

MARCOS BATISTA MACHADO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO
DE
*Aristolochia ridicula***

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Doutor em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Xavier Lopes

ARARAQUARA
2009

FICHA CATALOGRÁFICA

M149e	Machado, Marcos Batista
Batista	Estudo fitoquímico e biológico de <i>Aristolochia ridicula</i> / Marcos Machado. -- Araraquara : [s.n], 2009
	369 f. : il.
Química	Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
	Orientador: Lucia Maria Xavier Lopes
	1. Produtos naturais. 2. Aristolochiaceae. 3. Flavonóides. 4. Alcalóides.
	I. Título.

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

MARCOS BATISTA MACHADO

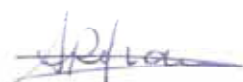
Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 13 de março de 2009.

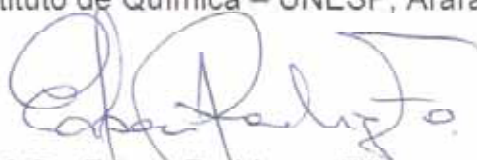
BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Lucia Maria Xavier Lopes (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Profª Drª Angela Regina Araújo
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Edson Rodrigues Filho
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFSCar, São Carlos



Prof. Dr. Massuo Jorge Kato
Instituto de Química – USP, São Paulo



Profª Drª Juceni Pereira de Lima David
Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador

DADOS CURRICULARES

MARCOS BATISTA MACHADO

DADOS PESSOAIS

Nascimento: 11/08/1981

Nacionalidade: Brasileiro

Naturalidade: Goiânia – GO

Profissão: Químico

Endereço Profissional: Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química de Araraquara – UNESP, C.P. 355, CEP 14801-970, Araraquara – SP.

Endereço eletrônico: marcmach@iq.unesp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Graduação: Bacharelado em Química

Instituição: Universidade Estadual Paulista - UNESP

Instituto de Química de Araraquara

Monografia: Estudos fitoquímicos dos extratos polares de *Aristolochia ridicula*

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Xavier Lopes

Período: 08/02/1999 – 07/12/2002

Iniciação Científica: Estudos fitoquímicos dos extratos polares de *Aristolochia ridicula*

Instituição: Universidade Estadual Paulista – UNESP

Instituto de Química de Araraquara

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Xavier Lopes

Período: 01/03/2002 – 31/12/2002

Bolsa: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

(Proc. 01/11147–5)

Graduação: Licenciatura em Química

Instituição: Universidade Estadual Paulista – UNESP

Instituto de Química de Araraquara

Período: 10/02/2004 – 10/12/2005

Mestrado: Química, Área de Concentração – Química Orgânica

Instituição: Universidade Estadual Paulista – UNESP

Instituto de Química de Araraquara

Dissertação: Estudo fitoquímico e avaliação da atividade inseticida de *Aristolochia ridicula*

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Xavier Lopes

Bolsa: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

(Proc. 03/02641–1)

Período: 24/02/2003 – 26/01/2005

Doutorado: Química, Área de Concentração – Química Orgânica

Instituição: Universidade Estadual Paulista – UNESP

Instituto de Química de Araraquara

Tese: Estudo fitoquímico e biológico de *Aristolochia ridicula*

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Xavier Lopes

Bolsa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

(Proc. 05/51922–9)

Início em: 01/03/2005

TRABALHOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS

MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Chalcone–flavone tetramer and biflavones from *Aristolochia ridicula*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 669-674, 2005.

MESSIANO, G.; VIEIRA, L.; MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X.; BORTOLI, S. A.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. Evaluation of insecticidal activity of diterpenes and lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatilis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2655-2659, 2008.

MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Tetraflavonoid and biflavonoids from *Aristolochia ridicula*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 3095-3102, 2008.

MARCHESINI, A. M.; PRADO, G. G.; MESSIANO, G. B.; MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Chemical constituents of *Aristolochia giberti*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. No prelo.

PRINCIPAIS PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS E EVENTOS CIENTÍFICOS

MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Isolamento e determinação estrutural do *proto-quercitol*. In: **SEMANA DA QUÍMICA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA**, 32, 2002, Araraquara – SP.

MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Biflavonas de *Aristolochia ridicula*. In: **REUNIÃO ANUAL SOBRE EVOLUÇÃO, SISTEMÁTICA E ECOLOGIA MICROMOLECULARES**, 26, 2004, Niterói – RJ.

VIEIRA, L.; DE BORTOLI, S. A.; DÓRIA, H. O. S.; ALBERGARIA, N. M. M. S.; MACHADO, M. B.; PASCOLI, I. C.; LOPES, L. M. X. Efeito de extratos de *Aristolochia lagesiana* Ule. var. *intermedia* Hoehne e *Aristolochia ridicula* Brow. sobre *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae). In: **CONGRESSO DE ENTOMOLOGIA**, 20, 2004, Gramado – RS.

MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Tetraflavonóide de *Aristolochia ridicula*. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA**, 28, 2005, Poços de Caldas – SP.

MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Flavonoid dimers and tetraflavonoid from *Aristolochia ridicula* (Aristolochiaceae). In: **1st BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS AND XXVII RESEM**, 2007, São Pedro – SP.

MARCHESINI, A. M.; LOPES, L. M. X.; MESSIANO, G. B.; MACHADO, M. B. Estudo Fitoquímico da espécie *Aristolochia giberti*. In: **31ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA**, 31, 2008, Águas de Lindóia - SP.

MESSIANO, G. B.; VIEIRA, L.; MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X.; BORTOLI, S. A.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. Suscetibilidade de *Anticarsia gemmatilis* à diterpenos e lignanas de *Aristolochia malmeana*. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA**, 31, 2008, Águas de Lindóia - SP.

PRÊMIOS E TÍTULOS

Prêmio pelo painel intitulado “Tetraflavonóide de *Aristolochia ridicula*” concedido pela divisão de Química de Produtos Naturais da Sociedade Brasileira de Química (SBQ) na 28ª Reunião Anual da SBQ em 2005.

Honra ao mérito pelo trabalho acima concedido pela Congregação do Instituto de Química de Araraquara – UNESP em 2005.

Prêmio pelo painel intitulado “Flavonoid Dimers and Tetraflavonoid from *Aristolochia ridicula* (Aristolochiaceae)” concedido pela divisão de Química de Produtos Naturais da SBQ no evento 1st Brazilian Conference on Natural Products em 2007.

Honra ao mérito pelo trabalho acima concedido pela Congregação do Instituto de Química de Araraquara – UNESP em 2008.

Homenagem dos alunos de graduação do IQ-UNESP pelo esforço dedicado aos alunos de graduação de 1999 a 2002, Diretório Acadêmico "Prof. Waldemar Saffioti".

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO INSTITUTO DE QUÍMICA (UNESP)

Ensino:

Bacharelado em Química e Licenciatura em Química

Nível: Graduação

Função: Professor

Disciplina: Química Orgânica II

Período: 8/2008 - 12/2008

Bacharelado em Química

Nível: Graduação

Função: Estagiário docente

Disciplina: Química Orgânica Experimental II

Período: 03/2005 - 07/2005

Licenciatura em Química

Nível: Graduação

Função: Estagiário docente

Disciplina: Química Orgânica I

Período: 03/2003 - 07/2003

Bacharelado em Química

Nível: Graduação

Função: Monitor

Disciplina: Química Inorgânica Estrutural

Período: 02/2001 - 06/2001

Preparatório para vestibular

Nível: Médio

Função: Professor

Disciplina: Física

Período: 03/2000 - 02/2002

Conselhos e Comissões:

Representante Discente no Conselho do Curso de Pós-graduação em Química

Período: 09/2005 - 09/2006

Representante Discente da Comissão de Bolsas do Programa de Pós-graduação em Química (PDEE/CAPES)

Período: 03/2006 - 03/2006

Representante Discente dos alunos de Pós-graduação na Congregação do Instituto
Período: 01/2004 - 12/2004

Representante Discente na Comissão Eleitoral para proceder a condução do processo eleitoral 2004 e o recebimento e apuração dos votos da eleição para Diretor e vice-Diretor do IQCAR
Período: 09/2004 - 09/2004

Representante discente no Conselho de Graduação em Química
Período: 04/2002 - 04/2003

Extensão universitária:

Coordenador Geral da Associação dos Pós-Graduandos
Período: 06/2005 - 06/2006

Membro da Associação dos Pós-Graduandos
Período: 06/2004 - 06/2006

Representante discente da UNESP na Feira do Vestibular - FEVEST de 2004
Período: 08/2004 - 08/2004

Coordenador Discente do Diretório Acadêmico "Prof. Waldemar Safiotti"
Período: 10/2001 - 10/2002

Diretor do Departamento Jurídico Financeiro da Química Júnior Projetos & Consultoria
Período: 07/2000 - 06/2001

Gerente do Departamento Jurídico e Financeiro da Química Júnior Projetos & Consultoria
Período: 07/1999 - 06/2000

DEDICATÓRIA

À minha querida Cristine,
que tanto me incentivou
nos momentos em que mais precisei.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ivan e Elza,
e irmãos, Bárbara e Marcello,
pelo apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Lucia M. X. Lopes, pela orientação, incentivo e apoio na realização deste trabalho.

Ao Dr. Condorcet Aranha e ao Prof. Lindolpho Capellari Jr., pela identificação e depósito em herbário da espécie vegetal apresentada neste trabalho.

Ao Prof. Sergio A. De Bortoli e ao Dr. Leandro Vieira, pela realização dos ensaios inseticidas.

À Dr^a. Antoniana U. Krettli, Dr. Fernando P. Varotti e MSc. Luísa G. Krettli, pela realização dos ensaios antiplasmódicos.

À Prof^a. Dr^a. Clarice Queico F. Leite e MSc. Karina A. Prince, pela realização dos ensaios antimicobacterianos.

Aos Dr. Nivaldo Boralle e Dr^a. Silvia Helena Santagneli, pelas amizades e pela realização dos experimentos de RMN.

Ao Prof. Dr. Norberto P. Lopes e ao técnico José Carlos Tomaz, pela obtenção dos espectros de massas de alta resolução.

Ao Dr. Alberto C. Alécio, pela obtenção dos espectros de massas de baixa resolução.

Ao Prof. Dr. Wagner Vilegas e ao MSc. Daniel Rinaldo, pela obtenção das curvas de dicroísmo circular.

Ao Prof. Dr. Antônio Eduardo Mauro, à Prof^a. Dr^a. Regina C. G. F. di Nardo e à técnica Irene A. A. Costa, pela obtenção dos espectros nas regiões do IV e do UV.

À técnica Marcia Lara R. Ferreira, pelo auxílio no laboratório de pesquisa.

À equipe da biblioteca do Instituto de Química de Araraquara, especialmente para Marilda, Valéria, Maria Isabel, Cátia e Cristina, bem como às funcionárias Marly e Rose do posto de convênios e às funcionárias Sandra, Célia, Patrícia e Wennia da seção de pós-graduação pelo suporte técnico fornecido à esse trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Isabele R. Nascimento, ao Prof. Dr. Luis Vitor S. do Sacramento e ao Dr. Allynson T. Fujita, pelas amizades e pelos auxílios e incentivos fornecidos no desenvolvimento desse trabalho.

Aos colegas e amigos desse instituto, em especial para Tito, Gisele, Alessandra, Cláudio Rodrigo, Inara, Magela, Daniel, Luis Octávio, André, Otávio, Wilson, Paulo, Clara, Cristiano, João, Gabriel, Letícia, José Rufino, Rodrigo, Marcos,

José Renato, Aline, Thiago, Rafael, Norberto Jr. e Ioanes, pelo convívio nesses últimos anos.

Aos docentes e funcionários técnicos-administrativos do IQ/CAR, em especial ao Prof. Dr. Arnaldo A. Cardoso, Prof. Dr. Ian Castro-Gamboa e Prof. Dr. Luis Antônio A. de Oliveira, pelos ensinamentos durante esses anos.

À Cristine, pelo auxílio na confecção desta tese, pelo carinho e convívio nesta importante etapa da minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro.

Às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPESP, pela bolsa concedida.

"Uma vez que a ciência nos leva a compreender como o mundo é na realidade,
em vez de como desejaríamos que fosse,
suas descobertas podem não ser, em todos os casos,
imediatamente compreensíveis ou satisfatórias.
É possível que tenhamos um pouco de trabalho
para reestruturar a nossa mentalidade.
A ciência é simples.
Quando se torna complicada, em geral é porque o mundo é complicado
– ou porque *nós é que somos complicados.*"

Carl Sagan
1934-1996

RESUMO

O presente trabalho descreve o isolamento, a identificação e a elucidação estrutural dos constituintes químicos de *Aristolochia ridicula* H.B.K., bem como a avaliação das potenciais atividades inseticidas, antiplasmódicas e antimicobacterianas dos extratos e das substâncias isoladas dessa espécie. Os extratos acetônico de folhas e etanólico de caules foram fracionados por partição, lavagem e métodos cromatográficos, resultando em seis e quatorze substâncias, respectivamente. Dentre essas substâncias estão uma nova biflavona (ridiculuflavona D), uma nova chalcona-flavona (ridiculuflavonilchalcona B) e um tetraflavonóide com esqueleto carbônico inédito (ridiculuflavonilchalcona C), juntamente com a ridiculuflavona C e o *proto-quercitol*, os quais foram previamente isolados dessa espécie. Além desses compostos, isolou-se um flavonóide (luteolina), três alcalóides [(±)-coclorina, (-)-cloreto de *N*-steponina e (-)-metilwarifteina], uma alcalamida (*N*-trans-feruloil-tiramina), duas ribonolactonas [(+)-2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona e seu derivado 3,5-bis(tripolifosfato)], um derivado glucosídico (etil-β-D-glucopiranosídeo) e o ácido 2-butinodióico. Além disso, identificou-se os íons 3-hidroxipropanoato, acetato e formiato por RMN 1D e 2D, sugerindo que esses compostos são derivados do ácido 2-butinodióico, o qual não foi detectado por RMN de ¹H. As estruturas de todos os compostos isolados foram determinadas por métodos espectrométricos (RMN 1D e 2D, EMAR, IV, UV e DC). Transformações químicas (metilações e/ou acetilações) dos flavonóides ridiculuflavona C e ridiculuflavonilchalcona B, bem como dos alcalóides cloreto de *N*-steponina e metilwarifteina e da alcalamida *N*-trans-feruloil-tiramina também auxiliaram na elucidação estrutural dessas substâncias. A susceptibilidade do inseto *Anticarsia gemmatilis* às soluções de extratos e de flavonóides isolados de *A. ridicula* foi avaliada pela aplicação tópica dessas soluções na região do mesotórax das larvas desse inseto. A chalcona-flavona ridiculuflavonilchalcona B e o extrato acetônico de folhas reduziram significativamente a massa média de pupa de *Anticarsia gemmatilis* nas concentrações de 5,0 e 60,0 µg/inseto, respectivamente. A determinação da atividade antiplasmódica *in vitro* dos extratos e dos flavonóides obtidos de *A. ridicula* em cepa de *Plasmodium falciparum* (BHz 26/86) foi feita utilizando-se bioensaios

com [³H]-hipoxantina. Os flavonóides bioensaiados apresentaram fraca atividade antiplasmódica, enquanto que os extratos acetônico, etanólico e etanólico soxhlet de caules evidenciaram atividade antiplasmódica significativa. Avaliou-se a atividade antimicobacteriana dos extratos de folhas e de caules de *A. ridicula* utilizando o método “Microplate Alamar Blue Assay”. Os extratos hexânico, acetônico e etanólico de caules inibiram o crescimento de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) em 90% na concentração de 3,91 µg/mL.

Palavras-chave: *Aristolochia ridicula*. Aristolochiaceae. Piperales. Flavonóide. Biflavonóide. Chalcona-flavona. Tetraflavonóide. Alcalóide. Protoberberina. Benziltetraisoquinolina. Bisbenzilisquinolina. Alcamida. *Anticarsia gemmatalis*. *Plasmodium falciparum*. *Mycobacterium tuberculosis*.

.

ABSTRACT

This work describes the isolation, identification, and structural elucidation of the chemical constituents of *Aristolochia ridicula* H.B.K., as well as the evaluation of insecticidal, antiplasmodial, and antimycobacterial activities of extracts and the chemical constituents from this species. The acetone extract of the leaves and ethanol extract of the stems were fractionated by partitions and washing, followed by chromatographic column, PTLC, and/or HPLC methods to give, respectively, six and fourteen compounds. These included a new biflavone (ridiculoflavone D), a new chalcone-flavone (ridiculoflavonylchalcone B), and a tetraflavonoid with a new carbon skeleton (ridiculoflavonylchalcone C), together with a biflavone (ridiculoflavone C) and a cyclitol (*proto-quercitol*), which were previously isolated from this species. In addition, a flavonoid (luteolin), three alkaloids [(±)-coclaurine, (–)-*N*-steponine chloride, and (–)-methylwarifteine], an alkylamide (*N*-trans-feruloyl tiramine), two ribonolactones [(+)-2-deoxy-D-ribo-1,4-lactone and its derivative 3,5-bis(tripolyphosphate)], a glucose derivative (ethyl β-D-glucopyranoside), and 2-butynedioic acid were isolated. Moreover, 3-hydroxypropanoate, acetate, and formate were detected by NMR techniques, which suggests that they are derivatives from 2-butynedioic acid, which is not detected by ¹H NMR. The structures of all isolated compounds were determined by spectrometric method (1D and 2D NMR, HRMS, IR, UV, and CD). Chemical transformations (methylations and/or acetylations) of ridiculoflavone C, ridiculoflavonylchalcone B, *N*-steponine chloride, methylwarifteine, and *N*-trans-feruloyl tiramine, also provide further evidences in the structural elucidations of these compounds. The susceptibility of *Anticarsia gemmatalis* to solutions of extracts and several flavonoids from *A. ridicula* were evaluated by topical application on the mesothorax of the larvae of the insect. Ridiculoflavonylchalcone B and the acetone extract of the leaves reduced significantly the pupa average weight at concentrations of 5.0 and 60.0 μg/insect, respectively. Antiplasmodial *in vitro* activity determination of the efficacy of extracts and several flavonoids from *A. ridicula* against *Plasmodium falciparum* (BHz 26/86), were carried out using [³H]-hypoxanthine bioassay. The flavonoids solutions showed weak antiplasmodic activity. However, all of the stems extracts, except for the hexanic, showed significant activity. Antimycobacterial activity of the extracts of the

leaves and stems were evaluated using microplate-based Alamar Blue assay. The hexanic, acetone, and ethanol extract of the stems inhibited the growth of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) by 90% at a concentration of 3.91 µg/mL.

Keywords: *Aristolochia ridicula*. Aristolochiaceae. Piperales. Flavonoid. Biflavonoid. chalcone-flavone. Tetraflavonoid. Alkaloid. Protoberberine. Benzyltetraisoquinoline. Bisbenzylisoquinoline. Alkylamide. *Anticarsia gemmatalis*. *Plasmodium falciparum*. *Mycobacterium tuberculosis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Battus polydamas</i> sobre <i>A. pubescens</i> .	33
Figura 2. Reprodução ilustrativa para uma exsicata de <i>A. ridicula</i> ¹¹ .	38
Figura 3. Detalhes de flores de <i>A. ridicula</i> ¹⁰ .	39
Figura 4. Estruturas moleculares dos compostos isolados previamente de <i>A. ridicula</i> ^{42, 43}	40
Figura 5. Estruturas moleculares de biflavonóides com atividade inseticida.	48
Figura 6. Estruturas moleculares de biflavonóides com atividade antiplasmódica.	49
Figura 7. Estruturas moleculares das substâncias isoladas e derivatizadas no presente trabalho.	74
Figura 8. Estrutura molecular de 1 com deslocamentos químicos de hidrogênio (δ).	79
Figura 9. Deslocamentos químicos de H-6, H-8 e de C-4 a C-10, para esqueletos alternativos de biflavonas (δ) ^{42, 43}	80
Figura 10. Principais interações observadas nos experimentos <i>g</i> NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) e <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para 2 .	81
Figura 11. Principais interações observadas nos experimentos <i>g</i> NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) e <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para 3 .	83
Figura 12. Principais interações observadas nos experimentos <i>g</i> NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) e <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para 3a .	84
Figura 13. Principais interações observadas nos experimentos <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$).	88
Figura 14. Deslocamentos químicos de C- α e C- β para esqueletos alternativos de modelos de chalconas-flavonas (δ) ^{43, 78, 79}	89
Figura 15. Estrutura molecular da chalcona-flavona cissampeloflavona ^{78, 79}	89
Figura 16. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e <i>g</i> NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para 4a .	91
Figura 17. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e <i>g</i> NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para 4b .	91
Figura 18. Principais correlações obtidas por <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e interações obtidas por <i>g</i> NOESY 1D e 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para as subestruturas 5I a 5III .	95
Figura 19. Deslocamentos químicos de C-5 a C-10 para esqueletos alternativos (F e G) de flavonas modelos (δ) ^{108, 109}	96
Figura 20. Principais correlações observadas <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e interações obtidas por <i>g</i> NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para 6 .	103
Figura 21. Principais correlações observadas pelo experimento <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para 7 .	105
Figura 22. Principais correlações observadas por <i>g</i> NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para os confôrmers α e β de 7 .	106
Figura 23. Principais correlações observadas pelo experimento <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para 7a e 7b .	107
Figura 24. Principais correlações observadas por <i>g</i> NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para 7a .	107
Figura 25. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e <i>g</i> NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) de 8 , indicadas nas subestruturas 8I-8IV .	111
Figura 26. Propostas de diferentes esqueletos carbônicos alternativos (H-K) para 8 .	112
Figura 27. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e <i>g</i> NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para 9 .	118
Figura 28. Estrutura de alguns alcalóides.	121

Figura 29. Principais confôrmeros de 10 .	124
Figura 30. Configuração relativa de 12 .	127
Figura 31. Principais correlações observadas pelo experimento <i>g</i> HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para 13 .	128
Figura 32. Cromatograma de IMA-A-I-6: isolamento de 3 e 4 (Fenil, MeOH/H ₂ O 9:1, 20 mL/min, 254 nm).	164
Figura 33. Espectro de RMN de ^1H de FA(1996) (DMSO- <i>d</i> ₆ /CDCl ₃ 3:1, 11,7 T).	165
Figura 34. Espectro de RMN de ^1H de CE(2004) (DMSO- <i>d</i> ₆ , 11,7 T).	166
Figura 35. Espectro de RMN de ^1H de 1 com ampliação (CD ₃ OD, 11,7 T).	167
Figura 36. Espectro de RMN de ^1H de 2 com ampliação (CD ₃ OD, 11,7 T).	168
Figura 37. Espectro de RMN de ^1H de 3 com ampliação (CD ₃ CN, 11,7 T).	169
Figura 38. Espectro <i>g</i> COSY ^1H - ^1H de 2 com ampliação (CD ₃ OD, 11,7 T).	170
Figura 39. Espectro de RMN de ^1H de 2 com ampliação (CD ₃ CN, 11,7 T).	171
Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C de 2 com ampliação (CD ₃ OD, 11,7 T).	172
Figura 41. Espectro de massas de alta resolução de 2 (ESI, "full scan", -25 V).	173
Figura 42. Espectro de massas de alta resolução de 3 (ESI, "full scan", +25 V).	173
Figura 43. Espectro de absorção na região do IV de 2 (KBr).	174
Figura 44. Espectro de absorção na região do UV de 2 (c. 0,018, MeOH).	174
Figura 45. Espectros <i>g</i> NOESY 1D de 2 irradiando em δ 6,55 e 3,90 (CD ₃ OD, 11,7 T).	175
Figura 46. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 2 (CD ₃ OD, 11,7 T).	176
Figura 47. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 2 (CD ₃ OD, 11,7 T).	178
Figura 48. Espectro de massas-massas de 2 a partir dos íons de <i>m/z</i> 567,09 (ESI, "full scan" EM1:+25 V, EM2: +50 V).	180
Figura 49. Espectros <i>g</i> NOESY 1D de 3 irradiando em δ 3,77 (OCH ₃ -5) e 3,88 (OCH ₃ -3") (DMSO- <i>d</i> ₆ , 11,7 T).	181
Figura 50. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 3 (CD ₃ CN, 11,7 T).	182
Figura 51. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 3 (CD ₃ CN, 11,7 T).	184
Figura 52. Espectro de massas de baixa resolução de 3 (ESI, "full scan", -50 V).	186
Figura 53. Espectro de massas de alta resolução de 3a (ESI, "full scan", +25 V).	186
Figura 54. Espectro de RMN de ^1H de 3a (CDCl ₃ , 11,7 T).	187
Figura 55. Espectro <i>g</i> COSY ^1H - ^1H de 3a com ampliação (CDCl ₃ , 11,7 T).	189
Figura 56. Espectro <i>g</i> NOESY 2D de 3a com ampliação (CDCl ₃ , 11,7 T).	190
Figura 57. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 3a (CDCl ₃ , 11,7 T).	191
Figura 58. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 3a (CDCl ₃ , 11,7 T).	193
Figura 59. Espectro de RMN de ^1H de 4 com ampliação (CD ₃ CN, 11,7 T).	195
Figura 60. Espectro <i>g</i> COSY ^1H - ^1H de 4 com ampliação (CD ₃ CN, 11,7 T).	196
Figura 61. Espectro de RMN de ^{13}C de 4 (CD ₃ CN, 11,7 T).	197
Figura 62. Espectros DEPT 135° e 90° de 4 (CD ₃ CN, 11,7 T).	199
Figura 63. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 4 (CD ₃ CN, 11,7 T).	200
Figura 64. Espectros <i>g</i> NOESY 1D de 4 irradiando em δ 3,29, 4,03 e 3,86 (CD ₃ CN, 11,7 T).	202
Figura 65. Espectro <i>g</i> NOESY 2D de 4 (CD ₃ CN, 11,7 T).	203
Figura 66. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 4 (CD ₃ CN, 11,7 T).	205
Figura 67. Espectro de absorção na região do IV de 4 (KBr).	207
Figura 68. Espectro de absorção na região do UV de 4 (c. 0,010, MeOH).	207
Figura 69. Espectro de massas de alta resolução de 4 (ESI, "full scan", -25 V).	208

Figura 70. Espectro de massas-massas de alta resolução de 4 a partir dos íons de m/z 595,13 (ESI, "full scan", EM1: -25 V, EM2: -50 V).	208
Figura 71. Espectro de RMN de ^1H de 4a com ampliação $((\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).	209
Figura 72. Espectro de RMN de ^1H de 4b (CDCl_3 , 11,7 T).	210
Figura 73. Espectro de massas de alta resolução de 4a (ESI, "full scan", +25 V).	212
Figura 74. Espectro de massas de alta resolução de 4b (ESI, "full scan", +25 V).	212
Figura 75. Espectro $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de 4a com ampliação $((\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).	213
Figura 76. Espectro $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de 4b com ampliação (CDCl_3 , 11,7 T).	214
Figura 77. Espectro $g\text{NOESY } 2\text{D}$ de 4a com ampliação $((\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).	215
Figura 78. Espectro $g\text{NOESY } 2\text{D}$ de 4b com ampliação (CDCl_3 , 11,7 T).	216
Figura 79. Mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 4a $((\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).	217
Figura 80. Mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 4b (CDCl_3 , 11,7 T).	219
Figura 81. Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 4a $((\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).	221
Figura 82. Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 4b (CDCl_3 , 11,7 T).	223
Figura 83. Espectro de RMN de ^1H de 5 (CD_3CN , 11,7 T).	225
Figura 84. Espectro de RMN de ^{13}C de 5 (CD_3CN , 11,7 T).	227
Figura 85. Espectro $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de 5 com ampliação (CD_3CN , 11,7 T).	229
Figura 86. Espectros DEPT 135° e 90° de 5 (CD_3CN , 11,7 T).	230
Figura 87. Espectro de massas de alta resolução de 5 (ESI, "full scan", -25 V).	231
Figura 88. Espectro de massas-massas de alta resolução de 5 a partir de íons de m/z 595 (ESI, "full scan", EM1: -25 V, EM2: -50 V).	231
Figura 89. Mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 5 (CD_3CN , 11,7 T).	232
Figura 90. Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 5 (CD_3CN , 11,7 T).	234
Figura 91. Espectros $g\text{NOESY } 1\text{D}$ de 5 irradiando em δ 7,54, 6,60, 6,63 e 6,78 (CD_3CN , 11,7 T).	238
Figura 92. Espectros de massas de baixa resolução de 5 [ESI, "full scan", +35 V (a), +30 V (b)].	239
Figura 93. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de 4 (c. 0,035, c.o. 10, MeOH).	239
Figura 94. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de 4a (c. 0,300, c.o. 5, MeOH).	239
Figura 95. Curvas de DC de 4 (c. 0,035, c.o. 10), 4a (c. 0,300, c.o. 5) e 4b (c. 0,200, c.o. 5) em MeOH.	240
Figura 96. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de 2 (c. 0,040, c.o. 10, MeOH).	240
Figura 97. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de 5 (c. 0,200, c.o. 10, MeOH).	241
Figura 98. Curvas de DC de 2 (c. 0,040, c.o. 10) e 3a (c. 0,300, c.o. 5) em MeOH.	241
Figura 99. Espectro de RMN de ^1H de 6 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	242
Figura 100. Espectro $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de 6 com ampliação ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	243
Figura 101. Espectro de RMN de ^{13}C de 6 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	244
Figura 102. Espectros DEPT 135° e 90° de 6 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	244
Figura 103. Espectro $g\text{NOESY } 2\text{D}$ de 6 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	245
Figura 104. Espectro $g\text{TOCSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de 6 com ampliação ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	247
Figura 105. Mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 6 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	248
Figura 106. Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 6 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	251

Figura 107. Espectro de RMN de ^{13}C de 7 (D_2O , 11,7 T).	254
Figura 108. Espectros DEPT 135° e 90° de 7 (D_2O , 11,7 T).	256
Figura 109. Espectro de RMN de ^1H de 7 (D_2O , 11,7 T).	257
Figura 110. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de 7 (D_2O , 11,7 T).	259
Figura 111. Espectro de massas de baixa resolução de 7 (ESI, "full scan", +30 V).	261
Figura 112. Mapa de contornos gHMQC de 7 (D_2O , 11,7 T).	261
Figura 113. Mapa de contornos gHMBC de 7 (D_2O , 11,7 T).	263
Figura 114. Espectro gNOESY 2D de 7 (D_2O , 11,7 T).	266
Figura 115. Espectro de RMN de ^1H de 7a (CDCl_3 , 11,7 T).	268
Figura 116. Espectro de RMN de ^1H de 7b (CDCl_3 , 11,7 T).	270
Figura 117. Espectro de RMN de ^{13}C de 7a (CDCl_3 , 11,7 T).	272
Figura 118. Espectro de RMN de ^{13}C de 7b (CDCl_3 , 11,7 T).	272
Figura 119. Espectros DEPT 135° e 90° de 7b (CDCl_3 , 11,7 T).	273
Figura 120. Espectro gNOESY 1D de 7b irradiando em δ 3,70 (CDCl_3 , 11,7 T).	274
Figura 121. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de 7a com ampliação (CDCl_3 , 11,7 T).	274
Figura 122. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de 7b (CDCl_3 , 11,7 T).	276
Figura 123. Espectro gNOESY 2D de 7a (CDCl_3 , 11,7 T).	278
Figura 124. Mapa de contornos gHMQC de 7a (CDCl_3 , 11,7 T).	280
Figura 125. Mapa de contornos gHMQC de 7b (CDCl_3 , 11,7 T).	282
Figura 126. Mapa de contornos gHMBC de 7a (CDCl_3 , 11,7 T).	284
Figura 127. Mapa de contornos gHMBC de 7b (CDCl_3 , 11,7 T).	287
Figura 128. Espectro de RMN de ^{13}C de 8 (CDCl_3 , 11,7 T).	289
Figura 129. Espectros DEPT 135° e 90° de 8 (CDCl_3 , 11,7 T).	291
Figura 130. Espectro de RMN de ^1H de 8 (CDCl_3 , 11,7 T).	292
Figura 131. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de 8 (CDCl_3 , 11,7 T).	294
Figura 132. Mapa de contornos gHMQC de 8 (CDCl_3 , 11,7 T).	296
Figura 133. Mapa de contornos gHMBC de 8 (CDCl_3 , 11,7 T).	299
Figura 134. Espectro gNOESY 2D de 8 (CDCl_3 , 11,7 T).	302
Figura 135. Espectro de massas de alta resolução de 8 (ESI, "full scan", -25 V).	305
Figura 136. Espectro de massas de baixa resolução de 8 (ESI, "full scan", +30 V).	305
Figura 137. Espectro de RMN de ^1H de 8a (CDCl_3 , 11,7 T).	306
Figura 138. Espectro de RMN de ^{13}C de 8a (CDCl_3 , 11,7 T).	308
Figura 139. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de 8a (CDCl_3 , 11,7 T).	310
Figura 140. Espectro gNOESY 2D de 8a com ampliação (CDCl_3 , 11,7 T).	312
Figura 141. Mapa de contornos gHMQC de 8a (CDCl_3 , 11,7 T).	314
Figura 142. Mapa de contornos gHMBC de 8a (CDCl_3 , 11,7 T).	317
Figura 143. Espectro de RMN de ^{13}C de 9 (CDCl_3 , 11,7 T).	320
Figura 144. Espectro de RMN de ^1H de 9 (CDCl_3 , 11,7 T).	322
Figura 145. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de 9 (CDCl_3 , 11,7 T).	324
Figura 146. Espectro de massas de baixa resolução de 9 (ESI, full scan", +25 V).	324
Figura 147. Espectro de RMN de ^1H de 9 ($\text{CDCl}_3+\text{D}_2\text{O}$, 11,7 T).	325
Figura 148. Mapa de contornos gHMQC de 9 (CDCl_3 , 11,7 T).	328
Figura 149. Mapa de contornos gHMBC de 9 (CDCl_3 , 11,7 T).	330
Figura 150. Espectros gNOESY 1D de 9 irradiando em δ 6,91, 6,09, 3,85 e 2,75 (CDCl_3 , 11,7 T).	333

Figura 151. Espectro de RMN de ^1H de 9a (CDCl_3 , 11,7 T).....	334
Figura 152. Espectro de RMN de ^{13}C de 9a (CDCl_3 , 11,7 T).	336
Figura 153. Espectro de RMN de ^1H de 10 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	337
Figura 154. Espectro de RMN de ^1H de 11 (D_2O , 11,7 T).....	338
Figura 155. Espectro de RMN de ^{13}C de 10 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).....	340
Figura 156. Espectro de RMN de ^{13}C de 11 (D_2O , 7,0 T).	340
Figura 157. Espectros DEPT 135° e 90° de 10 ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).	341
Figura 158. Espectro de absorção na região do IV de 10 (KBr).....	341
Figura 159. Espectro gNOESY 2D de 11 com ampliação (D_2O , 11,7 T).	342
Figura 160. Espectros DEPT 135° e 90° de 11 (D_2O , 11,7 T).....	344
Figura 161. Espectro de RMN de ^{31}P de 11 (D_2O , 11,7 T).....	344
Figura 162. Espectro de RMN de ^{13}C de 12 (D_2O , 4,7 T).	345
Figura 163. Espectro de RMN de ^1H de 12 (D_2O , 11,7 T).....	346
Figura 164. Espectro de RMN de ^{13}C de 13 (D_2O , 11,7 T).	348
Figura 165. Espectros DEPT 135° e 90° de 13 (D_2O , 11,7 T).....	348
Figura 166. Espectro de RMN de ^1H de 13 (D_2O , 11,7 T).....	349
Figura 167. Espectros gTOCSY 1D de 13 irradiando em δ 4,44 e 1,25 (D_2O , 11,7 T).	350
Figura 168. Espectros HOMODEC de 13 irradiando em δ 4,44 (a), 3,94 (b), 3,88 (c), 3,46 (d), 3,35 (e) e 1,25 (f) (D_2O , 11,7 T).	351
Figura 169. Mapa de contornos gHMQC de 13 (D_2O , 11,7 T).	352
Figura 170. Mapa de contornos gHMBC de 13 (D_2O , 11,7 T).....	354
Figura 171. Espectro de massas de alta resolução de 14 (ESI, "full scan", -25 V).	356
Figura 172. Espectro de RMN de ^1H de CEI-3-N-3 (D_2O , 11,7 T).....	356
Figura 173. Mapa de contornos gHMQC de CEI-3-N-3 (D_2O , 11,7 T).	357
Figura 174. Mapa de contornos gHMBC de CEI-3-N-3 (D_2O , 11,7 T).	359
Figura 175. Espectro de absorção na região do UV de 3a (c. 0,024, MeOH).	361
Figura 176. Espectro de absorção na região do IV de 3a (KBr).	361
Figura 177. Espectro de absorção na região do UV de 4a (c. 0,028, MeOH).	362
Figura 178. Espectro de absorção na região do IV de 4a (KBr).	362
Figura 179. Espectro de absorção na região do UV de 4b (c. 0,026, MeOH).	363
Figura 180. Espectro de absorção na região do IV de 4b (KBr).	363
Figura 181. Espectro de absorção na região do UV de 5 (c. 0,017, MeOH).	364
Figura 182. Espectro de absorção na região do IV de 5 (KBr).	364
Figura 183. Espectro de absorção na região do UV de 7 (c. 0,25, MeOH).	365
Figura 184. Espectro de absorção na região do IV de 7 (KBr).	365
Figura 185. Espectro de absorção na região do UV de 7a (c. 0,24, MeOH).	366
Figura 186. Espectro de absorção na região do IV de 7a (KBr).	366
Figura 187. Espectro de absorção na região do UV de 7b (c. 0,24, MeOH).	367
Figura 188. Espectro de absorção na região do IV de 7b (KBr).	367
Figura 189. Espectro de absorção na região do UV de 8 (c. 0,24, MeOH).	368
Figura 190. Espectro de absorção na região do IV de 8 (KBr).	368
Figura 191. Espectro de absorção na região do UV de 8a (c. 0,17, MeOH).	369
Figura 192. Espectro de absorção na região do IV de 8a (KBr).	369

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Proposta de acoplamento oxidativo entre moléculas de 2- <i>terc</i> -butil-4-metilfenol (XII) via cetona de Pummerer ^{65, 66}	42
Esquema 2. Proposta biogenética para a formação de alguns flavonoides	44
Esquema 3. Proposta biogenética para a biossíntese da amentoflavona (XXI)	51
Esquema 4. Proposta biogenética para a biossíntese do biflavonóide XIX isolado de <i>D. zenkeri</i> (Rosales: Moraceae) ⁸⁰	52
Esquema 5. Preparo dos extratos de <i>A. ridicula</i> (coletas de 1996 e 2004)	58
Esquema 6. Fracionamento de FA (1996)	60
Esquema 7. Fracionamento do extrato acetônico de folhas (FA, 2004)	61
Esquema 8. Fracionamento de FA-A	62
Esquema 9. Fracionamento de CE (2004)	64
Esquema 10. Fracionamento de CEI-2-A	65
Esquema 11. Fracionamento de CEI-2-B	66
Esquema 12. Fracionamento de CEI-2-C	66
Esquema 13. Fracionamento de CEI-2-D	67
Esquema 14. Fracionamento de CEI-2-F	67
Esquema 15. Fracionamento de CEI-2-G	67
Esquema 16. Fracionamento de CEI-3	68
Esquema 17. Proposta de fragmentação de 2	82
Esquema 18. Proposta de fragmentação de 3	83
Esquema 19. Proposta de fragmentação para 4	90
Esquema 20. Proposta de fragmentação de 5	97
Esquema 21. Proposta biogenética para alguns flavonóides isolados de <i>A. ridicula</i>	101
Esquema 22. Proposta de fragmentação de 8	114
Esquema 23. Proposta de fragmentação de 9	119
Esquema 24. Proposta biogenética para o alcalóide cissampareina (8) ¹³⁰	122
Esquema 25. Proposta de hidrólise de 11	125
Esquema 26. Proposta de via metabólica do propionato em <i>P. putida</i> para a formação de 15 e 16 ¹³⁵	130
Esquema 27. Proposta de via metabólica do 2-butinodionato em <i>P. putida</i> para formação de 16 e 17 ¹³⁵	131
Esquema 28. Proposta para as transformações químicas do ácido 2-butinodióico (14) em 15-17	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados dos extratos de <i>A. ridicula</i>	58
Tabela 2. Dados de RMN de ^{13}C de 2 , 3 e 3a (δ)	85
Tabela 3. Dados de RMN de ^1H de 2 , 3 e 3a (δ , <i>J</i> em Hz).....	86
Tabela 4. Dados de RMN de ^{13}C de 4 , 4a e 4b (δ)	92
Tabela 5. Dados de RMN de ^1H de 4 , 4a e 4b (δ , <i>J</i> em Hz) ^a	93
Tabela 6. Dados de RMN de ^{13}C de 5 (δ) ^{a, b}	98
Tabela 7. Dados de RMN de ^1H de 5 (δ , <i>J</i> em Hz) ^{a, b}	99
Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C e de ^1H de 6 e da coclaurina 111	104
Tabela 9. Dados de RMN de ^{13}C de 7 , 7a , 7b e da <i>N</i> -steponina 116 (δ)	109
Tabela 10. Dados de RMN de ^1H de 7 , 7a e 7b (δ , <i>J</i> em Hz) ^a	110
Tabela 11. Dados de RMN de ^{13}C de 8 , 8a e de metilwarifteina 122 (δ).....	116
Tabela 12. Dados de RMN de ^1H de 8 , 8a e de metilwarifteina 122 (δ , <i>J</i> em Hz) ^a	117
Tabela 13. Dados de RMN de ^{13}C de 9 , 9a e de <i>N-trans</i> -feruloiltiramina 127 (δ)	120
Tabela 14. Dados de RMN de ^1H de 9 , 9a e de <i>N-trans</i> -feruloiltiramina 128 (δ , <i>J</i> em Hz) ...	120
Tabela 15. Dados de RMN de ^{13}C de 10 , 2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona 131 , 11 e 2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona 40 (δ)	125
Tabela 16. Dados de RMN de ^1H de 10 , 2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona 131 , 11 e 2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona 40 (δ , <i>J</i> em Hz) ^a	126
Tabela 17. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de 12 e do <i>proto</i> -quercitol (δ , <i>J</i> em Hz) ^a	127
Tabela 18. Dados de RMN de ^{13}C e de ^1H de 13 e da etil- β -D-glucopiranosídeo 134 (δ , <i>J</i> em Hz) ^a	129
Tabela 19. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica do extrato acetônico de folhas de <i>A. ridicula</i>	133
Tabela 20. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica do extrato acetônico de caules de <i>A. ridicula</i>	134
Tabela 21. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica da biflavona II	134
Tabela 22. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica da biflavona III	135
Tabela 23. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica da biflavona IV	135
Tabela 24. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica da chalcona-flavona V	136
Tabela 25. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica da chalcona-flavona 4	136
Tabela 26. Viabilidades pupais e massa média de pupa de <i>A. gemmatalis</i> submetida à aplicação tópica do tetraflavonóide IX	137
Tabela 27. Susceptibilidade de <i>P. falciparum</i> aos extratos de <i>A. ridicula</i>	138
Tabela 28. Susceptibilidade de <i>P. falciparum</i> aos poliflavonóides II-IV , IX e 4	139
Tabela 29. Susceptibilidade de <i>M. tuberculosis</i> aos extratos de <i>A. ridicula</i>	139

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
AA	Ácido aristolóquico
ACN	Acetonitrila
APT	Attached Proton Test
Ar	Arila
<i>B.</i>	<i>Bartramia</i>
BBIQ	Bisbenzilisoquinolínico
BIQ	Benzilisoquinolínico
B.O.D.	Biochemical Oxygen Demand
BTIQ	Benziltetraisoquinolínico
<i>c.</i>	Concentração (massa/volume)
<i>C.</i>	<i>Cissampelos</i>
CC	Cromatografia em Coluna
CCCAE	Cromatografia de Contra Corrente de Alta Eficiência
CCDC	Cromatografia em Camada Delgada Comparativa
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
<i>c.o.</i>	Caminho óptico
Conc.	Concentração (massa/inseto)
<i>c. s.</i>	Espécie a ser confirmada
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMP	Cromatografia de Média Pressão
CV	Coeficiente de Variância
<i>d</i>	Dubleto
DC	Dicroísmo Circular
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dubleto
<i>dddd</i>	Duplo duplo duplo dubleto
<i>ddl</i>	Duplo dubleto largo
<i>dl</i>	Dubleto largo
<i>dq</i>	Duplo quadrupeto
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMS	Diferença mínima significativa
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
<i>dt</i>	Duplo tripleto
EM	Espectrometria de Massas
EMAR	Espectrometria de Massas de Alta Resolução
ESI	Electrospray ionization
COSY	Correlated Spectroscopy
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
HOMODEC	Homonuclear decouple
IC ₅₀	Half maximal inhibitory concentration
IDH	Índice de deficiência de hidrogênios
int. rel.	Intensidade relativa

IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
<i>ml</i>	Multiplete largo
MABA	Microplate Alamar Blue Assay
nOe	Nuclear Overhauser Enhancement
OAc	Acetato
ODS	Octadecilsilano
P.A.	Padrão analítico
p.d.	Ponto de decomposição
p.f.	Ponto de fusão
PTFE	Politetrafluoretileno
PVDF	Polivinilideno
<i>q</i>	Quadruplete
RDA	<i>retro</i> Diels-Alder
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>s</i>	Singleto
<i>sl</i>	Singleto largo
spp	Espécies
<i>t</i>	Triplete
<i>td</i>	Triplo dublete
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
UV-Vis.	Ultravioleta-Visível
vp ₇₂	Viabilidade pupal aferida após 72 h da aplicação tópica
vp _t	Viabilidade pupal total aferida ao final do ciclo de desenvolvimento do inseto-modelo

LISTA DE SÍMBOLOS

E	Potencial elétrico
$\nu_{\max}^{KBr}$	Frequência de absorção máxima na região de infravermelho medida em KBr
δ	Deslocamento químico
Δ	Variação
$\lambda_{\max}^{MeOH}$	Comprimento de onda de absorção máxima medido em metanol
$[\alpha]_D$	Rotação Óptica
m/z	Relação massa/carga
t_R	Tempo de retenção
u	Unidade de massa atômica
$w_{1/2}$	Constante de acoplamento aparente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	31
1.1	Aristolochiaceae Juss. (1789)	31
1.1.1	Classificação botânica	31
1.1.2	Características gerais	31
1.1.3	Uso das plantas	33
1.1.4	Composição química de espécies de Aristolochiaceae	36
1.2	<i>Aristolochia ridicula</i> Brow.	38
1.2.1	Descrição e classificação botânica	38
1.2.2	Estudo fitoquímico de <i>Aristolochia ridicula</i>	39
1.3	Poliflavonóides	42
1.3.1	Ocorrência e distribuição	43
1.3.2	Funções biológicas	47
1.3.3	Atividades biológicas	48
1.3.4	Biogênese de poliflavonóides	50
2	OBJETIVOS	53
3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS GERAIS (especificação de materiais, instrumentos e reagentes utilizados)	54
4	EXPERIMENTAL	57
4.1	Material vegetal	57
4.1.1	Coleta e identificação taxonômica de <i>Aristolochia ridicula</i>	57
4.1.2	Preparo dos extratos de <i>Aristolochia ridicula</i>	57
4.2	Isolamento dos constituintes químicos de <i>Aristolochia ridicula</i>	58
4.2.1	Fracionamento do extrato acetônico de folhas (FA, 1996)	58
4.2.2	Fracionamento do extrato acetônico de folhas (FA, 2004)	60
4.2.3	Fracionamento do extrato etanólico de caules (CE, 2004)	62
4.3	Transformações químicas das substâncias isoladas de <i>Aristolochia ridicula</i>	68
4.3.1	Metilação com diazometano	68
4.3.2	Acetilação com anidrido acético	69
4.4	Metodologia para bioensaios	69
4.4.1	Metodologia para ensaios de avaliação atividade inseticidas com <i>Anticarsia gemmatilis</i>	69
4.4.2	Metodologia para ensaios de avaliação de atividade antiplasmódicos <i>in vitro</i> com <i>Plasmodium falciparum</i>	70
4.4.3	Metodologia para ensaios de avaliação de atividade antimicobacteriana <i>in vitro</i> com <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	71
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1	Substâncias isoladas	73
5.2	Considerações gerais sobre o isolamento e a determinação estrutural dos constituintes químicos de <i>A. ridicula</i>	77

5.3	Determinação estrutural de <u>1-5</u> e dos derivados <u>4a</u> e <u>4b</u>	79
5.3.1	Luteolina (1)	79
5.3.2	Ridiculuflavonas D (2), C (3) e E (3a)	79
5.3.3	Ridiculuflavonilchalconas B (4), D (4a) e E (4b)	87
5.3.4	Ridiculuflavonilchalcona C (5)	94
5.3.5	Atropoisomerismo de dímeros e tetrâmeros flavonoídicos de <i>Aristolochia ridicula</i>	99
5.3.6	Ocorrência de poliflavonóides em Aristolochiaceae	100
5.3.7	Biogênese de poliflavonóides em <i>Aristolochia ridicula</i>	100
5.4	Identificação estrutural dos alcalóides <u>6-8</u>, da alcalamida <u>9</u> e de seus derivados (<u>7a</u>, <u>7b</u>, <u>8a</u> e <u>9a</u>)	102
5.4.1	(±)-Coclaurina (6)	102
5.4.2	Cloreto de (-)- <i>N</i> -steponina (7) e derivados (7a e 7b)	105
5.4.3	Ocorrência de alcalóides protoberberínicos em Aristolochiaceae	108
5.4.4	Metilwarifteina (8) e dimetilwarifteina (8a)	111
5.4.5	Ocorrência de alcalóides benzilisoquinolínicos em Aristolochiaceae	115
5.4.6	<i>N-trans</i> -feruloiltiramina (9) e derivado (9a)	118
5.4.7	Ocorrência de alcalamidas em Aristolochiaceae	119
5.5	Considerações gerais sobre a biogênese dos alcalóides <u>6</u> a <u>8</u> e da alcalamida <u>9</u>	121
5.6	Identificação estrutural de <u>10</u> e <u>11</u>	123
5.6.1	(+)-2-Desoxi-D-ribono-1,4-lactona (10) e 2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona (11)	123
5.6.2	(+)- <i>proto</i> -Quercitol (12)	127
5.6.3	Etil-β-D-glucopiranosídeo (13)	128
5.6.4	Ácido 2-butinodióico (14), 3-hidroxipropanoato (15), acetato (16) e formiato (17)	129
5.7	Considerações sobre os bioensaios realizados com extratos e substâncias isoladas de <i>Aristolochia ridicula</i>	133
5.7.1	Avaliação da susceptibilidade do inseto <i>Anticarsia gemmatilis</i> a extratos e poliflavonóides isolados de <i>Aristolochia ridicula</i>	133
5.7.2	Avaliação da susceptibilidade do protozoário <i>Plasmodium falciparum</i> a extratos e poliflavonóides isolados de <i>Aristolochia. ridicula</i>	137
5.7.3	Avaliação da susceptibilidade da bactéria <i>Mycobacterium tuberculosis</i> aos extratos de <i>Aristolochia ridicula</i>	139
6	<u>CONSIDERAÇÕES FINAIS</u>	140
7	<u>DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E SEUS DERIVADOS</u>	143
7.1	Luteolina (1)	143
7.2	3'',4'',4''',5,5'',7''-Hexaidroxi-7-metoxi-3,6''-biflavona (ridiculuflavona D, 2)	143
7.3	4'',5'',7,7''-Tetraidroxi-3'',4',5-trimetoxi-3,6''-biflavona (ridiculuflavona C, 3)	143
7.4	3'',4'',4''',5,5'',7,7''-Heptametoxi-3,6''-biflavona (ridiculuflavona E, 3a)	143
7.5	4',5,5'',7''-Tetraidroxi-3',3'',4'''-trimetoxi-7-O-β:6-α-flavona-chalcona (ridiculuflavonilchalcona B, 4)	144
7.6	7''-Hidroxi-3',3'',4',4''',5,5''-hexametoxi-7-O-β:6-α-flavona-chalcona (ridiculuflavonilchalcona D, 4a)	144

7.7	3',3'',4',4'',5,5'',7''-Heptametoxi-7-O-β:6-α-flavona-chalcona (ridiculufavonilchalcona E, <u>4b</u>).....	144
7.8	(4',5,7''-Triidroxio-3',3'',4''-trimetoxio-7-O-β:6-α-flavona-chalcona)-5''-O-β-[(7''-hidroxio-3'',4''-dimetoxio)-5''-O-8-(4',5,7-triidroxio-3'-metoxio-flavona)]-chalcona (ridiculufavonilchalcona C, <u>5</u>).....	145
7.9	(±)-Coclaurina (<u>6</u>)	145
7.10	Cloreto de (-)-N-steponina (<u>7</u>)	145
7.11	Cloreto de (-)-N-metiltetraidropalmatina (<u>7a</u>)	145
7.12	Cloreto de (-)-2,9-diacil-N-steponina (<u>7b</u>)	146
7.13	(-)-Metilwarifteina (<u>8</u>).....	146
7.14	(-)-Dimetilwarifteina (<u>8a</u>).....	146
7.15	N-trans-Feruloiltiramina (<u>9</u>).....	146
7.16	N-trans-Metilferuloilmetiltiramina (<u>9a</u>)	146
7.17	(+)-2-Desoxio-D-ribono-1,4-lactona (<u>10</u>)	147
7.18	2-Desoxio-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona (<u>11</u>).....	147
7.19	(+)-proto-Quercitol (<u>12</u>).....	147
7.20	Etil-β-D-glucopiranosídeo (<u>13</u>).....	147
7.21	Ácido 2-butinodióico (<u>14</u>).....	147
7.22	3-Hidroxipropanoato (<u>15</u>)	147
7.23	Acetato (<u>16</u>)	147
7.24	Formiato (<u>17</u>)	148
	REFERÊNCIAS	149
	ANEXO	163

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aristolochiaceae Juss. (1789)

1.1.1 Classificação botânica

Segundo Takhtajan (1980) e Cronquist (1981), Aristolochiaceae Juss. constitui uma família de plantas superiores pertencente à divisão Magnoliophyta (Angiospermas), classe Magnoliopsida (Dicotiledônias), subclasse Magnoliidae (plantas primitivas), ordem Aristolochiales¹. A classificação filogenética do grupo das Angiospermas, quanto a ordem e a família, foi revisada em 1998 e atualizada em 2003, quando a família Aristolochiaceae foi inserida na ordem Piperales^{2, 3}. Essa ordem, juntamente com Canellales, Laurales e Magnoliales apresentam características genéticas próximas e formam o grupo das Magnoliídeas⁴.

