



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

ESTUDO FITOQUÍMICO DE PIPERACEAS DO NORTE E NORDESTE
BRASILEIRO: *Piper lateripilosum* Yuncker, *Piper mollicomum* Kunth e
***Piper montealegreanum* Yuncker**

DANIELLE SERAFIM PINTO

JOÃO PESSOA - PB

2012

DANIELLE SERAFIM PINTO

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE PIPERACEAS DO NORTE E NORDESTE
BRASILEIRO: *Piper lateripilosum* Yuncker, *Piper montealegreanum*
Yuncker, *Piper mollicomum* Kunth**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos,
Universidade Federal da Paraíba, objetivando a
obtenção do título de Doutora em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos, área de concentração
Farmacoquímica.

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

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. EMÍDIO VASCONCELOS LEITÃO DA CUNHA

JOÃO PESSOA – PB

2012

DANIELLE SERAFIM PINTO

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE PIPERACEAS DO NORTE E NORDESTE
BRASILEIRO: *Piper lateripilosum* Yuncker, *Piper montealegreanum*
Yuncker, *Piper mollicomum* Kunth**

BANCA EXAMINADORA

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

.....
Prof^ª. Dr^ª. Celidarque da Silva Dias
Examinadora Interna

.....
Prof^ª. Dr^ª. Márcia Ortiz Mayo Marques
Examinadora Externa

.....
Prof^ª. Dr^ª. Mariana Helena Chaves
Examinadora Externa

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

.....
Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha
Co-Orientador

**“Posso, tudo posso Naquele que me fortalece.
Nada e ninguém no mundo vai me fazer
desistir”**

**Aos meus pais Domilson Costa Pinto e Inêz
Serafim de Lima Pinto pela incansável
dedicação e empenho na minha educação
profissional.**

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força e coragem para superar as dificuldades da vida.

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

Aos meus irmãos Dailson e Danilo pelo apoio e estímulo à dedicação dos meus propósitos.

Ao meu namorado, Leonardo Anaud pelo carinho, incentivo e paciência, principalmente na fase de elaboração da tese.

Às minhas cunhadas Lisandra e Marcelle que sempre me deram força e incentivo nesta caminhada.

A todos os meus tios e tias que sempre se fizeram presentes em todo momento que precisei de apoio.

À minha Orientadora Dr^a Maria Célia de Oliveira Chaves pela confiança, amizade e dedicação em sua orientação, contribuindo não apenas para minha formação acadêmica como também humanitária. Você é um grande exemplo de ética profissional.

Ao meu co-orientador Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha pelo companheirismo e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei pela amizade e por toda disponibilidade em ajudar na produção científica.

Aos professores Davi Antas, Celidarque da Silva e Maria de Fátima Vanderlei por aceitarem o convite de participarem da minha banca de qualificação e por suas valiosas contribuições.

À Rosângela Sarquis, Leonardo Félix e Elsie Guimarães pela identificação dos materiais botânicos.

Aos Professores da graduação e pós-graduação, cujos ensinamentos me acompanharam por toda vida.

A Moisés, Mayza, Jacqueline e Jeane pelo grande laço de amizade, dedicação e empenho no desenvolvimento deste trabalho, sempre trabalhando em equipe. A contribuição de vocês foi essencial na obtenção de cada resultado desta tese.

Às minhas grandes e eternas amigas Vanine Gomes, Anna Cláudia e Adriana Maria pela convivência saudável e inestimável amizade nos momentos difíceis e alegres.

Aos amigos Sócrates, Steno, Viviane, Roosevelt, Rafael, Analúcia, Ana Silvia, Thaisa, Gabriela, Alexandro, Sandro e Cinthia pela valiosa ajuda e ótima vivência no laboratório, sempre prestativos, solidários.

A todos os colegas de pós-graduação que caminharam juntos comigo para concretização de um sonho.

Ao meu grande amigo Fábio Henrique pela grande dedicação, estímulo e ajuda em toda minha caminhada.

Aos técnicos e funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) pela competência e apoio, fundamentais para o bom andamento deste trabalho.

A Raimundo Nonato, grande amigo, por sempre servir a todos com alegria e boa vontade.

A Vicente Carlos pela paciência e competência e por contribuir com o nosso trabalho com muito bom senso e responsabilidade.

Ao CNPq pelo essencial apoio financeiro.

À toda família do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, onde, apesar das dificuldades, caminhei para a concretização de grandes realizações.

RESUMO

O gênero *Piper* é o maior da família Piperaceae, com pelo menos 1000 espécies distribuídas especialmente na região Neotropical, onde cerca de dois terços das espécies descritas são encontradas. É um gênero com boa representatividade comercial e muitas aplicações medicinais. A investigação fitoquímica de espécies deste gênero, de tão grande riqueza metabólica e de vasta utilização pela medicina popular, além de suas várias atividades biológicas citadas na literatura, pode abrir perspectivas para a química, farmacologia e quimiotaxonomia. Este trabalho relata o estudo fitoquímico de três espécies de *Piper*, visando o isolamento e identificação de seus constituintes químicos, bem como a disponibilização de seus extratos, frações e substâncias isoladas, para realização de estudos farmacológicos. Utilizando-se métodos cromatográficos convencionais 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 das partes aéreas de *Piper lateripilosum*, coletada no Amapá, cinco amidas e dois esteróides todos isolados pela primeira vez nesta espécie. Da espécie *Piper mollicomum*, da Paraíba, foram isoladas uma nova amida e uma cumarina, das respectivas fases hexânica e clorofórmica do extrato etanólico bruto das folhas, além de um derivado do ácido benzóico e de uma aristolactama obtidos da fase clorofórmica do caule desta espécie. A amida está sendo relatada pela primeira vez na literatura, a cumarina pela primeira vez no gênero e o derivado do ácido benzóico e a aristolactama pela primeira vez nesta espécie. Das partes aéreas de *Piper montealegreanum*, coletada em Belém – PA, foi possível isolar uma nova chalcona, a 3'-metoxi,3,4',6'-triidroxi, 2',5'-dimetilchalcona, bem como reisolar os flavonóides 8-formil-3',5-diidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona; 3'-formil-3,4',6'-triidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona e (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona. Os extratos e algumas fases e substâncias isoladas foram disponibilizadas para a investigação da atividade antimicrobiana, hemolítica e moduladora da resistência à drogas antibacterianas.

PALAVRAS-CHAVES: Piperaceae, *P. lateripilosum*, *P. mollicomum* e *P. montealegreanum*.

ABSTRACT

The genus *Piper* is the largest in the family Piperaceae, with at least 1,000 species distributed particularly in the Neotropical region, where about two thirds of the described species can be found. It is a genus commercially important and with many medical applications. The phytochemical investigation of species of this genus which is so rich in metabolites and has widespread use in folk medicine, besides its various biological activities reported in the literature, can open exciting perspectives for the chemistry, pharmacology and chemotaxonomy. This work reports the phytochemical study of three species of *Piper*, aiming at the isolation and identification of their chemical constituents as well as the pharmacological evaluation of extracts, fractions and isolated compounds. Through usual chromatographic methods and spectroscopic techniques such as IR and one- and two-dimensional ^1H and ^{13}C NMR techniques and comparison with literature data it was possible to isolate and identify five amides and two steroids from the aerial parts of *Piper lateripilosum* collected in Amapá, all of them isolated for the first time in this species. From *Piper mollicomum* collected in Paraíba were isolated a new amide and a coumarin of the hexane and chloroform phases of the crude ethanol extract of the leaves, respectively, and a benzoic acid derivative and a aristolactam of the chloroform phase obtained from the crude ethanol extract of the stem of this species. The amide is first reported in the literature, the coumarin for the first time in the genus and the benzoic acid derivative and the aristolactam for the first time in this species. From *Piper montealegreanum* collected in Belém-PA it was possible to isolate a new chalcone, 3'-methoxy,3,4',6'-trihydroxy, 2',5'-dimethylchalcone, and reisolate the flavonoids 8-formyl-3',5-dihydroxy-7-methoxy-6-methylflavanone; 3'-formyl-3, 4', 6'-trihydroxy-2-methoxy-5-methylchalcone and (2'-methoxy-3'-formyl-4', 6'-dihydroxy-5'-methyl phenyl) - [3''-(dimethylbut-6''-enyl)- 7- phenyl-(3-hydroxy) -cyclohex-2''-enyl]-methyl-9-one. The extracts, some phases and substances isolated from the species studied were submitted to investigation of antimicrobial and hemolytic activities, and modulator of resistance to antibacterial drugs.

KEYWORDS: Piperaceae, *P. lateripilosum*, *P. mollicomum* and *P. montealegreanum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Proposta biossintética da amida aegelina	58
Figura 2. Estruturas químicas das principais classes de flavonóides e do seu núcleo fundamental	63
Figura 3. Espectro de IV <i>Pl</i> -1 em pastilha de KBr	94
Figura 4. Espectro de RMN ^1H de <i>Pl</i> -1 (CDCl_3 , 500 MHz)	94
Figura 5. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pl</i> -1 na região de 6,6 – 6,7 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	95
Figura 6. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl</i> -1 na região de 1,8 – 0,7 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	95
Figura 7. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl</i> -1 na região de 3,6 – 2,5 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	96
Figura 8. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl</i> -1 na região de 2,90 – 2,50 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	96
Figura 9. Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pl</i> -1 (CDCl_3 , 125 MHz)	97
Figura 10. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl</i> -1 na região de 170 – 110 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	97
Figura 11. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl</i> -1 na região de 48 – 26 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	98
Figura 12. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C - HMQC de <i>Pl</i> -1 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	98

Figura 13. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-1</i> na região de 7,2 – 5,4 x 124- 98 ppm	99
Figura 14. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-1</i> na região de 4,0 – 1,0 x 50- 22 ppm	99
Figura 15. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de <i>Pl-1</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	100
Figura 16. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-1</i> na região de 7,8 – 5,0 x 150 – 96 ppm	100
Figura 17. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-1</i> na região de 4,0 – 2,1 x 174 – 104 ppm	101
Figura 18. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-1</i> na região de 7,4 – 0,5 x 52 – 16 ppm	101
Figura 19. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de <i>Pl-1</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	102
Figura 20. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-1</i> na região de 8,2 – 5,4 x 7,8 – 5,6 ppm	102
Figura 21. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-1</i> na região de 4,5 – 0,5 x 4,3 – 0,5 ppm	103
Figura 22. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de <i>Pl-1</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	103
Figura 23. Expansão do espectro de NOESY de <i>Pl-1</i> na região de 4,0 – 2,2 x 4,0 – 2,2 ppm	104
Figura 24. Expansão do espectro de NOESY de <i>Pl-1</i> na região de 7,0 – 5,4 x 7,0 – 5,4 ppm	104
Figura 25. Expansão do espectro de NOESY de <i>Pl-1</i> na região de 2,4 – 0,6 x 2,4 – 0,6 ppm	105

Figura 26. Espectro de massas (ESI-MS) de <i>Pl-1</i>	105
Figura 27. Propostas de fragmentações para <i>Pl-1</i> , a partir do espectro de massas ESI-MS	91
Figura 28. Espectro de IV <i>Pl-2</i> em pastilha de KBr	112
Figura 29. Espectro de RMN ^1H de <i>Pl-2</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	112
Figura 30. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl-2</i> na região de 6,90 – 6,69 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	113
Figura 31. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl-2</i> na região de 6,5 – 5,9 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	113
Figura 32. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl-2</i> na região de 3,8 – 1,2 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	114
Figura 33. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl-2</i> na região de 3,6 – 3,3 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	114
Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pl-2</i> (CDCl_3 , 125 MHz)	115
Figura 35. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl-2</i> na região de 48 – 26 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	115
Figura 36. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl-2</i> na região de 170 – 100 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	116
Figura 37. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de <i>Pl-2</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	116
Figura 38. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-2</i> na região de 7,6 – 5,4 x 135 - 100 ppm	117
Figura 39. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-2</i> na região de 4,0 – 0,5 x 50 - 22 ppm	117

Figura 40. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de <i>Pl-2</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	118
Figura 41. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-2</i> na região de 7,4 – 5,4 x 170 – 100 ppm	118
Figura 42. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-2</i> na região de 7,0 – 6,6 x 149 – 128 ppm	119
Figura 43. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-2</i> na região de 4,5 – 1,0 x 46 – 20 ppm	119
Figura 44. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de <i>Pl-2</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	120
Figura 45. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-2</i> na região de 8,0 – 5,4 x 7,8 – 5,6 ppm	120
Figura 46. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-2</i> na região de 4,0 – 0,5 x 4,0 – 0,5 ppm	121
Figura 47. Espectro de massas (ESI-MS) de <i>Pl-2</i>	121
Figura 48. Expansão 1 do espectro de massas (ESI-MS) de <i>Pl-2</i>	122
Figura 49. Propostas de fragmentações para <i>Pl-2</i> , a partir do espectro de massas ESI-MS	109
Figura 50. Espectro de IV <i>Pl-3</i> em pastilha de KBr	126
Figura 51. Espectro de RMN ^1H de <i>Pl-3</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	126
Figura 52. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl-3</i> na região de 7,6 – 6,8 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)	127
Figura 53. Expansão do espectro RMN ^1H de <i>Pl-3</i> na região de 3,8 – 1,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz).	127

Figura 54. Espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl</i> -3 na região de 200 – 20 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	128
Figura 55. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl</i> -3 na região de 165 – 123 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	128
Figura 56. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl</i> -3 na região de 116– 102 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	129
Figura 57. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de <i>Pl</i> -3 na região de 45– 20 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)	129
Figura 58. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de <i>Pl</i> -3 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	130
Figura 59. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl</i> -3 na região de 8,2 – 5,4 x 145 - 100 ppm	130
Figura 60. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl</i> -3 na região de 4,5 – 0,5 x 51 - 17 ppm	131
Figura 61. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de <i>Pl</i> -3 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	131
Figura 62. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl</i> -3 na região de 8,5 – 5,0 x 170 – 100 ppm	132
Figura 63. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl</i> -3 na região de 7,8 – 5,8 x 168 – 140 ppm	132
Figura 64. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl</i> -3 na região de 8,0 – 5,5 x 133 – 98 ppm	133
Figura 65. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl</i> -3 na região de 4,0 – 0,5 x 50 – 15 ppm	133
Figura 66. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de <i>Pl</i> -3 (CDCl_3 , 500 MHz)	134

Figura 67. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-3</i> na região de 8,0 – 5,5 x 7,6 – 5,6 ppm	134
Figura 68. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-3</i> na região de 4,5 – 0,5 x 4,2 – 0,6 ppm	135
Figura 69. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-3</i> na região de 7,8 – 6,6 x 7,6 – 6,6 ppm	135
Figura 70. Espectro de massas (ESI-MS) de <i>Pl-3</i>	136
Figura 71. Expansão do espectro de massas (ESI-MS) de <i>Pl-3</i>	136
Figura 72. Propostas de fragmentações para <i>Pl-3</i> , a partir do espectro de massas ESI-MS	123
Figura 73. Espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500MHz) de <i>Pl-4</i>	142
Figura 74. Expansão do espectro de RMN de ^1H de <i>Pl-4</i> , na região de 5,65 a 7,42 ppm.	142
Figura 75. Expansão do espectro de RMN de ^1H de <i>Pl-4</i> , na região de 6,54 a 7,5 ppm	143
Figura 76. Expansão do espectro de RMN de ^1H de <i>Pl-4</i> , na região de 0,70 a 3,6 ppm	143
Figura 77. Espectro de RMN ^{13}C - APT ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 125MHz) de <i>Pl-4</i>	144
Figura 78. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pl-4</i> na região de 115 a 170 ppm	144
Figura 79. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pl-4</i> na região de 115 a 131 ppm	145
Figura 80. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pl-4</i> na região de 28 a 42 ppm	145

Figura 81. Espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pl-4</i> ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 125 MHz)	146
Figura 82. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pl-4</i> na região de 170-115 ppm	146
Figura 83. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pl-4</i> na região de 42-28 ppm	147
Figura 84. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC de <i>Pl-4</i> ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500 e 125 MHz)	147
Figura 85. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-4</i> na região de 7,8-5,6 x 116,0-142,0	148
Figura 86. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-4</i> na região de 6,9-6,5 x 114,6-116,0 ppm	148
Figura 87. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-4</i> na região de 4,0-0,5 x 28,0-50,0	149
Figura 88. Expansão do espectro HMQC de <i>Pl-4</i> na região de 7,3-6,75 x 129,2-130,6	149
Figura 89. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de <i>Pl-4</i> ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500 e 125 MHz)	150
Figura 90. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 8,0 -5,0 x 125-170 ppm	150
Figura 91. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 8,2-5,6 x 155-168 ppm	151
Figura 92. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 8,5-3,0 x 150-170 ppm	151
Figura 93. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 7,05-6,5 x 125-155 ppm	152

Figura 94. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 7,6-6,0 x 126-142 ppm	152
Figura 95. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 3,8-2,2 x 128,4-130,8 ppm	153
Figura 96. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 7,0-2,0 x 33-42 ppm	153
Figura 97. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 7,6-6,9 x 136-141 ppm	154
Figura 98. Expansão do espectro HMBC de <i>Pl-4</i> na região de 7,0-6,50 x 129,2-131 ppm	154
Figura 99. Espectro de RMN ^1H x ^1H - COSY de <i>Pl-4</i> (CDCl_3 + CD_3OD , 500 e 125 MHz)	155
Figura 100. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-4</i> na região de 4,5 – 0,5 x 4,0 – 1,0 ppm	155
Figura 101. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-4</i> na região de 7,8 – 5,4 x 7,6 – 5,6 ppm	156
Figura 102. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-4</i> na região de 3,5 – 2,5 x 3,5 – 2,5 ppm	156
Figura 103. Expansão do espectro de COSY de <i>Pl-4</i> na região de 7,0–6,5 x 7,0–6,5 ppm	157
Figura 104. Espectro de RMN ^1H de <i>Pl-5</i> (CDCl_3 , 200 MHz)	161
Figura 105. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pl-5</i> , na região de 3,4 a 5,3 ppm	161
Figura 106. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pl-5</i> , na região de 0,0 a 2,2 ppm	162

Figura 107. Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pl-5</i> (CDCl_3 , 50 MHz)	162
Figura 108. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pl-5</i> na região de 120,0 a 150,0 ppm	163
Figura 109. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pl-5</i> na região de 75,0 a 45,0 ppm	163
Figura 110. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pl-5</i> na região de 45,0 a 10,0 ppm	164
Figura 111. Espécie <i>Piper mollicomum</i>	169
Figura 112. Espectro de IV <i>Pmoll-1</i> em pastilha de KBr	187
Figura 113. Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-1</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	187
Figura 114. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-1</i> na região de 6,0 a 7,6 ppm	188
Figura 115. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-1</i> na região de 6,58 a 6,76 ppm	188
Figura 116. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-1</i> na região de 5,7 a 6,4 ppm	189
Figura 117. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-1</i> na região de 2,3 a 3,5 ppm	189
Figura 118. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-1</i> na região de 1,3 a 32,2 ppm	190
Figura 119. Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pmoll-1</i> (CDCl_3 , 125 MHz) na região de 0 a 180 ppm	190
Figura 120. Expansão do Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pmoll-1</i> na região de 100 a 165,55 ppm	191

Figura 121. Expansão do Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pmoll</i> -1 na região de 24 a 48 ppm	191
Figura 122. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de <i>Pmoll</i> -1 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	192
Figura 123. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 7,8 – 5,6 x 100- 144 ppm	192
Figura 124. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 4,0 – 0,5 x 96 - 120 ppm	193
Figura 125. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 7,8 – 5,4 x 10 - 50 ppm	193
Figura 126. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 4,0 – 1,0 x 22 - 50 ppm	194
Figura 127. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de <i>Pmoll</i> -1 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	194
Figura 128. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 2,8 – 2,2 x 32,5 – 37,5 ppm	195
Figura 129. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 7,2 – 5,4 x 120,0 – 170,0 ppm	195
Figura 130. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 7,4 – 5,4 x 30,0 – 110,0 ppm	196
Figura 131. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 3,2 – 1,8 x 105,0 – 145,0 ppm	196
Figura 132. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll</i> -1 na região de 3,8 – 3,1 x 21,0 – 28,0 ppm	197

Figura 133. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll-1</i> na região de 2,4 – 1,1 x 23,0 – 31,0 ppm	197
Figura 134. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de <i>Pmoll-1</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	198
Figura 135. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-1</i> na região de 7,4 – 5,6 x 5,6 – 7,4 ppm	198
Figura 136. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-1</i> na região de 6,4 – 5,67 x 5,7 – 6,4 ppm	199
Figura 137. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-1</i> na região de 6,0 – 1,5 x 1,5 – 6,0 ppm	199
Figura 138. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-1</i> na região de 3,6 – 1,2 x 1,3 – 3,6 ppm	200
Figura 139. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-1</i> na região de 2,3 – 1,2 x 1,2 – 2,3 ppm	200
Figura 140. Espectro de massas (ESI-MS) de <i>Pmoll-1</i>	201
Figura 141. Espectro de IV <i>Pmoll-2</i> em pastilha de KBr	205
Figura 142. Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-2</i> (CDCl_3 , 500MHz)	205
Figura 143. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-2</i> na região de 6,1a 7,6 ppm	206
Figura 144. Espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pmoll-2</i> (CDCl_3 , 125 MHz)	206
Figura 145. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pmoll-2</i> na região de 162 – 96 ppm	207
Figura 146. Espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pmoll-2</i> (CDCl_3 , 125 MHz)	207

Figura 147. Expansão do Espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pmoll-2</i> na região de 162 a 96 ppm	208
Figura 148. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C - HMQC de <i>Pmoll-2</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	208
Figura 149. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll-2</i> na região de 8,4 – 5,6 x 100- 145 ppm	209
Figura 150. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll-2</i> na região de 2,4 – 0,4 x 22- 32 ppm	209
Figura 151. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C - HMBC de <i>Pmoll-2</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	210
Figura 152. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll-2</i> na região de 7,6 – 5,9 x 152 – 143 ppm	210
Figura 153. Espectro de RMN ^1H x ^1H - COSY de <i>Pmoll-2</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	211
Figura 154. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-2</i> na região de 7,6 – 6,2 x 7,8 – 6,0 ppm	211
Figura 155. Espectro de RMN ^1H x ^1H - NOESY de <i>Pmoll-2</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	212
Figura 156. Expansão do espectro de NOESY de <i>Pmoll-2</i> na região de 8,2 – 5,8 x 8,4 – 5,8 ppm	212
Figura 157. Espectro de IV <i>Pmoll-3</i> em pastilha de KBr	215
Figura 158. Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-3</i> (CD_3OD , 200 MHz)	215
Figura 159. Expansão do espectro de RMN de ^1H de <i>Pmoll-3</i> na região de 6,7 a 7,7 ppm	216
Figura 160. Espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pmoll-3</i> (CD_3OD , 125 MHz).	216

Figura 161. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pmoll-3</i> , na região de 170-112 ppm	217
Figura 162. Espectro de IV <i>Pmoll-4</i> em pastilha de KBr	222
Figura 163. Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-4</i> (CDCl_3 , 500MHz)	222
Figura 164. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-4</i> na região de 7,0 a 9,2 ppm	223
Figura 165. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-4</i> na região de 7,0 a 7,8 ppm	223
Figura 166. Expansão do Espectro de RMN ^1H de <i>Pmoll-4</i> na região de 0,8 a 4,2 ppm	224
Figura 167. Espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pmoll-4</i> (CDCl_3 , 125 MHz)	224
Figura 168. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pmoll-4</i> na região de 130 a 105 ppm	225
Figura 169. Espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pmoll-4</i> (CDCl_3 , 125 MHz)	225
Figura 170. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de <i>Pmoll-4</i> na região de 135 a 105 ppm	226
Figura 171. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C - HMQC de <i>Pmoll-4</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	226
Figura 172. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll-4</i> na região de 4,5 – 0,5 x 15-60 ppm	227
Figura 173. Expansão do espectro HMQC de <i>Pmoll-4</i> na região de 10,0 – 6,5 x 102- 130 ppm	227
Figura 174. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C - HMBC de <i>Pmoll-4</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	228

Figura 175. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll-4</i> na região de 9,5 – 6,5 x 110 – 170 ppm	228
Figura 176. Expansão do espectro HMBC de <i>Pmoll-4</i> na região de 8,0 – 7,0 x 115 – 150 ppm	229
Figura 177. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de <i>Pmoll-4</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	229
Figura 178. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-4</i> na região de 9,5 – 6,0 x 9,5 – 6,0 ppm	230
Figura 179. Expansão do espectro de COSY de <i>Pmoll-4</i> na região de 2,4 – 0,6 x 2,4 – 0,6 ppm	230
Figura 180. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de <i>Pmoll-4</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	231
Figura 181. Expansão do espectro de NOESY de <i>Pmoll-4</i> na região de 9,4 – 7,0 x 9,6 – 6,8 ppm	231
Figura 182. Expansão do espectro de NOESY de <i>Pmoll-4</i> na região de 9,4 – 1,0 x 9,4 – 1,0 ppm	232
Figura 183. Espectro de RMN ^1H de <i>Pm-1</i> (CD_3OD , 200 MHz)	245
Figura 184. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pm-1</i> na região de 5,4 a 7,4 ppm	245
Figura 185. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pm-1</i> na região de 2,74 a 3,12 ppm	246
Figura 186. Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pm-1</i> (CD_3OD , 50 MHz)	246
Figura 187. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pm-1</i> na região de 190 a 110 ppm	247
Figura 188. Espectro de RMN ^1H de <i>Pm-2</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	249

Figura 189. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pm-2</i> na região de 6,8 a 7,9 ppm	249
Figura 190. Espectro de RMN ^1H de <i>Pm-3</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	252
Figura 191. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pm-3</i> na região de 4,0 a 7,0 ppm	252
Figura 192. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pm-3</i> na região de 1,5 a 3,1 ppm	253
Figura 193. Expansão Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pm-3</i> (CDCl_3 , 50 MHz)	253
Figura 194. Espectro de IV <i>Pm-4</i> em pastilha de KBr	259
Figura 195. Espectro de RMN ^1H de <i>Pm-4</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	259
Figura 196. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pm-4</i> na região de 6,8 a 8,0 ppm	260
Figura 197. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>Pm-4</i> na região de 1,1 a 2,2 ppm	260
Figura 198. Espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pm-4</i> (CDCl_3 , 125 MHz)	261
Figura 199. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de <i>Pm-4</i> na região de 166 a 100 ppm	261
Figura 200. Espectro de RMN ^{13}C -APT de <i>Pm-4</i> (CDCl_3 , 125 MHz) na região de 7 a 200 ppm	262
Figura 201. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de <i>Pm-4</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	262
Figura 202. Expansão do espectro HMQC de <i>Pm-4</i> na região de 8,0 – 1,0 x 4 - 80 ppm	263

Figura 203. Expansão do espectro HMQC de <i>Pm-4</i> na região de 5,6 – 3,4 x 50 - 66 ppm	263
Figura 204. Expansão do espectro HMQC de <i>Pm-4</i> na região de 8,2 – 6,6 x 112 - 144 ppm	264
Figura 205. Expansão do espectro HMQC de <i>Pm-4</i> na região de 2,26 – 2,0 x 6,4 - 8,8 ppm	264
Figura 206. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de <i>Pm-4</i> (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)	265
Figura 207. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 8,0 – 7,1 x 136 – 143 ppm	265
Figura 208. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 7,8 – 6,8 x 114 – 128 ppm	266
Figura 209. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 8,2 – 7,6 x 192,6 – 194.0 ppm	266
Figura 210. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 4,4 – 1,8 x 10 – 160 ppm	267
Figura 211. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 2,15 – 2,04 x 157 – 171 ppm	267
Figura 212. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 2,24 – 2,0 x 105 – 111 ppm	268
Figura 213. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 7,44 – 7,16 x 155,6 – 156,4 ppm	268
Figura 214. Expansão do espectro HMBC de <i>Pm-4</i> na região de 13,75 – 13,40 x 106 - 109,5 ppm	269
Figura 215. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de <i>Pm-4</i> (CDCl_3 , 500 MHz)	269

Figura 216. Expansão do espectro de COSY de <i>Pm-4</i> na região de 8,0 – 6,4 x 6,6 – 8,0 ppm	270
Figura 217. Expansão do espectro de COSY de <i>Pm-4</i> na região de 8,0 – 6,6 x 6,8 – 8,0 ppm	270
Figura 218. Espectro de massas (ESI-MS) de <i>Pm-4</i>	271

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Perfil químico de amidas piridônicas, piperidínicas, pirrolidínicas e isobutílicas, isoladas de espécies de <i>Piper</i>	56
Tabela 2. Aristolactamas identificadas no gênero <i>Piper</i>	60
Tabela 3. Frações obtidas e eluentes utilizados e no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica de <i>Piper lateripilosum</i>	83
Tabela 4. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 216-217 da fase clorofórmica de <i>Piper lateripilosum</i>	83
Tabela 5. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Piper lateripilosum</i>	86
Tabela 6. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 71-79 da fase hexânica de <i>Piper lateripilorum</i>	86
Tabela 7. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de <i>Pl-1</i>	92
Tabela 8. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pl-1</i> com valores encontrados na literatura (δ em ppm e J em Hz)	93
Tabela 9. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de <i>Pl-2</i>	110
Tabela 10. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pl-2</i> com valores encontrados na literatura (δ em ppm e J em Hz)	111
Tabela 11. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de <i>Pl-3</i>	124
Tabela 12. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de <i>Pl-3</i> e <i>Pl-2</i>	125

Tabela 13. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de <i>Pl-4a</i> registrados em $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$	139
Tabela 14. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de <i>Pl-4b</i> registrados em $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$	140
Tabela 15. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pl-4a</i> com valores encontrados na literatura (δ em ppm e J em Hz)	140
Tabela 16. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pl-4b</i> com valores encontrados na literatura (δ em ppm e J em Hz)	141
Tabela 17. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância <i>Pl-5a/P5-b</i> (CDCl_3 , 200 e 50 MHz)	159
Tabela 18. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância <i>Pl-5a/Pl-5b</i> (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com modelos Mo-1 e Mo-2 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)	160
Tabela 19. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase hexânica das folhas de <i>Piper mollicomum</i>	173
Tabela 20. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 219/232 da fase hexânica das folhas de <i>Piper mollicomum</i>	173
Tabela 21. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 14 da coluna C.1.1 da fase hexânica de <i>Piper mollicomum</i>	174
Tabela 22. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica das Folhas de <i>Piper mollicomum</i>	176
Tabela 23. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do caule de <i>Piper mollicomum</i>	180
Tabela 24. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 52-72 da fase clorofórmica do caule de <i>Piper mollicomum</i>	180
Tabela 25. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de <i>Pmoll-1</i> registrados em CDCl_3	185

Tabela 26. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pmoll-1</i> com valores encontrados na literatura (ALÉCIO, 1998) (δ em ppm e J em Hz)	186
Tabela 27. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de <i>Pmoll-2</i>	203
Tabela 28. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pmoll-2</i> com os valores encontrados na literatura (δ em ppm e J em Hz)	204
Tabela 29. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>P.moll-3</i> (CD_3OD , 200 e 50Hz) com os modelos Mo-1 [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 500 e 125 MHz; SILVA, 2002)] e Mo-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz; TOMAZ, 2008).	214
Tabela 30. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de <i>Pmoll-4</i> registrados em CDCl_3	220
Tabela 31. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pmoll-4</i> com os valores encontrados na literatura (COSTA, 2011) (δ em ppm e J em Hz)	221
Tabela 32. Valores das CIMs ($\mu\text{g/mL}$) dos aminoglicosídeos na ausência e na presença do extrato EEPM, e das frações FCPM e FAEPM com <i>E. coli</i> 27 , <i>S. aureus</i> 358 e <i>P. aeruginosa</i> 03	234
Tabela 33. Valores das CIMs ($\mu\text{g/mL}$) dos antifúngicos na ausência e na presença do extrato EEPM, e das frações FCPM e FAEPM com <i>C. krusei</i> 40147, <i>C. albicans</i> 40006 e <i>C. tropicalis</i> 40042	235
Tabela 34. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 6-11 da fração AcOEt de <i>Piper montealegreanum</i>	241
Tabela 35. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pm-1</i> com valores encontrados na literatura	244
Tabela 36. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de <i>Pm-2</i> com valores encontrados na literatura [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 200 MHz]	248

Tabela 37. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pm-3</i> com valores encontrados na literatura	250
Tabela 38. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de <i>Pm-4</i> , em CDCl_3	257
Tabela 39. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de <i>Pm-4</i> com valores encontrados na literatura (ALVES, 2004) (δ em ppm e J em Hz)	258
Tabela 40. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) da fração acetato de etila frente a linhagens bacterianas Gram positivas e Gram negativas	274
Tabela 41. Efeito hemolítico da fração acetato de etila e das substâncias <i>Pm-1</i> e <i>Pm-2</i> em eritrócitos humanos	274

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Algumas substâncias isoladas de espécies do gênero <i>Piper</i>	47
Quadro 2. Estruturas químicas de algumas substâncias isoladas de <i>Piper</i>	50
Quadro 3. Exemplos de flavonóides e algumas de suas características conhecidas	64
Quadro 4. Constituintes químicos isolados no estudo de <i>Piper lateripilosum</i>	78
Quadro 5. Constituintes químicos isolados no estudo de <i>Piper mollicomum</i>	167
Quadro 6. Constituintes químicos isolados no estudo de <i>Piper montealegreanum</i>	237

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Representação esquemática da biossíntese dos flavonóides	70
Esquema 2. Etapa biossintética da formação das cumarinas	72
Esquema 3. Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto das partes aéreas de <i>Piper lateripilosum</i>	80
Esquema 4. Fracionamento da fase clorofórmica do extrato metanólico bruto de <i>Piper lateripilosum</i> .	82
Esquema 5. Fracionamento da fase hexânica do extrato metanólico bruto de <i>Piper lateripilosum</i>	85
Esquema 6. Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das folhas de <i>Piper mollicomum</i>	170
Esquema 7. Fracionamento da fase hexânica do extrato etanólico das folhas de <i>Piper mollicomum</i>	172
Esquema 8. Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto das Folhas de <i>Piper mollicomum</i>	175
Esquema 9. Obtenção e particionamento do extrato etanólico do caule de <i>Piper mollicomum</i>	177
Esquema 10. Fracionamento da fase Clorofórmica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Piper mollicomum</i>	179
Esquema 11. Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de <i>Piper montealegreanum</i>	239
Esquema 12. Fracionamento de 2,0g da fração acetato de etila do extrato etanólico de <i>Piper montealegreanum</i>	240
Esquema 13. Fracionamento de 1,5g da fração acetato de etila do extrato etanólico de <i>Piper montealegreanum</i> .	242

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

BB: Broad Band

BHI: Brain Heart Infusion

CBM: concentração bactericida mínima

CC: Cromatografia em Coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCDP: Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

(CD₃)₂CO: Acetona deuterada

CD₃OD: Metanol deuterado

CIM: concentração inibitória mínima

COSY: *Correlation Spectroscopy*

d: Duplete

dd: Duplo duplete

ddd: Duplo duplete dobrado

dl: Duplete largo

dtd: duplo tripleto dobrado

EEP: Extrato Etanólico de *Piper mollicomum*

ESI – MS: Espectrometria de massas com ionização por spray de elétrons

FAEPM: Fase Acetato de Etila de *Piper mollicomum*

FCPM: Fase Clorofórmica de *Piper mollicomum*

Fr: Frações

Hex: Hexano

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

LTF: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

m: Multiplete

MeOH: Metanol

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

UFC: Unidades formadoras de colônias

UV: Ultravioleta

δ: Deslocamento Químico

SUMÁRIO

1.0. INTRODUÇÃO.....	39
2.0. OBJETIVOS.....	42
2.1. Objetivo geral.....	43
2.2. Objetivos específicos.....	43
3.0. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	44
3.1. Considerações sobre a família Piperaceae Baill.....	45
3.2. Considerações sobre o gênero <i>Piper</i> Linneaus.....	45
3.2.1. Aspectos etnobotânicos e etnomedicinais.....	45
3.2.2. Aspectos quimiotaxonômicos.....	47
3.2.3. Atividades farmacológicas.....	53
3.3. Considerações sobre as classes de compostos isolados.....	56
3.3.1. Considerações gerais sobre Amidas.....	56
3.3.2. Considerações gerais sobre Aristolactamas.....	59
3.3.3. Considerações gerais sobre as substâncias fenólicas.....	62
3.3.3.1. Flavonóides.....	62
3.3.3.1.1. Aspectos químicos.....	62
3.3.3.1.2. Flavonas e flavonóis.....	65
3.3.3.1.2. Flavanonas.....	65
3.3.3.1.3. Chalconas.....	66
3.3.3.1.4. Atividades biológicas dos flavonóides.....	66
3.3.3.2. Cumarinas.....	67
3.3.3.2.1. Aspectos químicos.....	67
3.3.3.2.2. Usos e propriedades farmacológicas das cumarinas.....	68

3.3.3.3. Aspectos biossintéticos dos flavonóides e cumarinas.....	68
4.0. MÉTODOS DE ANÁLISE.....	73
4.1. Métodos Cromatográficos.....	74
4.2. Métodos espectroscópicos e espectrométricos.....	74
4.3. Ponto de fusão.....	75
4.4. Pureza da amostra.....	75
5.0. ESTUDO DE <i>Piper lateripilosum</i> Yuncker.....	77
5.1. Considerações sobre a espécie <i>Piper lateripilosum</i>	79
5.2. Coleta do material botânico.....	79
5.3. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Particionamento do Extrato Metanólico das Partes Aéreas de <i>Piper lateripilosum</i>	79
5.3.1. Fracionamento da Fase Clorofórmica do Extrato Metanólico Bruto de <i>Piper lateripilosum</i>	81
5.3.2. Fracionamento da Fase Hexânica do Extrato Metanólico Bruto das Partes Aéreas de <i>Piper lateripilosum</i>	84
5.4. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados de <i>Piper lateripilosum</i>	87
5.4.1. Determinação estrutural de <i>Pl</i> -1.....	87
5.4.2. Dterminação estrutural de <i>Pl</i> -2.....	106
5.4.3. Determinação estrutural de <i>Pl</i> -3.....	122
5.4.4. Determinação estrutural de <i>Pl</i> -4.....	137
5.4.5. Determinação estrutural de <i>Pl</i> -5.....	157
5.5. Estudo Biológico desenvolvido com <i>Piper lateripilosum</i>	164
5.5.1. Microorganismos.....	164
5.5.2. Método de Microdiluição.....	165

5.5.3. Determinação da atividade antibacteriana.....	165
6.0. ESTUDO DE <i>Piper mollicomum</i> Kunth.....	166
6.1. Considerações sobre a espécie <i>Piper mollicomum</i>	168
6.2. Coleta do material botânico.....	168
6.3. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Particionamento do Extrato Etanólico das folhas de <i>Piper mollicomum</i>).....	169
6.3.1 Fracionamento da Fase Hexânica do Extrato Etanólico Bruto das folhas de <i>Piper mollicomum</i>	171
6.3.2. Fracionamento da Fase Clorofórmica do Extrato Etanólico Bruto das Folhas de <i>Piper mollicomum</i>	174
6.4. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Fracionamento do Extrato Etanólico do Caule de <i>Piper mollicomum</i>	176
6.4.1. Fracionamento da Fase Clorofórmica do Extrato Etanólico Bruto do caule de <i>Piper mollicomum</i>	177
6.5. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados de <i>Piper mollicomum</i>	181
6.5.1. Determinação estrutural de <i>Pmoll-1</i>	181
6.5.2. Determinação estrutural de <i>Pmoll-2</i>	201
6.5.3. Determinação estrutural de <i>Pmoll-3</i>	213
6.5.4. Determinação estrutural de <i>Pmoll-4</i>	217
6.6. Ensaio Biológico realizado com <i>Piper mollicomum</i>	232
6.6.1. Micoorganismos utilizados.....	232
6.6.2. Drogas utilizadas.....	233
6.6.3. Teste de atividade antimicrobiana (CIM) e modulação da atividade antimicrobiana.....	233

6.6.4. Avaliação da atividade antibacteriana.....	233
7.0. ESTUDO DE <i>Piper montealegreanum</i> Yuncker.....	236
7.1. Considerações sobre a espécie <i>Piper montealegreanum</i>	238
7.2. Coleta do material botânico.....	238
7.3. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Particionamento do Extrato Etanólico das folhas de <i>Piper montealegreanum</i>	238
7.3.1 Fracionamento da Fase AcOEt do Extrato Etanólico Bruto de <i>Piper montealegreanum</i>	239
7.4. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados de <i>Piper montealegreanum</i>	243
7.4.1. Determinação Estrutural de <i>Pm-1</i>	244
7.4.2. Determinação Estrutural de <i>Pm-2</i>	247
7.4.3. Determinação Estrutural de <i>Pm-3</i>	250
7.4.4. Determinação Estrutural de <i>Pm-4</i>	254
7.5. Estudos Biológicos realizados com <i>Piper montealegreanum</i>	271
7.5.1. Investigação da atividade antibacteriana e hemolítica.....	271
7.5.1.1. Bactérias utilizadas.....	271
7.5.1.2. Preparação das amostras.....	272
7.5.1.3. Determinação da atividade antibacteriana.....	272
7.5.1.4. Determinação do efeito citotóxico: atividade hemolítica em eritrócitos humanos.....	272
7.5.1.5. Avaliação da atividade antibacteriana.....	273
7.5.1.6. Avaliação da atividade hemolítica em eritrócitos humanos.....	274
7.5.2. Atividade de Fitoconstituintes de <i>Piper montealegreanum</i> como moduladores da resistência a drogas em <i>Staphylococcus aureus</i>	275

7.5.2.1. Bactérias utilizadas.....	275
7.5.2.2. Determinação da atividade moduladora.....	275
7.5.2.3. Avaliação da atividade moduladora.....	275
8.0. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	277
REFERÊNCIAS.....	281

Introdução

1.0. INTRODUÇÃO

Os metabólitos secundários estão usualmente presentes em todos os vegetais em uma enorme variedade estrutural (WINK, 2003). Estes compostos exercem marcante atividades sobre os sistemas biológicos, razão pela qual têm sido aplicados na agricultura, nas indústrias alimentícia, cosmética, química e farmacêutica (KUTCHAN, 2001).

Na área farmacêutica, estes metabólitos exercem um papel preponderante no desenvolvimento e síntese de novos fármacos, além de servirem de protótipo molecular para obtenção de moléculas análogas mais eficazes e seletivas e, com isso, menos tóxicas (ROBBERS *et al.*, 1997).

O mercado mundial envolvendo vegetais e compostos derivados movimenta direta e indiretamente vários bilhões de dólares por ano, constituindo uma atividade muito lucrativa para o setor industrial. As grandes corporações farmacêuticas e instituições investem na pesquisa de metabólitos secundários bioativos e têm demonstrado interesse na flora de países com grande biodiversidade, como o Brasil, que apresentam algumas espécies com potencial ainda pouco explorado (SHU, 1998; RODRIGUÉZ; WEST, 1995).

O Brasil é o país com maior potencial para pesquisa com espécies vegetais, uma vez que detém uma das maiores e mais ricas biodiversidades do planeta, distribuída em seis biomas distintos (NOLDIN *et al.*, 2006). Esta notável biodiversidade poderá vir a ser aproveitada, de forma racional, para o desenvolvimento de novos medicamentos (CECHINEL FILHO; YUNES, 2001).

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

Os frutos da pimenta, *Piper nigrum*, aparecem como um dos primeiros estudos do gênero, na tentativa de identificar as estruturas químicas das substâncias responsáveis pelo sabor picante, cujos estudos iniciais datam o início do século XIX (TREASE; EVANS, 1982). O estudo de *Piper methysticum* também contribuiu grandiosamente para o conhecimento fitoquímico do início do século; a partir desta espécie foram isoladas substâncias de usos

medicinais reconhecidos em todo o mundo, incentivando ainda mais a pesquisa de outras espécies desta vasta família (KLOHS *et al.*, 1959).

A gama de conhecimentos etnomedicinais acumulados de espécies de *Piper* tem servido de matriz para inúmeras pesquisas farmacológicas, que buscam justificar o uso medicinal de suas espécies vegetais, bem como analisar os mecanismos de ação das substâncias envolvidas. A pesquisa em química de produtos naturais também beneficia-se destes conhecimentos, pois é na tentativa de elucidar estruturas químicas responsáveis por ações farmacológicas, que novos compostos são descobertos.

A investigação fitoquímica de espécies deste gênero, de grande riqueza metabólica e de vasta utilização pela medicina popular, além de suas várias atividades biológicas citadas na literatura, pode abrir perspectivas para a química, farmacologia e quimiotaxonomia.

Vislumbrando os grandes benefícios que as espécies de *Piper* podem trazer para a humanidade optou-se por enveredar pela trilha do estudo fitoquímico das espécies *Piper lateripilosum* Yuncker, *Piper mollicomum* Kunth e *Piper montealegreanum* Yuncker, buscando o isolamento e identificação de constituintes químicos destas espécies, bem como a disponibilização de seus extratos, frações e substâncias isoladas, para realização de estudos farmacológicos, o que poderá conduzir à descoberta de novas fontes de substâncias naturais bioativas.

Objetivos

2.0. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho consistiu em dar continuidade ao estudo fitoquímico das espécies *Piper montealegreanum* Yuncker e *Piper mollicomum* Kunth, bem como realizar uma pesquisa pioneira da espécie *Piper lateripilosum* Yuncker contribuindo, portanto, para o conhecimento quimiotaxonômico da família Piperaceae.

2.2. Objetivos específicos

- Estudar fitoquimicamente as espécies *Piper montealegreanum*, *Piper mollicomum* e *Piper lateripilosum*, através de métodos convencionais de extração, isolamento e purificação de constituintes químicos, utilizados em fitoquímica;
- Caracterizar e/ou identificar estruturalmente as substâncias isoladas das espécies em estudo, através de métodos espectroscópicos e espectrométricos;
- Integrar estudos biológicos ao estudo fitoquímico de espécies de *Piper* do Norte e Nordeste brasileiro, através da disponibilização de seus extratos, fases e substâncias isoladas para realização de testes farmacológicos.

Fundamentação Teórica

3.0. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Considerações sobre a família Piperaceae Baill

As espécies de Piperaceae encontram-se evolutivamente na base das angiospermas e têm sido investigadas como modelos visando reconstruir suas linhagens evolutivas. O processo evolutivo destas espécies envolve fatores abióticos e bióticos, entre os quais a predação por insetos e a presença de microorganismos associados podem ter afetado de forma considerável a perpetuação das espécies (RESEM, 2004).

Em termos econômicos, científicos e culturais, esta família é uma das mais importantes da ordem Piperales (SANTOS *et al.*, 2001), compreendendo cerca de 14 gêneros e 1950 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo (MABBERLEY, 1997). No Brasil, ela está representada por aproximadamente 460 espécies pertencentes a cinco gêneros nativos: *Pothomorphe* Miq., *Sarcorrhachis* Trel., *Peperomia* Ruiz *et* Pav., *Ottonia* Spreng e *Piper* L. (MABBERLEY, 1997; ROSA; SOUZA, 2004).

As espécies de Piperaceae apresentam-se geralmente como ervas trepadeiras ou eretas, arbustos e menos frequentemente árvores, apresentando um elevado valor comercial, econômico e medicinal (DOMINGUEZ; ALCORN, 1985). Com relação a sua classificação botânica tem-se:

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

3.2. Considerações sobre o gênero *Piper* Linneaus

3.2.1. Aspectos etnobotânicos e etnomedicinais

O gênero *Piper* é o maior da família Piperaceae, com pelo menos 1000 espécies distribuídas especialmente na região neotropical do globo terrestre, onde cerca de dois terços das espécies descritas são encontradas. A maioria dos seus representantes habita lugares úmidos, quentes e várzeas de florestas tropicais e sua diversidade e abundância geralmente

diminuem com o aumento da altitude ou com o decréscimo da precipitação (DYER & PALMER, 2004; JARAMILLO, et al. 2001).

Morfológicamente as espécies de *Piper* são relativamente uniformes, com folhas simples e alternadas e caules divididos por nodos salientes, onde os galhos quebram-se com mais facilidade, semelhantes aos nodos observados em bambus ou na cana de açúcar. Suas inflorescências também são características, as quais geram espigas ou infrutescências. Suas espécies são geralmente arbustivas e herbáceas, porém ocorrem em diversas formas, sendo observadas também pequenas árvores (DYER & PALMER, 2004).

O gênero *Piper* apresenta boa representatividade comercial e muitas aplicações medicinais (NUNES, et al., 2007). Na América tropical, inúmeras espécies são reconhecidas pelas populações locais como potencialmente benéficas (PARMAR et al., 1997).

Piper nigrum, espécie indiana produtora de pimenta-do-reino, é a mais difundida em todo mundo. *Piper hispidinervum*, nativa da Amazônia, tem despertado grande interesse como fonte para extração de safrol, precursor de compostos orgânicos empregados na indústria farmacêutica, na produção de perfumes e cosméticos, na fabricação de inseticidas e ainda com potencial para uso na indústria química (NUNES, et al., 2007).

Na Jamaica, de onze espécies estudadas, *Piper aduncum* e *Piper hispidum* foram listadas como remédio para estômago e repelente de insetos. O chá das folhas de *Piper betle* também tem sido relatado na prevenção do câncer de estômago (AMONKAR et al., 1986).

No México, *Piper amalago* é usada para aliviar dores estomacais e como antiinflamatório. *Piper marginatum*, nativa do Brasil, é outra espécie que tem demonstrado atividade antiinflamatória (NAKAMURA et al., 2006).

As raízes e frutos de *Piper chaba* apresentam muitas aplicações na medicina popular, dentre elas no tratamento de asma, bronquite e dores abdominais, enquanto que as raízes de *Piper sylvaticum* são usadas como antídoto contra o envenenamento por picada de cobra. Em algumas regiões da África os frutos de *Piper guineense* são amplamente utilizados como alimentos. Preparações das folhas, raízes e sementes desta espécie também têm sido utilizadas no tratamento de bronquite, reumatismo, doenças gastrintestinais e venéreas (PARMAR et al., 1997).

Na medicina tradicional chinesa, *Piper futokadsura* é uma planta empregada no tratamento da asma e de arritmias cardíacas (MATSIU et al., 1976). *Piper sarmentosum* é outra espécie muito utilizada popularmente como expectorante e antiasmática (PARMAR et al., 1997).

A espécie *Piper caldense* C. DC., conhecida como “pimenta d’arda”, é utilizada na Paraíba como sedativa, antídoto para picadas de cobras, para dores de dente, bem como na forma de compressa no local afetado para alívio da dor (CARDOSO JÚNIOR; CHAVES, 2003). Diante desse contexto, espécies do gênero *Piper* têm sido objeto de diversos estudos químico-farmacológicos, na tentativa de isolar e identificar substâncias bioativas que justifiquem o seu uso na medicina popular.

3.2.2. Aspectos quimiotaxonômicos

A investigação fitoquímica de espécies de *Piper* originou inúmeros trabalhos científicos em várias partes do mundo, o que levou ao isolamento de diversos compostos bioativos, tais como cavalactonas (XUAN *et. al.*, 2008; WHITTON *et. al.*, 2003), aristolactamas (CHAVES *et. al.*, 2006), fenilpropanóides (CHAVES *et. al.*, 2002; SANTOS *et. al.*, 1997), lignóides (CHEN *et. al.*, 2007; BODIWALA *et. al.*, 2007), cromonas (MORANDIM *et. al.*, 2005), flavonóides (LAGO *et. al.*, 2007; ALVES, 2004), terpenos (BALDOQUI *et. al.*, 2009; PÉRES *et. al.*, 2009), esteróides (PARMAR *et al.*, 1997), ácidos benzóicos prenilados (LAGO *et. al.*, 2009), e ainda amidas, sendo estas os metabólitos mais característico deste gênero (COTINGUIBA *et. al.*, 2009; SRINIVASAN, 2007). Parmar *et al* (1997) evidenciou no gênero a existência de 42 alcalóides com núcleo isoquinolínico. Além destes, também são verificadas isobutilamidas, amidas do tipo piperidínicas e pirrolidínicas, perfazendo quase a totalidade das amidas do gênero. O Quadro 1 apresenta exemplos de constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Piper*.

Quadro 1. Algumas substâncias isoladas de espécies do gênero *Piper*.

Tipo de composto	Substância isolada	Parte da Planta	Referência
Alcalóides/Amidas	Piperlonguminina	Folhas de <i>P. acutisleginum</i> Raíz de <i>P. amalago</i>	PARMAR <i>et al.</i> , 1997; ACHENBACH <i>et al</i> , 1986
	Aduncamida	Folhas de <i>P. aduncum</i>	ORJALA <i>et al.</i> , 1993a
	Ácido 3’-4’-5’-trimetoxi-isobutilamida cinâmico	Raíz de <i>P. amalago</i>	ACHENBACH <i>et al</i> , 1986
	Piplartina	Folhas de <i>P. arborescens</i>	DUH <i>et al.</i> , 1990
	N-metilaristolactama (Caldensina)	Raízes de <i>P. caldense</i>	CARDOSO JÚNIOR; CHAVES, 2003

Continua

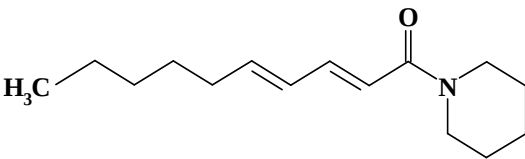
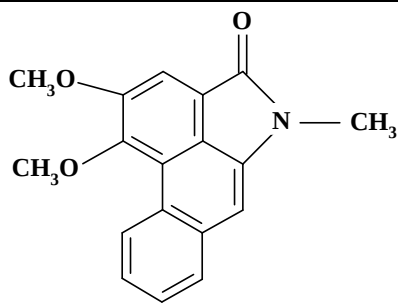
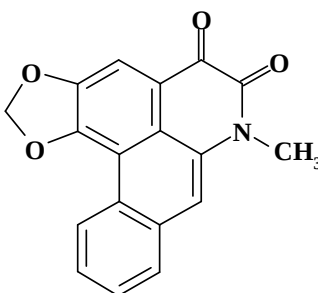
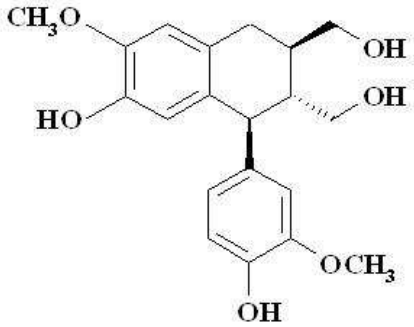
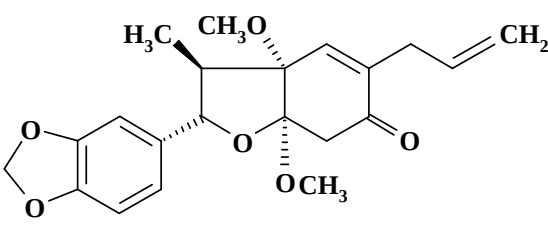
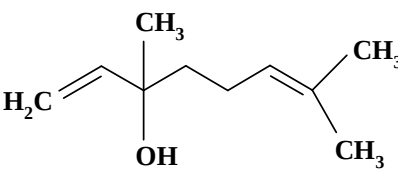
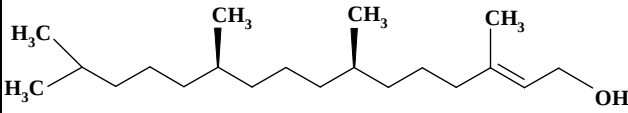
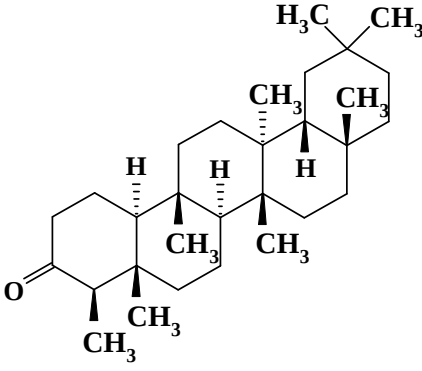
Tipo de composto	Substância isolada	Parte da Planta	Referência
Alcalóides/Amidas (continuação)	Brachiamida A e B	Fruto de <i>P. brachystachyum</i>	KOUL <i>et al.</i> , 1988
	Cefaradiona	Folhas de <i>P. bogotense</i>	PENA <i>et al.</i> , 2000
	Cefaranona B	Galhos de <i>P. argyrophyllum</i> e de <i>P. augustum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996; DELGADO <i>et al.</i> , 1998
Lignóides	2-(3-4-metilenedioxi-fenil)-3-metil-5-(2-oxo-propil) benzofurano	Partes aéreas de <i>P. aequale</i>	MAXWELL <i>et al.</i> , 1999
	Diayangambina	Galhos de <i>P. arborescens</i>	DUH <i>et al.</i> , 1990
	6-(2-piperonil-1-metil-etil)-3-4-dimetoxi-6-prop-2-enil) ciclohexa-2-4-dien-1-ona	Galhos de <i>P. argyrophyllum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
	Futoquinol e Lancifolina C e D	Galhos de <i>P. argyrophyllum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1996
	Galbelgina	Folhas e fruto de <i>P. attenuatum</i>	SUMATHYKUTTY; RAO; 1991; SUMATHYKUTTY; RAO; 1993
	Kadsurina A e B	Folhas de <i>P. attenuatum</i>	PARMAR <i>et al.</i> , 1997
	Dihidroisofutoquinol B	Partes aéreas de <i>P. boehmerifolium</i>	PRADHAN <i>et al.</i> , 1994
	Asarinina	Fruto de <i>P. brachystachyum</i>	KOUL <i>et al.</i> , 1988
Terpenóide	Canfeno, Limoneno, Linalol, Mirceno, α -pineno, Borneol, Acetato de borneol, Isoborneol, Timol (monoterpenos)	Partes aéreas de <i>P. angustifolium</i>	TRILLINI <i>et al.</i> , 1996
	Canfeno, Limoneno, Linalol, <i>p</i> -cimeno, Acetato de linalol, Mirceno, Nerol, α -pineno, β -pineno, Sabineno, Terpinoleno, α -terpineno (monoterpenos)	Folhas de <i>P. arboreum</i>	MUNDINA <i>et al.</i> , 1998
	Fitol (diterpeno)	Folhas de <i>P. aduncum</i>	ORJALA <i>et al.</i> , 1993b
	Epifridelano, Fridelina (triterpeno)	Sementes de <i>P. aurantiacum</i>	BANERJI; DAS, 1977
	Ácido ursônico (triterpeno)	Raíz de <i>P. betle</i>	SAEED <i>et al.</i> , 1993
	Óxido de cariofileno (sesquiterpeno)	Partes aéreas de <i>P. brachystachyum</i>	BANERJI; DAS, 1989
	Ledol (sesquiterpeno)	Fruto de <i>P. clusii</i>	KOUL <i>et al.</i> , 1993
	Biciclogermacreno, β -bisaboleno, β -bourboneno, Cadina-1-4-dieno, δ cadineno, α -cadinol, Cariofileno, Acadina-1-4-dieno (sesquiterpenos)	Folhas de <i>P. auritum</i>	PINO <i>et al.</i> , 1998; AMPOFO <i>et al.</i> , 1987; GUPTA <i>et al.</i> , 1985
Fenilpropanóide	Miristicina	Partes aéreas de <i>P. angustifolium</i>	TRILLINI <i>et al.</i> , 1996
	2-6-dimetoxi-4-(2-propenil): fenol	Folhas de <i>P. aduncum</i>	PARMAR, <i>et al.</i> , 1997

Continua

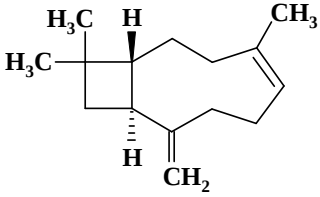
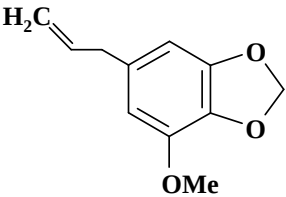
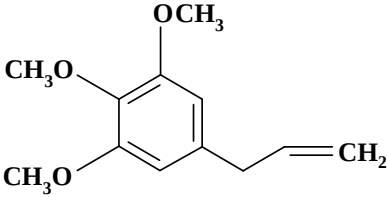
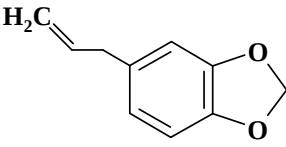
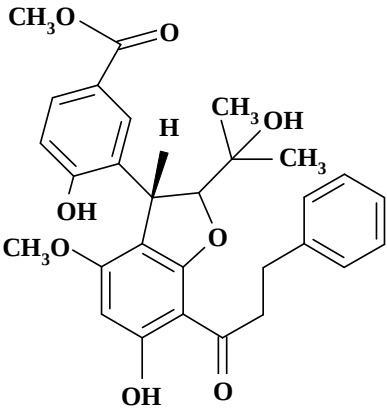
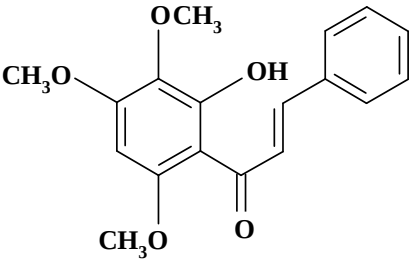
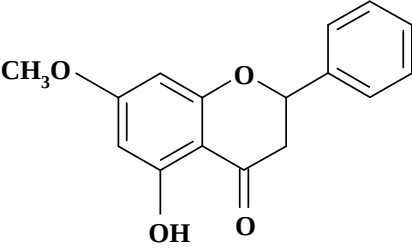
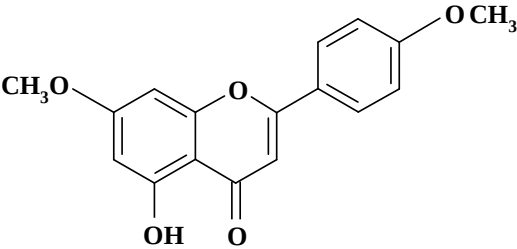
Tipo de composto	Substância isolada	Parte da Planta	Referência
Fenilpropanóide (continuação)	1-propenal-3-4-(metilenodioxo)-5-metoxi-benzeno	Raíz de <i>P. auritum</i>	NAIR <i>et al.</i> , 1989
	Elemicina	Folhas de <i>P. banksii</i>	LODER; NEARN, 1972
	α -asarona, 2-4-5-trimetoxi-fenilacetona	Fruto de <i>P. cubeba</i>	USIA, <i>et al.</i> , 2005
	Safrol	Folhas de <i>P. callosum</i>	GOTTLIEB <i>et al.</i> , 1981
	Apiol	Folhas de <i>P. brachystachyum</i>	SINGH; ATAL, 1969b
	<i>Trans</i> -anetol	Folhas de <i>P. fulvescens</i>	VILA <i>et al.</i> , 2001
Flavonóides	Piperaduncina B	Folhas de <i>P. longicaudatum</i>	JOSHI <i>et al.</i> , 2001
	2'-hidroxi-3',4',6'-trimetoxichalcona	Folhas de <i>P. dilatatum</i>	TERREAUX <i>et al.</i> , 1998
	2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-dihidrochalcona	Folhas e frutos de <i>P. aduncum</i>	MOREIRA <i>et al.</i> , 1998
	5-hidroxi-7-metoxiflavanona e 5-7-dimetoxiflavanona	Raízes de <i>P. methysticum</i>	WU <i>et al.</i> , 2002
	5-4'-dihidroxi-7-metoxiflavanona e 5-7-4'-trihidroxiflavanona	Folhas de <i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2003
	5-hidroxi-7-metoxiflavona	Caule de <i>P. manii</i>	PARMAR, <i>et al.</i> , 1997
	5-hidroxi-7-4'-dimetoxiflavona	Partes aéreas de <i>P. khasiana</i>	PARMAR, <i>et al.</i> , 1997
	Kaplanina	Frutos de <i>P. lhotzkyanum</i>	MOREIRA <i>et al.</i> , 2000
Esteróides	β -sitosterol	Folhas de <i>P. brachystachyum</i>	SINGH; ATAL, 1969b
	Estigmasterol	Folhas de <i>P. bogotense</i>	PENA <i>et al.</i> , 2000
	Colestanol	Fruto de <i>P. aurantiacum</i>	SINGH <i>et al.</i> , 1976
	Daucosterol	Planta inteira (<i>Piper puberulum</i>)	ZHANG <i>et al.</i> , 1992
	Peróxido de ergosterol	Planta inteira (<i>P. boehmerifolium</i> var. <i>tonkinense</i>)	ZHANG <i>et al.</i> , 1999

A comparação dos esqueletos básicos das várias classes de compostos químicos, isolados de espécies de *Piper*, denota a grande variedade metabólica deste gênero e gera expectativas sobre as possíveis relações quimiotaxonômicas que as espécies de *Piper* possam ter entre si e entre representantes de outros gêneros. O Quadro 2 apresenta algumas estruturas químicas das principais classes de substâncias isoladas de *Piper*.

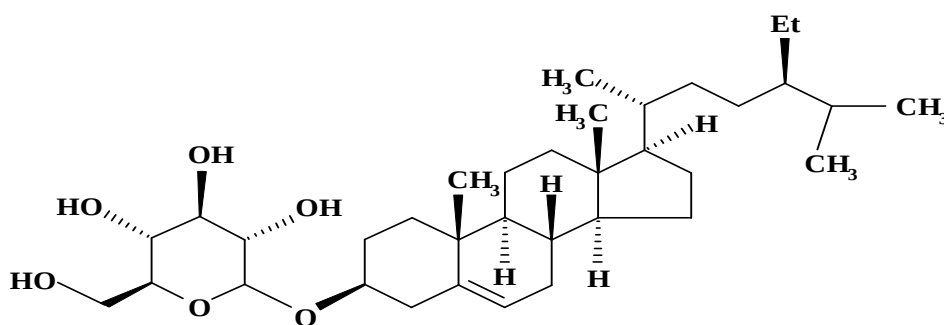
Quadro 2. Estruturas químicas de algumas substâncias isoladas de *Piper*

 Piperidina-2E,4E-decadienamida (Amida)	 Caldensina (Aristolactama)
 Cefaradiona (Alcalóide)	 Ciclolariciresinol (Lignana)
 Cadsurina A (Neolignana)	 Linalol (Monoterpeno)
 Fitol (Diterpeno)	 Fridelina (Triterpeno)

Continua

 Cariofileno (Sesquiterpeno)	 Miristicina (Fenilpropanóide)
 Elemicina (Fenilpropanóide)	 Safrol (Fenilpropanóide)
 Piperaduncina B (Chalcona)	 2'-Hidroxi-3',4',6'-trimetoxichalcona (Diidrochalcona)
 5-hidroxi-7-metoxiflavanona (Flavanona)	 5-hidroxi-7, 4'-dimetoxiflavona (Flavona)

Continua



Daucoesterol
(Esteróide)

Os estudos fitoquímicos desenvolvidos pela equipe da Prof^a Dr^a Maria Célia de Oliveira Chaves, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba, com espécies de *Piper* têm fornecido resultados promissores, dentre estes encontram-se alguns abaixo descritos.

Do caule de *Piper tuberculatum* Jacq. foram isolados piplartina, β -sitosterol-3- β -glicosilado (ARAÚJO-JÚNIOR, 1996), cefaranona B (ARAÚJO-JÚNIOR *et al.*, 1999) e piperdardina, uma amida inédita (ARAÚJO-JÚNIOR *et al.*, 1997). O estudo dos frutos desta espécie forneceu os compostos *N*-isobutil-2*E*,4*E*-decadienamida; Piperidide-2*E*,4*E*-decadienamida (DA CUNHA; CHAVES, 2001); piperina S e *N*-(12,13,14-trimetoxidiidrocinaoil)- Δ^3 -piperidin-2-one (CHAVES *et al.*, 2003a).

Das raízes e frutos de *Piper marginatum* Jacq. foram isolados 2-metoxi-4,5-metilenodioxipropiofenona (SANTOS; CHAVES, 2000); 2,4,5-trimetoxipropiofenona (SANTOS; CHAVES, 1999); 1-(1*Z*-propenil)-2,4,6-trimetoxibenzeno, um novo produto natural (CHAVES; SANTOS, 2002); croweacina e 1-alil-2-metoxi-3,4-metilenodioxibenzeno (isolado pela primeira vez na família) (SANTOS *et al.*, 1997); *N*-isobutil-2-*trans*-4-*trans*-octadienamida, primeira amida isolada nesta espécie (CHAVES; SANTOS, 1999), além dos fenilalcanóides 3,4-metilenodioxi-1(2*E*-octenil)-benzeno; 2,6-dimetoxi-3,4-metilenodioxi-1-(2-propenil)-benzeno; 1-(1*E*-propenil)-2,4,6-trimetoxibenzeno; apiol e isoasarona (SANTOS *et al.*, 1998). Ainda de *Piper marginatum* foram isoladas, a partir da casca do caule, três amidas inéditas nesta espécie a pirrolidina (CHAVES *et al.*, 2003b), cefaranona B e piperolactama A (CHAVES *et al.*, 2006).

Estudos realizados pela equipe já citada, com as raízes de *Piper caldense* levou ao isolamento do composto inédito *N*-metil-aristolactama (caldensina) (CARDOSO-JÚNIOR; CHAVES, 2003).

Da fase clorofórmica obtida das partes aéreas de *Piper glandulosissimum* Yuncker foram isolados cinco flavonóides, dentre os quais 2',6'-diidrox-3',4'-dimetoxichalcona e 5,8-diidrox-7-metoxiflavona, ambos relatados pela primeira vez na família Piperaceae; 2',4'-diidrox-6'-metoxichalcona e 5,7,8-trimetoxiflavanona já isoladas no gênero, mas pela primeira vez nesta espécie, e 7-hidrox-5,8-dimetoxiflavona, ainda não isolado de fontes naturais. Estudo de atividade biológica desta substância evidenciou atividade antimicrobiana moderada contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Trychophyton menfagiohytes* e *Microsporum canis* (SANTOS, 2004).

A investigação fitoquímica do extrato etanólico bruto de *Piper montealegreanum* Yuncker revelou a presença dos compostos: 3,4-metilenodiox-5-metox-7,8-diidrocinamoil-etil éster; β -sitosterol; estigmasterol; feofitina A e dois flavonóides inéditos 8-formil-3',5-diidrox-7-metox-6-metilflavanona e 3'-formil-3,4',6'-triidrox-2'-metox-5'-metilchalcona (ALVES, 2004). Este é o único relato da espécie e acredita-se que seu potencial metabólico ainda tenha muito a ser explorado.

Estudos realizados com *Piper arboreum* Aubl. levaram ao isolamento e identificação estrutural de quatro amidas e duas aristolactamas: Piplaroxida; Sintenpiridona; 3,4-Epox-8,9-dihidropipltartina; 8,9-Dihidropipltartina; 10-Metilamina-4-hidrox-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama e 10-Metilamina-4-hidrox-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama, todos isolados pela primeira vez na espécie (COSTA, 2011).

3.2.3. Atividades farmacológicas

O potencial farmacológico dos extratos e de algumas substâncias isoladas de espécies do gênero *Piper* tem-se mostrado bastante interessantes. Entre as espécies mais estudadas do ponto de vista químico e farmacológico, está a *Piper methysticum*, nativa da Nova Guiné, cujos rizomas são utilizados pelos arborícolas na preparação de uma bebida de uso ritualístico. O extrato aquoso desta planta, denominada de kava-kava, demonstrou atividade analgésica e sedativa em ratos. O extrato clorofórmico de suas raízes também apresentou efeito depressor sobre o SNC, aumentando o tempo de sono induzido por fenobarbital (KLOHS *et al.*, 1959). Substâncias do grupo das δ -lactonas, denominadas kawapironas, isoladas desta espécie apresentaram atividade sedativa, comparável ao efeito da raiz, sendo a metisticina o composto mais potente das kawapironas testadas (KRETZSCHMAR *et al.*, 1970; KOCH *et al.*, 1973).

Estudos realizados com coelhos diabéticos *in vitro* revelaram atividade anti-diabética para o extrato etanólico de *Piper sarmentosum* (PARMAR *et al.*, 1997). O extrato obtido dos frutos de *Piper longum* e *Piper nigrum* também apresentaram interesse biológico, ao revelarem significativa ação anti-úlceras (ANNAMALAI; MANAVALAN, 1990).

Experimentos farmacológicos com o extrato clorofórmico de galhos de *Piper aborescens* demonstraram atividade significativa contra cultura de células KB e células P-388 linfocíticas leucêmicas (PARMAR, *et al.*, 1997). Estudos demonstraram que os extratos brutos de folhas de *P. regnellii* var. *regnellii* e *P. regnellii* var. *pallenscens* apresentam atividade anti-leishmania (NAKAMURA *et al.*, 2006).

As folhas de *Piper aduncum* também foram estudadas do ponto de vista biológico e entre as atividades apresentadas estão a antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* e *Escherichia coli*, fungicida contra *Penicillium oxalicum* (ORJALA, 1993a; NAIR, *et al.*, 1986), além da inibição *in vitro* do carcinoma de células nasofaríngeas KB (PARMAR *et al.*, 1997).

O potencial deste gênero pode ser verificado pela grande variedade de compostos bioativos isolados de suas espécies. Neste contexto, enfatiza-se propiofenonas (GUERRINI *et al.*, 2009; RAFAEL *et al.*, 2008) e piperolídeos (MATA *et al.*, 2004) com atividade antimicrobiana; chalconas (LAGO *et al.*, 2007), amidas (DA SILVA *et al.*, 2002; MARQUES *et al.*, 2007) e ácidos benzóicos prenilados (BALDOQUI *et al.*, 1999) com potencial antifúngico; flavonóides (XUAN *et al.*, 2008) e amidas (SCOTT *et al.*, 2008; SIDDIQUI *et al.*, 2008) como inseticidas, além de lignanas tetrahidrofurânicas e cromonas com atividade antiparasitária contra *Trypanosoma cruzi* (BATISTA-JÚNIOR *et al.*, 2008), dentre outras.

As amidas formam o grupo mais expressivo deste gênero, apresentando efeitos biológicos de grande interesse na atualidade. A piperina, primeira amida isolada no gênero, a partir da espécie *Piper nigrum*, revelou atividade depressora do Sistema Nervoso Central, além de antipirética, anestésica e antiinflamatória (PARMAR *et al.*, 1997), enquanto que a dihidropipernonalina, isolada dos frutos de *Piper longum*, mostrou efeito vasorrelaxante sobre artérias coronárias de coelho contraídas por KCl (SHOJI *et al.*, 1986).

A avaliação do efeito cardiovascular de uma mistura de duas amidas isoladas do extrato clorofórmico de *Piper tuberculatum*, a piperina e a piperdardina, mostrou efeito hipotensor e bradicárdico (ARAÚJO JÚNIOR *et al.*, 1996).

Silva e colaboradores (2002) identificaram atividade antifúngica de amidas isoladas de *Piper arboreum*, contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *C.*

sphaerospermum. Duas amidas da fração hexânica das folhas desta espécie demonstraram efeito tripanomicida (REGASINI *et al.*, 2009b). *Piper 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 de suas 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).

As amidas também apresentaram outras atividades biológicas de interesse. Algumas isoladas de *Piper nigrum* demonstraram atividade inseticida e larvicida contra larvas de *Toxocara canis* (KIUCHI *et al.*, 1988), além de toxicidade contra insetos, evidenciado pela mistura de pipericida, dihidropipericida e guineensina obtidas desta mesma espécie (MIYAKADO *et al.*, 1979).

Os lignóides encontrados em plantas do gênero *Piper* também têm despertado interesse de pesquisadores. Neolignana isolada de *Piper futokadsura*, denominada kadsurenona (CHANG *et al.*, 1985), e outras três isoladas de *Piper puberulum*, as puberlinas A, B, e C (ZHANG; CHEN, 1995), apresentaram-se como inibidores do Fator de Agregação Plaquetária (PAF) através de ensaios *in vitro* em membrana plaquetária isolada de coelho.

Compostos esteroidais como o sitosterol, ácido ursólico e ácido ursólico 3- β -acetato, isolados de *Piper betle* mostraram atividade inibitória da via do ácido araquidônico, com o ácido ursólico exibindo efeito antiinflamatório dose dependente (SAEED *et al.*, 1993). Ensaios farmacológicos realizados com o extrato clorofórmico das folhas desta espécie evidenciaram acentuada atividade fungicida contra *Cladosporium curcumerinum*, além de efeito hipotensor (EVANS, *et al.*, 1984).

Alcanos, álcoois, ésteres e ciclo-hexanos oxigenados isolados de espécies de *Piper* apresentaram-se como potentes inibidores tumorais (SINGH *et al.*, 1969a).

Dentre os flavonóides, a flavokawaina C, uma diidrochalcona isolada de *Piper methysticum* mostrou atividade moderada contra *Salmonella typhi* (PARMAR *et al.*, 1997). Cinco novas diidrochalconas substituídas com monoterpenos, as adunctinas A a E, isoladas das folhas de *Piper aduncum* também foram objeto de estudo, onde foram avaliando seus potenciais citotóxicos (ORJALA *et al.*, 1993b).

A investigação de todos esses biometabólitos, em um gênero tão bem adaptado ao habitat brasileiro, torna-se de grande relevância para uma maior apreciação de suas potencialidades química, farmacológica e industrial.

3.3. Considerações sobre as classes de compostos isolados

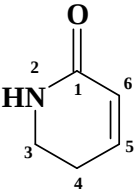
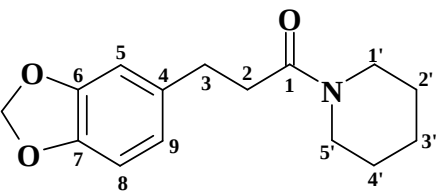
3.3.1. Considerações gerais sobre Amidas

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

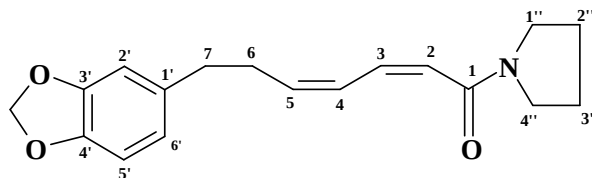
Além da piperina, diversas outras amidas foram isoladas de espécies de *Piper*, representando promissoras fontes de metabólitos bioativos (BERNAD *et al.*, 1995; LEE *et al.*, 2001; YANG *et al.*, 2002; KATO & FURLAN, 2007), visto que, um grande número de relatos tem evidenciado o considerável potencial das amidas, tais como inseticidas, moluscicidas, antifúngicas (DYER & PALMER, 2004; KATO & FURLAN, 2007), ansiolíticas, antidepressivas (NAVICKIENE *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2007; FELIPE, 2007; YAO, *et al.*, 2009) e antitumoral (BEZERRA *et al.*, 2008; MATSUDA *et al.*, 2008), dentre outras atividades.

As amidas isoladas de *Piper* possuem algumas características estruturais comuns e podem ser classificadas em isobutílicas, piridônicas, pirrolidínicas e piperidínicas (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil químico de amidas piridônicas, piperidínicas, pirrolidínicas e isobutílicas, isoladas de espécies de *Piper*

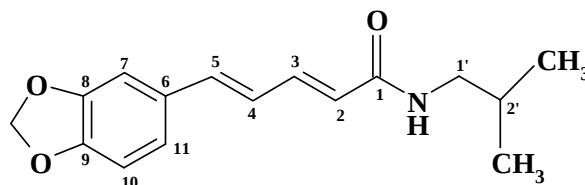
Nome	Estrutura	Referência
5,6-diidro-2(1H) piridona		TSAI <i>et al.</i> , 2005.
1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil) propil) piperidina		VENKATASAMY, 2004

N-[7-(3',4'-
metilenodioxifenil)-
2(*Z*),4(*E*)-
heptadienoil]
pirrolidina



ALÉCIO, 1998

Piperlongumina

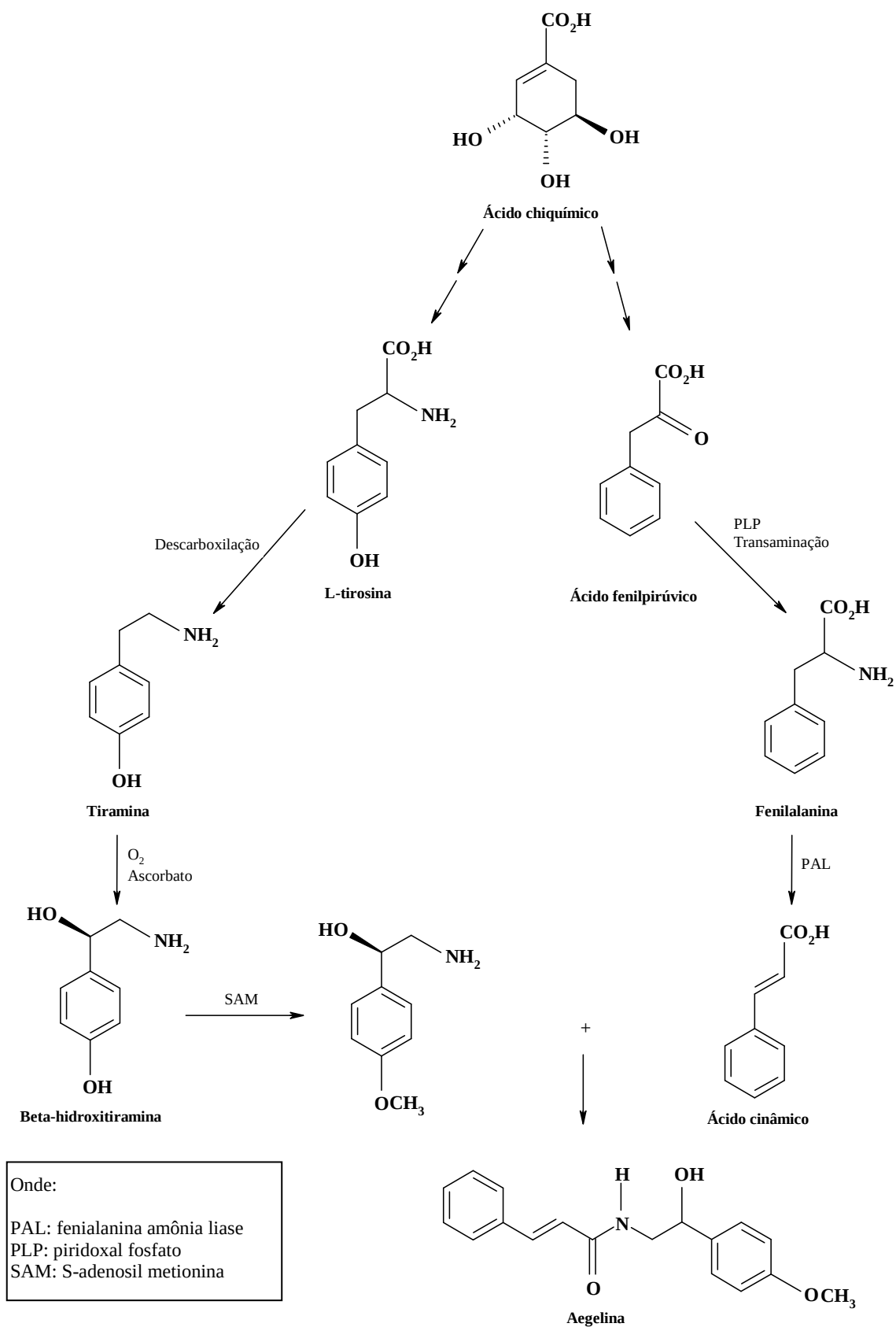


MARQUES, 2009

Com relação a rota biossintética das amidas, existem poucos relatos na literatura, todavia sua biossíntese está diretamente relacionada com a classe a qual pertence. Estudos têm possibilitado caracterizar diversos grupos de Piperaceae contendo amidas, oriundas das vias do chiquimato e do acetato (RESEM, 2004). Na Figura 1 (p. 58) tem-se a proposta biossintética, via rota do chiquimato, da aegelina, uma amida isolada de espécies de Piperaceae.

O ácido chiquímico, cuja rota biossintética encontra-se descrita no Esquema 1 (p. 70), é o precursor comum para gerar as duas unidades envolvidas na condensação final da biossíntese da aegelina. São elas, a fenilalanina obtida através de transaminação e que por desaminação leva ao ácido cinâmico, e a tirosina que após descarboxilação e posterior hidroxilação resulta na β -hidroxitiramina. A condensação destes dois compostos (ácido cinâmico e β -hidroxitiramina) resulta na aegelina (Figura 1) (FERNANDES, 2006).

Figura 1. Proposta biossintética da amida aegelina (FERNANDES, 2006).



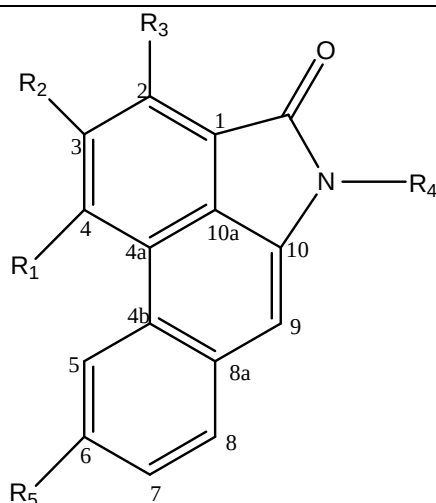
3.3.2. Considerações gerais sobre Aristolactamas

As aristolactamas são substâncias fenantrênicas, contendo um grupamento amida ciclizado e que, devido ao sistema conjugação, apresentam fluorescência. A denominação deste grupo de substâncias associa-se ao fato de terem sido inicialmente identificadas em espécies de *Aristolochia* (Aristolochiaceae), pertencente à ordem Piperales. Posteriormente, também foram encontradas em espécies de Annonaceae, Monimiaceae, Menispermaceae e Piperaceae (KUMAR *et al.*, 2003).

Quimicamente, as aristolactamas caracterizam-se pela presença de um 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. Em *Piper* as substituições são restritas aos carbonos C-2, C-3, C-4 e C-6 (Tabela 2, p. 60) (WU *et al.*, 1997).

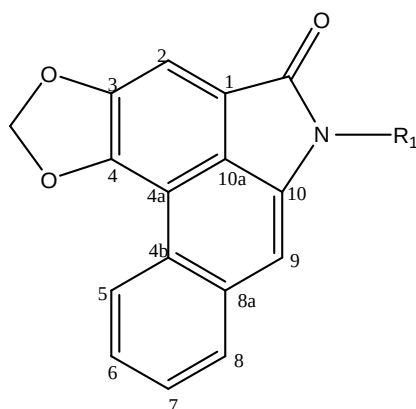
O conhecimento acerca da biossíntese das aristolactamas ainda é pequeno. Entretanto, sabe-se que estão relacionadas biogeneticamente com alcalóides aporfínicos. A idéia mais aceita atualmente é que as 4,5-dioxoaporfinas são biossintetizadas por oxidação das aporfinas e podem funcionar como intermediários para a biossíntese das aristolactamas, que por sua vez, são os precursores dos ácidos aristolóquicos (KUMAR, *et al.* 2003).

Estudos farmacológicos com as aristolactamas demonstram que alguns destes compostos 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	DSAI <i>et al.</i> , 1988
Aristolactama AII	OMe	OH	H	H	H	DSAI <i>et al.</i> , 1988
Piperolactama A	OH	OMe	H	H	H	DSAI <i>et al.</i> , 1988
Piperolactama B	OH	OMe	OMe	H	H	DSAI <i>et al.</i> , 1988
Diacetato de Piperolactama B	OAc	OMe	OMe	Ac	H	DSAI <i>et al.</i> , 1988
Piperolactama C	OMe	OMe	OMe	H	H	KUMAR <i>et al.</i> , 2003
Piperolactama D	OMe	OMe	OH	H	H	DSAI <i>et al.</i> , 1988
Piperlactama S	OMe	OH	H	Me	H	KUMAR <i>et al.</i> , 2003
Piperlactama E	OH	OMe	OMe	Me	H	WILMAN <i>et al.</i> , 1998
Caldensina	OMe	OMe	H	Me	H	CARDOSO-JÚNIOR; CHAVES, 2003
4-hidróxi-3-metoxi-N-metilaristolactama	OH	OMe	H	Me	H	RUANGRUNGSI <i>et al.</i> , 1992

Nome Trivial	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Referências
10-acetilamino-2-hidróxi-3,4-dimetóxi-fenatreno-1-ácidocarboxílico-lactama	OMe	OMe	OH	Ac	H	SINGH <i>et al.</i> , 1996
10-acetilamino-2-hidróxi-3,4-dimetóxi-fenatreno-1-ácidocarboxílico-lactama	OH	OMe	OMe	Ac	H	SINGH <i>et al.</i> , 1996
Aristolactama AIII	OMe	OH	H	H	OMe	MIX <i>et al.</i> , 1982
Aristolactama BIII	OH	OMe	H	H	OMe	TSAI <i>et al.</i> , 2005
Goniolactama	OMe	OMe	H	H	OH	TSAI <i>et al.</i> , 2005
Gonipedalina	OMe	OH	OMe	H	H	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2005
2,3,4-trimetóxi-N-metilaristolactama	OMe	OMe	OMe	Me	H	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2005
3-hidróxi-2-metóxi-N-metilaristolactama	H	OH	OMe	Me	H	DANELUTTE <i>et al.</i> , 2005
Piperumbelactama C	OH	OH	H	Me	H	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008
Piperumbelactama A	OMe	OMe	H	OH	H	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008
Piperumbelactama B	OH	OMe	H	OH	H	TABOPDA <i>et al.</i> , 2008



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

3.3.3. Considerações gerais sobre as substâncias fenólicas

A presença das substâncias fenólicas em plantas tem sido muito estudada pelo fato destas apresentarem diversas atividades farmacológicas e por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (NAGEN *et al.*, 1992; GAMACHE *et al.*, 1993; IVANOVA *et al.*, 1997; AZIZ *et al.*, 1998; FERNANDEZ *et al.*, 1998; HOLLMAN; KATAN, 1998), além de estarem largamente distribuídas na natureza e participarem de processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (PELEG *et al.*, 1998).

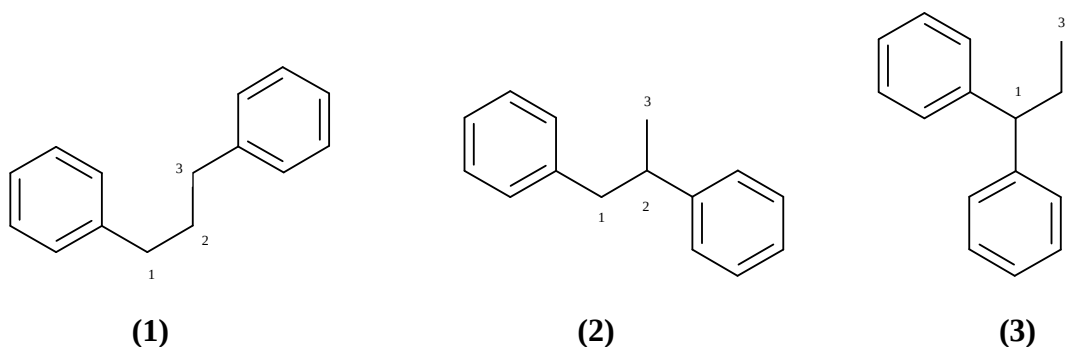
Diversos pesquisadores têm trabalhado no isolamento, identificação, quantificação e utilização dos compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas metodológicos, pois, além de englobarem uma gama enorme de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e lignanas), eles são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos e susceptíveis à ação de enzimas (KING; YOUNG, 1999).

Estas substâncias compreendem desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (BRAVO, 1998), dividindo-se essencialmente em flavonóides, derivados dos ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmicos e seus derivados) e cumarinas (RIBÉREAU-GAYON, 1968). Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998).

3.3.3.1. Flavonóides

3.3.3.1.1. Aspectos químicos

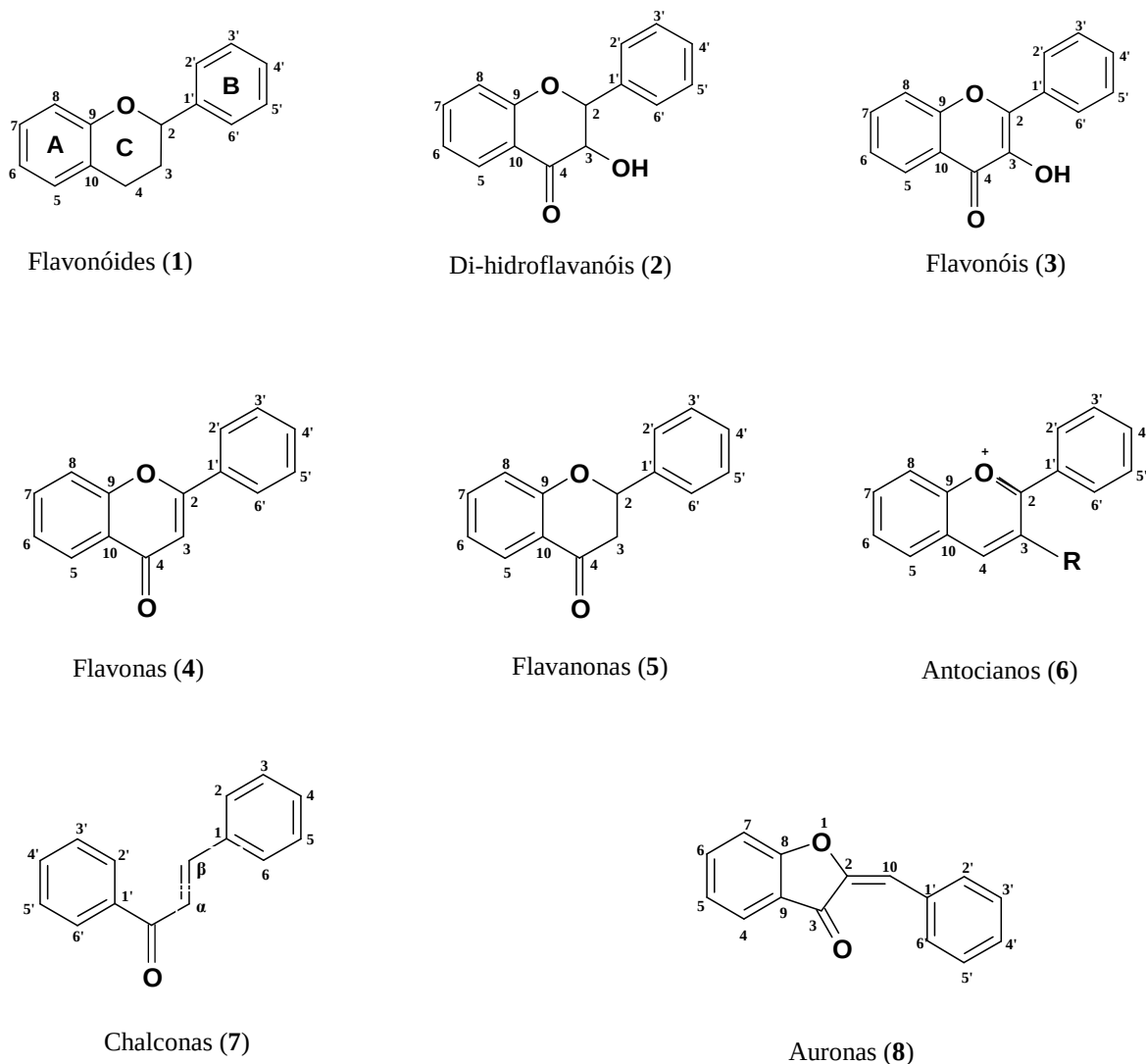
É comum designar os produtos naturais derivados do esqueleto 1,3; 1,2 e 1,1 diarilpropânico em três grandes classes, respectivamente, como flavonóides propriamente dito (1), isoflavonóides (2) e neoflavonóides (3) (AGRAWAL; BANSAL, 1989).



Os flavonóides ocorrem em uma grande variedade de formas estruturais. Todos contêm 15 átomos de carbono ($C_6-C_3-C_6$), arranjados em três anéis, que são denominados A, B e C, os quais compõem o núcleo fundamental desta classe, abaixo representada. Um outro aspecto estrutural comum é a ligação de dois grupos fenila a uma cadeia de três carbonos, isto é, derivados difenilpropânicos (ZUANAZZI, 1999).

Os flavonóides estão subdivididos especialmente em: di-hidroflavonóis (2), flavonóis (3), flavonas (4), flavanonas (5), antocianinas (6), chalconas (7) e auronas (8) (MIDDLETON, *et. al.* 2000; WINKEL-SHIRLEY, 2001; HARBORNE, 1994). As estruturas químicas das principais classes de flavonóides e do seu núcleo fundamental (1) estão representadas na Figura 2.

Figura 2. Estruturas químicas das principais classes de flavonóides e do seu núcleo fundamental.



As várias classes de flavonóides diferem no grau de oxidação e de substituição do anel C, enquanto que dentro de uma classe os compostos diferem quanto a substituição nos anéis A e B (PIETA, 2000).

Essas substâncias são comumente oxigenadas e possuem como substituintes hidroxila, metoxila, metilenodioxila e prenila. São isoladas em diversas plantas vasculares, apresentando cerca de 8.000 compostos já conhecidos (PIETTA, 2000). Um grande número de flavonóides ocorre como O-glicosídios, no qual um ou mais dos grupos hidroxila do flavonóide estão ligados a um açúcar ou açúcares. Esta forma, chamada conjugada, também é conhecida como heterosídio. Nos flavonóides C- glicosídios o açúcar está ligado a um átomo de carbono. Quando o metabólito ocorre sem conjugação com esses carboidratos ou então quando é submetido à hidrólise ácida, é denominado aglicona ou genina (ZUANAZZI, 1999). No Quadro 3 (abaixo) estão apresentados alguns exemplos de flavonóides e um resumo de algumas características conhecidas.

Quadro 3. Exemplos de flavonóides e algumas de suas características conhecidas (ZUANAZZI, 1999).

Flavonóides	Características conhecidas
Flavonas, flavonóis e seus O-heterosídios	Co-pigmentação em flores; protetores contra raios UV nas folhas
Antocianos	Pigmentação do vermelho até o azul
Chalconas	Pigmentação amarela
Auronas	Pigmentação amarela
Diidroflavonóis	Estão presentes freqüentemente em tecidos de madeira
Flavanonas	Podem apresentar sabor amargo
Diidrochalconas	Podem apresentar sabor amargo
Flavanas, leucoantocianidinas e proantocianidinas	Substâncias adstringentes com propriedades tanantes
Isoflavonóides	Propriedades estrogênicas e/ou antifúngicas
Biflavonóides	Propriedades antifúngicas

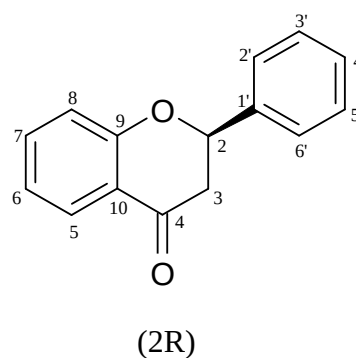
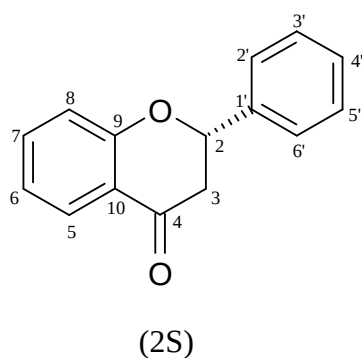
Investigações quimiotaxonômicas com plantas pertencentes ao gênero *Piper* revelaram que os flavonóides representam 12% dos compostos isolados deste gênero, quando comparados com os demais grupos de metabólitos secundários. Uma apreciação das estruturas desta classe de compostos mostrou um padrão estrutural bastante interessante e peculiar, caracterizando-se em grande parte pela ausência de substituição no anel B (ALVES, 2004; ALVES *et. al.*, 2011). Dentre as classes de flavonóides isoladas de espécies do gênero *Piper* destacam-se as chalconas e diidrochalconas, flavonas e flavanonas (PARMAR *et al.*, 1997).

3.3.3.1.2. Flavonas e flavonóis

Essas substâncias fazem parte de um grande grupo de flavonóides de origens biossintéticas muito próximas, sendo geralmente classificadas juntas. As flavonas são derivados da 2-fenilcromona, enquanto que os flavonóis derivam-se da 3-hidroxi-2-fenilcromona. As flavonas e flavonóis naturais são freqüentemente oxigenados, substituídos com hidroxilas e/ou metoxilas. Alguns tipos de oxigenação, como as das posições 5, 7, 3' e 4' são geralmente as mesmas para as duas classes. Outros substituintes encontrados com bastante freqüência são: acila, C-metila, metilenodioxila, prenila, pirano, furano e seus derivados clorados. A maioria destes compostos estão presentes nas plantas sob forma conjugada, isto é, com um ou mais açúcares ligados aos grupos hidroxila por uma ligação facilmente destruída por hidrólise ácida (ZUANAZZI; MONTANHA, 2003).

3.3.3.1.2. Flavanonas

Estas substâncias diferem das flavonas por possuírem uma ligação simples entre C-2 e C-3, todavia são numeradas da mesma forma. Contudo, devido ao fato de serem intermediários biogenéticos da maioria dos grupos flavonoídicos, são isoladas normalmente em pequenas quantidades. As flavanonas podem possuir dois centros assimétricos possíveis, podendo o seu núcleo B apresentar as configurações 2S ou 2R (BOHM, 1994).



3.3.3.1.3. Chalconas

Vários estudos têm sido feitos atualmente sobre as chalconas e seus derivados, com interesses principalmente na medicina e farmácia. As chalconas são moléculas intermediárias comum a todos os flavonóides e quimicamente podem ser definidas como cetonas α,β -insaturadas, onde tanto a carbonila quanto a porção olefínica estão ligadas a grupamentos aromáticos (GUSMÃO, 2008). Apresentam um variado leque de funções biológicas tais como atividades antimalárica (CHEN *et. al.*, 1994), antiinflamatório (MACIAS *et.al.*, 1997; HSIEH *et.al.*, 1998), antioxidante (MORA *et. al.*, 1990; ANTO *et. al.*, 1995), anticancerígena (SHIBATA, 1994; ZHU *et. al.*, 2005; CABRERA *et. al.*, 2007) e bacteriostática (GAFNER *et. al.*, 1996). A posição em que se encontram os grupos substituintes nos dois anéis aromáticos determina essa variedade de propriedades biológicas e farmacológicas.

3.3.3.1.4. Atividades biológicas dos flavonóides

A grande prevalência de flavonóides e antocianidinas no reino vegetal não é acidental; eles não somente atuam como pigmentos de flores, mas também como inibidores de enzimas e precursores de substâncias tóxicas, em defesa contra a exposição à radiação ultravioleta, agentes quelantes de metais nocivos para plantas e como agentes redutores. Em adição, os flavonóides estão envolvidos na transferência de energia, morfogênese e determinação do sexo, níveis de respiração e fotossíntese, ação de hormônios de crescimento e reguladores da planta, expressão de genes e de comportamento (SMITH; BANK, 1986).

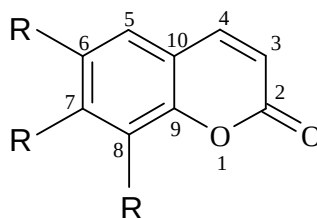
Há muitos dados que apontam para um grande número de atividades destes compostos em humanos como, por exemplo, no tratamento da osteoporose, na proteção da integridade vascular (BERETZ; CAZENAVE, 1988; EVANS, 1994) e por suas propriedades anti-hepatotóxicas (SOIKE; PESCHLOW, 1987). Alguns flavonóides foram examinados quanto a

sua atividade em modelos experimentais de tumores *in vitro* (BRACKE *et al.*, 1988) e *in vivo* (DESCHNER *et al.*, 1991), outros são capazes de inibir a atividade de enzimas tais como a aldose-redutase (IWU *et al.*, 1990) e xantina-oxidase (PATHAK *et al.*, 1991). Os compostos flavonoídicos também têm sido reportados por atuar no trato gastrointestinal como agentes anti-úlceras (DI CARLO *et al.*, 1999), antiespasmódico (CAPASSO *et al.*, 1991) e antidiarréico (DI CARLO *et al.*, 1993), além de também serem conhecidos pelos seus efeitos antialérgicos, em parte atribuídos à influência destes sobre a produção de histamina (BERG; DANIEL, 1988).

Estes metabólitos podem ainda prevenir catarata diabética por inibir a aldose-redutase óptica (CHAUDRY *et al.*, 1983). As ações de alguns flavonóides podem estar relacionadas com a sua capacidade de interagir com o óxido nítrico (NO), que é um mediador de várias sistemas biológicos (MONCADA *et al.*, 1991). Outras atividades importantes como agentes antioxidantes e anti-radicais livres (BURDA; OLESZEK, 2001) também são relatadas.

3.3.3.2. Cumarinas

3.3.3.2.1. Aspectos químicos



As cumarinas pertencem ao grupo dos fenilpropanóides, com estrutura geral C_6C_3 (STREET; COCKBURN, 1972). Com exceção de alguns casos raros, a maioria das cumarinas encontram-se substituídas em C-7 por uma hidroxila. Esta substituição (R) no anel benzênico pode ser dupla (C-6 e C-7) ou tripla (C-6, C-7 e C-8). São amplamente distribuídas entre os vegetais, ocorrendo predominantemente em angiospermas, mas também podem ser encontradas em fungos e bactérias (KUSTER; ROCHA, 1999).

A maioria encontra-se livre nas plantas, porém muitas delas foram isoladas como glicosídeos. São substâncias fluorescentes e comumente fotossensíveis. As cumarinas livres, solúveis em álcool, extraem-se com solventes orgânicos como éter. Algumas são parcialmente solúveis em água, outras são arrastáveis por vapor de água (BRUNETON, 1991).

3.3.3.2. Usos e propriedades farmacológicas das cumarinas

Muitas cumarinas simples possuem odor característico, sendo amplamente utilizadas como aromatizantes nas indústrias de limpeza e cosméticos. Na área de medicamentos destacam-se os derivados da 4-hidroxi-cumarina, que levou à descoberta da ação anticoagulante do dicumarol, primeiro fármaco com essa ação por via oral e que constituiu o modelo para o desenvolvimento de uma classe de anticoagulantes com o núcleo básico da 4-hidroxi-cumarina, do qual derivam importantes fármacos como a varfarina, entre outros (KUSTER; ROCHA, 1999).

Segundo Kuster; Rocha (1999) a procura por medicamentos de origem vegetal tem conduzido a um renovado interesse farmacêutico em cumarinas, pelo fato de mostrarem atividades farmacológicas relevantes, tais como imunossupressora, hipolipidêmica, hipotensora, relaxante vascular da musculatura lisa e cardíaca, antiagregante plaquetária, antiespasmódica, antioxidante e anti-HIV.

3.3.3.3. Aspectos biossintéticos dos flavonóides e cumarinas

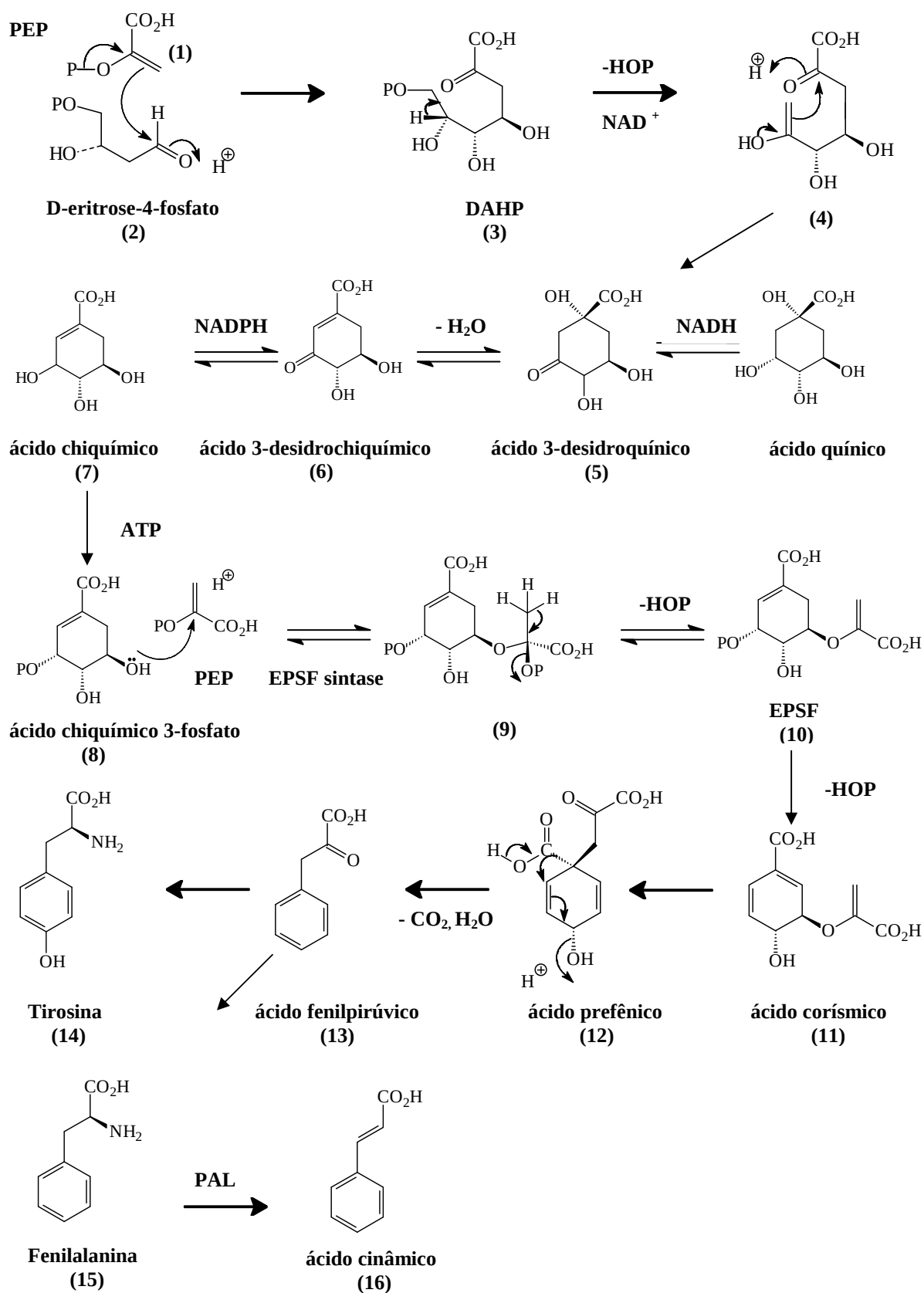
Os flavonóides são biossintetizados através de uma combinação das rotas do ácido chiquímico e acetato polimalonato (DI CARLO *et al.*, 1999). Na primeira etapa da biossíntese, rota do ácido chiquímico (Esquema 1, p. 70), o fosfoenolpiruvato (PEP) (1) reage com a D-eritrose-4-fosfato (2), produzindo um açúcar ceto fosforilado com sete carbonos, o ácido 3-desoxi-D-arabino-heptulosônico-7-fosfato (DAHP) (3). Este composto, pela perda do grupo fosfato, sofre ciclização e converte-se em ácido 3-desidroquínico (5), que pela perda de uma molécula de água é então convertido a seus derivados, como por exemplo, o ácido 3-desidrochiquímico (6) e o ácido chiquímico (7). Após fosforilação na posição 3, o ácido chiquímico origina o ácido chiquímico-3-fosfato (8), que reage com o fosfoenolpiruvato (PEP) formando o ácido 5-enolpiruvil-chiquímico-3-fosfato (EPSF) (10). Este, por sua vez, origina o ácido corísmico (11) por eliminação de um grupo fosfato e de um hidrogênio. O ácido corísmico sofre uma reordenação pericíclica do tipo Claisen levando ao ácido prefênico (12), que por descarboxilação, origina o ácido fenilpirúvico (13), precursor da fenilalanina (15) e da tirosina (14). A fenilalanina, pela ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), perde uma molécula de amônia, originando o ácido cinâmico (16), o precursor da maioria dos compostos classificados como fenilpropanóides (DEWICK, 2009) (Esquema 1, p. 70).

Por intervenção da enzima oxigenase, o ácido cinâmico é hidroxilado, formando o ácido *p*-cumárico (BRUNETON, 1991). Na segunda etapa da biossíntese, rota do acetato polimalonato (Esquema 1-2^a etapa, p. 71), ocorre a condensação de três moléculas de acetato com um derivado do ácido cinâmico [*p*-cumaroil-CoA (2')]. Provavelmente, cada molécula de acetil-CoA é primeiramente convertida em malonil-CoA (1'), enquanto que a do ácido cinâmico é convertida em *p*-cumaroil-CoA (2'), ambas intermediárias ativas transformadas por uma coenzima-A. Após condensação, forma-se um intermediário de 15 átomos de carbono (3'), que é catalisado pela enzima chalcona sintase, sofrendo ciclização e originando a chalcona (4'), o intermediário comum de todos os flavonóides (DEWICK, 2009). A adição de substituintes ocorrem posteriormente à ciclização da chalcona (BRUNETON, 1991).

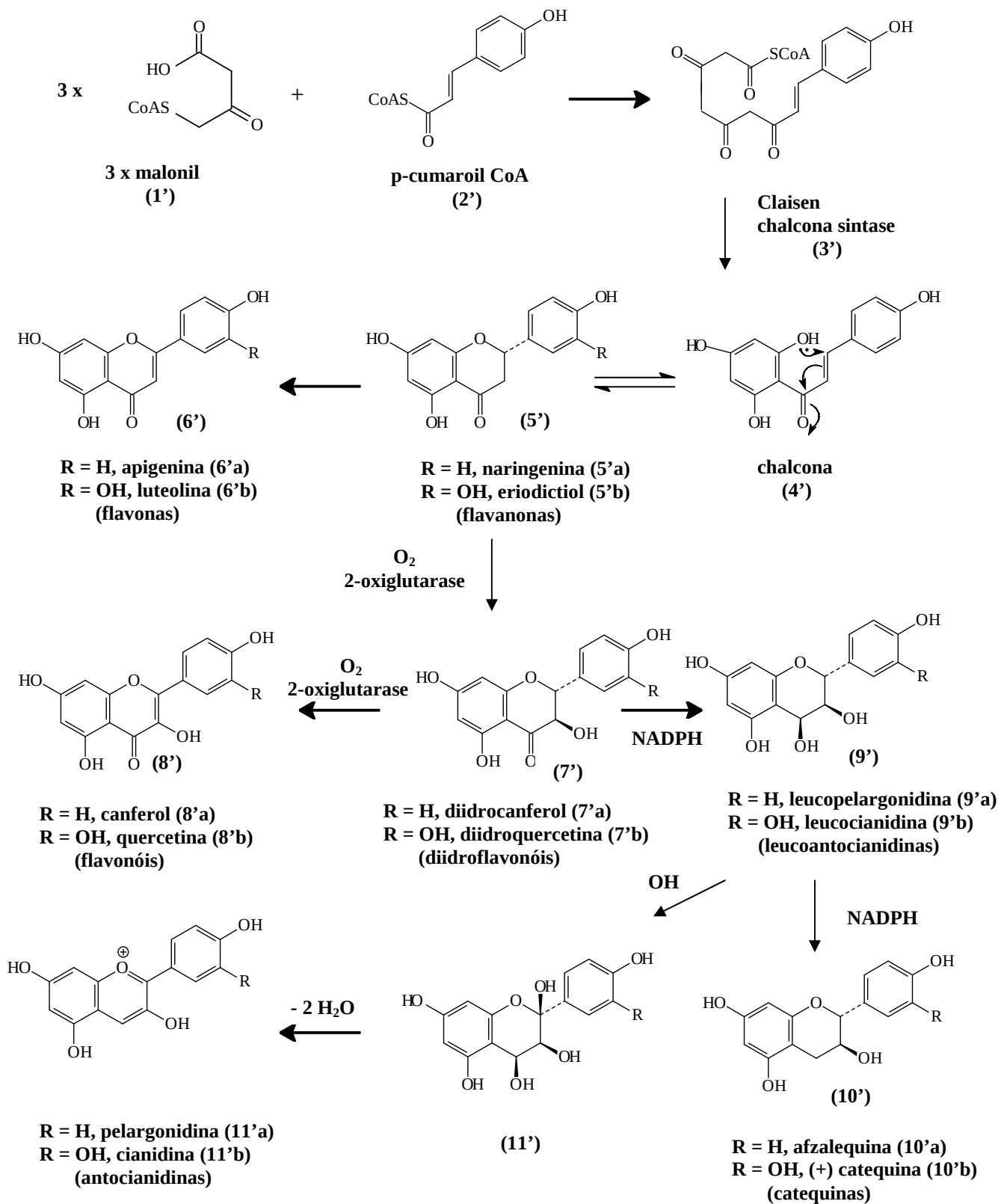
As cumarinas (13') originam-se a partir da lactonização de derivados do ácido hidroxicinâmico (12') com a perda de uma molécula de água (STREET; COCKBURN, 1972) (Esquema 2, p. 72).

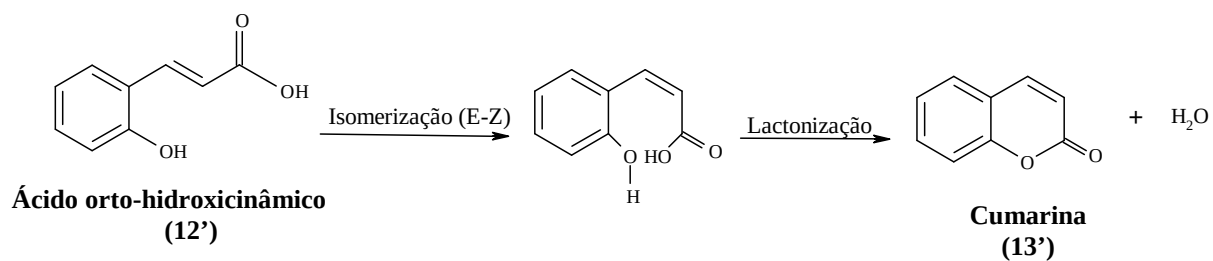
Esquema 1. Representação esquemática da biossíntese dos flavonóides (DEWICK, 2009)

1ª Etapa:



Esquema 1: 2ª etapa:



Esquema 2. Etapa biossintética da formação das cumarinas.

Métodos de Análise

4.0. MÉTODOS DE ANÁLISE

4.1. Métodos Cromatográficos

O isolamento, a purificação e a análise dos constituintes químicos de *Piper lateripilosum*, *Piper mollicomum* e *Piper montealegreanum* foram realizados utilizando-se métodos cromatográficos como Cromatografia em Coluna (CC) e Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) e Analítica (CCDA).

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 Sephadex LH-20, 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, empregando-se como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 mm, 230-400 mesh). Como fase móvel foram utilizados os solventes comerciais hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade.

As CCDA e CCDP foram empregadas para a análise e purificação, respectivamente, das frações obtidas por CC. Como suportes foram utilizadas placas de vidro com dimensões de 5x20, 10x20 e 20x20 cm, e como fase fixa, uma suspensão de sílica gel PF₂₅₄ 7749 (Merck) em água destilada, seguindo técnica descrita por Matos (1997). As cromatoplasas obtidas foram secas ao ar livre e ativadas em estufa a 110 °C durante duas horas.

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

4.2. Métodos espectroscópicos e espectrométricos

A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados das espécies de *Piper* estudadas foi realizada pela análise dos espectros obtidos através de métodos espectroscópicos como Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear, bem como espectrometria de massa e 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} .

Para os experimentos de Ressonância Magnética Nuclear utilizou-se espectrômetros VARIAN-NMR-SYSTEM 500 MHz e VARIAN-NMR-SYSTEM 200 MHz, do Laboratório Multiusuário da Central Analítica (LMCA) da Universidade Federal da Paraíba. As amostras para análise foram preparadas dissolvendo-as em solventes deuterados como Clorofórmio (CDCl_3) e Metanol (CD_3OD).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm), sendo referenciados para RMN de ^1H os picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas dos solventes: clorofórmio ($\delta_{\text{H}} = 7,24$ ppm) e metanol ($\delta_{\text{H}} = 3,3$ ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , estes mesmos parâmetros foram utilizados: clorofórmio ($\delta_{\text{C}} = 77,00$ ppm) e metanol ($\delta_{\text{C}} = 49,00$ ppm).

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

Para espectrometria de massa utilizou-se o Espectrômetro de Massas de Alta Resolução, modelo microTOF, marca Bruker, com detector do tipo TOF, bem como o LCQFL Thermo Electron espectrômetro de massa-10000, o qual foi utilizado para realização dos espectros de massa ESI (ESI-MS) com analisador íon trap. Os espectros foram adquiridos no modo de detecção de íons positivos. O intervalo de massas para os experimentos foi de $m/z = 50$ a $m/z = 1000$.

4.3. Ponto de fusão

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

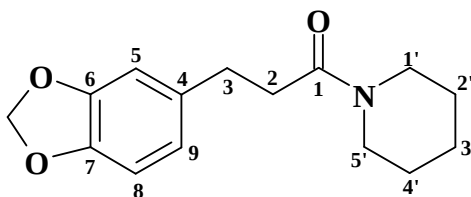
4.4. Pureza da amostra

O grau de pureza das substâncias por CCDA foi determinado quando observada uma única mancha após revelação, em pelo menos três sistemas de eluições diferentes. Além disso, também foram considerados a determinação do ponto de fusão das substâncias (o critério de

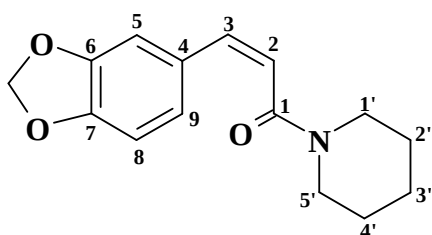
pureza adotado é que a diferença entre o p.f. final e o p.f. inicial não seja maior que 2 °C, bem como a análise dos dados espectrais.

*Capítulo 1: Estudo de
Piper lateripilosum*

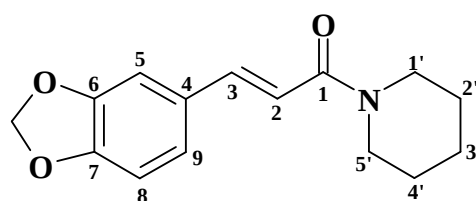
Quadro 4. Constituintes químicos isolados no estudo de *Piper lateripilosum*



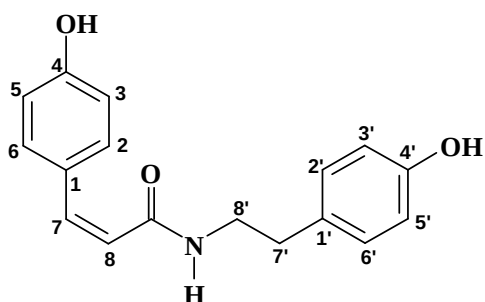
PI-1



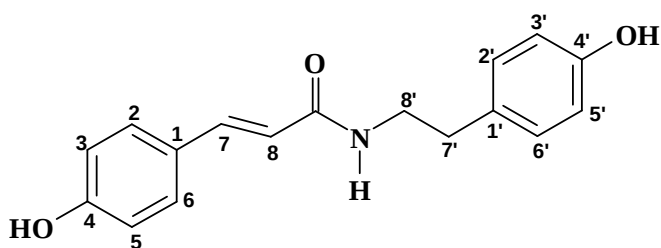
PI-2



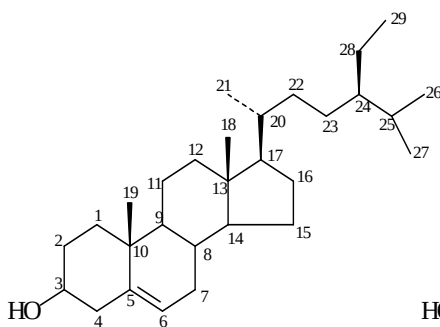
PI-3



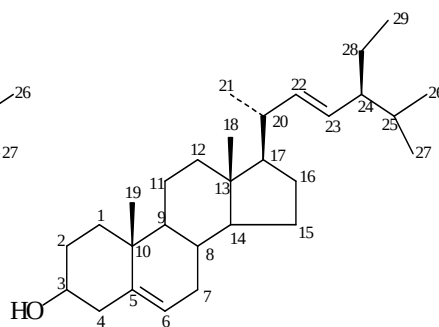
PI-4a



PI-4b



PI-5a



PI-5b

5.0. ESTUDO DE *Piper lateripilosum* Yuncker

5.1. Considerações sobre a espécie *Piper lateripilosum*

Este é o primeiro estudo relacionado à *Piper lateripilosum*, haja vista a inexistência de relatos na literatura sobre esta espécie.

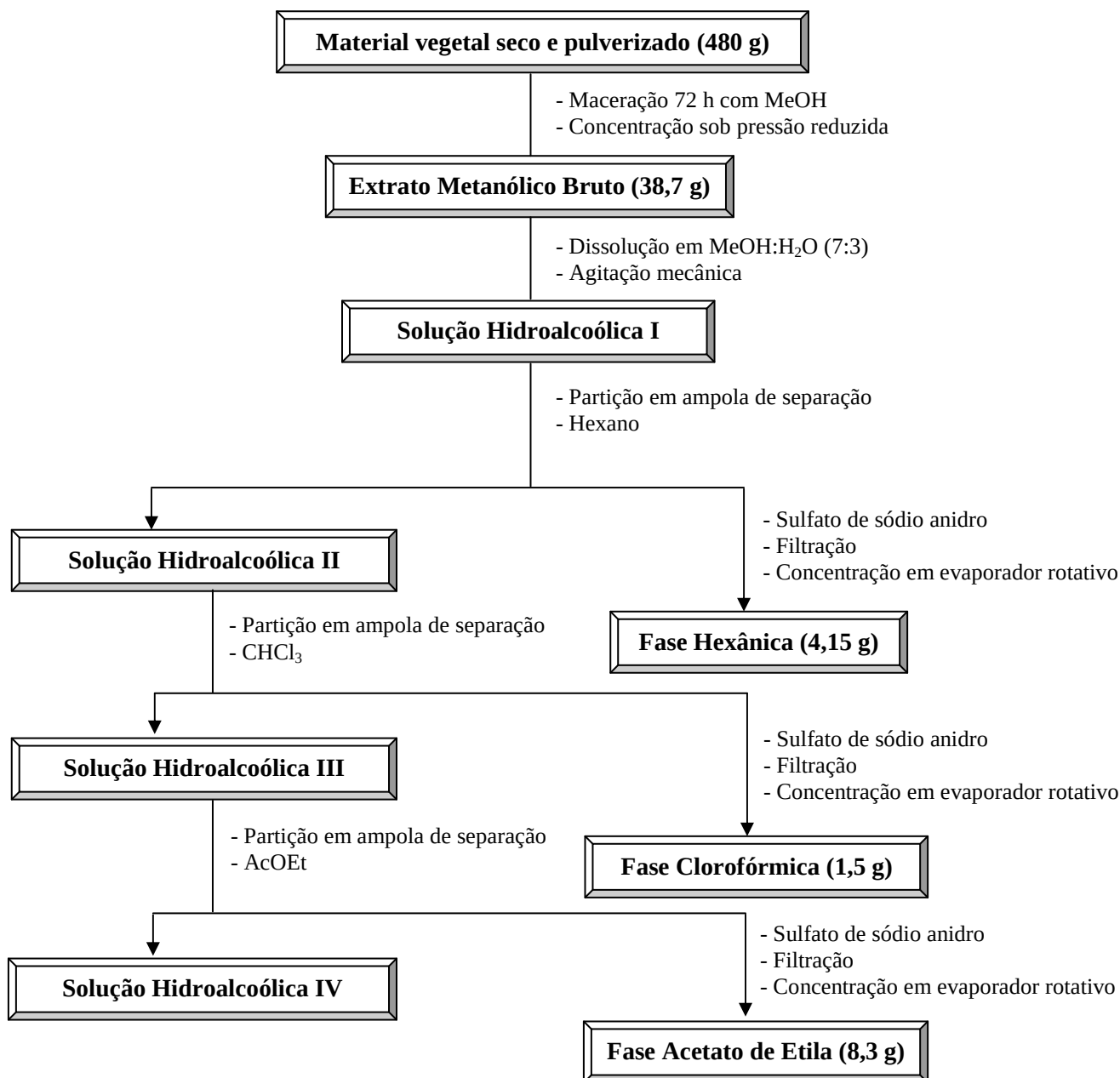
5.2. Coleta do material botânico

As partes aéreas de *Piper lateripilosum* foram coletadas no Instituto de Pesquisa Científica e Tecnológica do Amapá (IEPA) no ano de 2007, sendo identificada pela Dr^a Rosângela Sarquis e uma exsicata (17875) encontra-se depositada no herbário do Instituto de Pesquisa Científica e Tecnológica do Amapá.

