miligrama

MHz: Megahertz

NOESY: *Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*

p.f: Ponto de Fusão

ppm: partes por milhão

Rf: Fator de Retenção

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

s: Simpleto

t: Tripleto

tl: tripleto largo

UV: Ultra Violeta

δ: Deslocamento Químico

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	23
2 – OBJETIVOS.....	28
2.1 – Objetivo geral.....	29
2.2 – Objetivos específicos.....	29
3 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	30
3.1 – Considerações sobre a família Piperaceae.....	31
3.2 – Considerações sobre o gênero <i>Piper</i>.....	32
3.3 – Constituintes Químicos isolados do gênero <i>Piper</i>.....	34
3.4.1 – Amidas.....	34
3.4.2 – Aristolactamas.....	39
3.3 – Considerações sobre a espécie <i>Piper arboreum</i>.....	43
4 – PARTE EXPERIMENTAL.....	45
4.1 – Coleta e Identificação do material botânico.....	46
4.2 – Estudo fitoquímico de <i>Piper arboreum</i>.....	46
4.2.1 – Preparação dos extratos.....	46
4.2.2 – Isolamento e purificação dos constituintes químicos.....	47
4.2.2.1 – Fracionamento cromatográfico do extrato Hexânico.....	47
4.2.2.2 – Fracionamento cromatográfico do extrato Diclorometânico.....	51
4.2.3 – Caracterização estrutural dos Constituintes químicos isolados.....	56
5.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
5.1 – Determinação estrutural dos constituintes químicos de <i>Piper arboreum</i>.....	61

5.1.1 – Determinação estrutural de Pa-1.....	61
5.1.2 – Determinação estrutural de Pa-2.....	91
5.1.3 – Determinação estrutural de Pa-3.....	124
5.1.4 – Determinação estrutural de Pa-4.....	144
6.0 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	164
7.0 – RERÊFERÊNCIAS.....	166



Introdução

1. INTRODUÇÃO

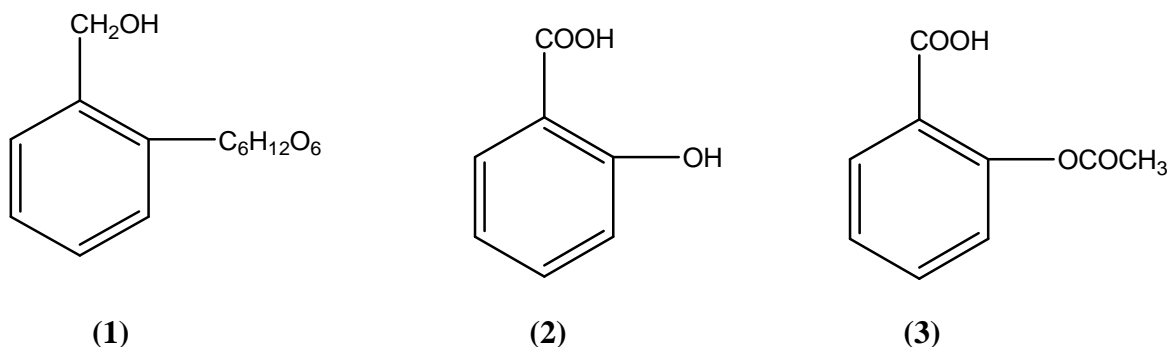
A química de produtos naturais tem sido um dos campos de maior importância para o desenvolvimento da química orgânica moderna. Seu objetivo de estudo engloba todos os aspectos que envolvem produtos naturais produzidos pelos seres vivos, e são comumente denominados de metabólitos secundários (SCHREIBER, 2005).

O profundo conhecimento do arsenal químico da natureza, pelos povos primitivos e pelos indígenas, pode ser considerado fator fundamental para descobrimento de substâncias tóxicas e medicamentosas ao longo do tempo. A convivência e o aprendizado com os mais diferentes grupos étnicos trouxeram valiosas contribuições para o desenvolvimento da pesquisa em produtos naturais, para o conhecimento da relação íntima entre a estrutura química de um determinado composto e suas propriedades biológicas e da inter-relação animais/insetos-planta. Neste sentido, a natureza forneceu muitos modelos moleculares que fundamentaram estudos de relação estrutura-atividade e inspiraram o desenvolvimento da síntese orgânica clássica (VIEGAS-JÚNIOR et al., 2006).

O surgimento da química de produtos naturais como ciência nos moldes atuais ocorreu no final do século XIX, quando a química se constituiu como disciplina científica moderna, com os trabalhos de Lavoisier, Berzelius e Liebig, sendo a época em que a química e medicina caminharam juntas (CORDELL 2000). Nesta época, os químicos que estudavam as plantas medicinais, cujos recursos experimentais eram extremamente limitados, se dedicaram, especialmente, a isolar e determinar a estrutura de compostos ativos de plantas, muito bem conhecidas e experimentadas pelo uso popular ao longo do tempo e, geralmente, incorporados nas farmacopéias da época. As plantas eram de uma importância fundamental na área médica (YUNES & CALIXTO, 2001). Neste sentido, podemos indicar os seguintes fármacos que foram isolados de plantas medicinais durante o século XIX: Emetina (1817), Colchicina (1820), Quinina (1820), Salicina (1827), Atropina (1831), Morfina (1832), Quinidina (1833), Codeína (1848) e Efedrina (1887) (YUNES & CECHINEL-FILHO, 2007).

Salientando o caso da *Salix alba*, cujas cascas foram usadas durante milênios na Europa, Ásia e África para combater a febre e dor. Em 1828, Buchner isolou a salicina (1)

(glicosídeo do álcool salicílico) e em 1860 Kolbe e Lauteman sintetizam o ácido salicílico (2) e seu sal sódico a partir do fenol, dando lugar, assim, à primeira produção de salicilatos, em 1874 (YUNES & CALIXTO, 2001). Em 1898, Felix Hofmann pesquisando a cura para a artrite que afligia seu pai, que era sensível aos efeitos colaterais do salicilato de sódio, descobriu o ácido acetil-salicílico (AAS) (3), menos ácido que o ácido salicílico, mas mantendo a propriedade analgésica desejada. (VIEGAS-JÚNIOR et al, 2006).



As propriedades terapêuticas do AAS levaram os laboratórios de pesquisa da Bayer a elegerem o AAS como um novo produto a ser lançado no mercado para competir com os salicilatos naturais, o que ocorreu a partir de 1897 sob o nome de Aspirina®. Após mais de 100 anos de sua descoberta, o AAS continua sendo alvo de inúmeras pesquisas sobre sua aplicação terapêutica como analgésico e antiinflamatório, atuando no controle da febre, na artrite reumatóide e na inibição da agregação plaquetária (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Seguindo o modelo da aspirina, foram sintetizados, em 1903, o barbital (ácido 5,5-dietilbarbitúrico), usado como agente hipnótico, o fenobarbital (1912) e, posteriormente, aproximadamente 50 barbitúricos com efeito hipnótico e sedativo. Em 1904 foi sintetizada a epinefrina, um importante broncodilatador e descongestionante nasal, e em 1905, foram obtidas a amilocaína e a procaína, utilizadas como anestésicos (YUNES & CECHINEL-FILHO, 2007).

Em 1932, observou-se que o prontossil atuava como poderoso anti-infeccioso e, posteriormente (1935), demonstrou-se que esse composto se decompunha à sulfanilida, que era a verdadeira substância ativa. Esta descoberta originou a era das “sulfas”, cujos compostos foram de extrema importância durante a Segunda Guerra Mundial até a descoberta dos antibióticos. Após a Guerra, vários fármacos de origem sintética foram desenvolvidos, e

muitos deles se tornaram importantes para humanidade, como os anti-histamínicos, antergan (1942) e difenilhidramina (1946), o antipsicótico clorpromazina (1950), os antidepressivos iproniacida (1951) e imipramina (1957), os ansiolíticos pertencentes à classe das benzodiazepinas (1964), o antipirético e antiinflamatório indometacina (1963), etc. (GOODMAN & GILMA, 1978; RANG et al., 1997; YUNES & CALIXTO, 2001).

No século XX, o surgimento dos antibióticos produzidos por fermentação microbiana aliado ao desenvolvimento marcante de fármacos sintéticos produzidos pela indústria farmacêutica, foram causas marcantes no declínio do uso de plantas medicinais e conseqüentemente, no investimento em fármacos de origem vegetal. Em conseqüência, a fitoquímica, deu sua maior contribuição para o estudo dos metabólitos secundários e suas possíveis atuações nas plantas. O isolamento e a elucidação estrutural de metabólitos secundários, estruturalmente complexos, e os estudos de ecologia química, concomitantemente com estudos biossintéticos, impulsionaram vários campos da fitoquímica, como por ex., a quimiotaxonomia (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

A síntese de novas substâncias a serem avaliadas farmacologicamente, na busca por fármacos novos, passou a ser dispendiosa demais, visto o pequeno número de novos compostos que venciam as etapas pré-clínicas e clínicas, chegando ao mercado como medicamentos. Neste novo cenário, a indústria farmacêutica passou a investir pesadamente em novos métodos de pesquisa de novas entidades químicas bioativas, com efetiva potência terapêutica. A biologia molecular e as novas técnicas genéticas permitiram o isolamento e a purificação de muitas enzimas, receptores diretamente associados a processos patológicos, representando autênticos alvos-moleculares para novos fármacos. Esta nova abordagem promoveu uma autêntica revolução na forma de concepção da síntese orgânica praticada até então na indústria farmacêutica (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

A natureza, de um modo geral, é a responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas, entretanto, o reino vegetal é responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura. A variedade e a complexidade das macromoléculas que constituem os metabólitos secundários de plantas e organismos marinhos ainda são inalcançáveis por métodos laboratoriais. Isto seria a conseqüência direta de milhões de anos de evolução, atingindo um refinamento elevado de formas de proteção e resistência às intempéries do clima, poluição e predadores (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Os produtos naturais continuam sendo uma fonte de protótipos e de possíveis fármacos, visto que: grande parte de importantes fármacos é oriunda de produtos naturais ou foram obtidos considerando um produto natural como protótipo; para a maioria dos fármacos desenvolvidos por via sintética existem produtos naturais com o mesmo modo de ação já identificados; e existem muitos alvos moleculares relacionados a problemas patológicos, para os quais os produtos naturais podem ser considerados protótipos, possuindo um bom efeito, ainda que não tenham desenvolvidos os fármacos correspondentes (YUNES & CECHINEL-FILHO, 2007).

Vislumbrando o potencial farmacológico das substâncias isoladas de espécies da família Piperaceae, a ocorrência de muitas espécies ainda não devidamente exploradas do ponto de vista químico e farmacológico, e reconhecendo a importância do gênero *Piper*, no qual suas espécies são amplamente utilizadas na medicina popular para diversas enfermidades, optamos por enveredar pela trilha do estudo da espécie *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae), cujos estudos químicos e farmacológicos ainda são poucos conhecidos, o que poderá conduzir a descoberta de novas fontes de substâncias naturais ativas.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Contribuir para o perfil químico da família Piperaceae especialmente do gênero *Piper*, tendo em vista o potencial etnobotânico e etnofarmacológico desta família.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Estudar fitoquimicamente a espécie *Piper arboreum*, através de métodos de extração, isolamento e purificação dos constituintes químicos;
- ✓ Determinar e/ou elucidar a estrutura dos constituintes químicos isolados de *Piper arboreum*, através de métodos espectroscópicos;
- ✓ Integrar estudos biológicos ao estudo fitoquímico de *Piper arboreum*, através da disponibilização de seus extratos e/ou substâncias isoladas para realização de testes farmacológicos.

Fundamentação Teórica

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Considerações sobre a família Piperaceae

A família Piperaceae, pertencente à ordem Piperales, constitui-se em uma das mais primitivas famílias entre as Angiospermas (WANKE et al., 2007). Compreende cerca de 14 gêneros e 1950 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo (MABBERLEY, 1997). No Brasil, ela é representada por aproximadamente 460 espécies pertencentes a cinco gêneros nativos: *Pothomorphe* Miq., *Sarcorhachis* Trel., *Peperomia* Ruiz et Pav., *Ottonia* Spreng e *Piper* L. (MABBERLEY, 1997; ROSA & SOUZA, 2004). É muito comum nas formações florestais brasileiras, principalmente na Mata Atlântica (LORENZI, 2005). As espécies desta família são geralmente ervas trepadeiras ou eretas, arbustos e menos freqüentemente árvores, apresentando um elevado valor comercial, econômico e medicinal (DOMINGUEZ & ALCORN, 1985).

A família Piperaceae é classificada da seguinte maneira:

- Reino: Plantae
- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Ordem: Piperales
- Família: Piperaceae

De importância econômica e medicinal, algumas espécies fazem parte do mercado mundial, como a pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) e outras são usadas de modo empírico pelas populações em diferentes doenças. Muitas espécies de *Peperomia* são cultivadas como ornamentais, cuja beleza reside principalmente em sua folhagem, enquanto outras são utilizadas na alimentação (GUIMARÃES & MONTENEGRO, 2006).

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

3.2 Considerações sobre o gênero *Piper*

O gênero *Piper* é o maior da família Piperaceae, a grande diversidade das espécies de *Piper* localiza-se na região Neotropical (Figura 1), onde cerca de dois terços das espécies descritas são encontradas. A maioria das espécies de *Piper* habita lugares úmidos, quentes e várzea de florestas tropicais. A diversidade e abundância de *Piper* geralmente diminuem com o aumento da altitude ou com o decréscimo da precipitação (DYER & PALMER, 2004).

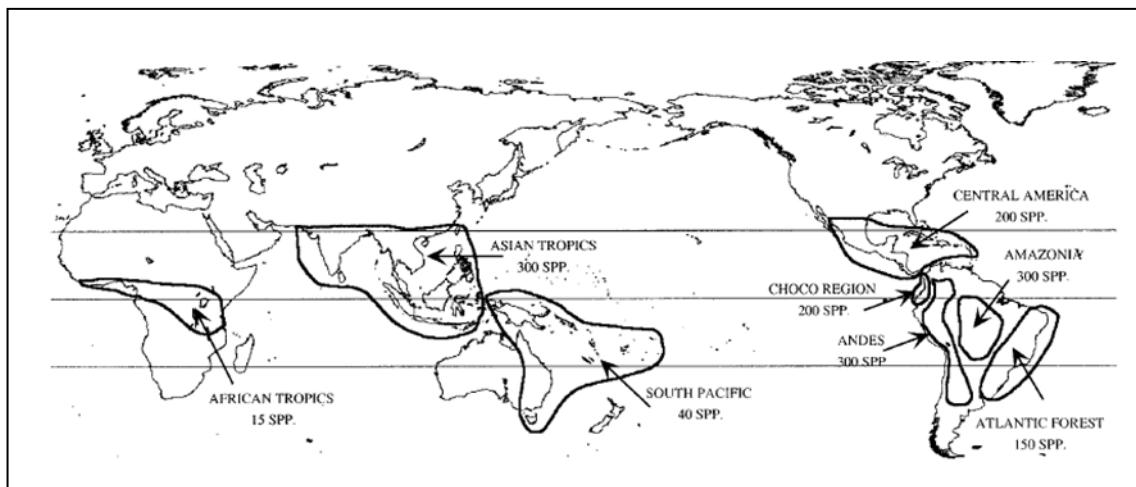


Figura 1: Distribuição Geográfica do gênero *Piper* (JARAMILLO, et al. 2001).

Não surpreendentemente, as espécies de *Piper* têm grande importância ecológica e são consideradas espécies “chave”, com base em suas associações com morcegos frugívoros (JARAMILLO, et al, 2001), sendo considerados fundamentais para a dispersão de suas sementes (FLEMING, 1981; PALMERIM et al, 1989; BIZERRIL & RAW, 1998; ZANON & REIS, 2007).

As espécies de *Piper* têm grande importância comercial, econômica e medicinal em diferentes países (YAO et al., 2009). Espécies de *Piper* são importantes plantas medicinais, usadas na medicina chinesa, no sistema ayurvédica e nas práticas de medicina popular da América Latina e do Ocidente Indiano. Elas são aplicadas para tratar a asma, bronquite, febre, doenças gastrointestinais, e reumatismo, e as preparações obtidas destas plantas tem demonstrado efeitos antiinflamatório, inseticida, anti-hipertensivo, antidiabéticos, imunomodulador e antimutagênico (MA et al., 2004; MA et al., 2006; BEZERRA et al., 2008).

O estudo químico com espécies do gênero *Piper* resultou no isolamento de muitos produtos naturais biologicamente ativos, tal como pironas, lignanas, neolignanas, terpenos,

propenilfenois, chalconas, flavonas, benzopironas, cromenos, lactonas, e amidas (MA et al., 2004).

Dentre inúmeras descrições da literatura acerca do potencial biológico das espécies deste gênero podem ser citados exemplos como o betel, *Piper betle*, planta muito utilizada no sudeste asiático como fumo de mascar, para indigestão, halitose e problemas dentários. Seu estudo gerou o isolamento do fenilpropanoide chavibetol, entre outros compostos (NALINA & RAHIM, 2007).

A infusão em água das raízes de kava (*Piper methysticum*) tem sido usada como uma bebida tradicional na região das Ilhas do Pacífico, desde os tempos antigos por ter efeitos narcóticos. Vários extratos padronizados de kavalactonas biologicamente ativos são comercializados tanto para os transtornos de ansiedade, como suplementos dietéticos para melhorar distúrbios de estresse, tensão nervosa e inquietação (BILIA et al., 2002; XUAN et al., 2008). Os fitoquímicos identificaram nas raízes de *Piper methysticum* 18 Kavalactonas, três chalconas e diversas flavanonas (WU et al., 2002; XUAN et al., 2008).

Estudos demonstraram que *Piper umbellata* apresenta atividade protetora contra raios ultravioleta do tipo UVB, o que provavelmente está relacionada com o 4-nerolidilcatecol, componente majoritário nas folhas e raízes desta espécie, uma vez que este possui atividade antioxidante mais potente que a do *alfa*-tocoferol (vitamina E), a qual é utilizada em formulações cosméticas para a prevenção do envelhecimento cutâneo. Estes relatos mostram a importância deste metabólito secundário do ponto de vista comercial, uma vez que formulações contendo extrato de *Piper umbellata* têm sido empregadas em produtos de uso cosmético, tais como gel, creme e filtro solar (BALDOQUI et al., 2009).

3.4 Constituintes Químicos Isolados do gênero *Piper*

Várias espécies de *Piper* foram investigadas fitoquimicamente e uma infinidade de metabólitos secundários tem sido encontrados, incluindo kavalactonas (XUAN, et. al., 2008; WHITTON, et. al., 2003), aristolactamas (CHAVES et al., 1999; 2003; 2006), lignoides (MARTINS et. al., 2000; CHEN, et. al., 2007; BODIWALA, et. al., 2007), cromenos (BALDOQUI et. al., 1999; MORANDIM et. al., 2005), flavonóides e chalconas (LAGO et. al., 2007), terpenos (BALDOQUI et. al., 2009), ácido benzóico prenilado (BALDOQUI et. al., 1999; RAMOS et. al., 2009) e também amidas (ARAÚJO-JÚNIOR, 1997; SANTOS, 1998; CHAVES et al.; 2001; 2003; SRINIVASAN, 2007).

3.4.1 Amidas

Apesar de o gênero *Piper* apresentar uma composição fitoquímica muito diversificada, as amidas constituem a classe de compostos mais característicos de suas espécies. A mais conhecida, piperina, foi a primeira amida a ser isolada, de *Piper nigrum* (PARMAR et al., 1997).

Além da piperina muitas outras amidas foram isoladas de espécies de *Piper*, e representam uma das classes de produtos naturais consideradas mais promissoras (BERNAD et al., 1995; LEE et al., 2001; YANG et al., 2002; KATO & FURLAN, 2007), visto que, um grande número de relatos demonstraram o extraordinário potencial das amidas, tais como inseticidas, moluscicidas, antifúngicos (DYER et al., 2004; KATO & FURLAN, 2007), ansiolítico e antidepressivo (NAVICKIENE et al., 2003; PARK et al., 2007; FELIPE, 2007; YAO, et al., 2009).

As amidas isoladas de *Piper* possuem algumas características estruturais comuns e são classificadas em isobutílicas, piridônicas, pirrolidínicas e piperidínicas. Consta-se uma grande ocorrência de amidas Piridônicas (tabela 1) e estas apresentam atividade antitumoral (TSAI et al., 2005; BEZERRA et al., 2008), citotóxica (LEE et al., 2004), antifúngica (SILVA et al., 2002).

Tabela 1: Amidas Piridônicas identificadas no gênero *Piper*.

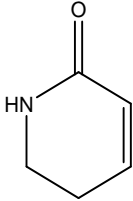
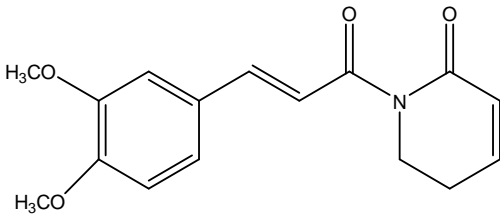
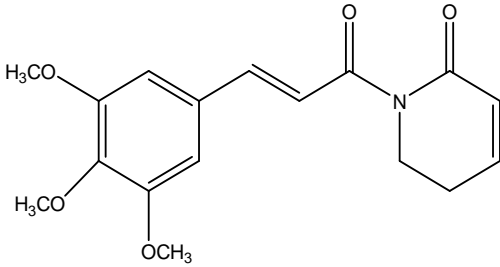
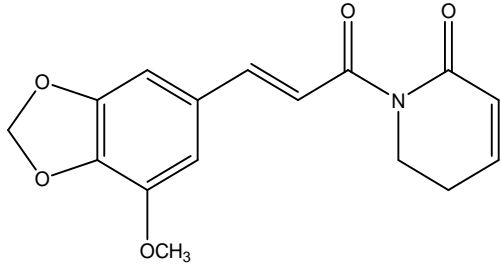
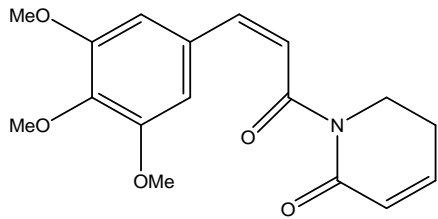
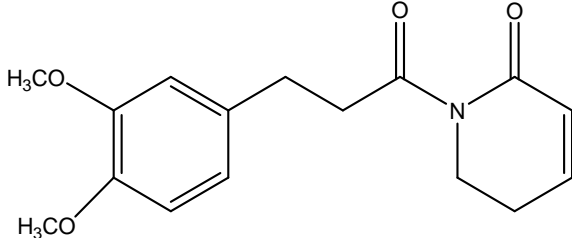
Nomeclatura	Estrutura	Referências
5,6 –dihidro- 2(1 <i>H</i>)-piridone		TSAI et al., 2005.
N-(3',4'- Dimetoxicinna- moil)- Δ^3 - piperidin-2-ona		DHU et al., 1990.
N-(3',4'5'- Trimetoxicinna- moil)- Δ^3 - piperidin-2-ona		DHU et al., 1990.
N-(3'-Metoxi- 4',5'- metilenedioxi- cinnamoil) - Δ^3 - piperidin-2-ona		DHU et al., 1990.
8(Z)-N-(3',4',5'- Trimetoxicinna- moyl)- Δ^3 - piperidin- 2-ona		NAVICKIENE et al., 2000.
Sintepiridona		CHEN et al., 2002.

Tabela 1 (Continuação): Amidas Piridônicas identificadas no gênero *Piper*.

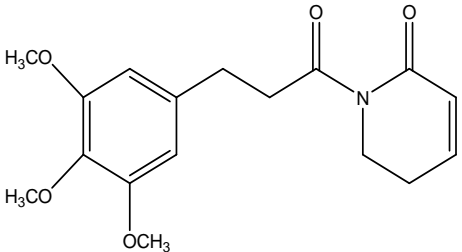
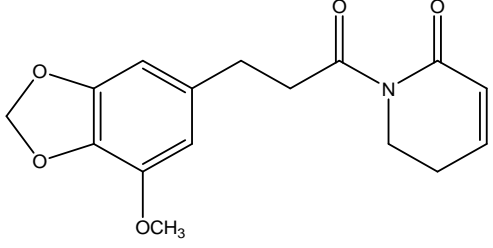
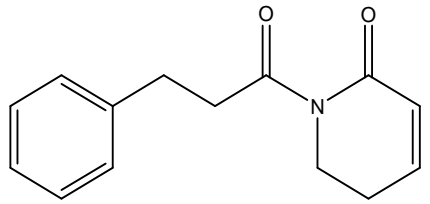
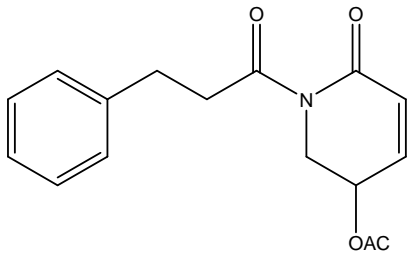
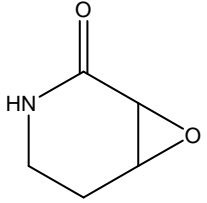
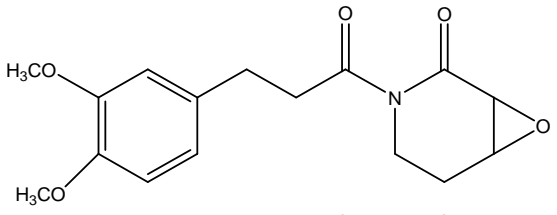
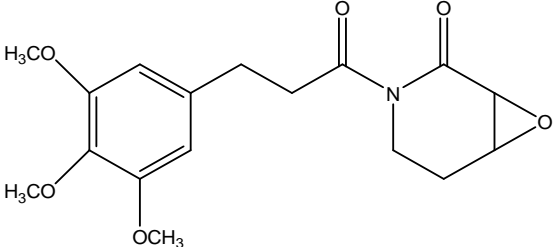
Nomenclatura	Estrutura	Referências
8,9-Dihidropipltartina		KIJJOA et al., 1982
N-(3'-Metoxi-4',5'-metilenodioxidihi drocinnamoil)- Δ^3 -piperidin-2-ona		DUH et al., 1990.
Piperchabamide A		.MORIKAWA et al., 2004
Pipermetistine		SMITH, 1979; PARMAR, et al., 1996.
3 α ,4 α -Epoxi-2-piperidona		LAGO & KATO, 2007
Piplaroxide		CAPRON & WIEMER, 1996.
3,4-Epoxi-8,9-dihidropipltartina		SEERAM, et al., 1996.

Tabela 1 (Continuação): Amidas Piridônicas identificadas no gênero *Piper*.

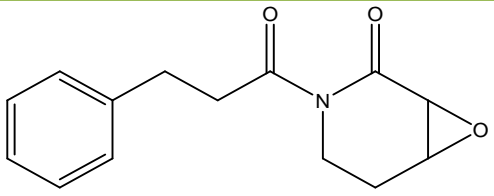
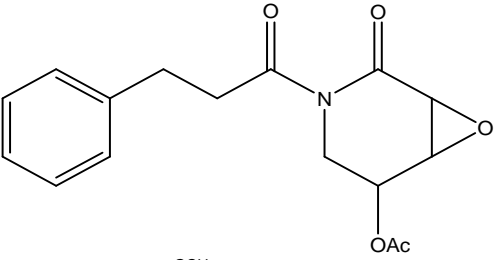
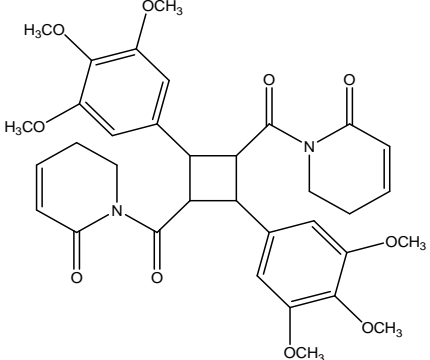
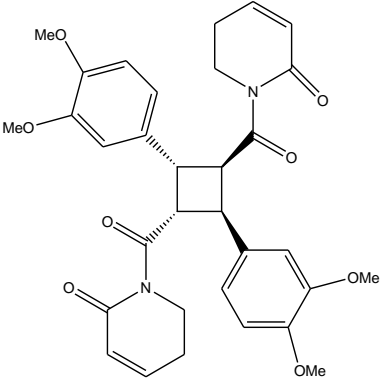
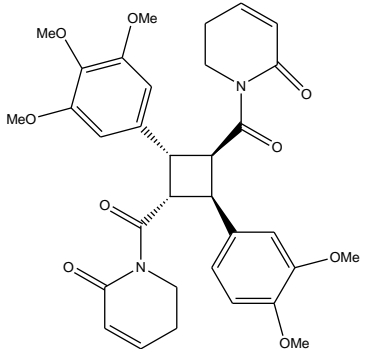
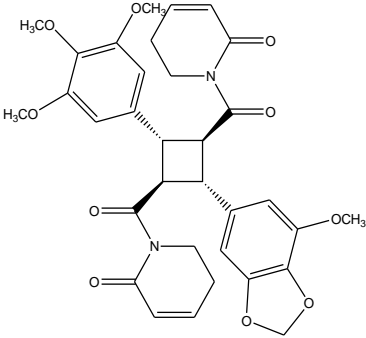
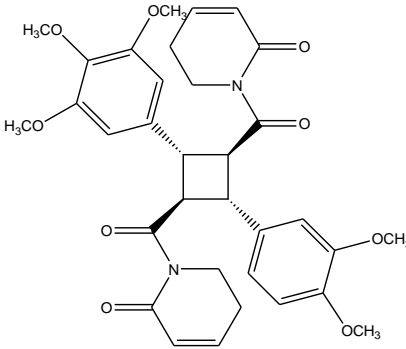
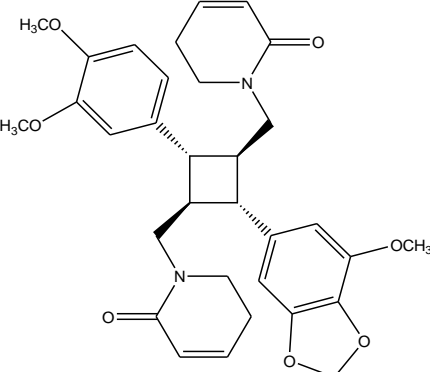
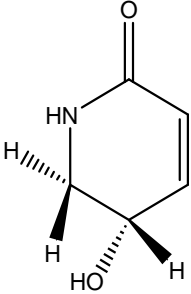
Nome Trivial	Estrutura	Referências
Kaousine		KAOU et al., 2010
3 α ,4 α -epoxy-5 β -pipermethystine		DRAGULL et al., 2003
Dimero de Piplartina A		DUH et al., 1990.
Piperarborenine A		LEE et al., 2004
Piperarborenine B		LEE et al., 2004

Tabela 1 (Continuação): Amidas Piridônicas identificadas no gênero Piper.

Nome Trivial	Estrutura	Referências
Piperarborenine C		TSAI et al., 2005
Piperarborenine D		TSAI et al., 2005
Piperarborenine E		TSAI et al., 2005
5,6-Dihidro-5-hidroxi-1H-piridin-2-ona		CHEN, et al., 2003

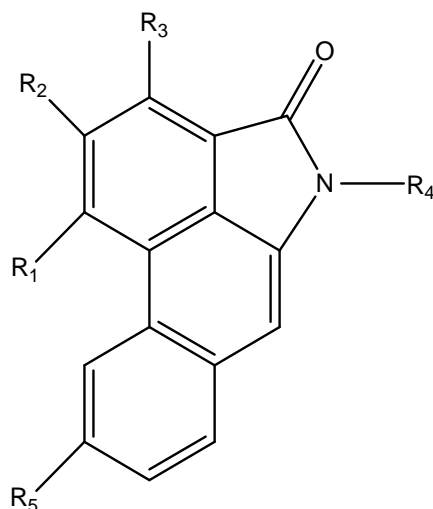
3.3.2 Aristolactama

A denominação da classe de substâncias, aristolactama, deriva do fato de terem sido inicialmente identificadas em espécies de *Aristolochia* (Aristolochiaea), pertencente à ordem Piperales. Posteriormente foram encontrados em espécies de Annonaceae, Monimiaceae, Menispermaceae e Piperaceae (KUMAR et al., 2003).

Quimicamente as aristolactamas são derivados fenatrênicos com anel lactâmico entre um grupo carboxila no carbono C-1 e uma amina no carbono C-10, com substituições nas posições C-2, C-3, C-4, C-6 e C-8 (WU et al., 1997). Em *Piper* as substituições são restritas aos carbonos C-2, C-3, C-4 e C-6.

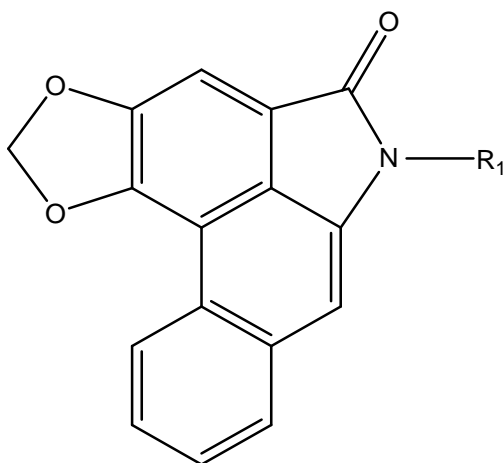
Sabe-se muito pouco acerca da biossíntese das aristolactamas. Entretanto, são relacionadas biogeneticamente com alcalóides aporfínicos. A idéia mais aceita atualmente é que os 4,5-dioxoaporfina são biossintetizadas por oxidação das aporfina e podem funcionar como intermediários para a biossíntese das aristolactamas, que por sua vez, são os precursores dos ácidos aristolóquicos (KUMAR, 2003).

Estudos farmacológicos com as aristolactamas demonstram que alguns destes compostos inibem a fosfolipase A₂ (NUNEZ et al., 2005; TABOPDA et al., 2008) e apresentam atividade antiinflamatória (LIN et al., 2006; TABOPDA et al., 2008), antioxidante (YAMAGUCHI et al., 2006; TABOPDA et al., 2008) e citotóxica (SUN et al., 1987; DUH et al., 1990; RUANGRUNGSI et al., 1992; TABOPDA et al., 2008).

Tabela 2: Aristolactamas identificadas no gênero *Piper*

Nome Trivial	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Referências
Cefaronona B	OMe	OMe	H	H	H	DESAI et al., 1988
Aristolactama AII	OMe	OH	H	H	H	DESAI et al., 1988
Piperolactama A	OH	OMe	H	H	H	DESAI et al., 1988
Piperolactama B	OH	OMe	OMe	H	H	DESAI et al., 1988
Diacetato de Piperolactama B	OAc	OMe	OMe	Ac	H	DESAI et al., 1988
Piperolactama C	OMe	OMe	OMe	H	H	KUMAR et al., 2003
Piperolactama D	OMe	OMe	OH	H	H	DESAI et al., 1988
Piperlactama S	OMe	OH	H	Me	H	KUMAR et al., 2003
Piperlactama E	OH	OMe	OMe	Me	H	WILMAN et al., 1998
Caldensina	OMe	OMe	H	Me	H	CARDOZO-JÚNIOR; CHAVES, 2003

4-hidróxi-3-metoxi-N-metilaristolactama	OH	OMe	H	Me	H	RUANGRUNGSI et al., 1992
10-acetilamino-2-hidróxi-3,4-dimetóxi-fenatreno-1-ácido-carboxílico-lactama	OMe	OMe	OH	Ac	H	SINGH et al., 1996
10-acetilamino-2-hidróxi-3,4-dimetóxi-fenatreno-1-ácido-carboxílico-lactama	OH	OMe	OMe	Ac	H	SINGH et al., 1996
Aristolactama AIII	OMe	OH	H	H	OMe	MIX et al., 1982
Aristolactama BIII	OH	OMe	H	H	OMe	TSAI et al., 2005
Goniolactama	OMe	OMe	H	H	OH	TSAI et al., 2005
Goniopedalina	OMe	OH	OMe	H	H	DANELITTE et al., 2005
2,3,4-trimetóxi-N-metilaristolactama	OMe	OMe	OMe	Me	H	DANELITTE et al., 2005
3-hidróxi-2-metóxi-N-metilaristolactama	H	OH	OMe	Me	H	DANELITTE et al., 2005
Piperumbelactama C	OH	OH	H	Me	H	TABOPDA et al., 2008
Piperumbelactama A	OMe	OMe	H	OH	H	TABOPDA et al., 2008
Piperumbelactama B	OH	OMe	H	OH	H	TABOPDA et al., 2008

Tabela 2: Aristolactamas identificadas no gênero *Piper* (continuação)

Nome Trivial	R ₁	Referência
Piperumbelactama D	Me	TABOPDA et al., 2008
N-hidróxi-aristolactama II	H	TABOPDA et al., 2008

3.3 Considerações sobre a espécie *Piper arboreum*

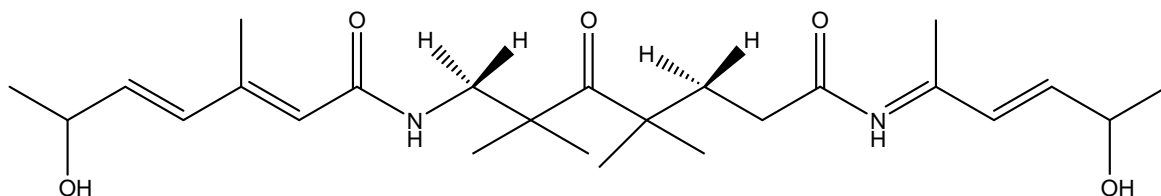
Piper arboreum é um arbusto ereto de aproximadamente 4,0 metros de altura, com hastes cilíndricas lisas e nodosas de coloração marrom claro. A folha é completa, com bainha proeminente. O limbo tem formato lanceolado, nervação reticulada, bordo inteiro, base inequilátera e ápice acuminado. O pecíolo possui duas pequenas expansões laminares na face adaxial. (SOUZA et al., 2008). É popularmente conhecida como fruto de morcego, alecrim-de-Angola, pau-de-Angola ou beto-preto (AGRA et al., 2008). Popularmente é utilizada no Brasil, na forma de decocto para o tratamento de reumatismo, bronquite, gripe e resfriado (RAMOS & KATO, 2009) além de também ser empregada contra doenças venéreas e do trato urinário (REGASINI et al., 2009a).



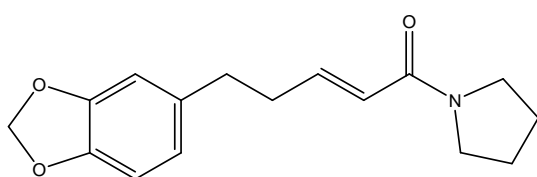
Figura 2: *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae) (Fonte: www.henriettesherbal.com).

No que se referem aos constituintes químicos do óleo volátil de *Piper arboreum*, muitos estudos fitoquímicos já foram realizados (NAVICHIENE et al., 2006). Entretanto, quanto aos constituintes fixos, pouco se tem pesquisado. Silva et al. (2002) relataram à identificação das amidas arboreumine (4), N - [10 - (13,14-Metilenodioxifenil) -7(E)-pentaenoil]-pirrolidina (5) N-[10 - (13,14-Metilenodioxifenil) -7 (E), 9 (Z)-pentadienoil]-pirrolidina (6), e N-[10 - (13,14-Metilenodioxifenil) -7 (E), 9 (E)-pentadienoil]-pirrolidina)

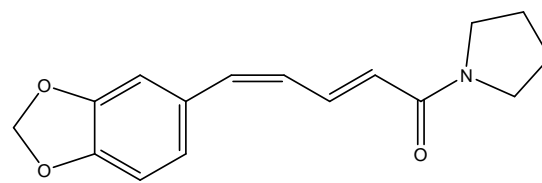
(7). O mesmo grupo publicou outro trabalho relatando ocorrência de um novo produto natural o metil 3-geranil-4-hidroxibenzoato (8). (RAMOS & KATO, 2009).



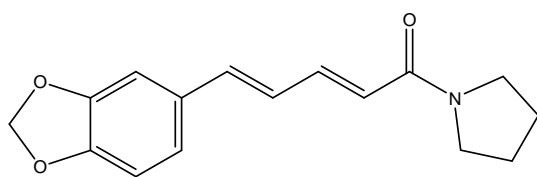
4



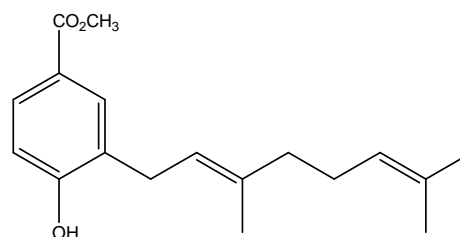
5



6



7



8

Apesar do uso popular, poucos estudos farmacológicos com esta espécie foram realizados. Silva e colaboradores (2002) identificaram atividade antifúngica de amidas (2, 3 e 4) contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*. Duas amidas (2 e 4) da fração hexânica das folhas desta espécie demonstraram efeito tripanomicida (REGASINI et al., 2009b). *P. arboreum* também foi estudada quanto à atividade leishmanicida, apresentando uma inibição de 76% da proliferação do parasita (KAPLAN, 1996. FERNANDES, 2006). Além disso, a fração hexânica das folhas apresentou uma potencial atividade antimicrobiana, baseada no efeito tóxico contra quatro leveduras oportunistas (*Candida albicans*, *Candida Krusei*, *Candida parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans*) (REGASINI et al., 2009a).

Parte Experimental

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Coleta e identificação do material botânico

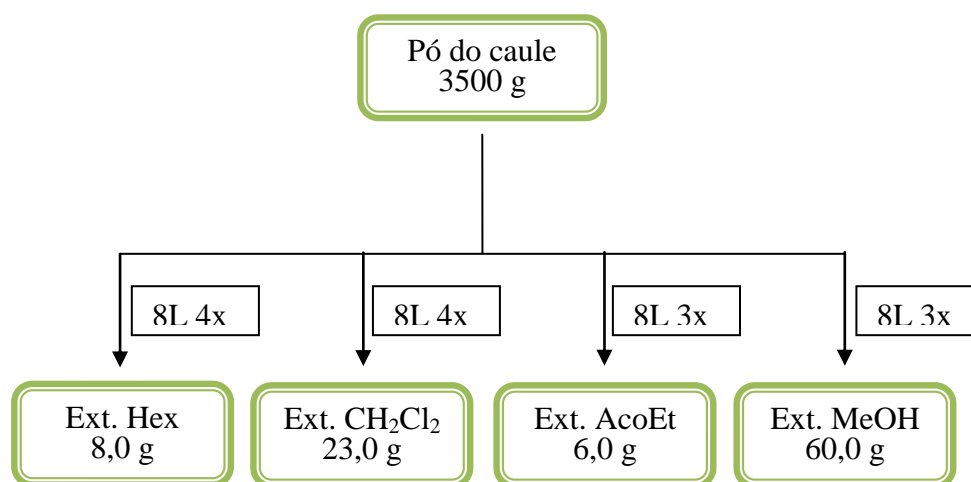
As folhas e caule de *Piper arboreum* Aubl. foram coletados em março de 2010 na reserva ecológica de Gaiambira no município de Bananeiras, Paraíba (PB). Esta espécie foi identificada pelo Professor Dr. Carlos Alberto Garcia e uma exsiccata (C.A. Garcia 205) foi depositada no Herbário do Centro de Educação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

4.2 Estudo Fitoquímico de *Piper arboreum*

4.2.1 Preparação dos Extratos

Após coletado, o material botânico de *Piper arboreum* Aubl., foi desidratado em estufa com ar circulante a temperatura média de 45 °C, por 3 a 4 dias, as folhas e o caule foram submetidos a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo 3,0 Kg do pó das folhas e 3,5 Kg do pó do caule.

O caule seco e pulverizado (3,50 Kg) foi submetido à maceração exaustiva com Hexano (Hex), Diclorometano (CH₂Cl₂), Acetato de Etila (ACOEt) e Metanol (MeOH), respectivamente. As soluções extrativas foram concentradas com auxílio de evaporador rotativo, a temperatura média de 45°C. Após esse processo de evaporação do solvente, obtiveram-se os extratos: Hexânico, Diclorometânico, Acetato de Etila e Metanólico.



Esquema 1: Processo de extração do pó do caule de *Piper arboreum*.

4.2.2 Isolamento e Purificação dos constituintes químicos

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

Para as cromatografias em coluna a pressão atmosférica utilizou-se como fase estacionária sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh), tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Para as cromatografias em coluna a média pressão utilizou-se o aparelho Buchi Pump Maager C_615 e para fase estacionaria utilizou-se sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh). Como fase móvel foram utilizada os solventes comerciais Hexano, Dicloremetano, Acetato de Etila e Metanol, destilados no LTF/UFPB isoladamente ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade.

A CCDA e CCDP foram empregadas para a análise e purificação, das frações obtidas por CC. Como suportes foram utilizados placas de vidro com dimensões de 5x20, 10x20 e 20x20 cm, e como fase fixa, uma suspensão de sílica gel PF₂₅₄ 7749 (Merck) em água destilada, seguindo técnica descrita por Matos (1997). As cromatoplasas obtidas foram secas ao ar livre e ativadas em estufa a 120 °C durante duas horas.

As revelações das substâncias nas CCDA e CCDP foram executadas pela exposição das cromatoplasas à lâmpada de irradiação ultravioleta em dois comprimentos de onda, 254 e 366 nm, por meio de aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58, impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo, bem como revelados com Dragendorf.

4.2.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico do caule de *Piper arboreum*

Uma alíquota de 5,0 g do extrato hexânico foi submetido a uma coluna de sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh), utilizando aparelho de média pressão, eluindo inicialmente com Hexano, Acetato de Etila e Metanol, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 129 frações (Quadro 1).

Quadro 1: Cromatografia em coluna do Extrato Hexânico (m = 5,0 g) _ Col 1.

Fração	Eluente	Proporção
-	Hex	100
1-12	Hex:AcOEt	98:2
13-17	Hex:AcOEt	96:4
18-23	Hex:AcOEt	94:6
24-34	Hex:AcOEt	92:8
35-48	Hex:AcOEt	9:1
49-57	Hex:AcOEt	88:12
58-62	Hex:AcOEt	86:14
63-66	Hex:AcOEt	84:16
67-70	Hex:AcOEt	82:18
71-77	Hex:AcOEt	8:2
78-82	Hex:AcOEt	75:25
83-88	Hex:AcOEt	7:3
89-92	Hex:AcOEt	65:35
93-97	Hex:AcOEt	6:4
98-101	Hex:AcOEt	1:1
102-104	Hex:AcOEt	4:6
105-107	Hex:AcOEt	3:7
108-114	Hex:AcOEt	2:8
115-116	Hex:AcOEt	1:9
117-118	AcOEt	100
119-120	AcOEt:MeOH	95:5
121-123	AcOEt:MeOH	9:1
124-129	AcOEt:MeOH	7:3

As frações da Col. 1 foram analisadas através de Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) utilizando diferentes sistemas de eluição, após análise a luz Ultra-Violeta, impregnação com vapores de iodo e revelados com Dragendorff, foram reunidas de acordo com os fatores de retenção (Rf) (Quadro 2).

Quadro 2: Frações Reunidas da Col 1

Frações Reunidas	Massa (mg)	Frações Reunidas	Massa (mg)
1-4	19,4	44-52	80,0
5-6	39,0	53-55	27,0
7-9	1204,1	56-60	50,0
10-13	84,0	61-64	46,6
14-15	13,3	65-71	90,0
16	50,0	72-80	43,9
17-19	198,0	81-84	100,1
20-21	386,0	85-89	100,0
22-23	72,9	90-91	75,0
24-25	239,0	92-101	267,2
26-29	469,0	102-109	98,7
30-37	600,0	110-117	115,2
38-39	89,3	118-122	51,3
40-41	61,7	123-125	13,3
42-43	39,7	126-129	105,1

A fração 85-89 da Col 1 foi cromatografada em coluna (Col 1.1) utilizando como fase estacionária sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh), e eluída com hexano e acetato de etila puros ou em misturas binárias. Foram recolhidas 55 frações (Quadro 3), e que após análise em CCDA foram reunidas em 6 grupos de frações (Quadro 4).

Quadro 3: Cromatografia em coluna da Fração 85-89 da Col 1 (m = 100,0 mg) _ Col 1.1

Fração	Eluente	Proporção
1-10	Hex:AcOEt	9:1
11-25	Hex:AcOEt	88:12
26-34	Hex:AcOEt	86:14
35-38	Hex:AcOEt	84:16
39-42	Hex:AcOEt	88:18
43-44	Hex:AcOEt	8:2
45-46	Hex:AcOEt	75:25
47-48	Hex:AcOEt	7:3
40-50	Hex:AcOEt	6:4
51-52	Hex:AcOEt	1:1
53-55	AcOEt	100

Quadro 4: Frações Reunidas da Col 1.1

Frações Reunidas	Massa (mg)	Frações Reunidas	Massa (mg)
1-10	7,9	23-37	12,2
11-14	39,6	38-49	9,0
15-22	12,8	50-55	8,9

A fração 11-14 da Col 1.1 foi submetida à purificação por Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP), utilizando como sistema de eluição Hexano/Acetato de Etila (85:15), obtendo-se três subfrações. A subfração (11-14).3 (16,0 mg) quando analisada em CCDA apresentou significativo grau de pureza e quando borrifada com Dragendorf, apresentou uma única mancha laranja indicando que a substância possuía nitrogênio, em sua estrutura, sendo codificada por Pa-1 (Esquema 2, p. 58).

Uma cromatografia em coluna, a média pressão, cuja coluna foi empacotada com sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh), foi realizada com a fração 92-101 da Col 1 (Col 1.2), como fase móvel foi utilizada Hex, AcOEt e MeOH puros ou em misturas binárias (Quadro 5).

Quadro 5: Cromatografia em coluna da Fração 92-101 da Col 1 (m = 267,2 mg) _ Col 1.2

Fração	Eluente	Proporção
1	Hex:AcOEt	96:4
2	Hex:AcOEt	94:6
3	Hex:AcOEt	92:8
4	Hex:AcOEt	9:1
5-15	Hex:AcOEt	88:12
16-17	Hex:AcOEt	82:18
18-19	Hex:AcOEt	79:21
20	Hex:AcOEt	75:25
21-32	Hex:AcOEt	7:3
33-38	Hex:AcOEt	65:35
39-40	Hex:AcOEt	6:4
41-43	Hex:AcOEt	55:45
44-47	Hex:AcOEt	1:1
48-49	Hex:AcOEt	4:6
50-52	Hex:AcOEt	2:8
53	AcOEt	100
54	AcOEt:MeOH	95:5
55	AcOEt:MeOH	9:1
56-58	AcOEt:MeOH	85:15
59-60	AcOEt:MeOH	75:25

As frações recolhidas da Col 1.2, foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com os fatores de retenção em 7 grupos de frações. (Quadro 6).

Quadro 6: Frações Reunidas da Col 1.2

Frações Reunidas	Massa (mg)	Frações Reunidas	Massa (mg)
1-16	15,7	23-30	15,4
17-18	70,8	31-40	11,3
19-20	69,0	41-55	17,0
21-22	29,0	56-60	21,1

A substância presente nas frações 17-18, 19-20 e 21-22 da Col 1.2 foi submetida à purificação por CCDP, utilizando como sistema de eluição Hex/AcoEt (85:15). As subfrações (17-18).2 (19,4 mg), (19-20).2 (14,1 mg) e (21-22).2 (13,0 mg) mostraram-se positivo ao teste de Dragendorff e receberam o código Pa-2. (Esquema 2, p. 58).

4.2.2.2 Fracionamento cromatográfico do extrato Diclorometânico do caule de *Piper arboreum*

O extrato Diclorometânico (20 g) foi submetido a uma cromatografia em coluna empacotada com sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e como fase móvel foi utilizado Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e Metanol, puros ou em mistura binária em crescente gradiente de polaridade, obtendo-se 164 frações.(Quadro 7).

Quadro 7: Cromatografia em coluna do Extrato Diclorometanico (m=20,0 g) _ Col 2.

Fração	Eluente	Proporção
1	Hex	100
2-3	Hex:CH ₂ Cl ₂	75:25
4	Hex:CH ₂ Cl ₂	7:3
5-6	Hex:CH ₂ Cl ₂	6:4
7-14	Hex:CH ₂ Cl ₂	1:1
15-17	Hex:CH ₂ Cl ₂	4:6
18-31	Hex:CH ₂ Cl ₂	3:7
32-38	Hex:CH ₂ Cl ₂	2:8
39-48	Hex:CH ₂ Cl ₂	1:9
49-54	CH ₂ Cl ₂	100
55-59	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	97,5:2,5
60-61	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	95:5
62-67	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	9:1

68-73	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	85:15
74-78	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	8:2
79-85	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	75:25
86-90	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	7:3
91-95	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	65:35
96-100	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	6:4
101-110	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	55:45
111-120	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	1:1
121-125	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	4:6
126-130	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	3:7
131-136	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	2:8
137-141	CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	1:9
142-146	AcOEt	100
147-150	AcOEt:MeOH	95:5
151-156	AcOEt:MeOH	9:1
157-160	AcOEt:MeOH	8:2
161-164	AcOEt:MeOH	7:3

As frações da Col 2 foram analisadas através de CCDA utilizando diferentes sistemas de eluição, após análise a luz Ultra-Violeta UV e impregnação com vapores de iodo, foram reunidas de acordo com os fatores de retenção (R_f) (Quadro 8).

Quadro 8: Frações Reunidas da Col 2.

Frações Reunidas	Massa (mg)	Frações Reunidas	Massa (mg)
1-6	459,1	83-91	334,3
7-10	405,2	92-95	469,5
11-12	136,2	96-101	515,5
13-17	405,8	102-103	145,6
18-19	484,3	104-118	861,1
20-26	1000,0	119-122	227,2
27-37	2039,4	123-128	61,3
38-58	671,2	129-133	467,1
59-61	100,0	134-140	1432,5
62-70	122,6	141-149	825,6
71-72	53,7	150-154	922,0
73-74	182,3	155-159	985,7
75-80	642,0	160-164	2365,3
81-82	509,1		

A fração 20-26 da Col 2 foi recromatografada em CC (Col 2.1), utilizando sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), e eluída com Hex, AcoEt e MeOH. (Quadro 9). As frações foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com seus Rfs. (Quadro 10).

Quadro 9: Cromatografia em coluna da Fr 20-26 da col 2(m = 1000,0 mg)_ Col 2.1

Fração	Eluente	Proporção
1	Hex	100
2-3	Hex:AcOEt	98:2
4-50	Hex:AcOEt	96:4
51-77	Hex:AcOEt	94:6
78-88	Hex:AcOEt	92:8
89-102	Hex:AcOEt	9:1
103-112	Hex:AcOEt	87:13
113-120	Hex:AcOEt	84:16
121-125	Hex:AcOEt	8:2
126-134	Hex:AcOEt	75:25
135-137	Hex:AcOEt	7:3
138-140	Hex:AcOEt	6:4
141-145	Hex:AcOEt	1:1
146-151	Hex:AcOEt	4:6
152-157	Hex:AcOEt	2:8
158-160	AcOEt	100
161-164	AcOEt:MeOH	95:5
165-170	AcOEt:MeOH	9:1
171-174	AcOEt:MeOH	8:2
175-177	AcOEt:MeOH	7:3

Quadro 10: Frações Reunidas da Col 2.1

Frações Reunidas	Massa (mg)	Frações Reunidas	Massa (mg)
1-9	105,4	101-132	237,7
10-20	80,7	133-153	8,9
21-28	73,4	154-165	26,9
29-76	206,6	166-169	2,5
77-78	14,0	170-174	6,9
79-81	14,9	175-177	3,1
82-100	133,5		

As frações 29-76 e 101-132 da Col 2.1 foram submetidas a CC (Col 2.1.1 e Col 2.1.2, respectivamente), utilizando sílica-gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh) como fase estacionária e eluídas com Hex, , AcOEt e MeOH. (Quadro 11 e 13).