Diversas propostas de classificações quanto ao número de subfamílias, tribos, subtribos e sobretudo gêneros vêm sendo propostas para Aristolochiaceae^{5, 6, 7}. Até meados do século XX, a maioria dos taxonomistas concordava que esta família compreendia cinco a sete gêneros: *Aristolochia*, *Asarum*, *Holostylis*, *Saruma* e *Thottea*, além de *Apama* e *Euglypha*. Após a década de 50, novas classificações para essa família ampliaram de sete para dezenove o número de gêneros. Além desses sete gêneros, os outros são denominados *Asiasarum*, *Asiphonia*, *Bragantia*, *Einomeia*, *Endodeca*, *Geotaenium*, *Heterotropa*, *Hexastylis*, *Howardia*, *Isotrema*, *Japonasarum* e *Pararistolochia*.

González (1997), baseando-se principalmente em caracteres florais (morfológicos e anatômicos), propõe que Aristolochiaceae congregue apenas quatro gêneros (*Aristolochia*, *Asarum*, *Saruma* e *Thottea*) e três subgêneros de *Aristolochia* (*Orthoaristolochia*, *Pararistolochia* e *Siphisia*)⁶.

A evolução destas propostas tem levado à diminuição no número de gêneros e ao aumento no número de subgêneros, e deve-se não somente ao aprimoramento da classificação morfológica, mas ao aprofundamento nos estudos citotaxonômicos, quimiotaxonômicos, genéticos e também de dispersão geográfica das espécies.

1.1.2 Características gerais

Aristolochiaceae é uma família de plantas constituída por aproximadamente 600 espécies, dispersas nas zonas temperadas e predominantemente nos trópicos^{5, 8}. Dentre os gêneros, *Aristolochia* reúne o maior número de espécies, estimado em 450, seguido por *Asarum*, com cerca de 100 espécies dispersas principalmente nas

zonas temperadas ⁸. No Brasil, ocorrem *Aristolochia*, estimando em 100 espécies distribuídas por todo o país ⁹, *Holostylis* e *Euglypha*, ambos monotípicos e encontrados apenas na região Centro-Oeste. A maioria das espécies de *Aristolochia* brasileiras ocorre na borda de matas. Contudo, há também espécies como *A. smilacina* Duch., *Holostylis reniformis* Duch. e *Euglypha rojasiana* Chod. & Hass. que são encontradas em regiões descampadas.

As *Aristolochia* spp. ocorrentes no Brasil são conhecidas popularmente como “cipó-milhomens”, “patinho”, “papo-de-peru”, “erva-de-urubu”, “angelicó” e “serpentária” ^{5, 8, 10, 11}. A polinização por moscas (sapromiofilia) é específica em espécies pertencentes aos gêneros *Aristolochia* e *Euglypha*. O nome “erva-de-urubu” relaciona-se ao odor desagradável presente nas flores, assemelhando-se à matéria animal em decomposição, sendo por isso atrativo para moscas ^{8, 10}. Este fato foi comprovado por Adler e Jacobson (1982), que ao submeterem insetos adultos de *Musca domestica* Linn. (Diptera: Muscidae) ao extrato etéreo de flores de *A. gigantea* Mart. & Zucc., com o intuito de avaliar o efeito repelente, observaram o efeito atrativo ¹².

De acordo com Hoehne (1942), as espécies de Aristolochiaceae são ervas decumbentes ou lianas, geralmente lenhosas, raramente arbustivas ^{8, 11}. Suas folhas são alternas, simples, com nervuras radiais, com ou sem *pseudo*-estípulas, prófilas de ramos auxiliares não desenvolvidos, geralmente palminérveas e com margens inteiras ^{8, 11}. O tamanho foliar pode variar de 1 a 40 cm de diâmetro (valor máximo observado na espécie *Holostylis reniformis*, nas demais o valor máximo é 30 cm) ¹¹. Essas espécies apresentam inflorescência cimosa ou racemosa, frequentemente reduzida a uma única flor. Suas flores são geralmente monoclamídeas, hermafroditas, zigomorfas (frequentemente em *Aristolochia*) ou actinomorfas, possuindo cavidades (bojos) que funcionam como armadilhas para seus polinizadores ^{8, 11}. Os frutos são capsulares e predominantemente compostos de seis partes que se abrem quando maduros, formando uma cesta pelo qual suas sementes são disseminadas ^{8, 11}. Essas espécies são plantas quase sempre de hábito volúvel e perene, mas podem desaparecer em determinadas épocas do ano em virtude de secas e incêndios, ressurgindo por brotamento do xilopódio, órgão vegetativo comum em espécies dessa família ¹¹.

1.1.3 Uso das plantas

O interesse pelos estudos fitoquímicos e biológicos de Aristolochiaceae é justificado pela utilização de suas espécies na medicina tradicional e homeopática . A análise de dados etnofarmacológicos evidencia uma vasta aplicação para as diferentes espécies, por exemplo: abortivas, antiasmáticas, antidiarréicas, antiinflamatórias, anti-reumáticas, antiofídicas, anti-sépticas, antitérmicas, antitussígenas, depurativas, diuréticas, emenagogas, estomáticas, expectorantes, febrífugas, sedativas, vulnerárias, além de serem utilizadas no tratamento de inflamações pulmonares e em terapias de emagrecimento ^{7, 13}.

No Brasil, várias espécies de *Aristolochia* são usadas na medicina popular e homeopática geralmente na forma de decoctos ou extratos etanólicos administrados via oral ¹⁴. Externamente, o decocto de raízes é empregado no tratamento de orquites e doenças de peles, enquanto o pó das mesmas é aplicado para auxiliar a cicatrização de ulcerações crônicas e lúpus .

Espécies pertencentes a Aristolochiaceae são fontes ricas em derivados fenantrênicos, os quais são geralmente substituídos por grupos lactâmicos, lactônicos, carboxílicos e nítricos . Dentre esses compostos, destacam-se os ácidos aristolóquicos (AAs), encontrados principalmente em espécies de *Aristolochia* e também no tecido corpóreo de larvas pertencentes à tribo Troidini, por exemplo, a lagarta *Battus polydamas* Linn. (Lepidoptera: Papilionidae) ^{7, 15}. As larvas desses insetos possuem tolerância aos ácidos aristolóquicos, os quais são tóxicos e/ou deterrentes para a maioria dos insetos ^{16, 17}. Segundo Urzúa e Priestap (1985), os AAs representam barreiras para a colonização de outras espécies de Lepidópteros polípagos . A Figura 1 (p. 33) apresenta lagartas de *B. polydamas* alimentando-se de *A. pubescens* Will., a qual é tóxica para a lagarta-da-soja [*Anticarsia gemmatalis* Hübn. (Lepidoptera: Noctuidae)] .



Figura 1. *Battus polydamas* sobre *A. pubescens*.

Neste contexto, a busca de inseticidas naturais a partir de espécies do gênero *Aristolochia* tem conduzido a promissoras rotas de descobertas de novos compostos que poderão ser utilizados na proteção de lavouras ^{13, 18}. Por exemplo, extratos etanólico e acetônico de tubérculos de *A. pubescens* e hexânico de raízes de *A. malmeana* Hoeh. apresentam atividade inseticida em *Anticarsia gemmatilis*, a principal praga desfolhante da lavoura de soja no Brasil ^{13, 15}. O extrato metanólico de diferentes partes de *A. baetica* Linn. reduz significativamente o crescimento larval em dois dias após o tratamento de *Tribolium castaneum* Herb. (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido como besouro-castanho, uma das principais pragas de estocagem de grãos. O extrato diclorometânico de partes aéreas de *A. argentina* Gris. apresenta atividade inseticida significativa em *Sitophilus oryzae* Linn. (Coleoptera: Curculionidae), uma praga comum nas lavouras de trigo, arroz e sorgo da América do Sul ¹⁹. O extrato diclorometânico de *A. triangularis* Cham. & Schl. evidencia atividade larvicida significativa em *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae), o principal vetor de transmissão de duas doenças tropicais: a febre amarela e a febre hemorrágica (dengue) ²⁰. O extrato de raízes de *A. albida* Duch. apresenta atividade antialimentar em cupim-da-madeira [*Reticulitermes speratus* Kolb. (Isoptera: Rhinotermitidae)] e antialimentar/inibitória do crescimento em lagarta-do-tabaco [*Spodoptera litura* Fabr. (Lepidoptera: Noctuidae)] ²¹. A partir do extrato metanólico de *A. indica*, isolaram-se oito diferentes ácidos aristolóquicos, além de uma aristolactama e uma aristolona, dos quais somente o AA (I) apresentou atividade inseticida em *S. litura* ²². Extratos de *A. bracteata* Retz. e *A. indica* Linn. mostram atividade larvicida em *Anopheles arabiensis* Patt. (Diptera: Culicidae), um dos vetores da malária.

A malária (impaludismo) é uma doença infecciosa febril aguda, cujo agente etiológico é um protozoário do gênero *Plasmodium* (*Plasmodium vivax* Gras. & Fele., *P. falciparum* Welc., *P. ovale* Step. e *P. malariae* Gras. & Fele.), a qual é transmitida para seres humanos por mosquitos hematófagos do gênero *Anopheles* (*Anopheles darlingi* Root., *A. aquasalis* Curr., *A. albitarsis* Lync.-Arri., *A. cruzi* Dyar. & Knab. e *A. bellator* Dyar. & Knab.) ^{23, 24}. A maioria dos casos severos de malária e mortes ocasionadas por essa doença no mundo é causada pelo *P. falciparum* ²⁴. De acordo com Snow e colaboradores (2005), a distribuição de casos de malária causados por *P. falciparum* no mundo foi estimada em 515 (de 300 a 660) milhões para o ano 2002 ²⁵. Esta estimativa global é 50% superior ao relatado pela Organização

Mundial de Saúde (OMS) e 200% superior para as áreas externas à África, em relação ao mesmo período . O continente africano é detentor de 70% dos casos clínicos registrados, seguido pelo sudeste asiático com 25% e pelas Américas Central e do Sul com 5%, . No Brasil, as espécies causadoras dessa doença são *P. vivax* e *P. falciparum* ²⁶. Os principais vetores de transmissão da malária são fêmeas dos mosquitos *Anopheles* , destacando-se o inseto *A. darlingi* ²³. Essa espécie apresenta elevada importância epidemiológica devido a sua abundância, ampla distribuição no território nacional (atingindo todo o interior do Brasil), alto grau de antropofilia e de endofagia, além de sua capacidade de transmitir diferentes espécies de *Plasmodium* . Tem como criadouros preferenciais: água limpa, quente, sombreada e de baixo fluxo, situação muito freqüente na região Amazônica . Aproximadamente 99,5% dos casos de malária no Brasil ocorrem na Amazônia Legal, que abrange os Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Mato Grosso e Maranhão .

O tratamento da malária é feito utilizando-se basicamente produtos naturais como a quinina e seus derivados (cloroquina, amodiaquina e mefloquina) durante os sintomas agudos dessa doença ^{26, 27}. A quinina é um alcalóide isolado de cascas de *Cinchona calisaya* Wedd. e *C. succirubra* Pav. ex Klot. (Rubiaceae), popularmente conhecidas no Brasil como “quinas” . Essa substância tem sido usada no tratamento dos sintomas da malária por mais de 350 anos, especialmente em casos de *P. falciparum* cloroquina-resistente . A maioria das drogas antimaláricas em uso atualmente foi desenvolvida até a década de 70 . Esse fato evidencia que pesquisas sobre a malária, assim como de muitas outras doenças tropicais, foram negligenciadas pelo setor privado ²⁷. Provavelmente, a resistência dos parasitas às drogas antimaláricas representa um dos maiores problemas para o controle dessa endemia.

Até o presente, o controle da malária depende da proteção individual contra a picada dos mosquitos infectantes com o uso de repelentes, cortinados impregnados com inseticidas, telas nas janelas e portas.

Diversos produtos naturais com diferentes tipos de estruturas químicas têm mostrado potencial atividade antimalárica ²⁸. Raízes de *A. albida* Duch. são tradicionalmente empregadas no tratamento da malária por comunidades africanas ²⁹. Extratos de raízes de *Holostylis reniformis* reduziram os níveis de parasitemia em

camundongos infectados com *P. berghey* Vinc. & Lips., bem como inibiram a atividade *in vitro* de *P. falciparum* ^{30, 31, 32}.

Outra doença responsável por um número elevado de óbitos no mundo é a tuberculose, uma infecção causada pelo microrganismo *Mycobacterium tuberculosis* Zopf. ³³. Estima-se que mais de um bilhão de pessoas morreram de tuberculose nos últimos dois séculos ³⁴. Segundo Lin e colaboradores (2001), um terço da população mundial está contaminada com o bacilo causador da tuberculose. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que até 2020, um bilhão de pessoas estará infectado, 200 milhões adoecerão e 35 milhões morrerão devido à tuberculose. O relato do uso de plantas do gênero *Aristolochia* no tratamento de doenças envolvendo o trato respiratório, principalmente por comunidades indígenas, motivou Oliveira e colaboradores (2007) a avaliarem a atividade antimicobacteriana do extrato hidroalcoólico de folhas, caules e raízes de *A. triangularis* ³⁵. Esse extrato foi capaz de reduzir o número de células de *M. tuberculosis* viáveis em duas ordens de grandeza após trinta minutos de contato, e torná-las ausentes após uma hora de contato.

1.1.4 Composição química de espécies de Aristolochiaceae

Aproximadamente 700 substâncias diferentes de diversas espécies de Aristolochiaceae foram descritas, sendo cerca de 40% terpenóides, 25% alcalóides/amidas, 15% derivados fenólicos e 10% lignóides, entre outras (ciclitóis e derivados policetídeos de cadeia alifática longa - ácidos, alcoóis e ésteres).

O padrão de distribuição e ocorrência desses metabólitos em espécies de Aristolochiaceae é bastante complexo. Embora alantoína, ácidos aristolóquicos e lignanas furofurânicas e butirolactônicas ocorram em muitas dessas espécies, suas composições químicas apresentam compostos distintos, que se enquadram em subclasses como:

- Alcalóides benzilberberínicos de *A. gigantea* ^{36, 37};
- Alcamidas de *A. gehrtii* Hoeh. ³⁸;
- Alcalóides dibenzoquinolizidínicos e tetraidroisoquinolínicos de *A. arcuata* Mast. ^{39, 40};
- Bicubebinas de *A. lagesiana* Ule. var. *intermedia* Hoeh. e *A. pubescens* ⁴¹;
- Biflavonóides de *A. ridicula* ^{42, 43} e *A. contorta* ^{44, 45};

- Diterpenos caurânicos de *A. elegans* Mast. e *A. pubescens* ⁴⁶;
- Diterpenos clerodânicos de *A. brasiliensis* Mart. et Zucc., *A. esperanzae* Kunt. e *A. chamissonis* Duch. ^{47, 48};
- Lignanas ariltetralônicas de *A. chilensis* Brid. ex Lind., *A. contorta* Bung. e *H. reniformis* ^{7, 49, 50};
- Neolignanas benzofurânicas e diterpeno esterificado por ácidos aristolóquicos de *A. pubescens* ^{51, 52, 53};
- Neolignana ciclobutânica e neossesquilignanas de *Heterotropa takaoi* Maek. ⁵⁴;
- Neossesquilignanas de *Aristolochia* spp., *Heterotropa* spp. e *Asarum* spp. ^{7, 54, 55};
- seco-Lignanas de *Holostylis reniformis* ;
- Tetraflavonóides de *A. ridicula* ^{42, 43}.

Todas estas subclasses com compostos específicos (marcadores) poderiam auxiliar na diferenciação entre as espécies de Aristolochiaceae .

Francisco e colaboradores (2008) analisaram o perfil químico dos óleos essenciais obtidos a partir de raízes de dez diferentes espécies de *Aristolochia* empregadas na medicina popular . A análise desses dados por métodos cromatográficos e quimiométricos permitiu classificar essas espécies em função de sua composição química em quatro grupos morfológicos diferentes, aprimorando a proposta morfológica apresentada por Hoehne em 1942 ^{9, 11}. Deste modo, a composição química de uma espécie pode auxiliar na identificação taxonômica de *Aristolochia* spp., visto que há freqüentes divergências taxonômicas devido à utilização de diversos marcadores morfológicos, os quais não são definidos por um único critério taxonômico evolutivo ⁵⁶.

A similaridade morfológica entre espécies do mesmo gênero ou até mesmo de famílias distintas é algo comum, o que resulta em sérios equívocos, principalmente quando se faz uso de fitoterápicos ⁵⁷. A erva "fangji" utilizada na medicina tradicional chinesa é obtida a partir de raízes de qualquer uma das seguintes espécies: *A. fangchi* Chow & Hwan., *Stephania tetrandra* Radi., *Cocculus trilobus* Thun. ou *C. orbiculatus* Linn., sendo as três últimas pertencentes à família Menispermaceae . É válido ressaltar a existência de similaridade química entre essas famílias em relação a aristolactamas, dioxoaporfina e ácidos aristolóquicos ^{58, 59}. Entretanto, existe apenas uma ocorrência do ácido aristolóquico (I), marcador químico de *Aristolochia* spp., em cascas de *C. trilobus* ^{58, 59}.

1.2 *Aristolochia ridicula* Brow.

Dentre as centenas de espécies pertencentes à família Aristolochiaceae, destaca-se neste trabalho *Aristolochia ridicula*, conhecida popularmente por “jarrinha” e “erva-de-urubu”^{10, 11}.

1.2.1 Descrição e classificação botânica

A espécie *A. ridicula* apresenta caules hirsutos de hábito volúvel, com folhas alternas, as quais também possuem tricomas (Figura 2, p. 38). Suas flores apresentam em média 3 cm de comprimento por 2 cm de largura e são amarelo-avermelhadas, exalam odores desagradáveis semelhantes à de matéria orgânica em decomposição. Sua forma lembra um jarro de boca larga, o qual funciona como atrativo para moscas, o principal agente de polinização (Figura 3, p. 39)^{10, 60}. O polinizador é coberto por pólen ao entrar na “flor-armadilha” e ao sair pode levá-lo à outro espécime, efetuando a polinização cruzada.

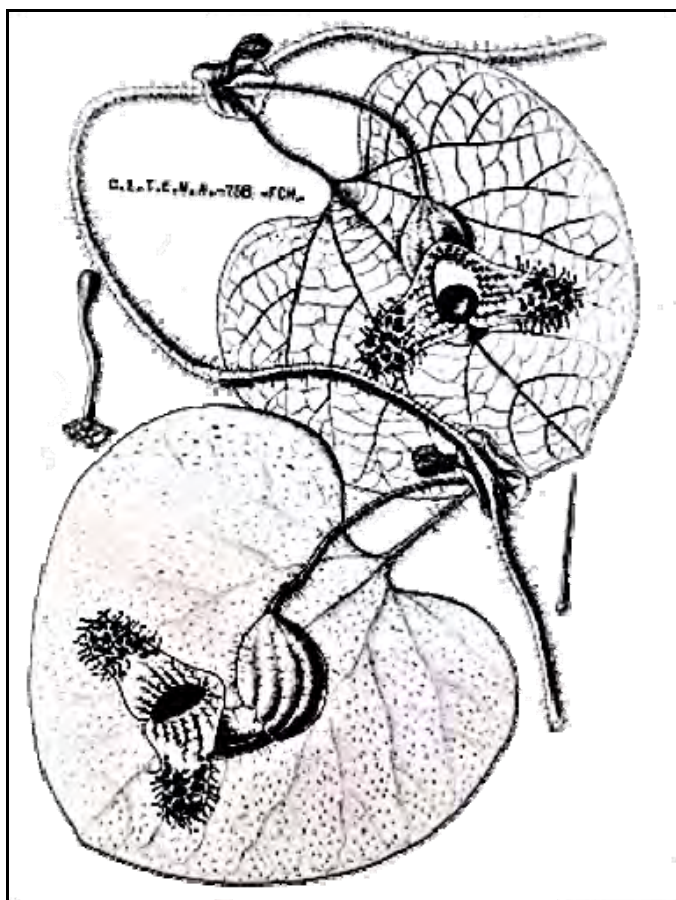


Figura 2. Reprodução ilustrativa para uma exsicata de *A. ridicula*¹¹.

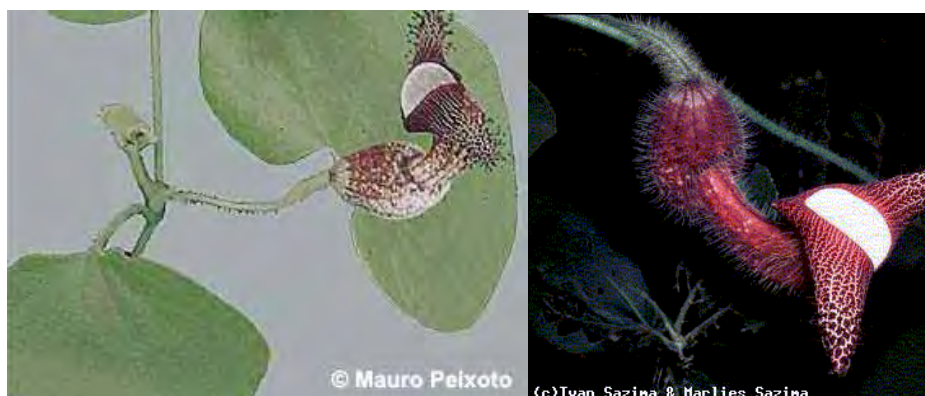


Figura 3. Detalhes de flores de *A. ridicula* ^{10, 60}.

1.2.2 Estudo fitoquímico de *Aristolochia ridicula*

Os estudos fitoquímicos realizados anteriormente com os extratos acetônicos de caules e de folhas dessa espécie levaram ao isolamento e a elucidação estrutural de dímeros e tetrâmeros flavonoídicos com esqueletos carbônicos muito raros, além de um ciclitol. Dentre os flavonóides estão quatro biflavonas (**I-IV**), quatro dímeros de chalcona-flavona (**V a VIII**) e dois tetraflavonóides (**IX e X**), além do um ciclitol identificado como sendo o *proto-quercitol* (**XI**) (Figura 4) ^{42, 43}.

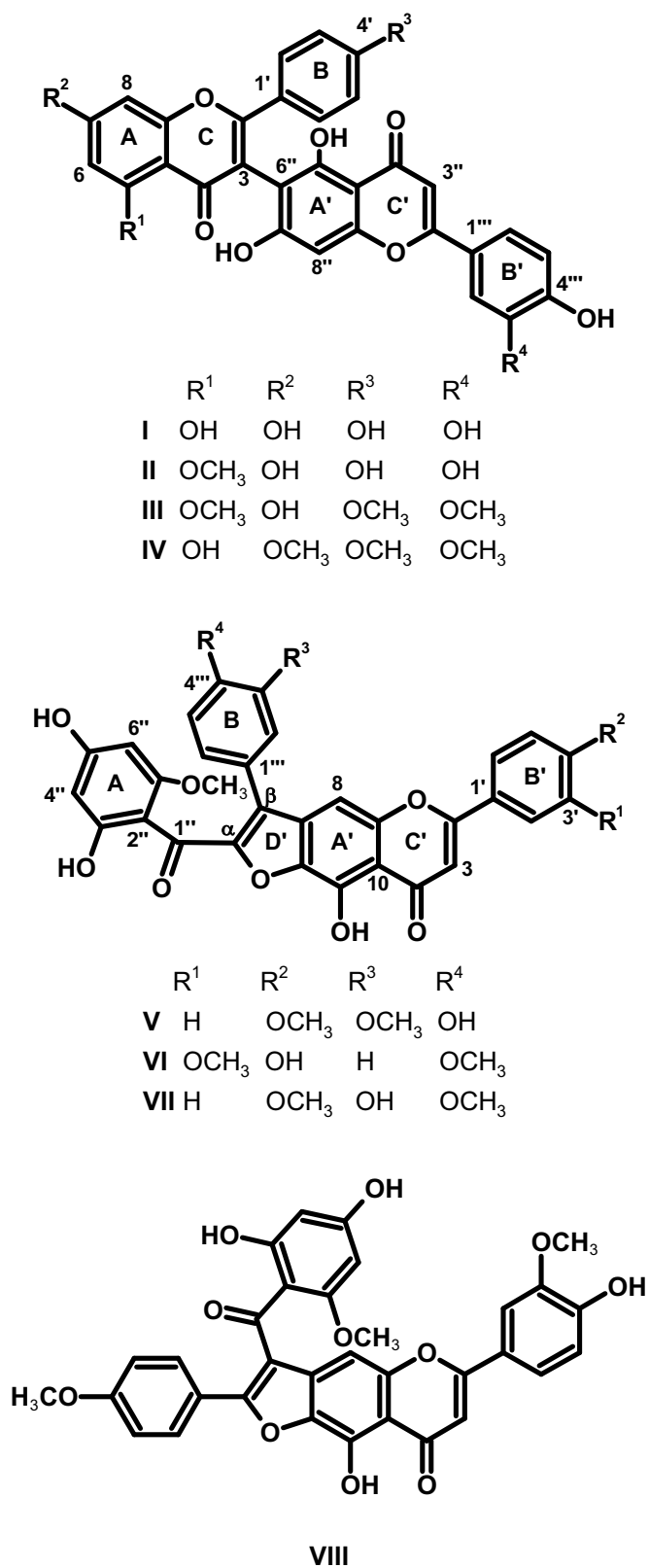
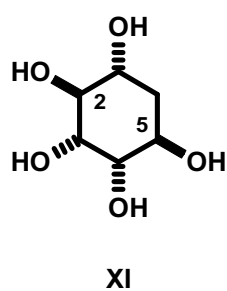
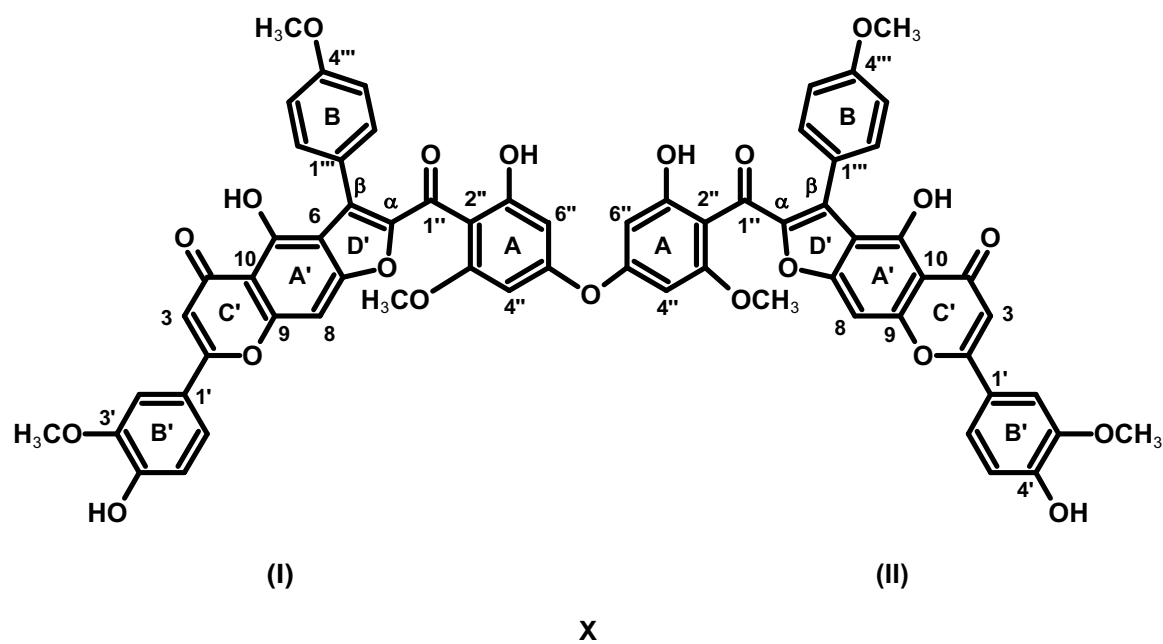
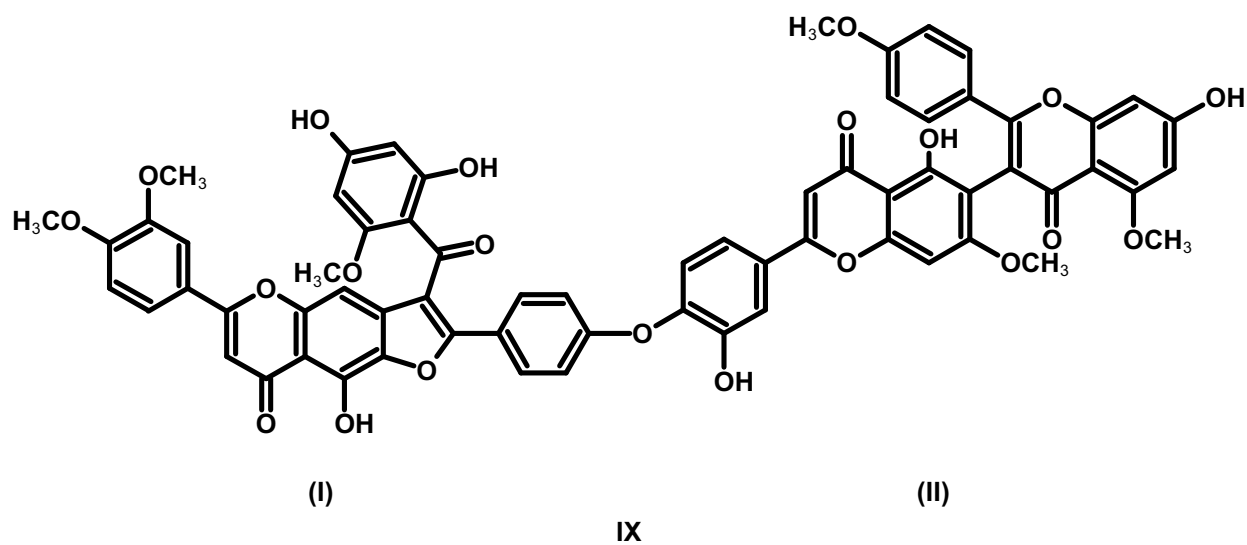


Figura 4. Estruturas moleculares dos compostos isolados previamente de *A. ridicula*^{42, 43}.



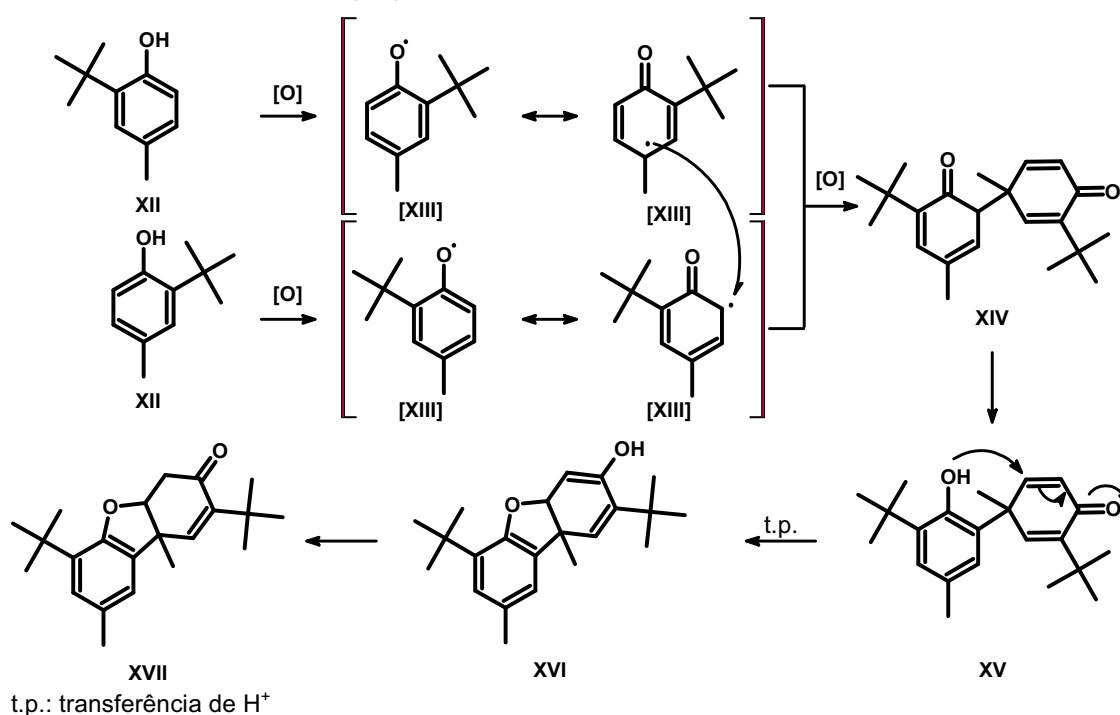
Continuação da Figura 4.

1.3 Poliflavonóides

Durante as décadas de 70 a 90, Harborne e colaboradores publicaram revisões sobre flavonóides na natureza, contemplando sua importância, ocorrência e distribuição ^{61, 62, 63}. No período entre 1993 e 2004, Andersen, Markham e colaboradores deram continuidade a este importante trabalho de revisão sobre flavonóides ⁶⁴.

Os primeiros poliflavonóides conhecidos eram constituídos por apenas duas unidades flavonoídicas, os quais foram separados em dois grupos por Geiger (1993) ⁶⁵. O primeiro grupo seria formado por dímeros de flavanas (catequinas e epicatequinas) e flavanóis, formadores das proantocianidinas. O segundo grupo seria formado por dímeros exclusivamente de flavonas, isoflavonas, auronas, diidroflavonóis, flavanonas, chalconas ou diidrochalconas, sendo esse grupo denominado de biflavonóides. Em 1992, os primeiros trímeros de flavonas (triflavonóides) foram isolados. Segundo Geiger (1993), as ligações interflavonoídicas desses flavonóides devem ocorrer por um mecanismo similar à proposta de Barton e colaboradores (1956) para a formação do ácido úsnico, bem como para as cetonas de Pummerer (Esquema 1). Portanto, os biflavonóides devem ser formados por acoplamentos oxidativos fenólicos ^{65, 66}.

Esquema 1. Proposta de acoplamento oxidativo entre moléculas de 2-*terc*-butil-4-metilfenol (XII) via cetona de Pummerer ^{65, 66}

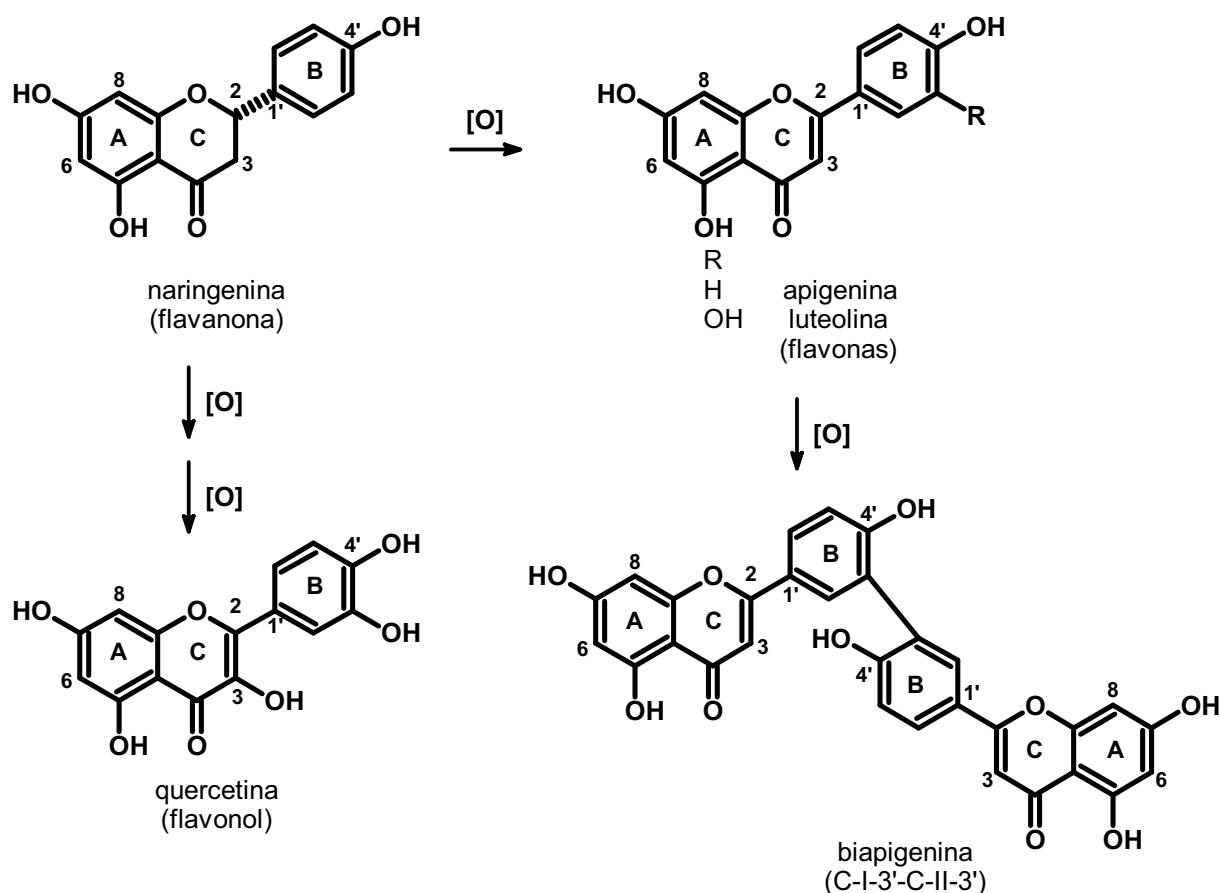


Os dímeros e os trímeros flavonoídicos, juntamente com as antocianidinas (taninos condensados que não possuem um grupo carbonílico em C-4), constituem as duas principais subclasses de metabólitos especiais formadas por unidades do tipo $C_6-C_3-C_6$ ⁶⁷. A partir da década de 90, flavonóides com quatro, cinco e seis unidades flavonoídicas foram isolados, incentivando o uso da terminologia poliflavonóides. De acordo com Ferreira e colaboradores (2005), os poliflavonóides são formados predominantemente pela união de flavonas, flavonóis, diidroflavonóis, flavanonas, isoflavonas, auronas, auronóis e chalconas, os quais possuem um grupo carbonílico em C-4 na maioria das unidades. Entretanto, há vários exemplos da ausência dessa característica estrutural. Diversas novas subclasses têm sido relatadas como dímeros de neoflavonas biauronóis, isoflavanona-auronol, além de novos padrões de ligações interflavonoídicas para biflavonas.

1.3.1 Ocorrência e distribuição

Os poliflavonóides estão presentes no reino vegetal em quatro divisões: Briófitas, Pteridófitas, Gimnospermas e Angiospermas ⁶⁸.

Em Briófitas, diferentes biflavonóides foram isolados em pelo menos dezesseis gêneros de musgos (dentre os quais se destacam *Bryum*, *Dicranum* e *Hylocomium*), sugerindo uma ampla ocorrência dessa subclasse metabólica em musgos. Esses biflavonóides são constituídos principalmente por unidades flavonoídicas não metoxiladas, tais como narigenina, apigenina e luteolina não metoxiladas (Esquema 2, p. 44) ⁶⁹.

Esquema 2. Proposta biogenética para a formação de alguns flavonoides

Em musgos, o padrão mais freqüente de ligação intraflavonoídica é do tipo C-I-3'-C-II-3', C-I-5'-C-II-6 e C-I-5'-C-II-8, sendo pouco usual o padrão de ligação etérea (C-I-6-O-C-II-4' e C-I-3'-O-C-II-4'). A partir de musgos, também se destaca o isolamento de triflavonóides: um de *Campylopus introflexus* Hedw. (Dicranaceae)⁷⁰, quatro de *Bartramia stricta* Brid. (Bartramiaceae)^{67, 71, 72} e *B. pomiformis* Hedw.⁷², um de *Aulacomnium palustre* Hedw. (Aulacomniaceae)⁷³ e dois de *Rhizogonium distichum* Brid. (Rhizogoniaceae)^{67, 74}. Esses triflavonóides são formados por unidades de luteolina unidas com os mesmos padrões de ligação flavonoídica observados para os biflavonóides^{65, 69}. Dentre os triflavonóides, relata-se o primeiro trímero flavonoídico cíclico isolado de *B. stricta*, denominado ciclobartamiatrileuteolina, e a separação de dois atropoisômeros constituídos por três unidades de luteolina a partir de *B. stricta* e de *B. pomiformis*. Estudos sobre ocorrência e distribuição de bi- e triflavonóides em *Musci* (musgos) vêm corroborando a distinção filogenética desse subgrupo dos demais: *Hepaticae* e *Anthocerotae*, os quais formam o grupo

das Briófitas . Nas *Hepaticae* spp. não há relatos de diidroflavonóides e biflavonóides, porém flavonóides mais simples (flavanonas e flavonas) têm sido isolados a partir de espécies desse gênero .

Em Pteridófitas, a amentoflavona (apigenina-apigenina, C-I-3'-C-II-8) é o principal biflavonóide isolado a partir de espécies pertencentes a duas ordens primitivas (Psilotales e Selaginellales) ^{68, 69}. Derivados di- e tri-O-glicosilados da amentoflavona também já foram isolados de *Psilotum nudum* Linn. e *Tmesipteris* spp., os dois únicos gêneros de Psilotaceae ^{68, 69}. Os biflavonóides hinoquiflavona (apigenina-apigenina, C-I-4'-O-C-II-6) e robustaflavona (apigenina-apigenina, C-I-3'-C-II-6) foram isolados de *Selaginella* spp. (Selaginellales: Selaginellaceae) . A partir de esporos de *Osmunda japonica* Thun. (Osmundales: Osmundaceae), isolaram-se derivados metilados da amentoflavona . De folhas de *Cyathea spinulosa* Wall. ex Hook. (Cyatheales: Cyatheaceae), isolaram-se biflavonóides com padrão de ligação intraflavonoídica pouco usual (C-I-6-C-II-6) . Até o momento, não há relatos da ocorrência de poliflavonóides com mais de duas unidades flavonoídicas em Pteridófitas.

De acordo com Geiger e Quinn (1988), a ocorrência de biflavonóides em musgos e em plantas vasculares primitivas (Psilotales e Selaginellales) pode ser interpretada como uma evidência adicional da afinidade química entre essas duas classes vegetais ^{68, 69}, e a habilidade de sintetizar tais biflavonóides é um plesiomorfismo presente em samambaias (Pteridófitas) e musgos (Briófitas), o qual foi herdado de um ancestral comum ^{68, 69}.

Em Gimnospermas, a ocorrência de biflavonóides é relatada em quase todas as ordens (Cycadales, Ginkgoales, Taxales e Coniferales), com exceção de Gnetales . As espécies pertencentes à Cycadaceae e Zamiaceae (Cycadales) apresentam frequentemente biflavonas do tipo amentoflavona (apigenina-apigenina, C-I-3'-C-II-8), cupressuflavona (luteolina-apigenina, C-I-8-C-II-8) e strychnobiflavona (luteolina-quercetina, C-I-2'-C-II-8), sendo esse último metoxilado em C-II-3 ^{65, 68}. Biflavonóides do tipo isoflavona-flavona (C-I-5'-C-II-8) ocorrem particularmente em Zamiaceae . Na ordem Ginkgoales, o mesmo padrão de biflavonóides de Cycadales é observado em *Ginkgo biloba* Linn., que contém também biflavonas metoxiladas com padrão de ligação C-I-3'-C-II-4' . Em Taxales, confirma-se o padrão de derivados da amentoflavona, enquanto que Coniferales particulariza-se das demais ordens pela ampla ocorrência da hinokiflavona (apigenina-apigenina, C-I-4'-O-C-II-6)

em Araucariaceae, Cupressaceae, Taxodiaceae e Podocarpaceae, bem como pela baixa ocorrência de biflavonóides em Pinaceae^{65, 68}. De acordo com Geiger e Quinn (1988), a presença de biflavonóides em apenas um gênero dessa família corrobora com uma linha de raciocínio que sugere a ausência da rota biossintética de biflavonóides em ancestrais de coníferas^{65, 68}. Dentre as famílias de Coniferales, destaca-se o isolamento de derivados hexametoxilados da amentoflavona e da robustaflavona (apigenina-apigenina, C-3'-C-6'') de *Prumnopitys* spp. (Podocarpaceae), além de um tetraflavonóide simétrico (quatro unidades flavonoídicas derivadas da apigenina unidas por C-I-3'-C-II-3', C-I-6-C-III-6 e C-III-3'-C-IV-3') isolado a partir de folhas de *Cephalotaxus wilsoniana* Haya. (Cephalotaxaceae)⁷⁵. Até o momento, não foram isolados triflavonóides de Gimnospermas.

Assim, como em Pteridófitas e Gimnospermas, a última revisão bibliográfica publicada sobre a ocorrência e a distribuição de biflavonóides em Angiospermas foram feitos por Geiger e Quinn (1988) e Geiger (1993). Até 1993, a ocorrência e a distribuição desses compostos restringiam-se a 32 gêneros pertencentes a quinze famílias de Angiospermas, e muitos desses compostos foram encontrados exclusivamente em uma única espécie^{65, 68}. Segundo Geiger e Quinn (1988) estudos posteriores poderiam resultar no isolamento dos mesmos biflavonóides em gêneros próximos⁶⁵. Os mesmos autores destacaram a importância de novos e amplos estudos sobre a ocorrência e a distribuição de biflavonóides em Angiospermas⁶⁵.

Até o início da década de 90, os principais biflavonóides e seus derivados (metoxilados e/ou hidrogenados) encontrados em Angiospermas em número decrescente de ocorrência são: volkensiflavona (C-I-3-C-II-8), amentoflavona (C-I-3'-C-II-8), agastiflavona (C-I-6-C-II-8), cupressuflavona (C-I-8-C-II-8) e robustaflavona (C-I-3'-C-II-6)^{65, 68}. Observa-se em Angiospermas uma tendência de ligação intraflavonoídica do tipo C-C envolvendo os anéis C-A' (volkensiflavona) e A-A' (cupressuflavona). Porém, ainda persistindo o padrão B-A' (amentoflavona), comum em Briófitas, Pteridófitas e Gimnospermas. Baseando-se nas revisões sobre biflavonóides^{65, 68} e nas últimas classificações filogenéticas de Angiospermas^{2, 3}, observa-se distribuição dos mesmos em dez ordens, com maior ocorrência em Malpighiales (Clusiaceae, Euphorbiaceae e Ochnaceae) e Sapindales (Anacardiaceae, Burseraceae, Meliaceae e Simaroubaceae).

A ocorrência de biflavonóides nas famílias de Angiospermas restringe-se a poucas espécies, porém estão distribuídos por todo tecido vegetal das diversas partes das plantas (folhas, cascas, caules, raízes, polens, frutos e sementes)^{65, 68}. Dentre os diversos tipos de biflavonóides relatados em Angiospermas, destacam-se biflavonas com ligação intraflavonoídica do tipo C-I-3-C-II-6 isoladas a partir de *A. ridicula* e de *Stephania tetrandra*⁷⁶ (Ranunculales: Menispermaceae), bineoflavonas de *Pistacia chinensis* Radi. (Sapindales: Anacardiaceae), biauronas preniladas de *Glycyrrhiza glabra* Linn. (Fabales: Fabaceae), biisoflavonas de *Lupinus albus* Linn. (Fabales: Fabaceae), *Ochna afzelii* Oliv. (Malpighiales: Ochnaceae), *Ochna calodendron* Gilg. & Mild. e *Lophira lanceolata* van Tieg. ex Keay. (Malpighiales: Ochnaceae), chalcona-flavonas de *A. ridicula*^{42, 43}, *Lophira lanceolata*⁷⁷ e *Cissampelos pareira* Linn. (Ranunculales: Menispermaceae)^{78, 79}, além de uma bichalcona com ligação intraflavonoídica não usual isolada de *Dorstenia zenkeri* Engl. (Rosales: Moraceae)⁸⁰.

Flavonóides com mais de duas unidades flavonoídicas ocorrem em Angiospermas. Foram isolados um triflavonóide de *Dracaena cinnabari* Balf. (Asparagales: Convallariaceae)⁸¹ e dois de *Ochna calodendron*⁸². Dos dez tetraflavonóides conhecidos, nove foram isolados a partir de Angiospermas, sendo dois de *A. ridicula* (Piperiales: Aristolochiaceae)^{42, 43}, seis de *L. alata* Banks ex Gaer. (Malpighiales: Ochnaceae)^{83, 84, 85, 86} e um de *L. lanceolata*⁸⁷. Os únicos penta- e hexaflavonóides relatados até o momento foram obtidos de *O. calodendron*⁸⁸ e de *L. alata*⁸⁹, respectivamente. Exceto para os tetraflavonóides de *A. ridicula*, todos os demais poliflavonóides (tri-, tetra-, penta- e hexaflavonóides) isolados de Angiospermas apresentam pelo menos um anel hidrofurânico e/ou ausência de uma carbonila na posição C-4 de suas estruturas flavononóidicas.

Portanto, considerando a distribuição, a ocorrência e a diversidade estrutural dos poliflavonóides, observa-se uma tendência geral ao longo da evolução vegetal no aumento da complexidade estrutural dos poliflavonóides encontrados de Briófitas até Angiospermas, o que certamente sugere que os poliflavonóides são marcadores taxonômicos evolutivos muito promissores⁶⁵⁻⁶⁹.

1.3.2 Funções biológicas

As funções biológicas desempenhadas pelos flavonóides como de proteção contra os raios nocivos UV-A (320-400 nm) e UV-B (280-320 nm), predadores e

invasão bacteriana e/ou fúngica, entre outras, provavelmente são também desempenhadas pelos poliflavonóides, especialmente os biflavonóides ^{65, 68, 69}. Contudo, as funções biológicas específicas dos poliflavonóides ainda não são conhecidas, embora a ausência/presença de poliflavonóides seja forte indicativo de diferenciação evolutiva entre os vegetais.

1.3.3 Atividades biológicas

A maioria dos ensaios biológicos descritos na literatura envolvendo biflavonóides foi direcionada principalmente para a avaliação da atividade antiinflamatória, anticarcinogênica/antitumoral e antivirótica ⁹⁰. Pode-se citar, por exemplo, a atividade antitumoral *in vivo* do biflavonóide 7"-metoxiagatisflavona isolado a partir de folhas de *Ouratea hexasperma* Bail. (Ochnaceae) ⁹¹.

Kubo e colaboradores (1983) estão entre os primeiros cientistas a realizar estudos envolvendo biflavonóides e insetos. Esses autores avaliaram a atividade inseticida de podocarpusflavona A e da 7",4"-dimetilamentoflavona, isoladas de *Podocarpus gracilior* Pilg. (Podocarpaceae) em três espécies de Lepidópteros: lagarta-do-milho (*Heliothis zea* Bodd., Noctudae), lagarta-rosada-do-algodoeiro (*Pectinophora gossypiella* Saun., Gelechiidae) e lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* Smit., Nuctuidae) (Figura 5) ⁹². Os autores concluíram que os biflavonóides testados inibiam o crescimento de *H. zea* e *S. frugiperda*, e que o biflavonóide podocarpusflavona A com maior polaridade apresentou melhor efeito, fato não observado com *P. gossypiella*.

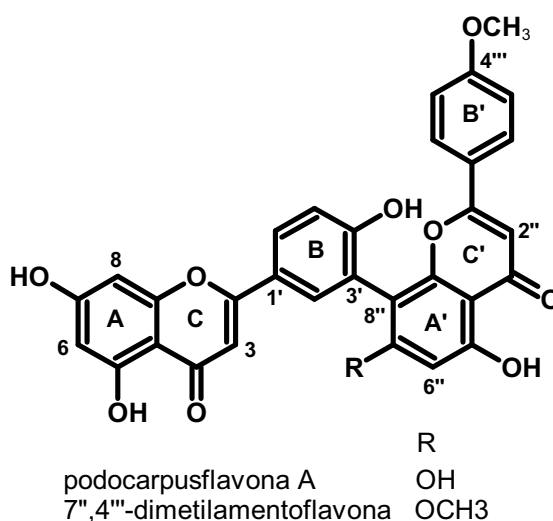


Figura 5. Estruturas moleculares de biflavonóides com atividade inseticida.