5.3. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Particionamento do Extrato Metanólico das Partes Aéreas de *Piper lateripilosum*

As partes aéreas de *Piper lateripilosum*, após coletadas, foram desidratadas em estufa com ar circulante a temperatura média de 40 °C durante 72 horas, sendo em seguida pulverizadas em moinho mecânico, reduzindo-se a pó (480 g), que foi submetido à maceração exaustiva com metanol por três dias consecutivos, sendo este processo repetido por quatro vezes até a máxima extração dos constituintes químicos. A solução metanólica extrativa obtido foi concentrado em rotaevaporador, resultando no extrato metanólico bruto (38,7 g), cujo rendimento foi de 8,06 %, o qual foi solubilizado em MeOH:H₂O (7:3), obtendo-se a solução hidroalcoólica. Esta foi submetida à partição líquido/líquido, em uma ampola de separação, utilizando-se os solventes hexano (Hex), clorofórmio (CHCl₃) e acetato de etila (AcOEt) separadamente. As soluções obtidas foram tratadas com sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro e submetidas à filtração. Após este processo, estas foram evaporadas em rotaevaporador, sob pressão reduzida, a temperatura inferior a 50 °C, fornecendo as fases: hexânica (4,15 g), clorofórmica (1,5 g) e acetato de etila (8,3 g), respectivamente (Esquema 3, p. 80).

Esquema 3. Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto das partes aéreas de *Piper lateripilosum*



5.3.1. Fracionamento da Fase Clorofórmica do Extrato Metanólico Bruto de *Piper lateripilosum*

Uma alíquota de 1,30 gramas da fase clorofórmica do extrato metanólico bruto de *P. lateripilosum* foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel ART 7734, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm (Esquema 4, p. 82), utilizando-se como eluentes Hex; CHCl_3 e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 235 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), de acordo com seus fatores de retenção (Rfs), em 58 grupos de frações (Tabela 3, p. 83).

A fração 70-77 após purificação através de cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP), utilizando-se Hex : AcOEt (75% : 25%) como eluente, resultou em um sólido amorfo amarelo, que ao ser monitorado através de CCDA apresentou-se como uma única mancha, sendo então codificado como *Pl- 1* (16 mg) e encaminhado para a obtenção dos espectros.

A fração 78-79 foi submetida a CCDP, utilizando-se Hex : AcOEt (75% : 25%) como eluentes, resultando na fração 78-79.2, que após ser submetida a nova CCDP em Hex:AcOEt (65% : 35%) resultou em duas substâncias amorfas, que ao serem monitoradas através de CCDA apresentaram um bom padrão de pureza e foram codificadas como *Pl- 2* (15 mg) e *Pl- 3* (22 mg).

A fração 216-217 (550 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel ART 7734 (Esquema 4, p. 82), utilizando-se como eluentes Hex; AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 17 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus fatores de retenção (Rfs), em 8 grupos de frações (Tabela 4, p. 83).

A fração 6-7 (10 mg) foi submetida a CCDP, utilizando-se CHCl_3 : MeOH (97% : 3%) como eluente, resultando na fração 6-7.(1), que ao ser monitorada através de CCDA apresentou-se com bom padrão de pureza e foi codificada como *Pl-4* (6 mg), sendo encaminhada para obtenção dos espectros.

Esquema 4. Fracionamento da fase clorofórmica do extrato metanólico bruto de *Piper lateripilosum*.

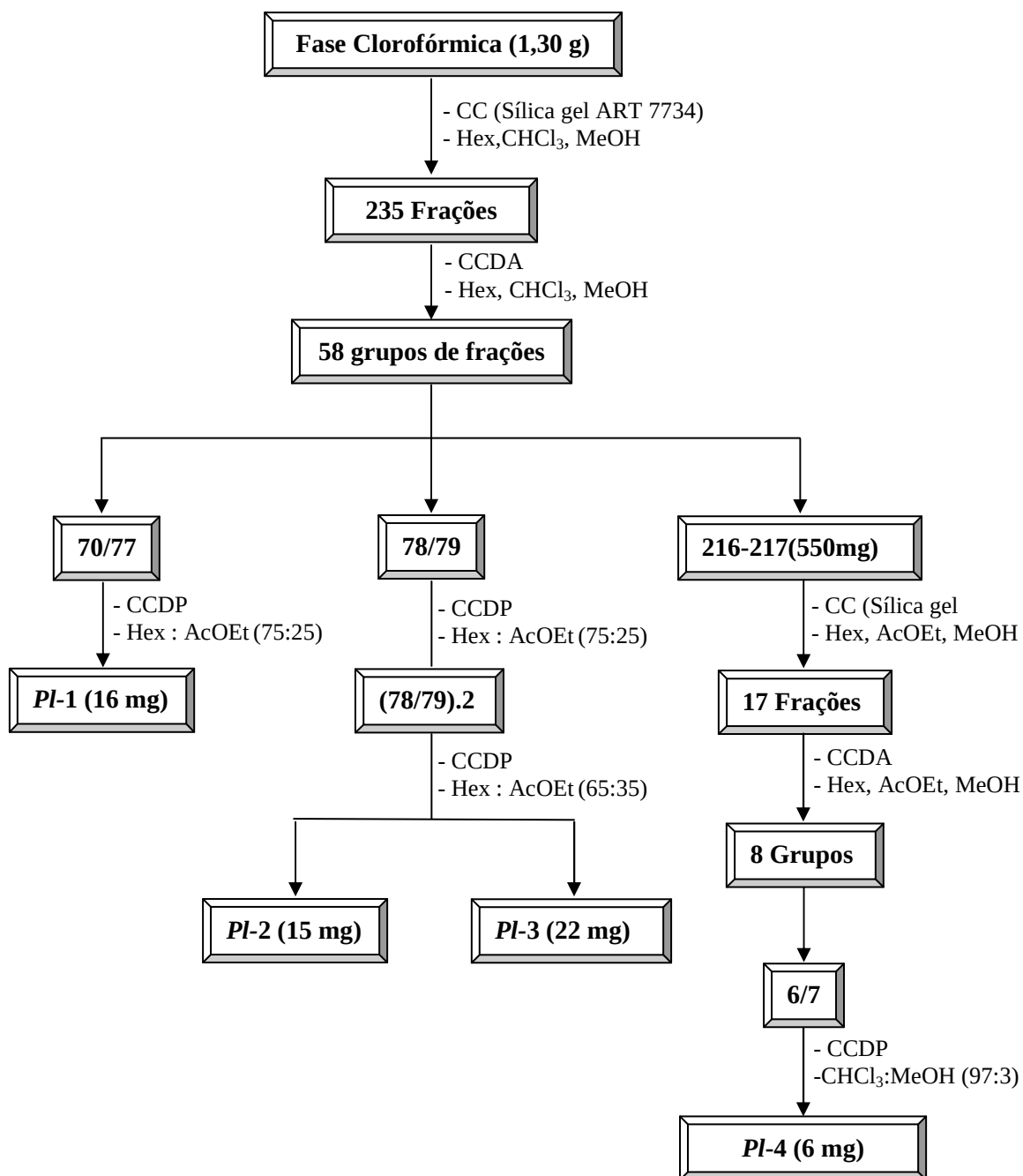


Tabela 3. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica de *Piper lateripilosum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex	100%	1-7	1-29; 30-32; 33; 34-35;
Hex:CHCl ₃	99:1	8-10	36-38; 39-47; 48-53;
Hex:CHCl ₃	98:2	11-14	54-58; 59-61; 62-64;
Hex:CHCl ₃	95:5	15-17	65-66; 67; 68; 69;
Hex:CHCl ₃	8:2	18-42	70-77; 78-79; 80-83;
Hex:CHCl ₃	75:25	43-48	84-94; 95-96; 97-120;
Hex:CHCl ₃	7:3	49-83	121; 122-130; 131-148;
Hex:CHCl ₃	6:4	84-159	149-150; 151-153;
Hex:CHCl ₃	55:45	160-166	154-157; 158-159;
Hex:CHCl ₃	1:1	167-173	160-171; 172-173;
Hex:CHCl ₃	4:6	174-177	174-178; 179-180;
Hex:CHCl ₃	2:8	178-181	181; 182; 183;
CHCl ₃	100%	182-186	184-188; 189-190; 191;
CHCl ₃ :MeOH	99,5:0,5	187-211	192; 193; 194; 195;
CHCl ₃ :MeOH	99:1	212-221	196-198; 199; 200;
CHCl ₃ :MeOH	98,5:1,5	222	201-202; 203-205;
CHCl ₃ :MeOH	95:5	223-224	206-207; 208-211;
CHCl ₃ :MeOH	9:1	225-229	212-214; 215; 216- 217;
CHCl ₃ :MeOH	8:2	230-232	218; 219-221; 222;
CHCl ₃ :MeOH	75:25	233-234	223-224; 225-229;
CHCl ₃ :MeOH	1:1	235	230-232; 233-235

Tabela 4. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 216-217 da fase clorofórmica de *Piper lateripilosum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex:AcOEt	70:30	1-4	1-4;5; 6-7; 8-9; 10-11;
Hex:AcOEt	62:38	5	12; 13-14; 15-17
Hex:AcOEt	50:50	6-7	
Hex:AcOEt	40:60	8-9	
Hex:AcOEt	30:70	10-11	
Hex:AcOEt	20:80	12	
AcOEt	100%	13-14	
AcOEt:MeOH	90:10	15	
AcOEt:MeOH	80:20	16	
AcOEt:MeOH	60:40	17	

5.3.2. Fracionamento da Fase Hexânica do Extrato Metanólico Bruto das Partes Aéreas de *Piper lateripilosum*.

Uma alíquota de 1,45 gramas da fase hexânica do extrato metanólico bruto de *P. lateripilosum* foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel ART 7734, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm (Esquema 5, p. 85), utilizando-se como eluentes Hex; CH₂Cl₂ e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 124 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus fatores de retenção (Rfs) em 32 grupos de frações (Tabela 5, p. 86).

A fração 28-29 após recristalização com MeOH e gotas de CH₂Cl₂ resultou em cristais em forma de agulha, que foram encaminhados para a obtenção dos espectros, resultando nas substâncias Pl-5 (15 mg).

A fração 77-79 foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel ART 7734, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm, utilizando-se como eluentes Hex; CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 59 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus fatores de retenção (Rfs) em 13 grupos de frações (Tabela 6, p. 86). A fração 25-38 desta coluna foi purificada através CCDP, utilizando-se como eluentes Hex:AcOEt (7:3), obtendo-se um composto que, através da análise de CCDA e dos dados de RMN de ¹H, mostrou-se ser idêntico a substância codificada como *Pl-2*, já isolada da fase clorofórmica.

Esquema 5. Fracionamento da fase hexânica do extrato metanólico bruto de *Piper lateripilosum*.

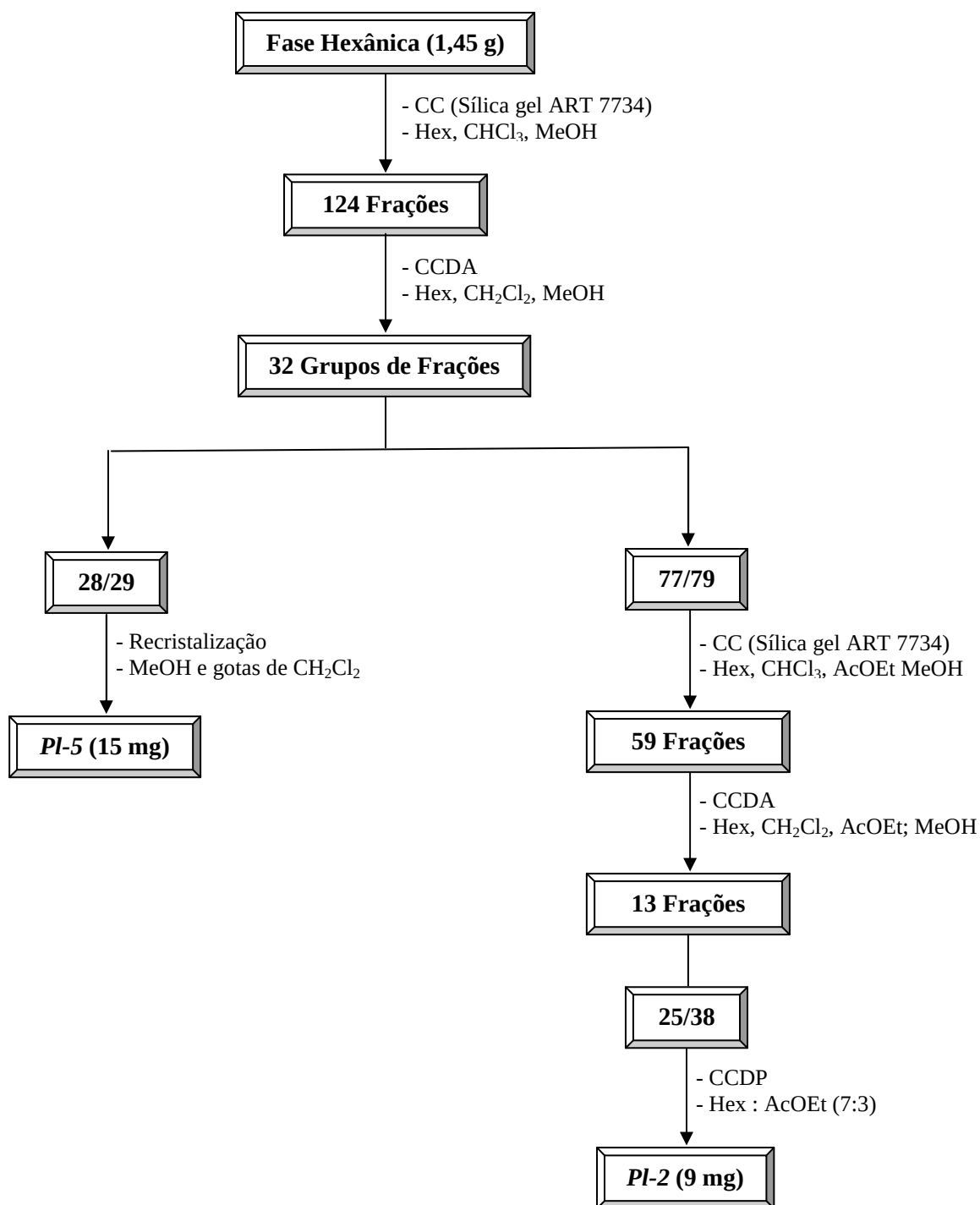


Tabela 5. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase hexânica de *Piper lateripilosum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex	100%	1-09	1-4 ; 5; 6; 7; 8; 9; 10-11;
Hex:CH ₂ Cl ₂	80:20	10-17	12-13;14-17; 18-27;
Hex:CH ₂ Cl ₂	60:40	18-29	28-29 ; 30-35; 36-41;
Hex:CH ₂ Cl ₂	40:60	30-67	42-48; 49-52; 53-58;
Hex:CH ₂ Cl ₂	20:80	68-93	59-61; 62-66; 67-70;
Hex:CH ₂ Cl ₂	10:90	94-100	71-76; 77-79 ; 80-84;
CH ₂ Cl ₂	100%	101-112	85-88; 89; 90-96;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	95:5	113-116	97-104;105-107;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	90:10	117-121	108-112;113-115;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	80:20	122-124	116-117; 118-121; 122-124

Tabela 6. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 71-79 da fase hexânica de *Piper lateripilosum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex	100%	1	1-7; 8-15;
Hex:CH ₂ Cl ₂	90:10	2	16-18; 19-23;
Hex:CH ₂ Cl ₂	85:15	3-4	24; 25-38 ;
Hex:CH ₂ Cl ₂	75:25	5-6	39; 40;
Hex:CH ₂ Cl ₂	70:30	7-12	41-42; 43-44;
Hex:CH ₂ Cl ₂	60:40	13-18	45-47; 48-55;
Hex:CH ₂ Cl ₂	50:50	19-20	56-59
Hex:CH ₂ Cl ₂	40:60	21-26	
Hex:CH ₂ Cl ₂	20:80	27-31	
CH ₂ Cl ₂	100%	32-35	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	95:5	36-40	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	90:10	41-42	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	80:20	43-44	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	50:50	45-47	
AcOEt:MeOH	90:10	48-55	
AcOEt:MeOH	90:20	56	
AcOEt:MeOH	70:30	57-59	

5.4. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados de *Piper lateripilosum*

O estudo fitoquímico de *Piper lateripilosum* levou ao isolamento de cinco amidas, da fase clorofórmica e dois esteróides, da fase hexânica, todos isolados pela primeira vez nesta espécie.

5.4.1. Determinação estrutural de *Pl*-1

A substância codificada como *Pl*-1 (16 mg) apresentou-se como um sólido amorfo amarelo, solúvel em clorofórmio.

O espectro de *Pl*-1 na região do Infravermelho (IV) (Figura 3, p. 94) revelou a presença de uma banda de absorção em 1635 cm^{-1} , característica de deformação axial de carbonila, a qual juntamente com uma absorção observada em 1363 cm^{-1} condizente com deformação axial de C-N, permitiu sugerir a presença de um grupamento amídico na molécula. A existência de anel aromático foi proposta pela evidência de absorções em 1500 e 1489 cm^{-1} , atribuídas a deformação axial de C=C de aromático (SILVERSTEIN *et. al.*, 2007).

Ainda no espectro de IV (Figura 3, p. 94) foi possível observar absorções sugestivas de anel trissubstituído em 927 , 852 e 812 cm^{-1} , além de bandas características de deformação angular simétrica de CH_2 em 1442 cm^{-1} e de deformação axial de C-O de éter entre 1246 e 1037 cm^{-1} (SILVERSTEIN *et.al.*, 2007).

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figuras 4 a 8, p. 94-96) mostrou sinais para hidrogênios metínicos de carbono sp^2 em δ_{H} 6,68 (dd, $J=1,5$ e $0,5$ Hz, 1H), δ_{H} 6,69 (dl, $J=8,0$ Hz, 1H) e δ_{H} 6,63 (dtd, $J=8,0$; $1,5$ e $0,5$ Hz, 1H) e metilênicos em δ_{H} 5,88 (s, 2H), δ_{H} 3,52 (t, $J=5,5$ Hz, 2H), 3,31 (t, $J=5,5$ Hz, 2H), δ_{H} 2,85 (m, 2H), δ_{H} 2,54 (m, 2H), δ_{H} 1,59 (m, 2H), δ_{H} 1,49 (m, 2H), e δ_{H} 1,45 (m, 2H).

Dentre os sinais para hidrogênios metilênicos aqueles em δ_{H} 3,52, δ_{H} 3,31, δ_{H} 1,59, δ_{H} 1,49 e δ_{H} 1,45 sugeriram a existência de anel piperidínico na estrutura e foram atribuídos aos hidrogênios das posições 5', 1', 3', 4' e 2', respectivamente. Os hidrogênios H-1' e H-5' apresentaram-se mais desblindados por encontrarem-se em carbonos vizinhos ao nitrogênio no anel piperidínico (PAVIA *et. al.*, 2009; SCOTT *et. al.*, 2008).

A presença dos sinais para hidrogênios aromáticos um em δ_{H} 6,63 (dtd, $J=8,0$; $1,5$ e $0,5$ Hz, 1H) acoplado *orto* com um duplete em δ_{H} 6,69 (dl, $J=8,0$ Hz, 1H) e *meta* com um duplo duplete em δ_{H} 6,68 (dd, $J=1,5$ e $0,5$ Hz, 1H), sugeriu a existência de um anel benzênico

trissubstituído na molécula, enquanto que o simpleto em δ_H 5,88 permitiu inferir um substituinte metilenodioxílico no anel aromático.

O espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$), utilizando a técnica APT (Figuras 9 a 11, p. 97-98), revelou a presença de quinze sinais, referentes a 4 carbonos não hidrogenados (δ_C 170,36, δ_C 135,28; δ_C 147,58; δ_C 145,78), 3 carbonos metínicos (δ_C 108,90; δ_C 108,22; δ_C 121,13) e 8 carbonos metilênicos (δ_C 42,72; δ_C 25,53; δ_C 24,50; δ_C 26,40; δ_C 46,61; δ_C 35,37; δ_C 31,30; δ_C 100,77).

O sinal para carbono não hidrogenado em δ_C 170,36 mostrou-se condizente com absorção de carbono carbonílico de amidas. Tal dado, ao lado dos valores de deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos do anel piperidínico e informações do IV, reforçaram a existência de grupamento amídico na molécula (SILVERSTEIN *et.al.*, 2007).

A absorção para carbono metilênico em δ_C 100,77 fortaleceu a proposta feita pelo espectro de RMN de ^1H quanto a presença do grupamento metilenodióxi, sendo esta atribuição corroborada pelos sinais em δ_C 147,58 e δ_C 147,78 atribuídos, respectivamente, aos carbonos oxigenados C-6 e C-7 que sustentam o referido grupo (SILVERSTEIN *et.al.*, 2007).

Os sinais em δ_C 46,61 e δ_C 42,72 atribuídos a C-1' e C-5', mostraram-se mais desblindados, quando comparados aos demais carbonos metilênicos, sendo estes deslocamentos químicos justificados pela vizinhança destes carbonos em relação ao nitrogênio, no anel piperidínico (PAVIA *et. al.*, 2009; SCOTT *et. al.*, 2008).

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC (^nJ , $n=1$) ($^1H \times ^{13}C$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) mostrou as correlações diretas entre os sinais de hidrogênio em δ_H 6,68 (dd, $J=1,5$ e $0,5$ Hz); δ_H 6,69 (dl, $J=8,0$ Hz); δ_H 6,63 (dtd, $J=8,0$; $1,5$ e $0,5$ Hz) e 5,88 (s) com seus respectivos carbonos (Figuras 12 a 14, p. 98-99), confirmando-se inequivocamente os sinais em δ_C 108,90; δ_C 108, 22; δ_C 121,13 e δ_C 100,77 para os carbonos C-5, C-8, C-9 e CH_2O_2 , respectivamente. As demais correlações observadas no espectro de HMQC, encontram-se na Tabela 7 (p. 92).

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear, HMBC (^nJ , $n=2$ ou 3) ($^1H \times ^{13}C$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) (Figuras 15 a 18, p. 100-101) as correlações observadas entre δ_H 2,54 / δ_C 135,28; δ_H 2,85 / δ_C 135,28 e entre δ_H 2,85 e os carbonos δ_C 121,13 (C-9) e δ_C 108,90 (C-5) permitiram atribuir os deslocamentos químicos em δ_C 135,28 a C-4 e δ_H 2,85 (m) e δ_H 2,54 (m), respectivamente, às posições H-3 e H-2, sendo esta atribuição corroborada pelas interações entre δ_H 2,85 / δ_C 35,37 (C-2) e δ_H 2,54 / δ_C 31,30 (C-3), a duas ligações.

Através da correlação evidenciada entre o hidrogênio δ_H 6,68 e o carbono δ_C 31,30 (C-3) a três ligações, foi possível confirmar os deslocamentos químicos em δ_H 6,68 (dd, $J=1,5$ e $0,5$ Hz) e δ_C 108,9 para a posição 5.

O espectro de HMBC mostrou ainda as correlações entre H-8 (δ_H 6,69, dl, $J=8,0$ Hz) e o carbono δ_C 121,13, a duas ligações, o que permite confirmar a atribuição de C-9, e deste mesmo hidrogênio com os carbonos δ_C 135,28 e δ_C 147,58, sugerido o deslocamento químico em δ_C 147,58, para C-6 ou C-7. Observou-se também as interações entre H-5 (δ_H 6,68, dd, $J=1,5$ e $0,5$ Hz) a três ligações com os carbonos δ_C 121,13 e δ_C 145,78, bem como entre H-9 (δ_H 6,63, dtd, $J=8,0$; $1,5$ e $0,5$ Hz) e os carbonos δ_C 108,22 e δ_C 145,78, a duas e três ligações. Estas correlações permitiram confirmar os deslocamentos químicos em δ_C 121,13; δ_C 108,22; δ_C 145,78 e δ_C 108,90 aos respectivos carbonos C-9, C-8, C-7 e C-5.

Através das correlações observadas entre o simpleto em δ_H 5,88 e os carbonos δ_C 147,58 e δ_C 145,78 e entre H-9 (δ_H 6,63, dtd, $J=8,0$; $1,5$ e $0,5$ Hz) e o carbono δ_C 145,78 a três ligações, foi possível inferir os deslocamentos químicos em δ_C 145,78 para C-7 e δ_C 147,58 para C-6, os quais sustentam o grupamento metilenodioxílico na molécula.

Ainda no espectro de HMBC foi possível observar as correlações entre o hidrogênio δ_H 3,31 e os carbonos δ_C 24,50; δ_C 42,72 e δ_C 26,4, bem como entre o hidrogênio em δ_H 3,52 e os carbonos δ_C 46,61; δ_C 24,50 e δ_C 25,53. Todas estas correlações permitiram atribuir os deslocamentos químicos em δ_H 3,31 e δ_H 3,52 respectivamente aos hidrogênios H-1' e H-5' do anel piperidínico, os quais mostraram também correlacionar-se a três ligações como carbono carbonílico em δ_C 170,36. Os hidrogênios H-2 (δ_H 2,54; m) e H-3 (δ_H 2,85; m) revelaram correlação a duas e a três ligações, respectivamente com este mesmo carbono.

As correlações observadas entre o multipeto em δ_H 1,59 e os carbonos C-1' (δ_C 46,61) e C-5' (δ_C 42,72) a três ligações, e deste mesmo hidrogênio a duas ligações com o carbono C-4' (δ_C 25,53), bem como entre o hidrogênio em δ_H 1,49 e os carbonos C-3' (δ_C 24,50) e C-5' (δ_C 42,72) a duas ligações, além das interações entre o multipeto em δ_H 1,45 e C-1' (δ_C 46,61), a duas ligações e a três ligações com C-4' (δ_C 25,53), juntamente com as correlações diretas observadas no HMQC entre δ_H 1,59 e δ_C 24,50; δ_H 1,49 e δ_C 25,53 e δ_H 1,45 e δ_C 26,4 permitiram inferir os deslocamentos dos carbonos C-2', C-3' e C-4' em δ_C 26,4; δ_C 24,50 e δ_C 25,53, respectivamente.

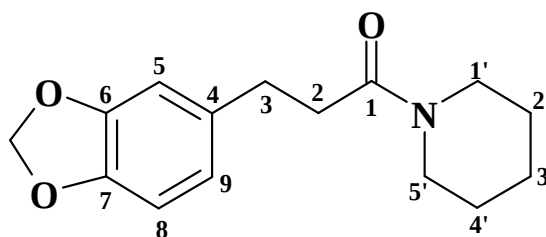
O espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY ($^1H \times ^1H$, a 500 MHz) (Figuras 19 a 21, p. 102-103) confirmou o acoplamento entre os hidrogênios vicinais H-1' (δ_H 3,31; t, $J=5,5$ Hz) e H-2' (δ_H 1,45; m); H-4' (δ_H 1,49; m) e H-5' (δ_H 3,52; t, $J=5,5$ Hz) e ainda

entre H-2 (δ_H 2,54; m) e H-3 (δ_H 2,85; m), ao mostrar interação entre seus deslocamentos químicos.

No espectro bidimensional homonuclear NOESY ($^1H \times ^1H$, a 500 MHz) (Figuras 22 a 25, p. 103-105) foi possível evidenciar as correlações espaciais entre H-2 (δ_H 2,54; m) / H-1' (δ_H 3,31; t, $J=5,5$ Hz) e H-5' (δ_H 3,52; t, $J=5,5$ Hz); H-1' (δ_H 3,31; t, $J=5,5$ Hz) / H-5' (δ_H 3,52; t, $J=5,5$ Hz); H-1' (δ_H 3,31; t, $J=5,5$ Hz) / H-2' (δ_H 1,45; m) e H-3' (δ_H 1,59; m); H-5' (δ_H 3,52; t, $J=5,5$ Hz) / H-4' (δ_H 1,49; m) e H-3' (δ_H 1,59; m); H-2 (δ_H 2,54; m) / H-3 (δ_H 2,85; m); H-3 (δ_H 2,85; m) / H-9 (δ_H 6,63; dtd, $J=8,0$; 1,5 e 0,5 Hz) e ainda entre H-2 (δ_H 2,54; m) e H-5 (δ_H 6,68; dd, $J=1,5$ e 0,5 Hz). Todas estas correlações estão apresentadas na Tabela 7 (p. 92).

Através dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais de *Pl-1* e sua comparação com modelo da literatura (VENKATASAMY, 2004) (Tabela 8, p. 93) foi possível identificar *Pl-1* como sendo a 1-(1-oxo-3(3,4-metilenodioxifenil)propil) piperidina, já descrita para espécie *Piper nigrum*, mas relatada pela primeira vez em *Piper lateripilosum*.

A análise do espectro de massas ESI-MS (Figuras 26, p. 105) permitiu confirmar a estrutura proposta para *Pl-1* ($C_{15}H_{19}NO_3$), ao revelar um pico de íon pseudomolecular $[M + H]^+$: m/z 262 daltons, além dos íons fragmento $[(M+H) - C_5H_{11}N]^+$: m/z 177 e $[(M+H) - C_7H_{13}NO]^+$: m/z 135. As fragmentações propostas para *Pl-1*, encontram-se na Figura 27 (p. 91).



1-(1-oxo-3(3,4-metilenodioxifenil) propil)piperidina

Figura 27. Propostas de fragmentações para *Pl-1*, a partir do espectro de massas ESI-MS.

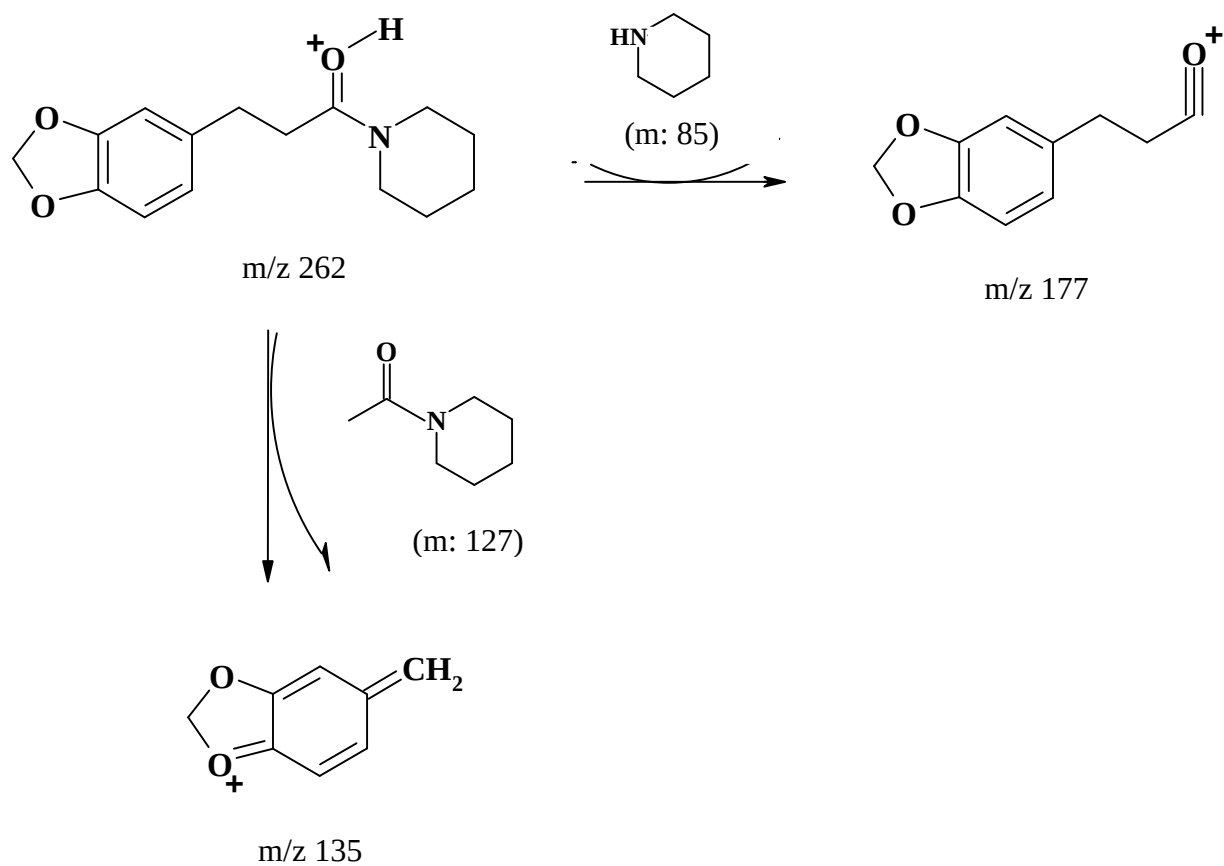


Tabela 7. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de *Pl-1*

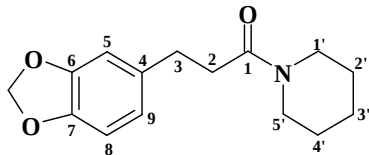
 <i>Pl-1</i> (CDCl₃)						
HMQC - ¹ H x ¹³ C			HMBC - ¹ H x ¹³ C		COSY	NOESY
C	δ _C	δ _H	² J	³ J	¹ H x ¹ H	¹ H x ¹ H
1	170,36	-				
4	135,28	-				
6	147,58	-				
7	145,78	-				
CH						
5	108,90	6,68 (dd, <i>J</i> =1,5 e 0,5 Hz)	C-4	C-3; C-7; C-9		H-2
8	108,22	6,69 (d, <i>J</i> =8,0 Hz)	C-9	C-4; C-6		
9	121,13	6,63 (dtd, <i>J</i> =8,0; 1,5 e 0,5 Hz)		C-3; C-5; C-7		H-3
CH ₂						
1'	46,61	3,31 (t, <i>J</i> =5,5 Hz)	C-2'	C-1; C-3'; C-5'	H-2'	H-5'; H-2
2'	26,40	1,45 (m)	C-1'	C-4'	H-1'	H-5'
3'	24,50	1,59 (m)	C-4'	C-1'; C-5'		H-5'
4'	25,53	1,49 (m)	C-3'; C-5'		H-5'	H-5'
5'	42,72	3,52 (t, <i>J</i> =5,5 Hz)	C-4'	C-1; C-1'; C-3'	H-4'	H-1'; H-3'; H-4'; H-2
2	35,37	2,54 (m)	C-1;C-3	C-4	H-3	
3	31,30	2,85 (m)	C-2; C-4	C-1; C-5; C-9	H-2	
CH ₂ O ₂	100,77	5,88 (s)				

Tabela 8. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pl-1* com valores encontrados na literatura (VENKATASAMY, 2004) (δ em ppm e J em Hz)

<i>Pl-1</i> (CDCl_3)			Literatura (CDCl_3)	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	170,36	-	170,8	-
4	135,28	-	135,6	-
6	147,58	-	148,0	-
7	145,78	-	146,2	-
CH				
5	108,90	6,68 (dd, $J=1,5$ e $0,5$ Hz)	109,3	6,70 (d, $J=1,5$ Hz)
8	108,22	6,69 (d, $J=8,0$ Hz)	109,2	6,72 (dl, $J=8,0$ Hz)
9	121,13	6,63 (dtd, $J=8,0$; $1,5$ e $0,5$ Hz)	121,5	6,66 (dd, $J=1,2$ e $8,0$ Hz)
CH₂				
1'	46,61	3,31 (t, $J=5,5$ Hz)	47,1	3,34 (t)
2'	26,40	1,45 (m)	25,9	1,49 (m)
3'	24,50	1,59 (m)	25,7	1,62 (m)
4'	25,53	1,49 (m)	26,6	1,49 (m)
5'	42,72	3,52 (t, $J=5,5$ Hz)	43,1	3,55 (t)
2	35,37	2,54 (m)	35,8	2,57 (t, $J=7,0$ Hz)
3	31,30	2,85 (m)	31,7	2,87 (t, $J=7,3$ Hz)
CH₂O₂	100,77	5,88 (s)	101,2	5,90 (s)

Figura 3. Espectro de IV *Pl-1* em pastilha de KBr

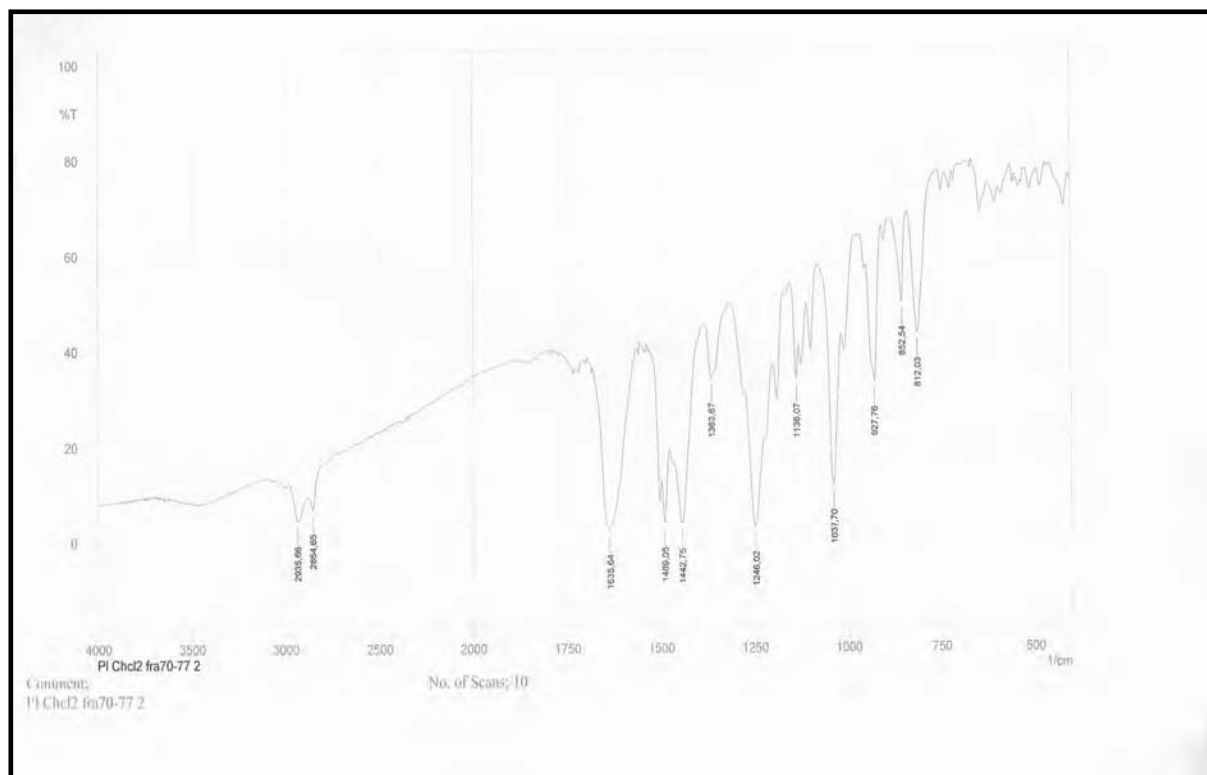


Figura 4. Espectro de RMN ^1H de *Pl-1* (CDCl_3 , 500 MHz)

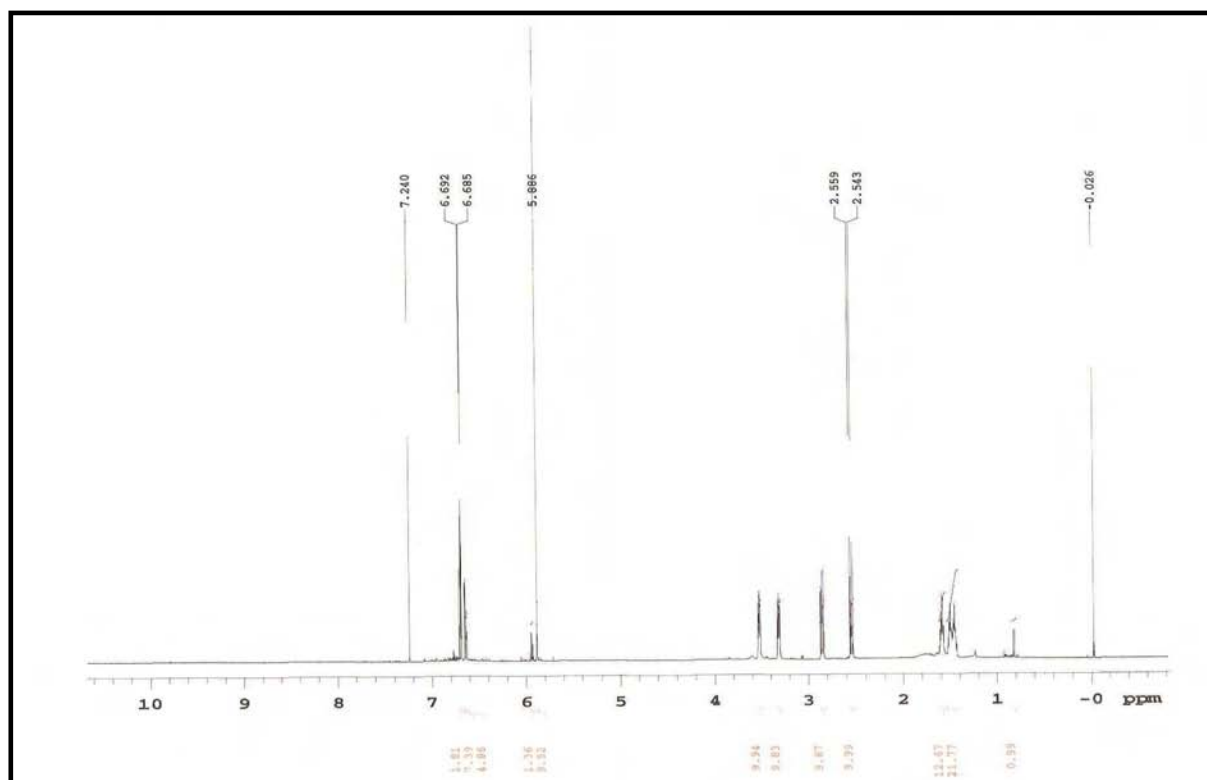


Figura 5. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pl-1* na região de 6,6 – 6,7 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

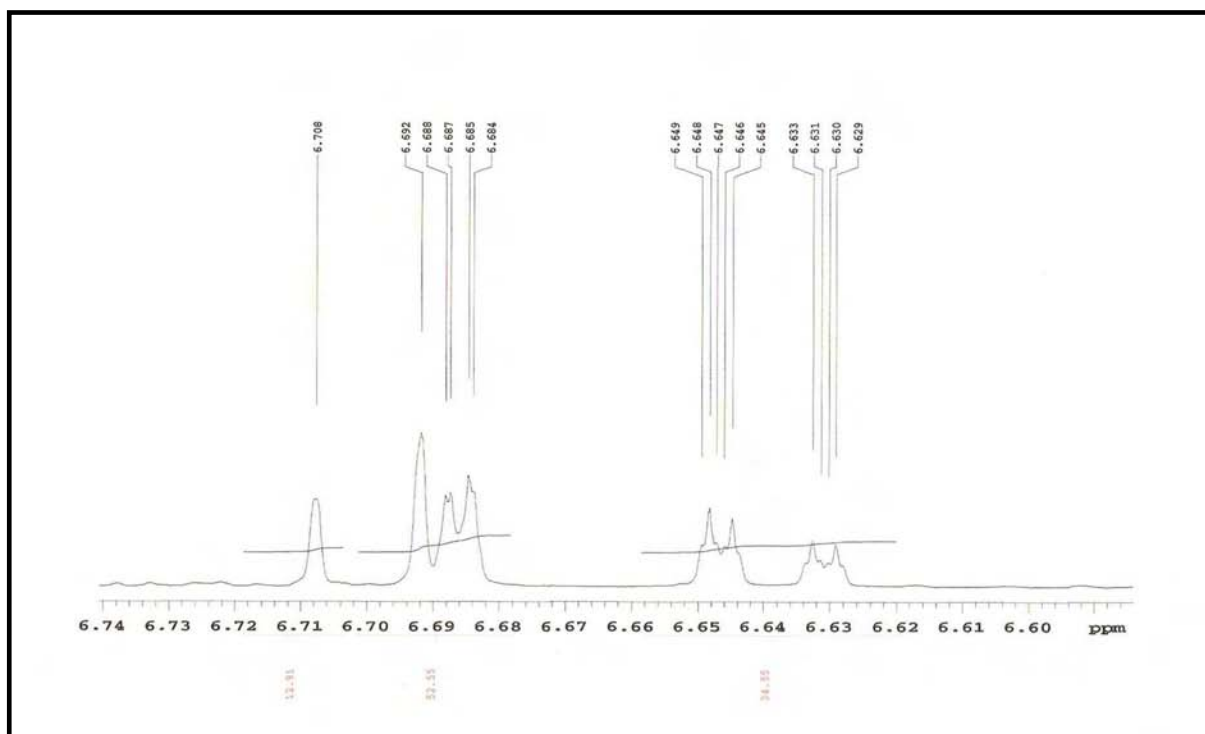


Figura 6. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl-1* na região de 1,8 – 0,7 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

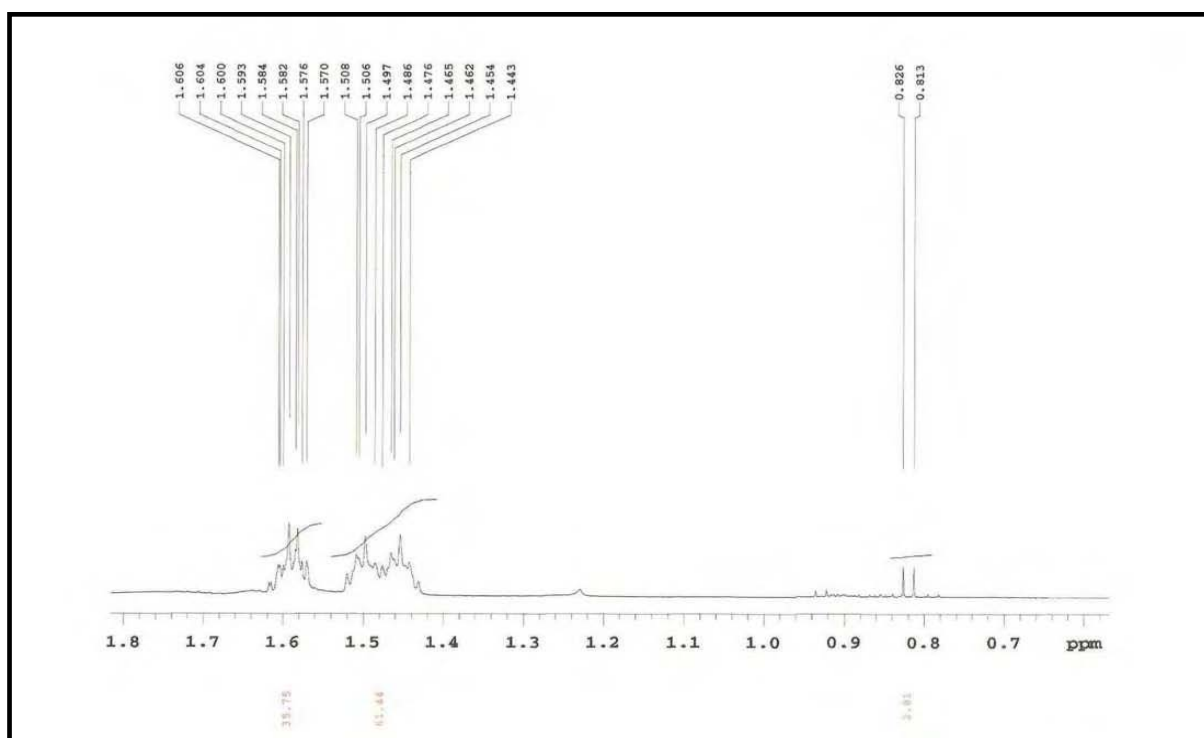


Figura 7. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl-1* na região de 3,6 – 2,5 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

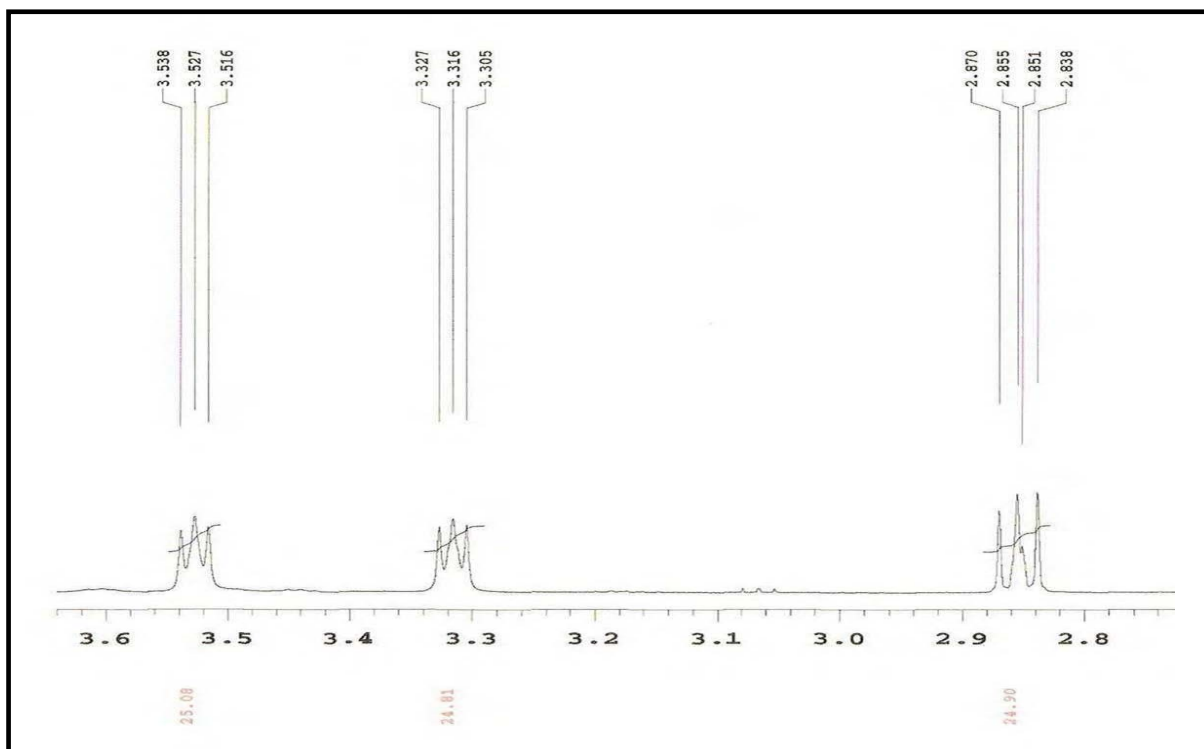


Figura 8. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl-1* na região de 2,90 – 2,50 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

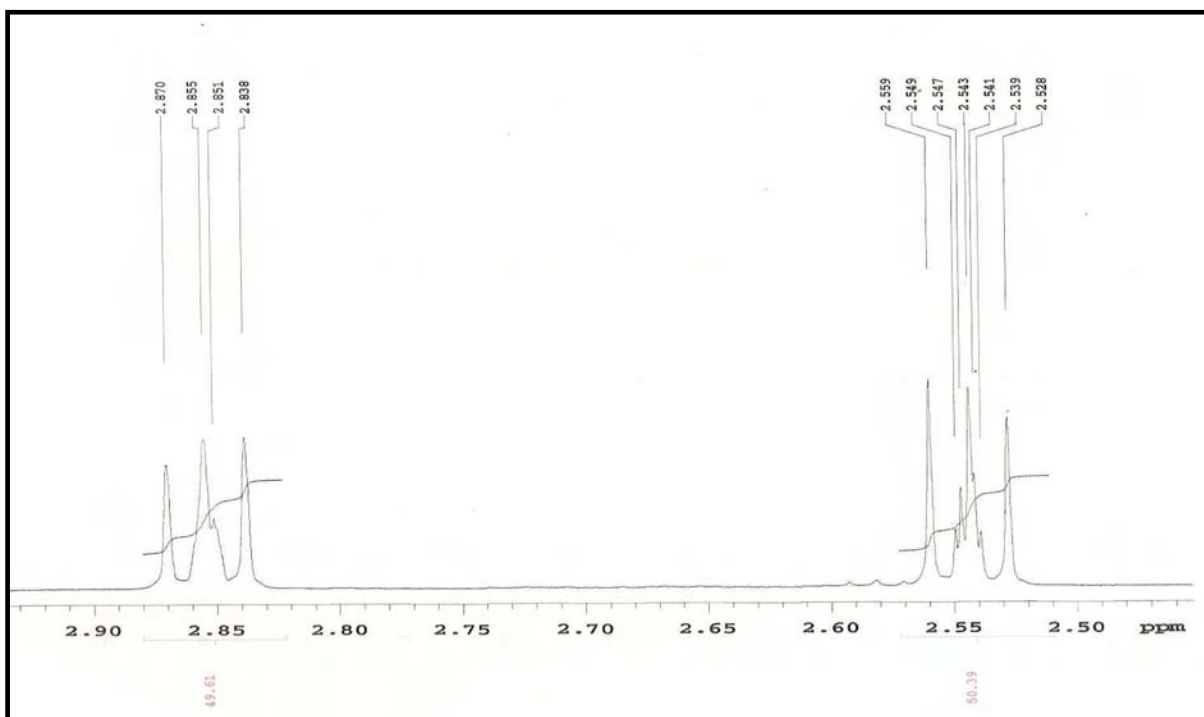


Figura 9. Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pl*-1 (CDCl_3 , 125 MHz)

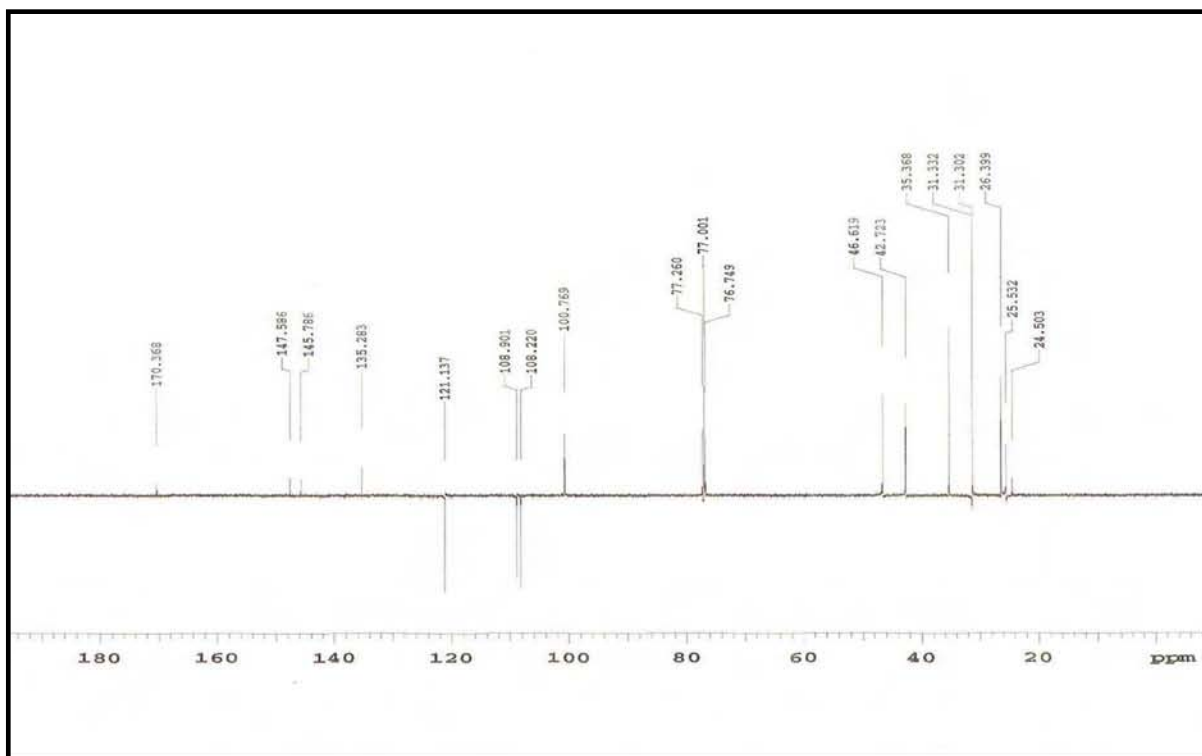


Figura 10. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl*-1 na região de 170 – 110 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

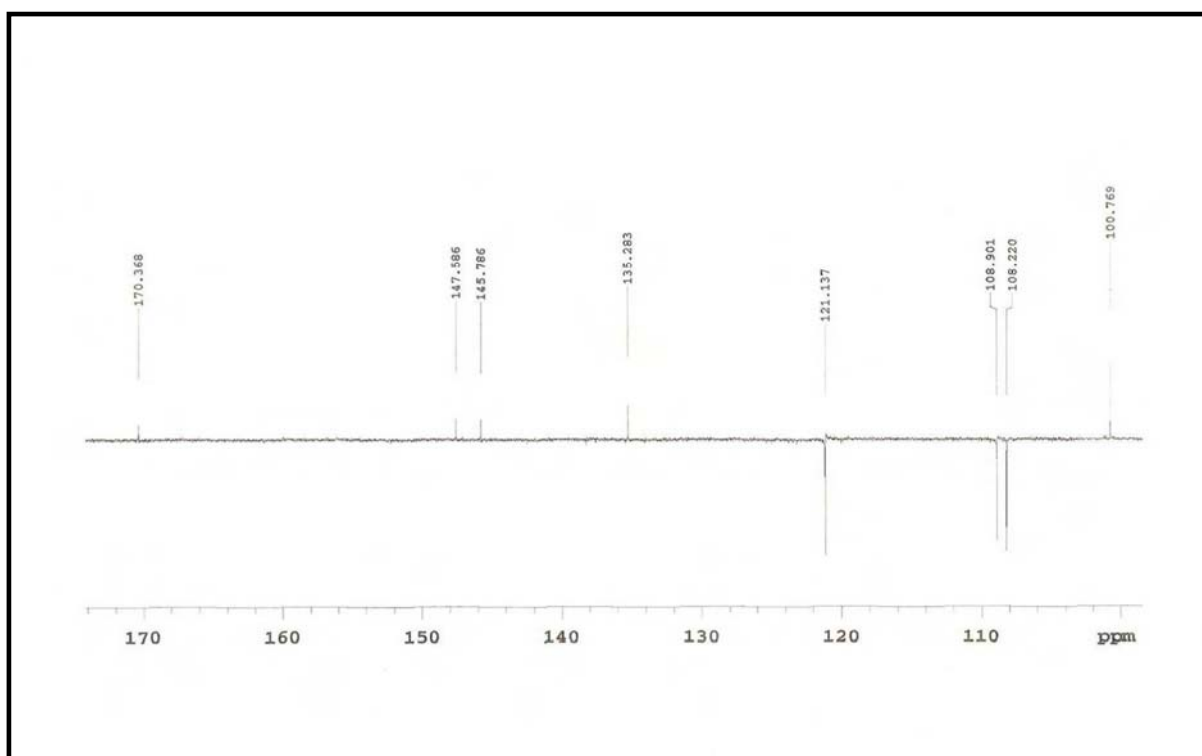


Figura 11. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl*-1 na região de 48 – 26 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

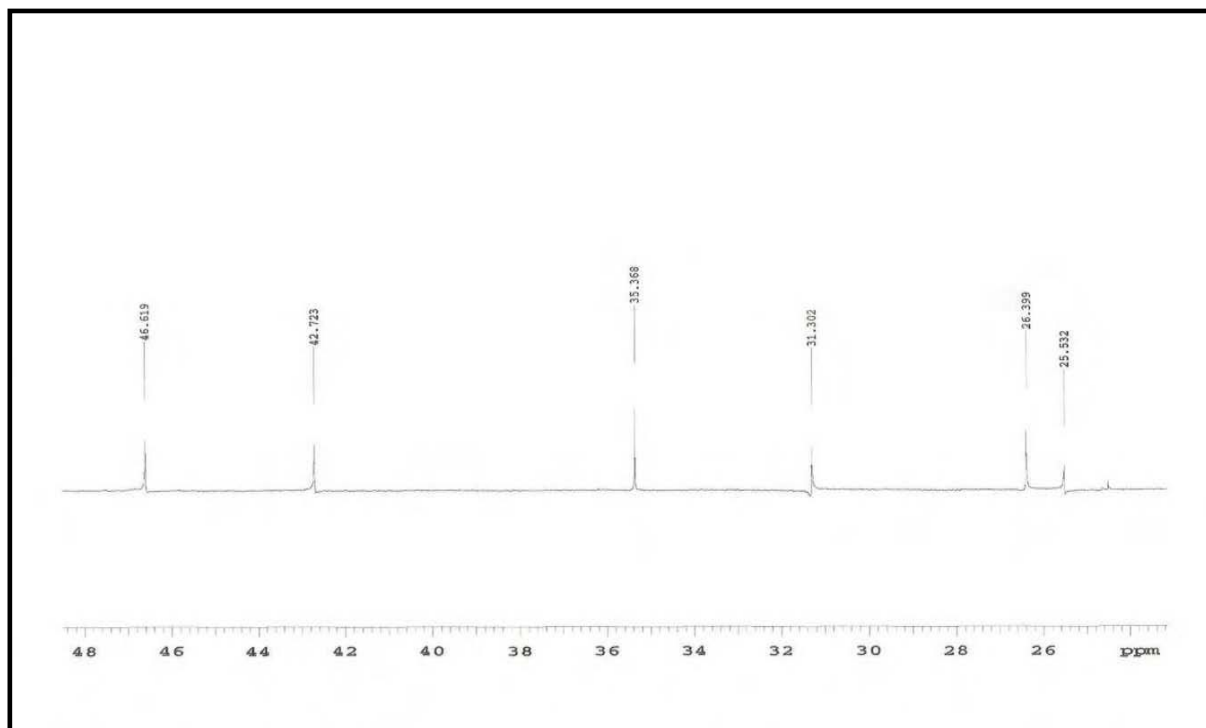


Figura 12. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de *Pl*-1 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

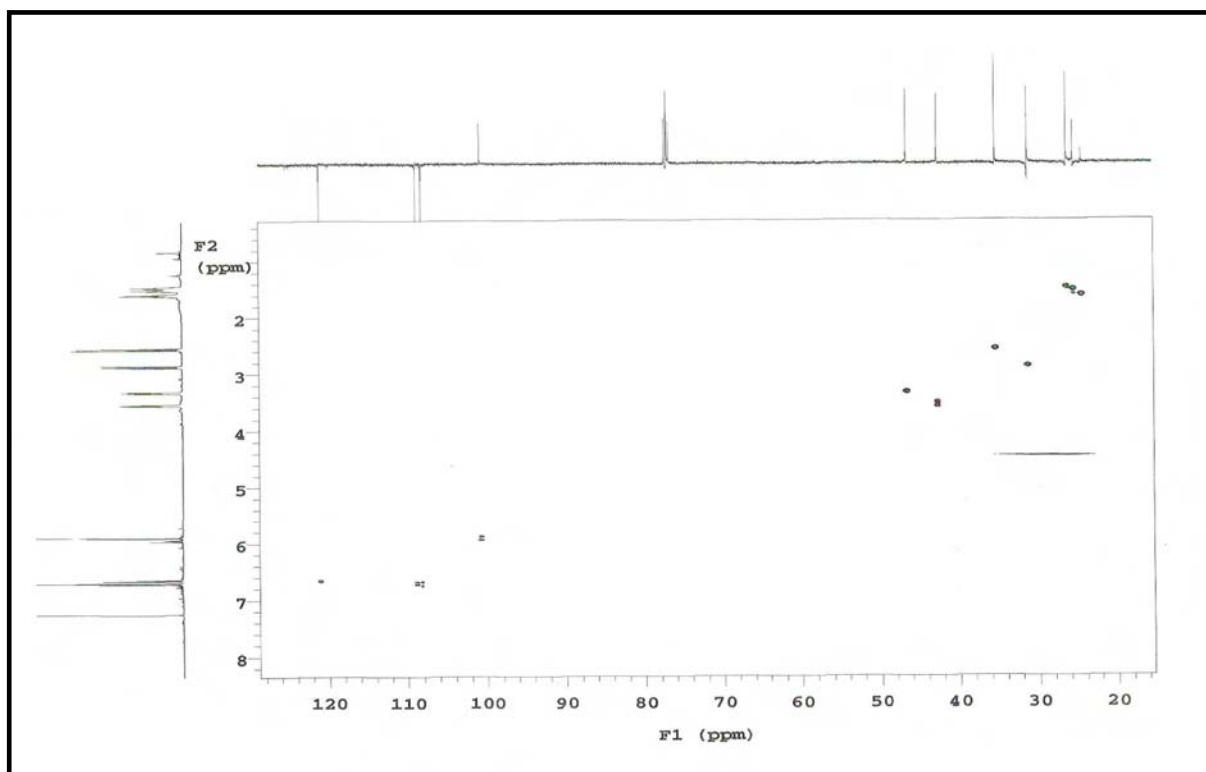


Figura 13. Expansão do espectro HMQC de *Pl-1* na região de 7,2 – 5,4 x 124- 98 ppm

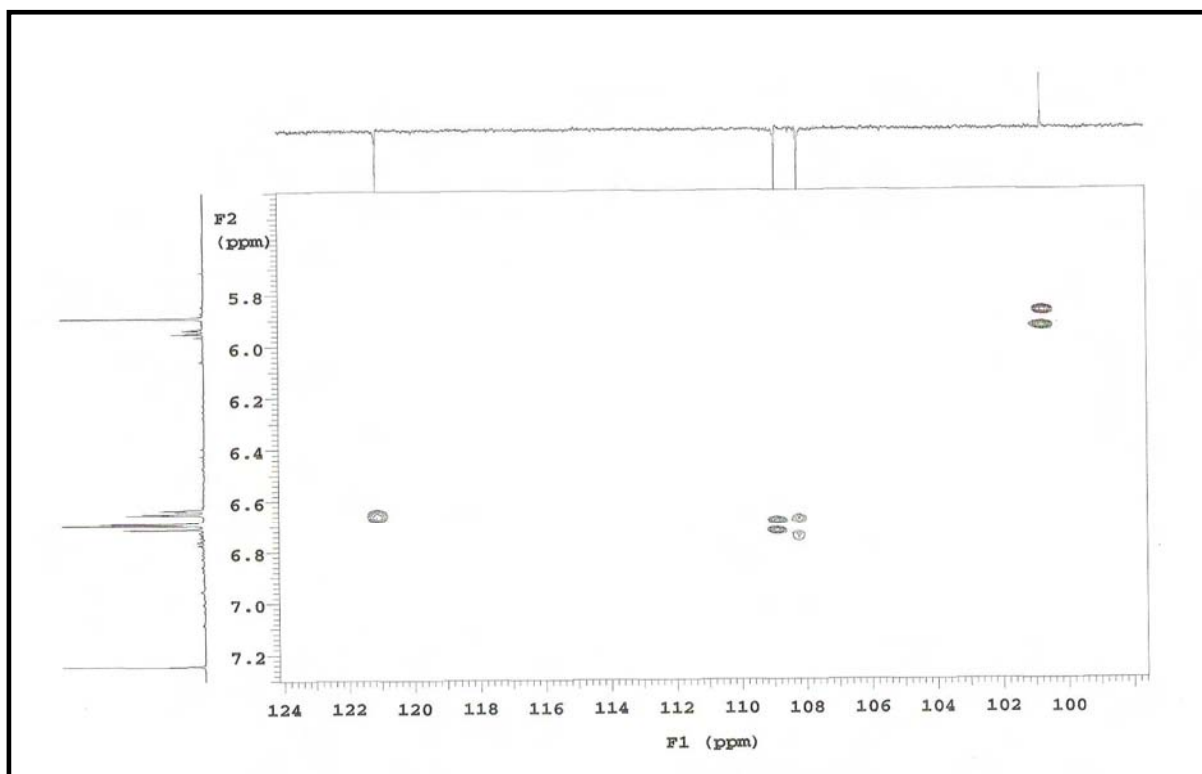


Figura 14. Expansão do espectro HMQC de *Pl-1* na região de 4,0 – 1,0 x 50- 22 ppm

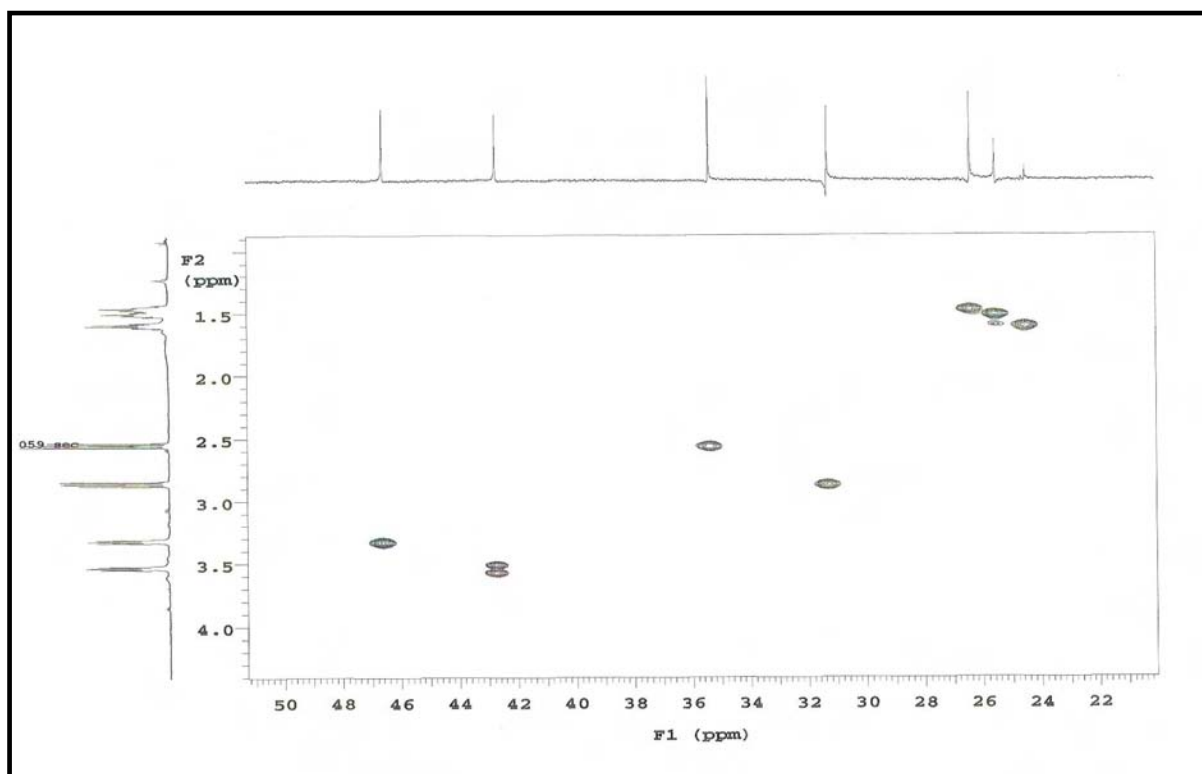


Figura 15. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de *Pl*-1 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

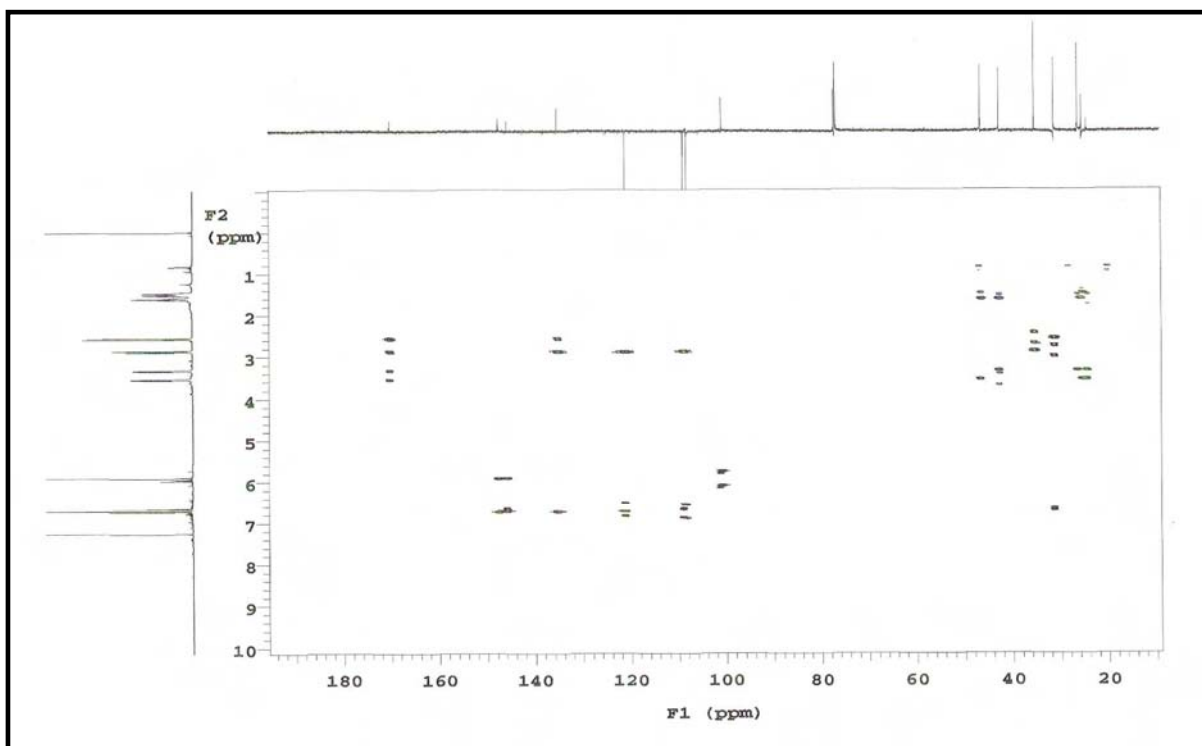


Figura 16. Expansão do espectro HMBC de *Pl*-1 na região de 7,8 – 5,0 x 150 – 96 ppm

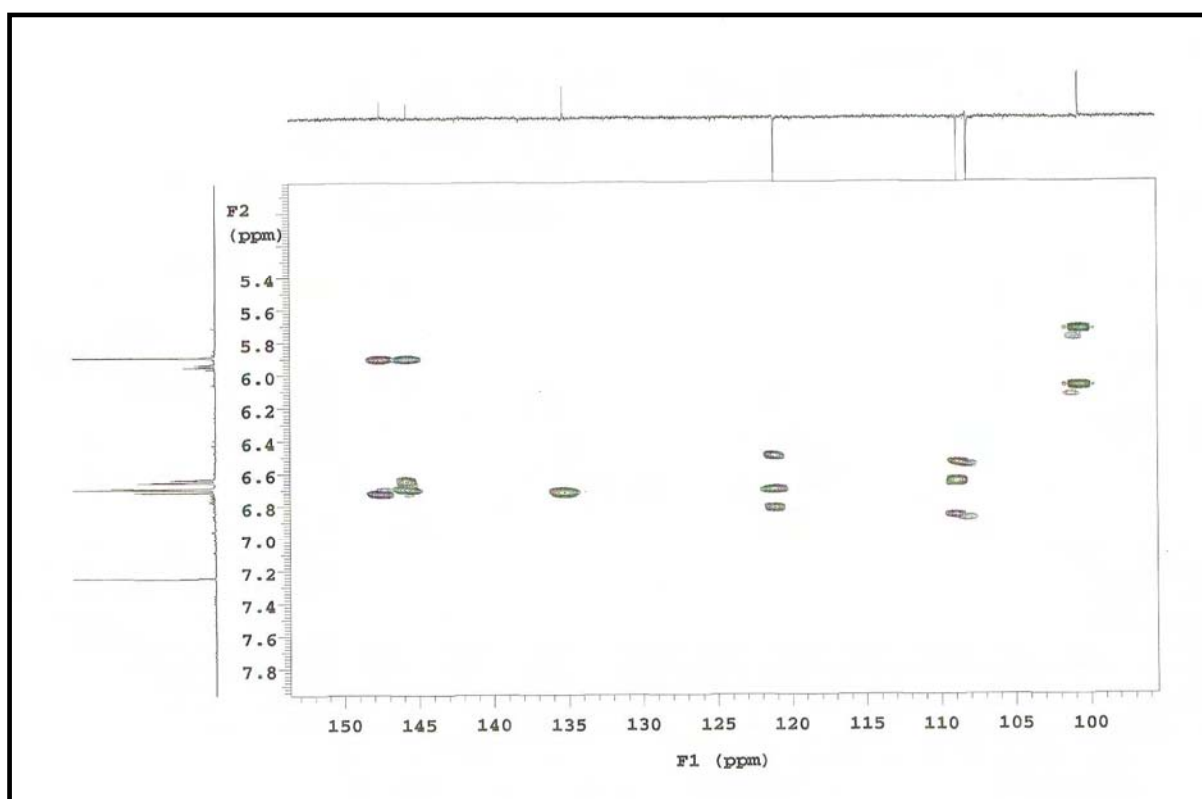


Figura 17. Expansão do espectro HMBC de *Pl-1* na região de 4,0 – 2,1 x 174 – 104 ppm

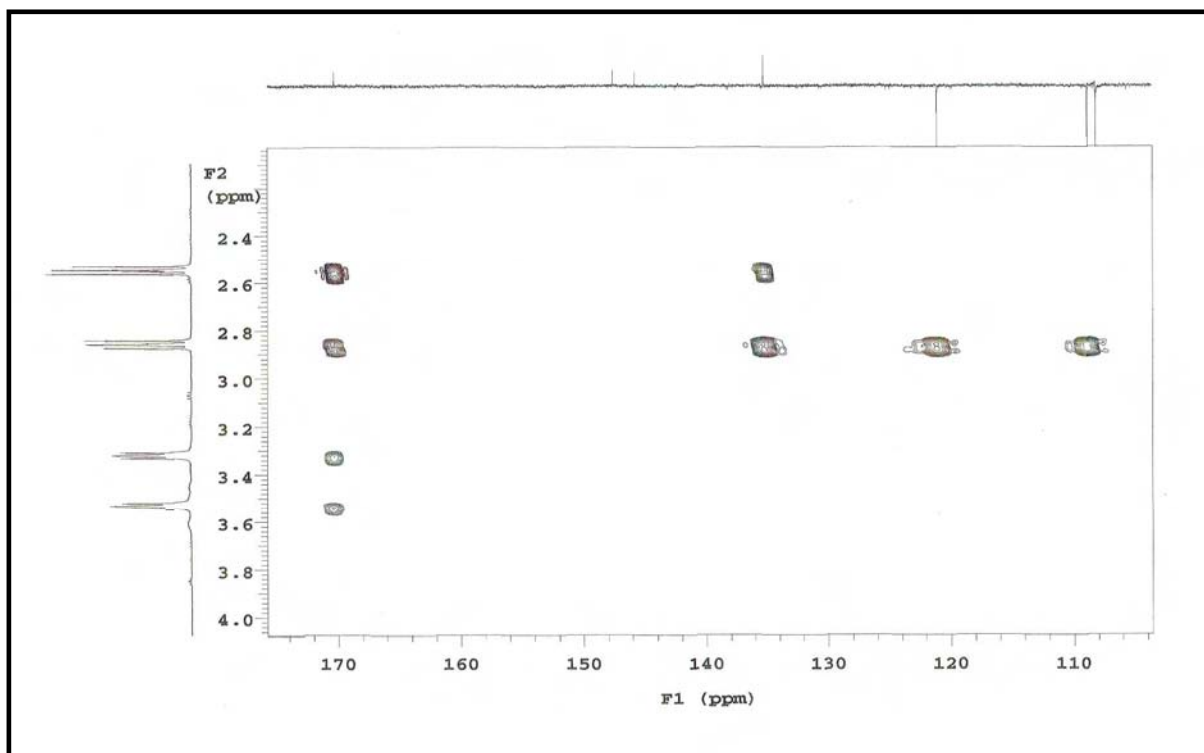


Figura 18. Expansão do espectro HMBC de *Pl-1* na região de 7,4 – 0,5 x 52 – 16 ppm

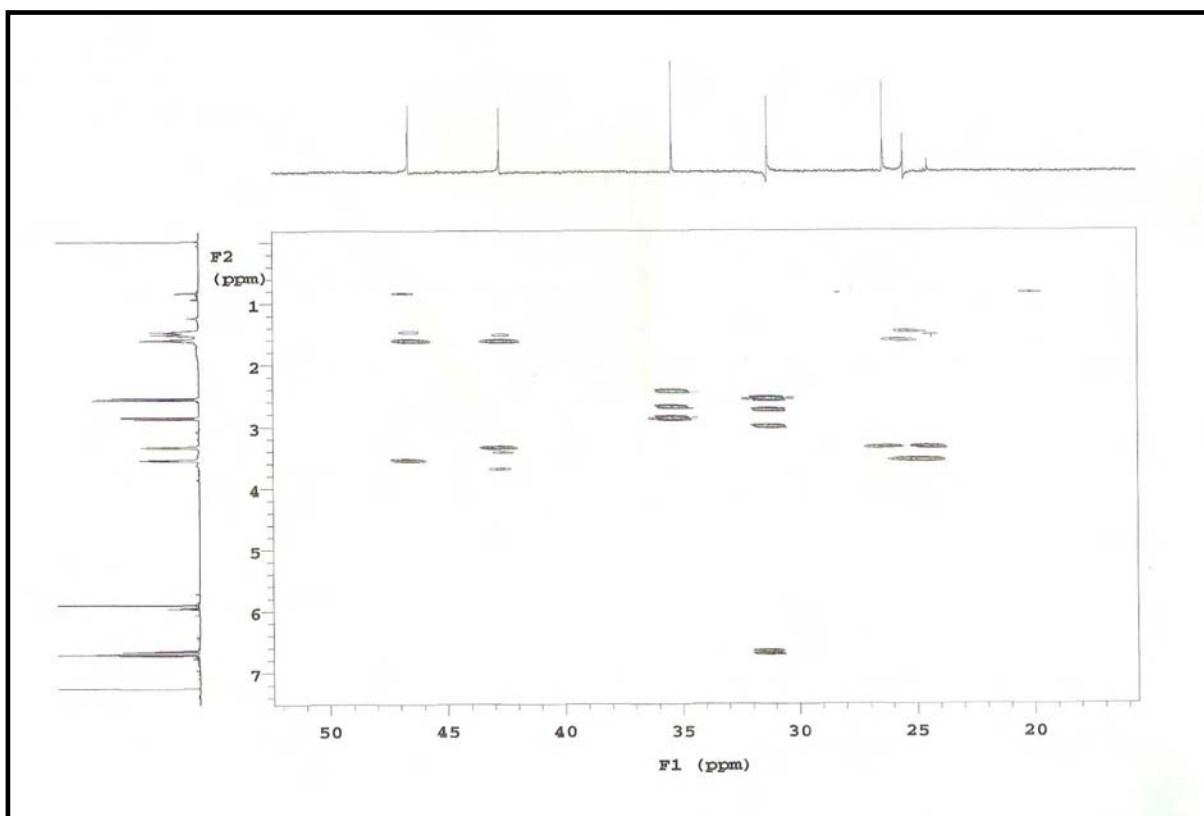


Figura 19. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de *Pl*-1 (CDCl_3 , 500 MHz)

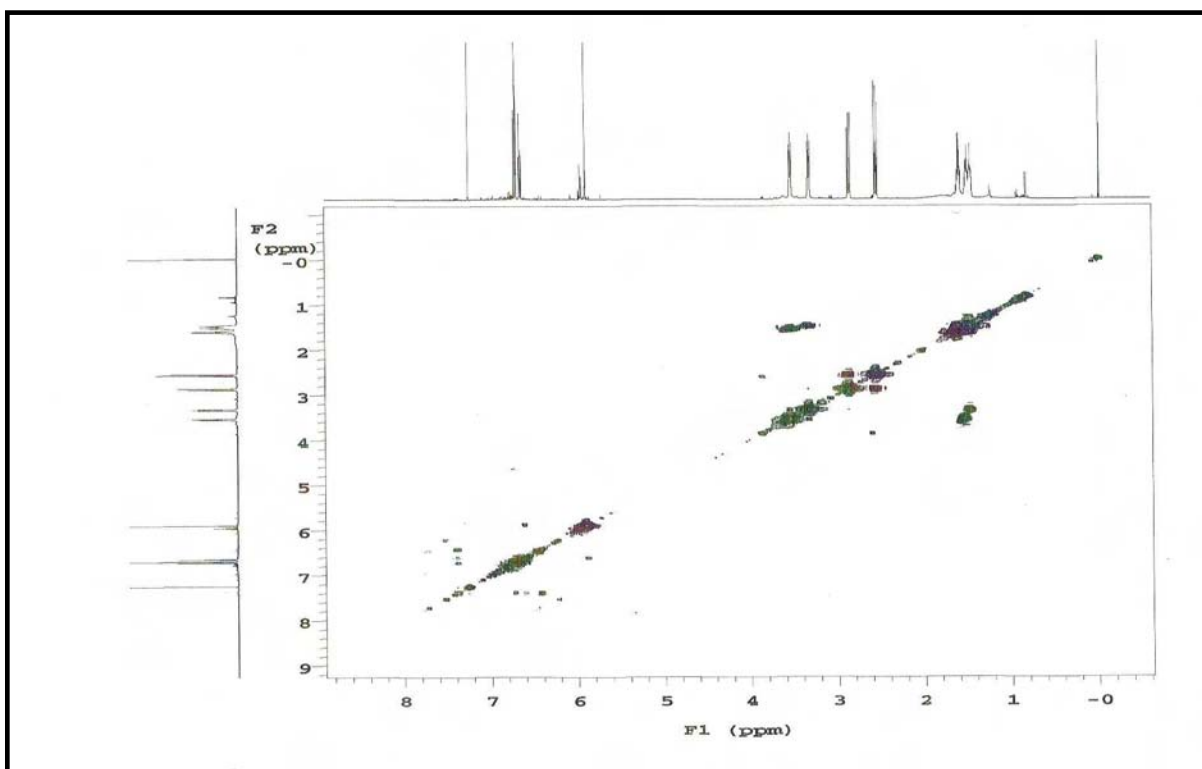


Figura 20. Expansão do espectro de COSY de *Pl*-1 na região de 8,2 – 5,4 x 7,8 – 5,6 ppm

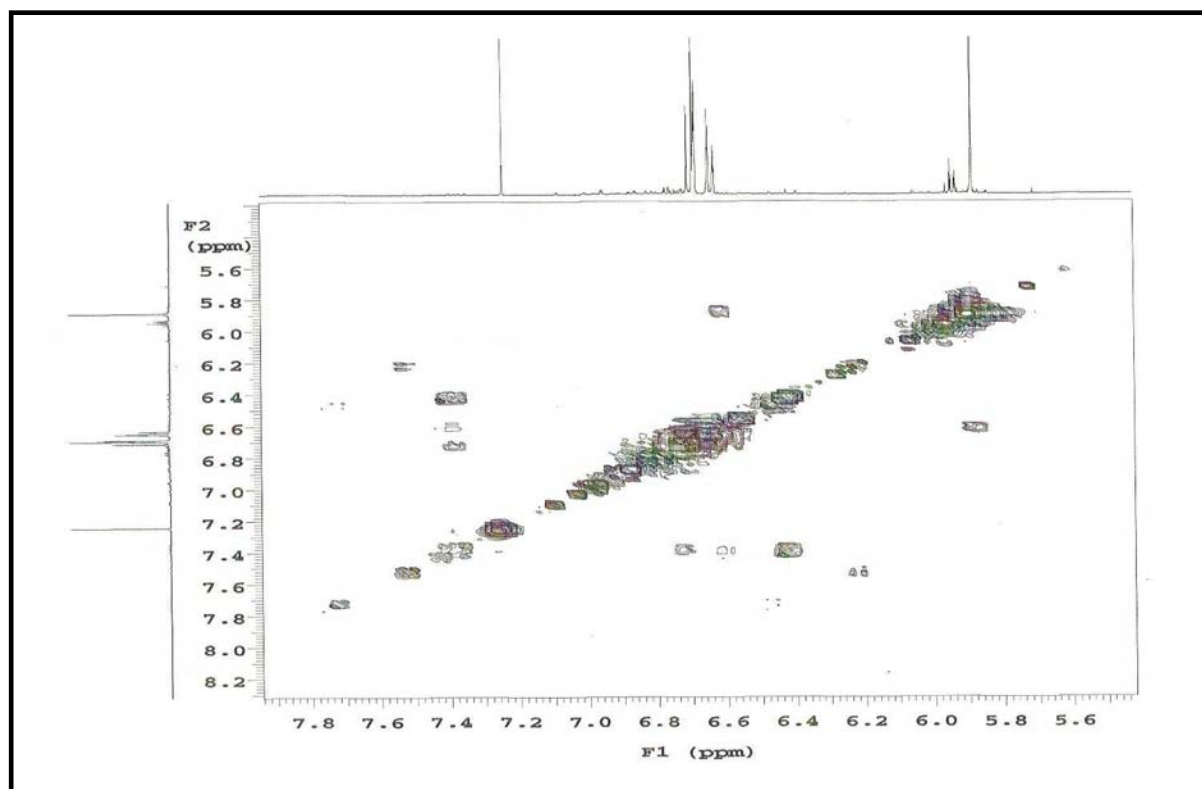


Figura 21. Expansão do espectro de COSY de *Pl*-1 na região de 4,5 – 0,5 x 4,3 – 0,5 ppm

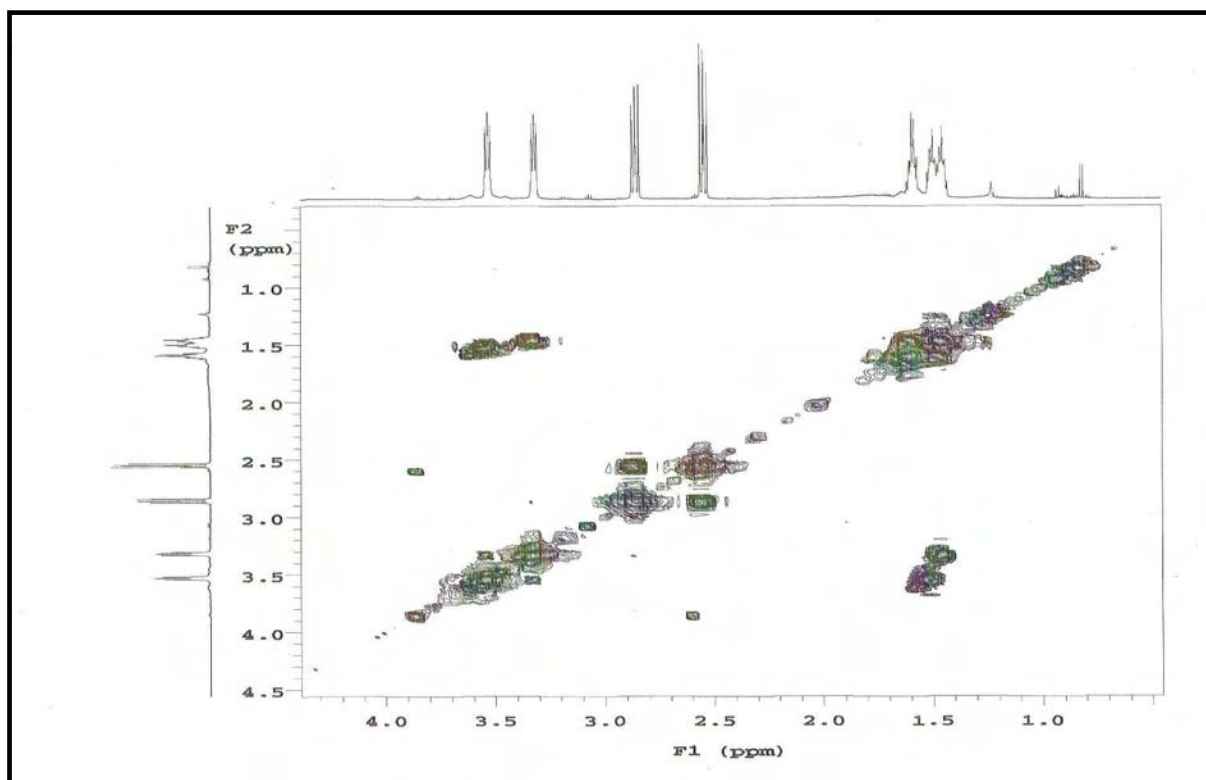


Figura 22. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de *Pl*-1 (CDCl_3 , 500 MHz)

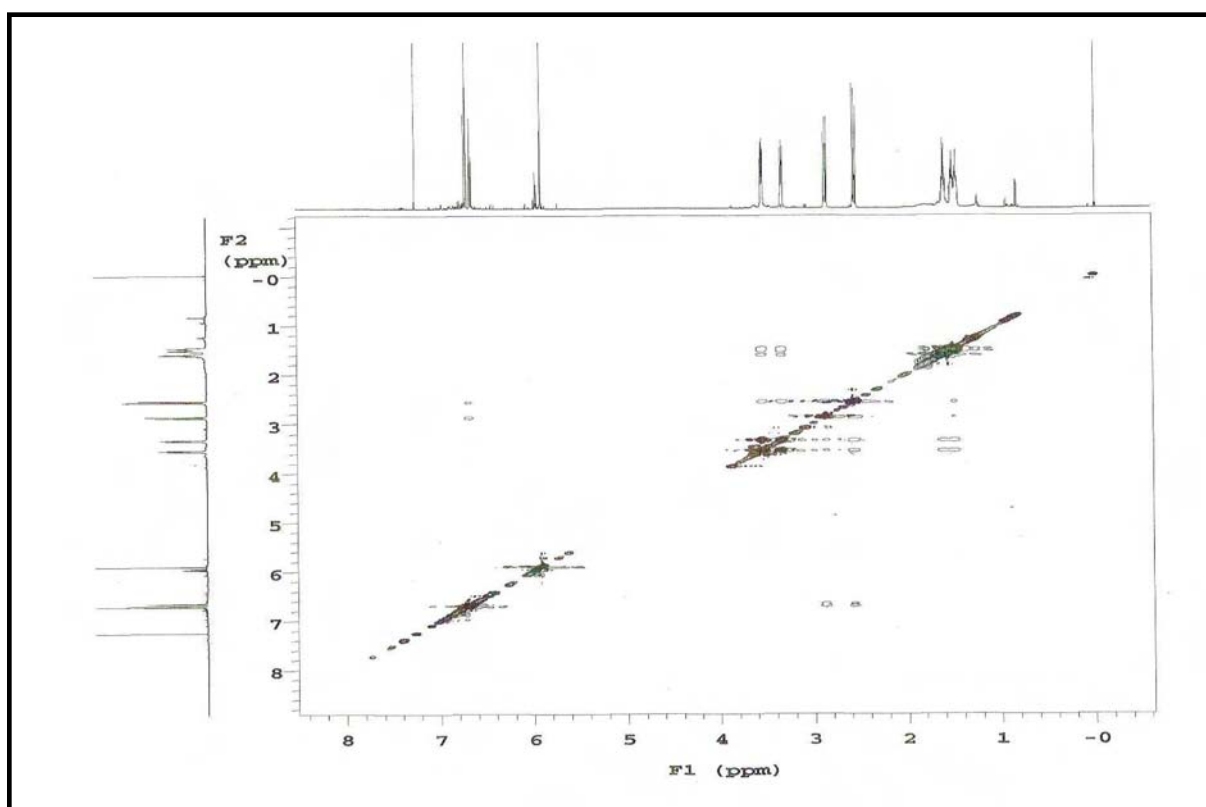


Figura 23. Expansão do espectro de NOESY de *Pl-1* na região de 4,0 – 2,2 x 4,0 – 2,2 ppm

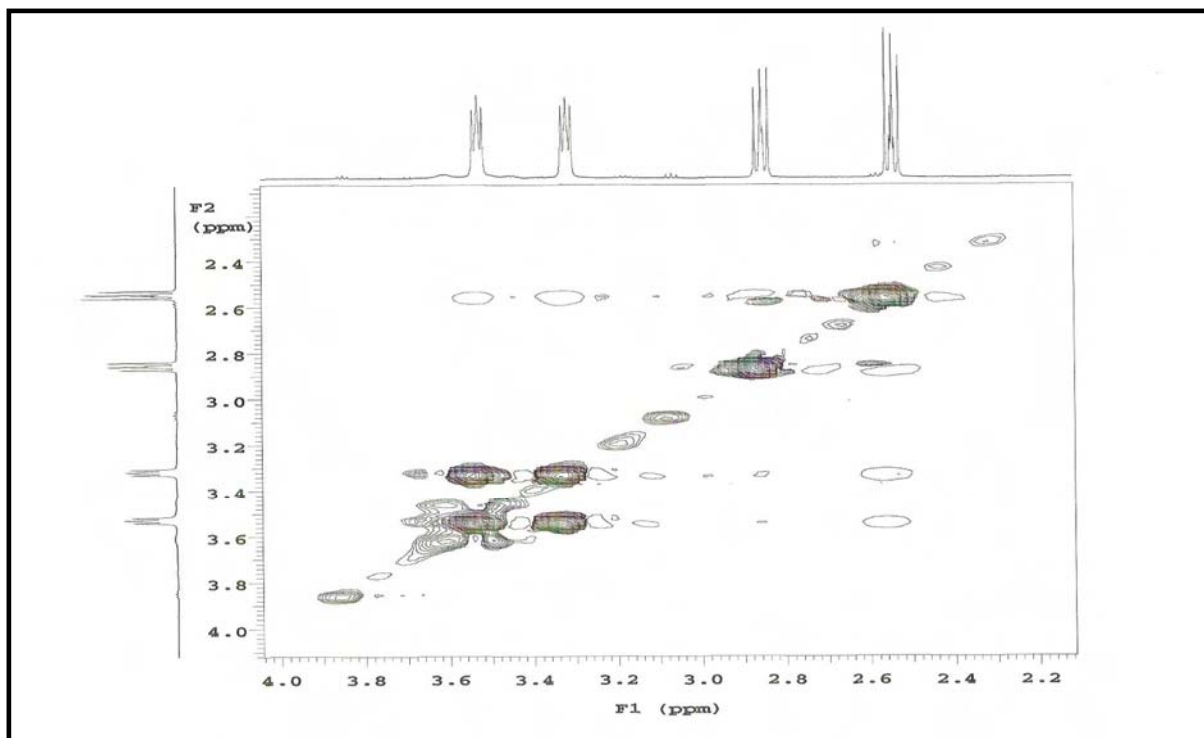


Figura 24. Expansão do espectro de NOESY de *Pl-1* na região de 7,0 – 5,4 x 7,0 – 5,4 ppm

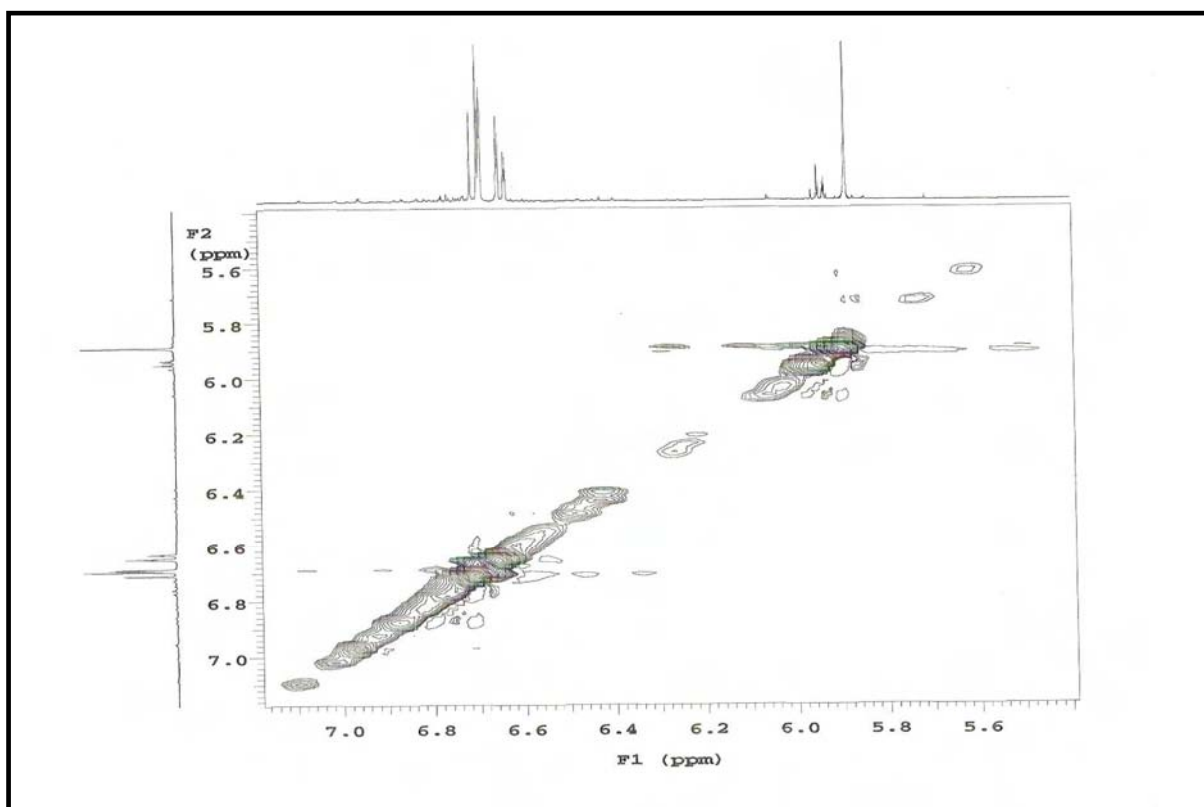


Figura 25. Expansão do espectro de NOESY de *Pl-1* na região de 2,4 – 0,6 x 2,4 – 0,6 ppm

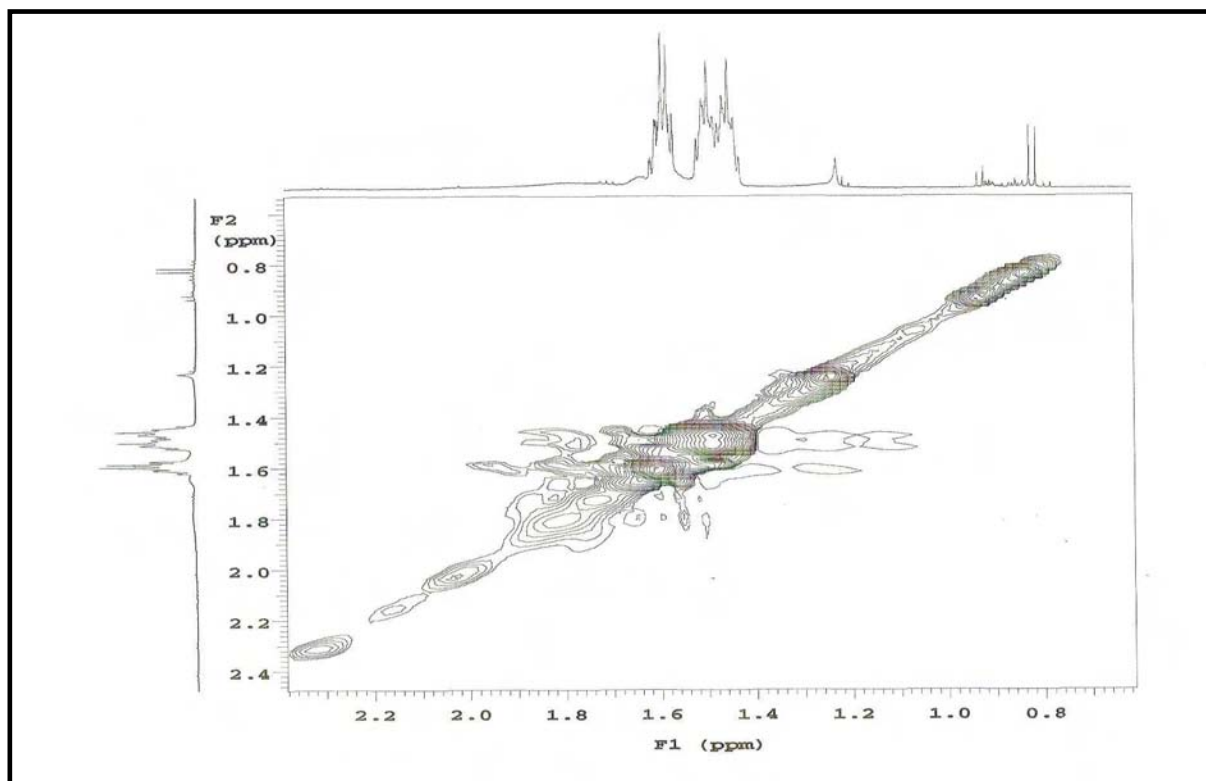
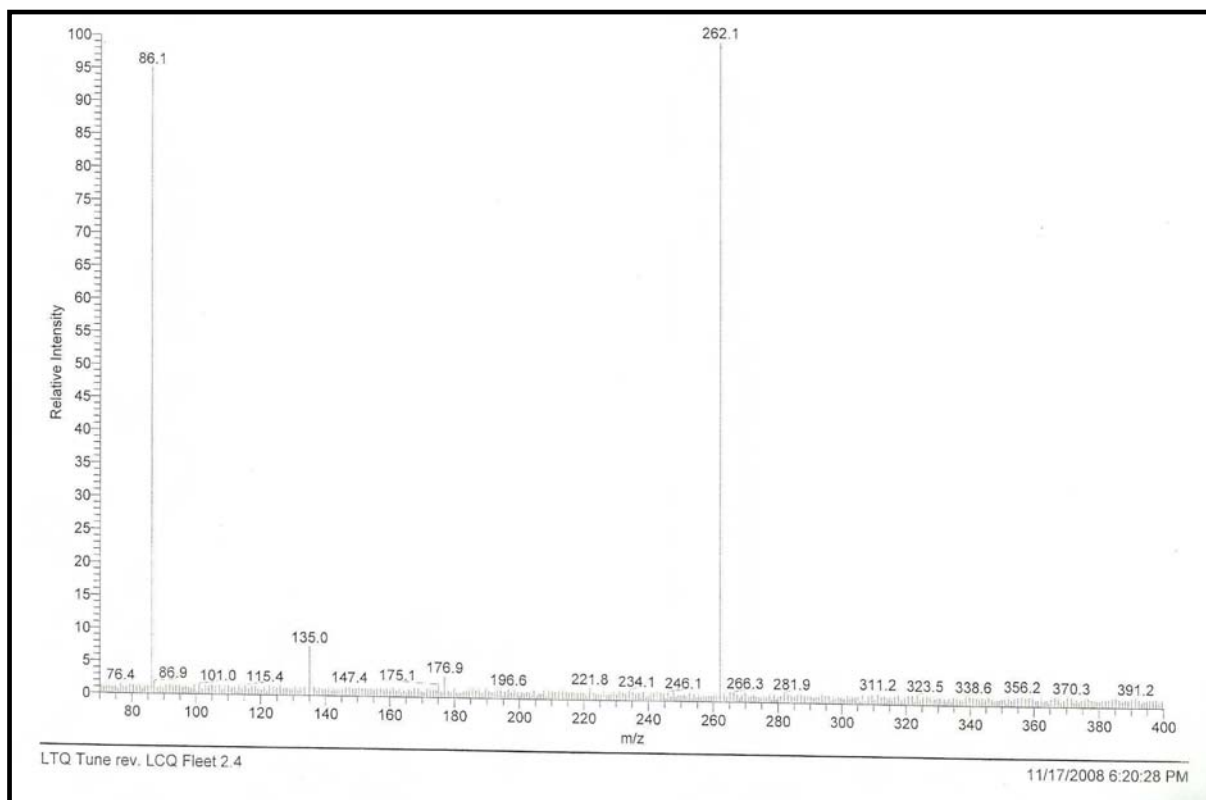


Figura 26. Espectro de massas (ESI-MS) de *Pl-1*



5.4.2. Determinação estrutural de *Pl-2*

A substância codificada como *Pl-2* apresentou-se como um sólido amorfo amarelo claro, solúvel em clorofórmio.

O espectro de IV (Figura 28, p. 112) de *Pl-2* revelou absorção em 1635 cm^{-1} característica de deformação axial de carbonila e uma vibração intensa em 1616 cm^{-1} , atribuída a deformação axial de C=C de alceno. Estas duas absorções mostraram-se compatíveis com a presença de carbonila α , β -insaturada (PAVIA, 2009). Estes dados juntamente com uma banda de deformação axial de C-N em 1352 cm^{-1} sugerem a presença de um grupamento amídico na molécula. A evidência de bandas de deformação axial de C=C de aromático em 1606 e 1489 cm^{-1} sugeriu a presença de anel aromático na molécula.

O espectro de IV mostrou ainda bandas características de deformação angular simétrica de CH_2 em 1444 cm^{-1} , deformação angular de C-H de sp^2 fora do plano entre 925 e 812 cm^{-1} e deformação axial de C-O de éter em 1255 e 1037 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figuras 29 a 33, p. 112-114) revelou um conjunto de sinais para hidrogênios metilênicos, sugestivos de anel piperidínico, dentre os quais pode-se citar um triplete em δ_{H} 3,59 (2H, t, $J=5,5\text{ Hz}$) e um multiplete em δ_{H} 3,32 (2H, m) e 1,5 Hz), sugeridos respectivamente para H-5' e H-1', além de dois multipletos um em δ_{H} 1,54-1,52 (4H, m), atribuído a H-2' e H-4' do anel piperidínico e outro em δ_{H} 1,27-1,23 (2H, m), sugerido para posição H-3' deste mesmo anel.

A presença de três sinais para hidrogênios aromáticos um em δ_{H} 6,82 (ddd, $J=8,0$; 2,0 e 0,5 Hz), acoplando *orto* com um duplete em δ_{H} 6,72 (d, $J=8,0\text{ Hz}$) e *meta* com um outro duplete em δ_{H} 6,89 (d, $J=2,0\text{ Hz}$), sugeriu a existência de um anel benzênico trissubstituído na molécula.

Ainda no espectro de RMN de ^1H , observou-se a presença de um simpleto em δ_{H} 5,92 característico de absorção de hidrogênios de grupamento metilenodioxílico. A existência de um sistema insaturado com geometria *cis* na molécula *Pl-2*, diferente de *Pl-1*, pôde ser evidenciada pelos sinais para hidrogênios olefínicos em δ_{H} 5,89 (d, $J=12,5\text{ Hz}$) e em δ_{H} 6,48 (d, $J=12,5\text{ Hz}$).

O espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), utilizando a técnica APT (Figuras 34 a 36, p. 115-116), mostrou-se semelhante ao de *Pl-1*, revelando a presença de quinze sinais, referentes a 4 carbonos não hidrogenados (δ_{C} 167,34; δ_{C} 129,84; δ_{C} 147,67; δ_{C} 147,82), 5 carbonos metínicos, com absorções na região de carbonos olefínicos e aromáticos (δ_{C} 121,92;

δ_C 132,41; δ_C 108,23; δ_C 108,19; δ_C 123,15) e 6 carbonos metilênicos (δ_C 47,30; δ_C 26,12; δ_C 24,49; δ_C 25,22; δ_C 42,04; δ_C 101,15).

O sinal para carbono não hidrogenado em δ_C 167,34, ao lado dos sinais característicos para hidrogênios olefínicos em δ_H 5,89 (d, $J=12,5$ Hz) e δ_H 6,48 (d, $J=12,5$ Hz), observados no espectro de RMN de ^1H sugeriram a presença de uma carbonila α , β -insaturada na molécula. As absorções para carbonos olefínicos em δ_C 121,92 e δ_C 132,41 foram atribuídas, respectivamente, aos carbonos α e β carbonílicos, sendo estas atribuições fundamentadas pelas correlações observadas no espectro HMQC entre δ_H 5,89/ δ_C 121,92 e δ_H 6,48/ δ_C 132,41.

Uma absorção para carbono metilênico em δ_C 101,15 reforçou a proposta feita pelo espectro de RMN de ^1H quanto a presença do grupamento metilenodióxi, sendo esta atribuição corroborada pelos sinais em δ_C 147,67 e δ_C 147,82 atribuídos aos carbonos C-6 e C-7 que sustentam o referido grupo.

Os sinais em δ_C 47,30 e δ_C 42,04, atribuídos a C-1' e C-5', mostraram-se mais desblindados, quando comparados aos demais carbonos metilênicos, sendo estes deslocamentos químicos justificados pela posição α destes carbonos em relação ao nitrogênio, no anel piperidínico (PAVIA *et. al.*, 2009; SCOTT *et. al.*, 2008).

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC (^nJ , $n=1$) ($^1H \times ^{13}C$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) mostrou as correlações diretas entre os átomos de hidrogênio e seus respectivos carbonos (Figuras 37 a 39, p. 116-117), permitindo o assinalamento inequívoco para cada um destes átomos.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear, HMBC (^nJ , $n=2$ ou 3) ($^1H \times ^{13}C$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) (Figuras 40 a 43, p.118-119) as correlações observadas entre o hidrogênio olefínico em δ_H 5,89 (d, $J=12,5$ Hz) e o carbono C-4 (δ_C 129,84), bem como entre o hidrogênio também olefínico em δ_H 6,48 (d, $J=12,5$ Hz) e os carbonos C-5 (δ_C 108, 23) e C-9 (δ_C 123,15), a três ligações permitiram atribuir os deslocamentos químicos dos hidrogênios H-2 e H-3 em δ_H 5,89 e δ_H 6,48, respectivamente. A atribuição do hidrogênio olefínico H-2 foi confirmada pela correlação evidenciada entre δ_H 5,89 e δ_C 132,41 (C-3).

Através da correlação observada entre o hidrogênio em δ_H 6,89 (d, $J=2$ Hz) e o carbono em δ_C 132,41 (C-3), a três ligações, foi possível atribuir o hidrogênio H-5 em δ_H 6,89 (d, $J=2$ Hz).

O espectro de HMBC mostrou ainda as correlações a três ligações entre H-8 (δ_H 6,72; d, $J=8$ Hz) e os carbonos δ_C 129,84 e δ_C 147,67, entre H-5 (δ_H 6,89; d, $J=2,0$ Hz) e os sinais em δ_C 123,15 e δ_C 147,82, bem como entre H-9 (δ_H 6,82 (ddd, $J=8,0$; 2,0 e 0,5 Hz) e os

carbonos δ_C 108,23 e δ_C 147,82. Estas evidências, juntamente com as correlações diretas observadas no HMQC entre δ_H 6,82 e δ_C 123,15; δ_H 6,72 e δ_C 108,19 e δ_H 6,89 e δ_C 108,23 permitiram atribuir os deslocamentos químicos dos carbonos C-9, C-8 e C-5 em δ_C 123,15; δ_C 108,19 e δ_C 108,23, respectivamente.

Através das interações observadas entre o simpleto em δ_H 5,92 e os carbonos δ_C 147,67 e δ_C 147,82, bem como entre H-9 (δ_H 6,82 (ddd, $J=8,0$; 2,0 e 0,5 Hz) e o carbono em δ_C 147,82 a três ligações, foi possível inferir os sinais em δ_C 147,67 e δ_C 147,82 aos carbonos C-6 e c-7, respectivamente, os quais sustentam o grupamento metilenodioxílico na molécula.

Os hidrogênios olefínicos em δ_H 5,89 (d, $J=12,5$ Hz) e δ_H 6,48 (d, $J=12,5$ Hz) mostraram correlacionar-se a duas e a três ligações, respectivamente, com o carbono carbonílico em δ_C 167,34, confirmando a presença de um sistema α , β -insaturado na molécula.

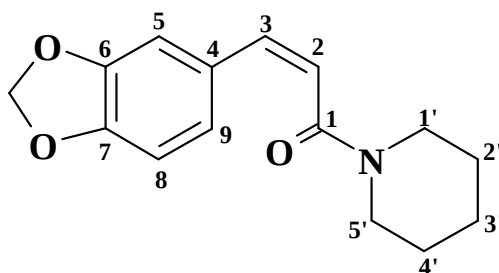
Ainda no espectro de HMBC foi possível observar as correlações entre o hidrogênio δ_H 3,32 (m) e os carbonos C-3' (δ_C 24,49) e C-5' (δ_C 42,04) a três ligações e entre este mesmo hidrogênio e o carbono C-2' (δ_C 26,12), a duas ligações, bem como entre o hidrogênio em δ_H 3,59 (t, $J=5,5$ Hz) e os carbonos C-3' (δ_C 24,49) a três ligações, e a duas ligações com o carbono C-4' (δ_C 25,22). Todas estas correlações permitiram atribuir os deslocamentos químicos em δ_H 3,32 e δ_H 3,59 aos respectivos hidrogênios H-1' e H-5', do anel piperidínico; este primeiro mostrou também correlacionar-se, a três ligações, com o carbono carbonílico em δ_C 167,34, confirmando que este sustenta o anel piperidínico.

Estas atribuições juntamente com as correlações diretas entre δ_H 1,27-1,23/ δ_C 24,49 e δ_H 1,54-1,52/ δ_C 25,22/ δ_C 26,12, observadas no espectro de HMQC, permitiram inferir os deslocamentos de carbonos em δ_C 24,49; δ_C 25,22 e δ_C 26,12, respectivamente às posições C-3'; C-4' e C-2'.

O espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY ($^1H \times ^1H$, a 500 MHz) (Figuras 44 a 46, p. 120-121) revelou correlações entre os hidrogênios vicinais H-2 (δ_H 5,89; d, $J=12,5$ Hz) e H-3 (δ_H 6,48; d, $J=12,5$ Hz); H-2' (δ_H 1,54-1,52; m) e H-3' (δ_H 1,27-1,23; m); H-3' (δ_H 1,27-1,23; m) e H-4' (δ_H 1,54-1,52; m) e H-4' (δ_H 1,54-1,52; m) e H-5' (δ_H 3,59; t, $J=5,5$ Hz), reforçando as atribuições feitas a estes átomos.

A análise dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais de *Pl-2* (Tabela 9, p. 110) e sua comparação com modelo da literatura (WEI, 2004) (Tabela 10, p. 111) e com *Pl-1*, permitiu identificar *Pl-2* como sendo a 1-(1-oxo-3(3,4-metilenodioxi-fenil)-2Z-propenil) piperidina, uma amida piperidínica, relatada pela primeira vez na espécie *Piper lateripilosum* e também já isolada da espécie *Piper nigrum*.

O espectro de massas de *Pl*-2 ($C_{15}H_{17}NO_3$) (Figura 47 a 48, p. 121-122) mostrou um íon pseudomolecular de $[M + H]^+$: m/z 260 daltons e um íon fragmento $[(M+H) - C_5H_{11}N]^+$: m/z 175, condizentes com a proposta estrutural feita para a substância analisada. A fragmentação sugerida para *Pl*-2, encontra-se na Figura 49.



1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil)-2Z-propenil) piperidina

Figura 49. Propostas de fragmentações para *Pl*-2, a partir do espectro de massas ESI-MS.

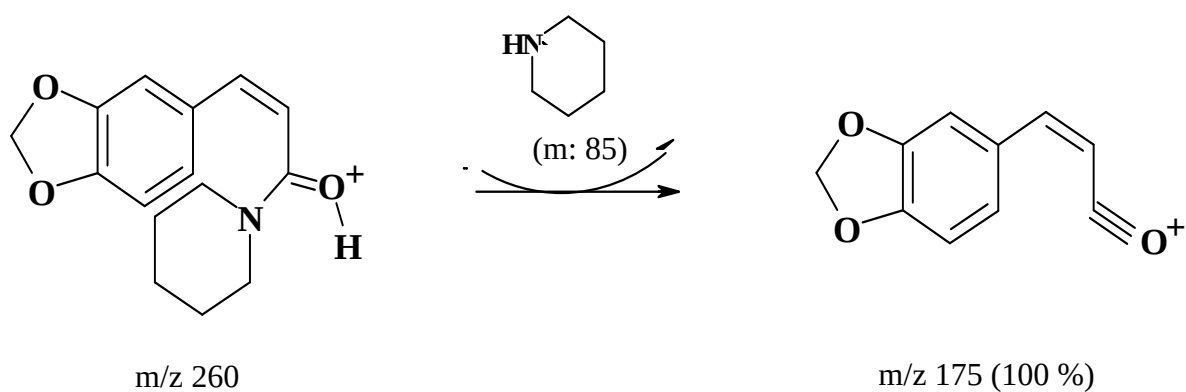
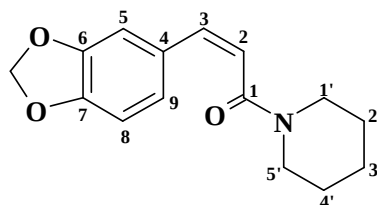


Tabela 9. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de *Pl-2*



Pl-2 (CDCl_3)

C	δ_{C}	HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		COSY
		δ_{H}		^2J	^3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1	167,34	-				
4	129,84	-				
6	147,67	-				
7	147,82	-				
CH						
2	121,92	5,89 (d, $J=12,5$ Hz)		C-1; C-3	C-4	H-3
3	132,41	6,48 (d, $J=12,5$ Hz)			C-1; C-5; C-9	H-2
5	108,23	6,89 (d, $J=2,0$ Hz)			C-3; C-7; C-9	
8	108,19	6,72 (dl, $J=8,0$ Hz)			C-4; C-6	
9	123,15	6,82 (ddd, $J=8,0$; $2,0$ e $0,5$ Hz)			C-3; C-5; C-7	
CH₂						
1'	47,30	3,32 (m)		C-2'	C-1; C-3'; C-5'	
2'	26,12	1,54-1,52 (m)				H-3'
3'	24,49	1,27-1,23 (m)		C-4'		H-2'; H-4'
4'	25,22	1,54-1,52 (m)		C-3'		H-3'; H-5'
5'	42,04	3,59 (t, $J=5,5$ Hz)		C-4'	C-3'	H-4'
CH₂O₂	101,15	5,92 (s)			C-6; C-7	

Tabela 10. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pl-2* com valores encontrados na literatura (WEI, 2004) (δ em ppm e J em Hz).