As frações recolhidas destas colunas foram reagrupadas em grupos de frações de acordo com os Rfs, quando analisadas em CCDA. (Quadro 12 e 14).

Quadro 11: Cromatografia em coluna da Fr 29-76 da col 2.1(m = 206,6 mg)_ Col 2.1.1

Fração	Eluente	Proporção
-	Hex	100
-	Hex:AcOEt	96:4
-	Hex:AcOEt	94:6
1-47	Hex:AcOEt	92:8
48-66	Hex:AcOEt	9:1
67-76	Hex:AcOEt	88:12
77-78	Hex:AcOEt	86:14
79-80	Hex:AcOEt	84:16
81-82	Hex:AcOEt	8:2
83-84	Hex:AcOEt	7:3
85	Hex:AcOEt	6:4
86	Hex:AcOEt	1:1
87	Hex:AcOEt	4:6
88	Hex:AcOEt	2:8
89	AcOEt	100
90	AcOEt:MeOH	9:1
91	AcOEt:MeOH	7:3

Quadro 12: Frações Reunidas da Col 2.1.1

Frações Reunidas	Massa (mg)	Frações Reunidas	Massa (mg)
1-24	10,5	80-82	9,1
25-40	39,9	83-87	8,0
41-76	103,2	88-91	13,4
77-79	1,0		

Quadro 13: Cromatografia em coluna da Fr 101-132 da col 2.1(m = 237,7 mg)_ Col 2.1.2

Fração	Eluente	Proporção
1-2	Hex:AcOEt	9:1
3-22	Hex:AcOEt	88:12
23-40	Hex:AcOEt	86:14
41-44	Hex:AcOEt	84:16
45-53	Hex:AcOEt	82:18
54-59	Hex:AcOEt	8:2
60-79	Hex:AcOEt	75:25
80-83	Hex:AcOEt	7:3
84-86	Hex:AcOEt	65:35
87-89	Hex:AcOEt	6:4
90-92	Hex:AcOEt	55:45
93-94	Hex:AcOEt	1:1
95-96	Hex:AcOEt	4:6
97-98	Hex:AcOEt	3:7
99-101	Hex:AcOEt	2:8
102-104	Hex:AcOEt	1:9
105-106	AcOEt	100
107	AcOEt:MeOH	9:1
108	AcOEt:MeOH	7:3

Quadro 14: Frações Reunidas da Col 2.1.2

Frações Reunidas	Massa (mg)	Frações Reunidas	Massa (mg)
1-9	10,7	54-73	75,3
10-20	13,9	74-86	33,7
21-30	8,9	87-92	15,1
31-34	5,2	93-108	9,0
35-40	7,1	87-92	10,2
41-53	17,5	93-108	6,7

As substâncias presentes nas frações 41-76 (103,2 mg) da Col 2.1.1 e 54-73 (75,3 mg) da Col 2.1.2 foram submetidas à purificação por CCDP utilizando como sistemas de eluição Hex/AcoEt nas proporções 9:1 e 6:4, respectivamente. As subfrações que apresentaram significativo grau de pureza quando analisadas em CCDA receberam os seguintes códigos: (41-76).2 (12,0 mg) Pa-3 e (54-73).2 (11,0 mg) Pa-4 (Esquema 3, p. 59).

4.2.3 Caracterização estrutural dos Constituintes químicos isolados

A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *Piper arboreum* foi realizada pela análise de espectros obtidos através dos métodos espectroscópicos, Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear, determinação do ponto de fusão além de comparações com modelos da literatura.

Os dados espectrais na região do infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}) foram obtidos em aparelho de BOMEM FT-IR, série 100 MB do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica/UFPB, utilizando de 1,00 a 3,00 mg de amostra em pastilhas de KBr, com frequência medida em cm^{-1} .

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

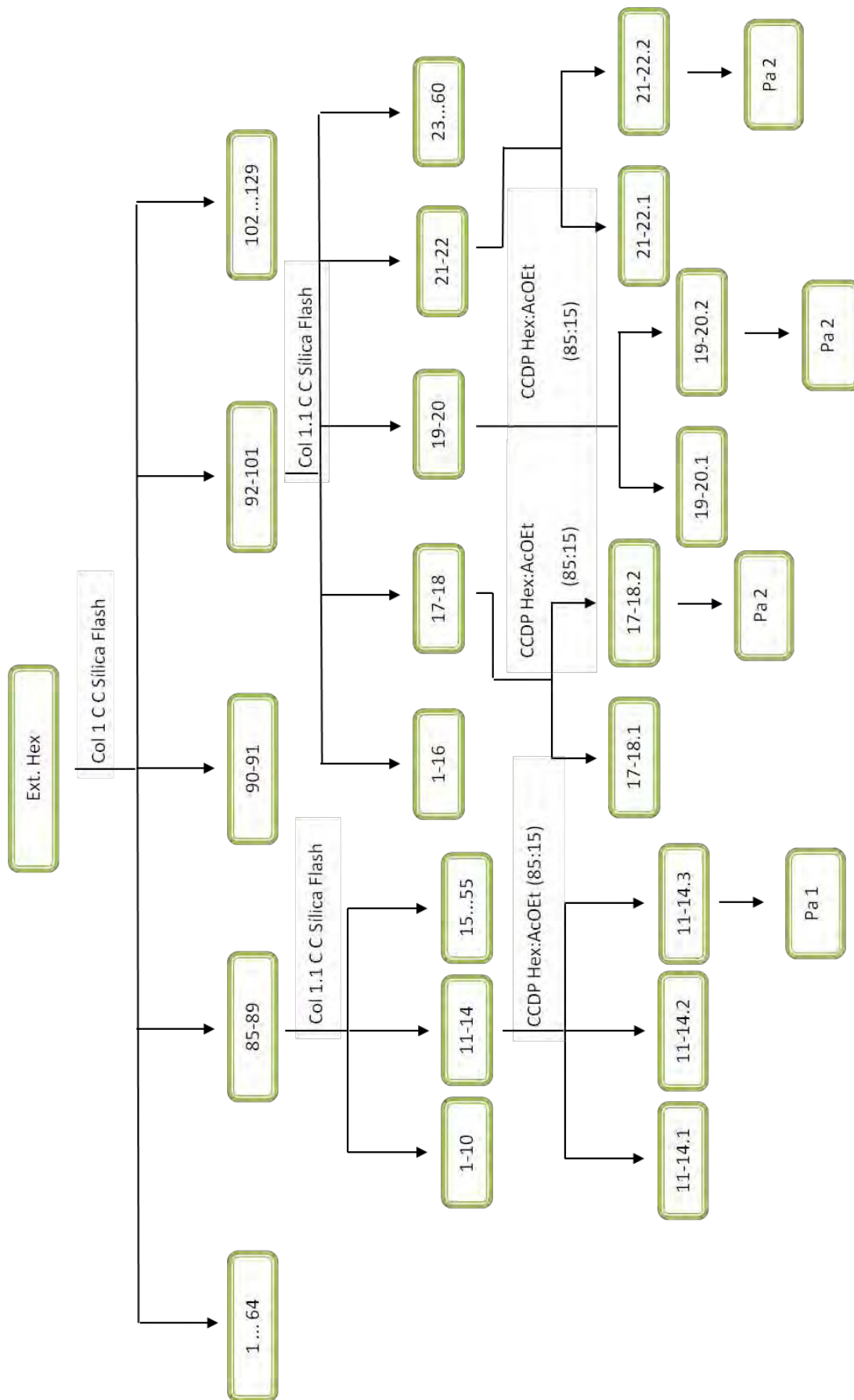
Os deslocamentos químicos (δ) em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamentos (J) em Hz foram referenciados para RMN de ^1H pelos sinais característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas dos solventes: clorofórmio ($\delta_{\text{H}} = 7,24$ ppm) e Acetona ($\delta_{\text{H}} = 2,0$ ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram referenciados pelos sinais do C dos solventes deuterado: clorofórmio ($\delta_{\text{C}} = 77,00$ ppm) e acetona ($\delta_{\text{C}} = 206,5$ e 29,80 ppm).

As multiplicidades dos sinais de RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplo duplete), dtd (duplo tripleto dobrado), dtl (duplo tripleto largo), dm (duplo multiplete), m (multiplete), t (tripleto) e tl (tripleto largo).

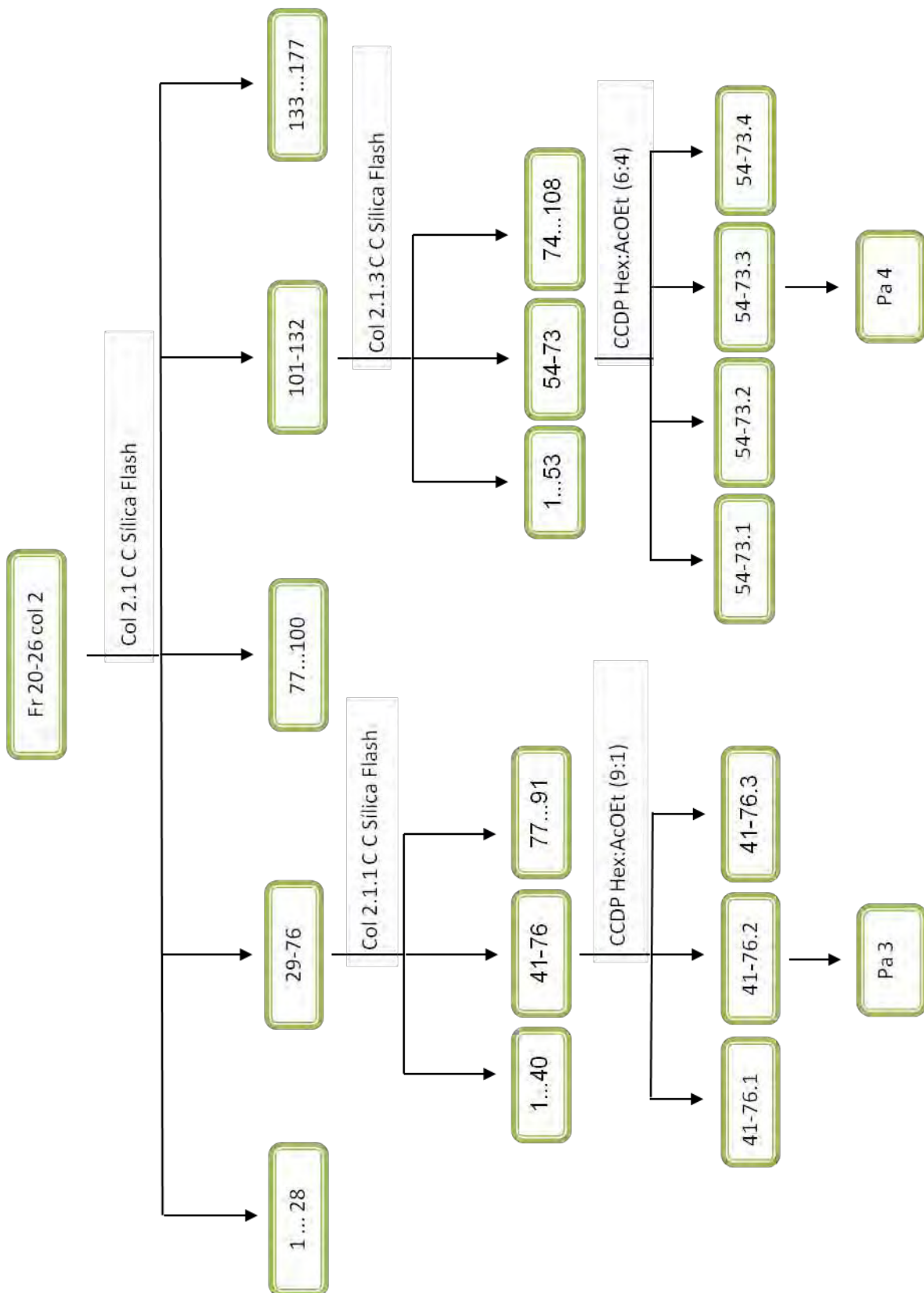
Os espectros de RMN também foram otimizados para as técnicas bidimensionais HMQC, espectro de correlações Heteronuclear, que permite fazer uma correlação entre hidrogênio e seus respectivos carbonos; HMBC que permite fazer uma correlação entre hidrogênios e carbonos a duas (2j) e três (3j) ligações; COSY estabelece as correlações entre hidrogênios que são responsáveis, entre si, pelo desdobramento do sinal, e assim discernir a

multiplicidade dos sinais observados no espectro de RMN; e NOESY, técnica homonuclear que mostra correlações espaciais dos hidrogênios da molécula (KAISER, 2000).

O ponto de fusão de cada substância foi determinado em aparelho digital para ponto de fusão (MQAPF - 302 da Microquímica Equipamentos LTDA), com temperatura variando de 0 – 350°C.



Esquema 2: Fracionamento do Extrato Hexânico do caule de *Piper arboreum*



Esquema 3: Fracionamento da Fração 20-26 da Col 2 do Extrato Diclorometânico do caule de *Piper arboreum*.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos de *Piper arboreum*

5.1.1 Determinação estrutural de Pa-1

A substância codificada como Pa-1 apresentou-se como sólido amorfo, solúvel em clorofórmio. A presença do nitrogênio foi suportada pelo teste de Dragendorff positivo e corroborada pelo aparecimento de um sinal em 1699 cm^{-1} , no espectro de Infra Vermelho (Figura 3, p. 69), correspondente a carbonila de grupo amídico.

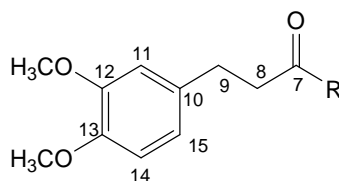
O composto Pa-1 trata-se de uma mistura de duas substâncias. O espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) e suas expansões mostrou um sinal múltiplo, com intensidade para três hidrogênios, na região de hidrogênios aromáticos $\delta_{\text{H}} 6,74\text{-}6,80$ (m, 3H), (Figuras 5 e 6, p. 71 e 72), além de dois sinais simples, em $\delta_{\text{H}} 3,84$ (3H) e $3,82$ (3H) (Figura 8, p. 73), característicos de grupos metoxílicos ligados a anel aromático.

Para o composto majoritário, ou seja, Pa-1a, foi identificado dois sistemas de spin, por análise do espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (CDCl_3 , 500MHz). O primeiro sistema de spin ocorre como uma unidade $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ e é representado pela correlação $\delta_{\text{H}} 2,88$ (tl, $J = 8,0$ Hz, 2H)/ $\delta_{\text{H}} 3,20$ (m, 2H) (Figura 11, p. 76), e o segundo, identificado como sistema $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}-$ com hidrogênios metilênicos não equivalentes e representados pelas correlações $\delta_{\text{H}} 3,52$ (d, $J = 4,0$ Hz, 1H)/ $\delta_{\text{H}} 3,64$ (tl, $J = 3,0$ Hz, 1H), $3,64$ (tl, $J = 3,0$ Hz, 1H) / $\delta_{\text{H}} 2,37$ (dm, $J = 15,0$ Hz, 1H) e $\delta_{\text{H}} 2,37$ (dm, $J = 15,0$ Hz, 1H)/ $4,32$ (dtd, $J = 13,5, 5,5$ e $1,5$ Hz, 1H) (Figura 11, p. 76).

O experimento homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY ainda mostra as correlações: $\delta_{\text{H}} 2,37$ (dm, $J = 15,0$ Hz, 1H)/ $\delta_{\text{H}} 1,95$ (ddd, $J = 15,0, 13,5$ e $5,5$ Hz, 1H); $3,12$ (dd, $J = 13,5$ e $4,0$ Hz, 1H)/ $\delta_{\text{H}} 4,32$ (dtd, $J = 13,5, 5,5$ e $1,5$ Hz, 1H) e $\delta_{\text{H}} 1,95$ (ddd, $J = 15,0, 13,5$ e $5,5$ Hz, 1H)/ $\delta_{\text{H}} 4,32$ (dtd, $J = 13,5, 5,5$ e $1,5$ Hz, 1H) (Figura 10 e 11, p. 75 e 76).

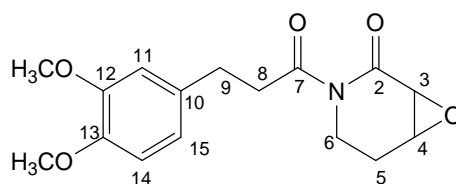
Além disso, o espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY mostrou correlações entre os hidrogênios metilênicos do primeiro sistema de spin $\delta_{\text{H}} 2,88$ (tl, $J = 8,0$ Hz, 2H) e $\delta_{\text{H}} 3,20$ (m,

2H) com hidrogênios do anel aromático, δ_H 2,88/ δ_H 6,74-6,80 e δ_H 3,20/ δ_H 6,74-6,80 (Figura 13, p. 78) que apontam para a presença de uma unidade cinamílica modificada.



O espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz), para o composto majoritário, mostrou a presença de 4 carbonos metilênicos (δ_C : 41,23; 35,54; 30,33 e 23,75), 5 metínicos (δ_C : 120,30; 111,90; 111,21; 53,33 e 52,29), 2 metílicos (δ_C : 55,88 e 55,78) (Figura 15, p. 80) e 5 carbonos não hidrogenados (δ_C : 174,74; 169,58; 148,79; 147,35 e 133,48) (Figura 14, p. 79). Os sinais em δ_C 120,30, δ_C 111,90, δ_C 111,21, δ_C 148,79, δ_C 147,35 e δ_C 133,48 juntamente com aqueles em δ_C 55,88, δ_C 55,78, δ_C 30,33 e δ_C 41,23 corroboraram com a presença da unidade cinamílica modificada e foram atribuídos através das correlações vistas nos espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC (CDCl_3 , 200/50 MHz): δ_H 6,74- 6,80/ δ_C 120,30; 111,90; 111,21 (Figura 18, p. 83); δ_H 2,88/ 30,33 e 3,20/ 41,23 (Figura 19, p. 84) e nos espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz): δ_H 2,88/ δ_C 174,74, δ_C 133,48 (Figura 23, p. 88) permite atribuir δ_C 174,74 e δ_C 133,48 para os carbonos 7 e 10 e confirma a atribuição do sinal em δ_C 41,23 para a posição 8; δ_H 3,20/ δ_C 30,33 e δ_C 174,74 (Figuras 23 e 24, p. 88 e 89) que confirmaram as atribuições dos carbonos 9 e 7; δ_H 3,84/ δ_C 148,79 e δ_H 3,82/ δ_C 147,74 (Figura 23, p. 88) que permite atribuir δ_C 148,79 e δ_C 147,35 para os carbonos que sustentam as metoxilas além de δ_H 6,74-6,80/ δ_C 148,79, δ_C 147,35, δ_C 133,48, δ_C 120,30, δ_C 111,90, δ_C 111,21 e δ_C 30,38 (Figuras 23 e 24, p. 88 e 89). A correlação de δ_H 6,74-6,80 (m, 3H)/ δ_C 30,38 permitiu definir os hidrogênios aromáticos para as posições 11, 14 e 15. A atribuição dos sinais de carbonos para essas posições foi feita com auxílio da correlação δ_H 2,88/ δ_C 120,30, δ_C 111,90, observadas no espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (CDCl_3 , 200/50 MHz) (Figura 25, p. 90).

O espectro de correlação HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz) ainda mostra correlação de ambos os hidrogênios terminais do segundo sistema de spin com um grupo carbonila remanescente δ_H 4,32 e δ_H 3,52/ δ_C 169,58 (Figura 23, p. 88) o que sugere a presença de um sistema piridona e permite propor a estrutura:



Os carbonos metilênicos remanescentes em δ_C 23,75 e δ_C 35,54 foram atribuídos às posições 5 e 6 respectivamente, através das correlações δ_H 4,32 e δ_H 3,12/ δ_C 35,54 e δ_H 1,95 e δ_H 2,37/ δ_C 23,75 encontradas no espectro de HMQC (Figura 20, p. 85) .

Finalmente os sinais em δ_H 3,52 (d, $J= 4,0$ Hz, 1H) e δ_H 3,64 (tl, $J= 3,0$ Hz, 1H) foram atribuídos às posições 3 e 4 do anel piridona, através da correlação δ_H 3,64/ δ_H 2,37 vista no espectro $^1H \times ^1H$ COSY (Figura 10, p. 76), enquanto que os sinais de carbono para essas mesmas posições, foram definidas em função das correlações δ_H 3,64/ δ_C 53,33 e δ_H 3,52/ δ_C 52,28, vistas no espectro de HMQC (Figura 21, p. 86).

Os dados relatados (Tabela 3, p. 67), permitiram sugerir que o composto majoritário Pa-1a, trata-se de piplaroxido, anteriormente relatada na espécie *Piper tuberculatum* (CAPRON & WIEMER, 1996) (Tabela 4, p. 66), sendo a primeira vez isolada na espécie *Piper arboreum*.

Além dos sinais assinalados para o composto majoritário da mistura, o espectro de RMN 1H ($CDCl_3$, 500MHz) ainda mostrou os seguintes sinais para o composto minoritário, ou seja, Pa-1b: δ_H : 6,85 (dtl, $J=10,0$ e 4,5 Hz); 5,95 (dt, $J= 9,5$ e 1,7 Hz); 3,95 (t, $J= 6,5$ Hz); 2,91 (t, $J= 8,0$ HZ); 2,61 (m, 2H); 2,34-2,40 (m, 2H) (Figuras, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 p. 70-74).., dentre os quais os seguintes apresentaram correlações cruzadas no espectro bidimensional $^1H \times ^1H$ COSY: δ_H 3,95/ δ_H 2,34- 2,40; δ_H 2,91/ δ_H 2,61 e δ_H 6,85/ δ_H 5,95 (Figura 11, p. 76). Por analogia com o composto principal δ_H 3,95/ δ_H 2,34-2,40 foram atribuídas as posições 8 e 9, respectivamente. A outra correlação vista no experimento COSY δ_H 6,85/ δ_H 5,95 (Figura 12, p. 77) permite sugerir a presença de dupla ligação entre os carbonos 3 e 4, sugestão apoiada pela presença de dois carbonos metínicos em δ_C 125,84 e 145,11, no espectro de RMN ^{13}C – APT (Figura 14, p. 79) e, portanto atribuir δ_H 6,85 e δ_H 5,95 para as posições 4 e 3, respectivamente.

Os demais hidrogênios da estrutura proposta foram atribuídos: δ_{H} 6,74 – 6,80 (m, 3H) (Figura 5 e 6, p. 71 e 72) para as posições 11, 14 e 15; enquanto δ_{H} 3,84 (s, 3H) e δ_{H} 3,82 (s, 3H) (Figura 8, p. 73) para as posições 12 e 13.

O espectro de RMN ^{13}C – APT, ainda apresentou os seguintes sinais para carbonos não hidrogenados δ_{C} 175,57; 165,70 e 133,75 (Figura 14 e 17, p. 79 e 82); além de 4 sinais para carbonos metilênicos em δ_{C} 40,95; δ_{C} 35,54; δ_{C} 30,67; δ_{C} 24,58 (Figura 15, p. 80) e 5 para carbonos metínicos em: δ_{C} 145,11; δ_{C} 125,84; δ_{C} 120,04; δ_{C} 111,64 e δ_{C} 111,24 (Figura 14, p. 79), os quais foram atribuídos, usando Pa-1a como modelo, para as posições 7, 2, 10, 8, 6, 9, 5, 4, 3, 15, 11, e 14, respectivamente.

Os dados espectrais estudados (Tabela 5, p. 67) e comparação com modelos encontrados na literatura (Tabela 6, p. 68) permitiu sugerir que Pa-1b trata-se da 5,6-dihidro-2(1H)-piridona, também denominada de sintenpiridona, isolada pela primeira vez na espécie *Piper arboreum* e anteriormente na espécie *Piper sintenense* (CHEN, et al., 2002).

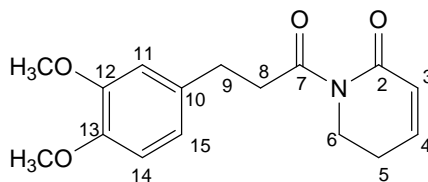


Tabela 3: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C HMBC) e ^1H x ^1H (COSY) de Pa-1 registrados em CDCl_3 .

Posição	HMQC		HMBC		
	δ_{H}	δ_{C}	^2j	^3j	COSY
2		169,58			
3	3,52 (d, J= 4,0 Hz, 1H)	52,28	C-2		H-4
4	3,64 (tl, J=3,0 Hz)	53,33			H-3; H-5a
5	2,37 (dm, J= 15,0 Hz, 1Ha) 1,95 (ddd, J= 15,0, 13,5 e 5,5 Hz, 1H)	23,75			H-4; H-6b H-5a; H-6a
6	4,32 (dtd, J= 13,5, 5,5 e 1,5 Hz, 1Ha) 3,12 (dd, J= 13,5 e 4,0 Hz, 1Hb)	35,34		C-2	H-6b; H-5b Ha-5; Ha-6
7		174,74			
8	3,20 (m, 2H)	41,23	C-9; C-7;	C-10	H-9
9	2,88 (tl, J= 8,0 Hz, 2H)	30,33	C-8; C-10	C-7; C-15; C-11	H-8
10		133,48			
11	6,74-6,80 (m, 3H)	111,90	C-10; C-12	C-9; C-13; C-15	
12		148,79			
13		147,35			
14	6,74-6,80 (m, 3H)	111,21	C-13; C-15	C-10; C-12;	
15	6,74-6,80 (m, 3H)	120,30	C-10; C-14	C-9; C-11; C-13	
OMe-12	3,84 (s, 3H)	55,88		C-12	
OMe-13	3,82 (s, 3H)	55,78		C-13	

Tabela 4: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-1 com modelo encontrado na literatura (CAPRON & WIEMER, 1996).

Posição	Pa-1a (CDCl_3 , 500/125 MHz)		(Modelo-Literatura) (CDCl_3 , 300/75 MHz)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		169,58		169,59
3	3,52 (d, J= 4,0 Hz, 1H)	52,28	3,51 (d, J= 4,0 Hz, 1H)	52,31
4	3,64 (tl, J= 3,0 Hz, 1H)	53,33	3,58 (dd, J= 4,0 e 4,0 Hz, 1H)	53,34
5	2,37 (dm, J= 15,0 Hz, 1H) 1,95 (ddd, J= 15,0, 13,5 e 5,5 Hz, 1H)	23,75	2,31 (dm, J= 15,0 Hz, 1H) 1,88 (ddd, J= 15,0, 13,2 e 5,7 Hz, 1H)	23,76
6	4,32 (dtd, J= 13,5 e 5,5 e 1,5 Hz, 1H) 3,12 (dd, J= 13,5 e 4,0 Hz, 1H)	35,54	4,29 (dddd, J=15,5, 13,5, 5,6, 1,5 e 1,5 Hz, 1H) 3,13 (dd, J= 13,3 e 4,0 Hz, 1H)	35,57
7		174,74		174,77
8	3,20 (m, 2H)	41,23	3,20 (m, 2H)	41,24
9	2,88 (tl, J= 8,0 Hz, 2H)	30,33	2,90 (t, J= 7,2 Hz, 2H)	30,42
10		133,48		133,52
11	6,74-6,80 (m, 3H)	111,90	6,76 (s, 3H)	111,30
12		148,79		148,79
13		147,74		147,84
14	6,74-6,80 (m, 3H)	111,21	6,76 (s, 3H)	111,40
15	6,74-6,80 (m, 3H)	120,30	6,76 (s, 3H)	120,33
OMe-12	3,84 (s, 3H)	55,88	3,84 (s, 3H)	55,91
OMe-13	3,82 (s, 3H)	55,78	3,81 (s, 3H)	55,81

Tabela 5: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-1a com Pa-1b (CDCl₃, 500/125 MHz).

Posição	Pa-1a		Pa-1b	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		169,58		165,70
3	3,52 (d, J= 4,0 Hz, 1H)	52,40	5,95 (dt, J = 9,5 e 1,7 Hz, 1H)	125,84
4	3,64 (tl, J= 3,0 Hz, 1H)	53,40	6,85 (dtl, J= 10,0 e 4,5 Hz, 1H)	145,11
5	2,37 (dm, J= 15,0 Hz, 1H) 1,95 (ddd, J= 15,0, 13,5 e 5,5 Hz, 1H)	23,75	2,32-2,40 (m, 2H)	24,58
6	4,29 (dd, J= 13,5 e 5,5 Hz, 1H) 3,12 (dd, J= 13,5 e 4,0 Hz, 1H)	35,50	3,95 (t, J= 6,5 Hz, 2H)	35,60
7		174,74		175,57
8	3,20 (m, 2H)	41,23	2,61 (m, 2H)	40,95
9	2,88 (tl, J= 8,0 Hz, 2H)	30,33	2,91 (t, J=8,0 Hz)	30,39
10		133,48		133,75
11	6,74-6,80 (m, 3H)	111,90	6,74-6,80 (m, 3H)	111,64
12		148,79		147,27
13		147,35		144,98
14	6,74-6,80 (m, 3H)	111,21	6,74-6,80 (m, 3H)	111,24
15	6,74-6,80 (m, 3H)	120,30	6,74-6,80 (m, 3H)	120,04
OMe-12	3,84 (s, 3H)	55,88	3,84 (s, 3H)	55,88
OMe-13	3,82 (s, 3H)	55,78	3,82 (s, 3H)	55,78

Tabela 6: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-1b com modelo encontrado na literatura (CHEN, et al., 2002).

Posição	Pa-1b (CDCl_3 , 500/125 MHz)		(Modelo-Literatura) (CDCl_3 , 400/100 MHz)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		165,70		165,3
3	5,95 (dt, J= 9,5 e 1,7 Hz, 1H)	125,84	5,94 (dt, J= 9,6 e 1,8 Hz, 1H)	125,9
4	6,85 (dtl, J= 10,0 e 4,5 Hz, 1H)	145,11	7,01 (dt, J= 9,6 e 4,4 Hz, 1H)	145,1
5	2,32-2,40 (m, 2H)	24,58	2,39 (tdd, J= 6,4, 4,4 e 1,8 Hz, 2H)	24,6
6	3,95 (t, J= 6,5 Hz, 2H)	35,60	3,92 (t, J= 6,4 Hz, 2H)	41,0
7		175,57		175,6
8	2,61 (m, 2H)	40,95	3,18 (t, J= 7,7 Hz, 2H)	41,0
9	2,91 (t, J=8,0 Hz)	30,39	2,88 (t, J= 7,7 Hz, 2H)	30,7
10		133,75		133,8
11	6,41-6,80 (m, 3H)	111,64	6,85 (d, J= 2,0 Hz, 2H)	111,3
12		147,27		147,3
13		144,985		148,8
14	6,74-6,80 (m, 3H)	111,24	6,85 (d, J= 2,0 Hz, 2H)	112,0
15	6,74-6,80 (m, 3H)	120,04	6,77 (dd, J= 8,0 e 2,0 Hz, 1H)	120,4
OMe-12	3,84 (s, 3H)	55,88	3,79 (s, 3H)	55,9
OMe-13	3,82 (s, 3H)	55,78	3,81 (s, 3H)	55,8

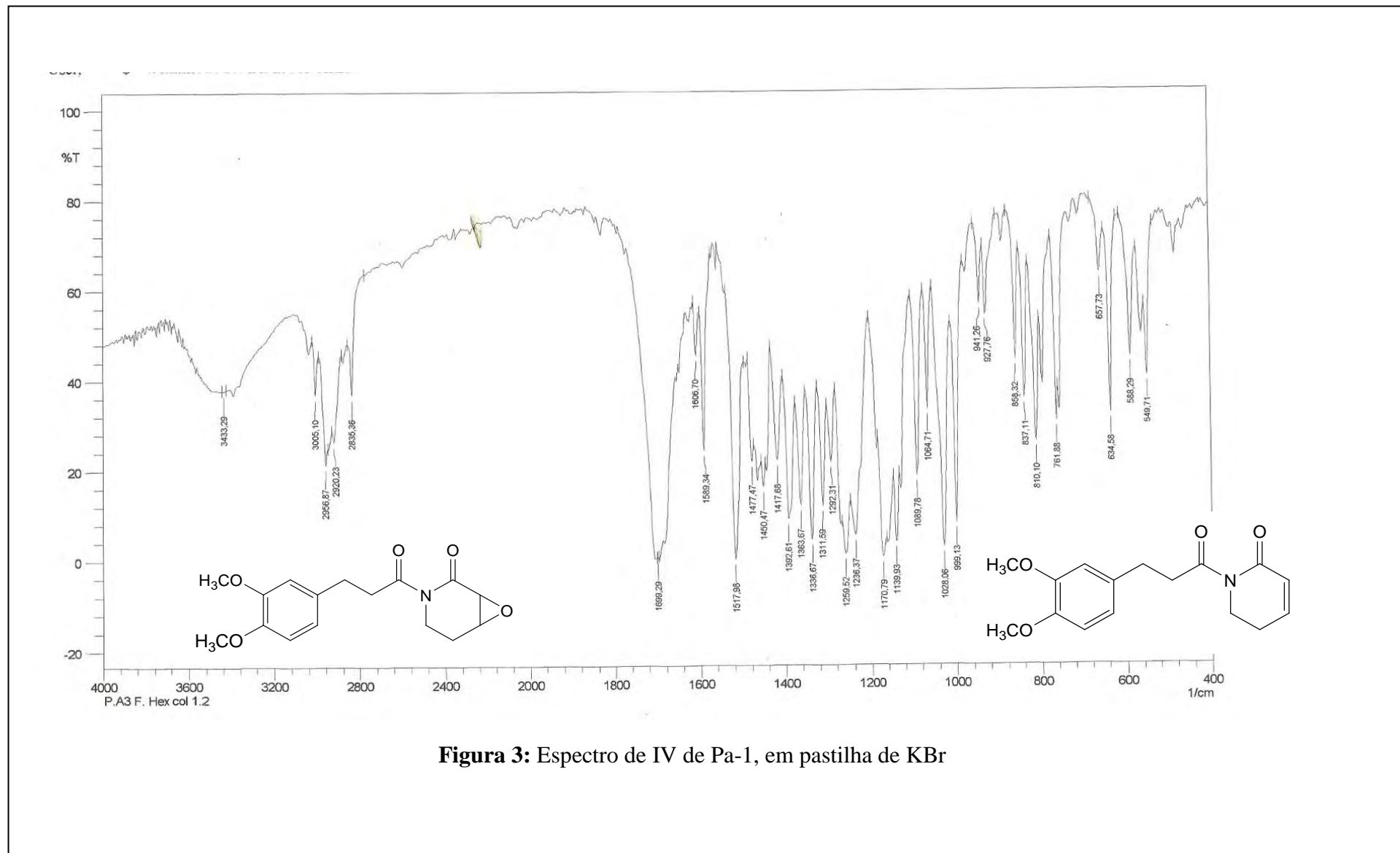


Figura 3: Espectro de IV de Pa-1, em pastilha de KBr

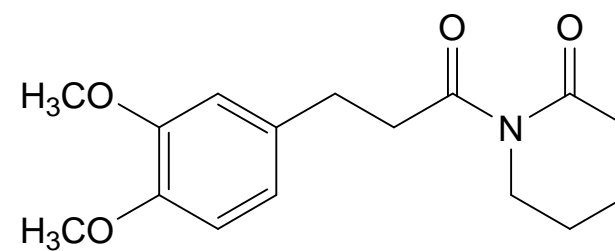
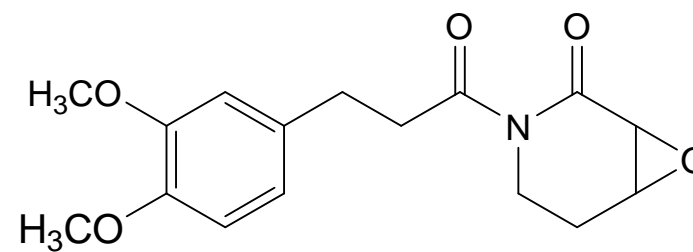
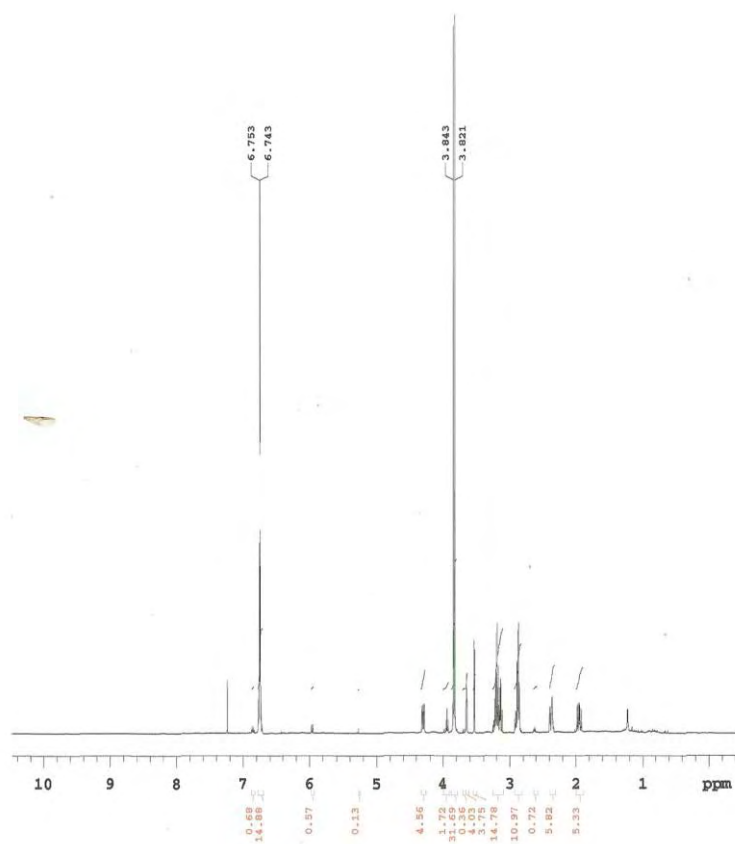


Figura 4: Espectro de RMN ¹H de Pa-1 (CDCl₃, 500MHz)

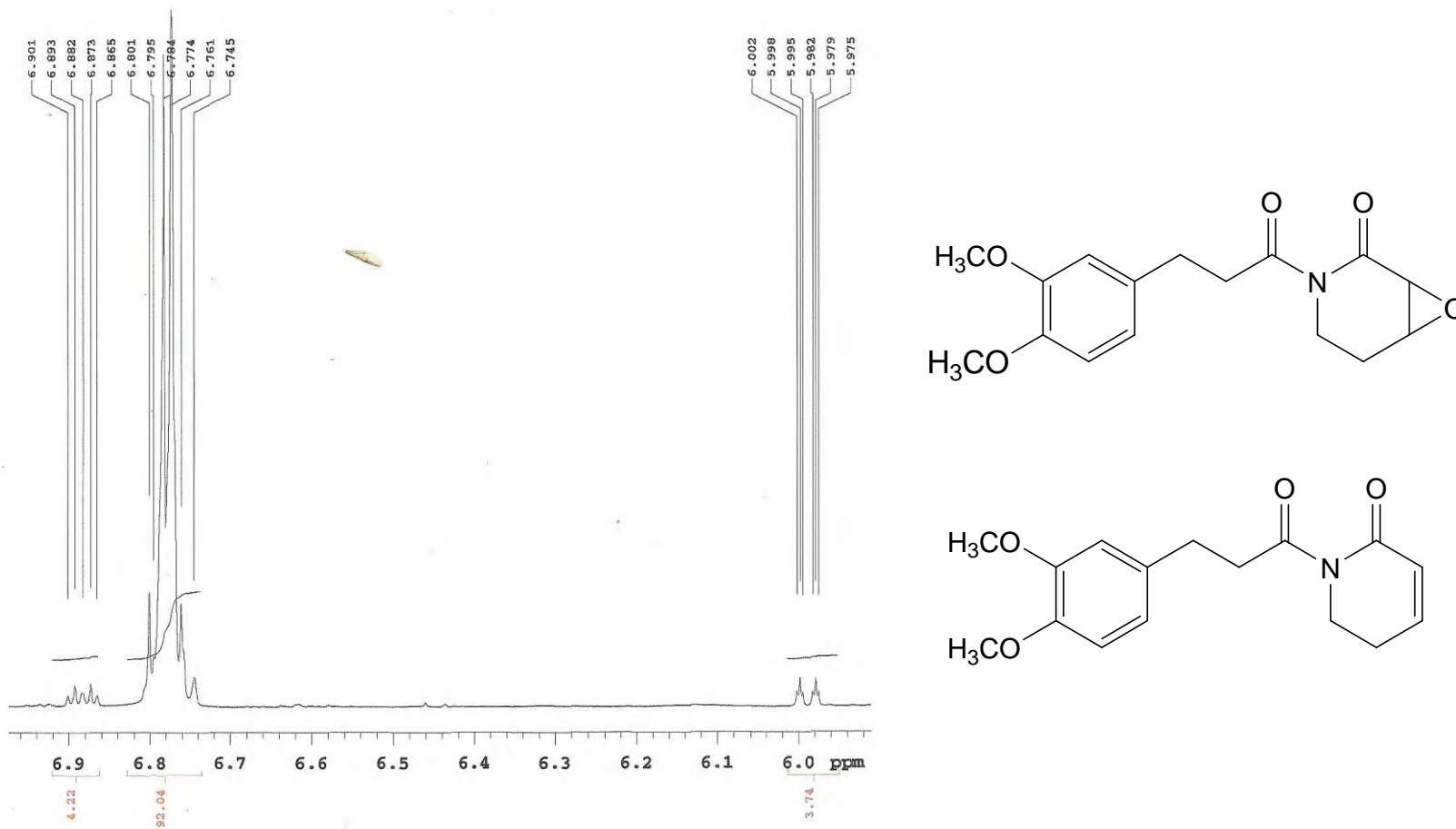


Figura 5: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz)

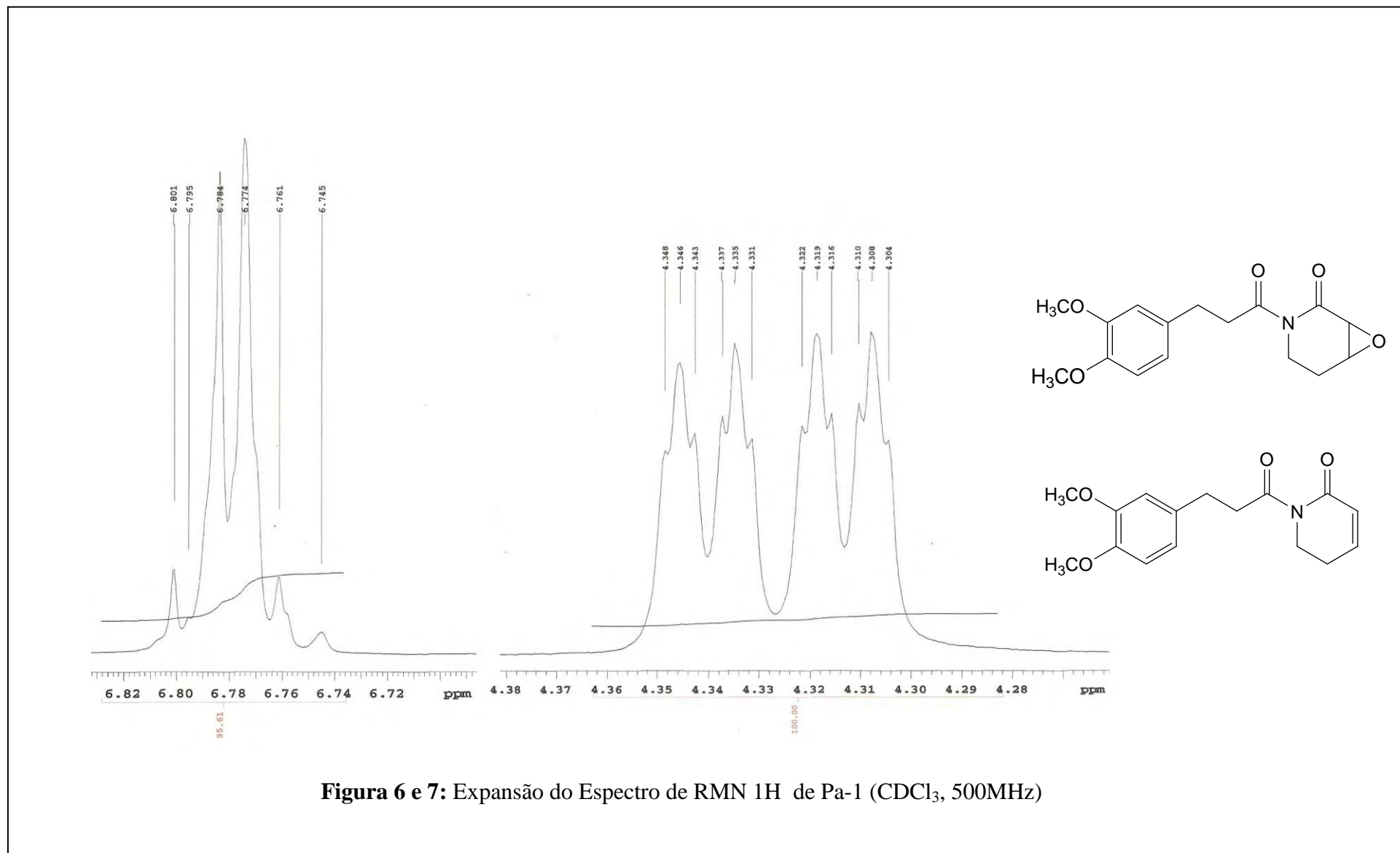


Figura 6 e 7: Expansão do Espectro de RMN 1H de Pa-1 (CDCl₃, 500MHz)

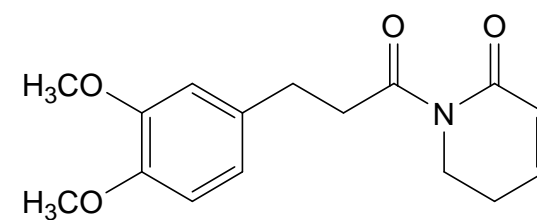
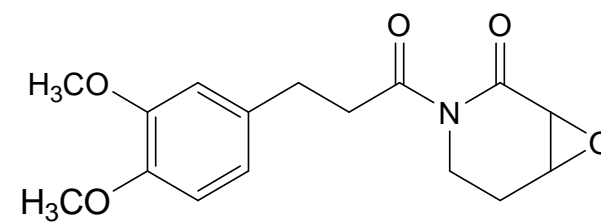
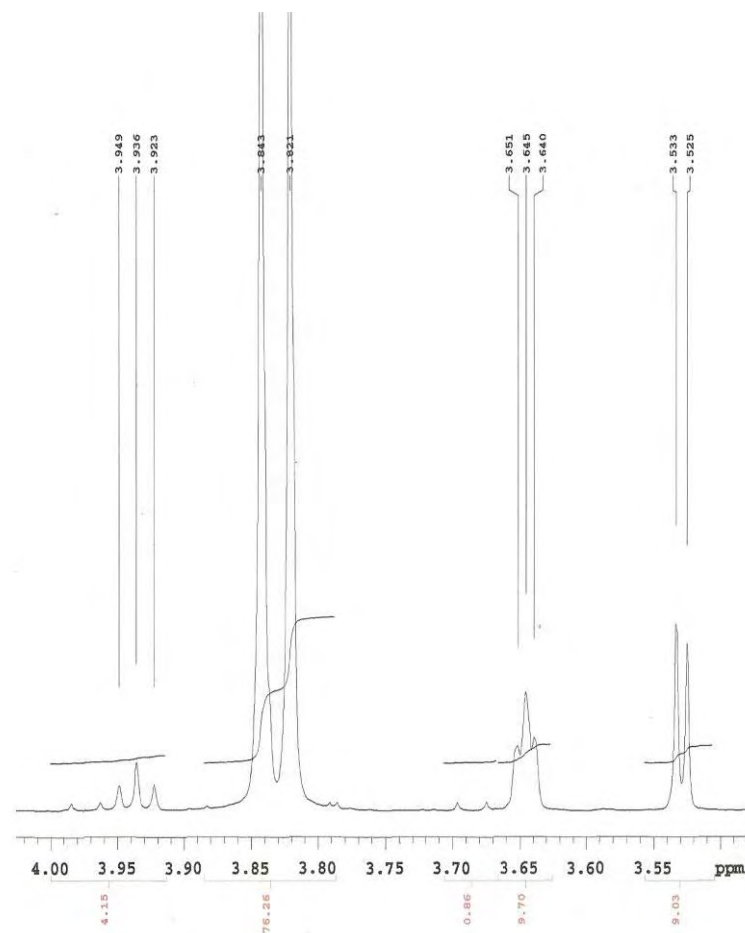


Figura 8: Expansão do espectro de RMN ¹H de Pa-1 (CDCl₃, 500MHz)

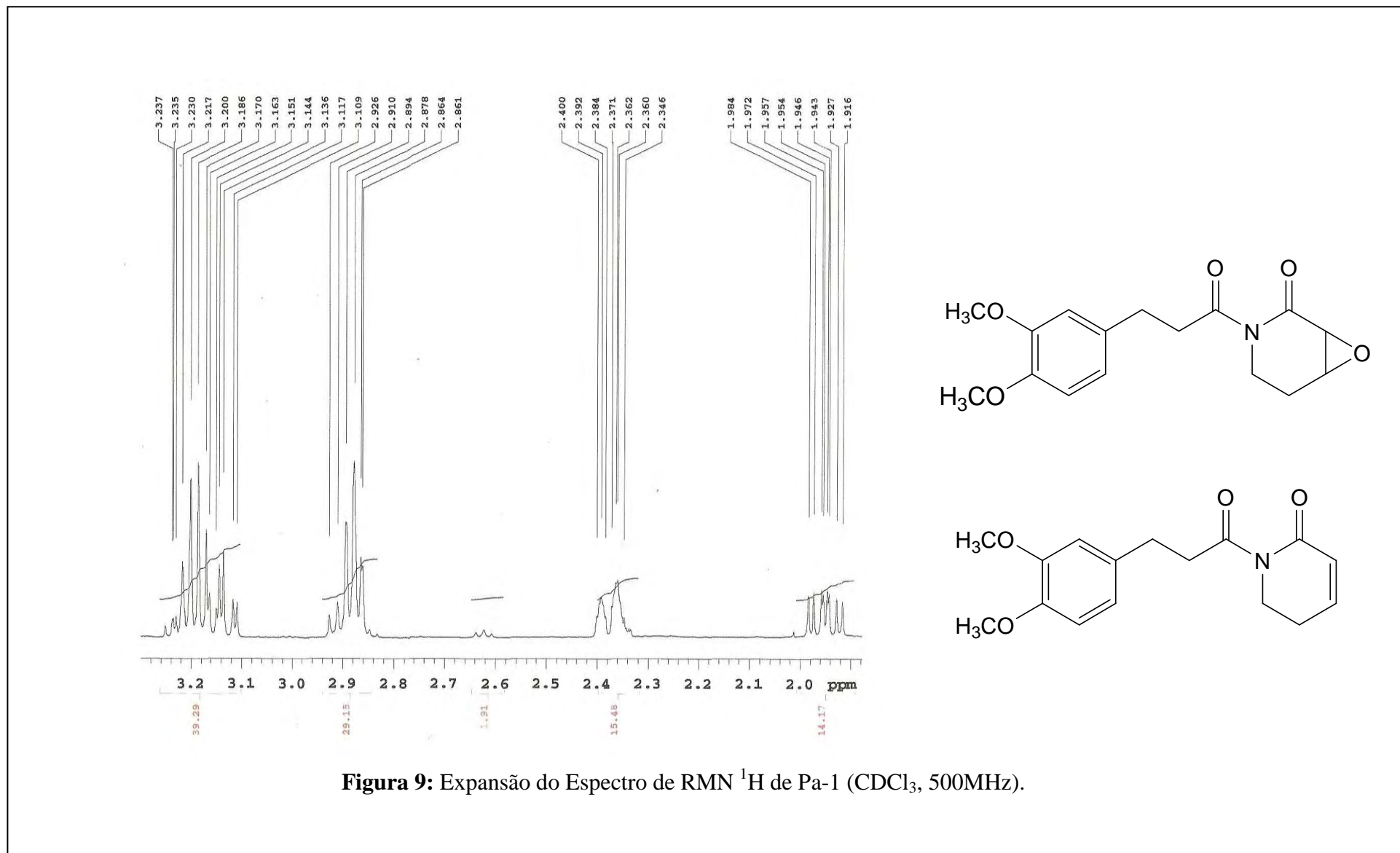


Figura 9: Expansão do Espectro de RMN ^1H de Pa-1 (CDCl_3 , 500MHz).