Numone e colaboradores (2004) descreveram resultados de atividade antiplasmódica de dois biflavonóides (sikokianina B e sikokianina C) isolados do extrato *n*-butanólico de raízes de *Wikstroemia indica* Linn. (Thymelaeaceae) (Figura 6) ⁹³. Resultados semelhantes foram obtidos para a biflavona lanaroflavona isolada do extrato metanólico de partes aéreas de *Camptosperma panamense* Stan. (Anacardiaceae) ⁹⁴. Ahmed e colaboradores (2001) descrevem o resultado antiplasmódico moderado para a biflavanona (2*S*,2''*S*)-7,7''-di-*O*-metiltetraidroxiamentoflavona em cepa de *P. falciparum* cloroquina-resistente ⁹⁵.

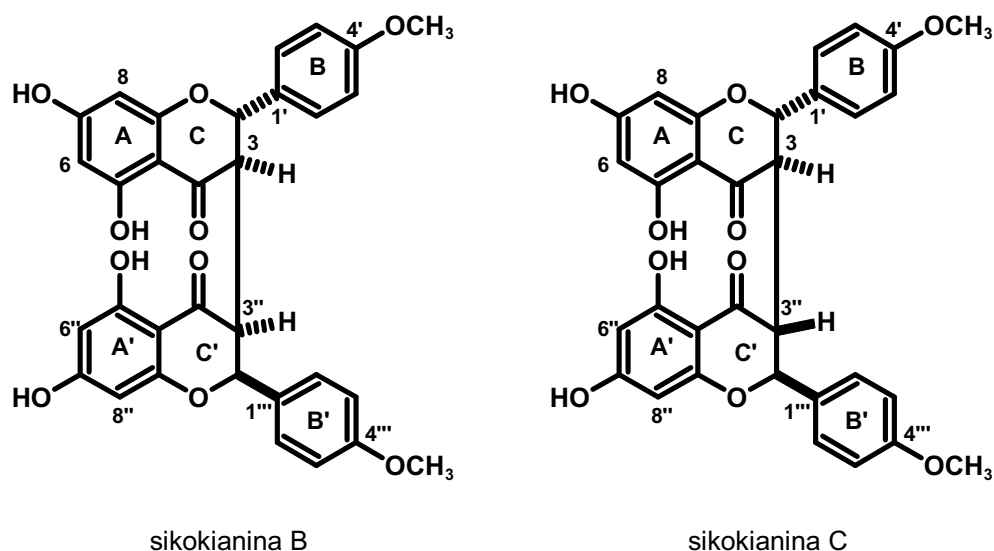


Figura 6. Estruturas moleculares de biflavonóides com atividade antiplasmódica.

Estudos semi-empíricos envolvendo 28 biflavonóides correlacionaram propriedades físico-químicas (calor de formação, coeficiente de partição e energia de hidratação) com a atividade antimicobacteriana obtida para estas substâncias ⁹⁶. Esses estudos evidenciam que o aumento da hidrofobicidade e do padrão de oxigenação desses compostos está diretamente relacionado com o acréscimo do efeito inibitório contra *M. tuberculosis*. Com essas evidências os autores sugeriram selecionar estruturas moleculares de biflavonóides mais viáveis e, conseqüentemente, de modificações estruturais para obter melhor resposta antimicobacteriana.

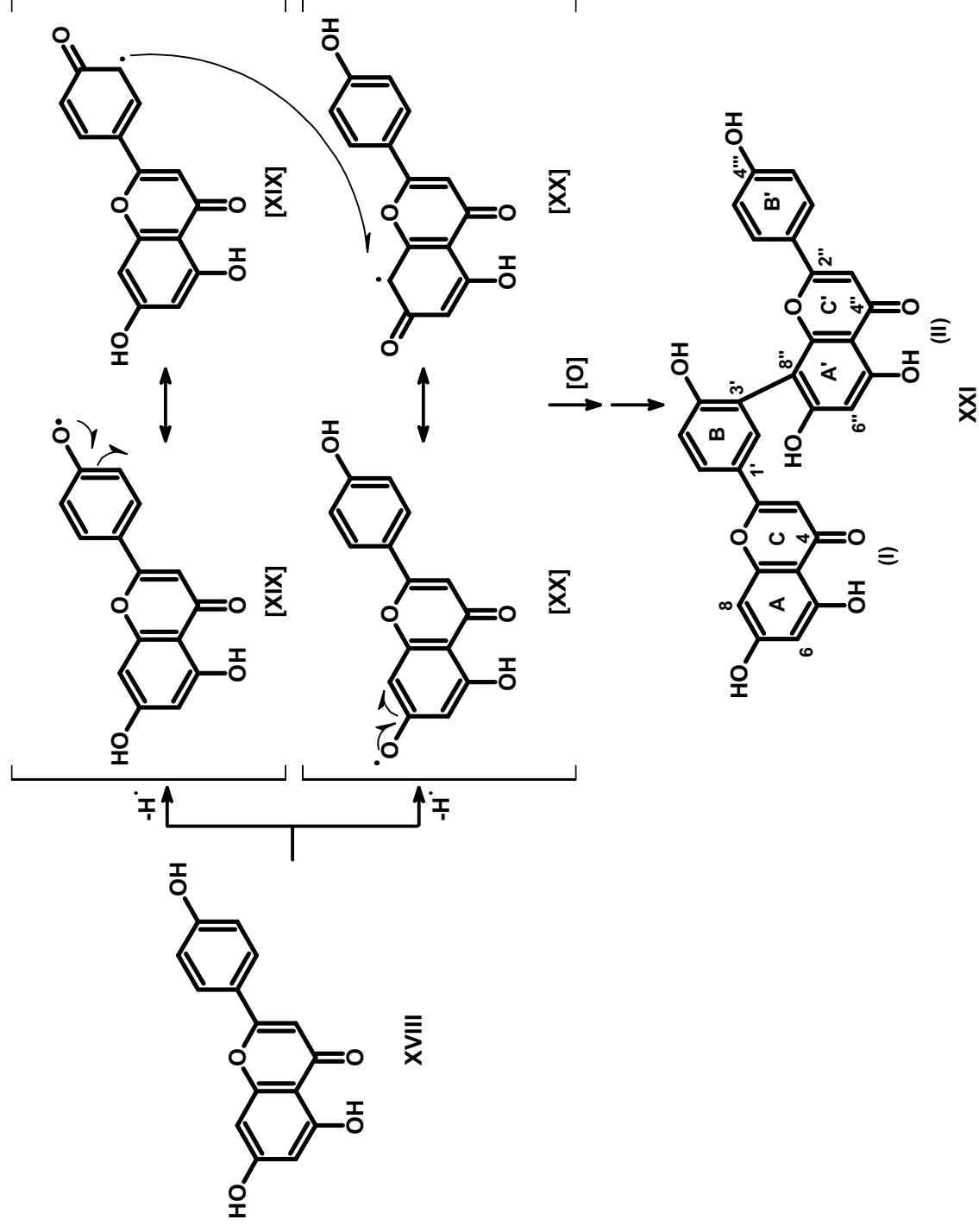
As atividades biológicas para a grande maioria dos poliflavonóides com mais de duas unidades flavonoídicas ainda são pouco exploradas, limitando-se apenas

atividades antitumorais *in vitro* e/ou antiinflamatórias *in vivo* para os tetraflavonóides isolofirachalcona, lofirachalcona e alatachalcona isolados a partir de cascas de *Lophira alata* ^{83, 86}. Os melhores resultados foram obtidos para o tetraflavonóide alatachalcona, o qual foi capaz de inibir o crescimento celular em 72% de uma cultura específica de células tumorais e reduzir em 62% a inflamação de células de orelhas de ratos ^{83, 86}.

1.3.4 Biogênese de poliflavonóides

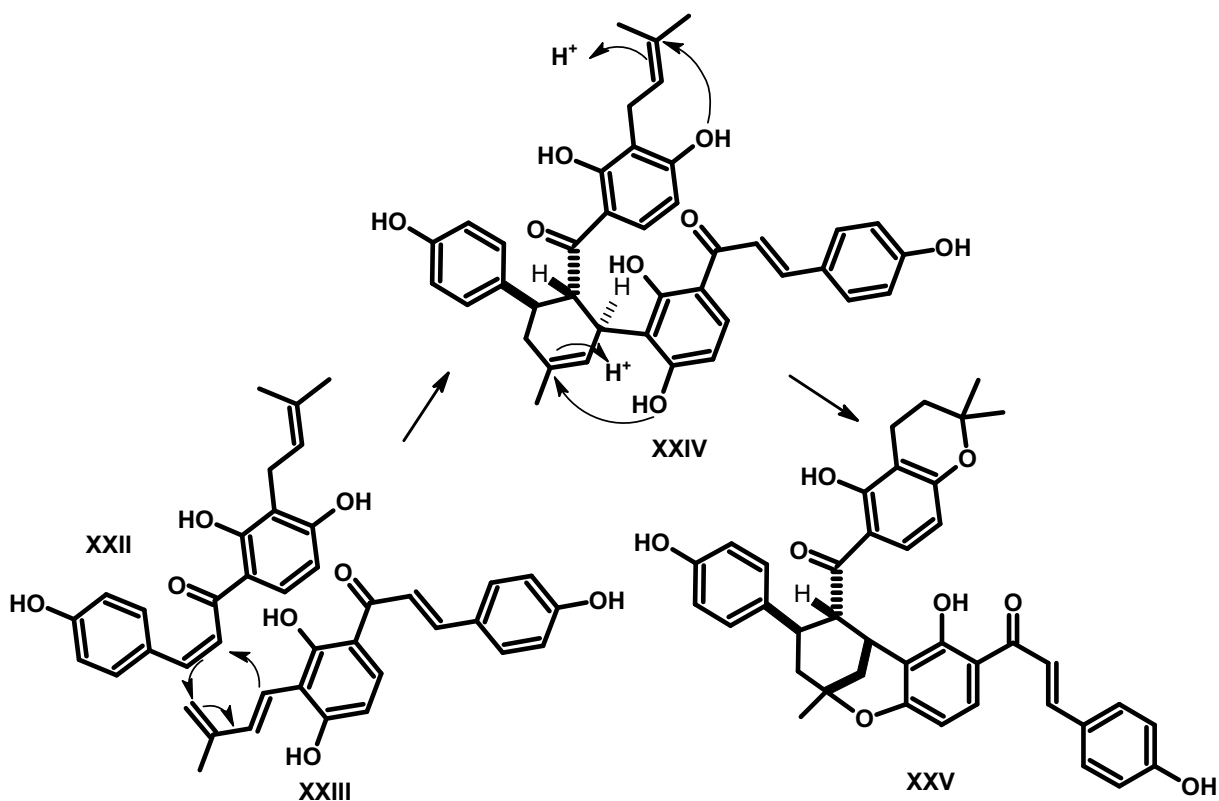
Baseando-se na distribuição, na ocorrência e nos tipos de esqueletos carbônicos dos poliflavonóides, pode-se sugerir rotas biogenéticas distintas para cada divisão do reino vegetal. Em Briófitas, Pteridófitas, Gimnospermas e Angiospermas devem ocorrer acoplamentos oxidativos enzimáticos, como exemplificado no Esquema 3 (p. 51), na qual duas unidades de apigenina (**XVIII**) formam a amentoflavona (**XXI**).

Esquema 3. Proposta biogenética para a biossíntese da amentoflavona (XXI)



As espécies pertencentes, principalmente, às Angiospermas possuem provavelmente diversos caminhos biossintéticos para obtenção de seus poliflavonóides, não necessariamente partindo de uma flavona. Por exemplo, Abegaz e colaboradores (2002) propuseram a biogênese do biflavonóide **XXV** a partir da reação entre as chalconas preniladas **XXII** e **XXIII** via uma reação de cicloadição do tipo Diels-Alder, passando pelo intermediário flavonoídico **XXIV** (Esquema 4). Os flavonóides **XXII**, **XXIII** e **XXIV** foram isolados de *Dorstenia zenkeri*, enquanto **XXV** foi obtido de *D. barteri*.

Esquema 4. Proposta biogenética para a biossíntese do biflavonóide **XIX** isolado de *D. zenkeri* (Rosales: Moraceae)



Portanto, o isolamento e a elucidação estrutural de poliflavonóides e seus prováveis precursores biossintéticos constitui uma importante etapa para a compreensão da biogênese dessas substâncias nestas espécies.

2 OBJETIVOS

Este trabalho visou isolar e elucidar as estruturas dos constituintes químicos obtidos dos extratos polares de *Aristolochia ridicula* H.B.K., bem como avaliar as atividades inseticida, antiplasmódica e antimicobacteriana dos extratos e/ou das substâncias isoladas de *A. ridicula*, respectivamente, no inseto lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatilis*), no protozoário *Plasmodium falciparum* e na bactéria *Mycobacterium tuberculosis*.

3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS GERAIS (especificação de materiais, instrumentos e reagentes utilizados)

1. Para CCDC e CCDP utilizou-se sílica gel 60 PF₂₅₄ (Merck[®], 90% < 45 µm). As cromatoplasmas foram reveladas com irradiações na região do ultravioleta (254 nm e 365 nm) ou em cuba com vapores de iodo.
2. Para CC, utilizou-se gel polimérico LH 20 (Sephadex[™]), octadecilsilano (ODS) (Fluka[®], 40-63 µm) ou sílica gel 60H (Merck[®]).
3. Todos os solventes orgânicos (hexano, CHCl₃, ACN, acetona, MeOH e EtOH) utilizados em fracionamento cromatográfico ou preparo de soluções destinadas aos bioensaios possuíam grau de pureza CLAE. A água utilizada para fracionamento cromatográfico foi destilada e deionizada (resistividade mínima de 18,2 MΩ.cm a 25 °C).
4. As frações obtidas por processos cromatográficos e/ou de partição foram filtradas com membranas de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com 0,45 µm (Millex[™]) ou 0,22 µm (Whatman[®]), e de politetrafluoretileno (PTFE) com 0,50 µm (SIGMA[™]) ou 0,22 µm (GELMAN[®]) de dimensão de poro.
5. Uma centrífuga (Celm[®], Combate) foi utilizada para auxiliar na separação de precipitados formados.
6. Todas as frações obtidas foram concentradas em capela com exaustão e/ou com auxílio de um evaporador rotatório (Büchi[™], RE 111 e B 461), acoplado a um criostato (MLW[™], MK 70) e a uma bomba d'água (Büchi[™], B169).
7. As análises por CLAE foram feitas utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu[™] com bomba quaternária (SPD-10AVvp), controlador (SCL-10Avp), detector UV-Vis. (SPD-10AVvp) e colunas analíticas CHROMPACK (Varian[™]) (ODS, 250 x 4,6 mm, com 5 µm de tamanho de partícula) e SHIM-PACK (Shimadzu[™]) (CLC-Phenyl(M), 150 x 3,9 mm, com 5 µm de tamanho de partícula), e um cromatógrafo (Shimadzu[™]) com bomba isocrática (SPD-10AVvp), controlador (SCL-10Avp), detector UV-Vis. (SPD-10AVvp) e colunas semipreparativas SHIM-PACK (Shimadzu[™]) (ODS, 250 x 20 mm, com 10 µm de tamanho de partícula) e Varian (Varian[™]) [Microsorb Phenyl, 250 x 21,4 mm e pré-coluna de 50 x 21,4 mm, com 5 µm de tamanho de partícula]. Os cromatogramas foram adquiridos em 254 e/ou 336 nm.

8. Os espectros de RMN unidimensionais (^1H , ^{13}C , ^{31}P , $g\text{NOESY}$ e HOMODEC) e bidimensionais ($g\text{COSY}$ ^1H - ^1H , $g\text{TOCSY}$ ^1H - ^1H , $g\text{NOESY}$ 2D, $g\text{HMQC}$ e $g\text{HMBC}$) foram obtidos em espectrômetros Varian TM: INOVA 500 (11,7 T) a 500 MHz para ^1H , 126 MHz para ^{13}C e 202 MHz para ^{31}P , e INOVA 300 (7,0 T) a 300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C , bem como em um espectrômetro Bruker TM AC-200 F (4,7 T) a 200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C . Para essas análises utilizou-se solventes deuterados [D_2O , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, CD_3OD , CD_3CN , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ e CDCl_3] da CIL TM ou da Sigma-Aldrich TM com pureza $\geq 99,8\%$ para D, contendo solventes residuais de DHO , $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, CH_3OD , CH_3CN , $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ e CHCl_3 , utilizados como referência interna para ^1H em δ 4,68, 2,49; 3,33; 1,98; 2,08; 7,20, respectivamente, ou tetrametilsilano (TMS) com δ 0,00. Utilizou-se os próprios átomos de carbono dos solventes $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, CD_3OD , CD_3CN e CDCl_3 como referência interna para calibração dos espectros e dos mapas de contornos envolvendo núcleo de ^{13}C em δ 39,5; 48,0; 1,30 e 118,3; 77,2, respectivamente, ou TMS com δ 0,00.
9. Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em um espectrômetro Fisons Micromass TM Platform II por injeção direta com detecção em modo positivo ou negativo via “Electrospray ionization” (ESI) utilizando N_2 como gás nebulizador e com analisadores do tipo quadrupolo em diferentes voltagens e com distintas energias de colisão.
10. Os espectros de massas de alta resolução e de massas-massas foram obtidos em um espectrômetro Bruker Daltonics TM ultrOTOFq (Bomba de infusão: $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 4:1 com fluxo de 300 $\mu\text{L}/\text{h}$) com detecção em modo positivo ou negativo por ESI utilizando-se N_2 como gás nebulizador e com analisadores do tipo quadrupolo e tempo de voo em diferentes voltagens e com distintas energias de colisão.
11. Utilizou-se para calibração interna a solução de trifluoracetato de sódio 10 mg/mL e para calibração externa a solução de formiato de sódio 10 mM. As medidas foram efetuadas com “End Plate” de 4500 V, “Capillary” de 4500 V, “Capillary Exit” de 300 V, “Skimmer 1” de 50 V e “Skimmer 2” de 25 V.
12. Os espectros vibracionais na região do infravermelho dos compostos foram obtidos no espectrofotômetro Nicolet Impact 400, no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , utilizando a técnica de pastilha em KBr.

13. Os espectros eletrônicos das soluções em metanol foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro UV-Vis. Spectrometer Lambda 14P (Perkin ElmerTM), com as soluções das amostras (c. em mg/mL) em celas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.
14. As medidas de rotação óptica específica foram obtidas utilizando-se um polarímetro Perkin ElmerTM 341 LC, com as soluções das amostras em diferentes solventes (c. g/100mL) em cela de quartzo com caminho óptico fixo de 1,00 dm.
15. As curvas de Dicroísmo Circular (DC) foram obtidas em um espectrômetro JASCOTM CD-2095, com as soluções metanólicas das amostras (c. em mg/mL) em celas de quartzo de caminhos ópticos variáveis (c.o. em mm).
16. As medidas de ponto de fusão, sem correção, foram registradas em um aparelho digital Microquímica Ind. e Com. Ltda MQAPF-301.
17. Os reagentes *N*-metil-*N*-nitroso-4-toluolsulfanamida (Merck[®], P.A.), KOH (Quemis, P.A.) e éter etílico (Synth[®] P.A) foram utilizados no preparo de solução de CH₂N₂.
18. Os reagentes anidrido acético (Synth[®] P.A) e piridina (Synth[®] P.A) foram utilizados para a obtenção de derivados acetilados.
19. Utilizou-se um moinho de facas (Marconi[®] Potter) para moagem dos materiais vegetais.
20. As medidas de massas foram obtidas balança Denver Instrument[®] APX-200.
21. Todos os solventes que não puderam ser recuperados por destilação, no próprio laboratório, foram armazenados em dois grupos, clorados e não clorados e encaminhados ao setor de apoio técnico do IQ para recuperação ou encaminhamento para posterior incineração.

4 EXPERIMENTAL

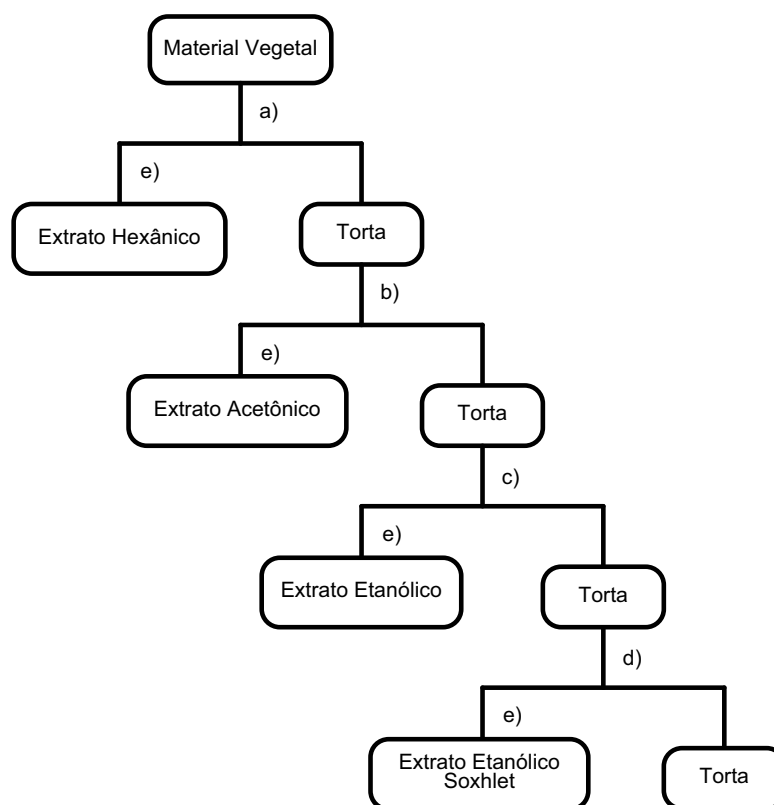
4.1 Material vegetal

4.1.1 Coleta e identificação taxonômica de *Aristolochia ridicula*

A espécie em estudo foi coletada na região de São Joaquim da Barra – SP em 25 de fevereiro de 1996 e 3 de março de 2004. A responsabilidade pela identificação das amostras vegetais foi compartilhada pelo Dr. Condorcet Aranha (Secretaria de Meio Ambiente da Prefeitura de Joinville – SC) e pelo Prof. Dr. Lindolpho Capellari Júnior (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Piracicaba – SP). Exsiccatas da espécie obtidas em 2004 foram depositadas no herbário da ESALQ como sendo *c.s. Aristolochia ridicula* H.B.K. (voucher: ESA88276).

4.1.2 Preparo dos extratos de *Aristolochia ridicula*

Os materiais vegetais coletados (duas coletas) foram secos individualmente ao ar e em seguida em estufa a 45 °C. Após a secagem, foram separados em folhas, caules e raízes e moídos com auxílio de um moinho de facas. As diferentes massas vegetais foram submetidas à extração por maceração com solventes orgânicos inertes e de diferentes polaridades (Esquema 5, p. 58). As soluções resultantes foram filtradas, concentradas, utilizando-se evaporador rotatório, e secas em capela com exaustão, resultando em dezesseis extratos (Tabela 1, p. 58).

Esquema 5. Preparo dos extratos de *A. ridicula* (coletas de 1996 e 2004)

- a) Três extrações simples com hexano.
 b) Três extrações simples com acetona.
 c) Três extrações simples com etanol.
 d) Extração com etanol até a exaustão em aparelho do tipo Soxhlet.
 e) Concentração.

Tabela 1. Dados dos extratos de *A. ridicula*

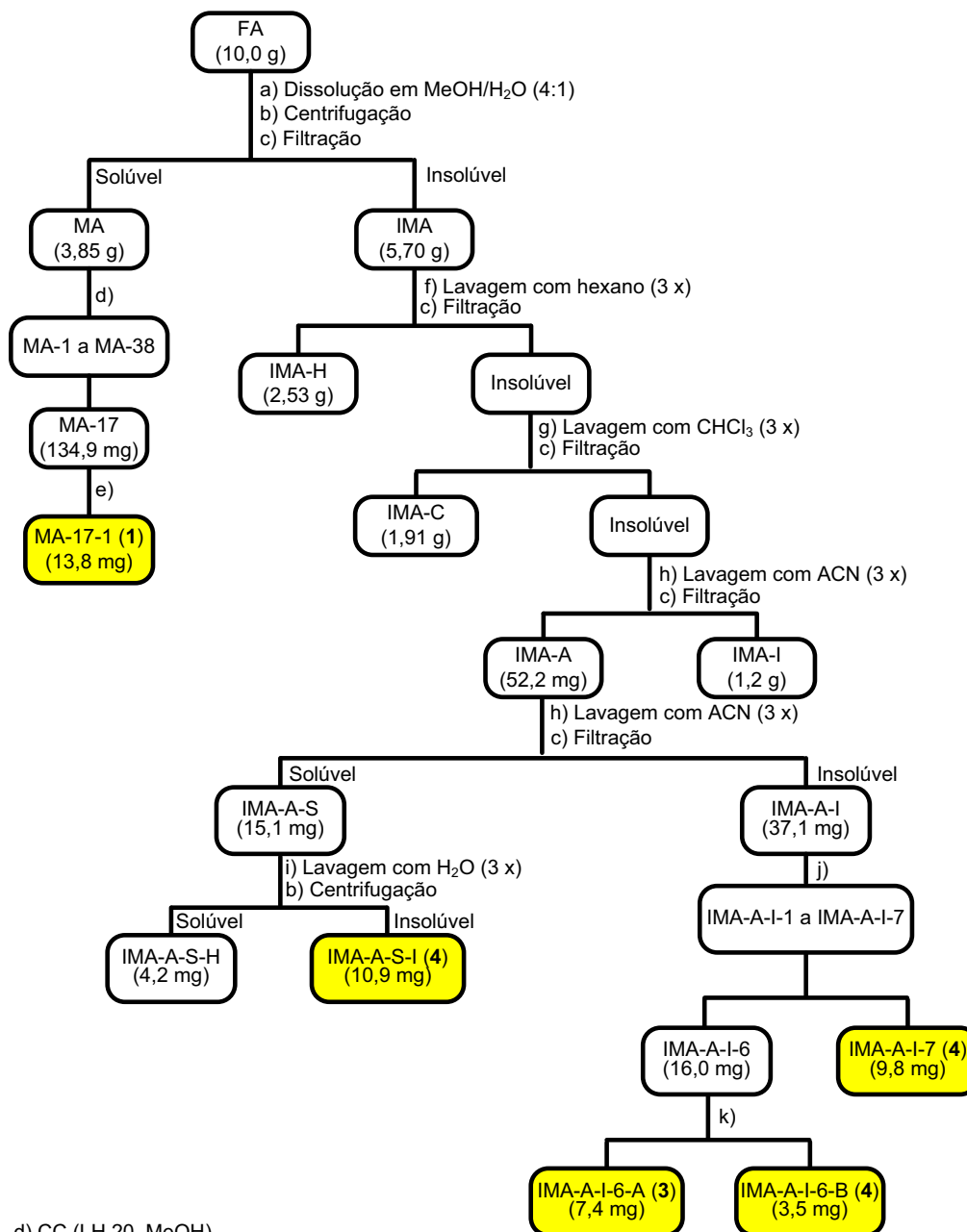
Partes da planta	Material vegetal seco (g)		Extratos	Códigos	Massa dos extratos (g)	
	Ano da coleta				Ano da coleta	
	1996	2004			1996	2004
Folhas	917,3	180,1	Hexânico	FH	8,4	4,3
			Acetônico	FA	30,9	3,4
			Etanólico	FE	40,9	8,5
			Etanólico Soxhlet	FS	77,8	13,1
Caules	930,8	715,2	Hexânico	CH	3,3	4,8
			Acetônico	CA	8,9	6,8
			Etanólico	CE	6,8	8,1
			Etanólico Soxhlet	CS	58,0	40,2

4.2 Isolamento dos constituintes químicos de *Aristolochia ridicula*

4.2.1 Fracionamento do extrato acetônico de folhas (FA, 1996)

Parte do extrato acetônico de folhas (FA, 10,0 g) foi parcialmente solubilizada em 400 mL de MeOH/H₂O (4:1) e depois centrifugada (Esquema 6, p. 60). O sobrenadante foi submetido à CC (LH-20, 100 g, 95 x 2,5 cm, MeOH), originando 38

subfrações. A subfração MA-17 foi fracionada por CLAE (semipreparativa), resultando no isolamento de **1** (13,8 mg). A fração insolúvel do extrato (IMA) foi lavada com hexano (3 x 200 mL), seguido por CHCl_3 (3 x 200 mL) e ACN (3 x 200 mL), sendo que o sobrenadante obtido de cada extração foi filtrado em funil com algodão, concentrado em evaporador rotatório e seco em capela com exaustão. A subfração IMA-A foi lavada novamente com acetonitrila (3 x 10 mL), o sobrenadante foi filtrado em funil com algodão e seco em capela com exaustão. A subfração IMA-A-S foi lavada com H_2O (3 x 10 mL) e centrifugada por 10 minutos, originando um precipitado amarelo (**4**, 10,9 mg). A subfração IMA-A-I foi submetida à CC (LH-20, 100 g, 63 x 3,0 cm), originando sete subfrações. Da subfração IMA-A-I-7, obteve-se **4** (9,8 mg). A subfração IMA-A-I-6 foi submetida à CLAE (semipreparativa) e resultou no isolamento de **3** (7,4 mg) e **4** (3,5 mg) (Figura 32, p. 164).

Esquema 6. Fracionamento de FA (1996)

d) CC (LH 20, MeOH).

e) CLAE (ODS, MeOH:H₂O 7:3, 12,0 mL/min).

j) CC (LH 20, MeOH/H₂O 4:1 a MeOH 100%).

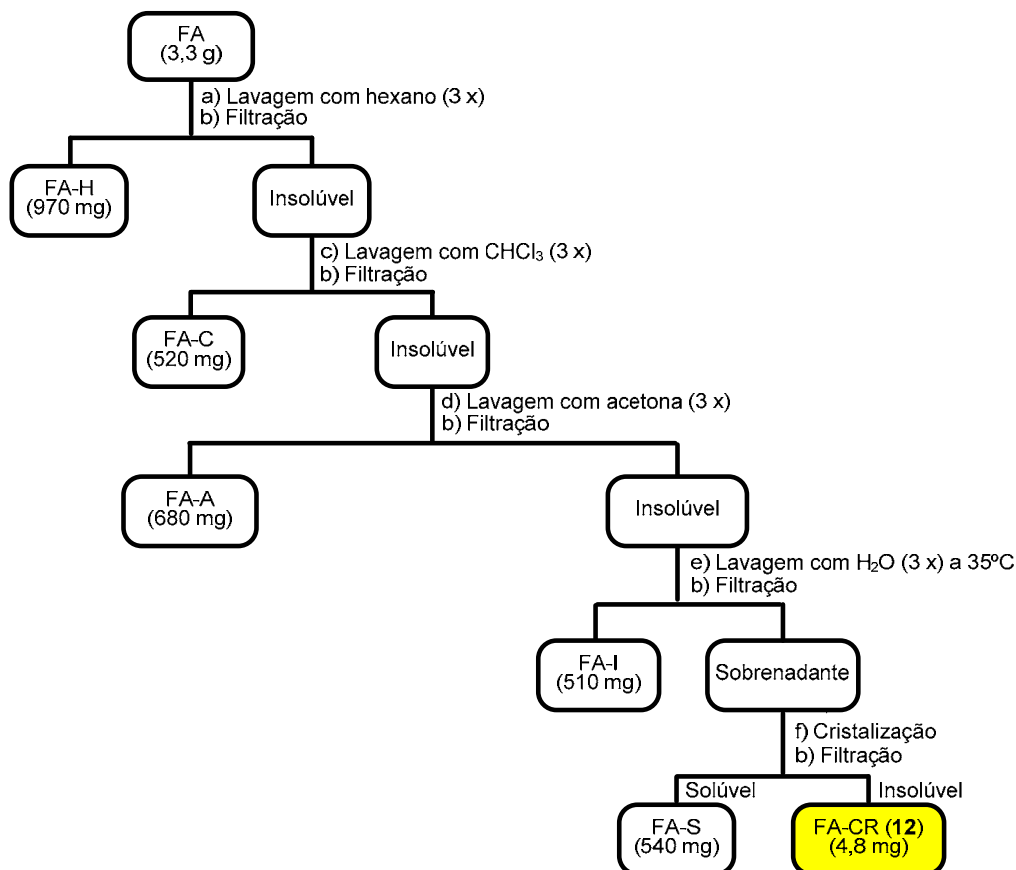
k) CLAE (Fenil, MeOH/H₂O 9:1, 20,0 mL/min).

4.2.2 Fracionamento do extrato acetônico de folhas (FA, 2004)

Uma parte do extrato FA de 2004 (3,3 g) foi lavada com hexano (3 x 100 mL), seguido por CHCl₃ (3 x 100 mL), acetona (3 x 100 mL) e H₂O (3 x 100 mL), o sobrenadante de cada lavagem foi filtrado em funil com algodão, concentrado em evaporador rotatório e seco em capela com exaustão (Esquema 7, p. 61). O

monitoramento de todas as frações/subfrações obtidas por lavagens com diferentes solventes descrito neste trabalho foi feito por variação de massa das mesmas.

Esquema 7. Fracionamento do extrato acetônico de folhas (FA, 2004)

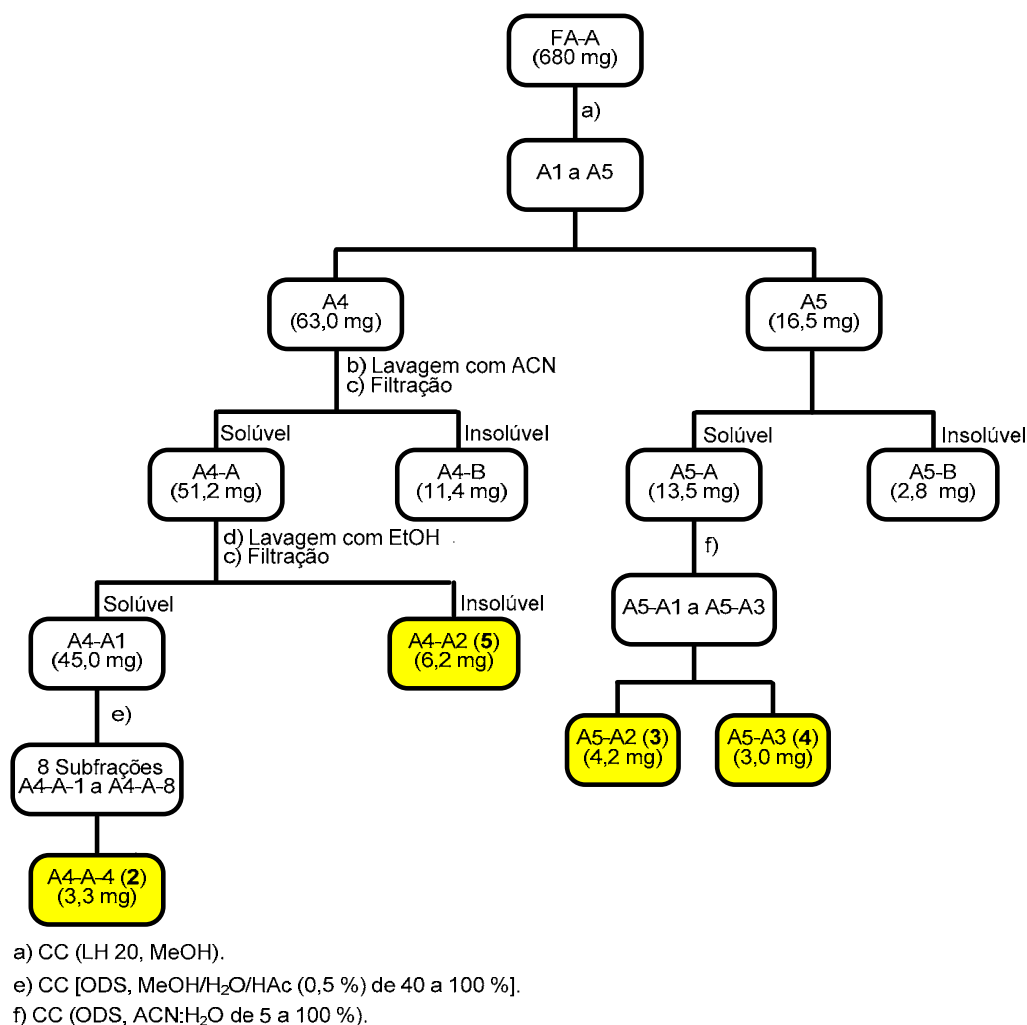


A fração solúvel em água apresentou formação de cristais, os quais foram separados da solução e identificados como sendo **12** (4,8 mg).

A fração FA-A (680 mg) foi solubilizada em MeOH (25 mL) e submetida à cromatografia em coluna (LH 20, 92 g, 61 x 3,0 cm, MeOH 100%), originando cinco subfrações (A1-A5), que foram concentradas separadamente em evaporador rotatório e secas em capela com exaustão (Esquema 8, p. 62). As subfrações A4 e A5 foram submetidas a ensaios de solubilidade em solventes pertencentes a diferentes grupos de seletividade química [CHCl_3 (nº 8), ACN (nº 6), EtOH (nº 2) e H_2O (nº 9)]⁹⁷. A subfração A4 (63,0 mg) foi parcialmente solubilizada em ACN, o sobrenadante foi filtrado em membrana do tipo Millipore[®] (0,45 μm) e concentrado em capela com exaustão, obtendo-se duas subfrações (A4-A e A4-B). A subfração A4-A foi solubilizada parcialmente em etanol, originando as subfrações A4-A1 (solúvel) e A4-A2 (insolúvel). A subfração A4-A1 foi submetida à CC, resultando no

isolamento de **2** (3,3 mg). Da subfração A4-A2, obteve-se **5** (6,2 mg). A subfração A5 (16,5 mg) foi parcialmente solubilizada em ACN e filtrada em membrana de PVDF (0,45 µm, 3 x 5 mL) resultando em A5-A (solúvel) e A5-B (insolúvel). A subfração A5-A (13,5 mg) foi submetida à CC sob baixa pressão (ODS, 50 g, 23 x 2,0 cm, ACN/H₂O de 5 a 100%), resultando na obtenção de **3** (4,2 mg) e **4** (3,0 mg) (Esquema 7, p. 61).

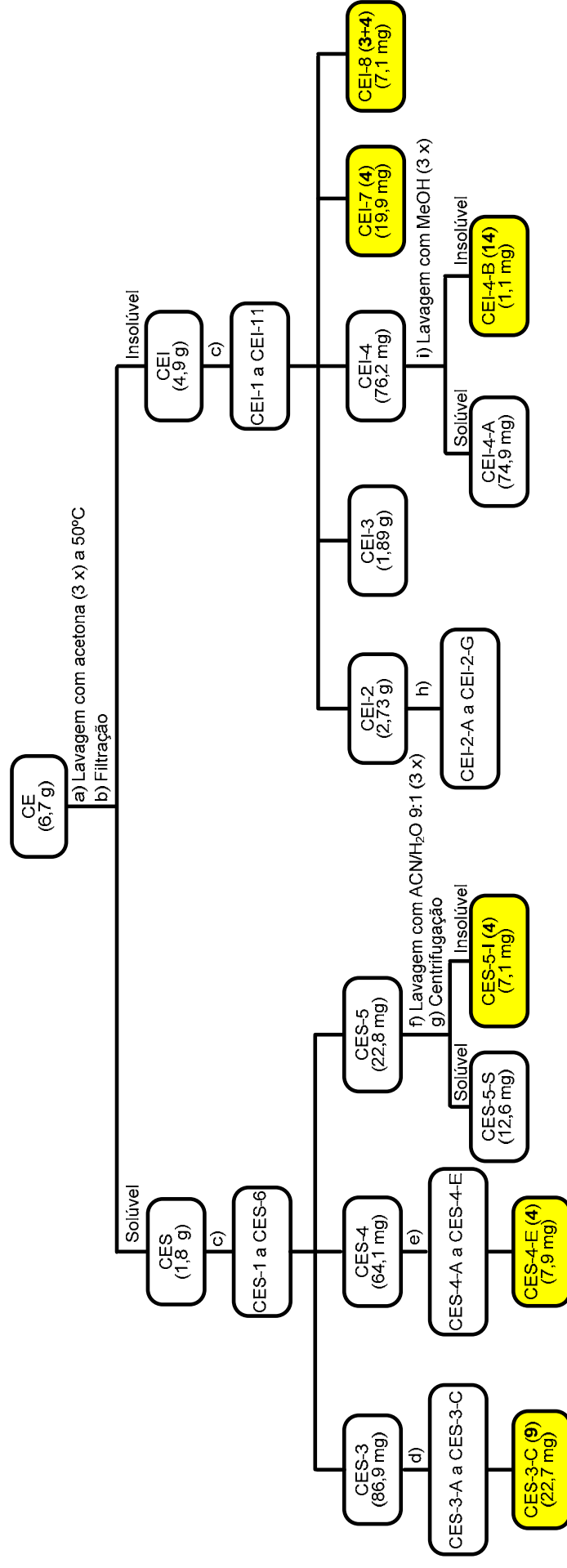
Esquema 8. Fracionamento de FA-A



4.2.3 Fracionamento do extrato etanólico de caules (CE, 2004)

O extrato de CE (6,7 g) foi parcialmente solubilizado em acetona (3 x 200 mL) a 50 °C, filtrado e concentrado em evaporador rotatório (Esquema 9, p. 64). A fração solúvel, CES (1,8 g) foi submetida à CC (LH 20, 92 g, 61 x 3,0 cm, MeOH 100%), originando seis subfrações. As subfrações CES-3 e CES-4 por CLAE (semipreparativa), forneceram **9** (22,7 mg) e **4** (7,9 mg), respectivamente. A

subfração CES-5 foi lavada com ACN/H₂O (9:1) e em seguida centrifugada. O precipitado obtido foi separado, seco em capela com exaustão e identificado como sendo **4** (7,1 mg).

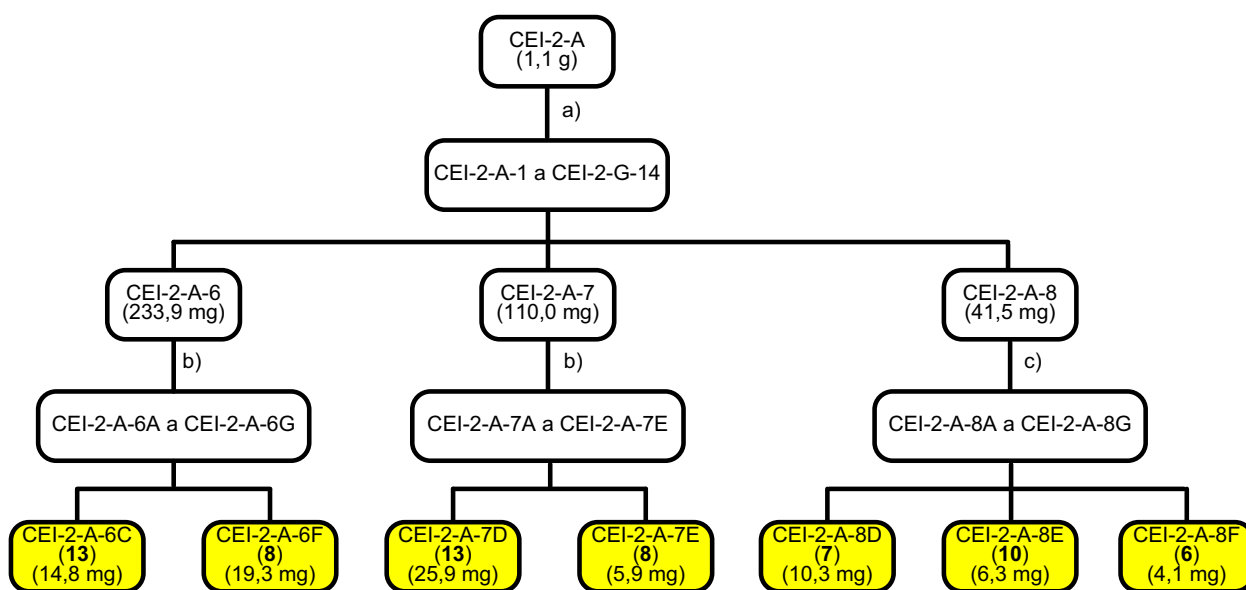
Esquema 9. Fracionamento de CE (2004)

c) CC (LH 20, MeOH).

d) CLAE (Fenil, ACN/H₂O 3:7, 20,0 mL/min).e) CLAE (ODS, MeOH/H₂O 7:3, 12,0 mL/min).h) CC (ODS, MeOH/H₂O→MeOH→ACN, com auxílio de bomba de vácuo).

A fração CEI (4,9 g) foi submetida à cromatografia em coluna, originando onze subfrações. A partir de CEI-7 e CEI-8, obteve-se **4** (19,9 mg) e **3+4** (7,1 mg), respectivamente. A subfração CEI-4 foi lavada com metanol, o precipitado obtido foi separado, obtendo-se **14** (1,1 mg). A subfração CEI-2 foi fracionada por CC (ODS, 40 g, 4,6 x 4,6 cm, MeOH/H₂O→MeOH→ACN), originando sete subfrações. A subfração CEI-2-A foi submetida à CC (LH 20, 92 g, 61 x 3,0 cm, MeOH/H₂O 3:2), originando quatorze subfrações (Esquema 9, p. 64 e Esquema 10), das quais se obteve **13** (14,8 mg) e **8** (19,3 mg) a partir do fracionamento por CCDP de CEI-2-A-6 (Esquema 10). As subfrações CEI-2-A-7 e CEI-2-A-8 foram também fracionadas por CCDP e resultaram em cinco e sete novas subfrações, respectivamente. A partir de CEI-2-A-7 obteve-se novamente **13** (25,9 mg) e **8** (5,9 mg), e de CEI-2-A-8, obteve-se **7** (10,3 mg), **10** (6,3 mg) e **6** (4,1 mg).

Esquema 10. Fracionamento de CEI-2-A



a) CC (LH 20, MeOH/H₂O 3:2).

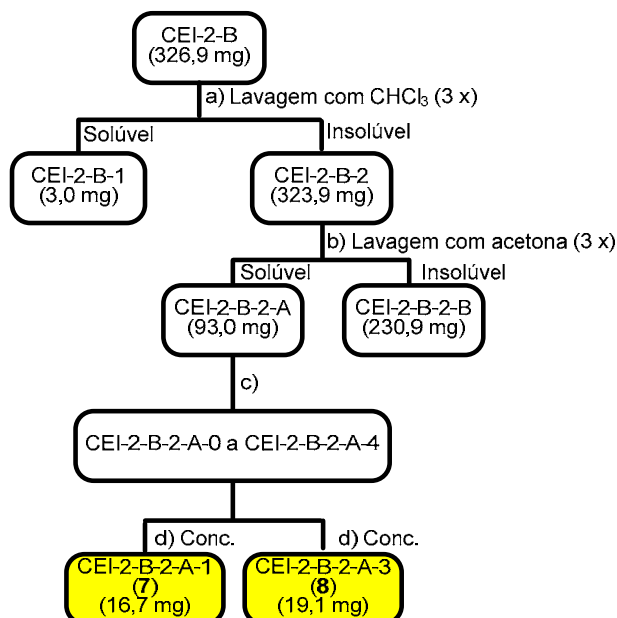
b) CCDP (sílica gel, CHCl₃/MeOH 4:1).

c) CCDP (sílica gel, CHCl₃/MeOH 7:3 c/ 0,5% NH₄OH).

A subfração CEI-2-B (Esquema 9, p. 64) foi lavada com CHCl₃ seguida por acetona (Esquema 11, p. 66). A porção solúvel em acetona foi fracionada por CCDP, o que levou ao isolamento de **7** (16,7 mg) e **8** (19,1 mg). Analogamente, as subfrações CEI-2-C, CEI-2-D, CEI-2-F e CEI-2-G foram fracionadas por lavagens com diferentes solventes orgânicos (hexano, CHCl₃ e acetona) e/ou fracionadas por

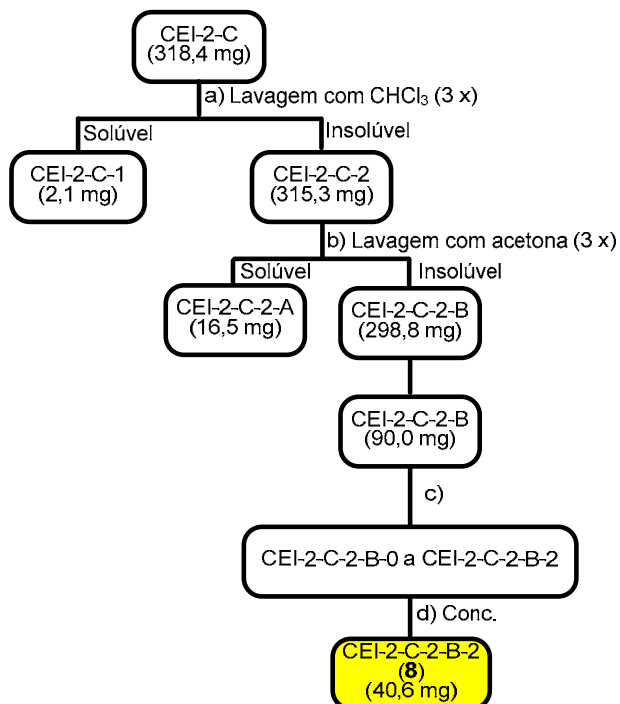
CCDP (Esquema 12, p. 66 a Esquema 15, p. 67), resultando no reisolamento de **8** de todas essas subfrações.

Esquema 11. Fracionamento de CEI-2-B

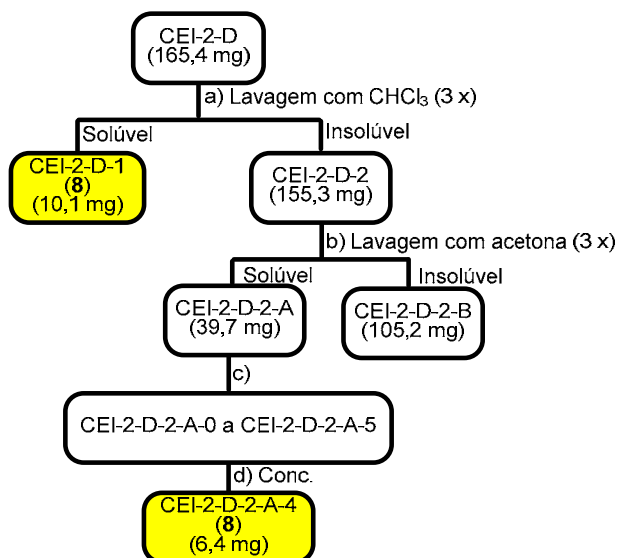


c) CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1 com 0,5% de NH_4OH).

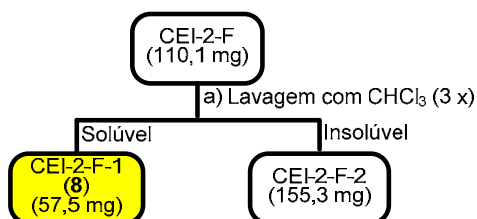
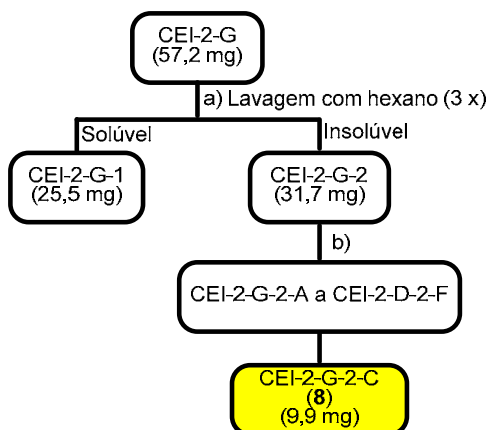
Esquema 12. Fracionamento de CEI-2-C



c) CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1 com 0,5% de NH_4OH).

Esquema 13. Fracionamento de CEI-2-D

c) CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1 com 0,5% de NH_4OH).