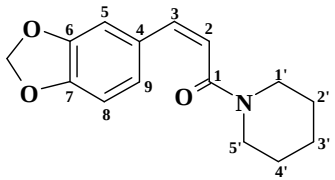
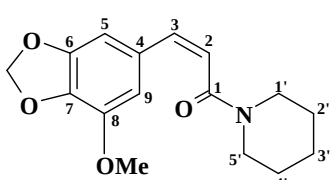
<i>Pl-2</i> (CDCl_3)			Literatura (CDCl_3)		
					
C	δ_{C}	δ_{H}	C	δ_{C}	δ_{H}
1	167,34	-	1	167,4	-
4	129,84	-	4	130,3	-
6	147,67	-	6	148,9	-
7	147,82	-	7	143,5	-
			8	135,4	-
CH			CH		
2	121,92	5,89 (d, $J=12,5$ Hz)	2	122,5	5,94 (d, $J=12,5$ Hz)
3	132,41	6,48 (d, $J=12,5$ Hz)	3	132,4	6,49 (d, $J=12,5$ Hz)
5	108,23	6,89 (d, $J=2,0$ Hz)	5	108,4	6,62 (d, $J=1,4$ Hz)
8	108,19	6,72 (dl, $J=8,0$ Hz)			
9	123,15	6,82 (ddd, $J=8,0$; 2,0 e 0,5 Hz)	9	102,4	6,59 (d, $J=1,4$ Hz)
CH₂			CH₂		
1'	47,30	3,32 (m)	1'	47,3	3,34 (t, $J=5,7$ Hz)
2'	26,12	1,54-1,52 (m)	2'	26,2	1,55 (m)
3'	24,49	1,27-1,23 (m)	3'	24,5	1,29 (m)
4'	25,22	1,54-1,52 (m)	4'	25,3	1,55 (m)
5'	42,04	3,59 (t, $J=5,5$ Hz)	5'	42,0	3,61 (t, $J=5,7$ Hz)
CH₂O₂	101,15	5,92 (s)	CH₂O₂	101,6	5,97 (s)
			OCH₃	56,5	3,87 (s)

Figura 28. Espectro de IV *Pl*-2 em pastilha de KBr

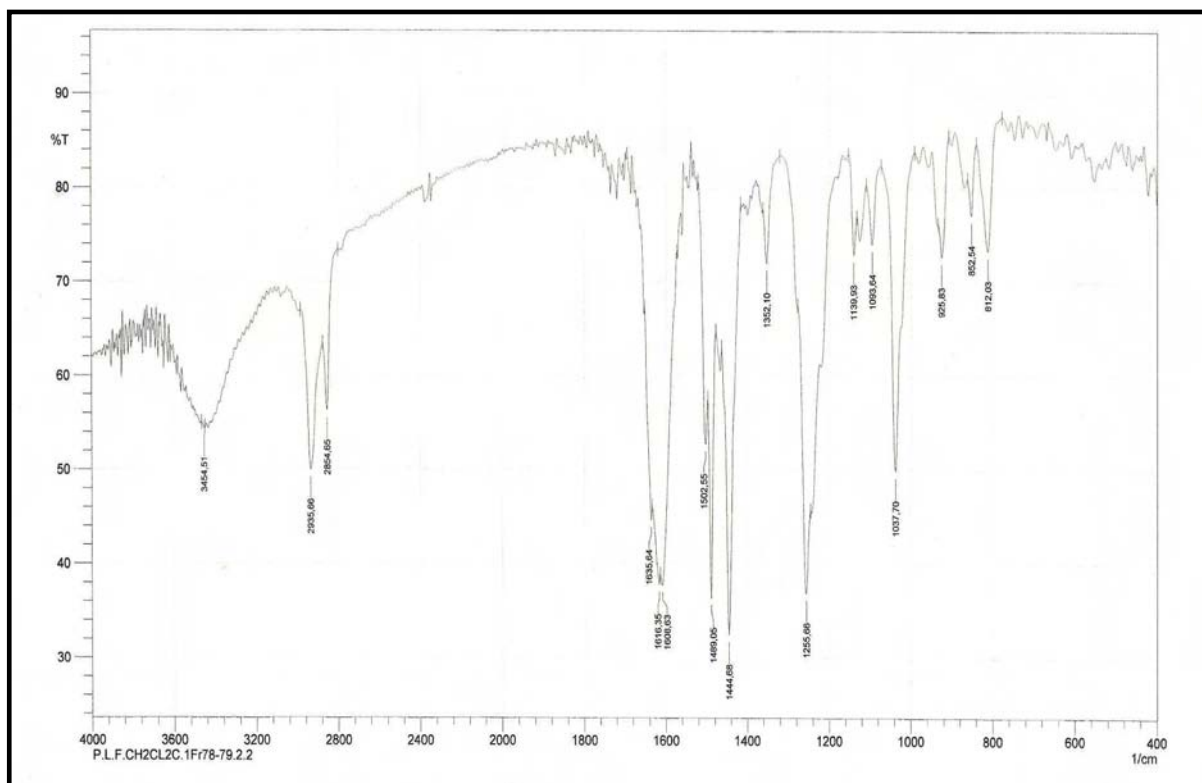


Figura 29. Espectro de RMN ^1H de *Pl*-2 (CDCl_3 , 500 MHz)

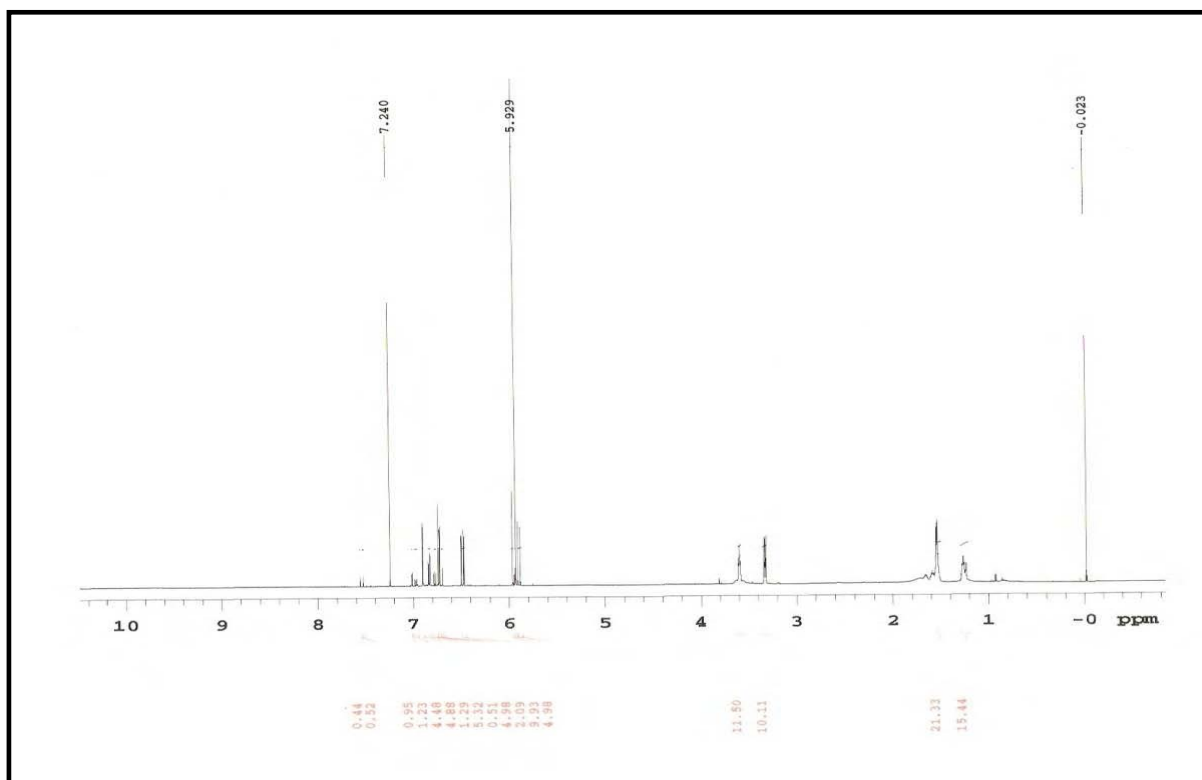


Figura 30. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl*-2 na região de 6,90 – 6,69 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

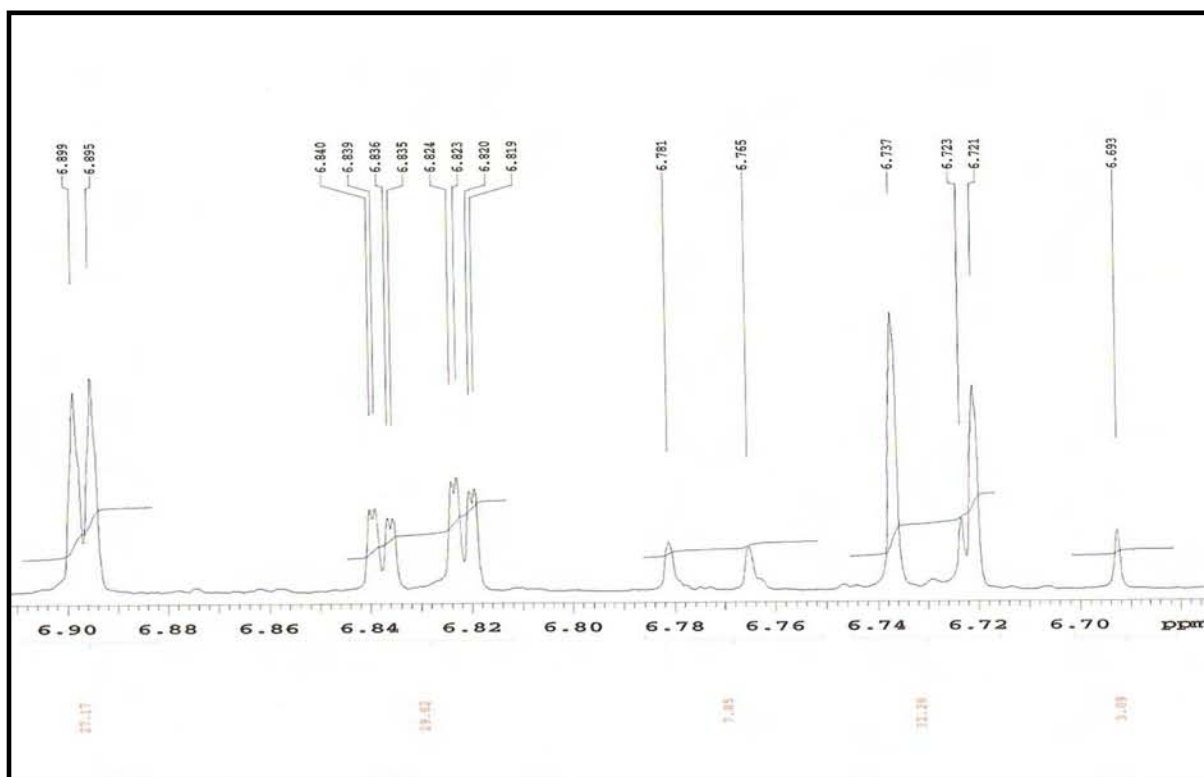


Figura 31. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl*-2 na região de 6,5 – 5,9 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

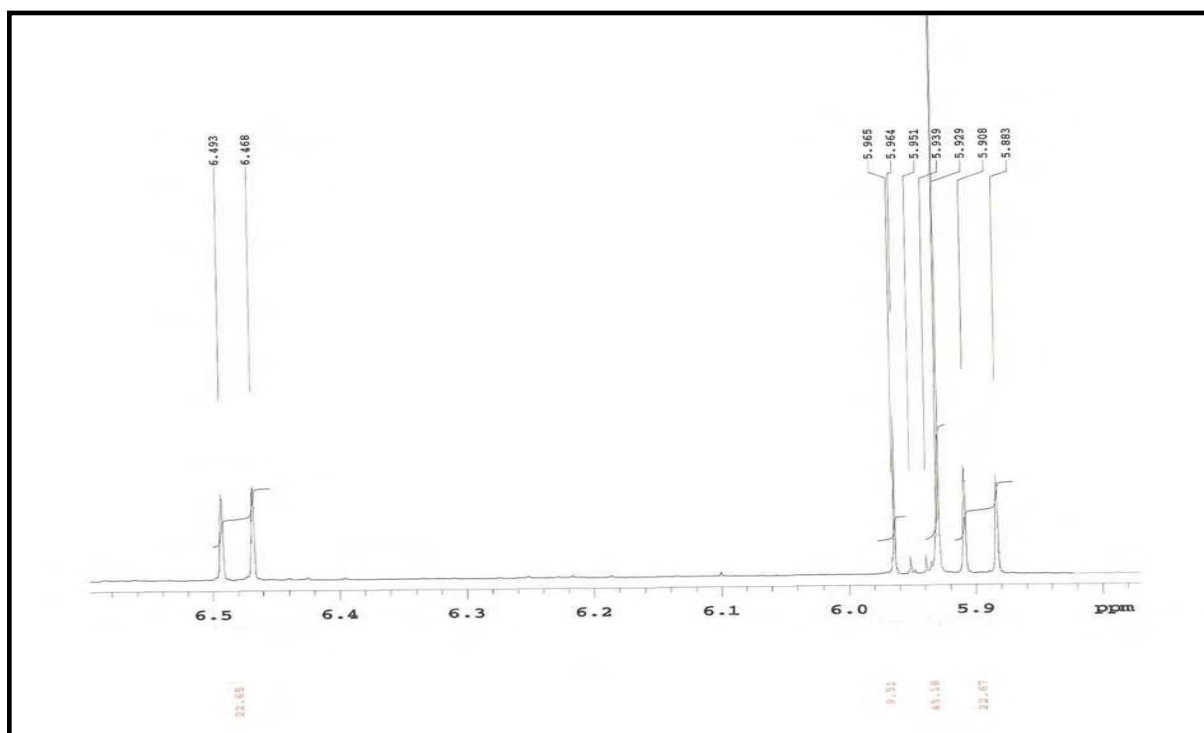


Figura 32. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl-2* na região de 3,8 – 1,2 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

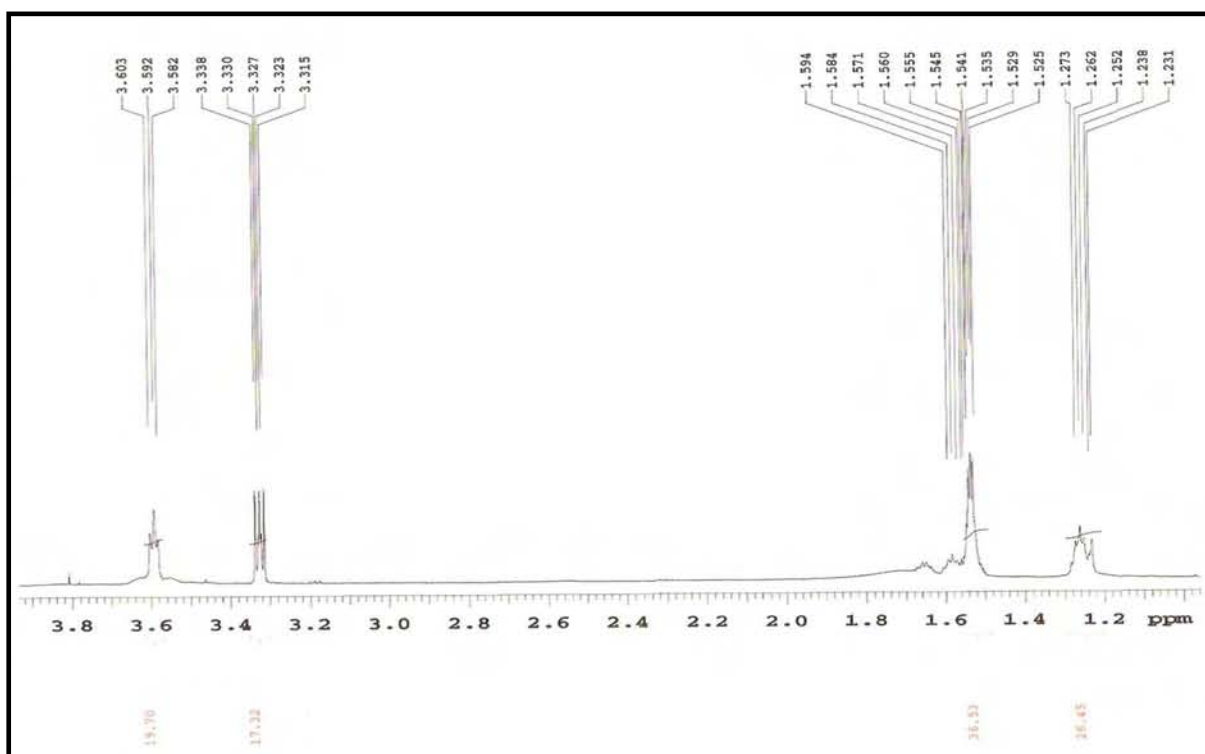


Figura 33. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl-2* na região de 3,6 – 3,3 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

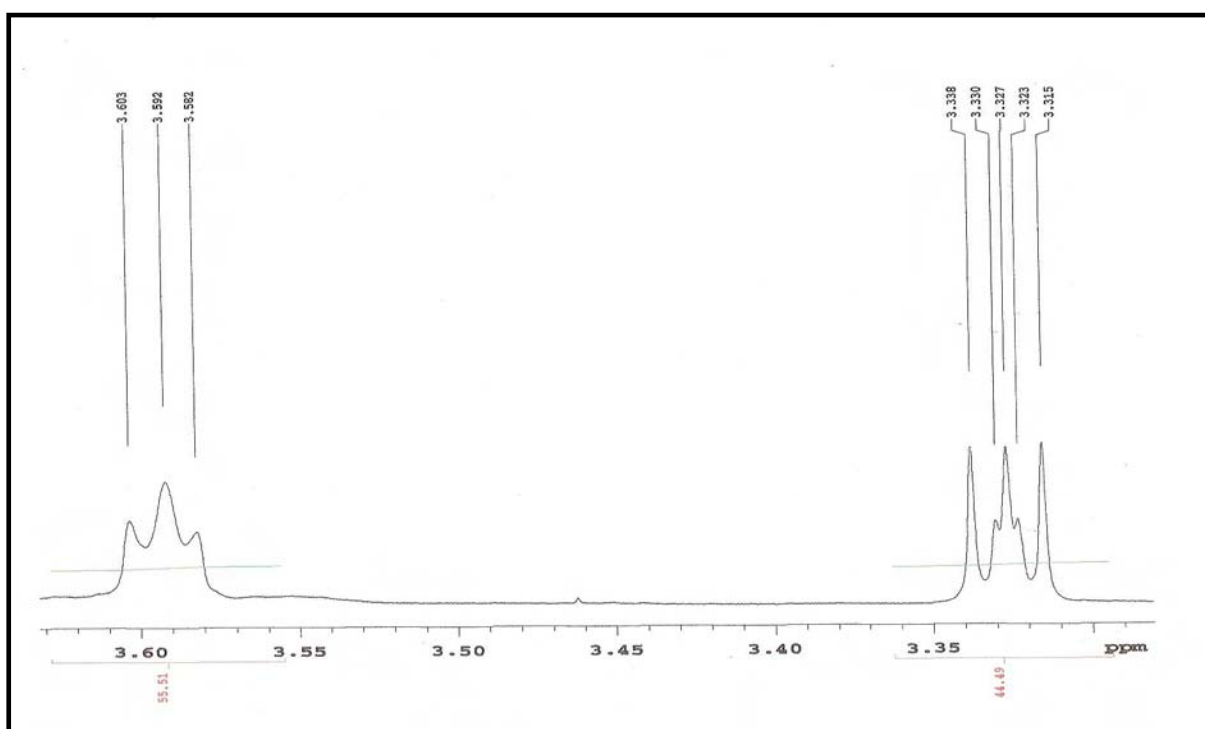


Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pl*-2 (CDCl_3 , 125 MHz)

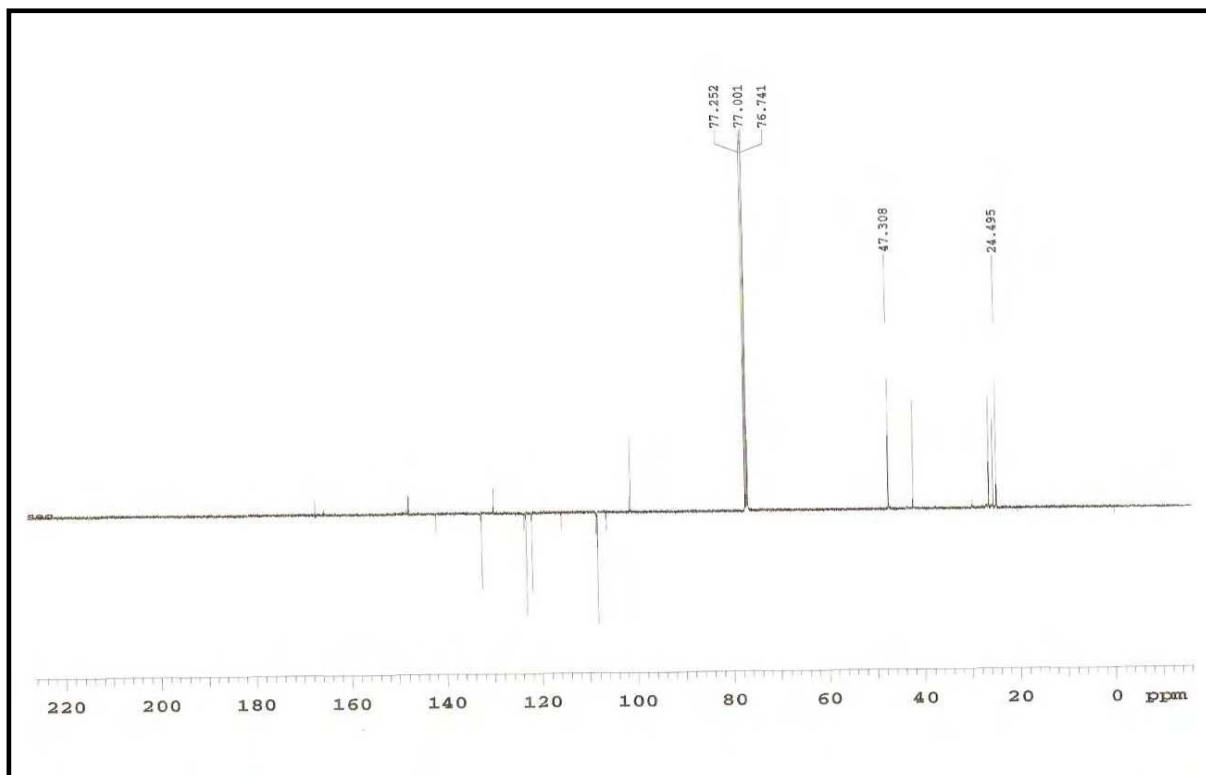


Figura 35. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl*-2 na região de 48 – 26 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

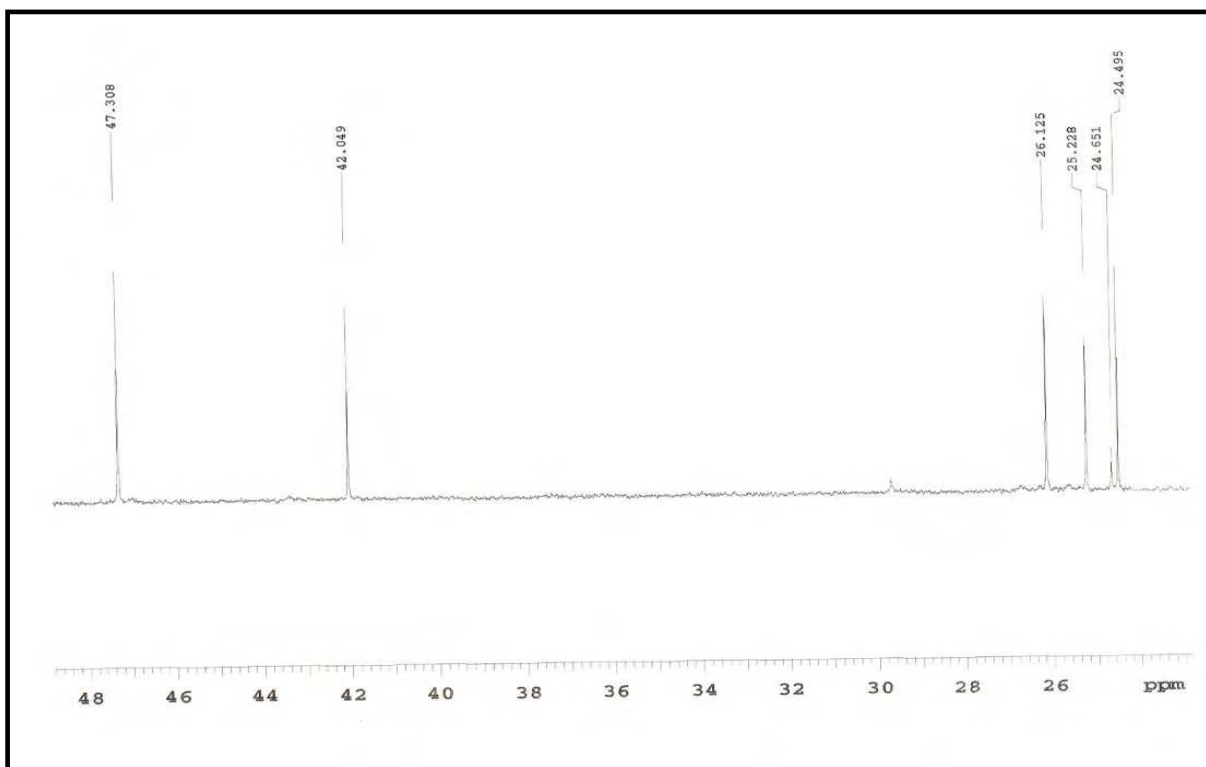


Figura 36. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl*-2 na região de 170 – 100 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

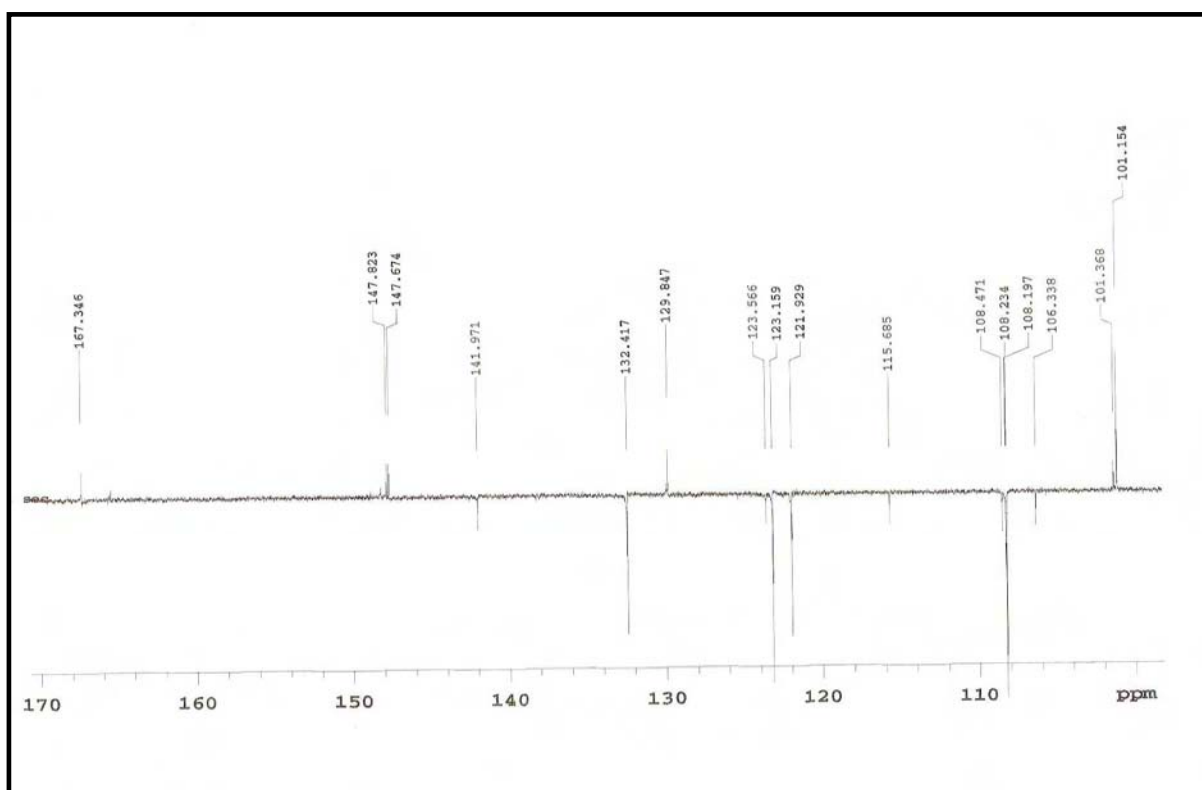


Figura 37. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de *Pl*-2 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

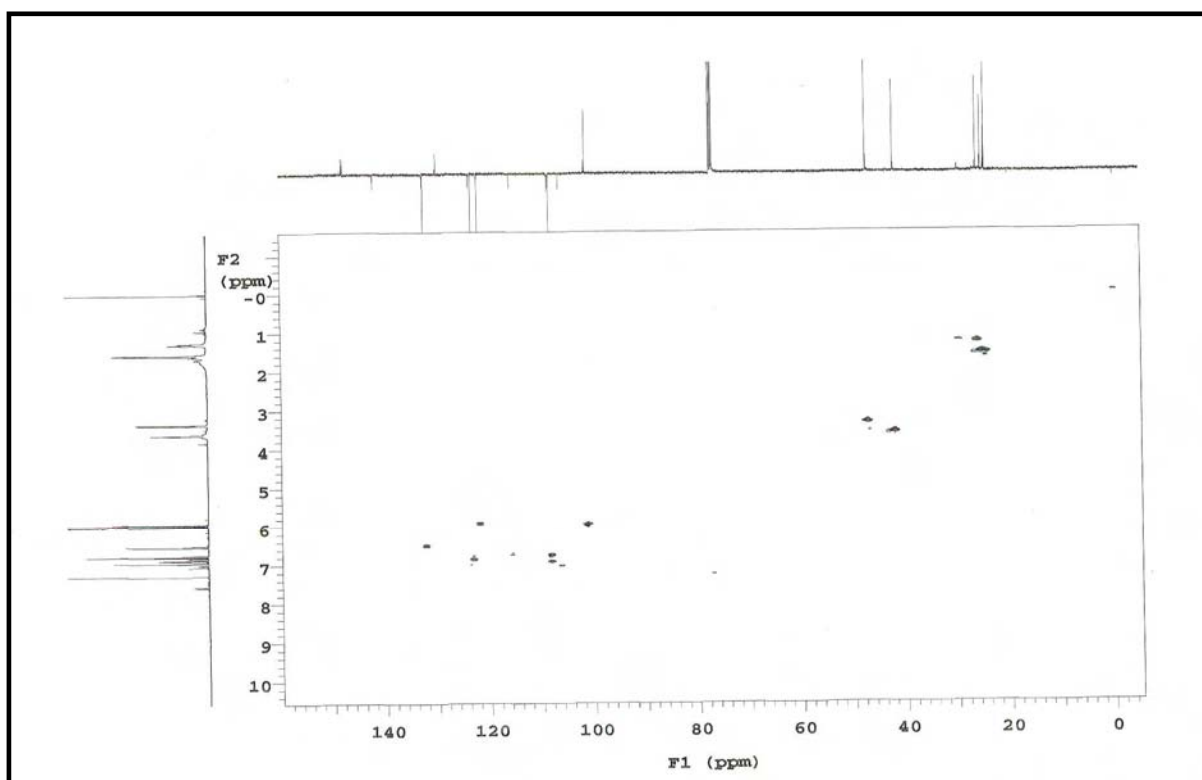


Figura 38. Expansão do espectro HMQC de *Pl-2* na região de 7,6 – 5,4 x 135 - 100 ppm

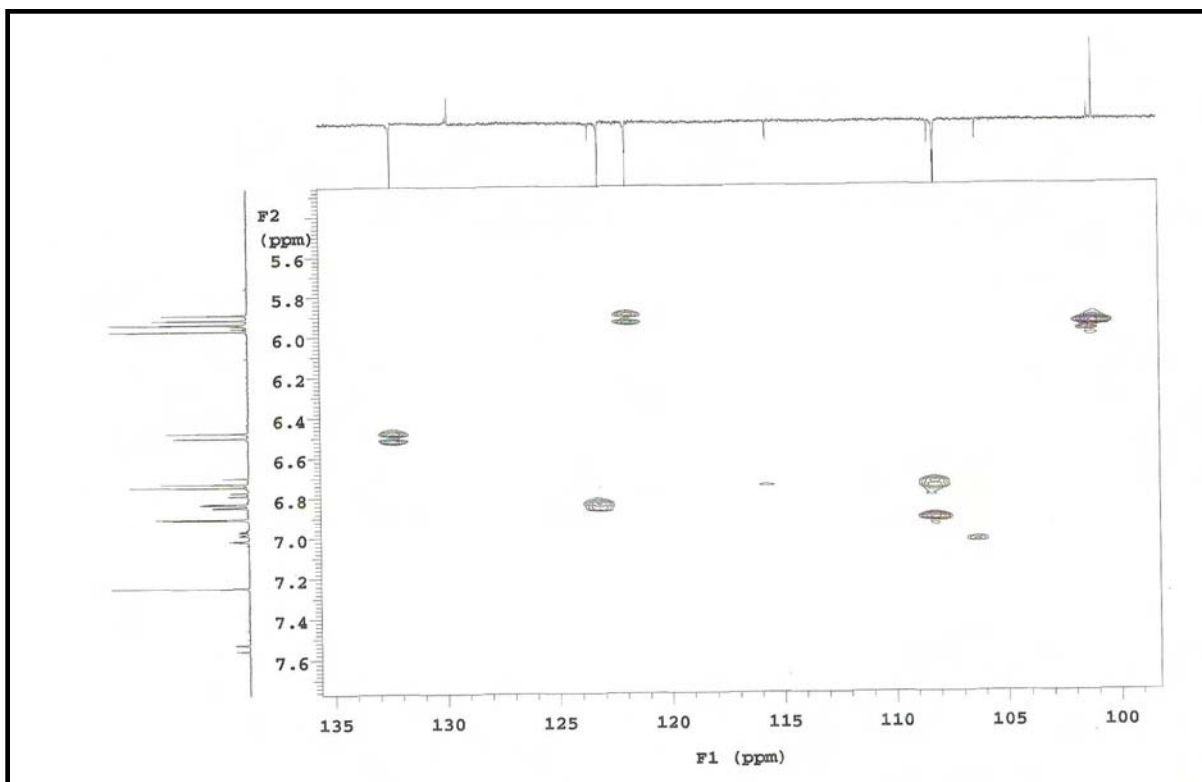


Figura 39. Expansão do espectro HMQC de *Pl-2* na região de 4,0 – 0,5 x 50 - 22 ppm

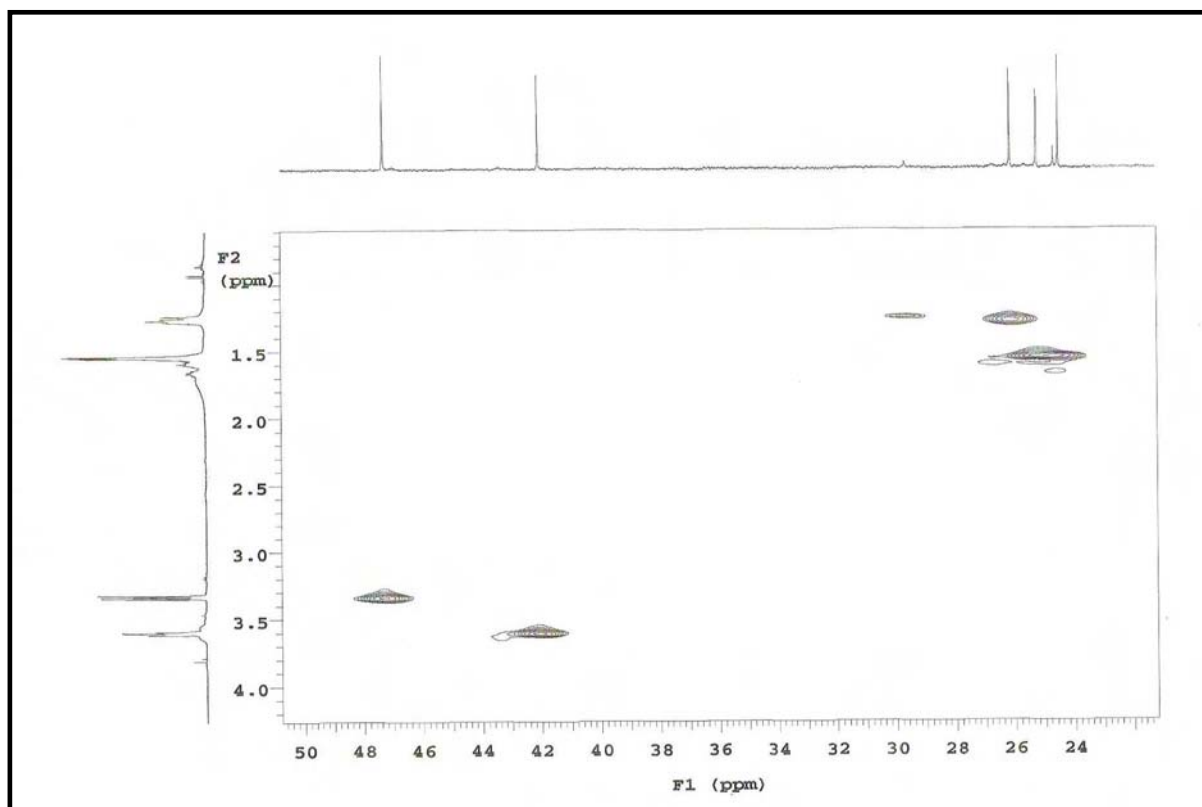


Figura 40. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de *Pl*-2 (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

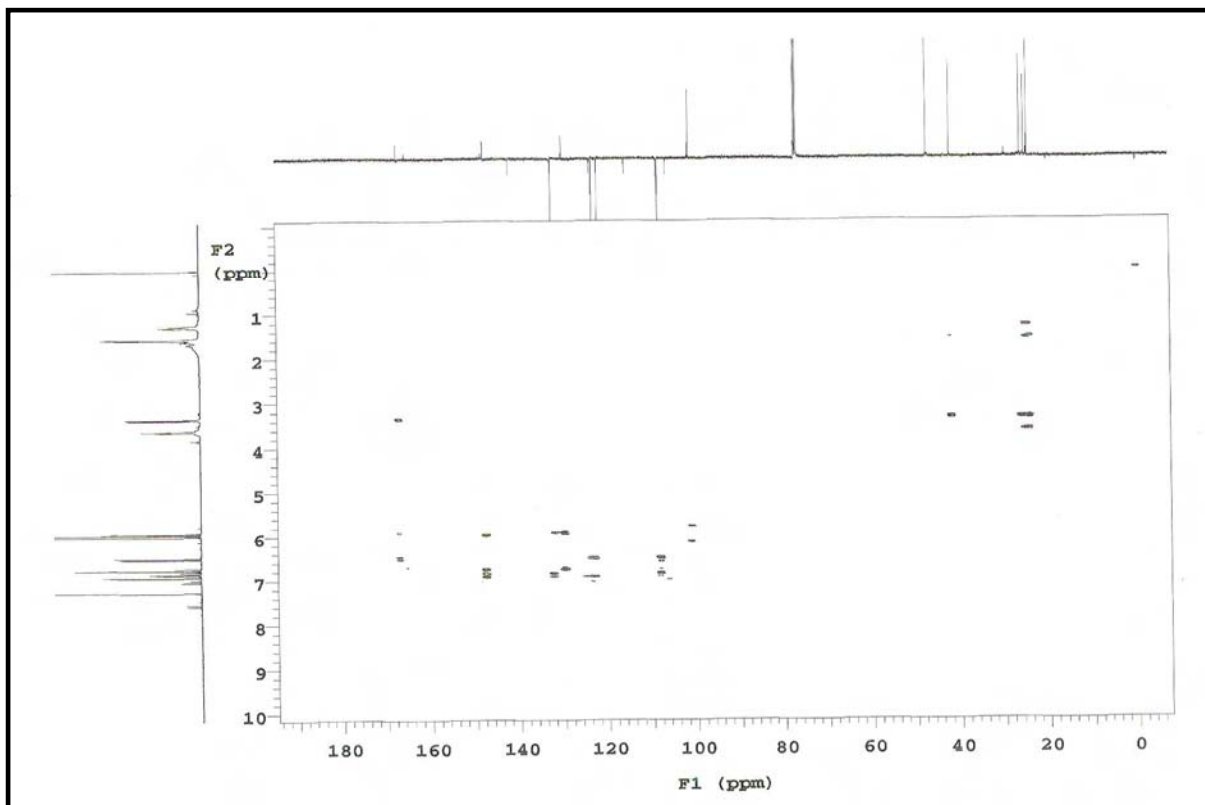


Figura 41. Expansão do espectro HMBC de *Pl*-2 na região de 7,4 – 5,4 x 170 – 100 ppm

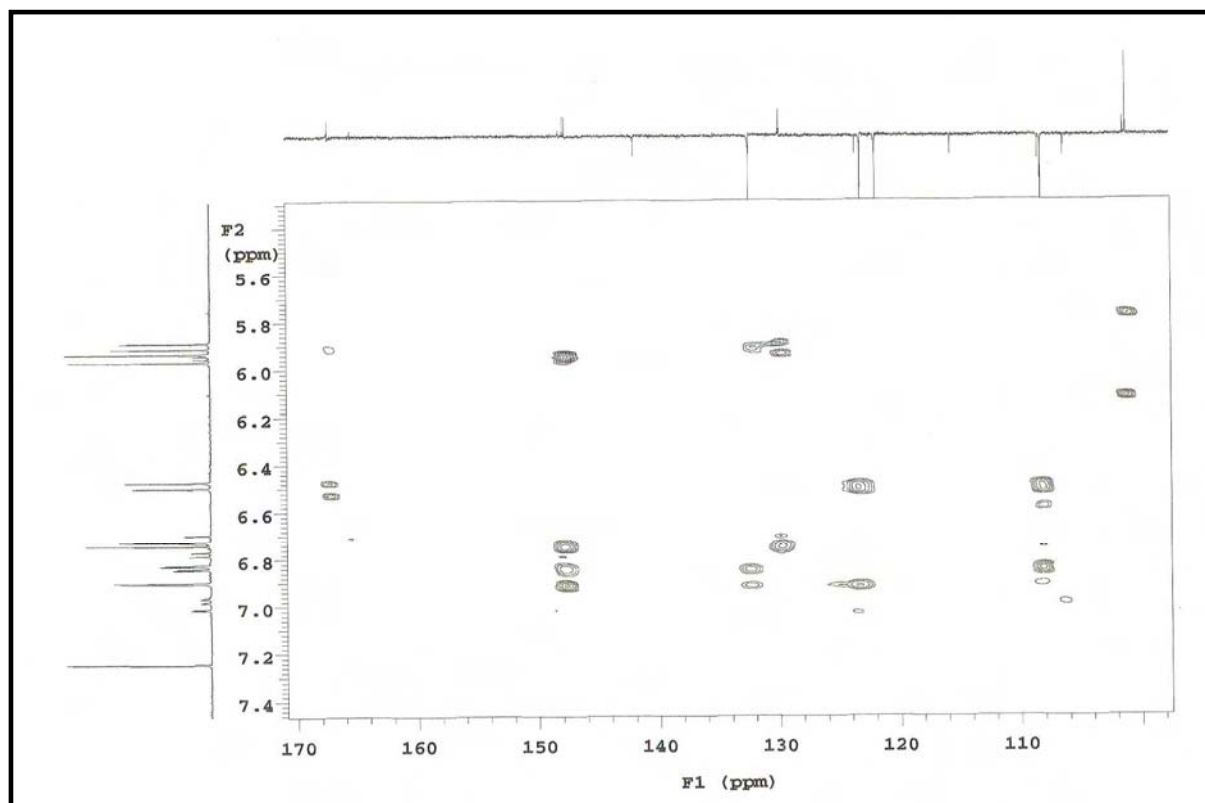


Figura 42. Expansão do espectro HMBC de *Pl-2* na região de 7,0 – 6,6 x 149 – 128 ppm

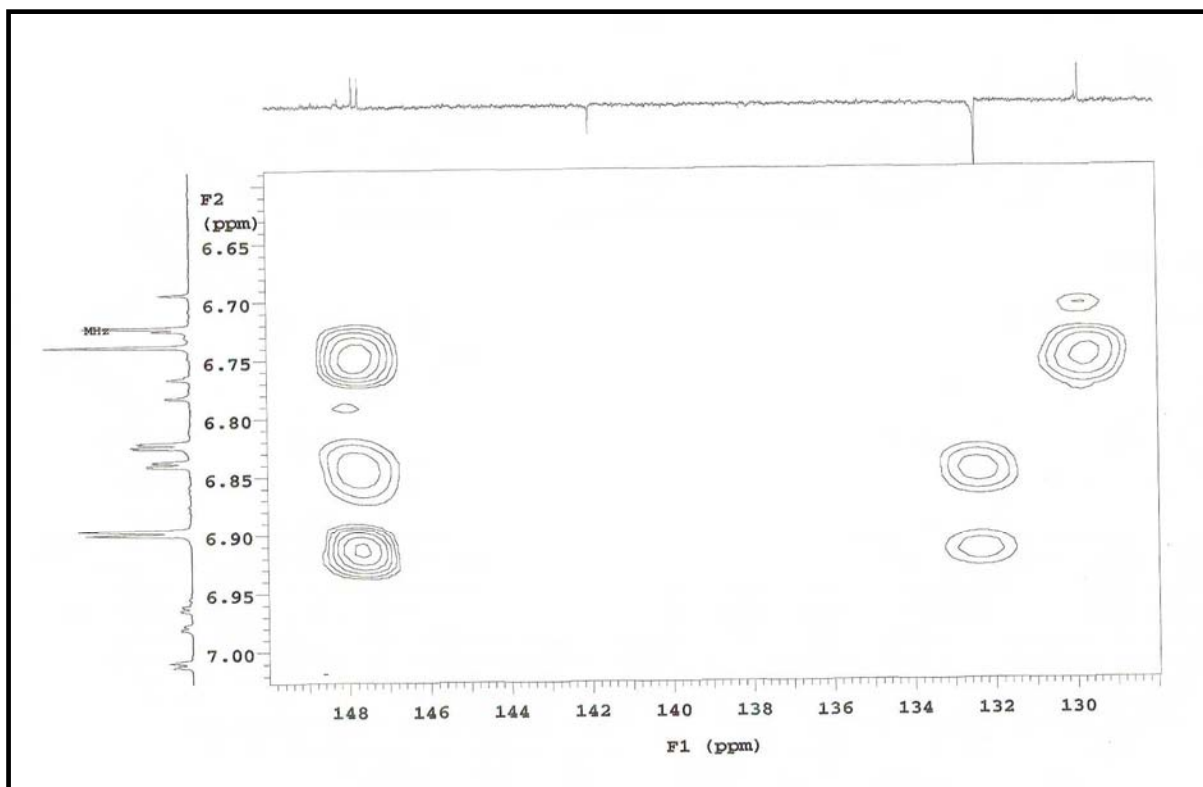


Figura 43. Expansão do espectro HMBC de *Pl-2* na região de 4,5 – 1,0 x 46 – 20 ppm

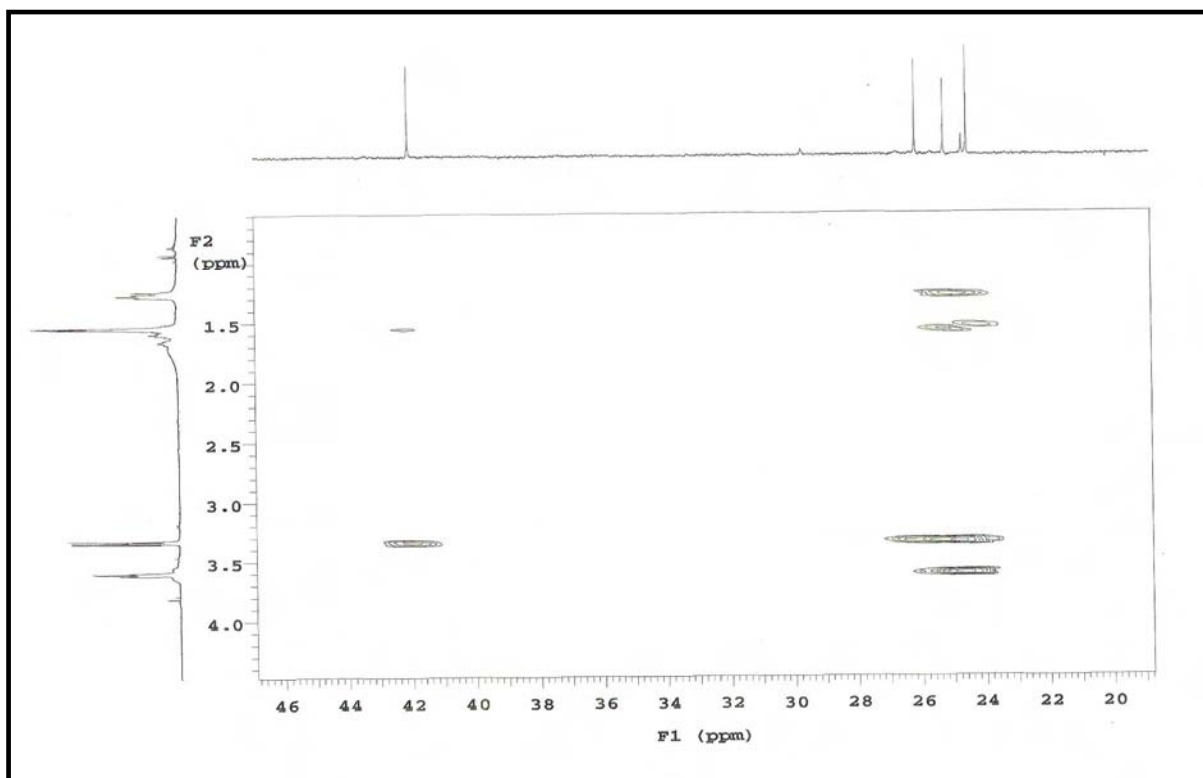


Figura 44. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de *Pl*-2 (CDCl_3 , 500 MHz)

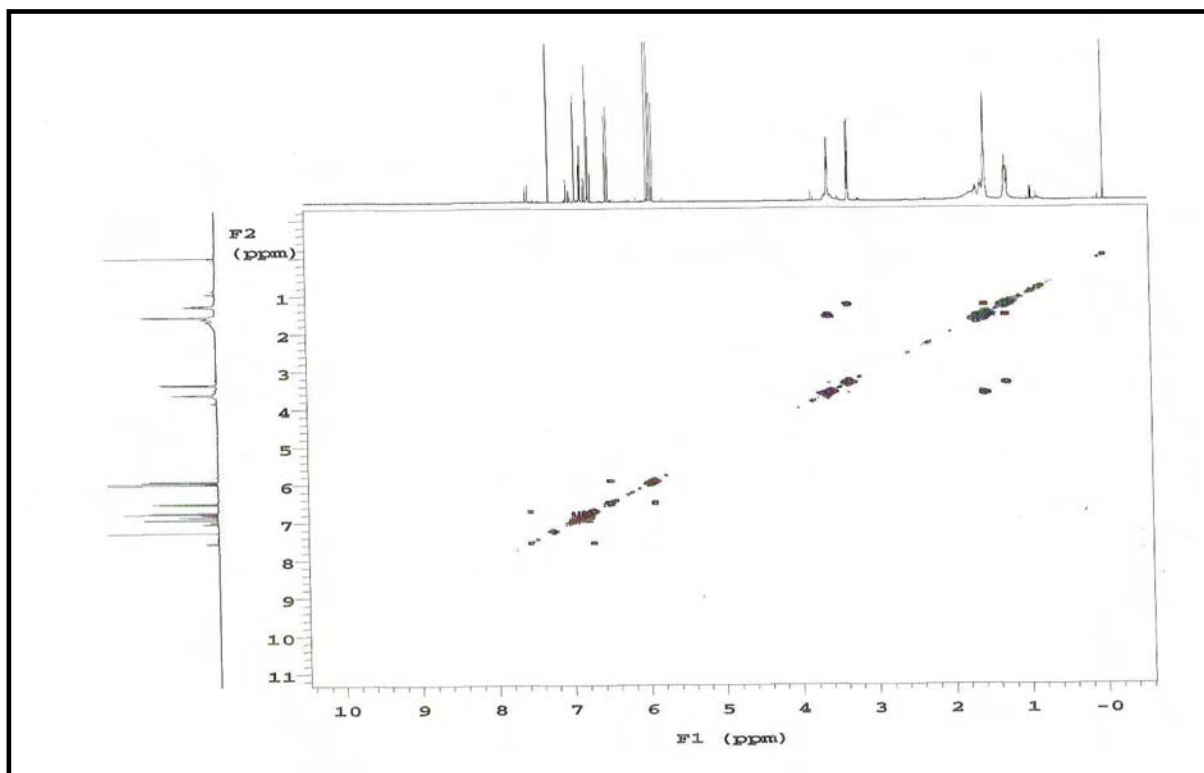


Figura 45. Expansão do espectro de COSY de *Pl*-2 na região de 8,0 – 5,4 x 7,8 – 5,6 ppm

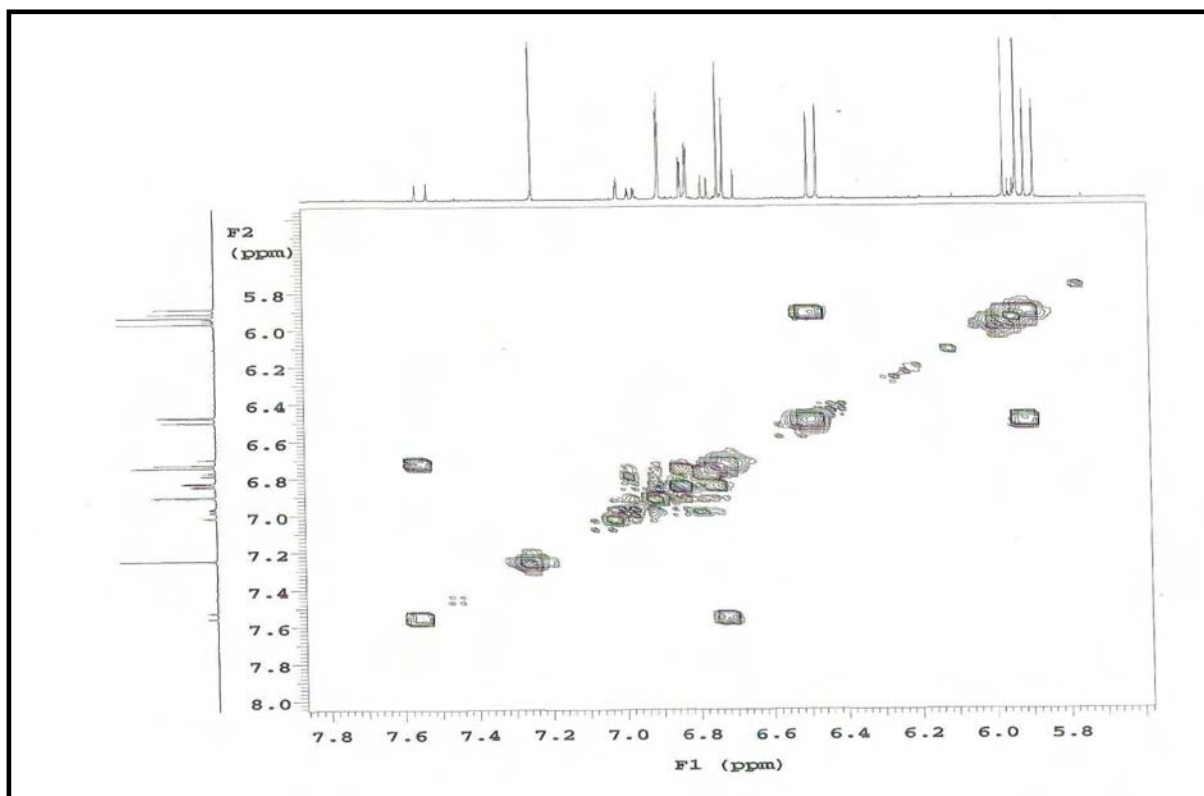


Figura 46. Expansão do espectro de COSY de *Pl-2* na região de 4,0 – 0,5 x 4,0 – 0,5 ppm

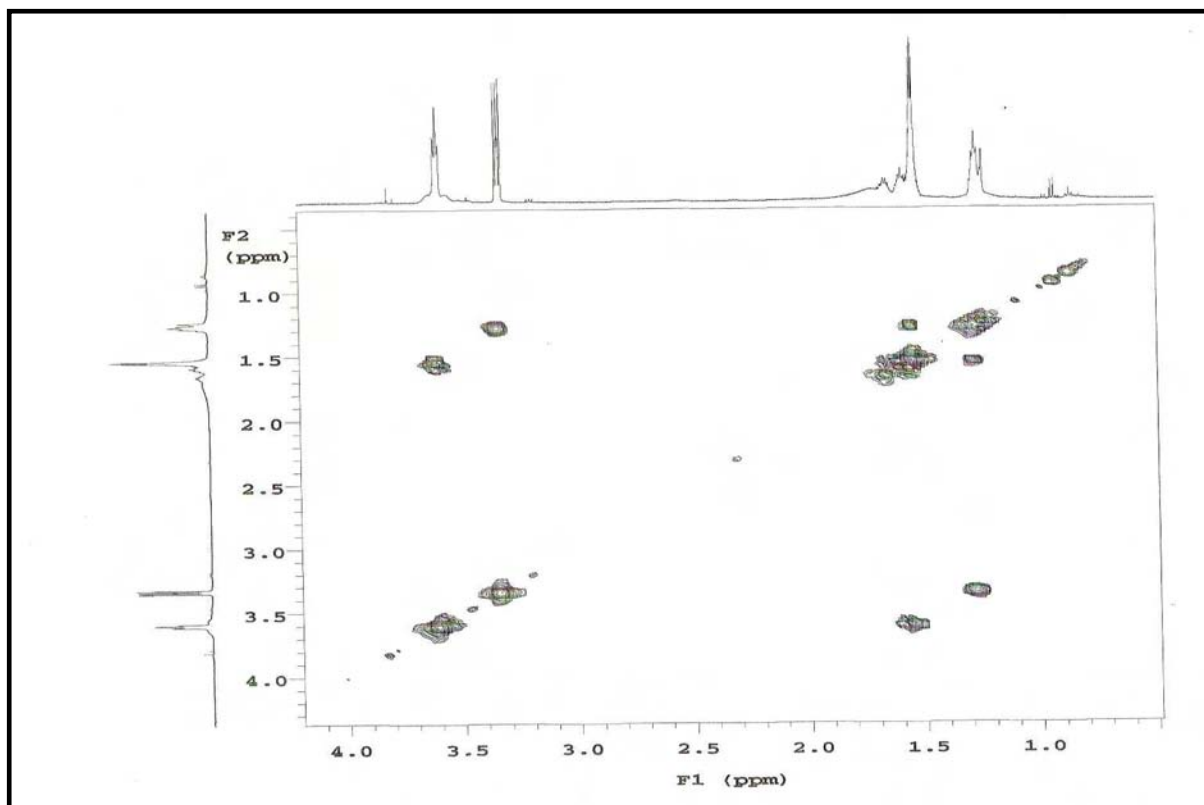


Figura 47. Espectro de massas (ESI-MS) de *Pl-2*

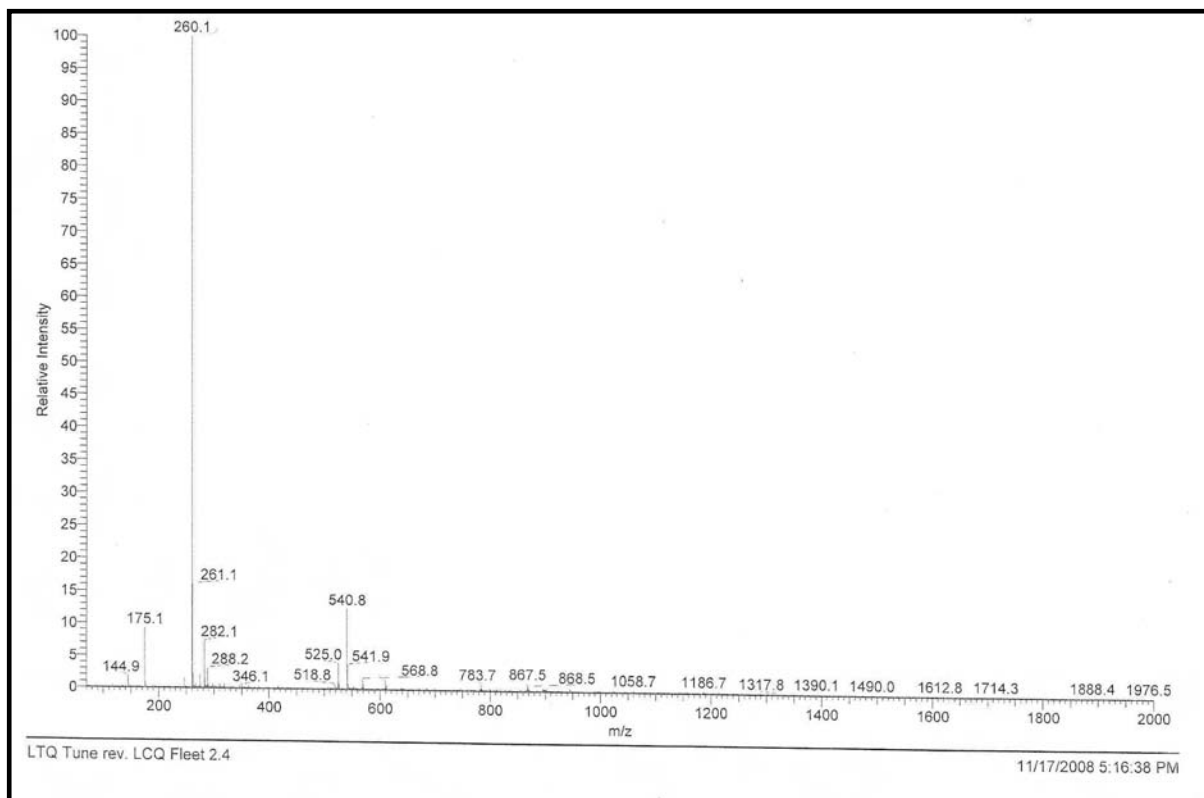
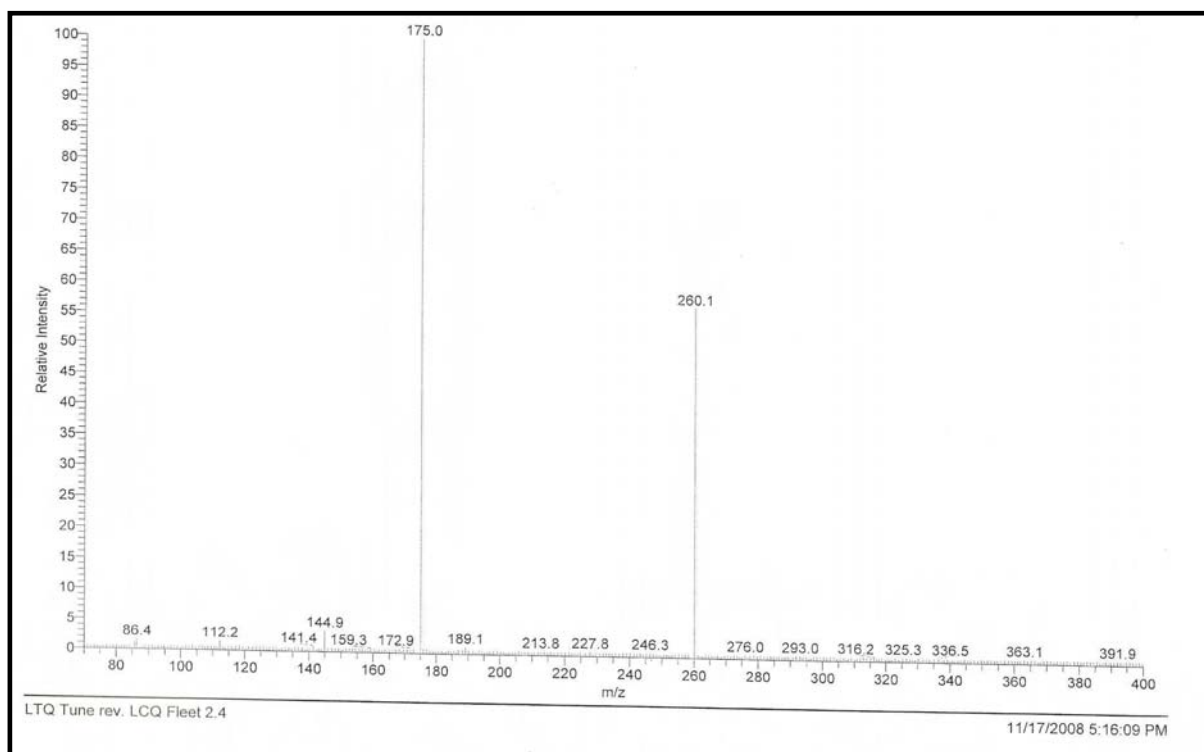


Figura 48. Expansão 1 do espectro de massas (ESI-MS) de *Pl-2*

5.4.3. Determinação estrutural de *Pl-3*

O composto codificado como *Pl-3* apresentou-se como um sólido amarelo escuro, cujo espectro de IV (Figura 50, p. 126) mostrou absorção em 1643 cm^{-1} característica de deformação axial de carbonila de amida e uma banda em 1597 cm^{-1} , atribuída a deformação axial de $\text{C}=\text{C}$ de alcenos. Estes dados juntamente com uma banda de deformação axial de $\text{C}-\text{N}$ em 1354 cm^{-1} permitiram inferir um grupo amídico na molécula. A presença de bandas de deformação axial de $\text{C}=\text{C}$ de aromático em 1502 e 1489 cm^{-1} sugeriu a existência de anel aromático na estrutura (PAVIA, 2009).

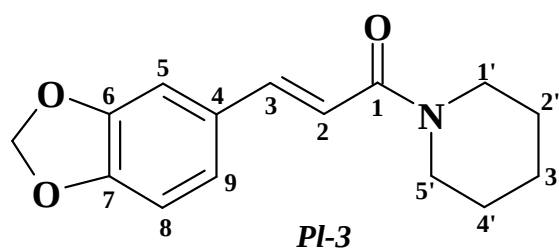
Ainda no espectro de IV foi possível observar absorções características de deformação angular simétrica de CH_2 em 1444 cm^{-1} , deformação angular de $\text{C}-\text{H}$ fora do plano entre 977 e 810 cm^{-1} e deformação axial de $\text{C}-\text{O}$ de éter em 1249 e 1037 cm^{-1} .

A substância *Pl-3* foi identificada como sendo um isômero de *Pl-2*, apresentando, portanto, dados espectrais de RMN ^1H (Figuras 51 a 53, p. 126-127) e ^{13}C (Figuras 54 a 57, p. 128-129) bastante semelhantes. Estes compostos diferiram consideravelmente em relação às constantes de acoplamento e deslocamentos químicos dos hidrogênios H-2 e H-3, os quais apresentaram uma constante de acoplamento de $J=15,5\text{ Hz}$ para estes referidos átomos, em *Pl-3*, atribuindo-se assim uma estereoquímica *trans* para ligação dupla desta molécula. A

avaliação espectroscópica de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (Figuras 51 a 69, p. 126-135) da substância em questão confirmou inequivocamente os assinalamentos para os átomos de carbono e hidrogênio.

A análise dos dados espectrais de *Pl-3* (Tabela 11, p. 124) e sua comparação com *Pl-2* (Tabela 12, p. 125) permitiu identificar *Pl-3* como sendo a 1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil)-2E-propenil) piperidina, já isolada de *Piper nigrum*, mas relatada pela primeira vez na espécie *Piper lateripilosum*.

O espectro de massas deste metabólito isolado (Figuras 70 a 71, p. 136) mostrou um pico de íon pseudomolecular de $[\text{M} + \text{H}]^+$: m/z 260 daltons e um íon fragmento $[(\text{M}+\text{H}) - \text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}]^+$: m/z 175, corroborando com a proposta estrutural feita para a substância analisada ($\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_3$). A fragmentação sugerida para *Pl-3*, encontra-se na Figura 72 (p. 123).



1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil)-2E-propenil) piperidina

Figura 72. Propostas de fragmentações para *Pl-3*, a partir do espectro de massas ESI-MS.

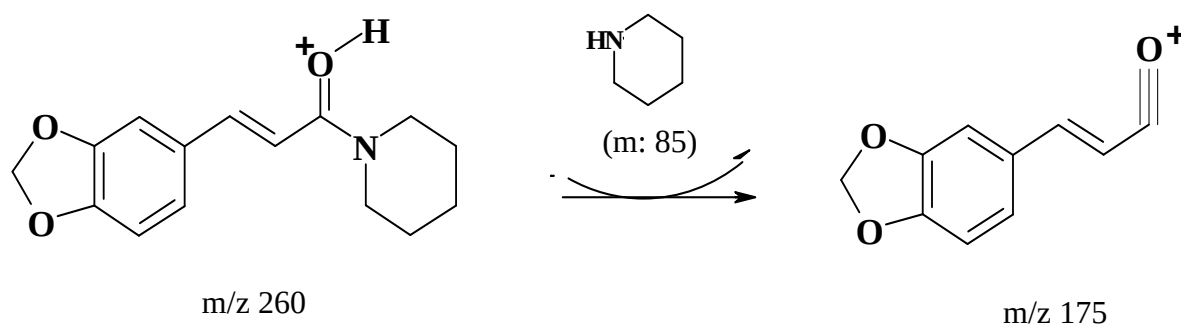
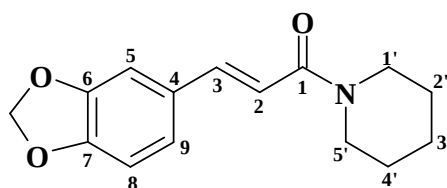


Tabela 11. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (COSY e NOESY) de *Pl-3*



Pl-3 (CDCl_3)

C	HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		COSY
	δ_{C}	δ_{H}	^2J	^3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1	165,42	-			
4	129,89	-			
6	148,15	-			
7	148,79	-			
CH					
2	115,66	6,73 (d, $J=15,5$ Hz)	C-1; C-3	C-4	H-3
3	141,93	7,56 (d, $J=15,5$ Hz)		C-1; C-5; C-9	H-2
5	106,30	7,03 (d, $J=1,5$ Hz)	C-6	C-3; C-7; C-9	
8	108,44	6,79 (d, $J=8,0$ Hz)	C-7	C-4	
9	123,53	6,99 (dd $J=1,5$ e $8,0$ Hz)	C-8	C-3; C-7	
CH₂					
1'	47,03	3,56 (sl)			H-2'
2'	26,71	1,62-1,58 (m)	C-3'		H-1'
3'	24,62	1,69-1,65 (m)	C-2'; C-4'		
4'	25,58	1,62-1,58 (m)			H-5'
5'	43,31	3,65 (sl)			H-4'
CH ₂ O ₂	101,34	5,98 (s)		C-6; C-7	

Tabela 12. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de *Pl-3* e *Pl-2*

<i>Pl-3</i> (CDCl_3)			<i>Pl-2</i> (CDCl_3)		
C	δ_{C}	δ_{H}	C	δ_{C}	δ_{H}
1	165,42	-	1	167,34	-
4	129,89	-	4	129,84	-
6	148,15	-	6	147,67	-
7	148,79	-	7	147,82	-
CH			CH		
2	115,66	6,73 (d, $J=15,5$ Hz)	2	121,92	5,89 (d, $J=12,5$ Hz)
3	141,93	7,56 (d, $J=15,5$ Hz)	3	132,41	6,48 (d, $J=12,5$ Hz)
5	106,30	7,03 (d, $J=1,5$ Hz)	5	108,23	6,89 (d, $J=2,0$ Hz)
8	108,44	6,79 (d, $J=8,0$ Hz)	8	108,19	6,72 (dl, $J=8,0$ Hz)
9	123,53	6,99 (dd $J=1,5$ e $8,0$ Hz)	9	123,15	6,82 (ddd, $J=8,0$; $2,0$; $0,5$ Hz)
CH₂			CH₂		
1'	47,03	3,56 (sl)	1'	47,30	3,32 (m)
2'	26,71	1,62-1,58 (m)	2'	26,12	1,54-1,52 (m)
3'	24,62	1,69-1,65 (m)	3'	24,49	1,27-1,23 (m)
4'	25,58	1,62-1,58 (m)	4'	25,22	1,54-1,52 (m)
5'	43,31	3,65 (sl)	5'	42,04	3,59 (t, $J=5,5$ Hz)
CH₂O₂	101,34	5,98 (s)	CH₂O₂	101,15	5,92 (s)

Figura 50. Espectro de IV *Pl*-3 em pastilha de KBr

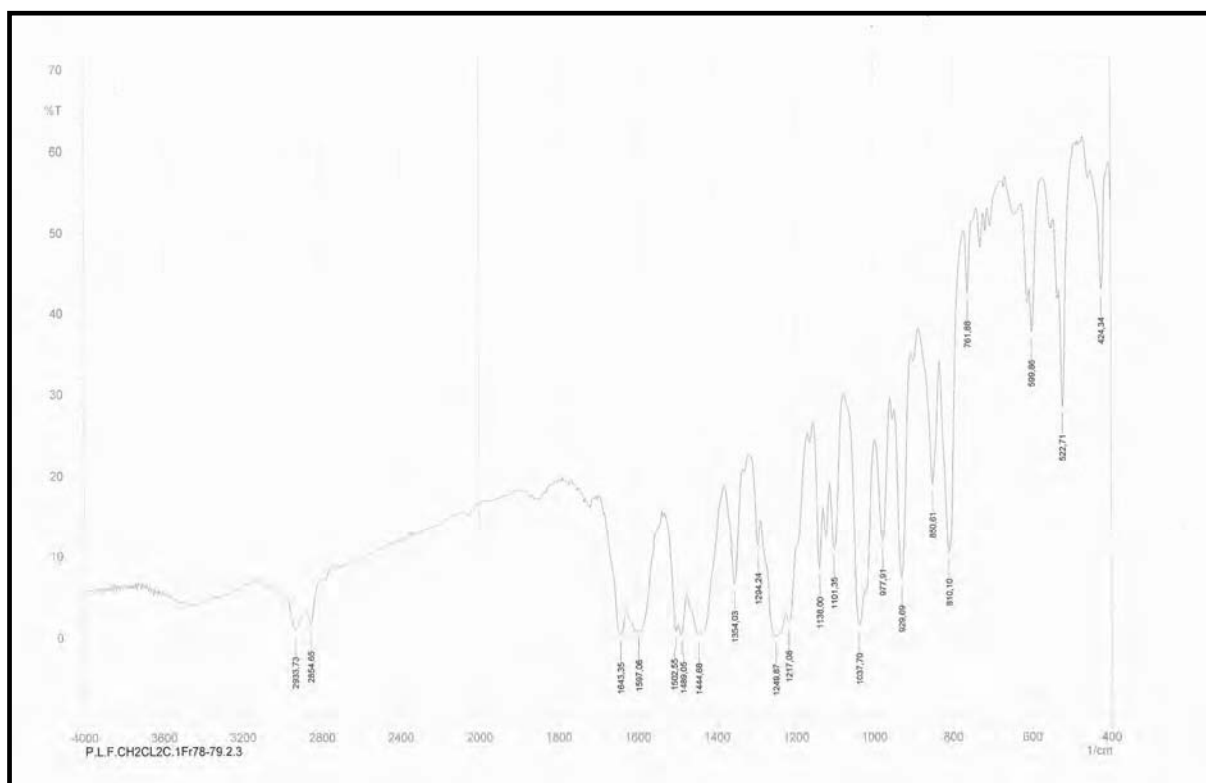


Figura 51. Espectro de RMN ^1H de *Pl*-3 (CDCl_3 , 500 MHz)

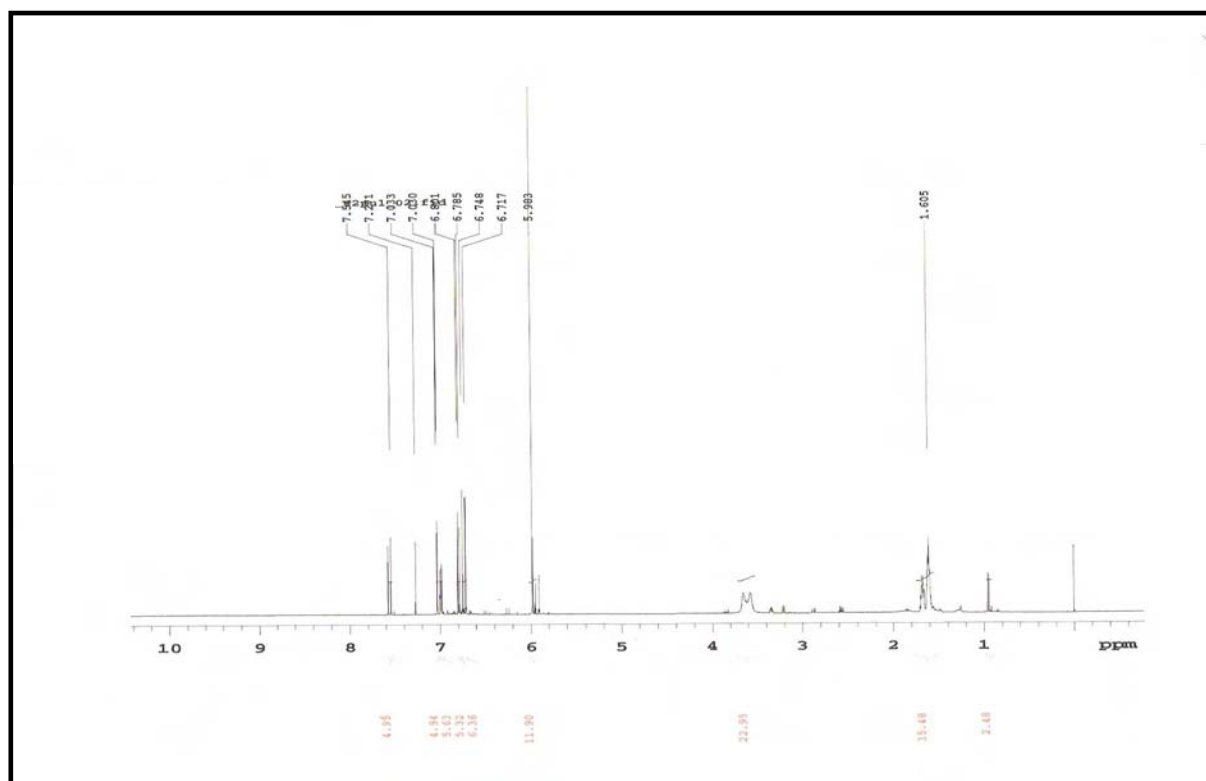


Figura 52. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl-3* na região de 7,6 – 6,8 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

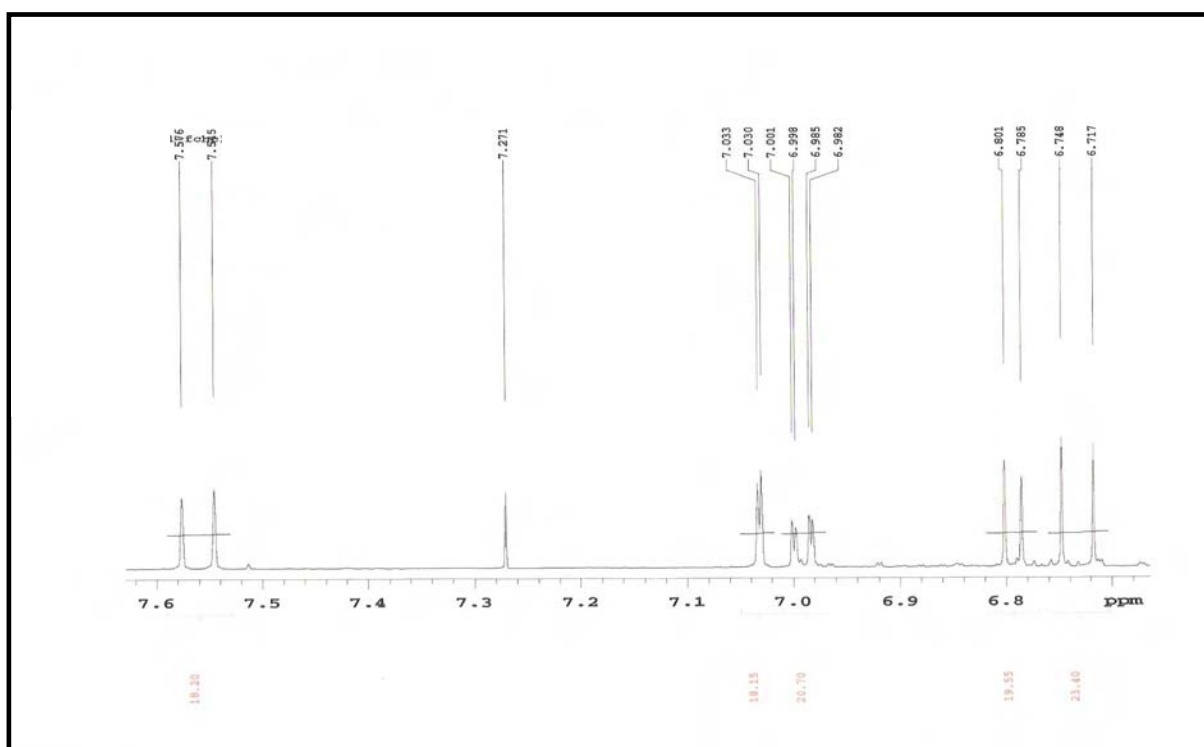


Figura 53. Expansão do espectro RMN ^1H de *Pl-3* na região de 3,8 – 1,0 ppm (CDCl_3 , 500 MHz)

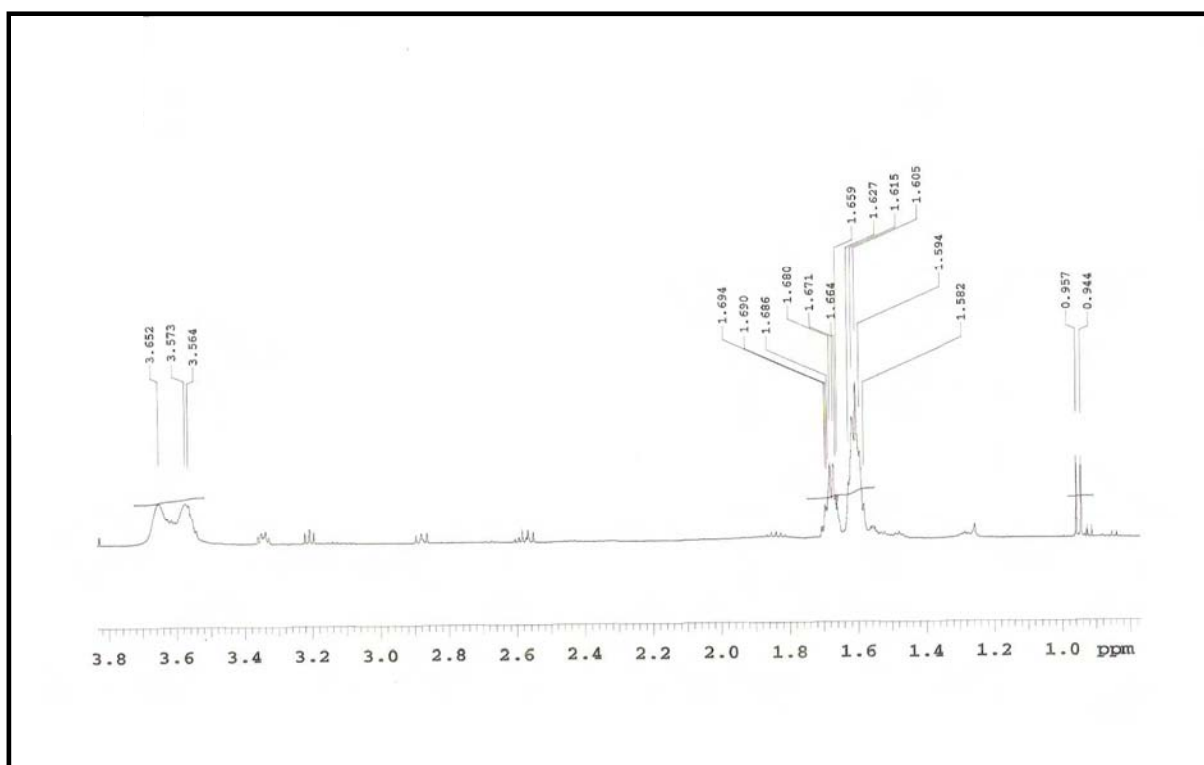


Figura 54. Espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl-3* na região de 200 – 20 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

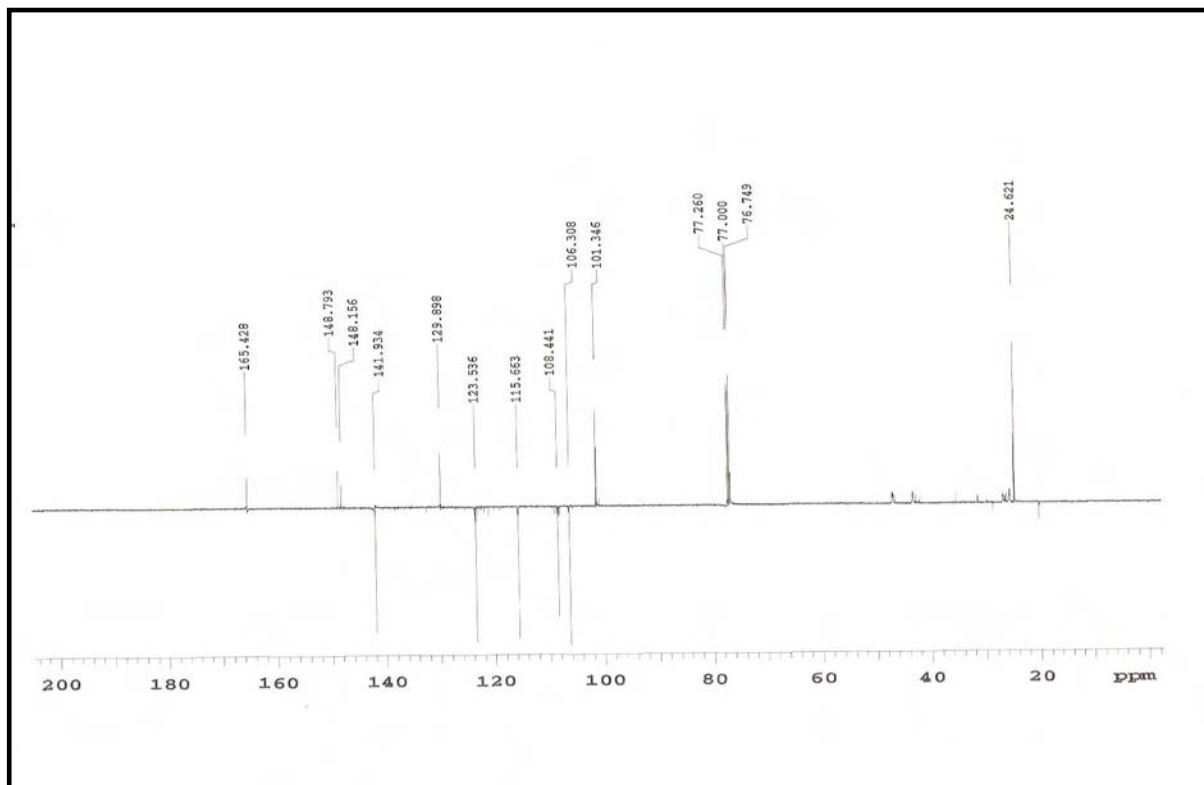


Figura 55. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl-3* na região de 165 – 123 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

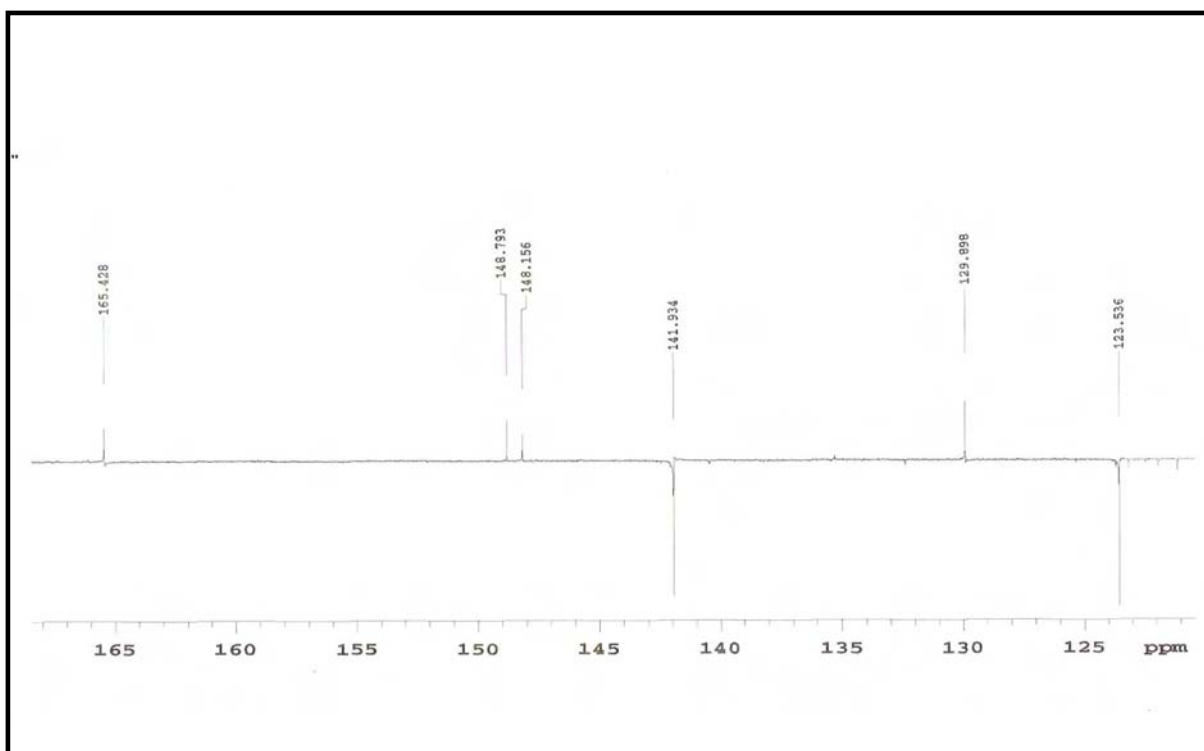


Figura 56. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl-3* na região de 116– 102 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

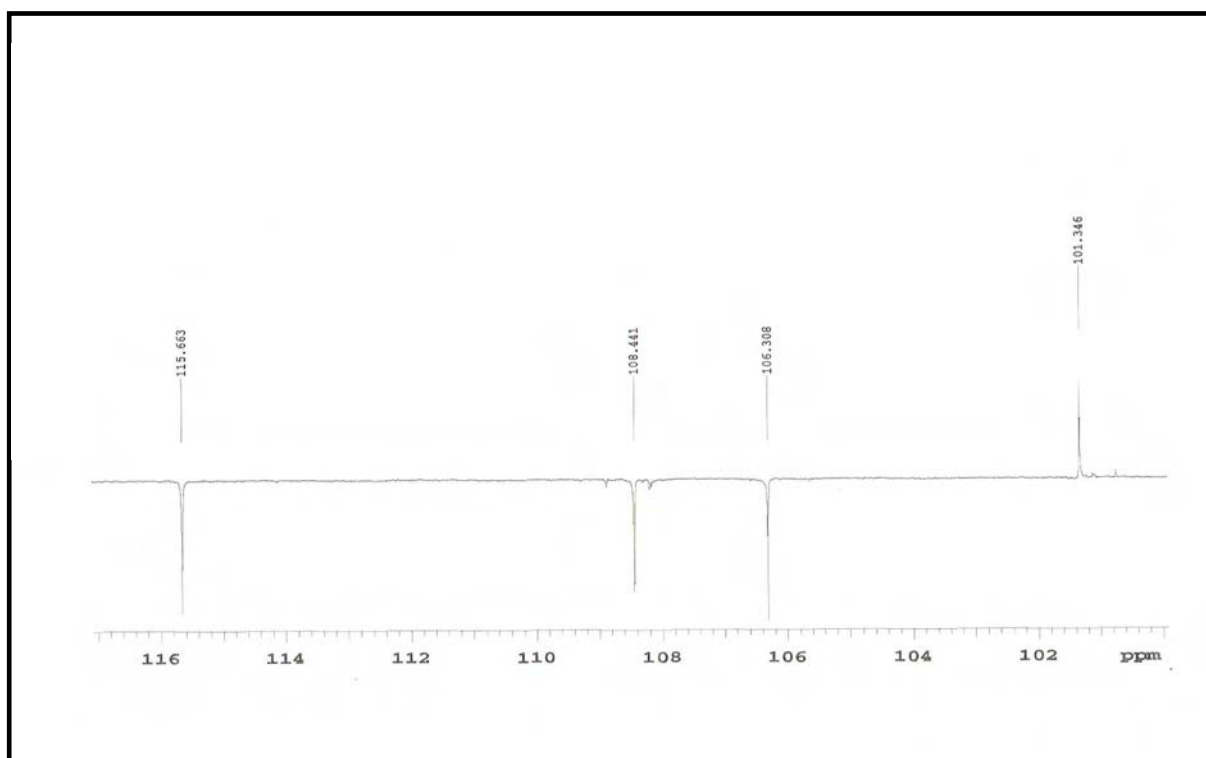


Figura 57. Expansão do espectro RMN ^{13}C -APT de *Pl-3* na região de 45– 20 ppm (CDCl_3 , 125 MHz)

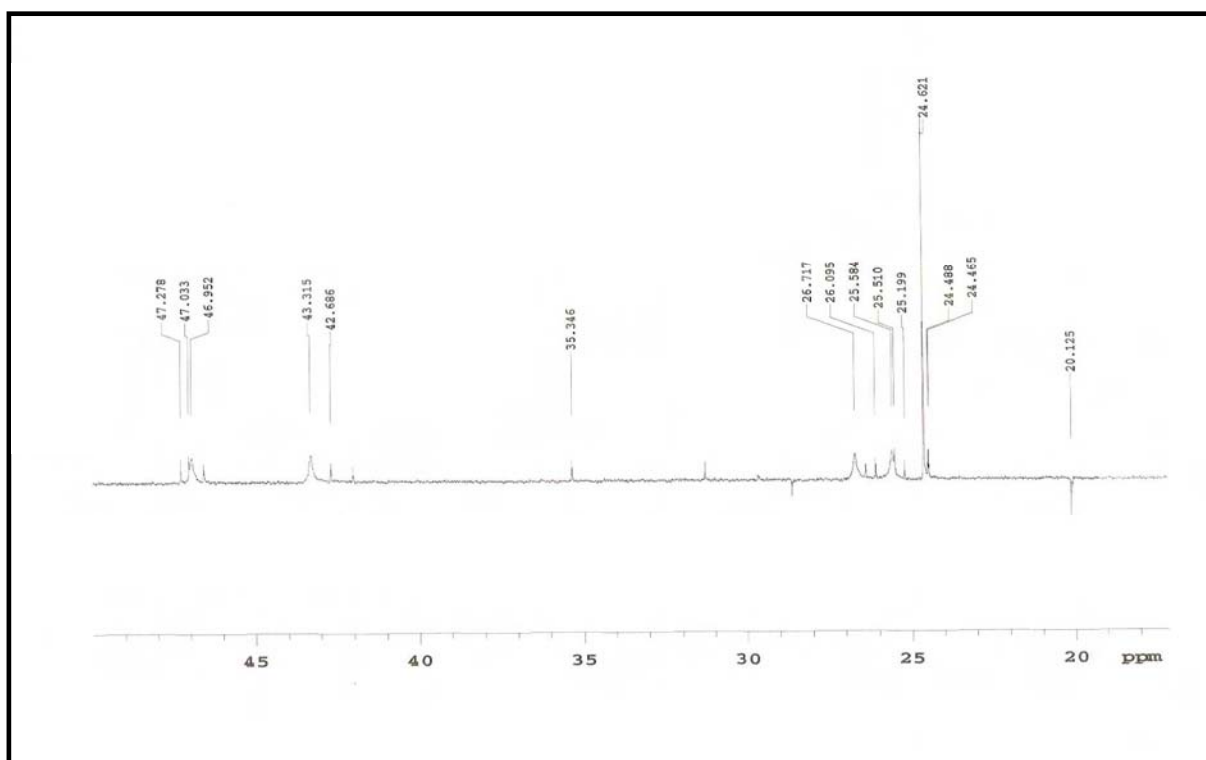


Figura 58. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de *Pl-3* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

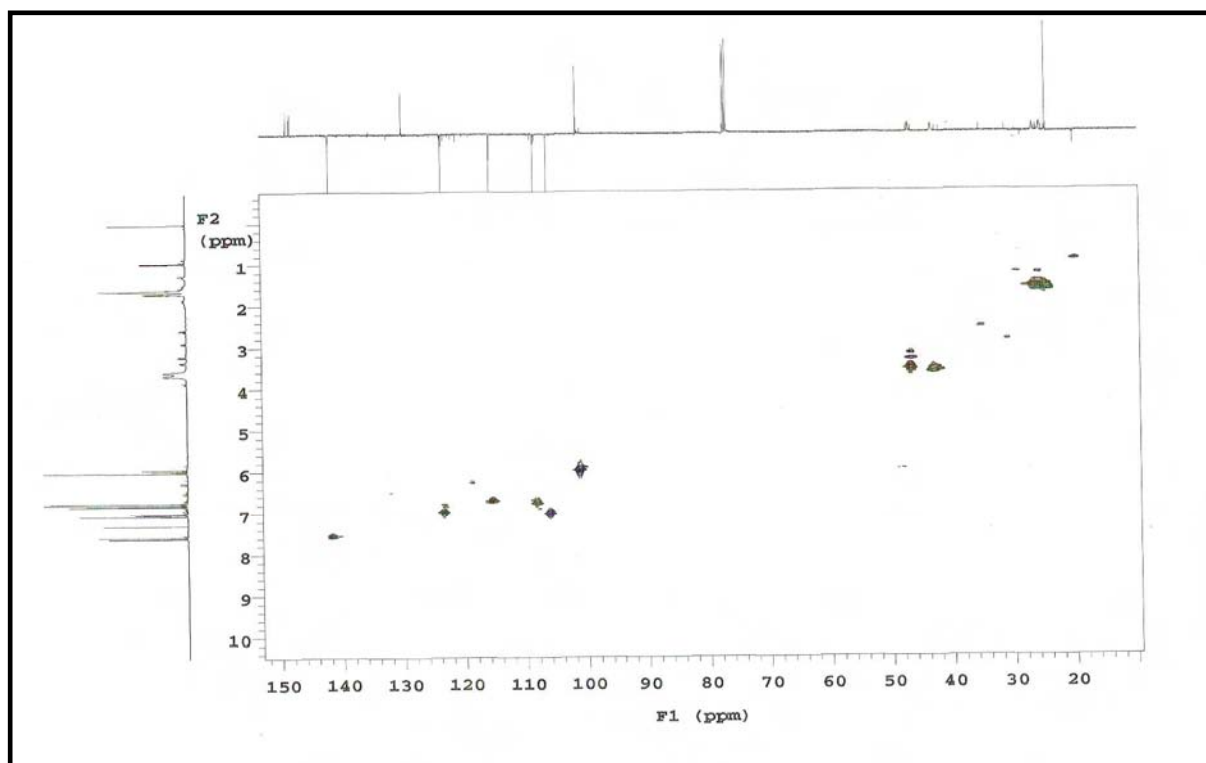


Figura 59. Expansão do espectro HMQC de *Pl-3* na região de 8,2 – 5,4 x 145 - 100 ppm

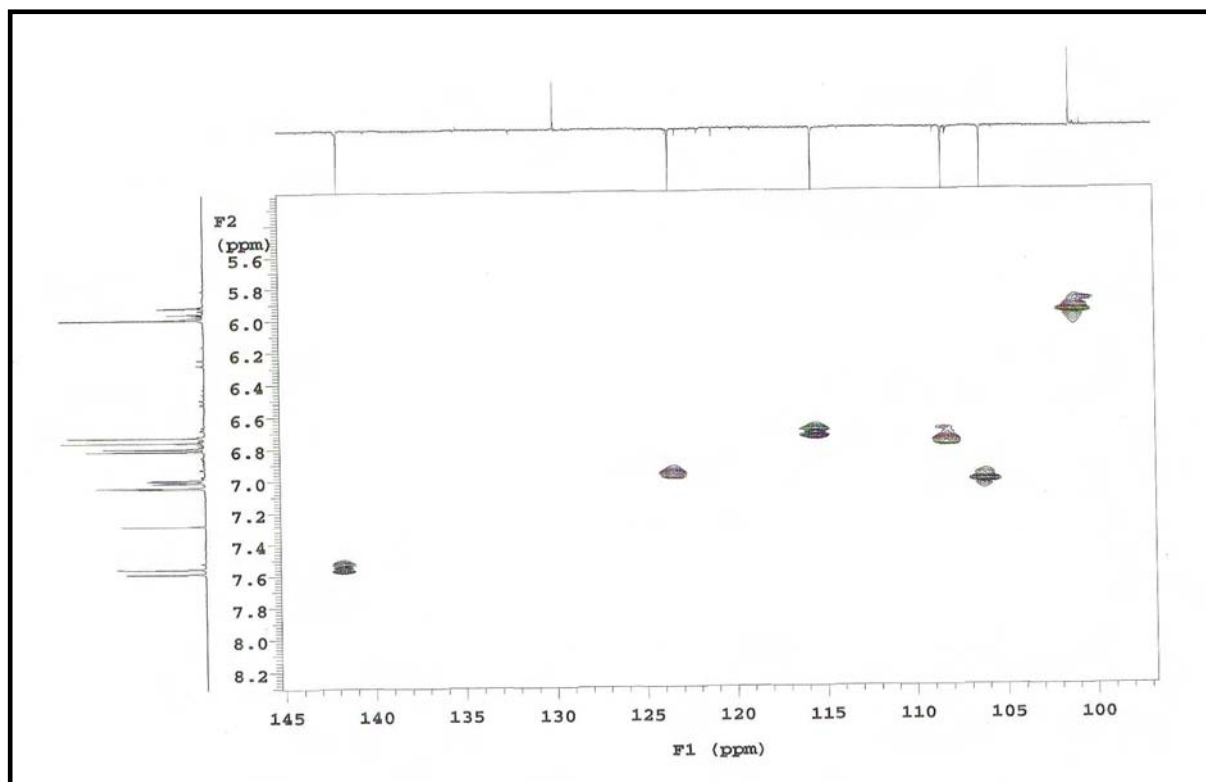


Figura 60. Expansão do espectro HMQC de *Pl-3* na região de 4,5 – 0,5 x 51 - 17 ppm

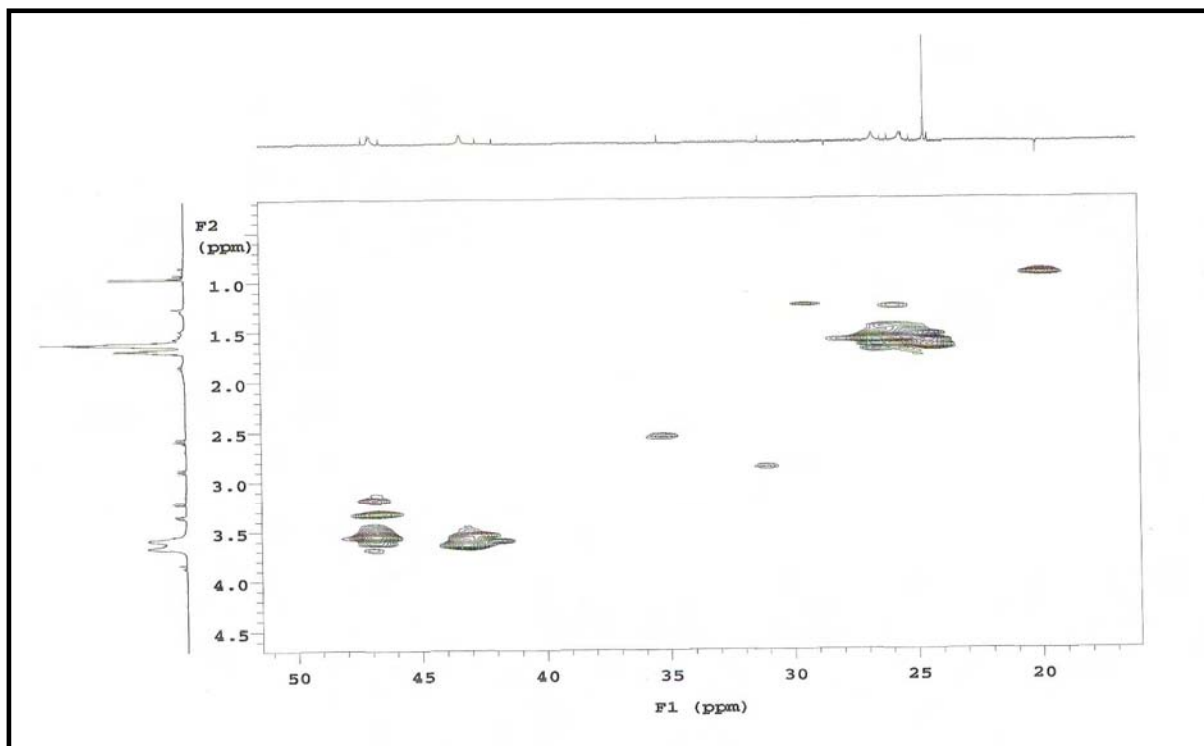


Figura 61. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de *Pl-3* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

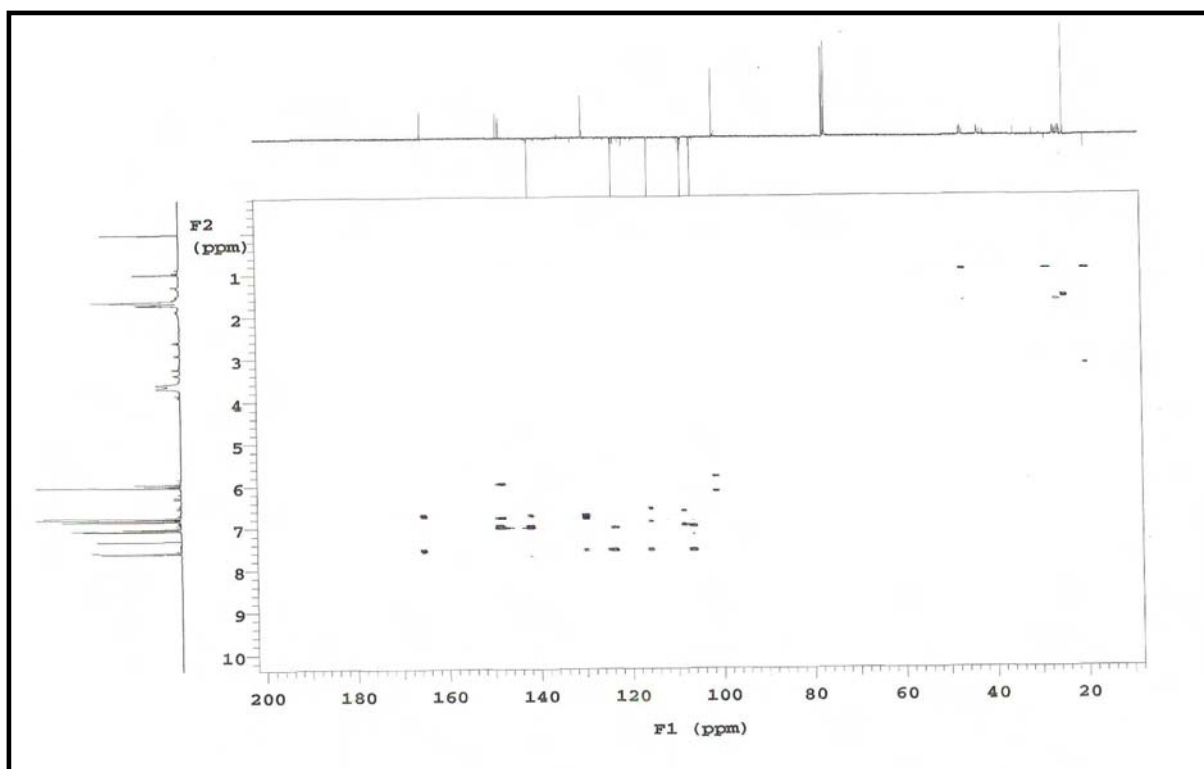


Figura 62. Expansão do espectro HMBC de *Pl-3* na região de 8,5 – 5,0 x 170 – 100 ppm

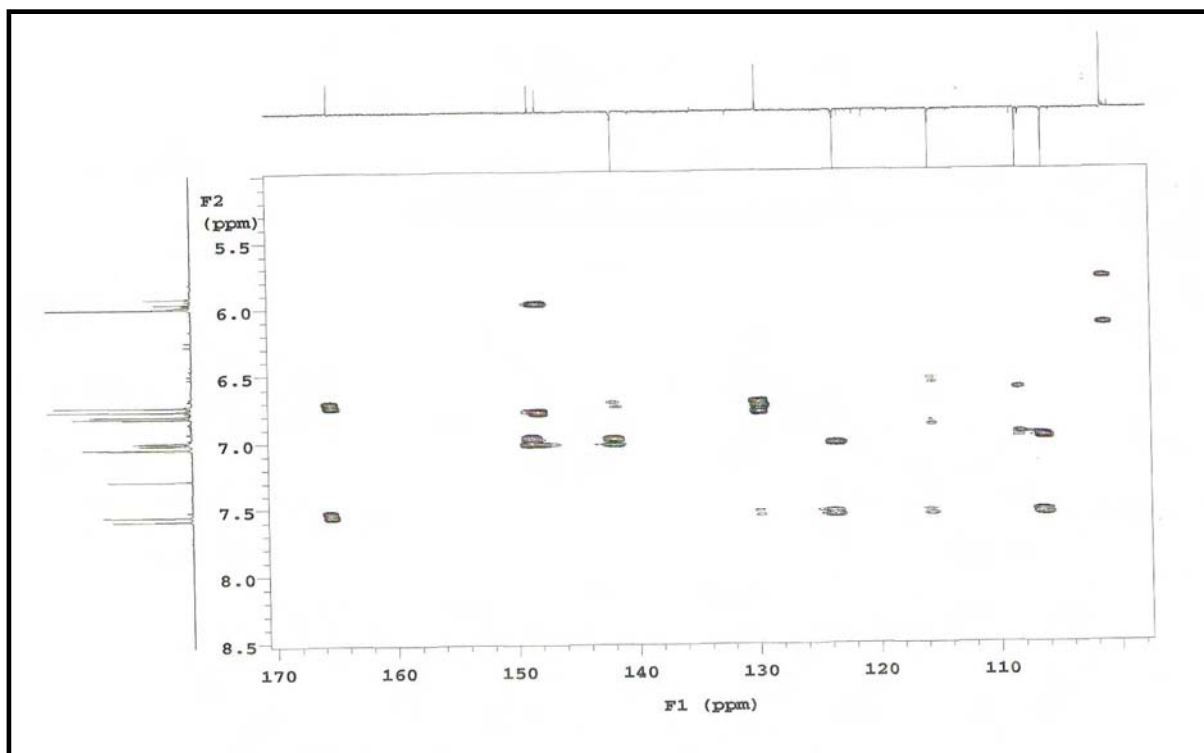


Figura 63. Expansão do espectro HMBC de *Pl-3* na região de 7,8 – 5,8 x 168 – 140 ppm

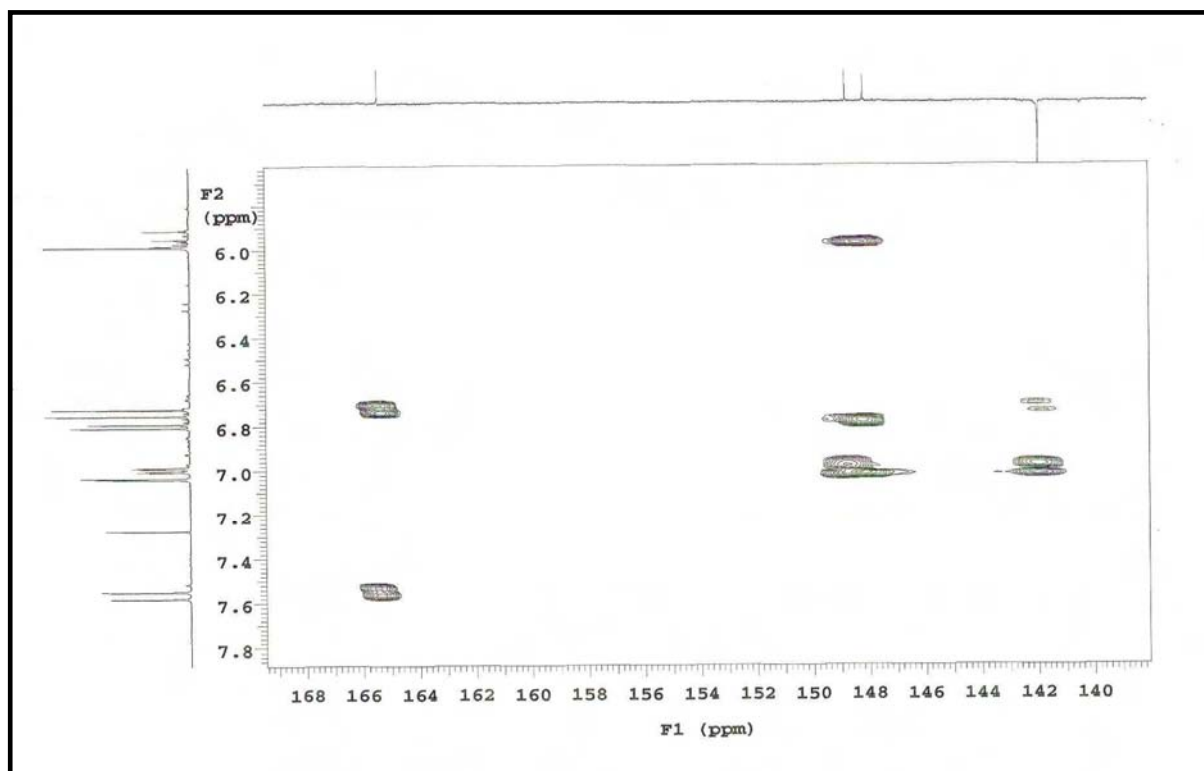


Figura 64. Expansão do espectro HMBC de *Pl-3* na região de 8,0 – 5,5 x 133 – 98 ppm

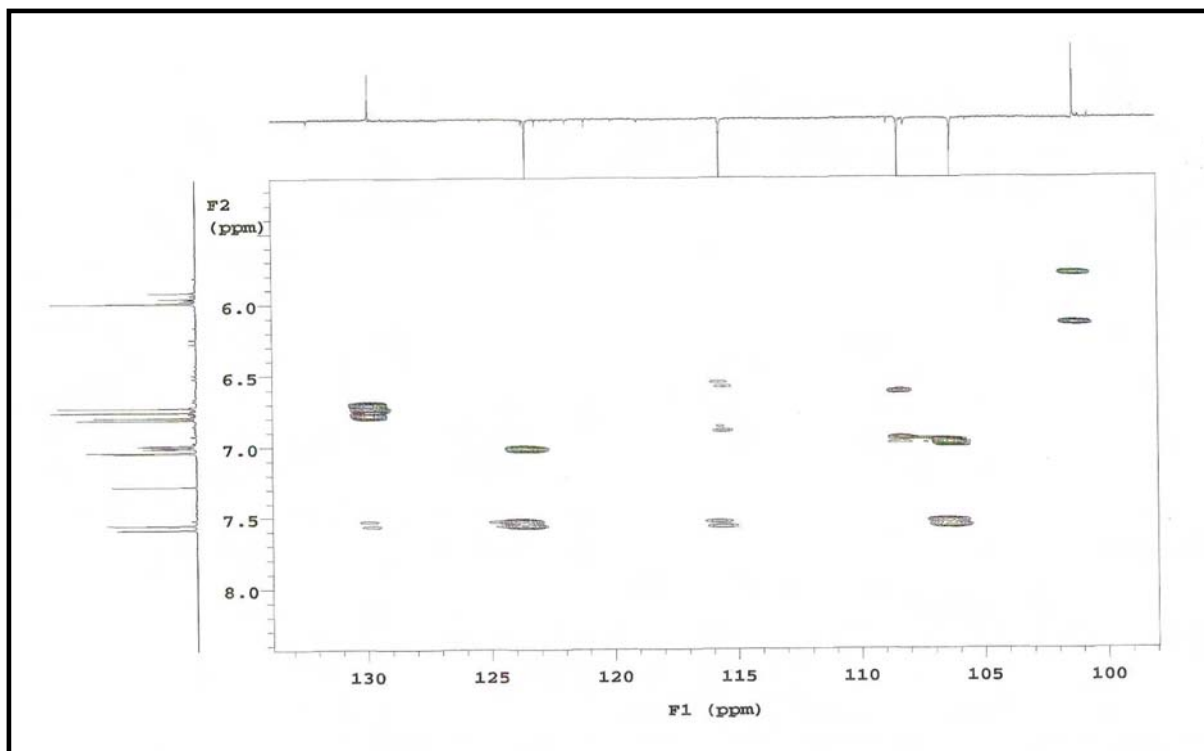


Figura 65. Expansão do espectro HMBC de *Pl-3* na região de 4,0 – 0,5 x 50 – 15 ppm

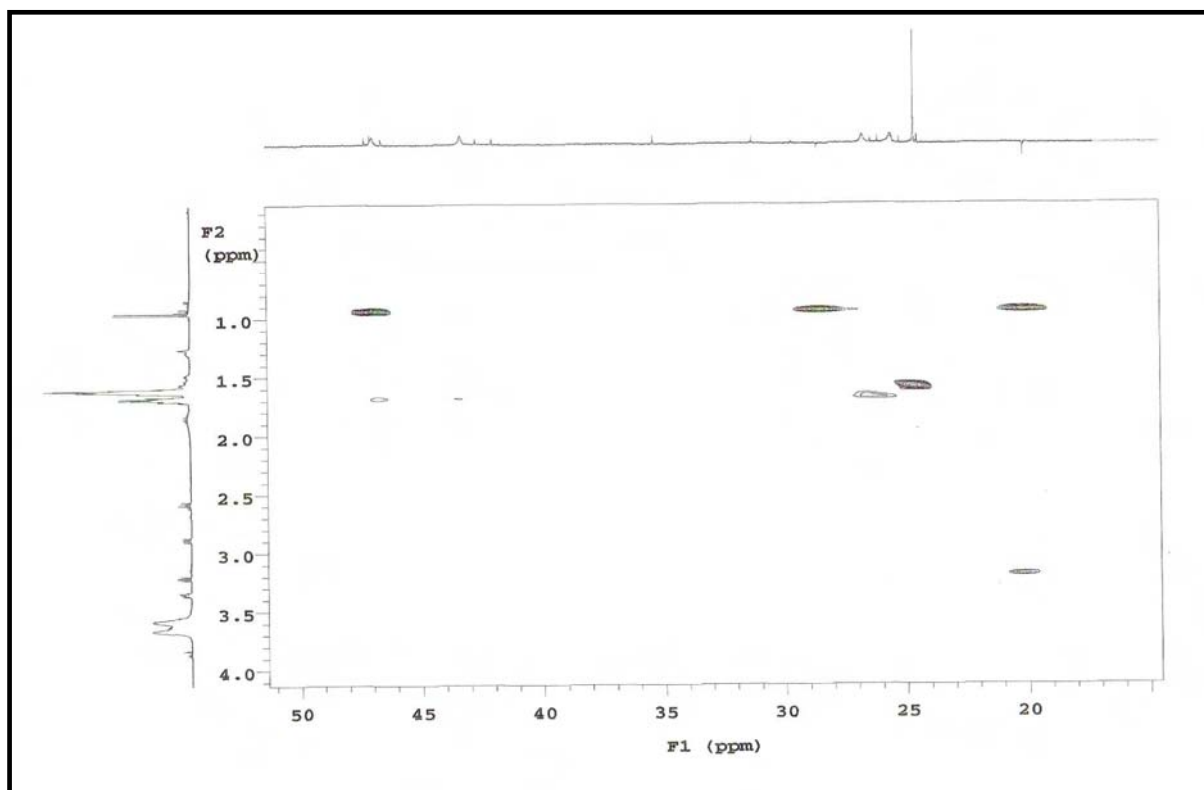


Figura 66. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de *Pl*-3 (CDCl_3 , 500 MHz)

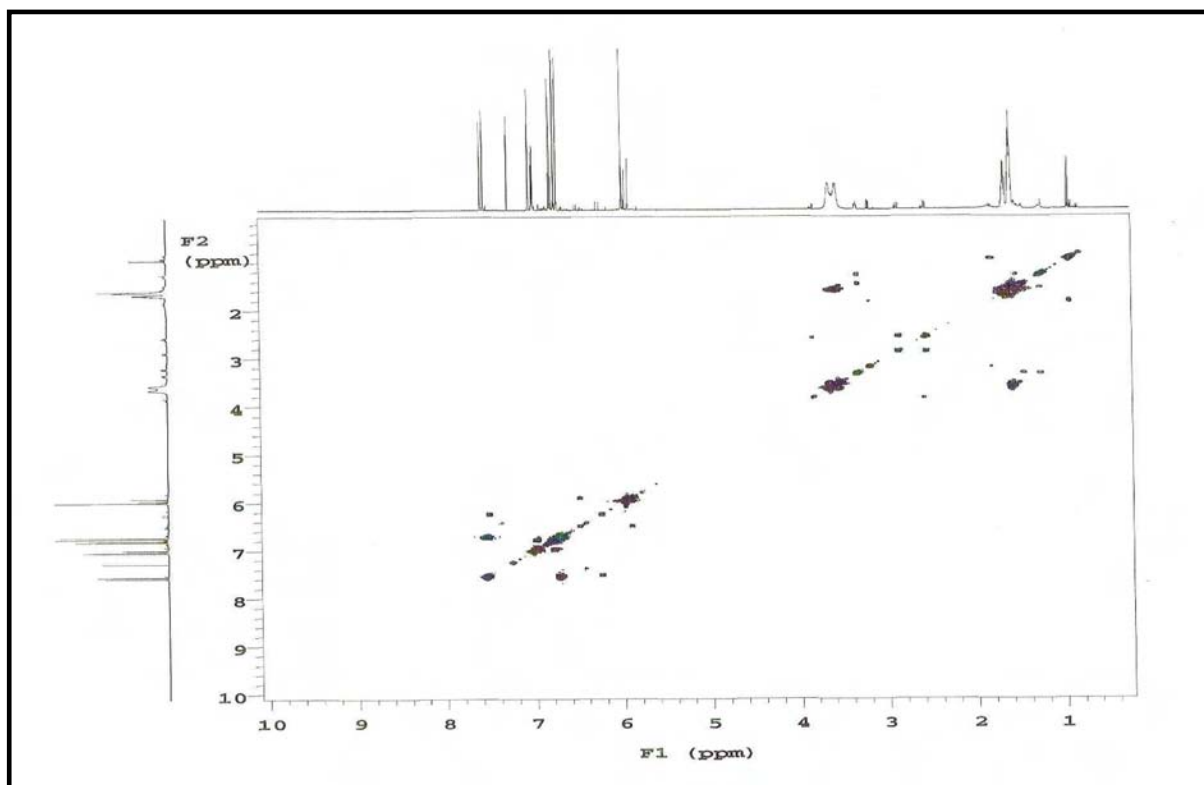


Figura 67. Expansão do espectro de COSY de *Pl*-3 na região de 8,0 – 5,5 x 7,6 – 5,6 ppm

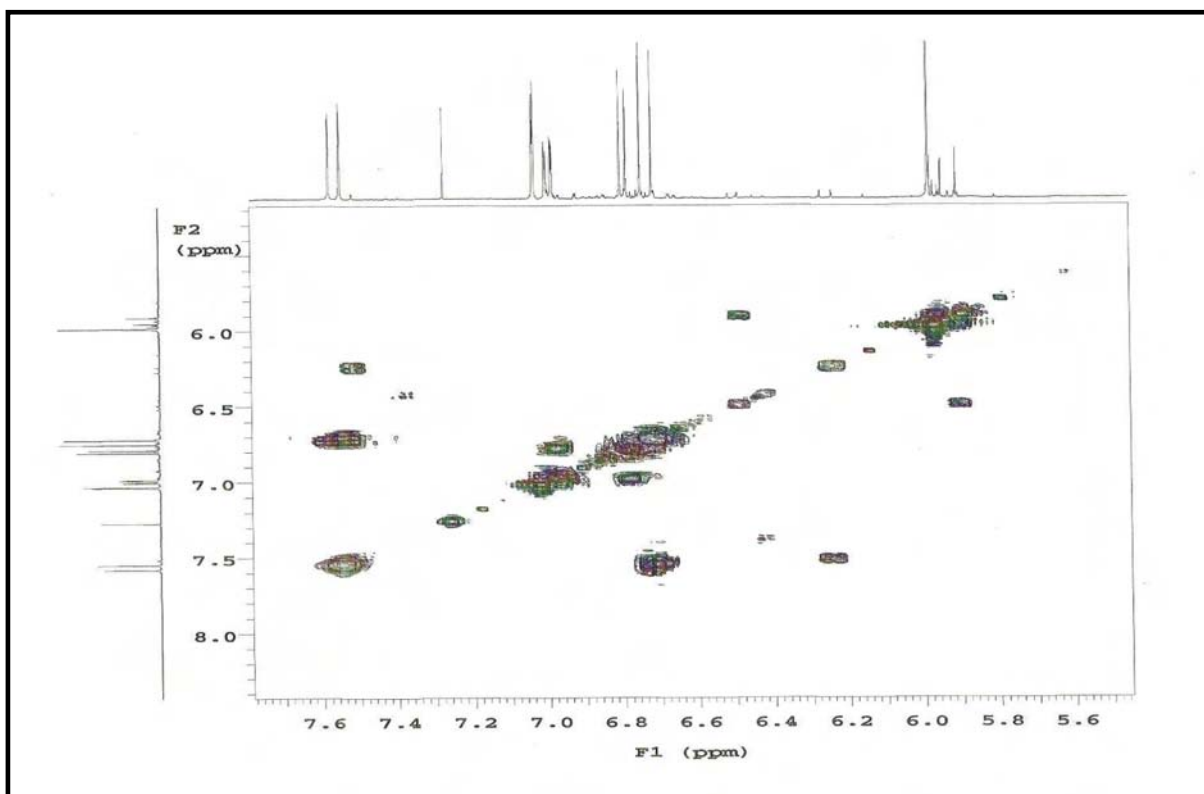


Figura 68. Expansão do espectro de COSY de *Pl-3* na região de 4,5 – 0,5 x 4,2 – 0,6 ppm

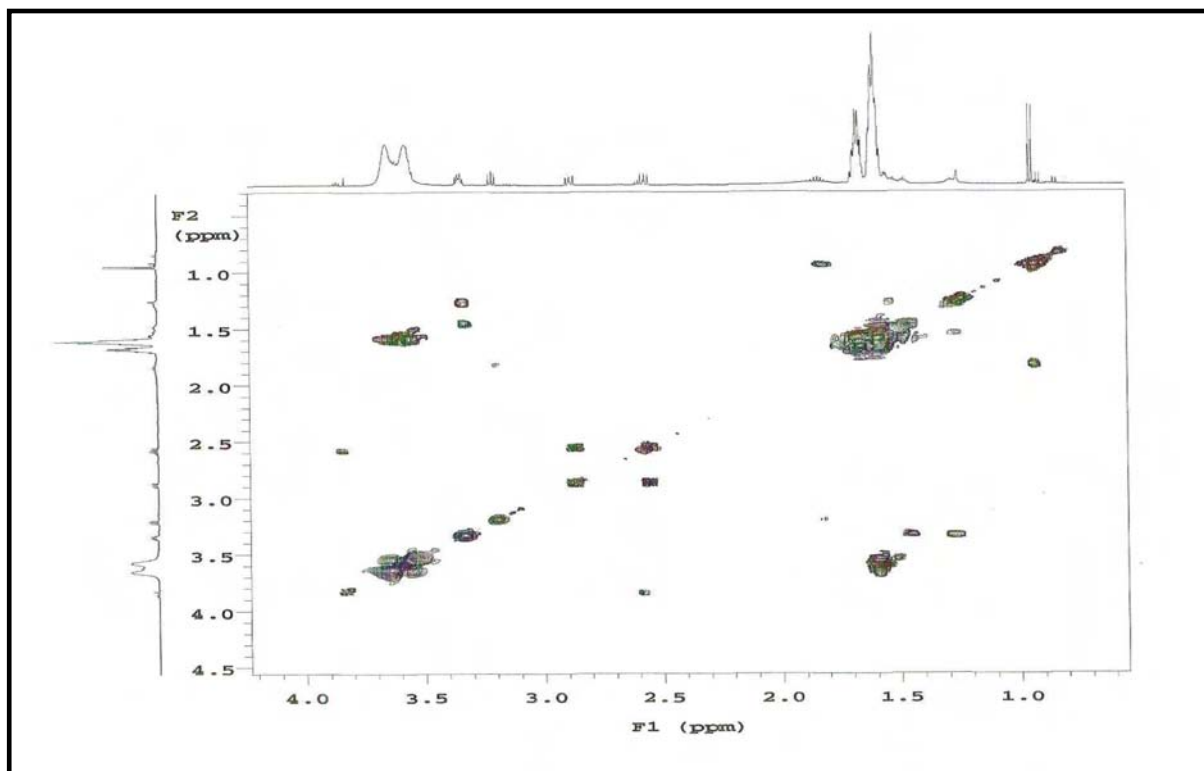


Figura 69. Expansão do espectro de COSY de *Pl-3* na região de 7,8 – 6,6 x 7,6 – 6,6 ppm

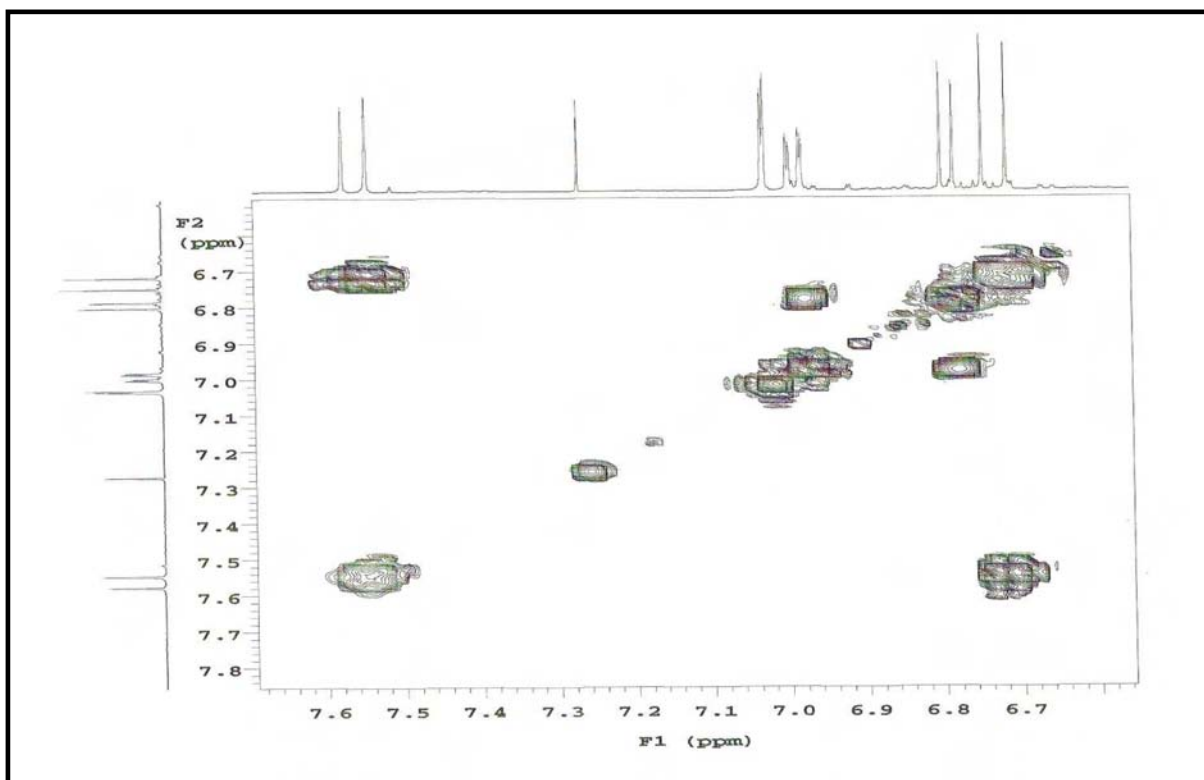


Figura 70. Espectro de massas (ESI-MS) de *Pl-3*

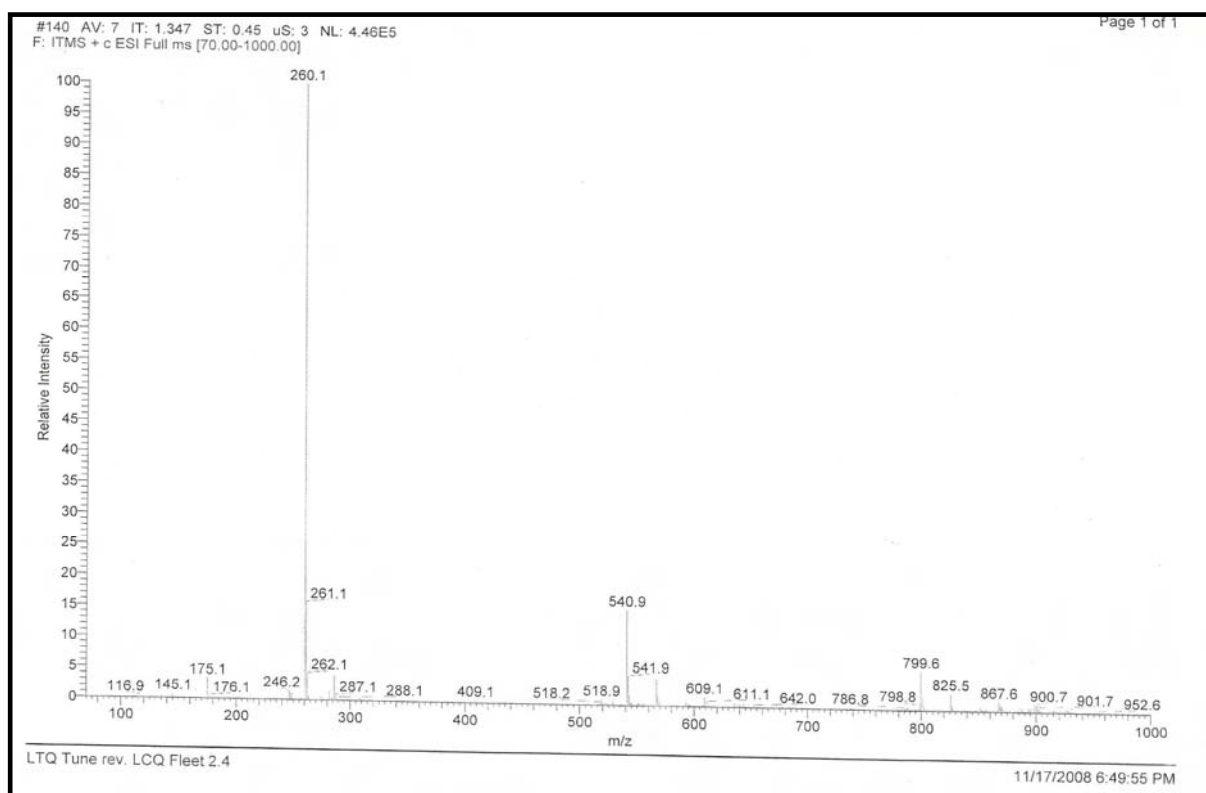
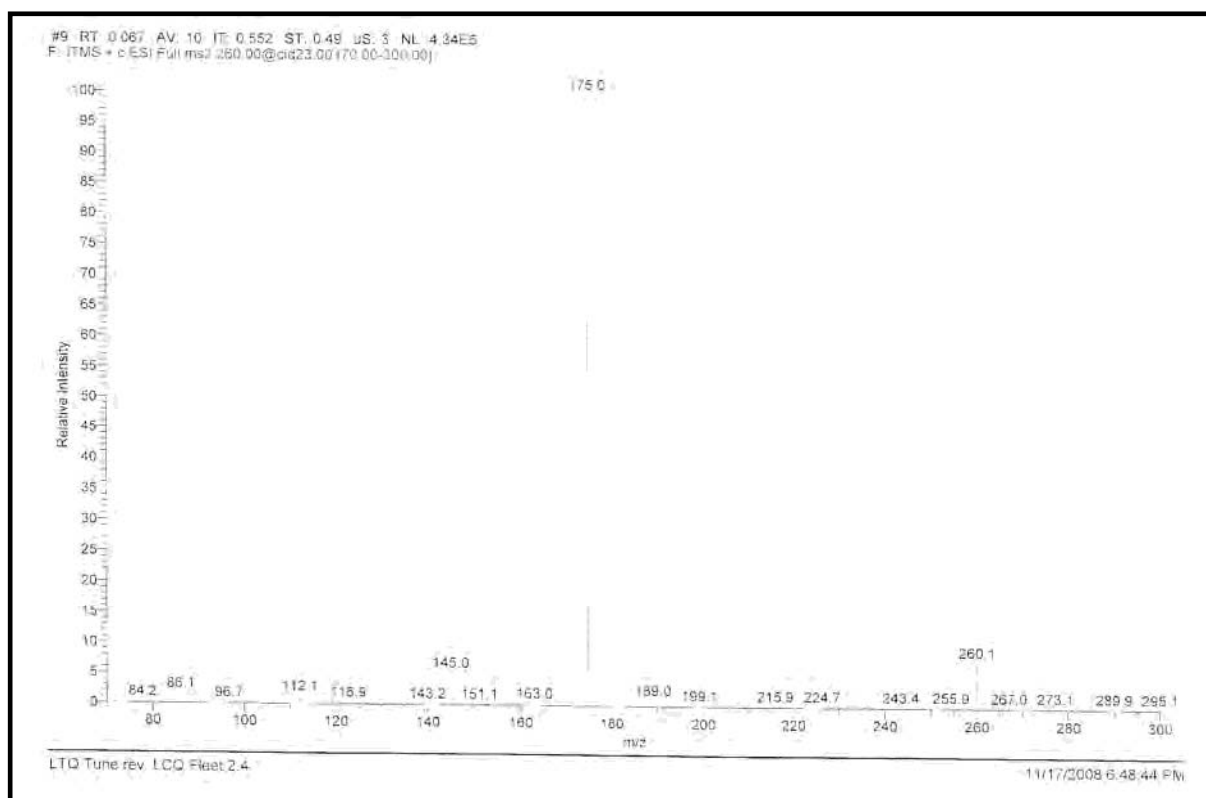


Figura 71. Expansão do espectro de massas (ESI-MS) de *PI-3*



5.4.4. Determinação estrutural de *PI-4*

A substância codificada como *Pl-4* apresentou-se como um sólido amorfo solúvel em uma mistura de CHCl_3 e MeOH .