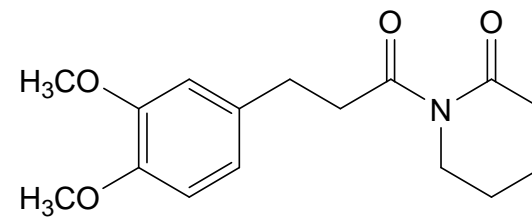
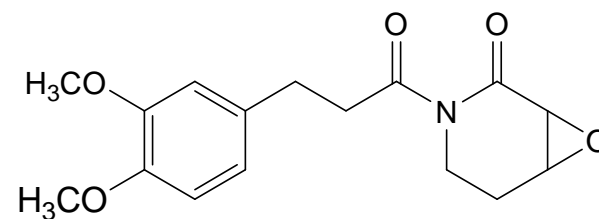
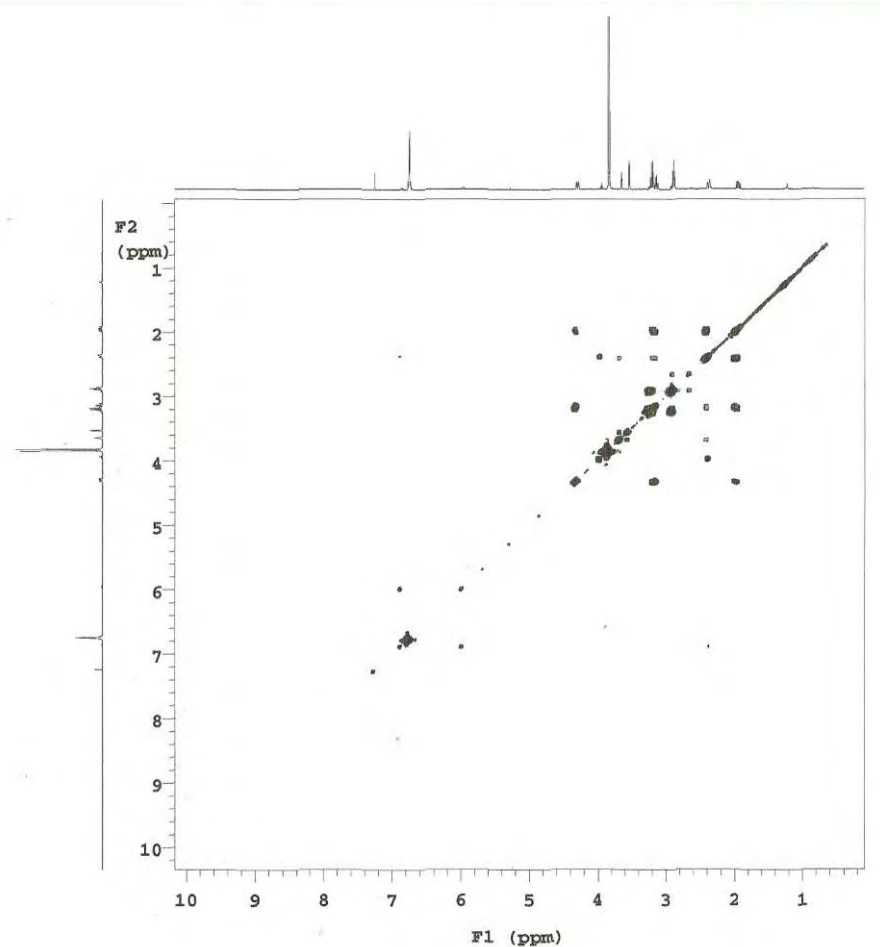


Figura 10: Espectro de Correlação Homonuclear RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz)

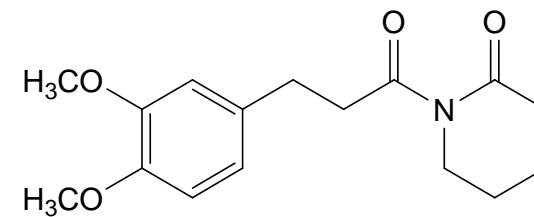
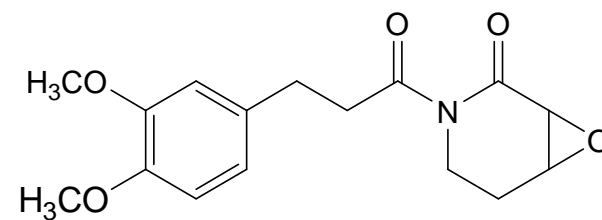
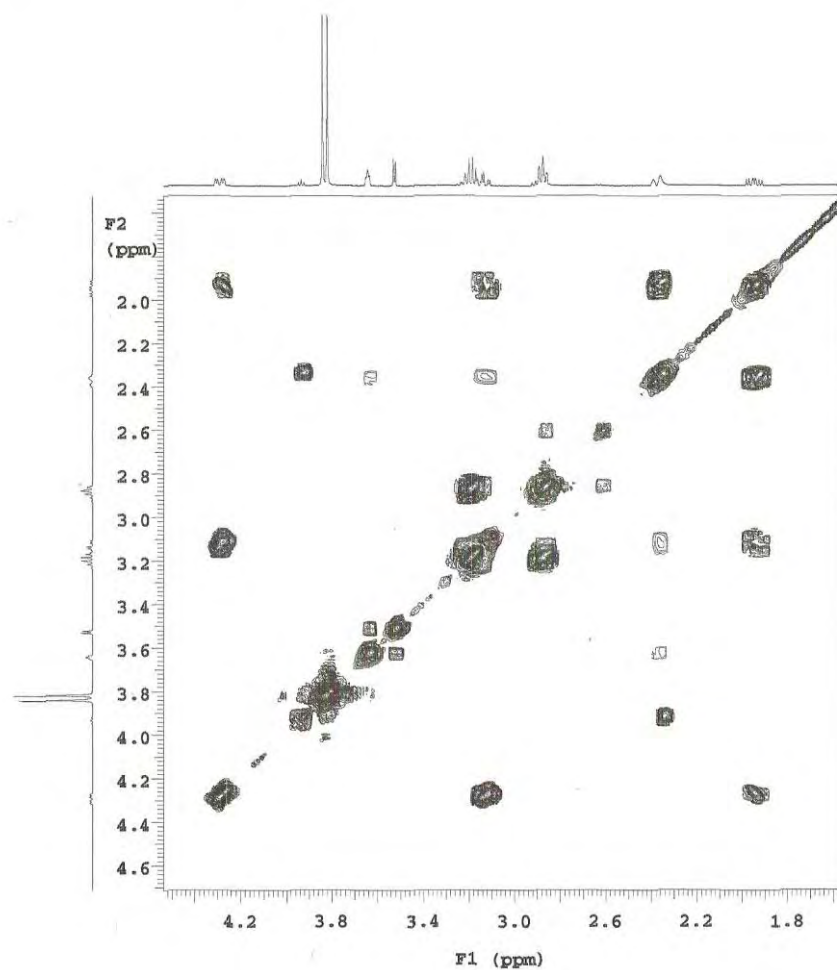


Figura 11: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz)

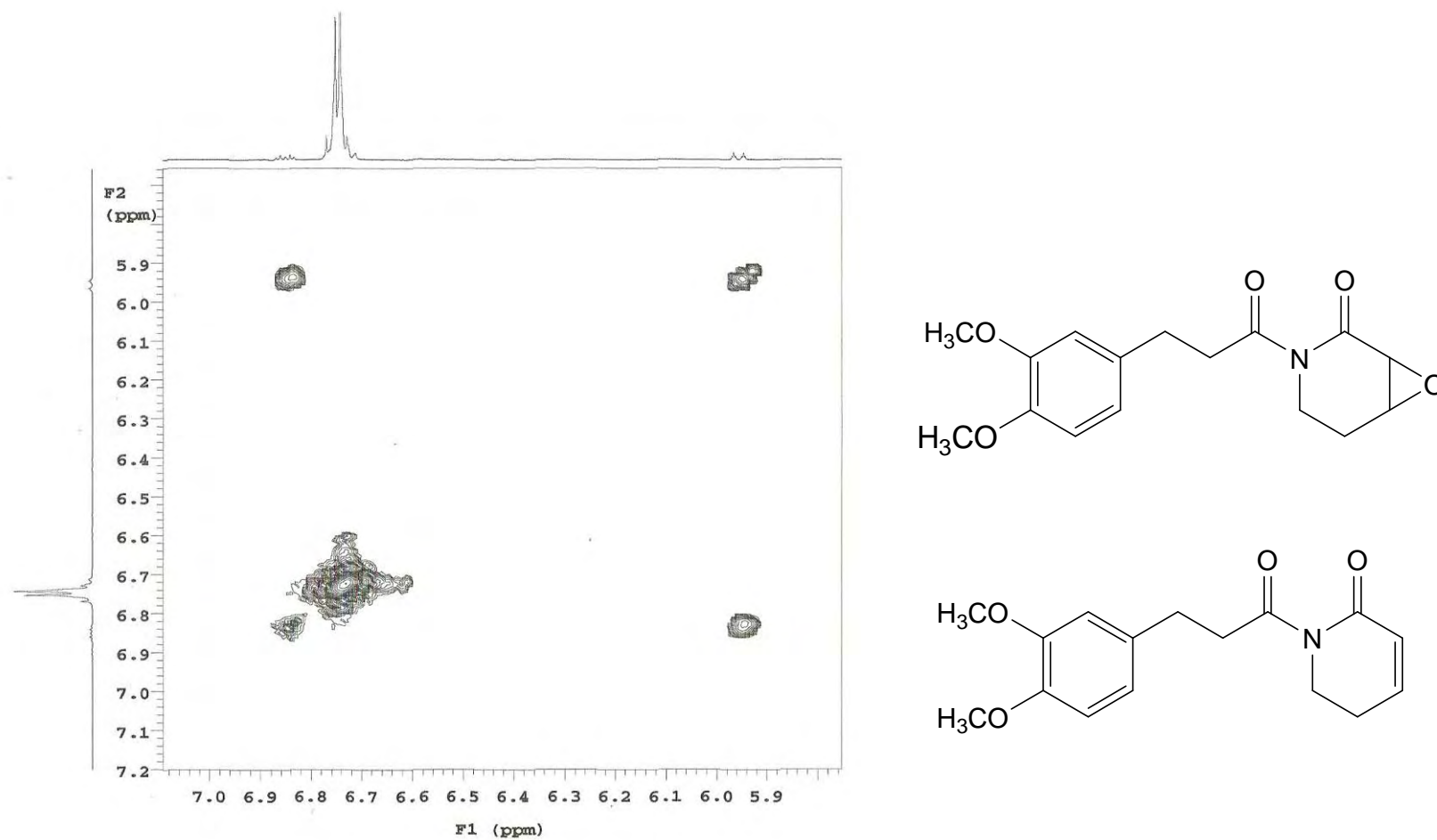


Figura 12: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz)

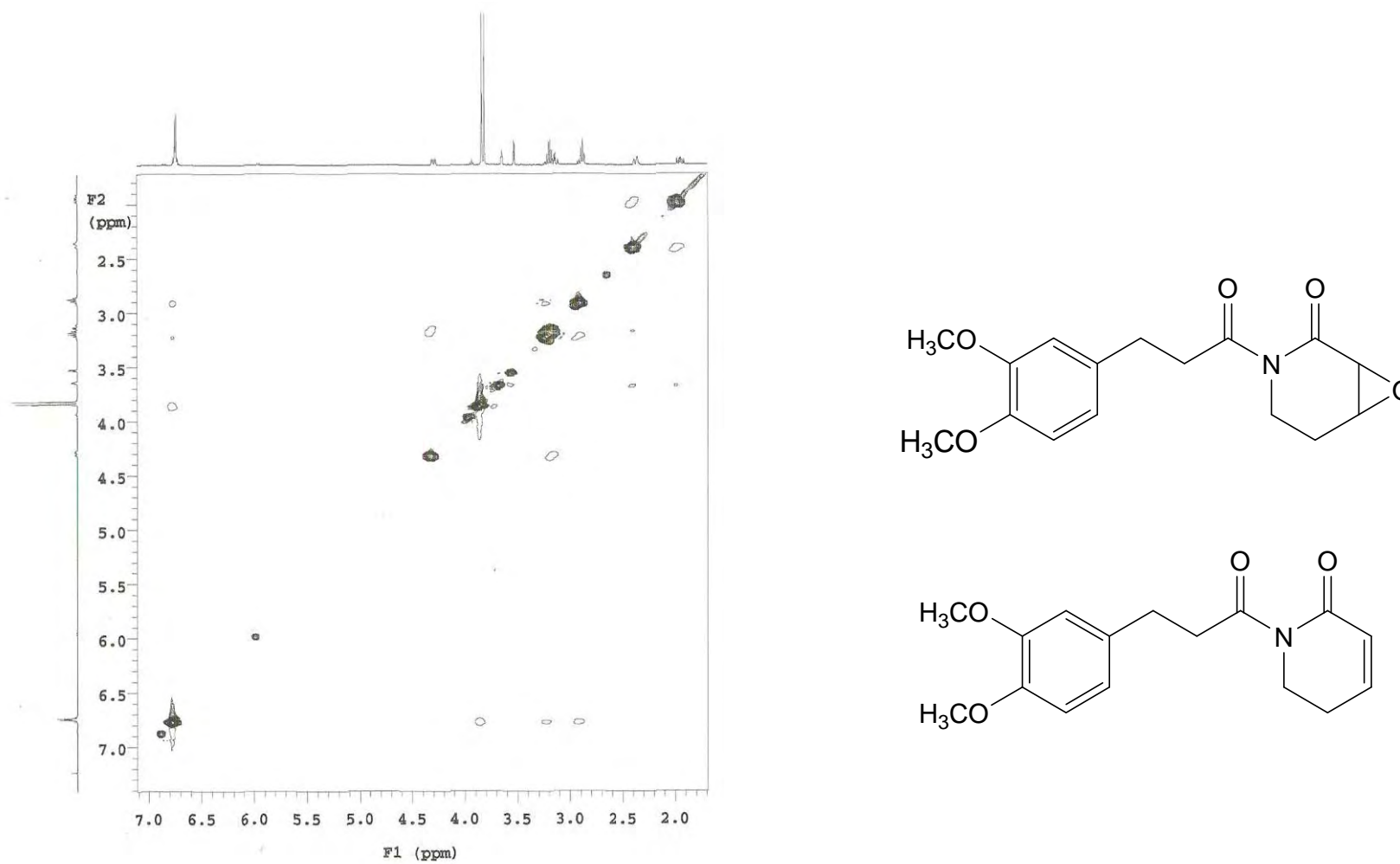


Figura 13: Expansão do espectro de Correlação Homonuclear RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de Pa-1 (CDCl_3 , 500 MHz)

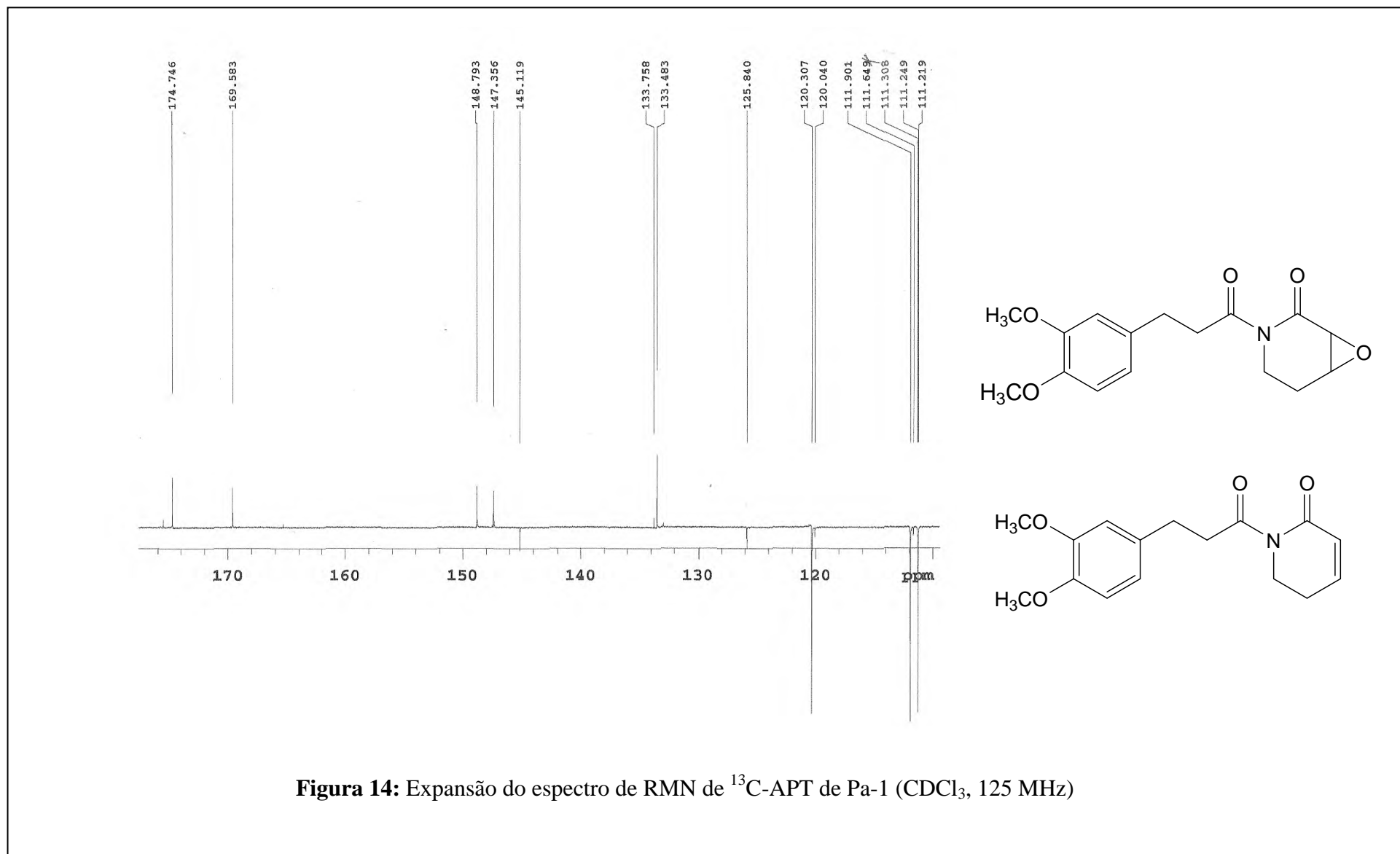


Figura 14: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Pa-1 (CDCl_3 , 125 MHz)

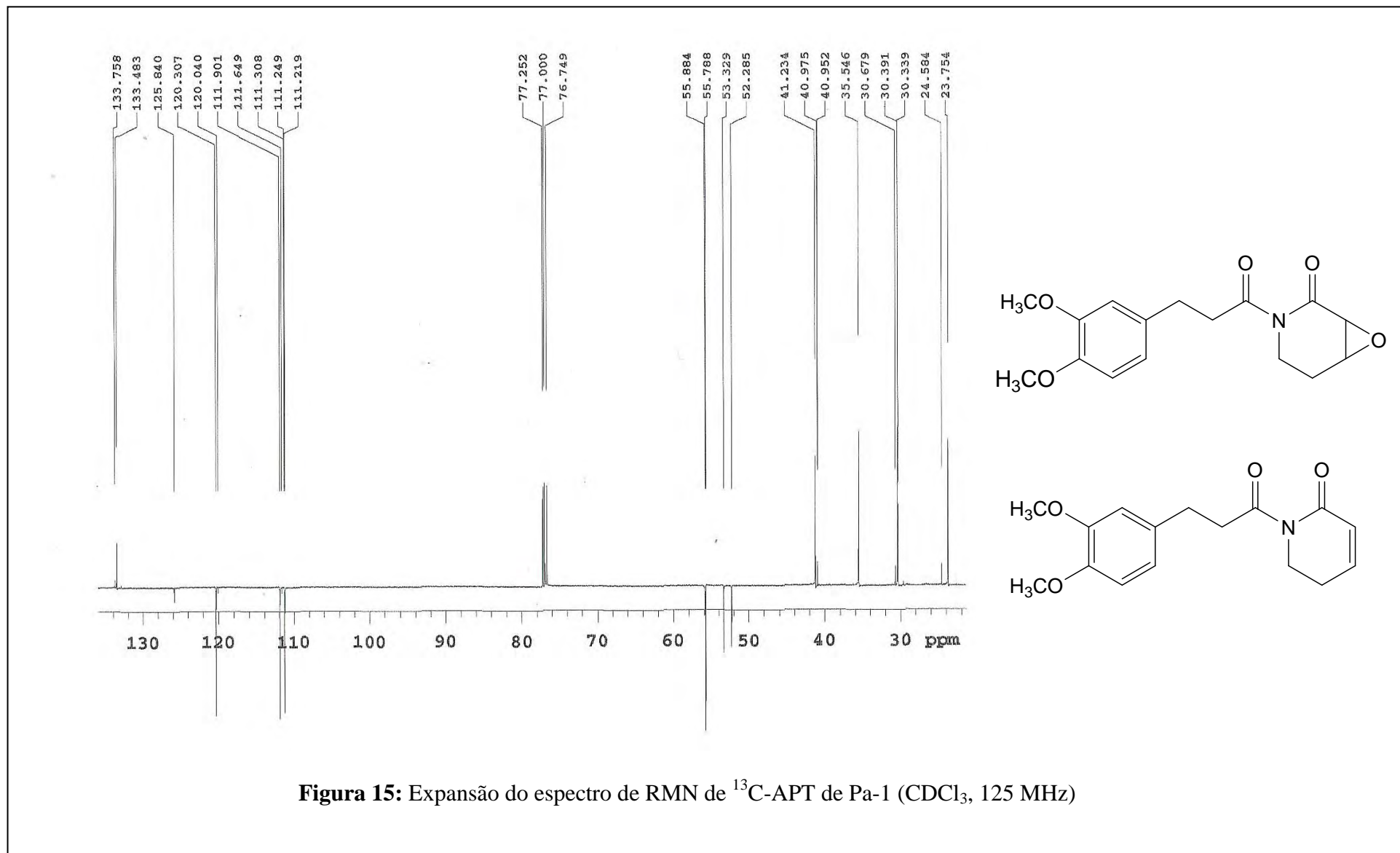


Figura 15: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Pa-1 (CDCl_3 , 125 MHz)

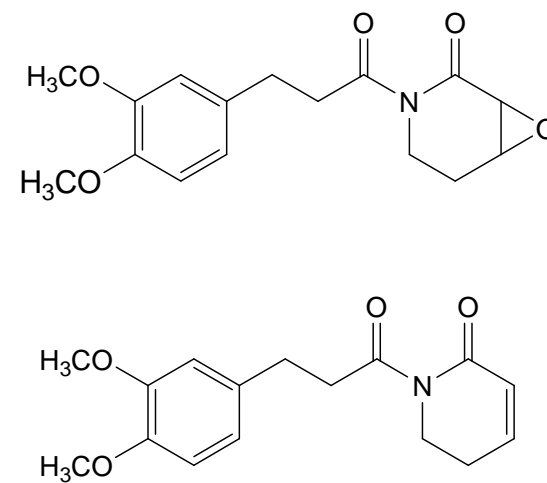
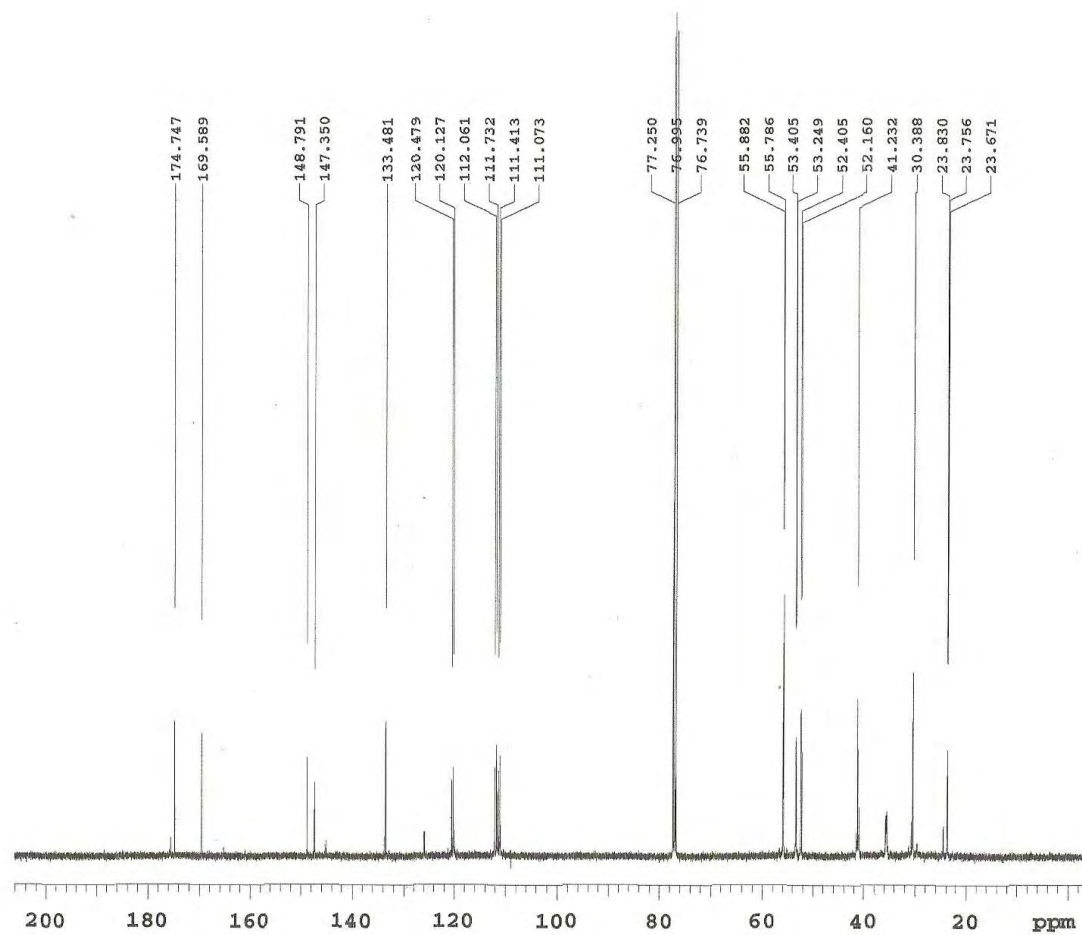
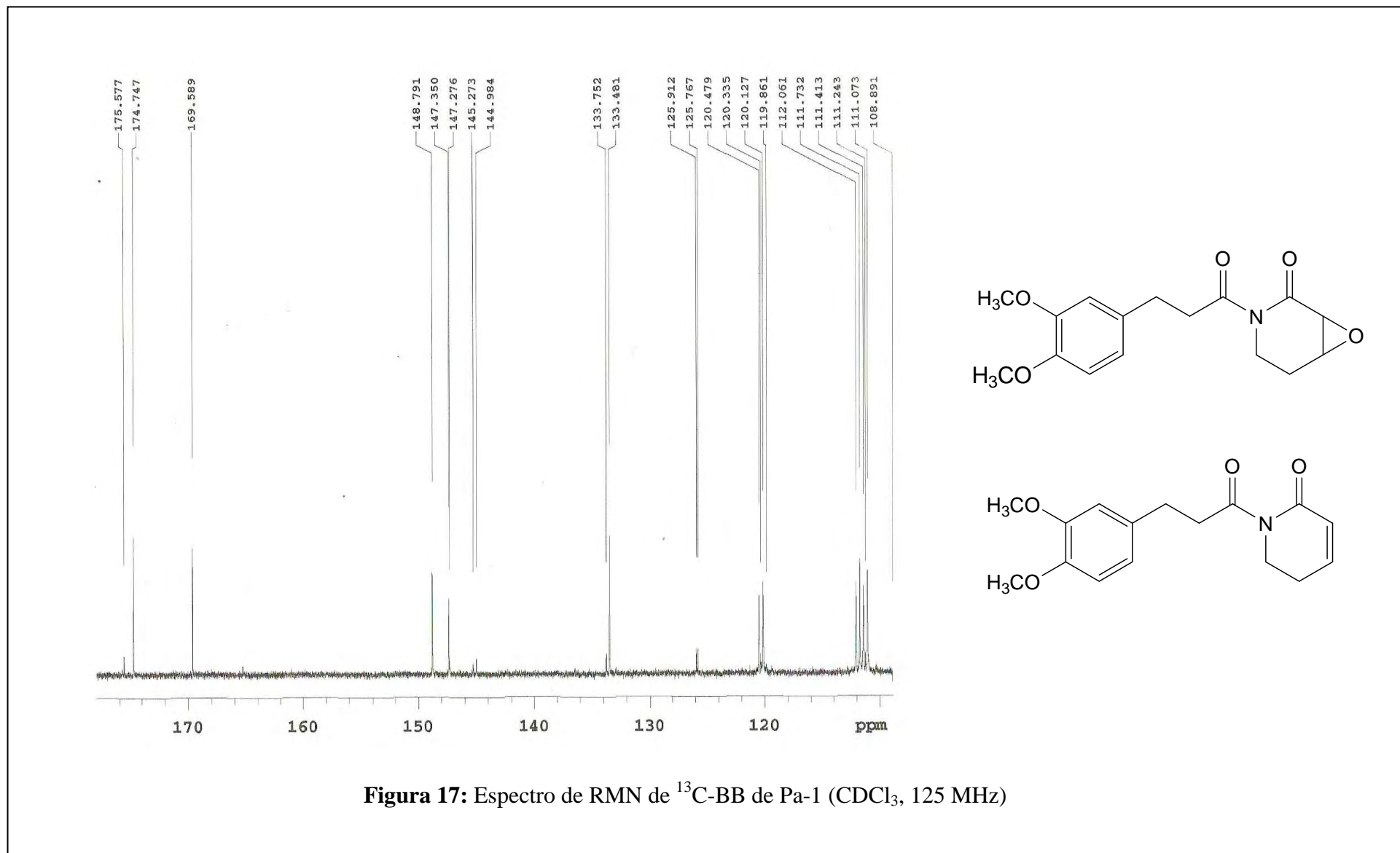
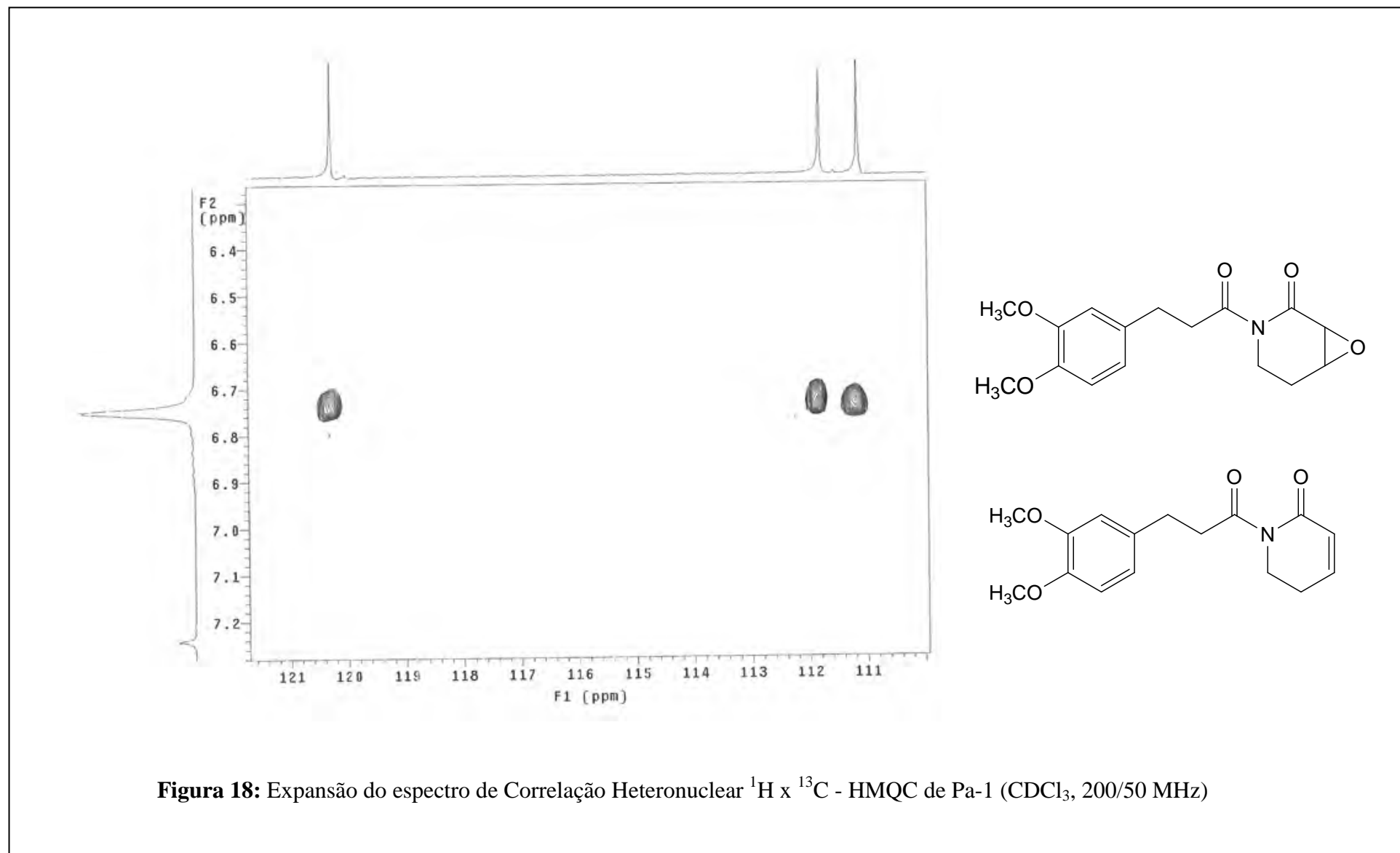
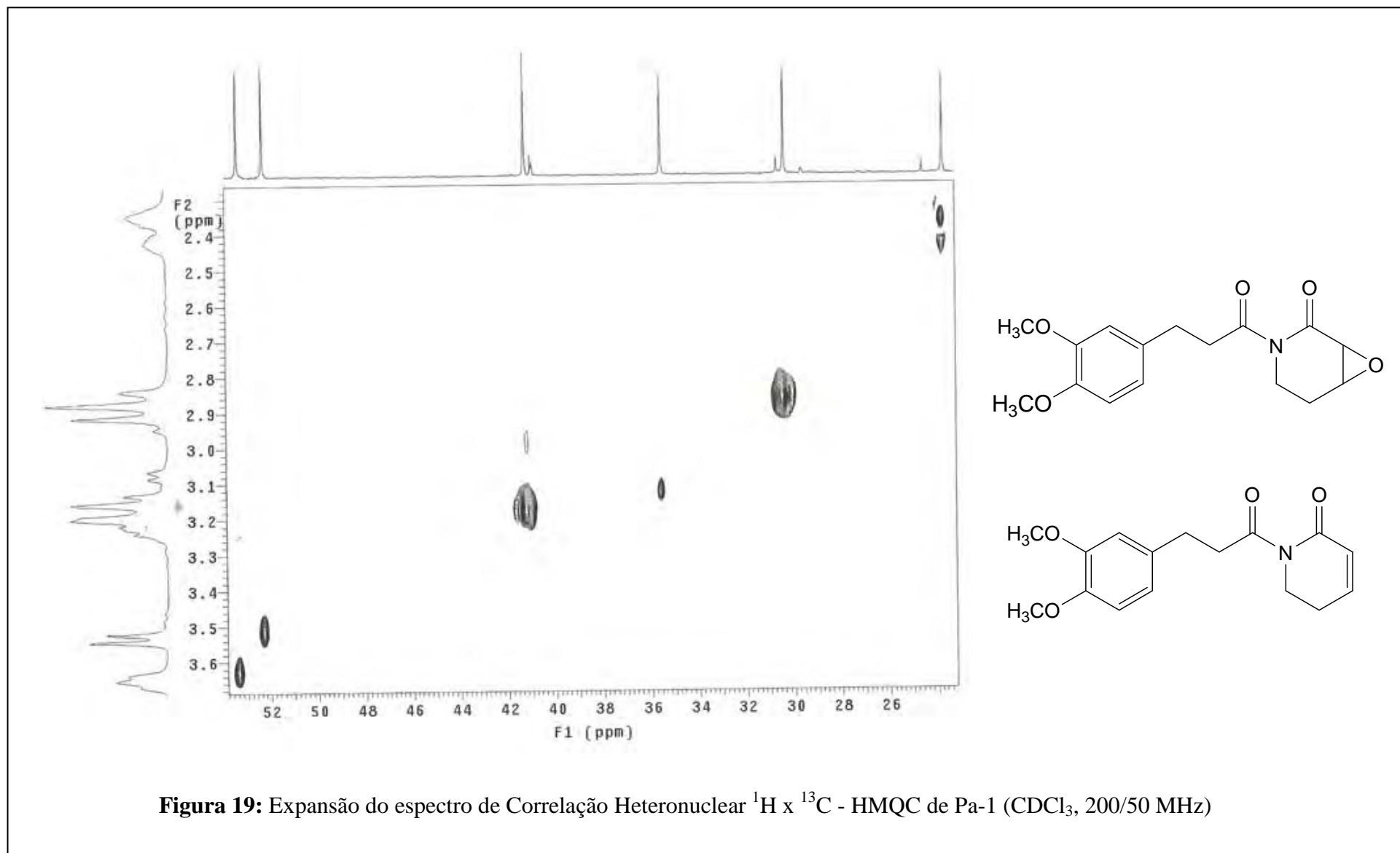
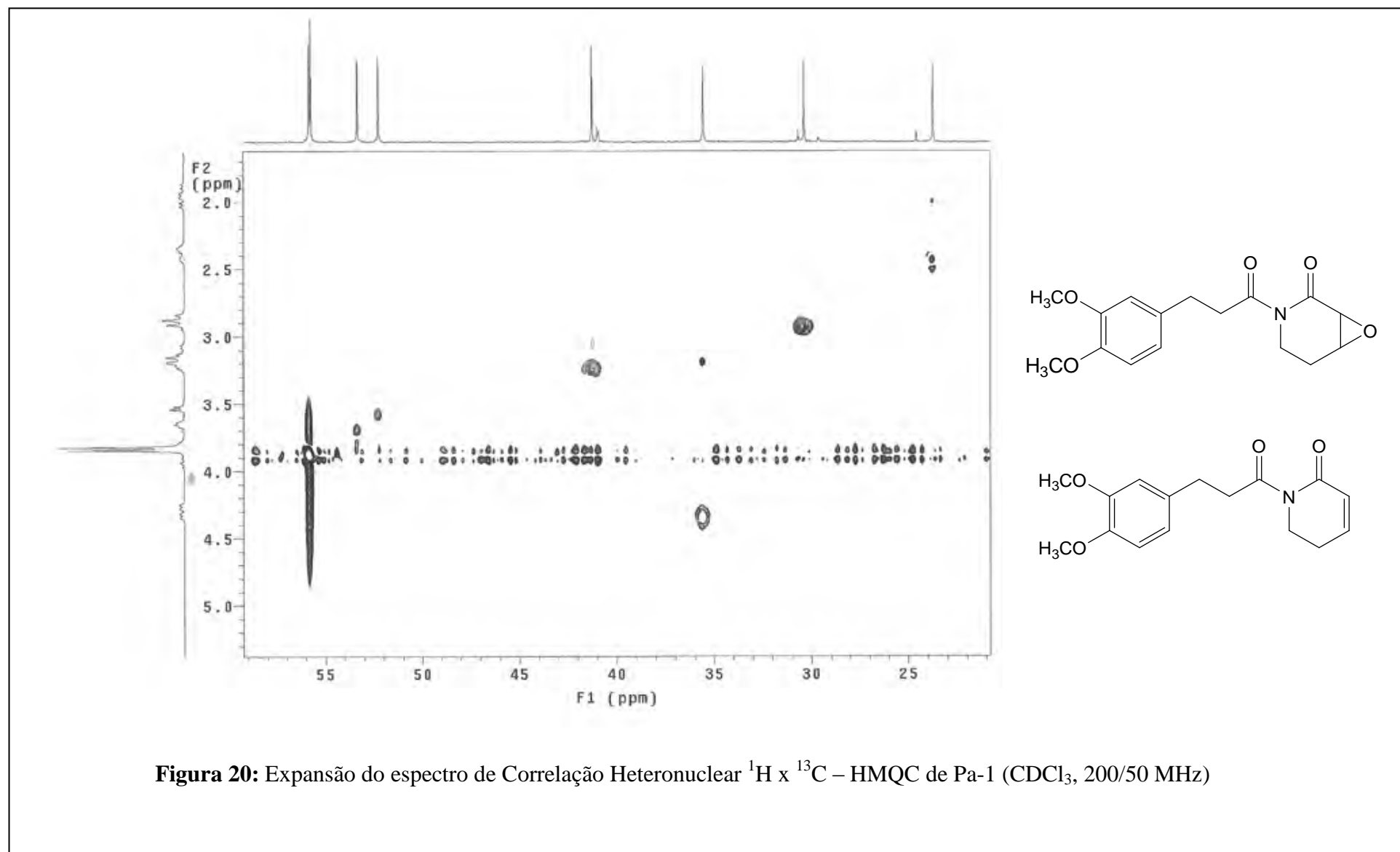


Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C -BB de Pa-1 (CDCl_3 , 125 MHz)









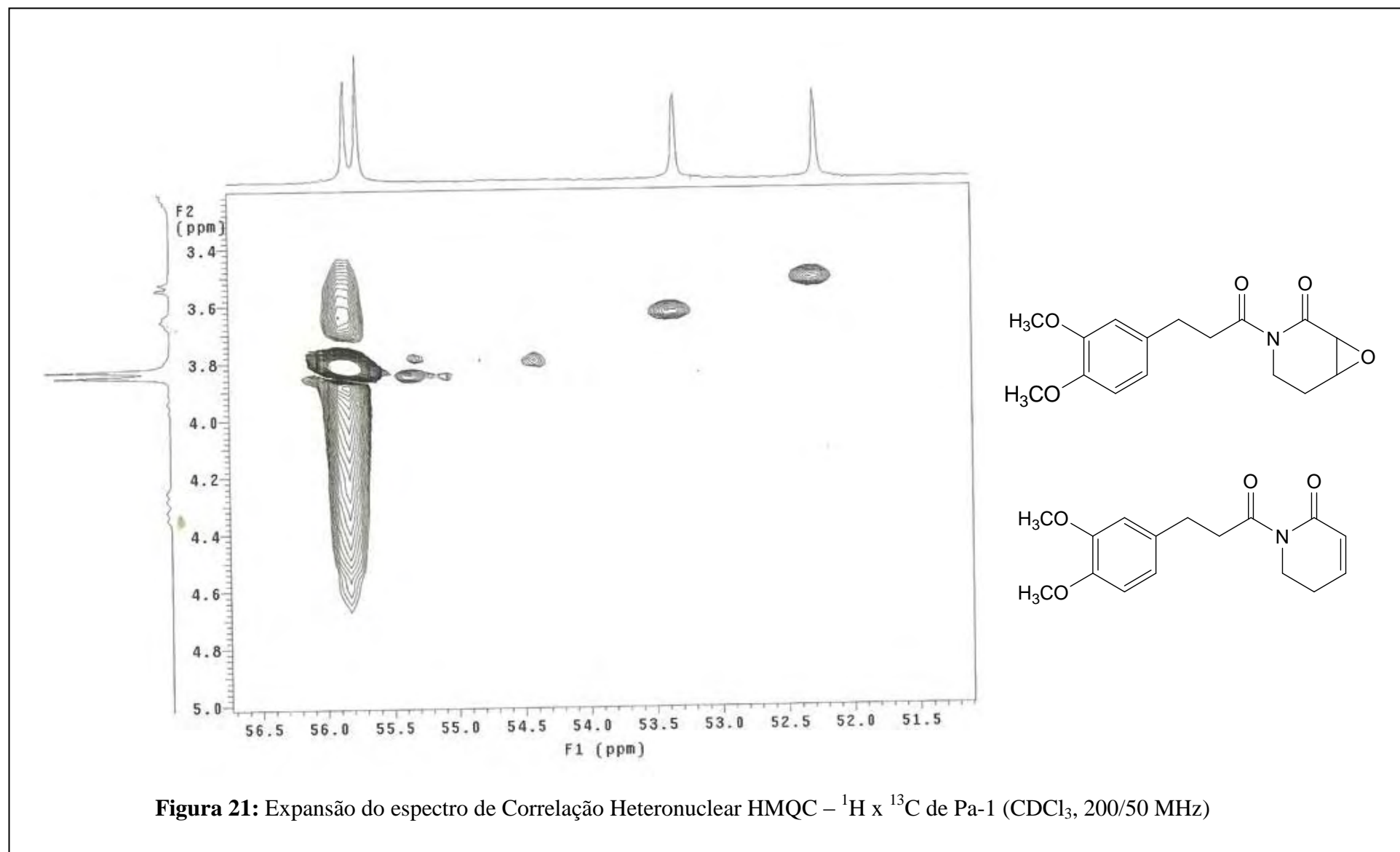
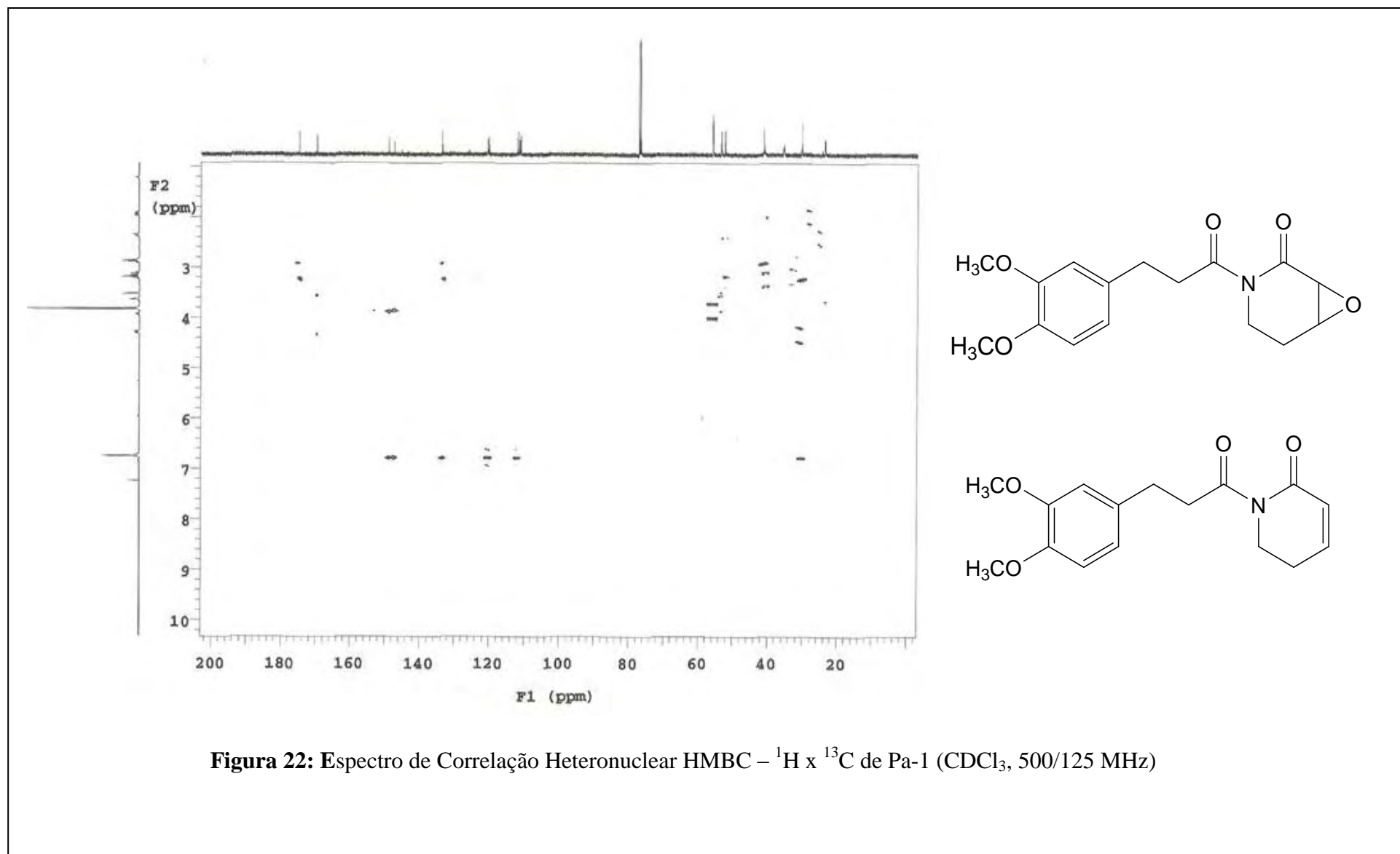


Figura 21: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMQC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pa-1 (CDCl_3 , 200/50 MHz)



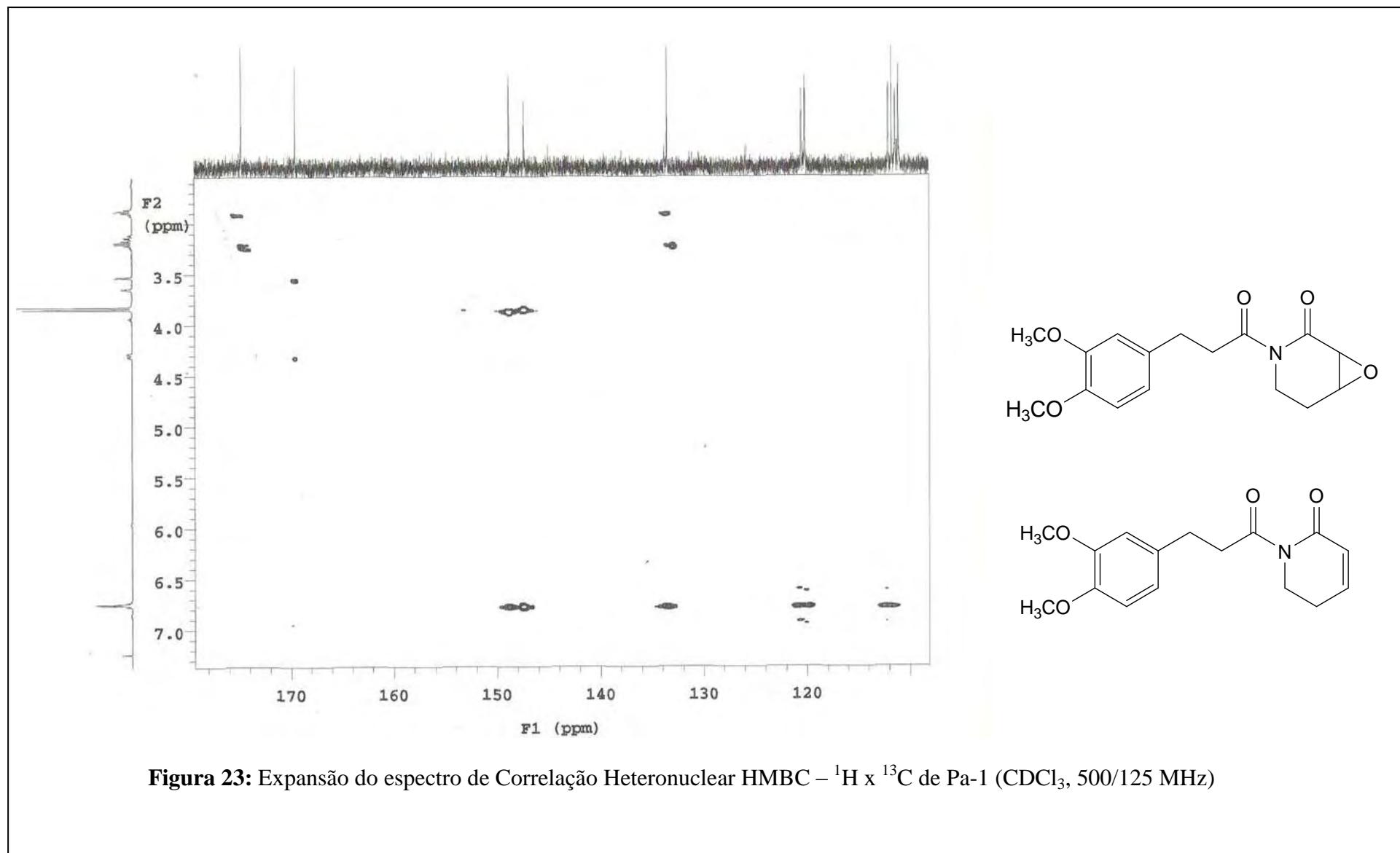


Figura 23: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pa-1 (CDCl_3 , 500/125 MHz)

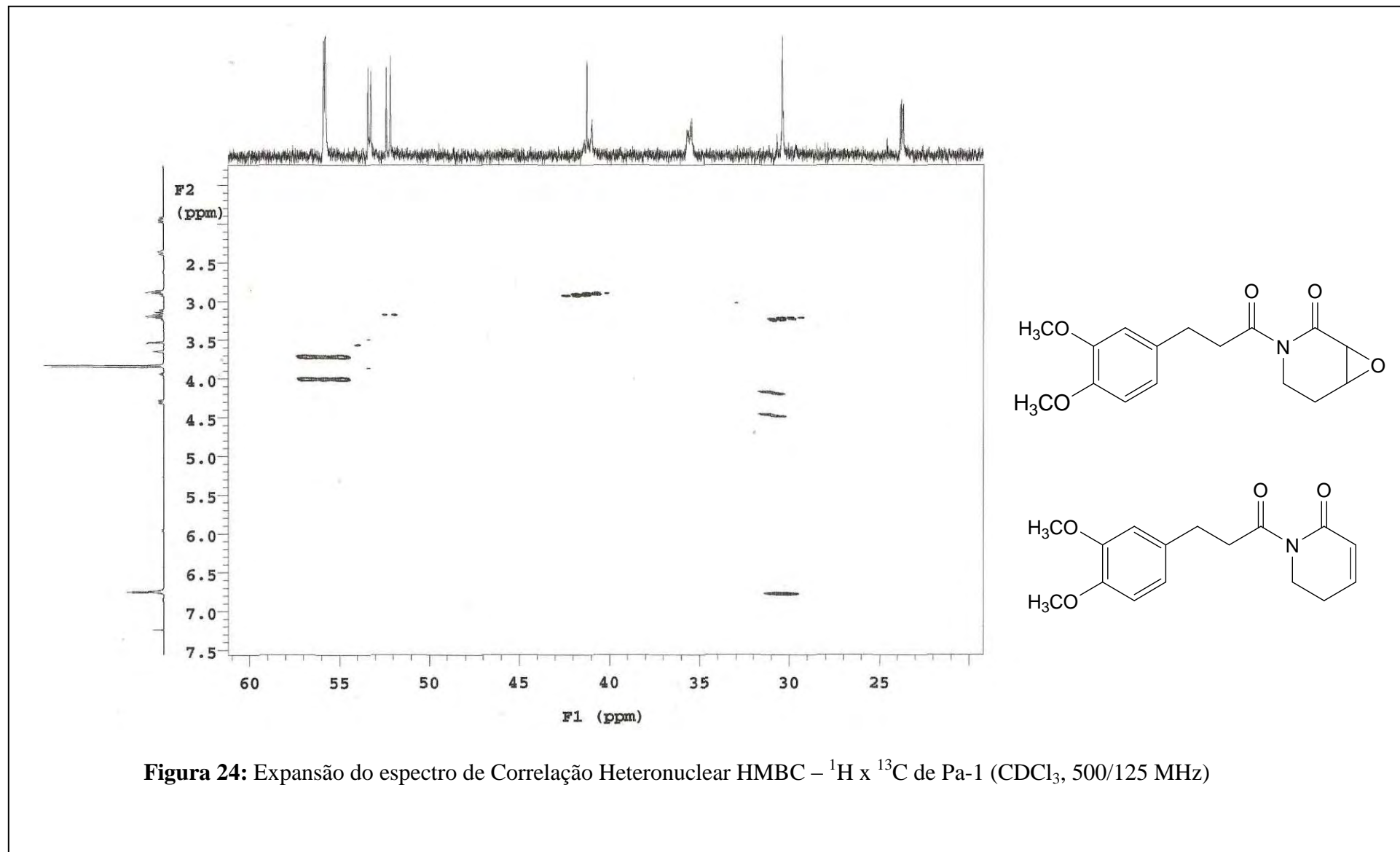


Figura 24: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pa-1 (CDCl_3 , 500/125 MHz)

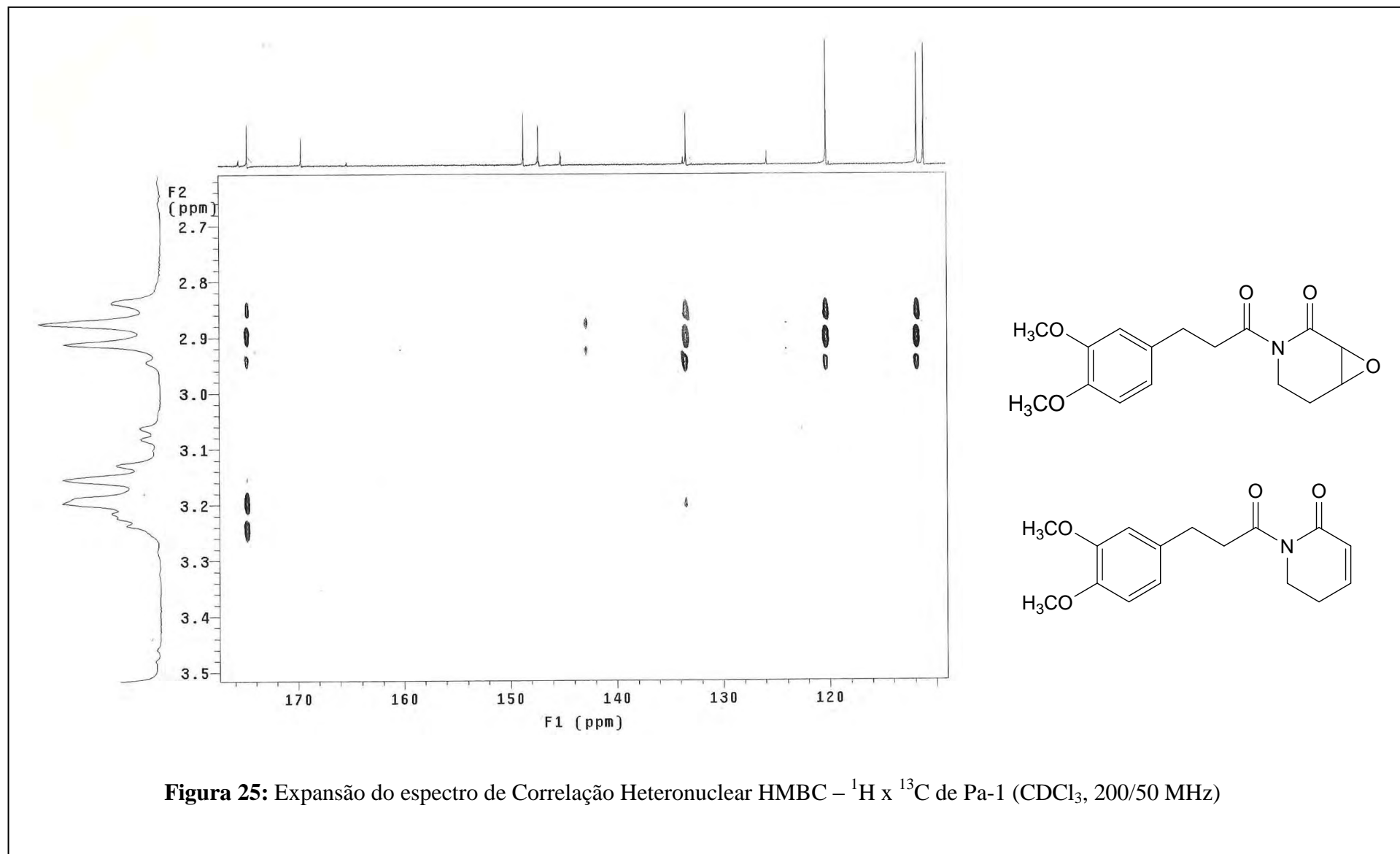


Figura 25: Expansão do espectro de Correlação Heteronuclear HMBC – $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ de Pa-1 (CDCl_3 , 200/50 MHz)

5.1.2 Determinação estrutural de Pa-2

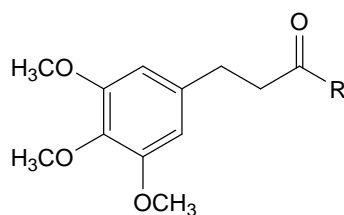
O composto exibiu bandas no espectro de Infra Vermelho (Figura 26, p. 98) que indicam a presença de anel aromático (1593, 1508, 1465 cm^{-1}), além de grupos carbonílicos (1701 cm^{-1}).

O espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) e suas expansões (Figura 27 a 30, p. 99 a 102) de Pa-2 mostrou picos característicos de dois núcleos trimetoxibenzenopropanoílico, sugerindo que Pa-2 trata-se de uma mistura de dois compostos. Na região de hidrogênios aromático revelou a presença de 2 simpletos um em δ 6,42 e outro em 6,44, para 2H cada (Figura 27 e 28, p. 99 e 100). Observou-se ainda 4 sinais característicos de grupamento metoxílico, sendo 2 com integral para 3H em δ_{H} 3,78 (s) e δ_{H} 3,79(s) e 2 com integral para 6H em 3,82 e 3,81 (Figura 29, p. 101). A integração dos sinais descritos sugeriu tratar-se de dois anéis aromáticos simetricamente tetrasubstituídos.

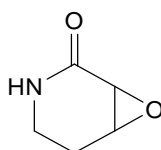
A análise do espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) de Pa-2 e suas expansões revelou a presença de um sinal para 4 carbonos aromáticos metínicos [δ_{C} 105,47 (4C)] e 6 para 8 carbonos aromáticos não hydrogenados, [δ_{C} 136,64, δ_{C} 136,23, δ_{C} 153,10 (2C), δ_{C} 153,06 (2C), δ_{C} 136,90 (1C) e δ_{C} 136,64 (1C)] (Figura 37 e 38, p. 109 e 110), os quatro últimos mostraram no espectro de HMBC correlações heteronuclear, a 3 ligações, aos hidrogênios metoxílicos em δ_{H} 3,82, δ_{H} 3,81, 3,79 e 3,78, respectivamente (Figura 47, p. 119). No espectro de RMN ^{13}C -APT observou-se ainda absorções para 4 carbonos carbonílicos 2 em δ_{C} 169,66 e δ_{C} 165,35 atribuído a carbonila de amida, e dois outros em δ_{C} 174,66 e 175,49 (Figura 38, p. 110) que mostraram correlação heteronuclear no espectro de HMBC com hidrogênios de carbonos metilênicos (Figura 47, p. 119).

O sinal em δ_{C} 174,66 mostrou correlação a 2 ligações com o hidrogênio em δ_{H} 3,19 e a 3 ligações com hidrogênio em δ_{H} 2,87. Do mesmo modo o carbono em δ_{C} 175,49 correlaciona-se a 2 e 3 ligações com os hidrogênios em δ_{H} 3,24 e δ_{H} 2,91, respectivamente (Figura 48, p. 120).

Todas essas atribuições anteriormente descritas permitiram sugerir a presença de dois grupamentos trimetoxibenzenopropanoil, em Pa-2.

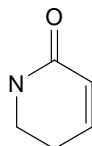


O espectro de RMN ^1H mostrou um duplo triplete dobrado em δ_{H} 4,30 ($J=13,5, 5,5$ e $1,5$ Hz, 1H) (Figura 29, p. 101), um duplo duplete em δ_{H} 3,13 (13,5 e 4,0 Hz, 1H), um duplo duplo duplete em δ_{H} 1,96 ($J=17,5, 13,5$ e $5,5$, 1H) e um multiplete entre δ_{H} 2,34-2,36 (1H) (Figura 30, p. 102), atribuídos a grupamento $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ cujos hidrogênios encontram-se distribuídos em ambientes químicos diferentes. Um triplete largo em δ_{H} 3,65 ($J=3,0$ Hz, 1H) e um duplete em δ_{H} 3,53 ($J=3,5$ Hz, 1H) (Figura 29, p. 101) sugeriram a presença de hidrogênios epoximetínicos. No espectro homonuclear COSY estes hidrogênios apresentam as seguintes correlações: δ_{H} 4,30 ($J=13,5, 5,5$ e $1,5$ Hz, 1H)/ δ_{H} 3,13 (13,5 e 4,0 Hz, 1H); δ_{H} 4,30 ($J=13,5, 5,5$ e $1,5$ Hz, 1H)/ δ_{H} 1,96 ($J=17,5, 13,5$ e $5,5$, 1H); δ_{H} 3,13 (13,5 e 4,0 Hz, 1H)/ δ_{H} 2,34-2,36 (1H); δ_{H} 3,13 (13,5 e 4,0 Hz, 1H)/ δ_{H} 1,96 ($J=17,5, 13,5$ e $5,5$, 1H); δ_{H} 2,34-2,36 (1H)/ δ_{H} 1,96 ($J=17,5, 13,5$ e $5,5$, 1H) e δ_{H} 3,65 ($J=3,0$ Hz, 1H)/ δ_{H} 3,53 ($J=3,5$ Hz, 1H) (Figura 32, p. 104). No espectro de HMBC a correlação observada entre o carbono carbonílico δ_{C} 169,66 com o hidrogênio epoximetínico em δ_{H} 3,53 demonstrou que o grupamento epoxido e a carbonila são vicinais. Esta mesma carbonila também mostrou correlacionar-se com os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 4,30 (Figura 48, p. 120), permitindo inferir a presença do grupamento 3,4-epoxi-2-oxopiperdinil.

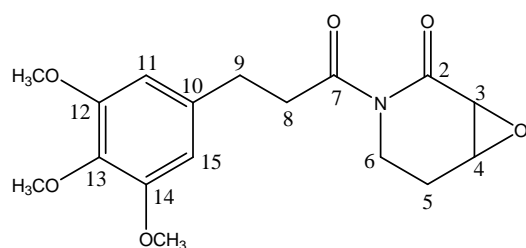


Os duplos tripletos em δ_{H} 5,96 ($J=10,0$ e $1,5$ Hz, 1H) e δ_{H} 6,86 ($J=9,5$ e $4,5$ Hz, 1H) (Figura 28, p. 100), o multiplete em δ_{H} 2,40 (2H) (Figura 30, p. 102) e o triplete em δ_{H} 3,94 ($J=6,5$ Hz, 2H) (Figura 29, p. 101), permitiram sugerir a presença do anel 2-(1H)-piridona em uma das moléculas. E ainda no espectro de HMBC observou-se a correlação do carbono olefínico em δ_{C} 145,21 a 3 ligações com hidrogênios metilênicos em δ_{H} 3,94 o qual também

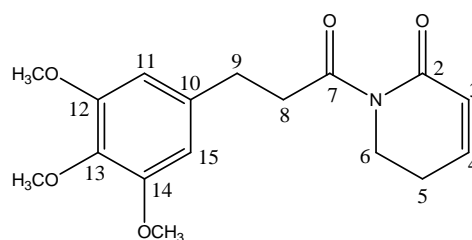
correlaciona-se com a carbonila em δ_C 165,35 (Figura 47, p. 118) atribuições estas sugestiva de anel 2-(1H)-piridona já proposto pelo espectro de RMN 1H .



Uma informação a ser destacada no espectro de HMBC refere-se às correlações a 3 ligações observadas entre as carbonilas dos dois grupamentos trimetoxibenzenopropanoil em δ_C 174,66 e δ_C 175,49, respectivamente com o hidrogênio em δ_H 4,30 do grupamento 3,4 epoxipiperdinil e com o hidrogênio em δ_H 3,94 do anel 2-(1H)-piridona (Figura 48, p. 120), o que permitiu sugerir que a substância codificada como Pa-2 trata-se de uma mistura do 3,4 epoxi-8,9 dihidropiartina (Pa-2a) (Tabelas 7 e 8, p. 94 e 95) e do 8,9 dihidropiartina (Pa-2b) (Tabelas 9 e 10, p. 96 e 97).



3,4-Epoxy-8,9 dihidropiartina



8,9 dihidropiartina

Tabela 7: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C e ^1H x ^1H (COSY) de Pa-2a registrados em CDCl_3 .

Posição	HMQC		HMBC		COSY
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J	
2		169,66			
3	3,53 (d, J= 3,0 Hz, 1H)	52,29	C-2; C-4		H-4
4	3,65 (tl, J=3,0 Hz)	53,35			H-3; H-5b
5	1,96 (ddd,, J= 17,5; 13,5 e 5,5 Hz, 1H, H-5a) 2,34-2,36 (m, 1H, H-5b)	23,75	C-6		H-5a; H-6b
6	4,30 (dtd, J= 13,5, 5,5 e 1,5Hz, 1H, H-6a) 3,13 (dd, J= 13,5 e 4,0 Hz, 1H, H-6b)	35,62	C-5 C-5	C-2; C-4; C-7 C-4	H-5a; H-6a H-5a; H-5b; H-6a
7		174,66			
8	3,19 (t, J= 7,5 Hz, 2H)	41,15	C-7; C-9	C-10	H-9
9	2,87 (tl, J= 7,5 Hz, 2H)	31,21	C-8; C10	C-7; C11/15	
10		136,64			
11	6,42 (s, 3H)	105,47		C-9	
12		153,10			
13		136,90			
14		153,10			
15	6,42 (s, 3H)	105,47		C-11	
OMe-12	3,82 (s, 3H)	56,04		C-12	
OMe-13	3,79 (s, 3H)	60,78		C-13	
OMe-14	3,82 (s, 3H)	56,04		C-14	

Tabela 8: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2a com modelo encontrado na literatura (SEERAM, 1996).

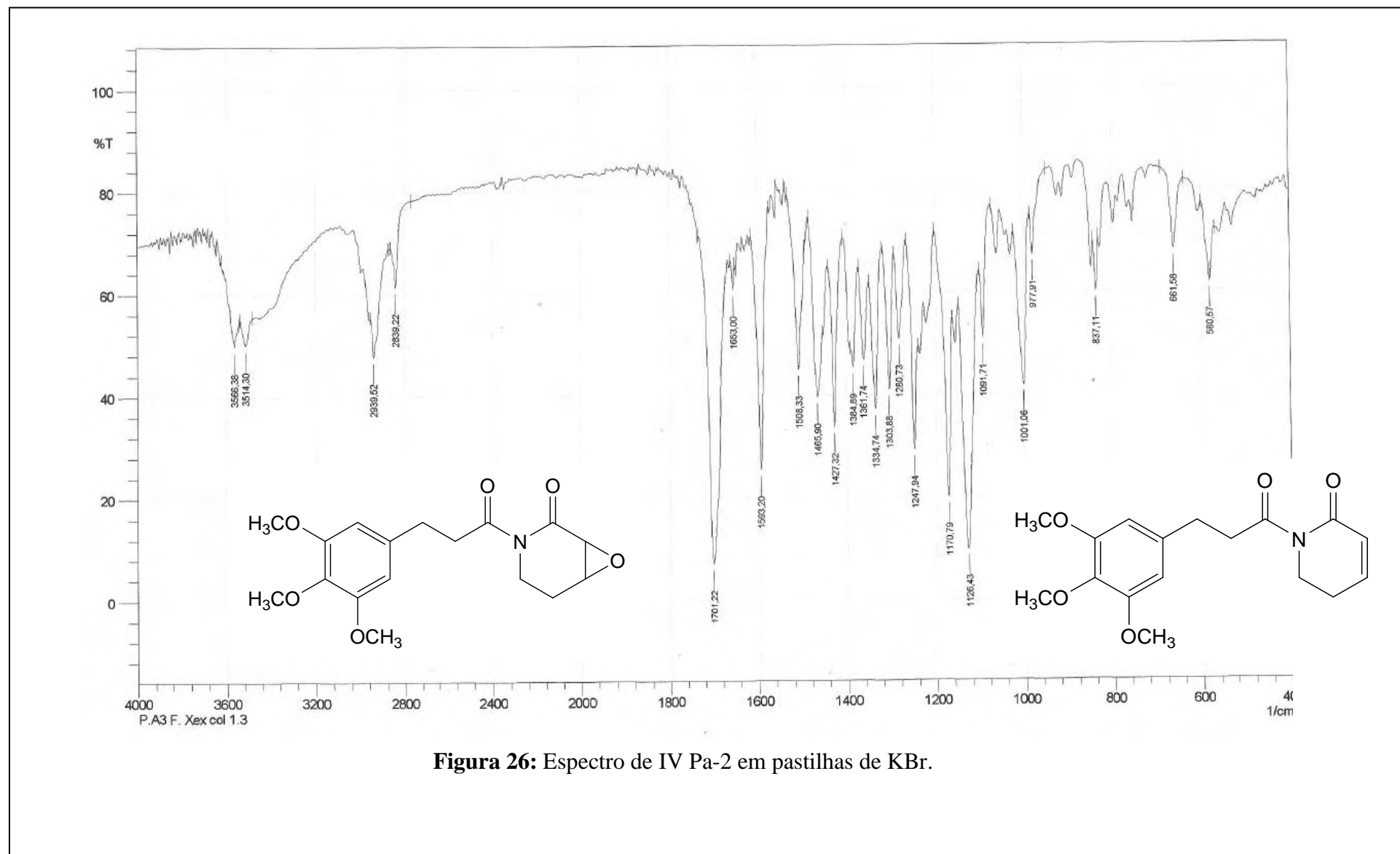
Posição	Pa-2a (CDCl_3 , 500/125 MHz)		(Modelo-Literatura) (CDCl_3 , 500/125 MHz)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		169,66		169,6
3	3,53 (d, J= 3,0 Hz, 1H)	52,29	3,56 (d, J= 4,1 Hz, 1H)	52,3
4	3,65 (tl, J=3,0 Hz)	53,35	3,70 (dd, J= 5,8 e 4,5 Hz, 1H)	53,4
5	1,96 (ddd, J= 17,5; 13,5 e 5,5 Hz, 1H, H-5a) 2,34-2,36 (m, 1H, H-5b)	23,75	2,00 (ddd, J= 15,0, 13,2 e 5,8 Hz, 1H) 2,42 (m, 1H)	23,8
6	4,30 (dtd, J= 13,5, 5,5 e 1,5 Hz, 1H, 6-Ha) 3,13 (dd, J= 13,5 e 4,0 Hz, 1H, 6-Hb)	35,62	4,34 (dddd, J= 15,0, 5,8, 1,5 e 1,5 Hz, 1H) 3,20 (m, 1H)	35,6
7		174,66		174,6
8	3,19 (t, J= 7,5 Hz, 2H)	41,15	3,23 (t, J= 7,4 Hz, 2H)	41,2
9	2,87 (tl, J= 7,5 Hz, 2H)	31,21	2,91 (t, J= 7,4 Hz, 2H)	31,2
10		136,64		136,6
11	6,42 (s, 3H)	105,47	6,46 (s, 3H)	105,4
12		153,10		153,1
13		136,90		136,3
14		153,10		153,1
15	6,42 (s, 3H)	105,47	6,46 (s, 3H)	105,4
OMe-12	3,82 (s, 3H)	56,04	3,85 (s, 6H)	56,0
OMe-13	3,79 (s, 3H)	60,78	3,82 (s, 3H)	60,8
OMe-14	3,82 (s, 3H)	56,04	3,85 (s, 6H)	56,0

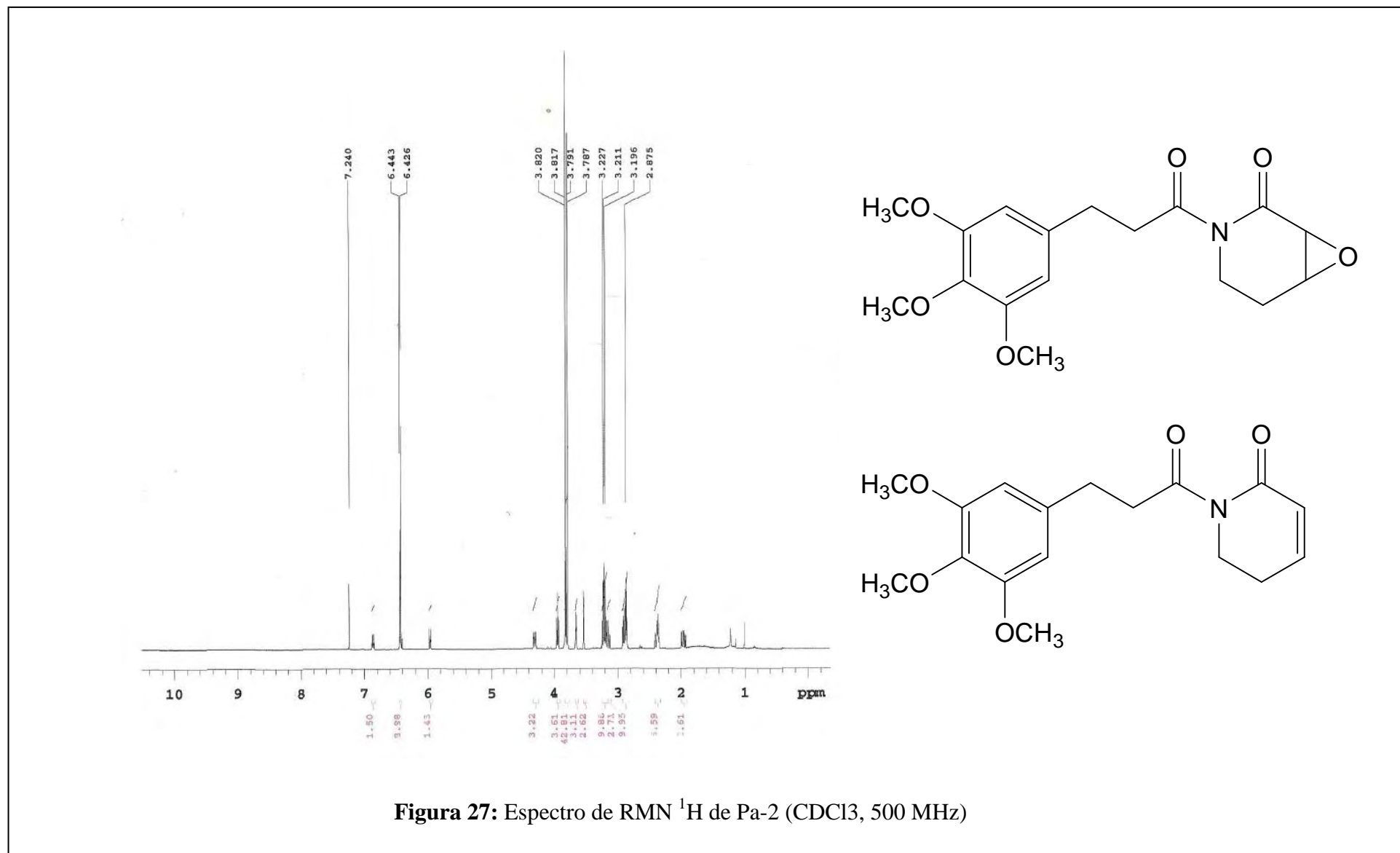
Tabela 9: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2a com Pa-2b (CDCl₃, 500/125 MHz).

Posição	Pa-2a		Pa-2b	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		169,66		165,35
3	3,53 (d, J = 3,5 Hz, 1H)	52,29	5,96 (dt, J= 9,5 Hz, 1H)	125,82
4	3,65 (tl, J = 3,0 Hz, 1H)	53,35	6,86 (dt, J= 9,5 Hz, 1H)	145,21
5	1,96 (ddd., J= 17,5, 13,5 e 5,5 Hz, 1H, H-5a) 2,34-2,36 (m, 1H, H-5b)	23,75	2,40 (m, 2H)	24,60
6	4,30 (dtd, J= 13,5, 5,5 e 1,5 Hz, 1H, H-6a) 3,13 (dd, J= 13,5 e 4,0 Hz, 1H, H-6b)	35,62	3,94 (t, J= 8,0 Hz)	40,85
7		174,66		175,49
8	3,19 (t, J= 7,5 Hz, 2H)	41,15	3,24 (m, 2H)	40,99
9	2,87 (tl, J= 7,5 Hz, 2H)	31,21	2,91 (t, J= 8,0 Hz, 2H)	31,51
10		136,64		136,23
11	6,42 (s, 3H)	105,47	6,44 (s, 2H)	105,45
12		153,10		153,06
13		136,90		136,32
14		153,10		153,06
15	6,42 (s, 3H)	105,47	6,44 (s, 2H)	105,45
OMe-12	3,82 (s, 3H)	56,04	3,81 (s, 6H)	56,04
OMe-13	3,79 (s, 3H)	60,78	3,78 (s, 3H)	60,78
OMe-14	3,82 (s, 3H)	56,04	3,81 (s, 6H)	56,04

Tabela 10: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-2b com modelo encontrado na literatura (CHAVES, 2002).

Posição	Pa-2b (CDCl_3 , 500/125 MHz)		(Modelo-Literatura) (CDCl_3)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		165,35		167,08
3	5,96 (dt, J= 9,5 Hz, 1H)	125,82	5,85 (dt, J= 10,0 e 2,0 Hz, 1H)	124,85
4	6,86 (dt, J= 9,5 Hz, 1H)	145,21	6,62 (dt, J= 10,0 e 4,6 Hz, 1H)	142,36
5	2,40 (m, 2H)	24,60	2,27-2,33 (m, 2H)	23,65
6	3,94 (t, J= 8,0Hz)	40,85	3,35 (t, J= 7,4 Hz, 2H)	39,44
7		175,49		176,71
8	3,24 (m, 2H)	40,99	2,57 (t, J= 7,9Hz, 2H)	35,85
9	2,91 (t, J= 8,0 Hz, 2H)	31,51	2,83 (t, J= 7,9Hz, 2H)	31,23
10		136,23		136,19
11	6,44 (s, 2H)	105,45	6,37 (s, 1H)	105,14
12		153,06		153,04
13		136,32		139,84
14		153,06		153,04
15	6,44 (s, 2H)	105,45	6,37 (s, 1H)	105,14
OMe-12	3,82 (s, 6H)	56,04	3,77 (s, 6H)	56,03
OMe-13	3,79 (s,3H)	60,78	3,74 (s, 3H)	60,79
OMe-14	3,82 (s, 6H)	56,04	3,77 (s, 6H)	56,03





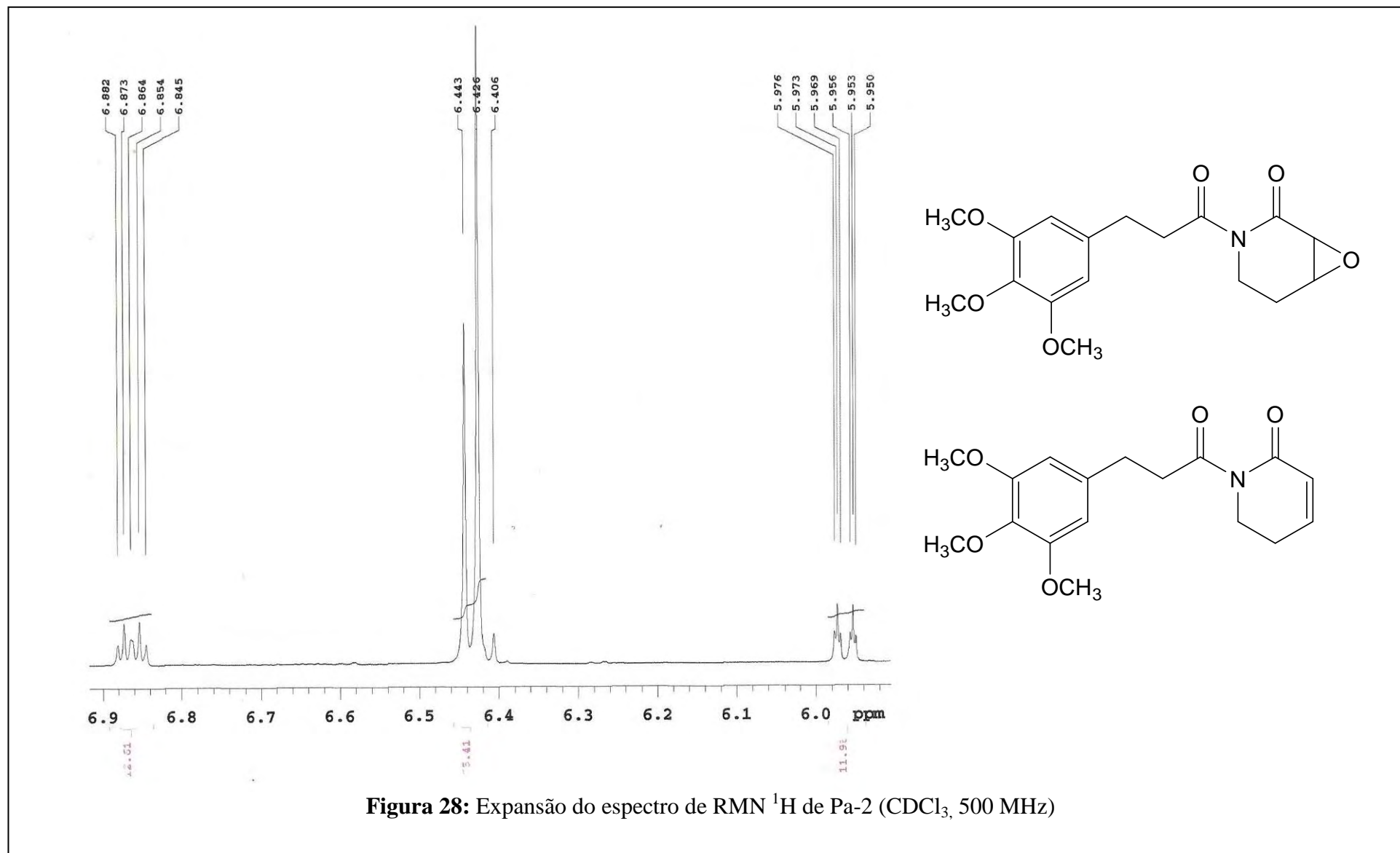
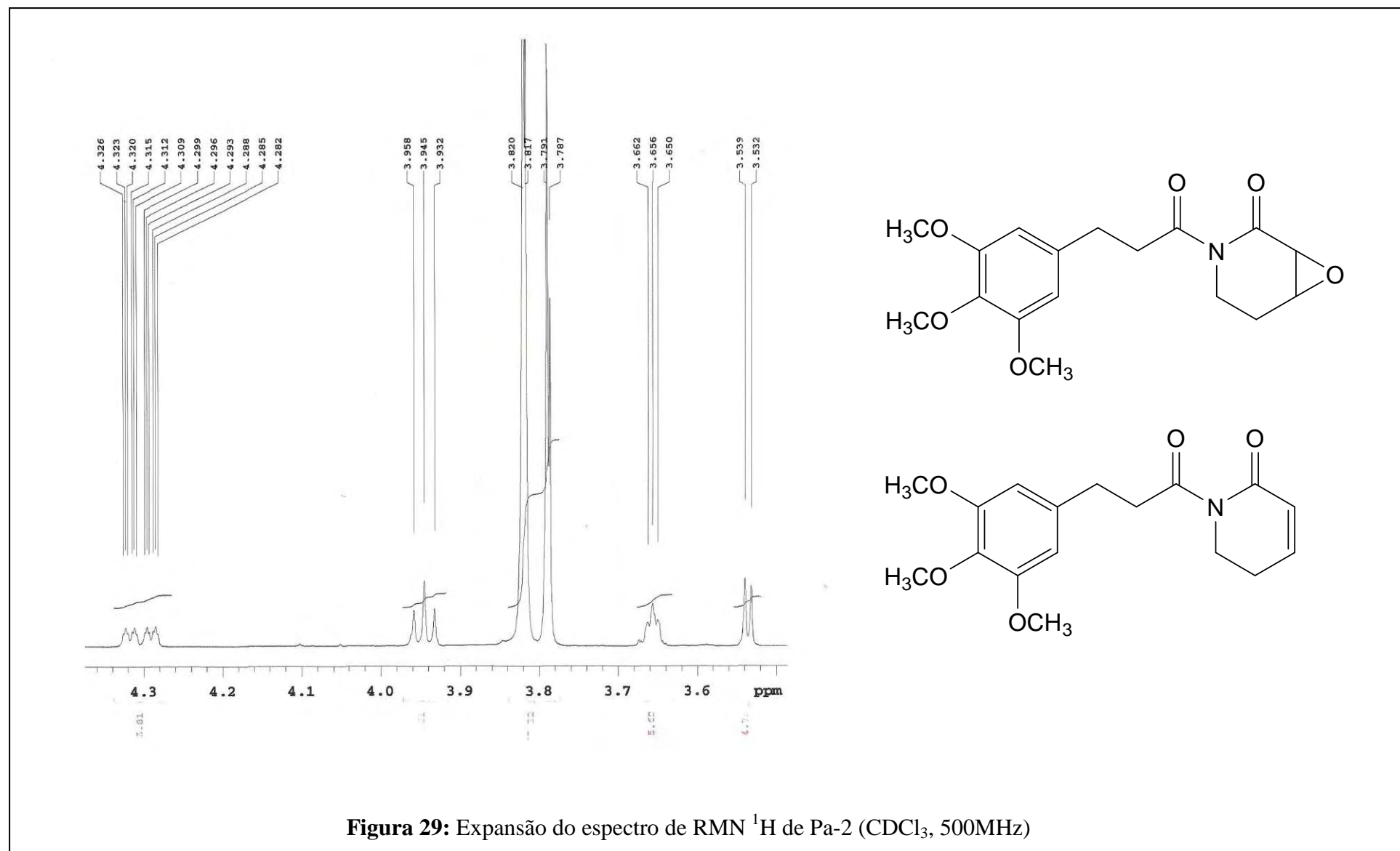


Figura 28: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz)



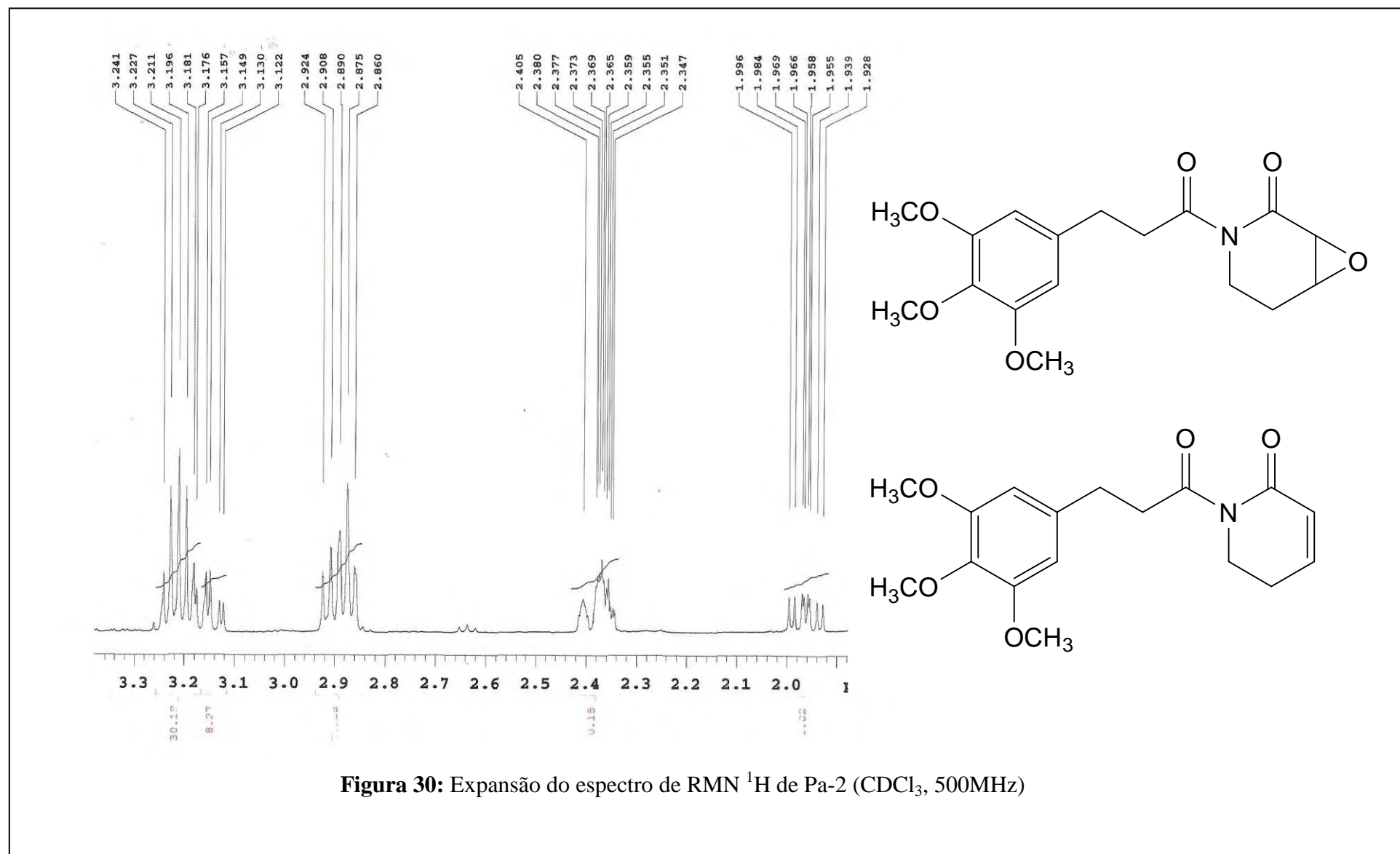
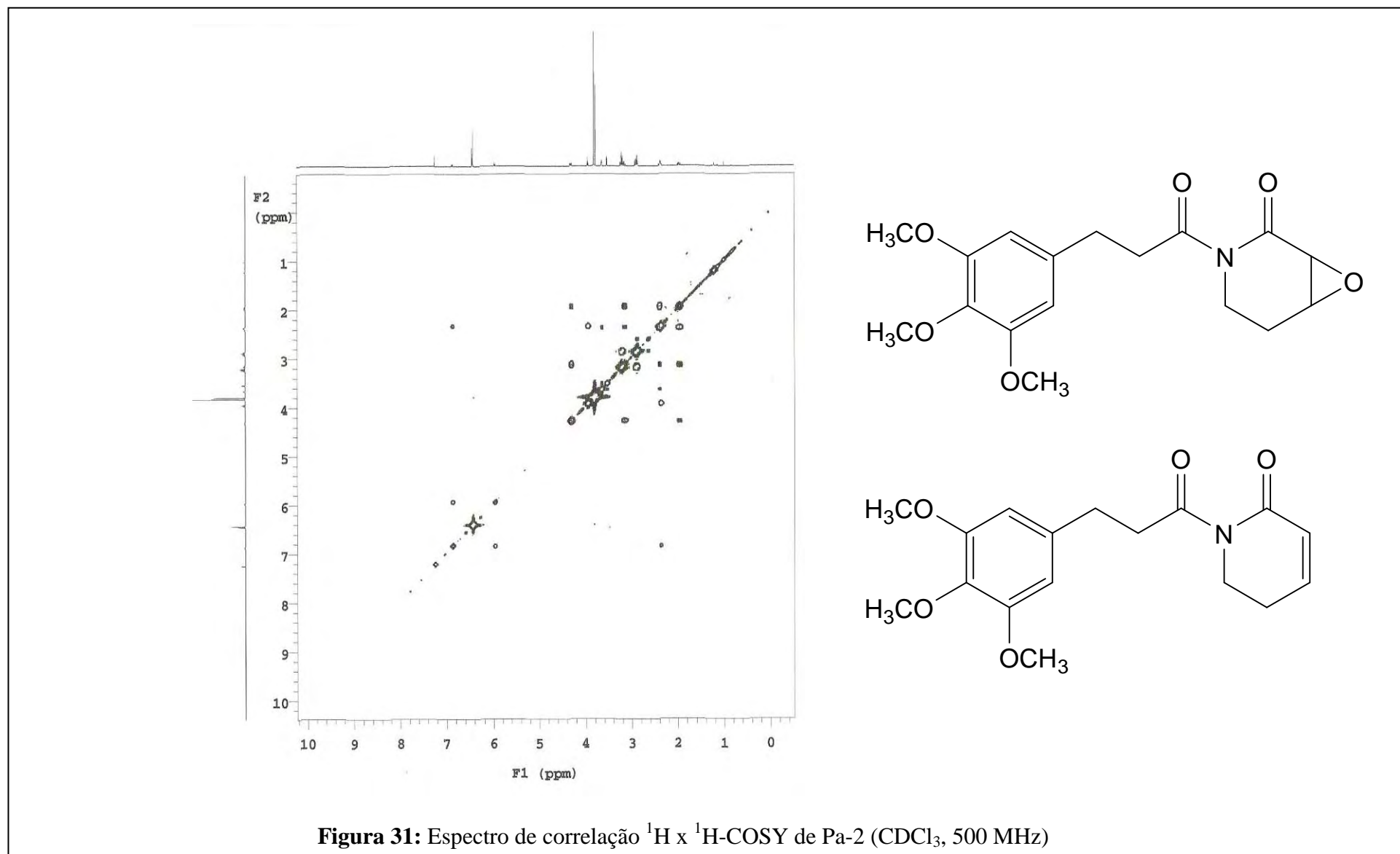


Figura 30: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-2 (CDCl_3 , 500MHz)



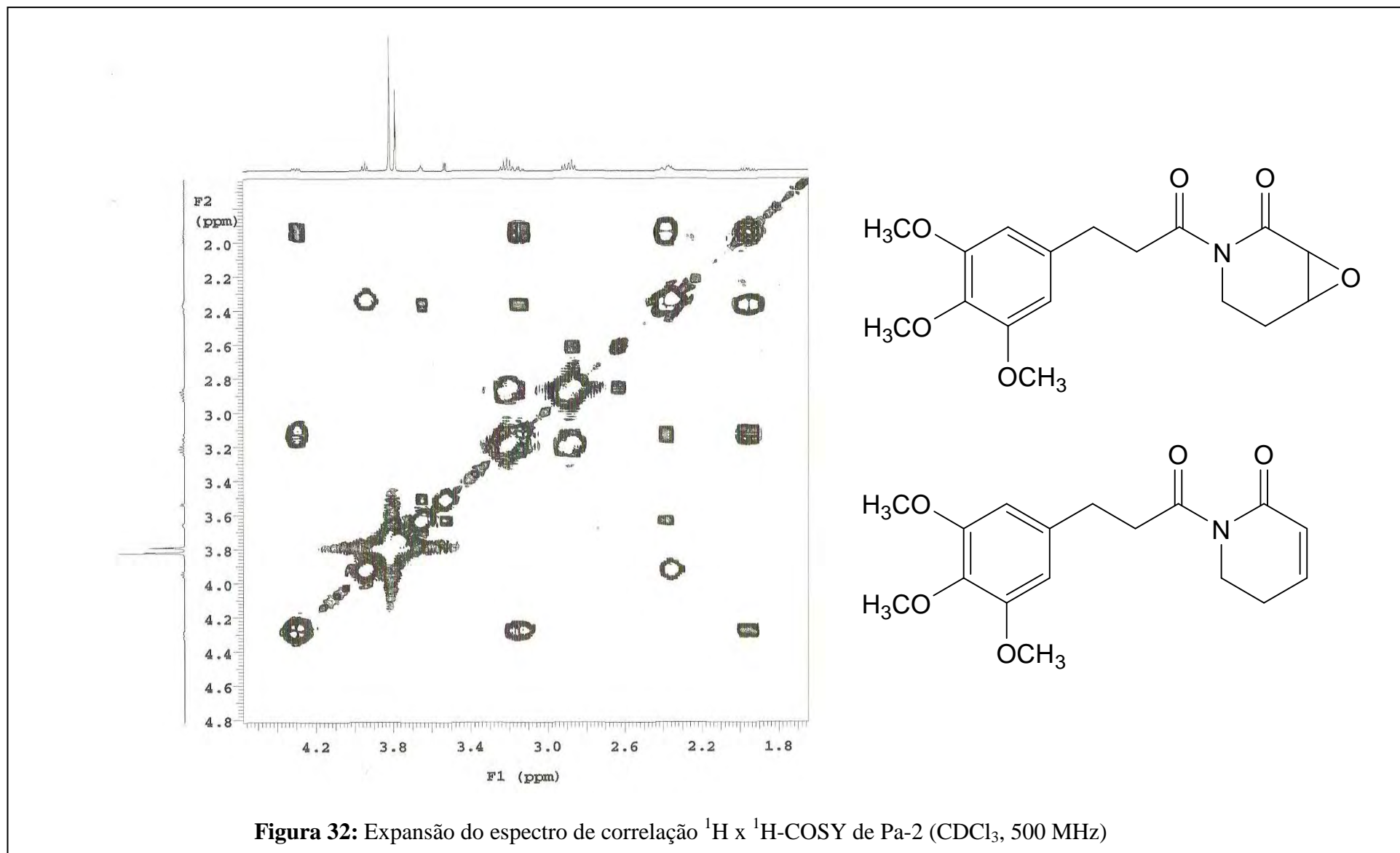
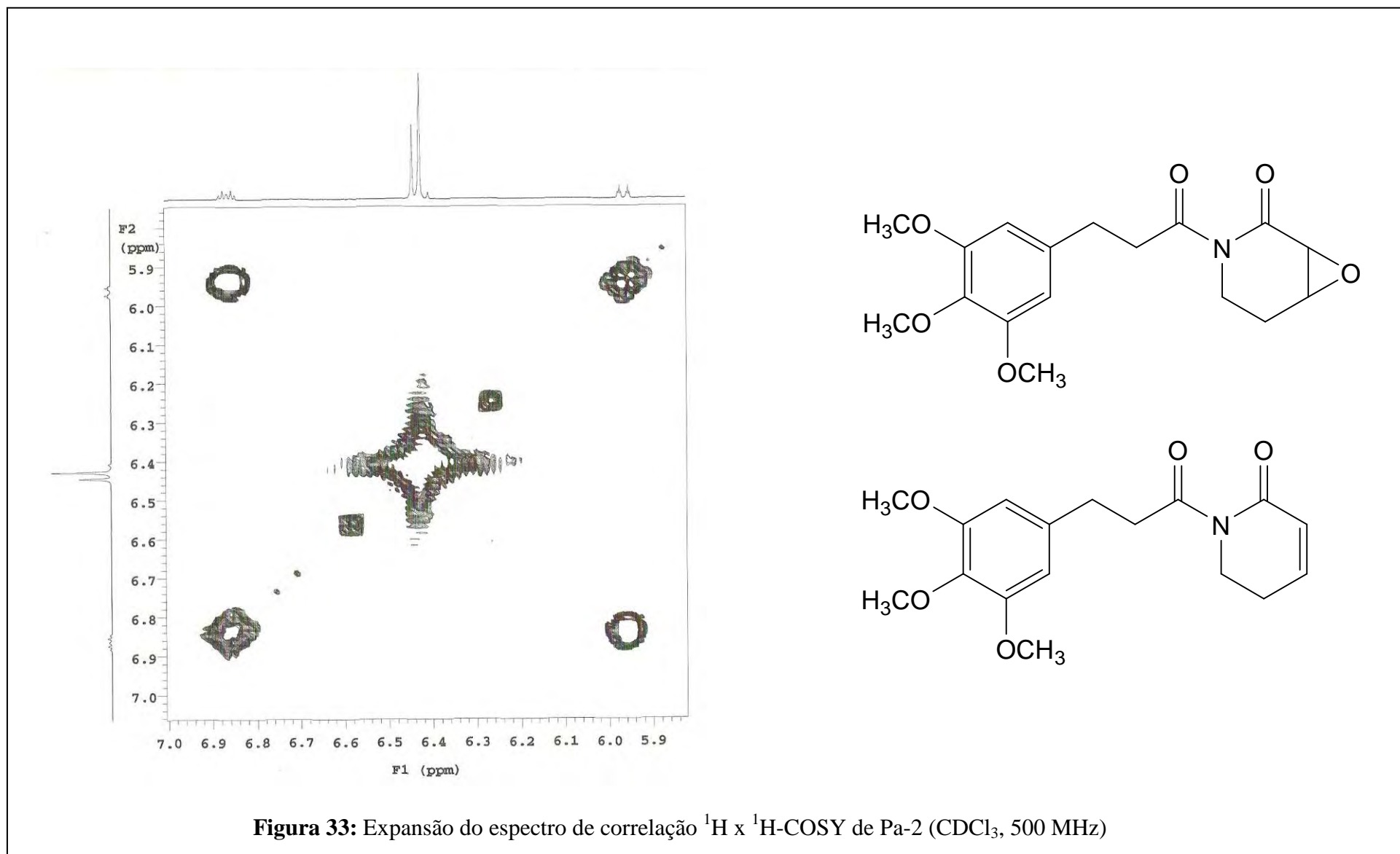


Figura 32: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz)



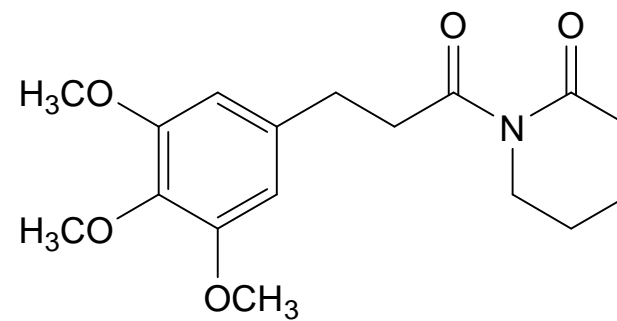
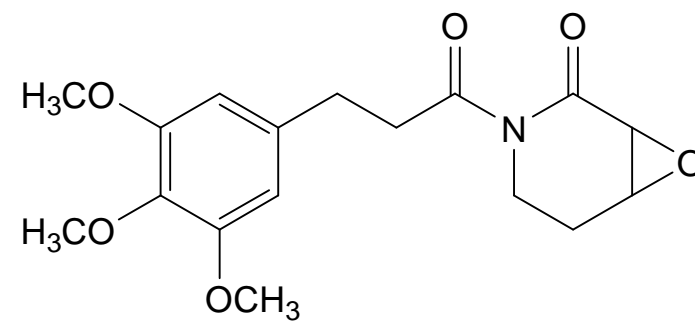
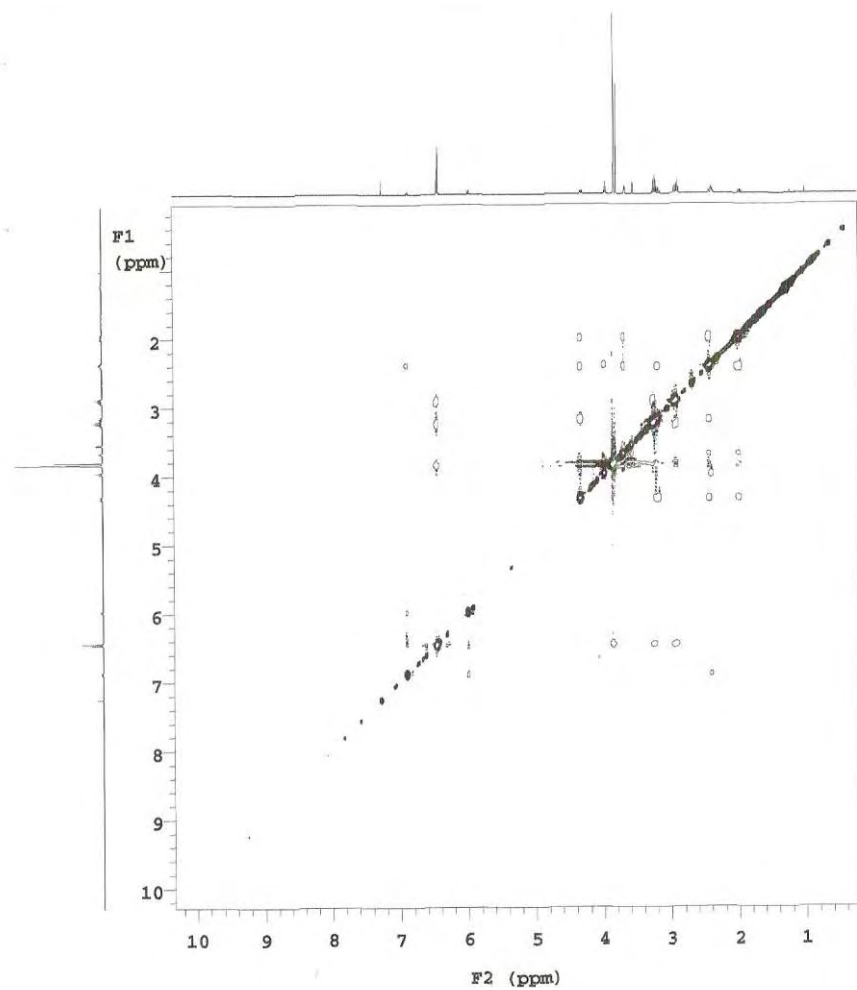
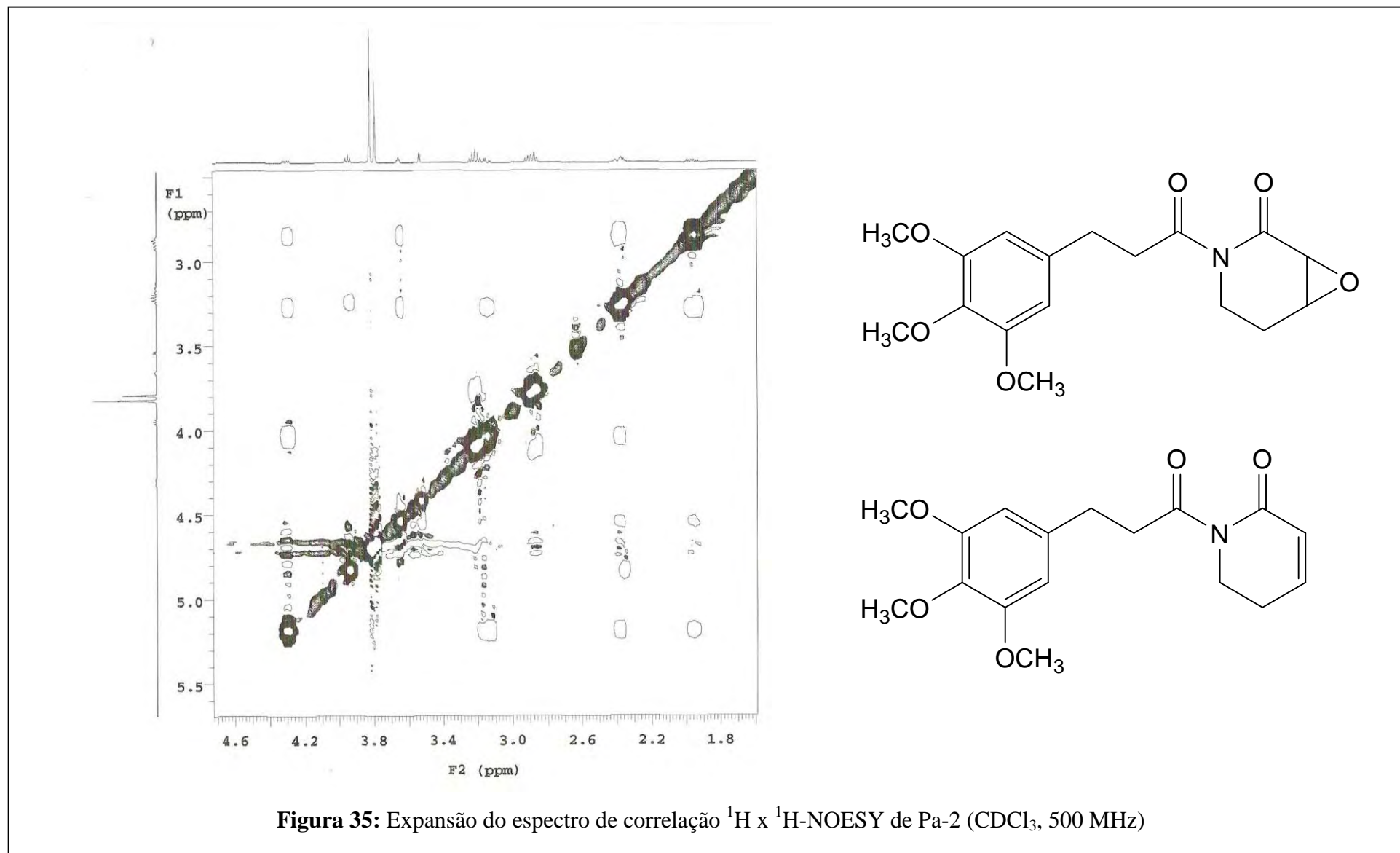
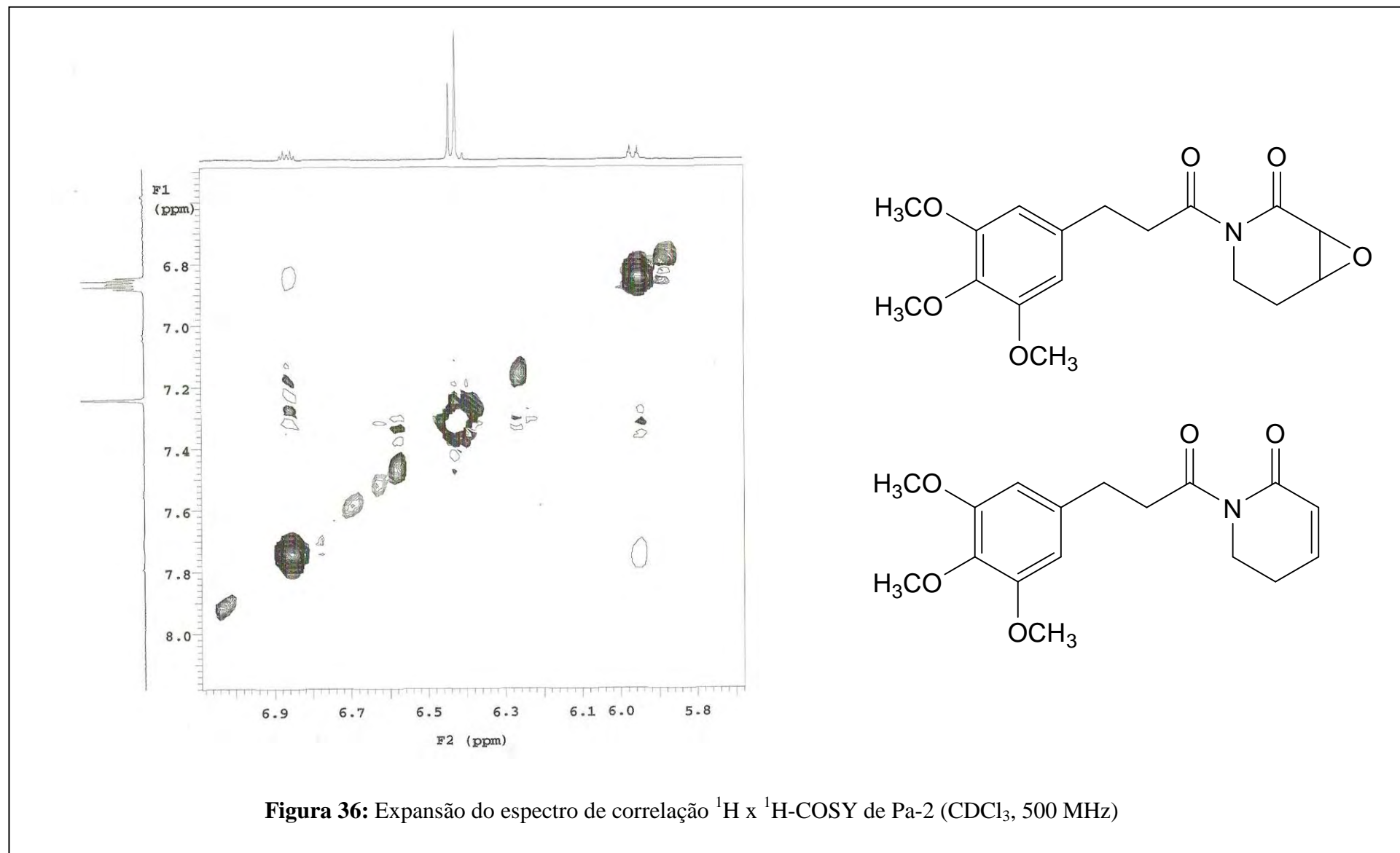
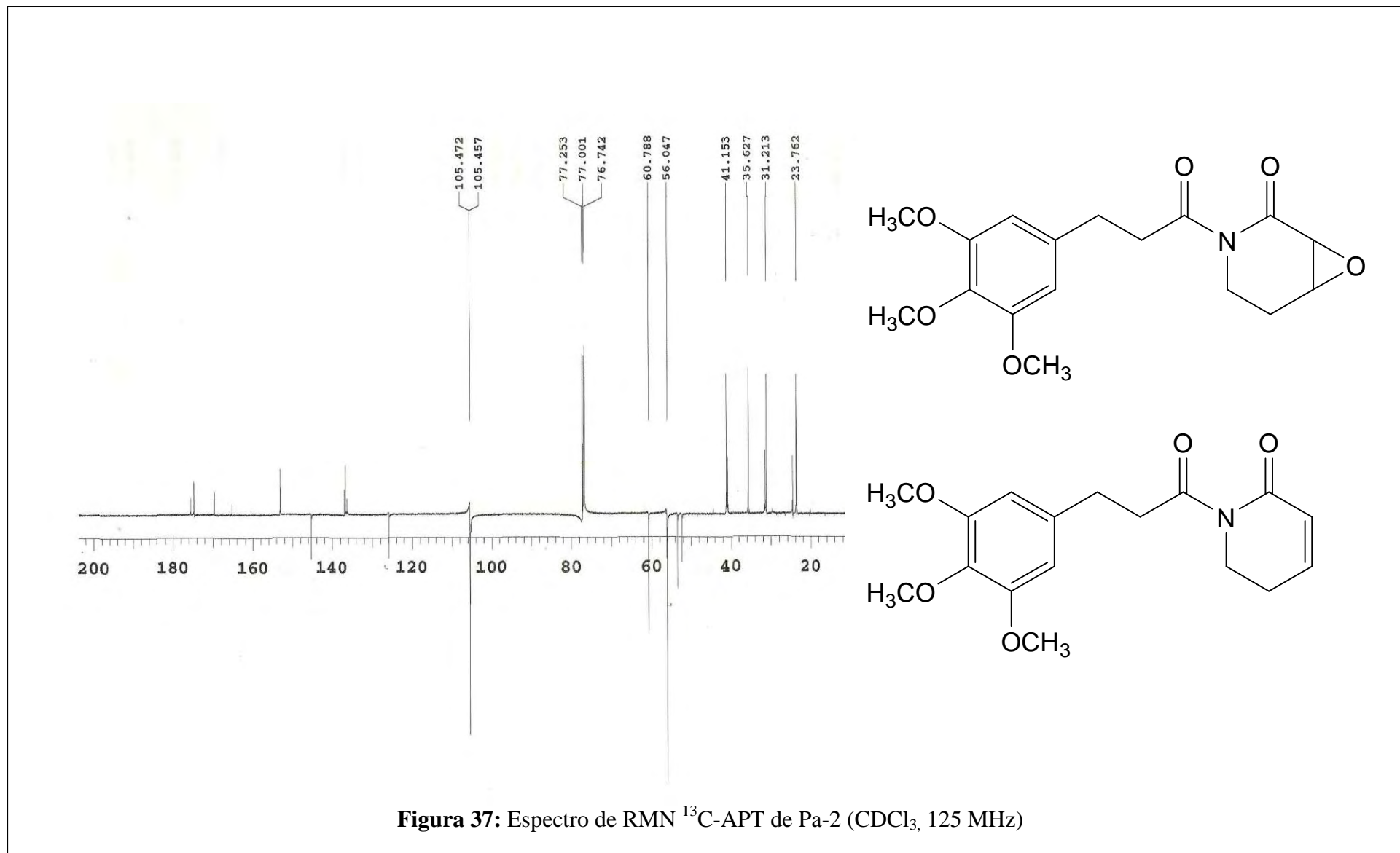