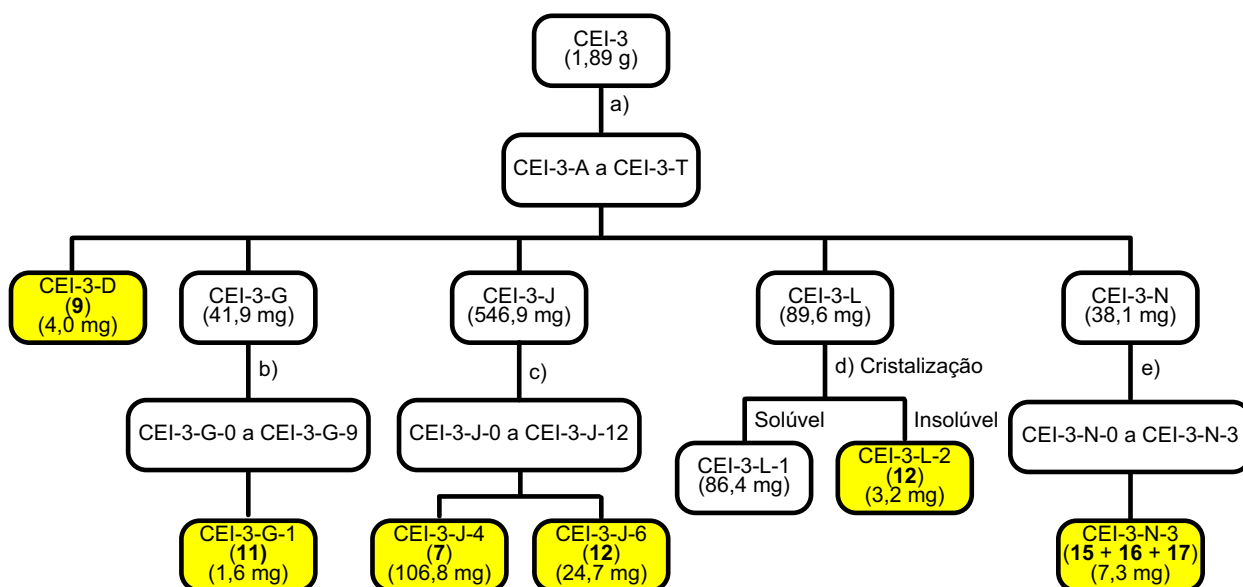
Esquema 14. Fracionamento de CEI-2-F**Esquema 15. Fracionamento de CEI-2-G**

b) CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1).

A subfração CEI-3 (1,89 g), resultante do fracionamento de CEI por CC (Esquema 9, p. 64) foi fracionada por CC, originando vinte subfrações (Esquema 16, p. 68). De CEI-3-D obteve-se **9** (4,0 mg). As subfrações CEI-3-G e CEI-3-N foram

fracionadas por CCDP, fornecendo **11** (1,6 mg) e **15+16+17** (7,3 mg), respectivamente. A subfração CEI-3-J foi submetida à CC, originando doze novas subfrações, de CEI-3-J-4 obteve-se **7** (106,8 mg) e de CEI-3-J-6 obteve-se **12** (24,7 mg).

Esquema 16. Fracionamento de CEI-3



a) CC (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} \rightarrow \text{MeOH}$).

b) CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1).

c) CC (LH-20, MeOH 100%).

e) CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 3:2 c/ 0,5% de NH_4OH).

4.3 Transformações químicas das substâncias isoladas de *Aristolochia* *ridicula*

4.3.1 Metilação com diazometano

Os compostos **3** (2,4 mg), **4** (5,3 mg), **7** (20,0 mg), **8** (40,6 mg) e **9** (5,8 mg) foram dissolvidos em ACN, e individualmente submetidos à metilação. Neste procedimento a solução etérea (Et_2O) com CH_2N_2 foi preparada conforme descrito por Vogel⁹⁸. As misturas reacionais foram deixadas em repouso por 11 dias à temperatura de $-10\text{ }^\circ\text{C}$. Após o repouso, as misturas reacionais foram secas à temperatura ambiente em capela com exaustão. Os produtos de **4** foram individualmente solubilizados em CHCl_3 e submetidos à CCDP (Hexano/ AcOEt 3:7, 3 x eluída), resultando em **4a** (2,8 mg) e **4b** (2,2 mg). Os produtos de **3**, **7**, **8** e **9** foram **3a** (2,3 mg), **7a** (18,5 mg), **8a** (40,1 mg) e **9a** (6,2 mg), respectivamente.

Todos os compostos naturais e respectivos derivados foram analisados por RMN 1D e 2D e/ou EM.

4.3.2 Acetilação com anidrido acético

O composto **7** (35,9 mg) foi dissolvido em piridina previamente seca (1,0 mL) e submetido à acetilação com anidrido acético (1,0 mL). A mistura reacional foi mantida em repouso à temperatura ambiente por sete dias, o que levou a obtenção de **7b** (44,4 mg). O produto obtido foi seco em capela com exaustão. O composto **7b** foi analisado por RMN 1D e 2D.

4.4 Metodologia para bioensaios

4.4.1 Metodologia para ensaios de avaliação atividade inseticidas com *Anticarsia gemmatalis*

Os testes de susceptibilidade foram desenvolvidos com participação do Dr. Leandro Vieira, sob supervisão do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP. A metodologia empregada nestas avaliações foi àquela descrita por Messiano e colaboradores (2008), da qual um resumo é apresentado a seguir.

Os experimentos envolvendo larvas e adultos de *Anticarsia gemmatalis* foram realizados em conformidade com as leis e as diretrizes institucionais apropriadas, e foram aprovados pelo comitê de ética da UNESP (CEBEA-023071-07). Os adultos de *A. gemmatalis* foram coletados no campo e acondicionados em gaiolas apropriadas para reprodução à temperatura de 27 ± 2 °C, umidade relativa de $80 \pm 10\%$, fotoperíodo de 14 horas e dieta artificial apropriada. Após a oviposição e a eclosão dos ovos, as lagartas foram transferidas para uma câmara climatizada tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) sob as mesmas condições dos adultos, onde permaneceram até completar seu ciclo de desenvolvimento. Determinou-se a solubilidade máxima de FA(1996) e CA(1996) e de **II-V**, **IX** e **4** em solventes atóxicos para *A. gemmatalis*. A partir de cada uma dessas soluções, de três a cinco novas soluções foram obtidas por diluições sucessivas: 3,8; 7,5; 15,0; 30,0 e 60,0 mg/mL de FA(1996); 10,0; 20,0 e 40,0 mg/mL de CA(1996); 0,6; 1,2; 2,5; 5,0 e 10,0 mg/mL de **II**, **III**, **V** e **4**; 1,2; 2,5; 5,0 e 10,0 mg/mL de **IV** e 0,5; 0,9; 1,9; 3,8 e 7,5 mg/mL de **IX**. As diversas soluções de extratos e de substâncias isoladas de *A. ridicula* foram

então individualmente aplicadas topicamente no mesotórax de larvas de *A. gemmatalis* no terceiro "instar" (5 a 6 dias de fase larval), em doses de 1,0 μ L, utilizando-se um micro-aplicador. Os tratamentos-controle foram realizados com a aplicação de iguais volumes de solvente puro (acetona ou etanol) sobre os insetos testados. Os tratamentos foram replicados três vezes, utilizando-se em cada tratamento dez insetos. As avaliações foram efetuadas 72 horas após a aplicação das soluções. As respostas obtidas foram interpretadas como sobrevivência ou morte, sendo esta última considerada quando as lagartas não apresentavam respostas a estímulos mecânicos (respostas a toques). Das lagartas sobreviventes, avaliou-se a viabilidade pupal e massa pupal. As soluções de extratos ou de substâncias isoladas de *A. ridicula* que provocaram redução mínima de 20% na viabilidade pupal aferida após 72 h da aplicação tópica (vp_{72}) e na viabilidade pupal total aferida ao final do ciclo de desenvolvimento do inseto-modelo (vp_t) foram consideradas promissoras. A análise estatística para determinar a Diferença Mínima Significativa (DMS) para a massa média de pupa foi feita utilizando-se o teste de Tukey.

4.4.2 Metodologia para ensaios de avaliação de atividade antiplasmódicos *in vitro* com *Plasmodium falciparum*

Os ensaios antiplasmódicos *in vitro* com *P. falciparum* foram desenvolvidos pelo Dr. Fernando P. Varotti e pela MSc. Luísa G. Krettli, sob a supervisão da Dr^a. Antoniana Ursine Krettli, no Laboratório de Malária da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCruz) em Belo Horizonte – MG. A metodologia utilizada para a realização destes ensaios foi àquela descrita por Andrade Neto e colaboradores (2007) , da qual um resumo é apresentado a seguir.

Utilizou-se a cepa de *P. falciparum* BH₂ 26/86 cloroquina-resistente W2, obtida de casos de malária da região amazônica . Os parasitas foram mantidos em cultura de eritrócitos humanos (sangue tipo AB ou A, utilizando meio RPMI 1640 suplementado com 10% de soro humano). O efeito antiparasitário dos extratos da primeira coleta de *A. ridicula* [FS (1,0 g), CS (1,1 g), FE (1,1 g), CE (1,0 g), FA (1,1 g), CA (1,1 g), FH (1,0 g) e CH (1,0 g)] e dos flavonóides [II (6,9 mg), IV (5,9 mg), V (6,4 mg), IX (14,7 mg) e 4 (12,8 mg)] foi medido pela porcentagem de inibição do crescimento do parasita em relação ao controle (parasitas cultivados em meio não tratado), utilizando-se incorporação química de [³H]-hipoxantina como indicador de

parasitemia. As amostras testadas foram diluídas em solução de 0,02% de Tween-20 no meio de cultura (RPMI 1640). As soluções-estoque foram diluídas em meio completo (RPMI 1640 suplementado com 10% de soro humano) para alcançar cada uma das concentrações usadas (até 50 µg/mL para os flavonóides e de 25 e 50 µg/mL para os extratos). As culturas com trofozoítas em sangue com sorbitol-sincronizado de 1 a 2% de parasitemia e 2,5% de hematócrito (2,5% de hemácias presentes no sangue) foram então incubadas com as soluções dos extratos e dos flavonóides de *A. ridícula* por período de 72 horas a 37 °C. O controle positivo com cloroquina e o controle com meio de cultura com solução de Tween 20 foram usados em cada experimento. A inibição do crescimento do parasita foi avaliada pelos níveis de incorporação química de [³H]-hipoxantina, a qual foi adicionada os três meios de cultura. Esses meios foram incubados por período de 18 h a 37 °C, e então as leituras de radiação β foram feitas possibilitando construir as curvas de dose-resposta. A Concentração Inibitória de 50% (IC₅₀) foi estimada e comparada com a do controle positivo por interpolação linear utilizando o software Origin[®]. Cada experimento foi realizado em triplicata e o mesmo foi repetido três vezes. Os resultados foram obtidos utilizando o método duplo-cego. Os dados obtidos foram definidos como ativo (IC₅₀ < 25 µg/mL), parcialmente ativo (25 ≤ IC₅₀ ≤ 50 µg/mL) e inativo (IC₅₀ > 50 µg/mL).

4.4.3 Metodologia para ensaios de avaliação de atividade antimicobacteriana *in vitro* com *Mycobacterium tuberculosis*

Os ensaios antimicobacterianos *in vitro* com *M. tuberculosis* foram realizados pela MSc. Karina Andrade de Prince, sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Clarice Queico Fujimura Leite, no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP. A atividade antimicobacteriana extracelular foi determinada utilizando-se adaptação do método colorimétrico denominado "Microplate Alamar Blue Assay" (MABA). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada utilizando-se a metodologia padronizada por Sato (1998)⁹⁹, da qual um resumo é apresentado a seguir.

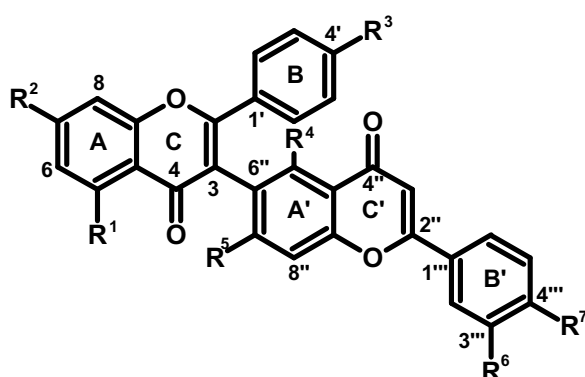
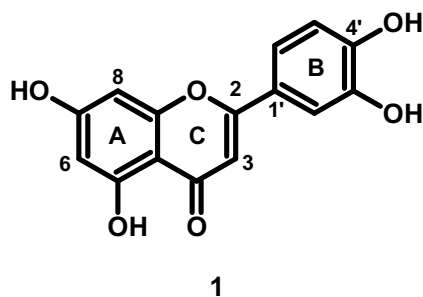
Os extratos de *A. ridícula* da primeira coleta: FS (32,5 mg), CS (35,1 mg), FE (35,4 mg), CE (32,7 mg), FA (36,6 mg), CA (30,2 mg), FH (36,6 mg) e CH (32,5 mg) e uma alíquota de isoniazida (controle positivo) foram separadamente solubilizados

em DMSO. Uma alíquota de cada uma dessas soluções foi individualmente aplicada em um orifício de uma microplaca de 96 orifícios (tipo Elisa). Em seguida foram realizadas diluições sucessivas destas soluções no caldo 7H9 (Middlebrook 7H9) de maneira a se obter concentrações variáveis dos extratos (de 250 µg/mL a 3,9 µg/mL) e da isoniazida (de 1,0 a 0,010 µg/mL). A cepa de *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) foi cultivada no caldo 7H9 a 37 °C até atingir a turvação igual à escala McFarland nº 1. A cultura foi diluída 25 vezes, então um volume de 100,0 µL foi inoculada em cada um dos orifícios contendo as soluções dos extratos e da isoniazida. A microplaca foi selada e incubada a 37 °C. Após cinco dias de incubação, adicionou-se 25,0 µL de “Alamar Blue” (azul de Alamar) em Tween 80 10,0% (1:1) às soluções controle de cepa micobacteriana e controle de meio. A microplaca foi reincubada a 37 °C por 24 horas. Após este período, realizou-se a leitura visual. Ao se obter desenvolvimento de cor rósea na solução controle de cepa micobacteriana, adicionou-se 25,0 µL de azul de Alamar em Tween 80 10,0% (1:1) nas soluções bioensaiadas. A microplaca foi reincubada a 37 °C por 24 horas. Após este período, realizou-se a leitura final. A manutenção da cor azul nas soluções bioensaiadas foi interpretada como ausência de crescimento bacteriano, enquanto a alteração para rosa foi interpretada como presença de crescimento bacteriano. A CIM foi definida como sendo a menor concentração de substância capaz de inibir o crescimento de 90% da cepa de *M. tuberculosis*. Cada experimento foi realizado em duplicata e o mesmo foi repetido três vezes. Os resultados foram definidos como ativo (CIM ≤ 125 µg/mL) ou inativo (CIM > 125 µg/mL).

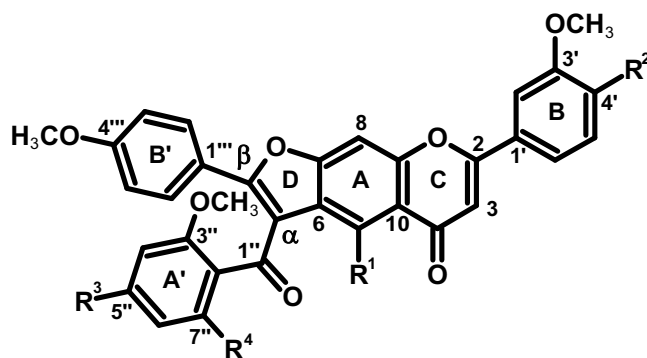
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Substâncias isoladas

O estudo fitoquímico dos extratos acetônico de folhas e etanólico de caules de *Aristolochia ridicula* H.B.K. resultou no isolamento e na determinação estrutural de dezessete substâncias, sendo o flavonóide luteolina (**1**), duas biflavonas [ridiculuflavonas D (**2**) e C (**3**)], a chalcona-flavona ridiculuflavonilchalcona B (**4**), o tetraflavonóide ridiculuflavonilchalcona C (**5**), três alcalóides [(±)-coclorina, (-)-cloreto de *N*-steponina e (-)-metilwarifteina], a alcalamida *N*-trans-feruloil-tiramina, duas ribonolactonas [(+)-2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona e seu derivado 3,5-bis(tripolifosfato)], o derivado glucosídico etil-β-D-glucopiranosídeo, o ácido 2-butinodióico (**14**) e três de seus derivados carboxilatos [3-hidroxipropanoato (**15**), acetato (**16**) e formiato (**17**)]. Além destes compostos, seis derivados metilados [ridiculuflavonas E (**3a**), ridiculuflavonas D (**4a**), ridiculuflavonas E (**4b**), cloreto de (-)-*N*-metiltetraidropalmatina (**7a**), (-)-dimetilwarifteina (**8a**) e *N*-trans-metilferuloil-metiltiramina (**9a**)] e um acetilado [cloreto de (-)-2,9-diacil-*N*-steponina (**7b**)] foram obtidos e auxiliaram na determinação estrutural dos respectivos produtos naturais (Figura 7, p. 74).

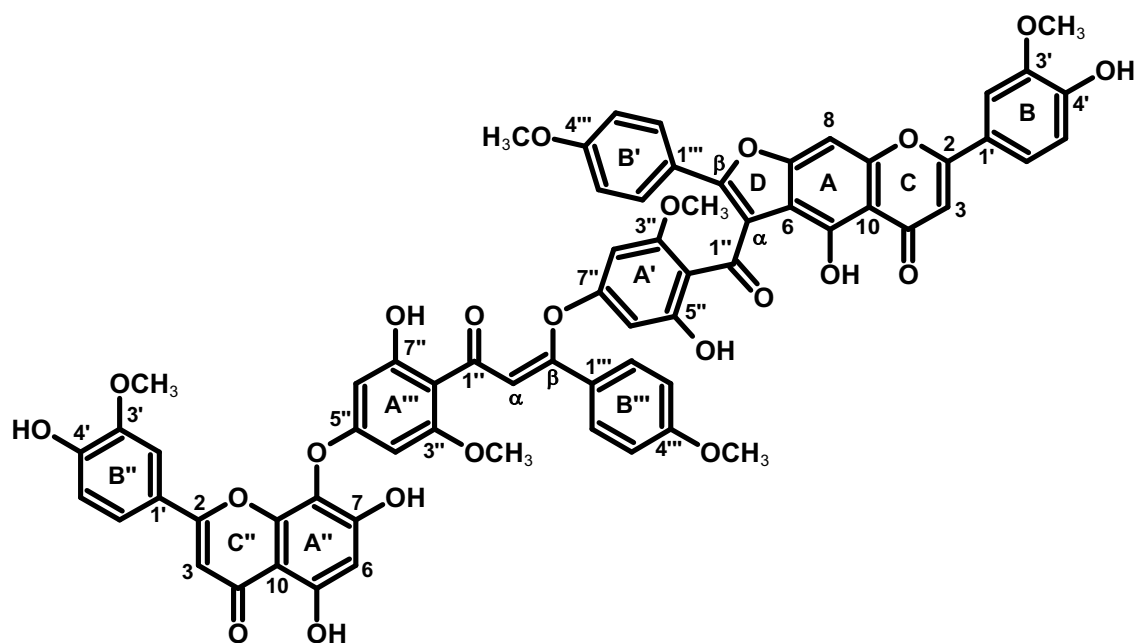


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷
2	OH	OCH ₃	OH	OH	OH	OH	OH
3	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	OH
3a	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃

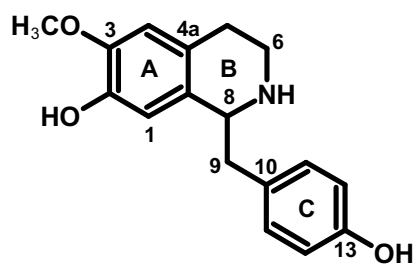


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
4	OH	OH	OH	OH
4a	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH
4b	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃

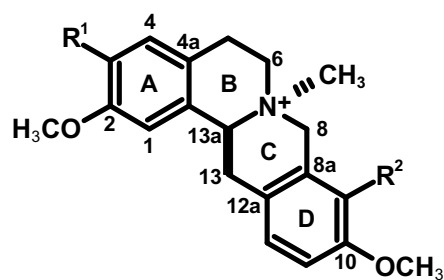
Figura 7. Estruturas moleculares das substâncias isoladas e derivatizadas no presente trabalho.



5

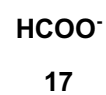
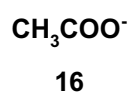
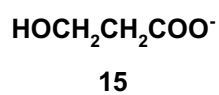
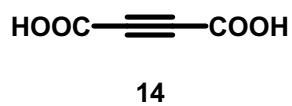
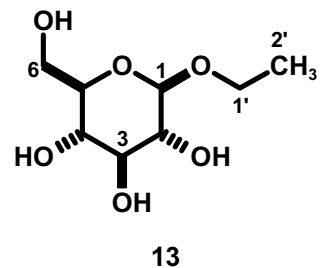
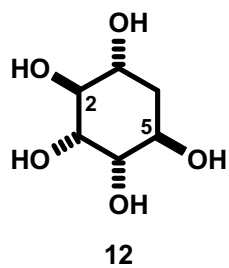
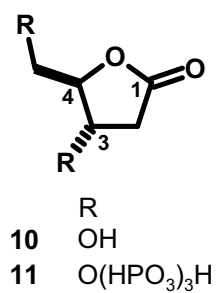
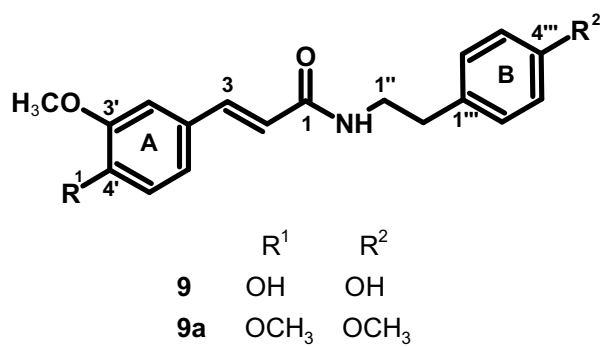
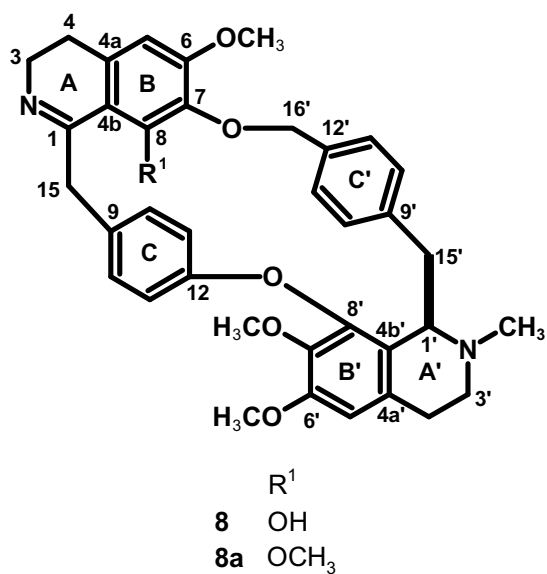


6



	R ¹	R ²
7	OH	OH
7a	OCH ₃	OCH ₃
7b	O(CO)CH ₃	O(CO)CH ₃

Continuação da Figura 7.



Continuação da **Figura 7**.

5.2 Considerações gerais sobre o isolamento e a determinação estrutural dos constituintes químicos de *A. ridicula*

A metodologia adotada para o isolamento dos flavonóides **1-5** a partir dos extratos acetônico de folhas e etanólico de caules de *A. ridicula* mostrou-se complexa devido ao elevado número de etapas

de fracionamento, associado à utilização de diferentes técnicas de separação (lavagem, partição, precipitação e cromatografia). Esse procedimento experimental adotado pode ser justificado em parte pela elevada polaridade e complexidade química dos extratos (Figura 33, p. 165 e Figura 34, p. 166).

A utilização de diferentes técnicas cromatográficas para o isolamento de biflavonóides (CCCAE¹⁰⁰, CMP⁹³ e CLAE¹⁰¹) vem mostrando resultados promissores¹⁰². Contudo, baseando-se nos trabalhos descritos na literatura, verifica-se que a maioria das metodologias adotadas para o isolamento de poliflavonóides, com mais de duas unidades flavonoídicas, é feita por meio de várias etapas de fracionamento e raramente utiliza-se técnicas cromatográficas elaboradas. Partições com solventes de diferentes grupos químicos, associadas a métodos cromatográficos por permeação em gel (LH-20) parece ser uma tendência geral para obtenção de frações enriquecidas com poliflavonóides, os quais podem ser purificados por métodos cromatográficos, por exemplo CLAE.

As metodologias clássicas utilizadas para o isolamento direcionado de alcalóides empregam partições ácido-base (HCl-NH₄OH), seguidas por fracionamentos cromatográficos convencionais (CC e CCDP em sílica gel), monitorados com reveladores químicos (ex. Dragendorff) ainda são bastante utilizados¹⁰³. Contudo, para o isolamento dos alcalóides **6-8** e da amida **9** a partir do extrato etanólico de caules de *A. ridicula* utilizou-se metodologia semelhante à adotada para os flavonóides **1-5**. Nas etapas de purificação desses compostos foram empregados, sobretudo, métodos cromatográficos simples (CCDP e/ou CC, principalmente com sílica gel) com fases móveis alcalinizadas com hidróxido de amônio na maioria das vezes. Sob essas condições cromatográficas, o alcalóide BBIQ **8** foi obtido a partir de nove subfrações, sendo todas originárias da subfração CEI-2, a qual foi previamente fracionada por CC (ODS, MeOH/H₂O→MeOH→ACN). Este comportamento cromatográfico "não usual" pode ser explicado devido à existência de confômeros relativamente estáveis desse tipo de alcalóide em fase reversa. Este fato foi também constatado por Tshibangu e colaboradores (2003) que

isolaram dois confôrmers do alcalóide BBIQ S,S-12-O-metilcurina por CLAE em fase reversa¹⁰³.

Outras técnicas cromatográficas elaboradas, por exemplo, Eletroforese Capilar¹⁰⁴, vêm sendo utilizadas para analisar qualitativamente a presença de alcalóides do tipo BBIQs em matrizes vegetais e apresentam excelentes resultados. Outros tipos de fases cromatográficas, como gel de troca iônica, têm sido empregados para o isolamento de sais alcaloídicos e apresentam resultados interessantes, por exemplo, para o isolamento de haletos de magnoflorina¹⁰⁵. A purificação de alcalóides por CCDP pode resultar no isolamento de quantidades diminutas (miligramas) dos mesmos em consequência da perda considerável por adsorção à fase estacionária¹⁰³. Porém, essa técnica é ainda amplamente utilizada para a obtenção de alcalóides devido à sua simplicidade, rapidez e custo relativamente menor que as demais técnicas de purificação. Particularmente, para a purificação do sal alcaloídico **7**, a cromatografia por permeação em gel (LH-20, MeOH) (Esquema 16, p. 68) mostrou-se mais eficaz quando comparada à CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ com NH_4OH) (Esquema 11, p. 66).

Os compostos **10-17** foram isolados a partir do extrato etanólico de caules (CE). O ciclitol **12** já havia sido isolado do extrato acetônico de folhas (FA) em estudos anteriores utilizando-se uma metodologia semelhante à descrita nesse trabalho. Entre essas substâncias, destaca-se também o alcino **14**, isolado a partir do fracionamento cromatográfico de CEI (Esquema 9, p. 64), e de seus três prováveis derivados (**15-17**) isolados a partir do fracionamento cromatográfico em meio alcalino de CEI-3-N (Esquema 16, p. 68).

A determinação estrutural dos compostos **1-17** envolveu fundamentalmente a utilização das técnicas espectrométricas de RMN 1D e 2D e/ou de EM. Dentre esses compostos, destacam-se **3**, **4**, **7** e **8**, cujos derivados metilados (**3a**, **4a**, **4b**, **7a** e **8a**) e acetilados (**7b**) foram obtidos e analisados por RMN 1D e 2D e EM, os quais fornecerem subsídios para a determinação estrutural de seus respectivos produtos naturais.

5.3 Determinação estrutural de 1-5 e dos derivados 4a e 4b

5.3.1 Luteolina (1)

A análise do espectro de RMN de ^1H de **1** revelou um par de dubletos em δ 6,20 ($d, J = 2,2$ Hz) e 6,44 ($d, J = 2,2$ Hz) e três sinais em δ 6,90 ($d, J = 9,0$ Hz), 7,37 ($d, J = 2,0$ Hz) e 7,40 ($ddl, J = 9,0$ e $2,0$ Hz), caracterizando a presença de um anel aromático tetrassubstituído e um trissubstituído, respectivamente, além de um singlete em δ 6,54 (Figura 35, p. 167). A análise comparativa dos dados de RMN de ^1H de **1** com os dados do monoflavonóide luteolina (3',4',5,7-tetraidroxiflavona)¹⁰⁶ sugere que se tratam da mesma substância (Figura 8). Ainda não se encontra descrita na literatura a ocorrência desta substância em espécies de Aristolochiaceae.

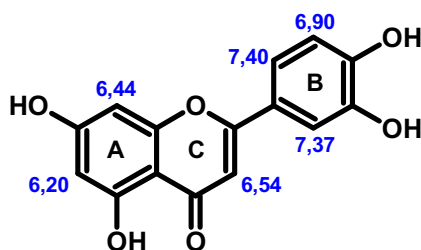


Figura 8. Estrutura molecular de **1** com deslocamentos químicos de hidrogênio (δ).

5.3.2 Ridiculoflavonas D (**2**), C (**3**) e E (**3a**)

Os dados de RMN de ^1H de **2** em CD_3OD (Figura 36, p. 168) e de **3** em CD_3CN (Figura 37, p. 169) apresentam-se muito similares, exceto pela presença de um singlete referente a uma metoxila aromática (δ 3,90) para **2** e três singletos referentes a três metoxilas aromáticas (δ 3,78, 3,89 e 3,98) para **3**. As análises dos espectros de RMN de ^1H e $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de **2** (Figura 38, p. 170) e de RMN de ^1H de **3** evidenciaram dois singletos (**2**: δ 6,51 e 6,55; **3**: δ 6,59 e 6,66), um par de dubletos [**2**: δ 6,45 ($d, J = 2,0$ Hz) e 6,53 ($d, J = 2,0$ Hz); **3**: δ 6,46 ($d, J = 2,3$ Hz) e 6,57 ($d, J = 2,3$ Hz)], três conjuntos de sinais [**2**: δ 6,92 ($d, J = 9,0$ Hz), 7,41 ($dd, J = 9,0, 1,0$ Hz) e 7,40 ($d, J = 1,0$ Hz); **3**: δ 7,00 ($d, J = 8,5$ Hz), 7,53 ($d, J = 2,3$ Hz) e 7,56 ($dd, J = 8,5$ e $2,2$ Hz)], bem como outro par de dubletos duas vezes mais intensos [**2**: δ 6,70 ($d, J = 9,0$ Hz) e 7,43 ($d, J = 9,0$ Hz); **3**: δ 6,87 ($d, J = 9,0$ Hz) e 7,53 ($d, J = 9,0$ Hz)], permitindo caracterizar a presença de H-3" (**2**: δ 6,55, **3**: δ 6,63) e de sistemas aromáticos pentassubstituído, tetrassubstituído, trissubstituído e *para*-substituído para cada composto (Tabela 2, p. 85 e Tabela 3, p. 86).

O espectro de RMN de ^1H de **2** em CD_3CN (Figura 39, p. 171) apresenta dois sinais de hidrogênios distintos (δ 13,58 e 13,80) relativos a hidrogênios com ligação de hidrogênio intramolecular com oxigênios carbonílicos, enquanto que o espectro de RMN de ^1H de **3** apresenta um sinal em δ 13,24 relativo a um hidrogênio com ligação de hidrogênio com oxigênio da carbonila.

O espectro de RMN de ^{13}C de **2** em CD_3OD apresenta mais de quinze sinais de carbonos flavonoídicos, dos quais dois são nitidamente duas vezes mais intensos (δ 115,9 e 130,9), dois absorvem em frequências altas (δ 178,6 e 183,8) e um absorve em frequência mais baixa (δ 56,4), caracterizando a presença de um sistema aromático *para*-substituído, de duas carbonilas conjugadas e de uma metoxila aromática, respectivamente (Figura 40, p. 172). A análise do espectro de massas de alta resolução evidenciou a molécula desprotonada $[\text{M}-\text{H}]^-$ de m/z 567,0921 (100%) (calculado para: $\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_{11}-\text{H} = 567,0922$) para **2** (Figura 41, p. 173) e cationizadas com sódio de $[\text{M}+\text{Na}]^+$ de m/z 619,1250 (45%) ($\text{C}_{33}\text{H}_{24}\text{O}_{11}+\text{Na} = 619,1216$) para **3** (Figura 42, p. 173), sugerindo as fórmulas moleculares $\text{C}_{31}\text{H}_{21}\text{O}_{11}$ para **2** e $\text{C}_{33}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$ para **3**, as quais contêm 22 insaturações.

A análise comparativa dos deslocamentos químicos dos carbonos C-6 e C-8 e dos hidrogênios H-6 e H-8 entre as subestruturas A, B e C, abstraídas de compostos biflavonoídicos utilizados como modelos ^{42, 43}, sugere que a posição dos substituintes hidroxílico e metoxílico presentes nos anéis A de **2** e de **3** seja compatível com as subestruturas C e B, respectivamente (Figura 9).

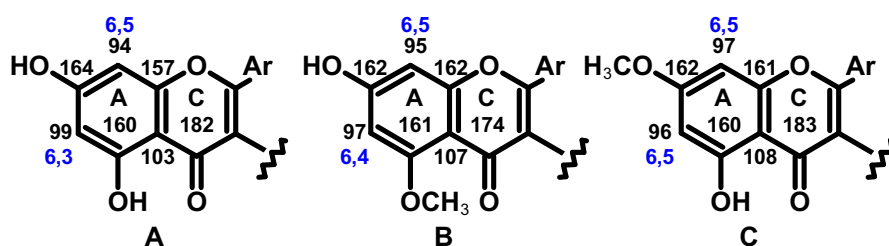


Figura 9. Deslocamentos químicos de H-6, H-8 e de C-4 a C-10, para esqueletos alternativos de biflavonas (δ) ^{42, 43}.

Os dados espectrométricos de RMN de ^1H e ^{13}C , IV (Figura 43, p. 174) e UV (Figura 44, p. 174) e EM de **2** são muito similares aos da biflavona ridiculuflavona B (II). A análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C de **2** com os dados da ridiculuflavona B (II) revelou variações de deslocamentos químicos significativos

apenas para os carbonos C-2, C-4 e C-7'', sendo este último o carbono metoxilado da ridiculuflavona B (II). A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **2** confirma a presença de OH fenólicos ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3345 cm^{-1}) e de C=C ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 1628 cm^{-1}), semelhantes aos da ridiculuflavona B (II). O espectro de absorção na região do ultravioleta de **2** apresenta máximos de absorção nos comprimentos de onda 262 nm ($\log \epsilon$ 4,3) e 334 nm ($\log \epsilon$ 4,2), os quais são também similares aos da ridiculuflavona B (II).

Analizando os dados apresentados para **2**, juntamente com os dados obtidos pelo espectro de *g*NOESY 1D (Figura 45, p. 175) e pelos mapas de contornos *g*HMQC e *g*HMBC de **2** em CD_3OD (Figura 46, p. 176 e Figura 47, p. 178, respectivamente) foi possível determinar a presença de duas unidades do tipo flavona unidas possivelmente por C-3 (δ 114,8) e C-6'' ou C-8'' (δ 108,0), uma vez que as correlações entre H-8'' (δ 6,51) com C-7'' (δ 164,7) e C-9'' (δ 159,0) foram observadas, bem como a posição do anel B pelas correlações entre H-2' (δ 7,43), H-6' (δ 7,43) e C-2 (δ 163,1) e do anel B' pela correlação entre H-3'' (δ 6,55) e C-1''' (δ 123,8), e pela interação espacial entre H-3'' e H-2''' (δ 7,40). Foi possível inferir também a posição da OCH_3 -7 (δ 3,90) pela interação espacial destes hidrogênios com H-8 (δ 6,45) (Figura 10). Comparando-se esses dados com os da biflavona ridiculuflavona B (II)⁴³, a estrutura de **2** pode ser estabelecida, onde a união das unidades flavonoídicas se dá por C-3 e C-6''.

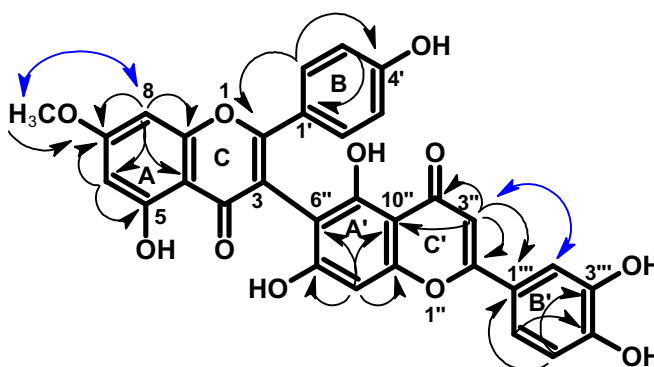
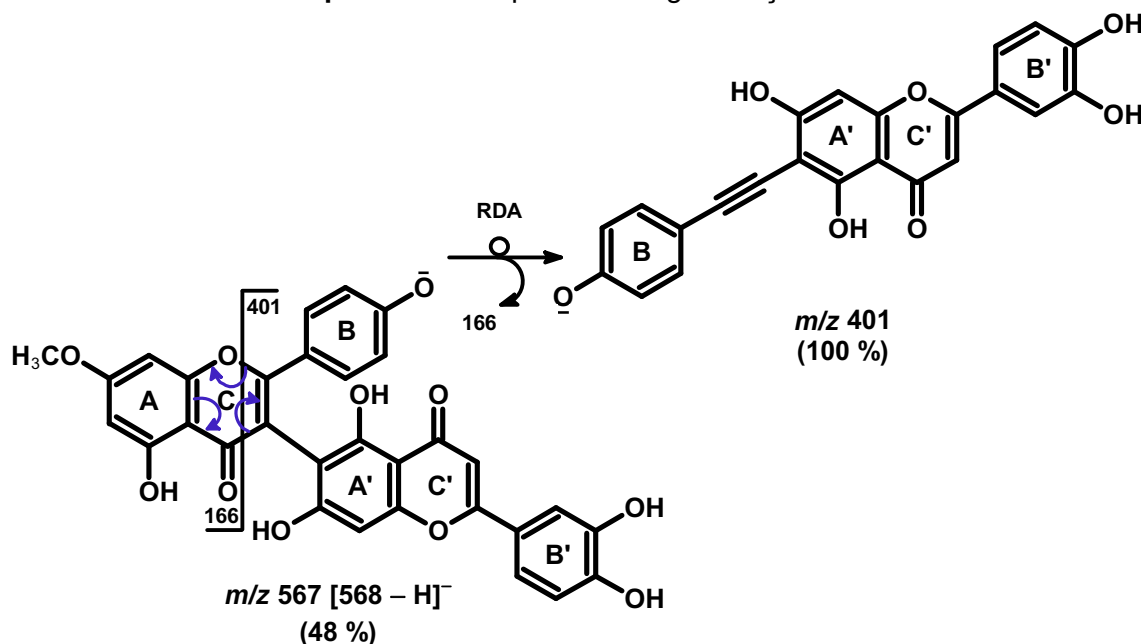


Figura 10. Principais interações observadas nos experimentos *g*NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) e *g*HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **2**.

A análise detalhada do espectro de massas-massas do fragmento m/z 567,09 (48%) de **2** (Figura 48, p. 180) revelou o rearranjo do tipo *retro* Diels-Alder (RDA) a partir da molécula desprotonada $[M-H]^-$, levando à formação do fragmento de m/z 401,07 ($C_{23}H_{14}O_7-H$, 100%), o que confirmou a posição da OCH_3 -7 no anel A (Esquema 17).

Esquema 17. Proposta de fragmentação de **2**



Portanto, a análise conjunta dos dados espectrométricos de **2**, associado aos dados descritos na literatura, está de acordo com a estrutura biflavônica constituída por uma unidade de apigenina metoxilada em C-7 (genkwanina) e outra de luteolina, unidas pelos carbonos C-3 (δ 114,8) e C-6'' (δ 108,0). Esta nova biflavona foi denominada de ridiculuflavona D¹⁰⁷.

A análise dos dados apresentados de **3**, juntamente com os dados obtidos dos espectros de *g*NOESY 1D em DMSO- d_6 (Figura 49, p. 181), bem como dos mapas de contornos *g*HMQC (Figura 50, p. 182) e *g*HMBC (Figura 51, p. 184) em DMSO- d_6 sugerem que esta substância seja uma biflavona com o esqueleto carbônico semelhante ao de **III** ou **IV**. A comparação dos deslocamentos químicos de C-6 (δ 96,6) e C-8 (δ 94,2) e H-6 (δ 6,46) e H-8 (δ 6,57) de **3** com os de **III** e **IV** sugere que as posições dos substituintes hidroxílico e metoxílicos de **3** sejam compatíveis com aquelas da estrutura de **III** (Figura 11, p. 83).

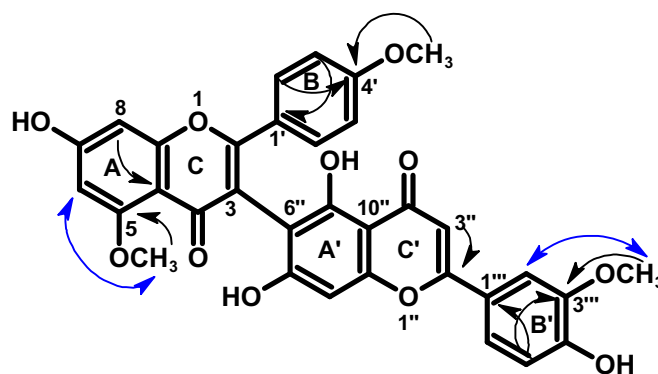
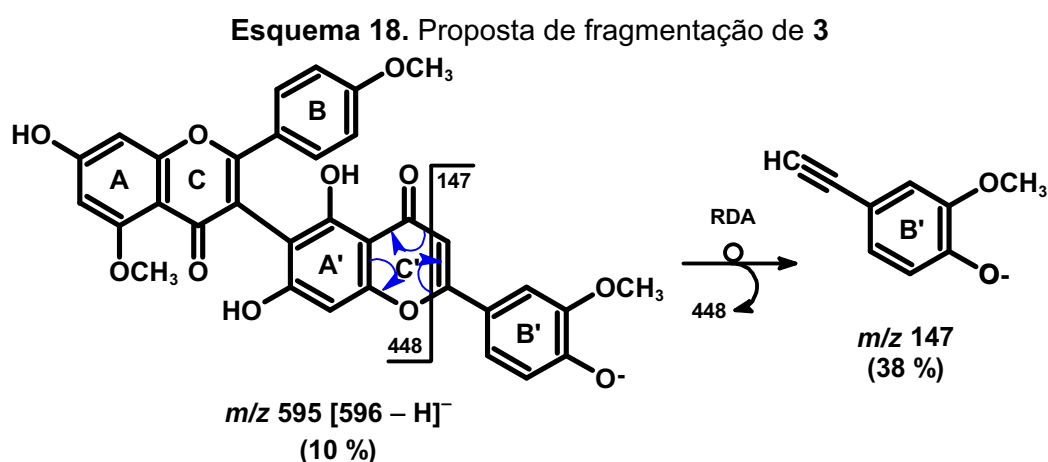


Figura 11. Principais interações observadas nos experimentos g NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) e g HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **3**.

O espectro de massas de baixa resolução de **3** (Figura 52, p. 186) corrobora a proposta de esqueleto carbônico sugerida para essa estrutura, pois evidencia o fragmento de m/z 147, sugerindo o rearranjo do tipo *retro* Diels-Alder envolvendo o anel C' (Esquema 18).



Contudo, devido ao número reduzido de sinais de ^{13}C observados com auxílio dos mapas de contornos g HMQC e g HMBC, obteve-se a partir de **3** o derivado metilado **3a**, o qual foi isolado e, finalmente, caracterizado pelas análises dos experimentos de RMN 1D e 2D, IV, UV e EM de alta e baixa resoluções. A análise do espectro de massas de alta resolução de **3a** evidenciou a molécula cationizada com sódio de m/z 675,1865 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺, sugerindo a fórmula molecular $\text{C}_{37}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$ (calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{32}\text{O}_{11} + \text{Na} = 675,1842$) (Figura 53, p. 186). Uma análise conjunta dos dados apresentados, juntamente com os dados obtidos pelos

experimentos de RMN de ^1H (Figura 54, p. 187), $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ (Figura 55, p. 189), $g\text{NOESY 2D}$ (Figura 56, p. 190), $g\text{HMQC}$ (Figura 57, p. 191) e $g\text{HMBC}$ (Figura 58, p. 193) de **3a**, permitiu confirmar que o padrão de substituição dos anéis B e B' de **3** está de acordo com **III**, uma vez que se observa correlações de H-2' (δ 7,38) e de H-6' (δ 7,38) com C-2 (δ 160,2) no mapa de contornos $g\text{HMBC}$, bem como o padrão de ligação intraflavonoídica, devido as correlações de H-8'' (δ 6,70) com C-6'' (δ 116,2), C-9'' (δ 159,2) e C-10'' (δ 112,6) (Figura 12).

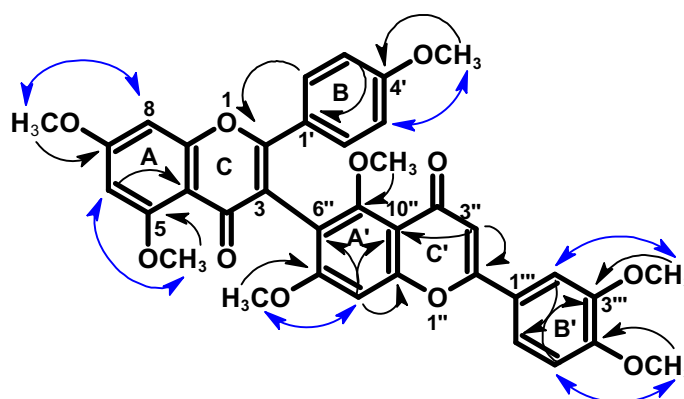


Figura 12. Principais interações observadas nos experimentos $g\text{NOESY 1D } (^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H})$ e $g\text{HMBC } (^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C})$ para **3a**.

O padrão de ligação intraflavonoídico observado para as biflavonas **I-IV**, **2**, **3** e **3a** é pouco usual. A ocorrência de biflavonóides com esse tipo de ligação intraflavonoídica (C-3-C-6'') limita-se às plantas *A. ridicula*^{42, 43} e *Stephania tetrandra* (Menispermaceae).

Tabela 2. Dados de RMN de ^{13}C de **2**, **3** e **3a** (δ)

C e H	2 ^a		3 ^b		3a ^c	
	δ $^{13}\text{C}^d$	<i>g</i> HMBC	δ $^{13}\text{C}^d$	<i>g</i> HMBC	δ $^{13}\text{C}^d$	<i>g</i> HMBC
2	163,1 <i>s</i>	H-2', H-6'	^g		160,2 <i>s</i>	H-2', H-6'
3	114,8 <i>s</i>		^g		^g	
4	178,6 <i>s</i>		^g		^g	
5	161,4 <i>s</i>	H-6	161,6 ^e <i>s</i>	OCH ₃ -5	161,6 <i>s</i>	OCH ₃ -5
6	96,3 <i>d</i>	H-8	96,6 ^f <i>d</i>		96,0 ^e <i>d</i>	
7	162,7 <i>s</i>	H-6, OCH ₃ -7, H-8	^g		163,4 <i>s</i>	OCH ₃ -7
8	97,7 <i>d</i>	H-6	94,2 ^f <i>d</i>		92,2 ^e <i>d</i>	
9	165,4 <i>s</i>	H-8	^g		^g	
10	107,8 <i>s</i>	H-6, H-8	106,0 <i>s</i>	H-8	108,4 <i>s</i>	H-6
1'	125,7 <i>s</i>	H-3', H-5'	125,0 <i>s</i>	H-3', H-5'	125,4 <i>s</i>	H-3', H-5'
2'	130,9 <i>d</i>	H-6'	^g		129,2 <i>d</i>	
3'	115,9 <i>d</i>	H-5'	113,8 <i>d</i>		113,4 <i>d</i>	
4'	160,7 <i>s</i>	H-2', H-3', H-5', H-6'	161,4 ^e <i>s</i>	OCH ₃ -4'	162,0 <i>s</i>	OCH ₃ -4'
5'	115,9 <i>d</i>	H-3'	113,8 <i>d</i>		113,4 <i>d</i>	
6'	130,9 <i>d</i>	H-2'	^g		129,2 <i>d</i>	
2''	166,3 <i>s</i>	H-3''	164,5 <i>s</i>	H-3''	160,8 <i>s</i>	H-3''
3''	103,9 <i>d</i>		103,8 <i>d</i>		107,8 <i>d</i>	
4''	183,8 <i>s</i>	H-3''	^g		^g	
5''	161,8 <i>s</i>		^g		161,2 <i>s</i>	OCH ₃ -5'' ou OCH ₃ -7''
6''	108,0 <i>s</i>	H-8''	^g		116,2 <i>s</i>	H-8''
7''	164,7 ^e <i>s</i>	H-8''	^g		158,2 <i>s</i>	OCH ₃ -7'' ou OCH ₃ -5''
8''	94,8 <i>d</i>		^g		95,0 <i>d</i>	
9''	159,0 ^e <i>s</i>	H-8''	^g		159,2 <i>s</i>	H-8''
10''	105,1 <i>s</i>	H-3'', H-8''	^g		112,6 <i>s</i>	H-3'', H-8''
1'''	123,8 <i>s</i>	H-3'', H-5'''	123,0 <i>s</i>	H-5'''	124,0 <i>s</i>	H-5'''
2'''	114,2 <i>d</i>	H-6'''	^g		108,5 <i>d</i>	
3'''	147,1 <i>s</i>	H-2''', H-5'''	147,5 <i>s</i>	OCH ₃ -3''', H-5'''	149,2 <i>s</i>	OCH ₃ -3''', H-5'''
4'''	151,2 <i>s</i>	H-2''', H-5''', H-6'''	^g		151,6 <i>s</i>	OCH ₃ -4'''
5'''	116,8 <i>d</i>		^g		111,0 <i>d</i>	
6'''	120,3 <i>d</i>	H-2'''	^g		119,4 <i>d</i>	H-2'''
OCH ₃ -3'''			56,2 <i>q</i>		55,8 <i>q</i>	
OCH ₃ -4'			55,8 <i>q</i>		55,8 <i>q</i>	
OCH ₃ -4'''					55,8 <i>q</i>	
OCH ₃ -5			55,2 <i>q</i>		55,8 <i>q</i>	
OCH ₃ -5''					62,0 <i>q</i>	
OCH ₃ -7	56,4 <i>q</i>				55,8 <i>q</i>	
OCH ₃ -7''					54,6 <i>q</i>	

^a Dados obtidos em CD₃OD, 11,7 T.^b Dados obtidos em CD₃CN, 11,7 T.^c Dados obtidos em CDCl₃, 11,7 T.^d Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos *g*HMQC e *g*HMBC.^{e, f} Os valores que antecedem a mesma letra podem estar trocados na mesma coluna.^g Sinal não observado.

C e H	2 ^{a, b}		3		3 ^{a, e}	
	δ ¹ H	gNOESY 1D	δ ¹ H ^c	gNOESY 1D ^d	δ ¹ H	gNOESY 2D
6	6,53 (d, 2,0)		6,46 (d, 2,3)		6,33 ^e (d, 2,3)	OCH ₃ -5 ou OCH ₃ -7
8	6,45 (d, 2,0)		6,57 (d, 2,3)		6,50 ^e (d, 2,3)	OCH ₃ -7 ou OCH ₃ -5
2'	7,43 (d, 9,0)		7,53 (d, 9,0)		7,38 (d, 9,0)	H-3'
3'	6,70 (d, 9,0)		6,87 (d, 9,0)		6,69 (d, 9,0)	H-2', OCH ₃ -4'
5'	6,70 (d, 9,0)		6,87 (d, 9,0)		6,69 (d, 9,0)	OCH ₃ -4', H-6'
6'	7,43 (d, 9,0)		7,53 (d, 9,0)		7,38 (d, 9,0)	H-5'
3''	6,55 (s)	H-2'''	6,63 (s)		6,52 (s)	
8''	6,51 (s)		6,59 (s)		6,70 (s)	
2'''	7,40 (d, 1,0)		7,53 (d, 2,3)		7,28 (d, 2,3)	OCH ₃ -3'''
5'''	6,92 (d, 9,0)		7,00 (d, 8,5)		6,91 (d, 8,5)	OCH ₃ -4'''
6'''	7,41 (dd, 9,0, 1,0)		7,56 (dd, 8,5, 2,3)		7,45 (dd, 8,5, 2,3)	
OCH ₃ -3'''			3,98 (s)	H-2'''	3,92 (s)	H-2'''
OCH ₃ -4'			3,89 (s)		3,75 (s)	H-3', H-5'
OCH ₃ -4'''					3,90 (s)	H-5'''
OCH ₃ -5				H-6	3,86 ^f (s)	H-6
OCH ₃ -5''			3,78 (s)		3,687 ^g (s)	
OCH ₃ -7	3,90 (s)	H-8			3,85 ^f (s)	H-8
OCH ₃ -7''					3,689 ^g (s)	H-8''
OH-5''			13,24 (s)			

^a Multiplicidade estabelecida com base em experimento $a\text{COSY}^1\text{H}-\text{H}^1$.