O espectro de RMN ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500 MHz) (Figura 73, p. 142) de *Pl-4* e suas expansões (Figuras 74 a 76, p. 142-143) mostraram oito dupletos para dois hidrogênios cada, acoplando *orto*: δ_{H} 6,96 (2H, d, $J=8,5$ Hz); δ_{H} 6,69 (2H, d, $J=8,5$ Hz); δ_{H} 7,16 (2H, d, $J=8,8$ Hz); δ_{H} 6,65 (2H, d, $J=8,8$ Hz); δ_{H} 6,80 (2H, d, $J=8,5$ Hz); δ_{H} 6,62 (2H, d, $J=8,5$ Hz); δ_{H} 7,27 (2H, d, $J=8,8$ Hz) e δ_{H} 6,71 (2H, d, $J=8,8$ Hz). Estes dados permitiram sugerir a presença de quatro anéis aromáticos *para*-dissubstituídos em *Pl-4*. Foram observados também sinais atribuídos a quatro hidrogênios vinílicos, dois acoplando *cis* [δ_{H} 6,55 (1H, d, $J=12,5$ Hz) e δ_{H} 5,68 (1H, d, $J=12,5$ Hz)] e dois acoplando *trans* [δ_{H} 7,40 (1H, d, $J=15,5$ Hz) e δ_{H} 6,11 (1H, d, $J=15,5$ Hz)], além de quatro tripletos correspondentes a hidrogênios metilênicos em δ_{H} 3,36 (2H, t, $J=7,0$ Hz); δ_{H} 3,46 (2H, t, $J=7,0$ Hz); δ_{H} 2,57 (2H, t, $J=7$ Hz) e δ_{H} 2,69 (2H, t, $J=7$ Hz), os quais, no espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$, a 500 MHz), mostraram acoplamento entre δ_{H} 3,36 e δ_{H} 2,57 e de δ_{H} 3,46 com δ_{H} 2,69. Ainda no espectro bidimensional COSY (Figuras 99 a 103, p. 155-157) foi possível observar as correlações entre os hidrogênios vicinais δ_{H} 7,16 (d, $J=8,8$ Hz) e δ_{H} 6,65 (d, $J=8,8$ Hz); δ_{H} 7,27 (d, $J=8,8$ Hz) e δ_{H} 6,71 (d, $J=8,8$ Hz); δ_{H} 6,55 (d, $J=12,5$ Hz) e δ_{H} 5,68 (d, $J=12,5$ Hz); δ_{H} 6,80 (d, $J=8,5$ Hz) e δ_{H} 6,62 (d, $J=8,5$ Hz); δ_{H} 6,96 (d, $J=8,5$ Hz) e δ_{H} 6,69 (d, $J=8,5$ Hz); δ_{H} 7,40 (d, $J=15,5$ Hz) e δ_{H} 6,11 (d, $J=15,5$ Hz), importantes para as atribuições feitas a estes átomos.

O espectro de RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 125 MHz) de *Pl-4* e suas expansões (Figuras 77 a 83, p. 144-147), juntamente com o espectro de correlação heteronuclear HMBC, permitiu atribuir absorções para 2 carbonos carbonílicos [δ_{C} 168,04 (1C); 167,03 (1C)]; 7 sinais para carbonos metínicos aromáticos [δ_{C} 129,63 (2C); 129,44 (2C); 130,50 (2C); 129,38 (2C); 115,33 (4C), 115,19 (2C) e 115,60 (2C)] e 8 carbonos aromáticos não hidrogenados [δ_{C} 126,43 (1C); 126,28 (1C); 129,52 (1C); 129,84 (1C); 157,33 (1C); 155,15 (1C); 158,51 (1C); 155,20 (1C)], os quatro últimos sugestivos de carbonos ligados a heteroátomos. Observou-se ainda 4 sinais para carbonos metilênicos [δ_{C} 33,99 (1C); 34,55 (1C); 40,45 (1C); 40,85 (1C)], além de 4 para carbonos vinílicos [δ_{C} 136,66 (1C); 140,83 (1C); 121,67 (1C); 117,24 (1C)]. Dentre estes sinais, aqueles em δ_{C} 129,63; δ_{C} 129,44; δ_{C} 129,38; δ_{C} 130,50; δ_{C} 115,19 e δ_{C} 115,60, por apresentarem-se com maior intensidade foram atribuídos a dois carbonos cada, enquanto o carbono em δ_{C} 115,33 foi correspondente a quatro carbonos. Esses dados permitiram inferir a presença de 34 carbonos para *Pl-4*, sugerindo uma possível mistura de duas substâncias.

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC (^nJ , $n=1$) ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) mostrou as correlações diretas entre os átomos de hidrogênio e seus respectivos carbonos (Figuras 84 a 88, p. 147-149), permitindo atribuir inequivocamente os deslocamentos químicos para cada um destes átomos, conforme Tabelas 13 e 14 (p.139 e 140).

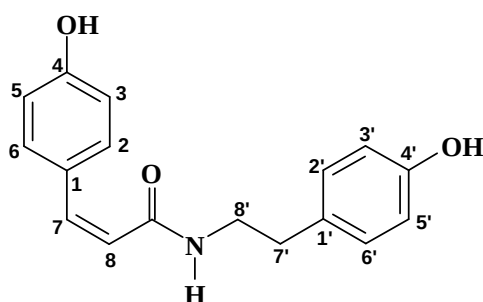
O espectro bidimensional de correlação heteronuclear, HMBC (^nJ , $n=2$ ou 3) ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) (Figuras 89 a 98, p. 150-154) revelou as correlações dos hidrogênios vinílicos em δ_{H} 6,55 (d, $J=12,5$ Hz, 1H)/ δ_{C} 130,50 e δ_{H} 7,40 (d, $J=15,5$ Hz, 1H)/ δ_{C} 167,02 e 129,38, bem como dos hidrogênios aromáticos δ_{H} 6,65 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)/ δ_{C} 126,28 e δ_{H} 7,16 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)/ δ_{C} 157,33, permitindo atribuir os deslocamentos químicos dos respectivos carbonos C-2_a/C-6_a; C-1_a; C-4_a; C=O_b; C-2_b/C-6_b; C-4_b e C-1_b.

As correlações observadas entre o hidrogênio vinílico *trans* em δ_{H} 7,40 (d, $J=15,5$ Hz) com os carbonos em δ_{C} 167,03 e δ_{C} 129,38 (C-2_b/C-6_b), juntamente com duas outras interações também reveladas pelo espectro de HMBC entre o outro hidrogênio vinílico *trans* em δ_{H} 6,11 (d, $J=15,5$ Hz) e os carbonos δ_{C} 126,43 (C-1_b) e δ_{C} 167,03, permitiram inferir a insaturação na molécula entre C-7_b e C-8_b. Este dado juntamente com os anteriormente descritos sugerem a presença do grupamento *trans*-cumaroil na substância em análise.

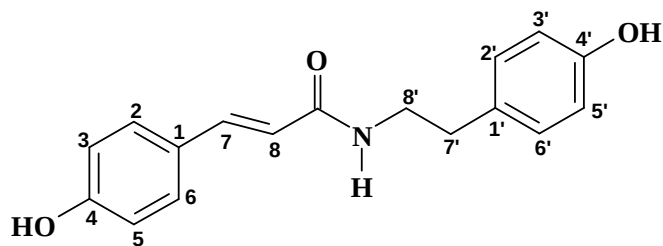
Uma outra correlação observada, a três ligações, entre o hidrogênio vinílico *cis* em δ_{H} 6,55 (d, $J=12,5$ Hz) e o carbono metínico aromático em δ_{C} 130,50 (C-2_a/C-6_a) foi sugestiva da existência de um grupamento *cis*-cumaroil também em Pl-4.

Ainda no espectro de HMBC, observou-se as correlações entre δ_{H} 3,46 (t, $J=7$ Hz, H-8'_a)/ δ_{C} 129,84 e 34,55; δ_{H} 6,69 (d, $J=8,5$ Hz, H-3'_a/H-5'_a)/ δ_{C} 129,84; δ_{H} 2,57 (t, $J=7$ Hz, H-7'_b)/ δ_{C} 129,52; δ_{H} 6,62 (d, $J=8,5$ Hz, H-3'_b/H-5'_b)/ δ_{C} 129,52 e ainda entre δ_{H} 6,80 (d, $J=8,5$ Hz, H-2'_b/H-6'_b)/ δ_{C} 129,52 e 155,15. Todas estas correlações sugerem a presença de dois grupamentos tiramina, os quais provavelmente estariam interligados, separadamente, aos respectivos grupos *trans*-cumaroil e *cis*-cumaroil anteriormente descritos, proposta esta reforçada pelas correlações observadas, a três ligações entre os hidrogênios δ_{H} 3,46 (t, $J=7$ Hz, H-8'_a) e δ_{H} 3,36 (t, $J=7$ Hz, H-8'_b) e os respectivos carbonos carbonílicos dos grupamentos cumaroil em δ_{C} 168,04 e δ_{C} 167,03.

A análise dos dados espectrais de Pl-4 (Tabelas 13 e 14, p. 139 e 140), além da comparação com modelos da literatura (Tabela 15 e 16, p. 140 e 141) (KIM; LEE, 2003; KIM, et. al., 2005) permitiram sugerir que Pl-4 trata-se de uma mistura dos isômeros *cis*-N-*p*-cumaroil-tiramina (Pl-4a) e *trans*-N-*p*-cumaroil-tiramina (Pl-4b), descritos pela primeira vez na espécie *Piper lateripilosum* e pela segunda vez no gênero.



Cis-N-p-Cumaroiltiramina (Pl-4a)



Trans-N-p-Cumaroiltiramina (Pl-4b)

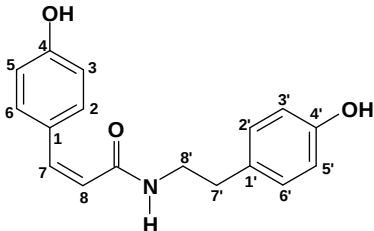
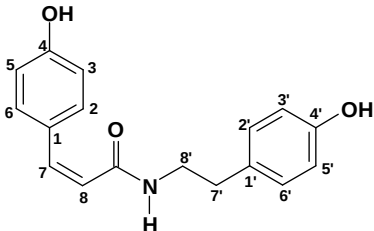
Tabela 13. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de *Pl-4a* registrados em $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$

HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$			HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		COSY
C	δ_{C}	δ_{H}	^2J	^3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1	126,28	-			
1'	129,84	-			
4	157,33	-			
4'	155,20	-			
C=O	168,04	-			
CH					
2/6	130,50	7,16 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)		C-7; C-4	H-3/H-5
2'/6'	129,63	6,96 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)		C-4'	H-3'/H-5'
3/5	115,19	6,65 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)		C-1	H-2/H-6
3'/5'	115,33	6,69 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)		C-1'	H-2'/H-6'
7	136,66	6,55 (d, $J=12,5$ Hz, 1H)		C-2/C-6	H-8
8	121,67	5,68 (d, $J=12,5$ Hz, 1H)			H-7
CH₂					
7'	34,55	2,69 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	C-1'; C-8'		H-8'
8'	40,85	3,46 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	C-7'	C=O; C-1'	H-7'

Tabela 14. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de *Pl-4b* registrados em $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$

C	HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		COSY
	δ_{C}	δ_{H}	^2J	^3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1	126,43	-			
1'	129,52	-			
4	158,51	-			
4'	155,15	-			
C=O	167,03	-			
CH					
2/6	129,38	7,27 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)		C-4; C-7	H-3/H-5
2'/6'	129,44	6,80 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)	C-1'	C-4'	H-3'/H-5'
3/5	115,60	6,71 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	C-4	C-1	H-2/H-6
3'/5'	115,33	6,62 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)		C-1'	H-2'/H-6'
7	140,83	7,40 (d, $J=15,5$ Hz, 1H)		C=O; C-2/C-6	H-8
8	117,24	6,11 (d, $J=15,5$ Hz, 1H)	C=O	C-1	H-7
CH₂					
7'	33,99	2,57 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	C-1'; C-8'		H-8'
8'	40,45	3,36 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	C-7'	C=O; C-1'	H-7'

Tabela 15. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pl-4a* com valores encontrados na literatura (KIM, *et. al.*, 2005) (δ em ppm e J em Hz)

<i>Pl-4a</i> ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$)			Literatura (CD_3OD)	
				
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	126,28	-	127,9	-
1'	129,84	-	131,2	-
4	157,33	-	159,4	-
4'	155,20	-	156,9	-
C=O	168,04	-	170,4	-
CH				
2/6	130,50	7,16 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	130,7	6,91 (d, $J=8,4$ Hz, 2H)
2'/6'	129,63	6,96 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)	132,3	7,26 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)

3/5	115,19	6,65 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	116,0	6,62 (d, $J=8,4$ Hz, 2H)
3'/5'	115,33	6,69 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)	116,2	6,65 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)
H-7	136,66	6,55 (d, $J=12,5$ Hz, 1H)	138,1	5,69 (d, $J=12,8$ Hz, 1H)
H-8	121,67	5,68 (d, $J=12,5$ Hz, 1H)	121,4	6,51 (d, $J=12,8$ Hz, 1H)
CH₂				
7'	34,55	2,69 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	35,5	2,59 (t, $J=7,5$ Hz, 1H)
8'	40,85	3,46 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	42,3	3,29 (t, $J=7,5$ Hz, 1H)

Tabela 16. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pl-4b* com valores encontrados na literatura (KIM; LEE, 2003) (δ em ppm e J em Hz).

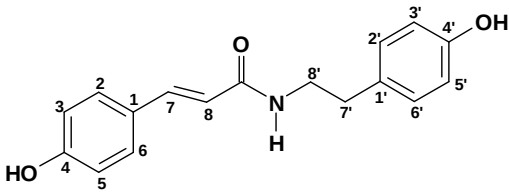
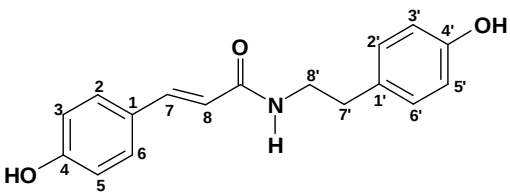
<i>Pl-4b</i> ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$)			Literatura (CD_3OD)	
				
C	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H
1	126,43	-	127,60	-
1'	129,52	-	131,30	-
4	158,51	-	160,60	-
4'	155,15	-	156,90	-
C=O	167,03	-	169,20	-
CH				
2/6	129,38	7,27 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	130,60	7,30 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)
2'/6'	129,44	6,80 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)	130,70	6,95 (d, $J=8,4$ Hz, 2H)
3/5	115,60	6,71 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	116,30	6,68 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)
3'/5'	115,33	6,62 (d, $J=8,5$ Hz, 2H)	116,70	6,62 (d, $J=8,4$ Hz, 2H)
H-7	140,83	7,40 (d, $J=15,5$ Hz, 1H)	141,80	7,34 (d, $J=15,6$ Hz, 1H)
H-8	117,24	6,11 (d, $J=15,5$ Hz, 1H)	118,30	6,28 (d, $J=15,6$ Hz, 1H)
CH₂				
7'	33,99	2,57 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	35,80	3,36 (t, $J=7,5$ Hz, 1H)
8'	40,85	3,36 (t, $J=7,0$ Hz, 2H)	42,60	2,65 (t, $J=7,5$ Hz, 1H)

Figura 73. Espectro de RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500MHz) de *Pl-4*

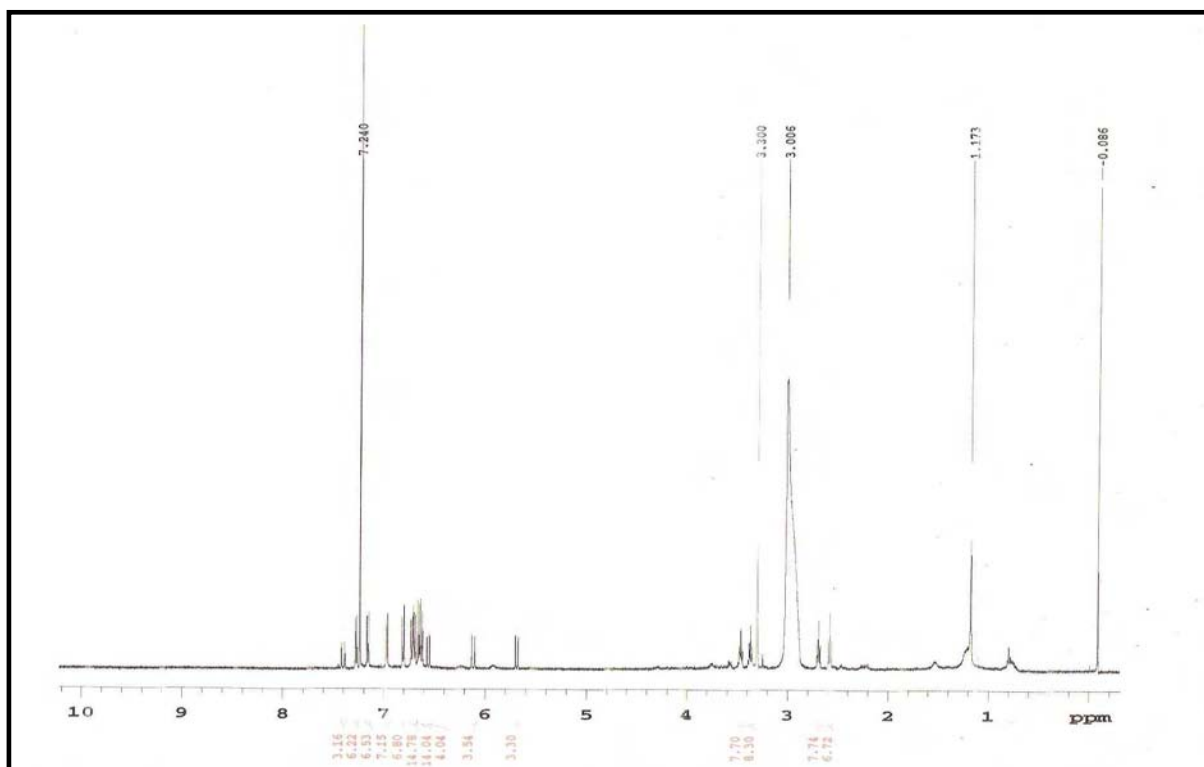


Figura 74. Expansão do espectro de RMN de ^1H de PI-4, na região de 5,65 a 7,42 ppm

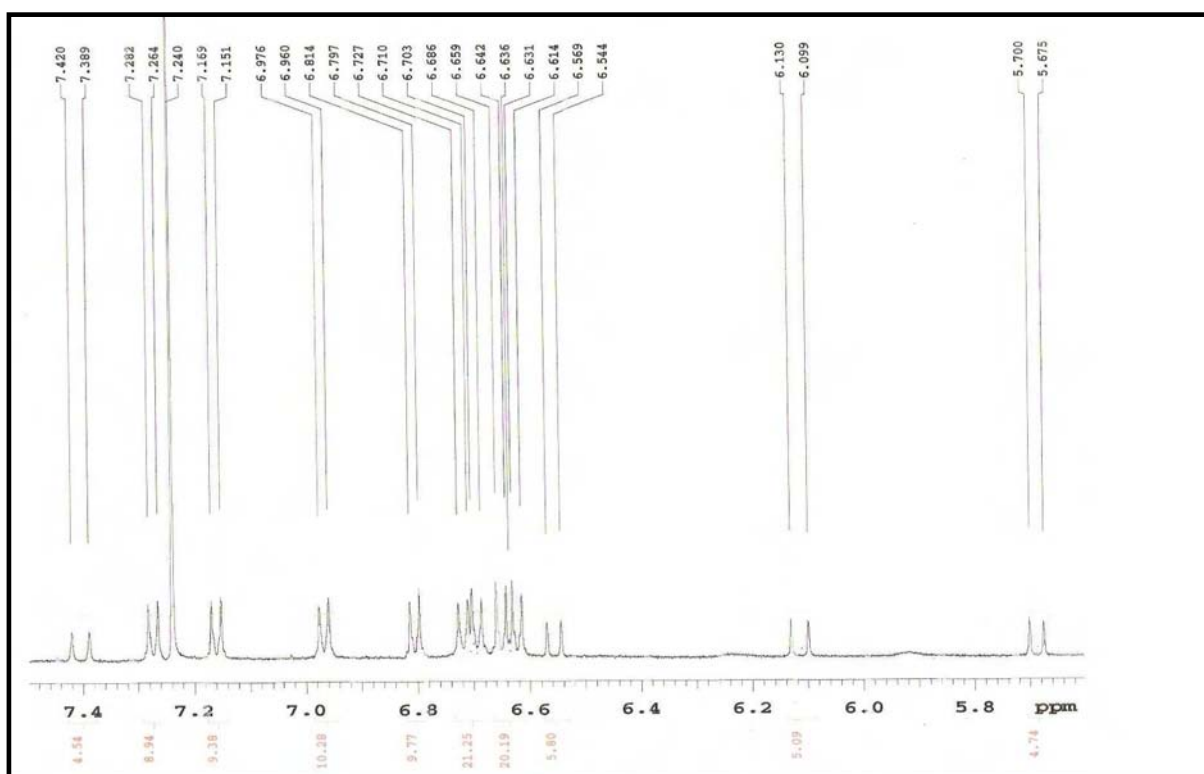


Figura 75. Expansão do espectro de RMN de ^1H de PI-4, na região de 6,54 a 7,5 ppm

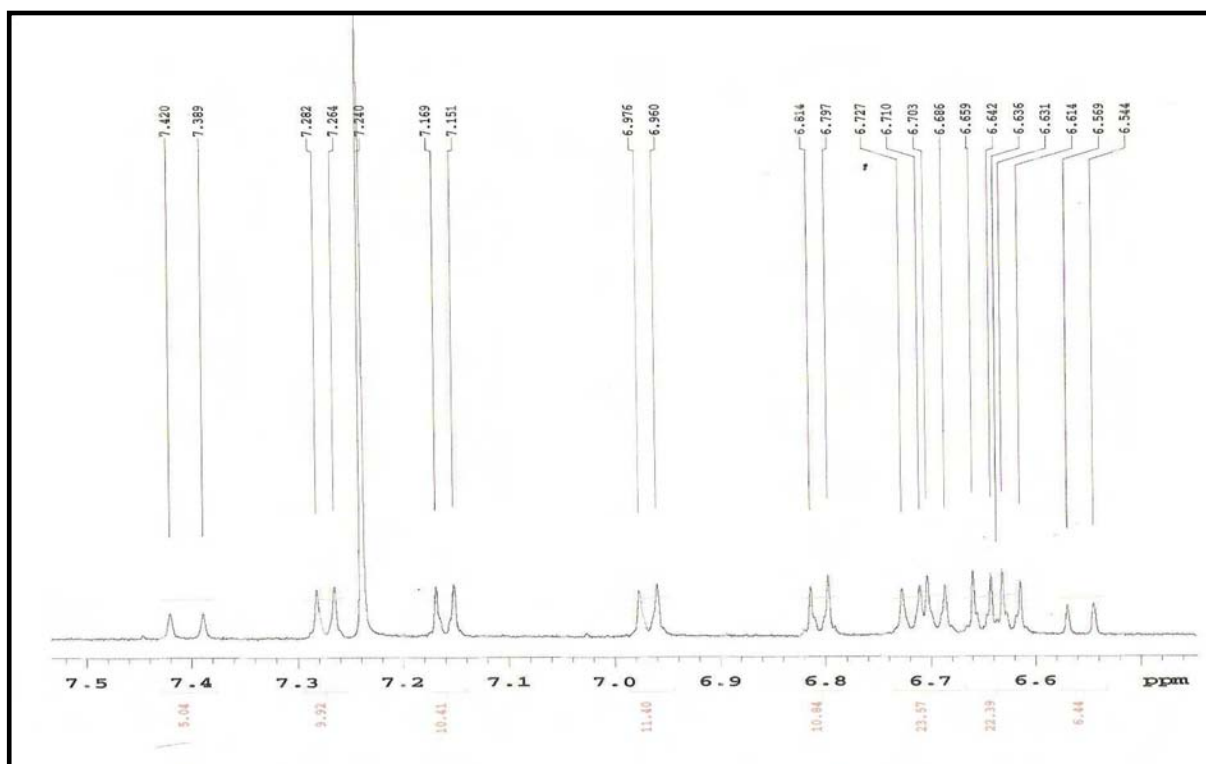


Figura 76. Expansão do espectro de RMN de ^1H de *PI-4*, na região de 0,70 a 3,6 ppm

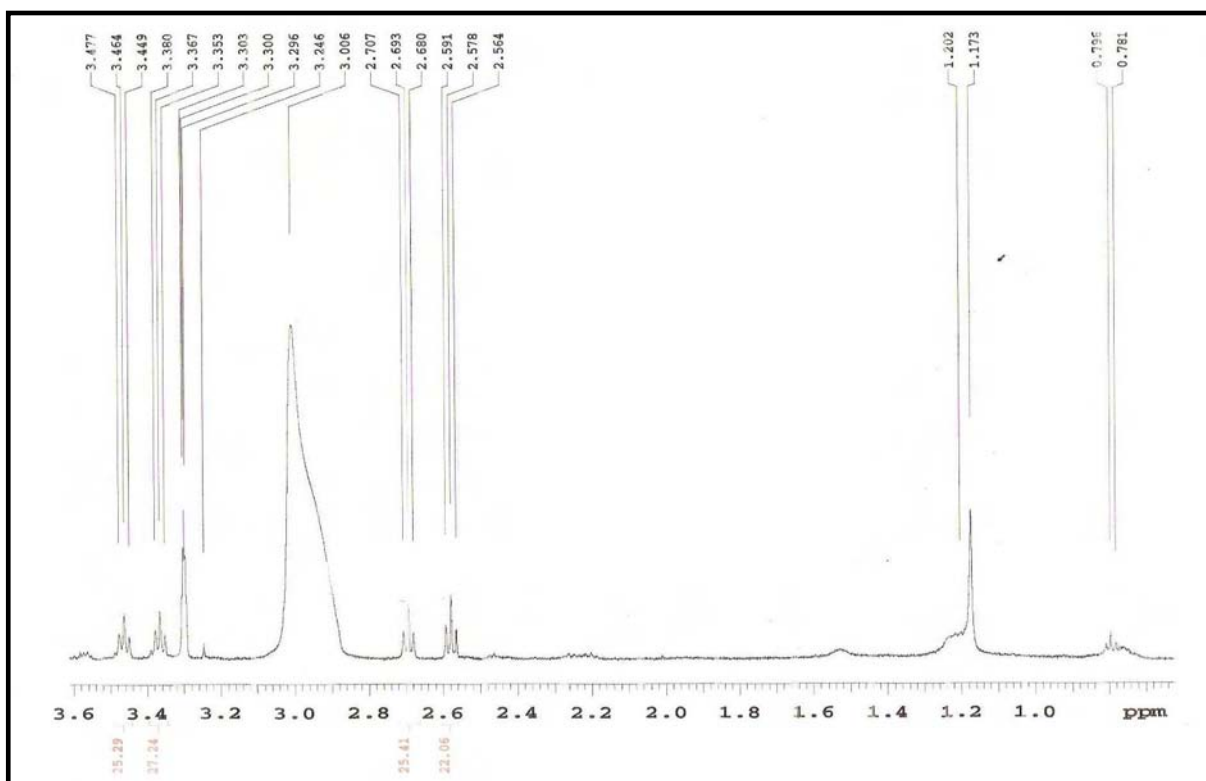


Figura 77. Espectro de RMN ^{13}C - APT ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 125 MHz) de *PI-4*

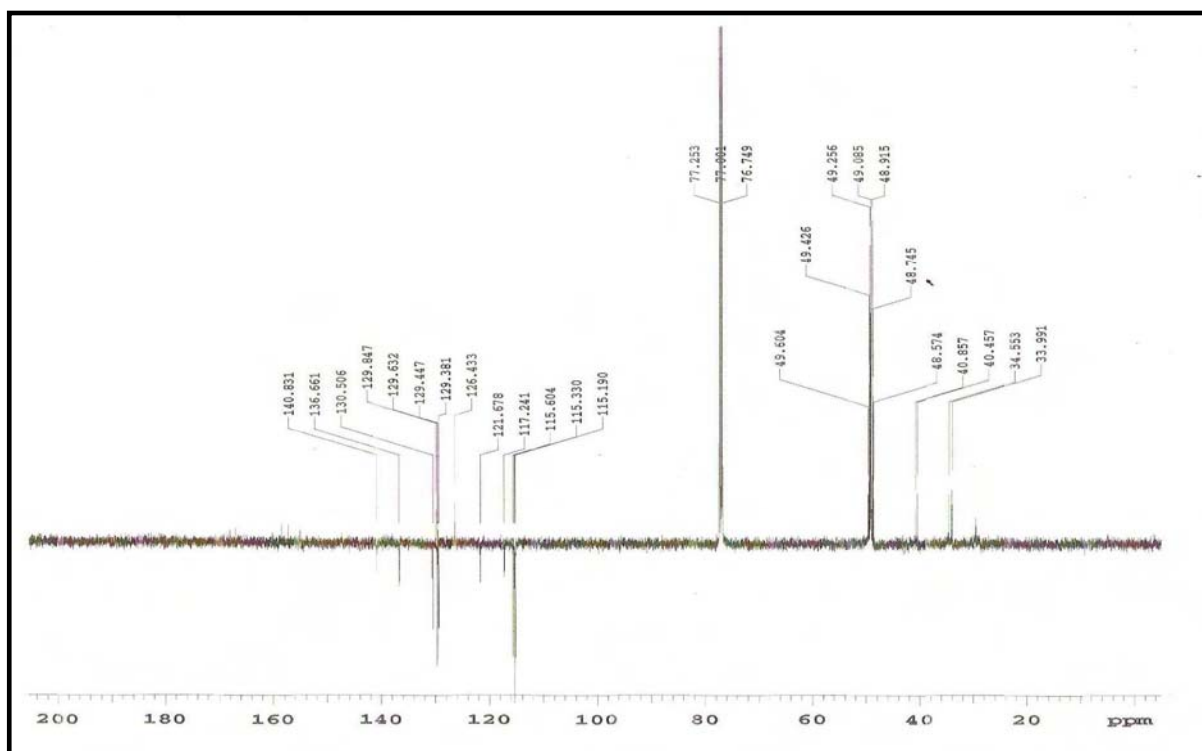


Figura 78. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de PI-4 na região de 115 a 170 ppm

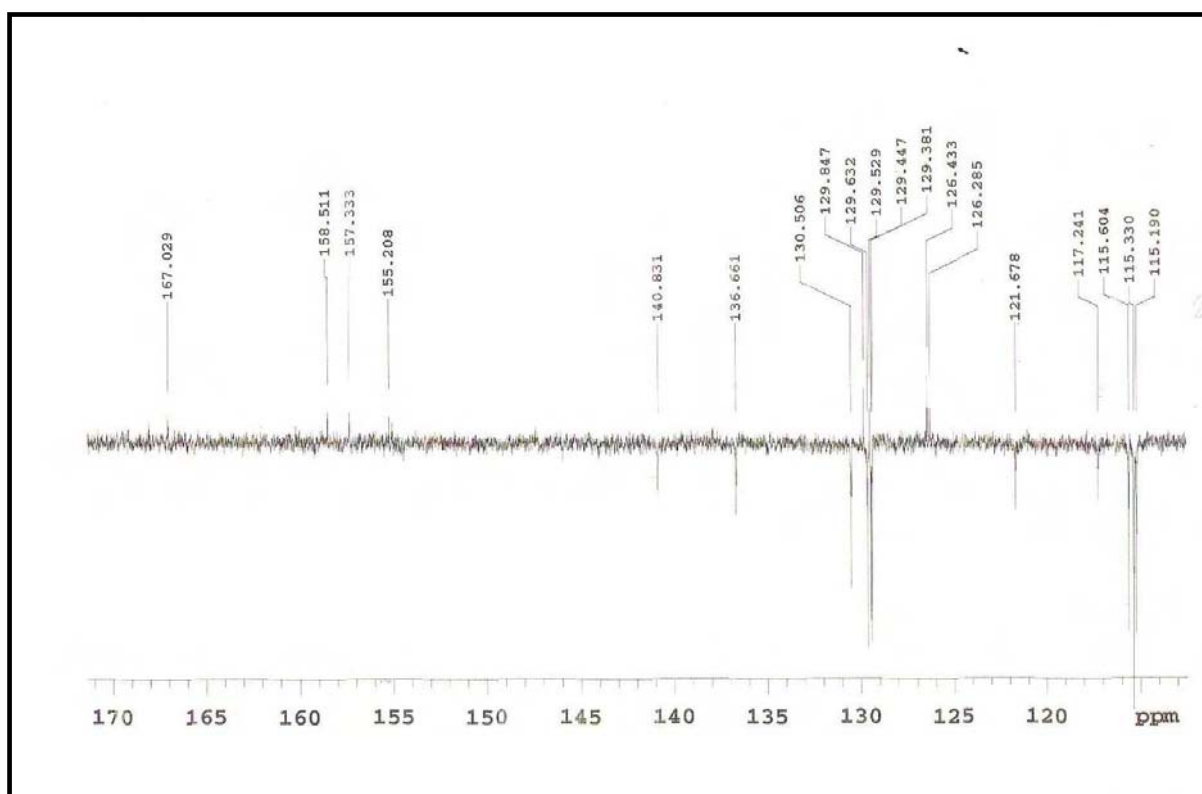


Figura 79. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de PI-4 na região de 115 a 131 ppm

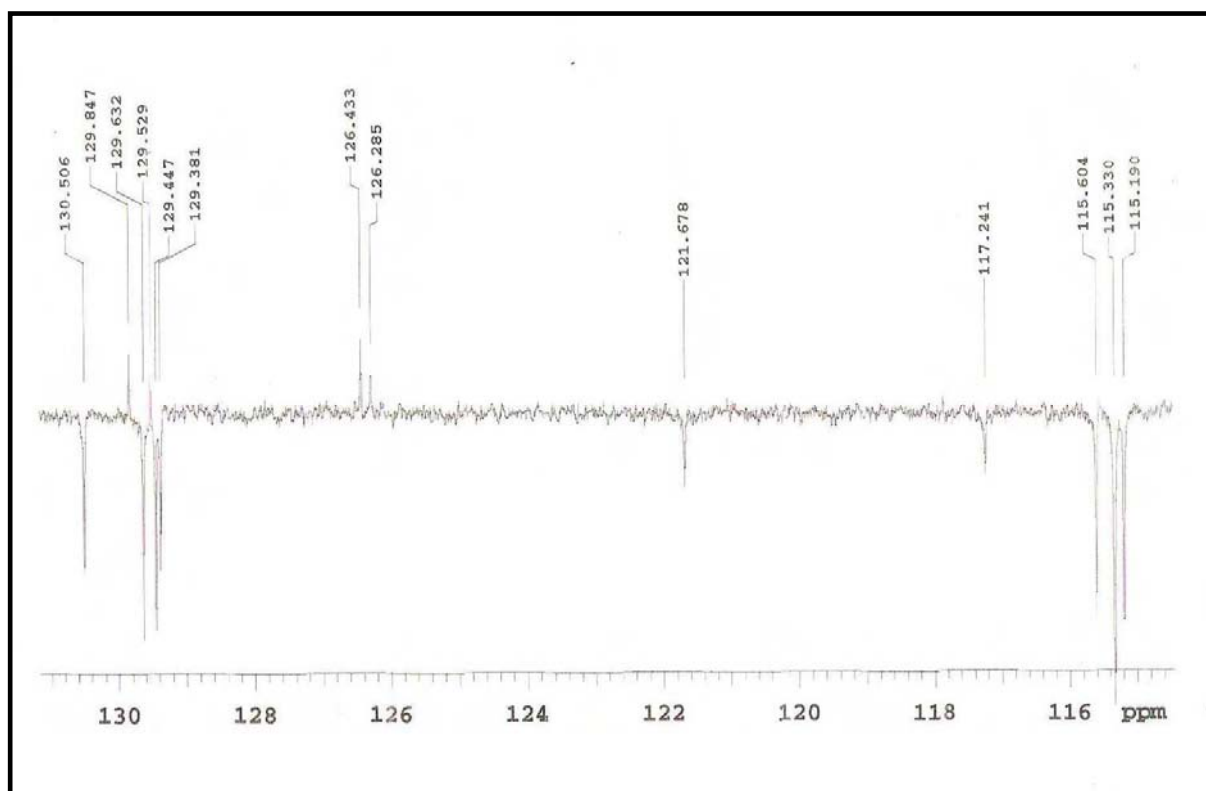


Figura 80. Expansão do espectro de RMN¹³C - APT de *Pl-4* na região de 28 a 42 ppm

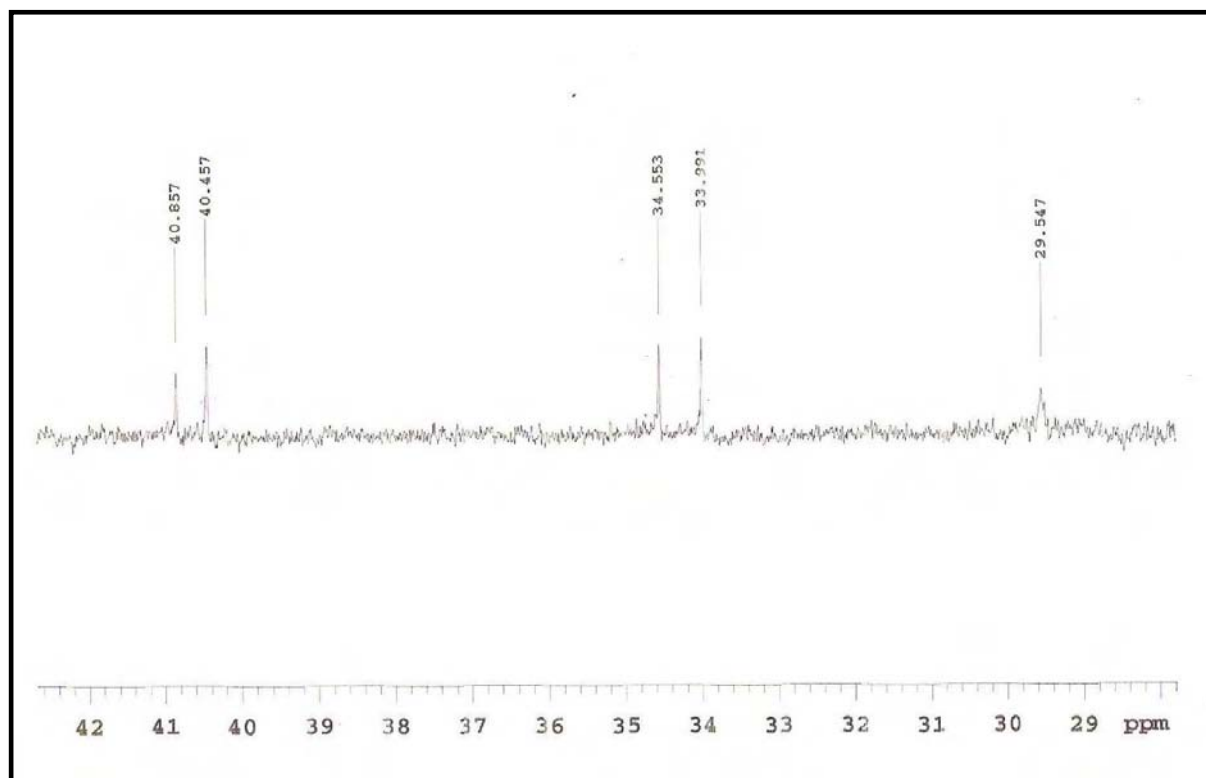


Figura 81. Espectro de RMN ¹³C-BB de *Pl-4* (CDCl₃ + CD₃OD, 125 MHz)

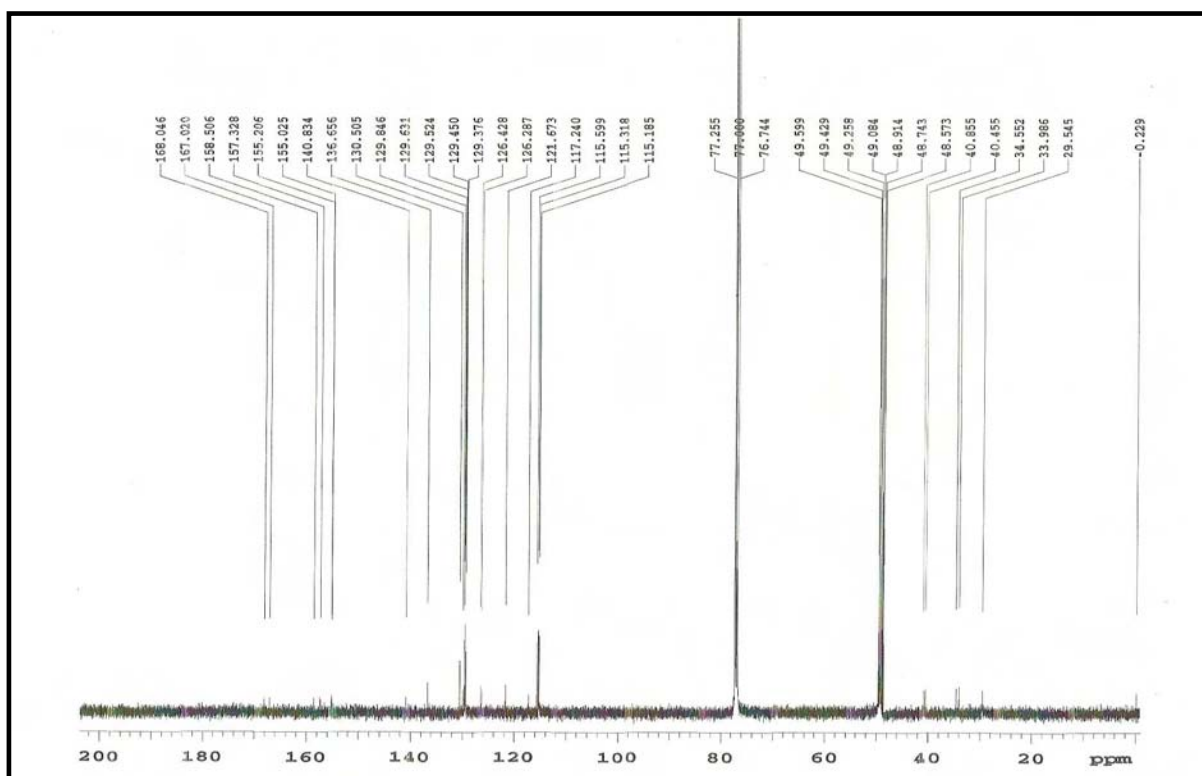


Figura 82. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de PI-4 na região de 170-115 ppm

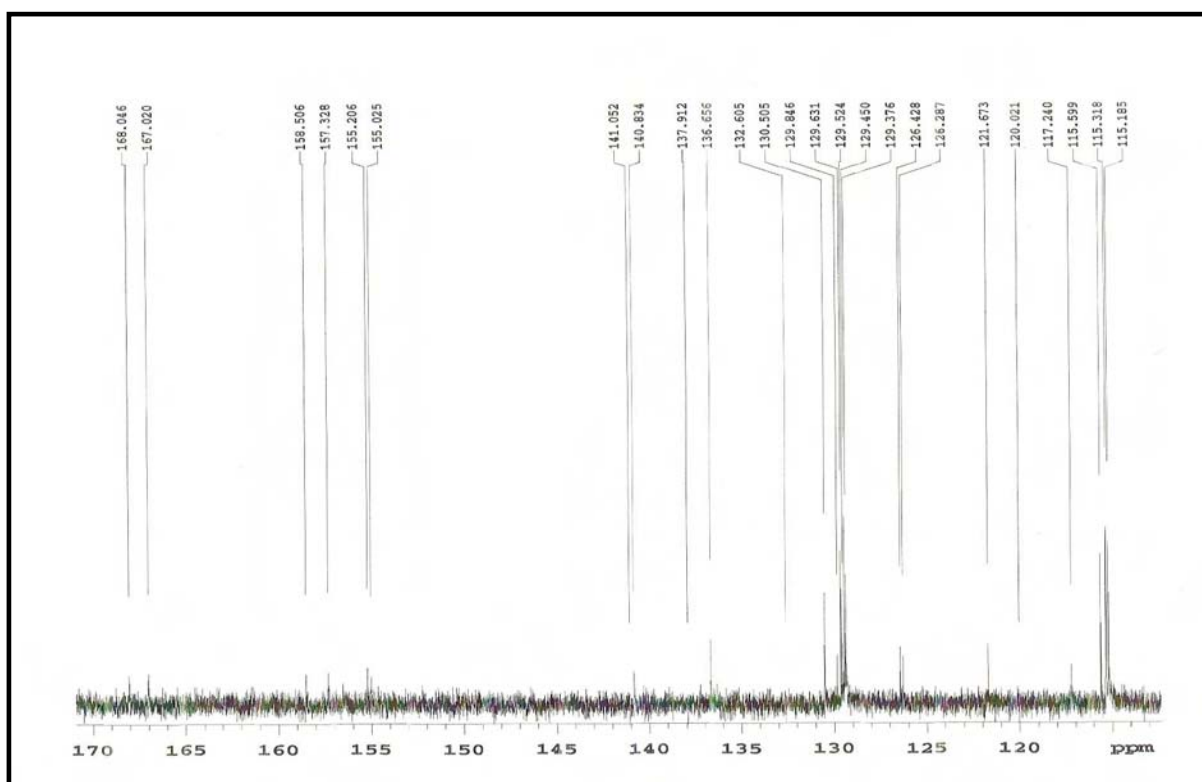


Figura 83. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de PI-4 na região de 42-28 ppm

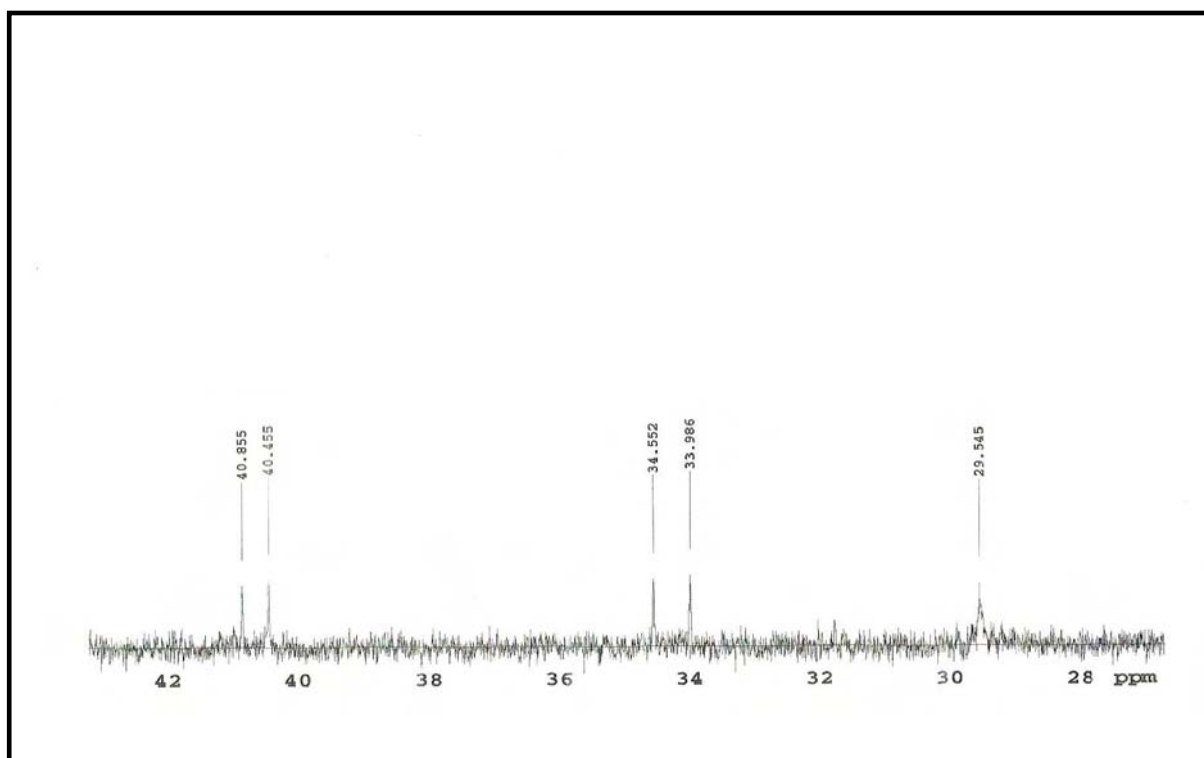


Figura 84. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC de *Pl-4* ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500 e 125 MHz)

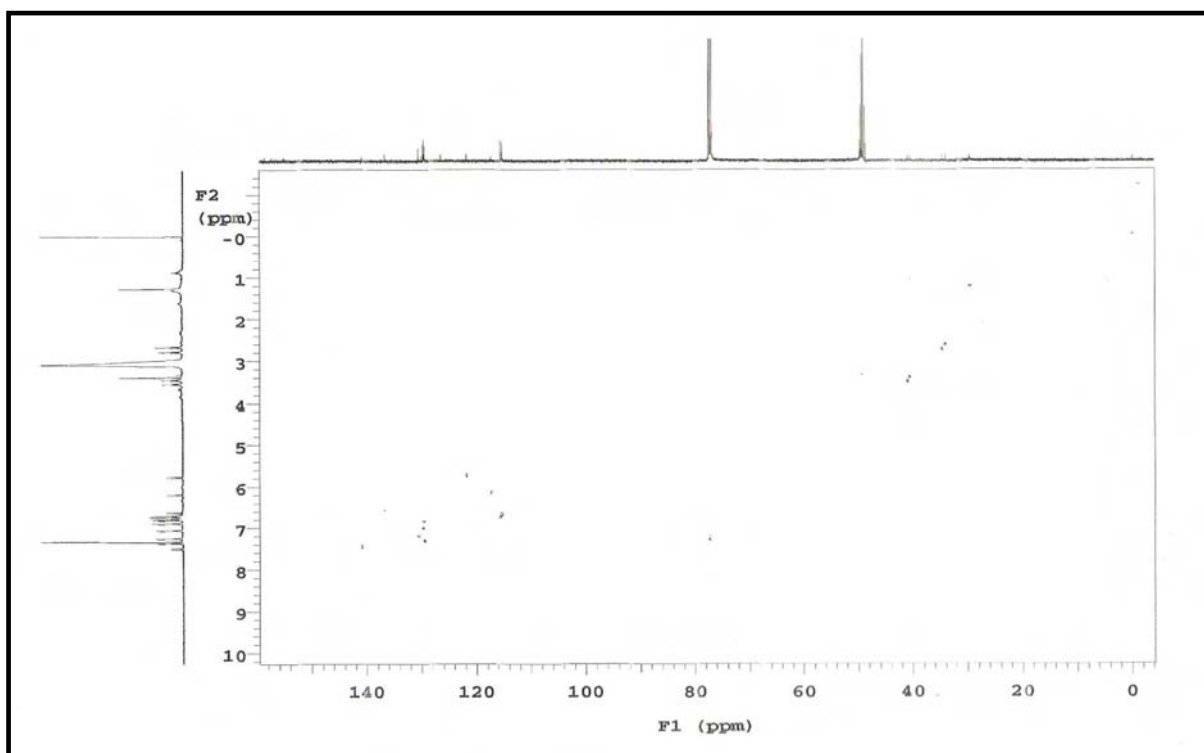


Figura 85. Expansão do espectro HMQC de *Pl-4* na região de 7,8-5,6 x 116,0-142,0 ppm

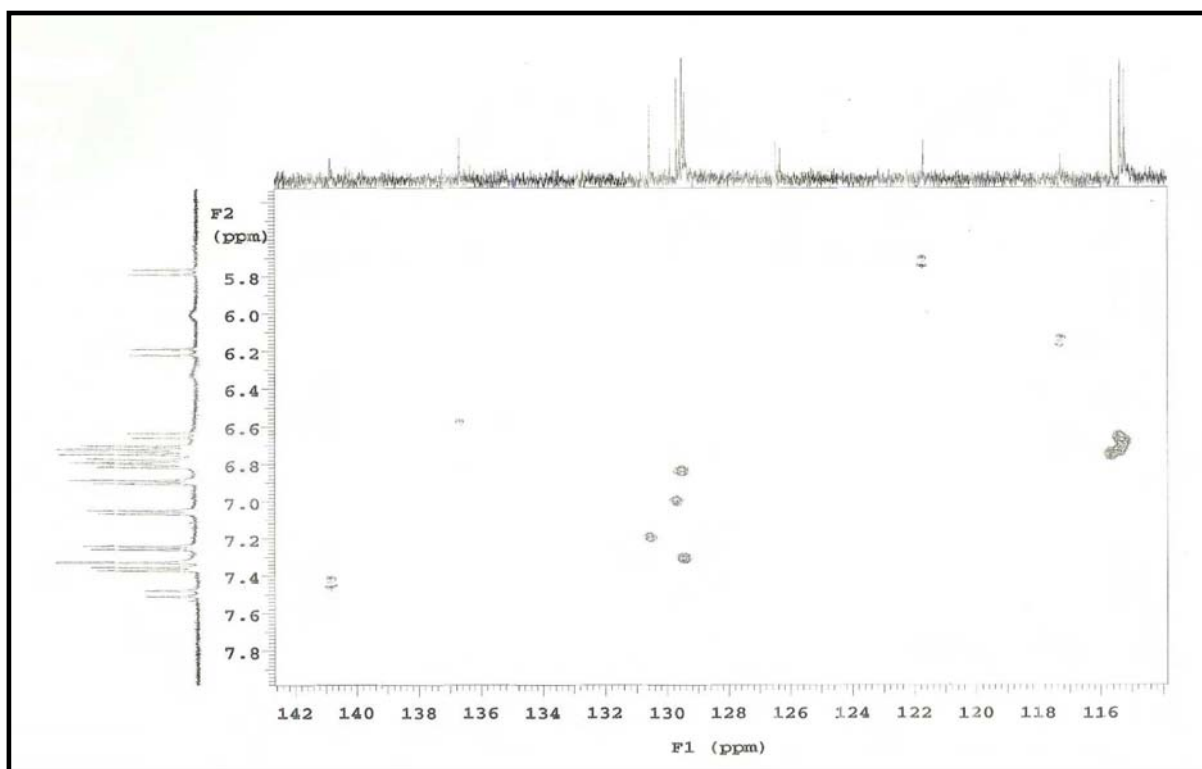


Figura 86. Expansão do espectro HMQC de *PI-4* na região de 6,9-6,5 x 114,6-116,0 ppm

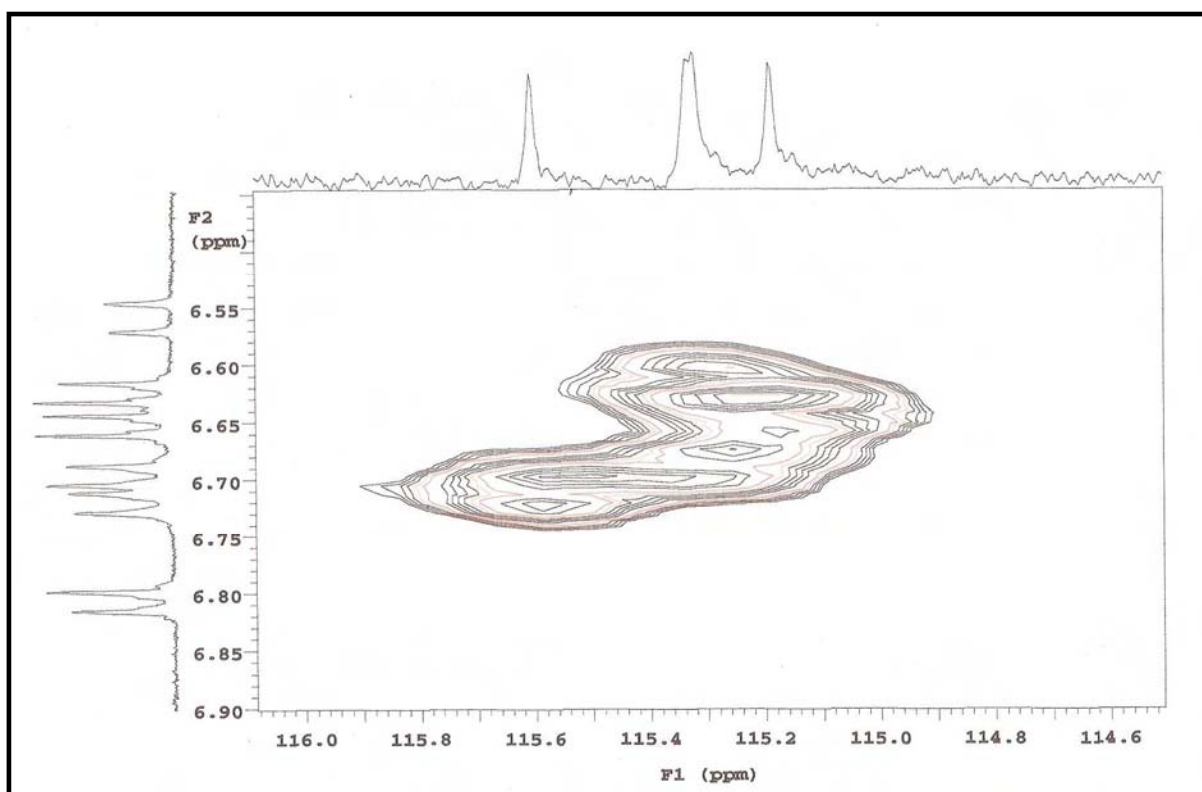


Figura 87. Expansão do espectro HMQC de *PI-4* na região de 4,0-0,5 x 28,0-50,0 ppm

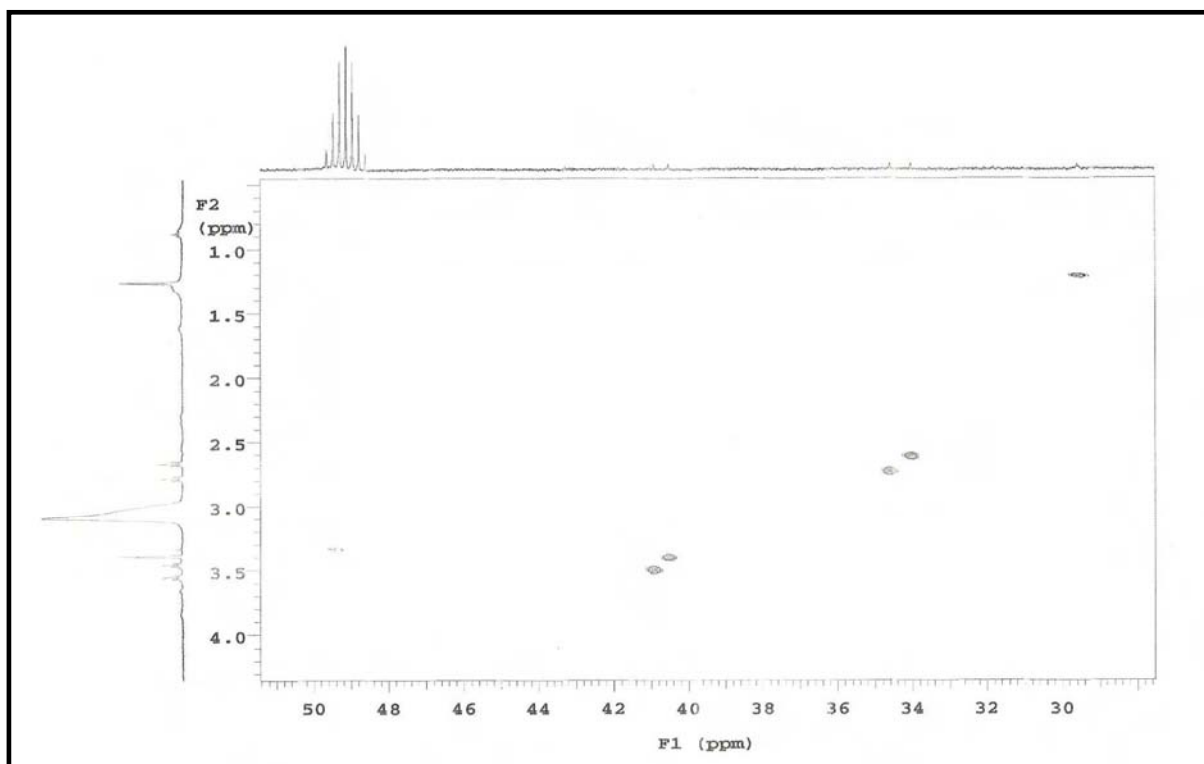


Figura 88. Expansão do espectro HMQC de *Pl-4* na região de 7,3-6,75 x 129,2-130,6 ppm

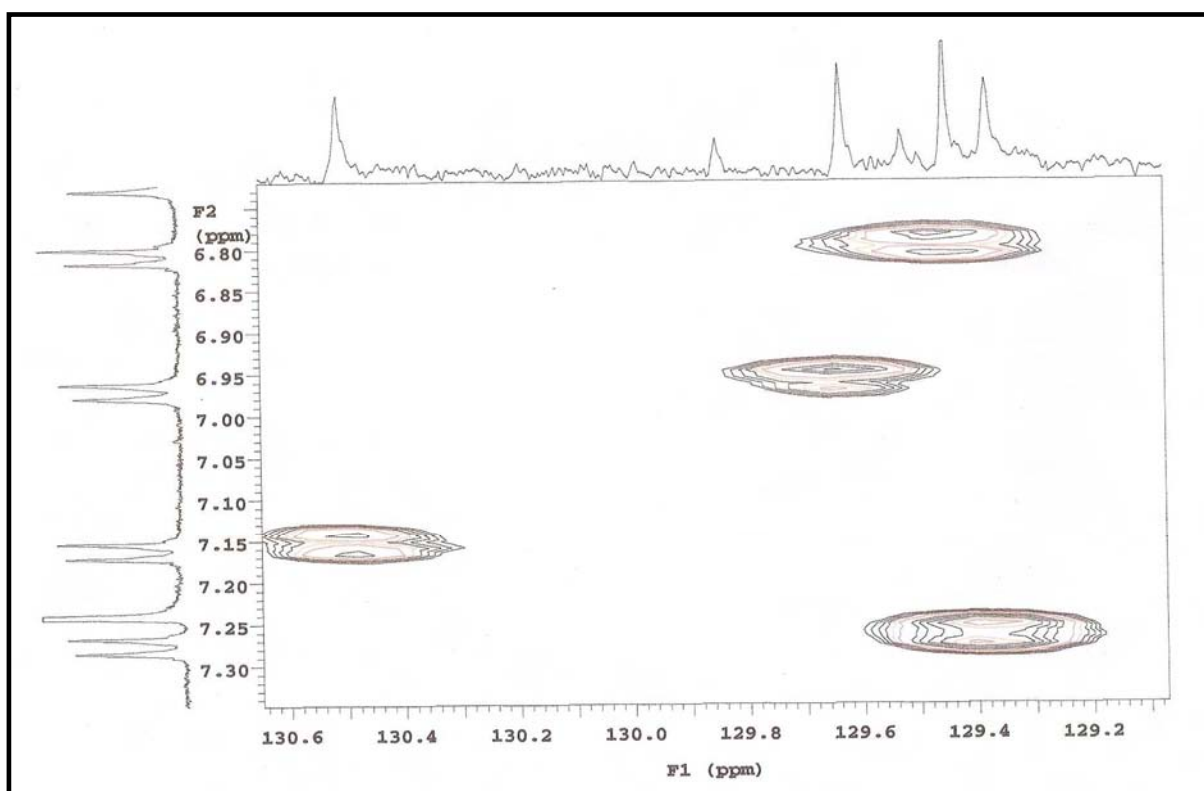


Figura 89. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de *Pl-4* ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500

e 125 MHz)

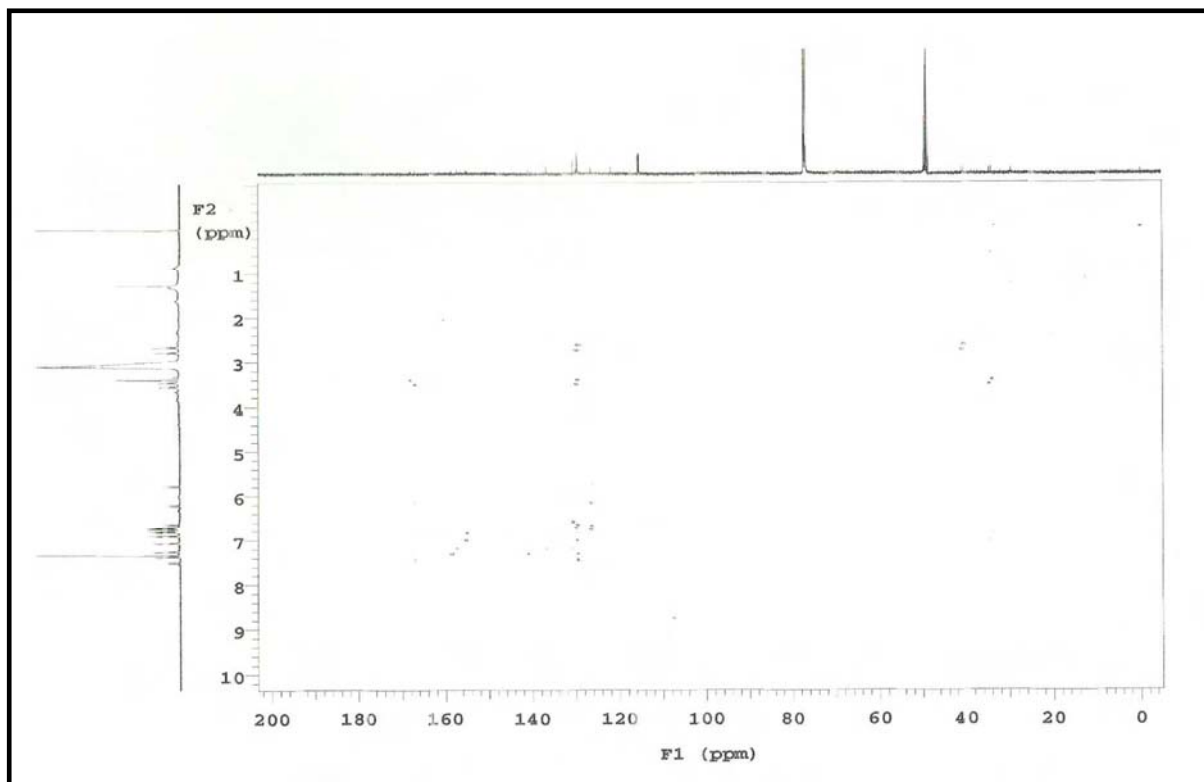


Figura 90. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 8,0 -5,0 x 125-170 ppm

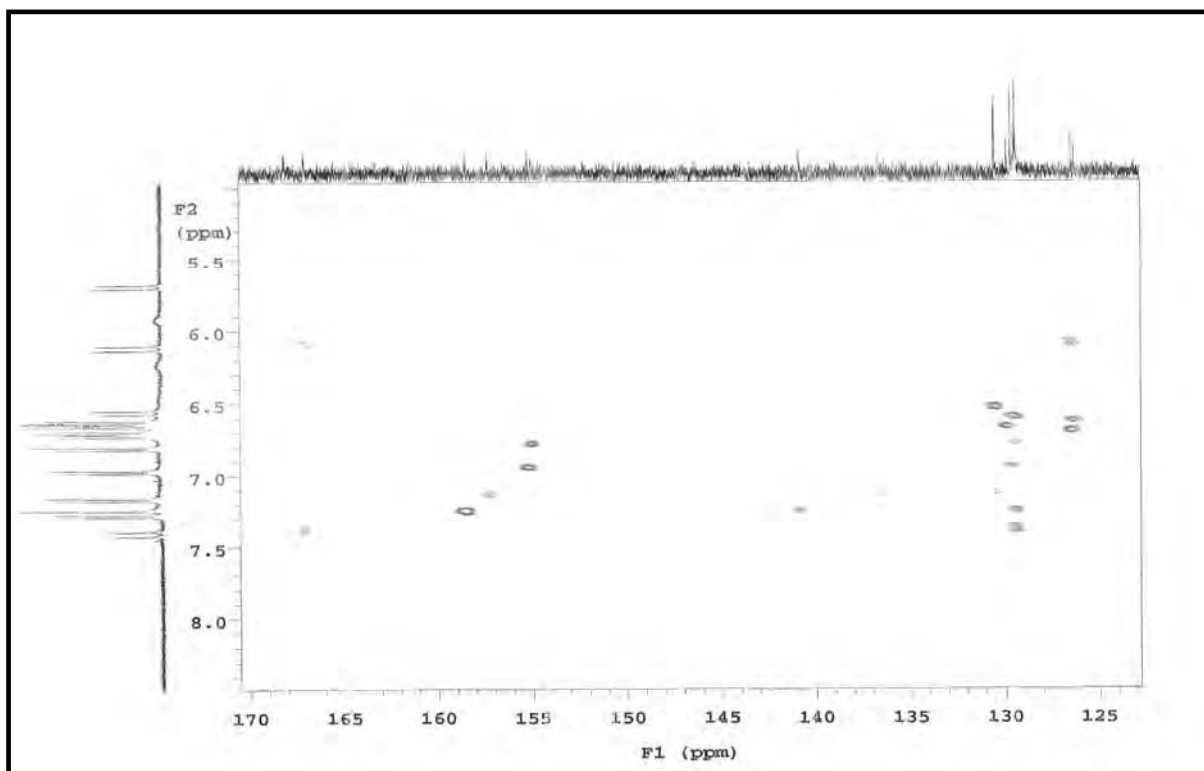


Figura 91. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 8,2-5,6 x 155-168 ppm

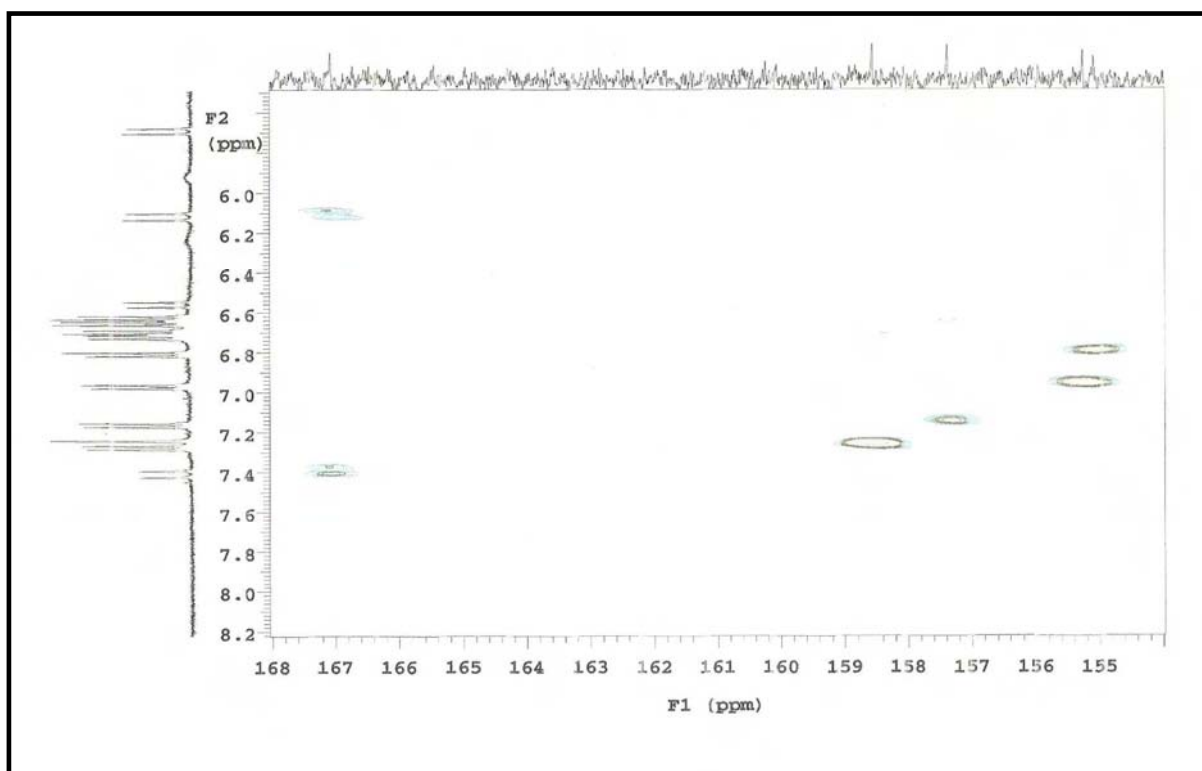


Figura 92. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 8,5-3,0 x 150-170 ppm

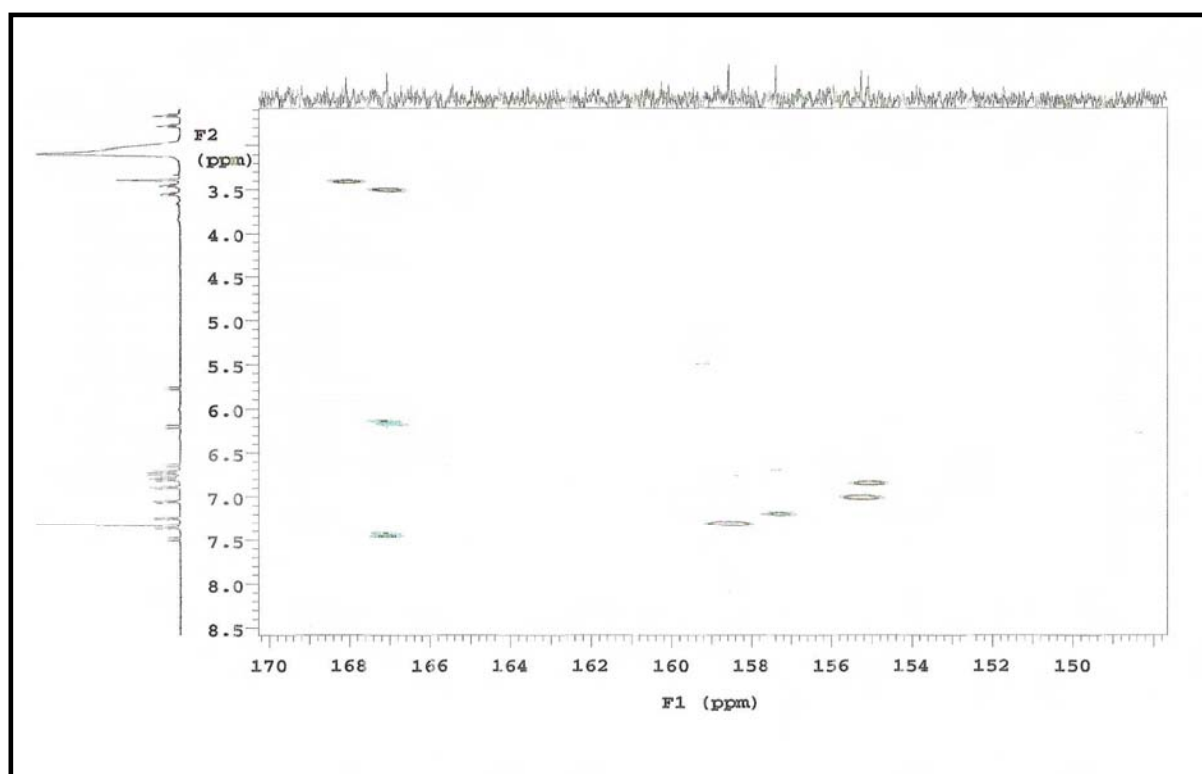


Figura 93. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 7,05-6,5 x 125-155 ppm

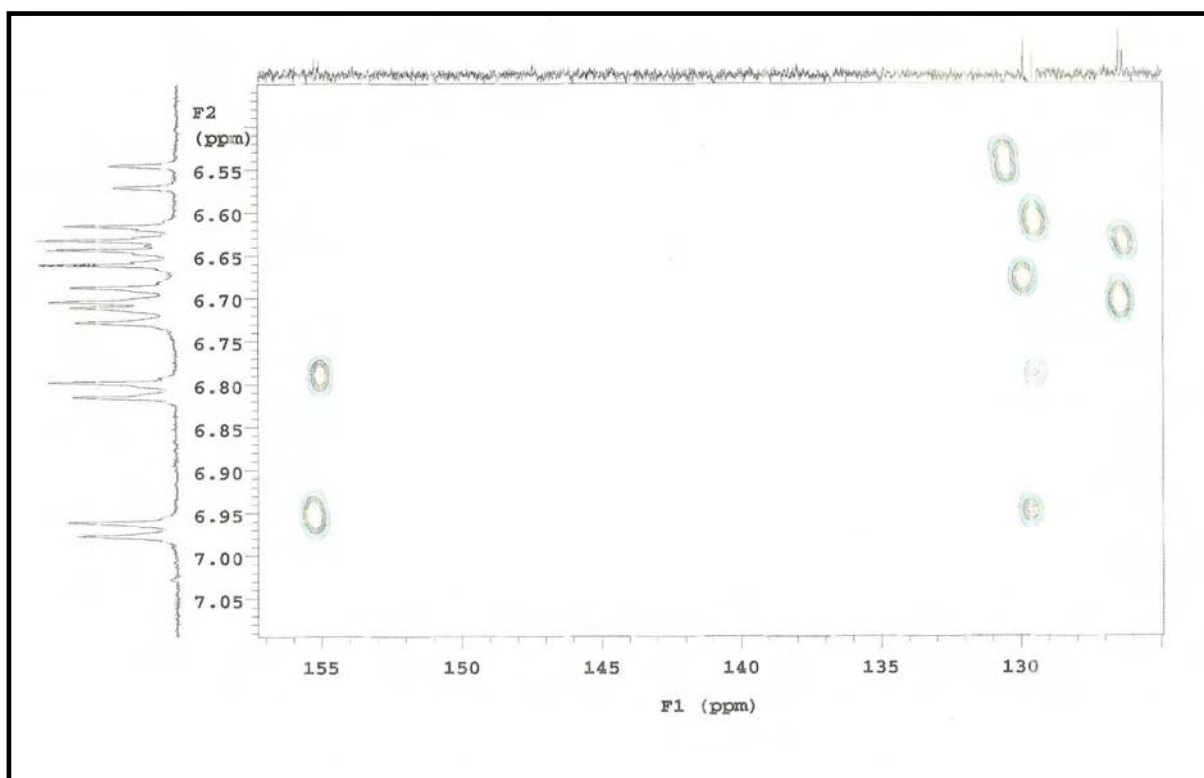


Figura 94. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 7,6-6,0 x 126-142 ppm

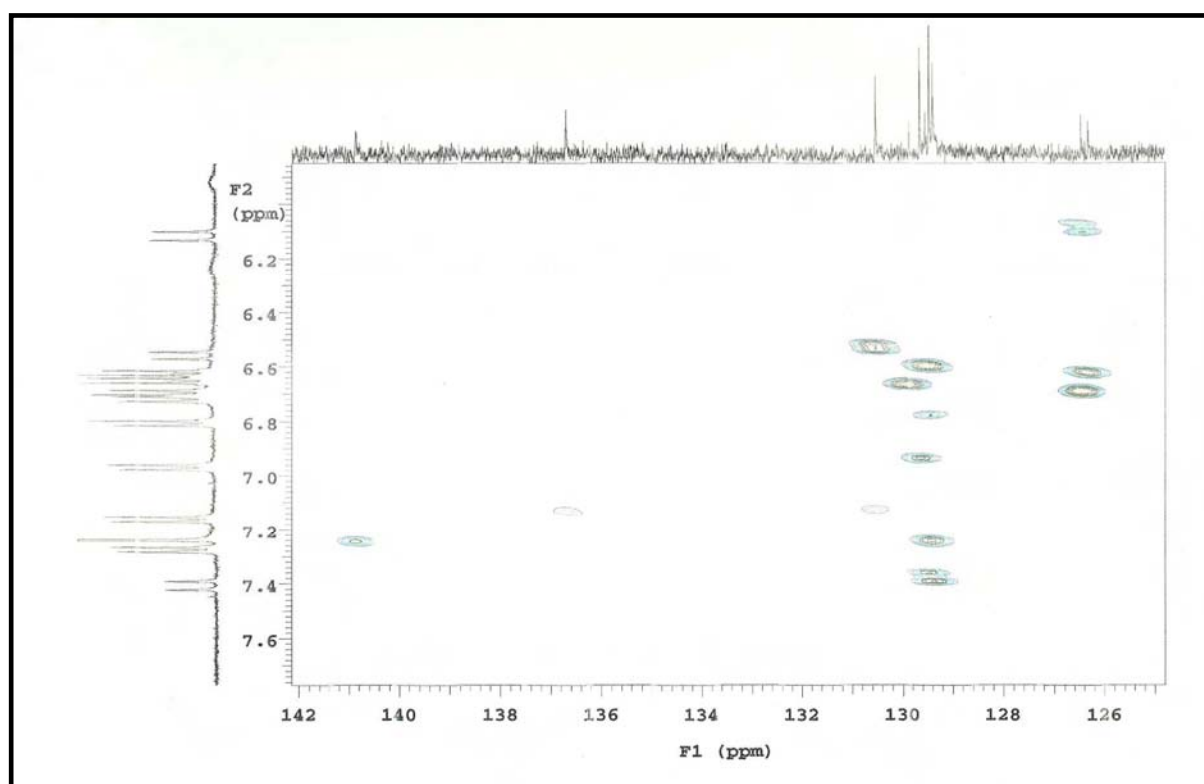


Figura 95. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 3,8-2,2 x 128,4-130,8 ppm

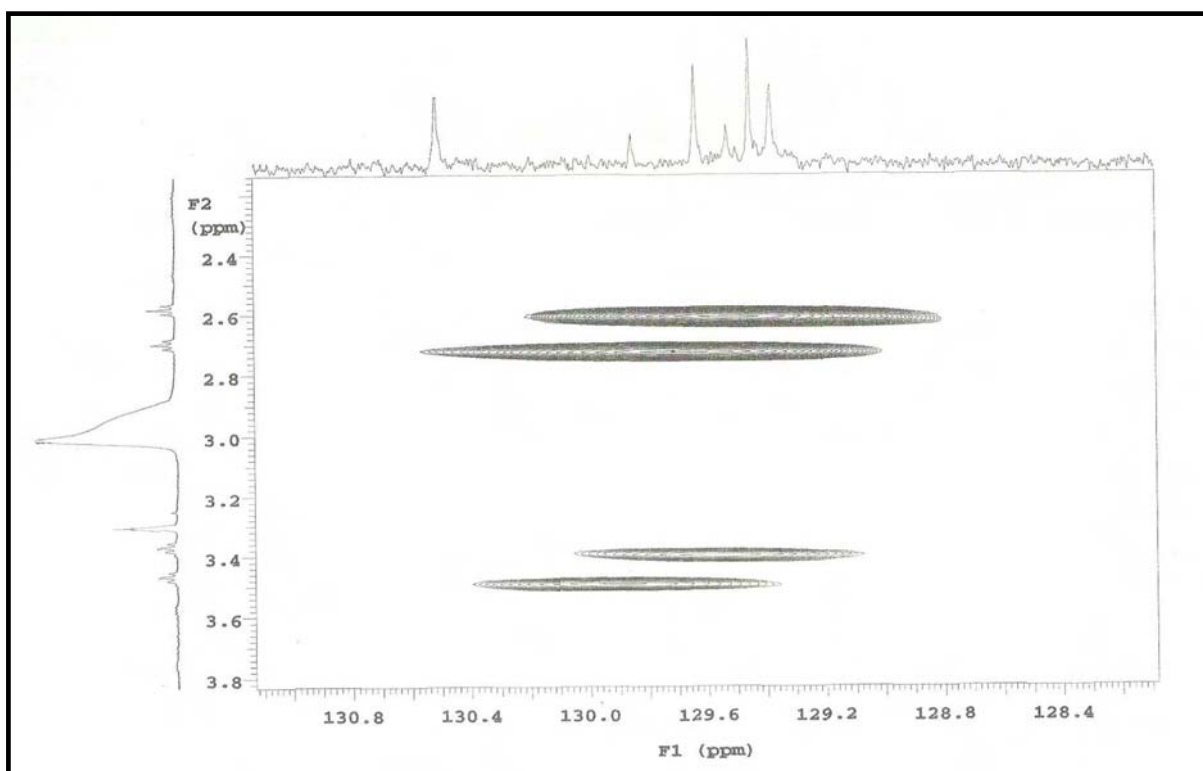


Figura 96. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 7,0-2,0 x 33-42 ppm

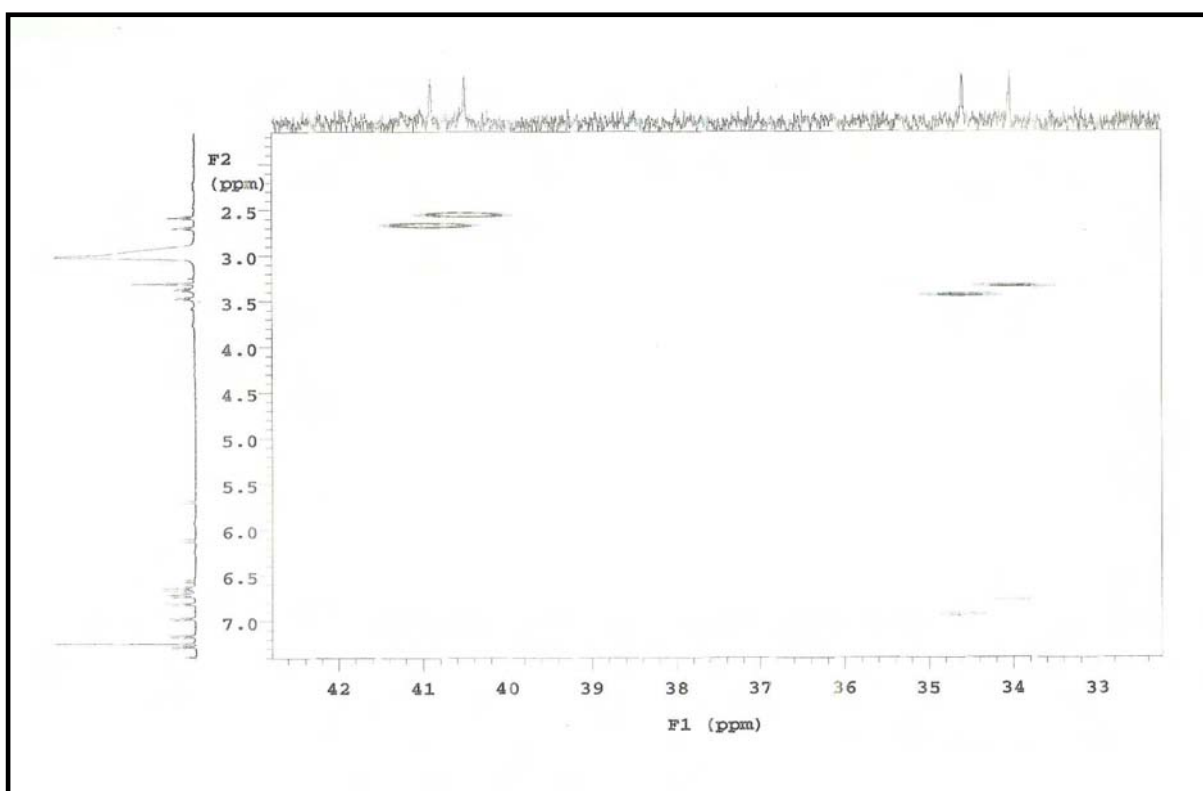


Figura 97. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 7,6-6,9 x 136-141 ppm

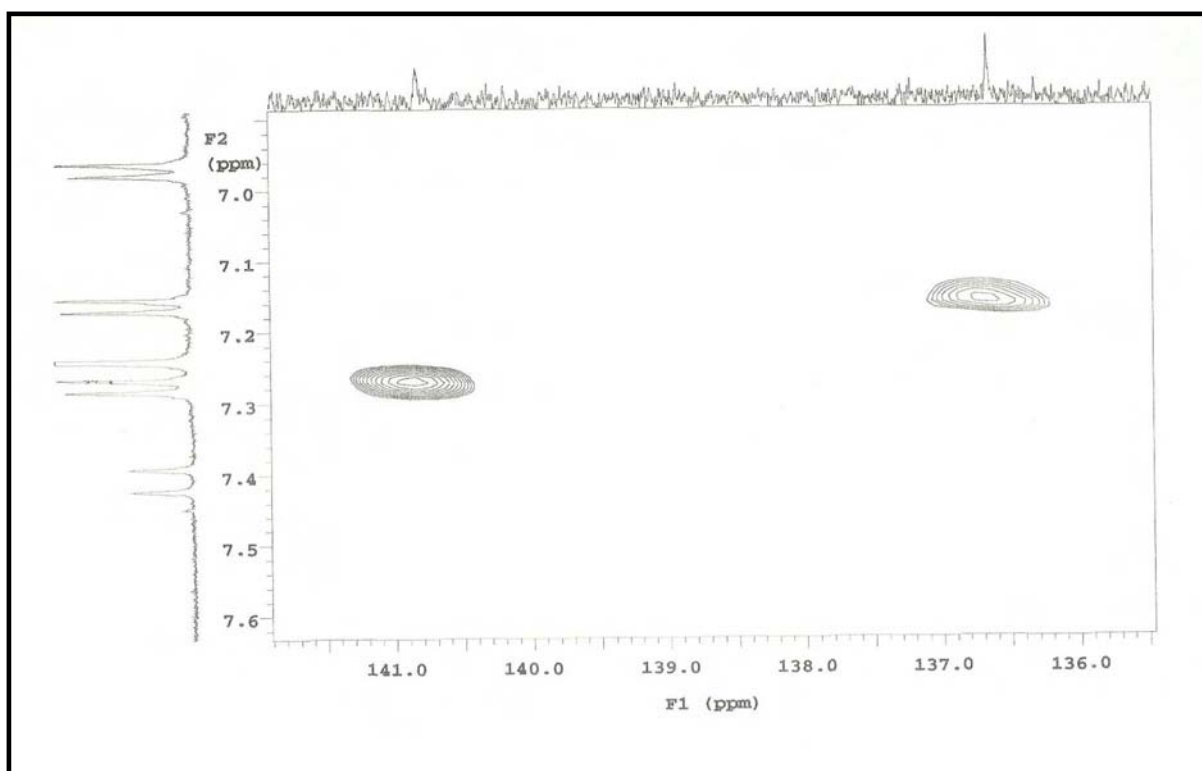


Figura 98. Expansão do espectro HMBC de *Pl-4* na região de 7,0-6,50 x 129,2-131 ppm

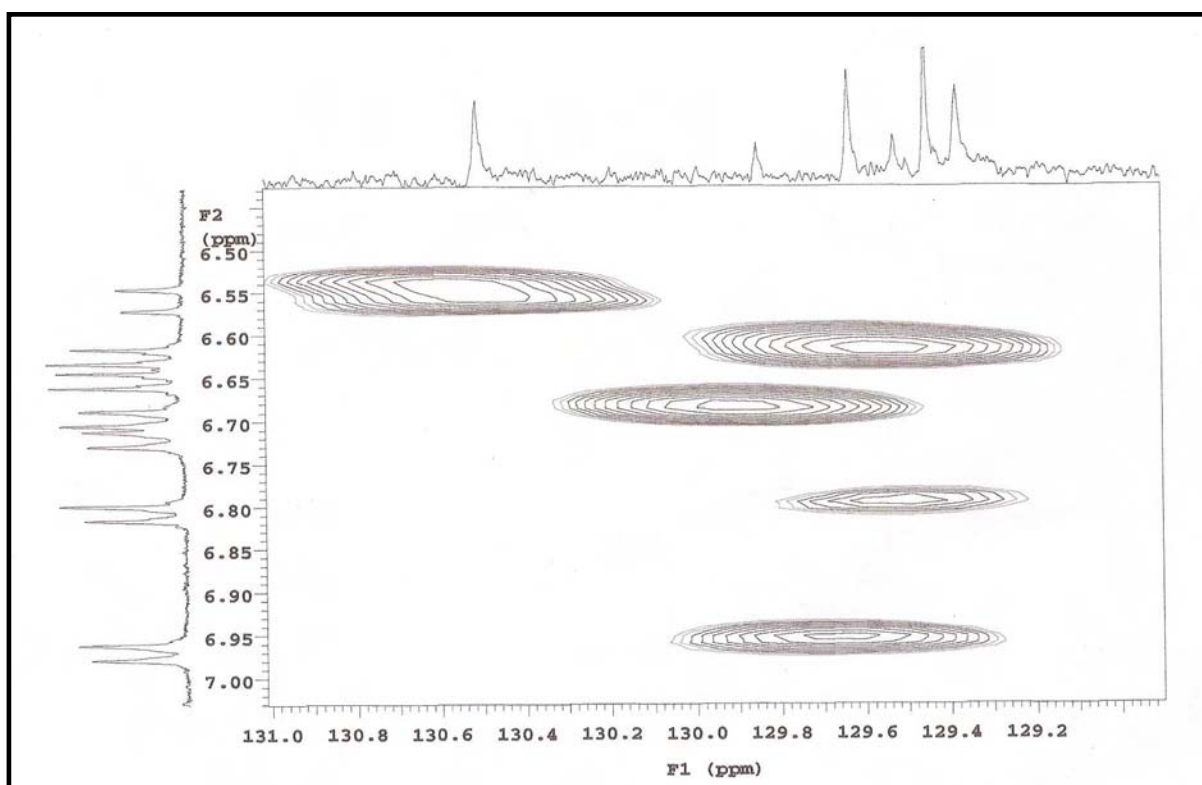


Figura 99. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de *Pl-4* ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 500 e 125 MHz)

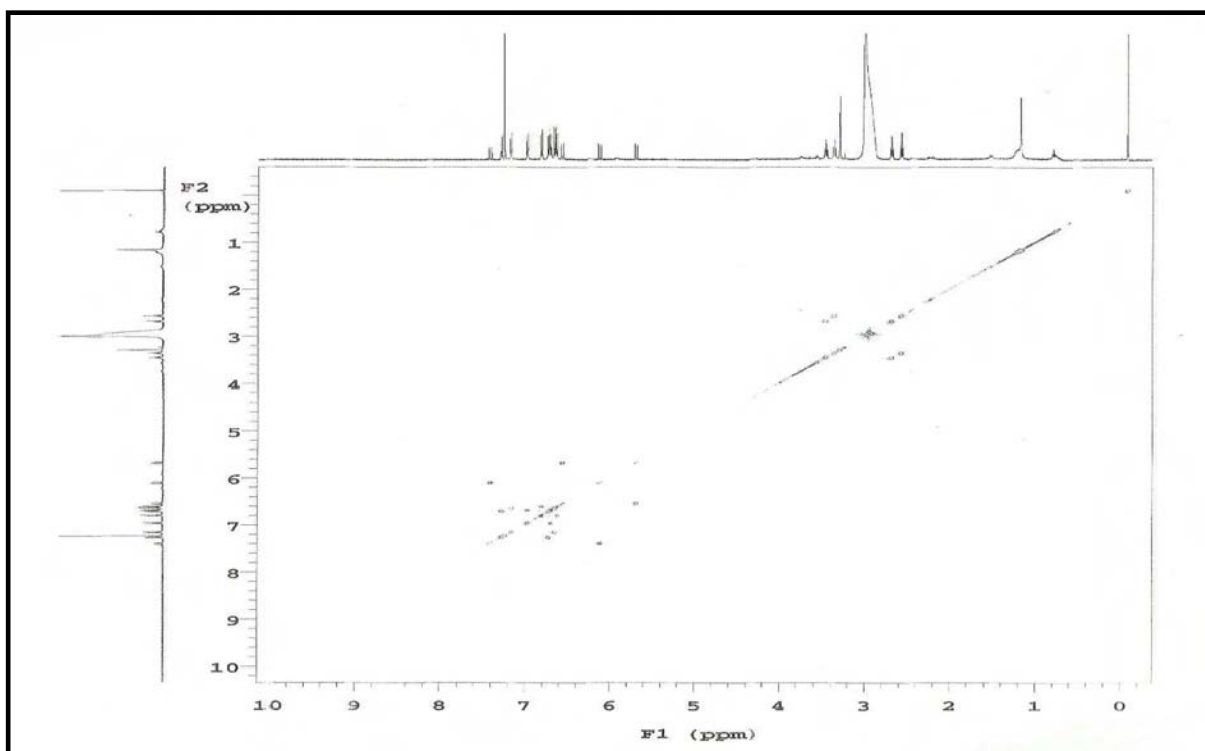


Figura 100. Expansão do espectro de COSY de *Pl-4* na região de 4,5 – 0,5 x 4,0 – 1,0 ppm

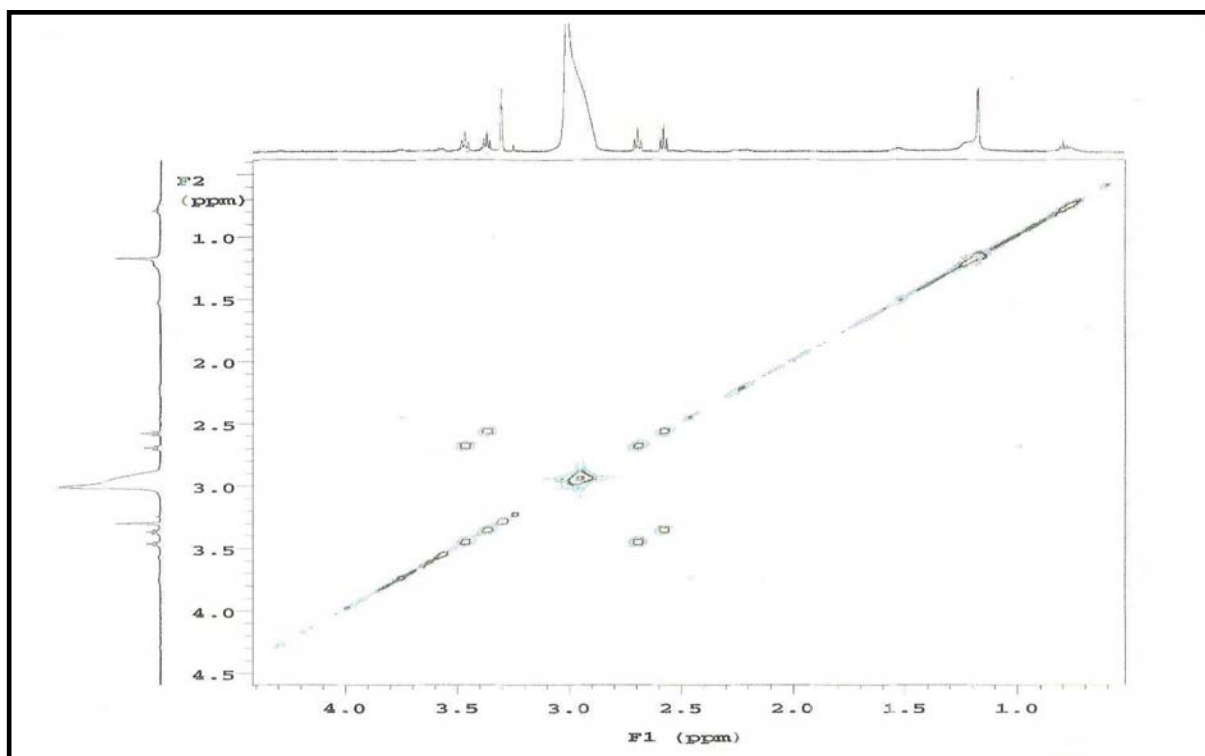


Figura 101. Expansão do espectro de COSY de *Pl-4* na região de 7,8 – 5,4 x 7,6 – 5,6 ppm

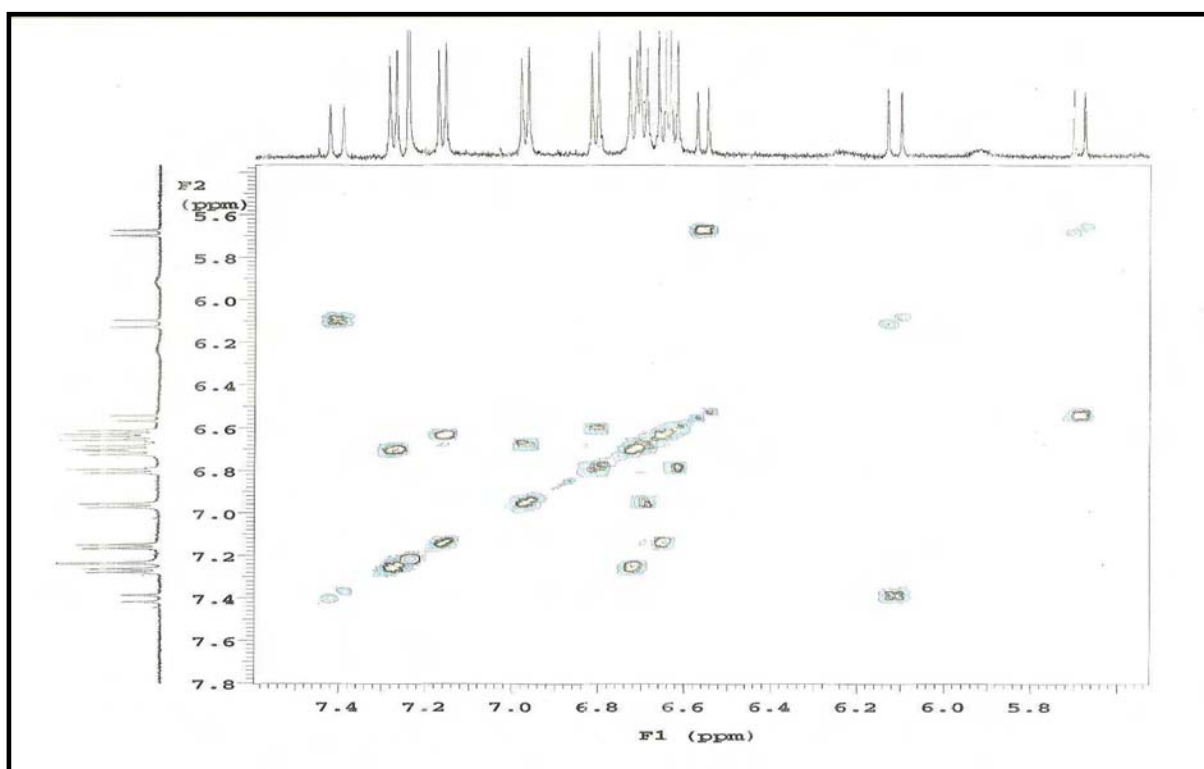


Figura 102. Expansão do espectro de COSY de *Pl-4* na região de 3,5 – 2,5 x 3,5 – 2,5 ppm

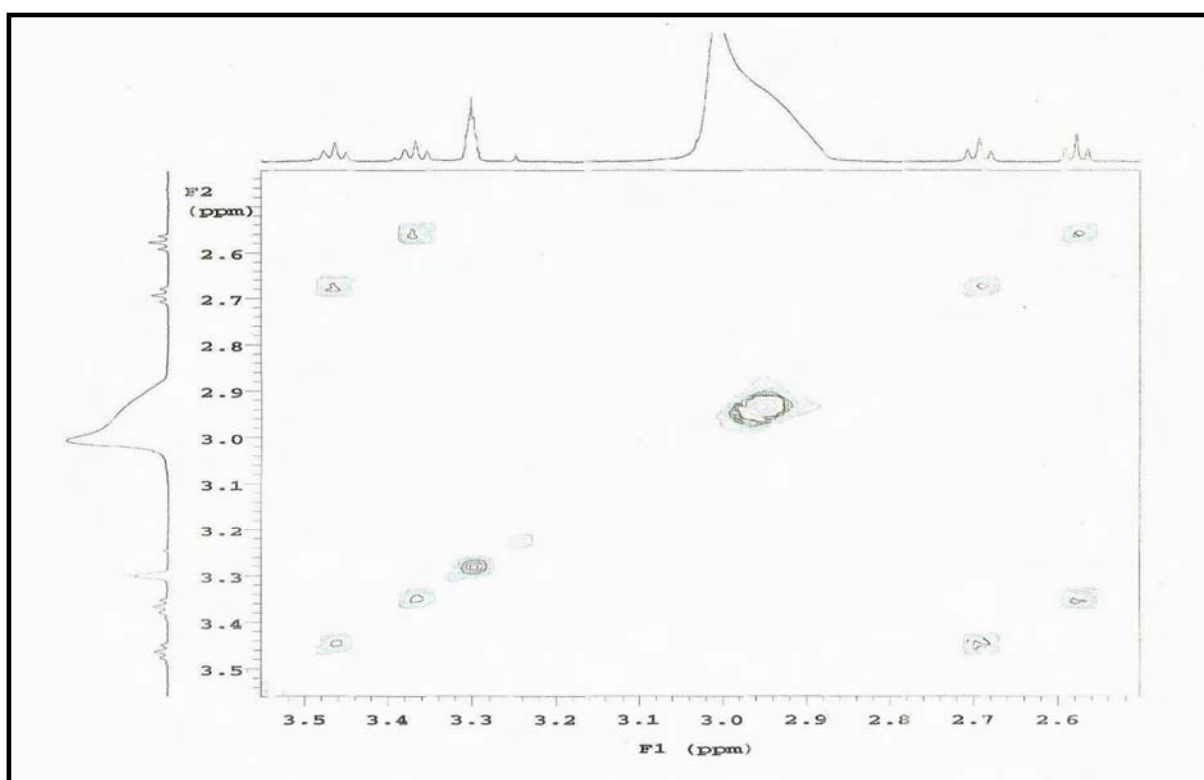
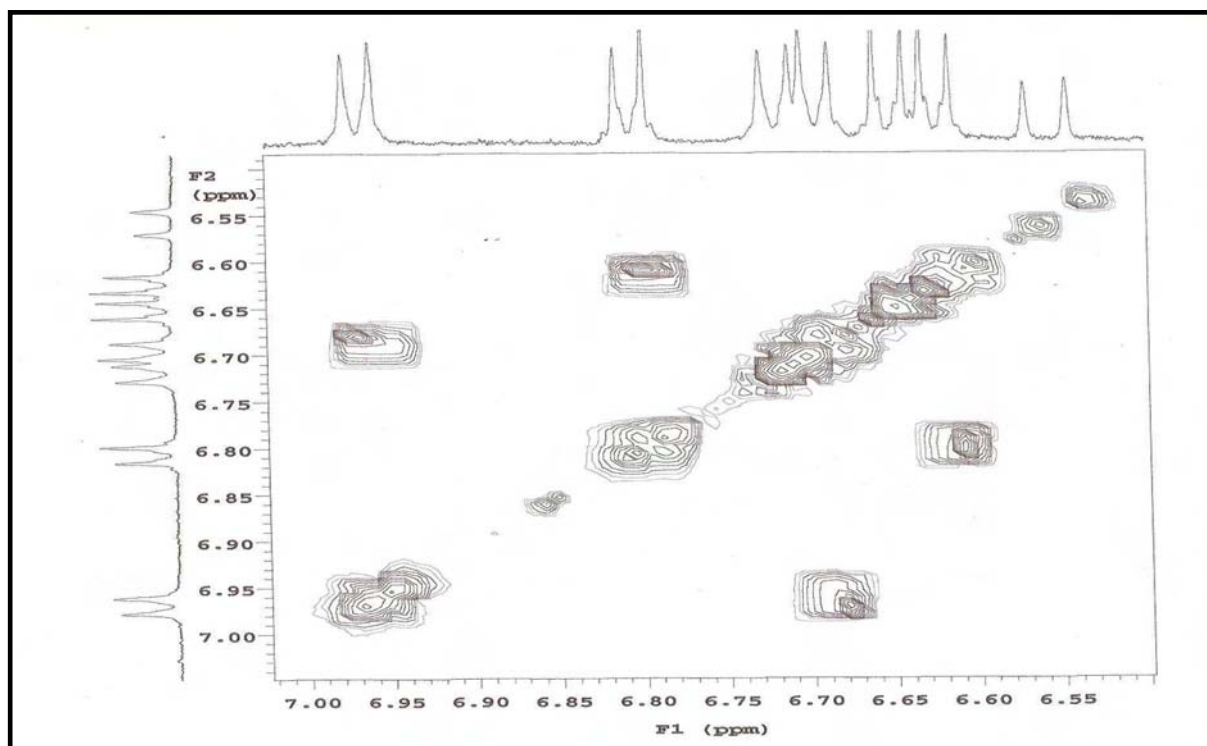


Figura 103. Expansão do espectro de COSY de *Pl-4* na região de 7,0 – 6,5 x 7,0 – 6,5 ppm



5.4.5. Determinação estrutural de *Pl-5*

A substância codificada como *Pl-5* apresentou-se na forma de agulhas esbranquiçadas, solúvel em CHCl_3 .

O espectro de RMN ^1H (Figuras 104 a 106, p. 161 e 162) de *Pl-5* mostrou absorções simples e múltiplas na região compreendida entre δ_{H} 0,65 e δ_{H} 1,50 ppm que são características de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos presentes em estruturas como triterpenos e esteróides. Através do multipeto em δ_{H} 3,53 pôde-se inferir a presença de um hidrogênio oximetínico na posição 3 de núcleo esteroidal (KOJIMA, 1990). O espectro revelou ainda um dupeto em δ_{H} 5,33 característico de hidrogênio olefínico na posição 6 de fitoesteróides (AHMED; AHMAD; MALIK, 1992). As referidas observações possibilitaram sugerir que *Pl-5* possui núcleo esteroidal.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Figuras 107 a 110, p. 162 a 164) demonstrou a presença de metilas esteroidais ou triterpênicas devido ao conjunto de absorções entre δ_{C} 11,80 e δ_{C} 21,18, características destes grupos, reforçando, portanto, a proposta de núcleo esteroidal, dada pelo espectro de RMN ^1H . O número de absorções presentes no espectro de RMN ^{13}C , intensidades e seus respectivos deslocamentos químicos (Tabela 17, p. 159) permitiram propor que *Pl-5* é composta por duas substâncias codificadas como *Pl-5a* e *Pl-5b*.

Os sinais para carbono sp^2 metínico em δ_C 121,65 (2C) e carbono não-hidrogenado em δ_C 140,66 (2C), condizentes com a ligação dupla nas posições 5 e 6 tanto para o β -sitosterol como para o estigmasterol, juntamente com as absorções em δ_C 129,17 e δ 138,25 pertinentes aos carbonos olefínicos (C-22 e C-23) do estigmasterol (KOJIMA, 1990) fortaleceram a proposta de que *Pl-5* trata-se de uma mistura de esteróides.

Os dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de *Pl-5a* e *Pl-5b*, juntamente com comparações realizadas com modelo da literatura (KOJIMA, 1990) (Tabela 18, p. 160) tornaram exeqüível identificar as substâncias como sendo o β -sitosterol (*Pl-5a*, 55%) e o estigmasterol (*Pl-5b*, 45%), cujas presenças são observadas em várias espécies vegetais sendo, no entanto, descritas pela primeira vez em *Piper lateripilosum*.