Figura 34: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de Pa-2 (CDCl_3 , 500 MHz)







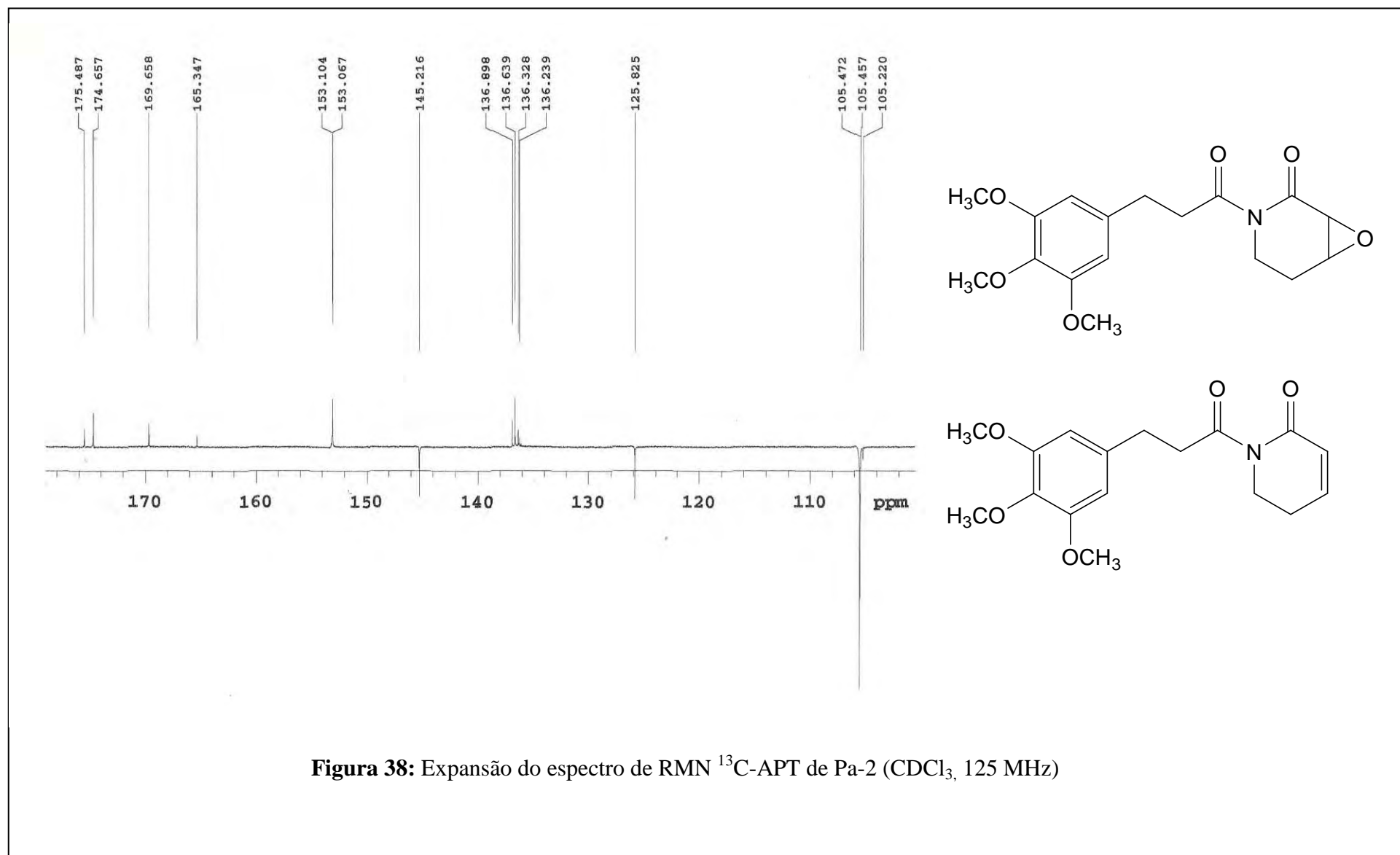


Figura 38: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Pa-2 (CDCl_3 , 125 MHz)

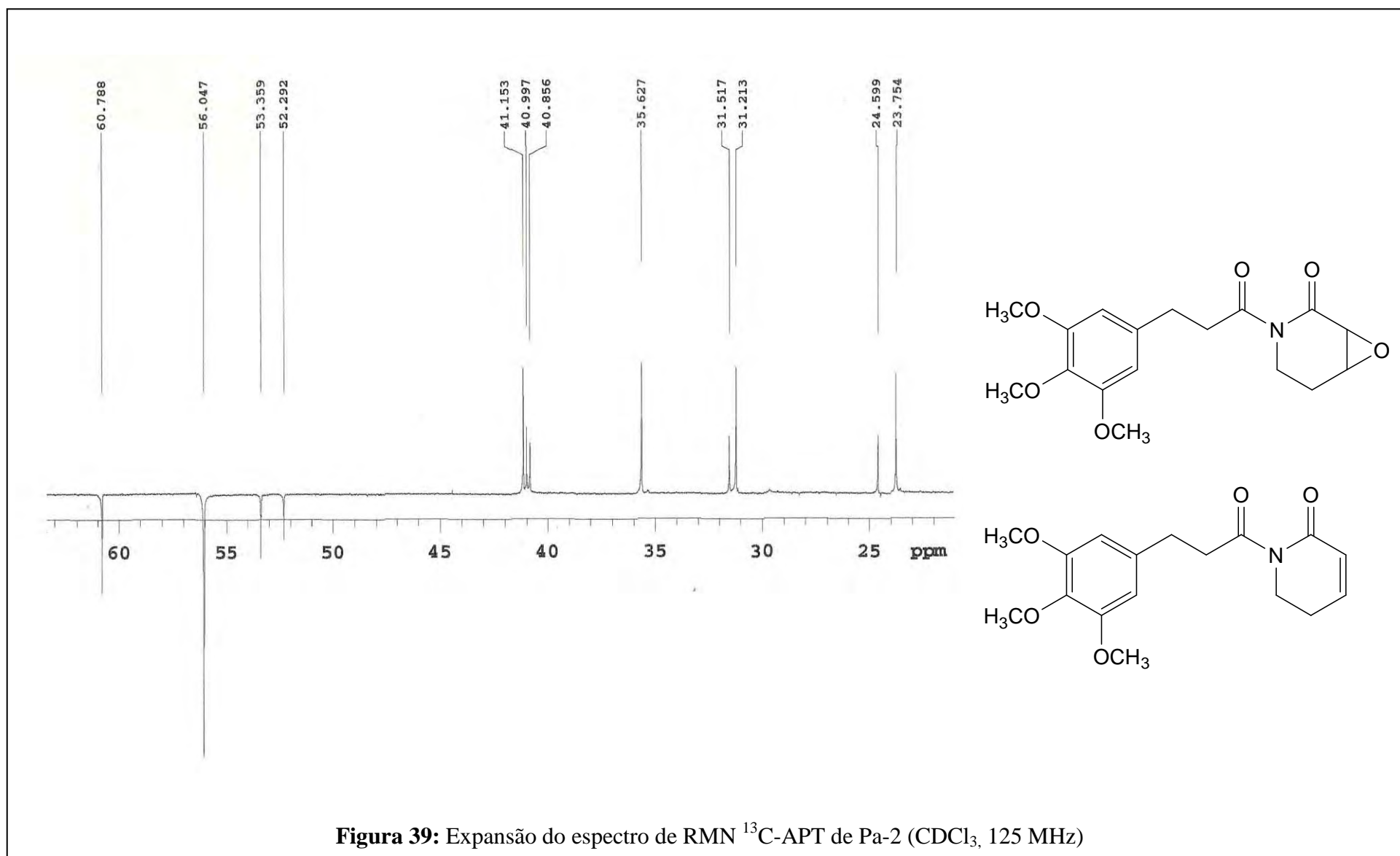
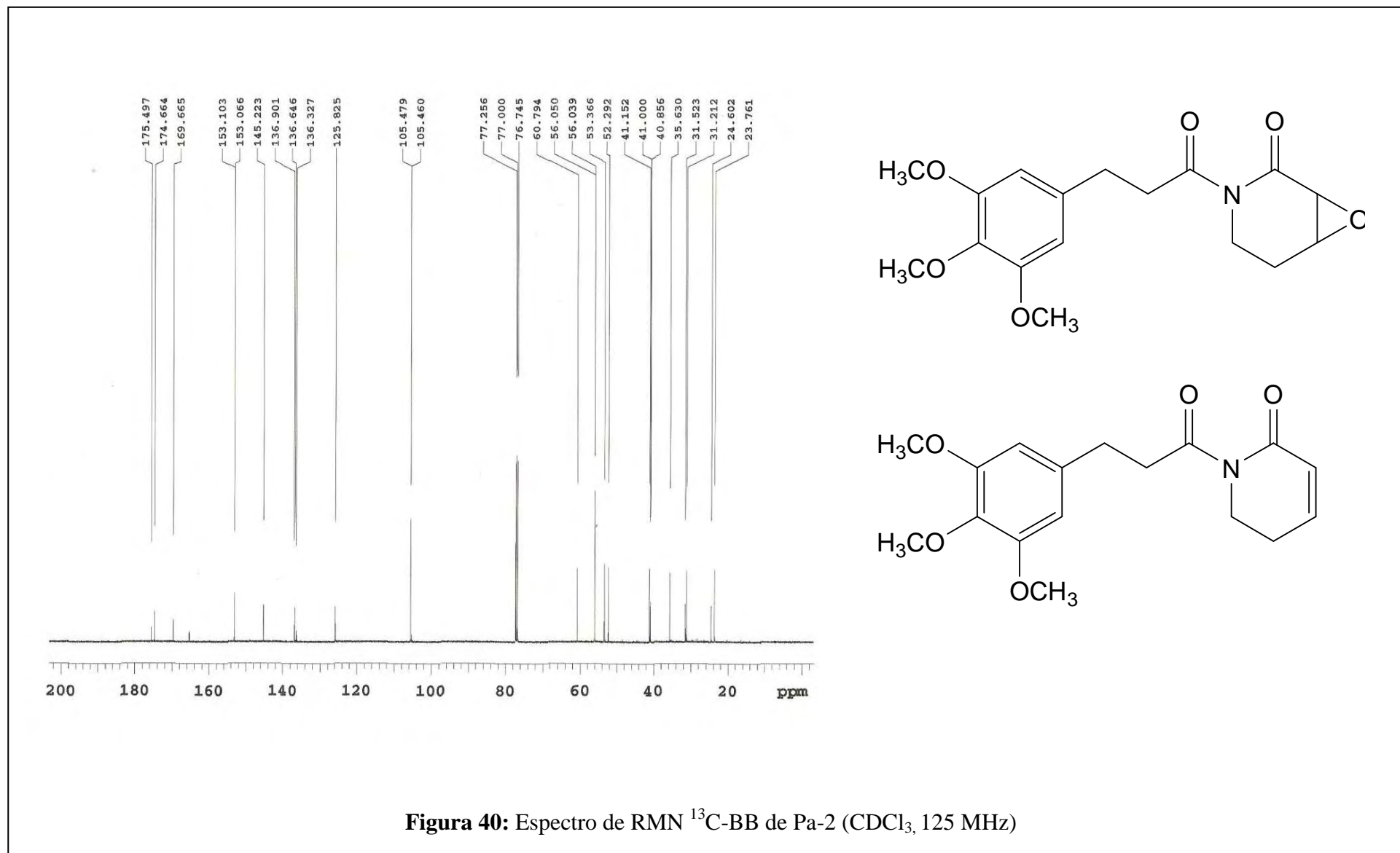


Figura 39: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Pa-2 (CDCl_3 , 125 MHz)



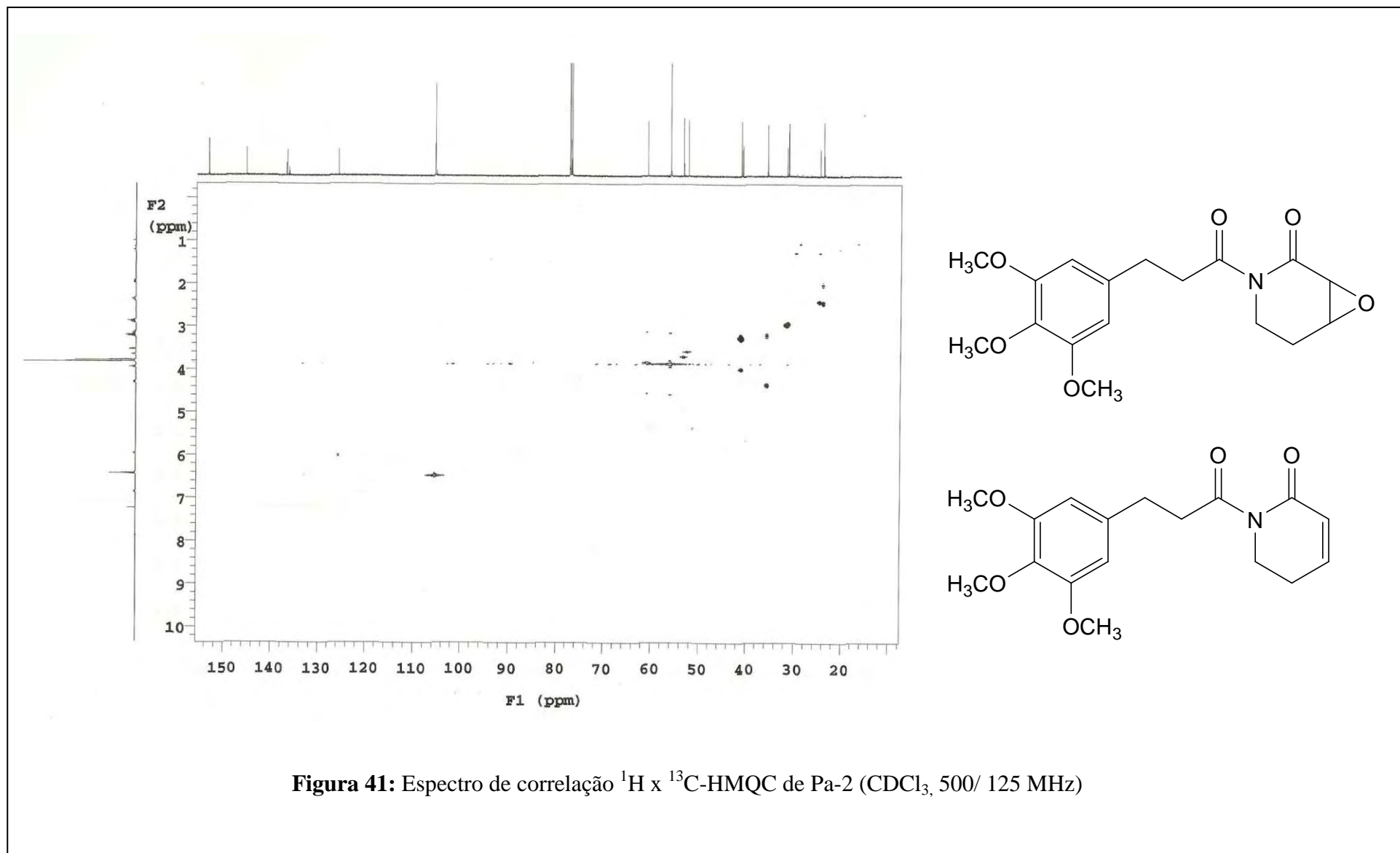


Figura 41: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMPC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

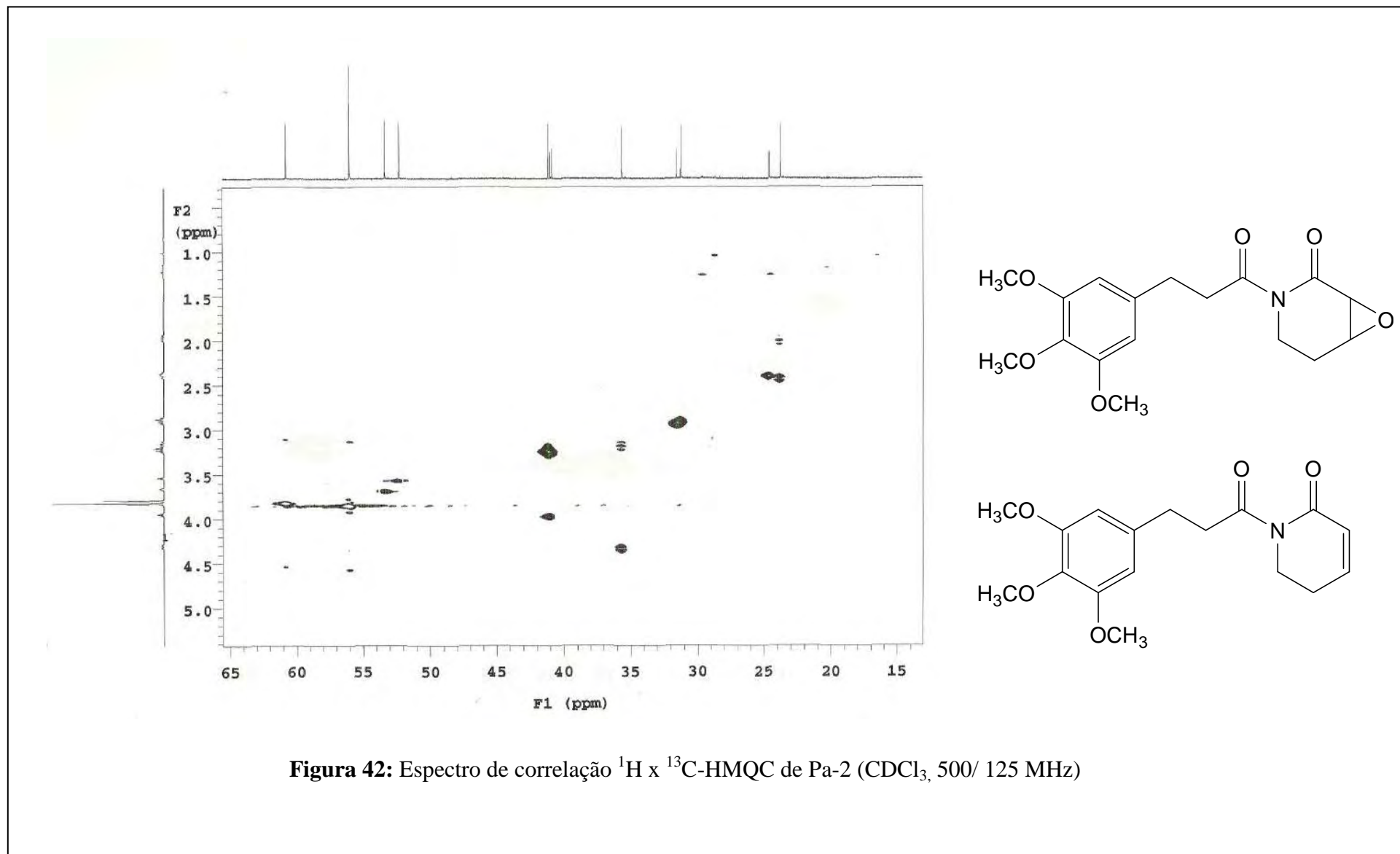
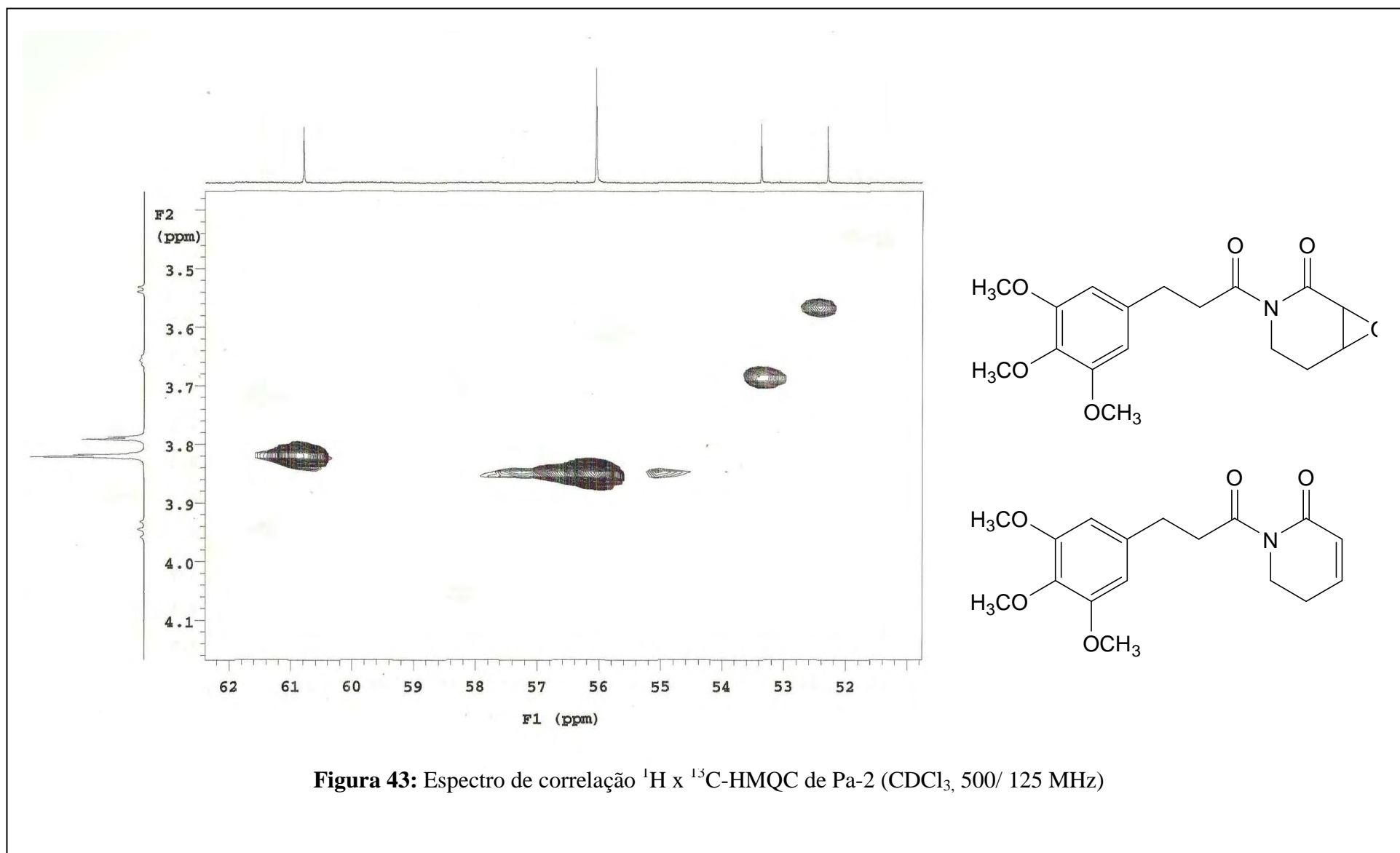
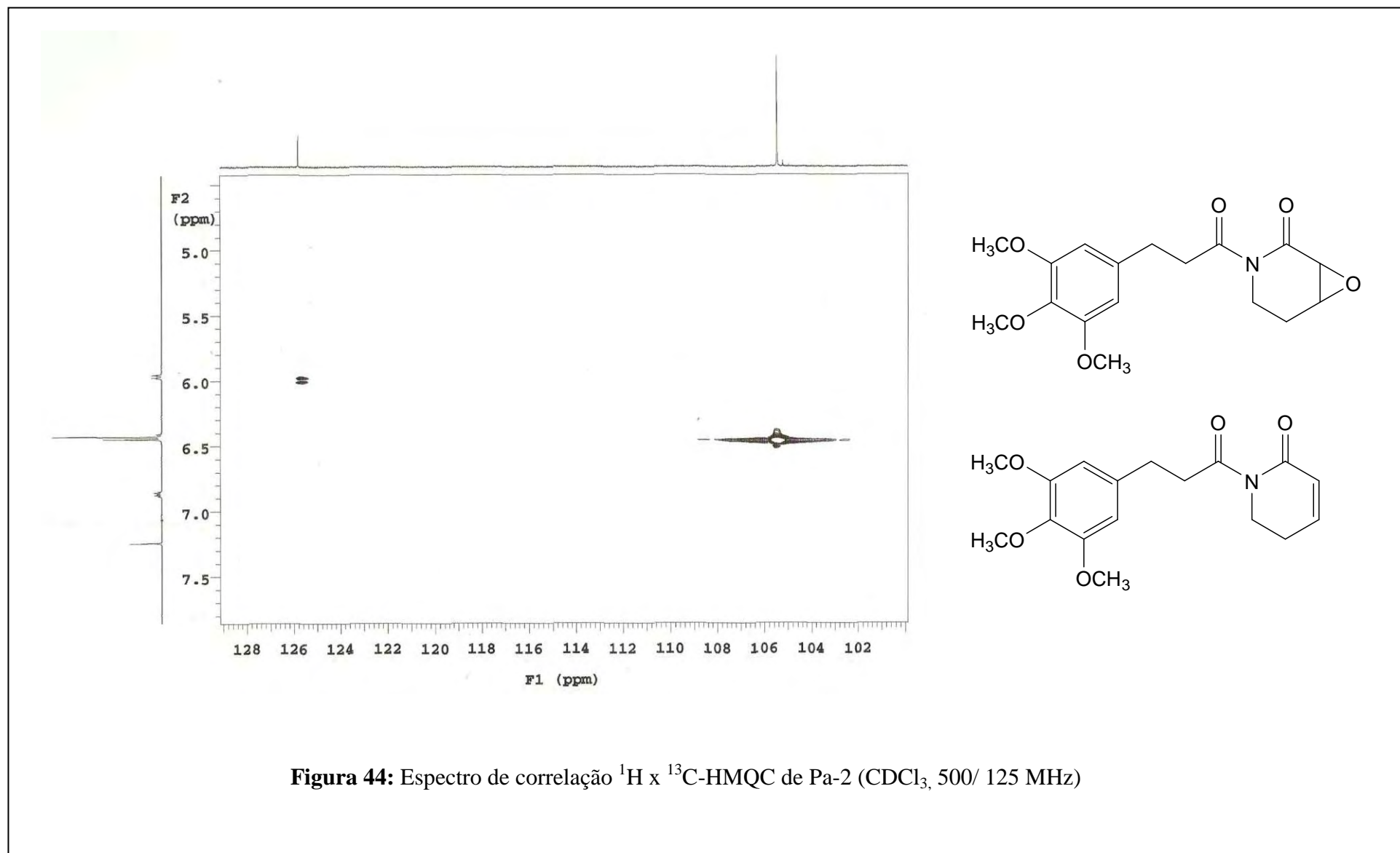


Figura 42: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)





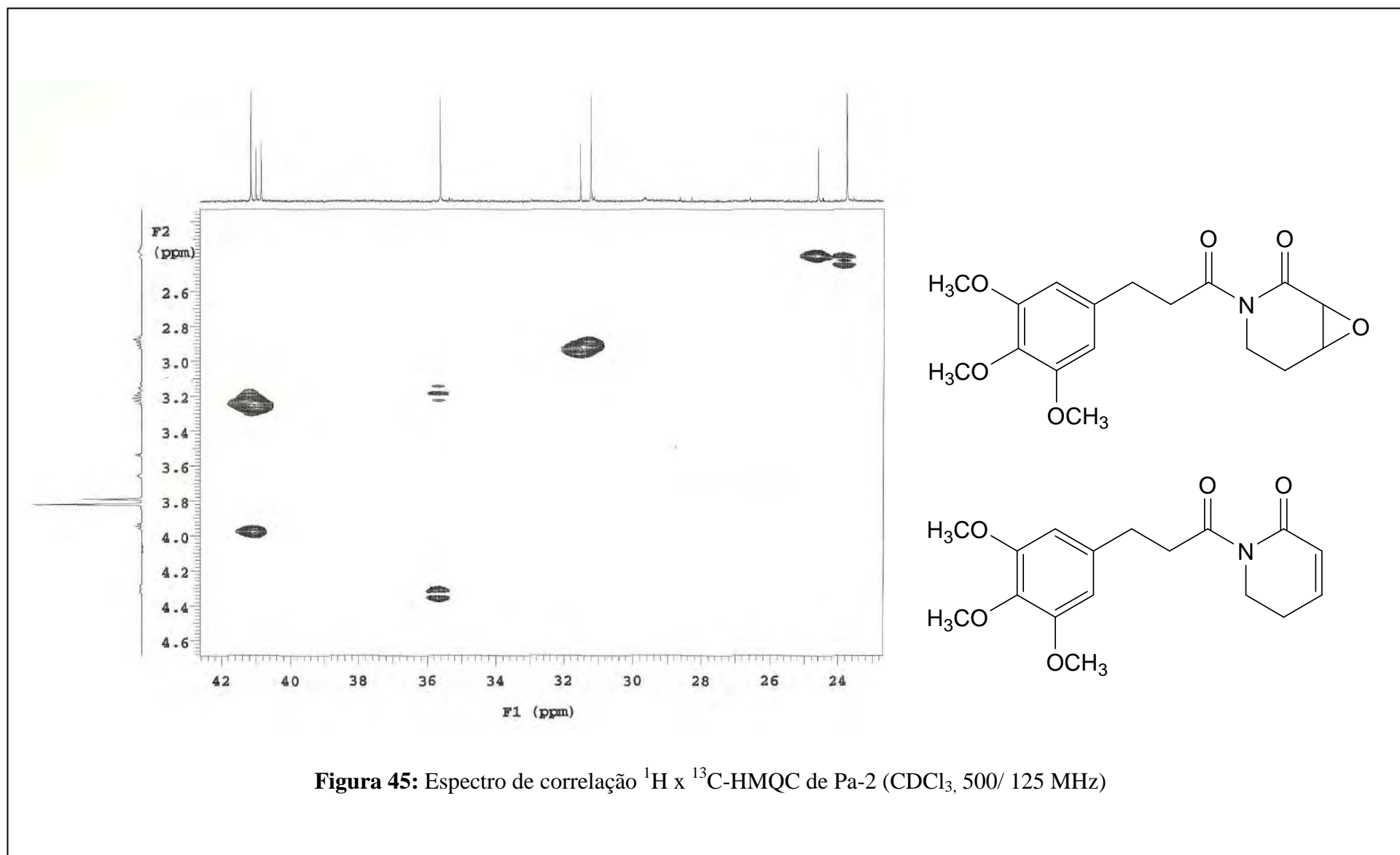


Figura 45: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

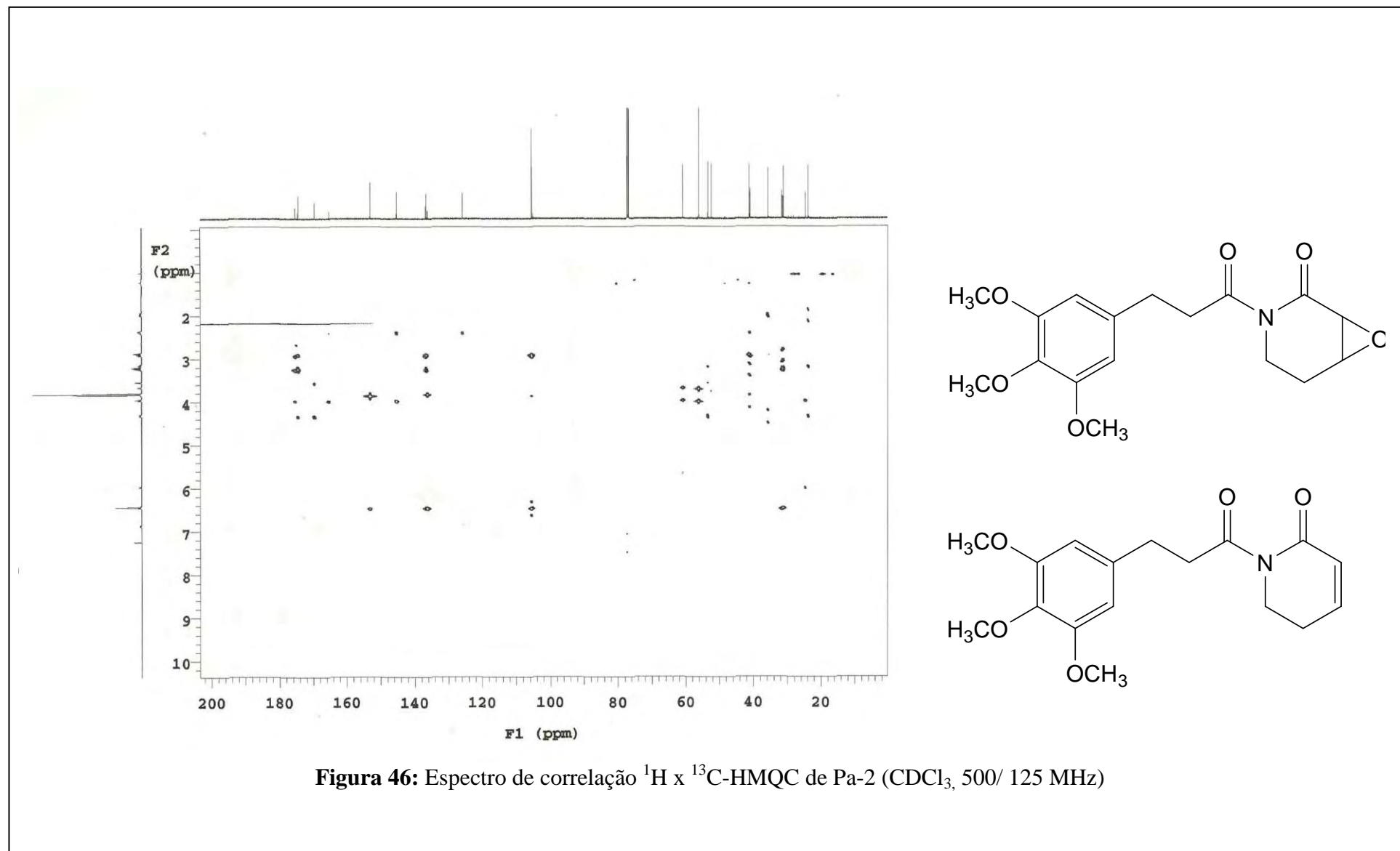


Figura 46: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

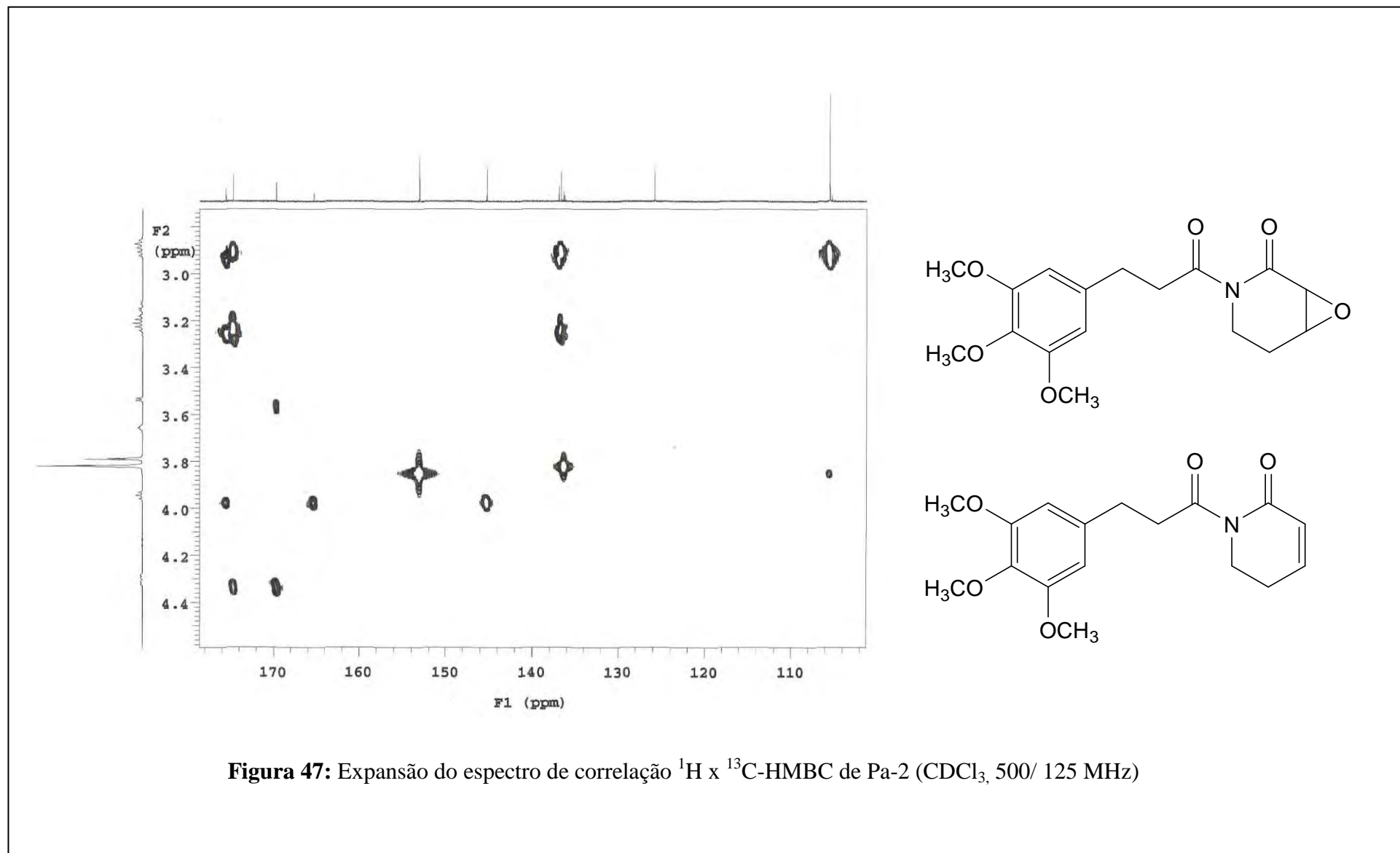
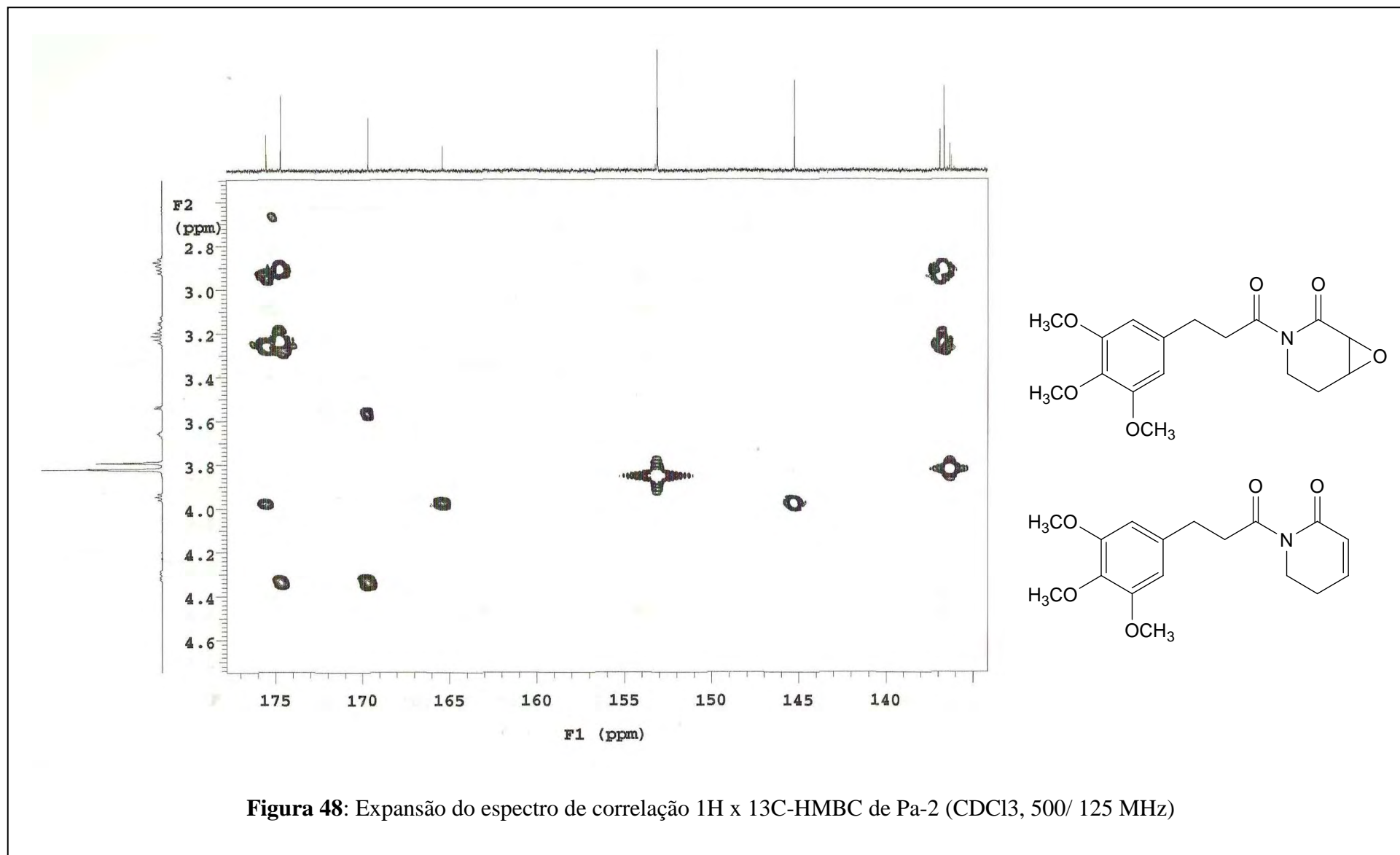
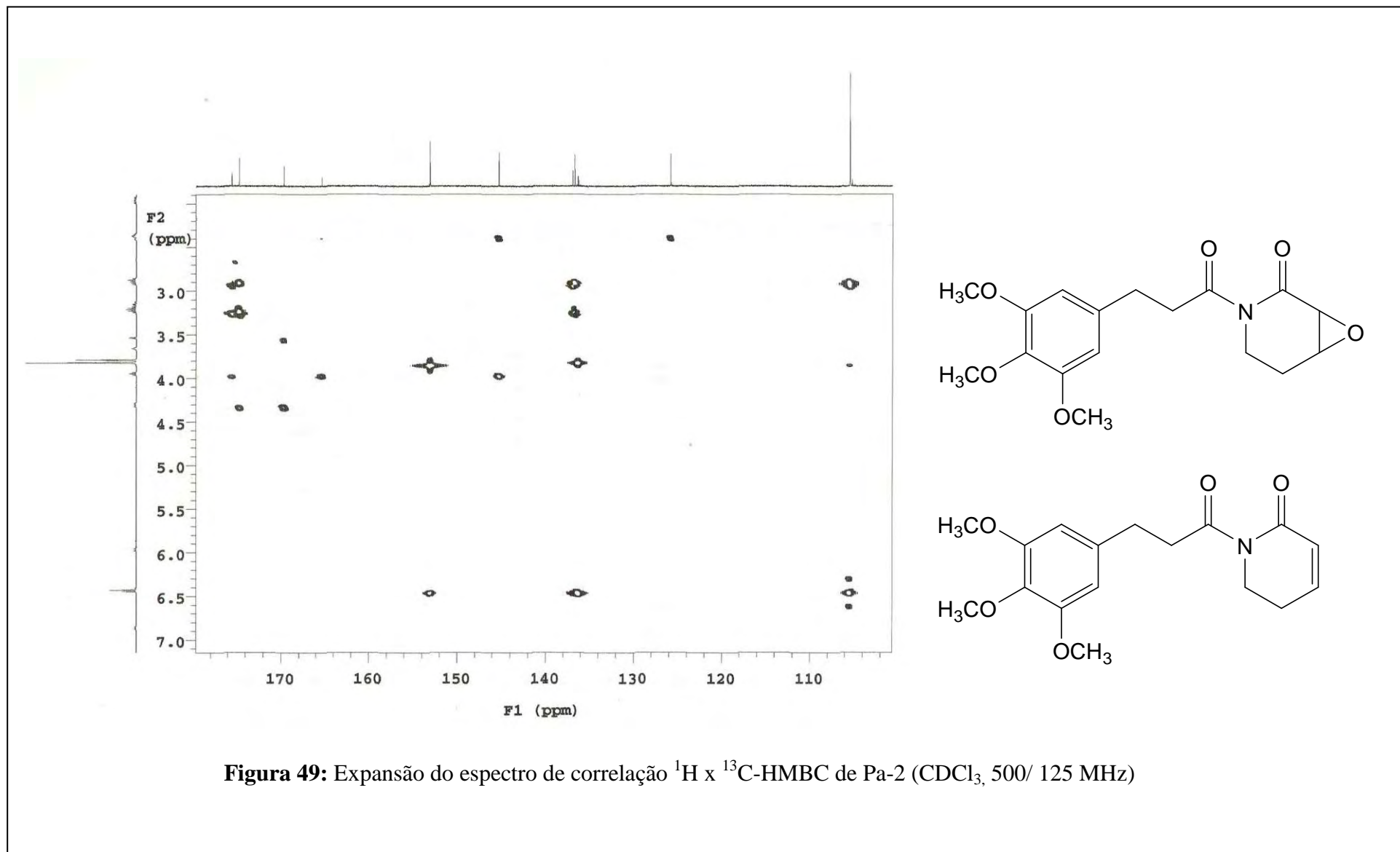


Figura 47: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)





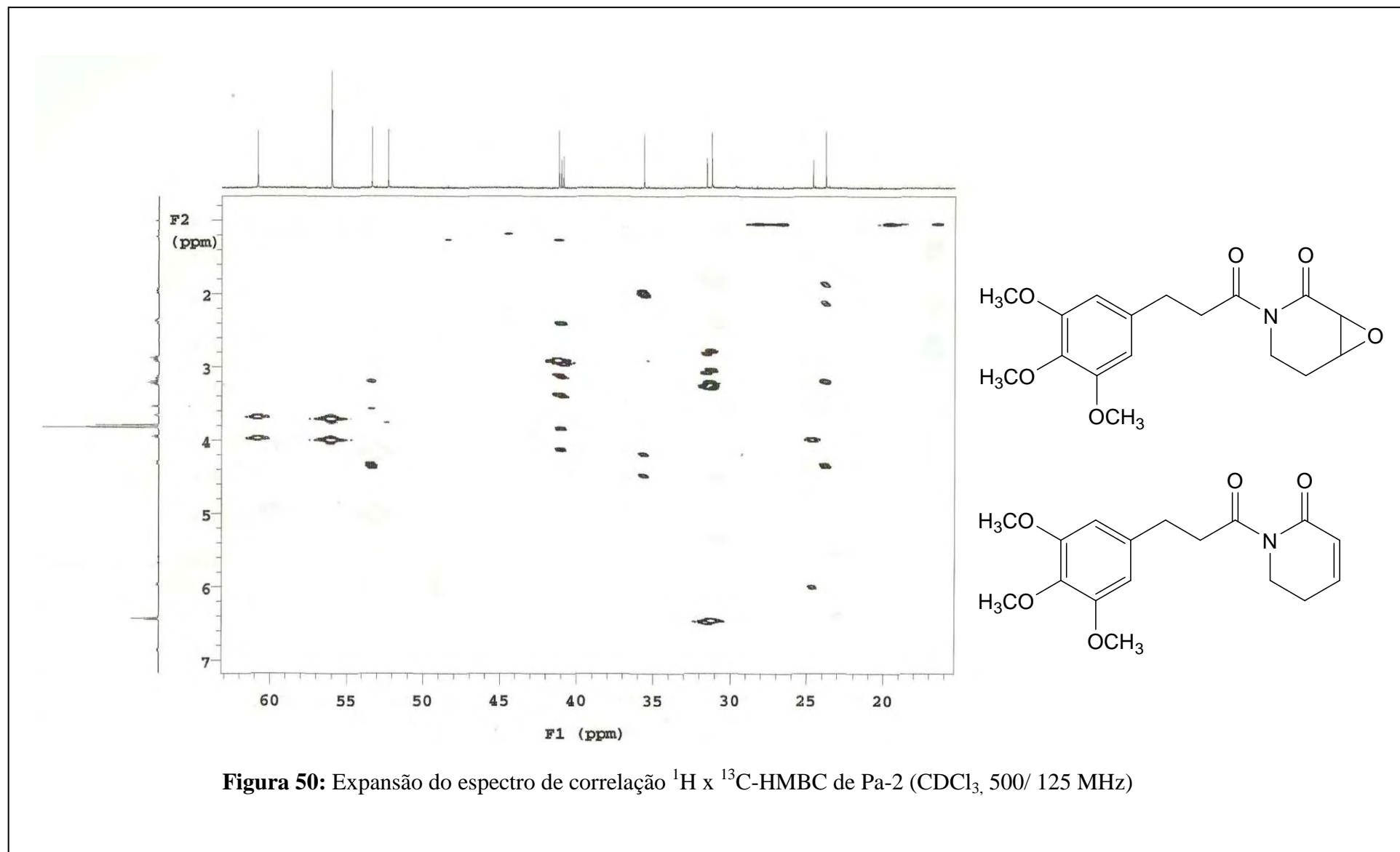
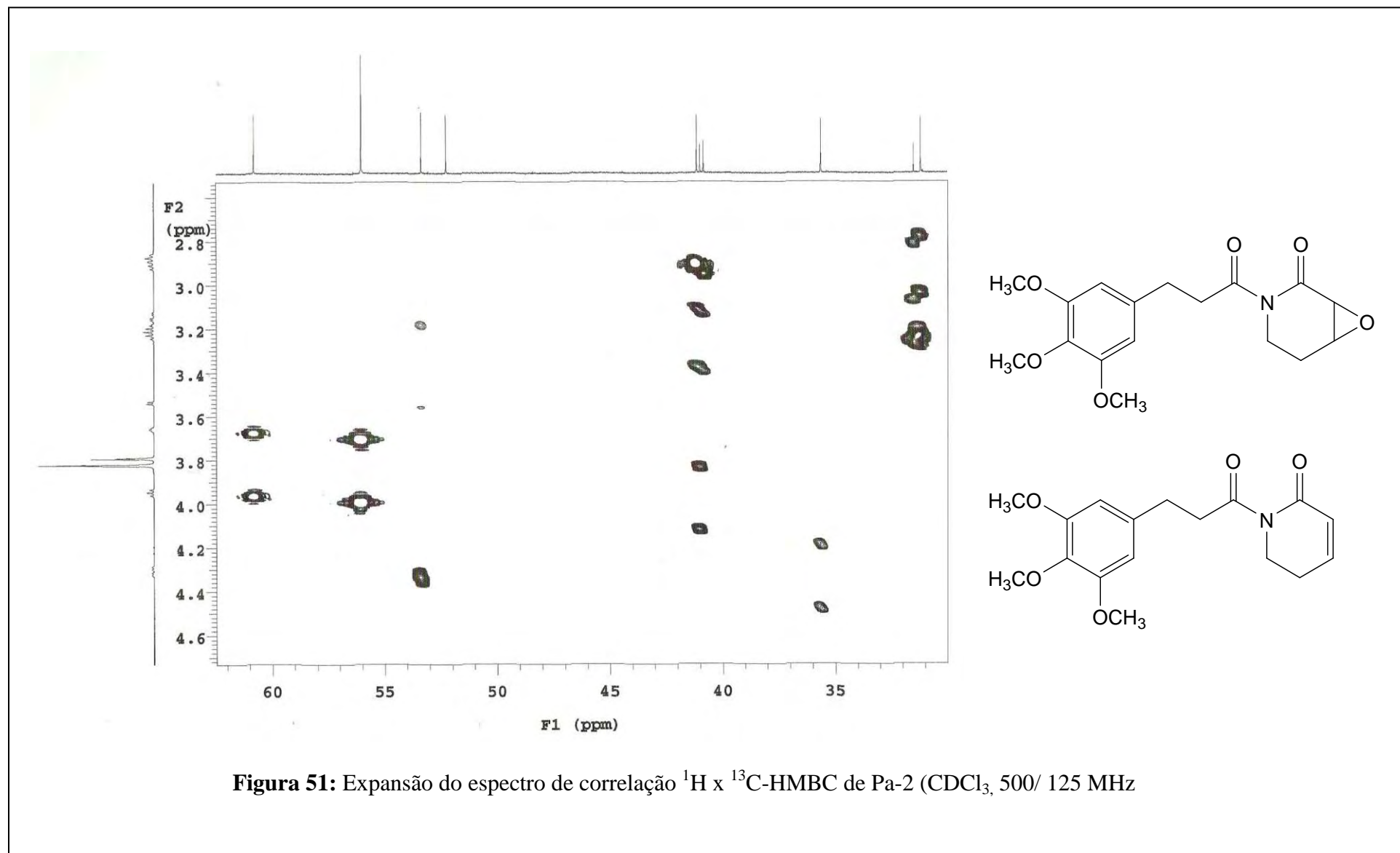


Figura 50: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-2 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)



5.1.3 Determinação estrutural de Pa-3

A substância Pa-3 foi isolada como cristais brancos com pf. 181.2-181.4°C. O espectro de IV (Figura 53, p. 128) mostrou a presença de grupo fenólico na molécula, através da absorção em 3439 cm^{-1} , enquanto que a absorção em 1674 cm^{-1} sugeriu carbonila de grupo amídico.