^b Dados obtidos em CD₃OD, 11,7 T.

^c Dados obtidos em CD₃CN, 11,7 T.

^d Dados obtidos em DMSO-*d*₆, 11,7 T.

^e Dados obtidos em CCl₃, 11,7 T.

5.3.3 Ridiculoflavonilchalconas B (**4**), D (**4a**) e E (**4b**)

O espectro de RMN de ^1H de **4** evidencia a presença de sinais referentes a onze hidrogênios aromáticos, além de três singletos relativos a doze hidrogênios metoxílicos (δ 4,03; 3,86 e 3,29) e dois singletos em frequências altas (δ 13,78 e 13,51) relativos a dois hidrogênios hidroxílicos com ligação de hidrogênio intramolecular com oxigênios carbonílicos (Figura 59, p. 195). A análise mais detalhada do espectro de RMN de ^1H de **4** associada à análise do espectro *g*COSY ^1H - ^1H (Figura 60, p. 196) evidenciou dois singletos (δ 7,37 e 6,77), um par de dubletos [δ 6,09 (*d*, $J = 2,3$ Hz) e 5,90 (*d*, $J = 2,3$ Hz)], um conjunto de sinais em 7,66 (*dd*, $J = 8,3$; 2,5 Hz), 7,62 (*dl*, $J = 2,3$ Hz) e 7,05 (*dl*, $J = 8,3$ Hz) e outro par de dubletos [δ 7,68 (*d*, $J = 9,0$ Hz) e 7,02 (*d*, $J = 9,0$ Hz)], caracterizando a presença de sistemas aromáticos pentassubstituído, tetrassubstituído, trissubstituído e *para*-substituído na estrutura molecular de **4** (Tabela 4, p. 92). A análise conjunta dos experimentos de RMN de ^{13}C (Figura 61, p. 197), DEPT 135° e 90° (Figura 62, p. 199) e *g*HMQC (Figura 63, p. 200) evidenciou a presença de nove sinais referentes a carbonos metínicos e três metílicos, além de dezenove sinais referentes a carbonos quaternários. Uma análise mais detalhada do espectro de RMN de ^{13}C de **4** mostrou que dois desses sinais são nitidamente mais intensos que os demais (δ 129,0 e 115,5), caracterizando a presença de um sistema aromático *para*-substituído. Outros dois sinais em frequências altas foram observados em δ 194,2 e 185,1, indicativos de duas carbonilas conjugadas e distintas, além de três sinais característicos de metoxilas aromáticas (δ 57,1; 56,5 e 56,2) (Tabela 5, p. 93). As correlações a longa distância observadas por *g*HMBC de H-2' (δ 7,62) com C-2 (δ 166,0), C-3' (δ 148,8) e C-4' (δ 151,3); de H-3 (δ 6,37) com C-1' (δ 123,8), C-2 (δ 166,0) e C-10 (δ 107,0), bem como pelas interações espaciais entre os hidrogênios observadas por *g*NOESY 1D e 2D entre H-2' (δ 7,62) e H-3 (δ 6,77) e OCH_3 -3' (δ 4,03) permitiram definir a posição e o padrão de substituição e oxigenação do anel aromático trissubstituído (B) (Figura 64, p. 202 e Figura 66, p. 205). As correlações a longa distância observadas de OH -5 (δ 13,78) com C-5 (δ 155,7), C-6 (δ 114,3) e C-10 (δ 107,0) no mapa de contornos *g*HMBC permitiram determinar o padrão alternado de oxigenação e substituição do anel aromático pentassubstituído (A).

Desses dados, destacam-se os deslocamentos químicos em δ 194,2 e δ 3,29, referentes a um carbono carbonílico e três hidrogênios metoxílicos, respectivamente,

que sugerem a existência de uma unidade do tipo chalcona ligada à outra unidade do tipo flavona. Esta sugestão é reforçada pela presença no espectro de RMN de ^1H de **4** de dois dubletos em δ 5,90 e 6,09, em frequências mais altas que àsquelas de H-6 ($6,40 \pm 0,15$) e H-8 ($6,44 \pm 0,04$) de **I-IV** (biflavonas)^{42, 43}, porém, similares à H-4'' (δ $5,82 \pm 0,09$) e à H-6'' (δ $6,07 \pm 0,10$) de **V-VIII** e **X** (chalconas-flavonas)^{42, 43}, indicando a presença de um anel aromático tetrassubstituído de chalcona (anel A). Assim, podem ser propostas três subestruturas (**4I-4III**) para **4** como indicado na Figura 13.

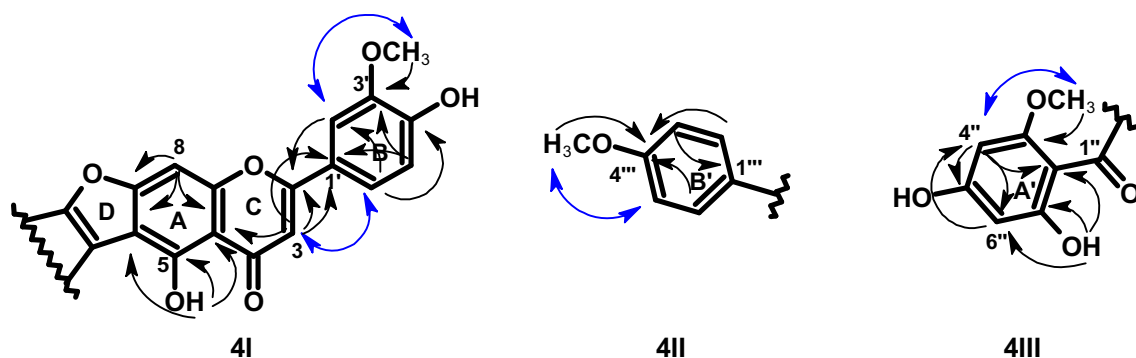
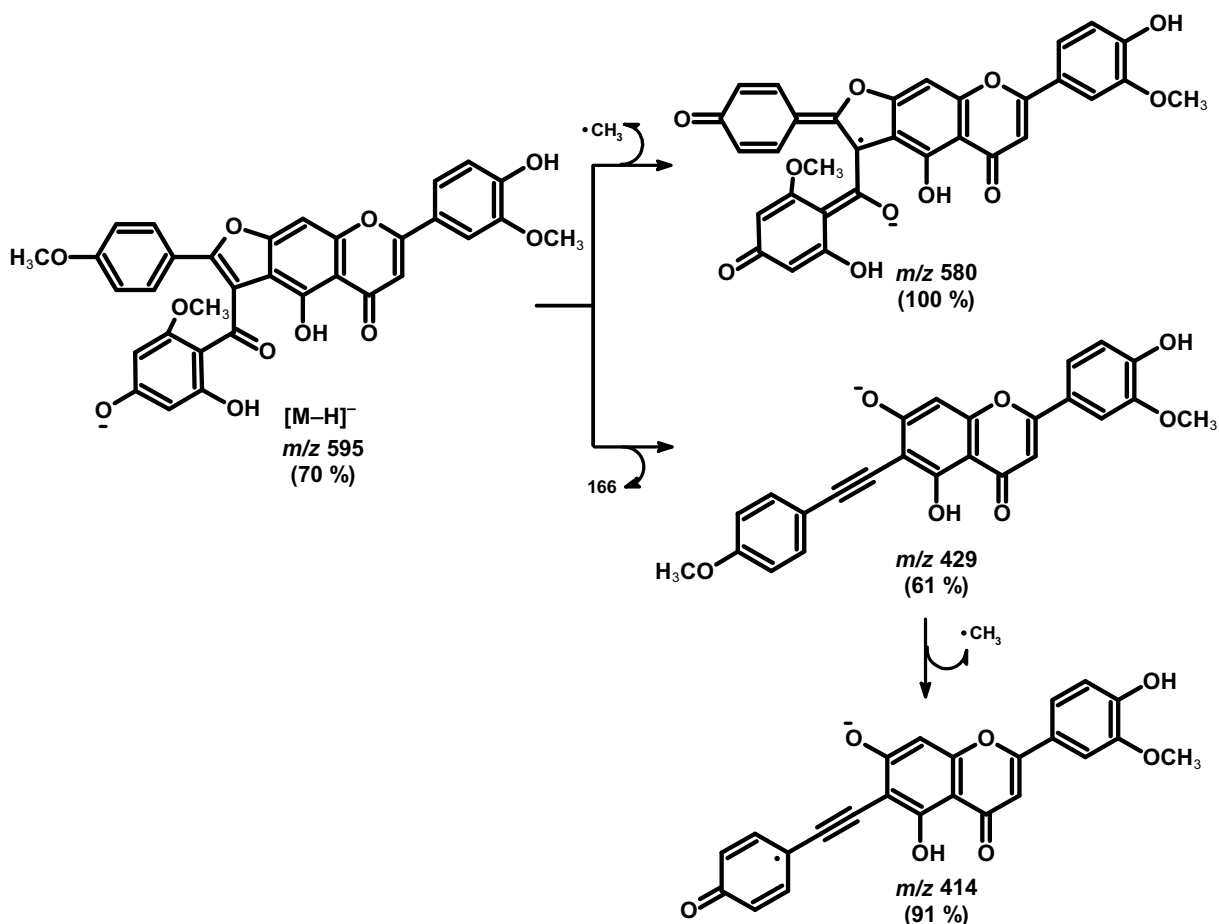


Figura 13. Principais interações observadas nos experimentos gHMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$), gNOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) e gNOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para as subestruturas (**4I-4III**) de **4**.

Os espectros de absorção na região do infravermelho de **4** confirmam a presença de OH fenólicos ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3439 cm^{-1}) e de carbonilas conjugadas e/ou C=C ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 1624 cm^{-1}) (Figura 67, p. 207). Na região do ultravioleta-visível, o composto **4** apresenta máximos de absorções em 308 nm ($\log \epsilon$ 4,6) e 342 nm ($\log \epsilon$ 4,5) (Figura 68, p. 207), os quais são similares às observadas para as chalconas-flavonas **V-VII** e os tetraflavonóides **IX** e **X**.

As ligações entre as unidades flavonoídicas poderiam ocorrer via C- α -C-6 e C- β -O-C-7 ou C- α -O-C-7 e C- β -C-6. Em ambos os casos, essas ligações levariam a formação de um anel furânico (anel D) na estrutura de **4** (Figura 13, p. 88).

A análise conjunta dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 135° e 90° revelou a presença de dois sinais referentes a dois carbonos sp^2 não hidrogenados em δ 158,7 e 114,1. Logo, duas estruturas alternativas de chalconas-flavonas **D** ou **E** são viáveis (Figura 14).

Esquema 19. Proposta de fragmentação para **4**

Deste modo, exceto pelo espectro de massas, os dados espectroscópicos obtidos para **4** são muito similares aos obtidos para o tetraflavonóide simétrico **X**, o qual foi previamente isolado dessa espécie. Com o intuito de confirmar a estrutura proposta para **4**, derivados metilados foram obtidos (**4a** e **4b**) e analisadas por métodos espectrométricos.

Os experimentos de RMN de 1H de **4a** e de **4b** evidenciam seis e sete sinais relativos a grupos metoxílicos, respectivamente (Tabela 4, p. 92, Tabela 5, p. 93, Figura 71, p. 209 e Figura 72, p. 210).

Os espectros de massas de alta resolução de **4a** e de **4b** mostram íons para ambas as moléculas cationizadas com sódio (**4a**: $[M+Na]^+$ de m/z 661,1728, **4b**: $[M+Na]^+$ de m/z 675,1872) e protonadas (**4a**: $[M+H]^+$ de m/z 639,1900, **4b**: $[M+H]^+$ de m/z 653,2057), compatíveis com as fórmulas moleculares $C_{36}H_{30}O_{11}$ e $C_{37}H_{32}O_{11}$, respectivamente (Figura 73, p. 212 e Figura 74, p. 212).

As metilações dos grupos hidroxílicos nos anéis A, A' e B' de ambos os derivados exclui a possibilidade de que **4** seja um tetrâmero similar ao isolado

previamente dessa mesma espécie. A análise conjunta dos dados espectrométricos apresentados para **4a** e **4b**, incluindo aqueles fornecidos pelos experimentos $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ (Figura 75, p. 213 e Figura 76, p. 214), $g\text{NOESY } 2\text{D}$ (Figura 77, p. 215 e Figura 78, p. 216), $g\text{HMQC}$ (Figura 79, p. 217 e Figura 80, p. 219) e principalmente $g\text{HMBC}$ (Figura 81, p. 221 e Figura 82, p. 223), que evidencia correlações dos carbonos em δ 156,0 (C- β) para **4a** (Figura 16) e 154,8 (C- β) para **4b** (Figura 17) com os hidrogênios H-2''' (**4a**: δ 7,73, **4b**: δ 7,73) e H-6''' (**4a**: δ 7,73, **4b**: δ 7,73) permitiu determinar o esqueleto carbônico de **4**, no qual a chalcona é ligada à flavona por C- α -C-6 e C- β -O-C-7.

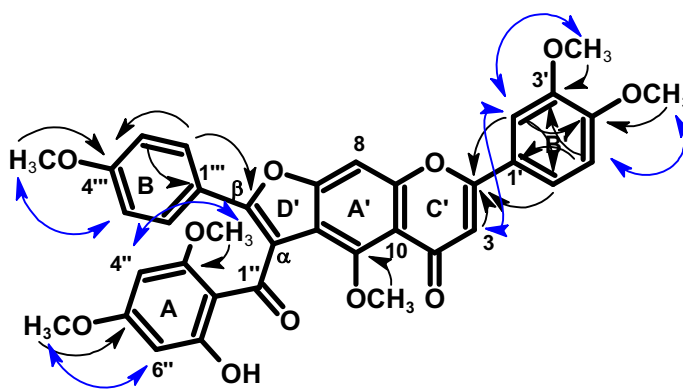


Figura 16. Principais correlações observadas pelos experimentos $g\text{HMBC } (^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C})$ e $g\text{NOESY } 2\text{D } (^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H})$ para **4a**.

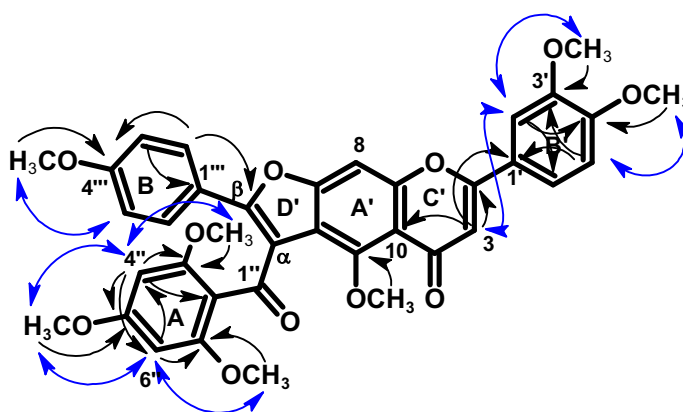


Figura 17. Principais correlações observadas pelos experimentos $g\text{HMBC } (^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C})$ e $g\text{NOESY } 2\text{D } (^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H})$ para **4b**.

Os dados espectroscópicos de **4** são similares aos da chalcona-flavona cissampeloflavona isolada de *Cissampelos pareira*^{78, 79} e estão de acordo com o esqueleto carbônico determinado. A chalcona-flavona **4** foi denominada de ridiculuflavonilchalcona B. Até o momento, o esqueleto carbônico do tipo chalcona-flavona apresentado para **4** restringe-se a essas duas espécies.

Tabela 4. Dados de RMN de ^{13}C de **4**, **4a** e **4b** (δ)

C	4^a		4a^b		4b^c	
	δ^d	<i>g</i> HMBC	δ^d	<i>g</i> HMBC	δ^d	<i>g</i> HMBC
2	166,0 <i>s</i>	H-2', H-3, H-6'	161,4 <i>s</i>	H-3, H-6'	161,6 <i>s</i>	H-3
3	104,0 <i>d</i>		105,8 <i>d</i>		106,5 <i>d</i>	
4	185,1 <i>s</i>		^g		^g	
5	155,7 <i>s</i>	OH-5	152,8 <i>s</i>	OCH ₃ -5	154,0 <i>s</i>	OCH ₃ -5
6	114,3 <i>s</i>	OH-5, H-8	^g		^g	
7	155,3 <i>s</i> ^e	H-8	^g		^g	
8	91,5 <i>d</i>		96,0 <i>d</i>		96,0 <i>d</i>	
9	158,2 <i>s</i> ^e		^g		^g	
10	107,0 <i>s</i>	H-3, OH-5, H-8	^g		114,4 <i>s</i>	H-3
1'	123,8 <i>s</i>	H-3, H-5'	124,0 <i>s</i>	H-5'	124,4 <i>s</i>	H-5'
2'	110,8 <i>d</i>	H-6'	109,0 <i>d</i>		108,5 <i>d</i>	
3'	148,8 <i>s</i>	H-2', OCH ₃ -3', H-5'	150,2 <i>s</i>	OCH ₃ -3', H-5'	149,5 <i>s</i>	OCH ₃ -3', H-5'
4'	151,3 <i>s</i>	H-2', H-5', H-6'	152,6 <i>s</i>	OCH ₃ -4', H-2'	152,0 <i>s</i>	H-2', OCH ₃ -4'
5'	116,3 <i>d</i>		111,0 <i>d</i>		111,5 <i>d</i>	
6'	121,8 <i>d</i>	H-2'	119,8 <i>d</i>	H-2'	119,5 <i>d</i>	H-2'
α	114,1 <i>s</i>		^g		^g	
β	152,5 <i>s</i>		156,0 <i>s</i>	H-2''', H-6'''	154,8 <i>s</i>	H-2''', H-6'''
1''	194,2 <i>s</i>		^g		^g	
2''	108,2 <i>s</i>	H-4'', OH-7''	^g		113,0 <i>s</i>	H-4'', H-6''
3''	165,2 <i>s</i>	OCH ₃ -3''	163,5 <i>s</i>	OCH ₃ -3''	161,4 <i>s</i>	OCH ₃ -3'', H-4''
4''	92,5 <i>d</i>	H-6''	90,5 <i>d</i>		91,0 <i>d</i>	H-6''
5''	167,2 <i>s</i>	H-4''	168,2 <i>s</i>	OCH ₃ -5''	164,1 <i>s</i>	H-4'', OCH ₃ -5'', H-6''
6''	96,7 <i>d</i>	H-4'', OH-7''	93,5 <i>d</i>		91,0 <i>d</i>	H-4''
7''	168,5 <i>s</i>	OH-7''	^g		161,4 <i>s</i>	H-6'', OCH ₃ -7''
1'''	122,7 <i>s</i>	H-3''', H-5'''	122,0 <i>s</i>	H-3''', H-5'''	122,2 <i>s</i>	H-3''', H-5'''
2'''	129,0 <i>d</i>	H-6'''	127,5 <i>d</i>		129,0 <i>d</i>	
3'''	115,5 <i>d</i>	H-5'''	114,0 <i>d</i>		114,0 <i>d</i>	
4'''	161,7 <i>s</i>	H-2''', OCH ₃ -4''', H-6'''	161,0 <i>s</i>	H-2''', OCH ₃ -4''', H-6'''	160,5 <i>s</i>	H-2''', OCH ₃ -4''', H-6'''
5'''	115,5 <i>d</i>	H-3'''	114,0 <i>d</i>		114,0 <i>d</i>	
6'''	129,0 <i>d</i>	H-2'''	127,5 <i>d</i>		129,0 <i>d</i>	
OCH ₃ -3'	57,1 <i>q</i>		55,2 <i>q</i> ^e		56,0 <i>q</i> ^e	
OCH ₃ -3''	56,5 <i>q</i>		55,0 <i>q</i> ^e		55,6 <i>q</i>	
OCH ₃ -4'			54,8 <i>q</i> ^f		55,8 <i>q</i> ^e	
OCH ₃ -4'''	56,2 <i>q</i>		54,6 <i>q</i> ^f		55,0 <i>q</i>	
OCH ₃ -5			61,6 <i>q</i>		62,8 <i>q</i>	
OCH ₃ -5''			55,0 <i>q</i>		55,0 <i>q</i>	
OCH ₃ -7''					55,6 <i>q</i>	

^a Dados obtidos em CD₃CN, 11,7 T.^b Dados obtidos em (CD₃)₂CO, 11,7 T.^c Dados obtidos em CDCl₃, 11,7 T.^d Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90°, *g*HMBC e *g*HMQC.^{e, f} Os valores que antecedem a mesma letra podem estar trocados na mesma coluna.^g Sinal não observado.

Tabela 5. Dados de RMN de ^1H de **4**, **4a** e **4b** (δ , J em Hz)^a

H	4^b		4a^c		4b^d	
	δ	gNOESY 1D e 2D	δ	gNOESY 2D	δ	gNOESY 2D
3	6,77 (s)	H-2', H-6'	6,68 (s)	H-2', H-6'	6,62 (s)	H-2'
8	7,37 (s)		7,38 (s)		7,44 (s)	
2'	7,62 (d, 2,3)	H-3, OCH ₃ -3'	7,67 (d, 2,0)	H-3, OCH ₃ -3'	7,39 (d, 2,0)	H-3, OCH ₃ -3'
5'	7,05 (d, 8,3)	H-6'	7,18 (d, 8,5)	CH ₃ -4', H-6'	7,00 (d, 8,8)	CH ₃ -4'
6'	7,66 (dd, 8,3, 2,3)	H-3, H-5'	7,72 (dd, 8,5, 2,0)	H-5'	7,57 (dd, 8,8, 2,0)	H-5'
4''	5,90 (d, 2,3)	OCH ₃ -3''	6,00 (d, 2,5)	OCH ₃ -3''	6,01 (s)	OCH ₃ -3'', OCH ₃ -5''
6''	6,09 (d, 2,3)		6,23 (d, 2,5)	OCH ₃ -5''	6,01 (s)	OCH ₃ -5'', OCH ₃ -7''
2'''	7,68 (d, 9,0)	H-3'''	7,73 (d, 8,3)	H-3'''	7,73 (d, 9,3)	H-3'''
3'''	7,02 (d, 9,0)	H-2'', OCH ₃ -4'''	7,05 (d, 8,3)	H-2'', OCH ₃ -4'''	6,87 (d, 9,3)	H-2'', OCH ₃ -4'''
5'''	7,02 (d, 9,0)	OCH ₃ -4'', H-6'''	7,05 (d, 8,3)	OCH ₃ -4'', H-6'''	6,87 (d, 9,3)	OCH ₃ -4'', H-6'''
6'''	7,68 (d, 9,0)	H-5'''	7,73 (d, 8,3)	H-5'''	7,73 (d, 9,3)	H-5'''
OCH ₃ -3'	4,03 (s)	H-2'	4,02 (s)	H-2'	4,00 (s)	H-2'
OCH ₃ -3''	3,29 (s)	H-4''	3,37 (s)	H-4''	3,63 (s)	H-4''
OCH ₃ -4'			3,97 (s)	H-5'	3,98 (s)	H-5'
OCH ₃ -4'''	3,86 (s)	H-3''', H-5'''	3,88 (s)	H-3''', H-5'''	3,83 (s)	H-3''', H-5'''
OCH ₃ -5			3,77 (s)		3,90 (s)	
OCH ₃ -5''			3,93 (s)		3,79 (s)	H-4'', H-6''
OCH ₃ -7''					3,63 (s)	H-6''
OH-5	13,78 (s)					
OH-7''	13,51 (s)					
					13,64 (s)	

^a Multiplicidade estabelecida com base em experimento gCOSY ^1H - ^1H .^b Dados obtidos em CD_3CN , 11,7 T.^c Dados obtidos em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T.^d Dados obtidos em CDCl_3 , 11,7 T.

5.3.4 Ridiculoflavonilchalcona C (**5**)

Os espectros de RMN de ^1H de **5** apresentam três sinais relativos a hidrogênios com ligações de hidrogênios intramoleculares com oxigênios carbonílicos, dezoito sinais relativos a hidrogênios aromáticos e seis sinais de metoxilas aromáticas (Figura 83, p. 225). O espectro de RMN de ^{13}C de **5** mostra quatro sinais relativos a quatro carbonilas flavonoídicas, cerca de cinquenta sinais relativos a carbonos aromáticos, além de seis sinais característicos de carbonos metoxílicos (Figura 84, p. 227).

A análise mais detalhada do espectro de RMN de ^1H , associada à análise do espectro $g\text{COSY } \text{H}^1\text{-H}^1$ de **5** (Figura 85, p. 229) evidenciou três singletos em frequências altas [δ 13,75 (1H); 13,51 (2H); 13,19 (1H)], dois pares de dubletos [δ 7,69 (2H, $J = 9,3$ Hz), 7,03 (2H, $J = 9,3$ Hz); 7,54 (2H, $J = 9,0$ Hz), 6,89 (2H, $J = 9,0$ Hz)], seis sinais em δ 7,53 (1H, dl , $J = 2,0$ Hz), 7,56 (1H, dd , $J = 8,0$, $2,0$ Hz) e 7,00 (1H, d , $J = 8,0$); 7,62 (1H, d , $J = 2,5$ Hz), 7,66 (1H, dd , $J = 8,0$, $2,5$ Hz), 7,05 (1H, d , $J = 8,0$ Hz), dois pares de dubletos [δ 6,59 (1H, $J = 2,3$ Hz), 6,09 (1H, $J = 2,3$ Hz); 6,48 (1H, $J = 2,3$ Hz), 5,90 (1H, $J = 2,3$ Hz)] e quatro singletos [δ 7,38 (1H), 6,78 (2H), 6,67 (1H) e 6,60 (1H)], caracterizando a presença de pares de sistemas aromáticos *para*-substituídos, trissubstituídos, tetrassubstituídos e pentassubstituídos. Esta análise também evidenciou a presença de seis sinais de hidrogênios metoxílicos (δ 4,03, 4,00, 3,91, 3,87, 3,81 e 3,30). A análise dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 135° e 90° revelou quatro sinais desprotegidos relativos a carbonos carbonílicos (δ 193,4, 190,2, 184,4 e 182,7), dezoito sinais de carbonos sp^2 aromáticos hidrogenados, dos quais quatro são nitidamente mais intensos (δ 129,9, 128,2, 114,7 e 113,9) caracterizando a existência de dois anéis *para*-substituídos, além de seis sinais de carbonos metoxílicos (δ 56,32, 56,28, 56,0, 55,7 e 55,3) (Figura 86, p. 230). Portanto, a análise conjunta dos dados de RMN de **5** sugere a existência de quatro unidades flavonoídicas (Tabela 6, p. 98 e Tabela 7, p. 99).

O espectro de massas de alta resolução de **5** evidencia a molécula desprotonada $[\text{M-H}]^-$ de m/z 1191,2527 (Figura 87, p. 231), sugerindo a fórmula molecular $\text{C}_{66}\text{H}_{48}\text{O}_{22}\text{-H}$ contendo 43 insaturações, e o pico base de m/z 595,1242 (100%). A interpretação do espectro de massas-massas dos íons de m/z 595,12 forneceu o esquema de fragmentação idêntico ao obtido para a chalcona-flavona **4** (Esquema 19, p. 90, Figura 70, p. 208). Além disso, exceto por C-5" (δ_{C} 163,6),

todos os sinais de carbonos e de hidrogênios atribuídos para **4**, também foram observados para **5**, com assistência dos experimentos *g*HMQC e *g*HMBC (Figura 89, p. 232 e Figura 90, p. 234, respectivamente). Então, a estrutura parcial **5I** foi sugerida para **5**, a qual contém 22 insaturações. Uma análise detalhada dos experimentos *g*HMQC, *g*HMBC, *g*COSY H^1-H^1 e *g*NOESY 1D (Figura 91, p. 238) de **5** permitiu propor mais duas estruturas parciais para **5**: uma flavona (**5II**, contendo onze insaturações, um anel aromático A'' pentassubstituído e um anel B'' trissubstituído) e uma chalcona (**5III**, contendo dez insaturações, um anel aromático A''' tetrassubstituído e outro B''' *para*-substituído). Todas as unidades contêm ligações de hidrogênios intramoleculares com oxigênios carbonílicos (OH-I-5, OH-I-3'', OH-II-5 e OH-III-7''') (Figura 18).

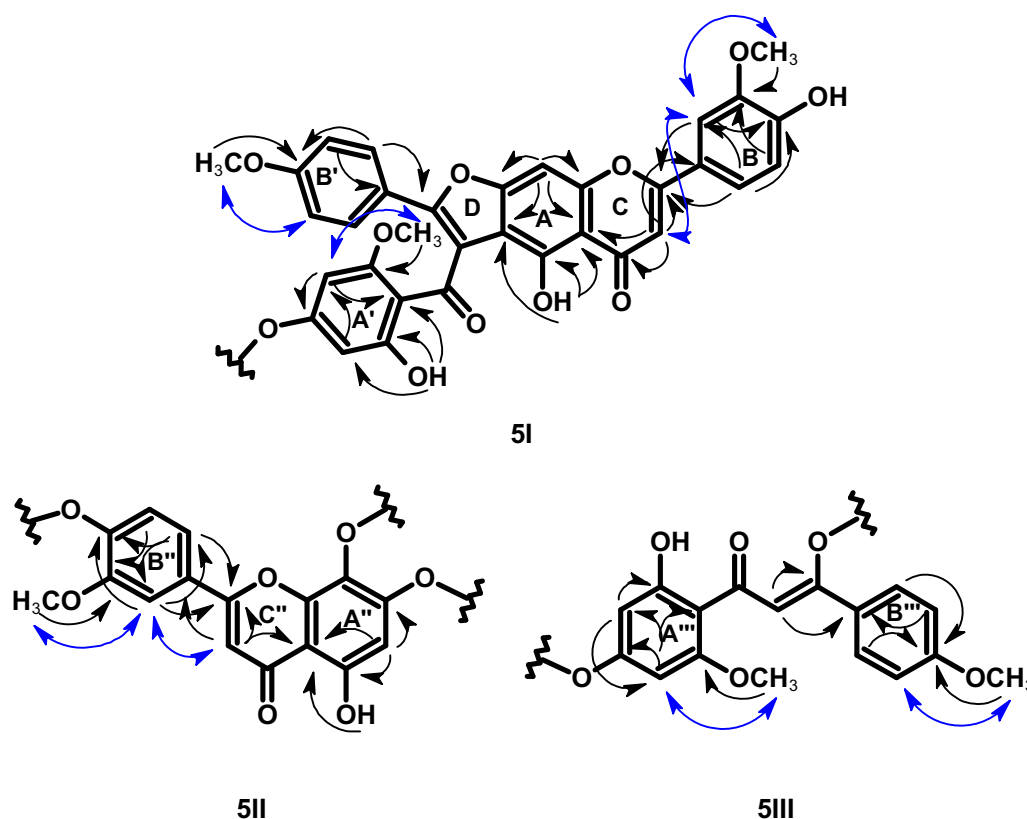


Figura 18. Principais correlações obtidas por *g*HMBC ($^1H \rightarrow ^{13}C$) e interações obtidas por *g*NOESY 1D e 2D ($^1H \leftrightarrow ^1H$) para as subestruturas **5I** a **5III**.

A análise das correlações entre H-III- α (δ 6,78) e C-III-1''' (δ 125,6) e C-III- β (δ 156,1) permitiram estabelecer a substituição no anel B''' da subestrutura **5III**. A perda de H-III- α junto com o anel B''' (M-108) (rearranjo β de hidrogênio) constitui uma

importante rota de fragmentação de **5** por espectrometria de massas (Esquema 20, p. 97 e Figura 92, p. 239). Esses fragmentos, junto com os originários de rearranjos do tipo *retro* Diels-Alder envolvendo os anéis C e C'', estão entre os mais importantes íons evidenciados nos espectros de massas. Consequentemente, a análise dessas fragmentações sugere que as uniões entre as unidades flavonoídicas não se dêem pelos anéis B e B''. O espectro de massas de baixa resolução de **5** mostra os íons de m/z 728 e 437, sugerindo uma fragmentação α -carbonílica de **5III** (C-III-1''-C-III- α e C-III-1''-C-III-2'', respectivamente), bem como o pico base de m/z 421, que pode ser originário da quebra da ligação C-I-5''-O-C-III- β , e do rearranjo do tipo *retro* Diels-Alder envolvendo o anel C'' ([M-579-192]⁺), além dos íons de m/z 507 [M+H-579-107]⁺. Estes dados permitem estabelecer uma sequência de ligações entre as três subunidades (**5I-5III-5II**). As unidades **5III** e **5II** poderiam estar ligadas de duas formas: C-III-5''-O-C-II-7 ou C-III-5''-O-C-II-8. A melhor alternativa foi selecionada mediante comparação dos deslocamentos químicos de hidrogênios e de carbonos do anel A'' com os descritos na literatura para os flavonóides 3',4',5,5',8-pentaidroxi-3,7-dimetoxiflavona e limocitrina 3-O- β -D-glucopiranosídeo (Figura 19)^{108, 109}. Os efeitos nos deslocamentos químicos devido à substituição de um grupo “metoxílico” por um “fenoxílico” em um anel aromático também foram considerados para estimar o valor de deslocamento químico para ambas alternativas estruturais¹¹⁰. A comparação dos valores de deslocamentos químicos calculados e observados permitiu inferir que a ligação C-III-5''-O-C-II-8 é a mais viável para a substância **5**. Este novo tetraflavonóide foi denominado ridiculuf flavonilchalcona C.

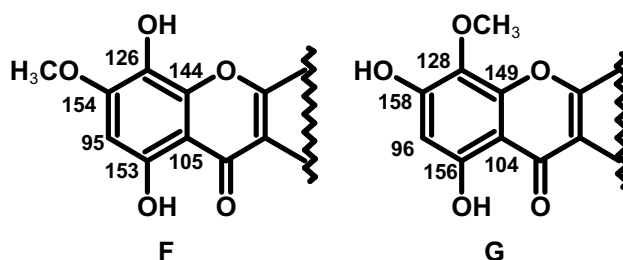
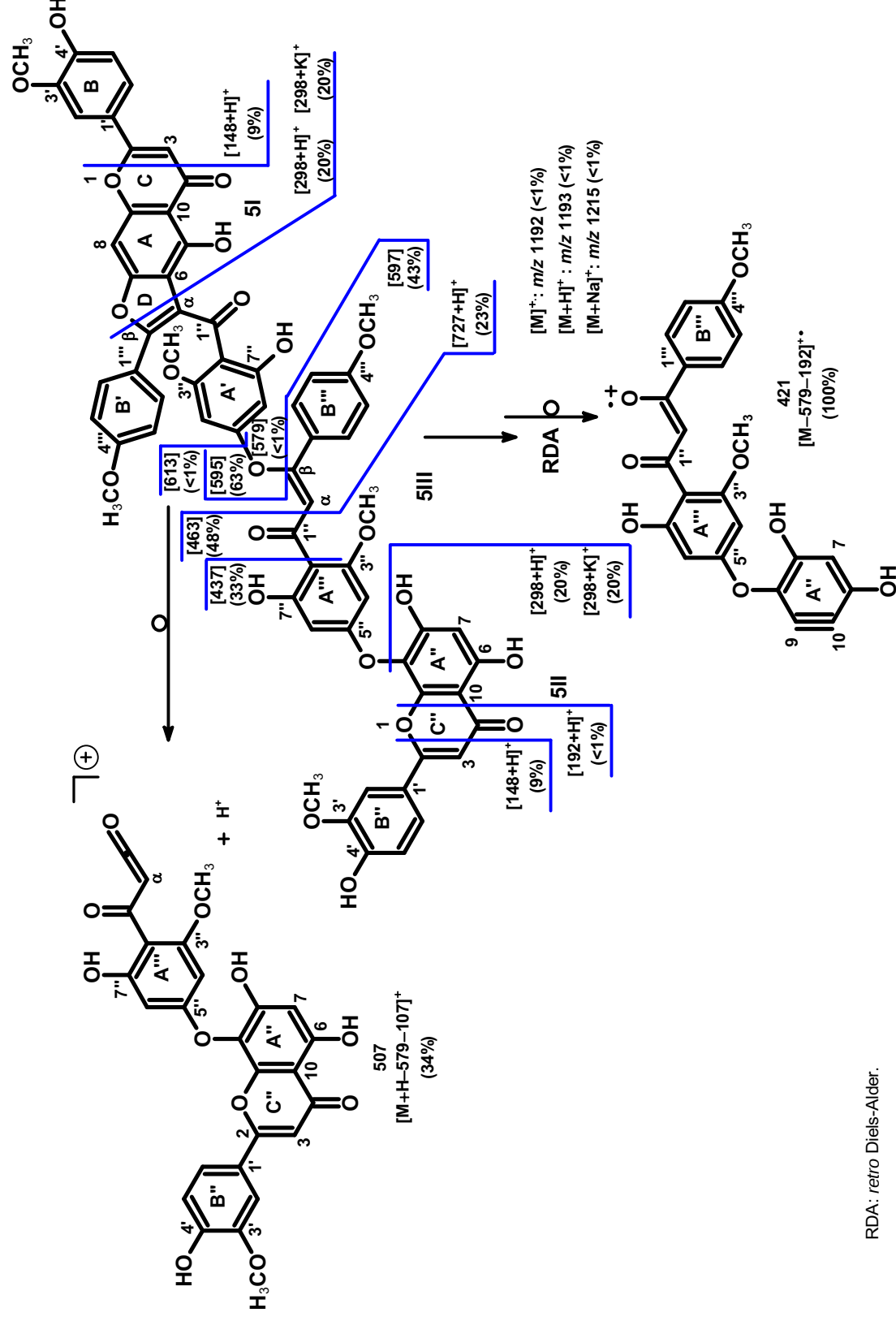


Figura 19. Deslocamentos químicos de C-5 a C-10 para esqueletos alternativos (**F** e **G**) de flavonas modelos (δ)^{108, 109}.

Esquema 20. Proposta de fragmentação de 5



RDA: retro Diels-Alder.

Tabela 6. Dados de RMN de ^{13}C de **5** (δ)^{a, b}

C	Unidade 5I		Unidade 5II		Unidade 5III	
	δ	<i>g</i> HMBC	δ	<i>g</i> HMBC	δ	<i>g</i> HMBC
2	165,2 <i>s</i>	H-2', H-3, H-6'	164,5 <i>s</i>	H-2', H-3, H-6'		
3	103,2 <i>d</i>		104,0 <i>d</i>			
4	184,4 <i>s</i>	H-3	182,7 <i>s</i>			
5	154,3 <i>s</i>	OH-5	157,2 <i>s</i>	H-6		
6	113,5 <i>s</i>	OH-5, H-8	95,5 <i>d</i>			
7	154,9 ^c <i>s</i>	H-8	162,1 <i>s</i>	H-6		
8	90,7 <i>d</i>		125,0 <i>s</i>			
9	157,4 ^c <i>s</i>	H-8	153,7 <i>s</i>			
10	106,3 <i>s</i>	H-3, OH-5, H-8	105,0 <i>s</i>	H-3, OH-5, H-6		
1'	122,7 <i>s</i>	H-3	123,2 <i>s</i>	H-3		
2'	110,1 <i>d</i>	H-6'	110,0 <i>d</i>	H-6'		
3'	148,1 <i>s</i>	H-2', OCH ₃ -3', H-5'	148,0 <i>s</i>	H-2', OCH ₃ -3', H-5'		
4'	150,7 <i>s</i>	H-2', H-6'	150,4 <i>s</i>	H-2', H-5', H-6'		
5'	115,7 <i>d</i>		115,6 <i>d</i>			
6'	121,0 <i>d</i>	H-2'	120,8 <i>d</i>	H-2'		
α	113,3 <i>s</i>				115,2 <i>d</i>	
β	151,8 <i>s</i>	H-2''', H-6'''			156,1 <i>s</i>	H- α
1''	193,4 <i>s</i>				190,2 <i>s</i>	
2''	107,0 <i>s</i>	H-4'', H-6'', OH-7''			107,5 <i>s</i>	H-4''
3''	164,5 <i>s</i>	OCH ₃ -3''			161,6 <i>s</i>	OCH ₃ -3''
4''	91,8 <i>d</i>	H-6''			96,8 <i>d</i>	H-6''
5''	163,6 <i>s</i>	H-4''			162,7 <i>s</i>	H-4'', H-6''
6''	96,0 <i>d</i>	H-4'', OH-7''			94,2 <i>d</i>	H-4''
7''	167,7 <i>s</i>	H-6'', OH-7''			159,9 <i>s</i>	H-6''
1'''	122,0 <i>s</i>	H-3''', H-5'''			125,6 <i>s</i>	H- α , H-3''', H-5'''
2'''	128,2 <i>d</i>	H-6'''			129,9 <i>d</i>	H-6'''
3'''	114,7 <i>d</i>	H-5'''			113,9 <i>d</i>	H-5'''
4'''	160,9 <i>s</i>	H-2''', H-3''', OCH ₃ -4''', H-5''', H-6'''			161,4 <i>s</i>	H-2''', H-3''', OCH ₃ -4''', H-5''', H-6'''
5'''	114,7 <i>d</i>	H-3'''			113,9 <i>d</i>	H-3'''
6'''	128,2 <i>d</i>	H-2'''			129,9 <i>d</i>	H-2'''
OCH ₃ -3'	56,32 <i>q</i>		56,28 <i>q</i>			
OCH ₃ -3''	55,7 <i>q</i>				56,0 <i>q</i>	
OCH ₃ -4'''	55,4 <i>q</i>				55,3 <i>q</i>	

^a Dados obtidos em CD₃CN, 11,7 T.^b Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90°, *g*HMBC e *g*HMQC.^c Os valores que antecedem a mesma letra podem estar trocados na mesma coluna.

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H de **5** (δ , J em Hz)^{a, b}

H	Unidade 5I		Unidade 5II		Unidade 5III	
	δ	$g\text{NOESY}$ 1D	δ	$g\text{NOESY}$ 1D	$g\text{NOESY}$ 1D	
3	6,78 (s)	H-2'	6,67 (s)	H-2'		
6			6,60 (s)			
8	7,38 (s)					
2'	7,62 (d, 2,5)		7,53 (dl, 2,0)	H-3, OCH ₃ -3'		
5'	7,05 (d, 8,0)		7,00 (d, 8,0)			
6'	7,66 (dd, 8,0, 2,5)		7,56 (d, 8,0, 2,0)			
α					6,78 (s)	
4''	5,90 (d, 2,3)				6,48 (d, 2,3)	
6''	6,09 (d, 2,3)				6,59 (d, 2,3)	
2'''	7,69 (d, 9,3)				7,54 (d, 9,0)	H-3'''
3'''	7,03 (d, 9,3)				6,89 (d, 9,0)	
5'''	7,03 (d, 9,3)				6,89 (d, 9,0)	
6'''	7,69 (d, 9,3)				7,54 (d, 9,0)	H-5'''
OCH ₃ -3'	4,03 (s)	H-2'	4,00 (s)	H-2'		
OCH ₃ -3''	3,30 (s)	H-4''			3,91 (s)	H-4''
OCH ₃ - 4'''	3,87 (s)	H-3''', H-5'''			3,81 (s)	H-3''', H-5'''
OH-5	13,75 (s)		13,19 (s)			
OH-7''	13,51 (s)				13,51 (s)	

^a Dados obtidos em CD₃CN, 11,7 T.^b Multiplicidade estabelecida com base em experimento $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$, 11,7 T.

5.3.5 Atropoisomerismo de dímeros e tetrameros flavonoídicos de *Aristolochia* *ridicula*

Embora os poliflavonóides **1-X**, **2**, **4** e **5** não possuam centro estereogênico, esses compostos apresentam atividade óptica devido à existência de restrições rotacionais existentes nessas moléculas^{42, 43}. Portanto, objetivando compreender melhor o fenômeno de atropoisomerismo nesses poliflavonóides, experimentos de Dicroísmo Circular (DC) foram realizados para **2**, **4** e **5**, bem como para os derivados metilados **3a**, **4a** e **4b**.

Análises comparativas entre as curvas de DC e os espectros de absorção na região do UV das chalconas-flavonas **4** e **4a** evidenciaram a existência de efeitos Cotton significativos entre 240-370 nm (Figura 93, p. 239 e Figura 94, p. 239). Uma análise comparativa entre as curvas de DC de **4**, **4a** e **4b** revela o mesmo padrão de complexidade para **4** e **4a** (Figura 95, p. 240). Por outro lado, verifica-se que o derivado metilado **4b**, que não apresenta ligação de hidrogênio intramolecular (OH-5-CO-4 e OH-7''-CO-1''), não mostra efeitos Cotton significativos em sua curva de DC. Quanto à biflavona **2** e ao tetraflavonóide **5**, estes apresentam curvas de DC muito complexas entre 220 e 420 nm e com efeitos Cotton na região de absorção do

UV (Figura 96, p. 240 e Figura 97, p. 241). A biflavona metilada **3a**, ausente de ligações de hidrogênios (OH-5-CO-4 e OH-5"-CO-4"), não apresenta efeitos Cotton significativos quando comparado à biflavona **2** (Figura 98, p. 241).

Baseando-se nos dados apresentados, pode-se inferir que ligações de hidrogênio intramolecular com oxigênios carbonílicos presentes em **2** (OH-5-CO-4 e OH-5"-CO-4"), **4** (OH-5-CO-4 e OH-7"-CO-1") e **4a** (OH-7"-CO-1") são essenciais para a quiralidade axial dos rotores C-3-C-6" e C- α -CO-1" presentes em biflavonas, chalconas-flavonas e tetraflavonóides isolados de *A. ridicula*.

Essas considerações estão em concordância com a equivalência magnética observada para os carbonos e para os hidrogênios do anel A' (CH-4"/CH-6", C-3"/C-7" e OCH₃-3"/OCH₃-7") de **4b**, confirmando a rotação livre para esse anel em torno da ligação CO-1"-C-2" e a ausência de atropoisomerismo.

5.3.6 Ocorrência de poliflavonóides em Aristolochiaceae

A ocorrência de poliflavonóides em Aristolochiaceae é rara, limitando-se a *A. ridicula*^{42, 43} e *A. contorta*^{44, 45}. Dessa última espécie foram isolados três biflavonas, cujas unidades monoméricas flavonoídicas são unidas via C-3'-C-8".

5.3.7 Biogênese de poliflavonóides em *Aristolochia ridicula*

Até o momento, isolou-se de *A. ridicula* um monoflavonóide (**1**), cinco biflavonas (**I-IV** e **2**) com um padrão de ligação intraflavonoídico (C-3-C-6") pouco usual, e cinco chalconas-flavonas (**V-VIII** e **4**) que apresentam um sistema furânico (anel D) e substituintes oxigenados variados no anel A (Figura 4, p.40), além de três tetraflavonóides (**IX**, **X** e **5**), cujas unidades diméricas (chalconas-flavonas) são facilmente identificáveis em suas estruturas carbônicas. Baseando-se nos esqueletos carbônicos dos flavonóides isolados de *A. ridicula*, sugere-se que os dímeros e os tetrâmeros flavonoídicos isolados dessa espécie sejam biossintetizados por acoplamentos oxidativos enzimáticos, e também por meio de reações de adição β à carbonila envolvendo unidades precursoras das chalconas (Esquema 21, p. 101). Considerando as estruturas de todos os poliflavonóides de *A. ridicula*, os caminhos biogenéticos envolvendo acoplamentos oxidativos parecem ser os mais viáveis.

The diagram illustrates the biosynthetic pathway of S-adenosylmethionine (SAM) from methionine. The pathway begins with methionine (I) and proceeds through intermediates II-IV to SAM (V). SAM is then converted to S-adenosylmethionine (SAM) via a series of steps involving intermediates XX, XXIX, XXVIII, XXVII, XXVI, XXV, XXIV, XXIII, XXII, XXI, XX, and XX. The final product is S-adenosylmethionine (SAM).

Chemical structures shown include:

- I**: Methionine
- II-IV**: Intermediates in the SAM biosynthesis pathway
- V**: S-adenosylmethionine (SAM)
- XX**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXIX**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXVIII**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXVII**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXVI**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXV**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXIV**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXIII**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXII**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XXI**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups
- XX**: A complex polycyclic structure with multiple hydroxyl groups

Reagents and conditions indicated by arrows:

- [O]**: Oxidation
- SAM**: S-adenosylmethionine

SAM: S-adenosil- metionina

Os poucos estudos biossintéticos/biogenéticos envolvendo poliflavonóides geralmente propõem uma rota por acoplamento oxidativo entre as unidades flavonoídicas. Porém, a diversidade de estruturas poliflavonoídicas, principalmente em Angiospermas, leva a questionar como esses compostos são biossintetizados e abrem um interessante campo para futuros estudos.

5.4 Identificação estrutural dos alcalóides 6-8, da alcalamida 9 e de seus derivados (7a, 7b, 8a e 9a)

5.4.1 ($\pm$)-Coclaurina (**6**)

Os espectros de RMN de ^1H e $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de **6** mostram quatro sinais referentes a quatro hidrogênios aromáticos em δ 7,08 (2H, *d*, 8,5), 6,71 (2H, *d*, 8,5), 6,65 (1H, *s*) e 6,62 (1H, *s*), caracterizando a presença de um sistema aromático *para*-substituído e outro tetrassubstituído, além de um sinal em δ 3,75 (3H, *s*) e um conjunto de sinais em δ 2,6-4,1 (Figura 99, p. 242 e Figura 100, p. 243). A análise dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135° e 90° de **6** evidenciou a presença de dois sinais pelo menos duas vezes mais intensos que os demais em δ 115,1 e 130,3, caracterizando a presença de um sistema aromático *para*-substituído (Figura 101, p. 244 e Figura 102, p. 244). Além de sinais referentes três carbonos quaternários oxigenados (δ 155,8, 146,4, 144,4), dois metínicos aromáticos (δ 112,2, 113,3), três metilênicos (δ 40,0, 39,6, 27,0), um metínico ligado a um heteroátomo (δ 55,9) e um metoxílico aromático (δ 55,6).

A análise dos dados apresentados, juntamente com os experimentos $g\text{NOESY}$ 2D, $g\text{TOCSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$, $g\text{HMQC}$ e $g\text{HMBC}$ de **6** permitiu definir o esqueleto carbônico de um alcalóide benziltetraisoquinolínico para esse composto (Figura 103, p. 245 a Figura 106, p. 251). As correlações observadas por $g\text{HMBC}$ de H-5 (δ 6,65) com C-4 (δ 27,0), C-4a (δ 124,2) e C-6 (δ 146,4), de H-8 (δ 6,62) com C-1 (δ 55,9) e C-6 (δ 146,4), de OCH_3 -6 (δ 3,75) com C-6, de H-3 $_{eq}$ (δ 3,10-3,18) com C-1, de 2H-9 (δ 2,74-2,82 e 3,00) com C-1 e C-1' (δ 128,0), juntamente com as interações espaciais observadas por $g\text{NOESY}$ 2D entre H-1 (δ 4,08) e H-8 (δ 6,62), entre H-4 (δ 2,64-2,74) e H-5 (δ 6,65), entre OCH_3 -6 e H-5, e entre 2H-9 e H-2' (δ 7,08) e H-6' (δ 7,08), permitiram estabelecer o padrão de ligação dos anéis aromáticos A e C ao anel B, conferindo um esqueleto carbônico benziltetraisoquinolínico para **6**, bem como a posição da metoxila em C-6 (Figura 20, p. 103, Tabela 8, p. 104).

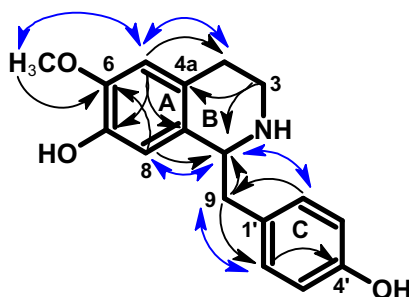


Figura 20. Principais correlações observadas gHMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e interações obtidas por gNOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para **6**.

A análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C e de ^1H de **6** com os dados do alcalóide coclaurina¹¹¹ revelou diferenças significativas ($\Delta\delta \geq 2$) para os carbonos 3, 4, 5 e 9 de **6**. Contudo, as correlações observadas por gHMBC de **6** destacadas anteriormente permitiram assegurar inequivocamente que a estrutura molecular proposta para **6** está de acordo com o estrutura molecular do alcalóide coclaurina.

Observou-se uma pequena atividade óptica para **6** [$[\alpha]_D^{29}$ de -3° (c. 0,18 mg/100 mL, MeOH)], cuja magnitude e sinal diferem do relatado para (+)-coclaurina ($+47^\circ$, EtOH) isolado de *Xylopiá papuana* Diel. (Annonaceae), cuja configuração absoluta foi determinada por difratometria de raios X¹¹², e definida com S para C-1 desse alcalóide. Portanto, a substância **6** deve constituir-se de uma mistura enantiomérica.

O relato da ocorrência desse alcalóide em Aristolochiaceae é restrita a *A. papilaris* Mast.¹¹³. Contudo, substâncias com este tipo de esqueleto carbônico em Aristolochiaceae não se restringe ao gênero *Aristolochia*, estendendo-se aos gêneros *Asari*, *Asarum* e *Asiasarum*, os quais contêm alcalóides como a higenamina, um alcalóide BTIQ não metoxilado.

Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C e de ^1H de **6** e da coclaurina

C e H	6 ^a		coclaurina ^d			
	δ ¹³ C ^b	gHMBC	δ ¹ H ^c	gNOESY 2D	δ ¹³ C	δ ¹ H
1	55,9 <i>d</i>	H-3ax, H-3eq, H-8, H-9a, H-9b	4,08 (1H, <i>dl</i>) _f	H-8, H-2', H-6'	57,8	4,39 (1H, s)
2						
3ax	39,6 <i>t</i>		2,86-2,92 (1H, <i>m</i>)	H-3eq	42,0	2,70-3,36 (2H, <i>m</i>)
3eq			3,10-3,18 (1H, <i>m</i>)	H-3ax		
4	27,0 <i>t</i>	H-5	2,64-2,74 (2H, <i>m</i>)	H-5	29,1	2,70-3,36 (2H, <i>m</i>)
4a	124,2 <i>s</i>	H-3eq, H-4, H-8			124,8	
5	112,2 <i>d</i>		6,65 (1H, <i>s</i>)	H-4, OCH ₃ -6	114,2	6,79 (1H, <i>s</i>)
6	146,4 <i>s</i>	H-5, OCH ₃ -6, H-8			146,9	
7	144,4 <i>s</i>	H-5, H-8			145,8	
8	113,3 <i>d</i>		6,62 (1H, <i>s</i>)	H-1, H-9b	112,9	6,59 (1H, <i>s</i>)
8a	128,6 <i>s</i>	H-5			129,7	
9a	40,0 <i>t</i>	H-2', H-6'	2,74-2,82 (1H, <i>m</i>)	H-9b	43,4	2,70-3,36 (2H, <i>m</i>)
9b			3,00 (1H, <i>dd</i> , 13,0, 4,4)	H-9a		
1'	128,0 <i>s</i>	H-9a, H-9b, H-3', H-5'			130,5	
2'	130,3 <i>d</i>	H-9a, H-9b, H-6'	7,08 (2H, <i>d</i> , 8,5)		131,6	7,02 (1H, <i>d</i> , 8,4)
3'	115,1 <i>d</i>	H-5'	6,71 (2H, <i>d</i> , 8,5)		116,3	6,63 (1H, <i>d</i> , 8,4)
4'	155,8 <i>s</i>	H-2', H-3', H-5', H-6'			154,4	
5'	115,1 <i>d</i>	H-3'	6,71 (2H, <i>d</i> , 8,5)		116,3	6,63 (1H, <i>d</i> , 8,4)
6'	130,3 <i>d</i>	H-9a, H-9b, H-2'	7,08 (2H, <i>d</i> , 8,5)		131,6	7,02 (1H, <i>d</i> , 8,4)
OCH ₃ -6	55,6 <i>t</i>		3,75 (3H, <i>s</i>)	H-5	55,9	3,83 (3H, <i>s</i>)
OH-7			8,68 ^e (<i>s</i>) _f			
OH-4'			9,24 ^e (<i>s</i>) _f			
NH-2						

^a Dados obtidos em DMSO-*d*₆, 11,7 T.^b Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90°, gHMBC e gHMQC.^c Multiplicidade estabelecida com base em experimento gCOSY ^1H - ^1H .^d Dados obtidos em CD₃OD, 8,5 T.^e Os valores que antecedem a mesma letra podem estar trocados na mesma coluna.^f Sinal não observado.* Sinais parcialmente obscurecidos pelo sinal do solvente (DMSO-*d*₆) em δ 40,0 e 39,6.

5.4.2 Cloreto de (-)-*N*-steponina (**7**) e derivados (**7a** e **7b**)

A análise conjunta dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135° e 90° de **7** evidenciou vinte sinais de carbonos, sendo doze aromáticos (quatro oxigenados, quatro metínicos e quatro quaternários), dois benzílicos, três com deslocamentos típicos de carbonos carbinólicos, dois metoxílicos e um *N*-metílico (Figura 107, p. 254 e Figura 108, p. 256). Os espectros de RMN de ^1H (Figura 109, p. 257) e *g*COSY ^1H - ^1H (Figura 110, p. 259) apresentam um par de dubletos em δ 6,71 e 6,99, dois singletos em δ 6,78 e 6,85 referentes a hidrogênios aromáticos, dois singletos característicos de hidrogênios metoxílicos aromáticos (δ 3,80 e 3,81) e um singletto largo típico de um NCH_3 (δ 3,20), além de sinais de hidrogênios com multiplicidades complexas entre δ 3,0-5,0, relativos a hidrogênios benzílicos e/ou ligados a heteroátomos. O espectro de massas de **7** evidencia o cátion $[\text{M}]^+$ de m/z 342 (Figura 111, p. 261). A análise conjunta dos dados espectrométricos apresentados, juntamente com a dos mapas de contornos *g*HMQC (Figura 112, p. 261) e *g*HMBC (Figura 113, p. 263) de **7**, permitiu propor o esqueleto carbônico do tipo protoberberínico para essa substância (Figura 21).

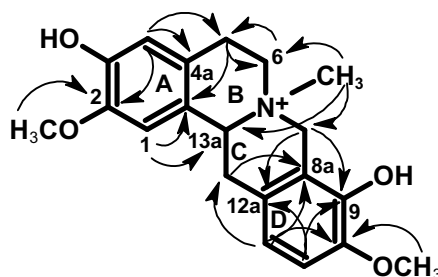


Figura 21. Principais correlações observadas pelo experimento *g*HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **7**.

A análise conformacional por RMN de ^{13}C de alcalóides protoberberínicos realizada por Yoshikawa e colaboradores (1975) evidenciaram diferenças significativas de deslocamento químico de NCH_3 -7, C-6 e C-13 entre estruturas com junção *cis* B/C e *trans* B/C ¹¹⁴. Os autores observaram efeitos de desproteção para NCH_3 -7 e C-13 e proteção para C-6 naquelas com junção *cis* B/C em relação aquelas com junção *trans* B/C. O deslocamento químico de NCH_3 -7 (δ 50,6) observado no espectro de RMN de ^{13}C de **7** é típico de uma estrutura com uma junção do tipo *cis* B/C ¹¹⁵. Na junção *trans* B/C, os deslocamentos químicos

observados para NCH_3 -7 em protoberberinas estão entre δ 39-45, devido à existência de interações γ -gauche deste carbono com C-5 (H-5ax) e C-13 (H-13ax) .

Estudos conformacionais de alcalóides protoberberínicos revelam a existência de dois confôrmers possíveis para uma junção *cis* B/C . Portanto, experimentos de interações do tipo nOe entre hidrogênios foram realizados para **7**. A análise do espectro *g*NOESY 2D (Figura 114, p. 266) de **7** evidenciou uma fraca interação entre NCH_3 -7 (δ 3,20) e H-13a (δ 4,64), confirmando uma junção *cis* B/C, e entre H-1 (δ 6,85) e H-13ax (δ 3,04), determinando o confômero α para **7** (Figura 22) (Tabela 9, p. 109 e Tabela 10 p. 110). Portanto, os anéis B e C de **7** apresentam uma junção *cis* e estão dispostos em conformações *pseudo*-cadeiras de acordo com o confômero α .

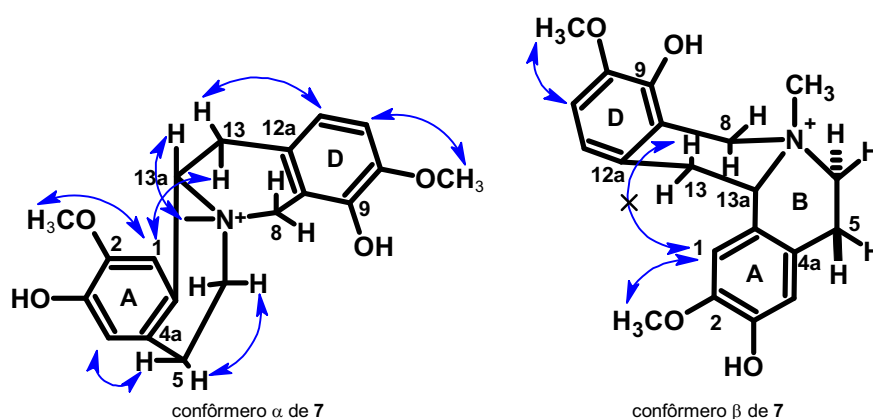


Figura 22. Principais correlações observadas por *g*NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para os confômeros α e β de **7**.

Com o intuito de confirmar as atribuições relativas aos hidrogênios em *pseudo*-axial e *pseudo*-equatorial, bem como descartar a possibilidade das atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos nas posições 1a/4a estarem trocadas entre si, os derivados metilado (**7a**) e acetilado (**7b**) foram preparados a partir de **7** e analisados por RMN 1D e 2D.

A análise dos dados de RMN 1D e 2D de **7a** e de **7b** permitiu atribuir inequivocamente todos os deslocamentos químicos dos carbonos nas respectivas estruturas propostas (Figura 115, p. 268 a Figura 127, p. 287). Uma análise comparativa entre os dados de RMN de ^{13}C de **7** com os de **7a** e de **7b** revelou, respectivamente, efeitos de proteção para C-1a e C-4 e efeitos de desproteção para

C-1a e C-4, confirmando as atribuições de deslocamento químico de ^{13}C propostas para **7** (Figura 23).

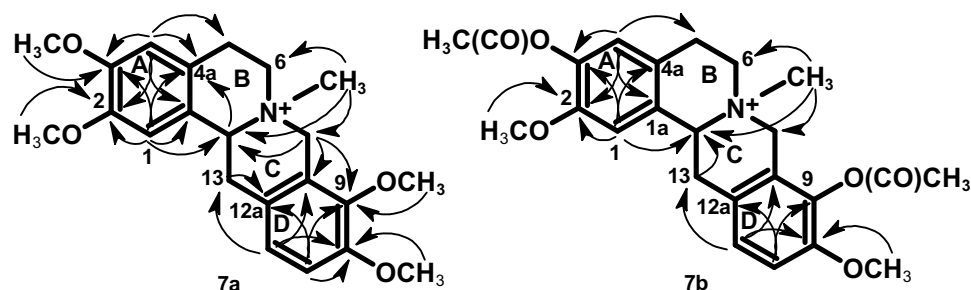


Figura 23. Principais correlações observadas pelo experimento $g\text{HMBC}$ ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **7a** e **7b**.

Uma análise detalhada dos espectros de RMN de ^1H , $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ e $g\text{NOESY } 2\text{D}$ de **7a** evidenciou a presença de um acoplamento *trans*-diaxial entre H-13ax (δ 3,03) e H-13 (δ 5,21) e interações espaciais entre H-1 (δ 6,62) e H-13ax (δ 3,03), confirmando a posição *pseudo*-axial para H-13a e *pseudo*-equatorial para NCH_3 -7 em relação ao anel C, como proposto inicialmente para o conformero α de **7** (Figura 24).

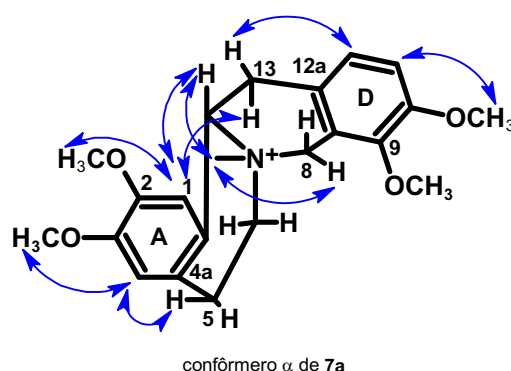


Figura 24. Principais correlações observadas por $g\text{NOESY } 2\text{D}$ ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para **7a**.

A comparação do sinal de $[\alpha]_D$ observado para **7** (-70° , c. 0,21 mg/100 mL em MeOH a 26°C) com o sinal relatado para o alcalóide (-)-*N*-steponina (-151° , c. 1,03 mg/100 mL em MeOH a 30°C), isolado de tubérculos secos de *Stephania cepharantha* Haya. (Menispermaceae)¹¹⁶, permite propor a configuração S para C-13a de **7**.

A análise qualitativa de **7** com solução de AgNO₃ sugere a presença de íons cloreto neste sal alcaloídico.

5.4.3 Ocorrência de alcalóides protoberberínicos em Aristolochiaceae

Até o momento, a ocorrência de alcalóides do tipo protoberberínico em Aristolochiaceae restringe-se a quatro espécies: *A. gigantea*, *A. constricta*, *A. arcuata* e *A. debilis* Sieb. & Zucc. . Dentre os 21 alcalóides isolados dessas espécies, apenas a ciclanolina, isolada de *A. debilis*¹¹⁷, possui estrutura básica idêntica a de **7**, porém com configuração relativa *trans*. A substância **7** também é conhecida como cissamina ou cissampina, por ter sido isolado de *Cissampelos pareira*^{118, 119}. O derivado **7a** foi isolado de *Fagara capensis* Thun. (Rutaceae) e denominado de (-)-*N*-metiltetraidropalmatina¹²⁰. O derivado **7b** ainda não se encontra descrito na literatura, e foi denominado de cloreto de (-)-3,9-diacil-*N*-steponina.

Tabela 9. Dados de RMN de ^{13}C de **7**, **7a**, **7b** e da *N*-steponina (δ)

C	7^{a,b}		7a^{a,c}		7b^{a,c}		N-steponina^d	
	δ	gHMBC	δ	gHMBC	δ	gHMBC	δ	
1	110,8 <i>d</i>		109,2 <i>d</i>		111,3 <i>d</i>		111,2	
1a	121,8 <i>s^e</i>	H-1, H-5eq	119,5 <i>s</i>	H-1, H-4	130,3 <i>s</i>	H-4	121,9	
2	147,0 <i>s</i>	OCH ₃ -2, H-4	149,7 <i>s^e</i>	H-1, OCH ₃ -2, H-4	150,7 <i>s</i>	H-1, OCH ₃ -2, H-4	148,7	
3	145,8 <i>s</i>		148,7 <i>s^e</i>	H-1, OCH ₃ -3, H-4	140,2 <i>s</i>	H-1, H-4	148,7	
4	116,0 <i>d</i>		111,6 <i>d</i>		123,4 <i>d</i>		116,7	
4a	123,6 <i>s^e</i>	H-4	124,0 <i>s</i>	H-1, H-4, H-13a	119,3 <i>s</i>	H-1	124,2	
5	22,7 <i>t</i>	H-4, H-6eq	23,4 <i>t</i>	H-4	22,7 <i>t</i>	H-4	23,9	
6	53,5 <i>t</i>	NCH ₃ -7, H-5eq, H-8ax, H-8eq	52,4 <i>t</i>	NCH ₃ -7, H-8ax, H-8eq	51,5 <i>t</i>	NCH ₃ -7	53,4	
8	58,9 <i>t</i>	NCH ₃ -7	59,3 <i>t</i>	NCH ₃ -7	59,4 <i>t</i>	NCH ₃ -7	61,2	
8a	113,9 <i>s</i>	H-8ax, H-8eq, H-12, H-13eq	120,2 <i>s</i>	H-8ax, H-8eq	120,4 <i>s</i>	H-12	114,3	
9	142,2 <i>s</i>	H-8ax, H-8eq, H-11	145,7 <i>s</i>	H-8ax, OCH ₃ -9, H-11, H-12	136,8 <i>s</i>	H-11	144,5	
10	146,2 <i>s</i>	OCH ₃ -10, H-11, H-12	151,3 <i>d</i>	OCH ₃ -10, H-11, H-12	150,4 <i>s</i>	OCH ₃ -10, H-12	147,5	
11	113,1 <i>d</i>		113,3 <i>d</i>		113,0 <i>d</i>		113,2	
12	119,9 <i>d</i>	H-13eq	123,3 <i>d</i>		126,0 <i>d</i>		119,8	
12a	122,4 <i>d</i>	H-8ax, H-8eq, H-11, H-13eq	121,3 <i>s</i>	H-11, H-13ax, H-13eq	121,2 <i>s</i>	H-11	123,2	
13	32,5 <i>t</i>	H-12	33,6 <i>t</i>	H-12	33,8 <i>t</i>	H-12	35,0	
13a	65,9 <i>d</i>	H-1, NCH ₃ -7, H-8eq, H-13ax	64,8 <i>s</i>	H-1, NCH ₃ -7, H-8ax, H-13ax, H-13eq	64,8 <i>s</i>	H-1, NCH ₃ -7, H-13ax	67,4	
NCH ₃ -7	50,6 <i>q_f</i>		50,2 <i>q_f</i>		50,1 <i>q</i>		51,0	
OCH ₃ -2	56,7 <i>q_f</i>	H-6eq	56,1 <i>q_f</i>		56,3 <i>q</i>		56,7	
OCH ₃ -3			56,3 <i>q_f</i>					
OCH ₃ -9			61,1 <i>q</i>					
OCH ₃ -10	56,4 <i>q_f</i>		55,9 <i>q</i>		56,1 <i>q</i>		56,7	
(CO)CH ₃ -3					169,0 <i>s^e</i>	COCH ₃ -3		
(CO)CH ₃ -3					20,5 <i>q_f</i>			
(CO)CH ₃ -9					168,7 <i>s^e</i>	COCH ₃ -9		
(CO)CH ₃ -9					20,9 <i>q_f</i>			

^a Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90°, gHMBC e gHMQC.^b Dados obtidos em D₂O, 11,7 T.^c Dados obtidos em CDCl₃, 11,7 T.^d Dados obtidos em CD₃OD, 11,7 T.^{e, f} Os valores que antecedem as mesmas letras na mesma coluna podem estar trocados na mesma coluna.

Tabela 10. Dados de RMN de ^1H de **7**, **7a** e **7b** (δ , J em Hz)^a

H	7^b		7a^c		7b^c	
	δ		δ		δ	
		gNOESY 2D		gNOESY 2D		gNOESY 1D
1	6,85 (s)	OCH ₃ -2, H-13ax, H-13a	6,82 (s)	OCH ₃ -2, NCH ₃ -7, H-13ax, H-13eq	6,97 (s)	
4	6,78 (s)	H-5ax	6,70 (s)	OCH ₃ -3, H-5ax, H-5eq	6,81 (s)	
5ax	3,14 (m)	H-4, H-5eq	3,13 (ddd, 18,5, 6,0, 2,0)	H-4	2,98 (m)	
5eq	3,20 (m)	H-6ax, H-13ax	3,35 (ddl, 18,5, 8,5)	H-4	3,20 (m)	
6ax	3,50 (m)	H-6eq	3,65 (m)		3,53 (m)	
6eq	3,70 (m)	H-6ax	3,94 (m)		3,79 (m)	
8ax	4,55 (d, 16,0)		4,94 (d, 16,0)		5,00 (sl)	
8eq	4,70 (m)		5,11 (d, 16,0)		5,00 (sl)	
11	6,99 (d, 8,5)	OCH ₃ -10	6,88 (d, 8,5)	OCH ₃ -10	6,83 (d, 8,5)	OCH ₃ -10
12	6,71 (dl, 8,5)		6,84 (dl, 8,5)	H-13ax, H-13eq	6,90 (d, 8,5)	
13ax	3,04 (dd, 18,5, 9,0)	H-1, H-13eq	3,03 (dd, 18,5, 9,5)		2,92 (m)	
13eq	3,34 (dd, 18,5, 4,5)	H-13ax	3,49 (m)		3,53 (m)	
13a	4,64 (m)	H-1, NCH ₃ -7	5,21 (t, 7,2)		5,30 (m)	
NCH ₃ -7	3,20 (sl)	H-13a, H-6ax	3,51 (sl)	H-8eq, H-13a	3,43 (sl)	
OCH ₃ -2	3,81 (sl)	H-1	3,87 (s) ^d	H-1	3,74 (s)	
OCH ₃ -3			3,86 (s) ^d	H-4		
OCH ₃ -9			3,89 (s)			
OCH ₃ -10	3,80 (sl)	H-11	3,84 (s)	H-11	3,70 (s)	
(CO)CH ₃ -3					2,21 (s) ^d	
(CO)CH ₃ -9					2,28 (s) ^d	

^a Multiplicidade estabelecida com base em experimento gCOSY ^1H - ^1H .^b Dados obtidos em D₂O, 11,7 T.^c Dados obtidos em CDCl₃, 11,7 T.^d Os valores que antecedem as mesmas letras na mesma coluna podem estar trocados na mesma coluna.* Sinais parcialmente obscurecidos pelo sinal do solvente (DHO) em δ 4,64 e 4,70.

5.4.4 Metilwarifteina (**8**) e dimetilwarifteina (**8a**)

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135° e 90° de **8** evidenciou a presença de 31 sinais (Figura 128, p. 289 e Figura 129, p. 291, respectivamente), sendo sete relativos a carbonos metínicos, seis metilênicos, três metoxílicos e um *N*-metílico. Os espectros de RMN de ^1H e $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de **8** mostram dois singletos [δ 6,12 (1H) e 6,48 (1H)] e quatro dubletos [δ 6,60 (2H), 6,84 (2H), δ 6,88 (2H) e 7,04 (2H)], sugerindo a presença de dois sistemas aromáticos pentassubstituídos e dois *para*-substituídos, respectivamente (Figura 130, p. 292 e Figura 131, p. 294). Observou-se também três singletos típicos de metoxilas aromáticas [δ 3,68 (3H), 3,80 (3H) e 3,86 (3H)], um singletto largo referente a uma *N*-metila [δ 1,92 (3H)] e um conjunto de sinais em 5,03 (*d*, 10,5 Hz) e 5,15 (*ml*), cujos hidrogênios apresentam acoplamentos geminais, sugerindo a existência de restrição rotacional para o respectivo grupo metilenóxido. A análise conjunta dos dados apresentados acima, auxiliada pelos experimentos $g\text{HMQC}$ (Figura 25), $g\text{HMBC}$ (Figura 132, p. 296) e $g\text{NOESY 2D}$ (Figura 134, p. 302) de **8** permitiu propor quatro subestruturas (**8I-8IV**) para **8** (Tabela 11, p. 116 e Tabela 12, p. 116).

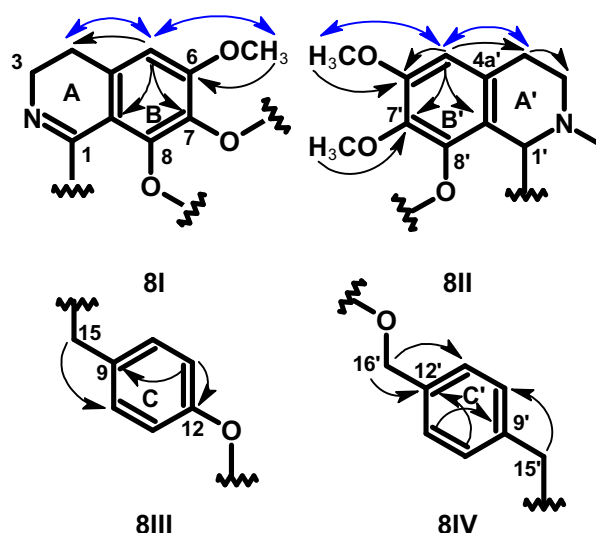


Figura 25. Principais correlações observadas pelos experimentos $g\text{HMBC } (^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C})$ e $g\text{NOESY 2D } (^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H})$ de **8**, indicadas nas subestruturas **8I-8IV**.

A partir das correlações de H-15'a (δ 2,46) e H-15'b (δ 2,66) com C-1' (δ 59,3) observadas por $g\text{HMBC}$, as subestruturas **8II** e **8IV** puderam ser unidas formando uma unidade alcaloídica do tipo benziltetraisoquinolínico (BTIQ). Embora, não tenha sido observada correlações de H-15 (δ 2,42) com C-1 (δ 167,5) e/ou C-4b (δ 108,8)

para as subestruturas **8I** e **8III**, baseando-se nos deslocamentos químicos de ^1H e de ^{13}C dessas subunidades com a de estruturas alcaloídicas descritos na literatura ¹²¹, pode-se sugerir que **8I** e **8III** estejam unidas por C-1 e C-15, formando uma segunda unidade BIQ em **8**.

O espectro de massas de **8** mostra a molécula desprotonada de m/z 605,2628 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{O}_6\text{N}_2-\text{H}$: 605,2652) indicando a existência de duas unidades BIQs em **8** (Figura 135, p. 305). O cálculo do Índice de Deficiência de Hidrogênios (IDH) para a fórmula molecular deduzida para **8** revela a existência de 20 insaturações nessa molécula, das quais dezenove já constam nas subestruturas **8I-8IV**. Portanto, a análise conjunta dos dados espectrométricos de **8** sugere que da união entre as unidades **8I-8IV** deve resultar um ciclo, completando-se assim o número do IDH determinado. Uma análise detalha do espectro $g\text{NOESY}$ 2D de **8** revelou interações entre H-11/13 (δ 6,60) e H-10'/14' (δ 7,04), sugerindo proximidade entre os anéis C e C'. Logo, quatro propostas estruturais (**H-K**) são possíveis para **8** (Figura 26).

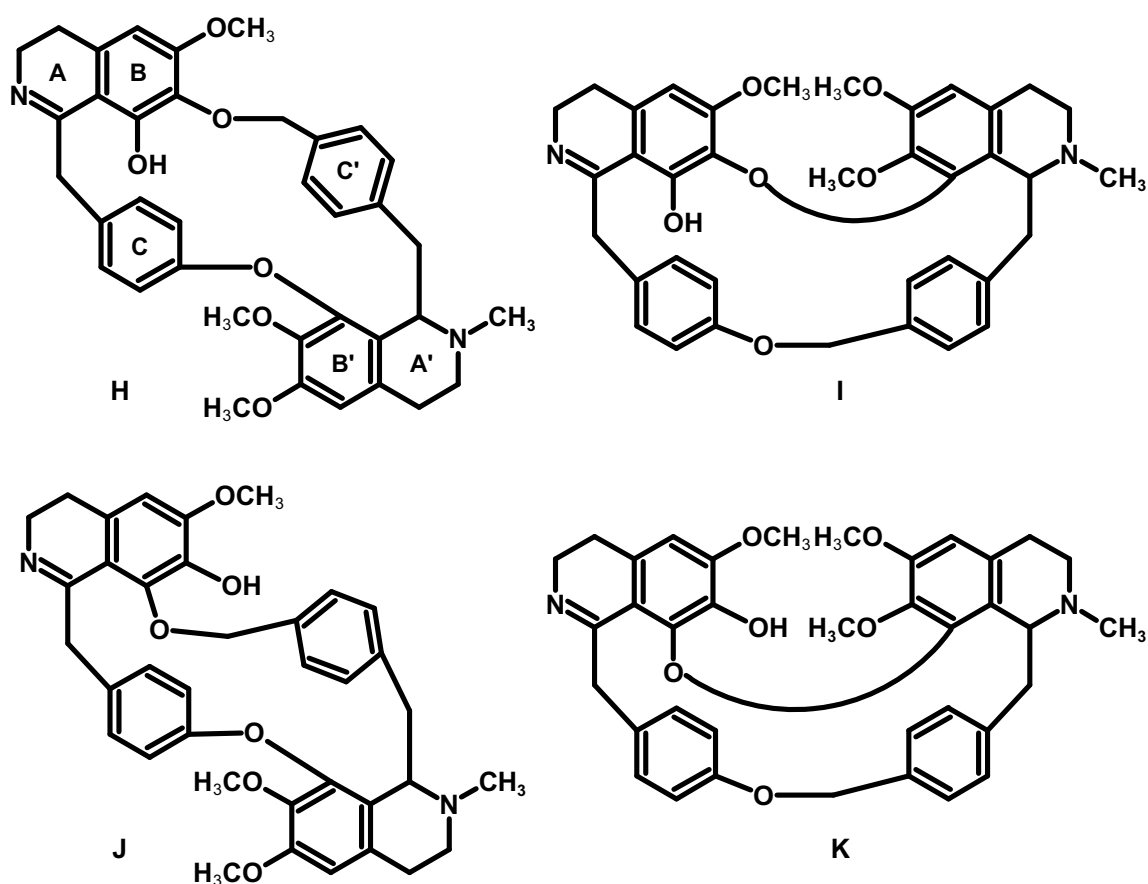
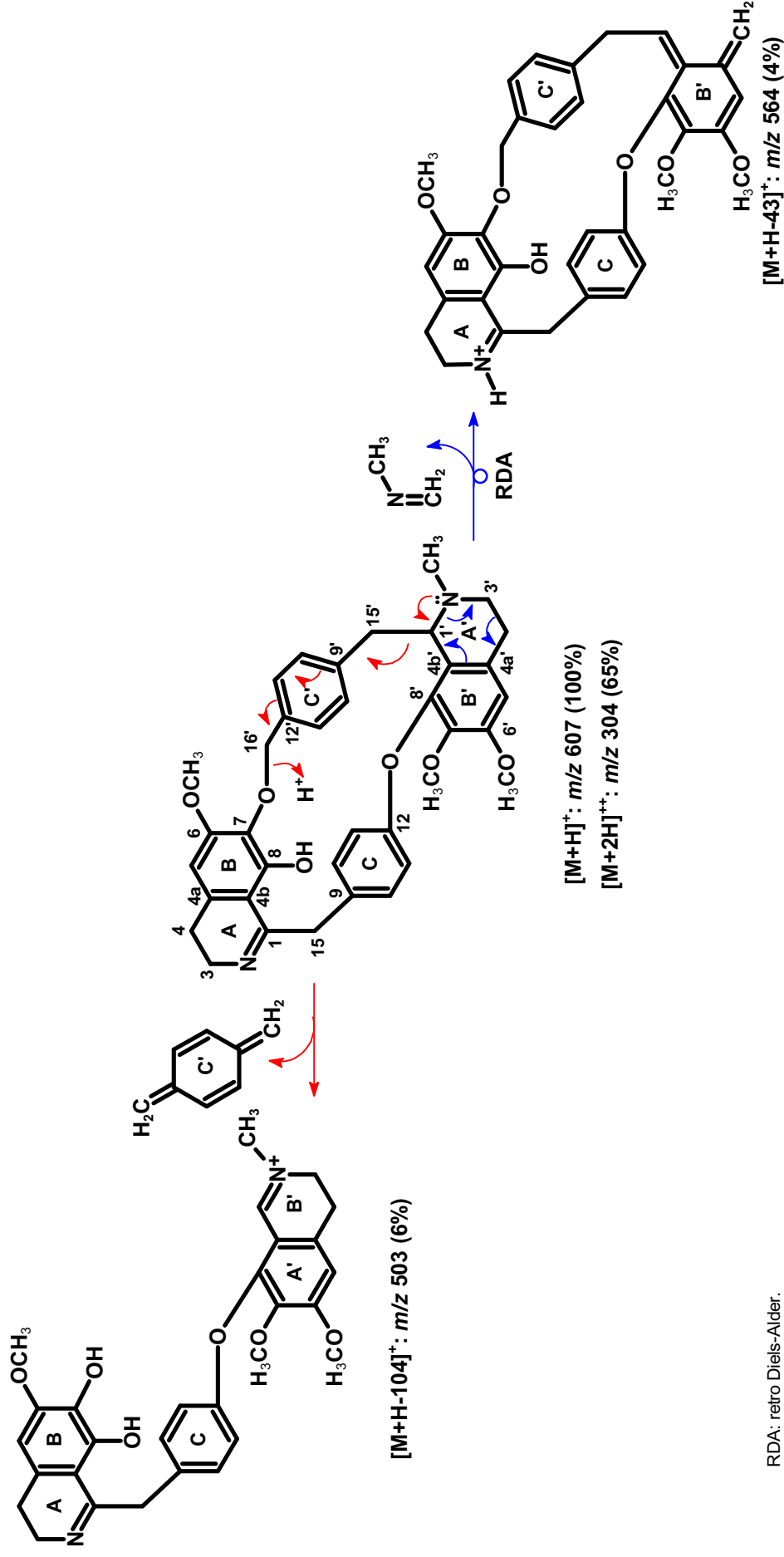


Figura 26. Propostas de diferentes esqueletos carbônicos alternativos (**H-K**) para **8**.

A análise detalhada do espectro de massas baixa resolução de **8** evidenciou íons de m/z 503 $[M+H-104]^+$ (6%) e 564 $[M+H-43]^+$ (4%) (Figura 136, p. 305), sugerindo, respectivamente a perda de uma unidade xilil (C_8H_8), característico de alcalóides que possuem ligação metilenóxido^{121, 122} e um rearranjo do tipo retro Diels-Alder envolvendo o anel A' (Esquema 22, p. 114). A fim de se estabelecer a melhor alternativa estrutural, um derivado metílico (**8a**) foi obtido e analisado por RMN 1D e 2D (Figura 137, p. 306 a Figura 142, p. 317). A análise desses resultados evidenciaram uma diferença significativa ($\Delta\delta$ +4,0) para C-8 de **8a**, comprovando que a metilação ocorreu nesta posição de **8**. O mapa de contornos $gHMBC$ de **8a** corrobora esta dedução pelas correlações entre H-16'b (δ 5,24) e C-7 (δ 129,2), bem como entre OCH_3 -8 (δ 3,95) e C-8 (δ 153,0). Assim, a estrutura **H** foi confirmada para **8**.

A análise comparativa dos espectros de RMN de 1H , $gCOSY$ 1H - 1H e $gNOESY$ 2D de **8** com os de **8a** revelou ausência de equivalência magnética para os hidrogênios do anel C de **8a**, além da inexistência de interações entre os hidrogênios de C e C', sugerindo uma alteração conformacional após a metilação de **8**. O espectro de RMN de ^{13}C de **8a** confirma essa proposta pelo alargamento dos sinais relativos a C-10/14 (δ 128,7), C-10'/14' (δ 128,7), C-11 (δ 114,4), C-13 (δ 114,2), C-11'/13' (δ 128,7) pertencentes aos anéis C e C'.

Esquema 22. Proposta de fragmentação de 8



A análise comparativa dos dados espectrométricos de **8** com os descritos para o alcalóide metilwarifteina (*Cissampelos ovalifolia* D.C.) , permitiu confirmar que se tratam da mesma substância. A caracterização estrutural desse alcalóide foi estabelecida por Kupchan e colaboradores (1966) ¹²³ por meio de sua síntese total. Borkakoti e Palmer (1978) ¹²⁴ determinaram a configuração absoluta da metilwarifteina por cristalografia de raios X, o que permitiu estabelecer a configuração *R* para C-1'. O derivado **8a** foi isolado também a partir de rizomas de *C. ovalifolia*, e denominado de dimetilwarifteina .

Observou-se um valor de $[\alpha]_D^{20}$ de -32° (c. 0,21 mg/100 mL, CHCl₃) para **8**, valor de mesmo sinal mas não de mesma magnitude ao relatado para metilwarifteina [-79° (c. 0,30 mg/100 mL, CHCl₃, 20 °C)] . A diferença entre a magnitude desta atividade óptica pode ser justificada pelas mudanças conformacionais de **8** devido às variações na concentração e temperatura.

5.4.5 Ocorrência de alcalóides benzilisoquinolínicos em Aristolochiaceae

Até o momento, a ocorrência de alcalóides do tipo BBIQ em Aristolochiaceae é restrita a *A. indica*, *A. elegans*, *A. gigantea*, *A. debilis* e *A. fangchi* ^{7, 125, 126}. Contudo, não há relatos de alcalóides do tipo BBIQ isolados de espécies de Aristolochiaceae contendo acoplamentos do tipo cabeça-cauda e com ligação metilenóxido entre as unidades BIQs.

Tabela 11. Dados de RMN de ^{13}C de **8**, **8a** e de metilwarifteina (δ)

C	8^a		8a^a		metilwarifteina ^b
	δ^c	<i>g</i> HMBC	δ^c	<i>g</i> HMBC	
1	167,5 <i>s</i>		167,5 <i>s</i>		167,5 <i>s</i>
3	43,7 <i>t</i>		44,9 ^e		43,8 <i>t</i>
4	27,6 <i>t</i>	H-5	27,8 ^e		27,5 <i>t</i>
4a	135,3 <i>s</i>		135,2 ^e		135,3 <i>s</i>
4b	108,8 <i>s</i>	H-5	^f		108,6 <i>s</i>
5	102,2 <i>d</i>		102,2 ^e		102,3 <i>d</i>
6	153,8 <i>s</i>	OCH ₃ -6	152,0 <i>s</i>	OCH ₃ -6	154,1 <i>s</i>
7	130,2 <i>s</i>	H-5	129,2 <i>s</i>	H-16' <i>b</i>	130,1 ^e
8	149,0 <i>s</i>		153,0 <i>s</i>	OCH ₃ -8	148,9 ^e
9	130,8 <i>s</i>	H-11, H-13	131,6 <i>s</i>	H-11, H-13	130,5 ^e
10	128,8 <i>d</i>	H-14, H-15	128,7 <i>dl</i>	H-14	128,6 <i>d</i>
11	114,2 <i>d</i>	H-13	114,4 <i>dl</i>	H-13	114,1 <i>d</i>
12	154,8 <i>s</i>	H-11, H-13	154,7 <i>s</i>	H-11	154,9 <i>s</i>
13	114,2 <i>d</i>	H-11	114,2 <i>dl</i>	H-11	114,1 <i>d</i>
14	128,8 <i>d</i>	H-10, H-15	128,7 <i>dl</i>	H-10	128,6 <i>d</i>
15	45,2 <i>t</i>		45,0 ^e		45,1 <i>t</i>
1'	59,3 <i>d</i>	H-15'a, H-15'b	59,5 <i>d</i>	H-15'a, H-15'b	58,8 <i>d</i>
3'	43,7 <i>t</i>	H-4'a	43,8 <i>t</i>		43,1 ^e
4'	23,1 <i>t</i>	H-5'	23,1 <i>t</i>	H-5'	23,6 <i>t</i>
4'a	129,7 <i>s</i>	H-3'a, H-5'	129,8 ^e	H-3'a	129,5 ^e
4'b	124,7 <i>s</i>	H-4'a, H-5', H-15'a	124,9 <i>s</i>	H-5'	124,9 <i>s</i>
5'	108,8 <i>d</i>	H-4'a	109,0 <i>d</i>		108,8 <i>d</i>
6'	152,0 <i>s</i>	H-5', OCH ₃ -6'	152,1 <i>s</i>	H-5', H-4'b, OCH ₃ -6'	152,0 <i>s</i>
7'	140,8 <i>s</i>	H-5', OCH ₃ -7'	141,0 <i>s</i>	H-5', OCH ₃ -7'	140,6 <i>s</i>
8'	144,7 <i>s</i>	H-5'	144,2 <i>s</i>	H-5'	144,4 <i>s</i>
9'	142,5 <i>s</i>	H-11', H-13', H-15'a, H-15'b	142,6 <i>s</i>	H-11', H-13', H-15'a, H-15'b	142,1 <i>s</i>
10'	128,7 <i>d</i>	H-14', H-15'a, H-15'b	128,7 <i>dl</i>	H-14', H-15'a, H-15'b	128,3 <i>d</i>
11'	128,6 <i>d</i>	H-13', H-16'a	128,7 <i>dl</i>	H-13'	128,7 <i>d</i>
12'	132,6 <i>s</i>	H-10', H-14', H-16'a	133,0 <i>s</i>	H-10', H-14', H-16'a	132,6 <i>s</i>
13'	128,6 <i>d</i>	H-11', H-16'a	128,7 <i>dl</i>	H-11'	128,7 <i>d</i>
14'	128,7 <i>d</i>	H-10', H-15'a, H-15'b	128,7 <i>dl</i>	H-10'	128,3 <i>d</i>
15'	39,9 <i>t</i>	H-10', H-14'	40,1 <i>t</i>	H-10', H-14'	39,6 <i>t</i>
16'	73,8 <i>t</i>	H-11', H-13'	74,0 <i>t</i>	H-11', H-13'	73,8 <i>t</i>
NCH ₃ -2'	41,6 <i>q</i>	H-3'b	41,7 <i>q</i>	H-3'b	41,8 <i>q</i>
OCH ₃ -6	55,6 <i>q</i>		56,0 <i>q</i>		55,6 <i>q</i>
OCH ₃ -8			55,6 <i>q</i>		
OCH ₃ -6'	55,9 <i>q</i>		56,0 <i>q</i>		55,9 <i>q</i>
OCH ₃ -7'	61,2 <i>q</i>		61,3 <i>q</i>		61,0 <i>q</i>

^a Dados obtidos em CDCl₃, 11,7 T.^b Dados obtidos em CDCl₃/CD₃CD (9:1), 11,7 T.^c Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90° e/ou *g*HMBC e *g*HMQC.^d Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90° e APT.^e Multiplicidade não determinada.^f Sinal não observado.

Tabela 12. Dados de RMN de ^1H de **8**, **8a** e de metilwarifeina (δ , J em Hz)^a

H	8^b		8a^b		gNOESY 2D	gNOESY 2D	metilwarifeina ^{122, c}
	δ		δ				δ
3	2,69 (m)		e				2,75 (m)
4	2,47 (m)		e				2,50 (m)
5	6,12 (s)		6,56 (sl)			OCH ₃ -6	6,16 (s)
10	6,84 (dl, $w_{1/2}$ = 8,5)	H-5	7,06 (dl, 8,0)			H-15a, H-15b, H-16b	6,84 (dl)
11	6,60 (dl, 8,5)	H-11	6,69 (dl, 8,0)				6,64 (d, 8,3)
13	6,60 (dl, 8,5)	H-10, H-10', H-14'	6,71 (dl, 8,0)				6,64 (d, 8,3)
14	6,84 (dl, $w_{1/2}$ = 8,5)	H-10', H-14, H-14'	6,94 (dl, 8,0)				6,84 (dl)
15a	2,42 (m)	H-13	2,62 (m) ^d				e
15b	2,42 (m)		2,78 (m) ^d				e
1'	3,78 (m)		2,98 (m)				3,19 (td, 12,5, 4,6)
3'a	2,74 (dd, 13,0, 6,3)	H-3'b	2,82 (m)			H-3'b	3,19 (td, 12,5, 4,6)
3'b	3,20 (td, 13,0, 4,5)	H-3'a	3,28 (m)			H-3'a	3,19 (td, 12,5, 4,6)
4'a	2,40 (m)	H-4'b, H-5'	2,48 (m)			H-4'b, H-5'	2,50 (ml)
4'b	2,88 (m)	H-4'a, H-5'	2,96 (m)			H-4'a, H-5'	2,91 (sl)
5'	6,48 (s)	H-4'a, H-4'b	6,56 (sl)			H-4'a, H-4'b, OCH ₃ -6'	6,51 (s)
10'	7,04 (d, 8,0)	H-11, H-11', H-13, H-15'a, H-15'b	7,06 (dl, $w_{1/2}$ = 7,0)			H-15'a, H-15'b	7,02 (d, 7,5)
11'	6,88 (d, 8,0)	H-10', H-16'a, H-16'b	6,98 (d, 8,0)			H-16'a, H-16'b	6,90 (d, 7,5)
13'	6,88 (d, 8,0)	H-14', H-16'a, H-16'b	6,98 (d, 8,0)			H-16'a, H-16'b	6,90 (d, 7,5)
14'	7,04 (d, 8,0)	H-11, H-13, H-13', H-15'a, H-15'b	7,14 (d, 8,0)			H-15'a, H-15'b	7,02 (d, 7,5)
15'a	2,46 (d, 14,5)	H-15'b	2,56 (d, 15,5)			H-10', H-14'	2,50 (ml)
15'b	2,66 (ddl, 14,5, 5,5)	H-15'a	2,78 (m)				2,75 (m)
16'a	5,03 (d, 10,5)	H-11', H-13'	5,12 (d, 12,5)			H-11', H-13'	5,08 (dl, 11,2)
16'b	5,15 (ml)	H-11', H-13'	5,24 (sl)			H-11', H-13'	5,18 (dl, 11,2)
NCH ₃ -2'	1,92 (sl)		2,02 (sl)				1,97 (sl)
OCH ₃ -6	3,86 (s)	H-5	3,89 (sl) ^d			H-5	3,90 (s)
OCH ₃ -8			3,95 (s)				
OCH ₃ -6'	3,80 (s)	H-5'	3,87 (sl) ^d			H-5'	3,82 (s)
OCH ₃ -7'	3,68 (s)		3,78 (s)				3,68 (s)

^a Multiplicidade estabelecida com base em experimento gCOSY ^1H - ^1H .^b Dados obtidos em CDCl_3 , 11,7 T.^c Dados obtidos em CDCl_3 - CD_3CD (9:1), 11,7 T.^d Os valores que antecederem a mesma letra podem estar trocados na mesma coluna.^e Valor não observado.

5.4.6 *N-trans*-feruloiltiramina (**9**) e derivado (**9a**)

O espectro de RMN de ^{13}C de **9** evidencia a presença de quatorze sinais (Figura 143, p. 320), dentre os quais três absorvem em frequências baixas (δ 34,8, 40,9 e 56,0) em relação os demais sinais entre δ 109-155, além de um sinal pouco intenso em δ 166,2. Dois sinais típicos de carbonos aromáticos são pelo menos duas vezes mais intensos (δ 115,6 e 129,9), caracterizando a presença de um sistema aromático *para*-substituído. A análise dos espectros de RMN ^1H e $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de **9** confirmou a presença de um anel aromático *para*-substituído (δ 6,73 e 7,02), um anel aromático trissubstituído (δ 6,91, 6,83 e 6,97), dois hidrogênios *trans*-olefínicos (δ 6,09 e 7,46), outros dois hidrogênios metilênicos (δ 2,75 e 3,55) e de três hidrogênios metoxílicos aromáticos (δ 3,85), além de um singlete largo em δ 5,43 (Figura 144, p. 322 e Figura 145, p. 324). O espectro de massas de **9** evidencia a molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ de m/z 314 confirmando a presença de um número ímpar de átomos de nitrogênios (Figura 146, p. 324). A análise do espectro de RMN de ^1H de **9**, após a adição de D_2O à solução com CDCl_3 (Figura 147, p. 325), revelou alteração da multiplicidade do sinal em δ 3,55 de quadrupeto para tripleto e o desaparecimento de um sinal em δ 5,43, confirmando a presença de um NH vizinho ao CH_2-1'' . A análise dos experimentos $g\text{HMQC}$ (Figura 148, p. 328), $g\text{HMBC}$ (Figura 149, p. 330) e $g\text{NOESY } 1\text{D}$ (Figura 150, p. 333) de **9** possibilitou definir a posição dos anéis aromáticos, bem como do substituinte metoxílico na estrutura, e confirmou a existência de uma função amida em **9** (formada pelo ácido ferúlico e pela tiramina) (Figura 27, Tabela 13, p. 120 e Tabela 14, p. 120).

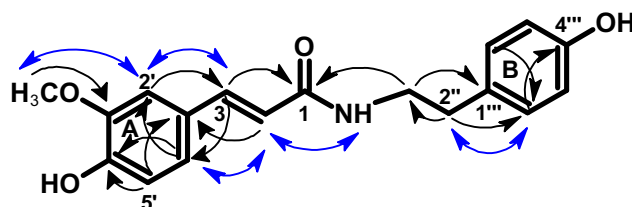
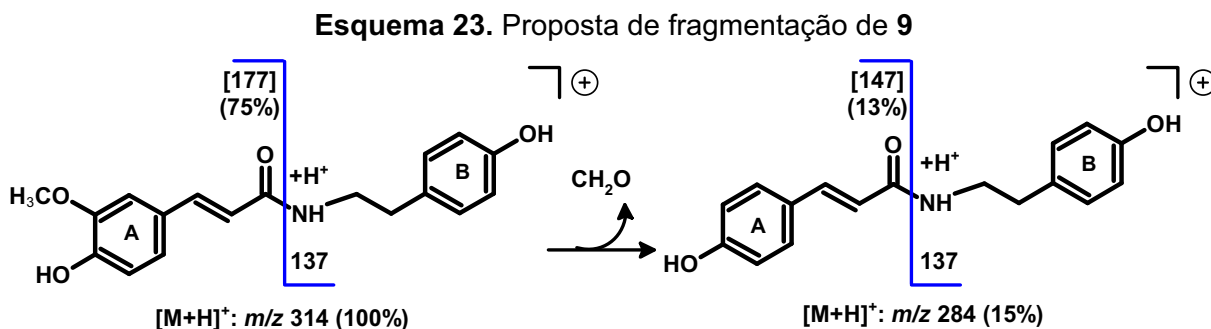


Figura 27. Principais correlações observadas pelos experimentos $g\text{HMBC}$ ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) e $g\text{NOESY } 1\text{D}$ ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para **9**.

A análise detalhada do espectro de massas de **9** confirma a estrutura apresentada pelo fragmento de m/z 177, originário de uma fragmentação α -carbonílica (Esquema 23).



O derivado metilado **9a** foi obtido a partir de **9**, e seus espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram obtidos (Figura 151, p. 334, Figura 152, p. 336). A análise dos deslocamentos químicos de ^1H e de ^{13}C de **9a** corroboram com a estrutura molecular apresentada para **9**.

Uma análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C de **9** com os da substância *N-trans*-feruloiltiramina descrita na literatura¹²⁷ confirmou que se tratam da mesma substância.

5.4.7 Ocorrência de alcaloides em Aristolochiaceae

Até o momento, encontra-se o registro na literatura da ocorrência de dez alcaloides em *Aristolochia* spp., sendo a alcaloide **9** isolada a partir de *A. gehrtii*. O derivado **9a** ainda não se encontra descrito na literatura, e foi denominado de *N-trans*-metilferuloilmetiltiramina.

Tabela 13. Dados de RMN de ^{13}C de **9**, **9a** e de *N-trans*-feruloiltiramina (δ)

C	9^a		9a^a	<i>N-trans</i> -feruloiltiramina ^b
	δ^c	<i>g</i> HMBC	δ	δ
1	166,2 s	H-1, H-2, H-1"	164,9	166,7
2	118,2 d		118,5	120,0
3	141,1 d	H-2', H-5'	140,9	140,4
1'	127,4 s	H-1, H-5'	127,4	128,3
2'	109,6 d	H-2, H-6'	109,8	111,3
3'	147,4 ^d s	H-2', OCH ₃ -3'	146,8	149,1
4'	146,7 ^d s	H-5', H-6'	149,7	148,6
5'	114,7 d		114,0	116,1
6'	122,2 d	H-2	122,0	122,6
1"	40,9 t	H-2"	40,6	41,9
2"	34,8 t	H-1"	34,9	35,7
1'''	130,9 s	H-2'', H-3''', H-5'''	129,7	131,1
2'''	129,9 d	H-6'''	129,8	130,5
3'''	115,6 d	H-5'''	114,1	116,1
4'''	154,4 s	H-2''', H-3''', H-5''', H-6'''	^e	156,7
5'''	115,6 d	H-3'''	114,1	116,1
6'''	129,9 d	H-2'''	129,8	130,5
OCH ₃ -3'	56,0 q		55,2	56,3
OCH ₃ -4'			55,9	
OCH ₃ -4'''			55,9	

^a Dados obtidos em CDCl₃, 11,7 T.^b Dados obtidos em (CD₃)₂CO, 6,3 T.^c Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos *g*HMBC e *g*HMQC.^d Os valores que antecedem a mesma letra podem estar trocados na mesma coluna.^e Valor não observado.**Tabela 14.** Dados de RMN de ^1H de **9**, **9a** e de *N-trans*-feruloiltiramina 128 (δ , *J* em Hz)

H	9^{a, b}		9a	<i>N-trans</i> -feruloiltiramina ^{b, c}
	δ	<i>g</i> NOESY 2D	δ	
2	6,09 (1H, <i>d</i> , 15,5)	H-2', H-6', NH	6,11 (1H, <i>d</i> , 15,5)	6,40 (1H, <i>d</i> , 15,7)
3	7,46 (1H, <i>d</i> , 15,5)	H-2', H-6'	7,45 (1H, <i>d</i> , 15,5)	7,43 (1H, <i>d</i> , 15,7)
2'	6,91 (1H, <i>d</i> , 2,5)	H-1, H-2, OCH ₃ -3'	6,94 (1H, <i>d</i> , 2,0)	7,10 (1H, <i>d</i> , 1,7)
5'	6,83 (1H, <i>d</i> , 8,0)	H-6'	6,76 (1H, <i>d</i> , 8,0)	7,02 (1H, <i>d</i> , 8,1)
6'	6,97 (1H, <i>dd</i> , 8,0, 2,5)	H-1, H-2, H-5'	6,80 (1H, <i>dd</i> , 8,0, 2,0)	6,76 (1H, <i>dd</i> , 8,1, 1,7)
1"	3,55 (2H, <i>q</i> , 7,0)	H-2"	3,58 (2H, <i>m</i>)	3,46 (2H, <i>t</i> , 7,3)
2"	2,75 (2H, <i>t</i> , 7,0)	H-1'', H-2''', H-6'''	2,78 (2H, <i>t</i>)	2,74 (2H, <i>t</i> , 7,3)
2'''	7,02 (2H, <i>d</i> , 8,5)	H-2'''	7,08 (2H, <i>d</i> , 8,5)	7,04 (2H, <i>d</i> , 8,4)
3'''	6,73 (2H, <i>d</i> , 8,5)		6,73 (2H, <i>d</i> , 8,5)	6,71 (2H, <i>d</i> , 8,4)
5'''	6,73 (2H, <i>d</i> , 8,5)		6,73 (2H, <i>d</i> , 8,5)	6,71 (2H, <i>d</i> , 8,4)
6'''	7,02 (2H, <i>d</i> , 8,5)	H-2'''	7,08 (2H, <i>d</i> , 8,5)	7,04 (2H, <i>d</i> , 8,4)
OCH ₃ -3'	3,85 (3H, <i>s</i>)		3,83 (3H, <i>s</i>)	3,85 (3H, <i>s</i>)
OCH ₃ -4'			3,78 (3H, <i>sl</i>)	
OCH ₃ -4'''			3,78 (3H, <i>sl</i>)	
NH	5,43 (1H, <i>m</i>)		5,45 (1H, <i>sl</i>)	

^a Dados obtidos em CDCl₃, 11,7 T.^b Multiplicidade estabelecida com base em experimento *g*COSY ^1H - ^1H .^c Dados obtidos em CD₃OD, 4,7 T.