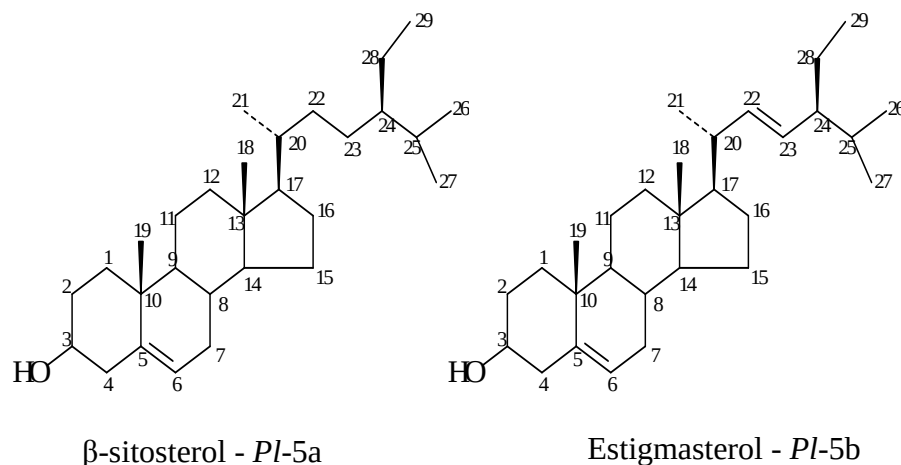


Tabela 17. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância *Pl-5a/P5-b* ($CDCl_3$, 200 e 50 MHz)

	<i>Pl-5a</i>		<i>Pl-5b</i>	
C	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
5	140,66	-	140,66	-
10	36,43	-	36,43	-
13	42,21	-	42,21	-
CH				
3	71,74	3,53(m)	71,74	3,53(m)
6	121,65	5,33(d)	121,65	5,33(d)
8	31,81	-	31,81	-
9	50,05	-	50,05	-
14	56,68	-	56,78	-
17	55,95	-	55,86	-
20	36,07	-	40,43	-
22	-	-	138,25	-
23	-	-	129,17	-
24	45,74	-	51,16	-
25	29,05	-	31,82	-
CH₂				
1	37,17	-	37,17	-
2	31,57	-	31,57	-
4	42,13	-	42,13	-
7	31,85	-	31,85	-
11	21,00	-	21,00	-
12	39,68	-	39,57	-
15	24,23	-	24,29	-
16	28,17	-	28,85	-
22	33,96	-	-	-
23	25,95	-	-	-
28	22,97	-	25,34	-
CH₃				
18	11,78	0,67(s)	11,90	0,67(s)
19	19,33	0,98(s)	19,33	0,98 (s)
21	18,70	-	21,14	-
26	19,75	0,90(d)	21,04	0,90(d)
27	18,90	0,81(d)	18,90	0,81(d)
29	11,97	0,88(t)	12,19	0,88(t)

Tabela 18. Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância *Pl-5a/Pl-5b* (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com modelos Mo-1 e Mo-2 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990)

	<i>Pl-5a</i>	Mo-1	<i>Pl-5b</i>	Mo-2
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
5	140,66	140,70	140,66	140,70
10	36,43	36,50	36,43	36,50
13	42,21	42,30	42,21	42,30
CH				
3	71,74	71,80	71,74	71,80
6	121,65	121,70	121,65	121,70
8	31,81	31,90	31,81	31,90
9	50,05	50,10	50,05	50,10
14	56,68	56,80	56,78	56,80
17	55,95	56,00	55,86	55,90
20	36,07	36,10	40,43	40,50
22	-	-	138,25	138,30
23	-	-	129,17	129,20
24	45,74	45,80	51,16	51,20
25	29,05	29,10	31,82	*
CH₂				
1	37,17	37,20	37,17	37,20
2	31,57	31,60	31,57	31,60
4	42,13	42,30	42,13	42,30
7	31,85	31,90	31,85	31,90
11	21,00	21,10	21,00	21,10
12	39,68	39,80	39,57	39,70
15	24,23	24,30	24,29	24,40
16	28,17	28,20	28,85	28,90
22	33,96	33,90	-	-
23	25,95	26,00	-	-
28	22,97	23,00	25,34	*
CH₃				
18	11,78	11,90	11,90	12,00
19	19,33	19,40	19,33	19,40
21	18,70	18,80	21,14	21,20
26	19,75	19,80	21,04	*
27	18,90	19,00	18,90	*
29	11,97	12,00	12,19	*

Figura 104. Espectro de RMN ^1H de *Pl-5* (CDCl_3 – 200 MHz)

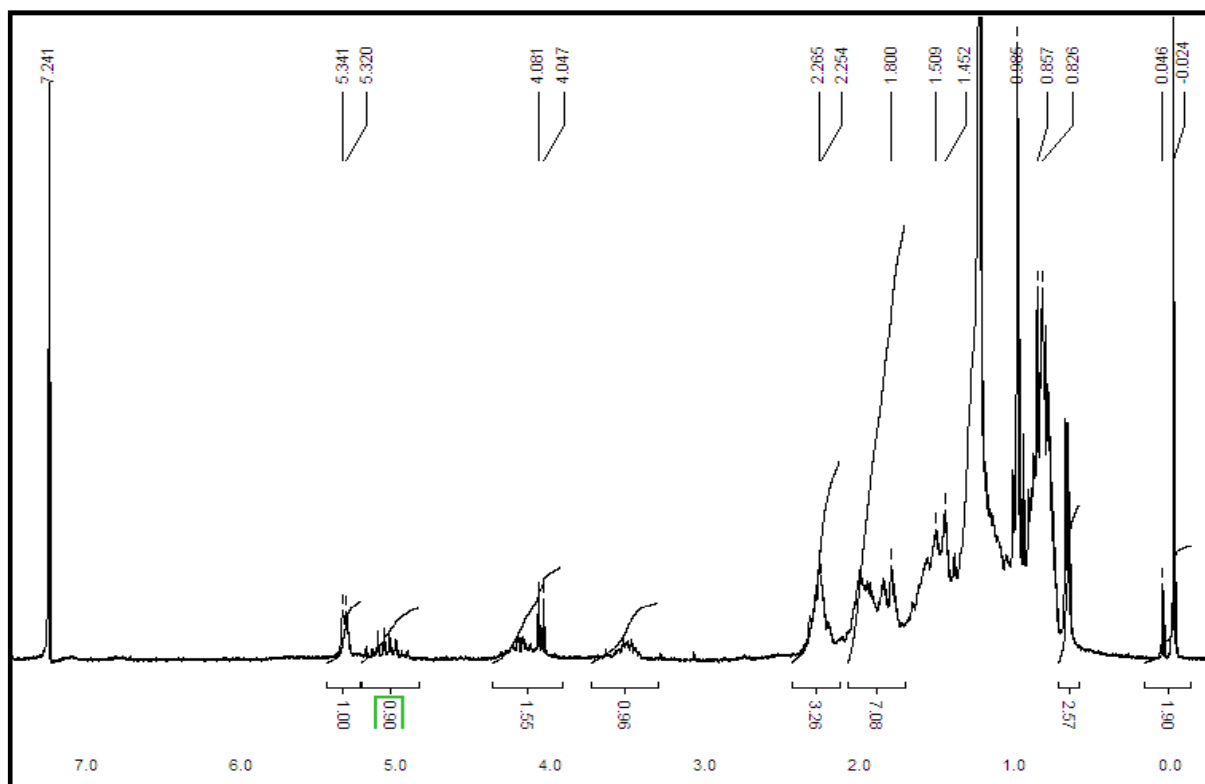


Figura 105. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pl-5*, na região de 3,4 a 5,3 ppm

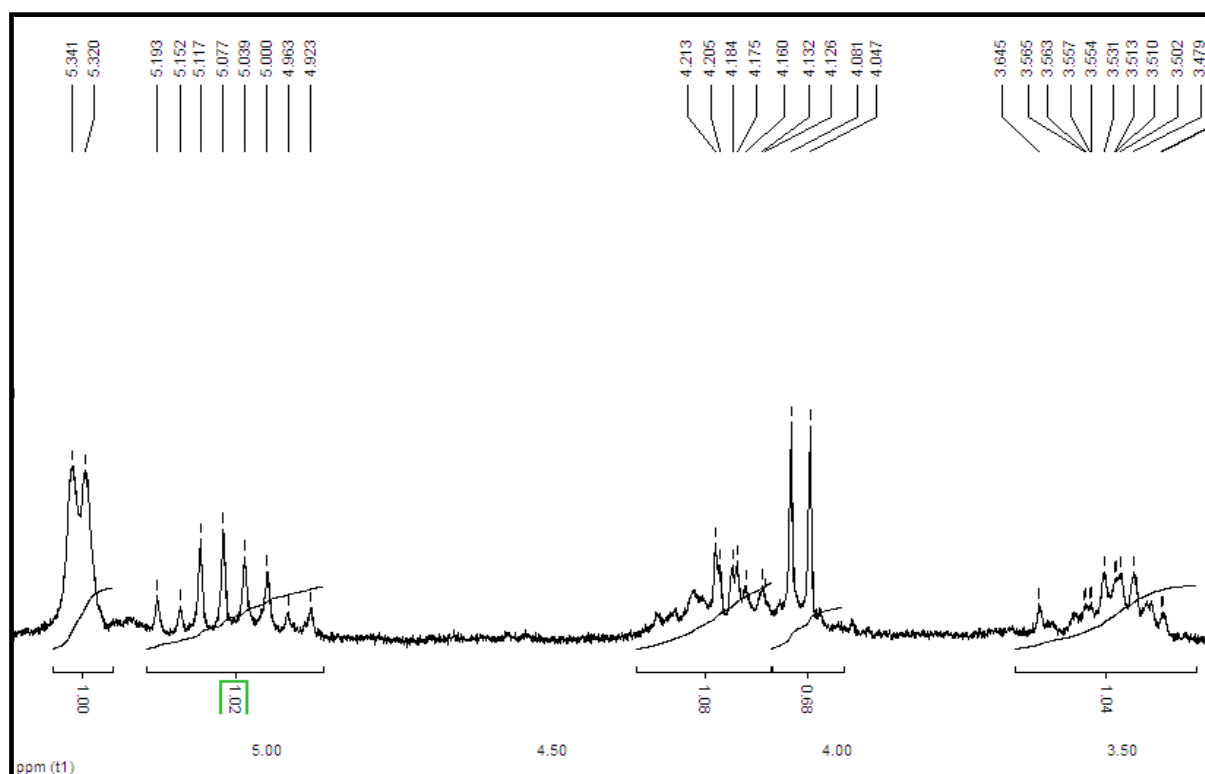


Figura 106. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pl-5*, na região de 0,0 a 2,2 ppm

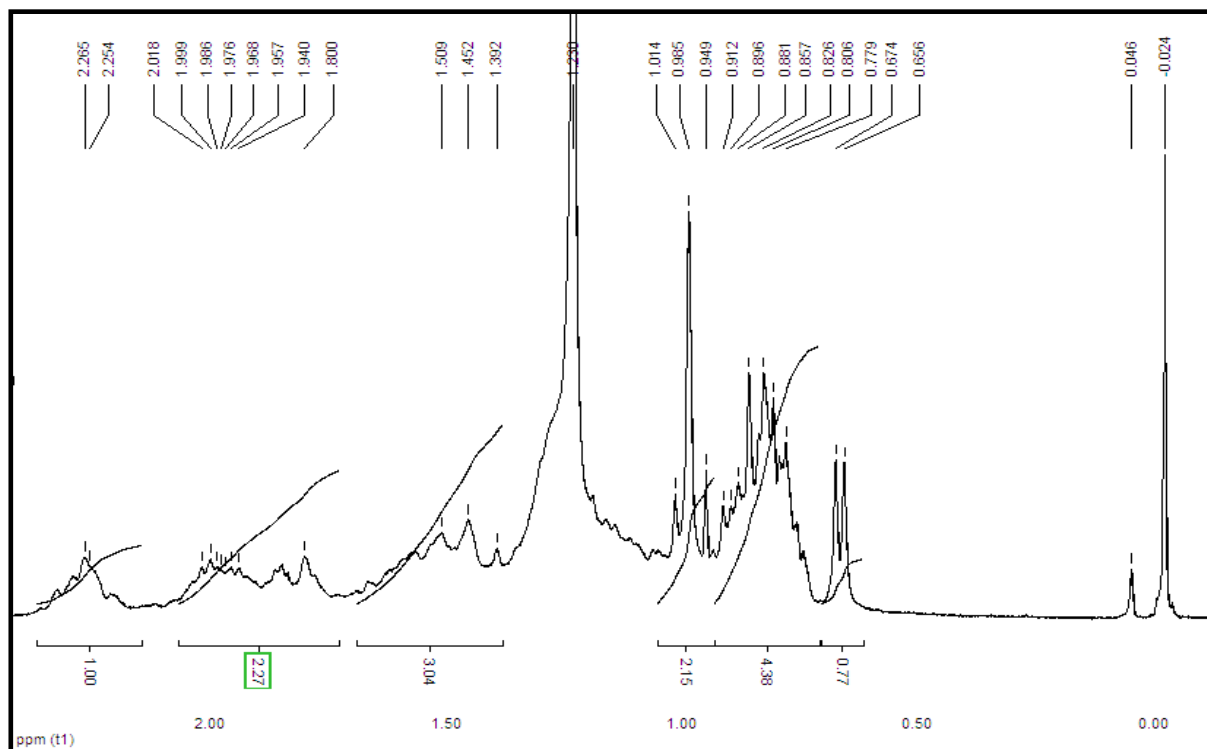


Figura 107. Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pl-5* (CDCl_3 – 50 MHz)

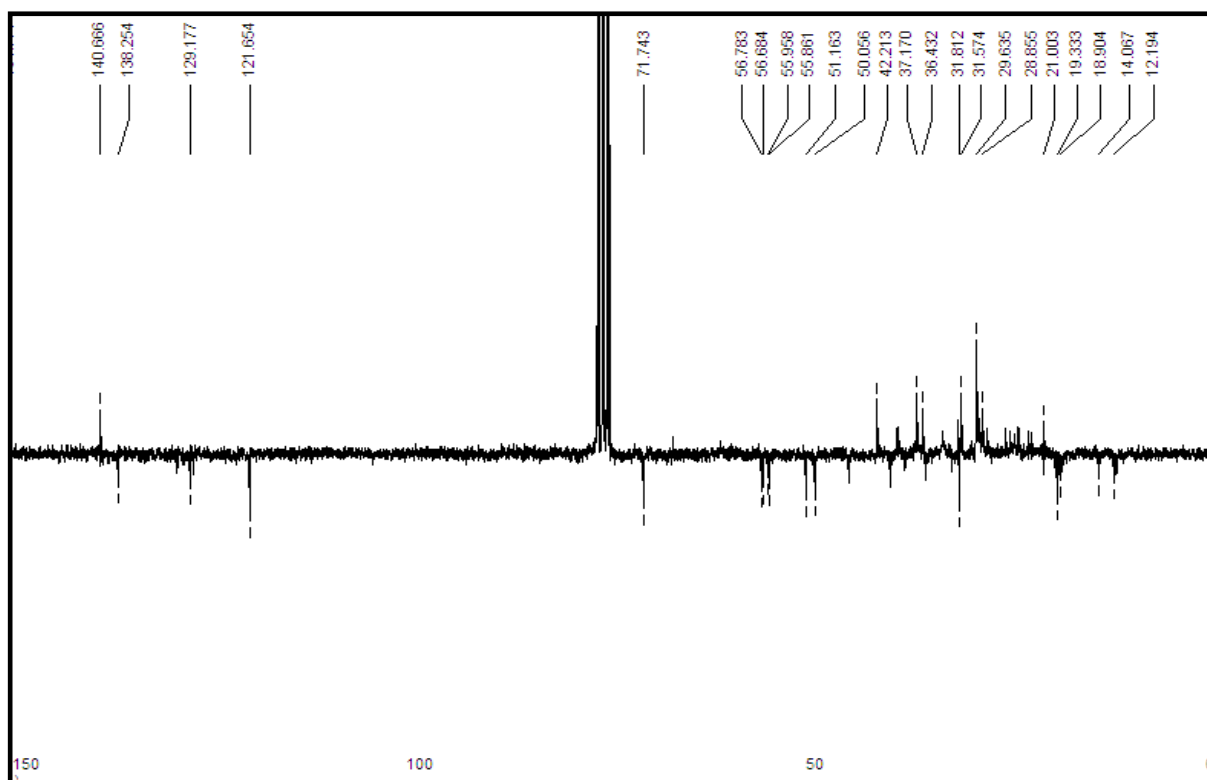


Figura 108. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pl*-5 na região de 120,0 a 150,0 ppm

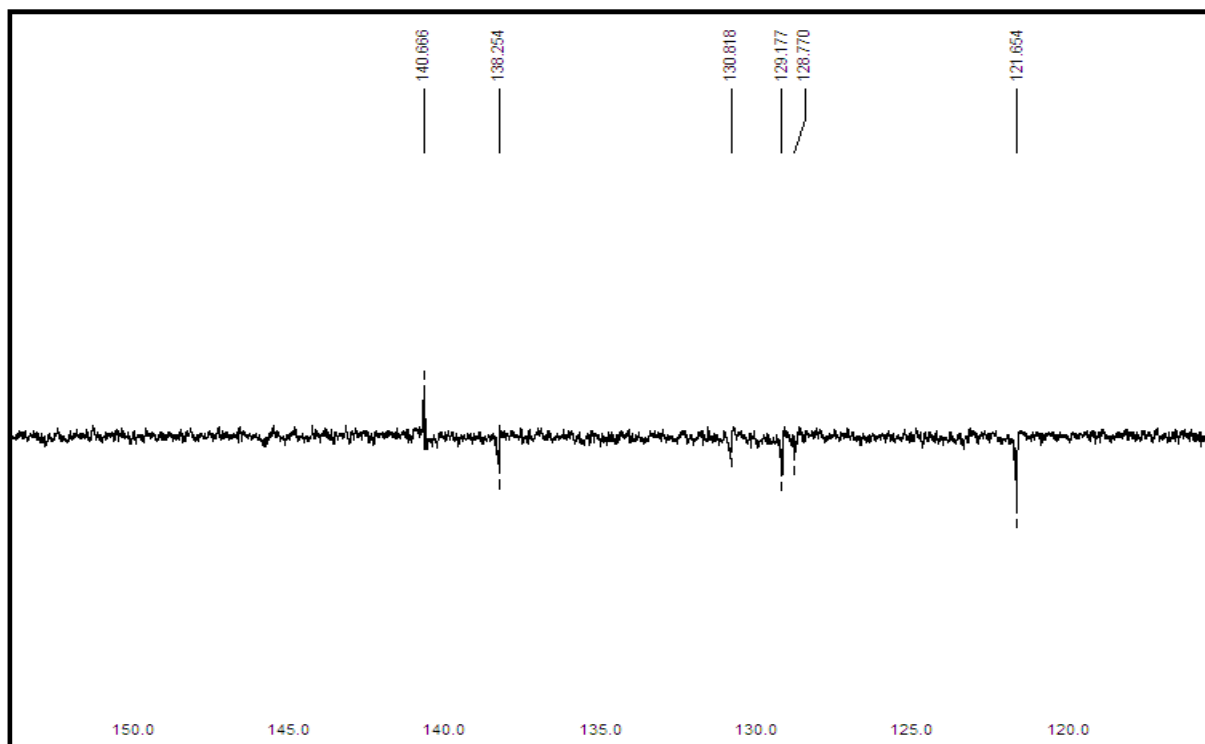


Figura 109. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pl*-5 na região de 75,0 a 45,0 ppm

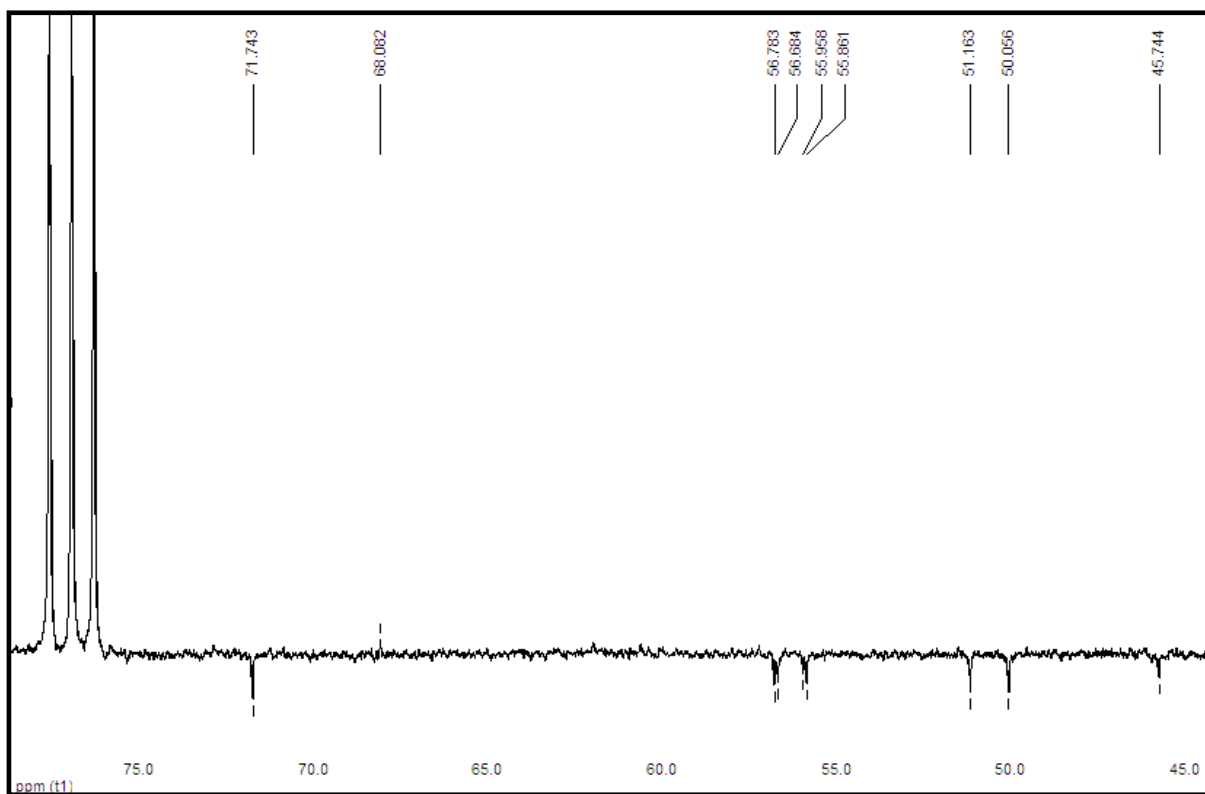
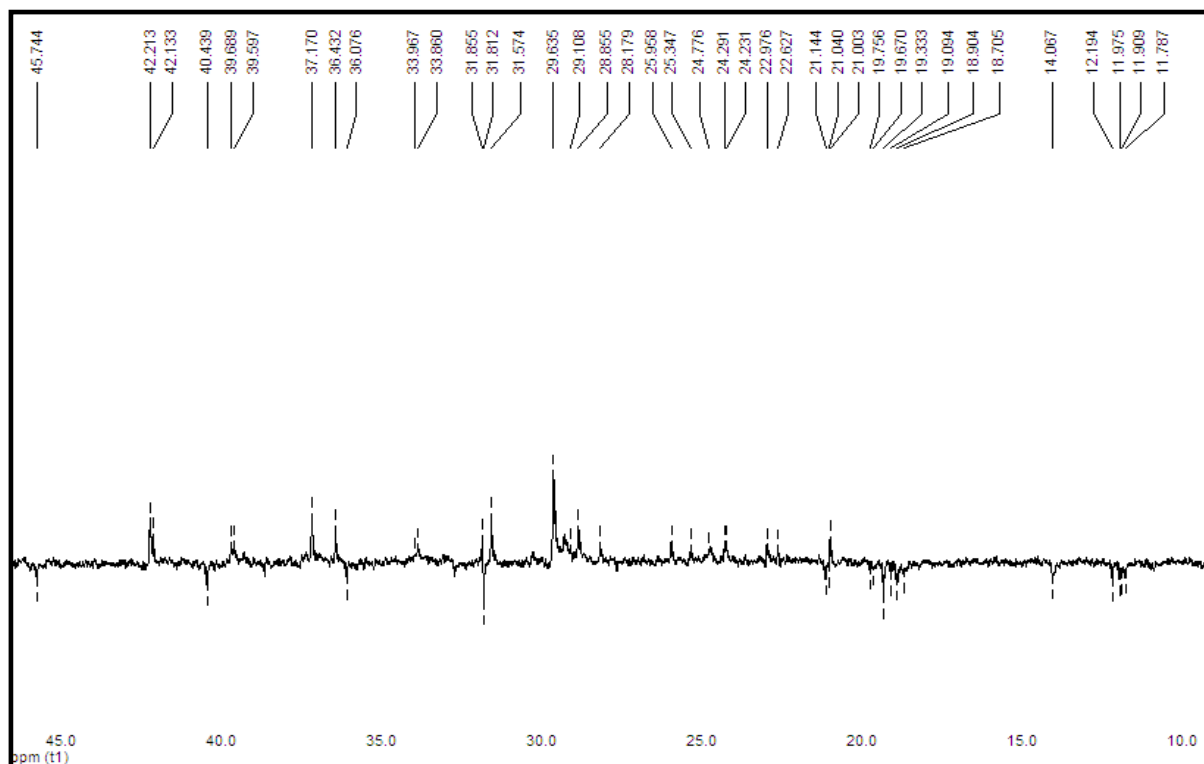


Figura 110. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pl*-5 na região de 45,0 a 10,0 ppm

5.5. Estudo Biológico desenvolvido com *Piper lateripilosum*

O extrato metanólico bruto de *Piper lateripilosum* e suas fases clorofórmica e acetato de etila foram disponibilizados para equipe do professor Fábio Correia Sampaio do Laboratório de Biologia Bucal, Departamento de Odontologia Clínica e Social da Universidade Federal da Paraíba, para avaliação da atividade antimicrobiana contra microorganismos cariogênicos da cavidade bucal e contra patógenos comuns.

5.5.1. Microorganismos

Streptococcus mutans (UA159) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557) foram utilizados nos ensaios microbiológicos com o extrato metanólico bruto. Para as fases clorofórmica e acetato de etila utilizou-se os seguintes microorganismos: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Lactobacillus casei* (INCQS 00006), *Streptococcus mutans* (UA159) e *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073). As cepas bacterianas foram cultivadas em caldo BHI (Heart Infusion Broth) (Difco, MI, USA) e incubadas sob condições de microaerofilia a 35° C.

5.5.2. Método de Microdiluição

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato metanólico bruto e de suas fases clorofórmica e acetato de etila foram determinadas através de ensaios de microdiluição em caldo com resazurina (indicador), utilizando microplacas (COSTAR 3590, USA) (ANDREWS, 2001). O extrato bruto foi dissolvido em DMSO (1 mg/mL) e, em seguida, diluído em caldo BHI, com concentrações variando de 400 a 10 mg/mL. DMSO-BHI e o extrato-BHI foram utilizados como controle negativo, enquanto que o digluconato de clorexidina (0,12%) foi utilizado como controle positivo. Os inóculos foram ajustados para cada microorganismo, de maneira a obter uma concentração celular de 10^8 UFC / mL. Um volume final de 100 μ L foi atingido em cada poço.

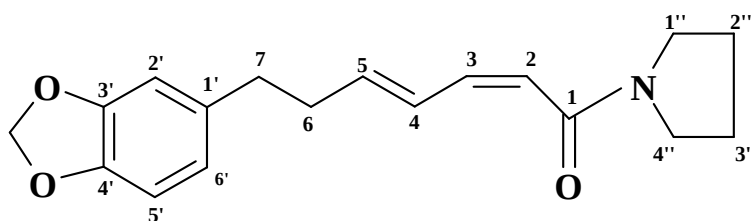
5.5.3. Determinação da atividade antibacteriana

Após 24 h de incubação, um volume de 30 μ L de uma solução aquosa homogênea de resazurina (0,01%) foi adicionado a cada poço para indicar viabilidade bacteriana. A CIM foi identificada como a menor concentração na qual não houve crescimento bacteriano visível, indicado pela coloração originalmente azul da resazurina.

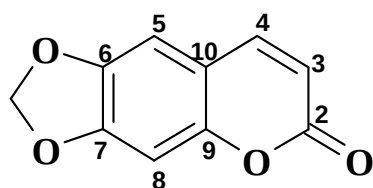
As CIM para o extrato metanólico bruto de *Piper lateripilosum* sobre *S. mutans* e *S. oralis* foram de 75,0 e 66,0 μ g/mL, respectivamente. Os valores para as fases clorofórmica e acetato de etila sobre a *E. coli*, *L. casei*, *Streptococcus mutans* e *S. salivarius* foram 200,0; 91,5; 150,0 e 150,0 μ g/mL, respectivamente. Para todos estes microorganismos os valores de clorexidina foram <10,0 μ g/mL. Apesar da atividade antimicrobiana do extrato metanólico bruto de *Piper lateripilosum* ter sido menor que a da clorexidina, esse extrato demonstrou ser uma fonte potencial de princípios ativos antimicrobianos para o biofilme dental cariogênico. Considerando um CIM de até 100 μ g/mL como significativo para extratos brutos, tem-se que o extrato de *Piper lateripilosum* é particularmente ativo em biofilmes sacarolíticos ricos em Lactobacilos, podendo ser ativo em biofilmes bucais já estabelecidos, em indivíduos freqüentemente expostos a uma dieta cariogênica.

Capítulo 2: Estudo de Piper mollicomum

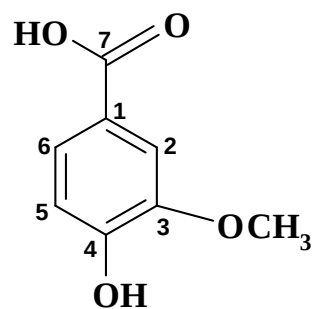
Quadro 5. Constituintes químicos isolados no estudo de *Piper mollicomum*



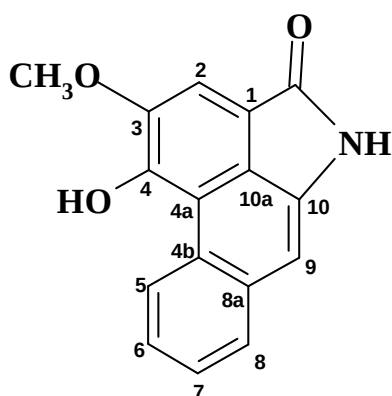
P. moll-1



P. moll-2



P. moll-3



P. moll-4

6.0. ESTUDO DE *Piper mollicomum* Kunth

6.1. Considerações sobre a espécie *Piper mollicomum*

Piper mollicomum pertence à família Piperaceae e distribui-se no Brasil na região Amazônica e mata Atlântica (LAGO *et.al.*, 2007), sendo sua tintura utilizada na medicina popular no tratamento de doenças hepáticas e contra indigestão (DUARTE *et.al.*, 2007).

Do ponto de vista biológico diversos estudos que avaliam o potencial farmacológico desta espécie têm sido evidenciados, dentre estes encontram-se: estudo da atividade antimicrobiana de extratos das partes aéreas de *Piper mollicomum* (BARBOSA *et.al.*, 1999); efeito analgésico periférico (D. JUNIOR *et.al.*, 2002); atividade larvicida no controle da transmissão da dengue (GONCHE *et.al.*, 2005); estudo do potencial antifúngico de duas cromonas e uma chalcona (LAGO *et.al.*, 2007) e o estudo da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Piper mollicomum* contra *Escherichia coli* (DUARTE *et.al.*, 2007).

Fitoquimicamente, poucos estudos com esta espécie foram relatados, observando-se trabalhos relacionados à análise da composição do óleo essencial desta espécie (SANTOS *et.al.*, 2001) e o isolamento de flavonóides (VELOSO *et.al.*, 2004).

6.2. Coleta do material botânico

As partes aéreas de *Piper mollicomum* (Figura 111, p. 169) foram coletadas no horto florestal da Universidade Federal da Paraíba, Campus de Areia, Paraíba, em 18 de março de 2008. A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Leonardo Félix e uma exsicata (EAN-16120) encontra-se depositada no herbário da Universidade Federal da Paraíba, Campus de Areia, Paraíba.

Figura 111. Espécie *Piper mollicomum*

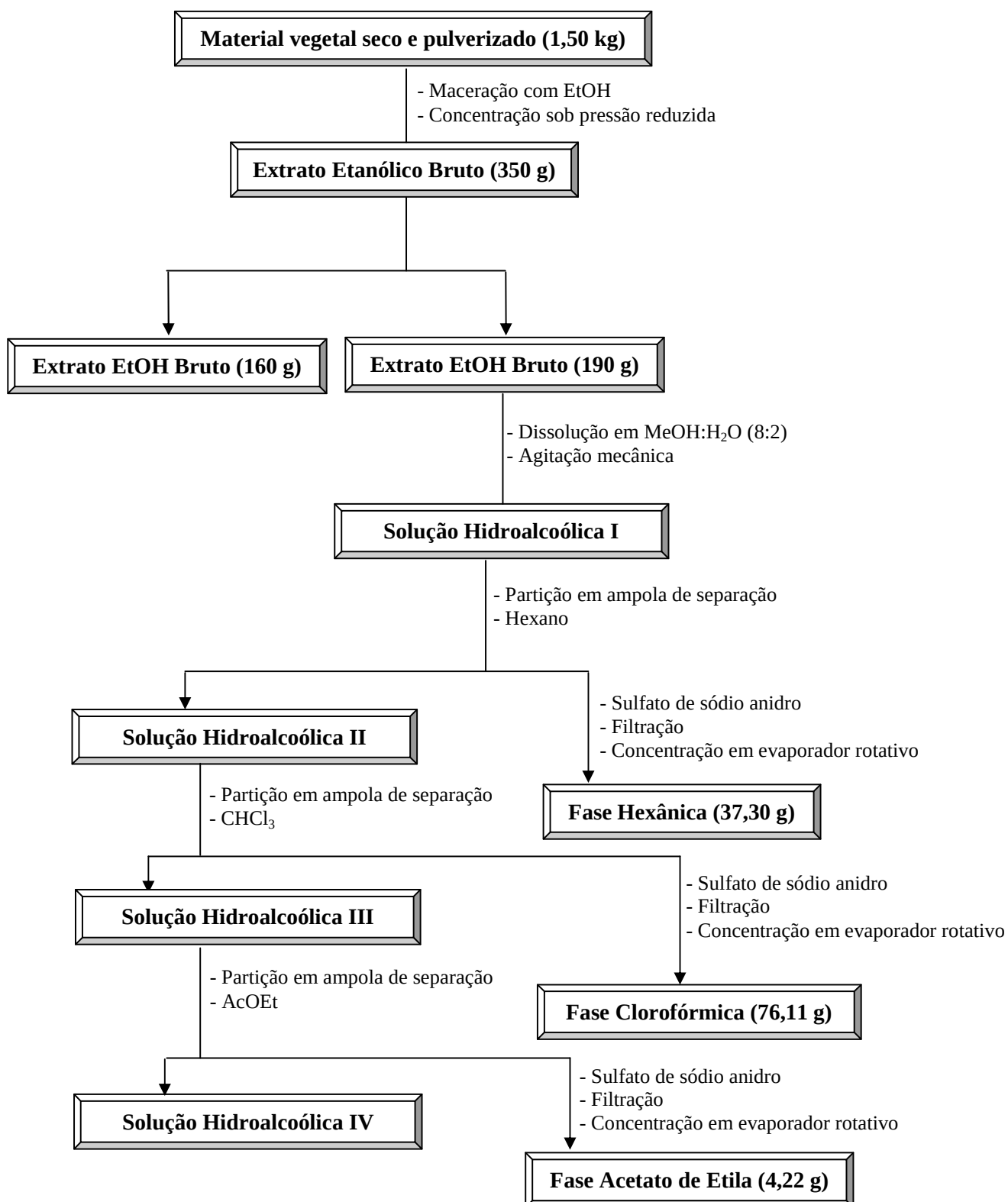


(Fonte: www.meioambiente.uerj.br/.../morcegos_fig4.jpg)

6.3. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Particionamento do Extrato Etanólico das folhas de *Piper mollicomum*

As folhas de *Piper mollicomum*, após coletadas, foram desidratadas em estufa com ar circulante a temperatura média de 40 °C durante 72 horas, sendo em seguida pulverizadas em moinho mecânico, reduzindo-se a pó (1,50 kg). Este foi submetido à maceração exaustiva com etanol por três dias consecutivos, sendo este processo executado até a máxima extração dos constituintes químicos. A solução extrativa obtida foi concentrada em rotaevaporador, resultando no extrato etanólico bruto (350 g), cujo rendimento foi de 23,33%. Uma alíquota deste (190 g) foi solubilizada em MeOH:H₂O (8:2), obtendo-se a solução hidroalcoólica, a qual foi submetida à partição líquido/líquido, em uma ampola de separação, utilizando-se os solventes hexano (Hex), clorofórmio (CHCl₃) e acetato de etila (AcOEt), sucessivamente. As soluções obtidas foram tratadas com sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro e submetidas à filtração. Após este processo, os solventes foram evaporados em rotaevaporador, sob pressão reduzida, a temperatura não superior à 50 °C, fornecendo as fases: hexânica (37,30g), clorofórmica (76,11g) e acetato de etila (4,22g), respectivamente (Esquema 6, p. 170).

Esquema 6. Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das folhas de *Piper mollicomum*



6.3.1 Fracionamento da Fase Hexânica do Extrato Etanólico Bruto das folhas de *Piper mollicomum*

A fase hexânica (30 g) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel ART 7734 (Coluna C1) (Esquema 7, p. 172), utilizando-se como eluentes Hex, CHCl₃ e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 359 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus Rfs em 131 grupos de frações (Tabela 19, p. 173).

A fração 219-232 (950 mg) foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel (coluna C1.1), utilizando-se como eluentes Hex, CHCl₃, AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 83 frações que, ao serem monitoradas em CCDA, foram reunidas em 30 grupos de frações (Tabela 20, p. 173). A fração 14 (115 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel (coluna C1.2), utilizando-se como eluentes Hex, AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 52 frações que, ao serem avaliadas por CCDA, foram reunidas em 22 grupos de frações (Tabela 21, p. 174).

A fração 11-12 (50 mg) foi cromatografada através de CCDP, utilizando-se como eluentes Hex:AcOEt (8:2), obtendo-se a fração 11-12.1 (38 mg), que foi purificada através de CCDP, utilizando-se como eluentes Hex : AcOEt (82:18), que após análise em CCDA, apresentou considerável grau de pureza, sendo codificada como *Pmoll-1* (32 mg) e encaminhada para análise espectral.

Esquema 7. Fracionamento da fase hexânica do extrato etanólico das folhas de *Piper mollicomum*

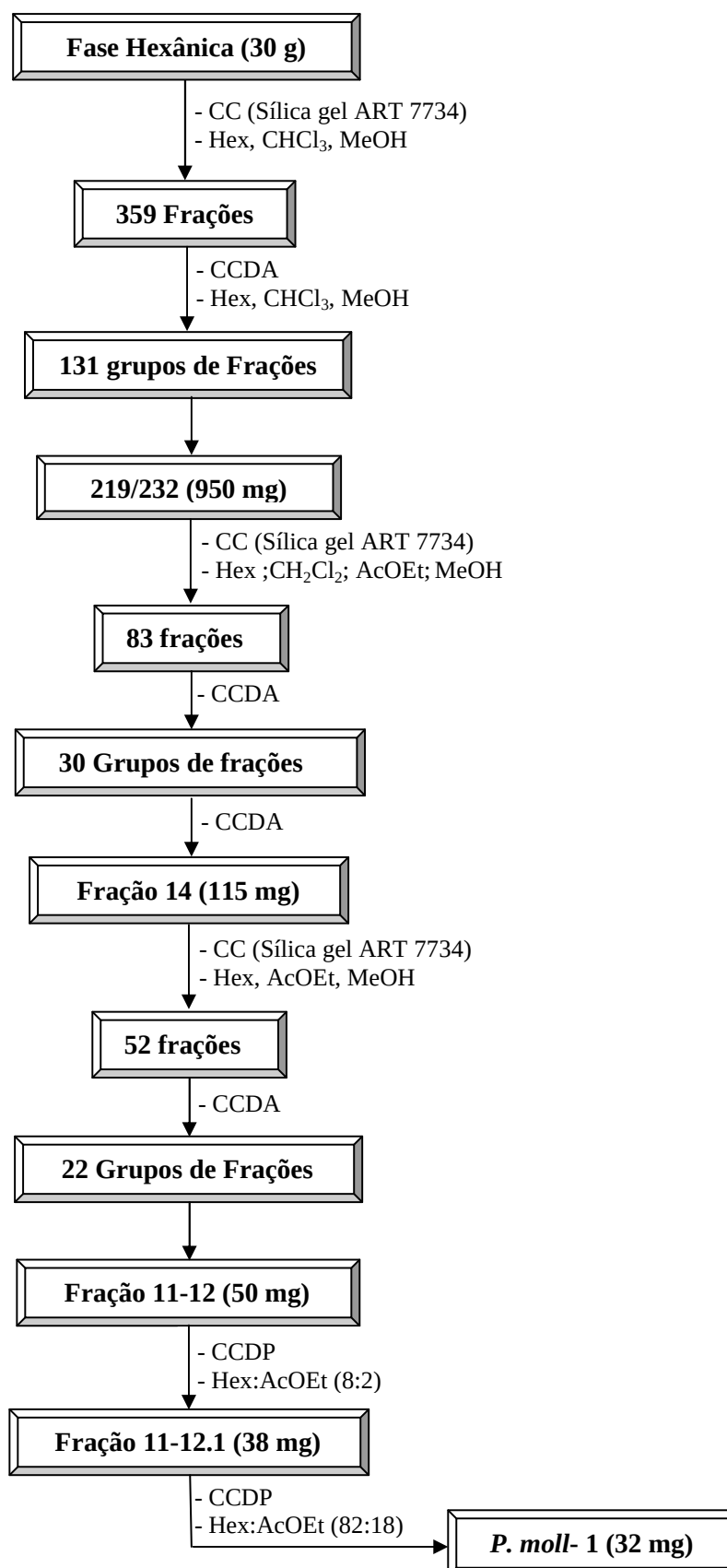


Tabela 19. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase hexânica das folhas de *Piper mollicomum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex	100%	1-60	1; 2;3; 4-5; 6; 7-9; 10-11; 12-14; 15-17; 18-23;
Hex:CH ₂ Cl ₂	95:5	61-76	24-32; 33-39; 40;41-48; 49-52; 53-70; 71-78; 79;
Hex:CH ₂ Cl ₂	9:1	77-83	80;81;82-87; 88; 89; 90; 91; 92-94; 95-96; 97;
Hex:CH ₂ Cl ₂	8:2	84-86	98-101; 102-105; 106-113; 114; 115;
Hex:CH ₂ Cl ₂	6:4	87-115	116-117; 118-121; 122-125; 126-129;
Hex:CH ₂ Cl ₂	1:1	116-127	130-136; 137-140; 141-148; 149-153;
Hex:CH ₂ Cl ₂	4:6	128-199	154-158; 159-164; 165; 166-183; 184-188; 189-
Hex:CH ₂ Cl ₂	3:7	200-214	193; 194-197; 198; 199-203; 204-205; 206-207;
Hex:CH ₂ Cl ₂	1:9	215-227	208-215; 216-218; 219-232 ; 233-236;
CH ₂ Cl ₂	100%	228-243	237-238; 239-241; 242-250; 251-260; 261;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	99,5:0,5	244-249	262; 263; 264; 265; 266-268; 269-270
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	99:1	250-251	271-273; 274-276; 277-279; 280-284;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	98:2	252-258	285-287; 288;289; 290; 291; 292; 293; 294;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	96:4	259-280	295; 296-299; 300; 301-304; 305; 306; 307
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	95:5	281-296	308-309; 310; 311; 312; 313-315; 316-317
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	92:8	297-318	318-321; 322; 323-326; 327-329; 330-332;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	9:1	319-331	333-335; 336;337; 338;339; 340; 341; 342; 343
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	88:12	332-335	344; 345; 346; 347; 348; 349; 350; 351; 352; 353;
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	85:15	336-342	354; 355; 356; 357; 358; 359
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	8:2	343-346	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH	75:25	347-359	

Tabela 20. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 219/232 da fase hexânica das folhas de *Piper mollicomum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex:CH ₂ Cl ₂	9:1	1	1; 2-3; 4-8; 9-12; 13; 14 ; 15; 16-18; 19-26; 27-34; 35-36; 37-38; 39-42; 43; 44-47; 48-50; 51-55; 56; 57-58; 59-61; 62-63; 64-66; 67-69; 70-71; 72-78; 79;80;81; 82;83
Hex:CH ₂ Cl ₂	8:2	2	
Hex:CH ₂ Cl ₂	75:25	3	
Hex:CH ₂ Cl ₂	7:3	4-7	
Hex:CH ₂ Cl ₂	65:35	8-9	
Hex:CH ₂ Cl ₂	6:4	10-28	
Hex:CH ₂ Cl ₂	1:1	29-31	
Hex:CH ₂ Cl ₂	4:6	32-33	
Hex:CH ₂ Cl ₂	3:7	34-35	
Hex:CH ₂ Cl ₂	1:9	36	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	9:1	37-47	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	8:2	48-55	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	7:3	56-57	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	1:1	58-59	
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt	3:7	60-65	
AcOEt	100%	66-69	
AcOEt:MeOH	97:3	70-73	
AcOEt:MeOH	95:5	74-76	
AcOEt:MeOH	9:1	77	
AcOEt:MeOH	8:2	78-80	
AcOEt:MeOH	7:3	81	
MetOH	100%	82-83	

Tabela 21. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 14 da coluna C.1.1 da fase hexânica de *Piper mollicomum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex	100%	1-5	1-2; 3; 4-5; 6-7; 8; 9; 10;
Hex:AcOEt	97:3	6-8	11-12 ; 13-14; 15-16; 17;
Hex:AcOEt	92:08	9-10	18; 19-20; 21-22; 23; 24;
Hex:AcOEt	90:10	11	25; 26-28; 29-31; 32-34;
Hex:AcOEt	85:15	12-14	35-37; 38-52;
Hex:AcOEt	82:18	15-17	
Hex:AcOEt	76:24	18-21	
Hex:AcOEt	7:3	22-23	
Hex:AcOEt	6:4	24	
Hex:AcOEt	1:1	25-26	
Hex:AcOEt	4:6	27-29	
Hex:AcOEt	3:7	30-31	
Hex:AcOEt	2:8	32	
AcOEt	100%	33-35	
AcOEt:MetOH	97:3	36-37	
AcOEt:MetOH	95:5	38-39	
AcOEt:MetOH	92:8	40-42	
AcOEt:MetOH	90:10	43-44	
AcOEt:MetOH	85:15	45-46	
AcOEt:MetOH	8:2	47	
AcOEt:MetOH	7:3	48-49	
AcOEt:MetOH	1:1	50-52	

6.3.2. Fracionamento da Fase Clorofórmica do Extrato Etanólico Bruto das Folhas de *Piper mollicomum*

Uma alíquota de 45 gramas da fase clorofórmica do Extrato Etanólico Bruto das Folhas de *Piper mollicomum* foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel ART 7734 (Esquema 8, p. 175), utilizando-se como eluentes Hex, CHCl_3 e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 268 frações, que foram monitoradas por CCDA e reunidas, de acordo com seus Rfs em 63 grupos de frações (Tabela 22, p. 176).

A fração 10-12 (18 mg) foi submetida a CCDP, utilizando-se Hex : CH_2Cl_2 (95 : 5) como eluentes, resultando na fração 10-12.2, que ao ser monitorada através de CCDA apresentou-se com bom padrão de pureza e foi codificada como *Pmoll*- 2 (8 mg), sendo encaminhada para análise espectral.

Esquema 8. Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto das folhas de *Piper mollicomum*.

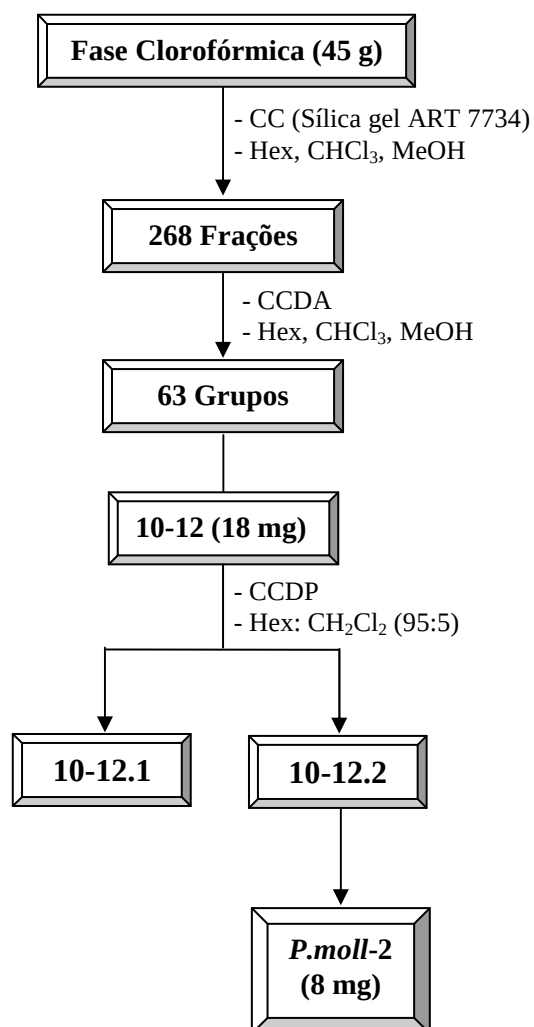
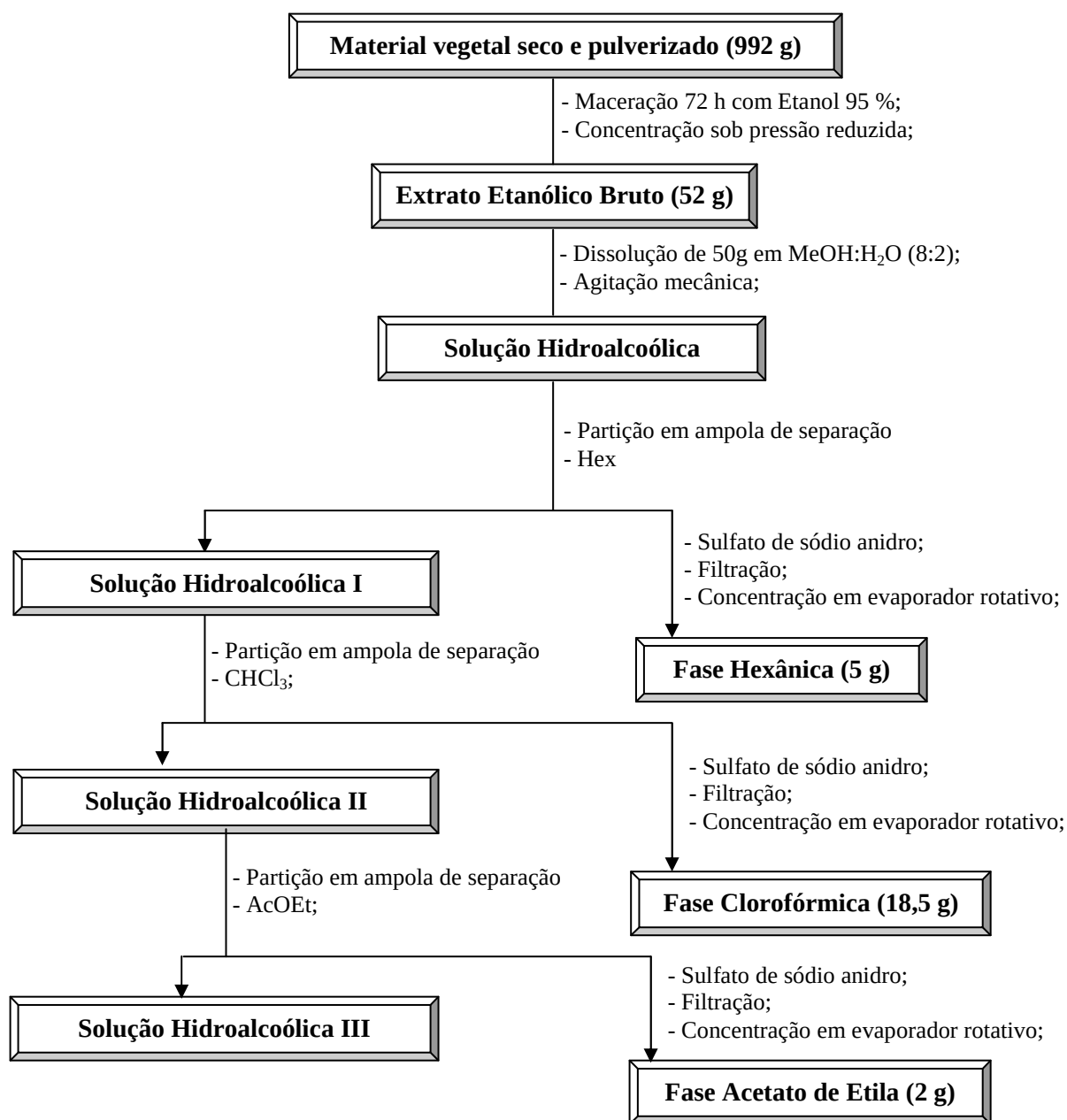


Tabela 22. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica das Folhas de *Piper mollicomum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex:CHCl ₃	1:1	1-3	1; 2-3; 4; 5-7; 8; 9;
Hex:CHCl ₃	25:75	4-7	10-12 ;13-17; 18; 19;
CHCl ₃	100%	8-18	20-25; 26; 27; 28;
CHCl ₃ :MeOH	99,5:0,5	19-20	29-33; 34-38; 39-40;
CHCl ₃ :MeOH	99,2:0,8	21-52	41; 42-47;48; 49-52;
CHCl ₃ :MeOH	98,5:1,5	53-92	53-55; 56-58; 59-61;
CHCl ₃ :MeOH	97:3	93-220	62-66; 67-70; 71-73;
CHCl ₃ :MeOH	95:5	221-244	74-80; 81-84; 85-88;
CHCl ₃ :MeOH	93:7	245-248	89-97; 98-99; 100-103;
CHCl ₃ :MeOH	90:10	249-261	104-106; 107-111;
CHCl ₃ :MeOH	80:20	262-264	112-119; 120-123;
CHCl ₃ :MeOH	70:30	265-268	124-126; 127-131; 132;
			133-138; 139-140;
			141-149; 150-151;
			152-154; 155-157; 158;
			159-173; 174-176;
			177-183; 184-185;
			186-187; 188; 189-193;
			194-197; 198-219;
			220-226; 227-229;
			230-237; 238-244;
			245-250; 251-256;
			257-268

6.4. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Fracionamento do Extrato Etanólico do Caule de *Piper mollicomum*

O caule de *Piper mollicomum*, após coletado, foi desidratado em estufa com ar circulante a temperatura média de 40 °C durante 72 horas, sendo em seguida pulverizado em moinho mecânico, reduzindo-se a pó (992 g). Este foi submetido a maceração exaustiva com etanol por três dias consecutivos, sendo este processo repetido por 5 vezes, até a máxima extração dos constituintes químicos. A solução extrativa obtida foi concentrada em rotaevaporador, resultando no extrato etanólico bruto (52 g), cujo rendimento foi de 5,24 %. Deste, 50 g foram solubilizadas em MeOH:H₂O (8:2), obtendo-se a solução hidroalcolica. Esta foi submetida à partição líquido/líquido, em uma ampola de separação, utilizando-se os solventes hexano (Hex), clorofórmio (CHCl₃) e acetato de etila (AcOEt), sucessivamente. As soluções obtidas foram tratadas com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e submetidas à filtração. Após este processo, os solventes foram evaporados em rotaevaporador, sob pressão reduzida, a temperatura não superior a 50 °C, fornecendo as fases: hexânica (5 g), clorofórmica (18,5 g) e acetato de etila (2 g), respectivamente (Esquema 9, p 177).

Esquema 9. Obtenção e particionamento do extrato etanólico do caule de *Piper mollicomum*

6.4.1. Fracionamento da Fase Clorofórmica do Extrato Etanólico Bruto do caule de *Piper mollicomum*

A fase clorofórmica (10 g) do Extrato Etanólico Bruto do caule de *Piper mollicomum* foram cromatografadas em coluna de sílica gel ART 7734 (Esquema 10, p. 179), utilizando-se como eluentes Hex, AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente

de polaridade, obtendo-se 179 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus Rfs, em 35 grupos de frações (Tabela 23, p. 180).

A fração 49-51 após ser submetida a CCDA, apresentou considerável grau de pureza, sendo codificada como *Pmoll*-3 (50 mg) e encaminhada para análise espectral.

A fração 52-72 (180 mg) foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel ART 7734 utilizando-se como eluentes Hex, AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 61 frações, que foram monitoradas através de CCDA e reunidas de acordo com seus Rfs em 30 grupos de frações (Tabela 24, p. 180). A fração 27-28 (12 mg) foi purificada através de CCDP, utilizando-se como eluentes Hex : AcOEt (68% : 32%), resultando na fração 27-28.3, que ao ser monitorada através de CCDA apresentou um considerável padrão de pureza e foi codificada como *Pmoll* - 4 (5 mg), sendo encaminhada para análise espectral.

Esquema 10. Fracionamento da fase Clorofórmica do extrato etanólico bruto do caule de *Piper mollicomum*.

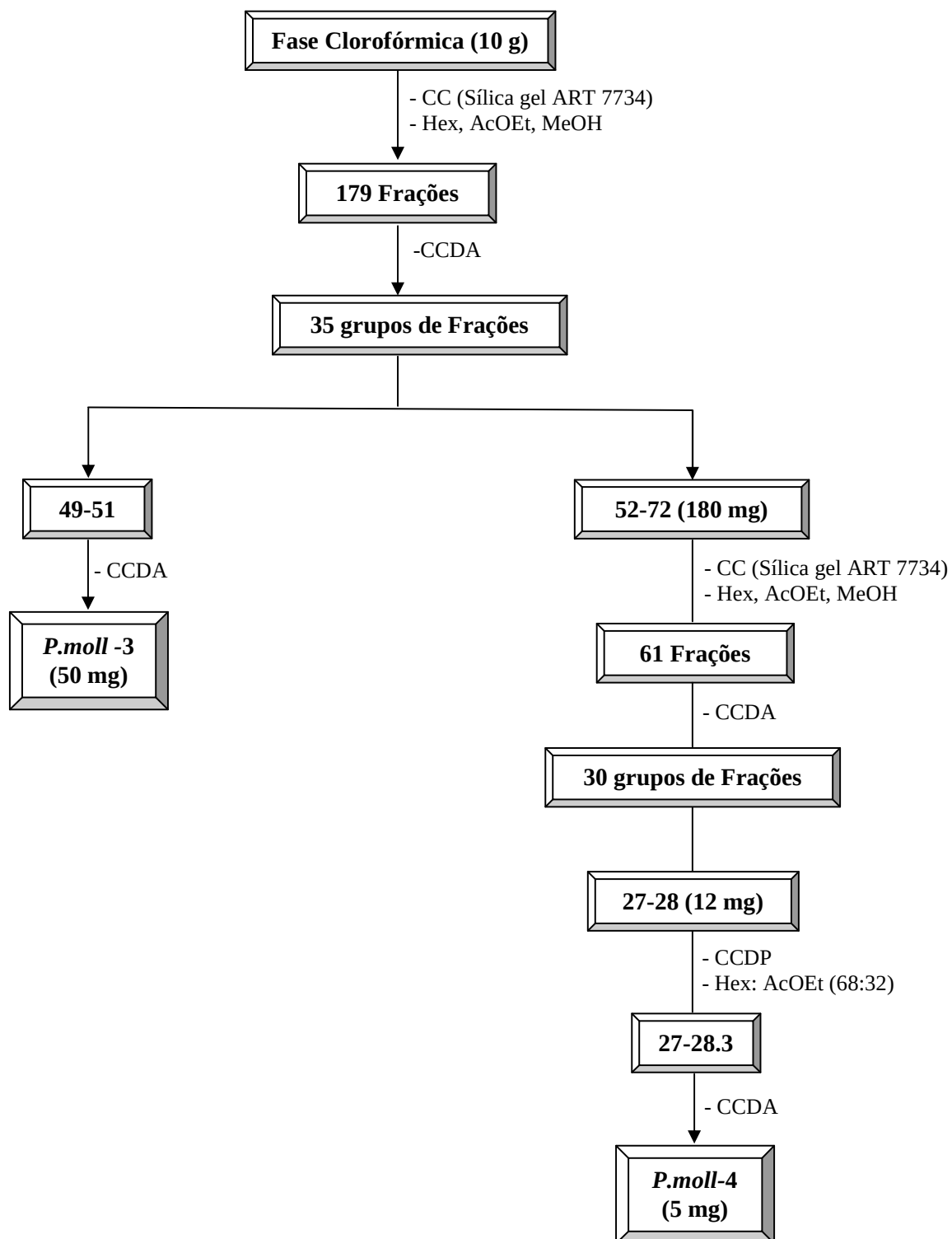


Tabela 23. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do caule de *Piper mollicomum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex:AcOEt	85:15	1-11	1-2; 3-4;
Hex:AcOEt	82:18	12-21	5-8; 9-16;
Hex:AcOEt	80:20	22-35	17-19; 20-30;
Hex:AcOEt	78:25	36-48	31-35; 36-42;
Hex:AcOEt	70:30	49-52	43-45; 46-48;
Hex:AcOEt	65:35	53-57	49-51; 52-72;
Hex:AcOEt	58:42	58-72	73-81; 82-87;
Hex:AcOEt	55:45	73-74	88-90; 91;
Hex:AcOEt	1:1	75-86	92-93; 94-99;
Hex:AcOEt	45:55	87-94	100-105; 106-108;
Hex:AcOEt	40:60	95-111	109-114; 115-126;
Hex:AcOEt	35:65	112-116	127-129; 130;
Hex:AcOEt	25:75	117-121	131-134; 135-141;
Hex:AcOEt	15:85	122-129	142-146; 147;
Hex:AcOEt	10:90	130-134	148-150; 151-155;
AcOEt	100%	135-137	156-161; 162-166;
AcOEt:MeOH	97:3	138-139	167-170; 171-174;
AcOEt:MeOH	90:10	140-150	175-179
AcOEt:MeOH	80:20	151-162	
AcOEt:MeOH	70:30	163-170	
AcOEt:MeOH	1:1	171-175	
AcOEt:MeOH	25:75	176-179	

Tabela 24. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 52-72 da fase clorofórmica do caule de *Piper mollicomum*

Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex:AcOEt	90:10	1-2	1-3; 4-8; 9-11;
Hex:AcOEt	87:13	3-7	12-14; 15; 16;
Hex:AcOEt	84:16	8-11	17-19; 20; 21;
Hex:AcOEt	80:20	12-18	22-23; 24; 25;
Hex:AcOEt	76:24	19-25	26; 27-28; 29;
Hex:AcOEt	72:28	26-35	30-33; 34-35; 36;
Hex:AcOEt	70:30	36-39	37-38; 39; 40-41;
Hex:AcOEt	66:34	40-41	42-43; 44-45; 46-48;
Hex:AcOEt	62:38	42-43	49-51; 52-53; 54;
Hex:AcOEt	55:45	44-45	55-56; 57-59; 60-61
Hex:AcOEt	50:50	46	
Hex:AcOEt	45:55	47	
Hex:AcOEt	40:60	48	
Hex:AcOEt	30:70	49-51	
Hex:AcOEt	20:80	52-53	
Hex:AcOEt	10:90	54	
AcOEt	100%	55-56	
AcOEt:MeOH	97:3	57-59	
AcOEt:MeOH	94:6	60-61	

6.5. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados de *Piper mollicomum*

O estudo fitoquímico de *Piper mollicomum* levou ao isolamento de uma amida e de uma cumarina, das respectivas fases hexânica e clorofórmica do extrato etanólico bruto das folhas, além de um derivado do ácido benzóico (ácido vanílico) e de uma aristolactama obtidos da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto do caule desta espécie. A amida está sendo relatada pela primeira vez na literatura, a cumarina pela primeira vez no gênero e o derivado do ácido benzóico e a aristolactama pela primeira vez nesta espécie.

6.5.1. Determinação estrutural de *Pmoll-1*

A substância codificada como *Pmoll-1* apresentou-se como um sólido amorfo, solúvel em clorofórmio.

O espectro de IV de *Pmoll-1* (Figura 112, p. 187) mostrou uma absorção em 1639 cm^{-1} característica de deformação axial de carbonila, a qual juntamente com dados da literatura no que tange ao gênero *Piper* e com uma banda de deformação axial de C-N em 1369 cm^{-1} , permitiram inferir a presença um grupo amídico na molécula. Uma banda em 1246 cm^{-1} foi inferida a deformação axial de C-O de éter. Uma banda de absorção em 1624 cm^{-1} foi atribuída a deformação axial de C=C de alcenos. A existência de anel aromático foi fortalecida pela evidência de bandas de absorções em 1489 e 1500 cm^{-1} , atribuídas a deformação axial de C=C de aromático. Ainda no espectro de IV observou-se uma absorção em 2926 cm^{-1} , características de deformação axial de CH de carbono sp^3 , além de três outras absorções em 1037 , 927 e 810 cm^{-1} que sugeriram a presença de um anel benzênico trissubstituído na molécula (SILVERSTEIN *et.al.*, 2007).

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figuras 113 a 118, p. 187-190) mostrou 7 sinais para hidrogênios metínicos e 7 para metilênicos, cujos deslocamentos químicos e suas constantes de acoplamento encontram-se representados na Tabela 25, pág. 185.

Dentre os sinais para hidrogênios metilênicos aqueles em δ_{H} 3,42, δ_{H} 3,49, δ_{H} 1,83, e δ_{H} 1,91 sugeriram a existência de anel pirrolidínico na estrutura. Os dois primeiros apresentaram-se mais desblindados por encontrarem-se vizinhos ao nitrogênio no anel pirrolidínico (PAVIA *et. al.*, 2009).

A existência de três sinais para hidrogênios aromáticos, um em δ_{H} 6,58 (ddd, $J=7,7$; 1,5 e 0,5 Hz, 1H), acoplando *orto* com um duplete em δ_{H} 6,68 (d, $J=7,7$ Hz, 1H) e *meta* com

um outro duplete em δ_H 6,63 (d, $J=1,5$ Hz), corroboraram com a proposta do espectro de IV, quanto a existência de um anel benzênico trissubstituído na molécula, enquanto que a presença de um simpleto em δ_H 5,88, integrando para dois hidrogênios, permitiu inferir um grupamento metilenodioxílico na substância em questão.

Ainda no espectro de RMN de ^1H , observou-se quatro sinais para hidrogênios olefínicos. Dois destes mostraram absorção em δ_H 5,75 (d, $J=11,5$ Hz, 1H) e em δ_H 6,34 (t, $J=11,5$ Hz), sugeridos, respectivamente, a H-2 e H-3, caracterizando um sistema carbonílico α,β -insaturado. Os outros sinais em δ_H 7,32 (ddd, $J=15,5; 11,5; 1,0$ Hz) e δ_H 5,91 (dt, $J=15,5$ e 7,2 Hz) foram atribuídos aos hidrogênios de uma segunda ligação dupla, conjugada à primeira, indicando a presença de um sistema dienamida conjugado. A análise das constantes de acoplamento observadas em $J_{2,3} = 11,5$ Hz e $J_{4,5} = 15,5$ Hz, permitiram sugerir uma configuração *cis-trans* (*Z, E*), para *P. moll-1* (PAVIA *et. al.*, 2009).

O espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$), utilizando a técnica APT (Figuras 119 a 121, p. 190-191), revelou a presença de dezoito sinais, referentes a 4 carbonos não hydrogenados (δ_C 165,55; δ_C 135,36; δ_C 147,44 e δ_C 145,56), 7 carbonos metínicos, com absorções na região de carbonos olefínicos e aromáticos (δ_C 118,03; δ_C 140,43; δ_C 127,78; δ_C 141,61; δ_C 108,80; δ_C 108,13 e δ_C 121,07) e 7 carbonos metilênicos (δ_C 45,47; δ_C 26,15; δ_C 24,30; δ_C 46,86; δ_C 34,88; δ_C 35,01 e δ_C 100,88).

O sinal para carbono não hydrogenado em δ_C 165,55 (Figura 120, pág. 191), ao lado dos sinais característicos para hidrogênios olefínicos em δ_H 5,75 (d, $J=11,5$ Hz) e δ_H 6,34 (t, $J=11,5$ Hz), observados no espectro de RMN de ^1H reforçou a presença de uma carbonila α,β -insaturada na molécula. As absorções para carbonos olefínicos em δ_C 118,03 e δ_C 140,43 foram atribuídos, respectivamente, a C-2 e C-3, α,β carbonílicos, sendo estas atribuições reforçadas pelas correlações observadas no HMQC entre δ_H 5,75/ δ_C 118,03 e δ_H 6,34/ δ_C 140,43. Duas outras absorções, também para carbonos olefínicos, em δ_C 127,78 e δ_C 141,61 foram atribuídas, respectivamente, a C-4 e C-5, em virtude das correlações diretas observadas entre δ_H 7,32/ δ_C 127,78 e δ_H 5,91/ δ_C 141,6, corroborando com a proposta feita pelo espectro de RMN de ^1H quanto a presença de um sistema dienamida conjugado em *P. moll-1*.

Uma absorção para carbono metilênico em δ_C 100,68 (Figura 120, pág. 191) reforçou a sugestão feita pelo espectro de RMN de ^1H quanto a existência do grupamento metilenodioxílico, sendo esta atribuição corroborada pelos sinais em δ_C 145,56 e δ_C 147,44 atribuídos aos carbonos C-3' e C-4', respectivamente, que sustentam o referido grupo.

Os sinais em δ_C 45,47 e δ_C 46,86 mostraram-se mais desblindados, quando comparados aos demais carbonos metilênicos, sendo atribuídos aos carbonos vizinhos ao

nitrogênio, no anel pirrolidínico, os quais no espectro de HMQC (^nJ , $n=1$) mostraram correlações direta com os respectivos hidrogênios δ_H 3,49 (tl, $J=7,0$ Hz, 2H) e δ_H 3,42 (tl, $J=7,0$ Hz, 2H).

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC (^nJ , $n=1$) ($^1H \times ^{13}C$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) mostrou as correlações diretas entre os átomos de hidrogênio e seus respectivos carbonos (Figuras 122 a 126, p. 192-194), permitindo determinar inequivocamente os deslocamentos químicos para cada um destes átomos.

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear, HMBC (^nJ , $n=2$ ou 3) ($^1H \times ^{13}C$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) (Figuras 127 a 133, p. 194-197) revelou as correlações entre os hidrogênios olefínicos em δ_H 5,75 (d, $J=11,5$ Hz, 1H) e δ_H 6,34 (t, $J=11,5$ Hz, 1H), a duas e a três ligações, respectivamente, com o carbono carbonílico em δ_C 165,55, reforçando a atribuição feita pelo espectro de RMN de ^1H , quanto à presença de um sistema carbonílico α,β -insaturado. Estes mesmos hidrogênios também mostraram correlacionar-se com os respectivos carbonos em δ_C 127,78 e δ_C 141,61, os quais foram atribuídos aos carbonos insaturados C-4 e C-5, respectivamente, corroborando com a proposta feita pelo espectro de RMN de ^1H , com relação a possível existência de um sistema dienamida conjugado na molécula.

O espectro de HMBC mostrou também as seguintes correlações: entre os hidrogênios de carbonos metínicos aromáticos em δ_H 6,63 (d, $J=1,5$ Hz, 1H) a duas ligações com δ_C 145,56 (C-3') e a três ligações com os carbonos δ_C 121,07 (C-6'), δ_C 147,44 (C-4') e δ_C 35,01 (C-7); entre o duplete em δ_H 6,68 (d, $J=7,75$ Hz, 1H) a duas ligações com o carbono δ_C 147,44 (C-4') e a três ligações com δ_C 135,36 (C-1') e δ_C 145,56 (C-3'), bem como entre o duplo duplete dobrado em δ_H 6,58 (ddd, $J=7,75$; 1,5 e 0,5 Hz, 1H) e os carbonos δ_C 135,36 (C-1') e δ_C 147,44 (C-4') a duas e a três ligações, respectivamente, permitindo, assim, atribuir os deslocamentos químicos dos respectivos hidrogênios H-2', H-5' e H-6'. Estas correlações juntamente com duas outras observadas entre o simpleto em δ_H 5,88 (s, 2H) e os carbonos δ_C 145,56 (C-3') e δ_C 147,44 (C-4'), bem como entre δ_H 2,63 (tl, $J=8,0$ Hz, 2H) e os carbonos δ_C 108,80 (C-2') e δ_C 121,07 (C-6') fortaleceram a atribuição feita pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , quanto à presença de um anel benzênico trissubstituído em *Pmoll-1*.

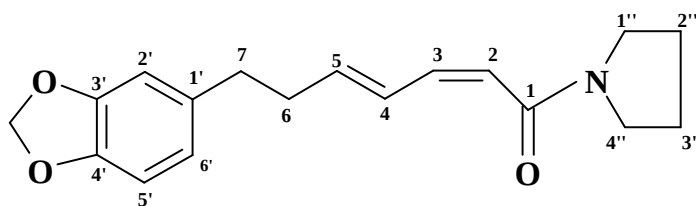
Ainda no espectro de HMBC as correlações observadas entre o tripleto largo em δ_H 3,49 (tl, $J=7,0$ Hz, 2H) e δ_C 26,15 e δ_C 24,30, além das interações reveladas entre o hidrogênio em δ_H 3,42 (tl, $J=7,0$ Hz, 2H) e estes mesmos carbonos, permitiram atribuir os deslocamentos químicos em δ_C 26,15 e δ_C 24,30 às posições C-3'' e C-2'' do anel pirrolidínico, os quais no espectro de HMQC, mostraram correlação com os hidrogênios 1,91 (m, 2H) e δ_H 1,83 (m,

2H), respectivamente. Estes multipletos em δ_H 1,91 (m, 2H) e δ_H 1,83 (m, 2H) mostraram correlacionar-se ainda a duas ligações com os respectivos carbonos δ_C 24,30 (C-2'') e δ_C 26,15 (C-3''). Estes dados permitiram atribuir os deslocamentos químicos dos hidrogênios H-1'', H-2'', H-3'', H-4'', além de reforçar a proposta da presença de um anel pirrolidínico na molécula.

O espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY ($^1H \times ^1H$, a 500 MHz) (Figuras 134 a 139, p. 198-200) revelou correlações entre os hidrogênios vicinais H-3 (δ_H 6,34; t, $J=11,5$ Hz) e H-4 (δ_H 7,32; ddd, $J=15,5$; 11,5 e 1,0 Hz); H-4 (δ_H 7,32; ddd, $J=15,5$; 11,5 e 1,0 Hz) e H-5 (δ_H 5,91; dt, $J=15,5$ e 7,25 Hz); H-6 (δ_H 2,41; ql, $J=8,0$ Hz) e H-7 (δ_H 2,63; tl, $J=8,0$ Hz); H-1'' (δ_H 3,49; tl, $J=7,0$ Hz) e H-2'' (δ_H 1,83; m); H-3'' (δ_H 1,91; m) e H-4'' (δ_H 3,42; tl, $J=7,0$ Hz), fortalecendo as atribuições feitas a estes átomos.

A análise dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais de *Pmoll-1* (Tabela 25, p. 185) e sua comparação com modelo da literatura (ALÉCIO, et. al., 1998) (Tabela 26, p. 186) permitiram identificar *Pmoll-1* como sendo a *N*-[7-(3',4'-metilenodioxifenil)-2(*Z*),4(*E*)-heptadienoil] pirrolidina, uma nova amida relatada pela primeira vez na literatura.

O espectro de massas de alta resolução ESI-MS (Figura 140, p. 201) de *Pmoll-1* mostrou um pico de íon pseudomolecular de $[M + H]^+$: m/z 300, condizente com a proposta estrutural feita para a substância analisada, cuja fórmula molecular é $C_{18}H_{21}NO_3$ (299 daltons).



N-[7-(3',4'-metilenodioxifenil)-2(*Z*),4(*E*)-heptadienoil] pirrolidina

Tabela 25. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de *Pmoll-1*, registrados em CDCl_3 .

C	δ_{C}	HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		COSY
		δ_{H}	^2J	^3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	
1	165,55	-				
1'	135,36	-				
3'	145,56	-				
4'	147,44	-				
CH						
2	118,03	5,75 (d, $J=11,5$ Hz)	C-1	C-4		
3	140,43	6,34 (t, $J=11,5$ Hz)		C-1; C-5	H-4	
4	127,78	7,32 (ddd, $J=15,5$; 11,5 e 1,0 Hz)		C-6	H-3; H-5	
5	141,61	5,91 (dt, $J=15,5$ e 7,2 Hz)	C-6			
2'	108,80	6,63 (d, $J=1,5$ Hz)	C-3'	C-4'; C-7; C-6'		
5'	108,13	6,68 (d, $J=7,7$ Hz)	C-4'	C-1'; C-3'		
6'	121,07	6,58 (ddd, $J=7,7$; 1,5 e 0,5 Hz)	C-1'	C-4'		
CH₂						
6	34,88	2,41 (ql, $J=8,0$ Hz)	C-5; C-7	C-1'	H-7	
7	35,01	2,63 (tl, $J=8,0$ Hz)	C-1'	C-5; C-2'; C-6'	H-6	
1''	45,47	3,49 (tl, $J=7,0$ Hz)	C-2''	C-3''	H-2''	
2''	24,30	1,83 (m)	C-3''		H-1''	
3''	26,15	1,91 (m)	C-2''		H-4''	
4''	46,86	3,42 (tl, $J=7,0$ Hz)	C-3''	C-2''	H-3''	
CH ₂ O ₂	100,68	5,88 (s)		C-3'; C-4'		

Tabela 26. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pmoll-1* com valores encontrados na literatura (ALÉCIO, 1998) (δ em ppm e J em Hz).

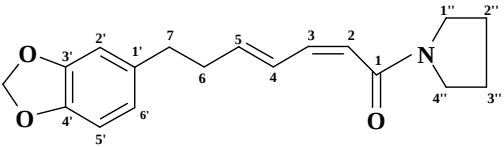
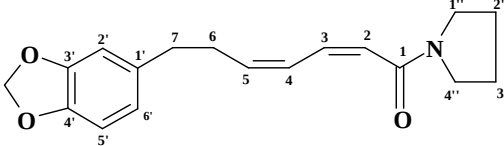
<i>Pmoll-1</i> (CDCl_3)			Literatura (CDCl_3)	
				
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	165,55	-	165,60	-
1'	135,36	-	135,40	-
3'	145,56	-	145,60	-
4'	147,44	-	147,50	-
CH				
2	118,03	5,75 (d, $J=11,5$ Hz)	118,10	5,77 (d, $J=11,4$ Hz)
3	140,43	6,34 (t, $J=11,5$ Hz)	140,40	6,37 (t, $J=11,4$ Hz)
4	127,78	7,32 (ddd, $J=15,5$; 11,5 e 1,0 Hz)	127,90	7,30 (dd, $J=11,4$ e 11,4 Hz)
5	141,61	5,91 (dt, $J=15,5$ e 7,2 Hz)	141,60	5,94 (dt, $J=11,4$ e 7,0 Hz)
2'	108,80	6,63 (d, $J=1,5$ Hz)	108,10	6,54 (d, $J=1,6$ Hz)
5'	108,13	6,68 (d, $J=7,7$ Hz)	108,80	6,65 (d, $J=7,8$ Hz)
6'	121,07	6,58 (ddd, $J=7,7$; 1,5 e 0,5 Hz)	121,10	6,59 (dd, $J=7,8$ e 1,6 Hz)
CH₂				
6	34,88	2,41 (ql, $J=8,0$ Hz)	34,90	2,42 (m)
7	35,01	2,63 (tl, $J=8,0$ Hz)	35,00	2,59 (t, $J=7,0$ Hz)
1''	45,47	3,49 (tl, $J=7,0$ Hz)	45,50	3,47 (t, $J=7,0$ Hz)
2''	24,30	1,83 (m)	26,20	1,84 (dt, $J=7,0$ e 7,3 Hz)
3''	26,15	1,91 (m)	24,30	1,84 (dt, $J=7,0$ e 7,3 Hz)
4''	46,86	3,42 (tl, $J=7,0$ Hz)	46,80	3,39 (t, $J=7,0$ Hz)
CH₂O₂	100,68	5,88 (s)	100,70	5,86 (s)

Figura 112. Espectro de IV *Pmoll-1* em pastilha de KBr

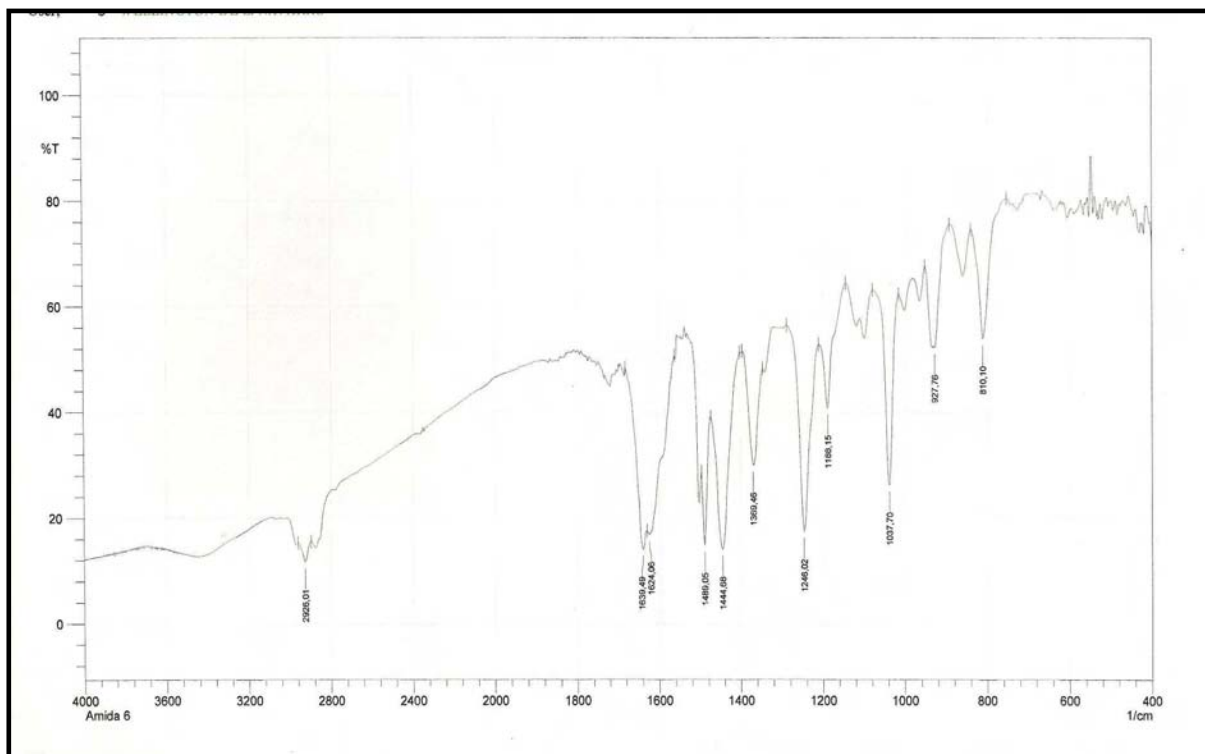


Figura 113. Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-1* (CDCl_3 , 500 MHz)

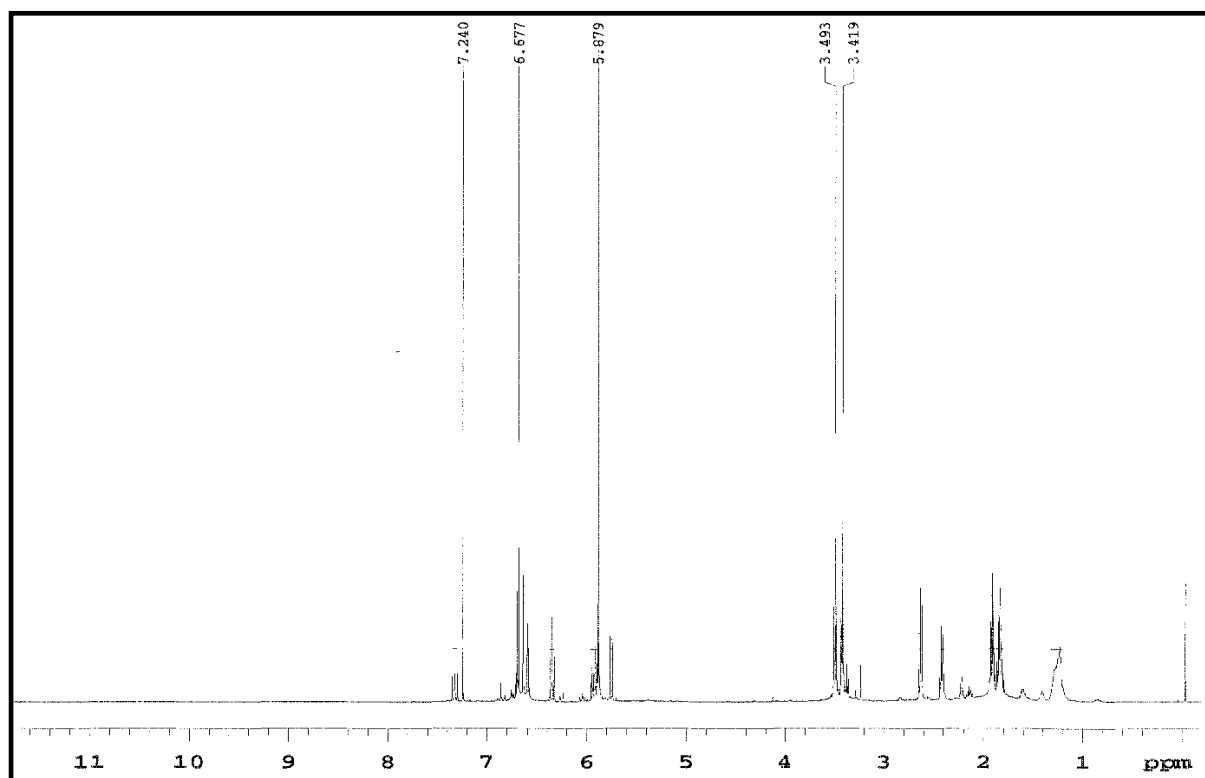


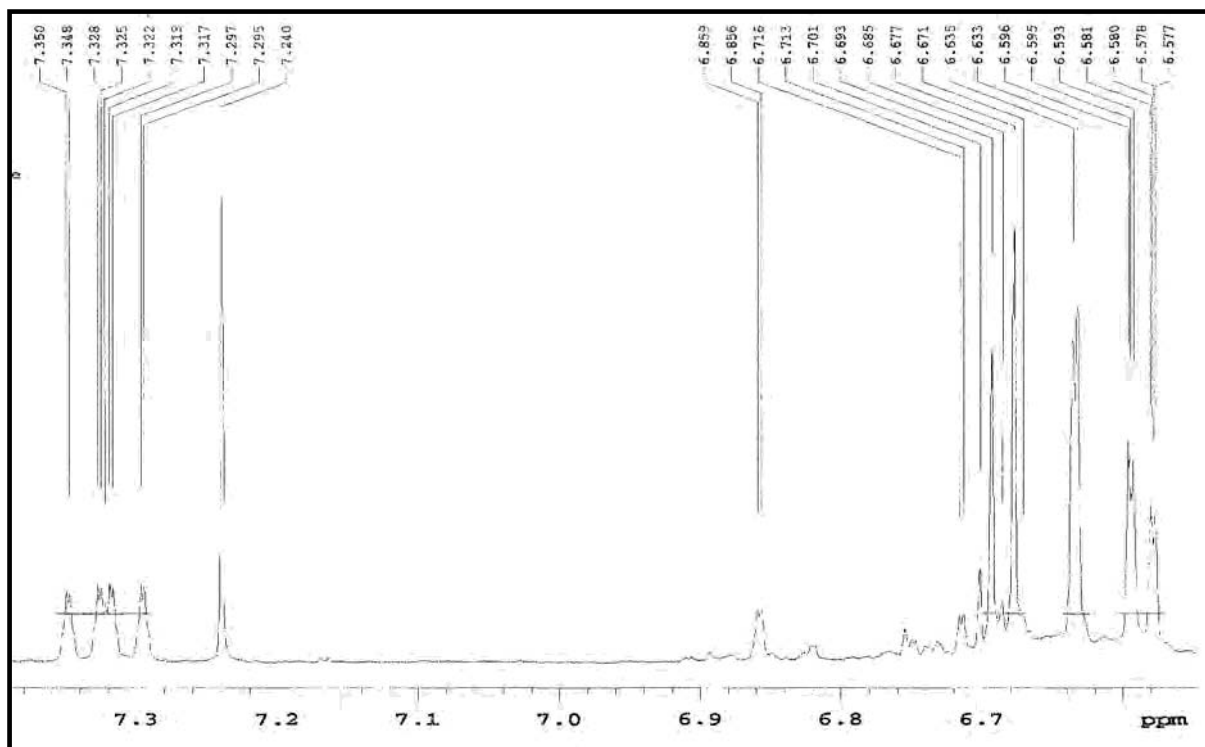
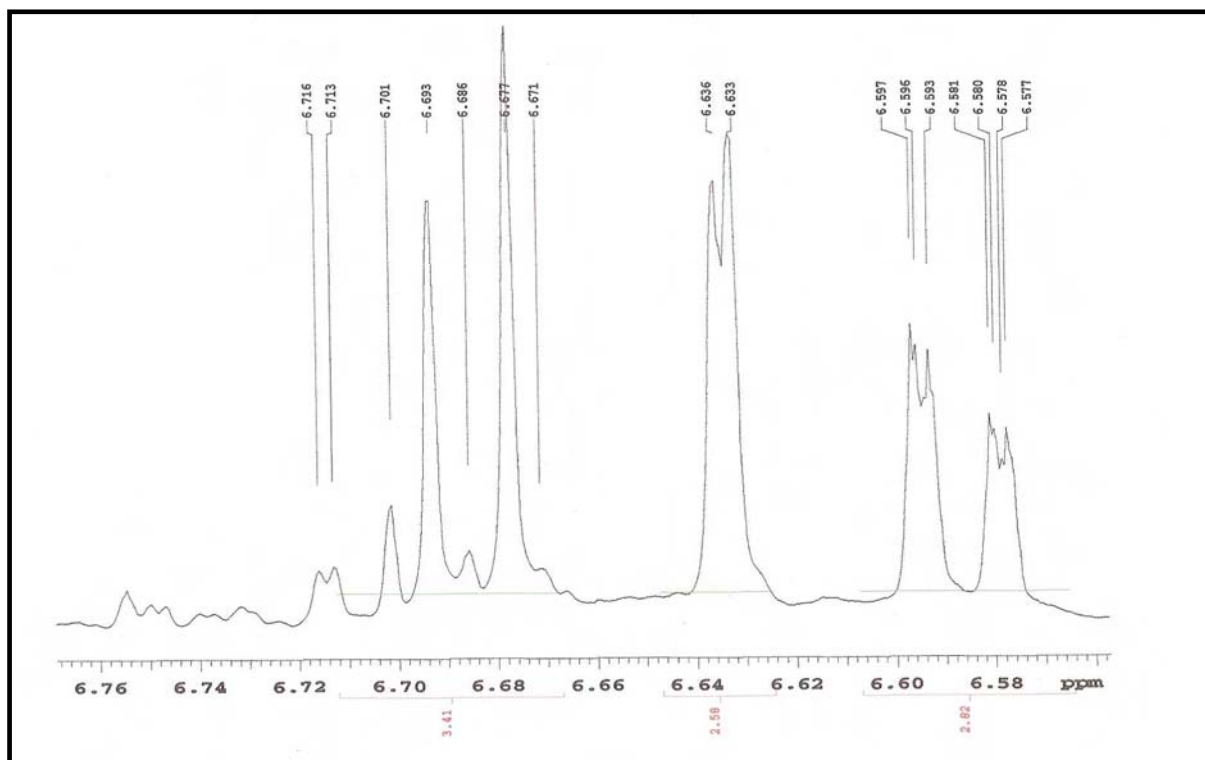
Figura 114. Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-1* na região de 6,0 a 7,6 ppm**Figura 115.** Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-1* na região de 6,58 a 6,76 ppm

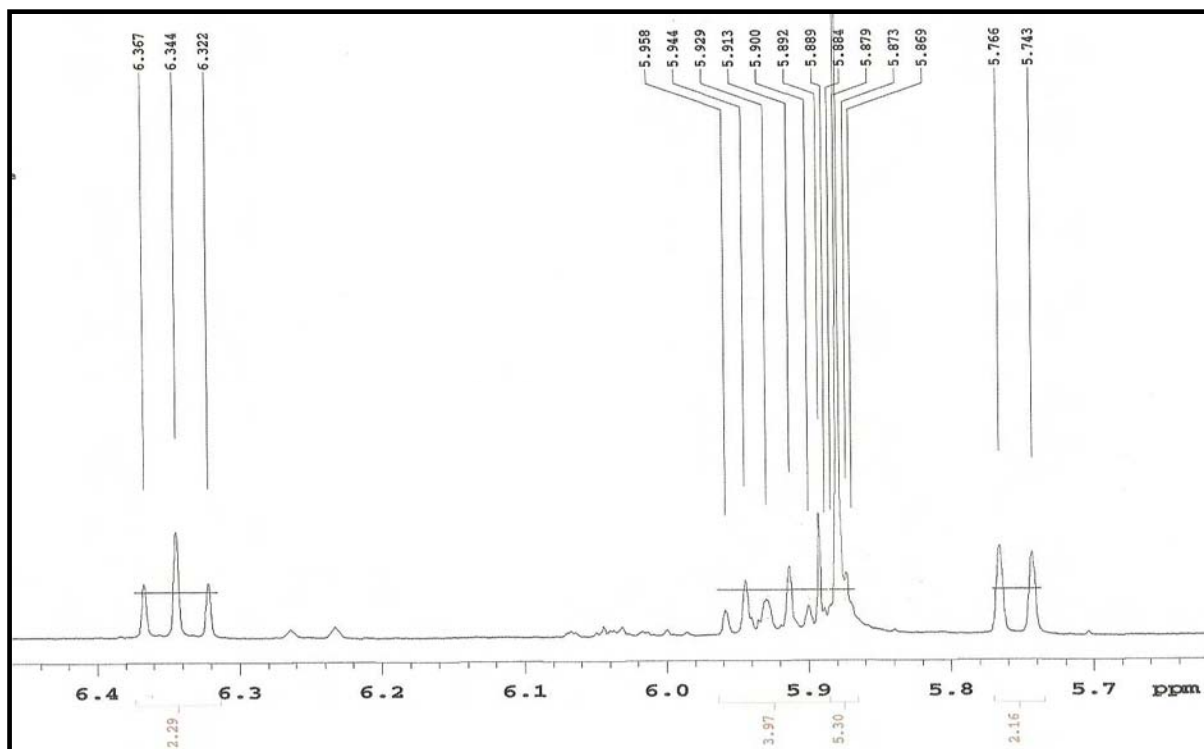
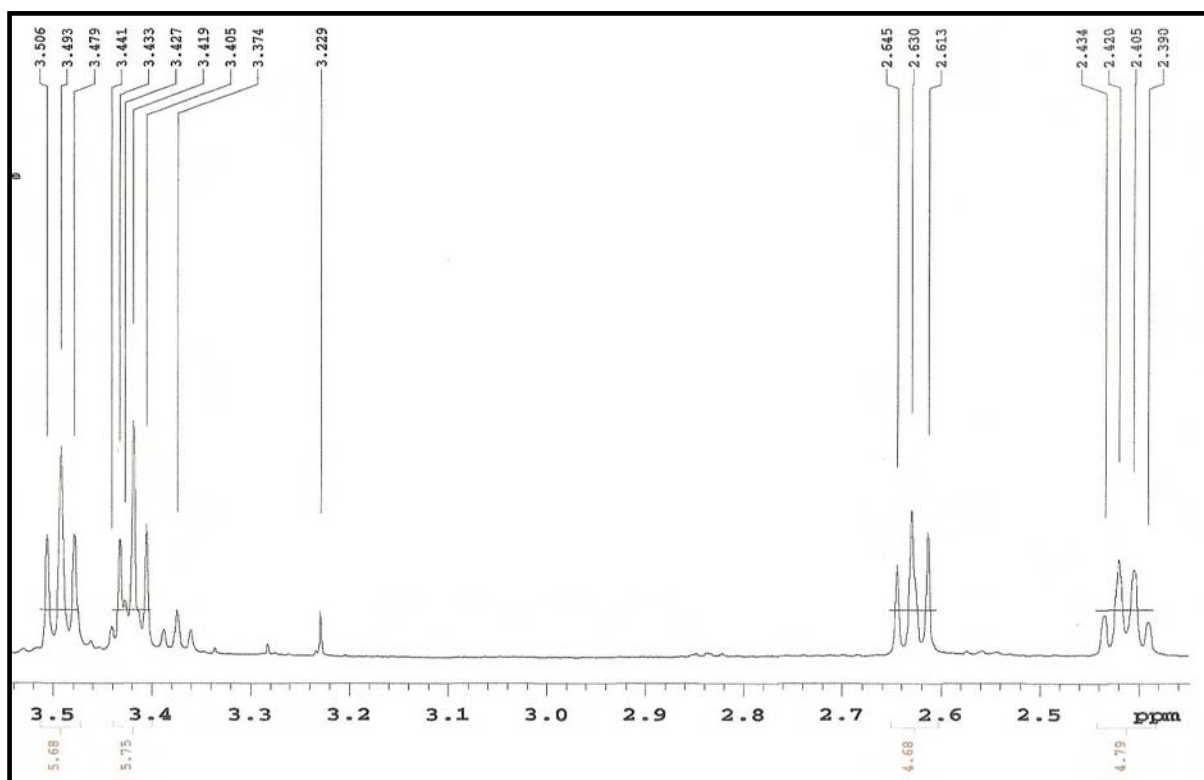
Figura 116. Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-1* na região de 5,7 a 6,4 ppm**Figura 117.** Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-1* na região de 2,3 a 3,5 ppm

Figura 118. Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-1* na região de 1,3 a 32,2 ppm

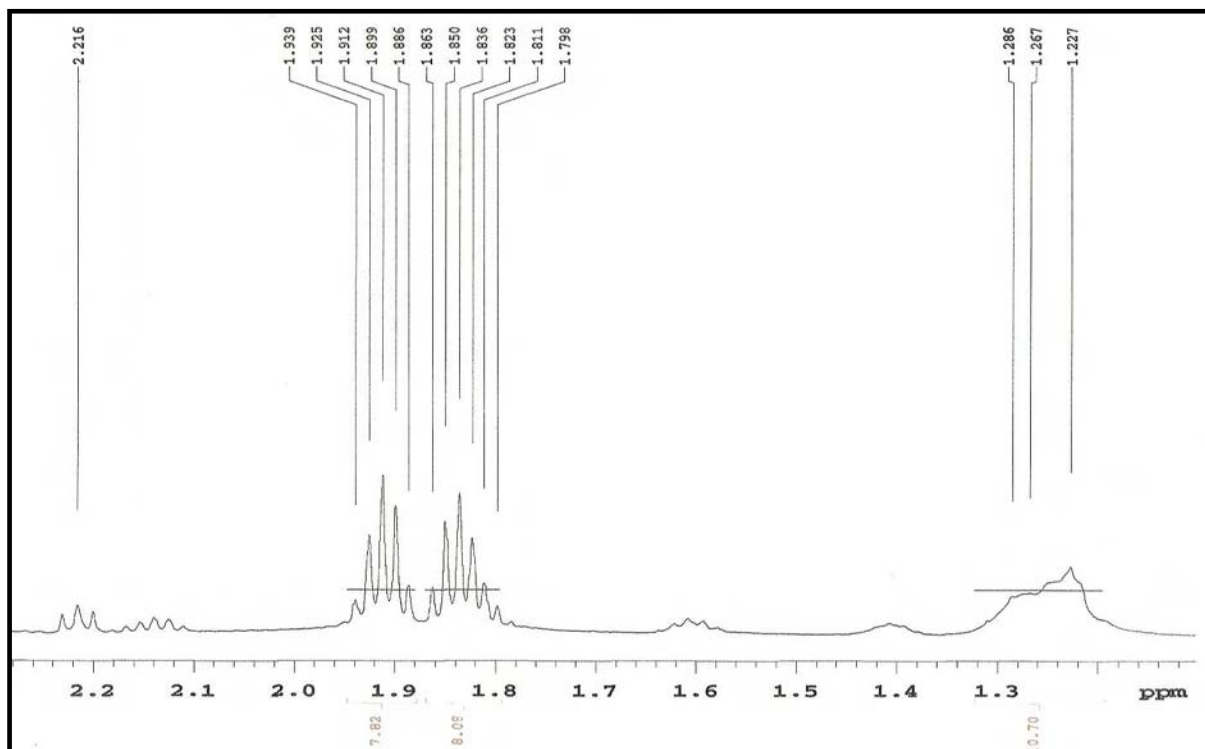


Figura 119. Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pmoll-1* (CDCl_3 , 125 MHz) na região de 0 a 180 ppm

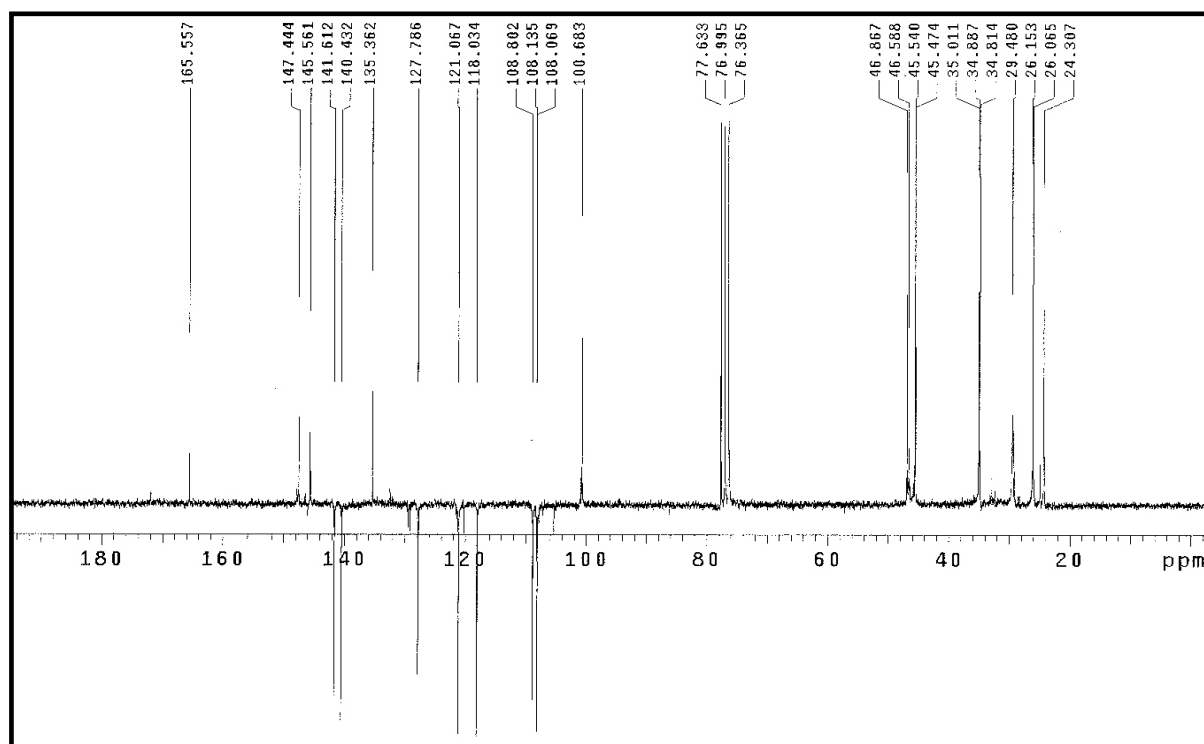


Figura 120. Expansão do Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pmoll-1* na região de 100 a 165,55 ppm

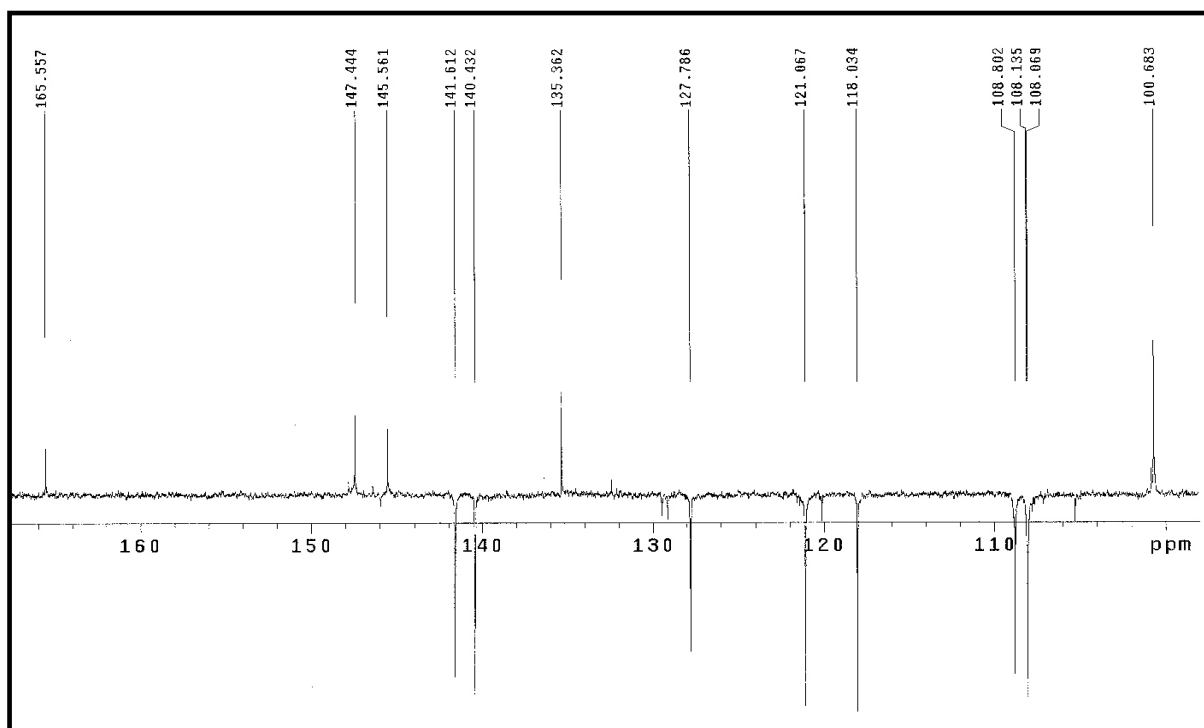


Figura 121. Expansão do Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pmoll-1* na região de 24 a 48 ppm

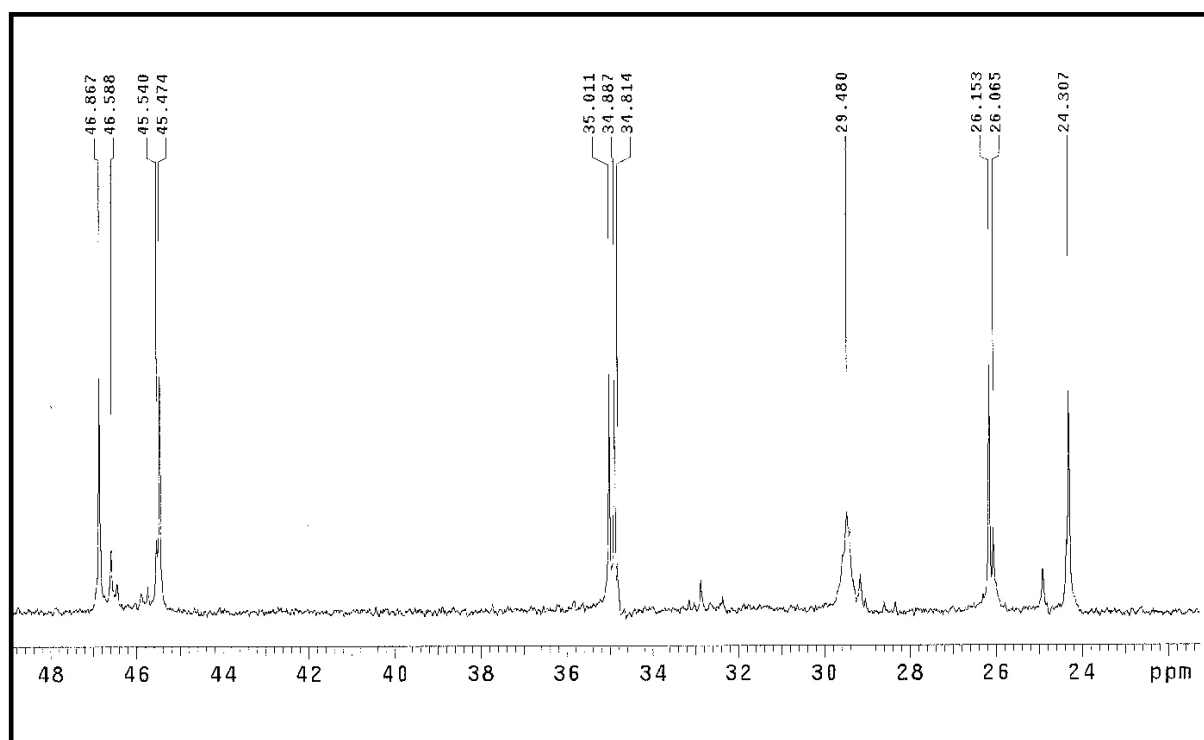


Figura 122. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de *Pmoll-1* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

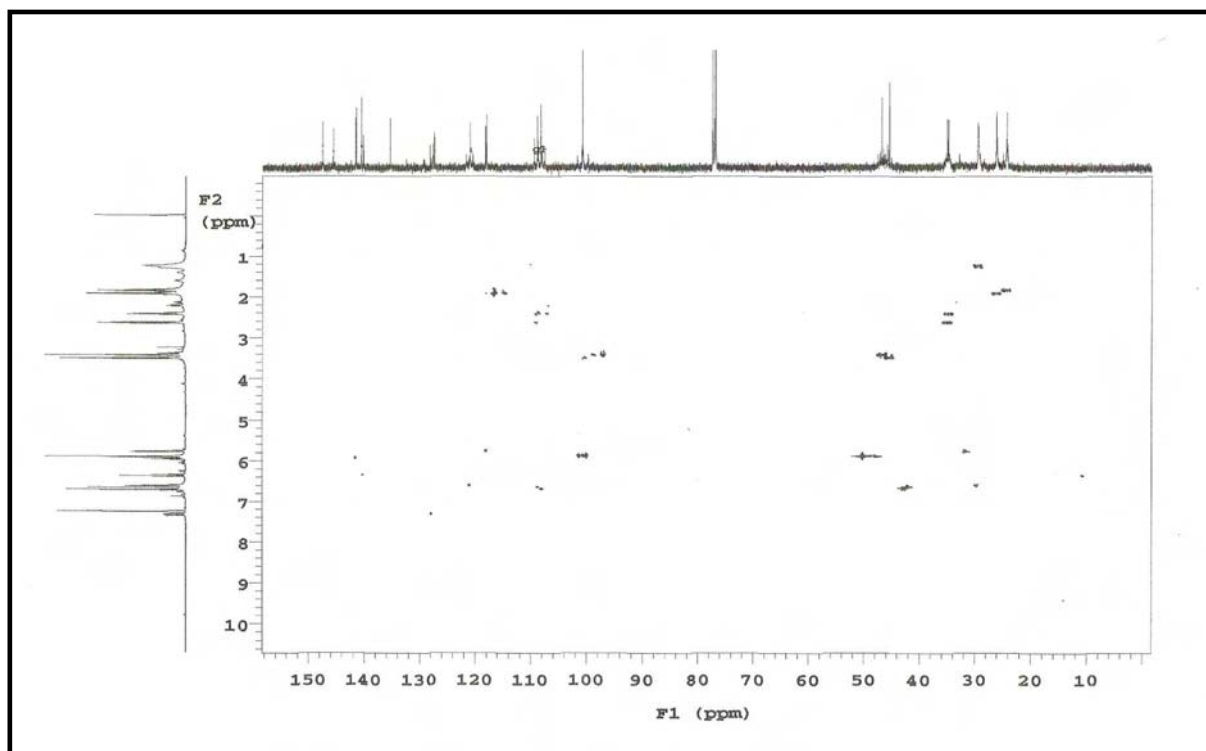


Figura 123. Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-1* na região de 7,8 – 5,6 x 100- 144 ppm

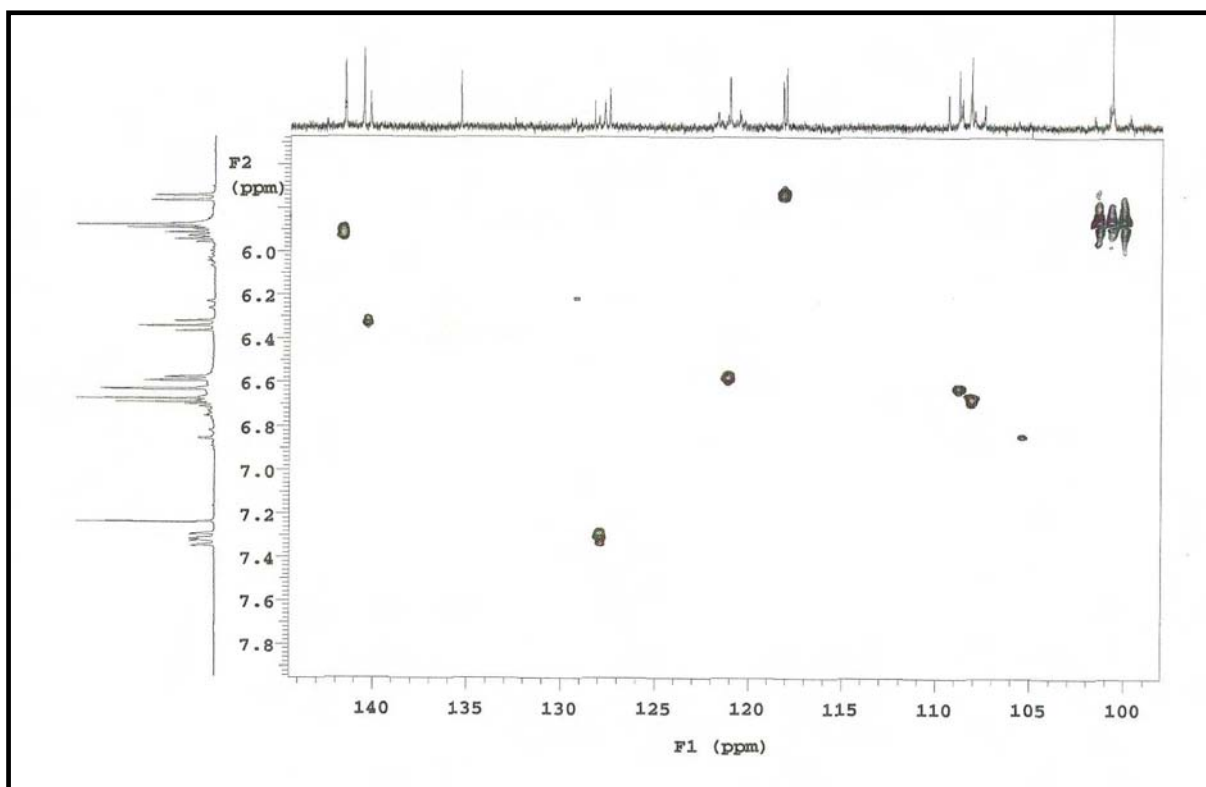


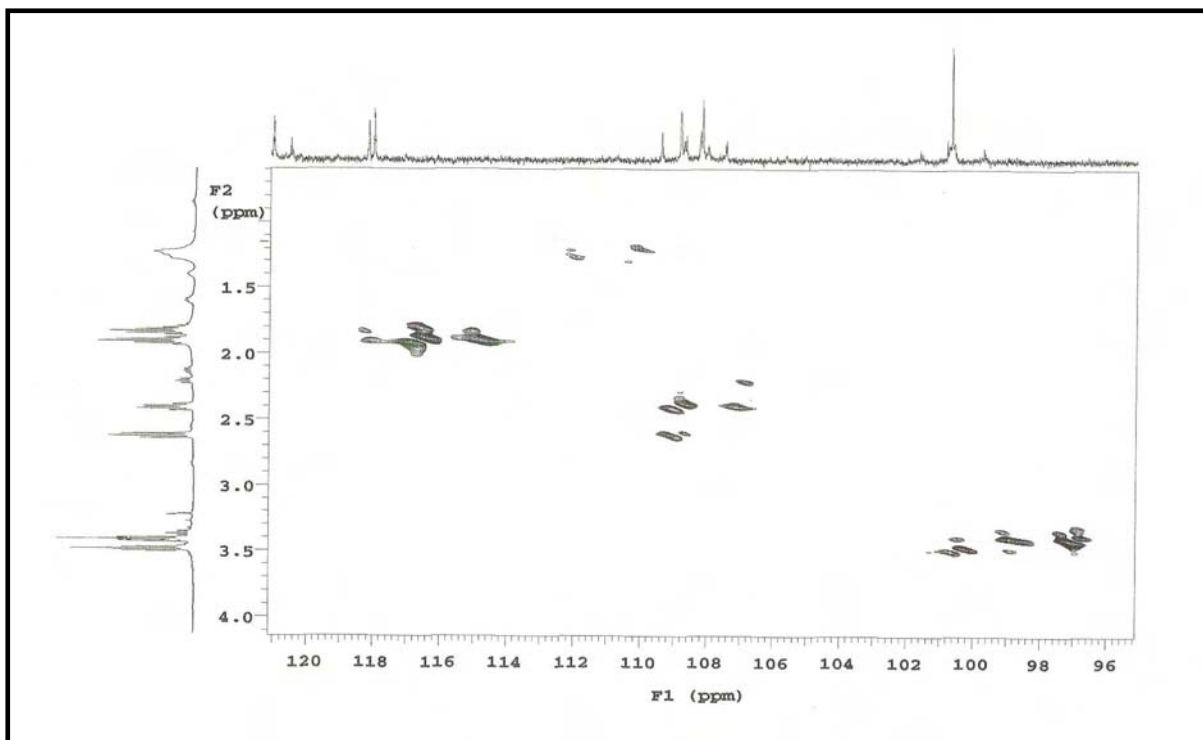
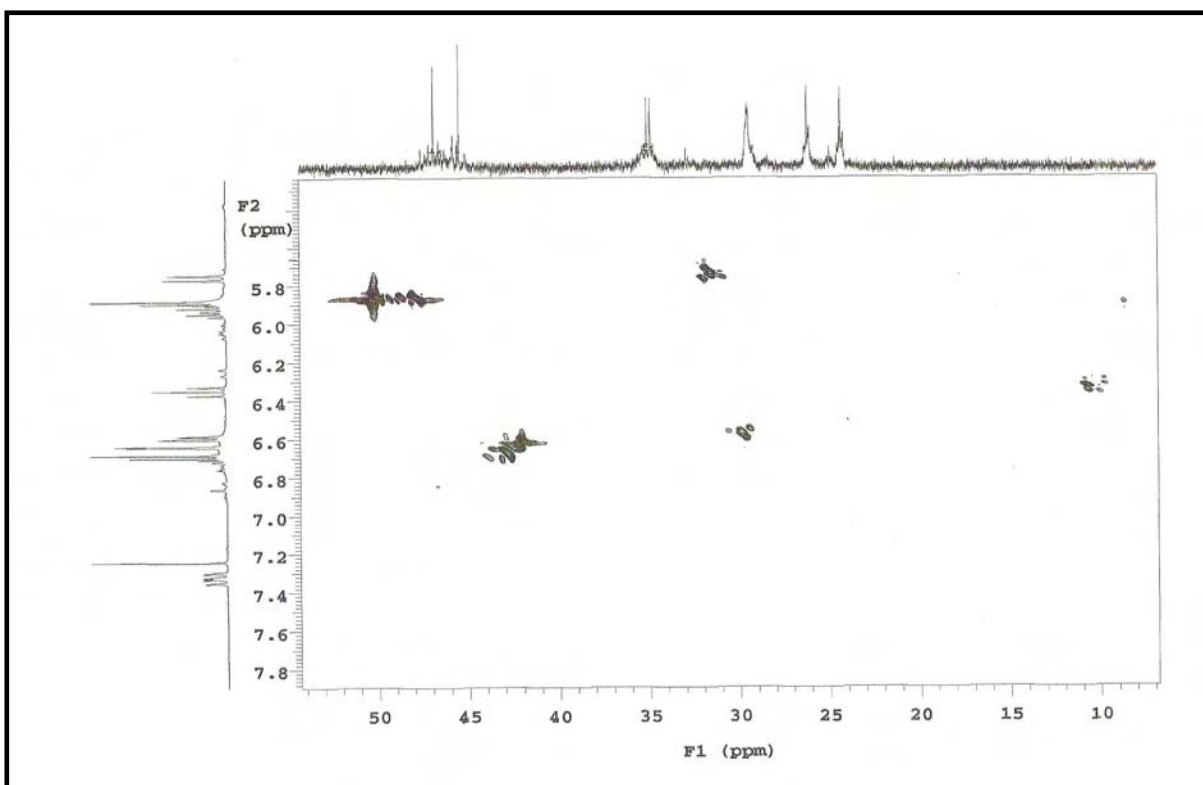
Figura 124. Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-1* na região de 4,0 – 0,5 x 96 - 120 ppm**Figura 125.** Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-1* na região de 7,8 – 5,4 x 10 - 50 ppm

Figura 126. Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-1* na região de 4,0 – 1,0 x 22 - 50 ppm

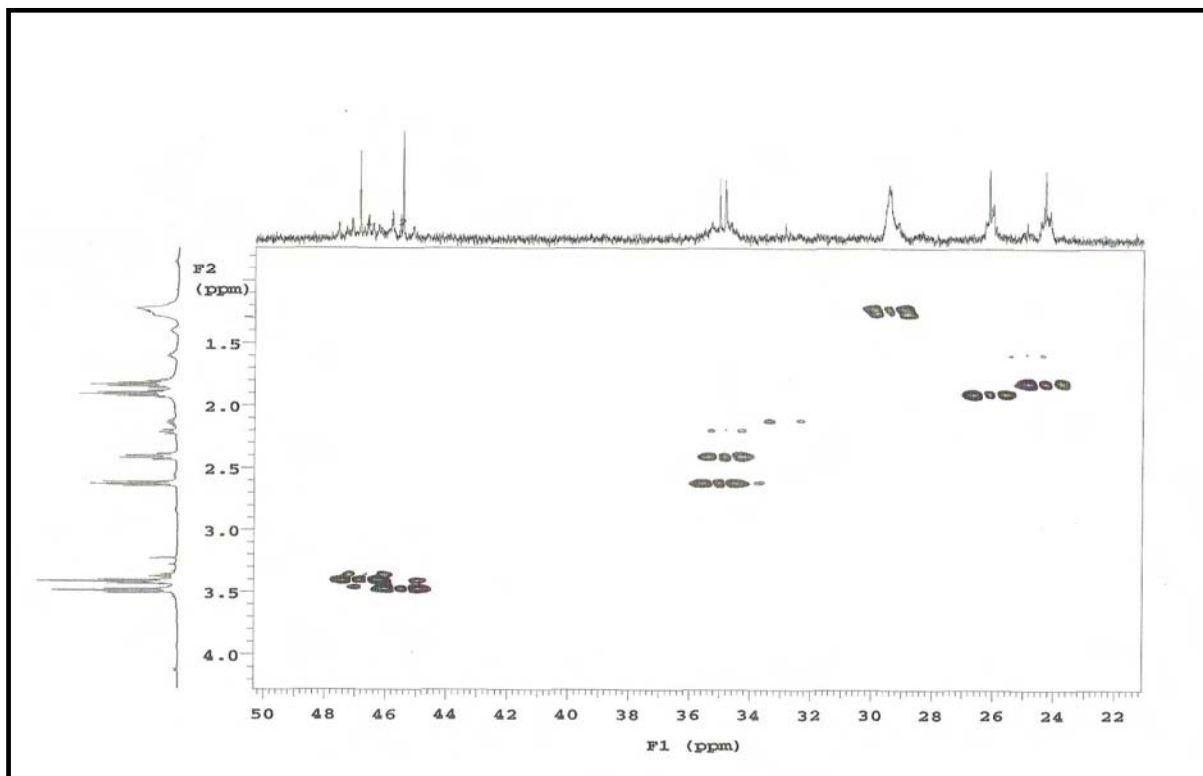


Figura 127. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de *Pmoll-1* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

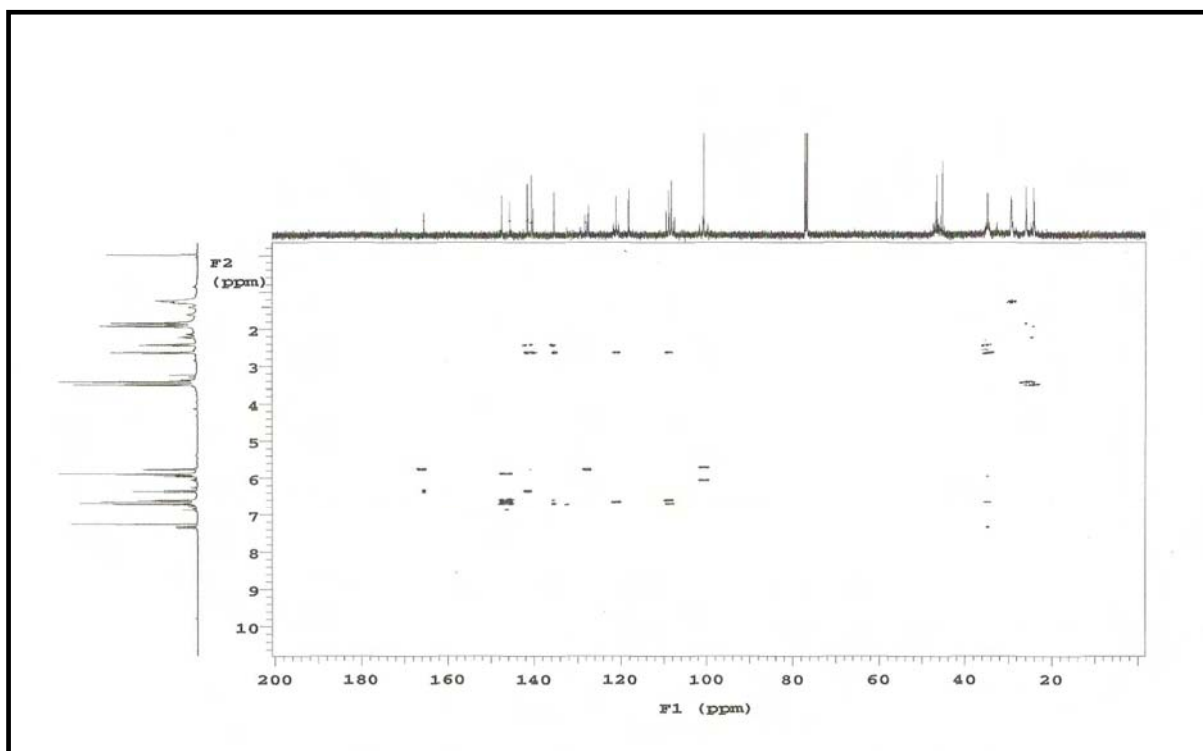


Figura 128. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-1* na região de 2,8 – 2,2 x 32,5 – 37,5 ppm

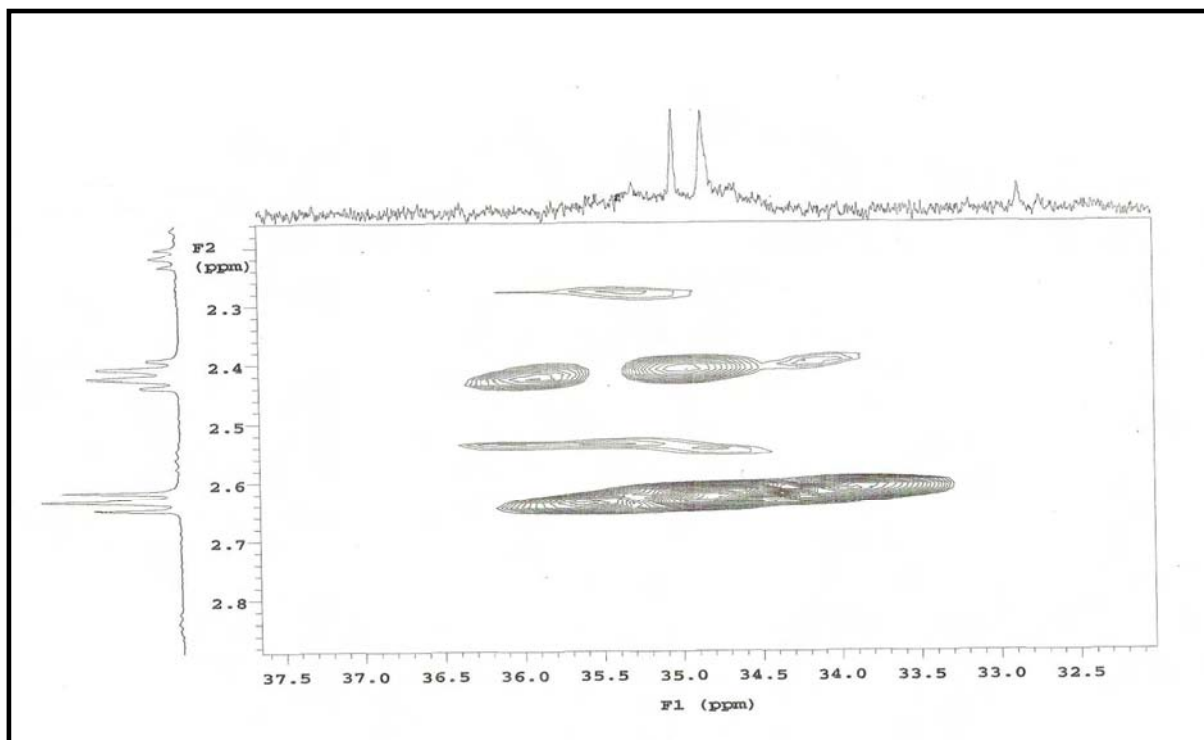


Figura 129. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-1* na região de 7,2 – 5,4 x 120,0 – 170,0 ppm

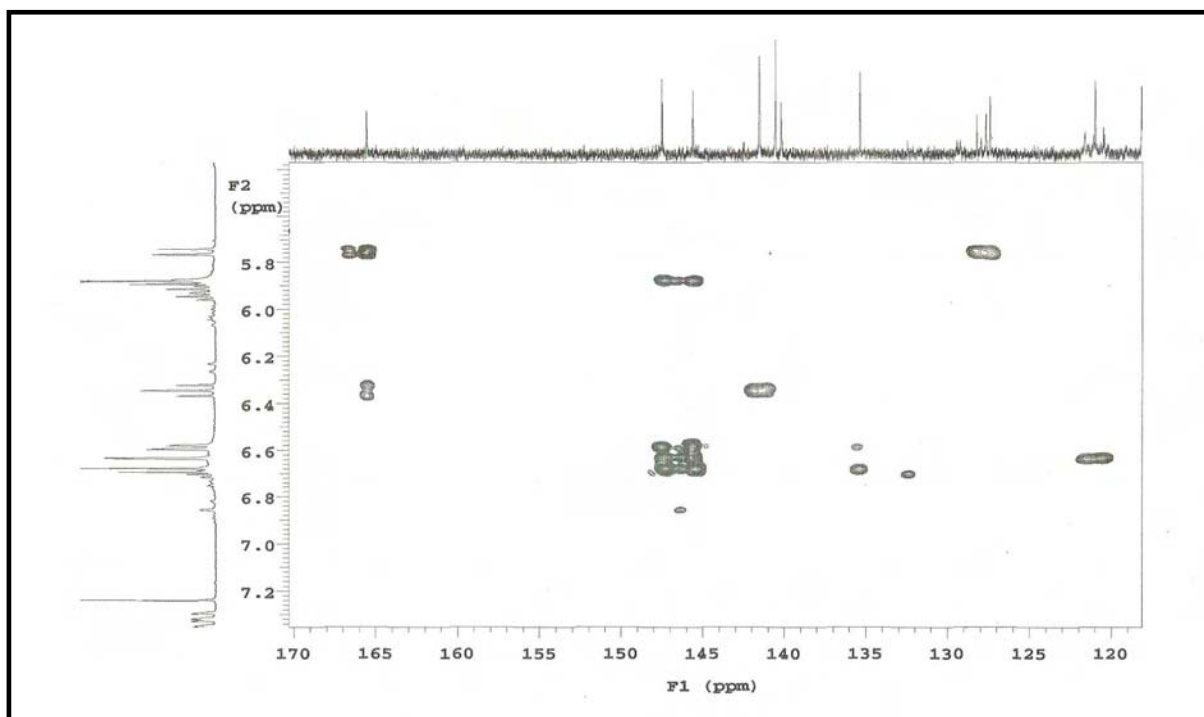


Figura 130. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-1* na região de 7,4 – 5,4 x 30,0 – 110,0 ppm

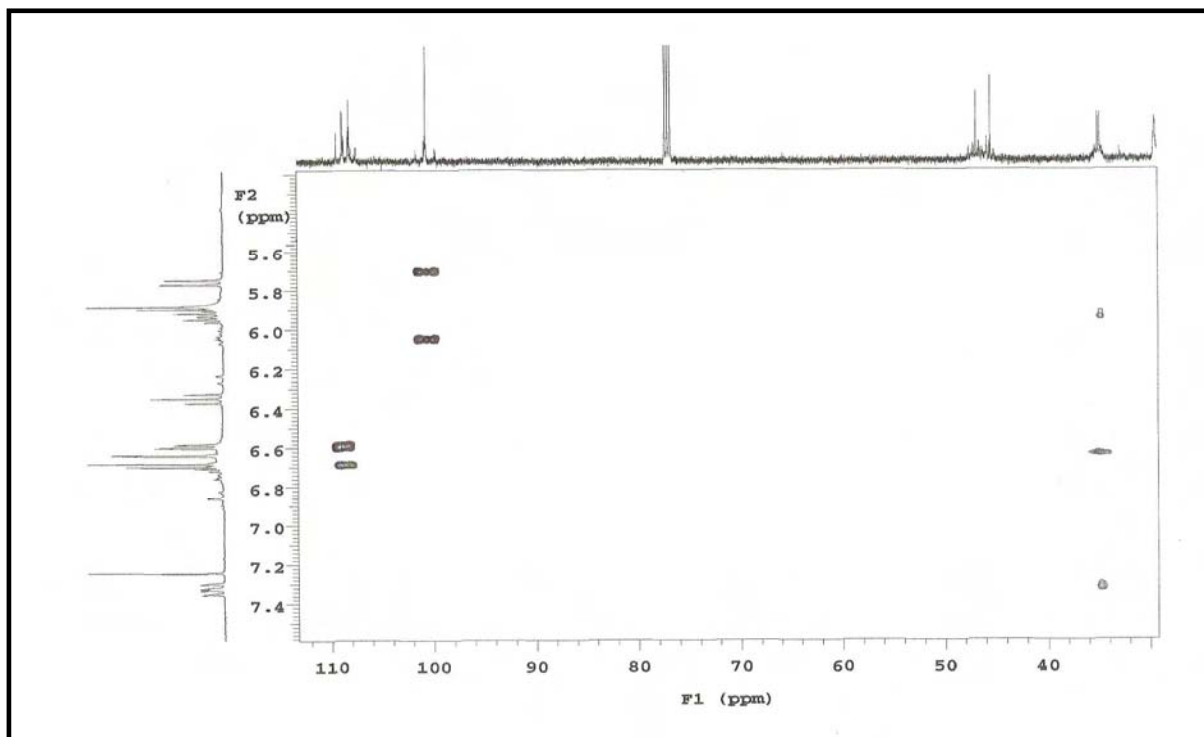


Figura 131. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-1* na região de 3,2 – 1,8 x 105,0 – 145,0 ppm

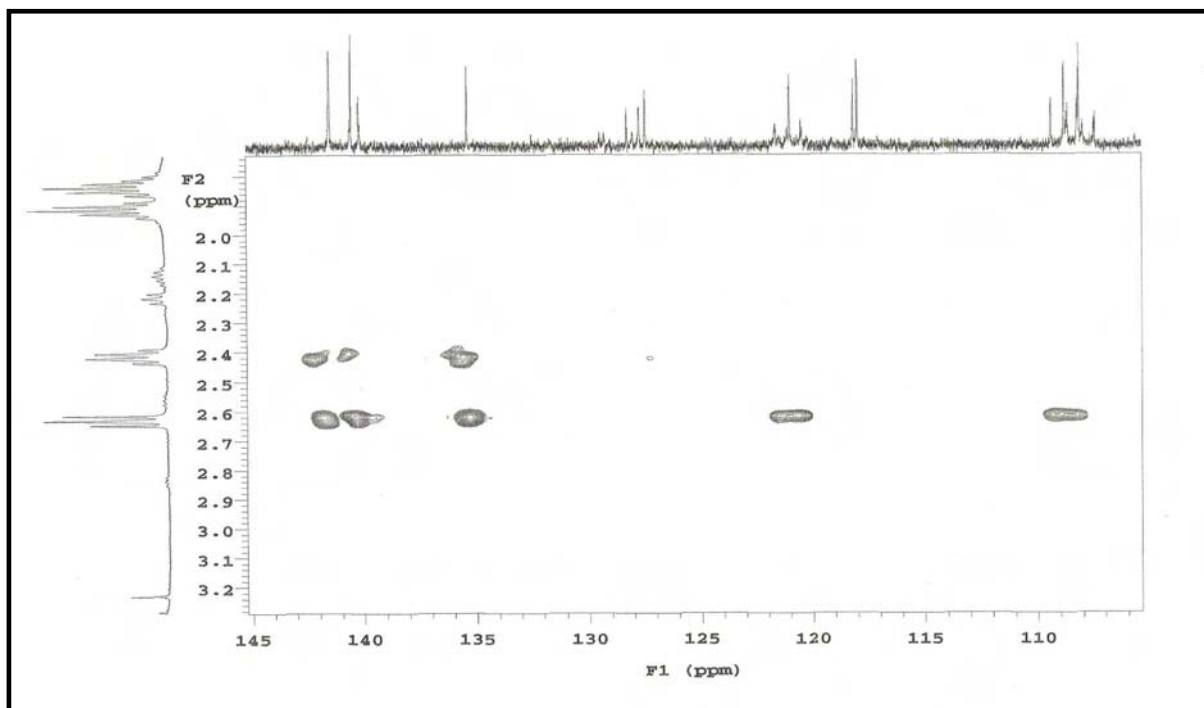


Figura 132. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-1* na região de 3,8 – 3,1 x 21,0 – 28,0 ppm