O espectro de RMN ^1H ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz) mostrou 4 sinais para 5 hidrogênios aromáticos em δ_{H} 9,28 (m, 1H), δ_{H} 7,92 (m, 1H), δ_{H} 7,52 (m, 2H) e δ_{H} 7,28 (s, 1H) (Figuras 54 e 55, p. 129 e 130) além de 3 sinais em: δ_{H} 4,49 (s, 3H), δ_{H} 3,95 (s, 3H) e δ_{H} 3,43 (s, 3H) (Figura 54, p. 129) característicos de hidrogênios de grupos metílicos ligados a heteroátomos. O espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz) mostrou as correlações δ_{H} 9,28 (m, 1H)/ δ_{H} 7,52 (m, 2H); δ_{H} 7,92 (m, 1H)/ δ_{H} 7,52 (m, 2H) (Figuras 56 e 57, p. 131 e 132).

O espectro de RMN ^{13}C -BB ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz) mostrou 17 sinais em: δ_{C} 166,02, δ_{C} 154,39, δ_{C} 153,61, δ_{C} 139,93, δ_{C} 137,46, δ_{C} 134,16, δ_{C} 129,36, δ_{C} 127,85, δ_{C} 126,78 (2C), δ_{C} 125,86, δ_{C} 125,83, δ_{C} 112,02, δ_{C} 105,82, δ_{C} 104,93, δ_{C} 62,93, δ_{C} 61,90 e δ_{C} 26,36 (Figuras 60, 61 e 62, p. 135, 136 e 137).

A soma dos dados apresentados permitiram sugerir para Pa-3 a estrutura de uma N-Metilaristolactama trissubstituída.

Os sinais em δ_{H} 9,28 (m, 1H) e δ_{H} 7,28 (s, 1H), vistos no espectro de RMN ^1H , foram atribuídos as posições 5 e 9 respectivamente, o primeiro por ser característico de H-5 em esqueletos de aristolactamas (CHEN et al., 2004) e o segundo por ser um sinal simples. As correlações observadas no espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz) δ_{H} 9,28 (m, 1H)/ δ_{H} 7,52 (m, 2H); δ_{H} 7,28 (s, 1H)/ δ_{H} 7,92 (m, 1H) e δ_{H} 7,92 (m, 1H)/ δ_{H} 7,52 (m, 2H) (Figuras 58 e 59, p. 133 e 134), permitiram sugerir δ_{H} 7,92 (1H) e δ_{H} 7,52 (2H) respectivamente para as posições 8 e 6,7. O sinal em δ_{H} 4,49 (s, 3H), foi sugerido para a posição 2 por ser esse carbono significativamente desprotegido pela carbonila do grupo lactâmico; enquanto que a absorção em δ 3,43 (s, 3H) foi atribuída aos hidrogênios do grupo N-Metil, por ter mostrado, no espectro NOESY ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500MHz) proximidade espacial com H-9, através da correlação δ_{H} 7,28 / δ_{H} 3,43 (Figura 58, p. 133).

O espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500/ 125 MHz) permitiu atribuir os sinais de carbonos hidrogenados (δ_{C} 127,85; δ_{C} 129,36; δ_{C} 125,86, δ_{C} 126,78 e δ_{C} 104,93) através das correlações: δ_{H} 9,28/ δ_{C} 127,85; δ_{H} 7,92/ δ_{C} 129,36; δ_{H} 7,52/ δ_{C} 125,86, δ_{C} 126,78 e δ_{H} 7,28/ δ_{C} 104,93 (Figura 64, p. 139). para as posições 5, 8, 6, 7 e 9; enquanto que os sinais de carbono da metila do grupo N-Metila e do grupo metoxílico da posição 2, foram atribuídos através das correlações δ_{H} 3,43/ δ_{C} 26,36 e δ_{H} 4,49/ δ_{C} 62,93 (Figura 65, p. 140)., vistas no mesmo espectro e a metoxila com sinal de hidrogênio em δ_{H} 3,95 mostrou correlação com o sinal em δ_{C} 61,90.

O espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500/125 MHz) (Figura 72 a 74, p. 147-149) mostrou as seguintes correlações: δ_{H} 3,95/ δ_{C} 139,93; δ_{H} 4,49/ δ_{C} 154,39; δ_{H} 3,43/ δ_{C} 166,02, δ_{C} 137,46 (Figura 67, p. 142) que permitiram atribuir inequivocamente δ_{C} 166,02; δ_{C} 137,46; δ_{C} 154,39 e δ_{C} 139,93 para C=O, C-10, C-2 e C-3, respectivamente; enquanto que as correlações de δ_{H} 7,28/ δ_{C} 137,46; δ_{C} 129,36; δ_{C} 127,85 e δ_{C} 125,83 (Figura 68, p. 143) permitiram confirmar as atribuições de δ_{C} 137,46 e δ_{C} 129,36 para as posições 10 e 8 respectivamente e sugerir δ_{C} 125,83 e δ_{C} 127,85 (2C) para as posições 10a e 4b. Finalmente as correlações δ_{H} 9,28/ δ_{C} 134,16 e δ_{C} 126,78 (Figura 68, p. 143) permitiram confirmar δ_{C} 126,78 para a posição 7 e sugerir δ_{C} 134,16 para a posição 8a. Os demais sinais vistos no espectro de RMN ^{13}C δ_{C} : 153,61; 112,02 e 105,82 foram atribuídos, respectivamente para C-4, 4a e 1, o primeiro por ser o carbono 4 ligado a hidroxila e os dois últimos pela semelhança com dados da literatura (CHEN et al., 2003) (Tabela 12, p. 127).

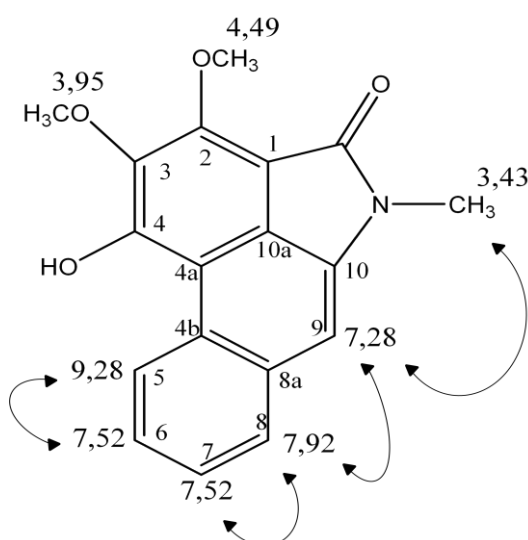


Figura 52: Correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY

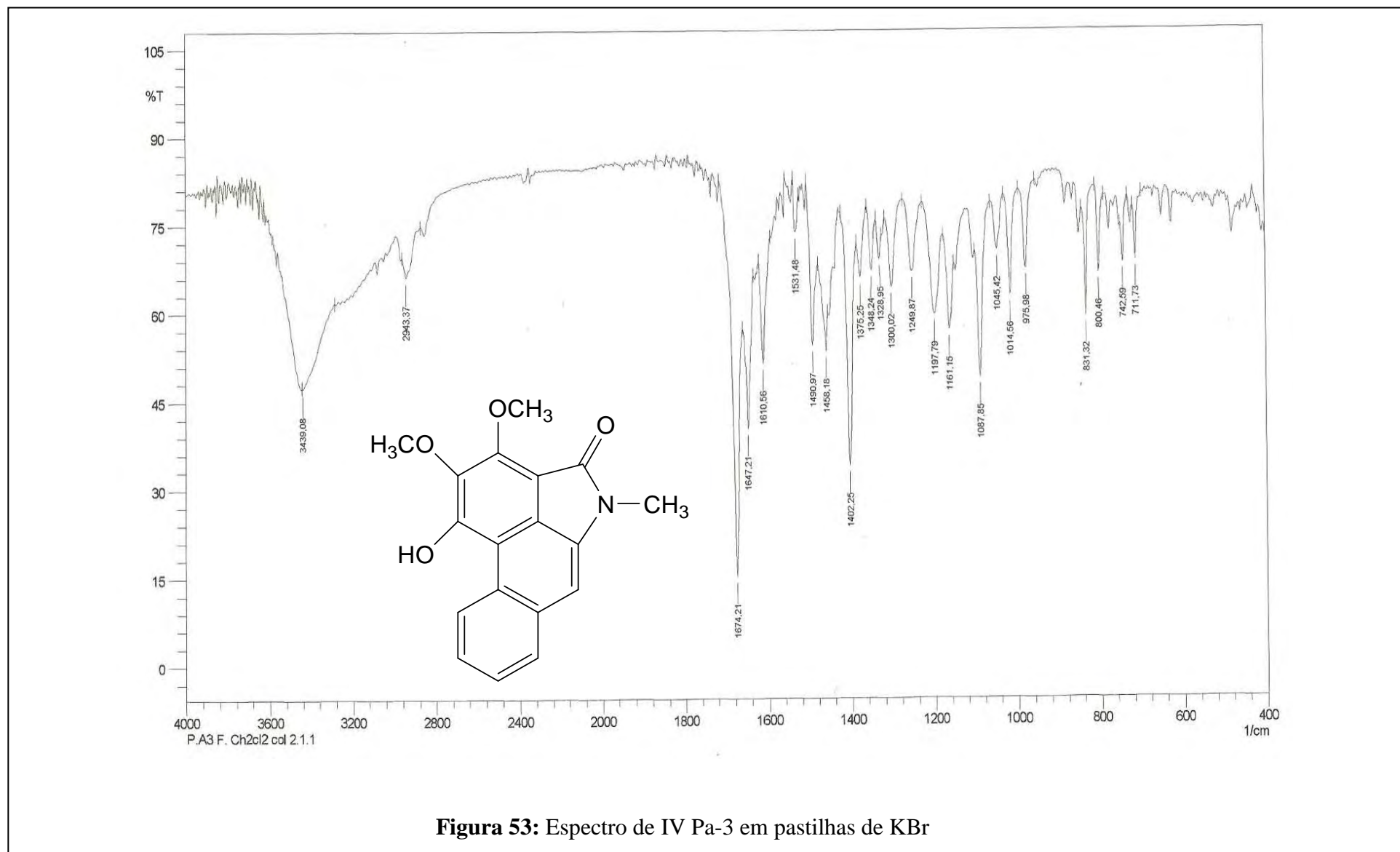
Os dados estudados e a comparação com a literatura (Tabelas 11 e 12) permitiram sugerir que Pa-3 trata-se de 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama, também denominada de Piperlactama E, isolada pela primeira vez na espécie *Piper arboreum* e anteriormente em *Piper augustum* (WILMAN et al., 1998) e *Piper taiwanense* (CHEN et al., 2004).

Tabela 11: Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlação entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMBC) de Pa-3 registrados em $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$.

Posição	HMQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J
1		105,82		
2		154,39		
3		139,93		
4		153,61		
4a		112,02		
4b		126,78		
5	9,28 (m, 1H)	127,85		C-7; C-8a
6	7,52 (m, 2H)	125,86	C-5	C-4b
7	7,52 (m, 2H)	126,78		
8	7,92 (m, 1H)	129,36		C-6
8a		134,16		
9	7,28 (s, 1H)	104,93	C-10	C-4b; C-8; C-10a
10		137,46		
10a		125,83		
C=O		166,02		
2-OMe	4,49 (s, 3H)	62,93		C-2
3-OMe	3,95 (s, 3H)	61,90		C-3
N-Me	3,43 (s, 3H)	26,36		C-10; C=O

Tabela 12: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-3 com modelo encontrado na literatura (CHEN, et al., 2004).

Posição	Pa-1 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)		Modelo-Literatura (CDCl_3)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	105,82		105,3	
2	154,39		152,3	
3	139,93		138,2	
4	153,61		152,3	
4a	112,02		110,81	
4b	127,85		126,9	
5	127,85	9,28 (m, 1H)	127,1	9,18 (m, 1H)
6	125,86	7,52 (m, 2H)	125,5	7,58 (td, J=7,2 e 2,0 Hz, 1H)
7	126,78	7,52 (m, 2H)	126,2	7,55 (td, J=7,2 e 2,0 Hz, 1H)
8	129,36	7,92 (m, 1H)	128,4	7,87 (m, 1H)
8a	134,16		132,9	
9	104,93	7,28 (s, 1H)	104,6	7,14 (s, 1H)
10	137,46		136,3	
10a	125,83		125,1	
C=O	166,02		165,9	
2-Me	62,93	4,49 (s, 3H)	62,9	4,56 (s, 3H)
3-Me	61,90	3,95 (s, 3H)	61,9	4,06 (s, 3H)
N-Me	26,36	3,43 (s, 3H)	26,4	3,50 (s,3H)



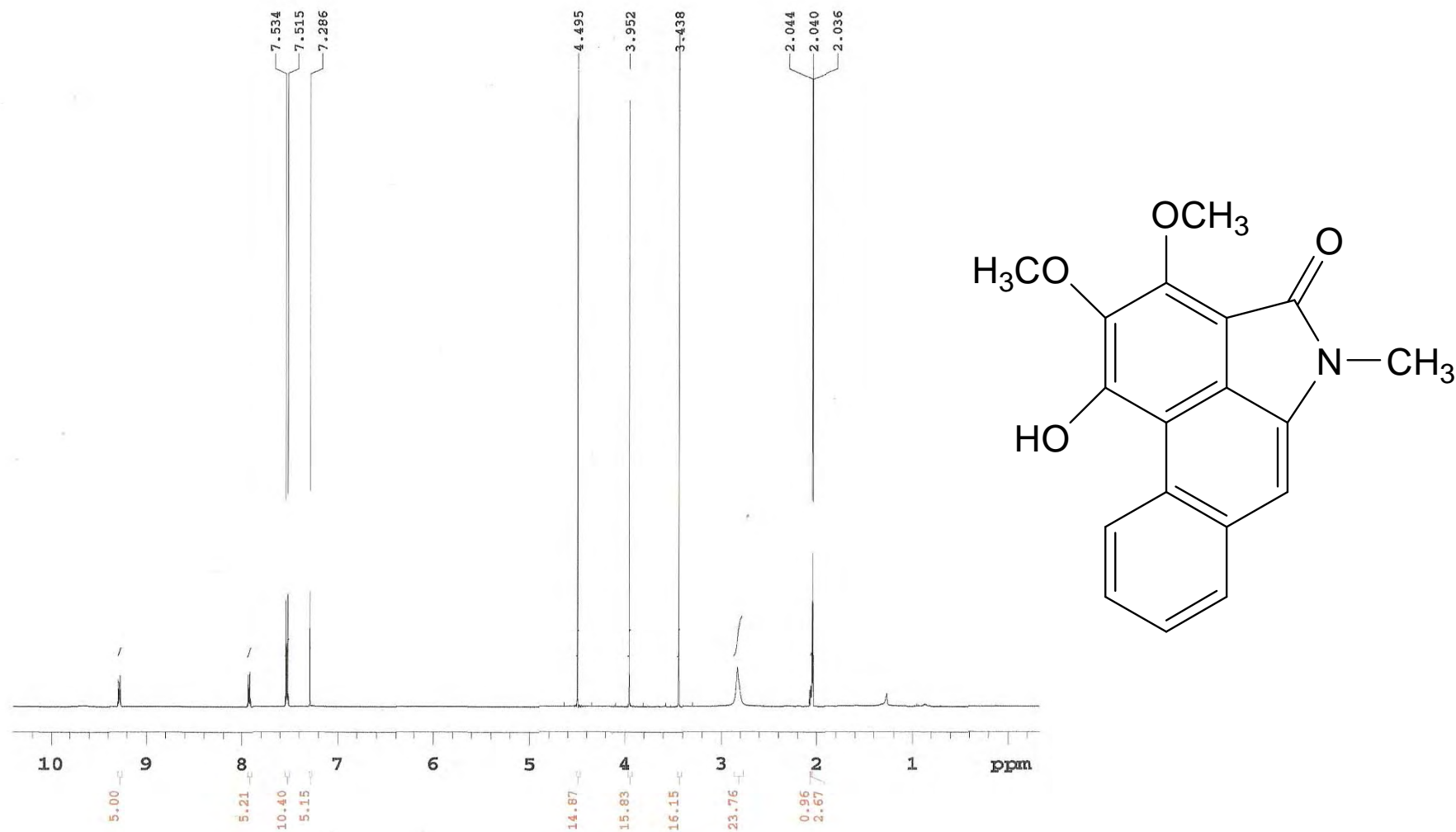


Figura 54: Espectro de RMN ^1H de Pa-3 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz)

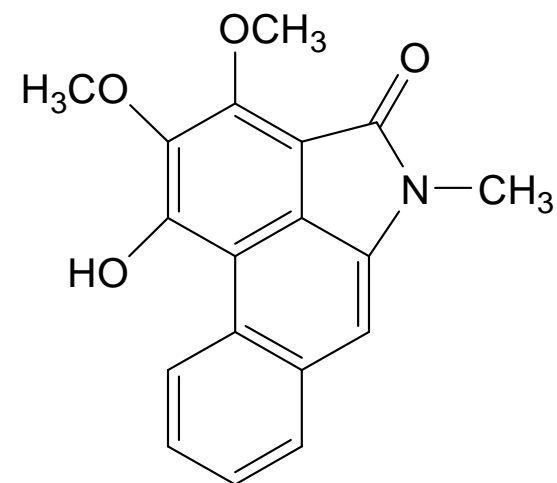
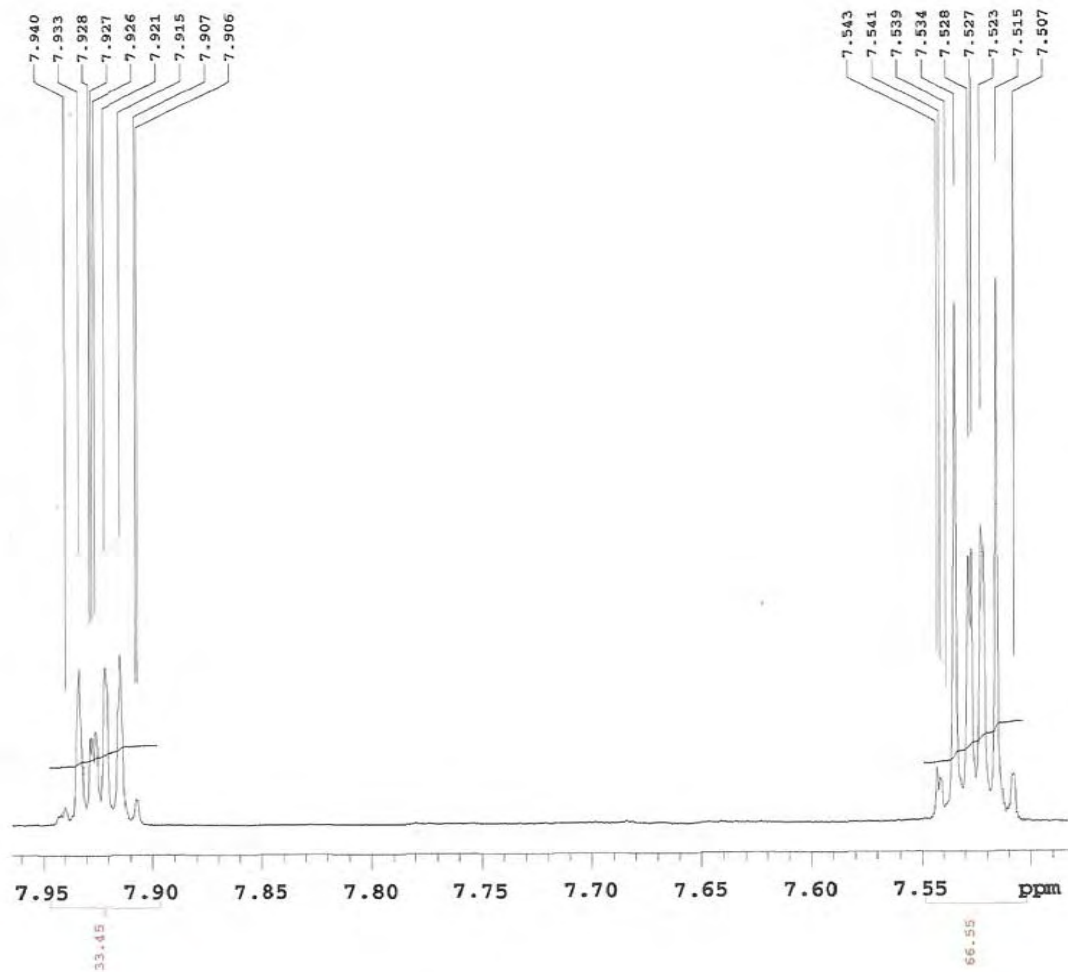


Figura 55: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-3 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz)

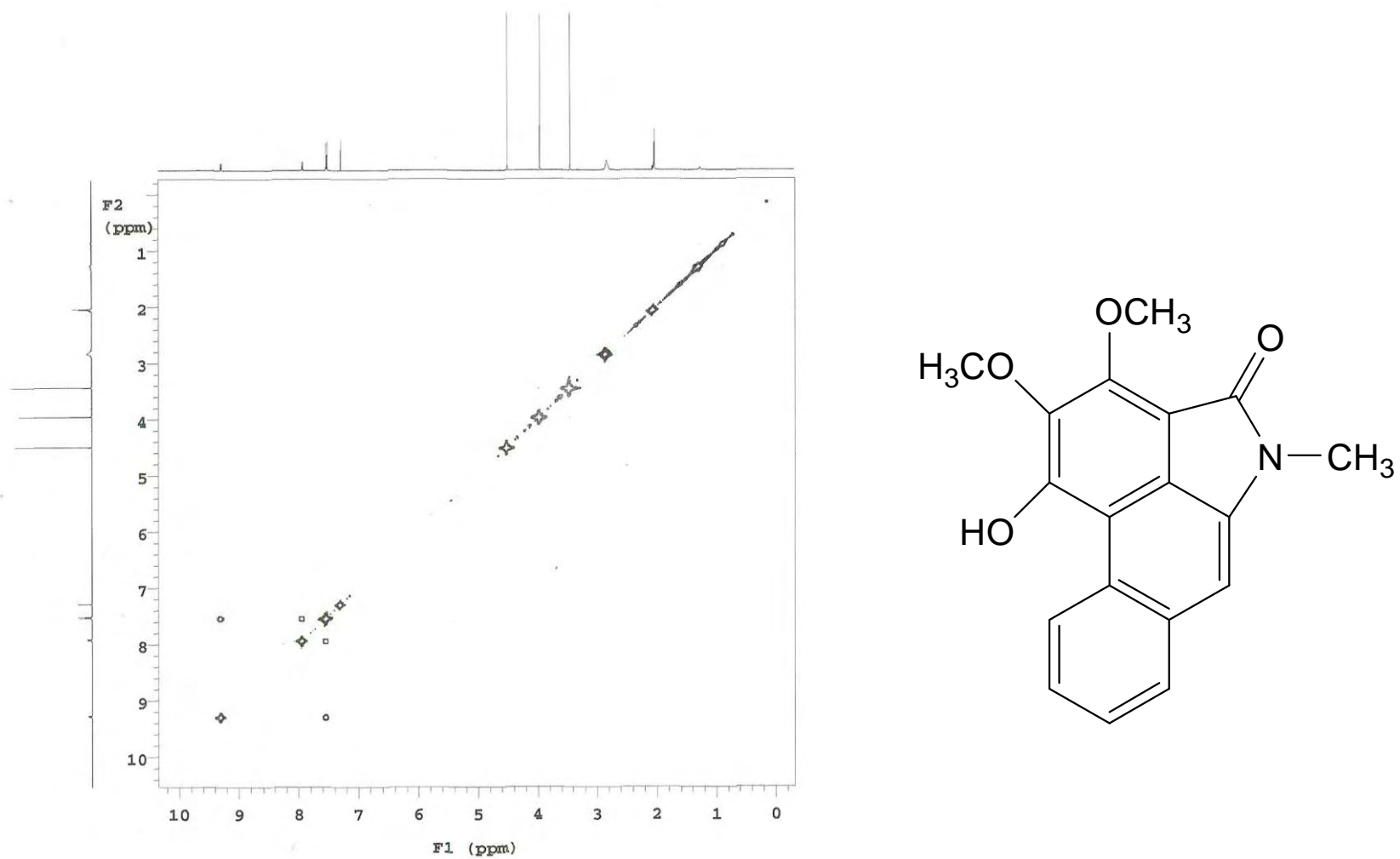


Figura 56: Espectro de correlação ¹H x ¹H COSY de Pa-3 (C₃D₆O, 500 MHz)

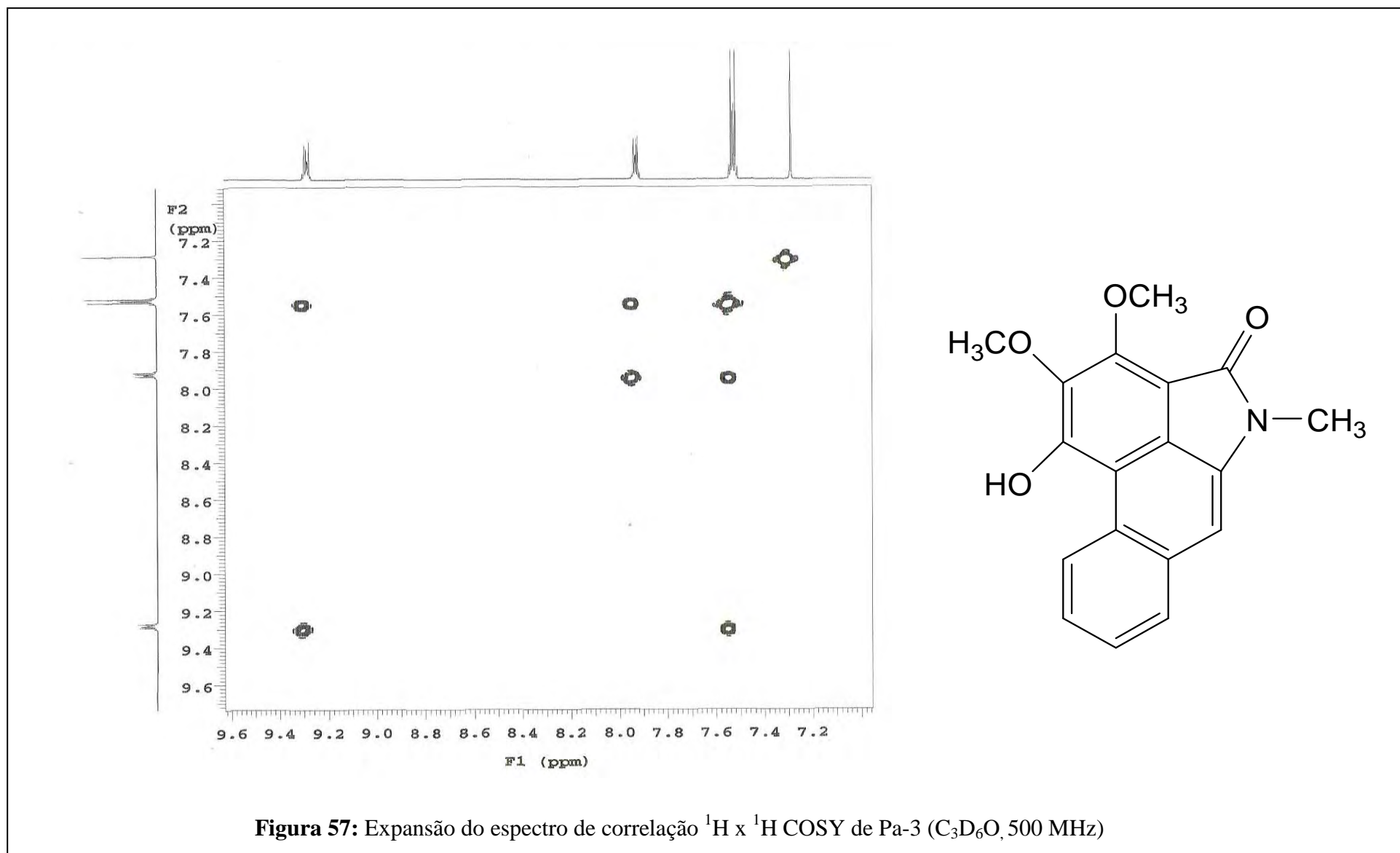


Figura 57: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY de Pa-3 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz)

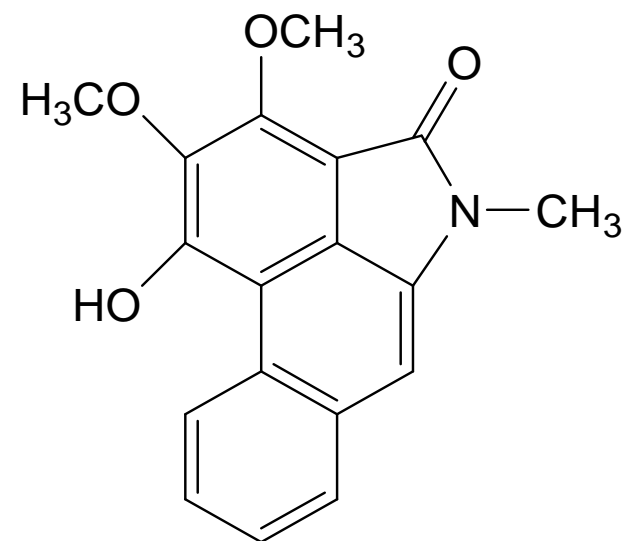
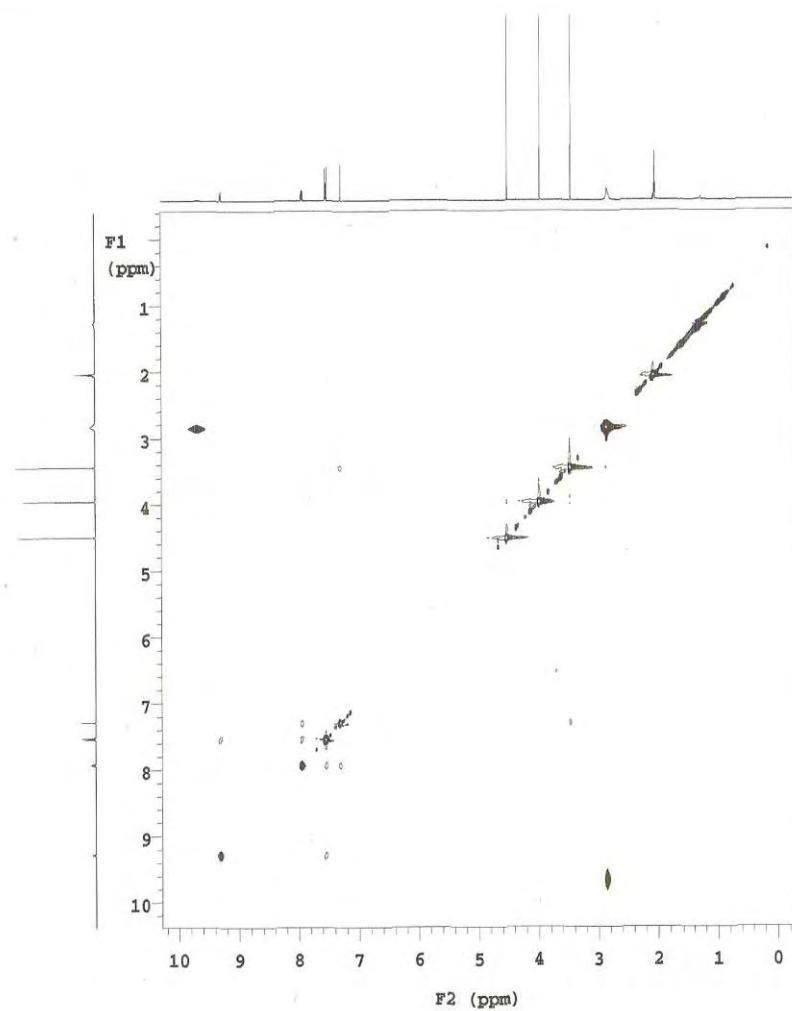


Figura 58: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY de Pa-3 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz)

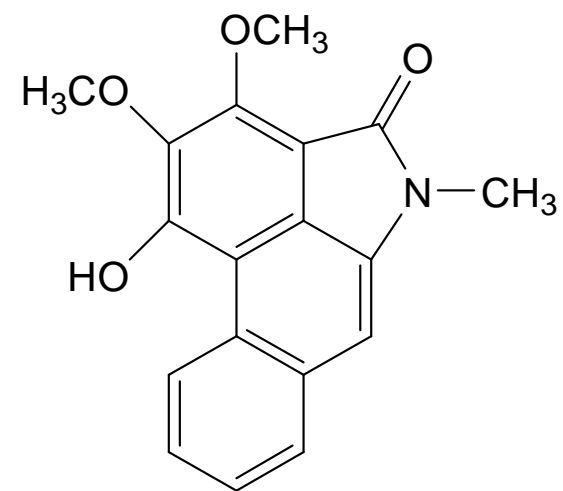
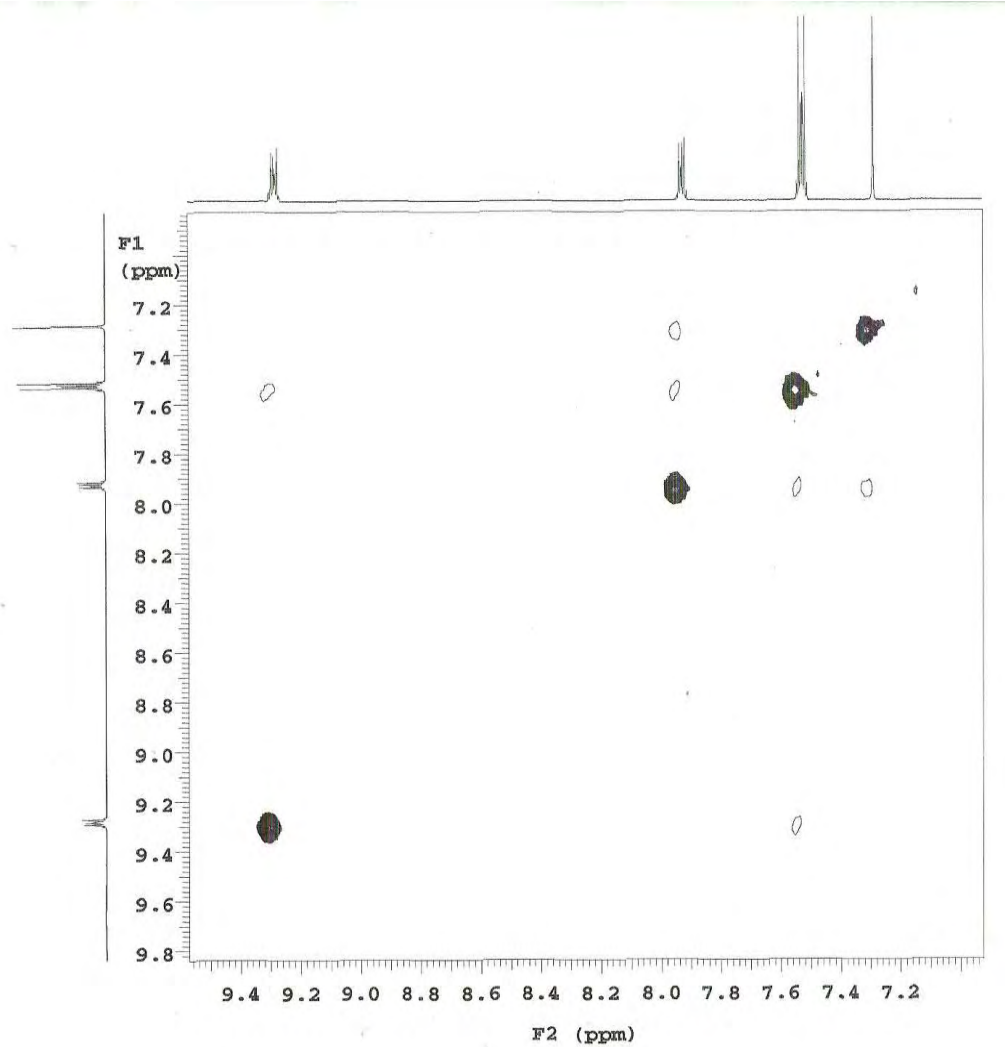
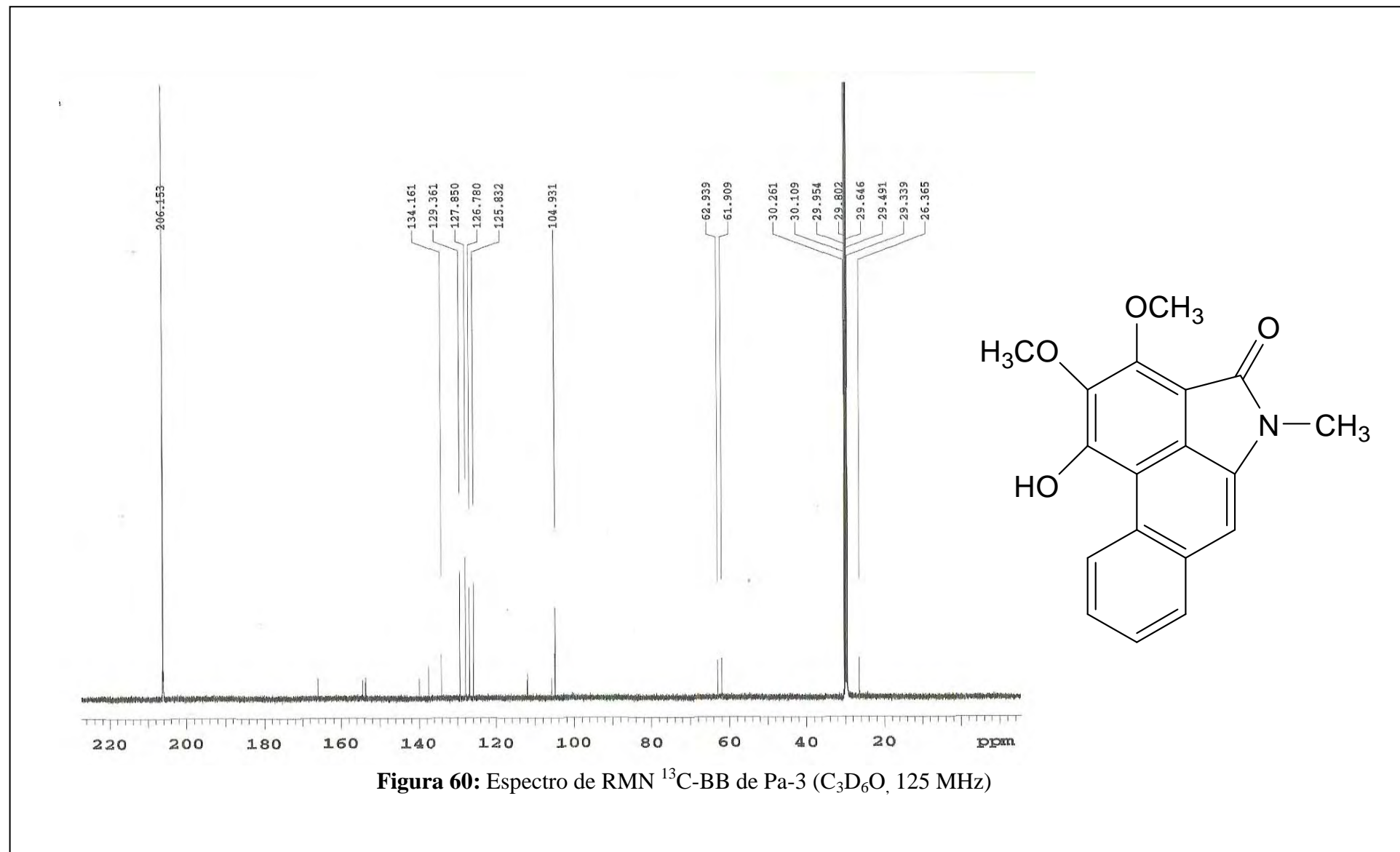
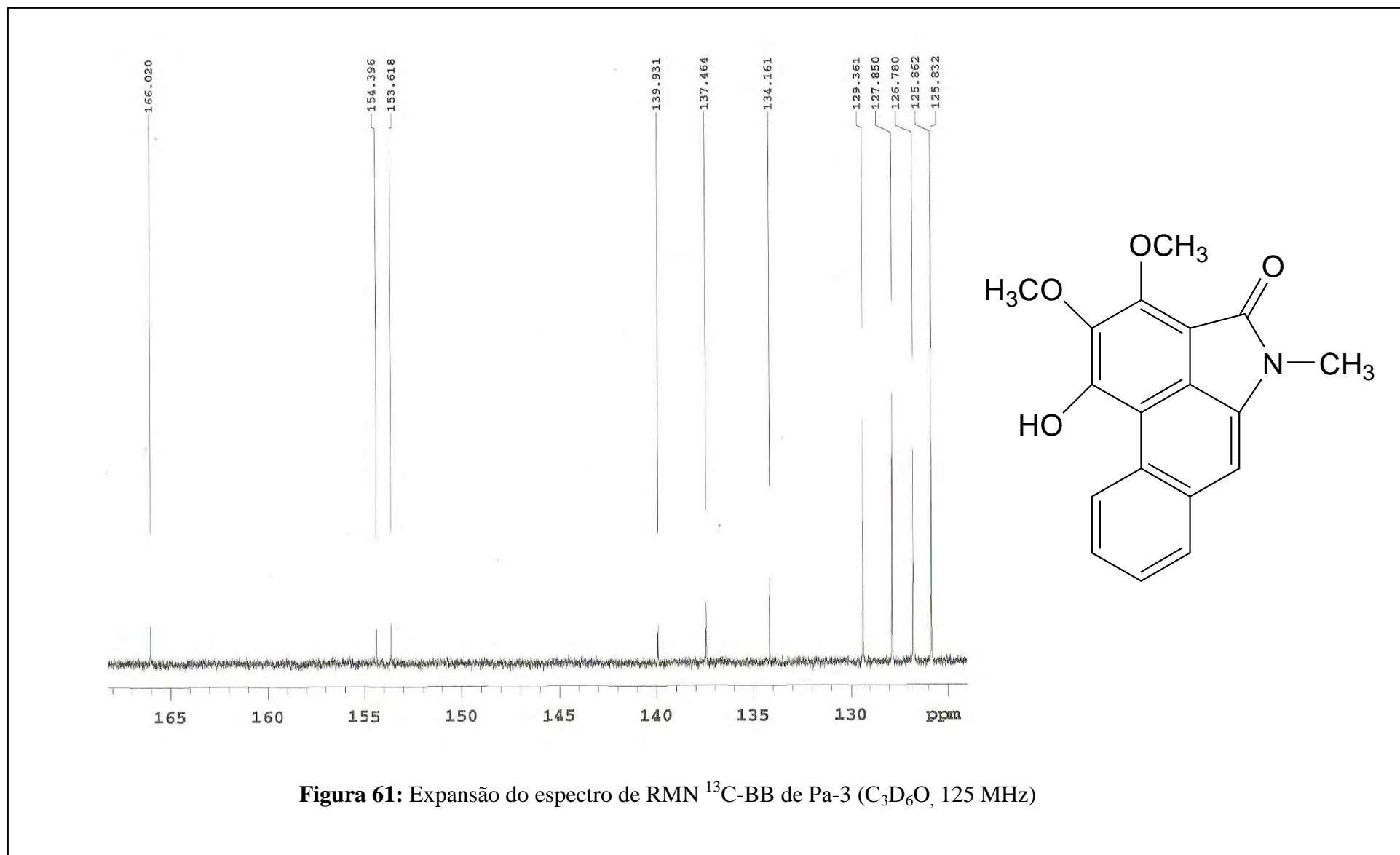


Figura 59: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY de Pa-3 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz)





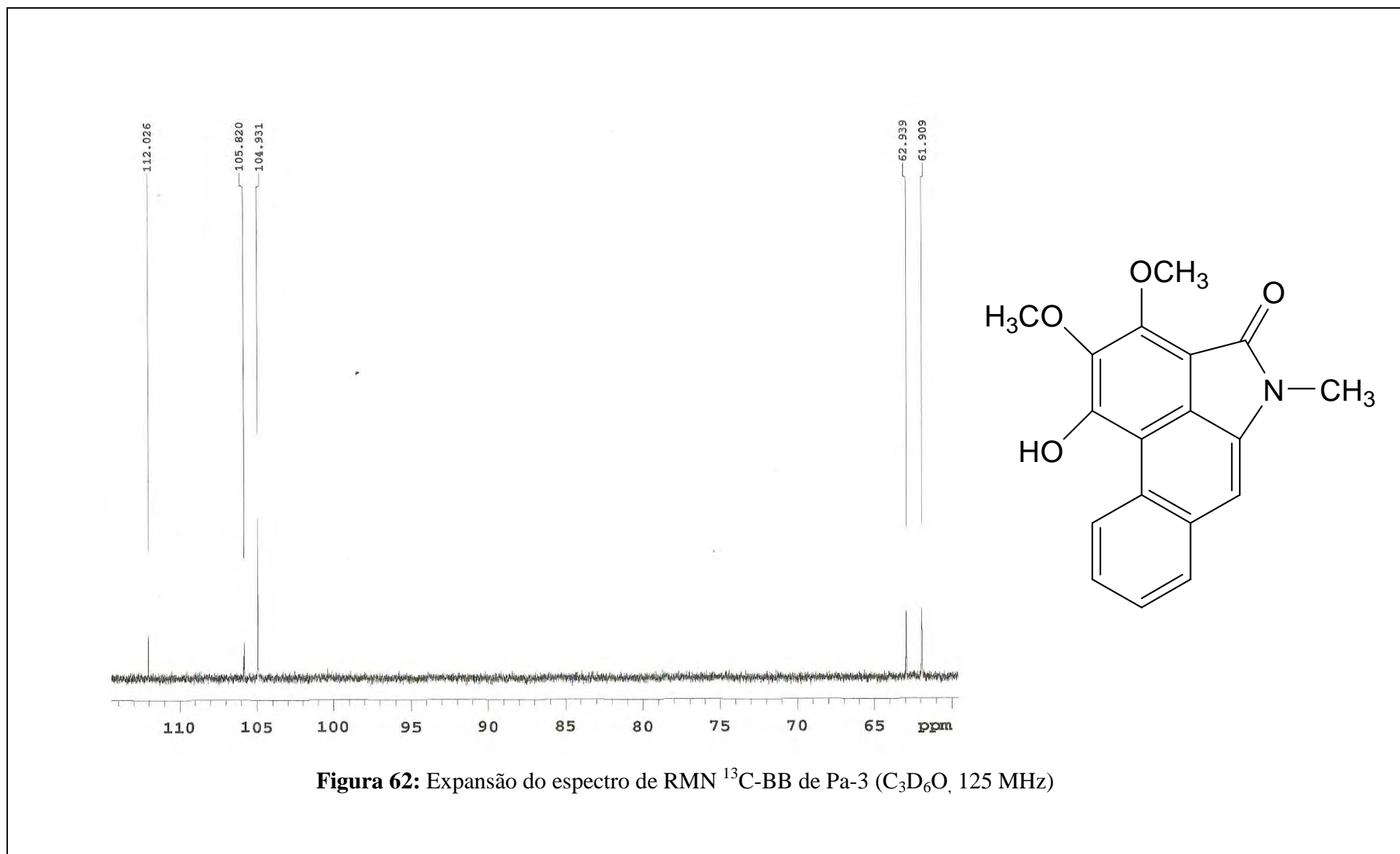


Figura 62: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-3 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz)