5.5 Considerações gerais sobre a biogênese dos alcalóides **6** a **8** e da alcalamida **9**

Os alcalóides **6-8** e a alcalamida **9** têm em comum a tiramina como precursor biogenético. Suas rotas biossintéticas são bem mais conhecidas, quando comparadas as dos poliflavonóides ¹²⁹. O alcalóide **6** apresenta um esqueleto carbônico do tipo beziltetraisoquinolínico (BTIQ), formado pela reação entre a dopamina e o 4-hidroxifenilacetaldeído. Alguns alcalóides dessa subclasse são precursores biossintéticos de outros tipos de alcalóides, por exemplo, a (S)-reticulina, a (S)-N-metilcoclaurina e a (R)-orientalina, os quais originam alcalóides berberínicos, bisbenzilisquinolínicos e fenantrênicos (ácidos aristolóquicos), respectivamente (Figura 28).

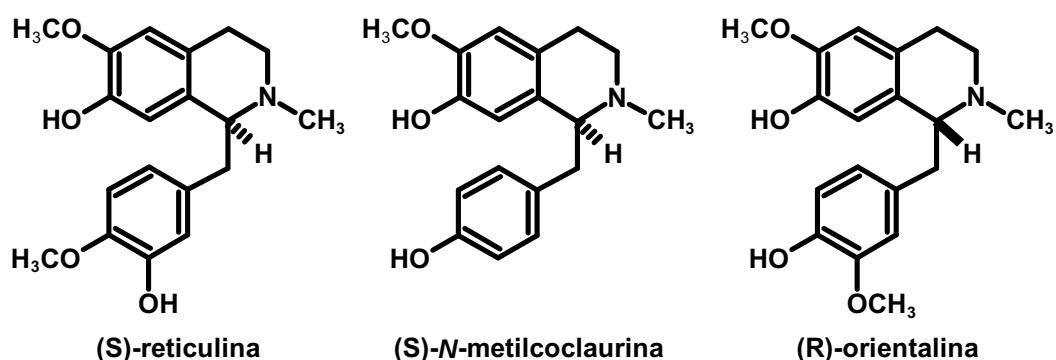
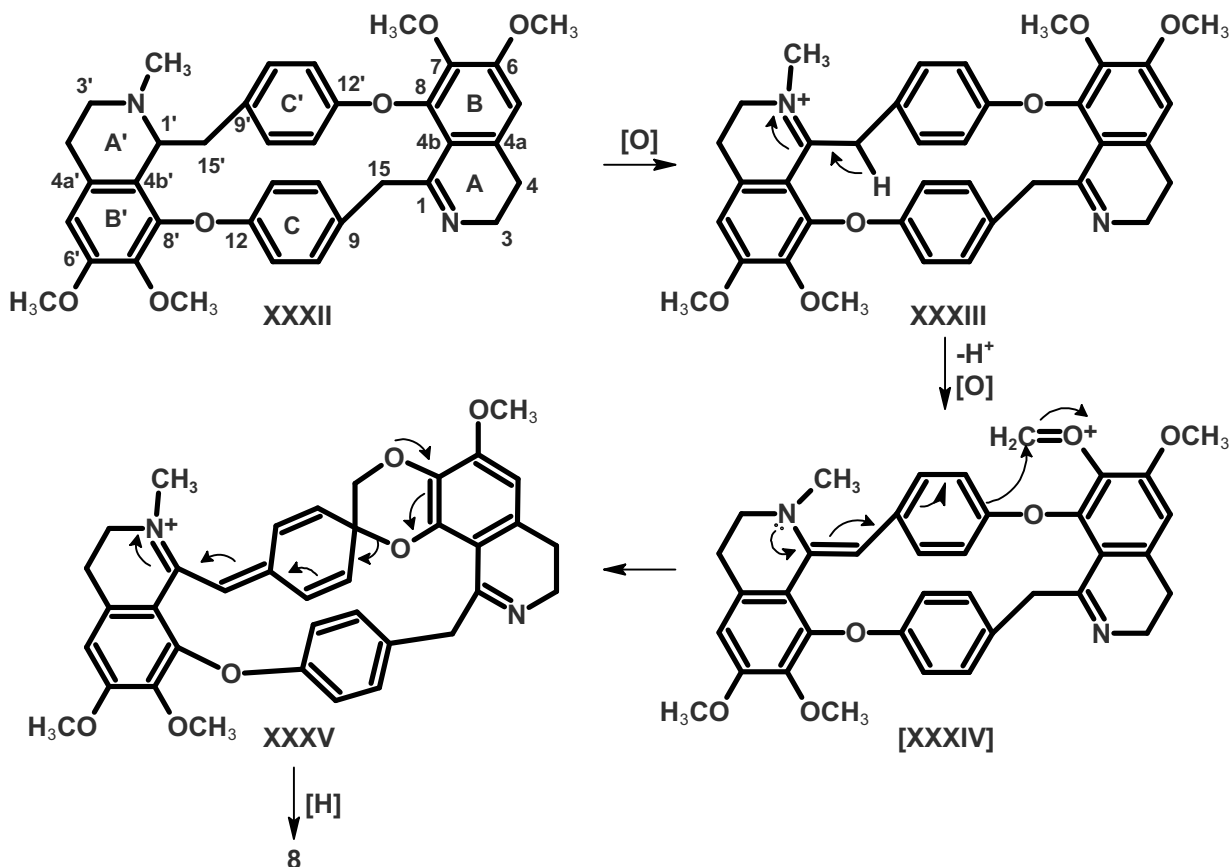


Figura 28. Estrutura de alguns alcalóides.

Os alcalóides BBIQs são formados pelo acoplamento oxidativo entre duas unidades BIQs. Porém, o alcalóide **8** parece não ser biossintetizado diretamente por esse caminho devido à ligação do tipo metilenoxídica entre os anéis B e C' ^{129, 130}. Segundo Bick (1981), o alcalóide BBIQ cicleanina (**XXXII**) poderia ser um dos precursores da cissampareina (**8**) (Esquema 24, p. 122). Esse alcalóide foi isolado inicialmente de *Cissampelos pareira* e posteriormente de *Cissampelos ovalifolia*, sendo também denominado de metilwarifteina (**8**). A cicleanina seria oxidada em C-15' e OCH₃-7, formando o intermediário bisbenzildiidroisoquinolínico (**XXXIII**), que após sua desprotonação formaria uma dupla ligação entre os carbonos 1' e 15' (**XXXIV**), promovendo a conjugação eletrônica entre os anéis B' e C'. Posteriormente, ocorreria uma substituição aromática eletrofílica envolvendo o íon oxônio formado pela oxidação da metoxila em C-7, resultando no intermediário com

anel 1-4-dioxeno (sistema espiro) (**XXXV**) . Finalmente, ocorreria abertura desse anel, seguida por uma etapa de redução, formando a cissampareína (**8**) .

Esquema 24. Proposta biogenética para o alcalóide cissampareína (**8**)



A alcalamida **9** é biossintetizada a partir de uma rota biossintética mista, em que uma unidade de fenilalanina e outra de tirosina são biotransformadas, respectivamente, em ácido ferúlico e tiramina, que posteriormente são unidas .

5.6 Identificação estrutural de **10** e **11**

5.6.1 (+)-2-Desoxi-D-ribono-1,4-lactona (**10**) e 2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona (**11**)

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **10** e de **11** são muito similares, embora tenham sido obtidos em diferentes solventes devido às distintas solubilidades dos mesmos (DMSO- d_6 para **10** e D_2O para **11**) (Figura 153, p. 337 a Figura 156, p. 340).

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135° e 90° de **10** evidenciou sinais relativos a um carbono metilênico (δ 37,9), três carbinólicos (δ 60,7, 67,7 e 88,2), além de um carbono carbonílico (δ 176,1) (Tabela 15, p. 125, Figura 157, p. 341). O espectro de RMN de ^{13}C de **11** mostra cinco sinais com deslocamentos químicos semelhantes aos observados para **10** em δ 40,1, 63,4, 70,7, 91,4 e 181,9. A análise comparativa dos espectros de RMN de ^{13}C e de ^1H de **10** e de **11** revelou uma diferença significativa principalmente para os deslocamentos químicos relativos aos carbonos carbonílicos ($\Delta\delta$ -5,8), e a presença de dois sinais relativos a dois hidrogênios hidroxílicos em δ 5,06 (1H, *t*, 4,0) e 5,50 (1H, *d*, 4,0) de **10**, não observados para **11** (Tabela 16, p. 126). A análise conjunta dos dados espectroscópicos de **10** e **11** sugere o mesmo esqueleto carbônico para esses compostos, o de uma 2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona. Porém, no caso de **11**, esterificações devem ocorrer em C-3 e C-5. O espectro de absorção na região do IV de **10** corrobora essa proposta, pois apresenta uma banda com um máximo de absorção em 1767 cm^{-1} (Figura 158, p. 341), característica de γ -lactonas.

Embora os espectros de RMN de ^1H destas duas lactonas não sejam de primeira ordem na região entre δ 4,25-4,29 de **10** e δ 4,50-4,56 de **11**, impossibilitando a análise das multiplicidades dos mesmos, a análise do experimento *g*NOESY 2D de **11** sugere que H-3 e H-4 encontram-se em faces opostas nessa molécula, devido a ausência do efeito *nOe* entre estes hidrogênios (Figura 159, p. 342).

Uma análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C e de ^1H de **10** e de **11** com os descritos na literatura para 2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona¹³¹ e 2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona, previamente isoladas de *A. arcuata*, indica a identidade com as respectivas substâncias descritas na literatura.

Estudos conformacionais realizados por Han e colaboradores (1994)¹³² descreveram a existência de cinco confôrmeros para anéis 1,4-lactônicos, sendo, um planar (P) e quatro envelopes (E_3 , 3E , E_4 e 4E). Segundo esses autores, os confôrmeros E_3 e 3E são geralmente mais estáveis que E_4 e 4E , e suas interconversões provavelmente descrevem a dinâmica de um anel 1,4-lactônico (Figura 29).

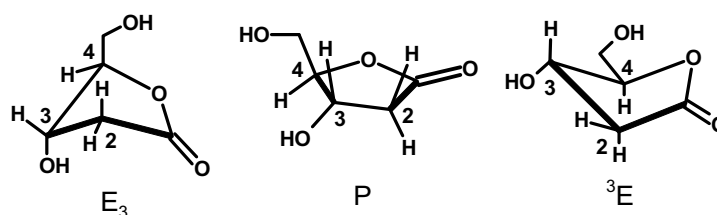
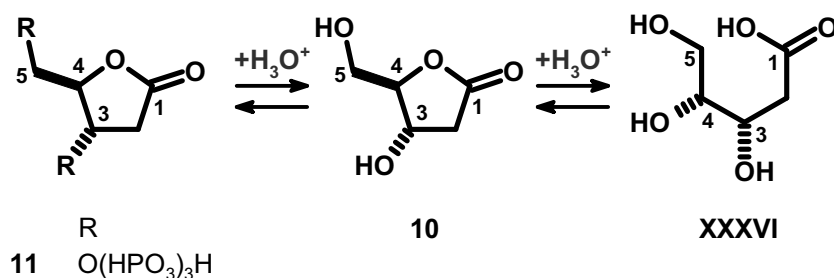


Figura 29. Principais confôrmeros de **10**.

A análise detalhada das constantes de acoplamento observadas para os hidrogênios metilênicos em δ 2,23 (*dd*, $J = 17,5$ e $2,5$ Hz) e 2,81 (*dd*, $J = 17,5$ e $6,5$ Hz) de **10** evidenciou constantes de acoplamento compatíveis com a presença de um acoplamento geminal, um *pseudo-axial-pseudo-equatorial* e outro *pseudo-equatorial-pseudo-equatorial*, todas compatíveis com o confôrmero E_3 . Consequentemente, H-3 e H-4 de **10** devem estar, preferencialmente, em posições *pseudo-trans-diequatoriais*. A mesma análise revelou o mesmo confôrmero para **11**.

A análise dos espectros DEPT 135° e 90° de **11** (Figura 160, p. 344), obtidos algumas semanas após a aquisição dos dados de RMN de ^{13}C dessa substância, evidenciou a presença de sinais relativos a dois carbonos metilênicos (δ 37,9 e 40,8), seis carbinólicos (δ 61,1, 62,7, 68,4, 70,0, 74,7 e 89,1), evidenciando a hidrólise dessa substância (Esquema 25, p. 125). Os espectros de RMN de ^{31}P de **11** (Figura 161, p. 344), calibrado externamente com H_3PO_3 (85 % em H_2O) como zero, confirma essa observação, pois mostra a presença de um único sinal em -0,92 ppm sugerindo a presença de íons H_2PO_4^- . Portanto, sugere-se que **11** possui unidades tripolifosfato ligadas em C-3 e C-5.

Esquema 25. Proposta de hidrólise de **11**

A análise dos deslocamentos químicos observados nos espectros DEPT 135° e 90° de **11** com os descritos na literatura demonstrou a existência de uma mistura de **10** [δ 37,9 (C-2), 61,1 (C-5), 68,4 (C-3) e 89,1 (C-4)] e **XXXVI** [δ 40,8 (C-2), 62,7 (C-5), 70,0 (C-3) e 74,7 (C-4)], decorrente de uma possível hidrólise em meio ácido.

Observou-se um valor de $[\alpha]_D^{30} +2,0^\circ$ (c. 0,32, MeOH) (Lit. $[\alpha]_D^{22} +3,5^\circ$, c. 0,8 mg/100 mL, MeOH) ¹³³ para **10**, o que está em conformidade com o descrito para essa 2-desoxi-1,4-ribonolactona.

Tabela 15. Dados de RMN de ^{13}C de **10**, 2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona, **11** e 2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona (δ)

C	10 ^{a, b}	2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona ^a	11 ^{b, c}	2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona ^d
	δ ^{13}C	δ ^{13}C	δ ^{13}C	δ ^{13}C
1	176,1 s	176,2	181,9 s	180,6
2	37,9 t	38,0	40,1 t	38,8
3	67,7 d	67,8	70,7 d	69,3
4	88,2 d	88,3	91,4 d	90,0
5	60,7 t	60,8	63,4 t	62,0

^a Dados obtidos em DMSO- d_6 , 11,7 T.

^b Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90°.

^c Dados obtidos em D₂O, 7,0 T.

^d Dados obtidos em D₂O, 11,7 T.

Tabela 16. Dados de RMN de ^1H de **10**, 2-desoxi-D-ribono-1,4-lactona, **11** e 2-desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona (δ , J em Hz)^a

H	10^b δ ^1H	2-desoxi-D-ribono -1,4-lactona ^b δ ^1H	11^c δ ^1H	gNOESY 2D	2-desoxi-D-ribono -3,5-bis(tripolifosfato) -1,4-lactona ^b δ ^1H
2e	2,23 (1H, <i>dd</i> , 17,5, 2,5)	2,24 (1H, <i>dd</i> , 17,7, 2,3)	2,55 (1H, <i>dd</i> , 18,5, 3,0)	H-2ax	2,46 (1H, <i>dd</i> , 18,5, 3,0)
2a	2,81 (1H, <i>dd</i> , 17,5, 6,5)	2,81 (1H, <i>dd</i> , 17,8, 6,47)	3,02 (1H, <i>dd</i> , 18,5, 7,0)	H-2eq	2,93 (1H, <i>dd</i> , 18,5, 7,0)
3	4,25-4,27 (1H, <i>m</i>)		4,50-4,52 (1H, <i>m</i>)	H-2ax, H-2eq, H-5a, H-5b	4,40-4,42 (1H, <i>m</i>)
4	4,27-4,29 (1H, <i>m</i>)	4,25-4,29 (2H, <i>m</i>)	4,53-4,56 (1H, <i>m</i>)	H-5a, H-5b	4,42-4,44 (1H, <i>m</i>)
5a	3,51-3,58 (2H, <i>m</i>)		3,84 (1H, <i>dd</i> , 13,0, 3,0)	H-5a	3,75 (1H, <i>dd</i> , 12,5, 3,0)
5b		3,51-3,60 (2H, <i>m</i>)	3,74 (1H, <i>dd</i> , 13,0, 4,5)	H-5b	3,65 (1H, <i>dd</i> , 12,5, 4,5)
OH-3	5,50 (1H, <i>d</i> , 4,0)	5,45 (1H, <i>d</i> , 4,2)			
OH-5	5,06 (1H, <i>t</i> , 4,0)	5,02 (1H, <i>t</i> , 5,42)			

^a Multiplicidade estabelecida com base em experimento gCOSY ^1H - ^1H .

^b Dados obtidos em DMSO- d_6 , 11,7 T.

^c Dados obtidos em D₂O, 11,7 T.

5.6.2 (+)-*proto*-Quercitol (**12**)

O espectro de RMN de ^{13}C de **12** mostra cinco sinais característicos de carbonos carbinólicos (δ 68,3, 68,6, 70,6, 71,9 e 74,3), além de um sinal em δ 33,0 (Figura 162, p. 345 e Tabela 17). O espectro de RMN de ^1H de **12** apresenta dois sinais relativos a dois hidrogênios metilênicos em δ 1,79 (H-6 $_{ax}$, *ddd*, $J = 14,0, 11,5$ e $3,5$) e 1,96 (H-6 $_{eq}$, *ddd*, $J = 14,0, 4,5$ e $3,5$), além de quatro sinais relativo as a quatro hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos (Figura 163, p. 346). A análise das multiplicidades e constantes de acoplamentos destes hidrogênios sugere a estrutura de desoxiexainositol para **12**, em que os substituintes hidroxílicos em C-1,2 e C-2,3 são *trans*-diequatoriais e os em C-4,5 são *trans*-diaxiais (Figura 30). Uma análise comparativa dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **12** com os de amostra autêntica do *proto*-quercitol (**XI**) evidenciou que se tratam da mesma substância. Observou-se um valor de $[\alpha]_D^{30}$ de $+33^\circ$ (c. 0,24 g/100 mL, H_2O) para **12**. Este desoxiinositol já havia sido isolado do extrato acetônico de folhas de *A. ridicula* em estudos fitoquímicos anteriores^{43, 90}.

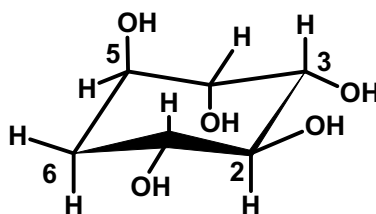


Figura 30. Configuração relativa de **12**.

Tabela 17. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de **12** e do *proto*-quercitol (δ , J em Hz)^a

C e H	12 ^b	<i>proto</i> -quercitol ^c
1	68,6 3,73 (1H, <i>ddd</i> , $J = 11,5, 9,3, 4,5$)	69,1 3,65 (1H, <i>ddd</i> , $J = 11,5, 9,3, 5,0$)
2	74,3 3,54 (1H, <i>t</i> , $J = 9,3$)	74,8 3,46 (1H, <i>t</i> , $J = 9,3$)
3	70,6 3,69 (1H, <i>dd</i> , $J = 9,3, 3,5$)	71,2 3,61 (1H, <i>dd</i> , $J = 9,3, 3,3$)
4	71,9 3,90 (1H, <i>t</i> , $J = 3,5$)	72,5 3,83 (1H, <i>dt</i> , $J = 1,3, 3,3$)
5	68,3 3,99 (1H, <i>q</i> , $J = 3,5$)	68,8 3,92 (1H, <i>q</i> , $J = 3,3$)
6 $_{ax}$	33,0 1,79 (1H, <i>ddd</i> , $J = 14,0, 11,5, 3,5$)	33,5 1,71 (1H, <i>ddd</i> , $J = 14,0, 11,5, 3,3$)
6 $_{eq}$	1,96 (1H, <i>ddd</i> , $J = 14,0, 4,5, 3,5$)	1,89 (1H, <i>dddd</i> , $J = 14,0, 5,0, 3,3, 1,3$)

^a Multiplicidade estabelecida com base em experimento $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$.

^b Dados obtidos em D_2O , 4,7 T.

^c Dados obtidos em D_2O , 11,7 T.

5.6.3 Etil- β -D-glucopiranosídeo (**13**)

Os espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 135° e 90° de **13** apresentam oito sinais relativos a quatro carbonos metínicos/carbinólicos em δ 70,0, 73,4, 76,1 e 76,2, dois metilênicos/carbinólicos em δ 61,1 e 66,4 e um metílico em δ 14,5, além de um sinal típico de um carbono anomérico em δ 102,1 (Figura 164, p. 348 e Figura 165, p. 348). A análise do espectro de RMN de ^1H de **13**, auxiliado pelos experimentos gTOCSY 1D e HOMODEC (Figura 166, p. 349 a Figura 168, p. 351), permitiu estabelecer a multiplicidade dos sinais de hidrogênios (Tabela 18, p. 129). Essa análise evidenciou acoplamento entre H-1 (δ 4,44) e H-2 (δ 3,23), entre H-3 (δ 3,46) e H-2 e H-4 (δ 3,35), entre H-4 e H-3 e H-5 (δ 3,41), entre H-5 e H-4, H-6a (δ 3,68) e H-6b (δ 3,88), entre 2H-6 e H-5, e H-6a e H-6b, permitindo estabelecer as posições axiais para H-1 a H-5 em um anel piranosídico com configuração relativa idêntica à da glucose. Além desses sinais, evidenciou-se também sinais em δ 3,94 (H-1'a, *dq*, $J = 10,0$ e $7,0$ Hz), 3,70 (H-1'b, *dq*, $J = 10,0$ e $7,0$ Hz) e 1,25 (H-2', *t*, $J = 7,0$ Hz), sugerindo a presença de um substituinte etoxila em **13**. A análise dos mapas de contornos gHMBC (Figura 169, p. 352) e gHMBC (Figura 170, p. 354) dessa substância evidenciou correlações de H-1'a e H-1'b com C-1 (δ 102,1), e de H-1 com C-1' (δ 66,4), permitindo estabelecer a posição desse substituinte em C-1, formando um acetal (Figura 31).

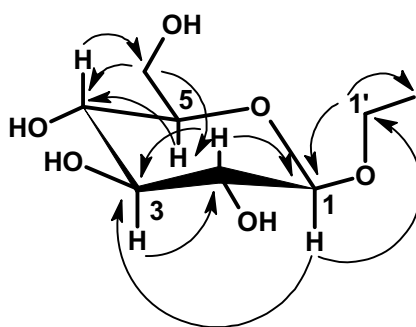


Figura 31. Principais correlações observadas pelo experimento gHMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **13**.

Uma análise comparativa dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de **13** com os da substância etil- β -D-glucopiranosídeo, identificada em *Hippophaë rhamnoides* Linn. (Elaeagnaceae)¹³⁴, confirmou que se tratam da mesma substância.

Tabela 18. Dados de RMN de ^{13}C e de ^1H de **13** e da etil- β -D-glucopiranosídeo (δ , J em Hz)^a

C e H	13 ^b	δ $^{13}\text{C}^c$	gHMBC	δ ^1H	Etil- β -D-glucopiranosídeo ^d	
					δ ^{13}C	δ ^1H
1		102,1 <i>d</i>	H-1'a, H-1'b, H-2	4,44 (1H, <i>d</i> , 8,0)	101,8	4,49 (1H, <i>d</i> , 8,0)
2		73,4 <i>d</i>	H-3	3,23 (1H, <i>dd</i> , 9,3, 8,0)	73,1	3,27 (1H, <i>dd</i> , 9,1, 8,0)
3		76,2 ^e <i>d</i>	H-1, H-2, H-5	3,46 (1H, <i>t</i> , 9,3)	75,9 ^e	3,50 (1H, <i>t</i> , 9,1)
4		70,0 <i>d</i>	H-5, H-6b	3,35 (1H, <i>t</i> , 9,3)	69,6	3,39 (1H, <i>dd</i> , 9,1, 9,6)
5		76,1 ^e <i>d</i>	H-6a	3,41 (1H, <i>ddd</i> , 9,3, 6,0, 2,2)	75,8 ^e	3,47 (1H, <i>ddd</i> , 9,6, 6,0, 2,2)
6a		61,1 <i>t</i>	H-4	3,68 (1H, <i>dd</i> , 12,3, 6,0)	60,8	3,73 (1H, <i>dd</i> , 12,3, 6,0)
6b				3,88 (1H, <i>dd</i> , 12,3, 2,2)		3,93 (1H, <i>dd</i> , 12,3, 2,2)
1'a		66,4 <i>t</i>	H-1	3,70 (1H, <i>dq</i> , 10,0, 7,0)	66,2	3,75 (1H, <i>dq</i> , 10,0, 7,1)
1'b				3,94 (1H, <i>dq</i> , 10,0, 7,0)		3,99 (1H, <i>dq</i> , 10,0, 7,1)
2'		14,5 <i>q</i>	H-1'a, H-1'b	1,25 (3H, <i>t</i> , 7,0)	14,2	1,25 (3H, <i>t</i> , 7,1)

^a Multiplicidade estabelecida com base em experimento gCOSY ^1H - ^1H .^b Dados obtidos em D₂O, 11,7 T.^c Os dados de RMN de ^{13}C e suas multiplicidades foram atribuídos com auxílio dos experimentos DEPT 135° e 90°.^d Dados obtidos em D₂O, 9,4 T.^e Os valores que antecedem a mesma letra podem estar trocados na mesma coluna.

5.6.4 Ácido 2-butinodióico (**14**), 3-hidroxipropanoato (**15**), acetato (**16**) e formiato (**17**)

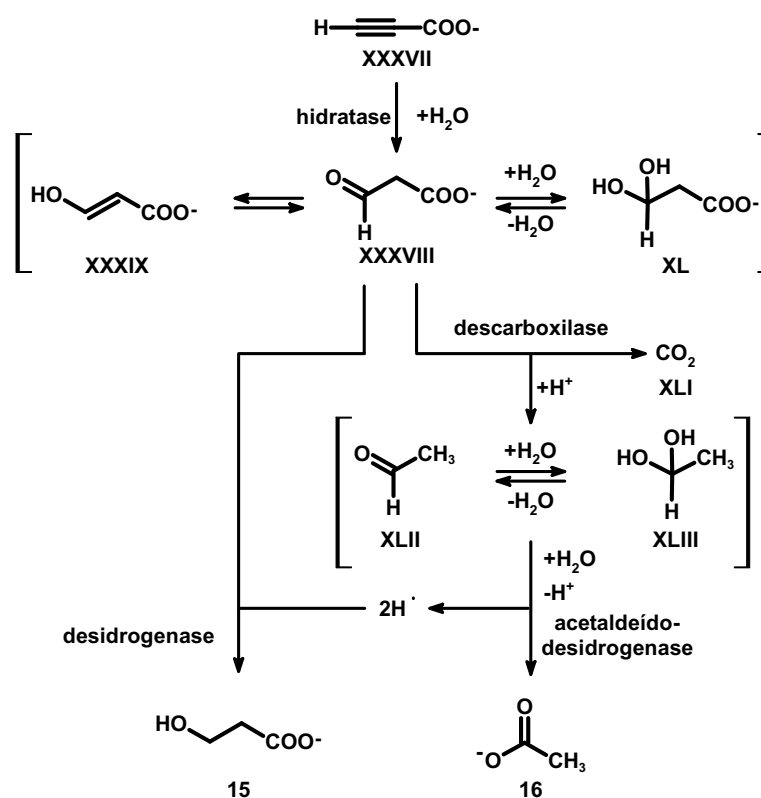
O espectro de RMN de ^1H de **14** em D₂O não revelou sinais de hidrogênios, indicando que se tratava de um composto inorgânico ou um composto orgânico desprovido de hidrogênios. O espectro de massas de alta resolução de **14** (Figura 171, p. 356) evidencia a molécula desprotonada $[\text{M}-\text{H}]^-$ de m/z 112,9871, sugerindo a fórmula molecular C₄O₄H₂ (calculado para C₄O₄H₂-H = 112,9875), compatível com a estrutura do ácido 2-butinodióico.

O espectro de RMN de ^1H da amostra CEI-3-N-3 em D₂O apresenta sinais em cinco diferentes regiões do espectro (Figura 172, p. 356), cujas integrações das áreas indicam tratar-se de uma mistura de substâncias. A análise desse espectro, juntamente com a dos mapas de contornos gHMQC (Figura 173, p. 357) e gHMBC (Figura 174, p. 359) dessa amostra evidenciou a presença de três ânions: 3-hidroxipropanoato (**15**: δ_{C} 180,5, 40,0, 58,8; δ_{H} 2,41, 3,77), acetato (**16**: δ_{C} 181,6 e 23,0; δ_{H} 1,89) e traços de formiato (**17**: δ_{H} 8,43).

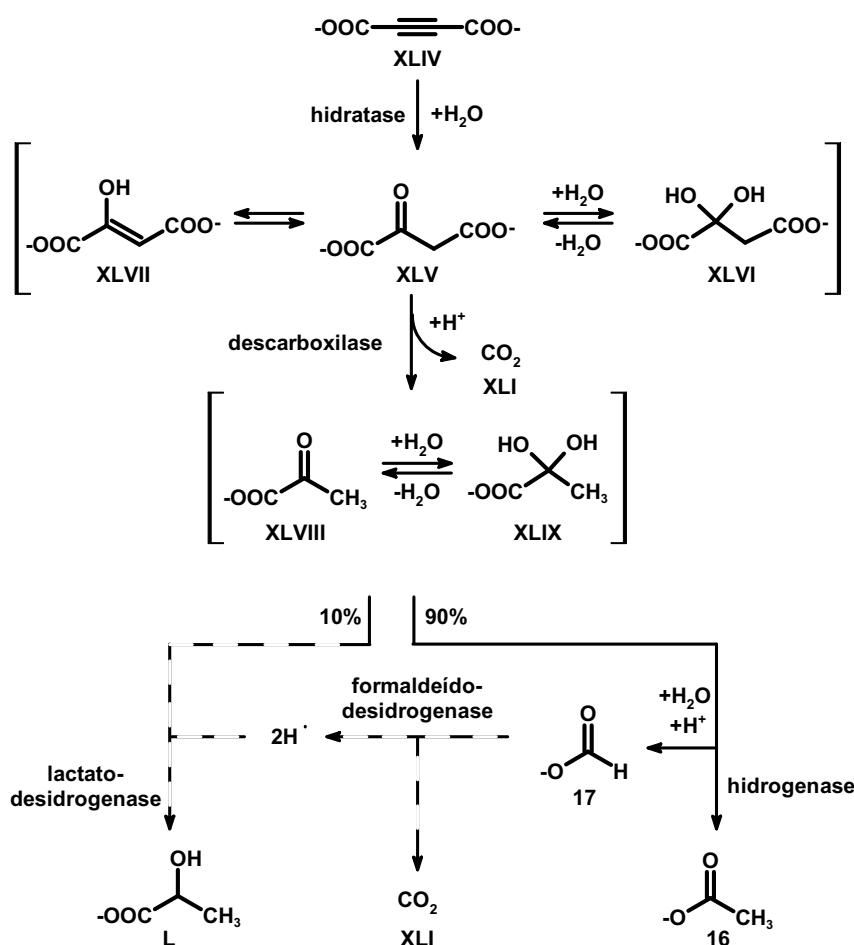
A formação dos compostos como **15-17** foi previamente monitorada por Brecker e colaboradores (2003) por RMN de ^1H *in situ* a partir de substratos contendo propionato (**XXXVII**) e 2-butinodionato (**XLIV**) (“substratos invisíveis”) na

presença de *Pseudomonas putida* Trev.¹³⁵. Deste monitoramento, eles propuseram duas rotas metabólicas para a degradação desses α -alquinoatos, no qual as ligações triplas dos “substratos invisíveis” são inicialmente hidratadas, formando 3-cetopropanoato (**XXXVIII**) (Esquema 26) e 2-cetobutanodionato (**XLV**) (Esquema 27, p. 131) a partir do propionato e do 2-butinodionato, respectivamente. Na primeira rota, o acetaldeído (**XLII**) é oxidado a acetato (**16**), acompanhado pela redução do 3-cetopropanoato (**XXXVIII**) a 3-hidroxipropionato (**15**). Na outra rota de biotransformação, o α -cetoácido (**XLV**) sofre descarboxilação resultando no piruvato (**XLVIII**). O piruvato é então hidrolisado a acetato (**16**), formiato (**17**) e a pequenas quantidades de lactato (**L**).

Esquema 26. Proposta de via metabólica do propionato em *P. putida* para a formação de **15** e **16**

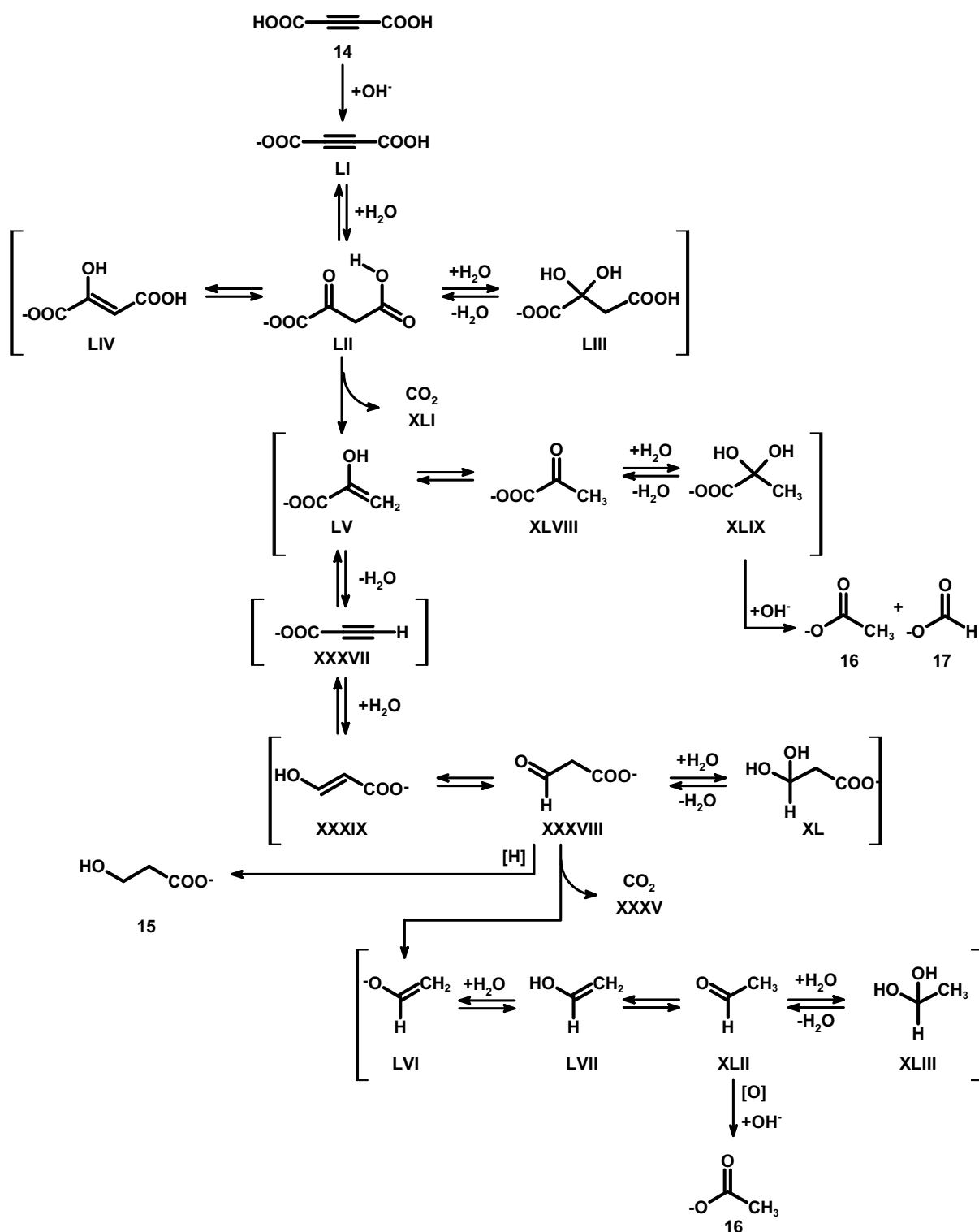


Esquema 27. Proposta de via metabólica do 2-butinodionato em *P. putida* para formação de **16** e **17**



Baseando-se na proposta de Brecker, propõe-se que ao submeter o composto **14** em meio alcalino durante os processos de purificação este (Esquema 16, p. 68) formaria o ânion 2-butinoato (**LI**), o qual poderia originar o propinoato (**XXXVII**) (não detectado) por descarboxilação. Esse composto não detectado seria então transformado em 3-hidroxiopropanoato (**15**), acetato (**16**) e formiato (**17**), por reações de descarboxilação, oxidação e redução (Esquema 28, p. 132). Logo, a diferença entre essa proposta e aquela apresentada por Brecker para biotransformações é a formação do propionato a partir de **14** por um processo exclusivamente químico e catalisado por base.

Esquema 28. Proposta para as transformações químicas do ácido 2-butinodióico (**14**) em **15-17**



5.7 Considerações sobre os bioensaios realizados com extratos e substâncias isoladas de *Aristolochia ridicula*

5.7.1 Avaliação da susceptibilidade do inseto *Anticarsia gemmatalis* a extratos e poliflavonóides isolados de *Aristolochia ridicula*

Diferentes concentrações dos extratos FA(1996) e CA(1996), bem como dos poliflavonóides **II-V**, **IX** e **4** foram aplicadas sobre o mesotórax de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* no 3º “instar”. Analisou-se a viabilidade pupal aferida após 72 h da aplicação tópica (vp_{72}), a viabilidade pupal total aferida ao final do ciclo de desenvolvimento do inseto-modelo (vp_t) e a variação de massa média de pupa desse inseto-modelo submetido aos bioensaios.

A análise dos resultados não revelou curvas de viabilidade pupal dose-dependente de *A. gemmatalis* em função da variação das concentrações de FA e CA (Tabela 19 e Tabela 20, p. 134). Entretanto, observou-se uma diminuição significativa da massa média de pupa empregando-se FA na concentração de 60,0 µg/inseto.

Tabela 19. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica do extrato acetônico de folhas de *A. ridicula*

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
FA-1	3,8	100,0	0,0	93,3	12,4	223,37bc
FA-2	7,5	100,0	0,0	76,7	27,2	223,32bc
FA-3	15,0	100,0	0,0	73,3	20,8	229,95abc
FA-4	30,0	93,3	12,4	80,0	21,7	235,11ab
FA-5	60,0	93,3	12,4	90,0	11,1	209,93c
DMS	–	–	–	–	–	21,60
CV (%)	–	–	–	–	–	12,41

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 20. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica do extrato acetônico de caules de *A. ridícula*

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
CA-2	10,0	83,3	25,0	30,0	88,2	248,13a
CA-3	20,0	90,0	11,1	56,7	36,7	231,03b
CA-4	40,0	96,7	6,0	90,0	19,2	230,80b
DMS	–	–	–	–	–	16,3
CV (%)	–	–	–	–	–	9,63

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A análise dos resultados obtidos para as biflavonas **II**, **III** e **IV** também não revelou curvas de viabilidade dose-dependente *A. gemmatalis* em função da variação das concentrações dessas soluções (Tabela 21, Tabela 22, p. 135 e Tabela 23, p. 135). Contudo, observou-se um decréscimo de aproximadamente de 10 a 20% de vp₇₂ e de vp_t de *A. gemmatalis* envolvendo a biflavona **III** nas concentrações de 5,0 e 10,0 µg/inseto, respectivamente. Além disso, a biflavona **IV** reduziu em aproximadamente 30% de vp₇₂ e vp_t desse inseto na concentração de 10 µg/inseto.

Tabela 21. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica da biflavona **II**

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
II-A	0,6	70,0	14,3	66,7	22,9	242,15a
II-B	1,2	86,7	26,6	73,3	34,3	227,80a
II-C	2,5	80,0	12,5	73,3	15,7	226,89a
II-D	5,0	86,7	17,6	83,3	13,9	241,06a
II-E	10,0	90,0	11,1	83,3	6,9	231,93a
DMS	–	–	–	–	–	22,38
CV (%)	–	–	–	–	–	12,48

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 22. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica da biflavona **III**

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
III-A	0,6	76,7	32,8	60,0	16,7	238,11a
III-B	1,2	100,0	0,0	73,3	20,8	226,39a
III-C	2,5	80,0	21,7	80,0	25,0	237,78a
III-D	5,0	86,7	6,7	80,0	0,0	233,66a
III-E	10,0	83,3	6,9	73,3	20,8	233,80a
DMS	–	–	–	–	–	21,24
CV (%)	–	–	–	–	–	11,84

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 23. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica da biflavona **IV**

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
IV-A	0,6	–	–	–	–	–
IV-B	1,2	70,0	24,7	53,3	28,6	251,54a
IV-C	2,5	73,3	34,3	60,0	28,9	246,55ab
IV-D	5,0	93,3	6,2	86,7	17,6	229,08b
IV-E	10,0	66,7	8,7	56,7	20,4	256,10a
DMS	–	–	–	–	–	20,07
CV (%)	–	–	–	–	–	11,18

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A chalcona-flavona **V** reduziu de 20-40% de vp_t nas concentrações de 1,2 a 10,0 µg/inseto (Tabela 24, p. 136). Enquanto, a chalcona-flavona **4** não provocou uma variação significativa das viabilidades pupais nas concentrações bioensaiadas (Tabela 25, p. 136). No entanto, **4** provocou uma diminuição significativa da massa média de pupa na concentração de 5,0 µg/inseto.

Tabela 24. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica da chalcona-flavona **V**

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
V-A ²	0,6	95,0	7,4	80,0	35,4	234,75ab
V-B	1,2	73,7	31,5	56,7	10,2	221,92b
V-C	2,5	96,7	6,0	80,0	12,5	238,36ab
V-D	5,0	93,3	6,2	70,0	0,0	243,94a
V-E	10,0	93,3	6,2	80,0	0,0	233,74ab
DMS	–	–	–	–	–	20,16
CV (%)	–	–	–	–	–	11,22

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Os dados foram calculados baseando-se em 20 insetos.

Tabela 25. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica da chalcona-flavona **4**

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
4-A	0,6	83,3	34,6	66,7	34,6	235,93ab
4-B	1,2	66,7	37,7	53,3	65,8	246,14a
4-C	2,5	93,3	12,4	86,7	17,6	226,42abc
4-D	5,0	86,7	17,6	76,7	41,9	205,67c
4-E	10,0	83,3	6,9	86,7	13,3	218,98bc
DMS	–	–	–	–	–	25,08
CV (%)	–	–	–	–	–	14,30

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O tetraflavonóide **IX** provocou uma redução de 20 e 30% de vp₇₂ e vp_t, respectivamente, apenas na concentração de 1,9 µg/inseto (Tabela 26, p. 137).

Tabela 26. Viabilidades pupais e massa média de pupa de *A. gemmatalis* submetida à aplicação tópica do tetraflavonóide **IX**

Código	Conc. (µg/inseto)	vp ₇₂ (%)		vp _t (%)		Massa média de pupa (mg) ¹
		média	CV	média	CV	
Etanol	–	100,0	0,0	100,0	0,0	246,48ab
Acetona	–	100,0	0,0	100,0	0,0	244,37ab
IX-A ²	0,5	85,0	25,0	55,0	38,6	236,29a
IX-B	0,9	83,3	18,3	76,7	19,9	230,47a
IX-C	1,9	76,7	7,5	70,0	14,3	236,45a
IX-D	3,8	73,3	34,3	53,3	39,0	234,73a
IX-E	7,5	93,3	12,4	80,0	25,0	230,42a
DMS	–	–	–	–	–	21,28
CV (%)	–	–	–	–	–	11,87

¹ Médias seguidas pela mesma letra não indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

² Os dados foram calculados com base em 20 insetos.

Os bioensaios envolvendo a susceptibilidade de *Anticarsia gemmatalis* às soluções em concentrações diferentes dos extratos FA e CA e dos poliflavonóides **II-V**, **IX** e **4** não evidenciaram curvas de viabilidade dose-dependente de *A. gemmatalis* em função da variação das concentrações das soluções de extratos e de substâncias. Esse fato pode ser explicado devido à elevada adaptabilidade desse inseto-modelo às espécies vegetais ricas em flavonóides, por exemplo, a soja (*Glycine max* Linn.), uma espécie rica em isoflavonas. Entretanto, a atividade antialimentar provocada pelos poliflavonóides em fitófagos parece ser confirmada pelos experimentos envolvendo a chalcona-flavona **4** e seu extrato de origem (FA), os quais evidenciaram uma redução significativa da massa média de pupa de *A. gemmatalis*.

5.7.2 Avaliação da susceptibilidade do protozoário *Plasmodium falciparum* a extratos e poliflavonóides isolados de *Aristolochia. ridicula*

Avaliou-se a atividade antiplasmódica dos extratos FH, FA, FE, FS, CH, CA, CE e CS de *A. ridicula*, sendo que os extratos polares de caules CS, CE e CA foram ativos contra cepa de *P. falciparum* cloroquina-resistente (Tabela 27, p. 138). A partir do extrato CE isolou-se os biflavonóides **3** e **4**, os alcalóides **6-8**, a alcalamida **9**, as 2-desoxiribonolactonas **10** e **11**, o ciclitol **12**, o derivado glicosídico **13**, além do diácido **14** e seus derivados carboxilatos **15-17**. Do extrato CA isolou-se as biflavonas **III** e

IV, as chalconas-flavonas **V-VIII** e o tetraflavonóide **XIX**. O extrato FS ainda não foi estudado. Além dessas substâncias, isolou-se os biflavonóides **I** e **II**, o tetraflavonóide **X** e o ciclitol **XI (12)** a partir de FA.

Entre as substâncias isoladas dos extratos de *A. ridicula*, avaliou-se a atividade antiplasmódica *in vitro* das biflavonas **II** e **IV**, das chalcona-flavonas **V** e **4** e do tetraflavonóide **IX**.

Exceto a biflavona **II**, os demais poliflavonóides (**IV**, **V**, **IX** e **4**) apresentaram atividade antiplasmódica moderada, e IC_{50} superiores aos de seus extratos de origem (FA, CA e CE) (Tabela 28, p. 139). Portanto, baseando-se no histórico das substâncias isoladas a partir dos extratos ativos CE e CA, sugere-se que outras substâncias presentes nesses extratos contribuíram para a atividade antiplasmódica observada, por exemplo, os alcalóides isolados a partir de CE, pois essa classe de substâncias apresentam diversos compostos com atividade antiplasmódica comprovada¹⁰³. Pode-se citar, como exemplo, os alcalóides isococlaurina (BTIQ), (-)-cissampentina (BBIQ) e *N*-steponina (protoberberínico) isolados a partir de raízes de *Cissampelos mucronata* A. Rich., os quais apresentam IC_{50} de 1,4, 2,6 e 8,9 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, contra cepa de *P. falciparum* cloroquina-resistente.

Tabela 27. Susceptibilidade de *P. falciparum* aos extratos de *A. ridicula*

Códigos	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)			Atividade antiplasmódica
	1º Experimento	2º Experimento	3º Experimento	
FH	>50	>50	~25	INATIVA
FA	$25 \leq IC_{50} \leq 50$	>25	<25	INDEFINIDA
FE	>50	>50	>50	INATIVA
FS	>50	>50	>50	INATIVA
CH	$25 \leq IC_{50} \leq 50$	>25	<25	INDEFINIDA
CA	<25	<25	2	ATIVA
CE	<25	<25	5	ATIVA
CS	<25	<25	4	ATIVA
cloroquina	$0,125 < IC_{50} < 0,250$	0,194	>0,5	ATIVA

Tabela 28. Susceptibilidade de *P. falciparum* aos poliflavonóides II-IV, IX e 4

Códigos	IC ₅₀ (µg/mL)			Atividade antiplasmódica ^a
	1º Experimento	2º Experimento	3º Experimento	
II	^b	>50	>50	INATIVA
IV	12	>50	25≤IC ₅₀ ≤50	PA
V	6	35	11	PA
IX	19	16	4	PA
4	19	30	8	PA
cloroquina	0,125<IC ₅₀ <0,250	0,194	>0,5	ATIVA

^a PA: Parcialmente ativa.^b Experimento não realizado.

5.7.3 Avaliação da susceptibilidade da bactéria *Mycobacterium tuberculosis* aos extratos de *Aristolochia ridicula*

Os ensaios antimicobacterianos *in vitro* dos extratos FH, FA, FE, FS, CH, CA, CE e CS de *A. ridicula* contra *M. tuberculosis* (H37Rv) pelo método MABA mostraram CIM inferiores ou iguais a 125 µg/mL para os extratos FH, FA, FE, CH, CA, CE e CS (Tabela 29). Portanto, todos os extratos, exceto FS, apresentam atividade antimicobacteriana, entre os quais, destaca-se CH, CA e CE por apresentarem CIM de 3,91 µg/mL e FH e CS com CIM de 31,25 µg/mL. Logo, os extratos provenientes de caules, exceto CS, possuem maior potencial antimicobacteriano quando comparado com os de folhas de *A. ridicula*.

Tabela 29. Susceptibilidade de *M. tuberculosis* aos extratos de *A. ridicula*

Códigos	CIM (µg/mL)	Atividade antimicobacteriana
FH	31,25	ATIVA
FA	125	ATIVA
FE	125	ATIVA
FS	>250	INATIVA
CH	3,91	ATIVA
CA	3,91	ATIVA
CE	3,91	ATIVA
CS	31,25	ATIVA
isoniazida	0,03	ATIVA

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo fitoquímico dos extratos acetônico de folhas e etanólico de caules de *Aristolochia ridicula* H.B.K. resultou isolamento de dezessete substâncias naturais pertencentes a distintas classes de metabólitos especiais (flavonóides e alcalóides/amidas) e essenciais (ribonolactonas, ciclitóis, açúcares e ácidos carboxílicos e seus derivados).

A partir do extrato acetônico de folhas, isolou-se cinco flavonóides: dois novos biflavonóides, sendo uma biflavona (**2**) e uma chalcona-flavona (**4**); um tetraflavonóide com esqueleto carbônico inédito (**5**), além de um monoflavonóide conhecido (**1**), uma biflavona rara (**3**) e um ciclitol (**12**), sendo essas duas últimas substâncias isoladas em estudos químicos anteriores de *A. ridicula*. Do extrato etanólico de caules, foram isolados três alcalóides: um BTIQ (**6**), um protoberberínico (**7**) e um BBIQ (**8**), além de uma alcalamida (**9**), duas 2-desoxiribonolactonas (**10** e **11**), um ciclitol (**12**), um derivado glucosídico (**13**) e um ácido α -alcinodióico (**14**) e seus três prováveis derivados carboxilatos (**15-17**).

A utilização de partições, lavagens e precipitações, seguidas por fracionamentos cromatográficos simples mostrou-se uma metodologia satisfatória para a obtenção de poliflavonóides a partir do extrato acetônico de folhas de *A. ridicula*. Uma metodologia semelhante foi aplicada ao fracionamento do extrato etanólico de caules e resultou no reisolamento da biflavona **3**, da chalcona-flavona **4** e do ciclitol **12**. A purificação dos alcalóides **6-8** por CCDP (sílica gel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) mostrou-se eficiente principalmente para **8**, enquanto a utilização de CC (LH-20, MeOH) para a purificação do sal alcaloídico **7** foi mais apropriada. Devido principalmente às diferenças de polaridade, solubilidade e complexidade estrutural dos compostos de interesse, o monitoramento das frações flavonoídicas foi feito por RMN de ^1H , enquanto que para as frações alcaloídicas, utilizou-se CCDC.

As análises por RMN 1D e 2D dos flavonóides **2-5** em solventes polares apróticos (CD_3CN) foram fundamentais para determinar suas estruturas moleculares, bem como para compreender o comportamento conformacional dessas moléculas. A interpretação dos espectros de massas obtidos por ESI foi imprescindível para a determinação estrutural do tetraflavonóide **5** e do alcalóide BBIQ **8**. A obtenção dos derivados metilados **3a**, **4a**, **4b**, **7a** e **8a** e acetilados **7b** foi essencial para a completa determinação estrutural de seus respectivos produtos naturais.

Análises comparativas entre as curvas de DC e os espectros de absorção na região do UV dos poliflavonóides **2**, **3a**, **4**, **4a**, **4b** e **5** evidenciaram a existência de efeitos Cotton significativos nas curvas de DC de **2**, **4**, **4a** e **5** e a ausência destes para os derivados metilados **3a** e **4b**, os quais não apresentam ligação de hidrogênio intramolecular. Portanto, pode-se inferir que ligações de hidrogênio intramolecular com oxigênios carbonílicos presentes em **2** e **4** e **4a** são essenciais para a quiralidade axial dos rotores C-3-C-6" e C- α -CO-1" presentes nas biflavonas, chalconas-flavonas e tetraflavonóides isolados de *A. ridicula*. Tais considerações estão em conformidade com os dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de ^{13}C dessas substâncias.