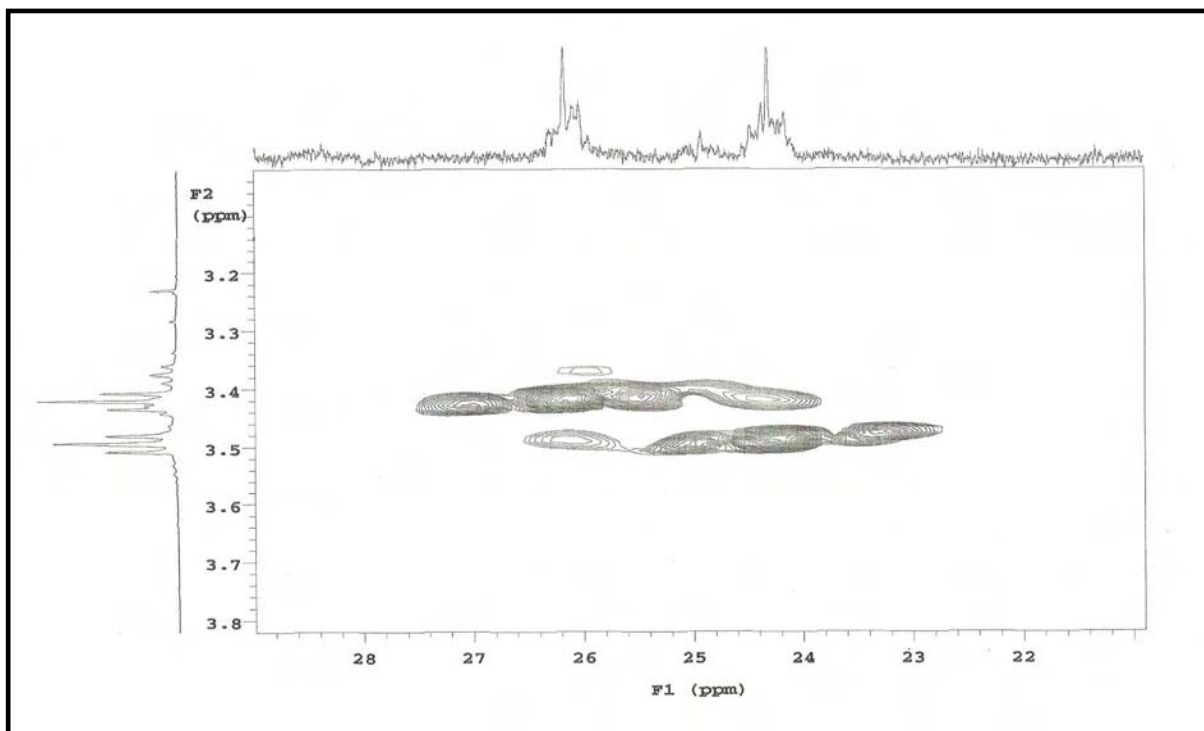


Figura 133. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-1* na região de 2,4 – 1,1 x 23,0 – 31,0 ppm

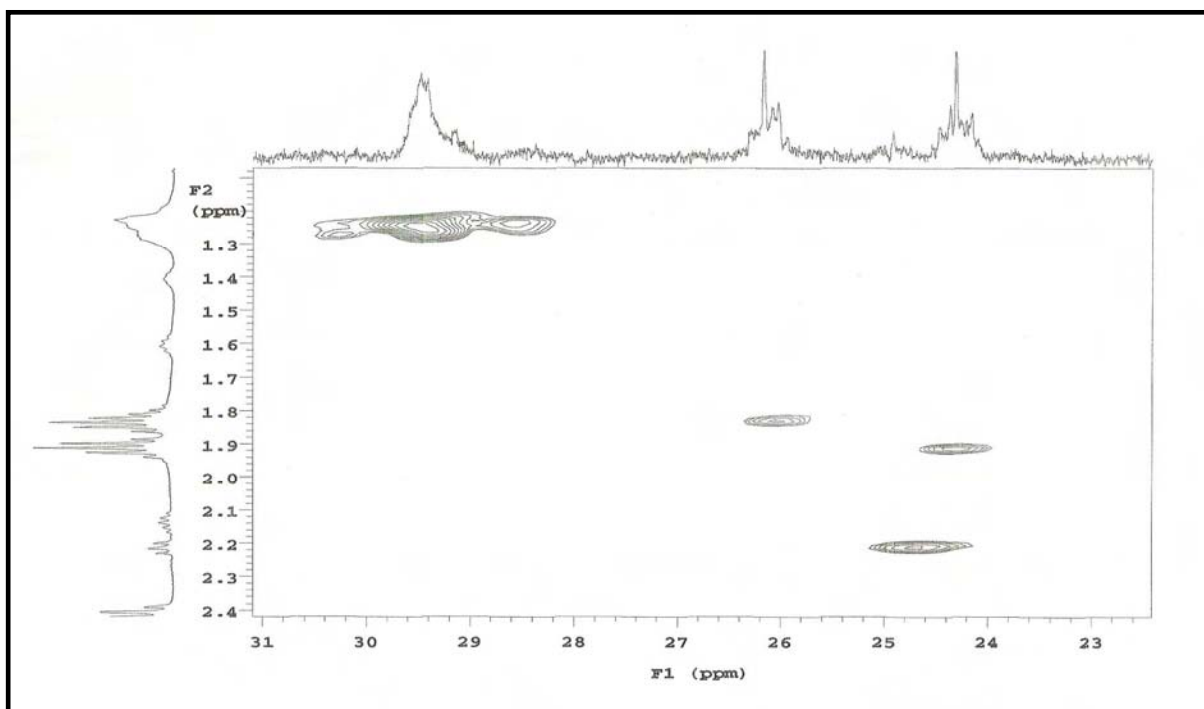


Figura 134. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de *Pmoll*-1 (CDCl_3 , 500 MHz)

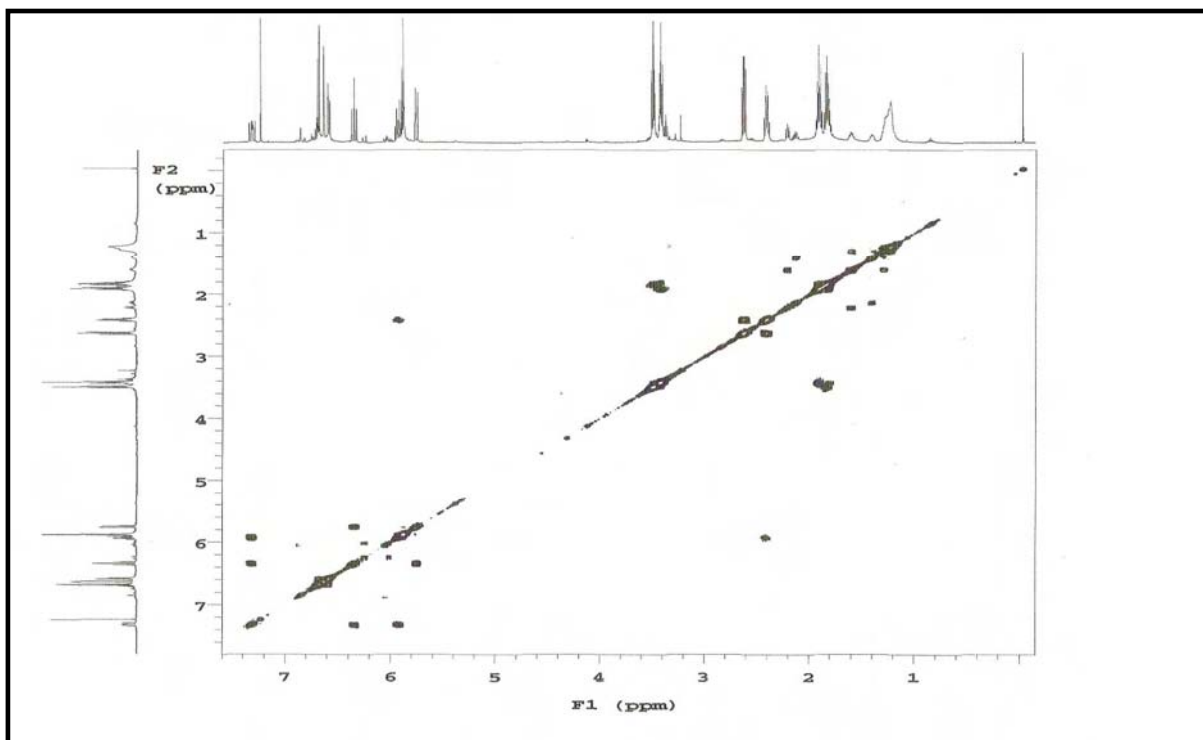


Figura 135. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll*-1 na região de 7,4 – 5,6 x 5,6 – 7,4 ppm

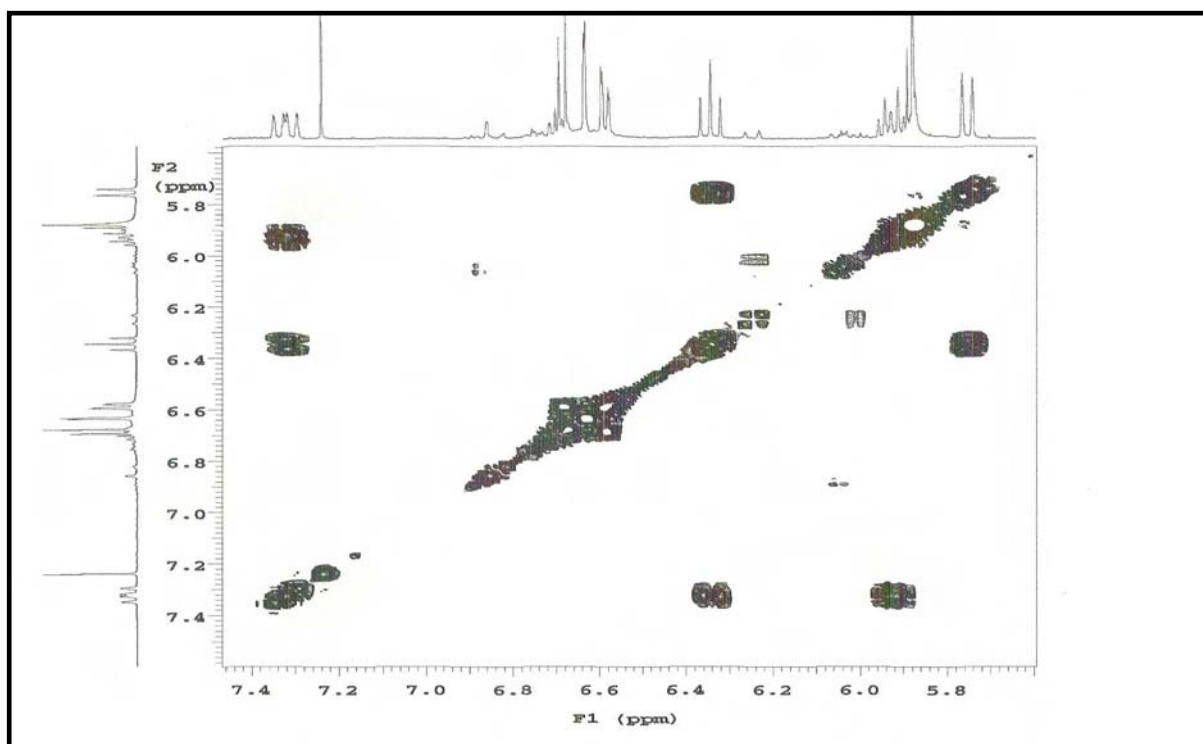


Figura 136. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll-1* na região de 6,4 – 5,67 x 5,7 – 6,4 ppm

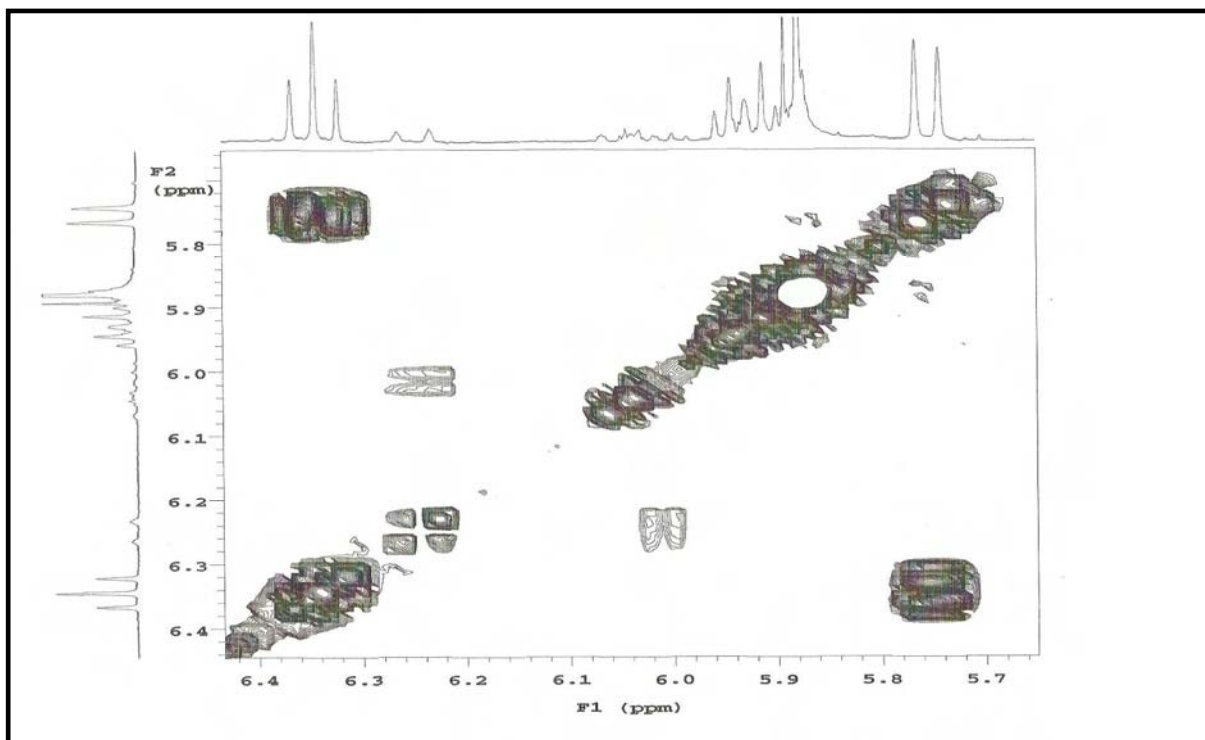


Figura 137. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll-1* na região de 6,0 – 1,5 x 1,5 – 6,0 ppm

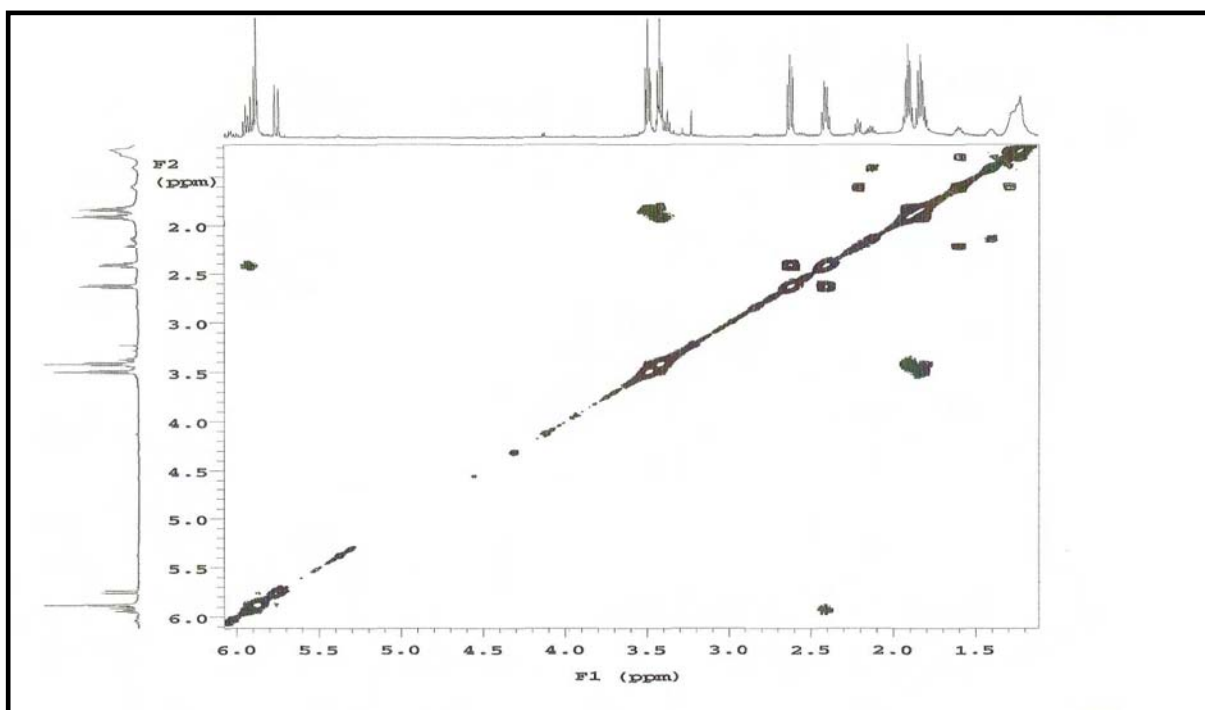


Figura 138. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll-1* na região de 3,6 – 1,2 x 1,3 – 3,6 ppm

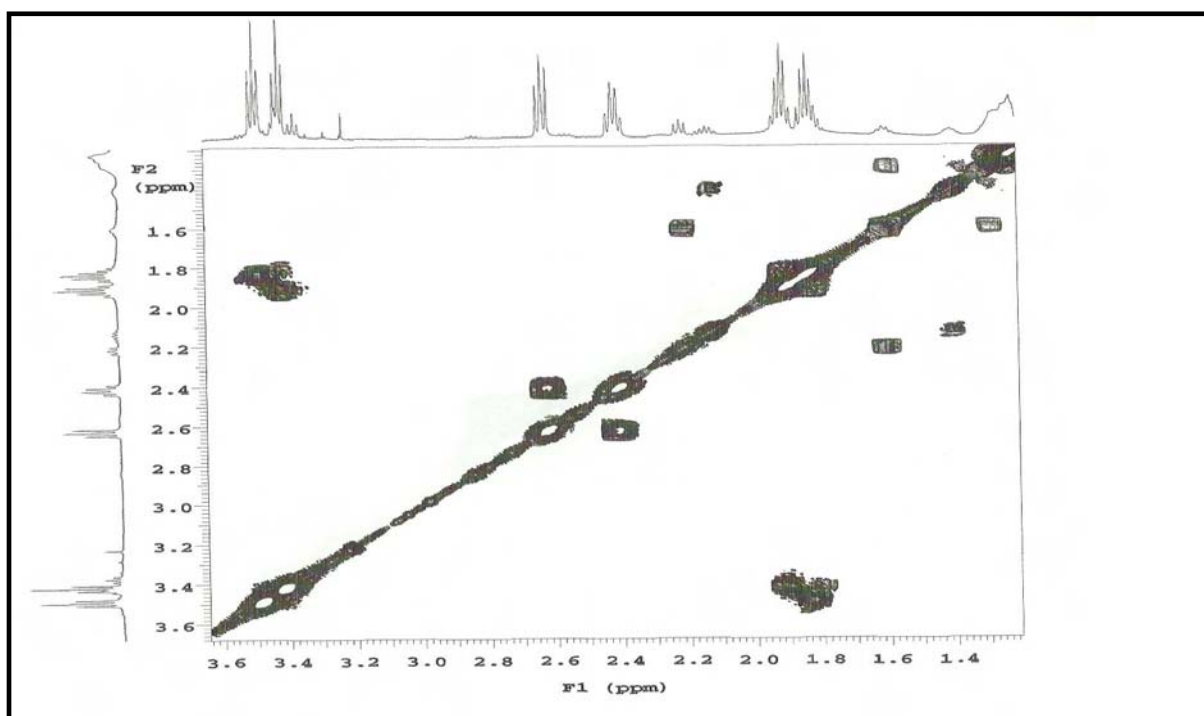


Figura 139. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll-1* na região de 2,3 – 1,2 x 1,2 – 2,3 ppm

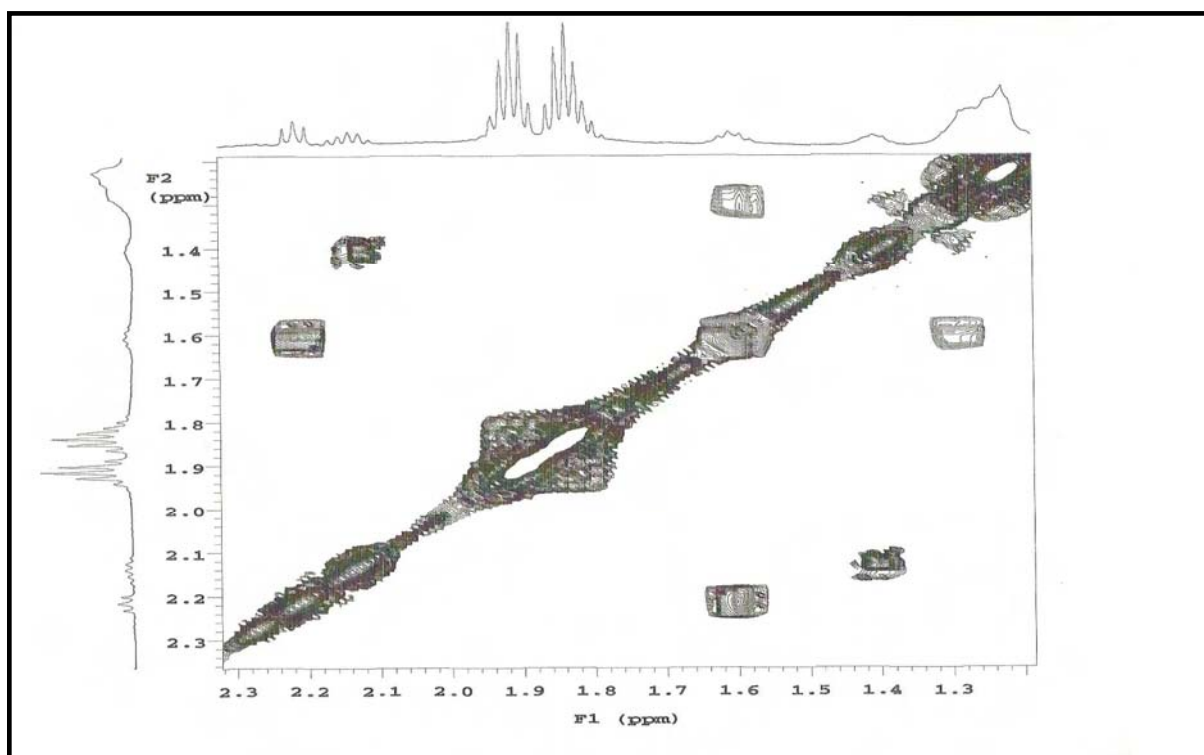
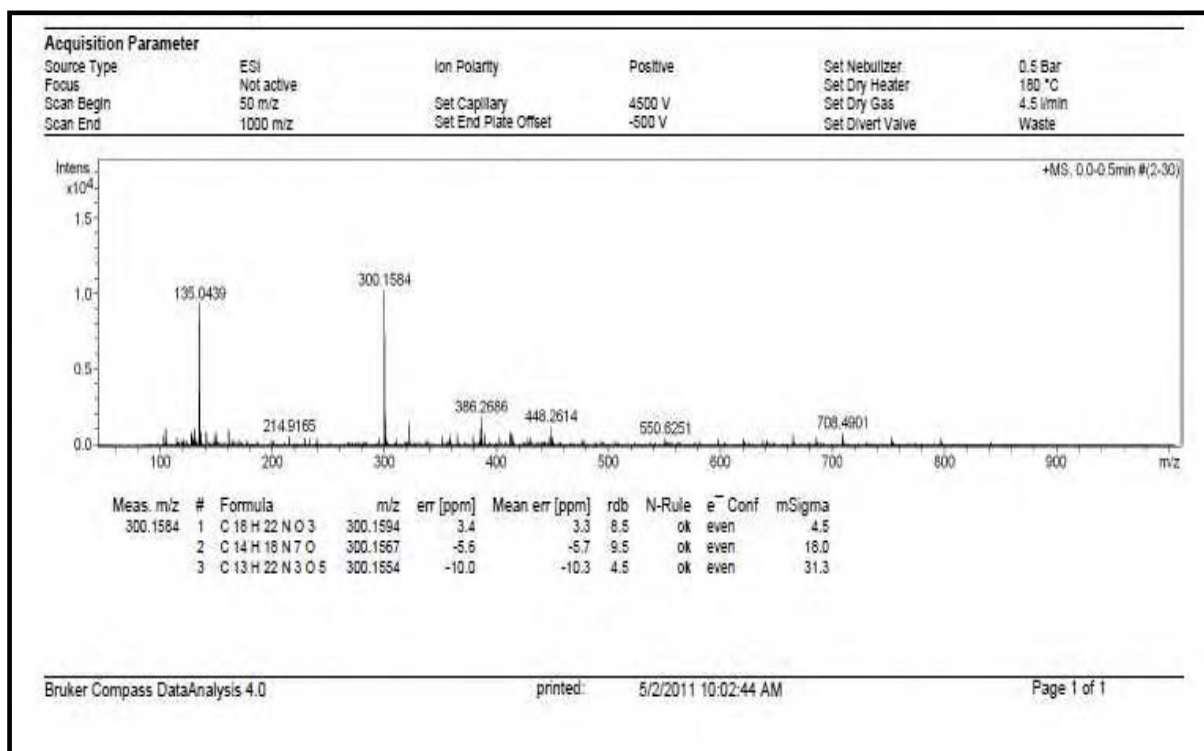


Figura 140. Espectro de massas (ESI-MS) de *Pmoll-1*

6.5.2. Determinação estrutural de *Pmoll-2*

A substância codificada como *Pmoll-2* apresentou-se como cristais amarelos, com ponto de fusão de 126,4 – 129,3 °C, sendo solúvel em clorofórmio.

O espectro de IV (Figura 141, p. 205) de *Pmoll-2* revelou uma absorção em 1708 cm⁻¹, referente a deformação axial de carbonila e vibrações em 1631 cm⁻¹ atribuída a deformação axial de C=C de alcenos. Estas duas absorções são compatíveis com estruturas que apresentam carbonila de éster α , β -insaturada. A presença de um sistema aromático foi corroborada pela evidência de absorções atribuídas a deformação axial de C=C de aromáticos em 1489 cm⁻¹ e 1579 cm⁻¹. Ainda no espectro de IV observou-se bandas características de deformação angular simétrica de CH₂ em 1452 cm⁻¹ e deformação angular de C-H fora do plano em 941 cm⁻¹ e 883 cm⁻¹ (SILVERSTEIN et al., 2007).

O espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) (Figuras 142 e 143, p. 205-206) revelou a presença de cinco sinais para seis hidrogênios. Na região de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos observou-se um duplete em δ_H 7,55 e outro em δ_H 6,25, integrando para um hidrogênio cada e com $J=9,5$ Hz, sugerindo que estes acoplam *cis* entre si. Observou-se ainda dois simpletos, um em δ_H 6,80 (s, 1H) e outro em δ_H 6,81 (s, 1H) sugerindo a presença de dois

hidrogênios ligados a carbonos aromáticos e outro em δ_H 6,04 (s, 2H), que permitiu inferir um substituinte metilenodioxílico no anel aromático.

O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$), utilizando as técnicas Broad-Band (BB) (Figuras 144 e 145, p. 206-207) e APT (Figuras 146 e 147, p. 207-208) mostrou dez absorções de carbonos, sendo quatro metínicos (δ_C 113,44; δ_C 143,40; δ_C 105,02 e δ_C 98,42), cinco não hidrogenados (δ_C 161,16; δ_C 151,30; δ_C 144,92; δ_C 151,28 e δ_C 112,71) e um característico de metilenodióxi em δ_C 102,32 que fortaleceu a proposta feita pelo espectro de RMN de ^1H quanto a presença deste grupamento, sendo esta atribuição corroborada pelos sinais em δ_C 144,92 e δ_C 151,30 atribuídos, respectivamente, aos carbonos que sustentam o referido grupo. O deslocamento químico em δ_C 161,16 é característico de carbono carbonílico de anel lactônico, conforme comparação com dados da literatura. Estes dados permitiram sugerir um esqueleto cumarínico para *P.moll-2* (SILVERSTEIN et al., 2007).

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear (HMQC – $^nJ_{CH}$ – $n=1$) ($^1H \times ^{13}C$, 200 e 50 MHz) (Figuras 148 a 150, p. 208-209) mostrou as correlações diretas entre os carbonos e seus respectivos hidrogênios. Os carbonos C-3 e C-4 do anel lactônico, em δ_C 113,44 e δ_C 143,40 mostraram correlação com os hidrogênios em δ_H 6,25 (d, $J=9,5$ Hz) e δ_H 7,55 (d, $J=9,5$ Hz), respectivamente. As absorções do carbono e hidrogênio da posição 3 em campo mais alto são justificadas pela sua posição α em relação à carbonila, portanto mais blindados que C-4 pela maior densidade eletrônica (SILVERSTEIN et al., 2007). O simpleto em δ_H 6,04 (s, 2H) mostrou correlação direta com o carbono em δ_C 102,32, característico do grupamento metilenodioxílico, enquanto que os hidrogênios ligados a carbonos aromáticos, cujo deslocamento foi mostrado pelo RMN ^1H em δ_H 6,80 (s, 1H) e δ_H 6,81 (s, 1H), mostraram correlacionar-se diretamente com os respectivos carbonos δ_C 98,42 e δ_C 105,02 levando a atribui-se δ_C 98,42 para C-8, em razão de ser vizinho a dois carbonos oxigenados. As correlações diretas $^1H \times ^{13}C$ obtidas no espectro de HMQC ($^1H \times ^{13}C$, 500 e 125 MHz) de *Pmoll-2* estão apresentadas na Tabela 27, p. 203.

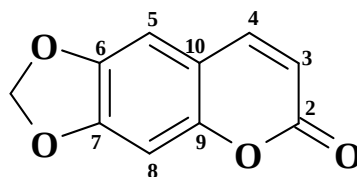
No espectro bidimensional de correlação heteronuclear (HMBC – $^nJ_{CH}$ – $n=2$ e 3) ($^1H \times ^{13}C$, 500 e 125 MHz) (Figuras 151 e 152, p. 210), observou-se a correlação a duas ligações do H-8 (s, δ_H 6,80) com o carbono C-7 (δ_C 151,30) e a três ligações com o carbono C-6 (δ_C 144,92). O simpleto em δ_H 6,81 mostrou correlacionar-se a duas ligações com C-10 (δ_C 112,71) e com o carbono C-4 (δ_C 143,40) a três ligações, permitindo assim atribuir o deslocamento químico do hidrogênio H-5. O hidrogênio H-4 (d, δ_H 7,55; $J=9,5$ Hz) apresentou correlações com os carbonos em δ_C 161,16 e δ_C 151,28, definindo desta forma os deslocamentos químicos dos carbonos C-2 e C-9, respectivamente. Ainda no espectro HMBC

observou-se as correlções entre o simpleto, integrando para dois hidrogênios, em δ_H 6,04 e os carbonos δ_C 144,92 e δ_C 151,30, reforçando as propostas feitas pelos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , quanto a presença de um substituinte metilenodioxílico no anel aromático.

O espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY (Figuras 153 e 154, p. 211) confirmou o acoplamento entre os hidrogênios H-3 (d, δ_H 6,25; $J=9,5$ Hz) e H-4 (d, δ_H 7,55; $J=9,5$ Hz) ao mostrar correlação entre seus deslocamentos químicos.

Para reforçar ainda mais as atribuições dos hidrogênios H-3, H-4 e H-5, observou-se no espectro bidimensional NOESY ($^1H \times ^1H$, 500 MHz) (Figuras 155 e 156, p. 212) o acoplamento espacial entre H-3 (d, δ_H 6,25; $J=9,5$ Hz) e H-4 (d, δ_H 7,55; $J=9,5$ Hz) e entre hidrogênio H-5 (s, δ_H 6,81) e H-4 (d, δ_H 7,55; $J=9,5$ Hz).

A comparação dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C com os valores encontrados na literatura (MAES et al., 2005) (Tabela 28, p. 204) permitiu identificar a substância *Pmoll-2* como sendo a 6,7-metilenodioxycumarina, conhecida como aiapina, isolada pela primeira vez no gênero *Piper*.



6,7-metilenodioxycumarina

Tabela 27. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em $CDCl_3$ e correlações entre sinais de $^1H \times ^{13}C$ (HMQC e HMBC) e $^1H \times ^1H$ (COSY e NOESY) de *Pmoll-2*

C	HMQC - $^1H \times ^{13}C$		HMBC - $^1H \times ^{13}C$		COSY	NOESY
	δ_C	δ_H	^2J	^3J	$^1H \times ^1H$	$^1H \times ^1H$
2	161,16	-				
10	112,71	-				
6	144,92	-				
7	151,30	-				
9	151,28	-				
CH						
3	113,44	6,25 (d, $J = 9,5$ Hz)			H-4	H-4

4	143,40	7,55 (d, $J = 9,5$ Hz)		C-2; C-9	H-3	H-3
5	105,02	6,81 (s)	C-6; C-10	C-4; C-7		
8	98,42	6,80 (s)	C-7	C-6; C-10		
CH₂O₂	102,32	6,04 (s)		C-6; C-7		

Tabela 28. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pmoll-2* com os valores encontrados na literatura (MAES et al., 2005) (δ em ppm e J em Hz)

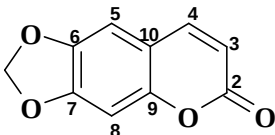
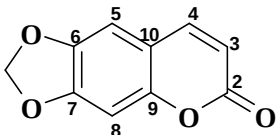
<i>Pmol-2</i> (CDCl ₃)			Literatura (CDCl ₃)	
				
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
2	161,16	-	161,26	-
10	112,71	-	112,68	-
6	144,92	-	144,92	-
7	151,30	-	151,25	-
9	151,28	-	151,28	-
CH				
3	113,44	6,25 (d, $J = 9,5$ Hz)	113,40	6,28 (d, $J = 9,6$ Hz)
4	143,40	7,55 (d, $J = 9,5$ Hz)	143,50	7,58 (d, $J = 9,5$ Hz)
5	105,02	6,81 (s)	105,03	6,82 (s)
8	98,42	6,80 (s)	98,42	6,83 (s)
CH₂O₂	102,32	6,04 (s)	102,35	6,07 (s)

Figura 141. Espectro de IV *Pmoll-2* em pastilha de KBr

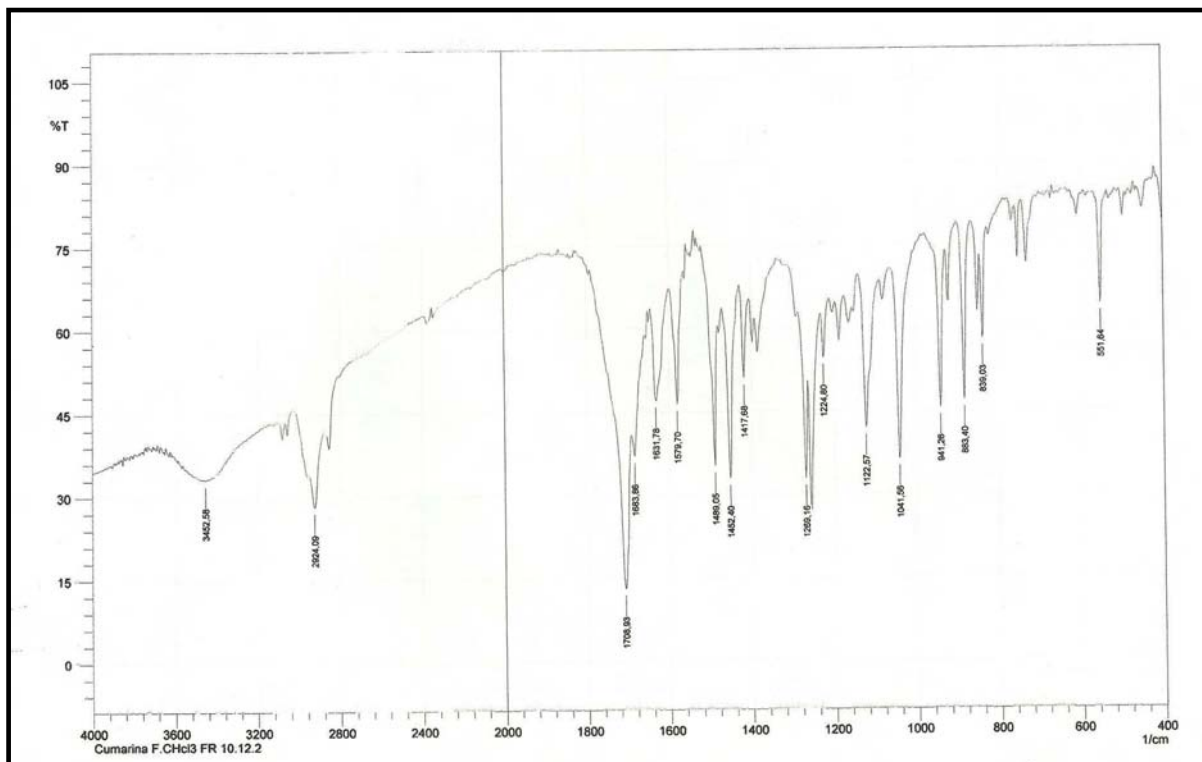


Figura 142. Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-2* (CDCl_3 , 500MHz)

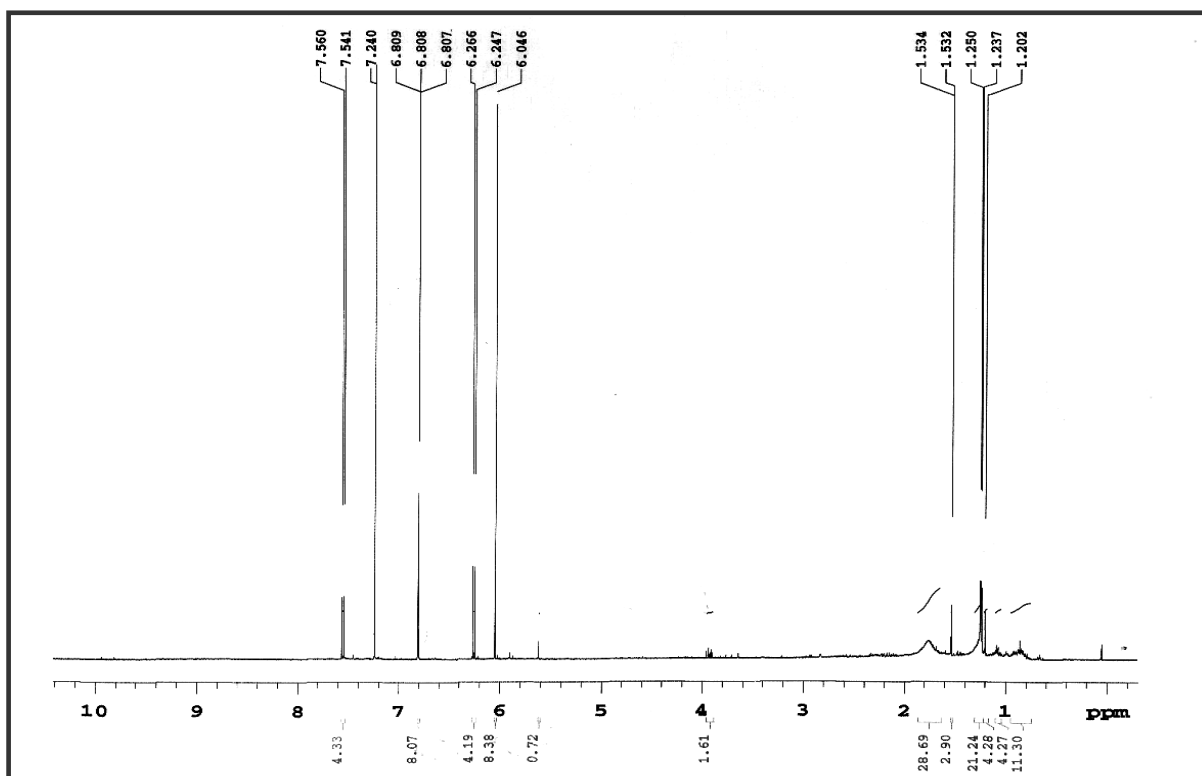


Figura 143. Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-2* na região de 6,1 a 7,6 ppm

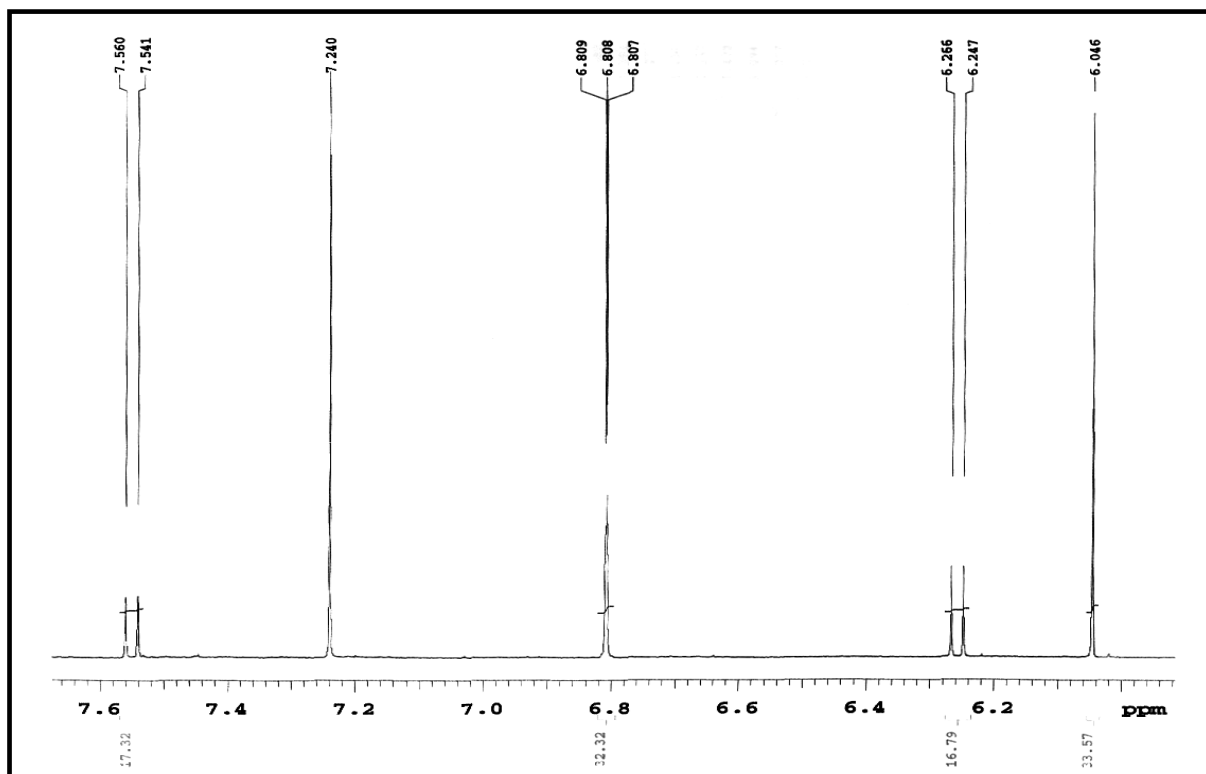


Figura 144. Espectro de RMN ^{13}C -BB de *Pmoll-2* (CDCl_3 , 125 MHz)

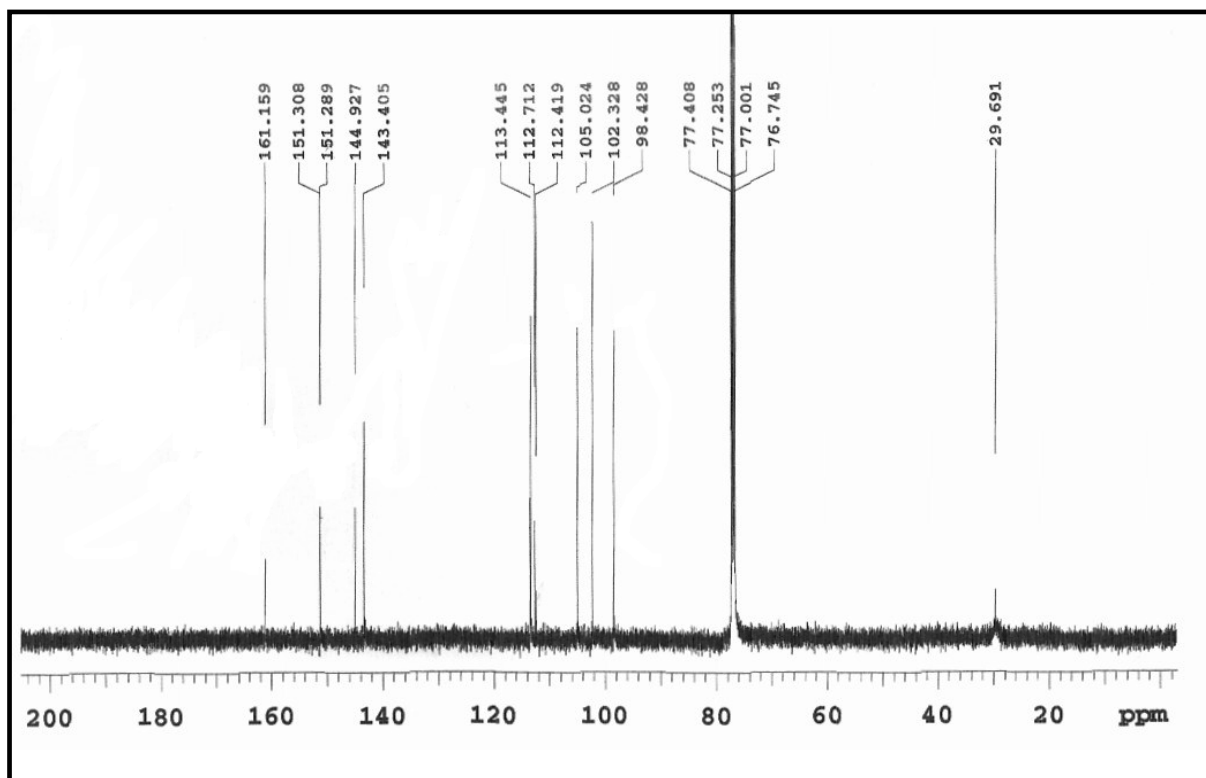


Figura 145. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de *Pmoll-2* na região de 162 – 96 ppm

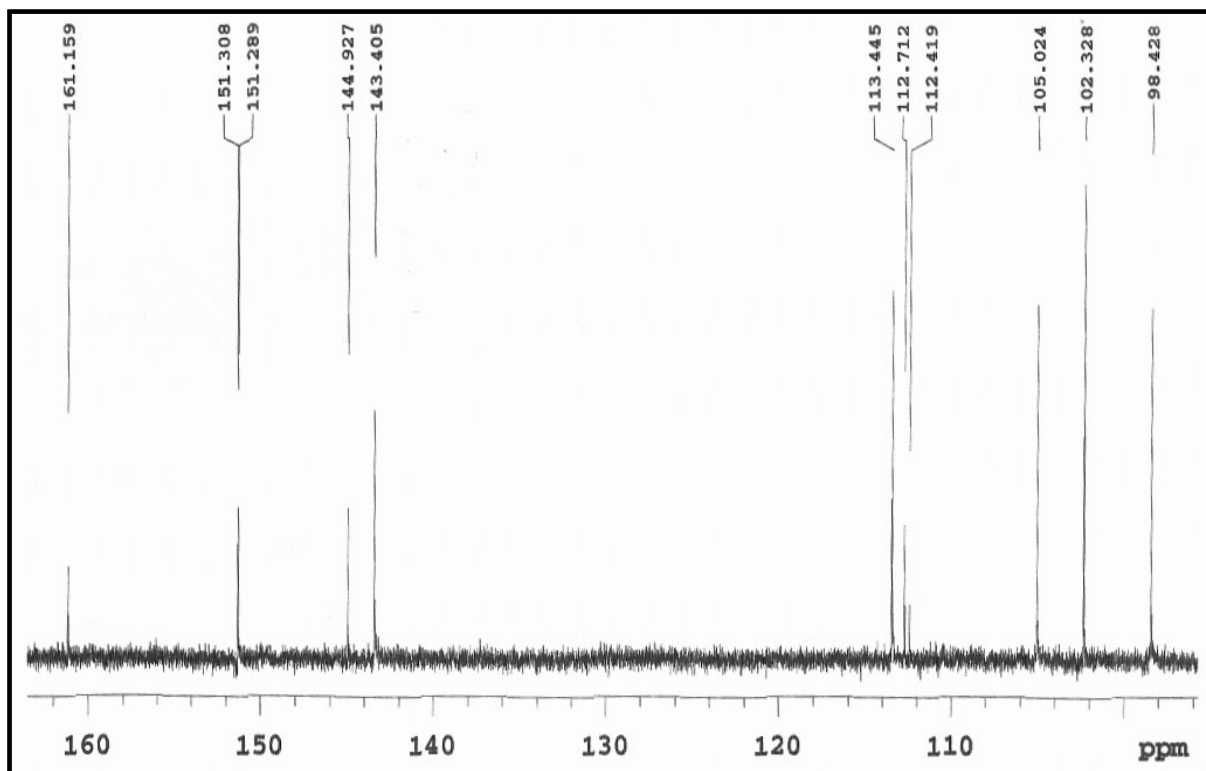


Figura 146. Espectro de RMN ^{13}C - APT de *Pmoll-2* (CDCl_3 , 125 MHz)

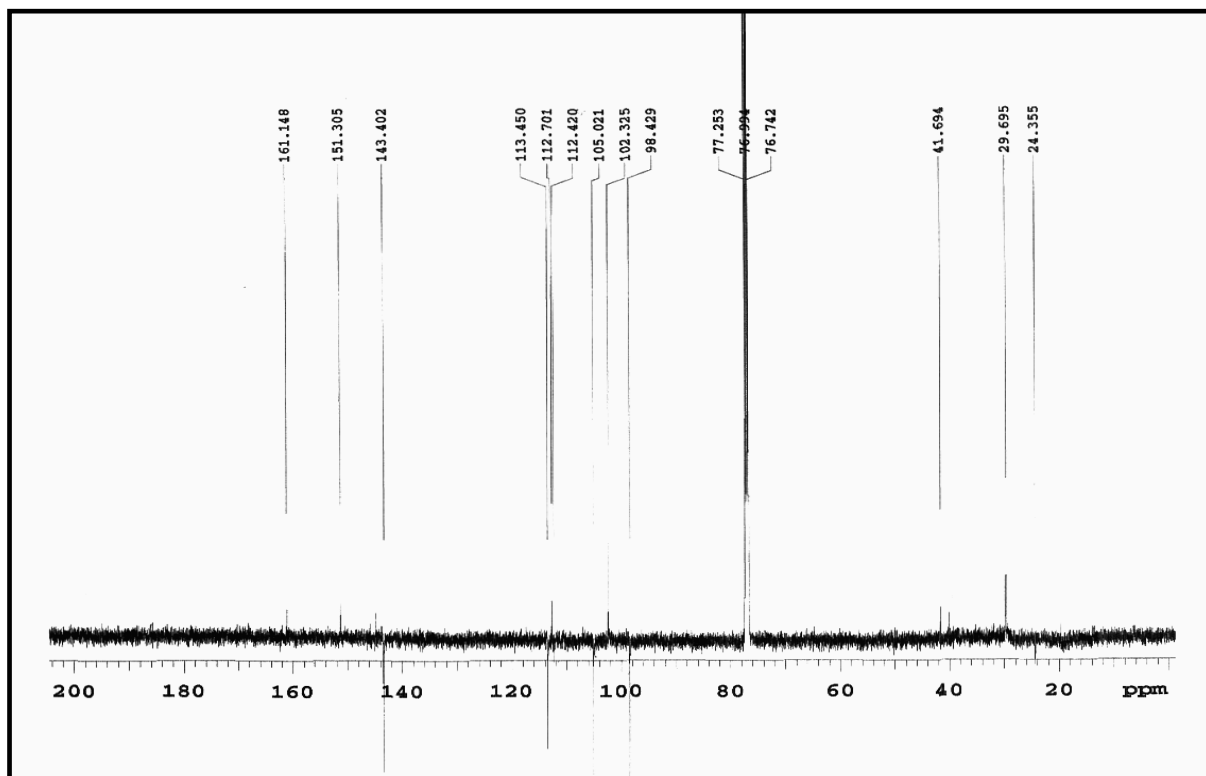


Figura 147. Expansão do Espectro de RMN ^{13}C - APT de *Pmoll-2* na região de 162 a 96 ppm

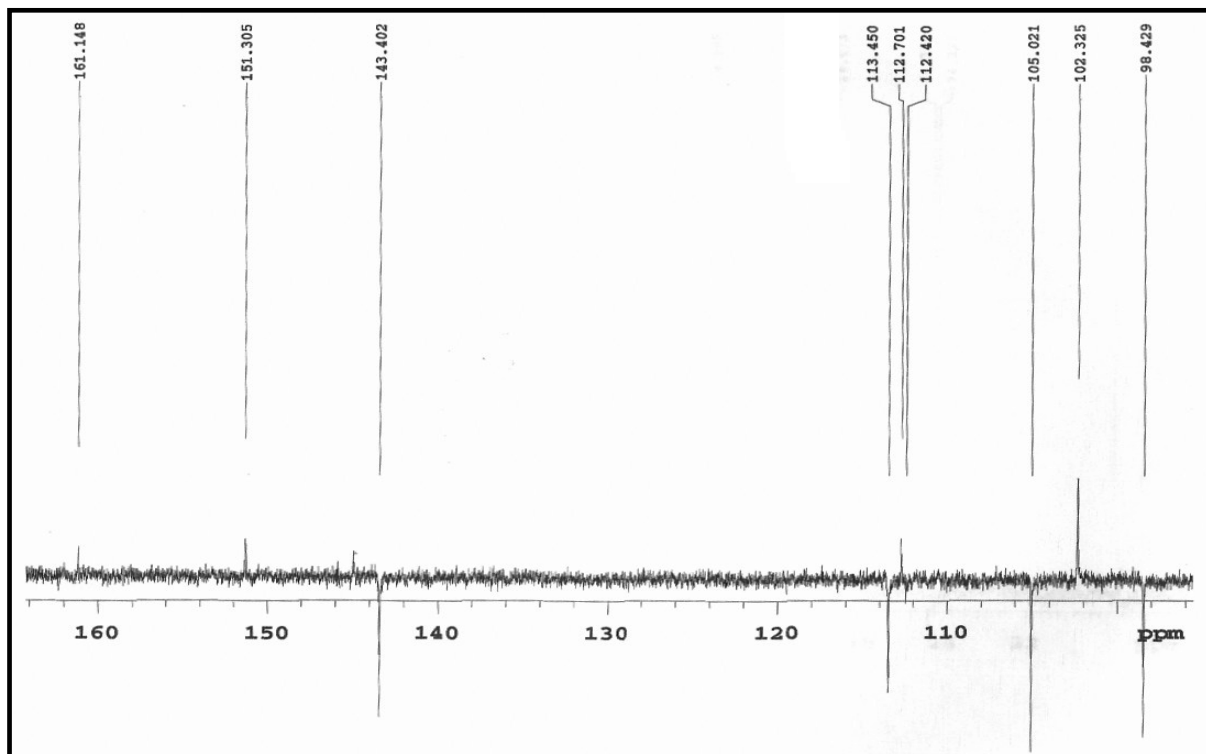


Figura 148. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de *Pmoll-2* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

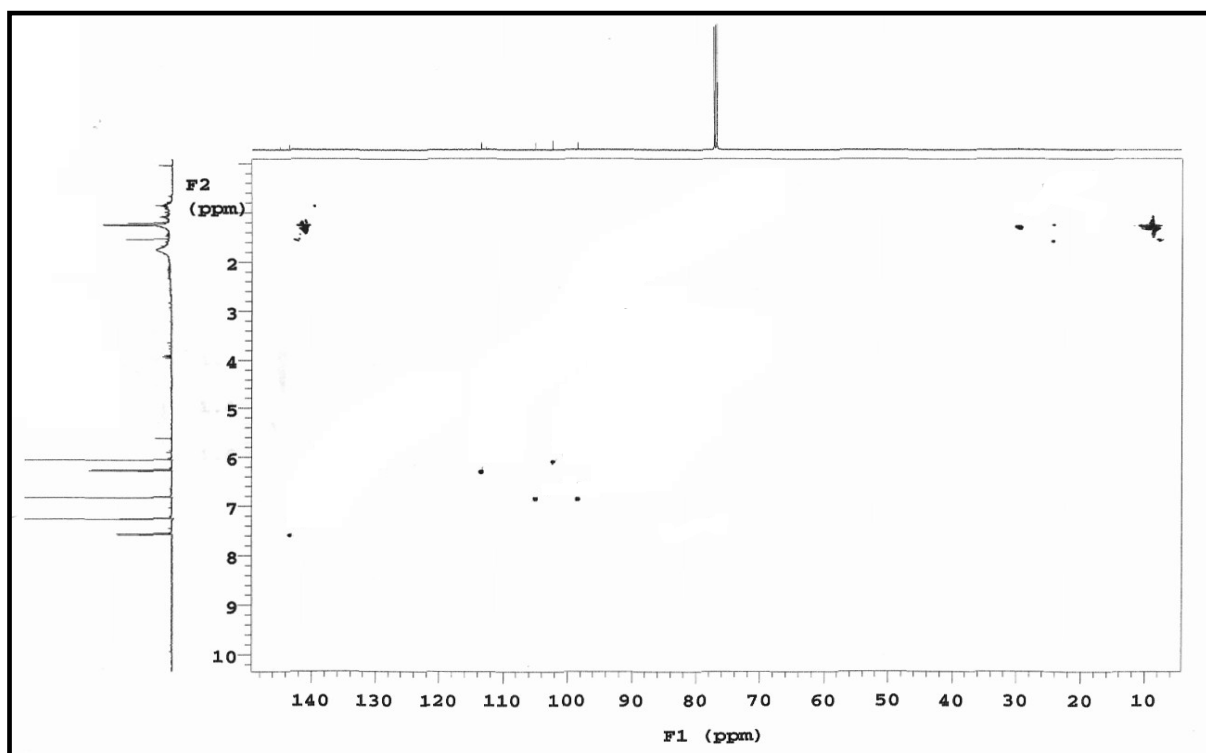


Figura 149. Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-2* na região de 8,4 – 5,6 x 100- 145 ppm

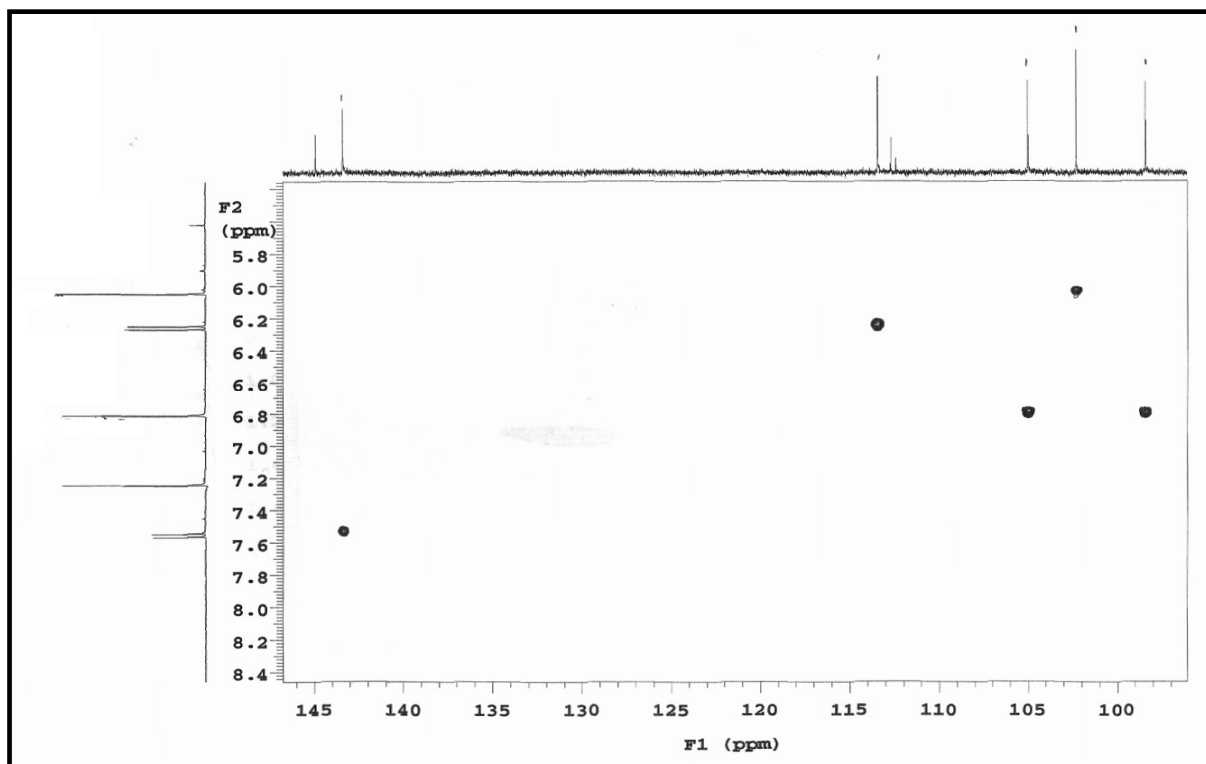


Figura 150. Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-2* na região de 2,4 – 0,4 x 22- 32 ppm

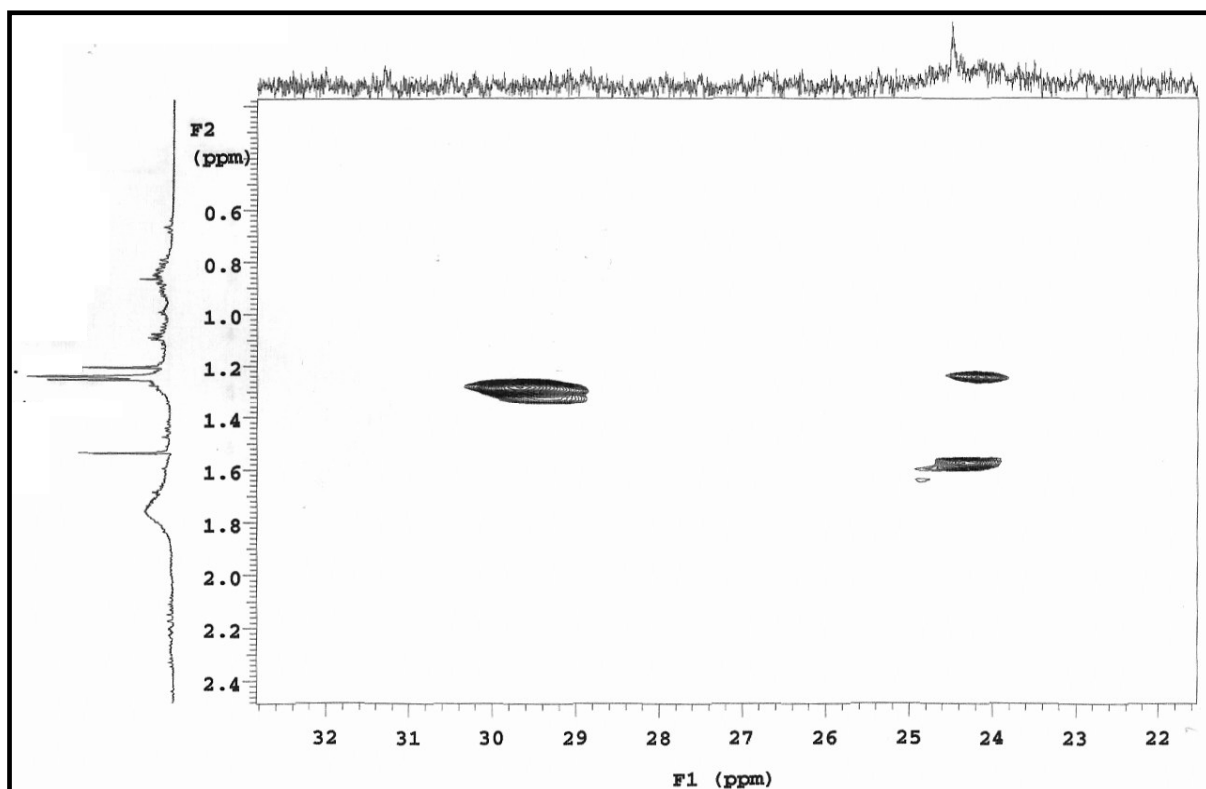


Figura 151. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C - HMBC de *Pmoll-2* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

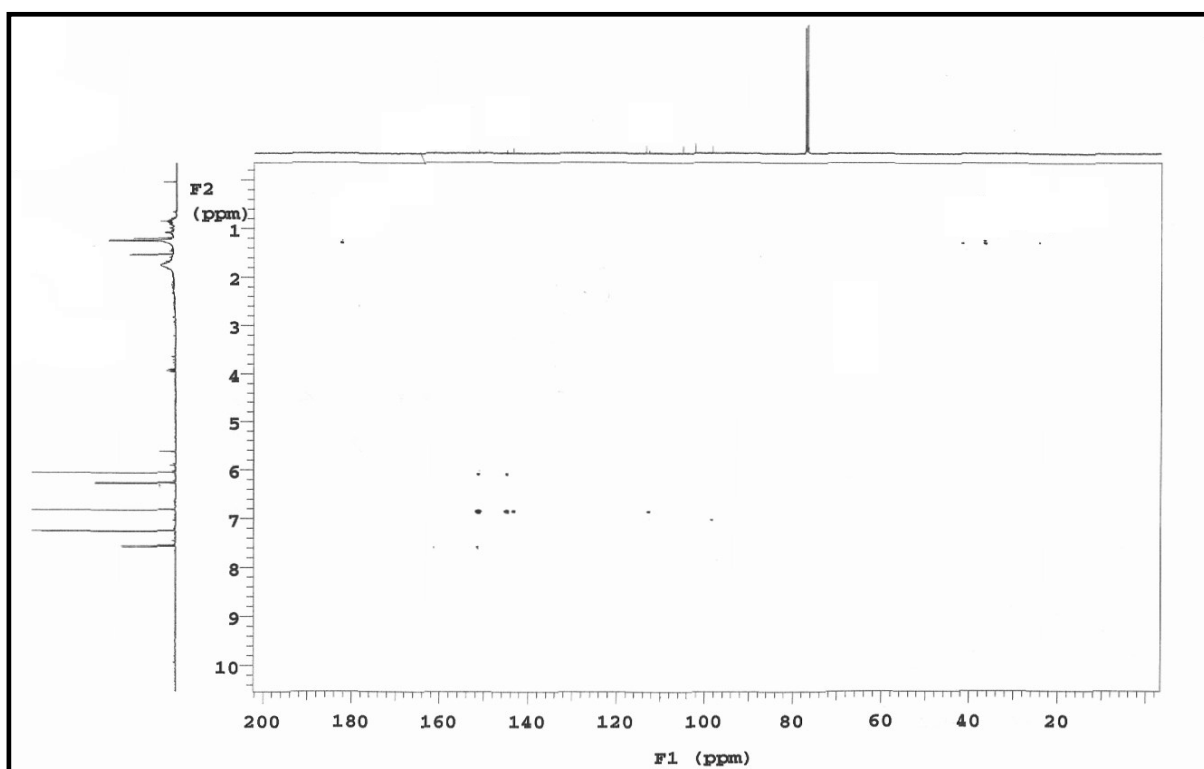


Figura 152. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-2* na região de 7,6 – 5,9 x 152 – 143 ppm

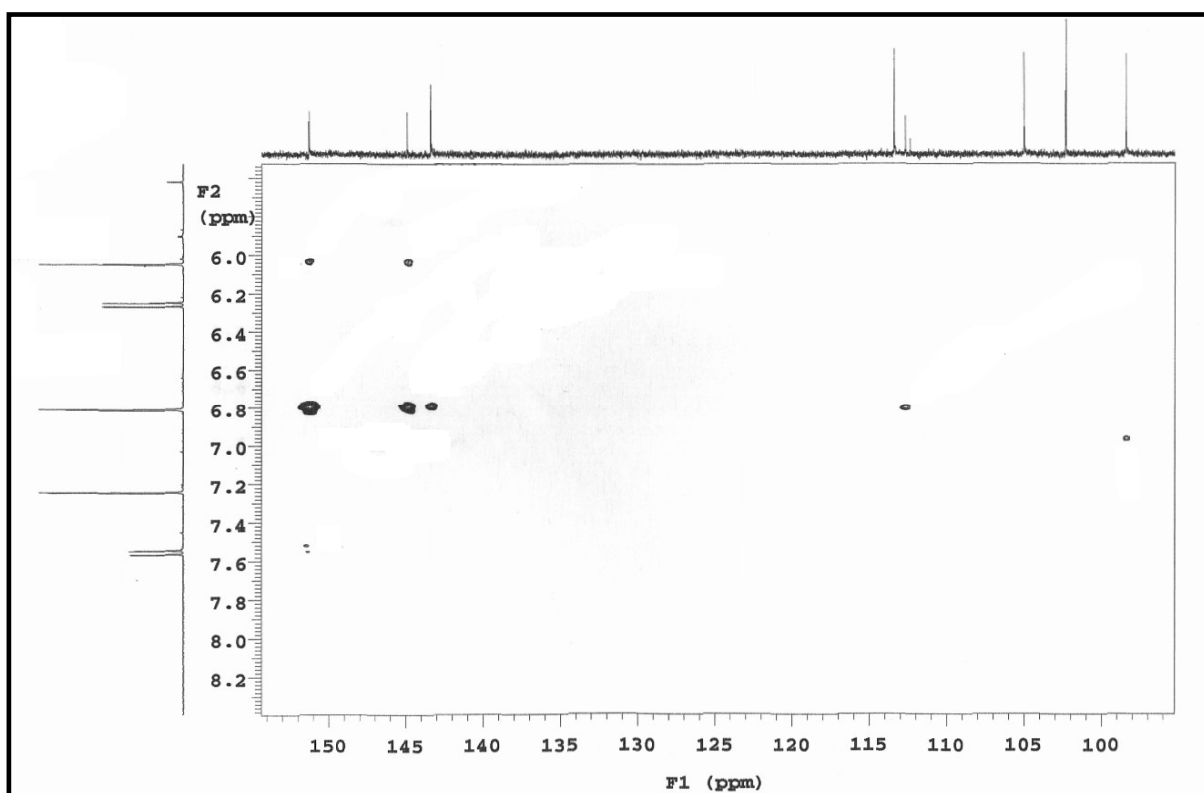


Figura 153. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de *Pmoll-2* (CDCl_3 , 500 MHz)

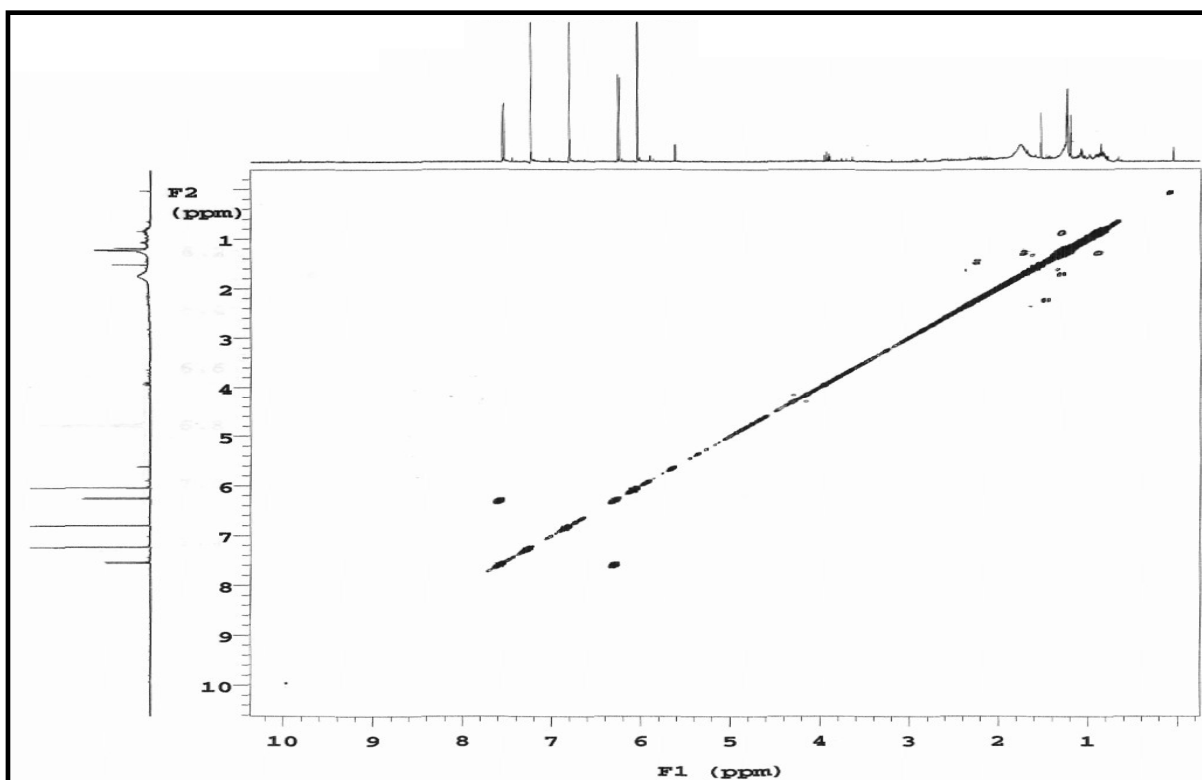


Figura 154. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll-2* na região de 7,6 – 6,2 x 7,8 – 6,0 ppm

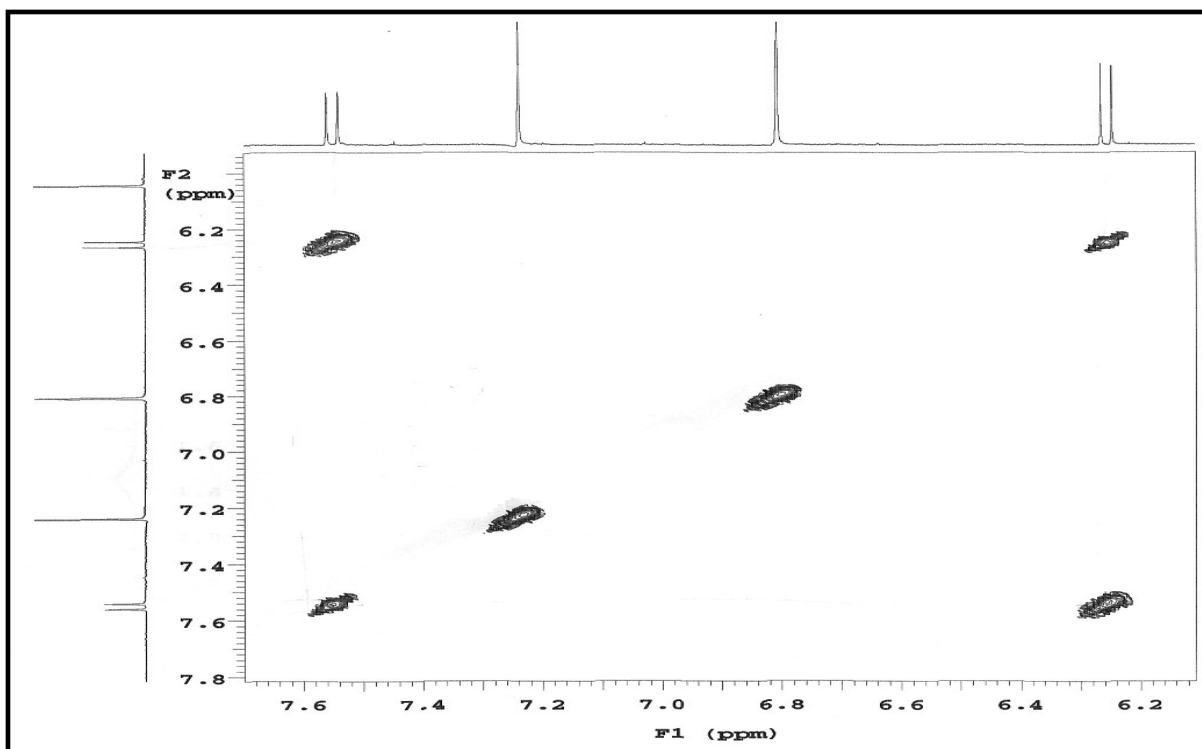


Figura 155. Espectro de RMN ¹H x ¹H - NOESY de *Pmoll-2* (CDCl₃, 500 MHz)

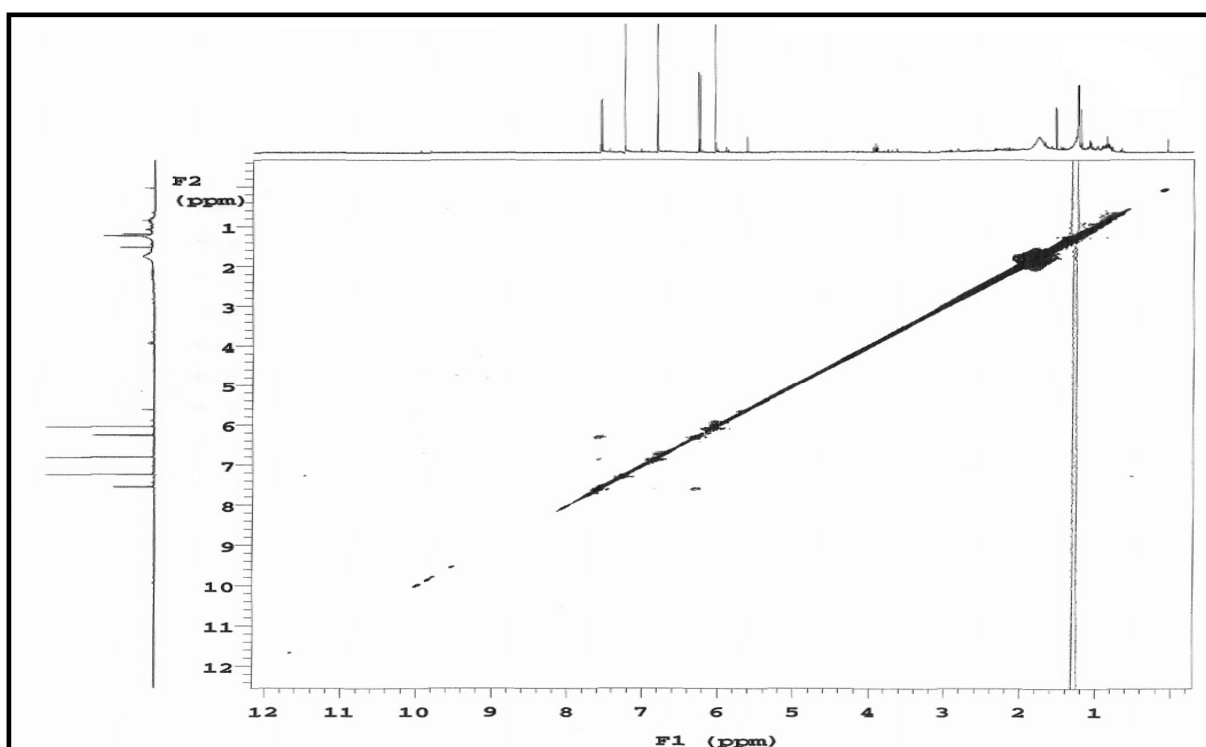
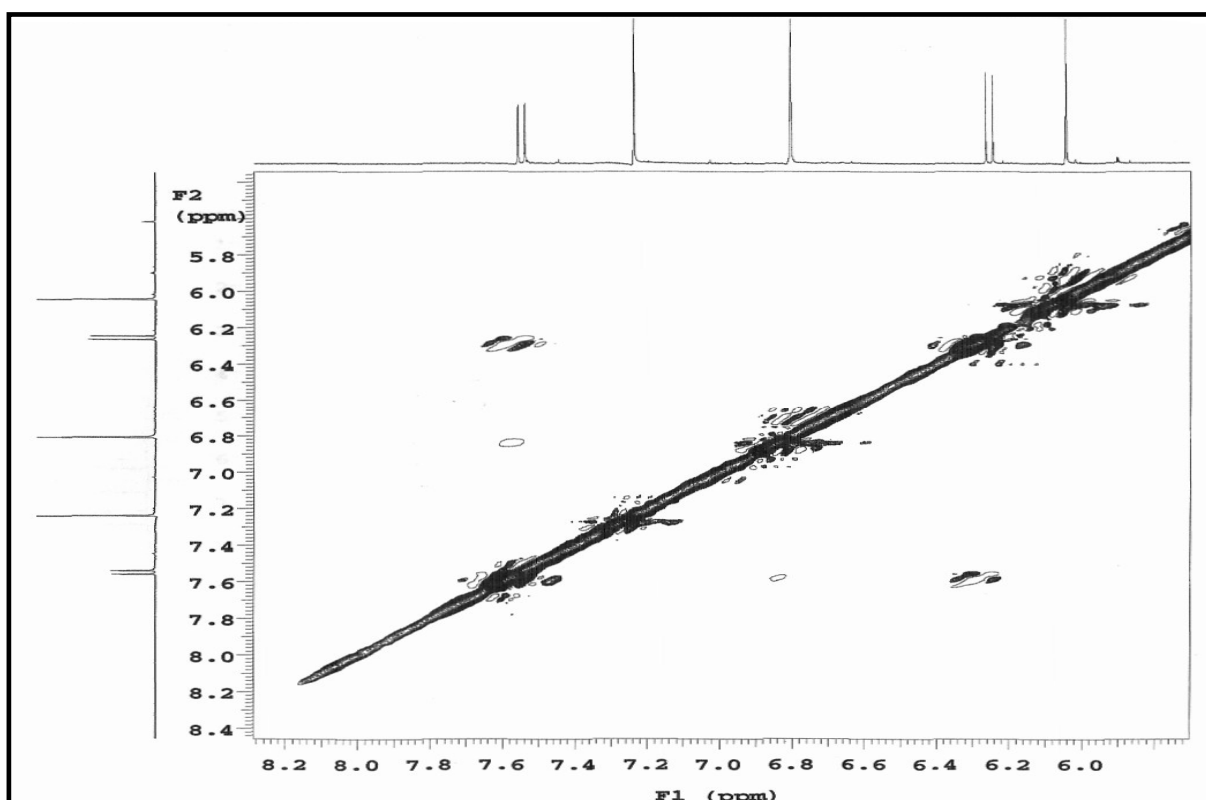


Figura 156. Expansão do espectro de NOESY de *Pmoll-2* na região de 8,2 – 5,8 x 8,4 – 5,8 ppm



6.5.3. Determinação estrutural de *Pmoll-3*

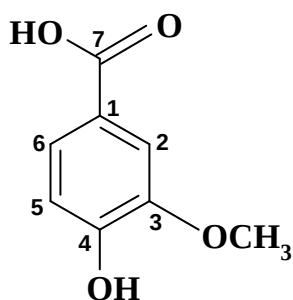
A substância codificada como *Pmoll-3* apresentou-se como cristais esbranquiçados, com ponto de fusão de 173,4 – 175,0 °C, sendo solúvel em MeOH.

O espectro de IV (Figura 157, p. 215) de *Pmoll-3* mostrou absorção em 1681 cm⁻¹ característica de deformação axial de carbonila conjugada e uma banda larga entre 2800 e 3200 cm⁻¹, sugestiva de estiramento de OH de ácido. Estas duas absorções sugerem a presença de grupamento ácido na molécula. A banda em 3483 cm⁻¹ é sugestiva de deformação axial de OH fenólica. A evidência de anel aromático foi fortalecida pela existência de bandas de absorções em 1435, 1523 e 1597 cm⁻¹, atribuídas a deformação axial de C=C de aromático. Ainda no espectro de IV observou-se bandas em 3097 e 2854 cm⁻¹, características de deformação axial de CH de carbono sp² e de metoxila, respectivamente.

A análise do espectro de RMN ¹H de *Pmoll-3* (CD₃OD, 200 MHz) (Figura 158, p. 215) e sua expansão (Figura 159, p. 216) sugeriu a presença de um núcleo aromático trissubstituído (sistema ABX), ao exibir um duplo-duplete em δ_H 7,55 (dd, *J*=8,6 e 1,9 Hz, 2H) acoplando *orto* com um duplete em δ_H 6,82 (d, *J*=8,6 Hz, 2H) e *meta* com um duplete em δ_H 7,54 (d, *J*=1,9 Hz, 2H). O simpleto observado em δ_H 3,95 com integração para três hidrogênios sugeriu a presença de um grupo metoxila em *P.moll-3*.

O espectro de RMN ¹³C – APT (CD₃OD, 50 MHz) (Figuras 160 e 161, p. 216-217) mostrou sinais para oito carbonos, dos quais seis mostram-se como carbonos de núcleo aromático, sendo três metínicos e três não hidrogenados, corroborando, desta forma, com a proposta feita pelo espectro de RMN ¹H, o qual sugeriu que *Pmoll-3* possuiria um núcleo aromático com sistema ABX (trissubstituído). Um sinal em δ_C 170,03, característico de carbonila de ácido conjugada (SILVERSTEIN *et. al.*, 2007), foi exibido pelo espectro em questão, fato que justifica a presença de um carbono sp² não hidrogenado e não ligado a heteroátomo em δ_C 123,0 (C-1), que possui como substituinte um grupo ácido. Os outros dois carbonos sp² em δ_C 148,62 e δ_C 152,63, possivelmente possuem como substituintes um grupo metoxila (δ_C 56,35) e um grupo hidroxila.

Os dados espectrais obtidos e as comparações realizadas com modelos da literatura (SILVA, 2002; TOMAZ, 2008) (Tabela 29, p. 214) permitiram propor que a substância codificada como *Pmoll-3* trata-se do ácido *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzóico, conhecido como ácido vanílico, amplamente distribuído no Reino Vegetal e representado a seguir:



Ácido vanílico

Tabela 29. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *P.moll*-3 (CD_3OD , 200 e 50Hz) com os modelos Mo-1 ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 e 125 MHz; SILVA, 2002] e Mo-2 (CDCl_3 , 200 e 50 MHz; TOMAZ, 2008).

Mo-1 (Ácido protocatequico)			Mo-2 (Ác.vanílico)		<i>P.moll</i> -3 (Ác.vanílico)	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	121,82	-	121,18		123,00	-
2	116,12	7,52(d, $J=2,0$ Hz)	112,04	7,57 (d, $J=1,6$ Hz)	113,71	7,54 (d, $J=1,9$ Hz)
3	144,24	-	146,16	-	148,62	-
4	149,37	-	150,76	-	152,63	-
5	114,35	6,89(d, $J=8,5$ Hz)	114,18	6,91 (d, $J=8,6$ Hz)	115,80	6,82 (d, $J=8,6$ Hz)
6	122,25	7,47(dd, $J=8,5$ e $2,0$ Hz)	125,16	7,72 (dd, $J=8,3$ e $1,6$ Hz)	125,25	7,55 (dd, $J=8,6$ e $1,9$ Hz)
7	166,23	-	171,05	-	170,03	-
OCH_3		-	56,10	3,94 (s, 1H)	56,34	3,87 (s, 1H)

Figura 157. Espectro de IV *Pmoll*-3 em pastilha de KBr

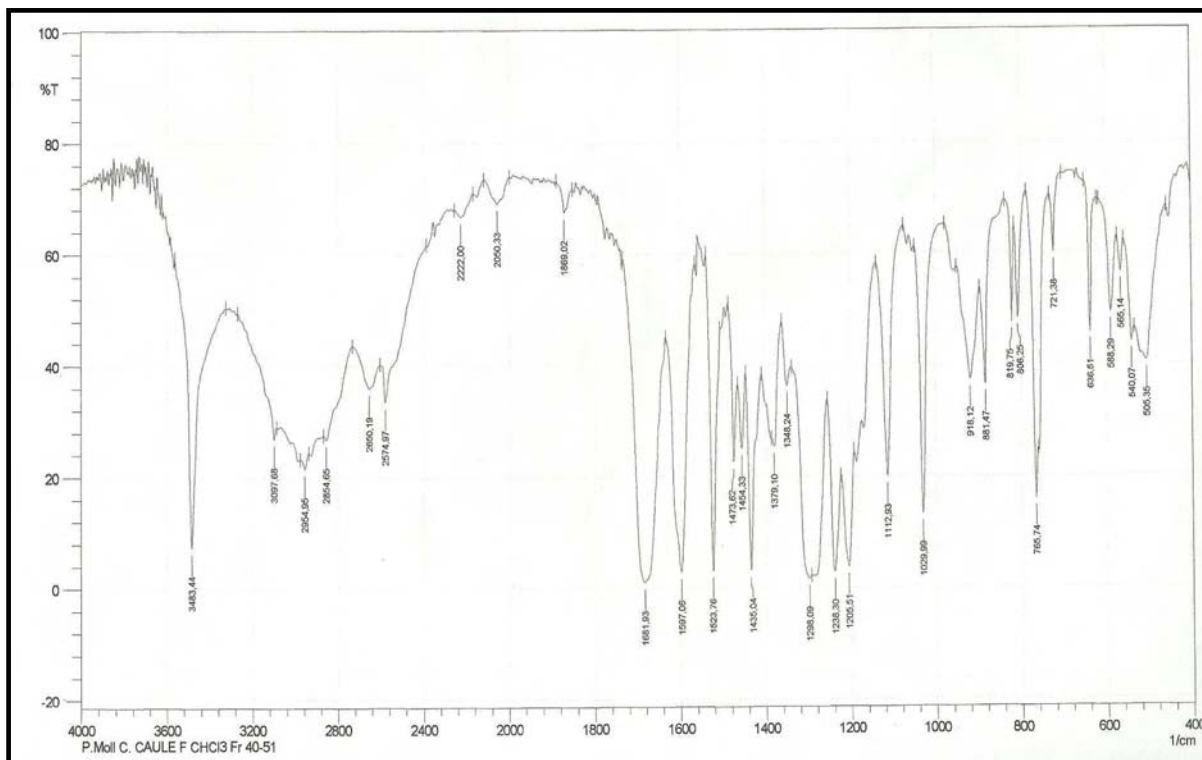


Figura 158. Espectro de RMN ^1H de *Pmoll*-3 (CD_3OD , 200 MHz)

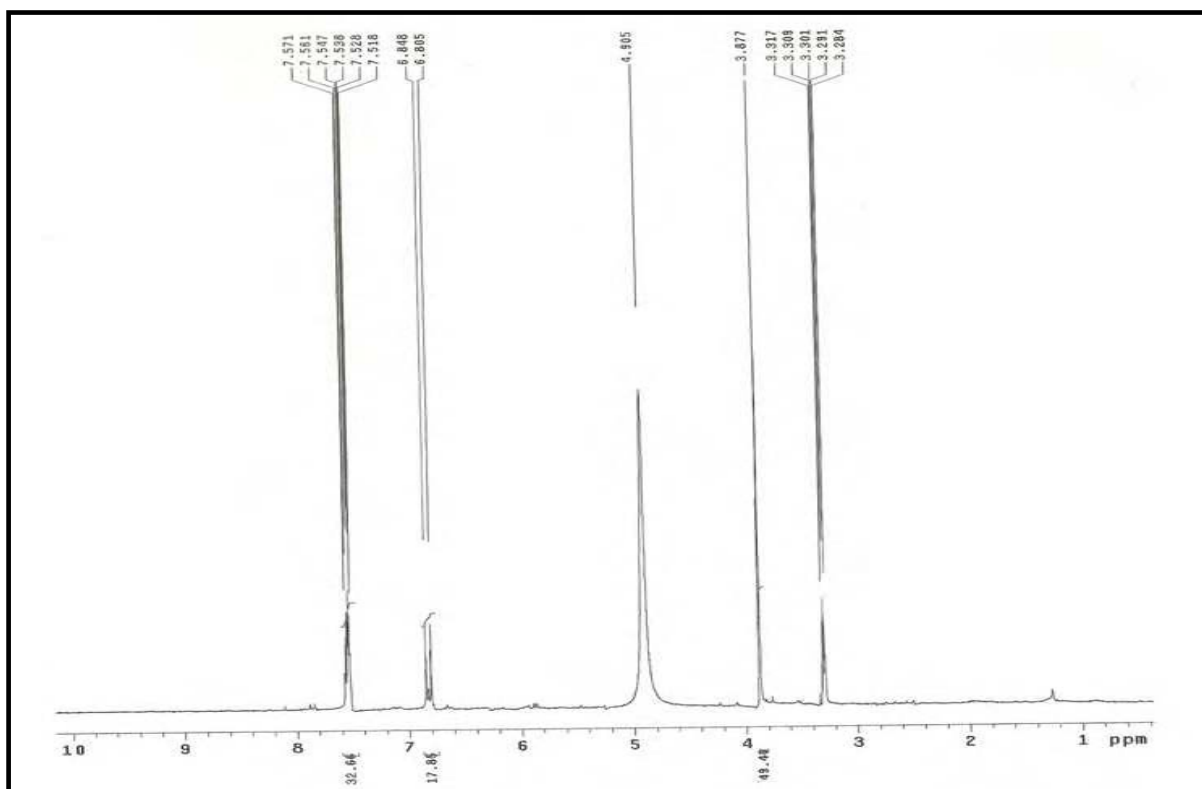


Figura 159. Expansão do espectro de RMN de ^1H de *Pmoll*-3 na região de 6,7 a 7,7 ppm

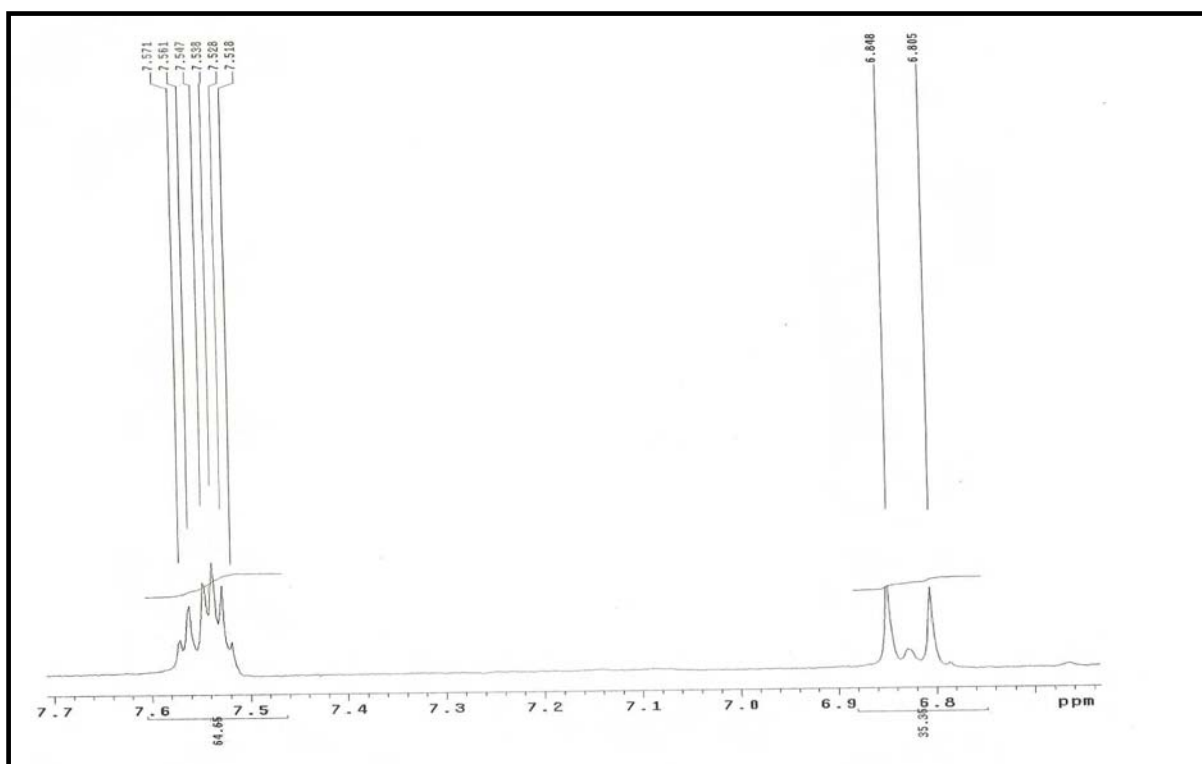


Figura 160. Espectro de RMN ¹³C - APT de *Pmoll-3* (CD₃OD, 125 MHz)

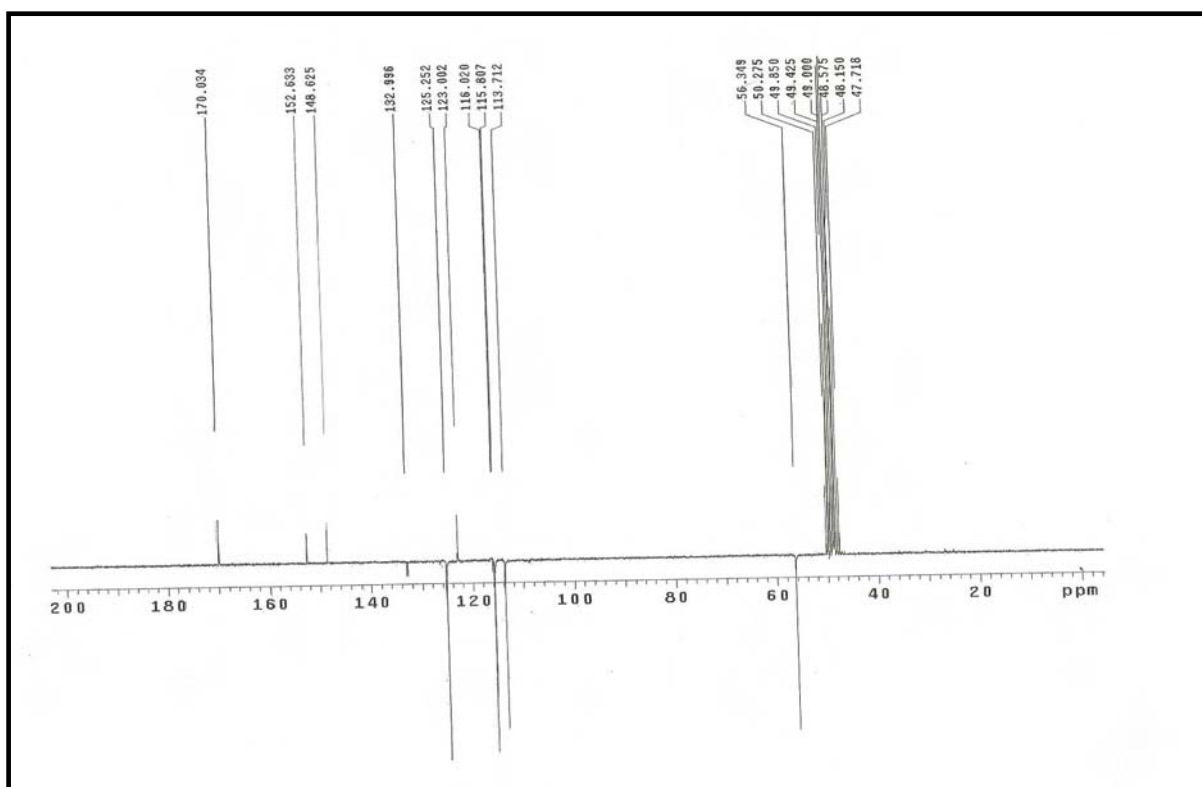
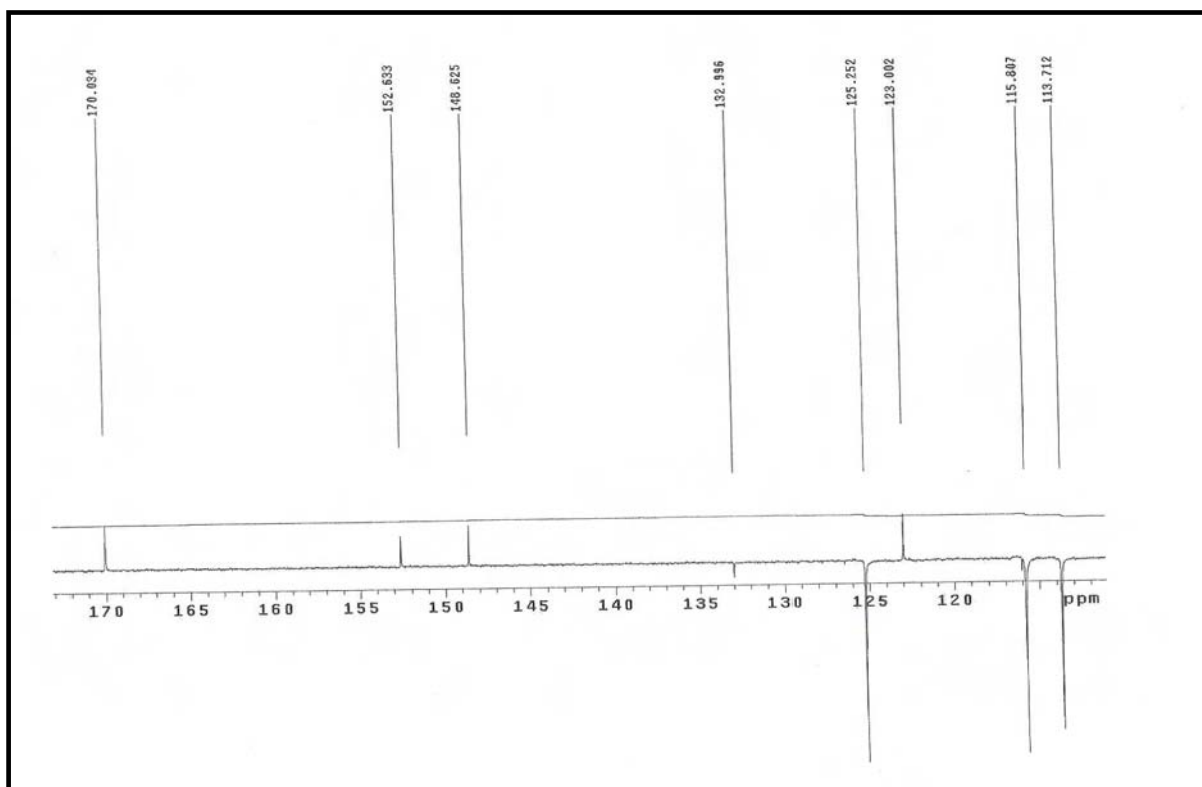


Figura 161. Expansão do espectro de RMN ¹³C - APT de *Pmoll-3*, na região de 170-112 ppm



6.5.4. Determinação estrutural de *Pmoll-4*

A substância codificada como *Pmoll-4* apresentou-se como cristais esbranquiçados, com ponto de fusão de 146,7 – 150,0 °C, sendo solúvel em clorofórmio.

O espectro de IV (Figura 162, p. 222) de *Pmoll-4* mostrou absorção em 1654 cm⁻¹ característica de deformação axial de carbonila, uma banda em 3475 cm⁻¹, atribuída à deformação axial de N-H, além de uma absorção condizente com deformação axial de C-N em 1381 cm⁻¹, dados estes sugestivos da presença de um grupo amídico na molécula. As absorções observadas em 1701 e 1674 cm⁻¹ são sugestiva de grupo lactama. A evidência de anel aromático foi fortalecida pela existência de bandas de absorções em 1458 e 1500 cm⁻¹, atribuídas a deformação axial de C=C de aromático. Ainda no espectro de IV observou-se uma absorção em 3421 cm⁻¹, atribuída a deformação axial de OH e bandas em 2924 e 2850 cm⁻¹, características de deformação axial de CH de carbono sp² e de metoxila, respectivamente (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

O espectro de RMN ¹H de *Pmoll-4* (CDCl₃, 500 MHz) (Figuras 163 a 166, p. 222-224), mostrou cinco sinais para seis hidrogênios aromáticos em δ_H 7,74 (s, 1H), δ_H 9,21 (m, 1H), δ_H 7,55 (m, 2H), δ_H 7,81 (m, 1H) e δ_H 7,08 (s, 1H), além de um simpleto em δ_H 4,10 (s,

3H), característico de hidrogênios metoxílicos e em δ_H 7,76 (sl, 1H) sugestivo de hidrogênio ligado à heteroátomos.

O espectro de RMN ^{13}C , utilizando as técnicas de BB (Figuras 167 e 168, p. 224-225) e APT (Figuras 169 e 170, p. 225-226) ($CDCl_3$, 125 MHz), juntamente com as correlações observadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 174 a 176, p. 228-229) permitiram atribuir a presença de quinze sinais para dezesseis carbonos em *Pmoll-4*: δ_C 116,7 (1C); δ_C 107,34 (1C); δ_C 147,4 (1C); δ_C 148,4 (1C); δ_C 114,5 (1C); δ_C 127,09 (2C); δ_C 128,17 (1C); δ_C 125,77 (1C); δ_C 128,77 (1C); δ_C 134,17 (1C); δ_C 105,82 (1C); δ_C 134,8 (1C); δ_C 125,20 (1C); δ_C 170,0 (1C) e δ_C 57,31 (1C), os quais juntamente com os dados apresentados pelo espectro de RMN ^1H sugeriram um esqueleto de uma aristolactama dissubstituída para esta substância (PAVIA *et. al.*, 2009).

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear (HMQC – $^nJ_{CH}$ – $n=1$) ($^1H \times ^{13}C$, 200 e 50 MHz) (Figuras 171 a 173, p. 226-227) mostrou as correlações diretas entre os carbonos e seus respectivos hidrogênios, permitindo atribuir os deslocamentos químicos para cada um destes átomos.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear (HMBC – $^nJ_{CH}$ – $n=2$ e 3) ($^1H \times ^{13}C$, 500 e 125 MHz) (Figuras 174 a 176, p. 228-229) observou-se as correlações entre o hidrogênio em δ_H 9,21 (m, 1H), característico da posição H-5 em esqueletos de aristolactamas, e os carbonos δ_C 127,09 e δ_C 134,17 a três ligações, os quais foram atribuídos, respectivamente, a C-7 e C-8a. No espectro de HMQC C-7 (δ_C 127,09) mostrou correlação com o hidrogênio em δ_H 7,55 (m, 2H). Estes dados juntamente com as correlações observadas, a três ligações entre o hidrogênio δ_H 7,55 (m, 2H) e os carbonos δ_C 128,77 e δ_C 134,17 permitiram inferir os deslocamentos químicos em δ_H 7,55 (m, 2H) aos hidrogênios H-6 e H-7 e sinal em δ_C 128,77 ao carbono C-8, o qual no espectro de HMQC mostrou correlação direta com δ_H 7,81 (m, 1H).

Estas atribuições foram reforçadas pelo espectro de correlação heteronuclear COSY ($^1H \times ^{13}C$, 500 MHz) (Figuras 177 a 179, p. 229-230) que revelou as correlações entre δ_H 7,55 (m, 2H) e os hidrogênios δ_H 9,21 (m, H-5) e δ_H 7,81 (m, H-8).

No espectro bidimensional NOESY ($^1H \times ^1H$, 500 MHz) (Figuras 180 a 182, p.231-232) as correlações espaciais observadas entre o simpleto em δ_H 7,08 (s, H-9) e os hidrogênios δ_H 7,76 (sl, NH) e δ_H 7,81 (m, H-8), bem como entre δ_H 7,55 (m, H-6/H7) e δ_H 7,81 (m, H-8) permitiram atribuir o deslocamento químico em δ_H 7,08 (s, 1H) a H-9.

No espectro de HMBC o hidrogênio H-9 (s, δ_H 7,08) mostrou correlacionar-se a duas ligações com os carbonos δ_C 134,17 (C-8a) e δ_C 134,8 e a três ligações com δ_C 128,77 (C-8) e

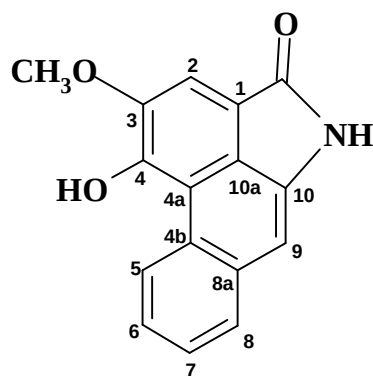
δ_C 125,20, possibilitando inferir os sinais δ_C 134,80 e δ_C 125,20 a C-10 e C-10a, respectivamente. Uma outra correlação observada, a quatro ligações, deste mesmo hidrogênio com um carbono em δ_C 127,09, fortaleceu as atribuições anteriores, de que este corresponde ao deslocamento químico de C-7.

Ainda no espectro de HMBC, observou-se as correlações entre δ_H 7,81 (m, 1H) e os carbonos δ_C 127,09 (C-7), a duas ligações, e δ_C 125,77, a três ligações, sendo este último atribuído a C-6.

As correlações evidenciadas entre o simpleto em δ_H 7,74 (s, 1H) e os carbonos δ_C 147,40 (C-3) e δ_C 116,70 (C-1) a duas ligações e a três ligações com δ_C 170,0; δ_C 148,40 (C-4) e δ_C 125,20 (C-10a) permitiram atribuir este simpleto a H-2, o qual, no espectro de NOESY, revelou correlacionar-se espacialmente com os hidrogênios metoxílicos em δ_H 4,10 (s, 3H), os quais foram confirmados para a posição C-3 da molécula.

Através das correlações observadas entre o simpleto em δ_H 7,26 (s, 1H) e os carbonos δ_C 147,40 (C-3) e δ_C 114,50 (C-4a), a três ligações e com δ_C 148,40 (C-4) a duas ligações, foi possível inferir um grupo hidroxila na posição 4 da molécula.

A análise dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais de *Pmoll-4* (Tabela 30) e sua comparação com modelo da literatura (COSTA, 2011) (Tabela 31, p. 221) permitiram identificar *Pmoll-4* como sendo a piperolactama A, relatada pela primeira vez nesta espécie.