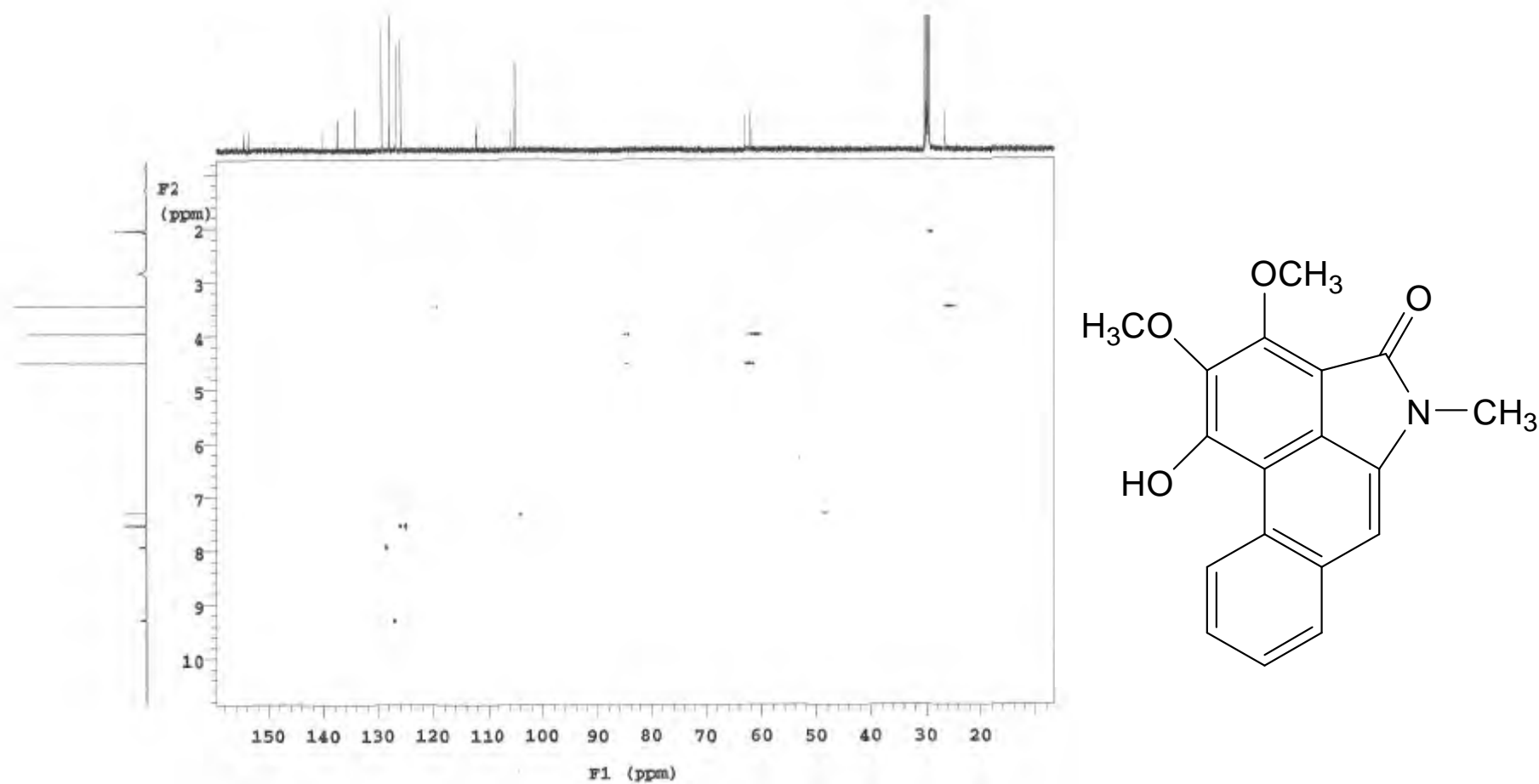
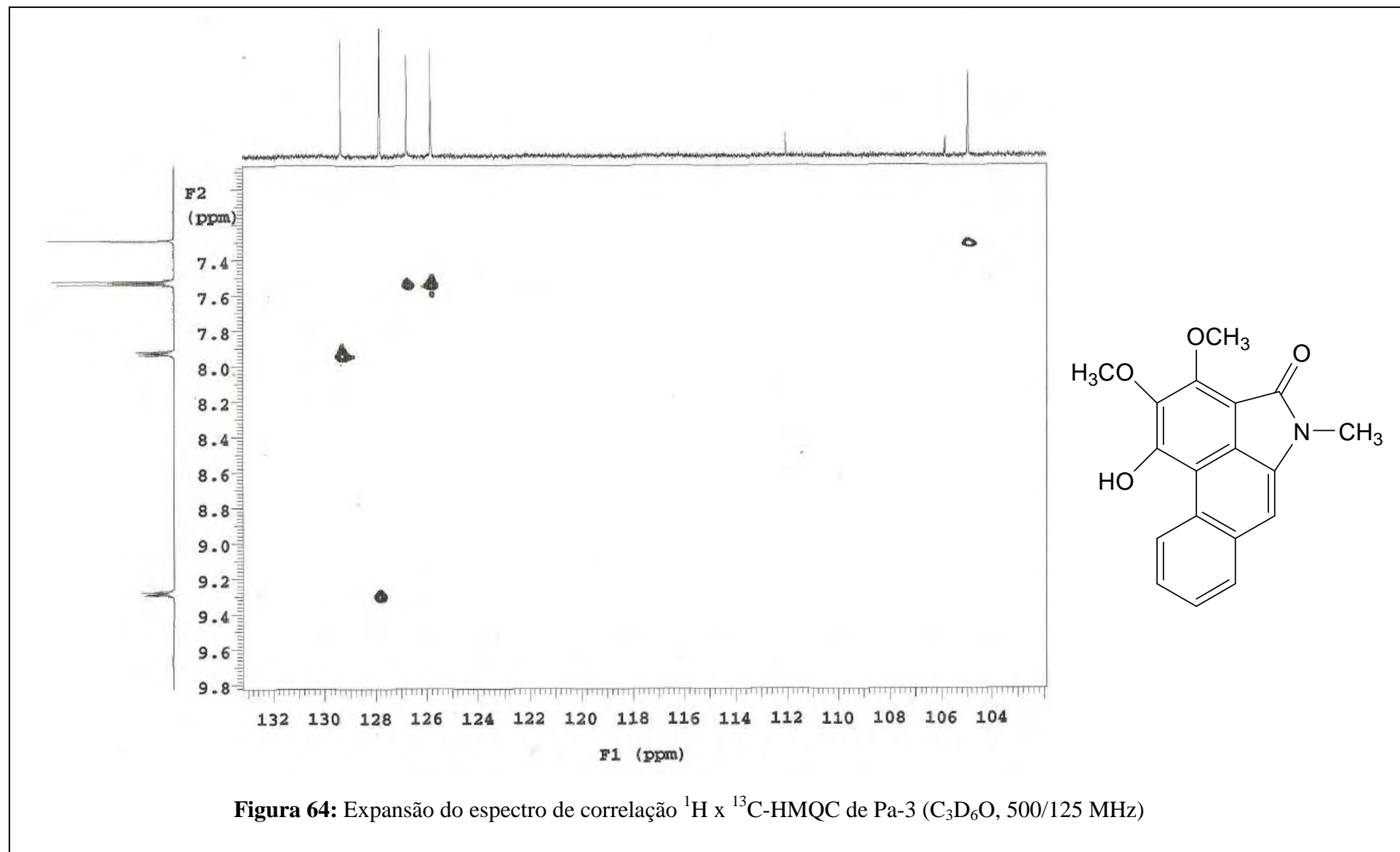
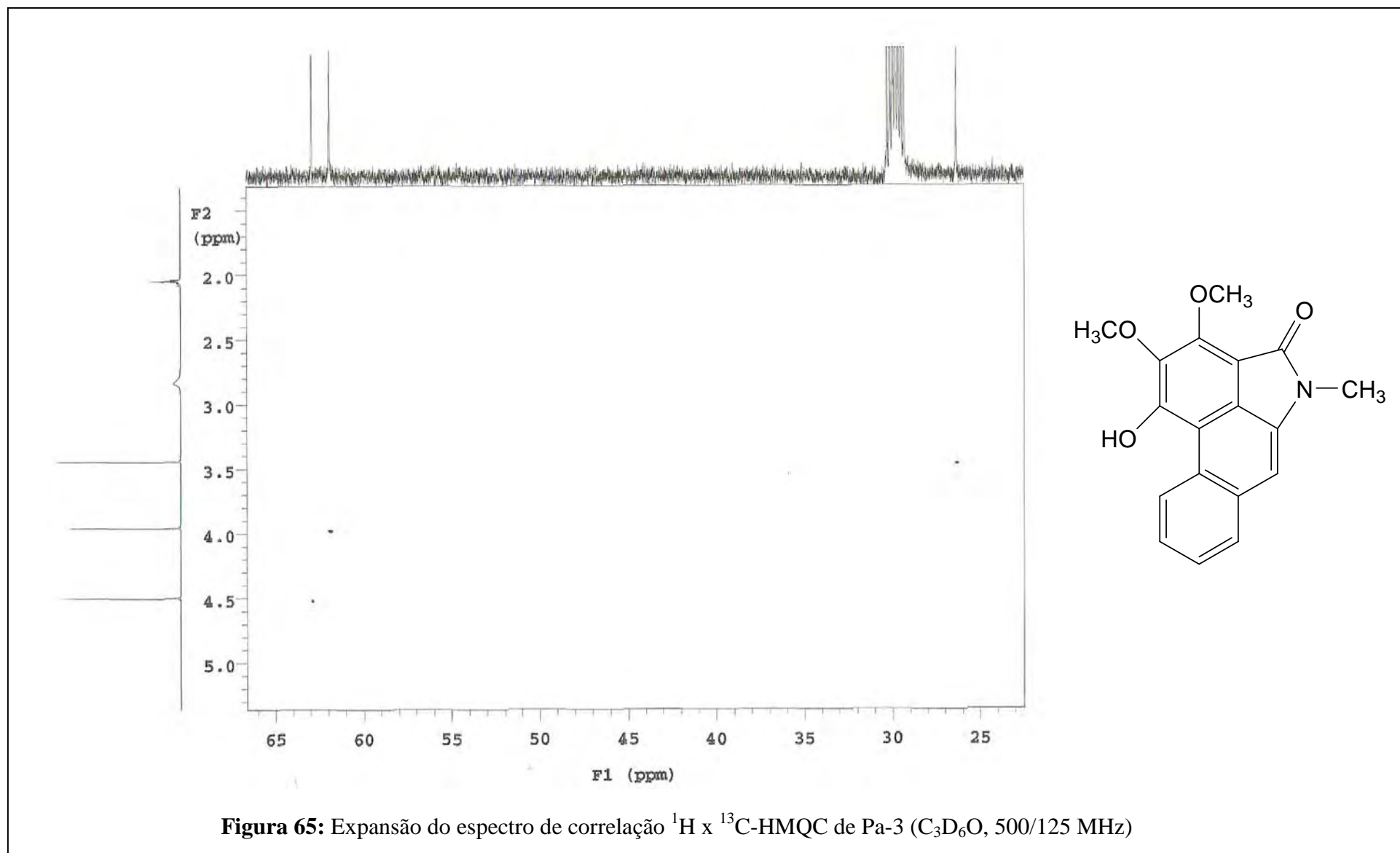
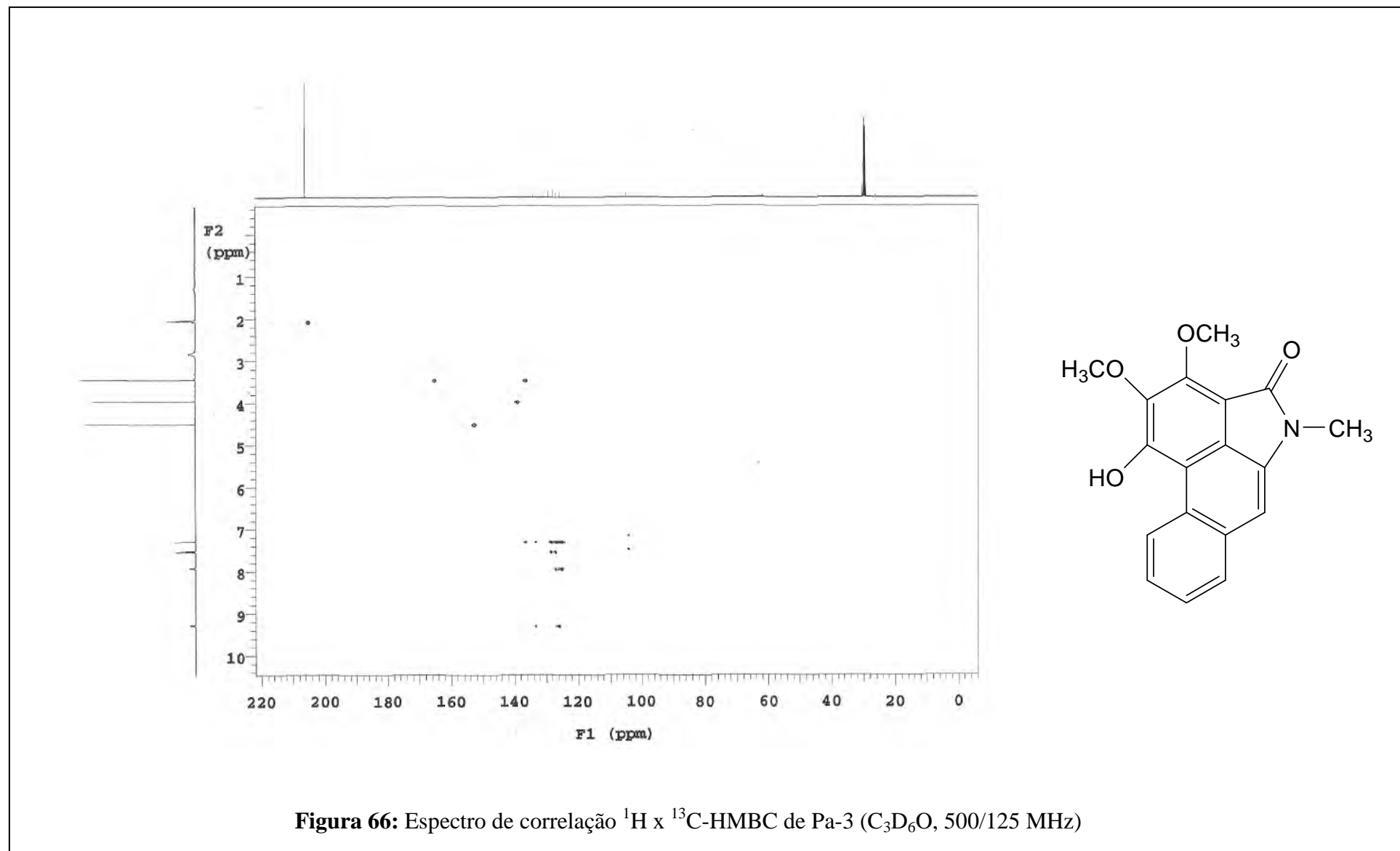
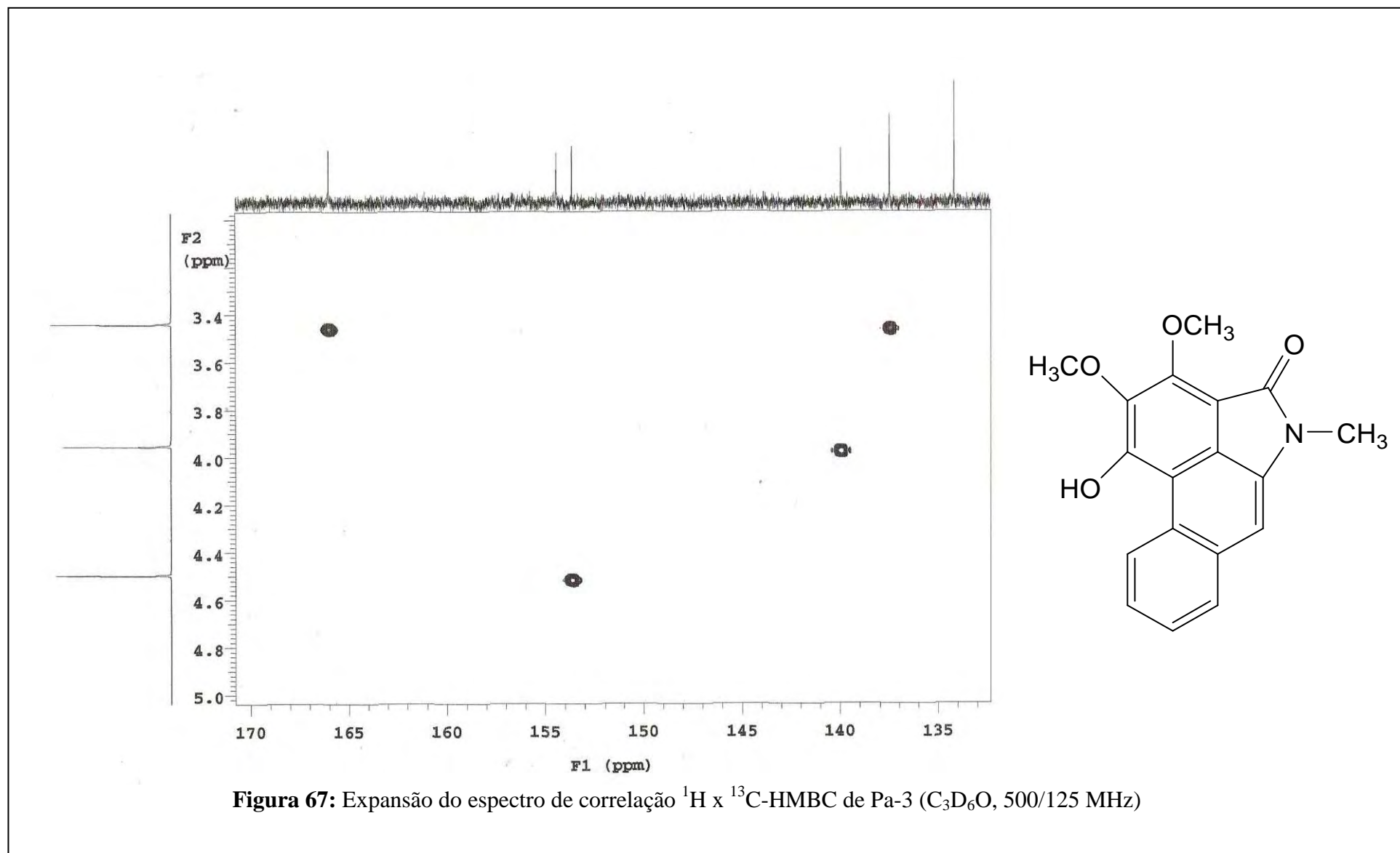


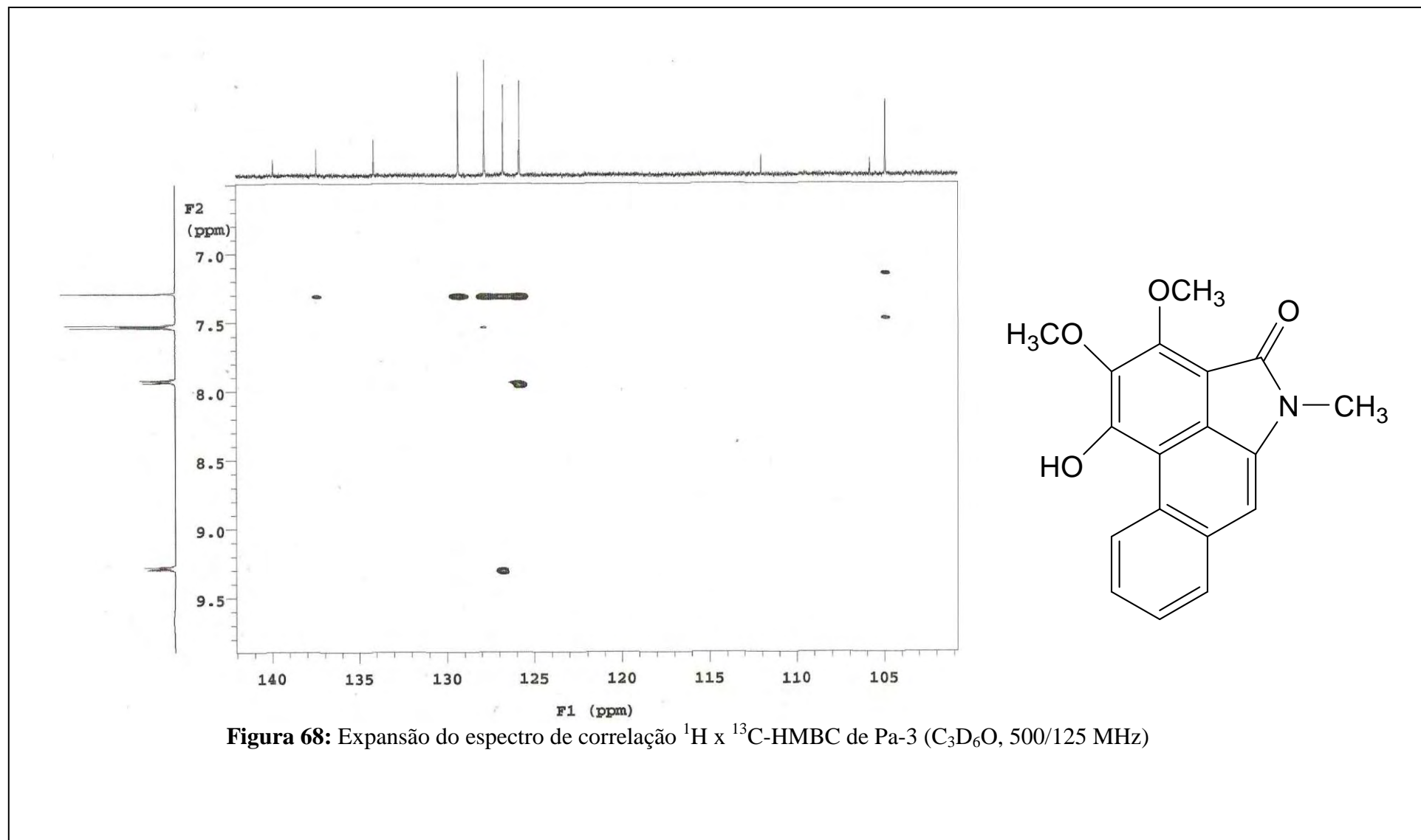
Figura 63: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-3 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500/ 125 MHz)











5.1.4 Determinação estrutural de Pa-4

O espectro na região de IV (Figura 70, p. 148) sugeriu a presença de OH fenólica e carbonila de grupo amídico, através das absorções em 3435 cm^{-1} e 1680 cm^{-1} , respectivamente.

O espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) apresentou, na região de hidrogênios aromáticos, os sinais: $\delta_{\text{H}} 9,15$ (m, 1H); $\delta_{\text{H}} 7,80$ (m, 1H); $\delta_{\text{H}} 7,67$ (s, 1H); $\delta_{\text{H}} 7,53$ (m, 2H); $\delta_{\text{H}} 7,17$ (sl, 1H); $\delta_{\text{H}} 6,95$ (s, 1H); $\delta_{\text{H}} 4,06$ (s, 3H) e $\delta_{\text{H}} 3,44$ (s, 3H) (Figuras 71 e 72, p. 149 e 150), os quais mostraram, no espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (CDCl_3 , 500 MHz), as correlações: $\delta_{\text{H}} 9,15/\delta_{\text{H}} 7,53$ e $\delta_{\text{H}} 7,80/\delta_{\text{H}} 7,53$ (Figura 73, p. 151). O espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY (CDCl_3 , 500 MHz) apresentou as seguintes correlações: $\delta_{\text{H}} 7,53/\delta_{\text{H}} 9,15$ e $\delta_{\text{H}} 7,80/\delta_{\text{H}} 6,95$; $\delta_{\text{H}} 4,06/\delta_{\text{H}} 7,67$; $\delta_{\text{H}} 3,44/\delta_{\text{H}} 6,95$ (Figuras 74 e 75, p. 152 e 153).

Tais dados, juntamente com a presença de 17 sinais de carbono ($\delta_{\text{C}} 168,33$; $\delta_{\text{C}} 147,97$; $\delta_{\text{C}} 146,91$; $\delta_{\text{C}} 136,99$; $\delta_{\text{C}} 134,21$; $\delta_{\text{C}} 128,72$; $\delta_{\text{C}} 128,14$; $\delta_{\text{C}} 127,19$; $\delta_{\text{C}} 126,98$; $125,57$; $\delta_{\text{C}} 123,67$; $\delta_{\text{C}} 116,57$; $\delta_{\text{C}} 114,34$; $\delta_{\text{C}} 107,34$; $\delta_{\text{C}} 104,23$; $\delta_{\text{C}} 57,25$ e $\delta_{\text{C}} 26,29$) vistos no espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 125 MHz) (Figuras 76 e 77, p. 154 e 155). permitiram sugerir para Pa-4 o esqueleto de uma N-Metilaristolactama dissubstituída.

Os sinais simples, vistos no espectro de RMN ^1H , em $\delta_{\text{H}} 7,76$ (s, 1H) e $\delta_{\text{H}} 6,95$ (s, 1H) foram atribuídos respectivamente as posições 2 e 9, em função das correlações $\delta_{\text{H}} 4,06/\delta_{\text{H}} 7,67$ e $\delta_{\text{H}} 3,44/\delta_{\text{H}} 6,95$ encontradas no espectro NOESY (Figura 74, p. 152) o que permitiu definir para a metoxila, com sinal em $\delta_{\text{H}} 4,06$ (s, 3H), a posição 3 no esqueleto, enquanto que a absorção em $\delta_{\text{H}} 3,44$ (s, 3H) foi atribuída aos hidrogênios do grupo N-Metil. Como consequência o sinal em $\delta_{\text{H}} 7,17$ (sl, 1H) foi sugerido para o grupo hidroxílico em C-4. Os demais sinais correspondentes a hidrogênios aromáticos: $\delta_{\text{H}} 9,15$ (m, 1H), $\delta_{\text{H}} 7,80$ (m, 1H) e $\delta_{\text{H}} 7,53$ (m, 2H) (Figura 72, p. 150) foram atribuídos respectivamente as hidrogênios das posições 5, 8 e 6/7, o primeiro por ser característico da posição 5 de aristolactama (CHEN, et al., 2003) (Tabela 14, p. 147) e os demais através das correlações: $\delta_{\text{H}} 9,14/\delta_{\text{H}} 7,53$ e $\delta_{\text{H}} 7,80/\delta_{\text{H}} 7,53$ vistas no espectro COSY (Figura 72, 150).

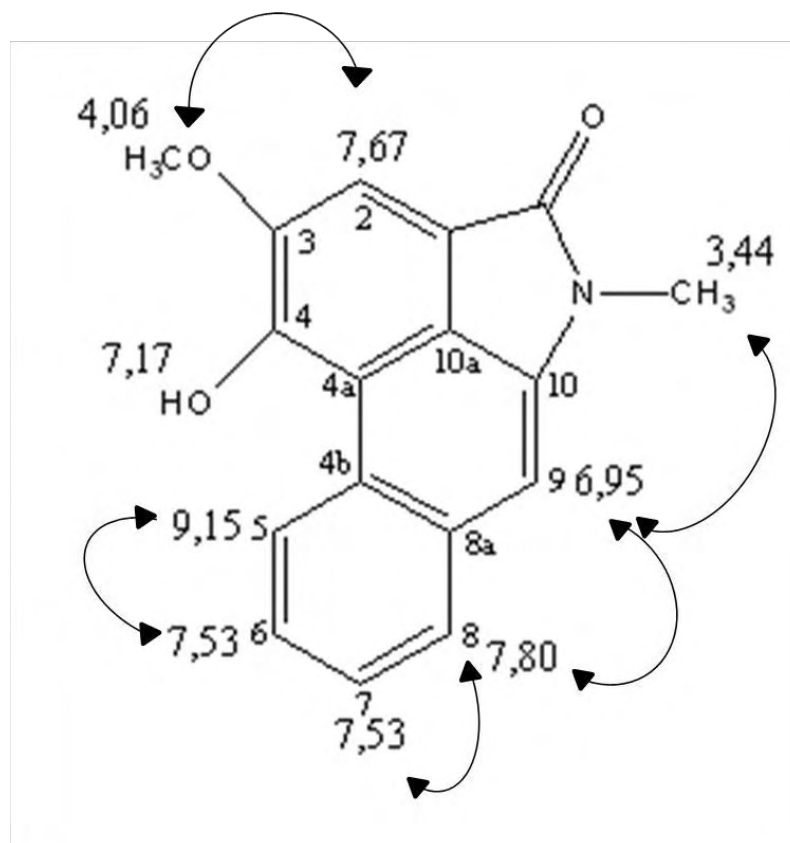


Figura 69: Correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – NOESY de Pa-4

Os carbonos hidrogenados δ_{C} 128,14; δ_{C} 128,72; δ_{C} 126,98; δ_{C} 125,57; δ_{C} 107,34; δ_{C} 104,23; δ_{C} 57,25 e δ_{C} 26,29 (Figura 76, p. 154), vistos no espectro de RMN ^{13}C , foram atribuídos as posições 5, 8, 7, 6, 2, 9, 3-OMe e N-CH₃ respectivamente, através das correlações encontradas no espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC (CDCl_3 , 500/125 MHz): δ_{H} 9,15/ δ_{C} 128,14; δ_{H} 7,80/ δ_{C} 128,72; δ_{H} 7,53/ δ_{C} 126,98 e δ_{C} 125,57; δ_{H} 7,67/ δ_{C} 107,34; δ_{H} 6,95/ δ_{C} 104,23 (Figuras 79 e 80, p. 157 e 158); δ_{H} 4,06/ δ_{C} 57,25 e δ_{H} 3,44/ δ_{C} 26,29 (Figura 81, p. 159).

As correlações δ_{H} 3,44/ δ_{C} 168,33 e δ_{C} 136,99; δ_{H} 4,06/ δ_{C} 146,91 e δ_{H} 7,17/ δ_{C} 147,97 e δ_{C} 114,34 vistas no espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (CDCl_3 , 500/125 MHz) (Figura 83, p. 161) permitiram atribuir δ_{C} 168,33; δ_{C} 136,99; δ_{C} 146,91; δ_{C} 147,97 e δ_{C} 114,34, respectivamente, para as posições C=O, 10, 3, 4 e 4a de maneira inequívoca. Os sinais em δ_{C} 116,57 e δ_{C} 123,67 foram atribuídos, em função das correlações δ_{H} 6,95 e δ_{H} 7,67/ δ_{C} 123,67 e δ_{H} 7,67/ δ_{C} 116,57 vistas no experimento HMBC, para as posições 1 e 10a, respectivamente. Os dois últimos sinais para carbonos não-hidrogenados em δ_{C} 134,21 e δ_{C}

127,19 foram definidos para as posições 8a e 4b, respectivamente pela semelhança com dados da literatura (RUANGRUNGSI et al., 1992) (Tabela 14, p.147).

As demais correlações vistas no espectro bidimensional HMBC acham-se descritas na (Tabela 13, p. 146).

Os dados estudados e comparação com a literatura permitiram sugerir que Pa-4 trata-se da 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama, isolada anteriormente em *Piper ribesiods* (RUANGRUNGSI, et al., 1992), e pela primeira vez na espécie *Piper arboreum*.

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

Posição	HMQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	^2j	^3j
1		116,57		
2	7,67 (s, 1H)	107,34	C-1; C-3	C-4; C-10a; C=O
3		146,91		
4		147,97		
4a		114,34		
4b		127,19		
5	9,15 (m, 1H)	128,14		C-4a; C-8a
6	7,53 (m, 2H)	125,57	C-5	C-4b; C-8
7	7,53 (m, 2H)	126,98	C-8	C-5; C-8a
8	7,80 (m, 1H)	128,72	C-7; C-8a	C-6; C-9
8a		134,21		
9	6,95 (s, 1H)	104,23	C-8a; C-10	C-4b; C-8; C-10a
10		136,99		
10a		123,67		
C=O		168,33		
3-OMe	4,06 (s, 3H)	57,23		C-3
4-OH	7,17 (sl, 1H)		C-4	C-4a
N-Me	3,44 (s, 3H)	26,29		C-10; C=O

Tabela 14: Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de Pa-4 com modelo encontrado na literatura (RUANGRUNGSI, 1992).

Posição	Pa-1 (CDCl ₃ , 500MHz)		Modelo-Literatura (CDCl ₃ , 400MHz)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		116,57		116,6
2	7,67 (s, 1H)	107,34	7,71 (s, 1H)	107,3
3		146,91		147,9
4		147,97		146,9
4a		114,34		114,3
4b		127,19		127,2
5	9,15 (m, 1H)	128,14	9,19 (m, 1H)	127,0
6	7,53 (m, 2H)	125,57	7,56 (m, 2H)	125,5
7	7,53 (m, 2H)	126,98	7,56 (m, 2H)	128,1
8	7,80 (m, 1H)	128,72		128,7
8a		134,21		134,2
9	6,95 (s, 1H)	104,23	7,00(s, 1H)	104,2
10		136,99		137,0
10a		123,67		123,7
C=O		168,33		168,4
3-OMe	4,06 (s, 3H)	57,23	4,10 (s, 3H)	57,2
4-OH	7,17 (sl, 1H)		7,19 (s, 1H)	
N-Me	3,44 (s, 3H)	26,29	3,48 (s, 3H)	26,3

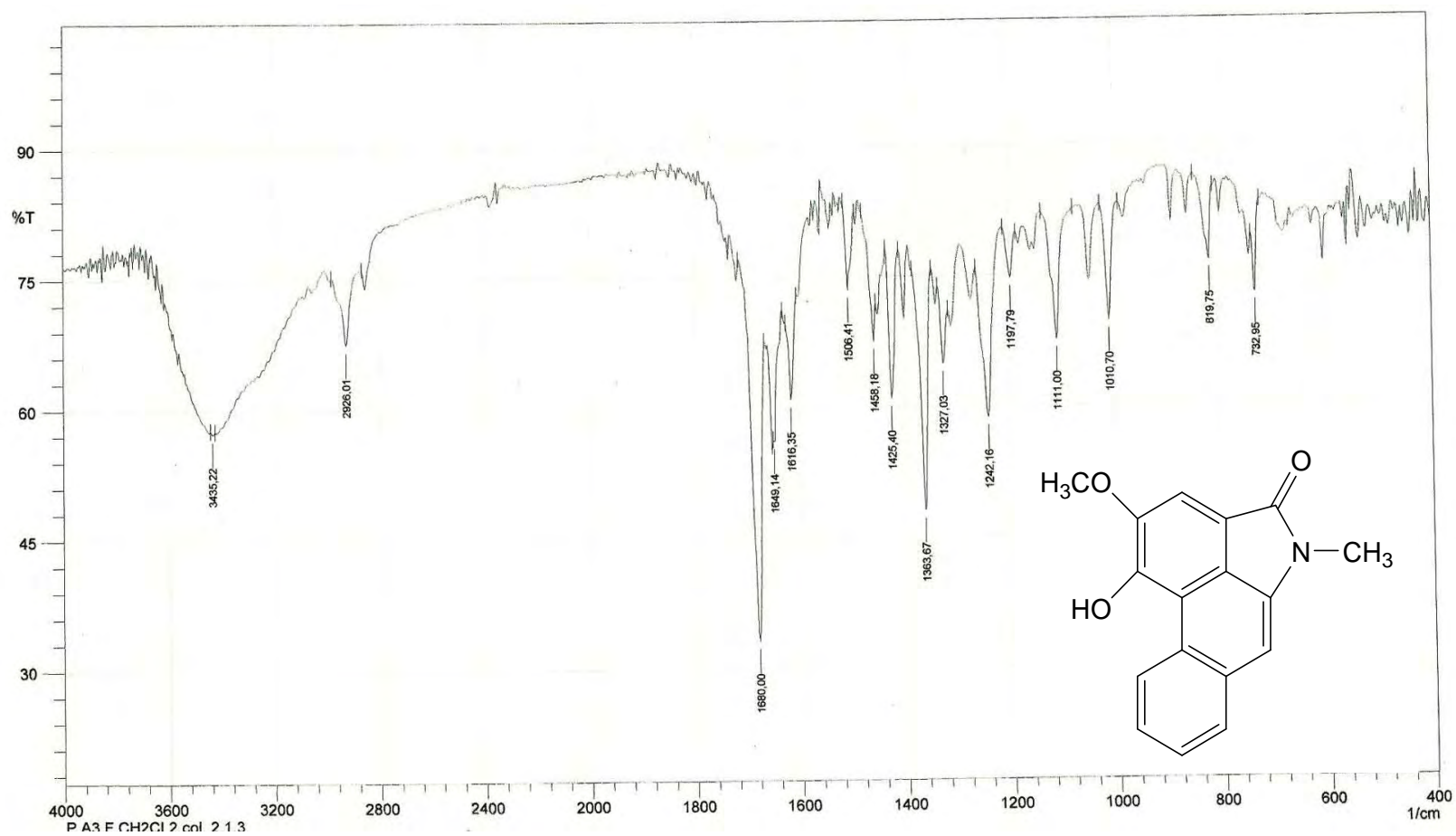
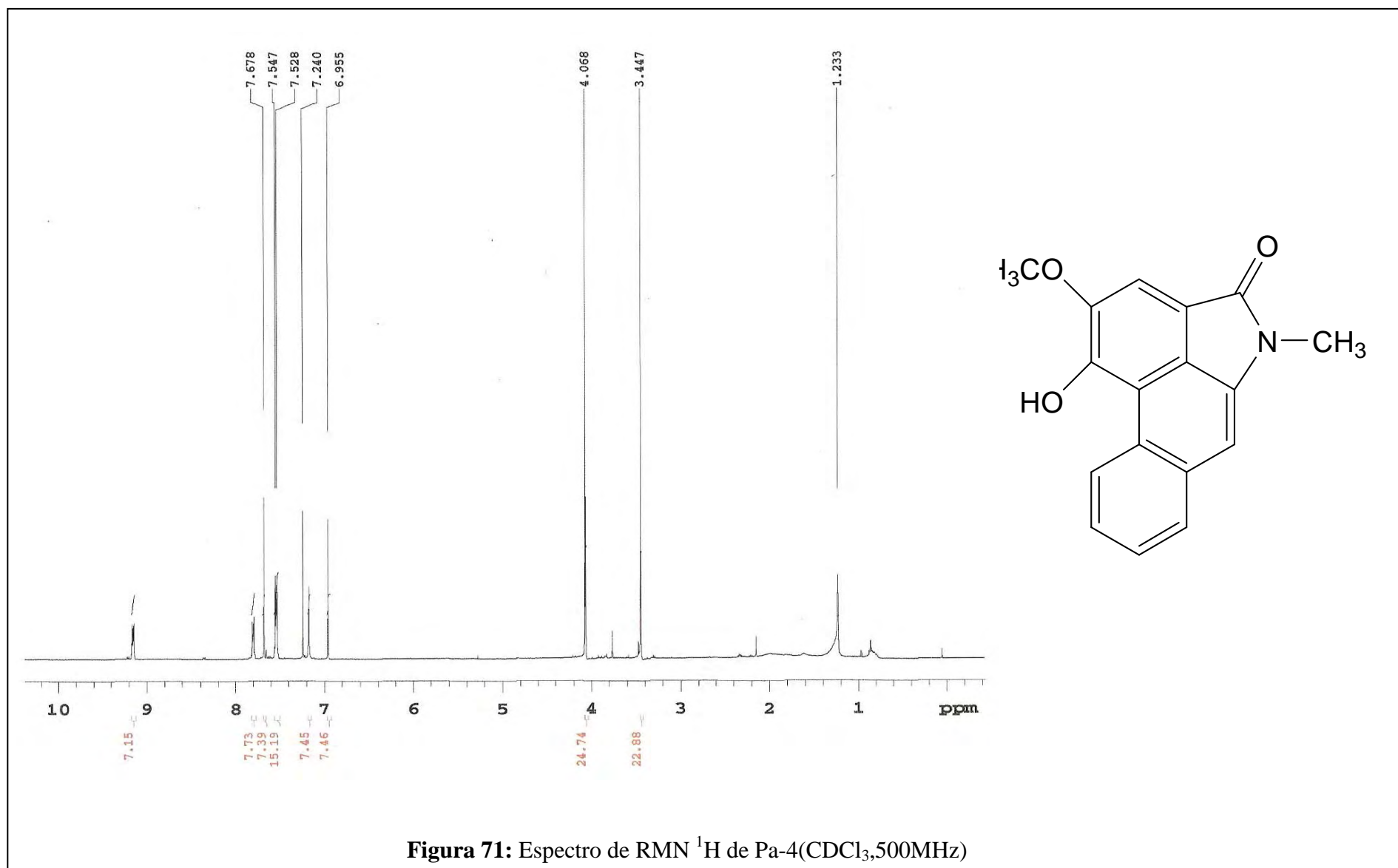


Figura 70: Espectro de IV Pa-4 em pastilhas de KB



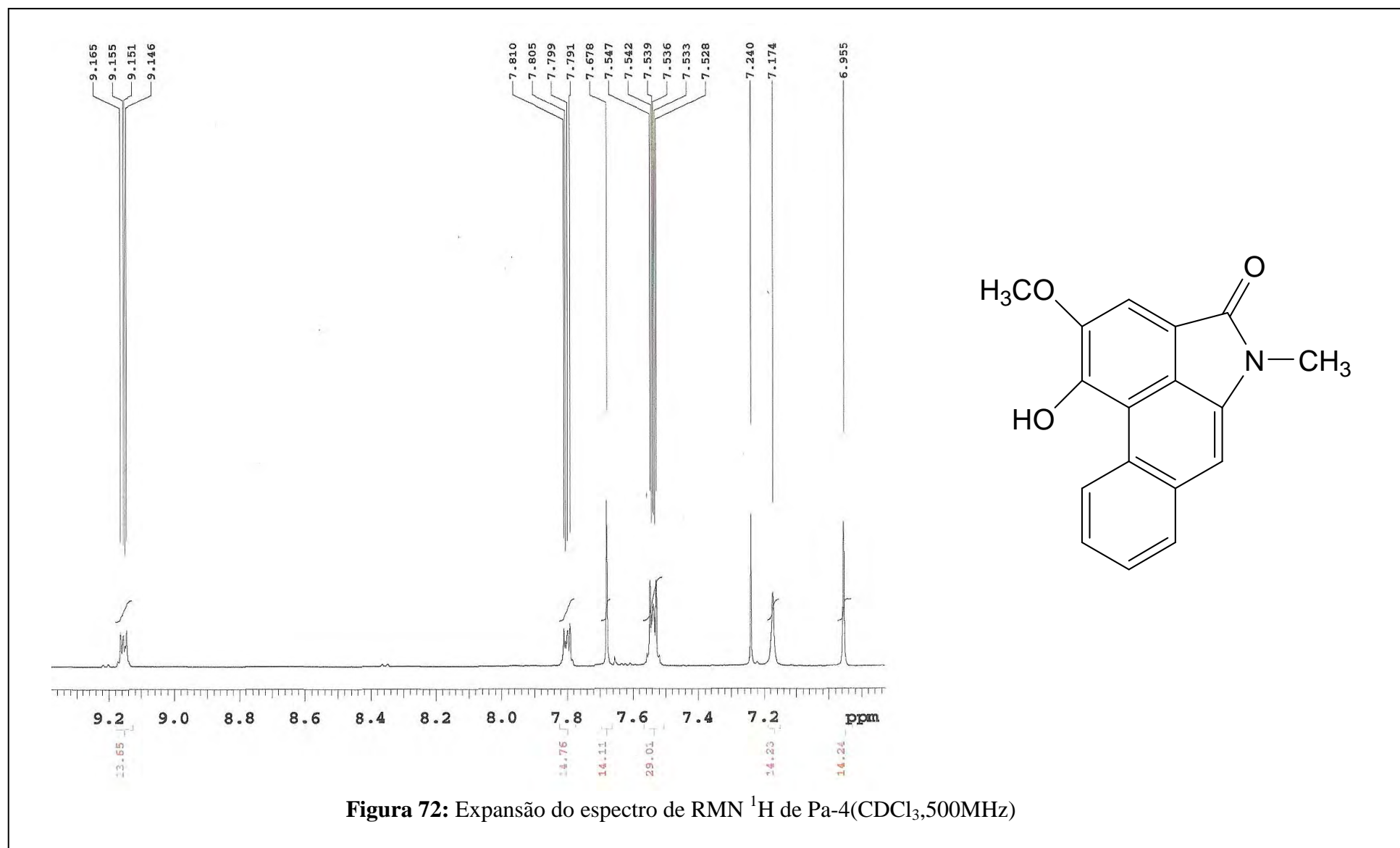


Figura 72: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pa-4(CDCl_3 , 500MHz)

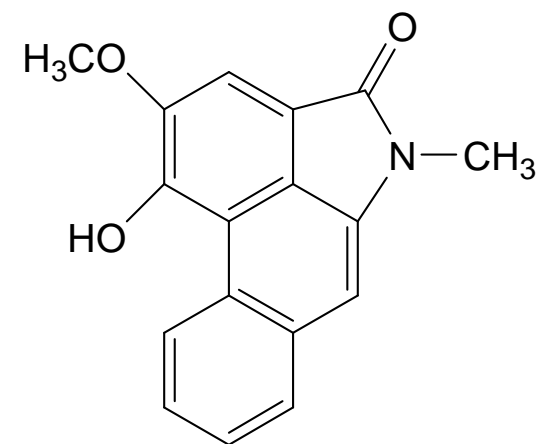
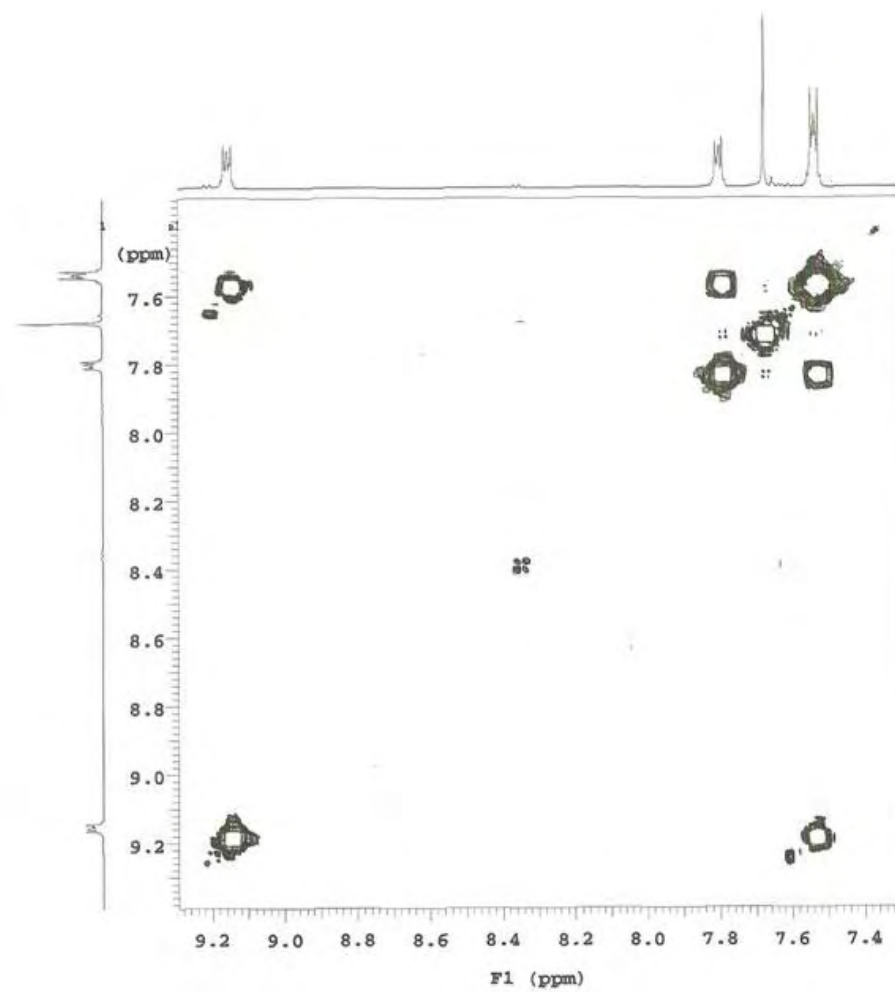
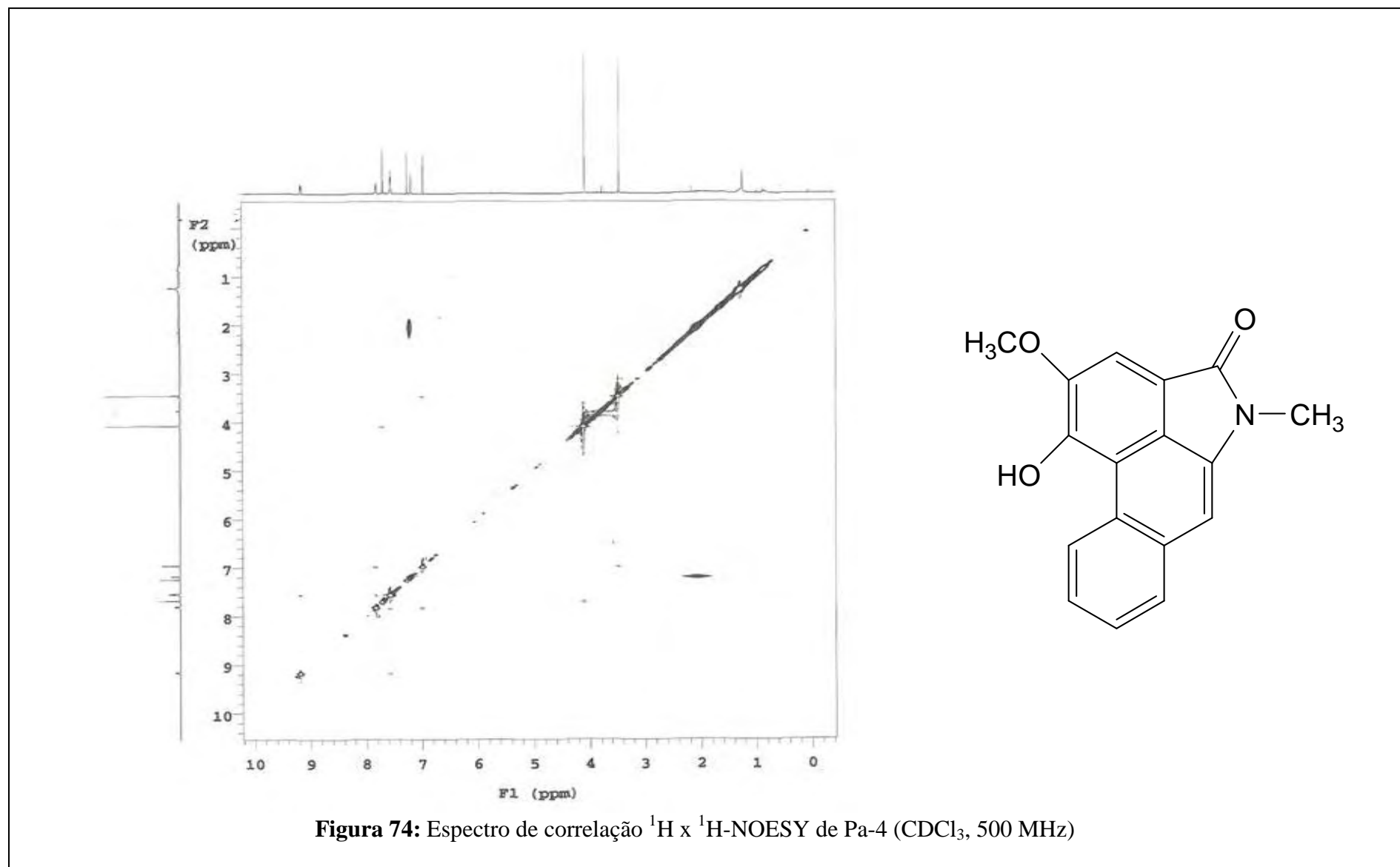
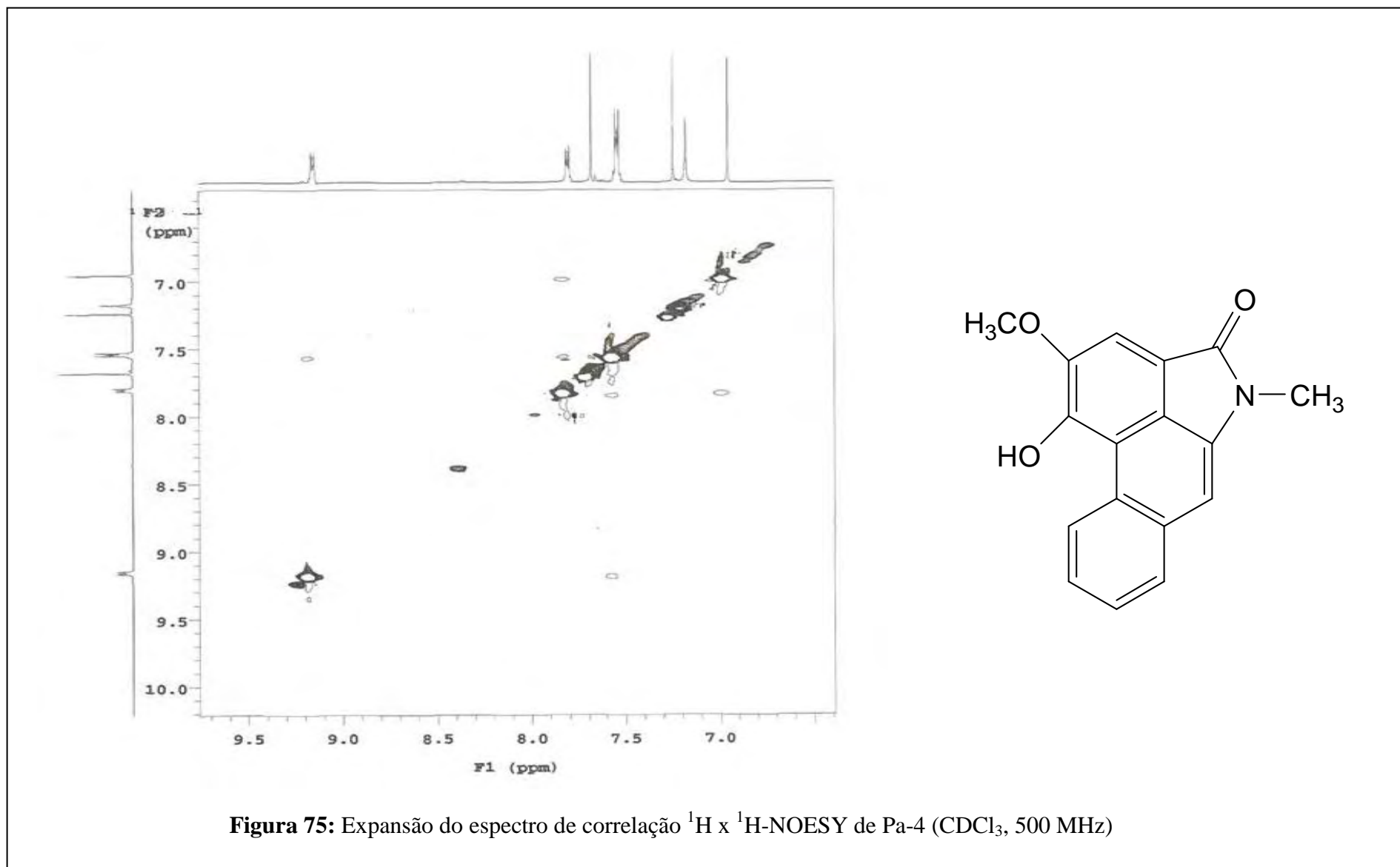


Figura 73: Expansão do espectro de correlação ¹H x ¹H-COSY de Pa-4 (CDCl₃, 500 MHz)





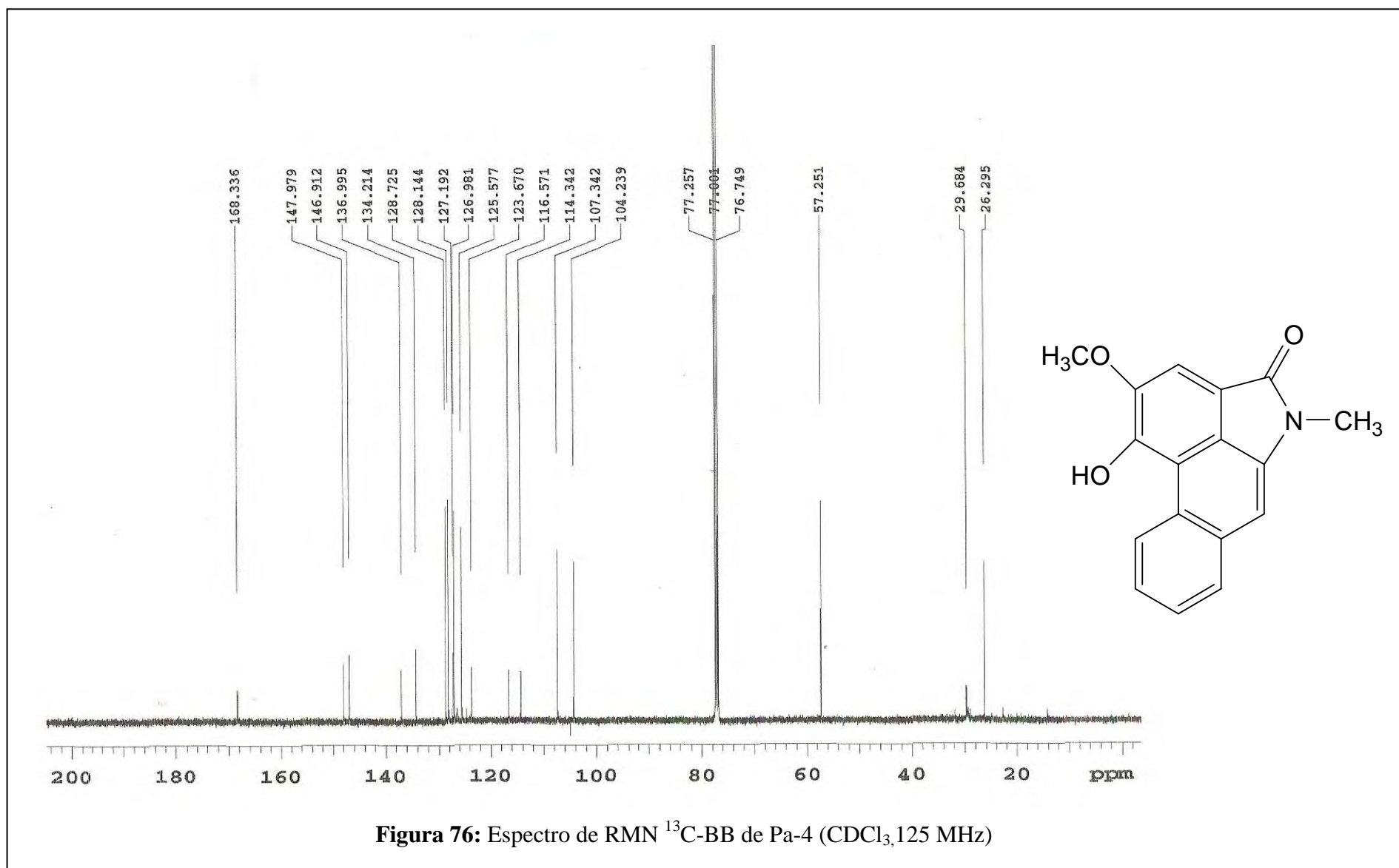


Figura 76: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-4 (CDCl_3 , 125 MHz)