Piperolactama A

Tabela 30. Dados de RMN ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C (HMQC e HMBC) e ^1H x ^1H (COSY e NOESY) de *Pmoll-4*, registrados em CDCl_3

C	HMQC - ^1H x ^{13}C		HMBC - ^1H x ^{13}C		COSY	NOESY
	δ_{C}	δ_{H}	^2J	^3J	^1H x ^1H	^1H x ^1H
1	116,7	-				
3	147,4	-				
4	148,4	-				
4a	114,5	-				
4b	127,0	-				
8a	134,1	-				
10	134,8	-				
10a	125,2	-				
C=O	170,0	-				
CH						
2	107,3	7,74 (s, 1H)	C-3; C-1	C-4; C-10a; C=O		CH_3O
5	128,1	9,21 (m, 1H)		C-7; C-8a	H-6	
6	125,7	7,55 (m, 2H)		C-8	H-5	H-8
7	127,0	7,55 (m, 2H)	C-8	C-8a	H-8	H-8
8	128,7	7,81 (m, 1H)	C-7	C-6	H-7	H-9; H-6/H-7
9	105,8	7,08 (s, 1H)	C-8a; C-10	C-8; C-10a		H-8; NH
CH₃						
OCH_3	57,3	4,10 (s, 3H)		C-3		H-2
OH	-	7,26 (s, 1H)	C-4	C-4a; C-3		
NH	-	7,76 (sl, 1H)				H-9

Tabela 31. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pmoll-4* com os valores encontrados na literatura (COSTA, 2011) (δ em ppm e J em Hz)

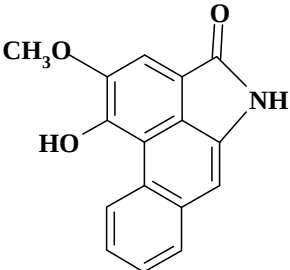
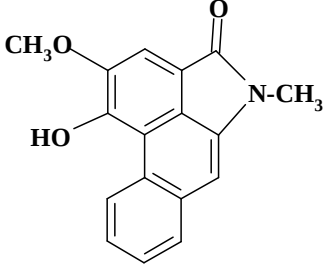
<i>Pmol-4</i> (CDCl_3)			Literatura (CDCl_3)	
				
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	116,7	-	116,5	-
3	147,4	-	146,9	-
4	148,4	-	147,9	-
4a	114,5	-	114,3	-
4b	127,0	-	127,1	-
8a	134,1	-	134,2	-
10	134,8	-	136,9	-
10a	125,2	-	123,6	-
C=O	170,0	-	168,3	-
CH				
2	107,3	7,74 (s, 1H)	107,3	7,67 (s, 1H)
5	128,1	9,21 (m, 1H)	128,1	9,15 (m, 1H)
6	125,7	7,55 (m, 2H)	125,5	7,53 (m, 2H)
7	127,0	7,55 (m, 2H)	126,9	7,53 (m, 2H)
8	128,7	7,81 (m, 1H)	128,7	7,80 (m, 1H)
9	105,8	7,08 (s, 1H)	104,2	6,95 (s, 1H)
CH₃				
OCH ₃	57,3	4,10 (s, 3H)	57,2	4,06 (s, 3H)
OH	-	7,26 (s, 1H)	-	7,17 (sl, 1H)
NH	-	7,76 (sl, 1H)	-	-

Figura 162. Espectro de IV *Pmoll-4* em pastilha de KBr

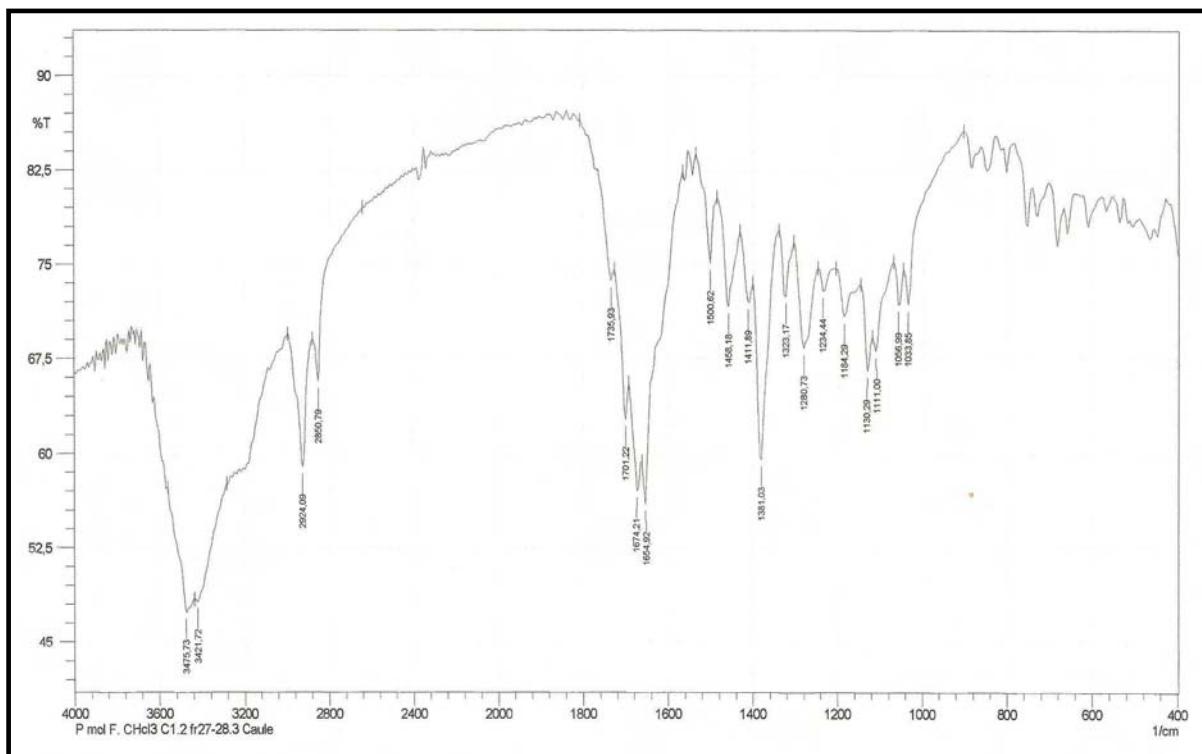


Figura 163. Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-4* (CDCl_3 , 500MHz)

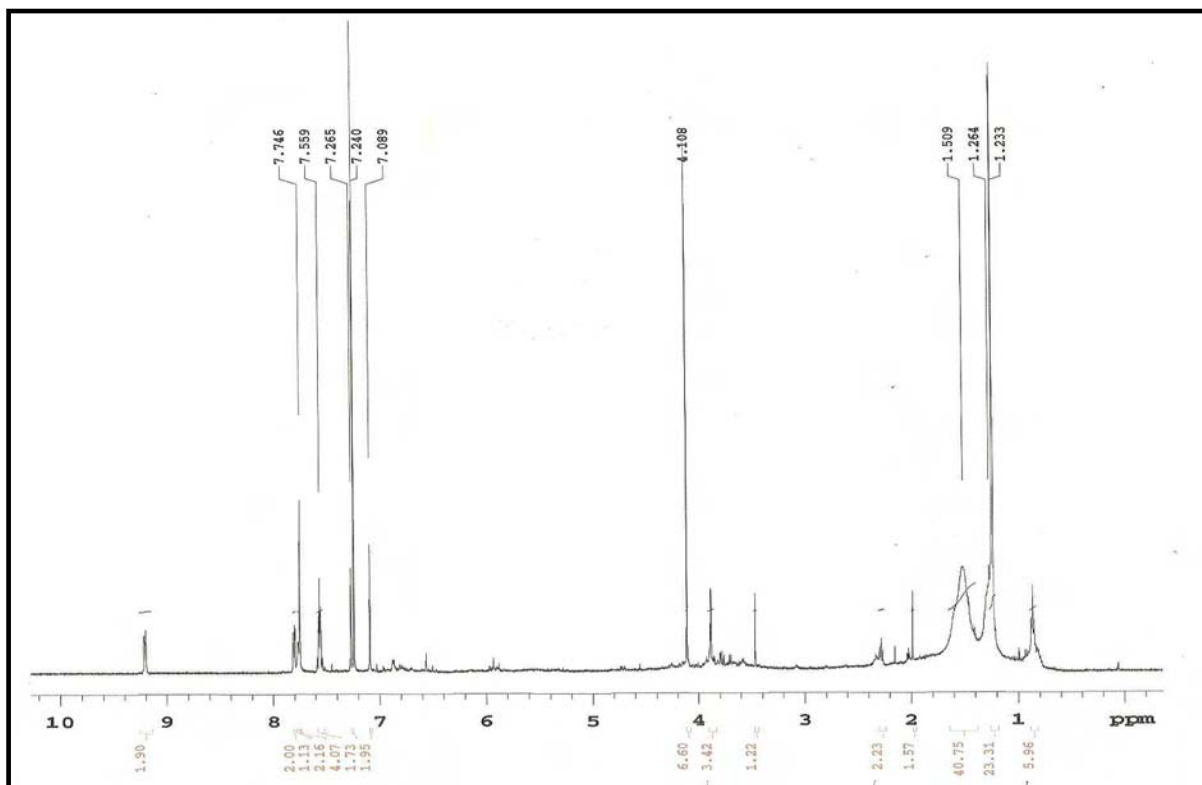


Figura 164. Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-4* na região de 7,0 a 9,2 ppm

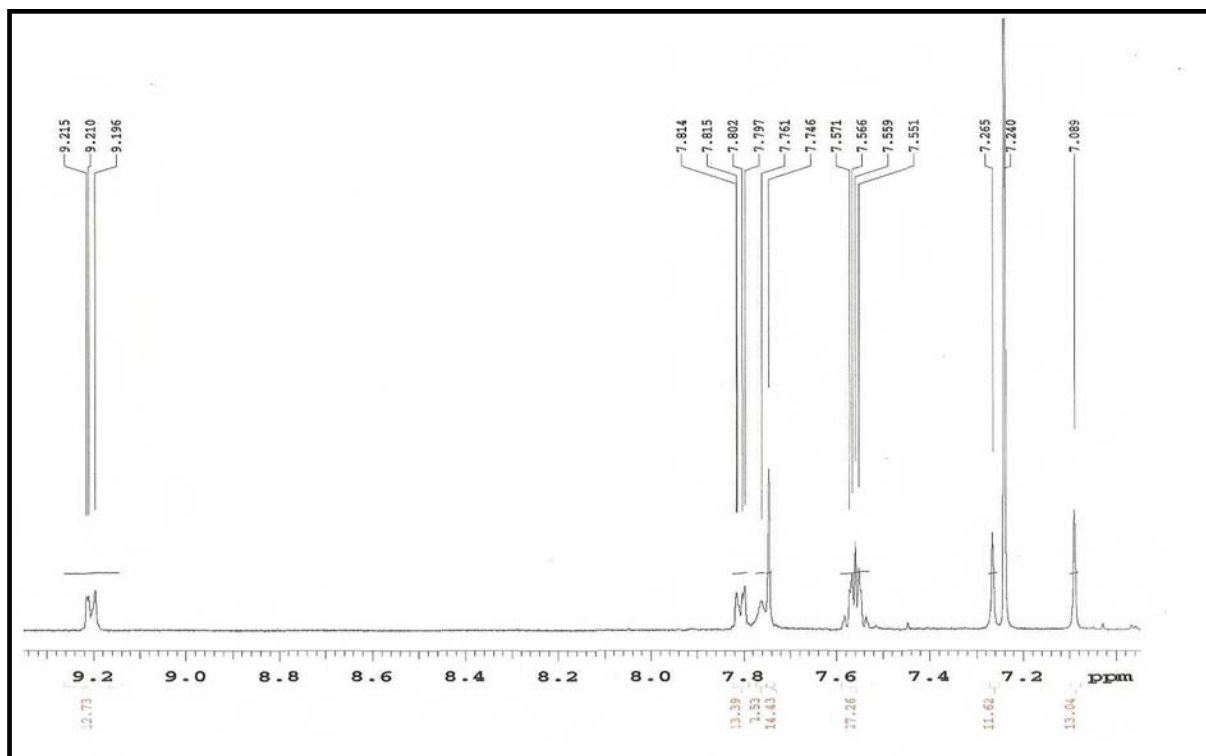


Figura 165. Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-4* na região de 7,0 a 7,8 ppm

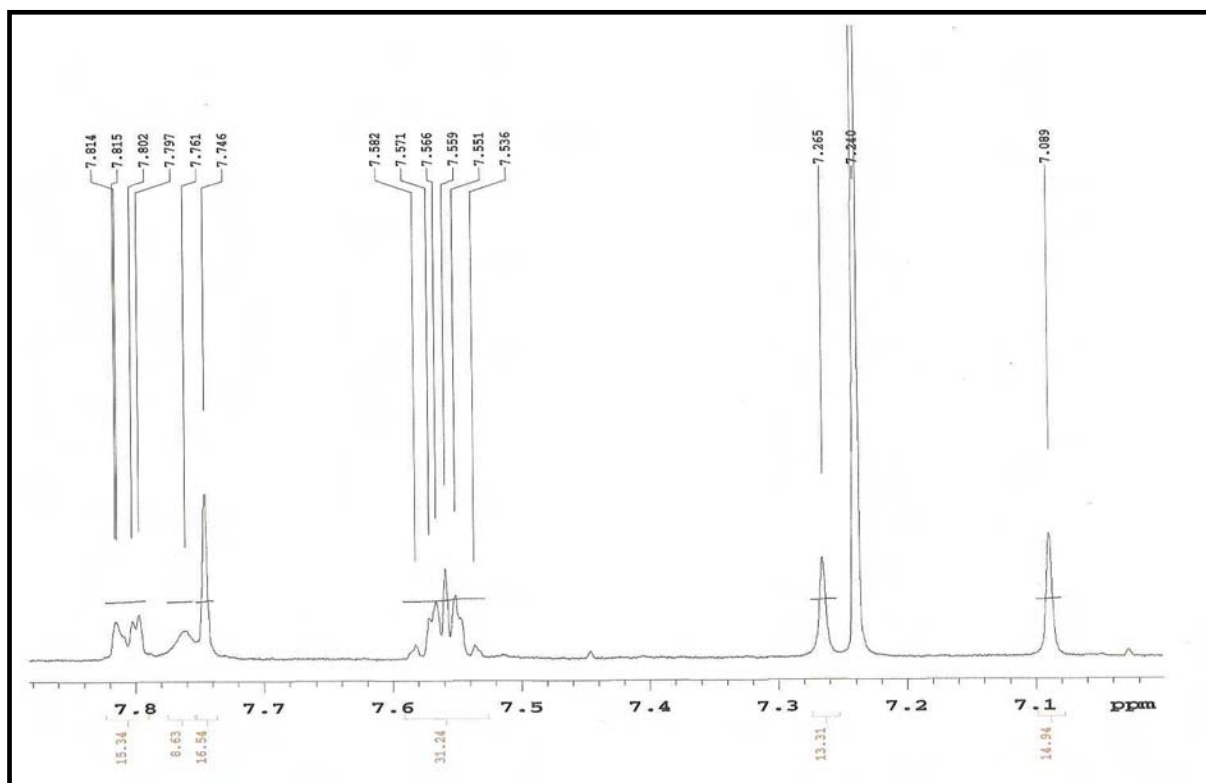


Figura 166. Expansão do Espectro de RMN ^1H de *Pmoll-4* na região de 0,8 a 4,2 ppm

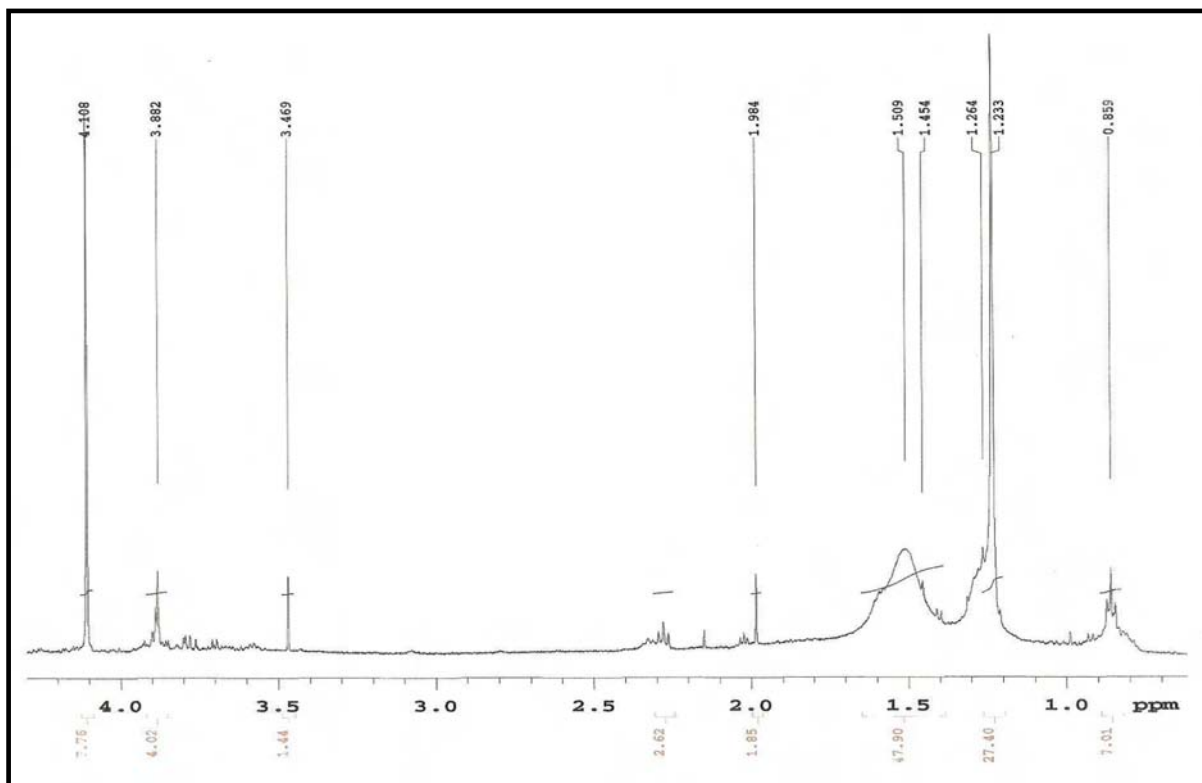


Figura 167. Espectro de RMN ^{13}C -BB de *Pmoll-4* (CDCl_3 , 125 MHz)

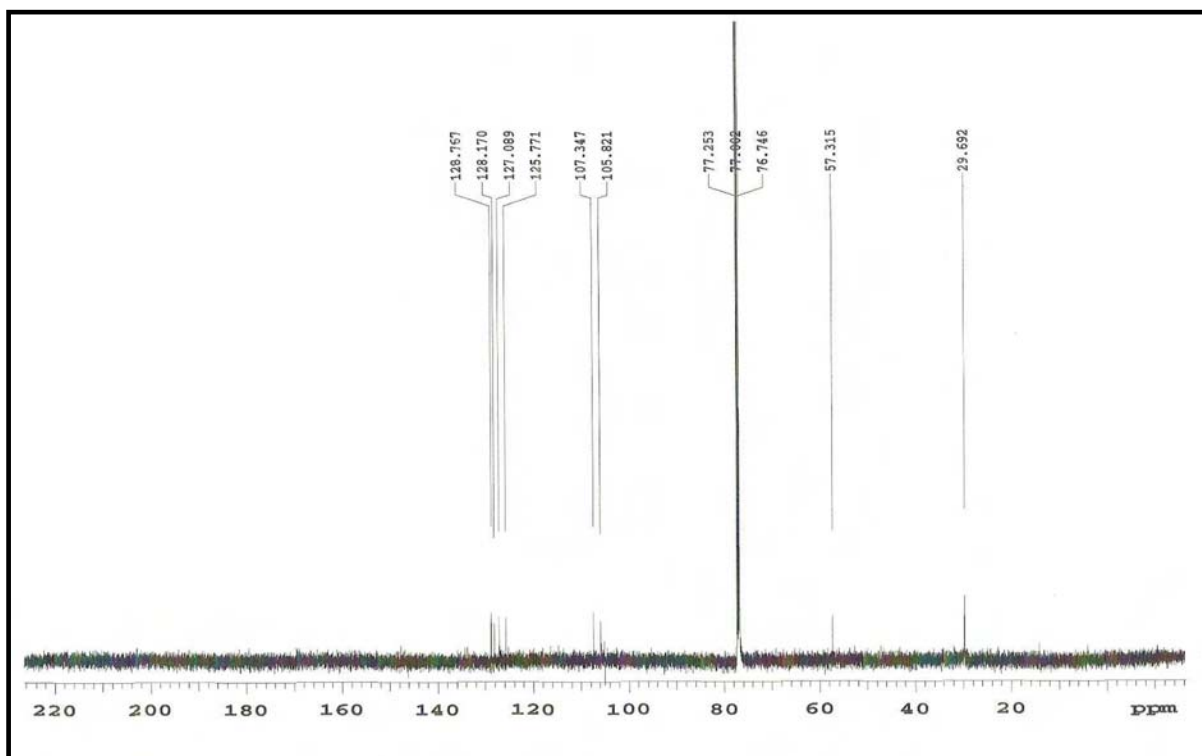


Figura 168. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de *Pmoll-4* na região de 130 a 105 ppm

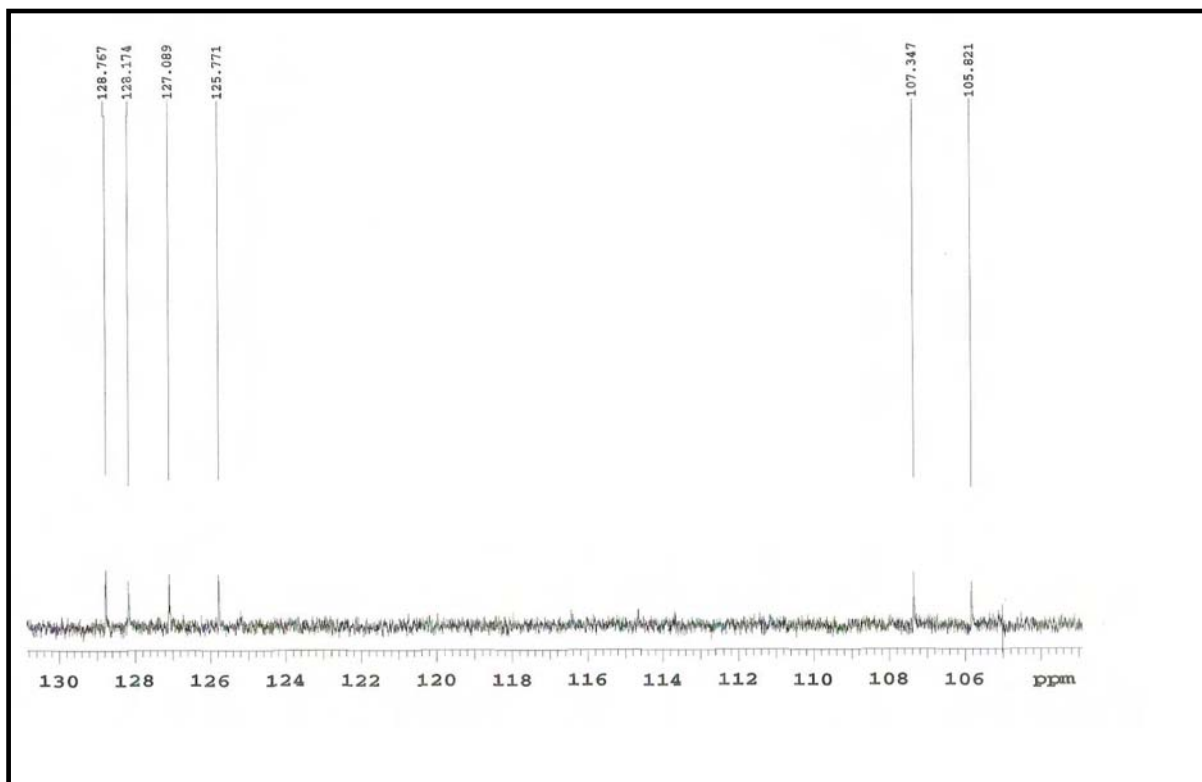


Figura 169. Espectro de RMN ^{13}C - APT de *Pmoll-4* (CDCl_3 , 125 MHz)

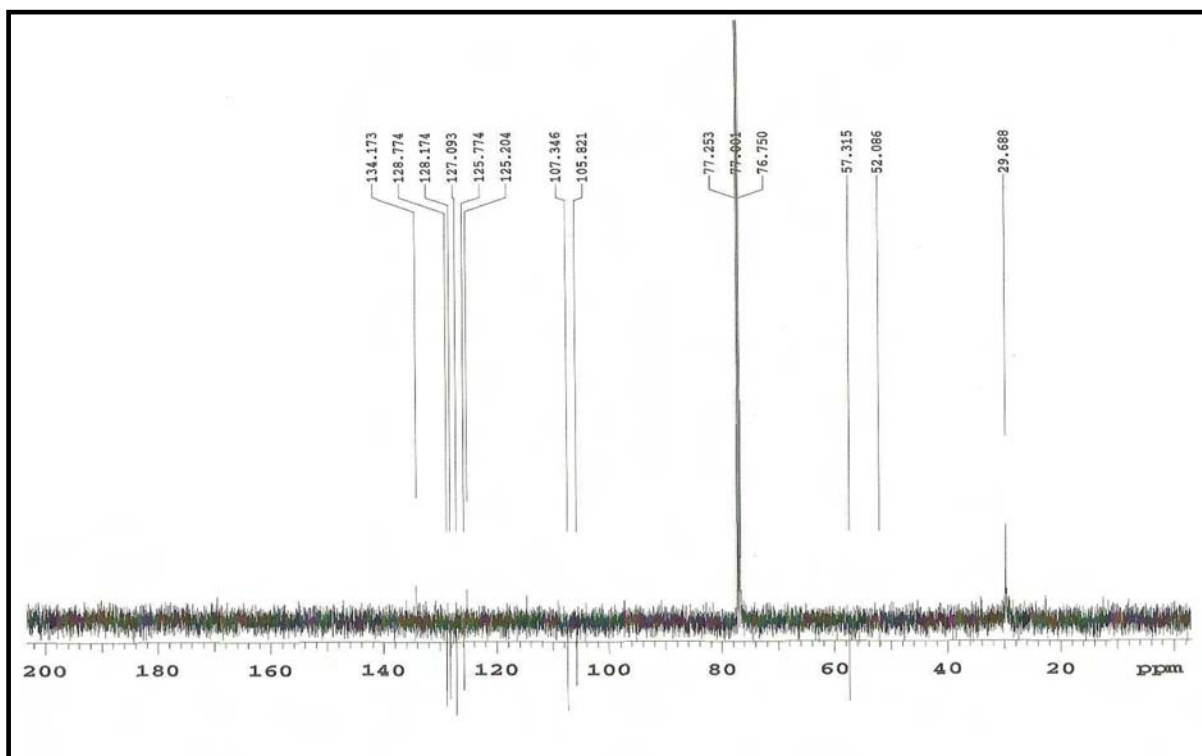


Figura 170. Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de *Pmoll-4* na região de 135 a 105 ppm

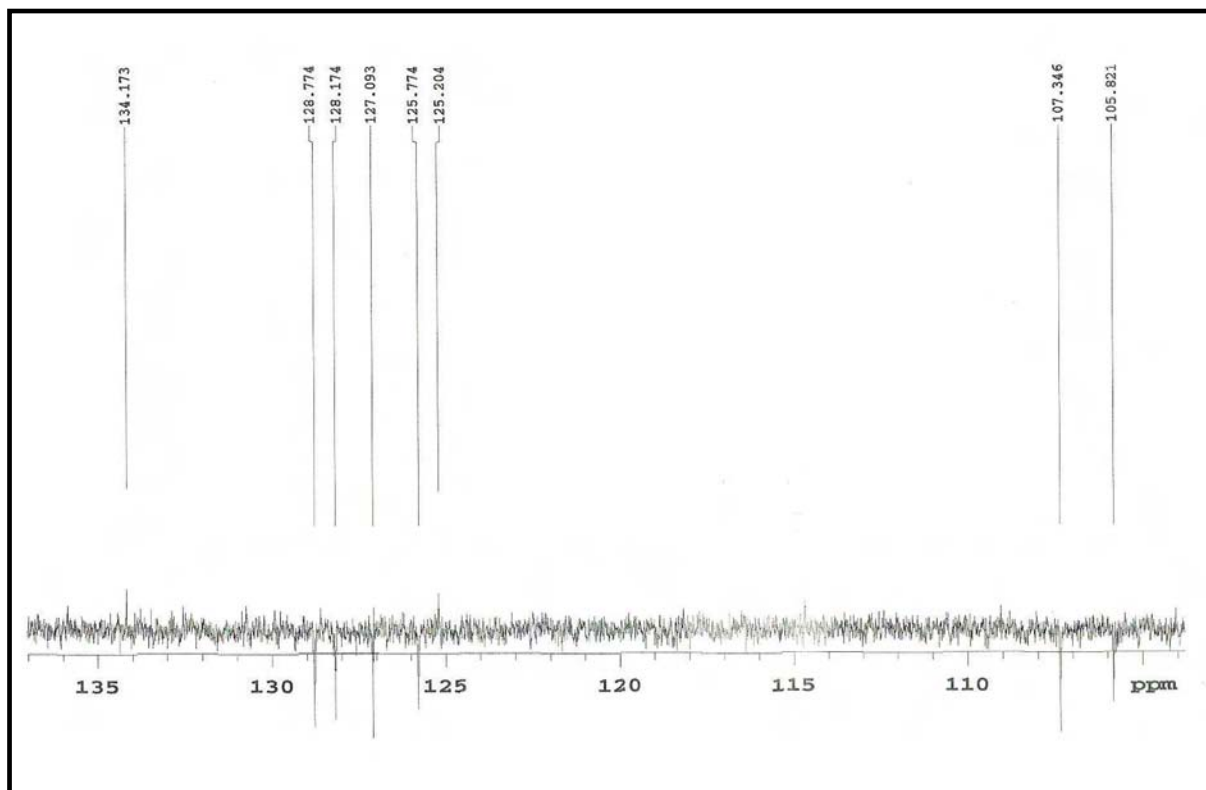


Figura 171. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C - HMQC de *Pmoll-4* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

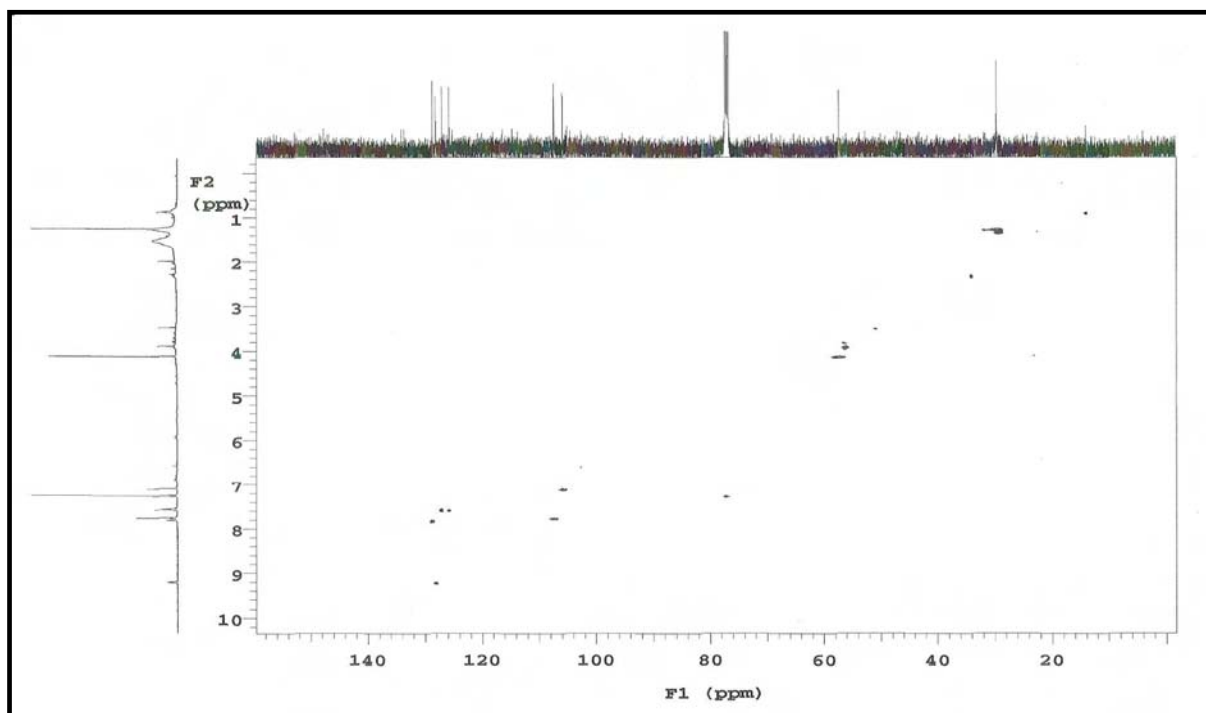


Figura 172. Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-4* na região de 4,5 – 0,5 x 15- 60 ppm

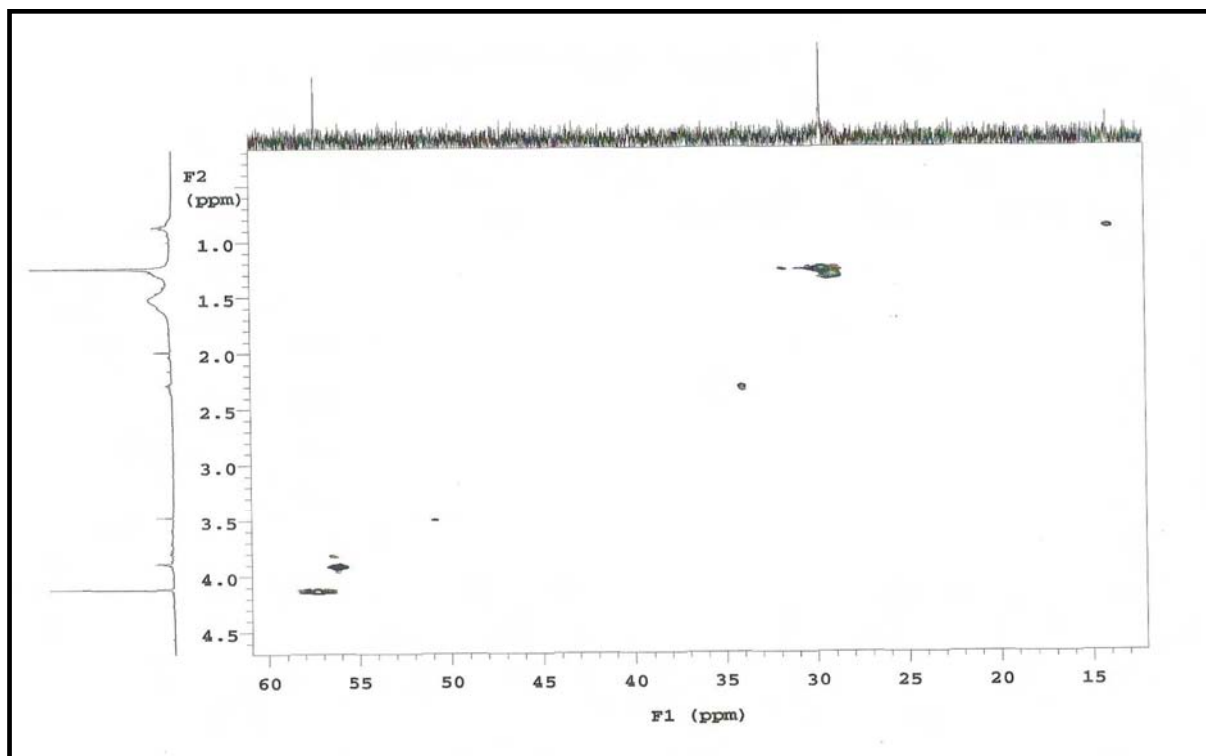


Figura 173. Expansão do espectro HMQC de *Pmoll-4* na região de 10,0 – 6,5 x 102- 130 ppm

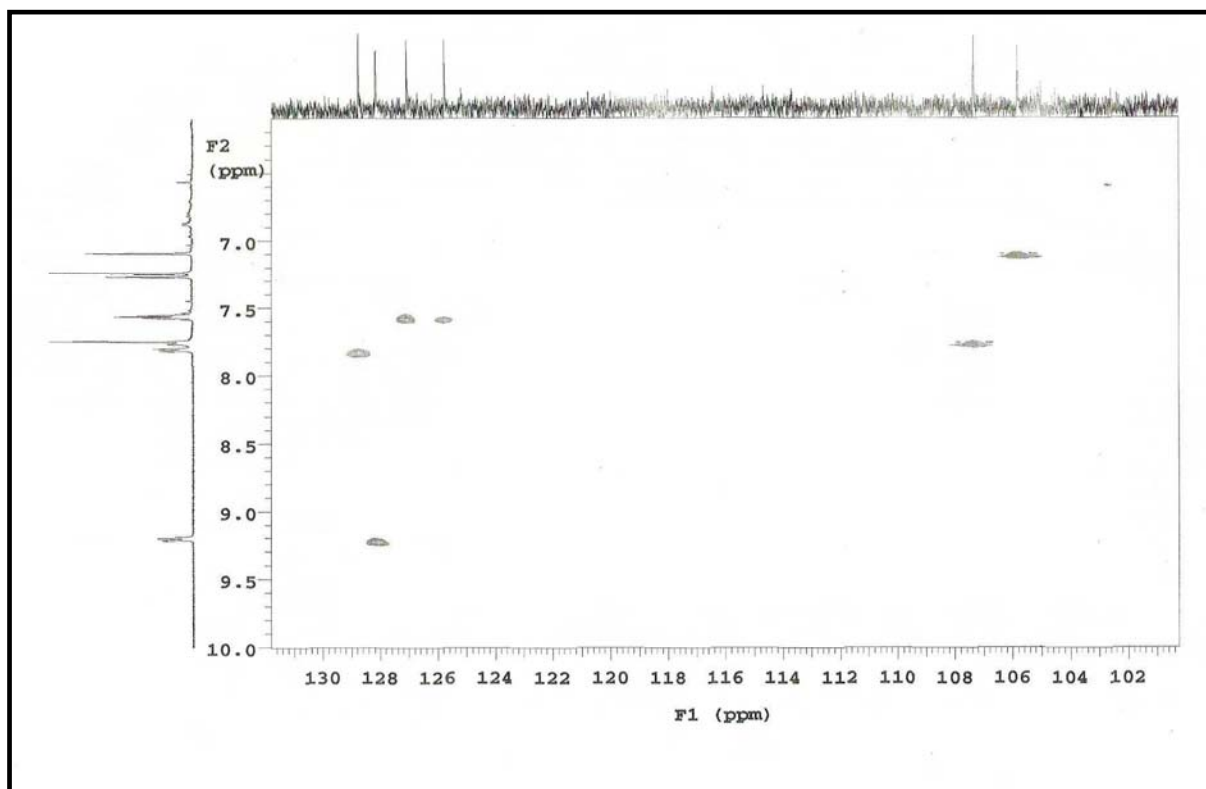


Figura 174. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de *Pmoll-4* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

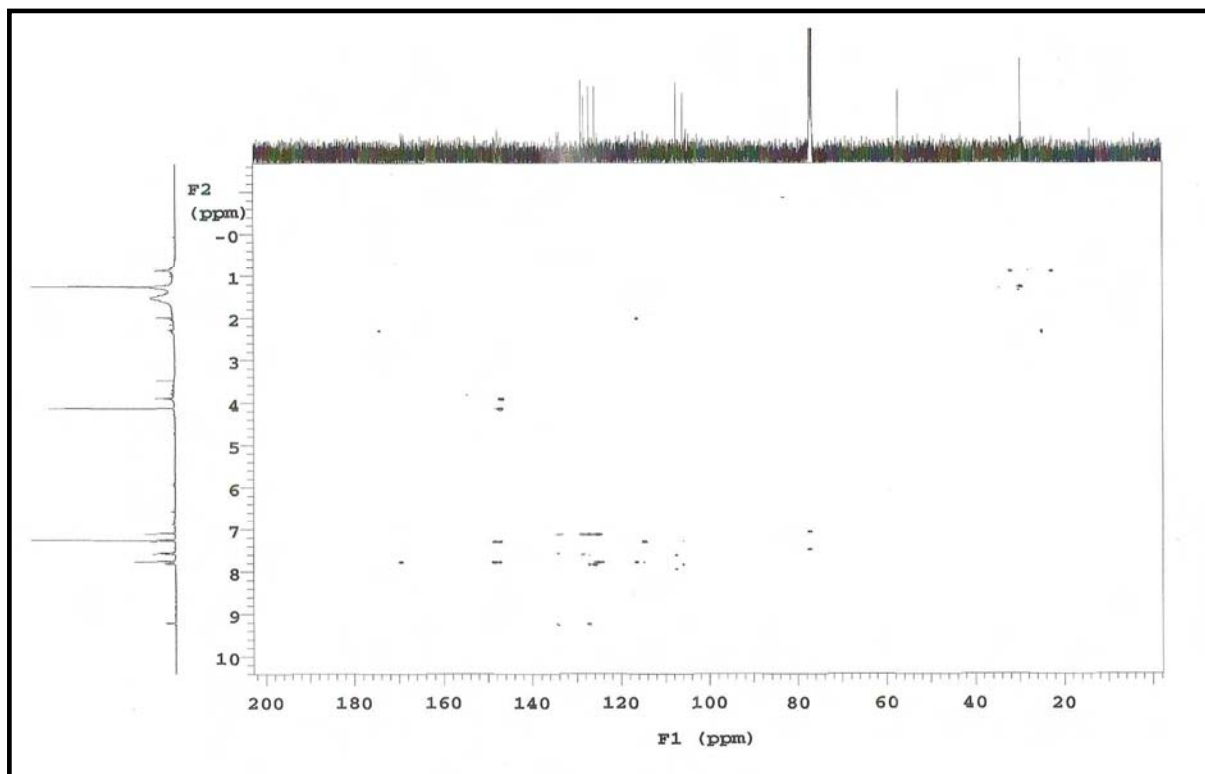


Figura 175. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-4* na região de 9,5 – 6,5 x 110 – 170 ppm

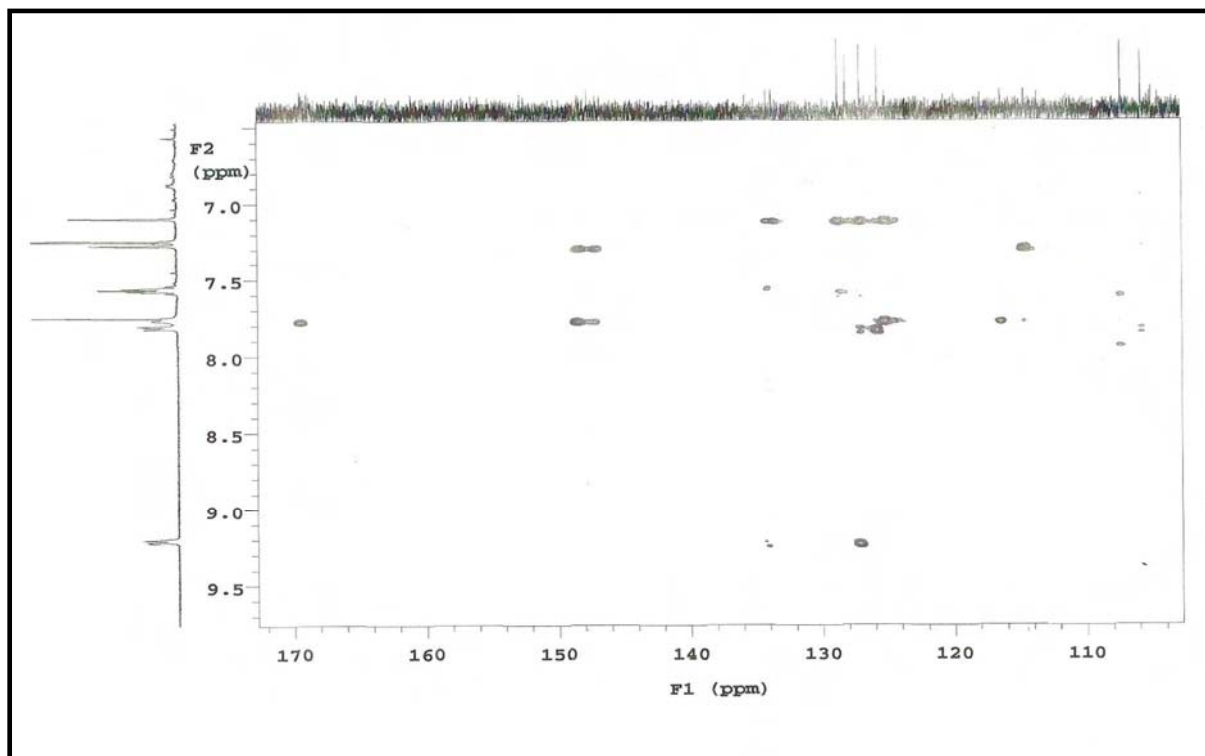


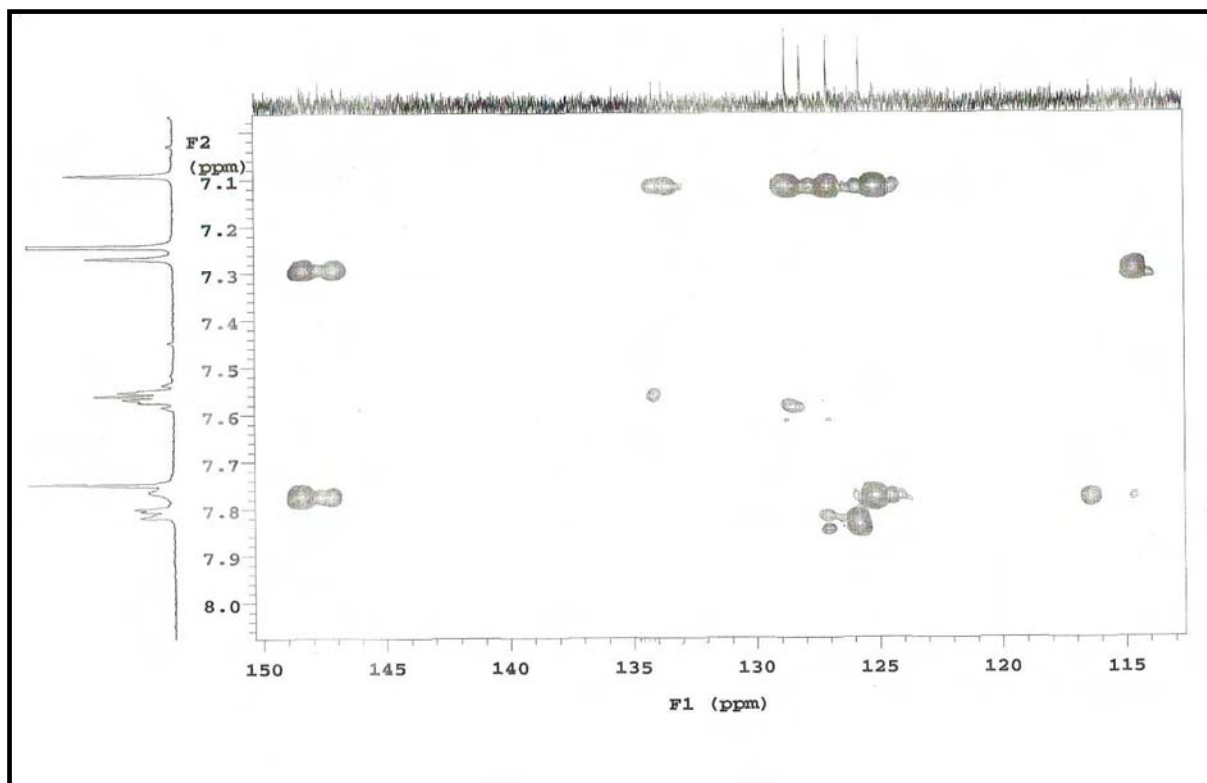
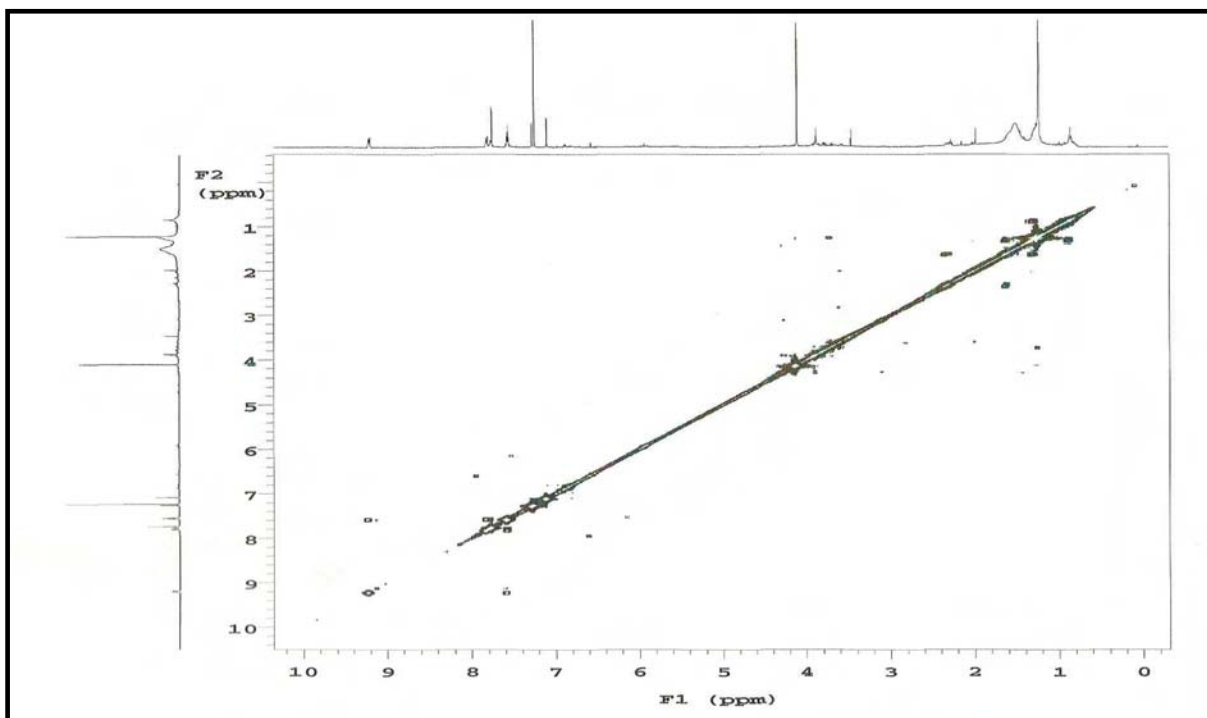
Figura 176. Expansão do espectro HMBC de *Pmoll-4* na região de 8,0 – 7,0 x 115 – 150 ppm**Figura 177.** Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY de *Pmoll-4* (CDCl_3 , 500 MHz)

Figura 178. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll-4* na região de 9,5 – 6,0 x 9,5 – 6,0 ppm

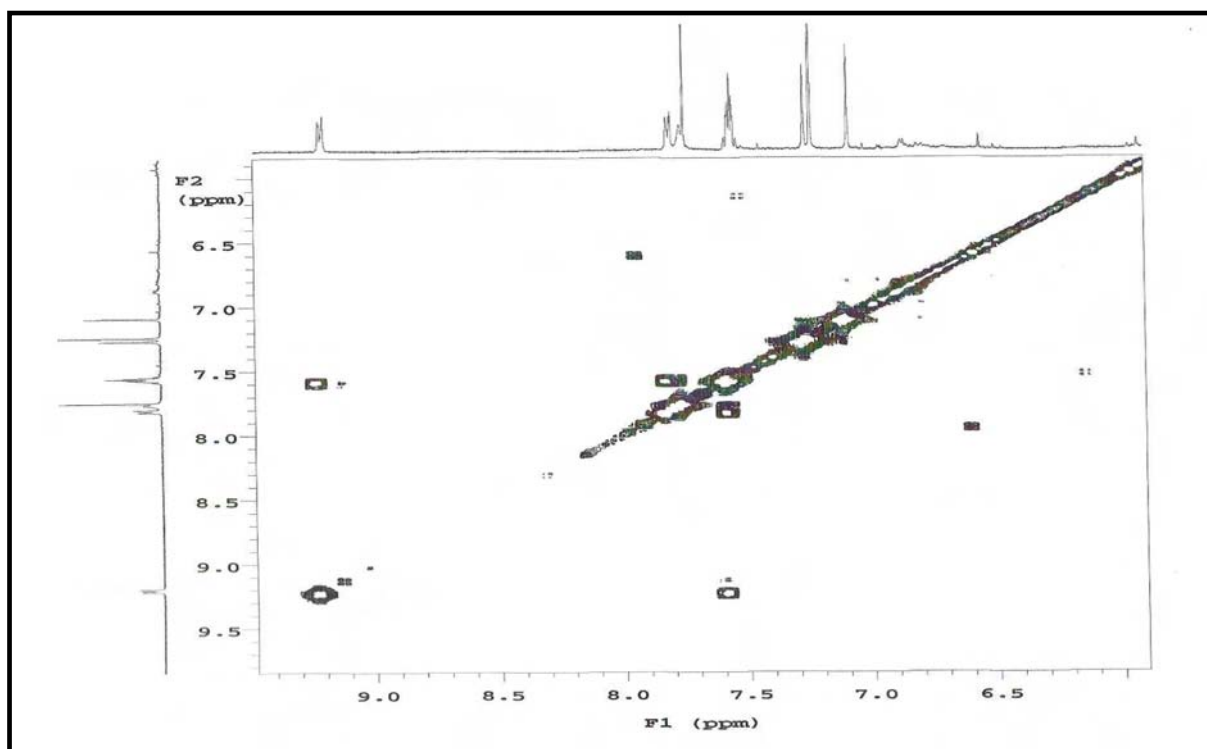


Figura 179. Expansão do espectro de COSY de *Pmoll-4* na região de 2,4 – 0,6 x 2,4 – 0,6 ppm

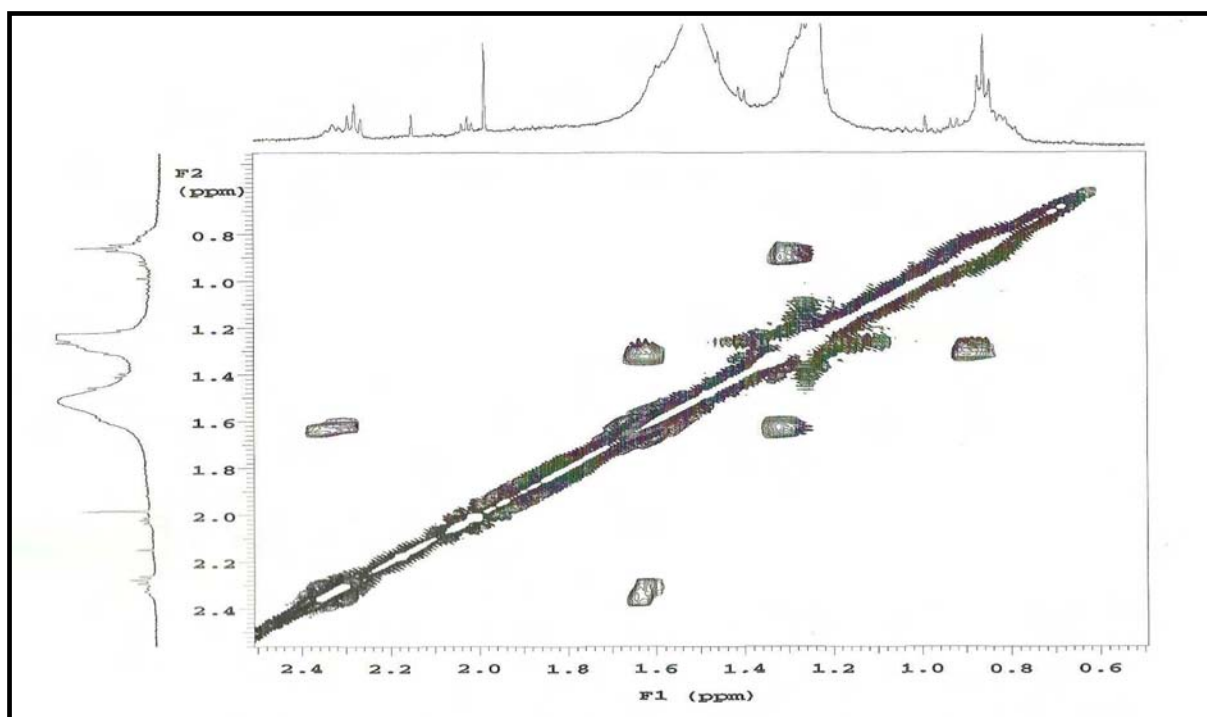


Figura 180. Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY de *Pmoll-4* (CDCl_3 , 500 MHz)

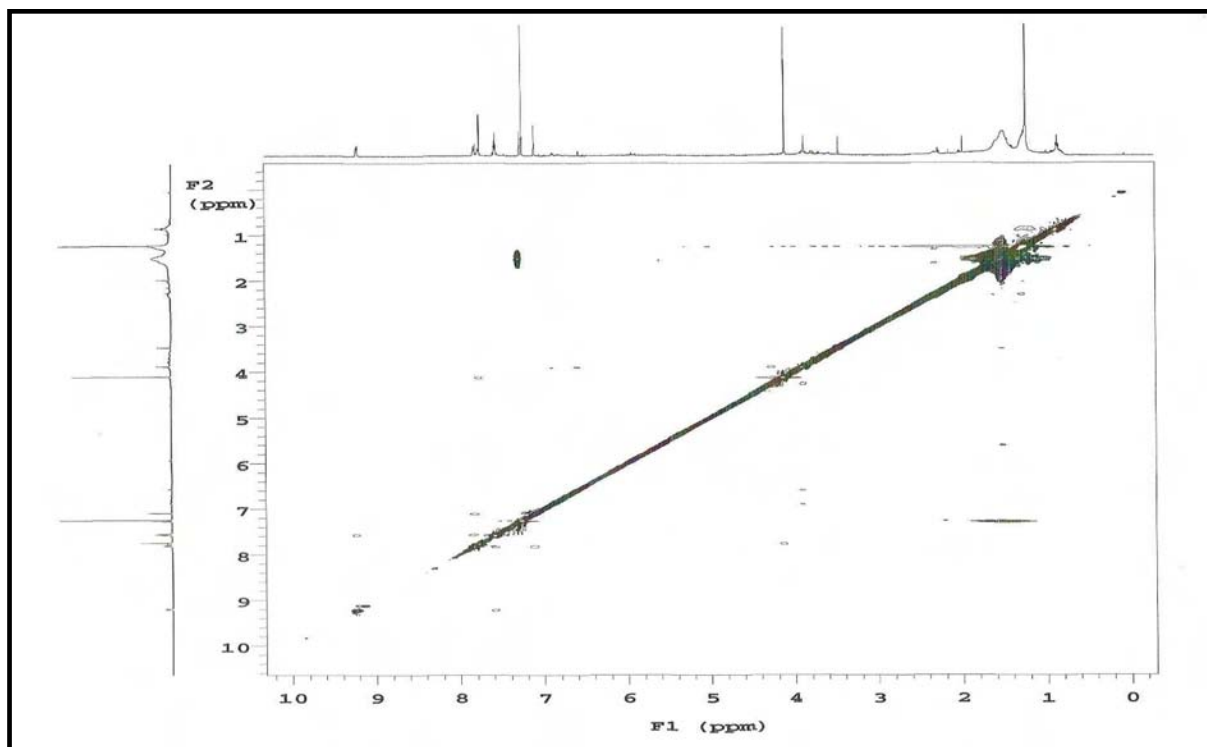


Figura 181. Expansão do espectro de NOESY de *Pmoll-4* na região de 9,4 – 7,0 x 9,6 – 6,8 ppm

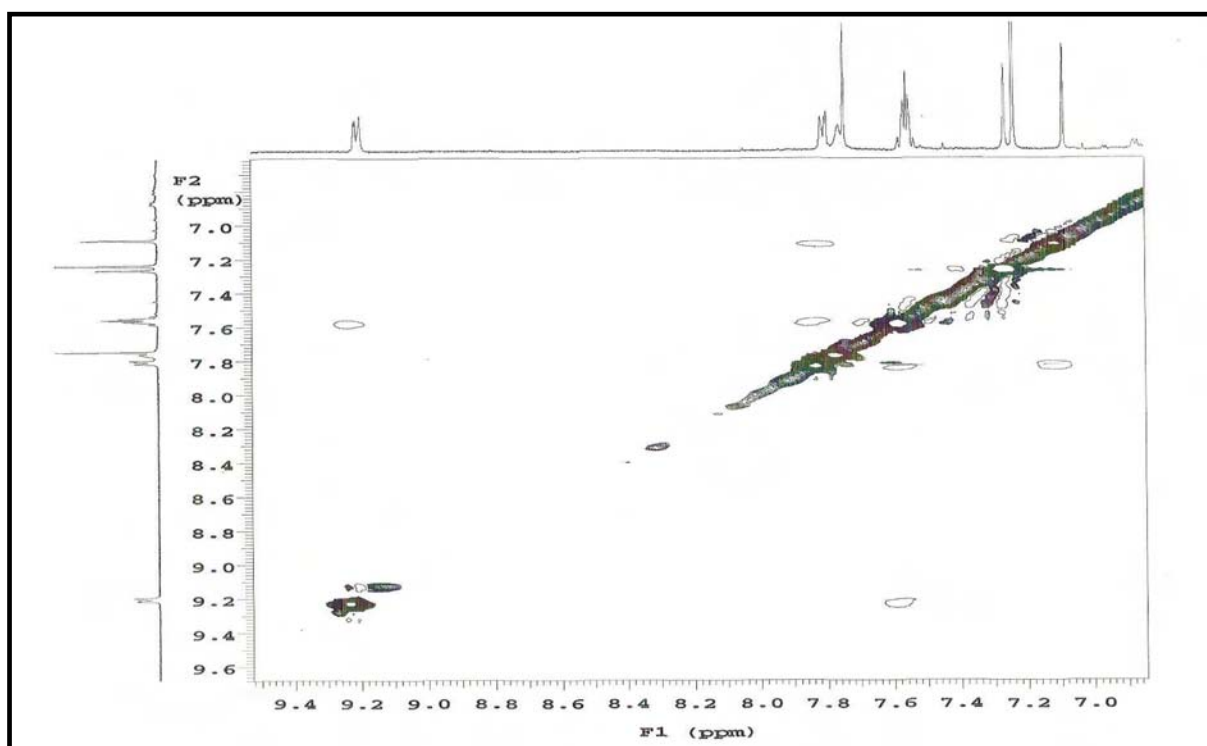
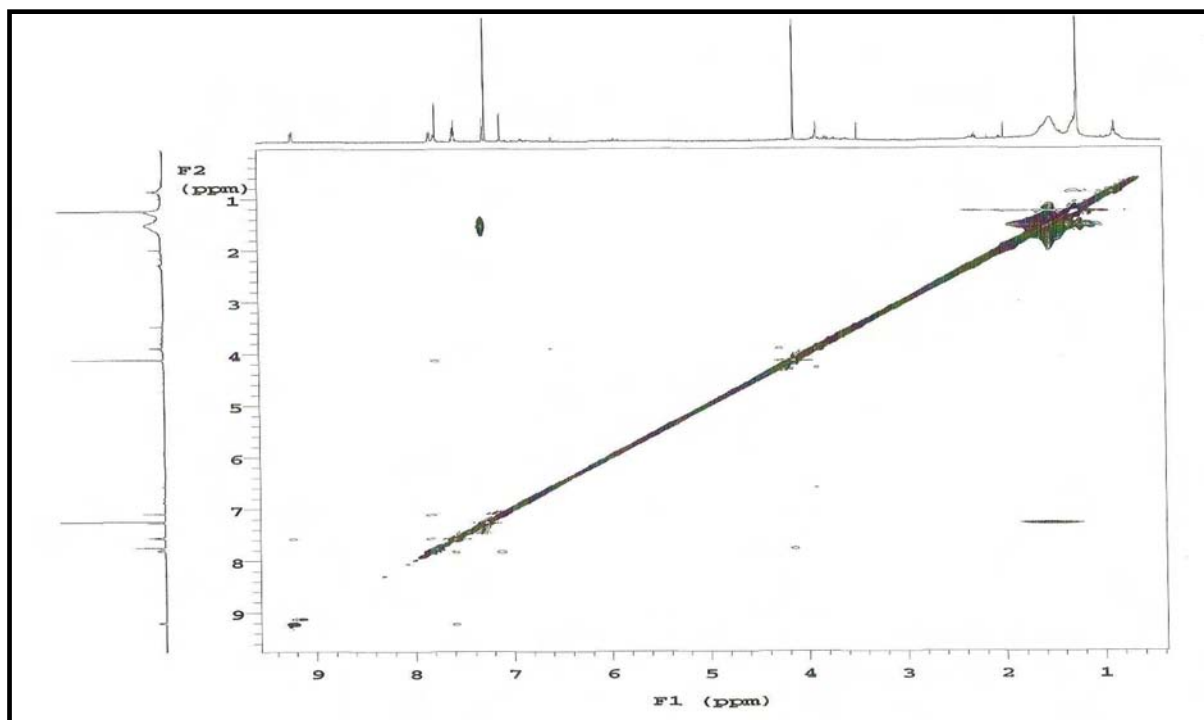


Figura 182. Expansão do espectro de NOESY de *Pmoll-4* na região de 9,4 – 1,0 x 9,4 – 1,0 ppm



6.6. Ensaio Biológico realizado com *Piper mollicomum*

O extrato etanólico bruto de *Piper mollicomum* e suas fases clorofórmica e acetato de etila foram disponibilizados para equipe do Prof. Henrique D. M. Coutinho do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da Universidade Regional do Cariri, Crato (CE), para avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica contra linhagens padrões e multirresistentes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*. Foi também analisada a modulação da atividade antibiótica de *Piper mollicomum*.

6.6.1. Micoorganismos utilizados

As cepas de fungos utilizados foram *Candida albicans* (ATCC 40006), *Candida tropicalis* (ATCC 40042) e *Candida krusei* (ATCC 2538), as cepas bacterianas padrões usadas foram *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 10536), *P. aeruginosa* (ATCC 15442) e *K. pneumoniae* (ATCC 4362) e multirresistentes de *S. aureus* (SA 358), *E. coli* (EC 27) e *P. aeruginosa* (P 03). Todas as cepas foram mantidas em meio de cultura Ágar infuso de coração

(HIA, Difco Laboratories Ltda.). Antes do ensaio, as células foram cultivadas por 18h a 37 °C em Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Difco Laboratories Ltda.).

6.6.2. Drogas utilizadas

Os antimicrobianos utilizados foram Gentamicina, Amicacina, Neomicina, Nistatina, Anfotericina b, Mebendazol, Benzoilmetronidazol, todos obtidos pela Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).

6.6.3. Teste de atividade antimicrobiana (CIM) e modulação da atividade antimicrobiana

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada em um ensaio de microdiluição utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) até uma concentração final de 10^5 UFC/ml, em placas de microtitulação com 96 poços. Em cada poço foi adicionado 100 µL de solução de cada extrato. As concentrações finais dos extratos variaram de 512 a 8 µg/mL (diluições seriais 1:2). As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento. A concentração inibitória mínima dos antimicrobianos foi determinada em BHI pelos testes de microdiluição, utilizando suspensão de 10^5 UFC/mL e uma faixa de concentração da droga de 2500 para 2 µg/mL (dupla diluição seriada) para os antibacterianos, e uma variação de 1024 a 2 µg/mL para os antifúngicos. A CIM foi definida como a menor concentração em que não houve crescimento. Para a avaliação dos extratos como moduladores da resistência aos antimicrobianos, o CIM dos antimicrobianos foi determinada na presença e na ausência do extrato etanólico (EPPM), da fase clorofórica (FCPM) e da fase acetato de etila (FAEPM) de *Piper mollicomum*, em concentrações sub-inibitórias (8 µg/mL) e as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. O ensaio antimicrobiano foi realizado em duplicata e os resultados foram expressos como média das repetições.

6.6.4. Avaliação da atividade antibacteriana

A pesquisa de novos agentes antimicrobianos se faz necessária devido ao surgimento de microrganismos resistentes e de infecções oportunistas fatais, associadas a AIDS, sendo também necessária nas áreas de quimioterapia antineoplásica e transplantes (PENNA, *et. al.*,

2001). Vários estudos são direcionados para o descobrimento de novos agentes antimicrobianos provenientes de extratos de plantas e outros produtos naturais, para serem aplicados em produtos farmacêuticos e cosméticos, além de melhorar também o entendimento de como a etnomedicina pode tratar infecções (LANGFIELD, *et. al.*, 2004).

As Tabelas 32 e 33 mostram a CIM dos extratos e o efeito potencializador em combinação com antimicrobianos. O extrato etanólico e as frações clorofórmica e acetato de etila obtiveram o mesmo resultado de $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ para as atividades antibacterianas e antifúngicas. Na atividade moduladora com as bactérias, observou-se resultados significativos com três antibióticos. Na modulação com a *Escherichia coli* obteve-se um bom resultado para a Amicacina com a FAEPM (78,12 $\mu\text{g/mL}$), para a Canamicina com o extrato etanólico (312,5 $\mu\text{g/mL}$) e com FCPM (312,5 $\mu\text{g/mL}$) e para a Neomicina com o EEPM (39,06 $\mu\text{g/mL}$) e a FAEPM (156,25 $\mu\text{g/mL}$). Com a *Staphylococcus aureus* foi verificado uma modulação sinérgica com a Amicacina para as fases clorofórmica (78,12 $\mu\text{g/mL}$) e acetato de etila (78,12 $\mu\text{g/mL}$) e para a Neomicina com a fase clorofórmica (156,25 $\mu\text{g/mL}$). Já para a *Pseudomonas aeruginosa* não foi obtido nenhum resultado relevante. Na atividade moduladora com os antifúngicos, frente a linhagens de *Cândidas* também não foi observado resultado significativo (Tabela 33, pág. 235).

Tabela 32. Valores das CIMs ($\mu\text{g/mL}$) dos aminoglicosídeos na ausência e na presença do extrato EEPM, e das frações FCPM e FAEPM com *E. coli* 27, *S. aureus* 358 e *P. aeruginosa* 03

	<i>E. coli</i> 27				<i>S. aureus</i> 358				<i>P. aeruginosa</i> 03			
	CIM	CIM combinado			CIM	CIM combinado			CIM	CIM combinado		
		EEPM	FCPM	FAEPM		EEPM	FCPM	FAEPM		EEPM	FCPM	FAEPM
Canamicina	2500	312,5	312,5	1250	312,5	312,5	625	312,5	1250	625	625	625
Amicacina	312,5	156,25	156,25	78,12	312,5	312,5	78,12	78,12	1250	625	625	1250
Neomicina	1250	39,06	625	156,25	625	625	156,25	1250	625	312,5	312,5	312,5
Gentamicina	78,12	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	39,06	1250	625	1250	1250
EEPM	≥ 1024	-	-	-	≥ 1024	-	-	-	≥ 1024	-	-	-
FCPM	≥ 1024	-	-	-	≥ 1024	-	-	-	≥ 1024	-	-	-
FAEPM	≥ 1024	-	-	-	≥ 1024	-	-	-	≥ 1024	-	-	-

EEPM: Extrato etanólico de *Piper mollicomum*; FCPM: Fração clorofórmica de *Piper mollicomum*; FAEPM: Fração acetato de etila de *Piper mollicomum*; EC: *Escherichia coli*; SA: *Staphylococcus aureus*; PA: *P. aeruginosa*

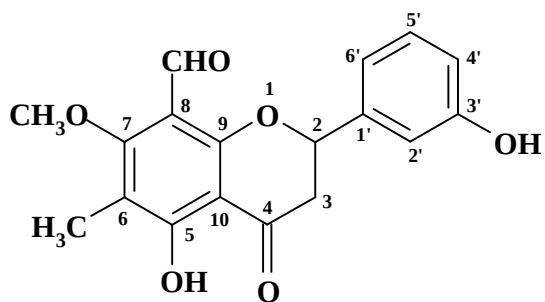
Tabela 33. Valores das CIMs ($\mu\text{g/mL}$) dos antifúngicos na ausência e na presença do extrato EEPM e das frações FCPM e FAEPM, com *C. krusei* 40147, *C. albicans* 40006 e *C. tropicalis* 40042.

	<i>C. krusei</i>	40147			<i>C. albicans</i>	40006			<i>C. tropicalis</i>	40042		
	CIM	CIMcombinado			CIM	CIM combinado			CIM	CIM combinado		
		EEPM	FCPM	FAEPM		EEPM	FCPM	FAEPM		EEPM	FCPM	FAEPM
Anfotericina B	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024
Benzoilmetronidazol	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024
Mebendazol	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024
Nistatina	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024
EEPM	≥1024	-	-	-	≥1024	-	-	-	≥1024	-	-	-
FCPM	≥1024	-	-	-	≥1024	-	-	-	≥1024	-	-	-
FAEPM	≥1024	-	-	-	≥1024	-	-	-	≥1024	-	-	-

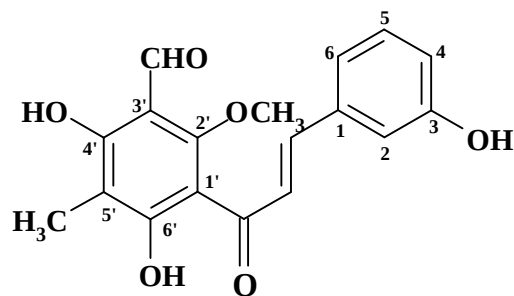
EEPM: Extrato etanólico de *Piper mollicomum*; FCPM: Fração clorofórmica de *Piper mollicomum*; FAEPM: Fração acetato de etila de *Piper mollicomum*; CK: *Candida krusei*; CA: *Candida albicans*; CT: *Candida tropicalis*.

*Capítulo 3: Estudo de
Piper montealegreanum*

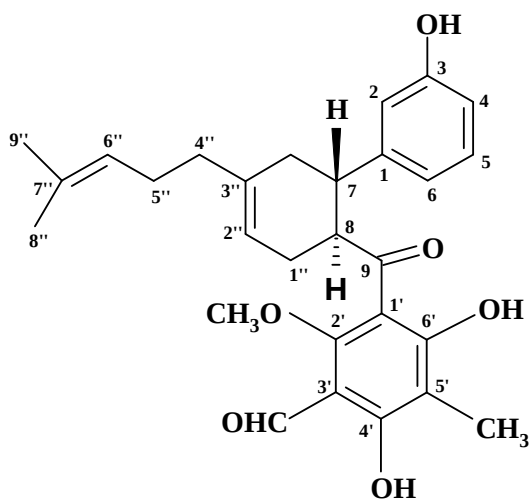
Quadro 6. Constituintes químicos isolados no estudo de *Piper montealegreanum*



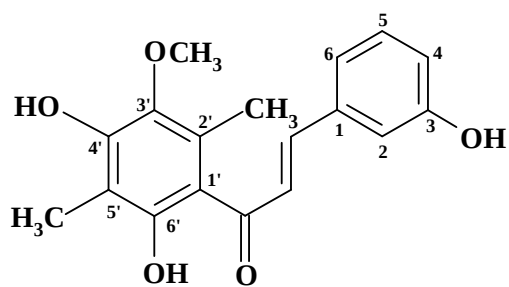
Pm-1



Pm-2



Pm-3



Pm-4

7.0. ESTUDO DE *Piper montealegreanum* Yuncker

7.1. Considerações sobre a espécie *Piper montealegreanum*

Investigação fitoquímica, realizada anteriormente por nossa equipe, do extrato etanólico bruto de *Piper montealegreanum* revelou a presença dos compostos: 3,4-metilenodioxi-5-metoxi-7,8-diidrocinamoil-etil éster; β -sitosterol; estigmasterol; feofitina A e dois flavonóides inéditos 8-formil-3',5-diidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona e 3'-formil-3,4',6'-triidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona (ALVES, 2004). Este é o único relato da espécie na literatura.

7.2. Coleta do material botânico

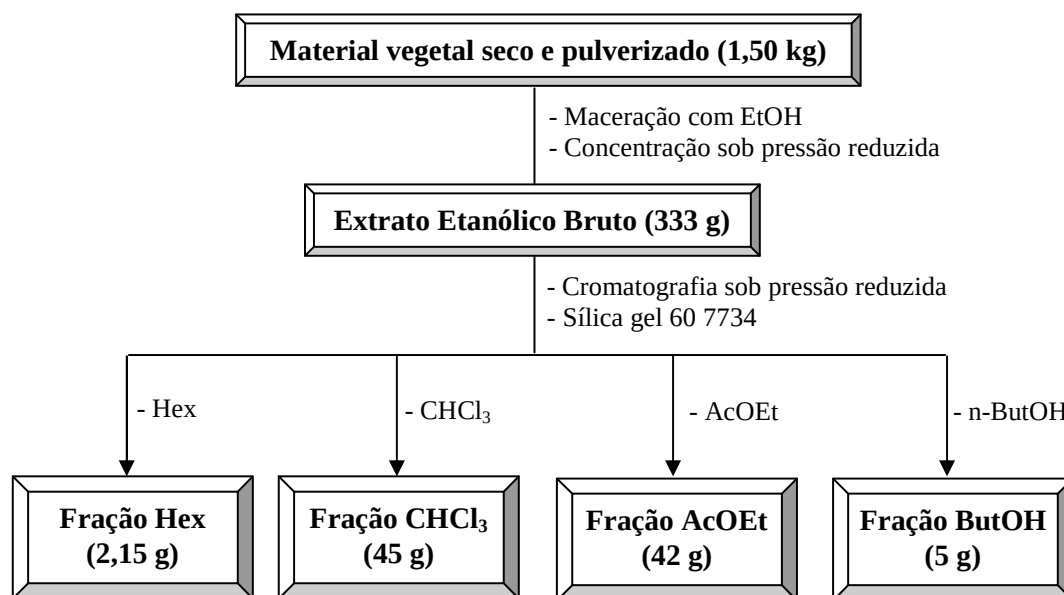
As partes aéreas de *Piper montealegreanum* foram coletadas, em 2008, no campus de pesquisas do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-PA. O material botânico foi identificado pela professora Dr^a Elsie Guimarães do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio de Janeiro e uma exsicata (MSP-010) encontra-se depositada no herbário do Museu Emílio Goeldi.

7.3. Processamento do Material Botânico, Obtenção e Particionamento do Extrato Etanólico das folhas de *Piper montealegreanum*

As partes aéreas de *Piper montealegreanum*, após coletadas, foram desidratadas em estufa com ar circulante a temperatura média de 40 °C durante 72 horas, sendo em seguida pulverizadas em moinho mecânico, reduzindo-se a pó (1,50 kg). Este foi submetido à maceração exaustiva com etanol por três dias consecutivos, sendo este processo repetido até a máxima extração dos constituintes químicos. A solução extrativa obtida foi concentrada em rotaevaporador, resultando no extrato etanólico bruto (333 g). Uma alíquota de 106 g deste foram submetidos a uma cromatografia sob pressão reduzida, utilizando como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), tendo como suporte um funil de Büchner com placa porosa acoplado com um papel de filtro. Como fase móvel foi utilizado hexano (Hex), clorofórmio (CHCl₃), acetato de etila (AcOEt) e Butanol (ButOH), separadamente. Os solventes foram removidos em rotaevaporador

resultando nas respectivas frações Hex (2,15 g), CHCl_3 (45 g), AcOEt (42 g) e ButOH (5 g) (Esquema 11).

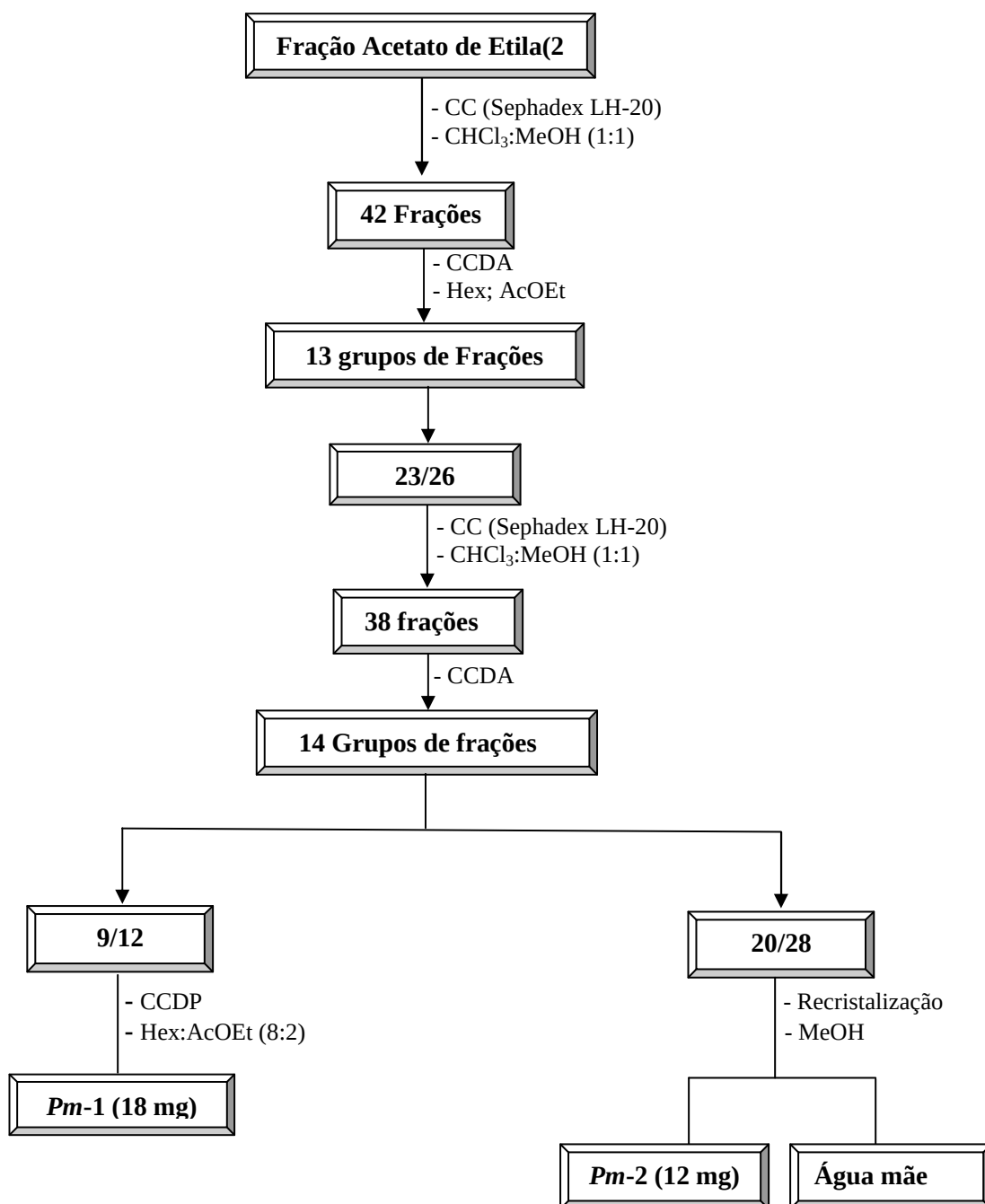
Esquema 11. Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de *Piper montealegreanum*



7.3.1 Fracionamento da Fração AcOEt do Extrato Etanólico Bruto de *Piper montealegreanum*

Dois gramas da fração acetato de etila foram submetidas à cromatografia em coluna de Sephadex (LH-20) (Esquema 12, p. 240), utilizando-se como eluentes CHCl_3 :MeOH (1:1), resultando em 42 frações, que foram monitoradas através de CCDA e reunidas de acordo com seus Rf's em 13 grupos de frações. A fração 23-26 foi submetida à cromatografia em coluna de Sephadex, utilizando-se como eluentes CHCl_3 :MeOH (1:1), resultando em 38 frações, que foram reunidas por CCDA, de acordo com seus Rf's em 14 grupos de frações. A fração 9-12 desta coluna foi purificada através CCDP, utilizando-se como eluentes Hex:AcOEt (8:2), obtendo-se o composto codificado como *Pm*-1, enquanto que a fração 20-28, após recristalização com MeOH, resultou na substância codificada como *Pm*-2.

Esquema 12. Fracionamento de 2,0g da fração acetato de etila do extrato etanólico de *Piper montealegreanum*.

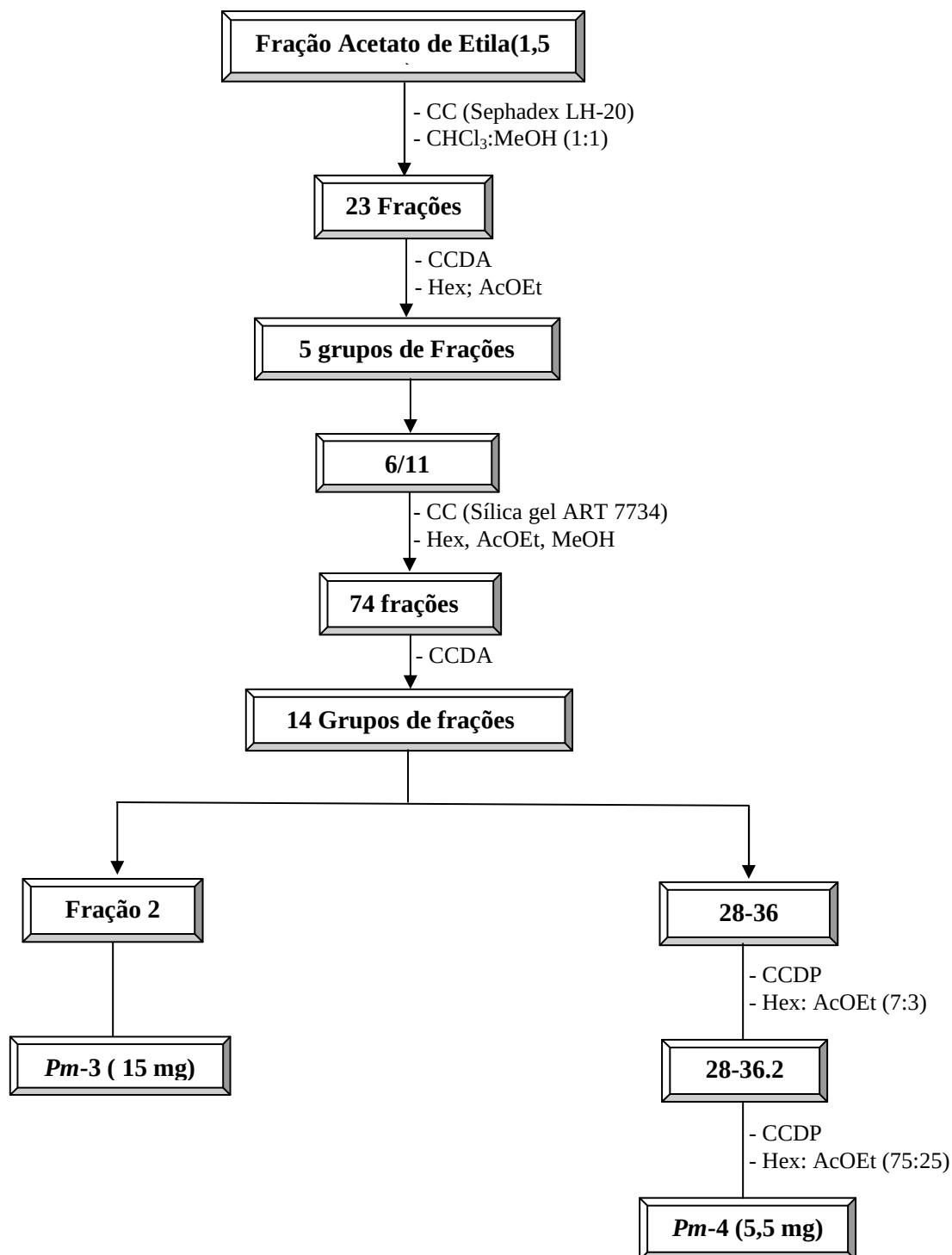


Uma nova alíquota de 1,5 gramas da fração acetato de etila foi novamente submetida à cromatografia em coluna de Sephadex (LH-20) (Esquema 13, p. 242), semelhante a metodologia anteriormente descrita, resultando em 23 frações, que foram reunidas através de CCDA em 5 grupos de frações, de acordo com seus Rfs. A fração 6-11 foi submetida à cromatografia em coluna sob média pressão, utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 (Merck, partículas de 0,04-0,063 mm) e como eluentes Hex, AcOEt e MeOH, puros e/ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 74 frações, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas por CCDA, de acordo com seus Rfs em 14 grupos de frações (Tabela 34). A fração 2 ao ser monitorada por CCDA apresentou um considerável grau de pureza e foi codificada como *Pm-3*, sendo encaminhada para análise espectral. Já a fração 28-36 obtida da mesma coluna foi purificada através CCDP, utilizando-se como eluentes Hex:AcOEt (7:3), resultando na fração 28-36.2, a qual foi novamente submetida à cromatografia, através de CCDP, utilizando-se como eluentes Hex:AcOEt (75:25), resultando no composto codificado como *Pm-4* (Esquema 13).

Tabela 34. Frações obtidas e eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico da fração 6-11 da fração AcOEt de *Piper montealegreanum*

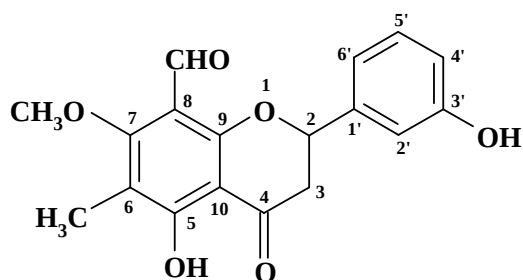
Eluentes	Proporção	Frações obtidas	Frações reunidas
Hex:AcOEt	90:10	1-24	1; 2; 3-21; 22-27; 28-36 ; 37-41;
Hex:AcOEt	87:13	25-27	42-49; 50-52; 53-55; 56-59;
Hex:AcOEt	82:18	28-42	60-61; 62-63; 64-72; 73-74
Hex:AcOEt	77:23	43-44	
Hex:AcOEt	72:28	45-46	
Hex:AcOEt	65:35	47-48	
Hex:AcOEt	55:45	49-50	
Hex:AcOEt	40:60	51-52	
Hex:AcOEt	20:80	53-54	
AcOEt	100%	55-57	
AcOEt:MetOH	95:5	58-59	
AcOEt:MetOH	90:10	60-62	
AcOEt:MetOH	80:20	63-65	
AcOEt:MetOH	70:30	66-69	
AcOEt:MetOH	50:50	70-74	

Esquema 13. Fracionamento de 1,5g da fração acetato de etila do extrato etanólico de *Piper montealegreanum*

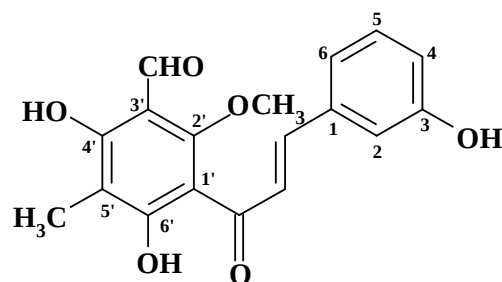


7.4. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados de *Piper montealegreanum*

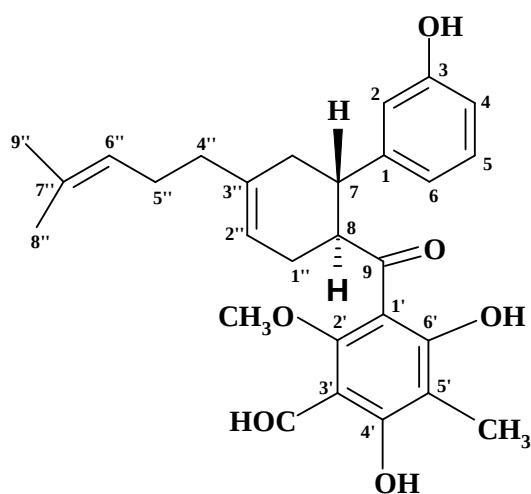
O estudo fitoquímico de *Piper montealegreanum* levou ao reisolamento dos flavonóides 8-formil-3',5-diidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona (*Pm-1*); 3'-formil-3,4',6'-triidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona (*Pm-2*) e (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona (*Pm-3*), além do isolamento de uma nova chalcona a 3'-metoxi,3,4',6'-triidroxi, 2',5'-dimetilchalcona (*Pm-4*). Os três primeiros foram identificados através da comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C com valores da literatura (ALVES, 2004; ALVES, 2008), já que foram anteriormente isolados desta mesma espécie, através de estudos realizados por nossa equipe, sendo, a flavanona (*Pm-1*) e a chalcona (*Pm-2*) disponibilizadas para testes biológicos.

**(Pm-1)**

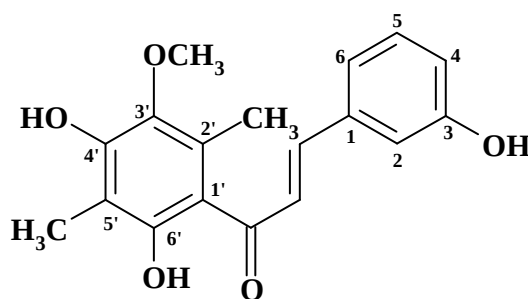
8-formil-3',5-diidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona

**(Pm-2)**

. 3'-formil-3,4',6'-triidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona

**(Pm-3)**

(2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona

**(Pm-4)**

3'-metoxi,3,4',6'-triidroxi, 2',5'-dimetilchalcona

7.4.1. Determinação Estrutural de *Pm-1*

A substância codificada como *Pm-1*, reisolada da fase acetato de etila de *Piper montealegreanum*, apresentou-se como cristais em formato de agulha, solúveis em clorofórmio a quente ou metanol.

A identificação estrutural de *Pm-1*, como sendo a 8-formil-3',5-diidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona, foi realizada através da comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H (CD_3OD , 200 MHz) (Figuras 183 a 185, p. 245-246) e ^{13}C (CD_3OD , 50 MHz) (Figura 186 e 187, p. 246-247) com valores da literatura (Tabela 35).

Tabela 35. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pm-1* com valores encontrados na literatura (ALVES, 2004).

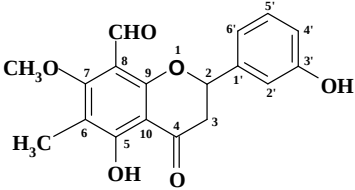
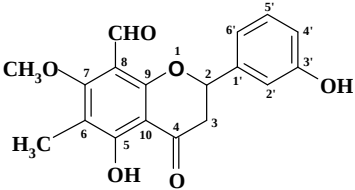
<i>Pm-1</i> (CD_3OD , 200 MHz)			Literatura (CDCl_3 , 200 MHz)	
				
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
4	190,74	-	188,98	-
5	167,90	-	166,26	-
6	109,83	-	109,34	-
7	166,94	-	166,15	-
8	111,05	-	109,97	-
9	166,84	-	165,58	-
10	108,84	-	107,54	-
1'	141,29	-	139,70	-
3'	158,99	-	156,30	-
CH				
2	80,05	5,54 (dd, $J=4,0$; 12,0 Hz)	78,31	5,43 (dd, $J=4,6$; 10,8 Hz)
2'	113,92	6,94 (m)	112,78	6,93 (m)
4'	116,58	6,78 (dd, $J=2,0$; 8,0 Hz)	115,83	6,85 (dl, $J=8,0$ Hz)
5'	130,90	7,23 (t, $J=8,0$ Hz)	130,17	7,26 (t, $J=8,0$ Hz)
6'	118,12	6,94 (m)	117,89	6,93 (m)
CHO	190,71	10,15 (s)	193,85	10,15 (s)
CH₂				
3(eq.)	45,92	2,83 (dd, $J=4,0$; 17,0 Hz)	45,00	2,85 (dd, $J=4,6$; 17,0 Hz)
3(ax.)	45,92	3,17 (dd, $J=12,0$; 17,0 Hz)	45,00	2,97 (dd, $J=10,8$; 17,0 Hz)
CH₃				
OCH ₃ -7	64,96	3,97 (s)	64,59	3,99 (s)
CH ₃ -6	7,36	2,05 (s)	7,23	2,05 (s)

Figura 183. Espectro de RMN ^1H de *Pm-1* (CD_3OD , 200 MHz)

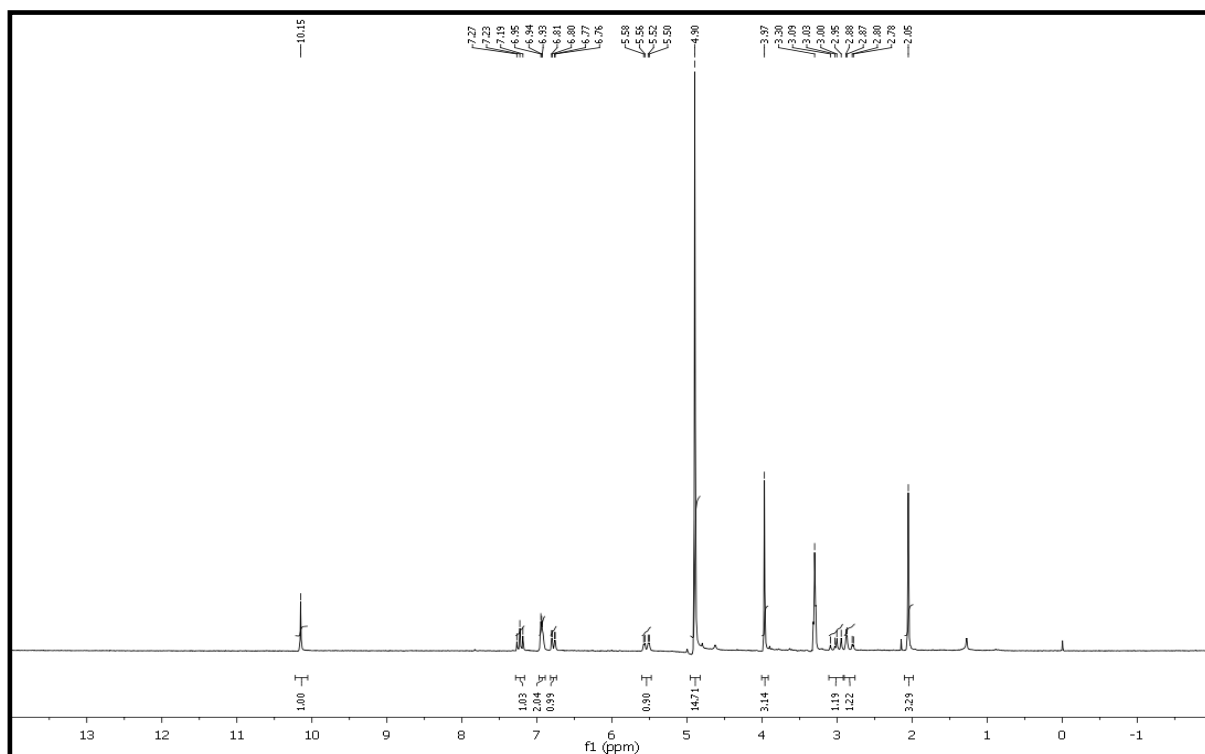


Figura 184. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pm-1* na região de 5,4 a 7,4 ppm

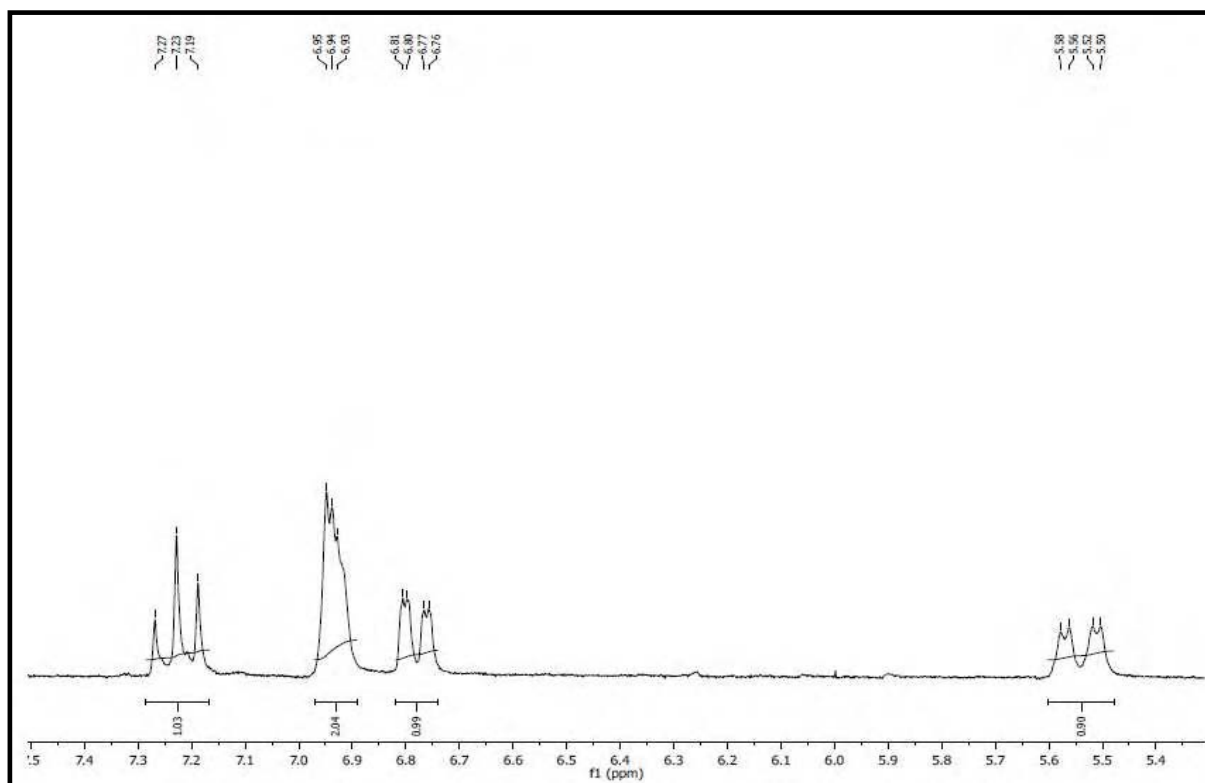


Figura 185. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pm-1* na região de 2,74 a 3,12 ppm

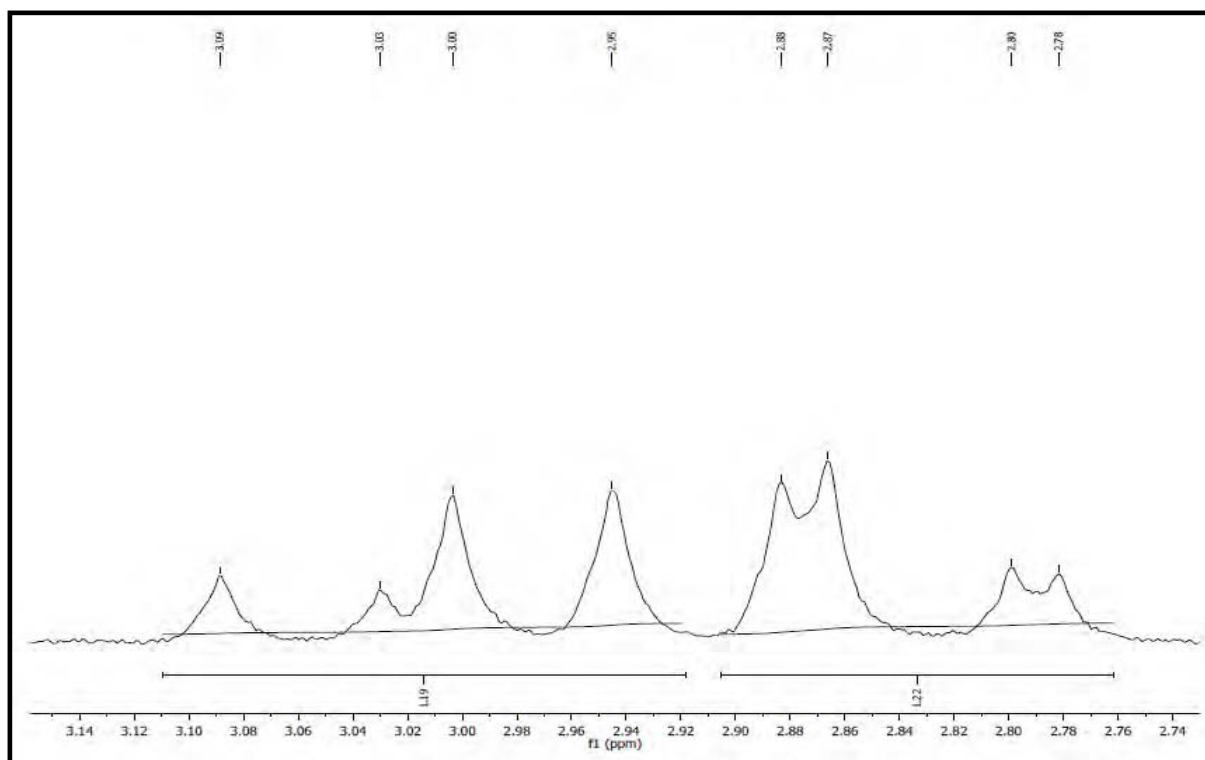


Figura 186. Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pm-1* (CD_3OD , 50 MHz)

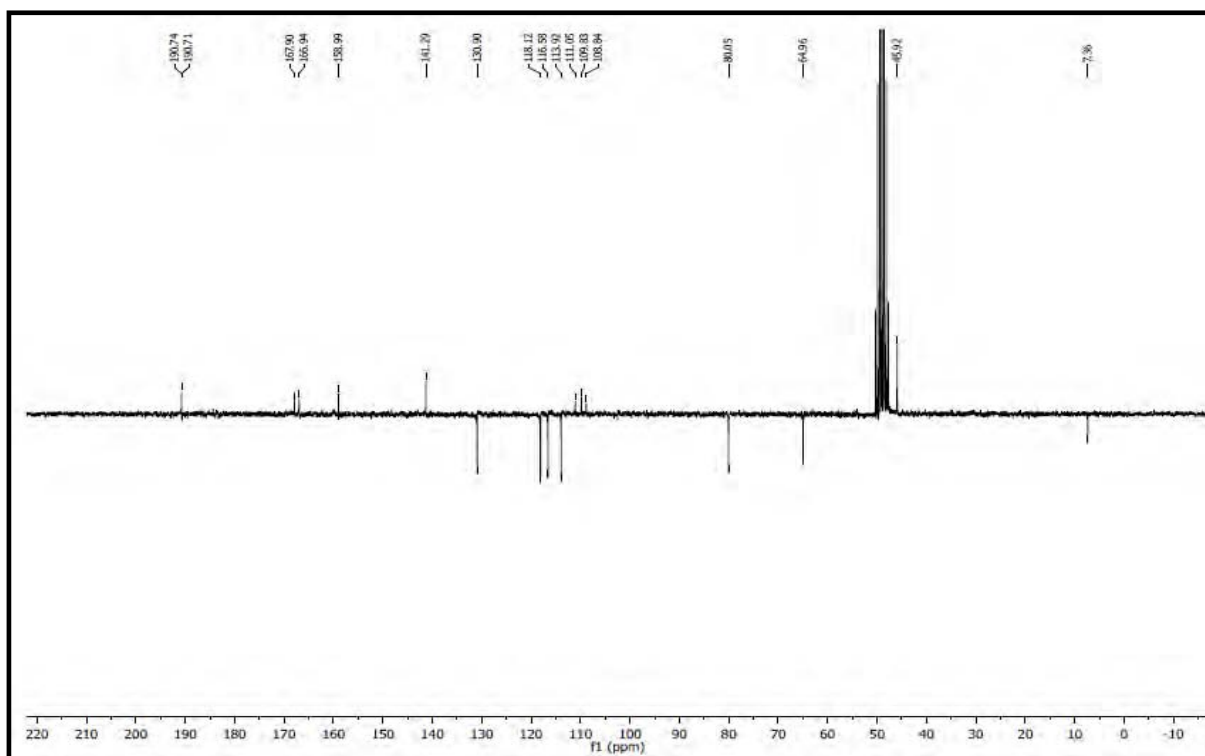
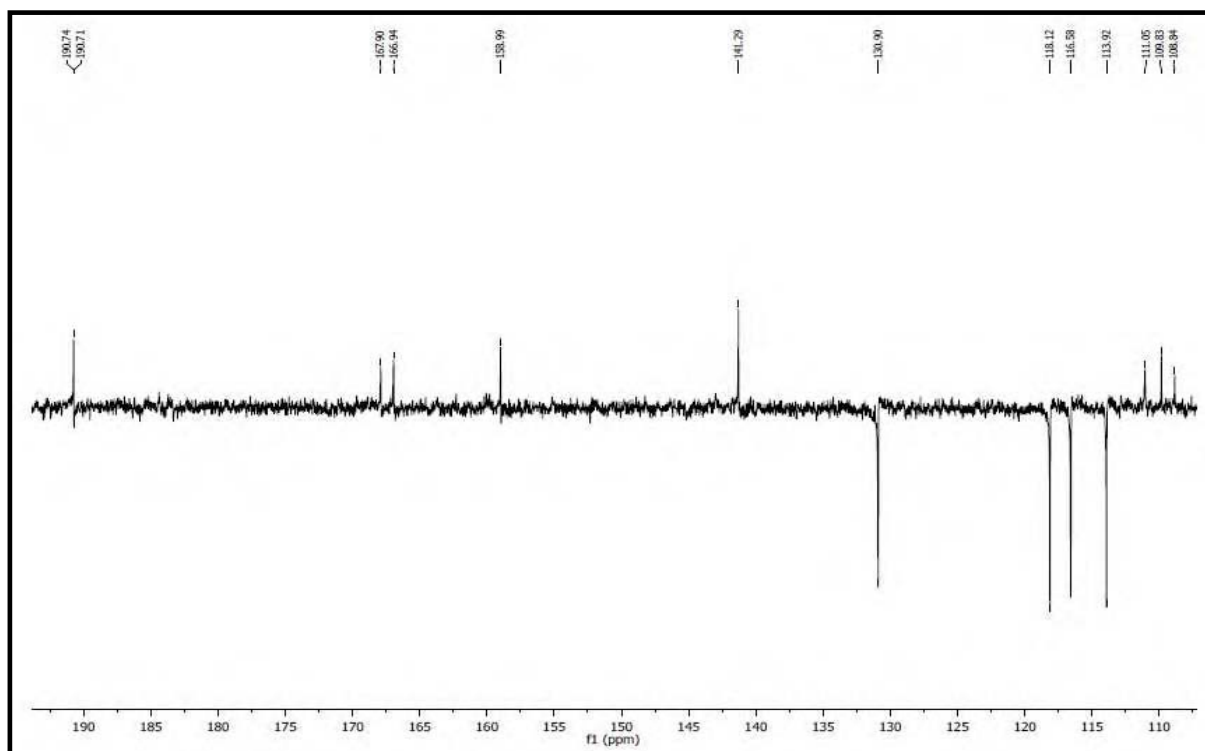


Figura 187. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pm-1* na região de 190 a 110 ppm

7.4.2. Determinação Estrutural de *Pm-2*

A substância codificada como *Pm-2*, reisolada da fração acetato de etila de *Piper montealegreanum*, apresentou-se como cristais, em formato de agulhas, solúveis em metanol ou clorofórmio, a quente.

A análise dos dados espectrais de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Figuras 188 e 189, p. 249) de *Pm-2* e sua comparação com dados da literatura (ALVES, 2004) (Tabela 36), permitiu identificar o metabólito em análise como sendo a 3'-formil-3,4',6'-triidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona.

Tabela 36. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de *Pm-2* com valores encontrados na literatura [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 200 MHz] (ALVES, 2004)

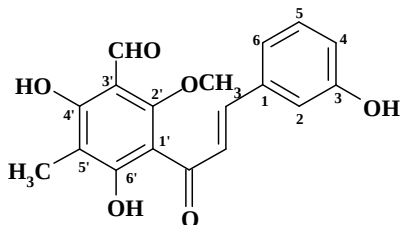
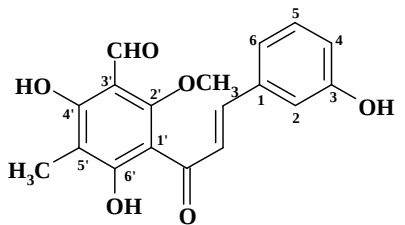
<i>Pm-2</i> (CDCl_3 , 500 MHz)		Literatura [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 200 MHz]
		
C	δ_{H}	δ_{H}
1'	-	-
2'	-	-
3'	-	-
4'	-	-
5'	-	-
6'	-	-
1	-	-
3	-	-
C=O	-	-
CH		
2	7,31-7,27 (m)	7,28-7,23 (m)
4	6,90 (dd, $J=5,0$; 7,5Hz)	6,97 (ddd, $J=2,0$; 7,5 e 1,6Hz)
5	7,21 (t, $J=7,8$ Hz)	7,33 (t, $J=7,8$ Hz)
6	7,31-7,27 (m)	7,28-7,23 (m)
α	7,78 (d, $J=15,0$ Hz)	7,89 (s)
β	7,84 (d, $J=15,0$ Hz)	7,90 (s)
CHO	10,11 (s)	10,17 (s)
CH₃		
OCH ₃ -2'	3,87 (s)	4,01 (s)
CH ₃ -5'	2,07 (s)	2,02 (s)
OH-4'	12,60 (s)	12,83 (s)
OH-6'	13,99 (s)	14,21 (s)

Figura 188. Espectro de RMN ^1H de *Pm-2* (CDCl_3 , 500 MHz)

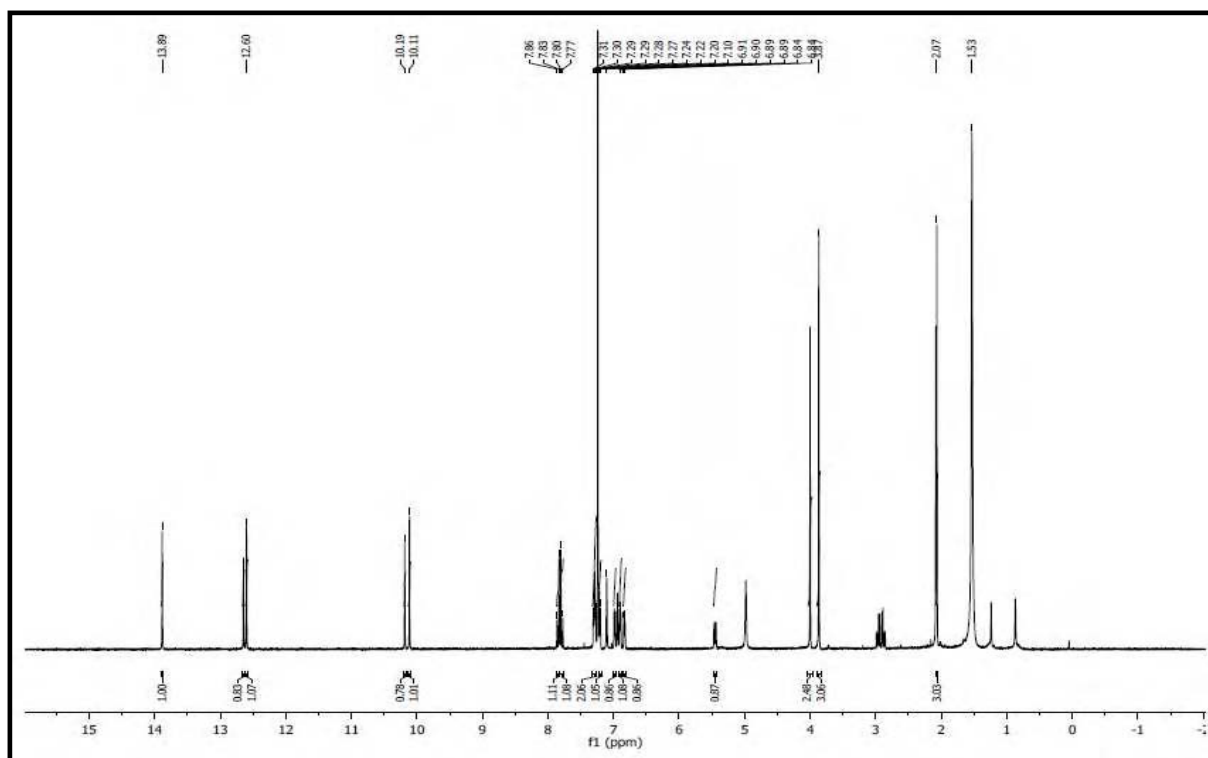
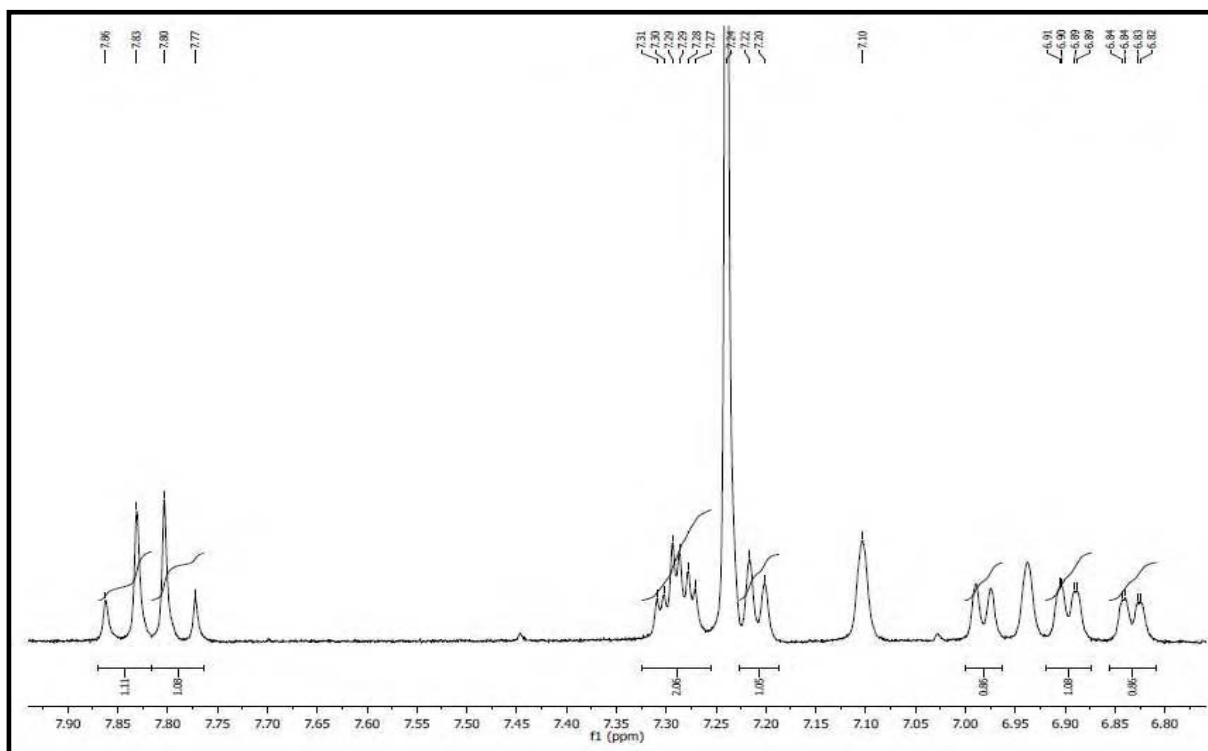


Figura 189. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pm-2* na região de 6,8 a 7,9 ppm

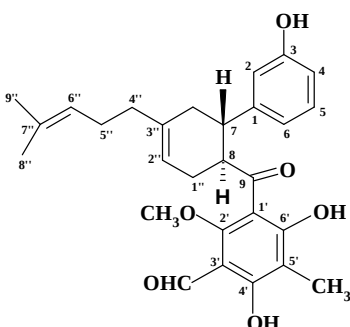
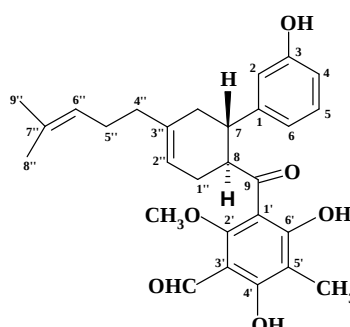


7.4.3. Determinação Estrutural de *Pm-3*

A substância codificada como *Pm-3*, reisolada da fase acetato de etila de *Piper montealegreanum*, apresentou-se como um sólido amorfo amarelo, solúvel em clorofórmio.

A identificação estrutural de *Pm-3*, como sendo a 2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil-[3''-(dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-ona, foi realizada através da comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Figuras 190 a 192, p. 252-253) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) (Figura 193, p. 253) com dados da literatura (Tabela 37).

Tabela 37. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) e ^{13}C (CDCl_3 , 125 Mz) de *Pm-3* com valores encontrados na literatura (ALVES, 2008)

<i>Pm-3</i> (CDCl_3 , 500 MHz)			Literatura (CDCl_3 , 500 MHz)	
				
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1'	108,84	-	109,34	-
2'	166,61	-	166,65	-
3'	107,95	-	107,97	-
4'	165,21	-	165,21	-
5'	108,94	-	108,85	-
6'	167,21	-	167,23	-
3''	137,40	-	137,41	-
7''	131,72	-	131,70	-
1	145,54	-	145,56	-
3	155,42	-	155,46	-
C=O	209,55	-	209,55	-

CH				
CHO-3'	192,37	10,02 (s)	192,36	10,04 (s)
2''	118,71	5,51 (sl)	118,73	5,51 (m)
6''	124,00	5,09 (dt, $J = 1,5; 7,0$ Hz)	124,02	5,12 (dt, $J = 1,5; 7,0$ Hz)
2	114,46	6,56 (d, $J = 2,0$ Hz)	114,48	6,58 (dd, $J = 2,5; 1,5$ Hz)
4	113,28	6,45 (dd, $J = 2,5; 8,0$ Hz)	113,30	6,45 (ddd, $J = 1,5; 2,5; 7,5$ Hz)
5	129,35	6,92 (t, $J = 8,0$ Hz)	129,35	6,94 (t, $J = 7,5$ Hz)
6	119,82	6,62 (d, $J = 8,0$ Hz)	119,82	6,64 (dd, $J = 1,5; 7,5$ Hz)
7	45,16	3,0 (dt, $J = 5,5; 11,0$ Hz)	45,19	3,01 (dt, $J = 5,5; 11,0$ Hz)
8	51,04	4,11 (dt, $J = 5,5; 11,0$ Hz)	51,06	4,13 (dt, $J = 5,5; 11,0$ Hz)
CH₂				
1''	29,79	2,37 (t)	29,79	2,40-2,38 (m)
4''	37,23	2,06-2,00 (m)	37,23	2,02 (m)
5''	26,36	2,14-2,07 (m)	26,38	2,14 (m)
10''	36,87	2,18-2,34 (m)	36,88	2,23-2,20 (m)
CH₃				
OCH ₃ -2'	67,25	3,89 (s)	67,23	3,90 (s)
CH ₃ -5'	6,55	1,87 (s)	6,56	1,89 (s)
CH ₃ -8''	17,73	1,60 (d, $J = 7,0$ Hz)	17,84	1,62 (d, $J = 0,5$ Hz)
CH ₃ -9''	25,71	1,68 (s)	25,69	1,70 (d, $J = 1,0$ Hz)

Figura 190. Espectro de RMN ^1H de *Pm-3* (CDCl_3 , 500 MHz)

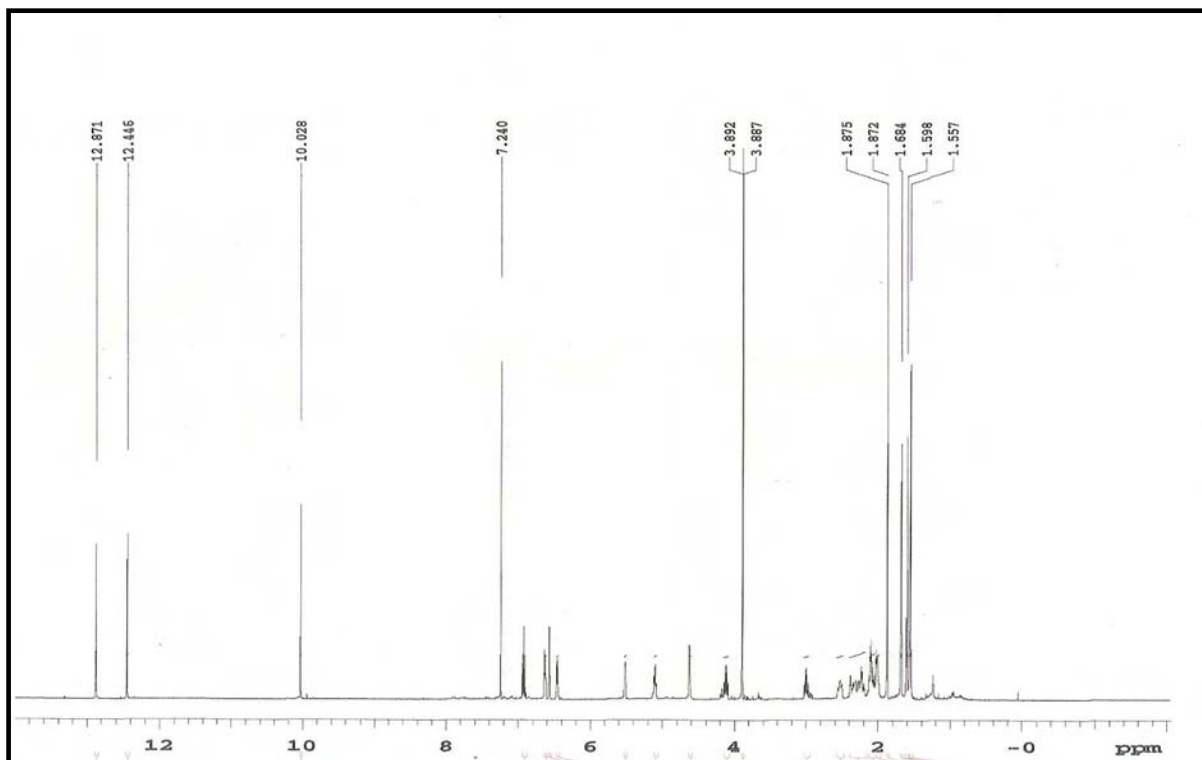


Figura 191. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pm-3* na região de 4,0 a 7,0 ppm

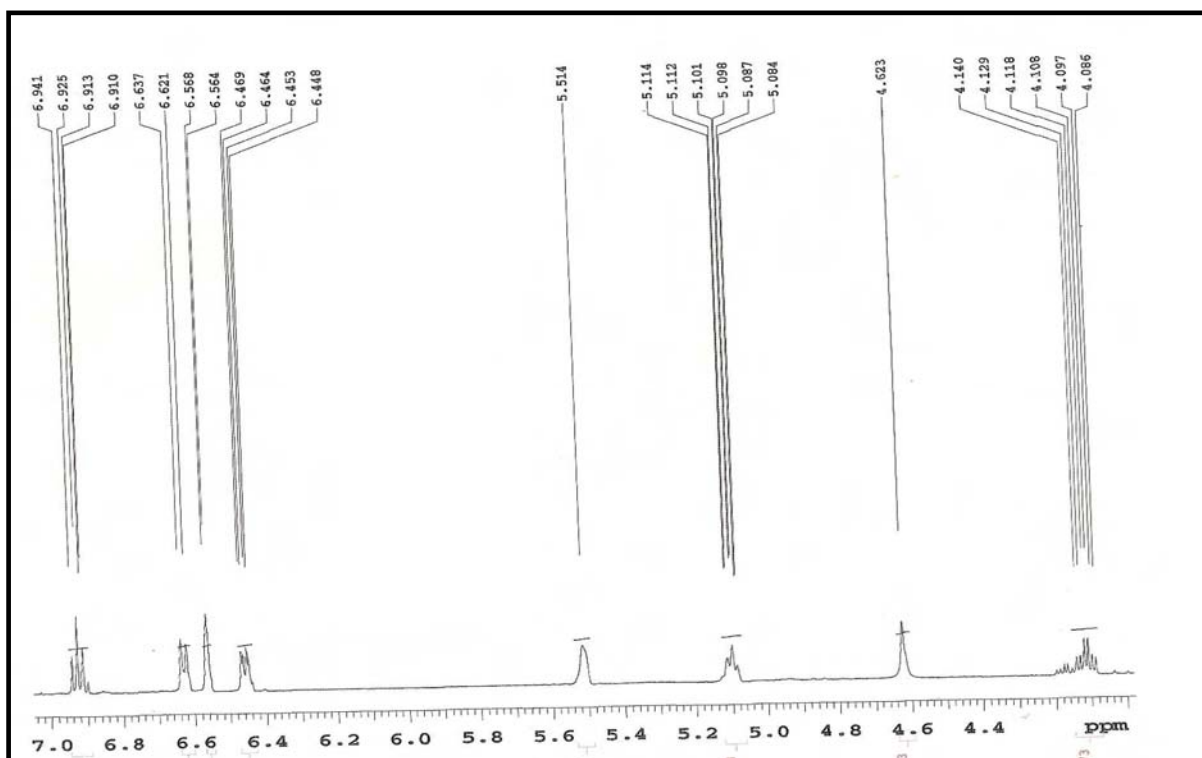


Figura 192. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pm-3* na região de 1,5 a 3,1 ppm

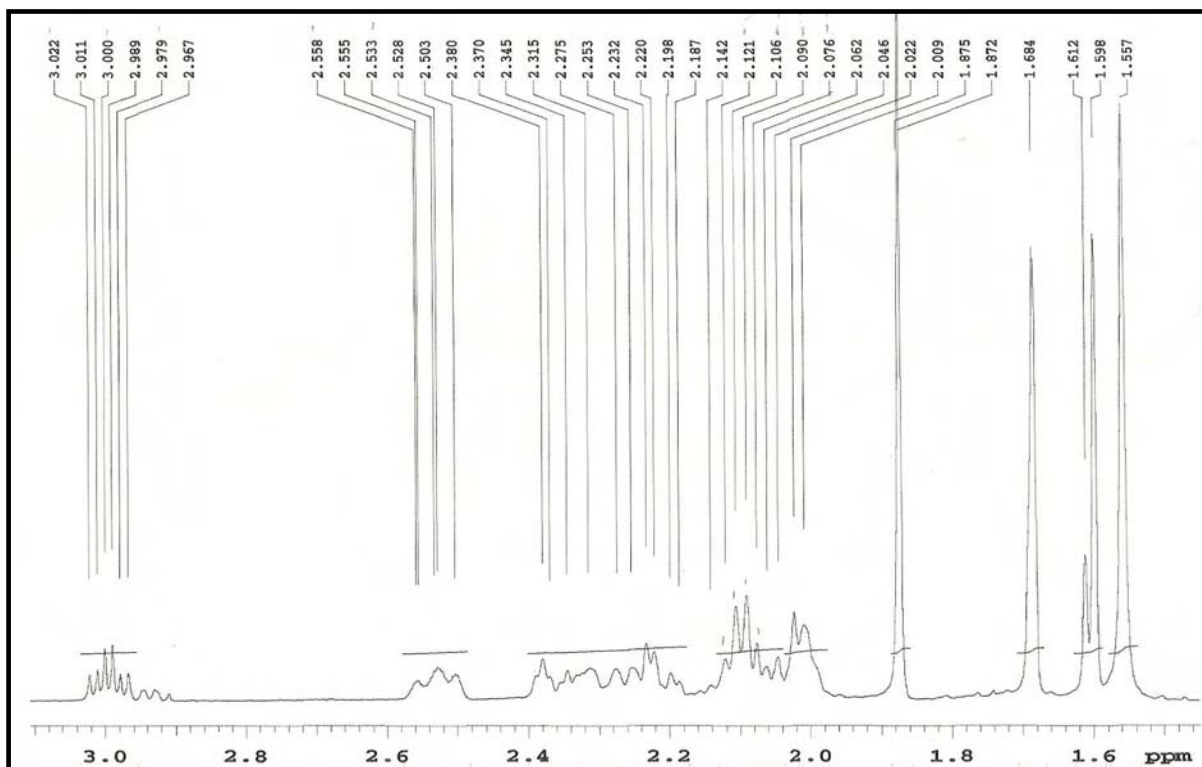
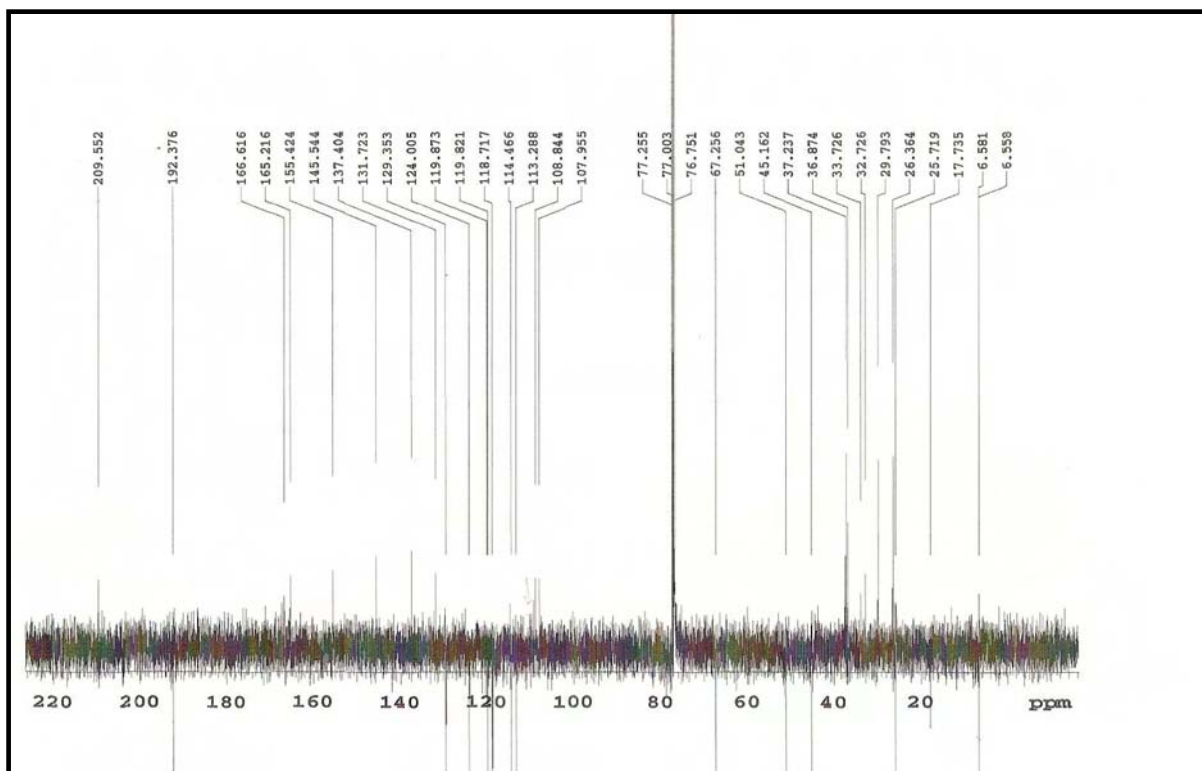


Figura 193. Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pm-3* (CDCl_3 , 50 MHz)



7.4.4. Determinação Estrutural de *Pm-4*

A substância codificada como *Pm-4* apresentou-se como um sólido amorfo amarelo, solúvel em clorofórmio.

O espectro de IV de *Pm-4* (Figura 194, p. 259) mostrou uma banda de absorção larga em 3433 cm^{-1} , sugerindo a presença de hidroxila na estrutura da substância em análise. Em 1627 cm^{-1} verificou-se uma banda de absorção de forte intensidade, característica de carbonila conjugada. Em 1458 cm^{-1} observou-se a existência de uma banda de fraca intensidade referente à ligação C=C de anel aromático, sugerindo a presença deste núcleo na molécula. Ainda no espectro de IV observou-se bandas em 2924 e 2850 cm^{-1} , características de deformação axial de CH de carbono sp^2 e de metoxila, respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figuras 195 a 197, p. 259-260) mostrou a presença de um simpleto em δ_{H} 13,52 (s, 1H), integrando para um hidrogênio, característico de hidroxila quelada, corroborando com espectro de IV, que revelou absorção sugestiva da presença deste grupamento na estrutura. Além disso, foi possível observar a presença de três outros sinais simples, integrando para três hidrogênios cada, em δ_{H} 3,64 (s, 3H); δ_{H} 2,11 (s, 3H) e δ_{H} 2,13 (s, 3H), sendo este primeiro atribuído a grupamento metoxila e os dois últimos sugestivos de metilas ligadas a anel aromático.

O espectro de RMN de ^1H revelou ainda os seguintes sinais para hidrogênios aromáticos: δ_{H} 7,09 (sl, 1H); δ_{H} 6,85 (dd, $J=2$ e 7,5 Hz, 1H); δ_{H} 7,27 (t, $J=7,5$ Hz, 1H) e δ_{H} 7,19 (d, $J=7,5$ Hz, 1H), que propõem a existência de um segundo anel aromático 1,3-dissubstituído na molécula. Estas informações somadas à presença de dois dupletos em δ_{H} 7,91 (d, $J=15,5$ Hz, 1H) e δ_{H} 7,74 (d, $J=15,5$ Hz, 1H), os quais revelaram correlacionar-se no espectro bidimensional heteronuclear HMQC (Figuras 201 a 205, p. 262-264) com os respectivos carbonos metínicos δ_{C} 127,22 e δ_{C} 142,34 e ainda no espectro bidimensional heteronuclear HMBC (^nJ , $n=2$ ou 3) ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$, a 500 e 125 MHz, respectivamente) (Figuras 206 a 214, p. 265-269) com o carbono carbonílico δ_{C} 193,29. Estes dados permitiram sugerir para *Pm-4* um esqueleto de chalcona, com cinco substituintes no anel A e um no anel B.

Os perfis dos sinais em δ_{H} 7,09 (sl, 1H); δ_{H} 7,27 (t, $J=7,5$ Hz, 1H); δ_{H} 7,19 (d, $J=7,5$ Hz, 1H) e δ_{H} 6,85 (dd, $J=2$ e 7,5 Hz, 1H), os quais mostraram no espectro de HMQC correlação direta com os respectivos carbonos δ_{C} 114,51; δ_{C} 130,15; δ_{C} 121,44 e δ_{C} 117,32, atribuídos aos carbonos metínicos do anel B, possibilitaram propor a existência do substituinte OH em C-3, além de atribuir os sinais δ_{H} 7,09 (sl, 1H); δ_{H} 6,85 (dd, $J=2$ e 7,5 Hz,

1H); δ_H 7,27 (t, $J=7,5$ Hz, 1H) e δ_H 7,19 (d, $J=7,5$ Hz, 1H), aos respectivos hidrogênios H-2; H-4; H-5 e H-6.

Os sinais em δ_C 114,51 e δ_C 121,44 foram atribuídos a C-2 e C-6, respectivamente, os quais mostraram correlacionar-se com os hidrogênios em δ_H 7,09 (sl, 1H) e δ_H 7,19 (d, $J=7,5$ Hz, 1H) no espectro HMQC e cujos valores encontram-se de acordo com os deslocamentos químicos observados para estas posições, segundo Pavia (2009). Já os carbonos δ_C 130,15 e δ_C 117,32 foram inferidos às posições C-5 e C-4, respectivamente, os quais mostraram correlação com δ_H 7,27 (t, $J=7,5$ Hz, 1H) e δ_H 6,85 (dd, $J=2$ e $7,5$ Hz, 1H) no espectro HMQC. No espectro bidimensional HMBC, as correlações observadas entre δ_H 7,09/ δ_C 121,44/ δ_C 142,34, bem como entre δ_H 7,19/ δ_C 114,51/ δ_C 117,32/ δ_C 142,34, a três ligações, reforçaram as atribuições feitas para os carbonos C-2 e C-6, além de sugerir δ_C 156,00 e δ_C 137,07, respectivamente para C-3 e C-1, através da correlação evidenciada entre δ_H 7,27/ δ_C 137,07 e 156,00.

O sinal em δ_H 7,91 (d, $J=15,5$ Hz, 1H) ao apresentar correlações, duas ligações, no espectro HMBC (Figura 206, p. 265), a com δ_C 142,34 e δ_C 193,29 e a três ligações com o carbono δ_C 137,07 (Figura 207, p. 265), foi atribuído ao hidrogênio H- α carbonílico. Já o hidrogênio δ_H 7,74 (d, $J=15,5$ Hz, 1H) foi inferido a posição β -carbonila, ao correlacionar-se a três ligações com δ_C 114,51; δ_C 121,44 e δ_C 193,29, e a duas ligações com δ_C 127,22 (Figuras 208 e 209, p. 266).

O espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$), utilizando as técnicas de BB (Figuras 198 e 199, p. 261) e APT (Figura 200, p. 262), juntamente com as correlações observadas no espectro HMBC permitiu atribuir a presença de 18 sinais para *P. moll*-4, sendo 1 carbono carbonílico (δ_C 193,29), 8 carbonos não hidrogenados (δ_C 108,84; δ_C 105,01; δ_C 159,00; δ_C 159,20; δ_C 106,54; δ_C 162,05; δ_C 137,07 e δ_C 156,00), 6 carbonos metínicos (δ_C 114,51; δ_C 117,32; δ_C 130,15; δ_C 121,44; δ_C 127,22 e δ_C 142,34) e 3 carbonos metílicos (δ_C 62,39; δ_C 8,22 e δ_C 7,54).

O espectro bidimensional HMBC atribuiu os sinais δ_C 159,0; δ_C 162,05; δ_C 105,01; δ_C 106,54 aos carbonos que sustentam os substituintes metoxila (OCH_3), hidroxila (OH) e as duas metilas (CH_3), respectivamente, através das correlações evidenciadas entre δ_H 3,64/ δ_C 159,0 (^3J) (Figura 210, p. 267); δ_H 13,52/ δ_C 162,05 (^2J) (Figura 206, p. 265); δ_H 2,13/ δ_C 108,84 (^3J) e δ_H 2,11/ δ_C 106,54 (^2J) (Figura 210, p. 267).

As correlações observadas entre a hidroxila quelada OH-6' (δ_H 13,52) e os carbonos δ_C 162,05 a duas ligações e δ_C 108,84 a três ligações permitiram atribuir estes deslocamentos químicos aos respectivos carbonos C-6' e C-1'. Além disso, as interações vistas entre δ_H 2,11

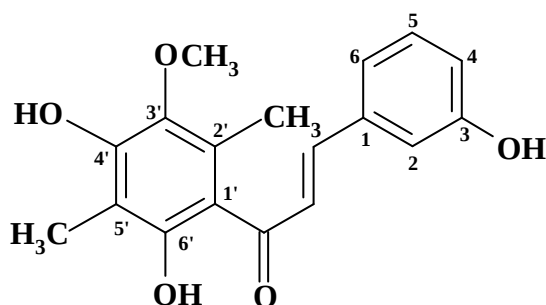
(s, 3H) e os carbonos δ_C 106,54, a duas ligações, e δ_C 162,05 (C-6') e δ_C 159,2 a três ligações, possibilitaram inferir a metila δ_H 2,11 na posição C-5' (δ_C 106,54) (Figura 210, p. 267).

Já a metila δ_H 2,13 (s, 3H) mostrou correlacionar-se com δ_C 108,84 (C-1') e δ_C 159,0 (C-3'), permitindo determinar a posição desta no carbono C-2' (Figura 210, p. 267).

O espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY ($^1H \times ^1H$, a 500 MHz) (Figuras 215 a 217, p. 269-270) mostrou as correlações entre os hidrogênios de carbonos vicinais: δ_H 6,85/ δ_H 7,27; δ_H 7,27/ δ_H 6,85/ δ_H 7,19 e δ_H 7,19/ δ_H 7,27, reforçando as atribuições feitas para os hidrogênios H-4; H-5 e H-6.

A análise dos dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais de *Pm-4* (Tabela 38, p. 257) e sua comparação com modelo da literatura (ALVES, 2004) (Tabela 39, p. 258) permitiram identificar *Pm-4* como sendo a 3'-metoxi,3,4',6'-triidroxi, 2',5'-dimetilchalcona, relatada pela primeira vez na literatura e abaixo representada.

O espectro de massas ESI-MS (Figura 218, p. 271) de *Pm-4* mostrou um pico de íon molecular de $[M + H]^+$: m/z 314,9, condizente com a proposta estrutural feita para a substância analisada, cuja fórmula molecular é $C_{18}H_{18}O_5$ (314 daltons).



3'-metoxi,3,4',6'-triidroxi, 2',5'-dimetilchalcona

Tabela 38. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) uni e bidimensionais de *Pm-4*, em CDCl_3

C	δ_{C}	HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		COSY
		δ_{H}	^2J	^3J	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	
1'	108,84	-				
2'	105,01	-				
3'	159,00	-				
4'	159,20	-				
5'	106,54	-				
6'	162,05	-				
1	137,07	-				
3	156,00	-				
C=O	193,29	-				
CH						
2	114,51	7,09 (sl, 1H)		C- β ; C-6		
4	117,32	6,85 (dd, $J=2,0$; 7,5 Hz)		C-6		H-5
5	130,15	7,27 (t, $J=7,5$ Hz)		C-1; C-3		H-4; H-6
6	121,44	7,19 (d, $J=7,5$ Hz)		C- β ; C-4; C-2		H-5
α	127,22	7,91 (d, $J=15,5$ Hz)	C- β ; C=O	C-1		H- β
β	142,34	7,74 (d, $J=15,5$ Hz)	C- α	C-6; C-2; C=O		H- α
CH₃						
OCH ₃ -3'	62,39	3,64 (s)		C-3'		
CH ₃ -2'	8,22	2,13 (s)		C-3'; C-1'		
CH ₃ -5'	7,54	2,11 (s)	C-5'	C-6'; C-4'		
OH-6'	-	13,52 (s)	C-6'	C-5'; C-1'		

Tabela 39. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pm-4* com valores encontrados na literatura (ALVES, 2004) (δ em ppm e J em Hz)

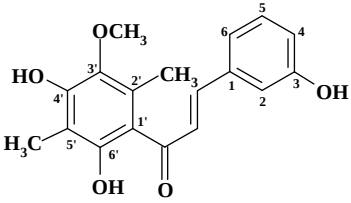
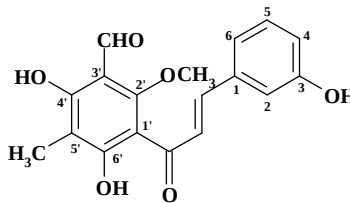
<i>Pm-4</i> [CDCl_3 , 500 Mz]			Literatura [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 200 Mz]	
				
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1'	108,84	-	109,04	-
2'	105,01	-	168,47	-
3'	159,00	-	109,52	-
4'	159,20	-	166,62	-
5'	106,54	-	109,19	-
6'	162,05	-	169,81	-
1	137,07	-	137,08	-
3	156,00	-	158,88	-
C=O	193,29	-	193,84	-
CH				
2	114,51	7,09 (sl, 1H)	115,48	7,28-7,23 (m)
4	117,32	6,85 (dd, $J=2,0$; 7,5 Hz)	119,13	6,97 (ddd, $J=2,0$; 7,5 e 1,6Hz)
5	130,15	7,27 (t, $J=7,5$ Hz)	131,10	7,33 (t, $J=7,8$ Hz)
6	121,44	7,19 (d, $J=7,5$ Hz)	121,35	7,28-7,23 (m)
α	127,22	7,91 (d, $J=15,5$ Hz)	126,28	7,89 (s)
β	142,34	7,74 (d, $J=15,5$ Hz)	145,83	7,90 (s)
CHO	-	-	194,28	10,17 (s)
CH₃				
O CH ₃	62,39 (C3')	3,64 (s)	67,01 (C2')	4,01 (s)
CH ₃ -2'	8,22	2,13 (s)	-	-
CH ₃ -5'	7,54	2,11 (s)	6,79	2,02 (s)
OH-6'	-	13,52 (s)	-	14,21 (s)

Figura 194. Espectro de IV *Pm-4* em pastilha de KBr

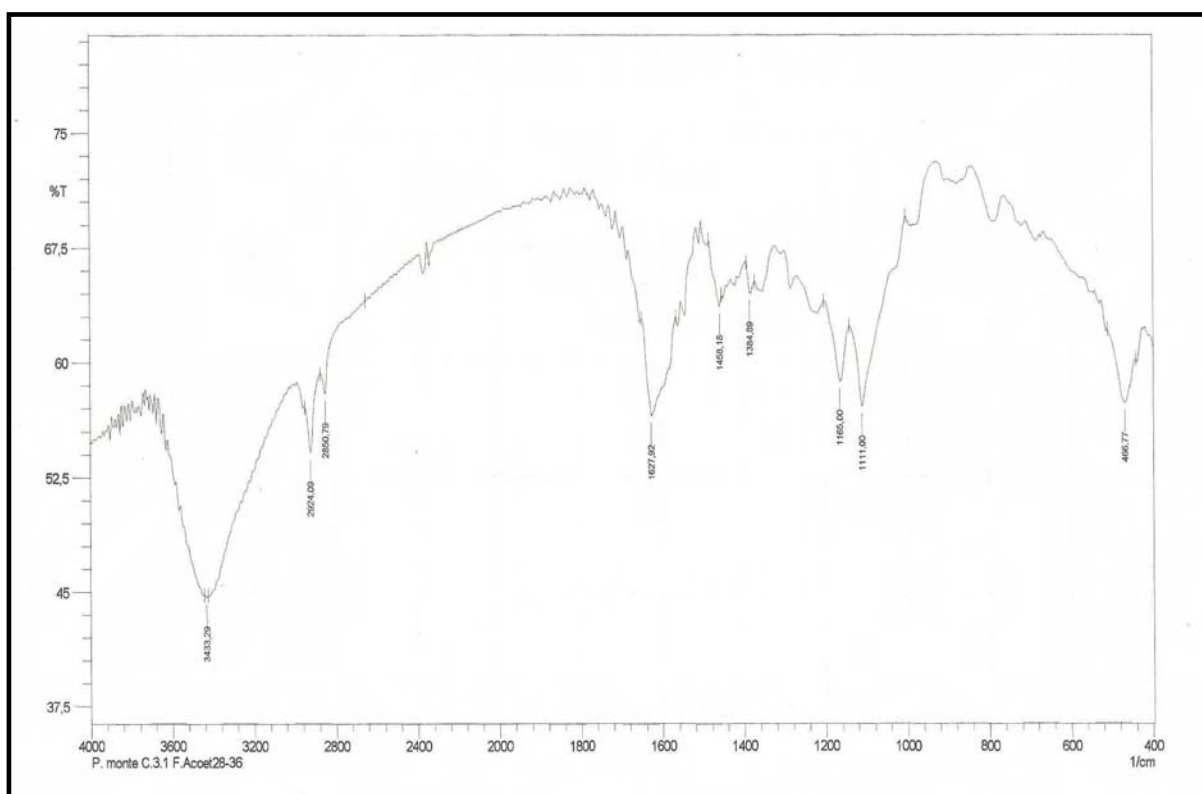


Figura 195. Espectro de RMN ^1H de *Pm-4* (CDCl_3 , 500 MHz)

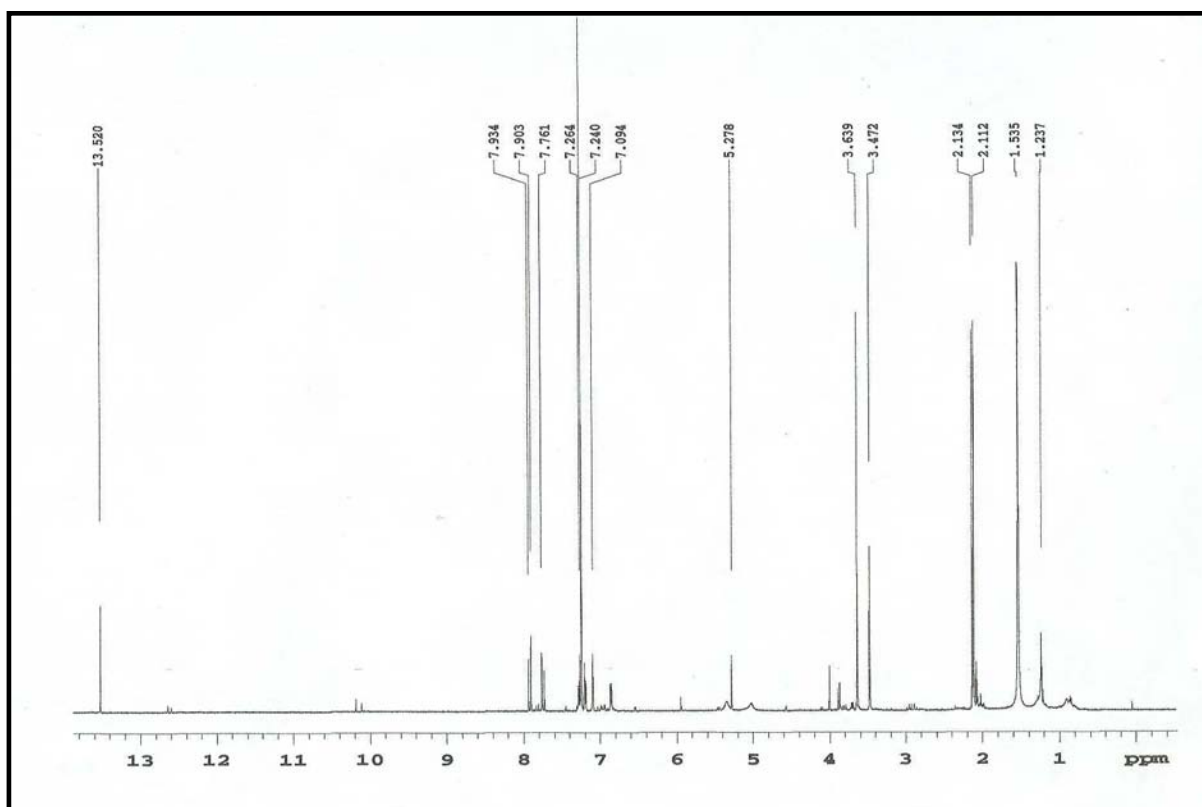


Figura 196. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pm-4* na região de 6,8 a 8,0 ppm

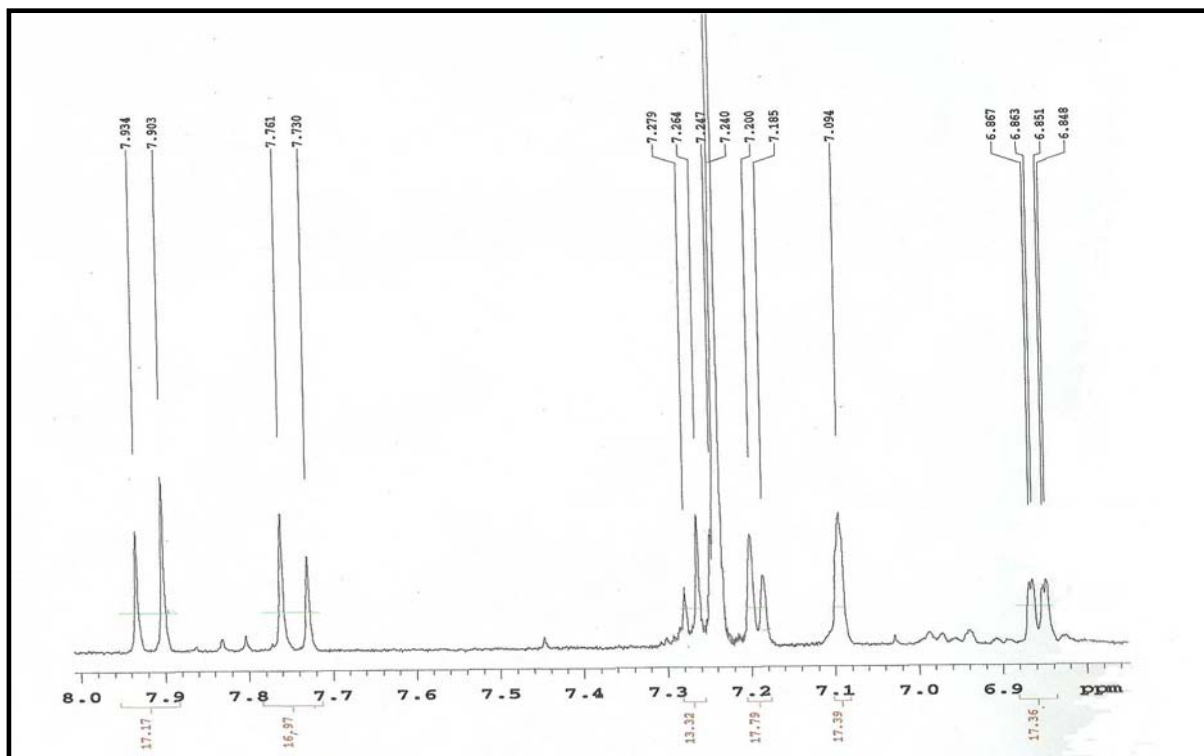


Figura 197. Expansão do espectro de RMN ^1H de *Pm-4* na região de 1,1 a 2,2 ppm

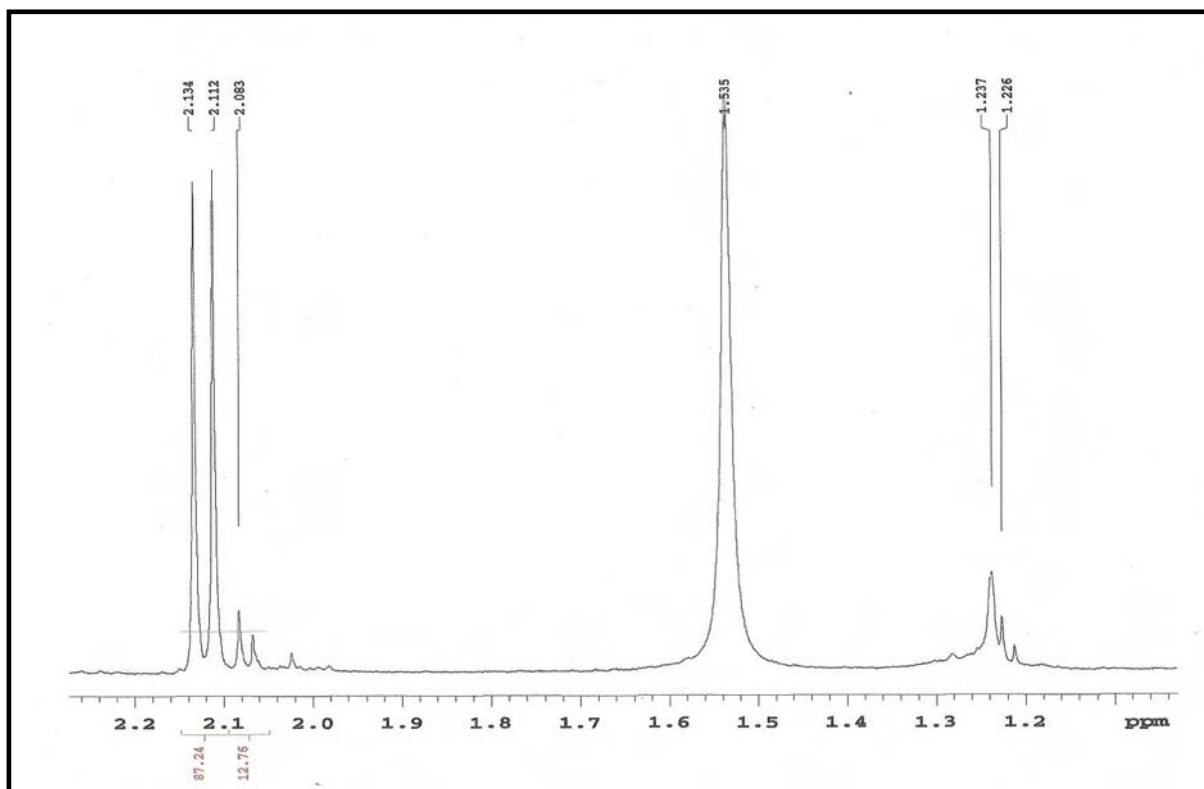


Figura 198. Espectro de RMN ^{13}C -BB de *Pm*-4 (CDCl_3 , 125 MHz)

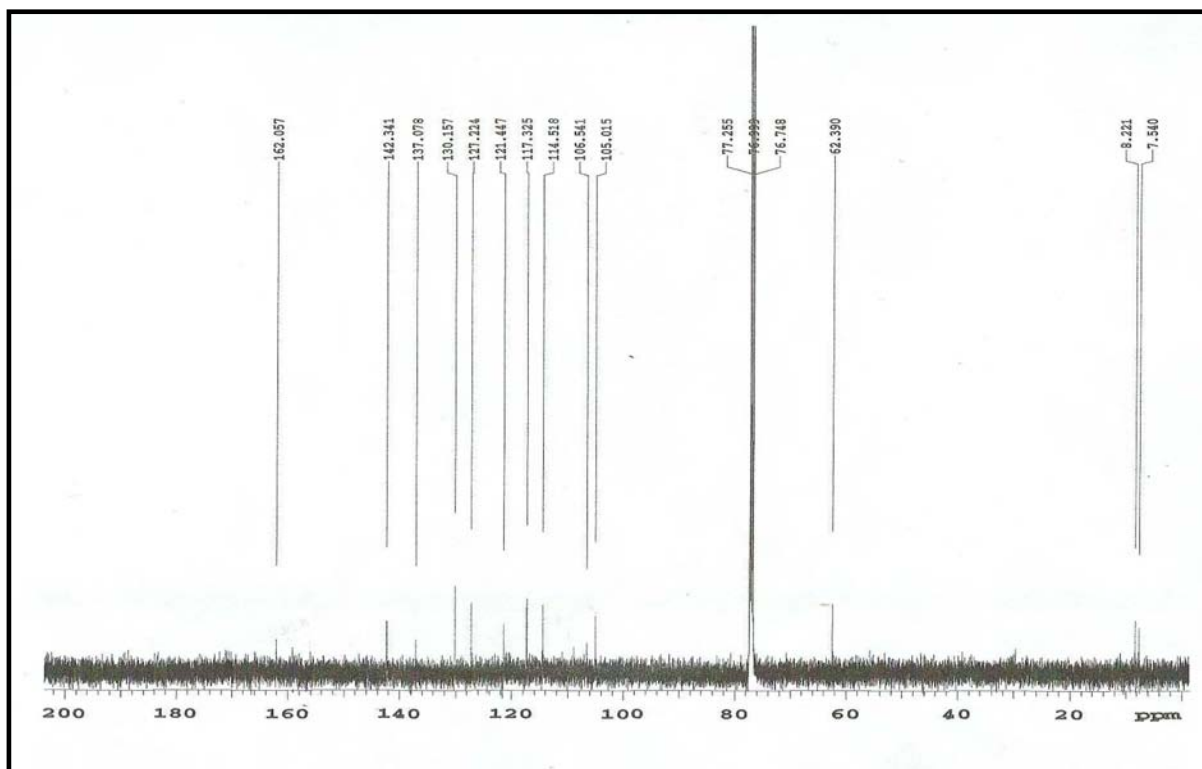


Figura 199. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de *Pm*-4 na região de 166 a 100 ppm

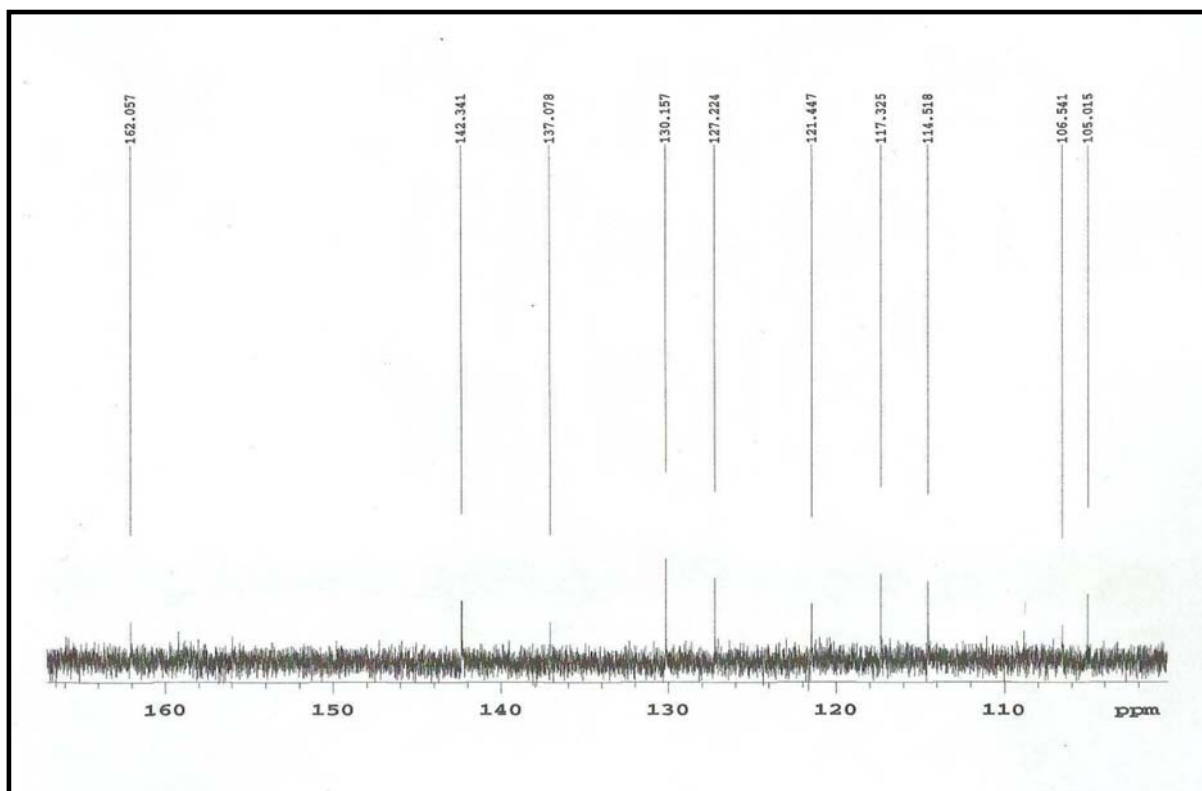


Figura 200. Espectro de RMN ^{13}C -APT de *Pm-4* (CDCl_3 , 125 MHz) na região de 7 a 200 ppm

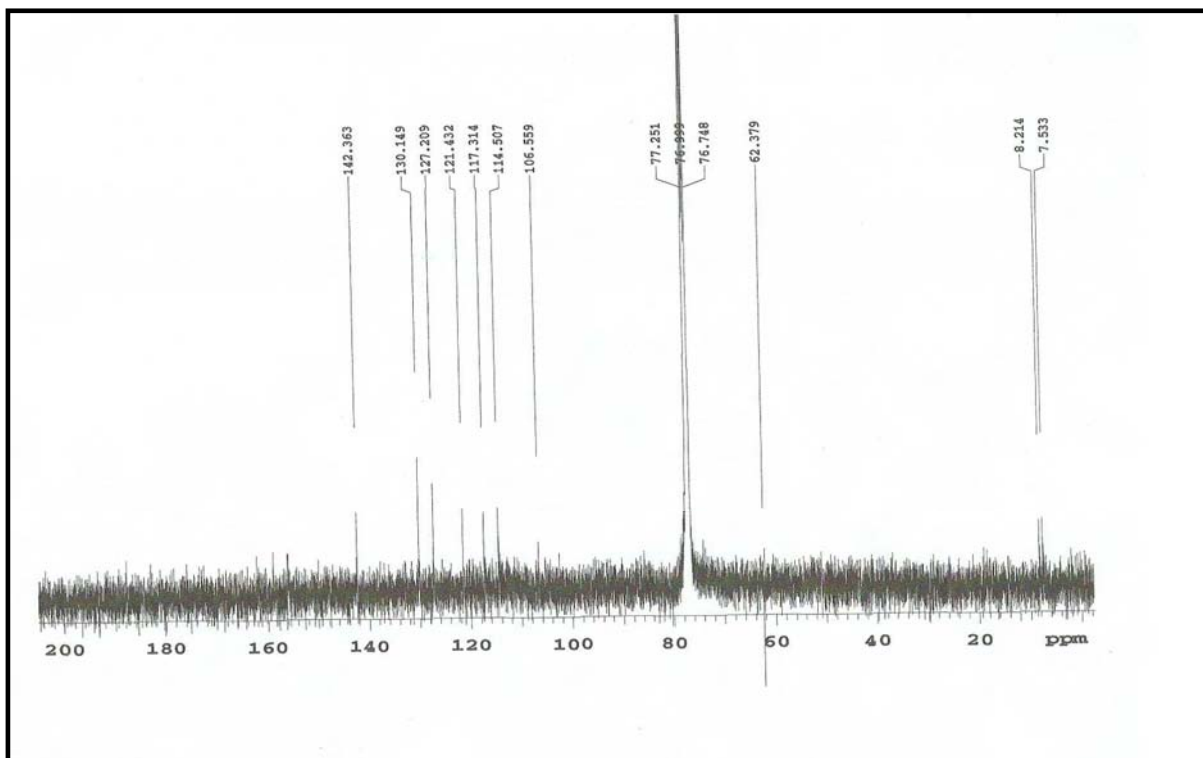


Figura 201. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC de *Pm-4* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

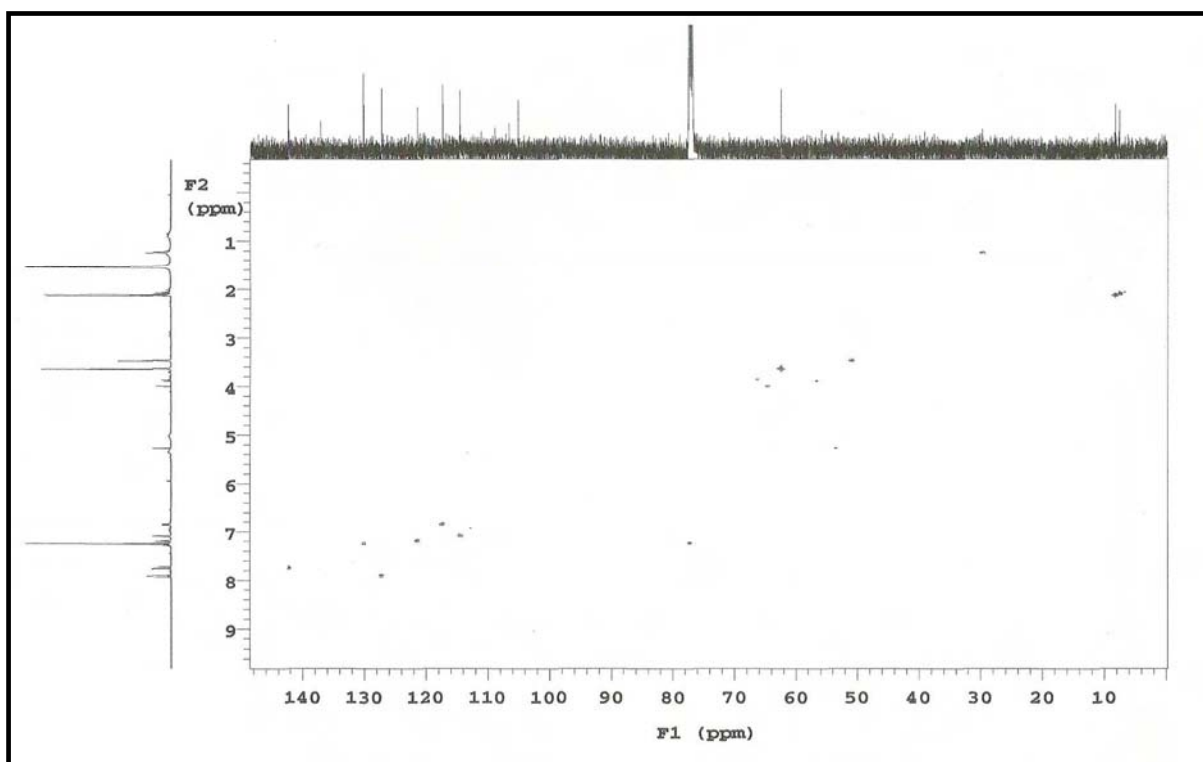


Figura 202. Expansão do espectro HMQC de *Pm-4* na região de 8,0 – 1,0 x 4 - 80 ppm

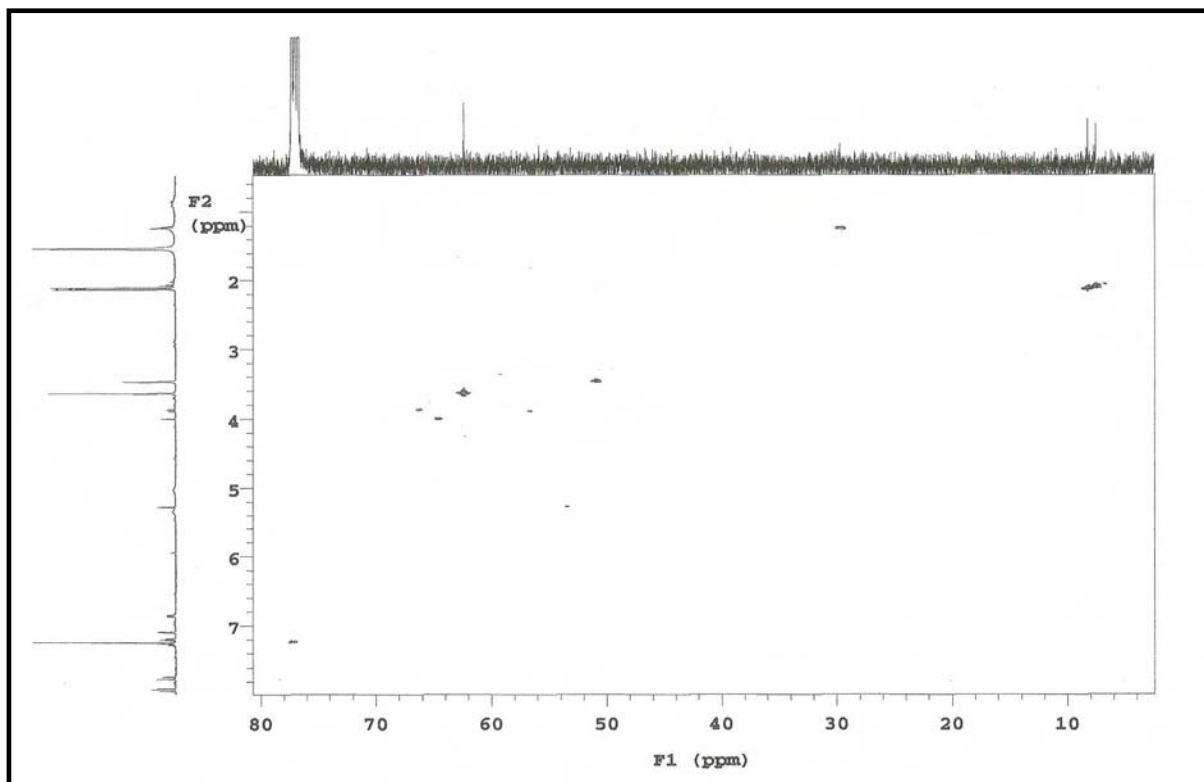


Figura 203. Expansão do espectro HMQC de *Pm-4* na região de 5,6 – 3,4 x 50 - 66 ppm

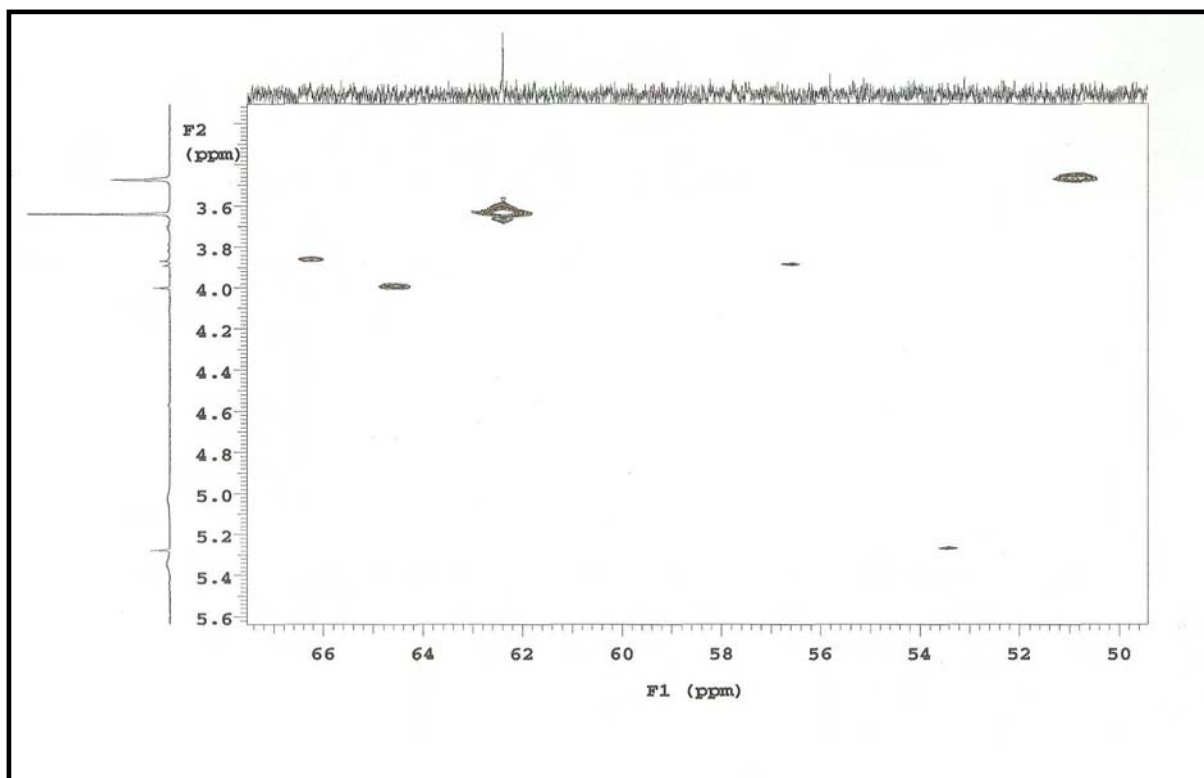


Figura 204. Expansão do espectro HMQC de *Pm-4* na região de 8,2 – 6,6 x 112 - 144 ppm

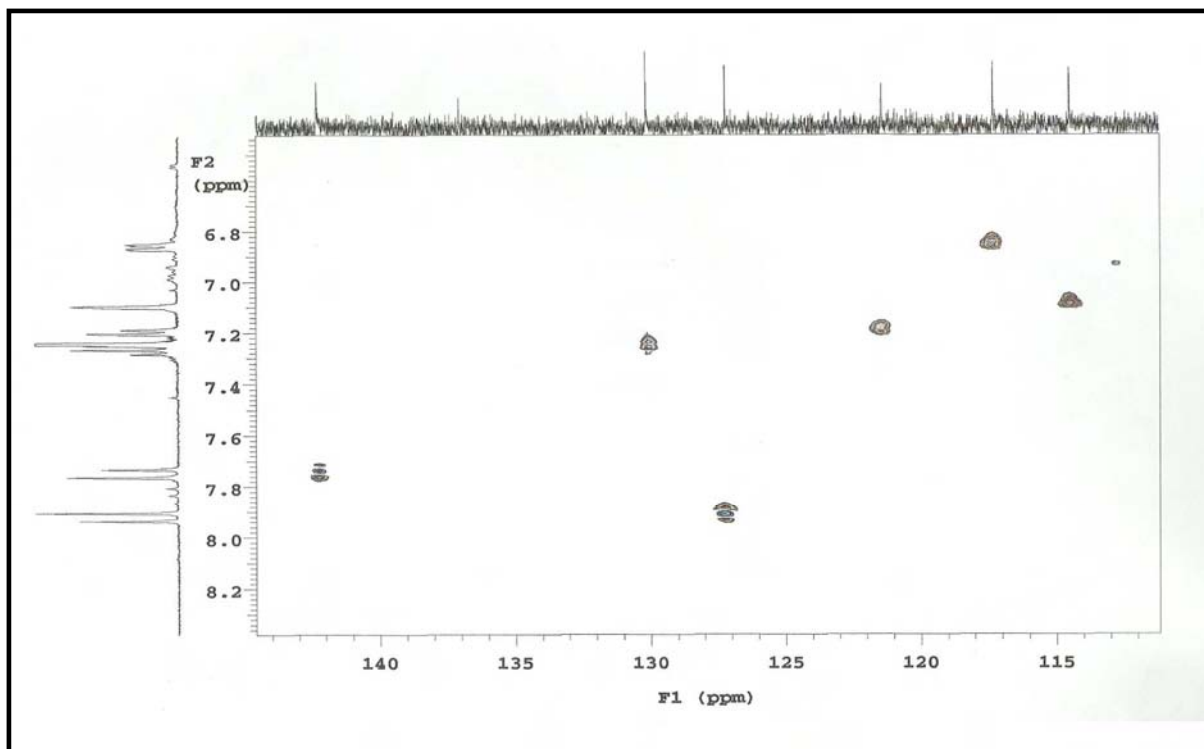


Figura 205. Expansão do espectro HMQC de *Pm-4* na região de 2,26 – 2,0 x 6,4 - 8,8 ppm

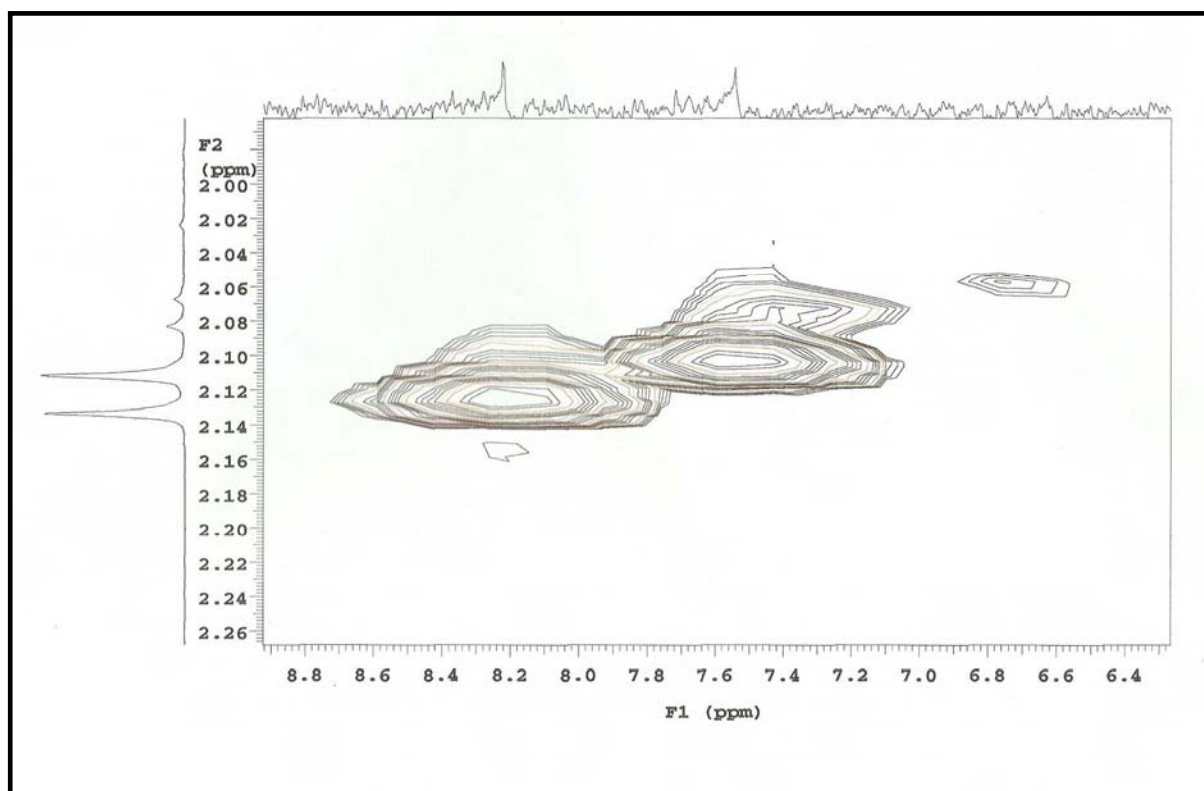


Figura 206. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC de *Pm-4* (CDCl_3 , 500 e 125 MHz)

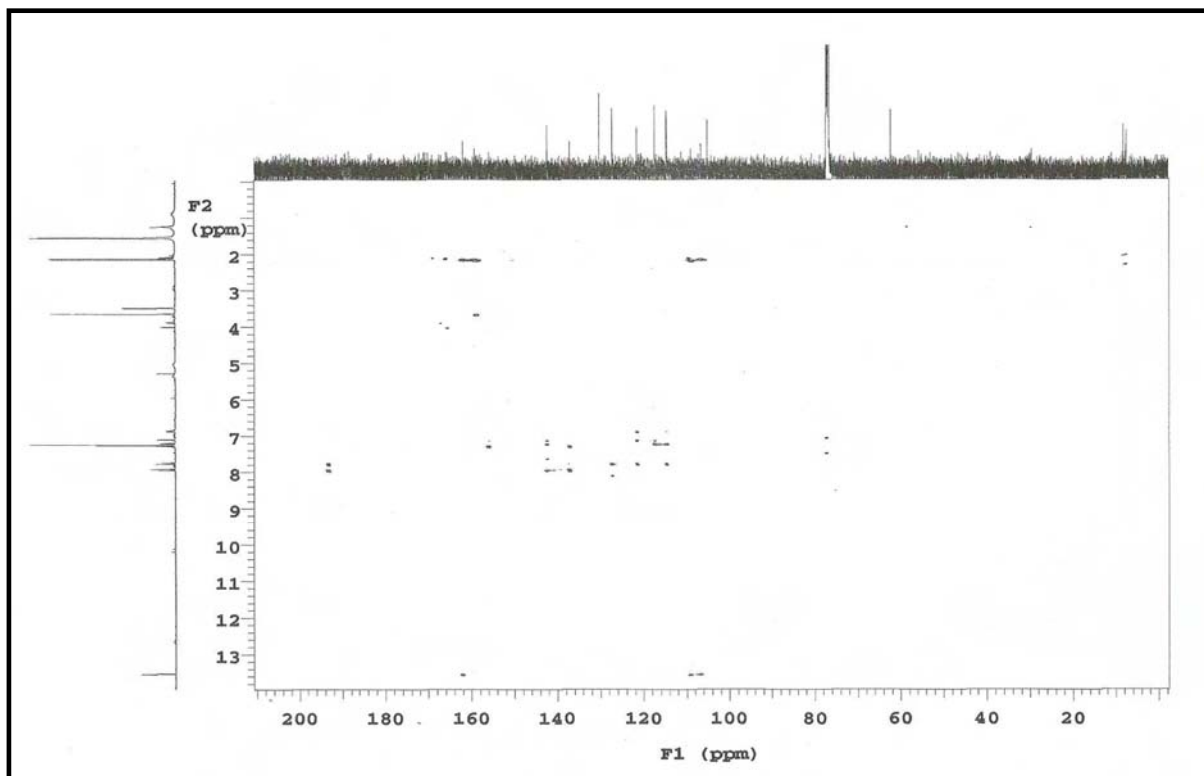


Figura 207. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 8,0 – 7,1 x 136 – 143 ppm

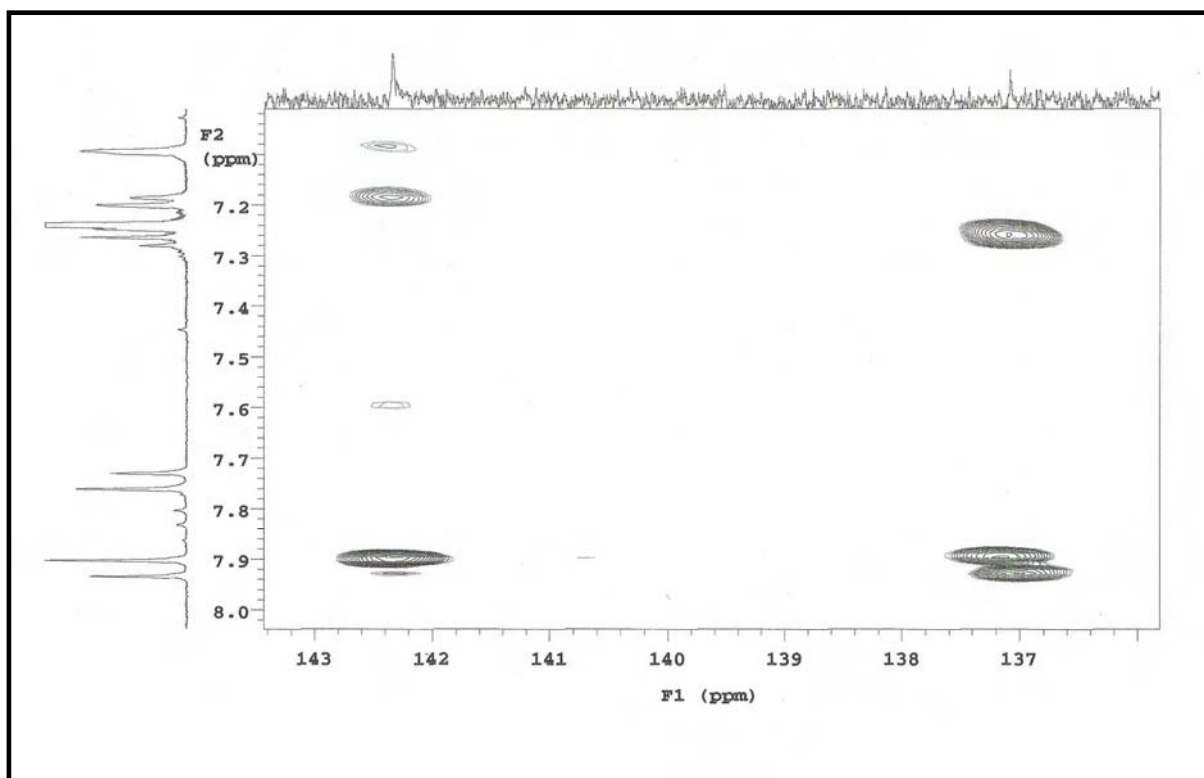


Figura 208. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 7,8 – 6,8 x 114 – 128 ppm

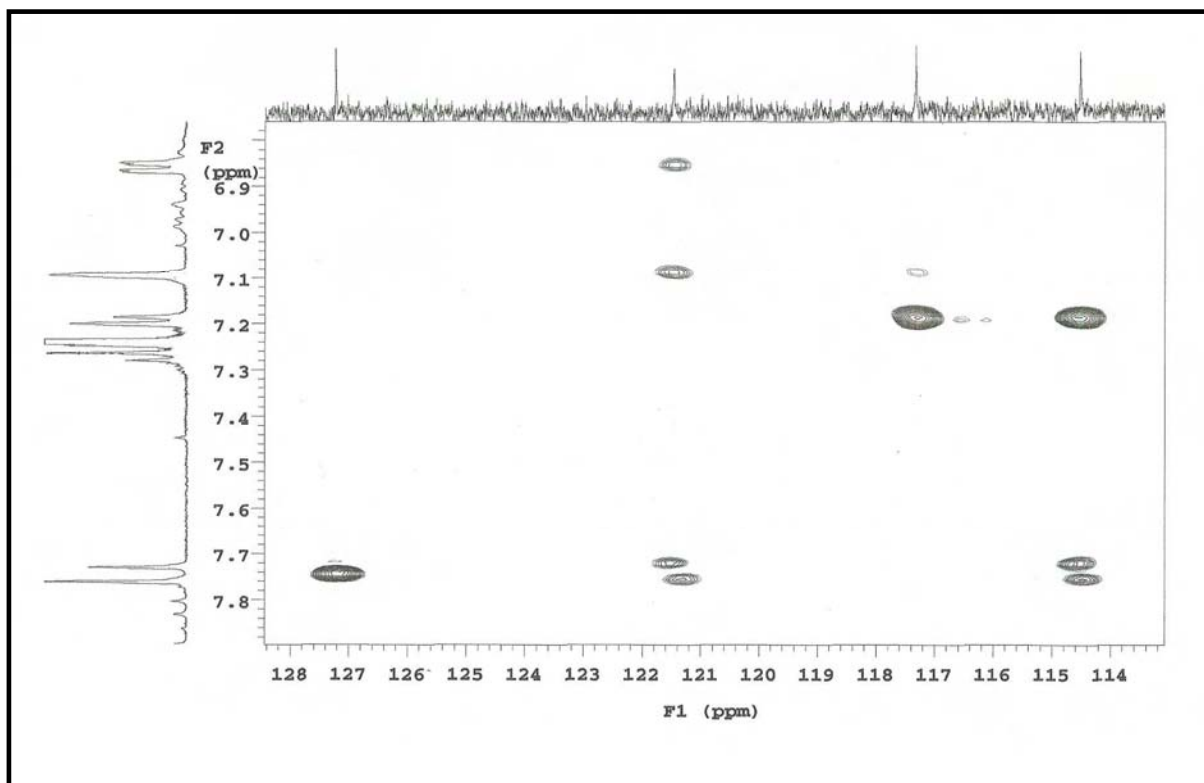


Figura 209. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 8,2 – 7,6 x 192,6 – 194,0 ppm

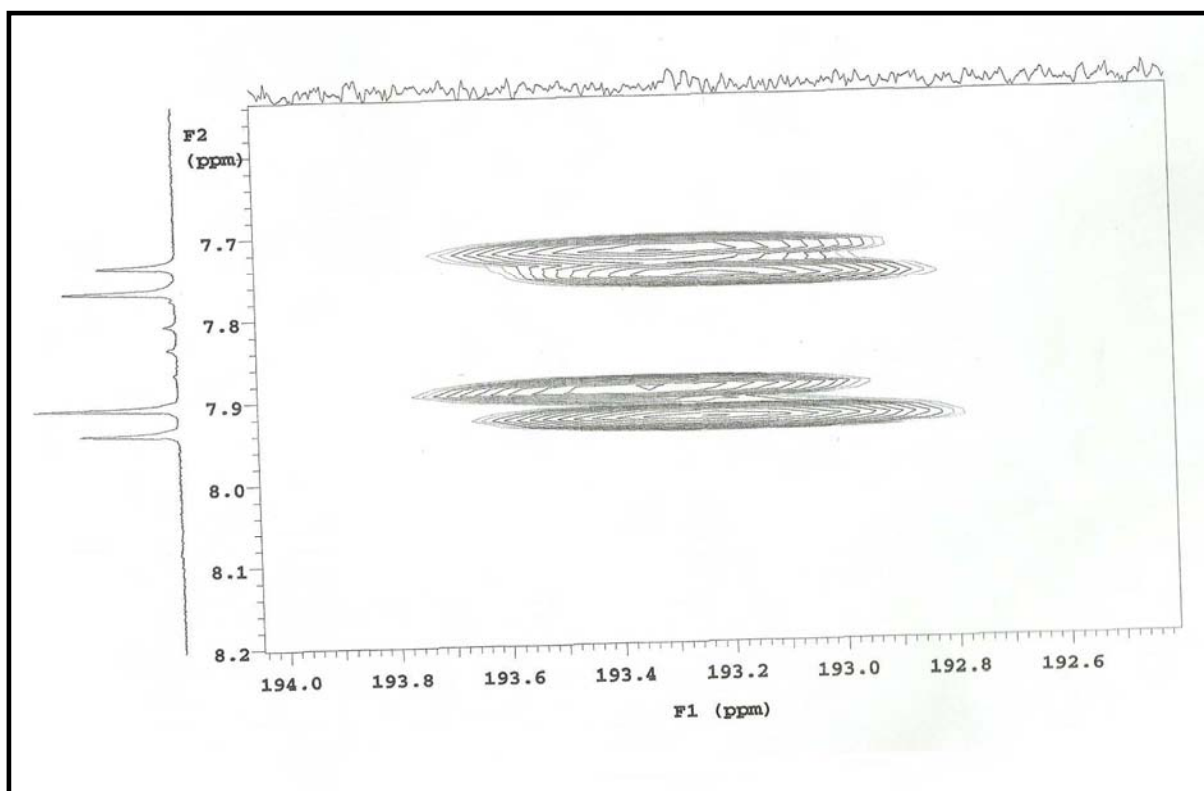


Figura 210. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 4,4 – 1,8 x 10 – 160 ppm

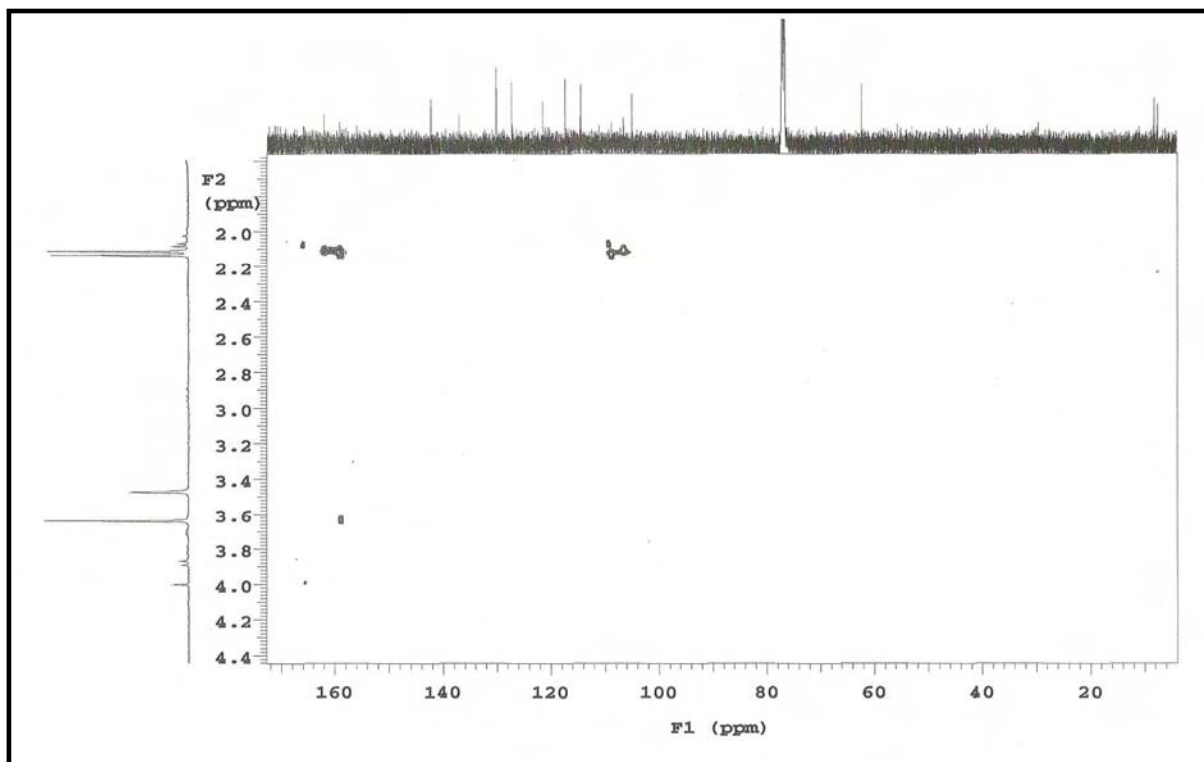


Figura 211. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 2,15 – 2,04 x 157 – 171 ppm

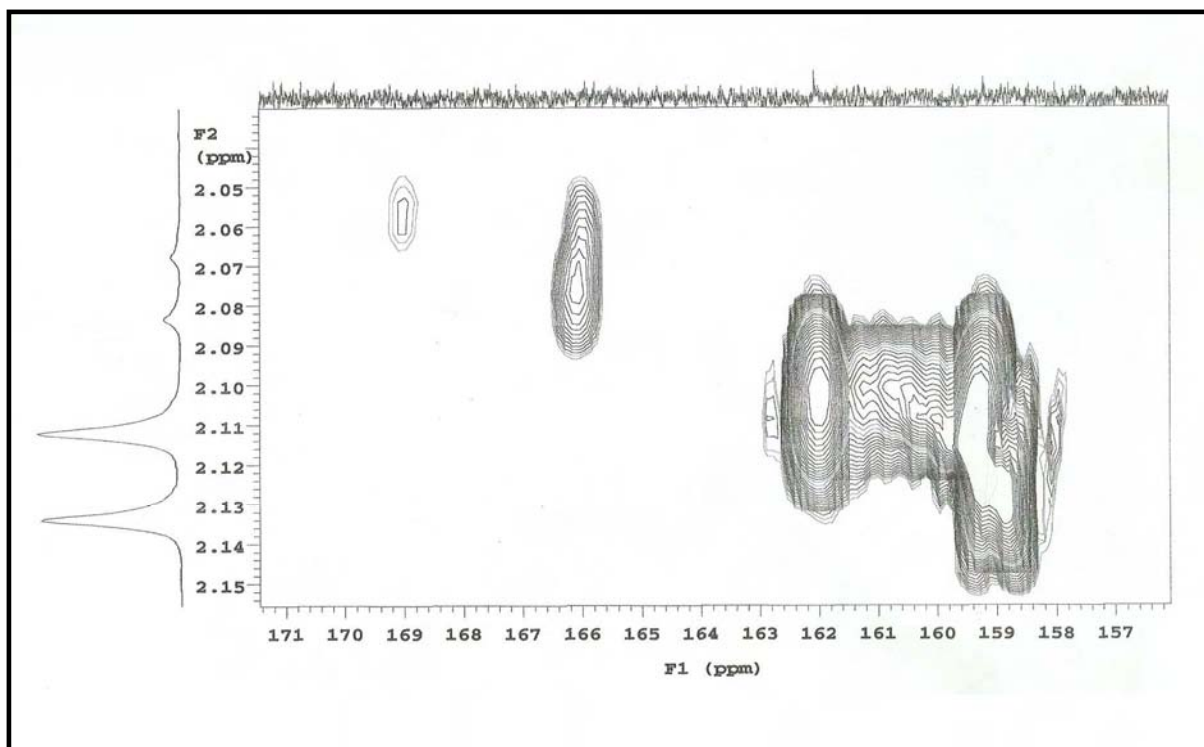


Figura 212. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 2,24 – 2,0 x 10⁵ – 111 ppm

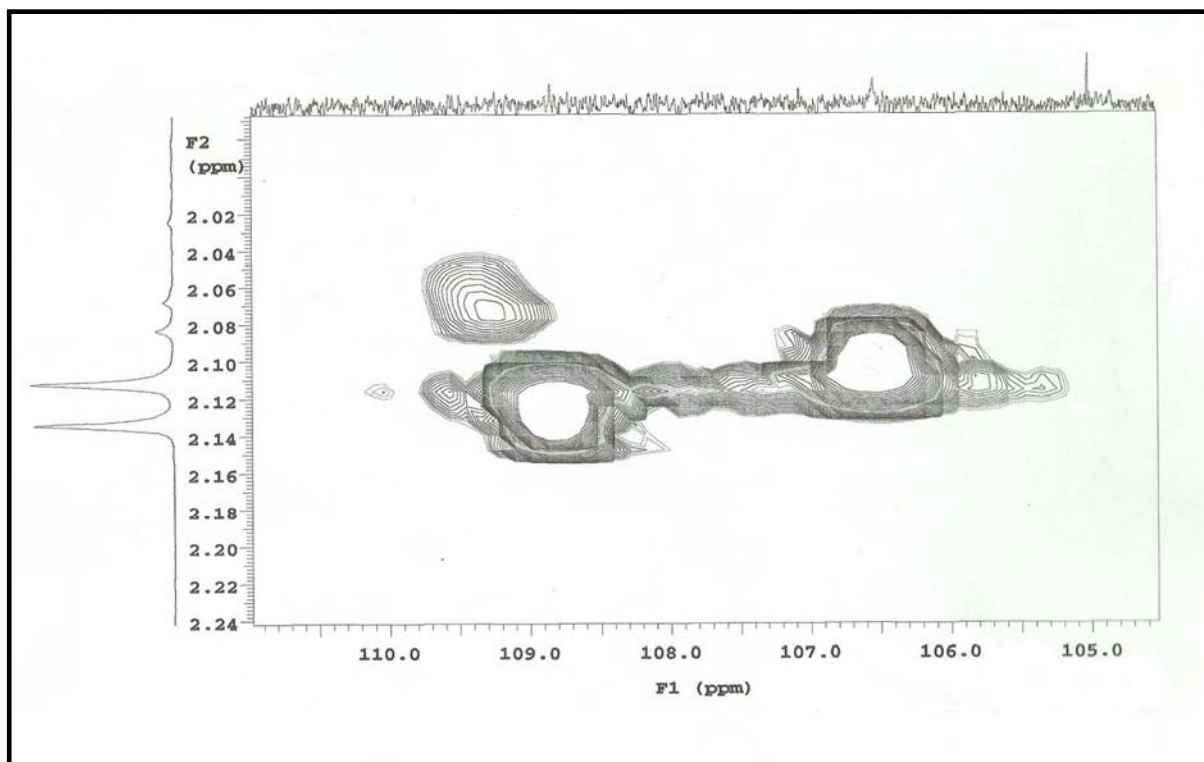


Figura 213. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 7,44–7,16 x 155,6–156,4 ppm

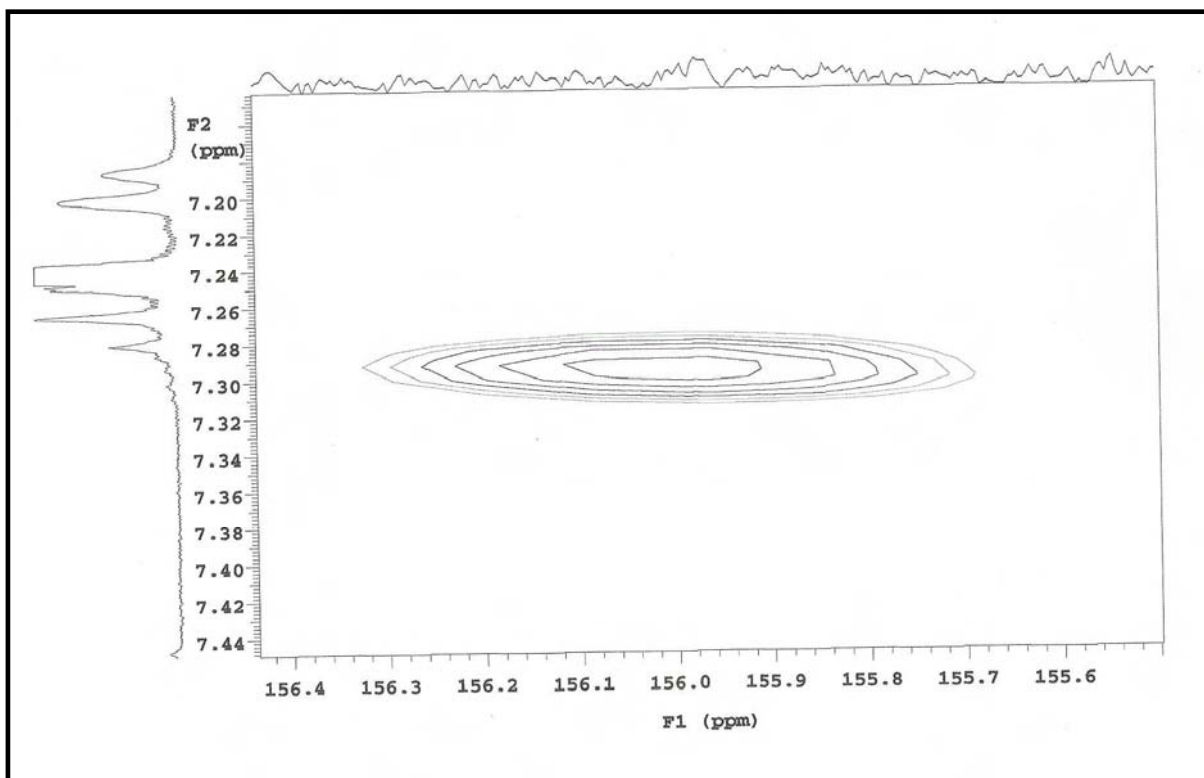


Figura 214. Expansão do espectro HMBC de *Pm-4* na região de 13,75 – 13,40 x 106 - 109,5 ppm

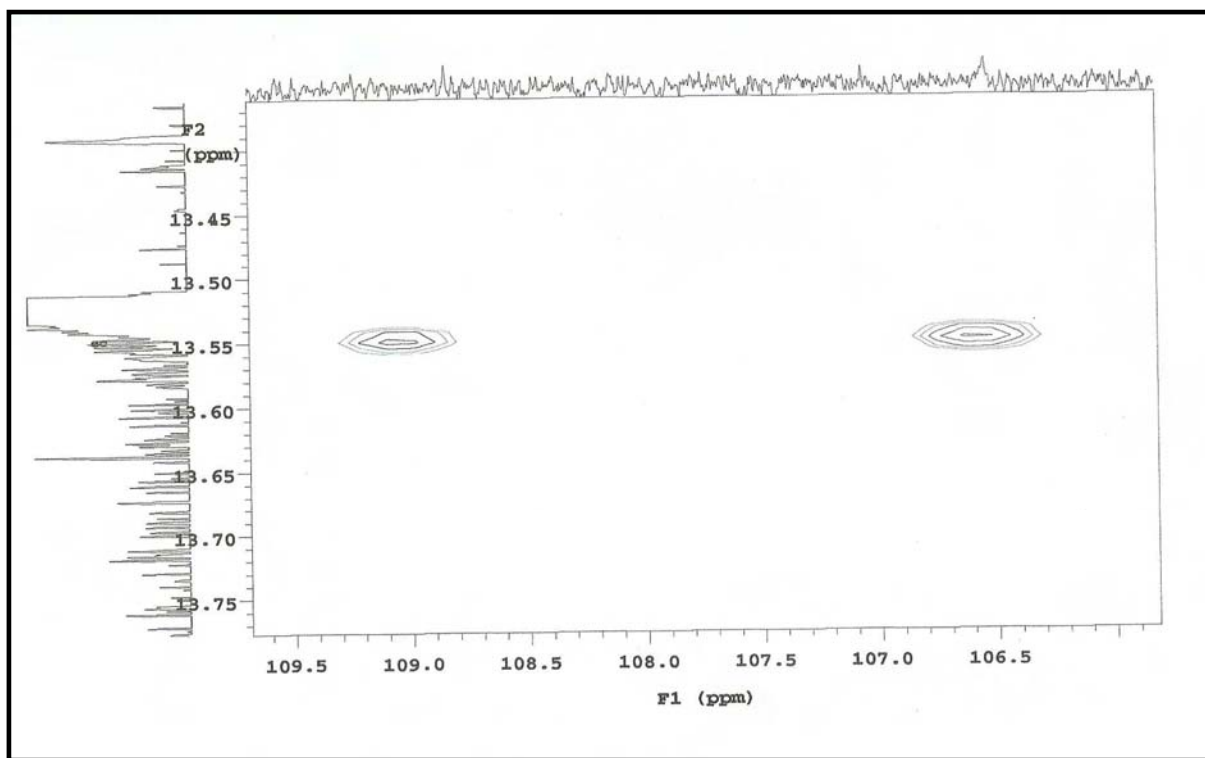


Figura 215. Espectro de RMN ^1H x ^1H - COSY de *Pm-4* (CDCl_3 , 500 MHz)

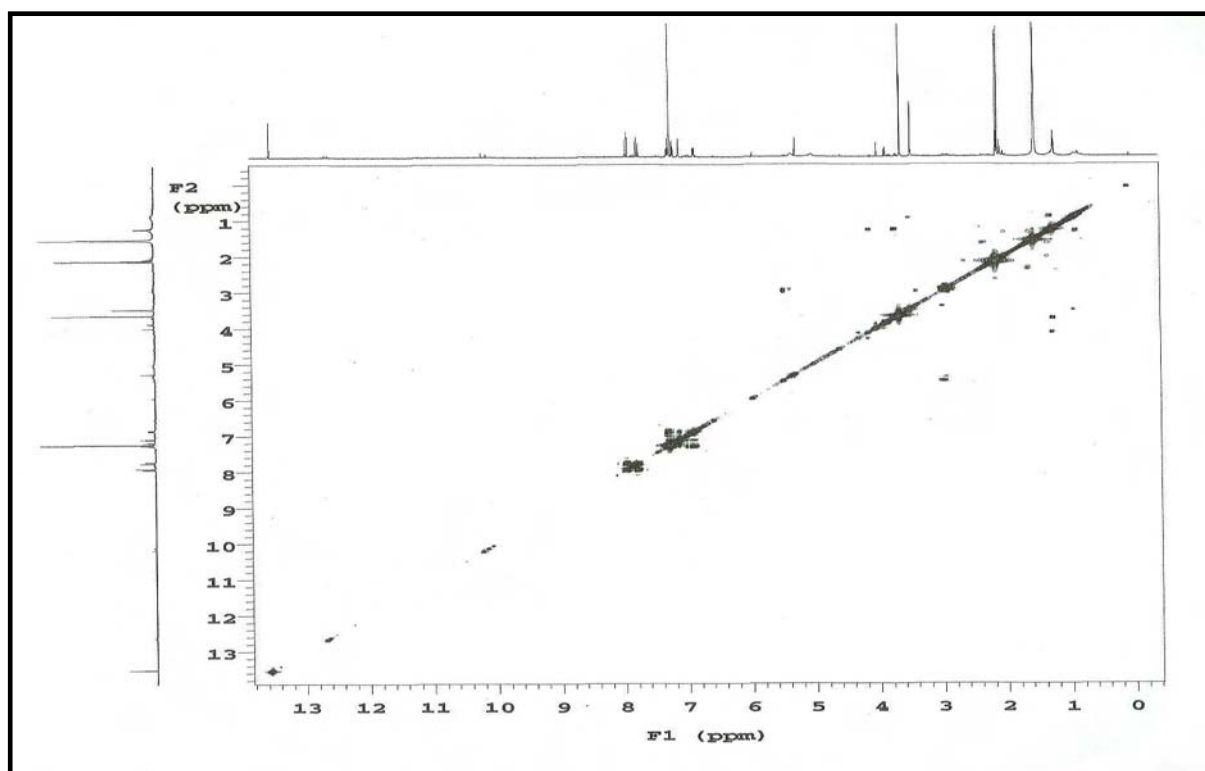


Figura 216. Expansão do espectro de COSY de *Pm-4* na região de 8,0 – 6,4 x 6,6 – 8,0 ppm

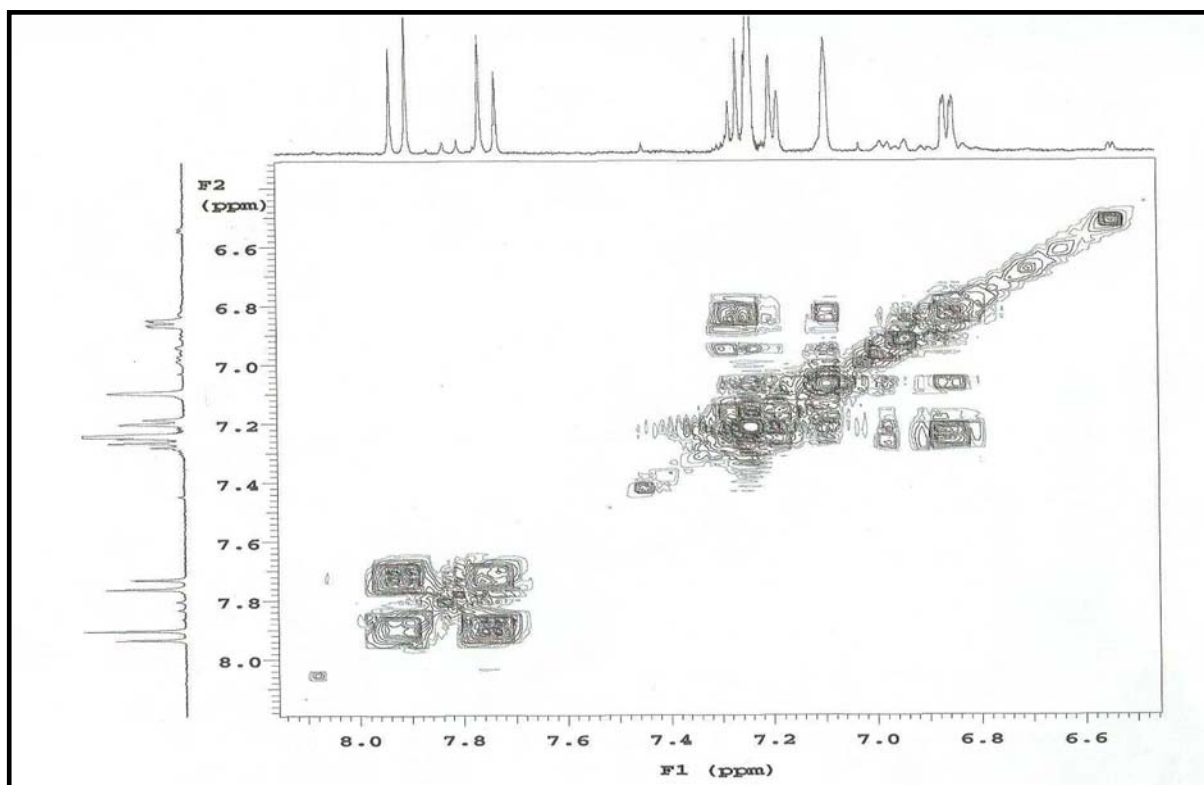


Figura 217. Expansão do espectro de COSY de *Pm-4* na região de 8,0 – 6,6 x 6,8 – 8,0 ppm

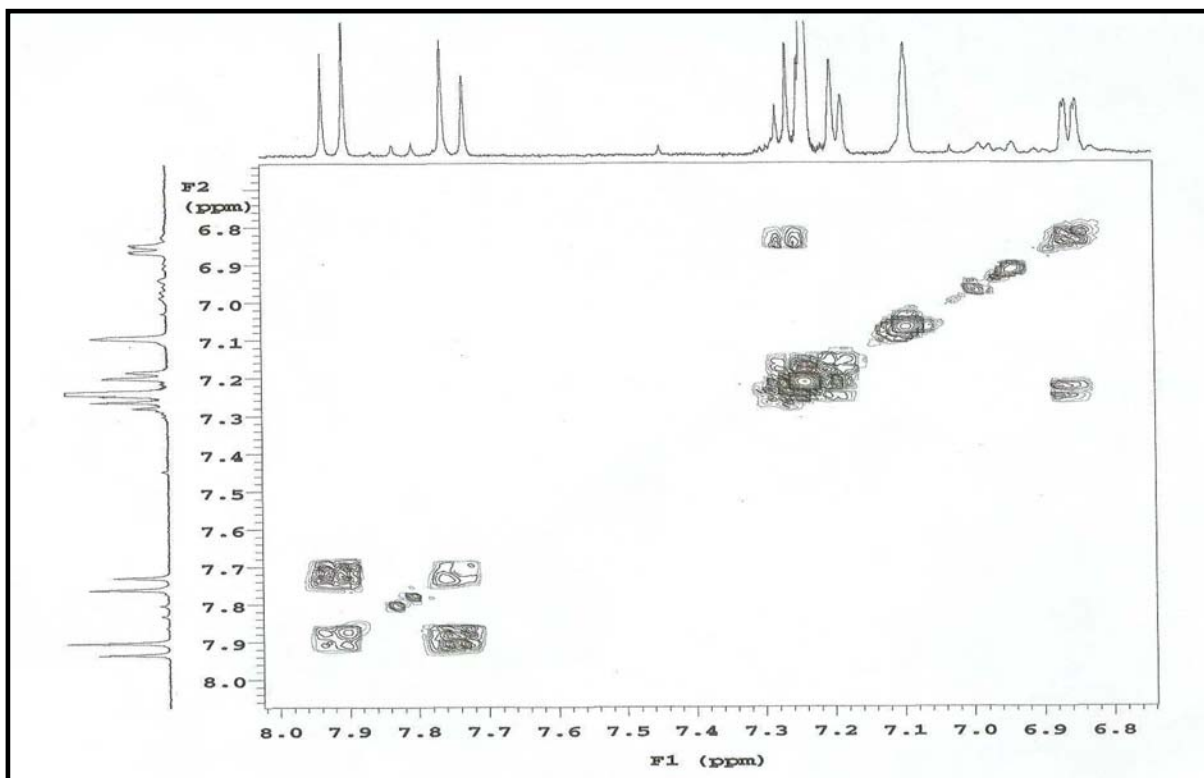
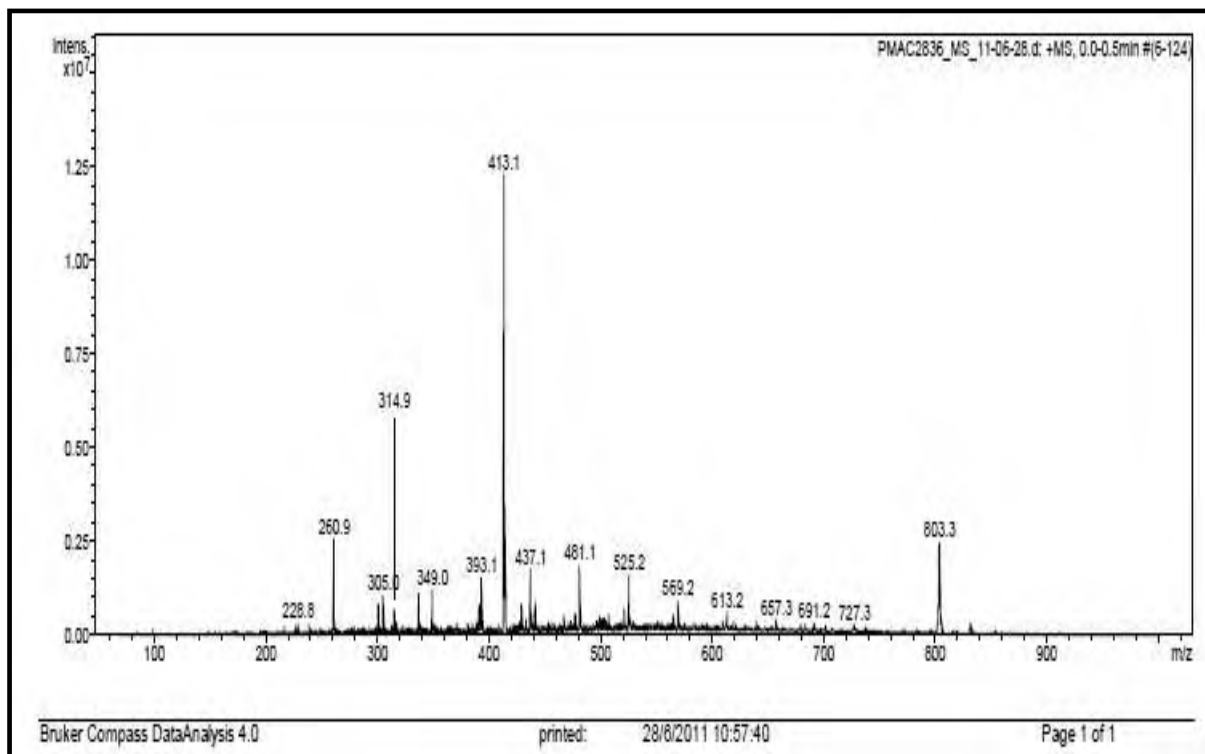


Figura 218. Espectro de massas (ESI-MS) de *Pm-4*

7.5. Estudos Biológicos realizados com *Piper montealegreanum*

A fração acetato de etila, a flavanona (***Pm-1***) e a chalcona (***Pm-2***), isoladas de *Piper montealegreanum* foram disponibilizadas para equipe da Prof^a. Hilzeth de Luna F. Pessoa, do Laboratório de Bioquímica, Genética e Radiologia do Departamento de Biologia Molécula da Universidade Federal da Paraíba, para investigação da atividade antimicrobiana e hemolítica. As substâncias **1** e **2** também foram avaliadas como moduladoras da resistência à drogas em cepas de *Staphylococcus aureus*, sendo os experimentos desenvolvidos pela equipe do Prof. José Pinto de Siqueira Júnior, do Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Biologia Molecular da UFPB.

7.5.1. Investigação da atividade antibacteriana e hemolítica

7.5.1.1. Bactérias utilizadas

As linhagens bacterianas utilizadas neste estudo foram: *Bacillus subtilis* CCT 0516, *Escherichia coli* ATCC 2536, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC 8027, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

7.5.1.2. Preparação das amostras

As amostras da fração acetato de etila (10 mg/mL) e das substâncias **Pm-1** e **Pm-2** (1 mg/mL) foram solubilizadas em cremofor (3%) e dissolvidas em água destilada.

7.5.1.3. Determinação da atividade antibacteriana

Culturas recentes das bactérias foram diluídas em meio Luria Bertani (LB) para uma densidade de 5×10^5 UFC/mL. A fração acetato de etila foi submetida a uma diluição seriada a metade a partir de 1024 µg até 1 µg e as substâncias isoladas **Pm-1** e **Pm-2** foram testadas na concentração de 200 µg. Após a incubação por 24 h a 37 °C, a atividade da fração acetato de etila e das substâncias **Pm-1** e **Pm-2** sobre as bactérias foram avaliadas pelo grau de turvação das culturas visível, a olho desarmado (SANTOS-FILHO, 1996). As linhagens que permaneceram crescendo na presença de 1024 µg da fração acetato de etila foram submetidas a mais duas concentrações: 2000 e 5000 µg. A concentração inibitória mínima (CIM) que é definida como a menor concentração do agente antibacteriano que inibe completamente o crescimento dos microrganismos (LORIAN, 1986) foi determinada.

Alíquotas dos tubos onde o crescimento das bactérias não era visível foram plaqueadas em meio Luria Bertani ágar e incubadas a 37 °C por 24 h. A concentração bactericida mínima (CBM) que é definida como a menor concentração do agente antibacteriano capaz de matar o microrganismo (LORIAN, 1986) também foi determinada. Todos os testes foram realizados em triplicata.

7.5.1.4. Determinação do efeito citotóxico: atividade hemolítica em eritrócitos humanos

Eritrócitos humanos foram obtidos de sangue a ser descartado, oriundos da Unidade Transfusional do Hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB. Os procedimentos experimentais foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFPB (Certidão/CEP/HULW n° 0442/09).

Alíquotas de sangue humano (tipo A, B e O) foram misturadas com NaCl 0,9 % na proporção de 1:30 sob agitação lenta e constante. Em seguida as amostras foram centrifugadas

a 3000 rpm, durante 5 minutos, para obtenção dos eritrócitos. Este procedimento foi repetido mais duas vezes e o sedimento da última centrifugação foi ressuspenso em NaCl 0,9% para uma concentração final de 0,5%. A fração acetato de etila foi adicionada à 2 mL da suspensão de eritrócitos em várias concentrações (1, 10, 100, 1000 e 2000 µg) e em preparações diferentes para um volume final de 2,5 mL. As substâncias **Pm-1** e **Pm-2** foram testadas nas concentrações de 1, 10, 100 e 200 µg. A suspensão de eritrócitos foi o controle negativo (0% de hemólise) e a suspensão de eritrócitos acrescida 50 µL de Triton X-100 (SIGMA) 1% foi o controle positivo (100% de hemólise). As amostras foram incubadas por 1 hora à temperatura ambiente sob agitação lenta (100 rpm) e constante. Decorrido este tempo foram centrifugadas a 3000 rpm, durante 5 minutos, e a hemólise foi quantificada por espectrofotômetro a 540 nm (BECKMAN modelo DU – 640, USA). Os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos em porcentagem representando a média aritmética das três quantificações.

7.5.1.5. Avaliação da atividade antibacteriana

A fração acetato de etila foi capaz de inibir o crescimento de quatro das sete linhagens utilizadas apresentando concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida (CBM) específica para cada uma das linhagens testadas (Tabela 40). As substâncias **Pm-1** e **Pm-2** na concentração de 200 µg inibiram o crescimento apenas da linhagem de *P. aeruginosa* ATCC 8027.

Tabela 40. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) da fração acetato de etila frente a linhagens bacterianas Gram positivas e Gram negativas.

LINHAGEM BACTERIANA	FRAÇÃO ACETATO DE ETILA	
	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
<i>B. subtilis</i> CCT 0516	128	256
<i>E. coli</i> ATCC 10536	>5000	>5000
<i>E. coli</i> ATCC 2536	512	1024
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 8027	32	64
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	64	128
<i>S. aureus</i> ATCC 25925	>5000	>5000
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	>5000	>5000

7.5.1.6. Avaliação da atividade hemolítica em eritrócitos humanos

Os resultados da avaliação da atividade hemolítica da fração acetato de etila, da flavona (**Pm-1**) e da chalcona (**Pm-2**) em eritrócitos humanos encontram-se na Tabela 41.

Tabela 41. Efeito hemolítico da fração acetato de etila e das substâncias **Pm-1** e **Pm-2** em eritrócitos humanos.

ERITRÓCITOS	ATIVIDADE HEMOLÍTICA (%)		
	Fração AcOEt (2000 µg)	Substância Pm-1 (200 µg)	Substância Pm-2 (200 µg)
A	12,8	2,6	0
B	15,1	5,2	0
O	39	0	0

Diante deste contexto tem-se que a fração acetato de etila de *Piper montealegreanum* apresenta atividade antibacteriana contra bactérias Gram positiva (*B. subtilis*) e Gram negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*) em concentrações bem inferiores ao antibiótico ampicilina (> 1024 µg) sem demonstrar efeito citotóxico frente a eritrócitos humanos (A, B e O), sendo, portanto, um potencial agente antibacteriano de amplo espectro. Tanto a substância **Pm-1** quanto a **Pm-2** apresentaram atividade antibacteriana contra *P. aeruginosa* em uma

concentração cinco vezes menor do que o antibiótico ampicilina, o que faz com que estas possam ser utilizadas como agentes antibacterianos específicos.

7.5.2. Atividade de Fitoconstituintes de *Piper montealegreanum* como moduladores da resistência a drogas em *Staphylococcus aureus*

A resistência bacteriana representa um acentuado problema à saúde pública. Dentre os principais mecanismos de resistência estão as proteínas transmembrana de efluxo (bomba de efluxo), associadas à resistência a múltiplas drogas. Uma alternativa capaz de reverter ou reduzir a resistência bacteriana mediada por bomba de efluxo se refere ao desenvolvimento de drogas que atuem potencializando a atividade do antibiótico em cepas resistentes, como os inibidores de bomba de efluxo. Diante deste contexto, investigou-se o potencial das substâncias **Pm-1** e **Pm-2** isoladas de *Piper montealegreanum*, como moduladoras da resistência a drogas em cepas de *Staphylococcus aureus* portadoras do gene *norA*, *msrA* ou *tetK* codificadores das proteínas de efluxo: NorA (norfloxacina), MsrA (eritromicina) e TetK (tetraciclina), respectivamente.

7.5.2.1. Bactérias utilizadas

Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* portadoras do gene *norA*, *msrA* ou *tetK* codificadores das proteínas de efluxo: NorA (norfloxacina), MsrA (eritromicina) e TetK (tetraciclina), respectivamente.

7.5.2.2. Determinação da atividade moduladora

Para avaliar a modulação da atividade antibiótica se determinou as concentrações inibitórias mínimas (CIM) para tetraciclina, norfloxacina e eritromicina pelo método da microdiluição, sempre na ausência e na presença da chalcona ou flavanona, em uma concentração subinibitória (CIM/4).

7.5.2.3. Avaliação da atividade moduladora

Nenhum dos fitoconstituintes ensaiados mostrou atividade antibacteriana relevante, no entanto **Pm-2** apresentou acentuada atividade moduladora da resistência, ao reduzir a CIM da

tetraciclina em 8 vezes (32 µg/mL para 4 µg/mL) e 4 vezes para eritromicina (256 µg/mL para 64 µg/mL). Os resultados indicam que chalconas podem ser potenciais adjuvantes de antibióticos.

Conclusões e Perspectivas

8.0. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- Através de métodos cromatográficos convencionais e técnicas espectroscópicas de IV e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional foi possível isolar e identificar da fase clorofórmica do extrato EtOH das partes aéreas de *Piper lateripilosum* cinco amidas: 1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil) propil) piperidina; 1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil)-2Z-propenil) piperidina; 1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil)-2E-propenil) piperidina; *cis-N-p-cumaroiltiramina* e *trans-N-p-cumaroiltiramina*, todas isoladas pela primeira vez nesta espécie;
- Da fase hexânica do extrato EtOH das partes aéreas de *Piper lateripilosum* foi isolada a mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol, além do reisolmento da amida 1-(1-oxo-3(3,4-metilenodióxi-fenil)-2Z-propenil) piperidina, já identificada na fase clorofórmica desta espécie;
- Apesar da atividade antimicrobiana do extrato metanólico bruto de *Piper lateripilosum* ter sido menor que a da clorexidina, esse extrato demonstrou ser uma fonte potencial de princípios ativos antimicrobianos para o biofilme dental cariogênico;
- Este trabalho, relacionado ao estudo fitoquímico de Piperaceas do Norte e Nordeste brasileiro revelou a espécie *Piper mollicomum* como bioprodutora de diferentes metabólitos, tais como amida, aristolactama, cumarina e derivado do ácido benzóico;
- O estudo fitoquímico de *Piper mollicomum* levou ao isolamento da amida *N*-[7-(3',4'-metilenodioxifenil)-2(Z),4(E)-heptadienoil] pirrolidina e da cumarina 6,7-metilenodioxycumarina, das respectivas fases hexânica e clorofórmica do extrato etanólico bruto das folhas, além do ácido vanílico e da piperolactama A, obtidos da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto do caule desta espécie. A amida está sendo relatada pela primeira vez na literatura, a cumarina pela primeira vez no gênero e o derivado do ácido benzóico e a aristolactama pela primeira vez nesta espécie;

- Os estudos realizados com o extrato e as fases clorofórmica e acetato de etila de *Piper mollicomum* demonstraram ser uma promissora fonte de pesquisa na área de produtos naturais com ação antibacteriana para algumas linhagens multiresistentes. Observou-se resultados significativos com três antibióticos. Na modulação com a *Escherichia coli* obteve-se um bom resultado para a amicacina com a fase acetato de etila (78,12 µg/mL), para a canamicina com o extrato etanólico (312,5 µg/mL) e com a fase clorofórmica (312,5 µg/mL) e para a neomicina com o extrato (39,06 µg/mL) e a fase acetato de etila (156,25 µg/mL). Com a *Staphylococcus aureus* foi verificado uma modulação sinérgica com a amicacina para as fases clorofórmica (78,12 µg/mL) e acetato de etila (78,12 µg/mL) e para a neomicina com a fase clorofórmica (156,25 µg/mL);
- O estudo fitoquímico de *Piper montealegreanum* levou ao isolamento de uma nova chalcona a 3'-metoxi,3,4',6'-trihidroxi,2',5'-dimetilchalcona, além do reisolamento dos flavonóides 8-formil-3',5-diidroxi-7-metoxi-6-metilflavanona; 3'-formil-3,4',6'-trihidroxi-2'-metoxi-5'-metilchalcona e (2'-metoxi-3'-formil-4',6'-dihidroxi-5'-metilfenil)-[3''-(dimetilbut-6''-enil)-7-fenil-(3-hidroxi)-ciclohex-2''-enil]-metil-9-onona;
- Com relação a investigação da atividade antibacteriana e hemolítica da fase acetato de etila, da flavanona (**Pm-1**) e da chalcona (**Pm-2**), isoladas de *Piper montealegreanum*, as quais foram disponibilizadas para testes biológicos, tem-se que a fase acetato de etila apresentou atividade antibacteriana contra bactérias Gram positiva (*B. subtilis*) e Gram negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*) em concentrações bem inferiores ao antibiótico ampicilina (> 1024 µg), sem demonstrar efeito citotóxico frente a eritrócitos humanos (A, B e O), sendo, portanto, um potencial agente antibacteriano de amplo espectro. Tanto a substância **Pm-1** quanto a **Pm-2** apresentaram atividade antibacteriana contra *P. aeruginosa* em uma concentração cinco vezes menor do que o antibiótico ampicilina, o que faz com que estas possam ser utilizadas como agentes antibacterianos específicos;

- A avaliação da atividade de fitoconstituintes de *Piper montealegreanum* como moduladores da resistência a drogas em *Staphylococcus aureus* revelou que a chalcona apresenta acentuada atividade moduladora da resistência, ao reduzir a CIM da tetraciclina em 8 vezes (32 µg/mL para 4 µg/mL) e 4 vezes para eritromicina (256 µg/mL para 64 µg/mL). Os resultados são indicativos de que chalconas podem ser potenciais adjuvantes de antibióticos;
- Considerando a riqueza metabólica das classes de constituintes químicos de *Piper*, pretende-se dar continuidade ao estudo fitoquímico e biológico das espécies descritas neste trabalho, bem como de outras Piperaceae.

Referências

REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H.; FIETZ, W. G.; WORTH, J.; WAIBEL, R.; PORTECOP, J. Constituents of tropical medicinal plants, IXX1 GC/MS-Investigations of the constituents of *Piper amalago*-30 new amides of the piperine-type. **Planta Médica**, v. 52, n. 1, p. 12-18, 1986.
- AGRAWAL, P. K.; BANSAL, M. C. Isoflavonoids. In: AGRAWAL, P. K. (ed.). **Carbon-13 NMR of Flavonoids**. New York: Elsevier, p. 182-235, 1989.
- AHMED, W.; AHMAD, Z.; MALIK, A. Stigmasteryl galactoside from *Rhynchosia minima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 4038-4039, 1992.
- ALÉCIO, A. C.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J.; FURLAN, M. Antifungal Amide from Leaves of *Piper hispidum*. **Journal Natural Products**, v. 61 p. 637-639, 1998.
- ALVES, H. S. **Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae)**. Dissertação, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 2004.
- ALVES, H. S. **Novos flavonóides monoterpênicos e outros constituintes químicos isolados de espécies de *Piper* (Piperaceae)**. Tese, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 2008.
- ALVES, H. S. ; CHAVES, M.C.O. ; SOUZA, M. F. V. . Three new compounds from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society** (Online), v. 22, p. 1610-1615, 2011.
- AMONKAR, A. J.; NAGABHUSHAN, M.; SOUZA, A. V.; BHIDE, S. V. Hidroxychavicol: a new phenolic antimutagen from betel leaf. **Food Chemical Toxicology**, v. 24, n. 12, p. 1321-1324, 1986.
- AMPOFO, S.A.; ROUSSIS,V.; WIEMER, D.F. New prenylated phenolics from *Piper auritum*. **Phytochemistry**, v.26, n. 8, p. 2367-2370, 1987.
- ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, Suppl 1, p. 5-16, 2001.
- ANNAMALAI, A.R.; MANAVALAN, R. Effects of 'trikatu' and its individual components and piperine on gastro intestinal tracts:trikatu-A bioavailable enhancer. **Indian Drugs**, v. 27, n. 12, p. 595-604, 1990.
- ANTO, R. J.; SUKUMARAN, K.; KUTTAN, G.; RAO, M. N.; SUBBARAJU, V.; KUTTAN, R. Anticancer and antioxydant activity of synthetic chalcones and related compounds. **Cancer Lett**, v. 97, n. 1, Oct. 20, p. 33-37, 1995.

ARAÚJO JÚNIOR, J. X. **Elucidação estrutural dos constituintes químicos isolados de *Piper tuberculatum* Jacq. var *tuberculatum* e avaliação sobre o sistema cardiovascular de uma mistura contendo duas alcaloides: Piperina e Piperdardina.** Dissertação, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 1996.

ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; CHAVES, M. C. O.; DA CUNHA, E. V. L.; GRAY, A. I. Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 27, n. 3, p. 325-327, 1999.

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, n. 3, p. 559-561, 1997.

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

BALDOQUI, D.C.; KATO, M.J.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.D.S.; YOUNG, M.C.M.; FURLAN, M. A chromene an 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. Flavones, Lignans and Terpene from *Piper umbellata* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 32, p. 1107-1109, 2009.

BANERJI, A.; DAS, C. Two amides from *Piper brachystachyum*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 11, p. 3039-3042, 1989.

BANERJI, A.; DAS, R. Constituents of *Piper aurantiacum*. Isolation of triterpenoids from a *Piper* species. **Indian Journal of Chemistry**, v. 15B, p. 395-396, 1977.

BARBOSA, D. A.; PASSOS, B. O.; BRAGA, R. S.; BENCHITRIT, L. C.; SANTOS, M. I. S.; KAPLAN, M. A. C. Atividade antimicrobiana de extratos de *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae). In: **XXI Jornada da Iniciação Científica e XI Jornada de Iniciação Artística e Cultural**, Rio de Janeiro, 1999.

BATISTA-JÚNIOR, J.M.; LOPES, A.A.; AMBRÓSIO, D.L.; REGASINI, L.O.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.D.S.; CICALLELLI, R.M.B.; FURLAN, M. Natural chromenes and chromene derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, p. 538-540, 2008.

BERETZ, A.; CAZENAVE, J. P. **Plant flavonoids in biology and medicine II: progress in clinical and biological research.** New York: Alan R. Liss, p. 187-200, 1988.

BERG, P. A.; DANIEL, P. T. **Plant flavonoids in biology and medicine II: progress in clinical and biological research.** New York: Alan R. Liss, p. 157-171, 1988.

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. 801-814, 1995.

- BEZERRA, D.P.; PESSOA, C.; MORAES, M.O.D.; ALENCAR, N.M.N.; MESQUITA, R.O.; LIMA, M.W.; ALVES, A.P.N.N.; PESSOA, O.D.L.; CHAVES, J.H.; SILVEIRA, E.R.; COSTA-LOTUFO, L.V. In vivo growth inhibition of sarcoma 180 by piperlonguminine, an alkaloid amide from the *Piper* species. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, p. 599-607, 2008.
- BODIWALA, H.S.; SINGH, G.; SINGH, R.; DEY, C.S.; SHARMA, S.S.; BHUTANI, K.K.; SINGH, I.P. Antileishmanial amides and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. **J. Nat. Med.**, v. 61, p. 418-421, 2007.
- BOHM, B. A. The minor flavonoids. In: HARBORNE, J. B. (ed.). **The Flavonoids: Advances in research since**. London: Chapman & Hall, p. 387-433, 1994.
- BRACKE, M. E.; PESTEL, G.; GASTRONOVO, G.; UYNCKE, B.; FOIDART, J. M.; VAKAET, L. C. A.; MARCEL, M. M. **Plant flavonoids in biology and medicine II: progress in clinical and biological research**. New York: J. B. Liss, 1988.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.
- BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. Editorial Acribia, S. A. p. 125-189, 1991.
- BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2774-2779, 2001.
- CABRERA, M.; SIMOENS, M.; FALCHI, G.; LAVAGGI, M. L.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E. VIDAL, A.; AZQUETA, A.; MONGE, A.; DE CERAIN, A. L.; SAGRERA, G.; SEOANE, G.; CERECETTO, H.; GONZALEZ, M. Synthetic chalcones, flavanones and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 15, n. 10, May 15, p. 3356-3367, 2007.
- CAPASSO, A.; PINTO, A.; SORRENTINO, R.; CAPASSO, F. Inhibitory effects of quercetin and other flavonoids on electrically- induced contractions of guinea pig isolated ileum. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 34, n. 2/3, p. 279-281, 1991.
- CARDOSO JÚNIOR, E. L.; CHAVES, M. C. O. Caldensin, a new N-methylaristolactam alkaloid from *Piper caldense*. **Pharmaceutical Biology**, v. 41, n. 3, p. 216-218, 2003.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Plantas medicinais: sob a ótica de química medicinal moderna. Chapecó-SC: Ed. Argos, p.17-42, 2001.
- CHANG, M. N.; HAN, G. Q.; ARISON, B. H.; SPRINGER, J. P.; HWANG, S. B.; SHEN, T. Y. Neolignans from *Piper futokadsura*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 9, p. 2079-2082, 1985.
- CHAUDRY, P. S.; CABRERA, J.; JULIANI, H. R.; VARIMA, S. D. Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and indometacin. **Biochemical Pharmacology**, v. 32, n. 7, p. 1195-1198, 1983.

- 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.
- CHAVES, M. C. O.; SANTOS, B. V. O. Constituents from *Piper marginatum* fruits. **Fitoterapia**, v. 73, n. 6, p. 547-549, 2002.
- CHAVES, M. C. O.; SANTOS, B. V. O. (E,E)-N-Isobutyl-2,4-octadienamide from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 27, n. 1, p. 113-114, 1999.
- CHAVES, M. C. O.; FIGUEIREDO-JÚNIOR, A. G.; SANTOS, B. V.O. Amides from *Piper tuberculatum* fruits. **Fitoterapia**, v. 74, p. 181-183, 2003a.
- CHAVES, M. C. O.; SANTOS, B. V. O.; DE OLIVEIRA, A. H. 1-Cinnamoyl pyrrolidide from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 31, p. 1213-1214, 2003b.
- CHEN, Y.C.; LIAO, C.H.; CHEN, I.S. Lignans, an amide and anti-platelet activities from *Piper philippinum*. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2101-2111, 2007.
- CHEN, M.; THEANDER, T. G.; CHRISTENSEN, S. B.; HVIID, L.; ZHAI, L.; KHARAZMI, A. Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 38, n. 7, Jul., p. 1470-1475, 1994.
- COSTA, J. I. V. **Contribuição ao Estudo Fitoquímico da espécie *Piper arboreum* Aublet (Piperaceae)**. Dissertação, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 2011.
- COTINGUIBA, F.; REGASINI, L. O.; BOLZANI, V. S.; DEBONSI, H. M.; PASSERINI, G. D.; CICARELLI, R.M.B.; KATO, M.J.; FURLAN, M. Piperamides and their derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Med. Chem. Res.**, v. 18, p. 703-711, 2009.
- CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 854, p. 435-442, 1998.
- DA CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O. Two amides from *Piper tuberculatum* fruits. **Fitoterapia**, v. 72, n.2, p. 197-199, 2001.
- DA SILVA, R.V.; NAVICKIENE, H.M.D.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; MEDA, C.I.; YOUNG, M.C.M.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 59, p. 21-527, 2002.
- DANELUTTE, A. P.; COSTANTINI, M. B.; DELGADO, G. E.; BRAZ-FILHO, R.; KATO, M. J. Divergente 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.
- DANELUTTE, A. P.; LAGO, J. H. G.; YOUNG, M. C. M.; KATO, J. M. Antifungal flavanones from *Piper crassinnervium* Kunth. **Phytochemistry**, v. 64, n. 2, p. 555-559, 2003.

- DELGADO, A. W.; AUVELLA, M. E.; DE DIAZ, A. M. P. Benzylisoquinoline alkaloids from the stem of *Piper augustum* Rudge. **Revista Colombiana de Química**, v. 27, n. 1, p. 13-21, 1998.
- DESCHNER, E. E.; RUPERTO, J.; WONG, G.; NEWMARK, H. L. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. **Carcinogenesis**, v. 12, p. 1193-1196, 1991.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. New York: John Wiley & Sons Ltd., 2009.
- DI CARLO, G.; AUTORE, G.; IZZO, A. A.; MAIOLINO, P.; MASCOLO, N.; VIOLA, P.; DIURNO, M. V.; CAPASSO, F. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationship. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 45, p. 1054-1059, 1993.
- DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Minireview flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.
- 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.
- DSAI, S. J.; PRABHU, B. R.; MULCHANDANI, N. B.; Aristolactms and 4,5-diaxoaporphines from *Piper longum*. **Phytochemistry**, v. 27, p.1511-1515, 1988.
- DUARTE, M. C. T.; LEME, E. E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A. A.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 197-201, 2007.
- DUH, C.Y.; WU, Y.C.; WANG, S. K. Cytotoxic pyridone alkaloids from *Piper aborescens*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 8, p. 2689-2691, 1990.
- DYER, L. A. & PALMER, A. D. N. *Piper: A model genus for studies of phytochemistry, ecologist and evolution*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2004.
- EVANS, J. E. Osteoporosis and the role of diet. **British Journal of Biomedical Science**, v. 51, p. 358-370, 1994.
- EVANS, P. H.; BOWERS, W. S.; FUNK, E. J.; EVANGELINE, J. Identification of fungicidal an nematocidal components in the leaves of *Piper betle* (Piperaceae). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 32, p. 1254-1256, 1984.
- FELIPE, C. B. Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and anxiodepressant effects in mice. **Phytomedicine**, v. 14, p. 605-612, 2007.
- FERNANDES G. G. **Avaliação Fitoquímica de *Sarcorrhachis obtusa*-Piperaceae**. Dissertação, Setor de Ciências Exatas, UFPR, 2006.

- FERNANDEZ M. A.; SAENZ, M. T.; GARCIA, M. D. Antiinflammatory activity in rats and mice of phenolic acids isolated from *Scrophularia frutescens*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 50, n. 10, p. 1183-1186, 1998.
- GAFNER, J.; WOLFENDER, S.; HORTETTMANN, K. Antifungal and Antibacterial chalcones from *Myrica serrata*. **Planta Médica**, v. 62, p. 67-69, 1996.
- GAMACHE, P.; RYAN, E.; ACWORTH, I. N. Analysis of phenolic and flavonoid compounds in juice beverages using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection. **Journal of Chromatography**, v. 635, n. 1, p. 143-150, 1993.
- FERNANDES, G. G. **Avaliação Fitoquímica de *Sarcorhachis obtusa* – Piperaceae**. Dissertação, Setor de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- GONCHE, D. D. F.; SIMÕES, M.; MOREIRA, D. L. Produtos Naturais para o Controle da Transmissão da Dengue. Atividade Larvicida de *Piper mollicomum* Kunth. In: **IV RIOPHARMA**, Rio de Janeiro, 2005.
- GOTTLIEB, O.R.; KOKETSU, M.; MAGALHAES, M. T.; GUILHERME, S.; MAIA, J.; MENDES, P. H.; DA ROCHA, A. I.; DA SILVA, M. L.; WILBERG, V. C. Essential oils of Amazonia. **Acta Amazônica**, v. 11, p. 143-148, 1981.
- GUERRINI, A.; SACCHETTI, G.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; MUZZOLI, M.; ANDREOTTI, E.; TOGNOLINI, M.; MALDONADO, M.E.; BRUNI, R. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 27, p. 39-48, 2009.
- GUPTA, M. P.; ARIAS, T. D.; WILLIAMS, N. H.; BOS, R.; TATTJE, D. H. E. Safrole. the main component of the essential oil from *Piper auritum* of Panamá. **Journal of Natural Products**, v. 48, n. 2, p. 330-343, 1985.
- GUSMÃO, D. F. H. O. **Chalcona como modelo de estudo no receptor ativado por proliferador peroxissomal (PPAR)**. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- HARBORNE, J. B. **The Flavonoids (advances in research since 1986)**. 1ª edição. Chapman and Hall. London-GBR, 1994.
- HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Bioavailability and health effects of dietary flavonoids in man. **Archives of Toxicology Supplement**, v. 20, p. 237-248, 1998.
- HSIEH, H. K.; LEE, T. H.; WANG, J. P.; WANG, J. J.; LIN, C. N. Synthesis and antiinflammatory effect of chalcones and related compounds. **Pharm. Res.**, v. 15, n. 1, Jan, p.39-46, 1998.
- IVANOVA, A.; MILKOVA, T.; GALABOV, A. S.; NIKOLAEVA, L.; VOYNOVA, E. Transformation of cholanic acid derivatives into pharmacologically active esters of phenolic acids by heterogeneous Wittig reaction. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 36, n. 7-8, p. 516-521, 1997.

- IWU, M. M.; IGBOK, O. A.; OKAUNJ, C. O.; TEMPESTA, M. S. Antidiabetic and aldose reductase activities of biflavanones of *Garcinia kola*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 42, p. 290-292, 1990.
- 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.
- D. JUNIOR, J.; PEREIRA, N. A.; KAPLAN, M. A. C.; MOREIRA, D. L. Efeito Analgésico Periférico de *Piper mollicomum* e *Piper malacophyllum*. In: **XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Cuiabá, 2002.
- JOSHI, A. S.; LI, X. C.; NIMROD, A. C.; ELSOHL, H. N.; WALKER, L. A.; CLARK, A. M. Dihydrochalcones from *Piper longicaudatum*. **Planta Médica**, v. 67, n. 2, p. 186-188, 2001.
- KAPLAN, M. C. Fitoquímica e atividade Leishmanicida de espécies de Piperaceae. **XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. Resumo F-165, 1996.
- KATO, M. J. & FURLAN, M. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure Appl. Chem.**, v. 79, p. 529-538, 2007.
- KIM, D. K.; LEE, K. Inhibitory Effect of trans-n-p-coumaroyl tyramine from the Twigs of *Celtis chinensis* on the Acetylcholinesterase. **Archives of Pharmacal Research**, v. 26, n. 9, p. 735-738, 2003.
- KIM, D. K.; LIM, J.P.; KIM, J.W.; PARK, H.W.; EUN, J.S. Antitumor and Antiinflammatory Constituents from *Celtis sinensis*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 28, n. 1, p. 39-43, 2005.
- KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.
- KIUCHI, F.; NAKAMURA, N.; TSUDA, Y.; KONDO, K.; YOSHIMURA, H. Studies on crude drugs effective on visceral larva migrans. IV. Isolation and identification of larvicidal principles in pepper. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 7, p. 2452-2465, 1988.
- KLOHS, M. W.; KELLER, F.; WILLIAMS, R. E.; TOEKES, M. I.; CRONHEIM, G. E. A. Chemical and pharmacological investigation of *Piper methysticum* Forst. **Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, v. 1, p. 96-106, 1959.
- KOCH, M.; PLANT, M.; MEHRI, H.; SAILLANT, J. P.; KORNOWSKI, H. Dosage des kavalactones totales et des dihydro-5,6-kavalactones dans les préparations de kawa (*Piper methysticum* Forst. Piperaceae). **Annales pharmaceutiques françaises**, v. 31, n. 2, p. 133-138, 1973.
- KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H.; Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.
- KOUL, S. K.; TANEJA, S. C.; AGARWAL, V.K.; DHAR, K. L. Minor amides of *Piper* species. **Phytochemistry**, v. 27, n. 11, p. 3523-3527, 1988.

- KOUL, S. K.; TANEJA, S.C.; MALHOTRA, S.; DHAR, K. L. Phenylpropanoids and (-)-Ledol from two *Piper* species. **Phytochemistry**, v. 32, n. 2, p. 478-480, 1993.
- KRETZSCHMAR, R.; MEYER, H. J.; TESCHENDORF, H. J. Strychnine antagonistic potency of pyrone compounds of the kava root (*Piper methysticum*). **Experientia**, v. 26, p. 283-284, 1970.
- 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.
- KUSTER, R. M. & ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In.: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 451-469, 1999.
- KUTCHAN, T. M. Ecological arsenal and developmental dispatcher: the paradigm of secondary metabolism. **Plant Physiology**, v. 125, p. 58-60, 2001.
- LAGO, J. H. G.; YOUNG, M. C. M.; REIGADA, J. B.; SOARES, M. G.; ROESLER, B. P.; KATO, M. J. Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *P. Lhotzkyanum* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1222-1224, 2007.
- LAGO, J.H.G.; CHEN, A.; YOUNG, M.C.M.; GUIMARÃES, E.F.; OLIVEIRA, A.; KATO, M.J. Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* L. and *P. hostmannianum* C. DC. (Piperaceae). **Phytochem. Lett.**, v. 2, p. 96-98, 2009.
- LANGFIELD, R.D.; SCARANO, F.J.; HEITZMAN, M.E.; KONDO, M.; HMMOND, G.B.; NETO, C.C. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 94, p. 279-281, 2004.
- 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 pipernonaline, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. **Crop. Prot.**, v. 20, p. 523-528, 2001.
- 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.
- LODER, J. W.; NEARN, R. H. Constituents from *Piper banksii*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 2645-2646, 1972.
- LORIAN, V. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986.
- MABBERLEY, D. J. **The plant book: a portable dictionary of the higher plants**. New York: Cambridge Univ. Press, 1997.
- MACIAS, F.; MOLINILLO, J.; TORRES, A.; VARELA, R.; CASTELLANO, D. Bioactive Flavonoids from *Helianthus annuus* cultivars. **Phytochemistry**, v. 45, p. 638-687, 1997.

MAES, D.; VERVISCH, S.; DEBENEDETTI, S.; DAVIO, C.; MANGELINCKX, S.; GIUBELLINA, N.; DE KIMPE, N. Synthesis and structural revision of naturally occurring ayapin derivatives. **Tetrahedron**, v.61, p. 2505–2511, 2005.

MARQUES, J.V.; KITAMURA, R.O.S.; LAGO, J.H.G.; YOUNG, M.C.M.; GUIMARÃES, E.F.; KATO, M.J. Antifungal amides from *Piper scutifolium* and *Piper hoffmanseggianum*. **J. Nat. Prod.**, v. 70, p. 2036-2039, 2007.

MARQUES, J. V. **Atividade biológica de amidas e análogos de espécies de *Piper* e estudos biossintéticos**. Tese, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2009.

MATA, R.; MORALES, I.; PEREZ, O.; RIVERO-CRUZ, I.; ACEVEDO, L.; ENRIQUEZ-MENDOZA, I.; BYE, R.; FRANZBAU, S.; TIMMERMAN, B. Antimycobacterial compounds from *Piper sanctum*. **J. Nat. Prod.**, v. 67, p. 1961-1968, 2004.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2^a ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MATSIU, K.; WADA, K.; MUNAKATA, K. Insect antifeeding substances in Parabenzoin praecox and *Piper futokadsura*. **Agriculture Biologic Chemical**, v. 40, n. 5, p. 1045-1046, 1976.

MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; MORIKAWA, T.; YASUDA, D.; YAMAGUCHI, I.; YOSHIKAWA, M. Protective effects of amides constituents from the fruit of *Piper chaba* on d-galactosamine/TNF-[alpha]-induced cell death in mouse hepatocytes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18; p. 2038-2042, 2008.

MAXWELL, A; DABIDEEN, D; REYNOLDS, W. F.; MC LEAN, S. Neolignans from *Piper aequale*. **Phytochemistry**, v. 50, n. 3, p. 499-504, 1999.

MIDDLETON E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and câncer. **Pharmacol. Rev.**, v. 52, n. 4, p. 673-751, 2000.

MIX, D. B.; GUINAUDEAU, H.; SHAMA, M. The aristolochic acid and aristolactams. **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 657-666, 1982.

MIYAKADO, M.; NAKAYAMA, I.; YOSHIOKA, H.; NAKATANI, N. The Piperaceae amides. Structure of pipericide, a new insecticidal amide from *Piper nigrum* L. **Agriculture and Biological Chemistry**, v. 43, p. 1609-1611, 1979.

MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric Oxide- physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacology Reviews**, v. 43, p. 109-142, 1991.

MORA, A.; PAYA, M.; RIOS, J. L.; ALCARAZ, M. J.; Structure-activity relationships of polymethoxyflavones na other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation. **Biochem Pharmacol**, v. 40, n. 4, p. 793-797, 1990.

- 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. 282-286, 2005.
- MOREIRA, D. D. L.; GUIMARAES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. A C-glucosylflavone from leaves of *Piper lhotzkyanum*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 783-786, 2000.
- MOREIRA, D. L.; GUIMARAES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. A chromomene from *Piper aduncum* L. **Phytochemistry**, v. 48, n. 6, p. 1075-1077, 1998.
- MUNDINA, M.; VILA, R.; TOMI, F.; GUPTA, M. P.; ADZET, T.; CASANOVA, J.; CANIGUERAR, S. Leaf essential oils of three panamanian *Piper* species. **Phytochemistry**, v. 47, n. 7, p. 1277-1282, 1998.
- NAGEN, T. J.; ALBUQUERQUE, T. T. O.; MIRANDA, L. C. G. Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 35, n. 1, p. 129-138, 1992.
- NAIR, M. G.; MANSINGH, A. P.; BRURKER, B. A. Inseticidal properties of some metabolites of Jamaican *Piper* spp., and the amides synthesized from 5,6-Z and E-Butenolides of *Piper fadyenii*. **Agriculture Biologic Chemical**, v. 50, n. 12, p. 3053-3058, 1986.
- NAIR, M. G.; SOMMERVILLE, J.; BURKE, B. A. Phenyl propenoids from roots of *Piper auritum*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 2, p. 654-655, 1989.
- NAKAMURA, C. V.; SANTOS, A. O.; VENDRAMETTO, M. C.; LUIZE, P. S.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; UEDA-NAKAMURA, T. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico de frações obtidas das folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallenscens* (C. DC.) Yunck. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 61-66, Jan/Mar 2006.
- 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.
- NOLDIN, V. F.; ISAIAS, D. B.; CECHINEL-FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Química Nova**, v.29, n.3, p. 549-554, 2006.
- NUNES, J. D.; TORRES, G. A.; DAVIDE, L. C.; SALGADO, C. C. Citogenética de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n.7, p. 1049-1052, 2007.
- ORJALA, J.; WRIGHT, A. D.; RALI, T.; STICHER, O. Aduncamide, a cytotoxic and antibacterial beta-phenylethylamine-derived amide from *Piper aduncum*. **Natural Product Letters**, v. 2, n. 3, p. 231-236, 1993a.
- ORJALA, J.; WRIGHT, A.D.; ERDELMEIER, C. A. J.; STICHER, O.; RALI, T. New monoterpene-substituted dihydrochalcones from *Piper aduncum*. **Helvética Chimica Acta**, v. 76, n. 4, p. 1481-1488, 1993b.

- 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*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.
- PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents- recent advances. **Fitoterapia**, v. 62, p. 371-389, 1991.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**. 4^a edição, Washington-USA: Saunders golden Simburst series, 2009.
- PELEG, H.; BODINE, K. K.; NOBLE, A. C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, v. 23, n. 3, p. 371-378, 1998.
- PENA, L.A.; AVELLA, E.; DIAZ, A. M. P. Prenylated benzoquinone and hydroquinone and other isolated constituents of *Piper bogotense* C.DC. **Revista Colombiana de Química**, v. 29, n. 2, p. 25-27, 2000.
- PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES. M.C.; MUÑOZ, J.D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 77, p.37-40, 2001.
- PÉRES, V. F.; MOURA, D. J.; SPEROTTO, A. R. M.; DAMASCENO, F. C.; CARAMÃO, E. B.; ZINI, C. A.; SAFFI, J. Chemical composition and cytotoxic, mutagenic and genotoxic activities of the essential oil from *Piper gaudichaudianum* Kunth leaves. **Food Chem. Toxicol.**, v. 47, p. 2389-2395, 2009.
- PIETA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.
- PINO, J. A.; ROSADO, A.; RODRIGUEZ, M.; GARCIA, D. Composition of leaf oil of *Piper auritum* H.B.K. grown in Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n. 3, p. 333-334, 1998.
- PRADHAN, P.; DESAI, S. J.; BADHEKA, L. P.; BANERJI, A. Neolignans from Indian *Piper* species: structure of Hookerone A, a novel neolignan. **Natural Product Letters**, v. 4, n. 1, p. 35-42, 1994.
- RAFAEL, M.S.; HEREIRA-ROJAS, W.J.; ROPER, J.J.; NUNOMURA, S.M.; TADEI, W.P. Potencial control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) with *Piper aduncum* L. (Piperaceae) extracts demonstrated by chromosomal biomarkers and toxic effects on interphase nuclei. **Genetics and molecular research (GMR)**, v. 7, p. 772-781, 2008.
- REGASINI, L. O., COTINGUIBA, F., MORANDIMA, A., KATO, M. J., MENDES-GIANNINI, M. J., BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. (Piperaceae) against opportunistic yeasts. **African journal of Biotechnology**, v. 8(12), p. 2866-2870, 2009a.

- REGASINI, L. O.; COTINGUIBA, F.; PASSERINI G. D.; BOLZANI, V. S.; CICARELLI, R. M. B.; KATO, M. J., M. J.; FURLAN, M. Trypanocidal activity of *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmcognosia**. v. 19(1B), p. 199-203, 2009b.
- RESEM - XXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares. Evolução Metabólica em Espécies de Piperaceae. Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, livro de anais p. 27, dezembro de 2004.
- RIBÉREAU-GAYON, P. **Les Composés Phénoliques des Végétaux**. Paris: Dunod, p. 254, 1968.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; YLER, V. E. **Farmacognosia-Farmacobiotecnologia**. São Paulo: Editorial Premeier, 1997.
- RODRIGUÉZ, E.; WEST, J. E. Internacional research on biomedicines from the tropical rain forest. **Interciência**, v. 20, n. 3, p. 140-143, 1995.
- ROSA, S. M.; SOUZA, L. A.. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *medium* Liannaeus (Piperaceae). **Acta Científica Venezolana**, 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.
- SAEED, S. A.; FARNAZ, S.; SIMJEE, R. U.; MALIK, A. Triterpenes and β -sitosterol from *Piper betle*: isolation, antiplatelet and antiinflammatory effects. **Biochemical. Society Transactions**, v. 21, n. 4, p. 462-465, 1993.
- SANTOS, B. V. O.; CHAVES, M. C. O. 2,4,5-Trimethoxypropiophenone from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 27, n. 1, p. 113-114, 1999.
- SANTOS, B. V. O.; CHAVES, M. C. O. 2-methoxy-4,5-methylenedioxypropiophenone with the assistance of 1D and 2D NRM experiments. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 19, n. 1, p. 45-47, 2000.
- SANTOS, B. V. O.; DA CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Croweacin from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25, n.5, p. 471-472, 1997.
- SANTOS, B. V. O.; DA CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Phenylalkanoids from *Piper marginatum*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 5, p. 1381-1384, 1998.
- SANTOS, F. P. **Chalconas e Flavanonas isoladas das partes aéreas de *Piper glandulosissimum* Yuncker (Piperaceae)**. Dissertação, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 2004.
- SANTOS, P. R. D.; MOREIRA, D. L.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. Essencial oil analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest. **Phytochemistry**, v. 58, p. 547-551, 2001.

- SANTOS-FILHO, L. **Manual de microbiologia clínica**. Universidade Federal da Paraíba: Ed.Universitária, 1996.
- SCOTT, I.; JENSEN, H.; PHILOGÉNE, B.; AMASON, J. A review of *Piper* spp (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, p. 65-75, 2008.
- SHIBATA, S. Anti-tumorigenic chalcones. **Stem Cells**, v. 12, n. 1, Jan, p. 44-52, 1994.
- SHOJI, N.; UMEYAMA, A.; SAITO, N.; TAKEMOTO, T.; KAJIWARA, A.; OHIZUMI, Y. Dehydropiperperonaline, an amide possessing coronary vasodilating activity isolated from *Piper longum* L. **Journal Pharmaceutical Association**, v. 75, n. 12, p. 1188-1189, 1986.
- SHU, Y. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 8, p. 1053-1071, 1998.
- SIDDIQUI, B.; GULZAR, T.; BEGUM, S.; AFSHAN, F.; SULTANA, R. A new natural product and insecticidal amides from seeds of *Piper nigrum* Linn. **Natural Product Research**, v. 22, p. 1107-1111, 2008.
- 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.
- SILVA, T. M. S. **Estudo Químico de Espécies de Solanum**. 2002. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
- SINGH, J.; ATAL, C. K. Constituents of *Piper hookeri*. **Phytochemistry**, v. 8, p. 2253-2254, 1969a.
- SINGH, J.; ATAL, C. K. Studies on the genus *Piper*.part VIII.Chemical constituents of *Piper brachystachyum* Wall. **Indian Journal of Pharmacy**, v. 31, p. 129-130, 1969b.
- SINGH, J.; SANTANI, D. D.; PANI, R. Chemical constituents of fruits of *Piper aurantiacum*. **Indian Journal of Pharmacy**, v. 38, p. 58-62, 1976.
- SINGH, S. K.; PRASAD, A. K.; OLSEN, C. E.; JHA, A.; JAIN, S. C.; PARMAR, V. S.; WENGEL, J. Neolignans and alkaloids from *Piper argyrophylum*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1355-1360, 1996.
- SMITH, D. A.; BANK, S. W. **Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure- activity relationship**. New York: Alan R. Liss, p. 113-124, 1986.
- SOIKE, H.; PESCHLOW, E. L. Characterization of flavonoids from *Bacharis trimera* and their antihepatotoxic properties. **Planta Médica**, v. 53, p. 37-39, 1987.

- SRINIVASAN, K. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 47, p. 735-748, 2007.
- STREET, H. E.; COCKBURN. Plant metabolism. **Pergamon international library**, p. 204-205, 1972.
- SUMATHYKUTTY, M. A.; RAO, J. M. 8-Hentriacontanol and other constituents from *Piper attenuatum*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 6, p. 2075-2076, 1991.
- SUMATHYKUTTY, M. A.; RAO, J. M. Constituents of *Piper attenuatum*. **Fitoterapia**, v. 64, n. 3, p. 281-283, 1993.
- 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.
- TERREAUX, C.; GUPTA, M. P.; HOSTETTMANN, K. Antifungal benzoic acid derivatives from *Piper dilatatum*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 2, p. 461-464, 1998.
- TOMAZ, A. A. **Abordagem fitoquímica de *Richardia grandiflora* (Cham & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae)**. Dissertação, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-LTF, UFPB, João Pessoa, 2008.
- TREASE, G. E.; EVANS, W. C. **Farmacognosia**. México: Ed. Continental, 1982.
- TRILLINI, B.; VELASQUEZ, E. R.; PELLEGRINO, R. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Piper angustifolium*. **Planta Médica**, v. 62, n. 4, p. 372-373, 1996.
- 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.
- USIA, T.; WATABE, T.; KADOTA, S.; TEZUKA, Y. Potent CYP3A4 inhibitory constituents of *Piper cubeba*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 1, p. 64-68, 2005.)
- VELOSO, L. S. M.; MOREIRA, D. L.; GUIMARÃES, E. F.; SANTOS, M. I. S.; KAPLAN, M. A. C. Flavonóides de *Piper mollicomum*. In: **XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da SBQ**, Salvador, 2004.
- VENKATASAMY, R.; FAAS, L.; YOUNG, A.; RAMAN, A.; HIDER, R. C. Effects of piperidine analogues on stimulation of melanocyte proliferation and melanocyte differentiation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.12, p. 1905-1920, 2004.
- VILA, R.; MILO, B.; TOMI, F.; CASANOVA, J.; FERRO, E. A.; CANIGUERAL, S. Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Piper fulvescens*, a plant traditionally used in Paraguay. **Journal Ethnopharmacoly**, v. 76, n. 1, p. 105-107, 2001.

- WEI, K.; LI, W.; KOIKE, K.; PEI, Y.; CHEN, Y.; NIKAIDO, T. New Amide Alkaloids from the Roots of *Piper nigrum*. **Journal Natural Products**, v.67, p. 1005-1009, 2004.
- WHITTON, P.A.; LAU, A.; SALISBURY, A.; WHITEHOUSE, J.; EVANS, C.S. Kava lactones and the kava-kava controversy. **Phytochemistry**, v. 64, p. 673-679, 2003.
- WILMAN, D. A.; ELISEO, A. M.; AURA, P. D. Alcaloides Bencilisoquinol-inicos del talo de *Piper augustm* Rudge. **Revista Colombiana de Química**. v. 27(1), p. 13-21, 1998.
- WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 3-19, 2003.
- WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiol.**, v. 126, n. 2, jun, p. 485-493, 2001.
- 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. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 701-705, 2002.
- XUAN, T. D.; FUKUTA, M.; WEI, A. C.; ELZAAWELY, A. A.; KHANH, T. D.; TAWATA, S. Efficacy of extracting solvents to chemical components of kava (*Piper methysticum*) roots. **Journal of Natural Medicines**, 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. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 3765-3767, 2002.
- YAO, C. Y.; WANG, J.; QIAN, F. G.; XIE, J.; PAN, S. L. Laetispicine, anamidealkaloid from *Piper laetispicum*, presents antidepressant and antinociceptive effects in mice. **Phytomedicine**, v. 16, p. 823-829, 2009.
- ZHANG, K.; NI, W.; CHEN, C. X. Chemical constituents of *Piper boehmeriaefolium* var. *tonkinense*. **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 11, n. 1, p. 44-47, 1999.
- ZHANG, S.; CHEN, K. The isolation and structural elucidation of three new neolignans, puberulins A, B and C, as platelet activating factor receptor antagonists from *Piper puberulum*. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 4, p. 540-547, 1995.
- ZHANG, S. X.; LIU, X. J.; ZHANG, L.; WAN, D. J. Chemical constituents of Haifengteng. **Tinran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, v. 4, n. 3, p. 1-4, 1992.

ZHU, X. F.; XIE B. F.; ZHOU, J. M.; FENG, G. K.; LIU, Z. C.; WEI, X. Y.; ZHANG, F. X.; LIU, M. F.; ZENG, Y. X. Blockade of vascular endothelial growth factor receptor signal pathway and antitumor activity of ON-III(2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone), a component from Chinese herbal medicine. **Mol. Pharmacol.**, v. 67, n. 5, may, p. 1444-1450, 2005.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, p. 489-516, 1999.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A.: Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed., Porto Alegre: Ed. UFRGS, p. 577-614, 2003.