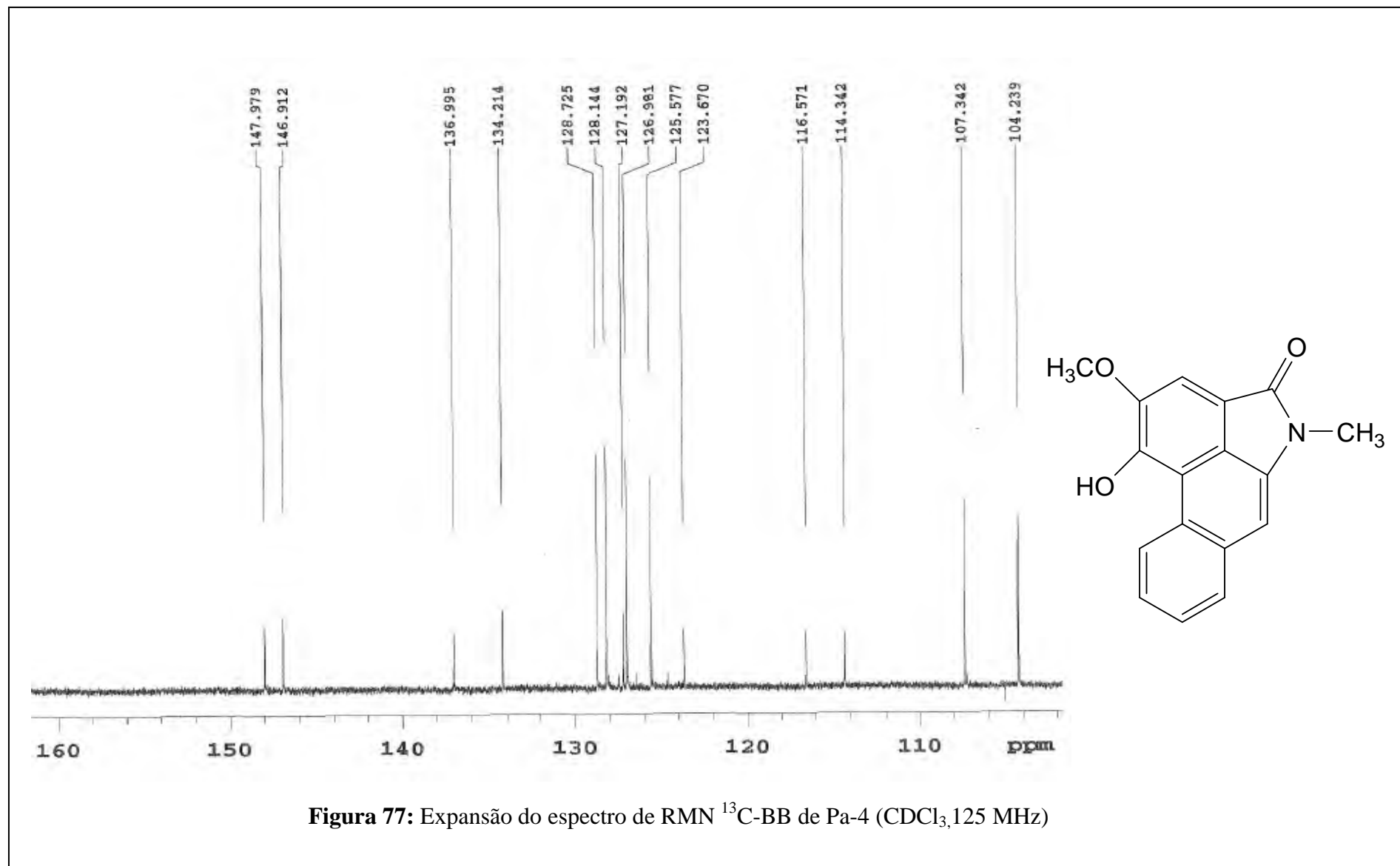
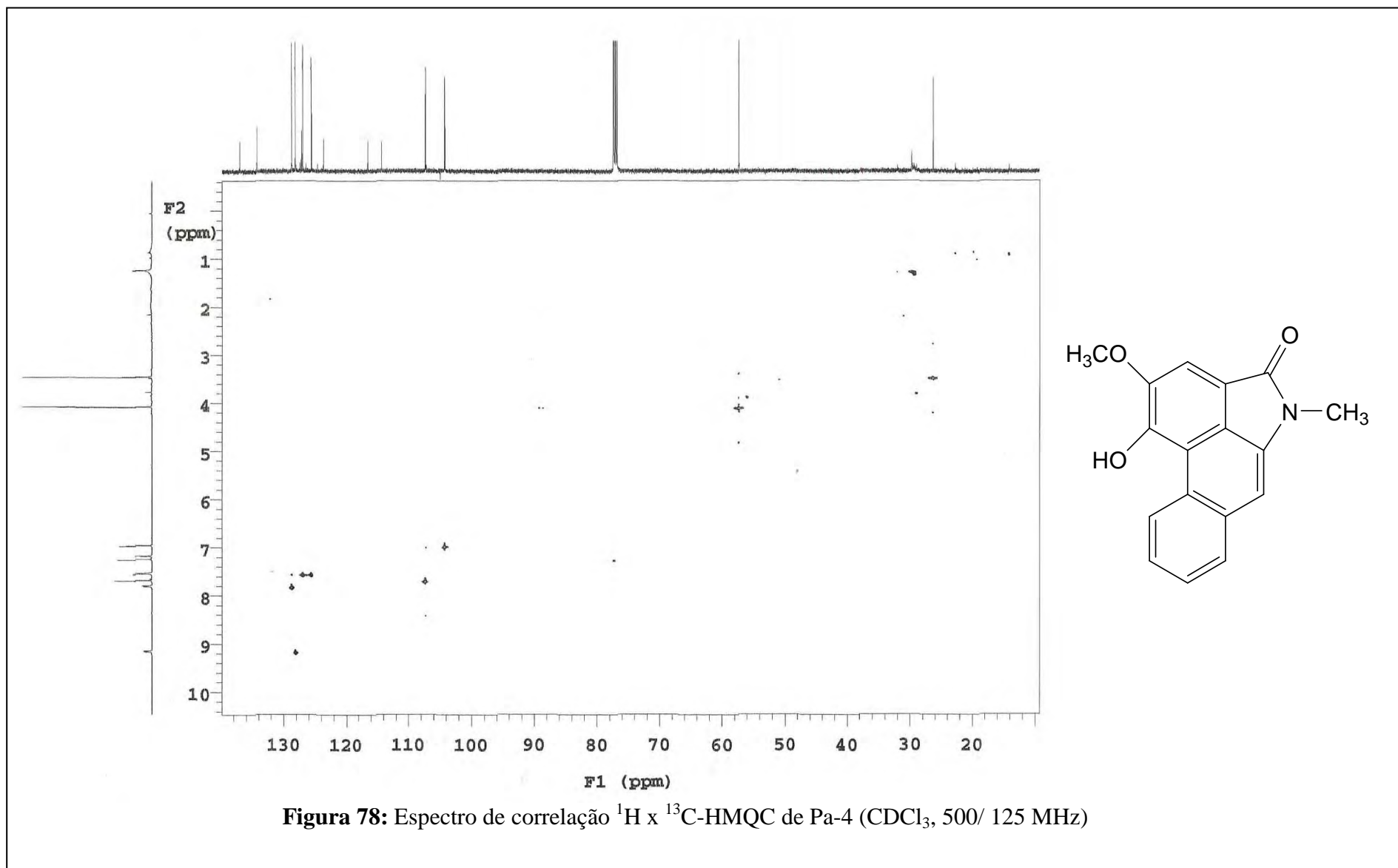


Figura 77: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de Pa-4 (CDCl_3 , 125 MHz)



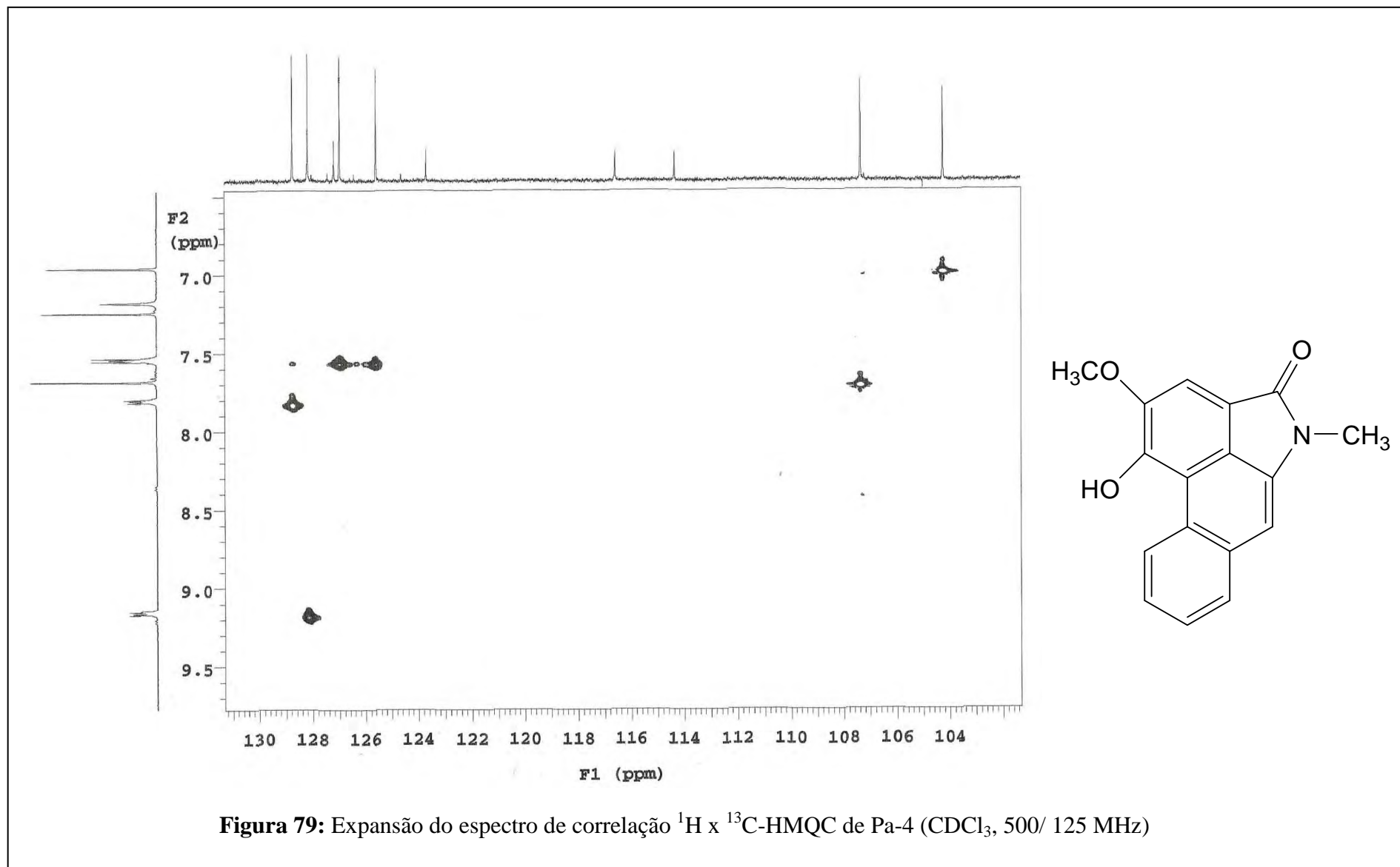


Figura 79: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

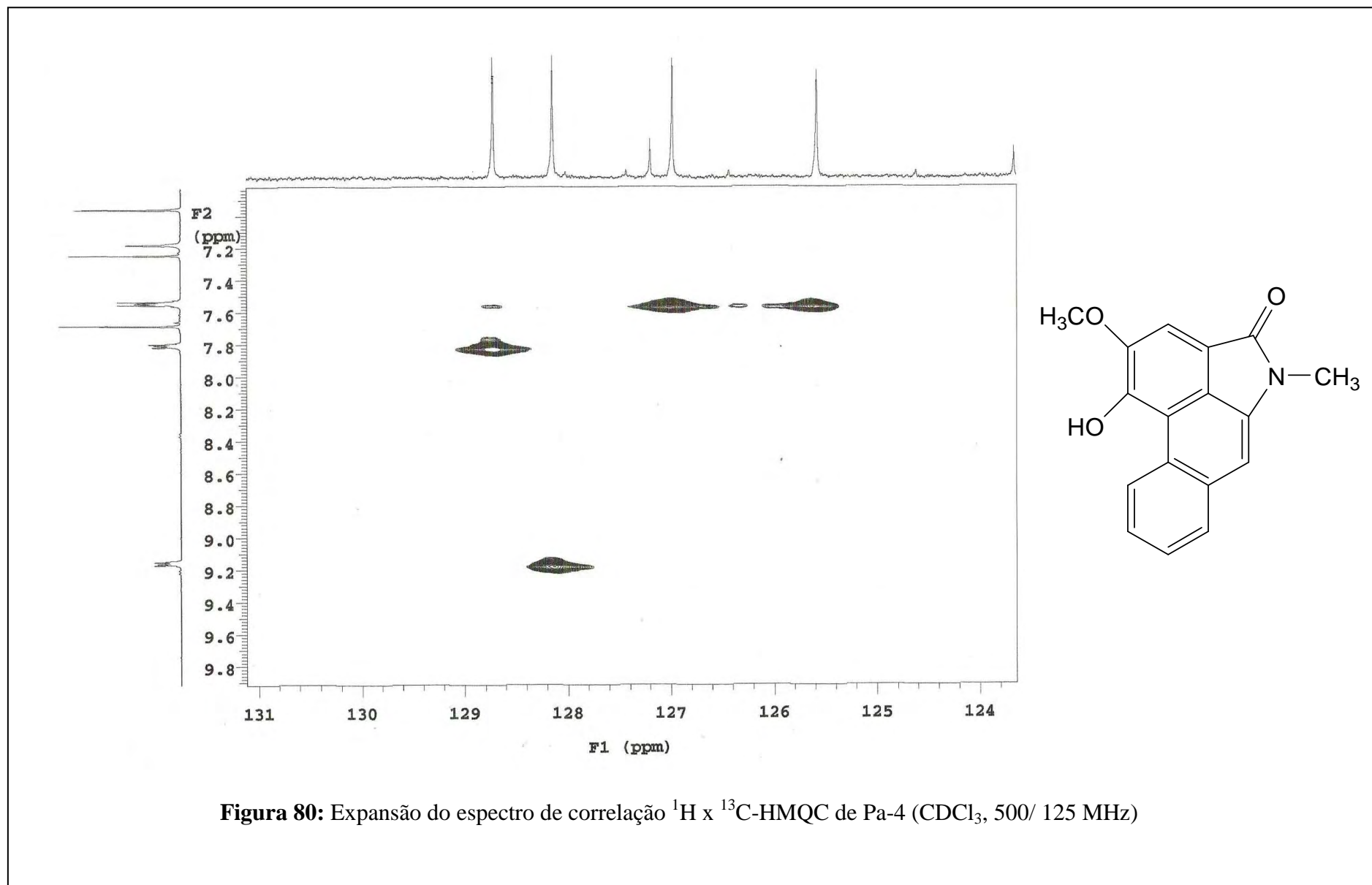
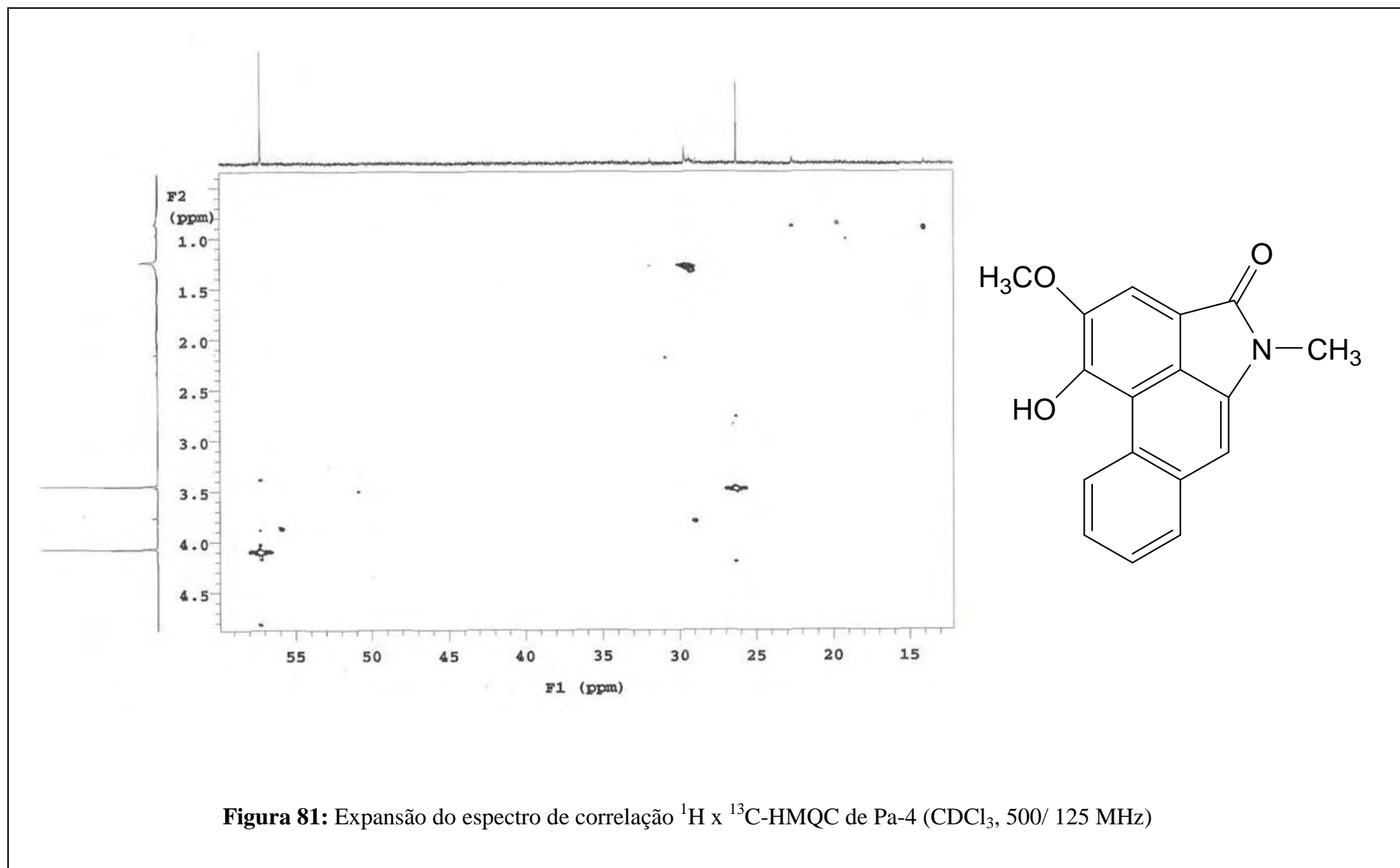
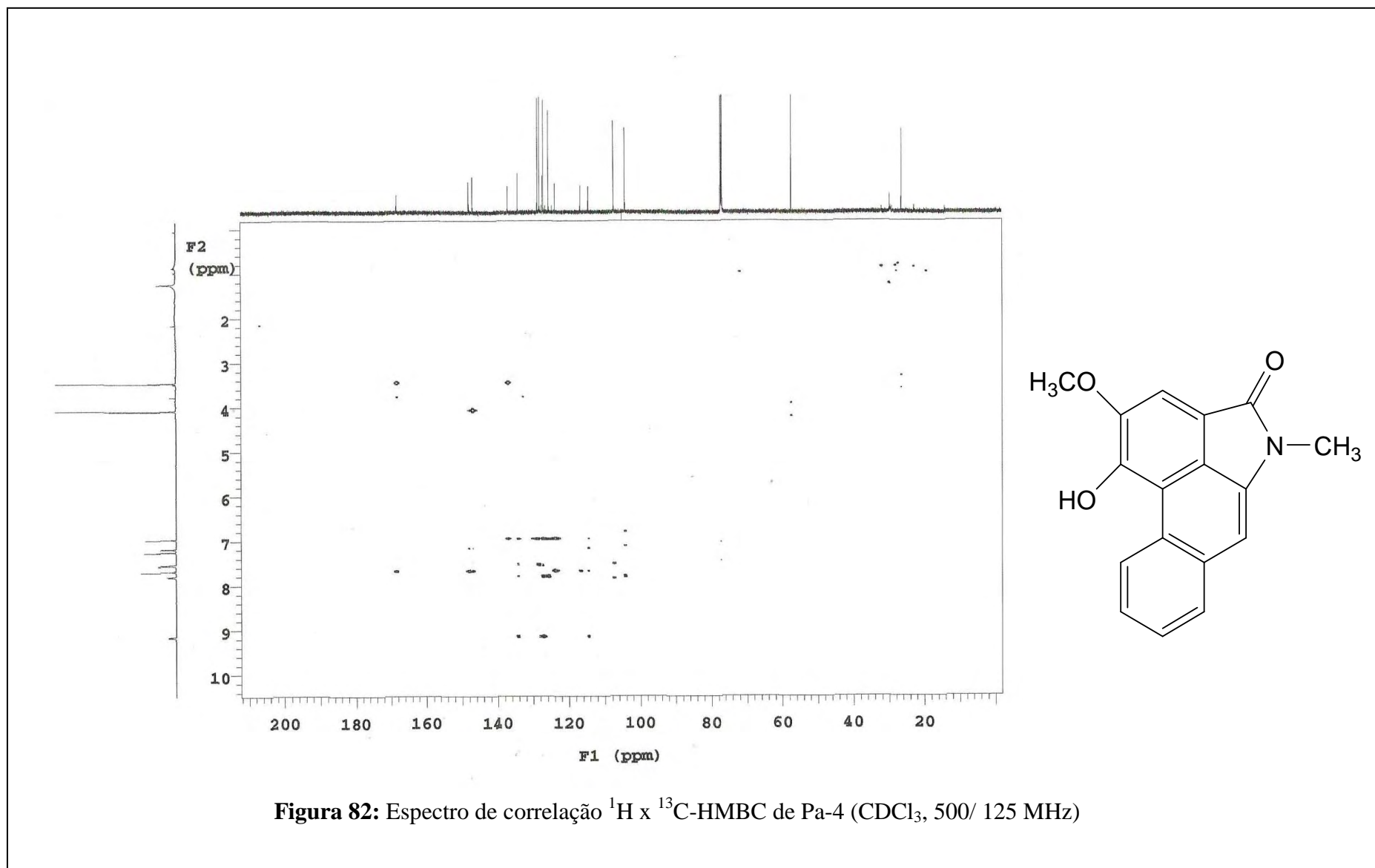
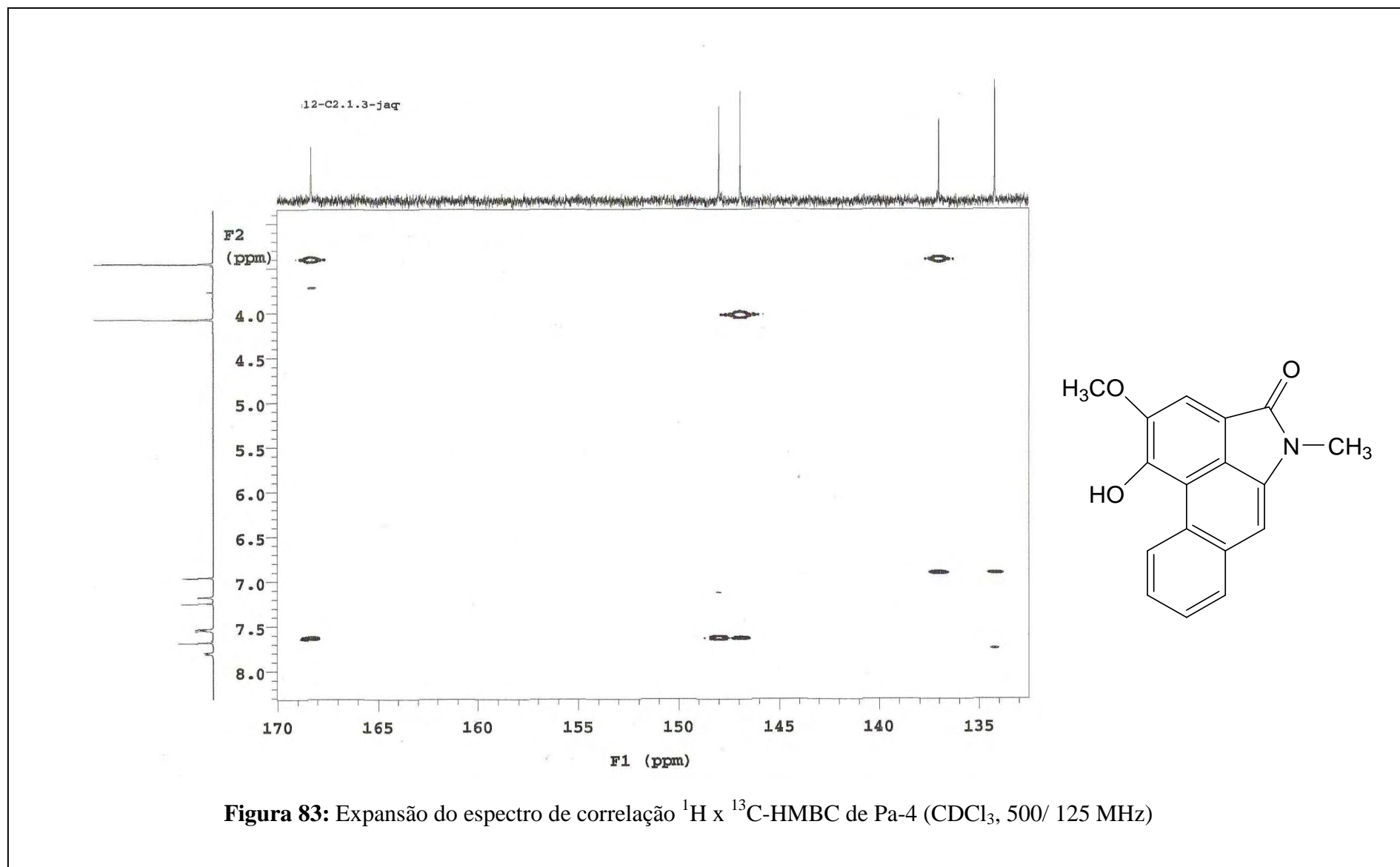


Figura 80: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMOC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)







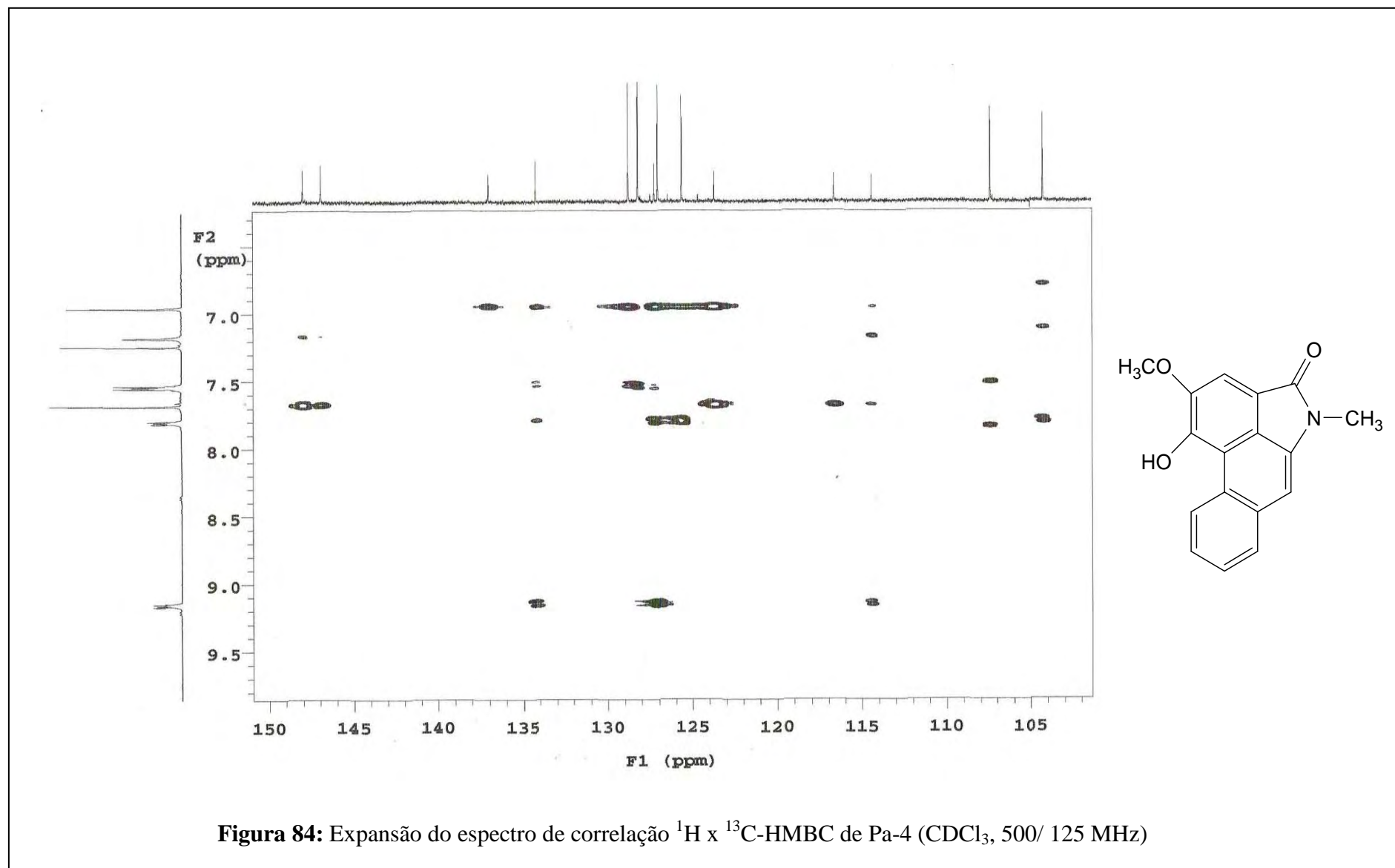
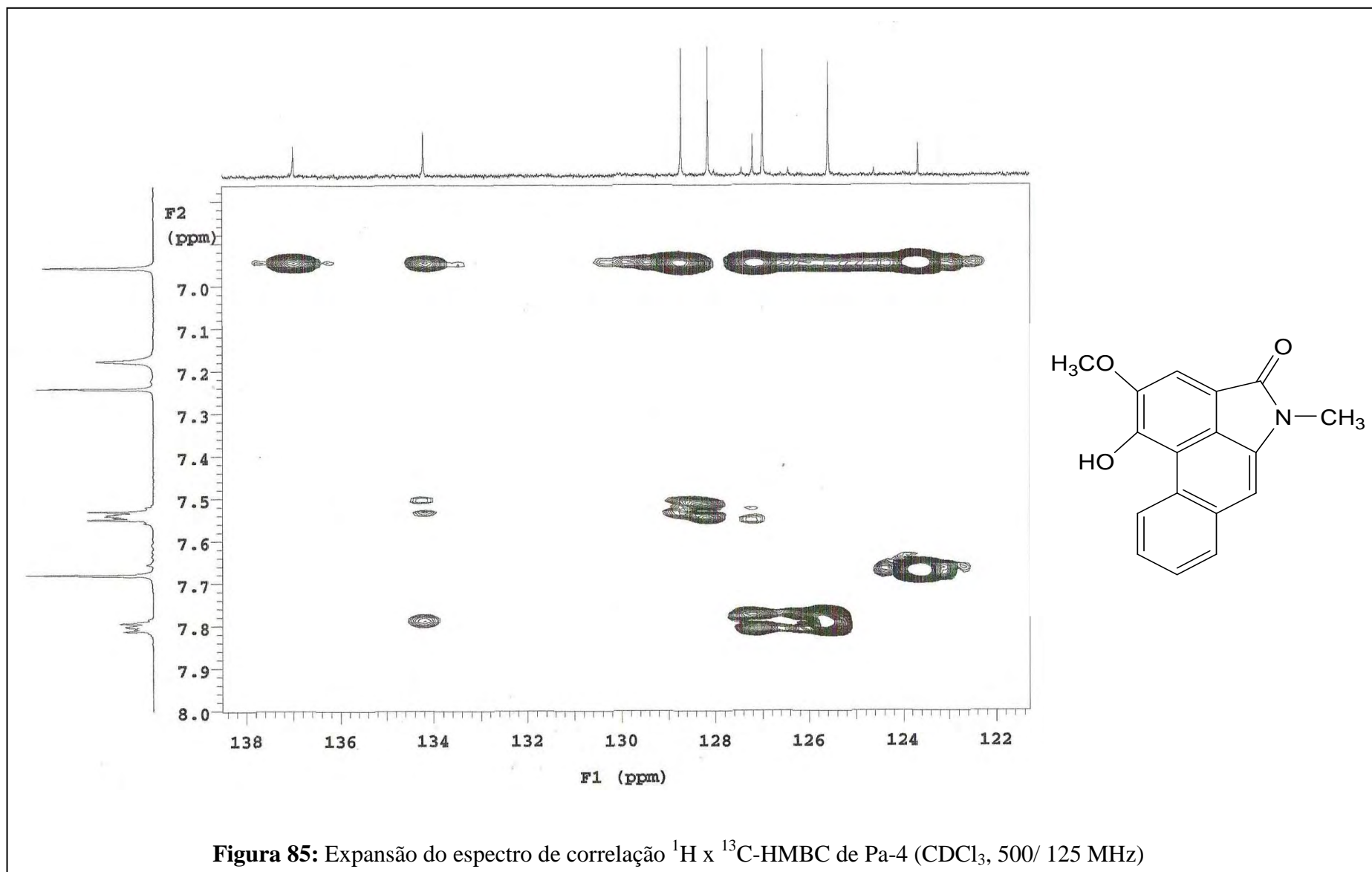


Figura 84: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pa-4 (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)



Conclusões e Perspectivas

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A investigação fitoquímica do extrato hexânico do caule de *Piper arboreum*, revelou a presença de quatro amidas: Piplaroxide (Pa-1a); Sintenpiridona (Pa-1b); 3,4-Epoxi-8,9-dihidropiplartina (Pa-2a) e 8,9 Dihidropiplartina (Pa-2b).e no extrato Diclorometanico do caule desta espécie foram identificadas duas aristolactamas 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama e 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-Ácido carboxilico-lactama codificadas como Pa-3 e Pa-4 respectivamente, todos estes compostos foram isoladas pela primeira vez nesta espécie. Essas estruturas químicas foram caracterizadas através de técnicas espectroscópicas de IV e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais.

Estudos microbianos com os extratos de *Piper arboreum* estão sendo realizados, e as substâncias isoladas serão disponibilizadas para futuros testes farmacológicas.

Considerando o grande potencial metabólico de *Piper arboreum* têm-se como perspectivas dar continuidade ao estudo fitoquímico desta espécie, visando o isolamento de novos compostos bioativos, bem como a integração de estudos biológicos.

Referências

7. REFERÊNCIAS

- AGRA F. M.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmcognosia**. v. 18(3), p. 472-508, 2008.
- ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; DA CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 44(3), p. 559-561, 1997.
- BALDOQUI, D. C., KATO, M. J., CAVALHEIRO, A. J., BLZANI, V. S., YOUNG, M. C. M., FURLAN, M. A chromone and prenylated benzoic acid from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**. v. 51,p. 899-902, 1999.
- BALDOQUI, D. C.; BOLZANI V. S., FURLAN, M.; KATO, M. J., MARQUES, M. O. M. Flavonas, Lignanas e Terpenos de *Piper umbellatum* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 32(5), p. 1107-1109, 2009.
- BERNAD, C. B.; KRIHNAMURTY, H. G.; DURST, T.; PHILOGENE, B. J. R.; SANCHEZVINDAS, P.; HASBUN, C. POVEDA, L.; SANROMAN, L.; ARNASON, J. T. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. **J. Chem. Ecol.** v. 21, p. 801, 1995.
- BEZERRA, D. P.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; ALENCAR, N. M. N. D.; MESQUITA, R. O.; LIMA, M. W.; ALVES, E. R.; COSTA-LOTUFO, L. V. *In vivo* grow inhibition of sarcoma 180 by piperlangumine,an alkaloid amide from the *Piper* species. **Journal of Applied toxicology**. v. 28, p. 599-607, 2008.
- BILIA, A. R., GALLORI, S., VINCIERI, F. F. Kava–kava and anxiety: growing knowledge about the efficacy and safety. **Life Sci**, v. 70, p. 2581–2597, 2002.
- BIZERRIL, M. X. A. & RAW, A. Feeding behavior of bats and the dispersal of *Piper arboretum* seeds in Brazil. **Journal of Tropical Ecology**. v. 14, p. 109-114, 1998.
- BODIWALA, H. S.; Singh, G.; Dey, C. S.; SRAMA, S. S.; BHUTANI, K. K.; SINGH, I. P. 2007. Antileishmanial amids and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. **J. Nat. Med.** v. 61, p. 418, 2007.

- CAPRON, M. A. & WIEMER, D. F. Piplaroxide, an Ant-Repellent Piperidine Epoxide from *Piper tuberculatum*. **J. Nat. Prod.** v. 59, p. 594-595, 1996.
- CARDOZO-JÚNIOR, E. L. & CHAVES M. C. O. Caldensin, a new N-methylaristolactam alkaloid from *Piper caldense*. **Pharmaceutical Biology.** v. 41, p. 216-218, 2003.
- CHAVES, M. C. O. & SANTOS, B. V. O. (E,E)-N-Isobutyl-2,4-octadienamides from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematic and Ecology.** v.27(1), p.113-114, 1999.
- CHAVES, M.C.O., & DA CUNHA, E.V.L. Two amides from *Piper tuberculatum* fruits. **Fitoterapia.** v.72, p. 197-199, 2001.
- CHAVES, M. C. O.& SANTOS, B. V. O. Constituents from *Piper marginatum* fruits. **Fitoterapia,** v. 73(6), p. 547-549, 2002.
- CHAVES, M. C. O.; SANTOS, B. V. O.; DE OLIVEIRA, A. 1-Cinnamoyl piperidide from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematic and Ecology,** v. 31, p.1213-1214, 2003
- CHAVES, M. C. O.; De OLIVEIRA, A. H., SANTOS, B. V. O. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology.** v. 34, p. 75-77, 2006.
- CHEN, J. J.; HUANG, Y. C.; CHEN, Y. C.; HUANG, Y. T.; WANG, Y. T.; PENG, C. Y.; TENG, C. M.; CHEN, I. S. Cytotoxic Amides from *Piper sintonense*. **Planta Medica.** v. 68, p. 980-985, 2002.
- CHEN, J. J.; DUH, C.Y.; HUANG, H. Y.; CHEN, I. S. Cytotoxic Constituents of *Piper sintonense*. **Helvetica Chemica Acta.** v. 86, p. 2058-2064, 2003.
- CHEN, Y. C.; CHEN, J. J.; CHANG, Y. L.; TENG, C. M.; LIN, W. Y.; WU, C. C.; CHEN, I. S. A New Aristolactam Alkaloid and Anti-Platelet Aggregation constituents from *Piper taiwanense*. **Planta Medica.** v. 70, p. 174-177, 2004.
- CHEN, Y. C.; LIAO, C. H.; CHEN, I. S. Lignans, amid and anti-platelet activities from *Piper philippinum*. **Phytochemistry.**, v. 68, p. 2101, 2007.
- CORDELL, A. G. Biodiversity and Drug Discovery – A Symbiotic Relationship. **Phytochemistry.** v. 55, p. 462-480, 2000.

- DANELUTTE, A. P.; COSTANTINI, M. B.; DELGADO, G. E.; BRAZ-FILHO, R.; KATO, M. J. Divergent of secondary metabolism in cell suspension cultures and differentiated plants of *Piper cernuum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 16, p. 1425-1430, 2005.
- DOMINGUEZ, X. A. & ALCORN, J. B. Screening of medicinal plants used by huastec mayans of northeast México. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 13, p. 157-163, 1985.
- DRAGULL K. YOSHIDA W. Y. TANG C. S. Piperidine alkaloids from *Piper methysticum*. **Phytochemistry**. v.63, p.193-198, 2003.
- DSAI, S. J.; PRABHU, B. R.; MULCHANDANI, N. B.; Aristolactms and 4,5-diaxoporphines from *Piper longum*. **Phytochemistr.**, v. 27, p.1511-1515, 1988.
- DUH, C. Y.; WU, Y. C.; WAN, S. K. Cytotoxic pyridine alkaloids from *Piper aborescens*. **Journal of Natural**. v. 53(6), p. 1575-1577, 1990.
- DYER, L. A. & PALMER, A. D. N. *Piper: A model genus for studies os phytochemistry, ecologt and evolution*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2004.
- FELIPE, C. B. Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and anyidepressant effects in mice. **Phytomedicine**. v. 14, p. 605–612, 2007.
- FERNANDES G. G. **Avaliação Fitoquímica de *Sarcorhachis obtusa*-Piperaceae**. Dissertação. Setor de Ciências Eaxtas, UFPR, 2006.
- FLEMING, T. H. Fecundity, fruting pattern and seed dispersal in *Piper amalago* (Piperaceae), a bat-dispersed tropical shrud. **Oecologia**. v. 51. P. 42-46, 1981.
- GOODMAN, L. S. & GILMA A. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. **Editora Guanabara Koogan**. Rio de Janeiro, 1978.
- JARAMILLO, M. A.; & MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **Am. J. Bot.** v. 88, p. 706-716, 2001.
- KAPLAN, M. C. Fitoquímica e atividade Leishhmanicida de espécies de Piperaceae. **XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**. Resumo F-165, 1996.
- KATO, M. J. & FURLAN, M. Chemistry and avolution of the Piperaceae. **Pure Appl. Chem.** v. 79, p. 529, 2007.

- KAOU, A. M.; MAHIU-LEDDET, V.; CANLET, C.; DEBRAUWER, L.; HUTTER, S.; AZAS, N.; OLLIVIER, E. New amide alkaloid from the aerial part of *Piper capense* L.f. (Piperaceae). **Fitoterapia**. v. 81, p. 632-635.
- KIJJOA, A.; GIESEBRECHT, A. M.; GOTTIEB, O. R. Dihidropiartine from *Piper bartlingianum*. **Planta Medica**. v.44, p.188, 1982.
- KUMAR, V.; POONAM.; PRASSAD, A. K.; PARAMAR, V. S. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxoaporphines and their biological activity. **Natural products Reports**. v. 20, p. 563-583, 2003.
- LAGO, J. H.; YOUNG, M. C. M.; REIGADA, J. B.; SOARES, M. G., ROESLER, B. P.; KATO, M. J. 2007. Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *P. lhotzkyanum* (Piperaceae). **Quim. Nova**, v. 30(5), p.1222-1224, 2007.
- LAGO, J. H. & KATO, J. M. 3 α ,4 α -Epoxy-2-piperidone, a new minor derivative from leaves of *Piper crassinervium* Kunth (Piperaceae). **Natural Products Reports**. v. 21(10), p.910-914, 2007
- LEE, S. E.; PARK, B. S.; KIM, M. K.; CHOI, W. S.; KIM, H. T.; CHO K. Y.; LEE, S. G.; LEE, H. S. Fungicidal activity of piperonaline, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. **Crop. Prot.** v. 20, p. 523, 2001.
- LEE, F. P.; CHEN, Y. C.; CEN, J. J.; TSAI, I. L.; CHEN I. S. Cyclobutanoid Amides from *Piper arborescens*. **Helvetica chemical Acta**. v. 87, p. 463-468, 2004.
- LIN, L.C.; SHEN, C.C.; SHEN, Y.C.; TSAI, T.H. Anti-inflammatory neolignans from *Piper kadsura*. **J. Nat. Prod.** v. 69, p.842-844, 2006.
- MABBERLEY, D. J. **The plant book: a portable dictionary of the higher plants**. New York: Cambridge Univ. Press, 1997.
- MARTINS, R. C.; LATORRE, L. R.; SARTORELLI, P., KATO, M. J. Phenylpropanoids and tetrahydrofuran lignans from *Piper solmsianum*. **Phytochemistry**. v. 55, p. 843, 2002.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2^a ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

- MIX, D. B.; GUINAUDEAU, H.; SHAMA, M. The aristolochic acid and aristolactams. **Journal of Natural Products**. v. 45, p. 657-666, 1982.
- MONTARI, C. A. & BOLZANI, V. S. Planejamento racional de Fármacos baseados em Produtos Naturais. **Química Nova**. v. 24(1), p. 105-111, 2001.
- MORANDIM, A. A.; BERGAMO, D. C. B., KATO, M. J., CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Circadian rhythm of anti-fungal prenylated chromene in leaves of *Piper aduncum*. **Phytochem. Anal.** v.16, p. 282, 2005.
- MORIKAWA, T.; MATSUDA, H.; YAMAGUCHI, I.; PONGPIRIYADACHA, Y.; YOSHIKAWA, M. New amides and Gastroprotective Constituents from the fruit of *Piper chaba*. **Planta Medica**. v. 70, p. 152-159, 2004.
- NALINA, T. & RAHIM Z. H. A. The crude aqueous extract of *Piper betle* L. and its antibacterial effect towards. *Streptococcus mutans*. **American Journal of Biotechnology and Biochemistry**. v. 3, p. 10-15, 2007.
- NAVICKIENE H. M.; ALÉCIO A. C.; KATO M. J.; BOLZANI V. S.; YOUNG M. C. M.; CAVALHEIRO A. J.; FURLAN M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**. v. 55, p.621-626, 2000.
- NAVICKIENE, M. D.; BOLZANI V. S.; KATO, M. J.; PEREIRA, A. M. S., BERTONI, B. W., FRANÇA, S. C., FURLAN, M. Quantitative determination of anti-fungal and insecticide amides in adult plants, plantlets and callus from *Pier tuberculatum* by reserve-phase high-performance liquid chromatography. **Phytochemistry Analysis**. v. 34, p.281-284, 2003.
- NAVICKIENE, M. D.; MORANDIM, A. A.; ALÉCIO A. C.; REGASINI, L. O.; BERGAMO D. C. B.; TELASCREA M.; CAVALHEIRO A. J.; LOPES M. N.; BOLZANI V. S.; FURLAN M.; MARQUES, M. O. M.; YOUNG M. C. M.; KATO M. J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**. v. 29(3), p. 467-470, 2006.
- NUNEZ, V.; CASTRO, V.; MURILLO, R.; SOTO, L.A.P.; MERFORT, I.; LOMONTE, B. Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards myotoxic phospholipases A2 from Bothrops snake venoms: isolation of 4- nerolidylcatechol as active principle. **Phytochemistry**. v.66, p.1017-1025, 2005.

- PALMERIM, J. M.; GORCHOY, D. L.; STOLESON, S. Trophic structure of a neotropical frugivore community: is there competition between birds and bats? **Oecologia**. v. 79, p. 403-411, 1989.
- PARK, B. S.; SON, D. J.; PARK, Y. H.; KIM, T. W.; LEE, S. E. Antiplatelet effects of acid amides isolated from the fruits of *Piper longum* L. **Phytomedicine**. v. 14, p. 853–855, 2007.
- PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O. D., PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistr.** v. 46(4), p. 597-673, 1997.
- RAMOS, C. S. & KATO, M. J. Hidrólise do benzoato de metila de *Piper arboreum* pelo besouro *Naupactus bipes*. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 20(3), p. 560-563, 2009.
- RANG, H. P.; DALE M. M.; RITTER, J. M. Farmacologia. **Editora Guanabara Koogan**. Rio de Janeiro, 1997.
- REGASINI, L. O., COTINGUIBA, F., MORANDIMA, A., KATO, M. J., MENDES-GIANNINI, M. J., BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. (Piperaceae) against opportunistic yeasts. **African journal of Biotechnology**, v. 8(12), p. 2866-2870, 2009a.
- REGASINI, L. O.; COTINGUIBA, F.; PASSERINI G. D.; BOLZANI, V. S.; CICARELLI, R. M. B.; KATO, M. J., M. J.; FURLAN, M. Trypanocidal activity of *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmcognosia**. v. 19(1B), p. 199-203, 2009b.
- ROSA, S. M.; SOUZA, L. A.. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *médium* Liannaeus (Piperaceae). **Acta Científica Venezuelana**, v. 55, p. 27-34, 2004.
- RUANGRUNGSI, N.; PRATHANTURARUG, S.; LANGE, H. L.; ORGAN, M. G. An N-methyl aristolactam and an oxygenated cyclohexane derivative from *Piper ribesioides*. **Phytochemistry**. v. 31, p. 2397–2400, 1992.
- SANTOS, B. V. O.; DA CUNHA, E. V. L., CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Phenylalkanoids from *Piper marginatum*. **Phytochemistr.** v. 49(5), p. 1381-1384, 1998.

- SCHIBER, S. L. Small molecules. The missing link in the central dogma. **Nature Chemical Biology**. v. 1, p. 64-66, 2005.
- SEERAM, N. P.; LEWIS, P. A.; JACOBS, H. 3,4-Epoxy-8,9-dihydroplartine. A New Imide from *Piper verrucosum*. **J. Nat. Prod.** v. 59, p.436-437, 1997.
- SILVA, R. V.; NAVICKIENE, H. M. D.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; MÉDA, C. I.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M. Antifungal Amides from *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 59, P. 521-527, 2002.
- SING, S. K.; PRASAD, A. K.; OLSEN, C. E.; SHA, A.; JAIN, S. C; PARAMAR, V. S.; WENGEL, J. Neolignans and alkaloids from *Piper argyrophyllum*. **Phytochemistry**, v. 43, P. 1355-1360, 1996.
- SOUZA, L. A.; ALBIERO, A. L. M.; ALMEIDA O. J. G.; LOPES W. A. L.; MOURÃO K. S. M.; MOSCHETA, I. Estudo Morfo-anatomico da Folha e do Caule de *Piper arboreum* Aubl. (Piperaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. V. 28(1), p. 103-107, 2009.
- SRINIVASAN, K. Black peper and its Pugent Principle Piperine: A review Diverse Physiological Effects. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** v. 47, p. 735, 2007.
- SUN, N. J.; ANTOUN, M.; CHANG, C. J.; CASSADY, J. M.; New cytotoxic aristolactams from *Pararistolochia flos-avis*. **J. Nat. Prod.** v. 50, p. 843-846, 1987.
- TABOPDA, T. K.; NGOUPAYO, J.; LIU, J.; MTAINE-OFFER, A. C.; TANOLI, S. A. K.; KHAN, S. N.; ALI, M.; NGADJUI, B. T.; TSAMO, E.;LACAILLE-DUBOIS, M. A.; LUU, B. Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. **Phytochemistry**. v. 69, p. 1726-1731, 2008.
- TSAI, I. L.; LEE, F. P.; DUH, C. Y.; ISHIKAWA T.; CHEN, J. J.; CHEN, Y. C.; SEKI, H.; CHEN, I. S. New citotoxic cyclobutanoid amides, a new furanoid lignan and anti-platelet agregation constituents from *Piper arborescens*. **Planta Medica**. v. 71, p. 535-542, 2005.
- VIEGAS-JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO E. J. Os Produtos Naturais e a Química Moderna. **Química Nova**. v. 29(2), p. 326-337, 2006.

- WANKE S.; JARAMILLO, M. A.; BORSCH, T.; SAMAIN, M. S.; QUANDT D.; NEINHUIS, C. Evolution of Piperales-*matK* gene and *trnK* sequence data lineage specific resolution contrast. **Mol. Phylogenet. Evol.** v. 42, p. 477-497, 2007.
- WHITTON, P. A.; LAU, A.; SALISBURY, A.; WHITEHOUSE, J.; EVANS, C. S. Kava lactons and kava-kava controversy. **Phytochemistry.** v. 64, p. 673-679, 2003.
- WILMAN, D. A.; ELISEO, A. M.; AURA, P. D. Alcaloides Bencilisoquinol-ínicos del talo de *Piper augustm* Rudge. **Revista Colombiana de Química.** v. 27(1), p. 13-21, 1998.
- WU, Q. L.; SHENG-PING, W.; GUANG-ZHONG, T.; YU-XIU, F.; JUN-SHAN, Y. Alkaloids from *Piper puberullum*. **Phytochemistry.** v. 44(4), p. 727-730, 1997.
- WU, D.; NAIR, M. G.; DEWITT, D. L. Novel compounds from *Piper methysticum* Forst (kava kava) roots and their effect on cyclooxygenase enzyme. **J Agric Food Chem.** v. 50, p. 701-705, 2002.
- XUAN, T. D., FUKUTA, M., WEI, A. C., ELZAAWELLEY, A. A., KHANH, T. D., TAWATA, S. Efficacy of extracting solvents to chemical components of kava (*Piper methysticum*) roots. **J. Nat Med,** v. 62, p. 188-194, 2008.
- YAMAGUCHI, L.F.; LAGO, J. H. G.; TANIZAKI, T. M.; MASCIO, P. D.; KATO, M. J.; Antioxidant activity of prenylated hydroquinone and benzoic acid derivatives from *Piper crassinervium* Kunth. **Phytochemistry.** v. 67, p. 1838-1843, 2006.
- YANG, Y. C.; LEE, H. K.; KIM M. K.; LEE, S. H.; LEE, H. S. A Piperidine Amide Extracted from *Piper longum* L. Fruit Shows Activity against *Aedes aegypti* Mosquito Larvae. **J. Agric. Food Chem.** v. 50, p. 3765, 2002.
- YAO, C. Y.; WANG, J.; QIAN, F. G.; XIE, J.; PAN, S. L. Laetispicine, an amide alkaloid from *Piper laetispicum*, presents antidepressant and antinociceptive effects in mice. **Phytomedicine.** v. 16, p. 823-829, 2009.
- YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: Sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: **Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna.** 1ª Ed. Chapecó: Argos. 1ª Edição, 18-91, 2001.

YUNES, R. A. & CECHINEL-FILHO, V. Novas perspectivas dos produtos naturais na química medicinal moderna. In: Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. **Editora UNIVALI**. 1ª Edição, 2007.

ZANON, C. M. V. & REIS, N. R. D. Bats (Mammalia chiroptera) in the Ponta Grossa region Campos Gerais, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de zoologia**. v. 24, p. 327-332.