A avaliação da atividade inseticida de extratos e de substâncias isoladas de *A. ridicula* em *Anticarsia gemmatilis* (inseto-modelo) apresentou resultados interessantes. Apesar dos resultados obtidos para os poliflavonóides **II-V**, **IX** e **4** e para os extratos FA e CA não apresentarem curvas de viabilidade pupal dose-dependente, observou-se reduções de 10 a 40% nas viabilidades pupais (vp_{72} e/ou vp_t) para os bioensaios envolvendo os poliflavonóides **III**, **IV**, **V** e **IX**. Além disso, a chalcona-flavona **4** e seu extrato de origem (FA) causaram uma diminuição significativa da massa média de pupa nas concentrações de 5,0 e 60,0 $\mu\text{g/inseto}$, respectivamente. Esses resultados sugerem que os poliflavonóides poderiam exercer efeito deletério e/ou atividade antialimentar em fitófagos, funções já comprovadas para diversos flavonóides.

Os resultados antiplasmódicos envolvendo extratos e poliflavonóides de *A. ridicula* evidenciaram que os extratos acetônico, etanólico e etanólico-soxhlet de caules são ativos nas condições bioensaiadas, enquanto os biflavonóides **III**, **IV** e **4** e o tetraflavonóide **IX** são parcialmente ativos contra cepa de *P. falciparum* cloroquina-resistente. Quanto aos ensaios antimicobacterianos, verificou-se elevada susceptibilidade da bactéria *M. tuberculosis* principalmente aos extratos hexânico, acetônico e etanólico de caules de *A. ridicula* (CIM de 3,91 $\mu\text{g/mL}$). A atividade antimicobacteriana das substâncias isoladas a partir dos extratos acetônico e etanólico de caules é desconhecida, bem como a composição química do extrato hexânico de caules de *A. ridicula*.

Baseando-se nos compostos obtidos de diferentes extratos de *A. ridicula*, algumas considerações podem ser feitas quanto à particularidade química dessa espécie em Aristolochiaceae, bem como à similaridade química com outras espécies

vegetais. Primeiramente, a composição química de *A. ridicula* é distinta das demais espécies de Aristolochiaceae devido à presença de biflavonas com padrão de ligação intraflavonoídica (C-3–C-6'') raro, de chalconas-flavonas com anéis furânicos e de tetraflavonóides incomuns, bem como pela presença de alcalóides BBIQs com ligação metilenoxílica pouco usual. A análise dos resultados apresentados neste trabalho evidenciou similaridades químicas entre *Aristolochia ridicula* H.B.K. e espécies pertencentes aos gêneros *Stephania* e *Cissampelos* da família Menispermaceae. A partir de *S. tetrandia*, isolou-se biflavonas com o mesmo padrão de ligação intraflavonoídica que as de *A. ridicula*, enquanto que de *C. pareira* isolou-se uma chalcona-flavona de mesmo esqueleto que **4** e o alcalóide cissampareina (**8**). A similaridade química entre espécies de Aristolochiaceae e de Menispermaceae já havia sido relatada por Hutchinson (1973), devido à semelhança dos compostos químicos isolados a partir de espécies pertencentes a ambas as famílias, entre os quais estão aristolactamas e dioxoaporfinais .

Portanto, este trabalho poderá auxiliar na compreensão sobre a ocorrência, distribuição e biossíntese de poliflavonóides em Angiospermas, bem como em estudos quimiosistemáticos.

7 DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E SEUS DERIVADOS

7.1 Luteolina (1)

Dados de RMN de ^1H em conformidade com os descritos na literatura .

7.2 3''',4',4''',5,5'',7''-Hexaidroxi-7-metoxi-3,6''-biflavona (ridiculuflavona D, 2)

Sólido amarelo; p.f. 238,3-239,3 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -6,0 ° (c. 0,055, MeOH); DC (MeOH; c. 0,040) $[\theta]_{230}$ +2115, $[\theta]_{238}$ +2148, $[\theta]_{260}$ +1679 sh, $[\theta]_{270}$ +2171, $[\theta]_{324}$ +458 sh, $[\theta]_{336}$ +767, $[\theta]_{346}$ +465 sh, $[\theta]_{365}$ 0, $[\theta]_{382}$ -227, $[\theta]_{403}$ 0; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 262 (4,3), 334 (4,2); IV $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3345, 1628, 1383, 1099, 1038; dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (CD_3OD), ver Tabela 3, p. 86 e Tabela 2, p. 85, respectivamente; EM-ESI-AR (sonda) 4500V, m/z (int. rel.): 567,0921 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100) (calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_{11}-\text{H} = 567,0922$); EM-ESI (sonda) 4500 V dos íons de m/z 567,09, m/z (int. rel.): 401,07 $[\text{M}-\text{H}-166]^-$ (100).

7.3 4''',5'',7,7''-Tetraidroxi-3''',4',5-trimetoxi-3,6''-biflavona (ridiculuflavona C, 3)

Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C em CD_3CN (Tabela 3, p. 86 e Tabela 2, p. 85, respectivamente) em conformidade com os descritos na literatura . EM-ESI-AR (sonda) 4500V, m/z (int. rel.): 619,1203 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (28) (calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{24}\text{O}_{11}+\text{Na} = 619,1216$).

7.4 3''',4',4''',5,5'',7,7''-Heptametoxi-3,6''-biflavona (ridiculuflavona E, 3a)

Sólido amarelo; p.f. 193,3-196,1 °C (Me_2CO); $[\alpha]_D^{25}$ -1,0 ° (c. 0,060, MeOH); DC (MeOH; c. 0,035) $[\theta]_{220}$ +3501, $[\theta]_{260}$ +188, $[\theta]_{290}$ +770, $[\theta]_{308}$ +546, $[\theta]_{328}$ +995 sh, $[\theta]_{344}$ +2094, $[\theta]_{365}$ 0, $[\theta]_{372}$ -108 sh, $[\theta]_{388}$ -242, $[\theta]_{399}$ 0; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 264 (4,1), 326 (4,1) (Figura 175, p. 361); IV $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1632, 1383, 1115 (Figura 176, p. 361); dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (CDCl_3) ver Tabela 3, p. 86 e Tabela 4, p. 92, respectivamente; EM-ESI-AR (sonda) 4500 V, m/z (int. rel.): 675,1865 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100) (calculada para $\text{C}_{37}\text{H}_{32}\text{O}_{11}\text{Na} = 675,1842$).

7.5 4',5,5'',7''-Tetraidroxi-3',3'',4'''-trimetoxi-7-O-β:6-α-flavona-chalcona (ridiculoflavonilchalcona B, 4)

Sólido amarelo; p.f. 160,5-162,5 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -9,0 ° (c. 0,046, MeOH); DC (MeOH; c. 0,035) $[\theta]_{220}$ +3501, $[\theta]_{260}$ +188, $[\theta]_{290}$ +770, $[\theta]_{308}$ +546, $[\theta]_{328}$ +995 sh, $[\theta]_{344}$ +2094, $[\theta]_{365}$ 0, $[\theta]_{372}$ -108 sh, $[\theta]_{388}$ -242, $[\theta]_{399}$ 0; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 308 (4,6), 342 (4,5); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3439, 1624, 1383, 1032; dados de RMN de ¹H e de ¹³C (CD₃CN), ver Tabela 5, p. 93 e Tabela 4, p. 92, respectivamente; EM-ESI-AR (sonda) 4500 V, *m/z* (int. rel.): 595,1235 [M-H]⁻ (100) (calculada para C₃₃H₂₄O₁₁-H = 595,1235); EM-ESI (sonda) 4500 V para os íons de *m/z* 595,13, *m/z* (int. rel.): 580,10 [M-H-CH₃]⁻ (100), 429,10 [M-H-166]⁻ (61), 414,08 [M-H-CH₃-166]⁻ (90).

7.6 7''-Hidroxi-3',3'',4',4'''-5,5''-hexametoxi-7-O-β:6-α-flavona-chalcona (ridiculoflavonilchalcona D, 4a)

Sólido amarelo; p.f. 149.3-151.0 °C (Me₂CO); $[\alpha]_D^{25}$ -1,0 ° (c. 0,070, MeOH); DC (MeOH; c. 0,300) $[\theta]_{220}$ +4244, $[\theta]_{260}$ +599, $[\theta]_{278}$ +696 sh, $[\theta]_{290}$ +954, $[\theta]_{328}$ +1107, $[\theta]_{342}$ +1323, $[\theta]_{365}$ 0, $[\theta]_{372}$ -78, $[\theta]_{381}$ 0; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 301 (4,2), 339 (4,1) (Figura 177, p. 362); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3439, 1630, 1383 (Figura 178, p. 362); dados de RMN de ¹H e de ¹³C (CDCl₃), ver Tabela 5, p. 93 e Tabela 4, p. 92, respectivamente; EM-ESI-AR (sonda) 4500 V, *m/z* (int. rel.): 661,1728 [M+Na]⁺ (56) (calculada para C₃₆H₃₀O₁₁+Na = 661,1686), 639,1900 [M+H]⁺ (100) (calculada para C₃₆H₃₀O₁₁+H = 639,1866).

7.7 3',3'',4',4'''-5,5'',7''-Heptametoxi-7-O-β:6-α-flavona-chalcona (ridiculoflavonilchalcona E, 4b)

Sólido amarelo; p.f. 148,1-149,3 °C (Me₂CO); $[\alpha]_D^{25}$ -3,0 ° (c. 0,065, MeOH); DC (MeOH; c. 0,200) $[\theta]_{220}$ +359, $[\theta]_{256}$ +47, $[\theta]_{276}$ +30, $[\theta]_{284}$ +18 sh, $[\theta]_{290}$ 0, $[\theta]_{294}$ -19, $[\theta]_{304}$ 0, $[\theta]_{346}$ +91, $[\theta]_{355}$ 0, $[\theta]_{358}$ -25, $[\theta]_{366}$ 0, $[\theta]_{372}$ +24, $[\theta]_{388}$ +135, $[\theta]_{418}$ +130; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 286 (4,0), 335 (4,0) (Figura 179, p. 363); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1663, 1383, 1119 (Figura 180, p. 363); dados de RMN de ¹H e de ¹³C [(CD₃)₂CO], ver Tabela 5, p. 93 e Tabela 4, p. 92, respectivamente; EM-ESI-AR (sonda) 4500 V, *m/z* (int. rel.): 675,1872 [M+Na]⁺ (39) (calculada para C₃₇H₃₂O₁₁+Na = 675,1842), 653,2057 [M+H]⁺ (100) (calculada para C₃₆H₃₀O₁₁+H = 653,2023).

7.8 (4',5,7"-Triidroxi-3',3'',4'''-trimetoxi-7-O-β:6-α-flavona-chalcona)-5"-O-β-[(7"-hidroxi-3'',4'''-dimetoxi)-5"-O-8-(4',5,7-triidroxi-3'-metoxi-flavona)]-chalcona (ridiculufavonilchalcona **C**, **5**)

Sólido amarelo; p.f. 166,1-168,5 °C (Me₂CO); $[\alpha]_D^{25}$ -2,0 ° (c. 0,050, MeOH); DC (MeOH; c. 0,200) $[\theta]_{234}$ +808, $[\theta]_{258}$ +391 sh, $[\theta]_{284}$ +175 sh, $[\theta]_{311}$ 0, $[\theta]_{318}$ -41, $[\theta]_{323}$ 0, $[\theta]_{332}$ +105, $[\theta]_{342}$ +122, $[\theta]_{352}$ +110, $[\theta]_{363}$ 0, $[\theta]_{370}$ -58, $[\theta]_{388}$ -69, $[\theta]_{401}$ 0, $[\theta]_{420}$ -12; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ε): 326 (3,9), 337 (3,9) (Figura 181, p. 364); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3444, 1636, 1097 (Figura 182, p. 364); dados de RMN de ¹H e de ¹³C (CD₃CN), ver Tabela 7, p. 99 e Tabela 6, p. 98, respectivamente; EM-ESI-AR (sonda) 4500 V, *m/z* (int. rel.): 1191,2527 [M-H]⁻ (14) (calculado para C₆₆H₄₈O₂₂-H = 1191,2528), 595,1242 (100); EM-EM-ESI (sonda) 4500 V para os íons de *m/z* 595,12, *m/z* (int. rel.): 580,11 [M-H-CH₃]⁻ (7), 429,10 [M-H-166]⁻ (41), 414,08 [M-H-CH₃-166]⁻ (50); EM-ESI (sonda) 2660 V, *m/z* (int. rel.): 876 (5), 788 (16), 772 (16), 728 (23), 611 (24), 597 (43), 595 (63), 552 (24), 507 (34), 463 (48), 437 (33), 421 (100).

7.9 (±)-Coclaurina (**6**)

Sólido amorfo marrom; $[\alpha]_D^{29}$ -3° (c. 0,18, MeOH); dados de RMN de ¹H e de ¹³C em DMSO-*d*₆, ver Tabela 8, p. 104.

7.10 Cloreto de (-)-*N*-steponina (**7**)

Sólido amorfo marrom; $[\alpha]_D^{26}$ -70° (c. 0,21, MeOH) (Lit., $[\alpha]_D^{30}$ -151°, c. 1,03, MeOH) ; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ε): 286 (4,3), 331 (2,3) (Figura 183, p. 365) (Lit. 212 (4,51), 235 (4,10), 285 (3,94)) ; IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3418, 2932, 2849, 1730, 1605 (Figura 184, p. 365); dados de RMN de ¹³C em D₂O (Tabela 9, p. 109) em conformidade com os descritos na literatura ; dados de RMN de ¹H em D₂O, ver Tabela 10, p. 110; EM-ESI (sonda) 2030 V, *m/z* (int. rel.): 342 (100).

7.11 Cloreto de (-)-*N*-metiltetraidropalmatina (**7a**)

Sólido pastoso marrom escuro; $[\alpha]_D^{29}$ -73° (c. 0,095, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ε): 238 (6,2), 285 (4,6) (Figura 185, p. 366); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2932, 2843, 1605 (Figura 186, p. 366); dados de RMN de ¹H e de ¹³C em CDCl₃, ver Tabela 10, p. 110 e Tabela 9, p. 109, respectivamente.

7.12 Cloreto de (-)-2,9-diacil-N-steponina (7b)

Sólido marrom claro; p.f. 127,9-130,0 °C; $[\alpha]_D^{28}$ -67° (c. 0,18, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 230 (10,9), 280 (3,7) (Figura 187, p. 367); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2935, 2849, 1759, 1626, 1508 (Figura 187, p. 367); dados de RMN de ¹H e de ¹³C em CDCl₃, ver Tabela 10, p. 110 e Tabela 9, p. 109, respectivamente.

7.13 (-)-Metilwarifteina (8)

Sólido amarelo alaranjado; p.f. 147,3-148,3 °C; $[\alpha]_D^{30}$ -32° (c. 0,21, CHCl₃) (Lit., $[\alpha]_D^{20}$ -79,37°, c. 0,2986, CHCl₃) ; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 280 (4,7), 331 sh (2,3) (Figura 189, p. 368) (Lit., UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 280 (4,01)); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3422, 2932, 2849, 1605, 1501, 1452, 1304, 1223, 1121, 752 (Figura 190, p. 368) (Lit., $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3480, 2932, 2842, 1609, 1502, 1445, 1298, 1215, 1118, 751); dados de RMN de ¹H e de ¹³C em CDCl₃ (Tabela 12, p. 117 e Tabela 11, p. 116, respectivamente) em conformidade com os descritos na literatura ; EM-ESI-AR (sonda) 4500 V, *m/z* (int. rel.): 605,2628 [M-H]⁻ (100) (calculado para C₃₇H₃₈O₆N₂-H: 605,2652).

7.14 (-)-Dimetilwarifteina (8a)

Sólido amarelo alaranjado; p.f. 146,2-149,6 °C; $[\alpha]_D^{27}$ -20° (c. 0,18, CHCl₃); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 278 (10,1), 283 (9,9) (Figura 191, p. 369); IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2935, 2843, 1605, 1501, 1456, 1312, 1221, 1115, 833 (Figura 192, p. 369); dados de RMN de ¹H e de ¹³C em CDCl₃, ver Tabela 12, p. 117 e Tabela 11, p. 116, respectivamente.

7.15 N-trans-Feruloiltiramina (9)

Dados de RMN de ¹H e de ¹³C (CDCl₃) (Tabela 14, p. 120 e Tabela 13, p. 120, respectivamente) e de EM em conformidade com os descritos na literatura ^{127, 128}.

7.16 N-trans-Metilferuloilmetiltiramina (9a)

Dados de RMN de ¹H e de ¹³C em CDCl₃, ver Tabela 14, p. 120 e Tabela 13, p. 120, respectivamente.

7.17 (+)-2-Desoxi-D-ribono-1,4-lactona (10)

Sólido sem cor; $[\alpha]_D^{30} +2,0^\circ$ (c. 0,32, MeOH) (Lit. $[\alpha]_D^{22} +3,5^\circ$, c. 0,8, MeOH) ; IV $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 3408, 2923, 2854, 1767, 1651, 1578, 1387, 1186, 1084, 1042 (Lit. $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 3700-3100, 2950, 2890, 1770, 1640, 1400, 1365, 1270, 1190, 1090, 1055, 1020, 990, 940, 905, 875, 835) ; dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (DMSO- d_6) (Tabela 16, p. 126 e Tabela 15, 125, respectivamente) em conformidade com os descritos na literatura .

7.18 2-Desoxi-D-ribono-3,5-bis(tripolifosfato)-1,4-lactona (11)

Sólido sem cor; dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (D_2O) (Tabela 16, p. 126 e Tabela 15, 125, respectivamente) e em conformidade com os descritos na literatura .

7.19 (+)-proto-Quercitol (12)

Sólido sem cor; $[\alpha]_D^{30} +33^\circ$ (c. 0,24, H_2O); dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (D_2O) (Tabela 17, p. 127) em conformidade com os descritos na literatura .

7.20 Etil- β -D-glucopiranosídeo (13)

Sólido amorfo marrom, dados de RMN de ^1H e de ^{13}C em D_2O (Tabela 18, p. 129) em conformidade com os descritos na literatura .

7.21 Ácido 2-butinodióico (14)

EM-ESI-AR (sonda) 4500 V, m/z (int. rel.): 112,9871 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100) (calculado para $\text{C}_4\text{O}_4\text{H}_2-\text{H} = 112,9875$).

7.22 3-Hidroxipropanoato (15)

Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (DMSO- d_6) em conformidade com os descritos na literatura .

7.23 Acetato (16)

Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (DMSO- d_6) em conformidade com os descritos na literatura .

7.24 Formiato (17)

Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$) em conformidade com os descritos na literatura .

REFERÊNCIAS

- 1 DAHLGREN, G. On dahlgrenograms – A system for the classification of angiosperms and its use in mapping characters. **Annais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 67, n. 3, p. 383-404, 1995.
- 2 BREMER, K.; CHASE, M. W.; STEVENS, P. F. An ordinal classification for the families of flowering plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 85, n. 4, p. 531-553, 1998.
- 3 BREMER, B.; BREMER, K.; CHASE, M. W.; REVEAL, J. L.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; STEVENS, P. F. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, p. 399-436, 2003.
- 4 QIU, Y-L.; LEE, J.; BERNASCONI-QUADRONI, F.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; ZANIS, M.; ZIMMER, E. A.; CHEN, Z.; SAVOLAINEN, V.; CHASE, M. W. The earliest angiosperms: evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes. **Nature**, v. 402, p. 404-407, 1999.
- 5 GONZÁLEZ, F. Hacia una filogenia de *Aristolochia* y sus congeneres neotropicales. **CALDASIA**, v. 19, n. 1-2, p. 115-130, 1997.
- 6 GONZÁLEZ, F. Inflorescence morphology and the systematics of *Aristolochiaceae*. **Systematics and Geography of Plants**, v. 68, p.159-172, 1999.
- 7 LOPES, L. M. X.; NASCIMENTO, I. R.; SILVA, T. Phytochemistry of the *Aristolochiaceae* family. **Research Advances in Phytochemistry**, v. 2, p. 19-108, 2001.
- 8 SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: um guia para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.
- 9 FRANCISCO, C. S.; MESSIANO, G. B.; LOPES, L. M. X.; TININIS, A. G.; OLIVEIRA, J. E.; CAPELLARI JUNIOR, L. Classification of *Aristolochia* species based on CG-MS and chemometric analyses of essential oils. **Phytochemistry**, v. 69, p. 168-175, 2008.

- 10 POMBAL, E. C. P. A polinização por moscas. In: MORELLATO, P. C.; LEITÃO FILHO, H. F. L. (Org.). **Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: reserva de Santa Genebra**. Campinas: Ed. UNICAMP, 1995.
- 11 HOEHNE, F. C. **Flora brasileira**: Aristolochiaceae. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 1942. v. 15, pt. 2.
- 12 ADLER, V. E.; JACOBSON, M. Evaluation of selected natural and synthetic products as house fly repellents. **Journal of Environmental Science and Health Part A: Environmental Science and Engennering & Toxic and Harzadous Substance Control**, v. 5, n. A17, p. 667-673, 1982.
- 13 MESSIANO, G.; VIEIRA, L.; MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X.; BORTOLI, S. A.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. Evaluation of insecticidal activity of diterpenes and lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatalis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2655-2659, 2008.
- 14 LOPES, L. M. X.; MARTINS, J. A.; PIASENTINI, R. M. Constituintes polares de Aristolochiaceae. **Eclética Química**, v. 16, p. 63-80, 1991.
- 15 NASCIMENTO, I. R.; MURATA, A. T.; BORTOLI, S. A.; LOPES, L. M. X. Insecticidal activity of chemical constituents from *Aristolochia pubescens* agaist *Anticarsia gemmatalis* larvae. **Pest Management Science**, v. 60, p. 413-416, 2003.
- 16 URZÚA, A.; PRIESTAP, H. Aristolochic acids from *Battus polydamas*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 13, n. 2, p. 169-170, 1985.
- 17 NISHIDA, R.; WEINTRAUB, J. D.; FEENY, P.; FUKAMI, H. Aristolochic acids from *Thottea* spp. (Aristolochiaceae) and the osmeterial secretions of *Thottea*-feeding troidine swallowtail larvae (Papilionidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 7, p. 1587-1593, 1993.
- 18 JBILOU, R.; ENNABILI, A.; SAYAH, F. Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 10, p. 936-940, 2006.
- 19 BROUSSALIS, A. M.; FERRARO, G. E.; MARTINO, V. S.; PINZÓN, R.; COUSSIO, J. D.; ALVAREZ, J. C. Argentine plants as potential source of insecticidal compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 219-223, 1999.

20 CICCIA, G.; COUSSIO, J.; MONGELLI, E. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 185-189, 2000.

21 ESCOUBAS, P.; LAJIDE, L.; MIZUTAMI, J. Insecticidal and antifeedant activities of plant compounds. **Natural and Engineered Pest Managent Agents**, v. 551, p. 162-171, 1994.

22 LAJIDE, L.; ESCOUBAS, P.; MIZUTANI, J. Antifeedant activity of metabolites of *Aristolochia albida* against the tabaco cutworm, *Spodoptera litura*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 669-673, 1993.

23 BRASIL. Ministério da Saúde. **Malária**. Disponível em: <portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/be_malaria_01_2005.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2008.

24 KAYSER, O.; KIDERLEN, A. F.; BRUN, R. *In vitro* activity of aurones against *Plasmodium falciparum* strains K1 and NF54. **Planta Medica**, v. 67, p. 718-721, 2001.

25 SNOW, R. W.; GUERRA, C. A.; NOOR, A. M.; MYINT, H. Y.; HAY, S. I. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. **Nature**, v. 434, p. 214-217, 2005.

26 ANDRADE NETO, V. F.; BRANDÃO, M. G. L.; STEHMANN, J. R.; OLIVEIRA, L. A.; KRETTLI, A. U. Antimalarial activity of Cinchona-like plants used to treat fever and malaria in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 253-256, 2003.

27 GUERIN, P. J.; OLLIARO, P.; NOSTEN, F.; DRUILHE, P.; LAXMINARAYAN, R.; BINKA, F.; KILAMA, W. L.; FORD, N.; WHITE, N. J. Malaria: current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p. 564-573, 2002.

28 PHILLIPSON, J. D. 50 years of medicinal plant research – every progress in methodology is a progress in science. **Planta Medica**, v. 69, p. 491-495, 2003.

29 KUBMARAWA, D.; AJOKU, G. A.; ENWEREM, N. M.; OKORIE, D. A. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 14, p. 1690-1696, 2007.

- 30 SILVA, T. **Lignanas ariltetralônicas de *Holostylis reniformis* Duch.:** isolamento, síntese, biossíntese e avaliação biológica. 2006. 262 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara. 2006.
- 31 FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (Brasil). T. da Silva; A. U. Krettl; V. F. Andrade Neto; L. M. X. Lopes. **Lignanas, lignanas ariltetralônicas, extratos, processos de obtenção de lignanas, processo de obtenção de extratos, uso de lignanas, uso de extratos e composição para prevenir e tratar malária.** BR 2004004986, 09 ago. 2004, 31 maio 2005.
- 32 ANDRADE NETO, V. F.; SILVA, T.; LOPES, L. M. X.; ROSÁRIO, V. E.; VAROTTI, F. P.; KRETTLI, A. U. Antiplasmodial activity of aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 7, p. 2346–2350, 2007.
- 33 LIN, Y-M.; FLAVIN, M. T.; CASSIDY, C. S.; MAR, A.; CHEN, F-C. Biflavonoids as novel antituberculosis agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, p. 2101-2104, 2001.
- 34 FRANZBLAU, S. G.; WITZIG, R. S.; McLAUGHLIN, J. C.; TORRES, P.; MADICO, G.; HERNANDEZ, A.; DEGNAN, M. T.; COOK, M. B.; QUENZER, V. K.; FERGUSON, R. M.; GILMAN, R. H. Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate alamar blue assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 362-366, 1998.
- 35 OLIVEIRA, D. G.; PRINCE, K. A.; HIGUCHI, C. T.; SANTOS, A. C. B.; LOPES, L. M. X.; SIMÕES, M. J. S.; LEITE, C. Q. F. Antimycobacterial activity of some Brazilian indigenous medicinal drinks. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p. 165-169, 2007.
- 36 LOPES, L. M. X. 8-Benzylberberine alkaloids from *Aristolochia gigantea*. **Phytochemistry**, v. 31, p. 4005-4009, 1992.
- 37 LOPES, L. M. X.; HUMPFER, E. 8-Benzylberberine and N-oxide alkaloids from *Aristolochia gigantea*. **Phytochemistry**, v. 45, p. 431-435, 1997.
- 38 NAVICKIENE, H. M. D.; LOPES, L. M. X. Alkamides and phenethyl derivatives from *Aristolochia gehrtii*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 467-472, 2001.

- 39 WATANABE, L. Y.; LOPES, L. M. X. Alkaloids from *Aristolochia arcuata*. **Phytochemistry**, v. 40, p. 991-994, 1995.
- 40 FRANCISCO, M. C.; NASSER, A. L. M.; LOPES, L. M. X. Tetrahydroisoquinoline alkaloids and 2-desoxyribonolactones from *Aristolochia arcuata*. **Phytochemistry**, v. 62, p. 1265-1270, 2003.
- 41 PASCOLI, I. C.; NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. Configurational analysis of cubebins and bicubebin from *Aristolochia lagesiana* and *Aristolochia pubescens*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 735-742, 2006.
- 42 CARNEIRO, F. J. C.; BORALLE, N.; SILVA, D. H. S.; LOPES, L. M. X. Bi- and tetraflavonoids from *Aristolochia ridicula*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 823-832, 2000.
- 43 MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Chalcone-flavone tetramer and biflavones from *Aristolochia ridicula*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 669-674, 2005.
- 44 CHEN, Y-G.; YU, L-L.; HUANG, R.; LIU, J-C.; LV, Y-P.; ZHAO, Y. 3"-Hydroxyamentoflavone and its 7-O-methyl ether, two new biflavonoids from *Aristolochia contorta*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 28, p. 1233-1235, 2005.
- 45 YU, L-L.; HUANG, R.; LV, Y. P.; ZHAO, Y.; CHEN, Y. A new flavonoid from *Aristolochia contorta*. **Pharmazie**, v. 60, p. 789-791, 2005.
- 46 LUIZ, V.; BOLZANI, V. S.; TREVISAN, L. M. V.; LOPES, L. M. X. *ent*-Cauranos e lignanas de *Aristolochia elegans*. **Química Nova**, v. 13, p. 250-251, 1990.
- 47 LOPES, L. M. X.; BOLZANI, V. S.; TREVISAN, L. M. V. Clerodane diterpenes from *Aristolochia* species. **Phytochemistry**, v. 26, p. 2781-2784, 1987.
- 48 BOMM, M. D.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; LOPES, L. M. X. Rearranged (4→2)-*abeo*-clerodane and clerodane diterpenes from *Aristolochia chamissonis*. **Phytochemistry**, v. 50, p. 455-461, 1999.
- 49 SILVA, T.; LOPES, L. M. X. Aryltetralone lignans and 7,8-seco-lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 751-759, 2004.
- 50 SILVA, T.; LOPES, L. M. X. Aryltetralol and aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 929-937, 2006.

- 51 NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. 2,3-Dihydrobenzofuran neolignans from *Aristolochia pubescens*. **Phytochemistry**, v. 52, p. 345-350, 1999.
- 52 NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. Erratum to "2,3-Dihydrobenzofuran neolignans from *Aristolochia pubescens*". **Phytochemistry**, v. 53, p. 621, 2000.
- 53 NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. Diterpene esters of aristolochic acids from *Aristolochia pubescens*. **Phytochemistry**, v. 63, p. 953-957, 2003.
- 54 YAMAMURA, S.; NIWA, M.; TERADA, Y.; NONOYAMA, M. The isolation and structures of novel neolignans and neosesquilignans from *Heterotropa takaoi* M. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 55, p. 3573-3579, 1982.
- 55 LOPES, L. M. X.; BOLZANI, V. S.; TREVISAN, L. M. V. Lignans from Brazilian Aristolochiaceae. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 19, p. 113-117, 1988.
- 56 KAPLAN, M. A. C.; GOTTLIEB, O. R. Graphical methods for the correlation of metabolical and morphological plant characteristics. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 67, s. 3, p. 405-411, 1996.
- 57 WU, K. M.; FARRELLY, J. G.; UPTON, R.; CHEN, J. Complexities of the herbal nomenclature system in traditional Chinese medicine (TCM): Lessons learned from the misuse of *Aristolochia*-related species and the importance of the pharmaceutical name during botanical drug product development. **Phytomedicine**, v. 14, p. 273-279, 2007.
- 58 WATANABE, K.; MIYAKADO, M.; IWAI, T.; IZUMI, K.; YANAGI, K. Isolation of aristolochic acid and aristolic acid from *Cocculus trilobus* DC as potent seed germination inhibitors. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 1079-1082, 1988.
- 59 KUMAR, V.; POONAM; PRASAD, A. K.; PARMAR, V. S. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxoaporphines and their biological activities. **Natural Products Reports**, v. 20, p. 565-583, 2003.
- 60 SUNSHINE-SEEDS. **Fotogalerien**. Disponível em:
<http://www.sunshine-seeds.de/aristolochiaceae/arist_rid.jpg> Acesso em: 14 jan. 2009.

61 HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. (Ed.). **The flavonoids**. London: Chapman and Hall. 1975.

62 HARBORNE, J. B. (Ed.). **The flavonoids**: advances in research since 1980. London: Chapman and Hall, 1988.

63 HARBORNE, J. B. (Ed.). **The flavonoids**: advances in research since 1986. London: Chapman and Hall, 1993.

64 ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids**: chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton: CRC Press, 2005.

65 GEIGER, H. Biflavonoids and triflavonoids. In: HARBORNE, J. B. (Ed.). **The flavonoids**: advances in research since 1986. London: Chapman and Hall, 1993. Cap. 4, p. 95-115.

66 BARTON, D. H. R.; DEFLOREN, A. M.; EDWARDS, O. E. The synthesis of usnic acid. **Journal of the Chemical Society**, p. 530-534, 1956.

67 FERREIRA, D.; SLADE, D.; MARAIS, J. P. J. Bi-, tri-, tetra-, penta-, and hexaflavonoids. In: ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids**: chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton: CRC Press, 2005. Cap. 17, p. 1.101-1.133.

68 GEIGER, H.; QUINN, C. Biflavonoids. In: HARBORNE, J. B. (Ed.). **The flavonoids**: advances in research since 1980. London: Chapman and Hall, 1988. Cap. 4, p. 99-124.

69 LÓPEZ-SÁEZ, J. A.; PÉREZ-ALONSO, M. J.; VELASCO-NEGUERUELA, A. Consideraciones filogenéticas sobre la presencia de biflavonoides y triflavonoides en musgos. **Ars Pharmaceutica**, v. 37, n. 1, p. 83-95, 1996.

70 ZINSMEISTER, H. D.; WEYAND, J.; VOIGT, A.; SEEGER, T.; GEIGER, H. Bi- and triflavonoids of representative moss species from six different families. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 51c, p. 781-783, 1996.

71 GEIGER, H.; VOIGT, A.; SEEGER, T.; ZINSMEISTER, H-D.; LÓPEZ-SÁEZ, J-A.; PÉREZ-ALONSO, M-J.; VELASCO-NEGUERUELA, A. Cyclobartramiatriluteolin, a unique triflavonoid from *Bartramia stricta*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 2, p. 465-467, 1995.

72 SEEGER, T.; VOIGT, A.; GEIGER, H.; ZINSMEISTER, H-D.; SCHILLING, G.; LÓPEZ-SÁEZ, J-A. Isomeric triluteolins from *Bartramia stricta* and *Bartramia pomiformis*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1531-1536, 1995.

73 HAHN, H.; SEEGER, T.; GEIGER, H.; ZINSMEISTER, H. D.; MARKHAM, K. R.; WONG, H. The first biaurone, a triflavone and biflavonoids from two *Aulacomnium* species. **Phytochemistry**, v. 40, n. 2, p. 573-576, 1995.

74 GEIGER, H.; SEEGER, T. Triflavones and a biflavone from the moss *Rhizogonium distichum*. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 55c, p. 870-873, 2000.

75 WANG, L-W.; SU, H-J.; YANG, S-Z.; WON, S-J.; LIN, C-N. New alkaloids and a tetraflavonoid from *Cephalotaxus wilsoniana*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1182-1185, 2004.

76 SI, D.; ZHONG, D.; SHA, Y.; LI, W. Biflavonoids from the aerial part of *Stephania tetrandra*. **Phytochemistry**, v. 58, p. 563-566, 2001.

77 TIH, R. G.; SONDEGAM, B. L.; MARTIN, M. T. ; BODO, B. Structure of lophirones B and C, biflavonoids from the bark of *Lophira lanceolata*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 5, p. 1557-1559, 1989.

78 RAMÍREZ, I.; CARABOT, A.; MELÉNDEZ, P.; CARMONA, J.; JIMENEZ, M.; PATEL, A. V.; CRABB, T. A.; BLUNDEN, G.; CARY, P. D.; CROFT, S. L.; COSTA, M. Cissampeloflavone, a chalcone-flavone dimmer from *Cissampelos pareira*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 645-647, 2003.

79 RAMÍREZ, I.; CARABOT, A.; MELÉNDEZ, P.; CARMONA, J.; JIMENEZ, M.; PATEL, A. V.; CRABB, T. A.; BLUNDEN, G.; CARY, P. D.; CROFT, S. L.; COSTA, M. Erratum to "Cissampeloflavone, a chalcone-flavone dimmer from *Cissampelos pareira*". **Phytochemistry**, v. 64, p. 1421, 2003.

80 ABEGAZ, B. M.; NGADJUI, B. T.; DONGO, E.; NGAMENI, B.; NIDI, M. N.; BEZABIH, M. Chalcones and other constituents of *Dorstenia prorepens* and *Dorstenia zenkeri*. **Phytochemistry**, v. 59, p. 877-883, 2002.

81 HIMMELREICH, U.; MASAUD, M.; ADAM, G.; RIPPERGER, H. Damalachawin, a triflavonoid of a new structural type from dragon's blood of *Dracaena cinnabari*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 4, p. 949-951, 1995.

82 MESSANGA, B. B.; KIMBU, S. F.; SONDEGAM, B. L.; BODO, B. Triflavonoids of *Ochna calodendron*. **Phytochemistry**, v. 59, p. 435-438, 2002.

83 MURAKAMI, A.; TANAKA, S.; OHIGASHI, H.; HIROTA, M.; IRIE, R.; TAKEDA, N.; TATEMATSU, A.; KOSHIMIZU, K. Possible anti-tumour promoters: bi- and tetraflavonoids from *Lophira alata*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 8, p. 2689-2693, 1992.

84 TIH, A.; GHOGOMU TIH, R.; SONDEGAM, B. L.; MARTIN, M. T. ; BODO, B. Tetraflavonoids of *Lophira alata*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 3, p. 981-984, 1992.

85 TIH, A.; MARTIN, M. T.; GHOGOMU TIH, R.; VUIDEPOT, I.; SONDEGAM, B. L.; BODO, B. Lophiraflavans B and C, tetraflavonoids of *Lophira alata*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 10, p. 3595-3599, 1992.

86 MURAKAMI, A.; TANAKA, S.; OHIGASHI, H.; HIROTA, M.; IRIE, R.; TAKEDA, N.; TATEMATSU, A.; KOSHIMIZU, K. Chalcone tetramers, lophirachalcone and alatachalcone, from *Lophira alata* as possible anti-tumor promoters. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n. 5, p. 769-772, 1992.

87 TIH, R. G.; SONDEGAM, B. L.; MARTIN, M. T. ; BODO, B. Structures of isombamichalcone and lophirochalcone, bi- and tetraflavonoids from *Lophira lanceolata*. **Tetrahedron Letters**, v. 30, n. 14, p. 1807-1810, 1989.

88 MESSANGA, B. B.; KIMBU, S. F.; SONDEGAM, B. L.; BODO, B. Isolation and structural elucidation of a new pentaflavonoid from *Ochna calodendron*. **New Journal of Chemistry**, v. 25, p. 1098-1100, 2001.

89 TIH, A. E.; GHOGOMU TIH, R.; SONDEGAM, B. L.; MARTIN, M. T. ; BODO, B. A novel hexaflavonoid from *Lophira alata*. **Tetrahedron Letters**, v. 40, p. 4721-4724, 1999.

90 MACHADO, M. B. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade inseticida de *Aristolochia ridicula***. 2005. 126 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

91 CARVALHO, M. G.; VELANDIA J. R.; OLIVEIRA, M. C. C.; ECHEVARRIA, A.; BRAZ FILHO, R.; GRYNBERG, N. Chemical structure, cytotoxic and antitumour activities of biflavonoids from Brazilian *Ouratea* (Ochnaceae). In: MAJUMDAR, D. K.; GOVIL, J. N.; SINGH, V. K. (Ed.). **Phytochemistry & Pharmacology II**. Texas: SCI Tech Publishing LLC, 2002. v. 8, cap. 6, p. 77-92. (Recent Progress in Medicinal Plants).

- 92 KUBO, I.; KLOCKE, J. A.; MATSUMOTO, T. Identification of two insect growth inhibitory biflavonoids in *Podocarpus gracilior*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 14-2, p. 59-61, 1983.
- 93 NUMONE, S.; ISHIYAMA, A.; KOBAYASHI, M.; OTOGURO, K.; KIYOHARA, H.; YAMADA, H.; OMURA, S. *In vitro* antimalarial activity of biflavonoids from *Wikstroemia indica*. **Planta Medica**, v. 70, p. 76-78, 2004.
- 94 WENIGER, B.; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, C.; ARANGO, G. J.; KAISER, M.; BRUN, R.; ANTON, R. A bioactive biflavonoid from *Camphosperma panamense*. **Fitoterapia**, v. 75, p. 764-767, 2004.
- 95 AHMED, M. S.; GALAL, A. M.; ROSS, S. A.; FERREIRA, D.; ELSOHL, M. A.; IBRAHIM, A-R. S.; MOSSA, J. S.; EL-FERALLY, F. S. A weakly antimalarial biflavanone from *Rhus retinorrhoea*. **Phytochemistry**, v. 58, p. 599-602, 2001.
- 96 DIAS, J. C.; REBELO, M. M.; ALVES, C. N. A semi-empirical study of biflavonoid compounds with biological activity against tuberculosis. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 676, p. 83-87, 2004.
- 97 SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J. **Introduction to modern liquid chromatography**. 2nd ed. New York: Wiley, 1979.
- 98 VOGEL, A. I. **A text-book of practical organic chemistry**. 3rd ed. London: Longmans, 1956.
- 99 SATO, D. N. **Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* de compostos derivados do ácido isonicotínico frente ao *Mycobacterium tuberculosis***. 1998. 85 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- 100 KAPADIA, G. J.; OGUNTIMAIN, B.; SHUKLA, Y. N. High-speed counter-current chromatographic separation of biflavonoids from *Garcinia kola* seeds. **Journal of Chromatography A**, v. 673, p. 142-146, 1994.
- 101 KRAUZE-BARANOWSKA, M.; CISOWSKI, W.; WIWART, M.; MADZIAR, B. Antifungal biflavones from *Cupressocyparis leylandii*. **Planta Medica**, v. 65, p. 572-573, 1999.

- 102 MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Separation and quantification of flavonoids. In: ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids**: chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton: CRC Press, 2005. Cap. 1, p. 1-36.
- 103 TSHIBANGU, J. N.; WRIGHT, A. D.; KÖNIG, G. M. HPLC isolation of the anti-plasmodially active bisbenzylisoquinone alkaloids present in roots of *Cissampelos mucronata*. **Phytochemical Analysis**, v. 14, p. 13-22, 2003.
- 104 SUN, S-W.; WU, A-C. Optimization of the capillary electrophoretic separation of bisbenzylisoquinoline alkaloids by an overlapping resolution mapping scheme. **Journal of Chromatography A**, v. 814, p. 223-231, 1998.
- 105 BARBOSA FILHO, J. M.; CUNHA, E. V. L.; CORNÉLIO, M. L.; DIAS, C. D. S.; GRAY, A. I. Cissaglaberrine, an aporphine alkaloid from *Cissampelos glaberrima*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 5, p. 959-961, 1997.
- 106 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. Luteoline. In: AMERICAN CHEMICAL SOCIETY **SciFinder Scholar**. Version 2006. CAN 491-70-3
- 107 MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Tetraflavonoid and biflavonoids from *Aristolochia ridicula*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 3095-3102, 2008.
- 108 BENNINI, B.; CHULIA, A. J.; KAOUADJI, M.; THOMASSON, F. Flavonoid glycosides from *Erica cinerea*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 7, p. 2483-2486, 1992.
- 109 CHUNG, H. S.; CHANG, L. C.; LEE, S. K.; SHAMON, L. A.; VAN BREEMEN, R. B.; MEHTA, R. G.; FARNSWORTH, N. R.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Flavonoid constituents of *Chorizanthe diffusa* with potential cancer chemopreventive activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 36-41, 1999.
- 110 CREWS, P.; RODRÍGUEZ, J.; JASPARS, M. Interpretation and use of proton and carbon chemical shifts. In: KENDALL, N.; HOUK, K. N.; LOUDON, G. M. (Ed.). **Organic structure analysis**. New York: Oxford University Press, 1998. p. 53-102.
- 111 MAIER, U. H.; RÖDL, W.; DEUS-NEUMANN, B.; ZENK, M. H. Biosynthesis of *Erythrina* alkaloids in *Erythrina crista-galli*. **Phytochemistry**, v. 52, p. 373-382, 1999.
- 112 FRIDRICHSONS, J.; MATHIESON, A. McL. The crystal structure of coclaurine hydrobromide monohydrate and the absolute configuration of coclaurine. **Tetrahedron**, v. 24, p. 5785-5789, 1968.

- 113 LEMOS, V. S.; THOMAS, G.; BARBOSA FILHO, J. M. Pharmacological studies on *Aristolochia papillaris* Mast. (Aristolochiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 40, p. 141-145, 1993.
- 114 YOSHIKAWA, K-I.; MORISHIMA, I.; KUNITOMO, J-I.; JU-ICHI, M.; YOSHIDA, Y. Conformational analysis of quaternary protoberberine alkaloids by carbon-13 NMR spectroscopy. **Chemistry Letters**, n. 9, p. 961-964, 1975.
- 115 TAKAO, N.; IWASA, K.; KAMIGAUCHI, M.; SUGIURA, M. Studies on the alkaloids of Papaveraceous plants. XXIX. Conformational analysis of tetrahydroprotoberberines by Carbon-13 Magnetic Resonance Spectroscopy. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 25, p. 1426-1435, 1977.
- 116 TANAHASHI, T.; SU, Y.; NAGAKURA, N.; NAYESHIRO, H. Quaternary isoquinoline alkaloids from *Stephania cepharantha*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n. 3, p. 370-373, 2000.
- 117 MUNAVALLI, S.; VIEL, C. Revue de matière médicale. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v. 27, p. 449-464, 1969.
- 118 SRIVASTAVA, R. M.; KHARE, M. P. Water-soluble alkaloids from the root bark of *Cissampelos pareira*. **Chemische Berichte**, v. 97, n. 10, p. 2732-2741, 1964.
- 119 ANWER, F.; POPLI, S. P.; SRIVASTAVA, R. M.; KHARE, M. P. Studies in medicinal plants. 3. protoberberine alkaloids from roots of *Cissampelos pareira* Linn. **Experientia**, v. 24, p. 999, 1968.
- 120 CALDERWOOD, J. M.; FINKELSTEIN, N.; FISH, F.; PARFITT, R. T. A quaternary tetrahydroprotoberberine alkaloid from *Fagara capensis*. **Phytochemistry**, v. 10, p. 682-685, 1971.
- 121 GUHA, K. P.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. Bisbenzylisoquinoline alkaloids-a review. **Journal of Natural Products**, v. 42, n. 1, p. 1-84, 1979.
- 122 MUKHERJEE, R.; KEIFER, P. A. Spectral assignments and reference data. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 41, p. 213-218, 2003.

123 KUPCHAN, S. M.; KUBOTA, S.; FUJITA, E.; KOBAYASHI, S.; BLOCK, J. H.; TELANG, S. A. Tumor inhibitors. XV. The structure and configuration of cissampareine, a novel bisbenzylisoquinoline alkaloid. **Journal of the American Chemical Society**, v. 88, n. 18, p. 4212-4218, 1966.

124 BORKAKOTI, N.; PALMER, R. A. The structure of the bisbenzylisoquinoline alkaloid methylwarifteine. **Acta Crystallographica, Section B: Structural Science**, v. B34, p. 490-495, 1978.

125 EL-SEBAKHY, N.; WATERMAN, P. G. (-)-(R,R)-7'-O-methylcuspidaline from the leaves of *Aristolochia elegans*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 11, p. 2706-2707, 1984.

126 GOVINDACHARI, T. R.; VISWANATHAN, N. The identity of Aristolochine. **Indian Journal of Chemistry**, v. 5, p. 655, 1967.

127 TANAKA, H.; NAKAMURA, T.; ICHINO, K.; ITO, K. A phenolic amide from *Actinodaphne longifolia*. **Phytochemistry**, v. 28, p. 2516-2517, 1989.

128 DEBONSI, H. M. **Estudo fitoquímico de *Aristolochia gehrtii* Hoehne (Aristolochiaceae)**. 1998. 153 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1998.

129 DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2002.

130 BICK, I. R. C. The biogenesis of cissampareine and of micranthine-type alkaloids. **Heterocycles**, v. 16, n. 12, p. 2105-2108, 1981.

131 HAN, S-Y.; JOULLIÉ, M. M.; PETASIS, N. A.; BIGORRA, J.; CORBERA, J.; FONT, J.; ORTUÑO, R. M. Investigations of the formation of cyclic acetal and ketal derivatives of D-ribono-1,4-lactone and 2-deoxy-D-ribono-1,4-lactone. **Tetrahedron**, v. 49, n. 2, p. 349-362, 1993.

132 HAN, S-Y.; JOULLIÉ, M. M.; FOKIN, V. V.; PETASIS, N. A. Spectroscopic, crystallographic and computational studies of the formation and isomerization of cyclic acetals and ketals of pentonolactones. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 5, p. 2535-2562, 1994.

133 KITAJIMA, J.; ISHIKAWA, T.; TANAKA, Y.; IDA, Y. Water-soluble constituents of Fennel. IX. Glucides and nucleosides. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 47, n. 7, p. 988-992, 1999.

134 TIITINEN, K. M.; YANG, B.; HARALDSSON, G. G.; JONSDOTTIR, S.; KALLIO, H. P. Fast analysis of sugars, fruit acids, and vitamin C in sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2508-2513, 2006.

135 BRECKER, C. K.; PETSCHIGG, J.; DEPINÉ, N.; WEBER, H.; RIBBONS, D. W. *In situ* proton NMR analysis of α -alkylnoate biotransformations from "invisible" substrates to detectable metabolites. **European Journal of Biochemistry**, v. 270, p. 1393-1398, 2003.

ANEXO

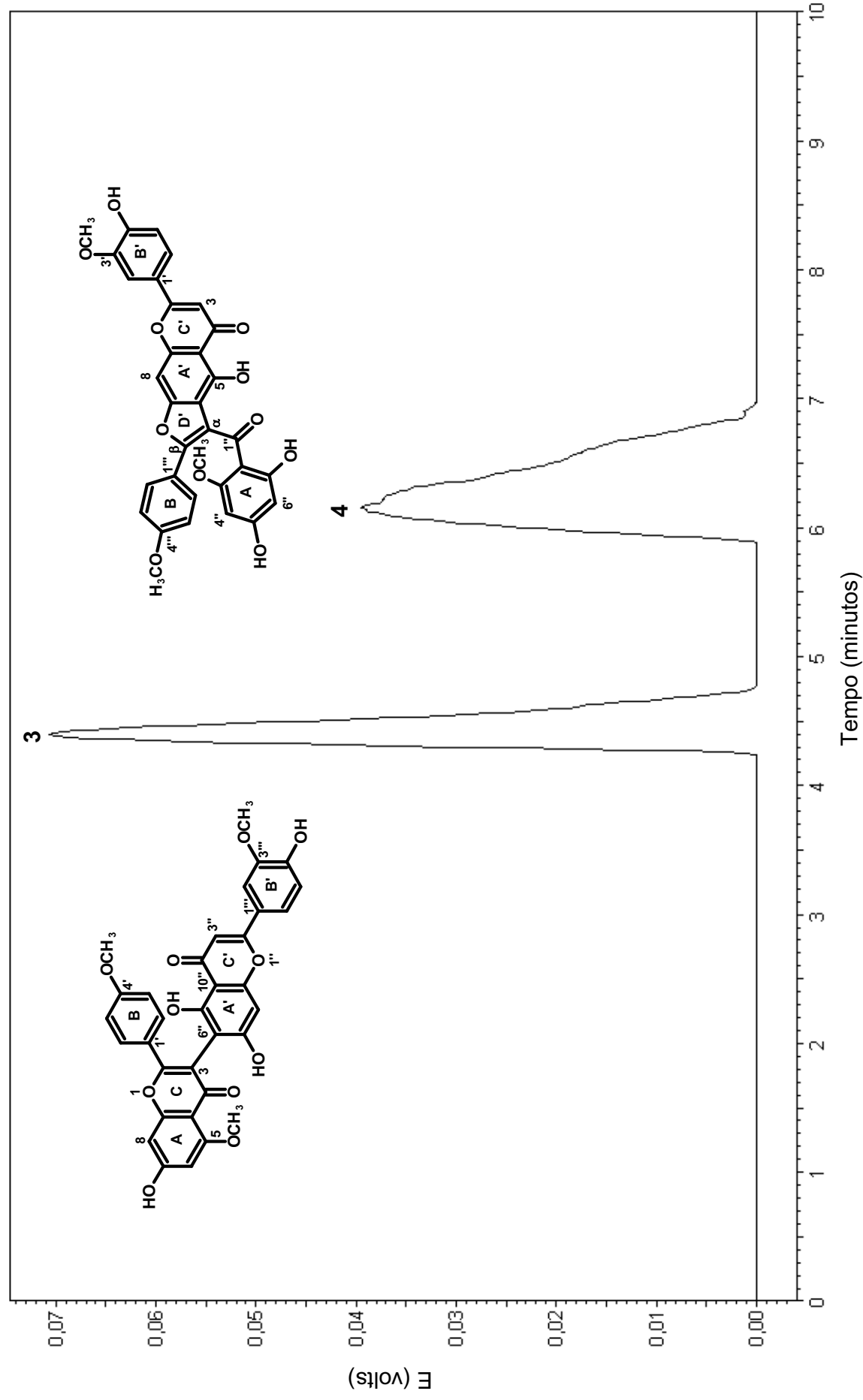


Figura 32. Cromatograma de IMA-A-I-6: isolamento de **3** e **4** (Fenil, MeOH/H₂O 9:1, 20 mL/min, 254 nm).

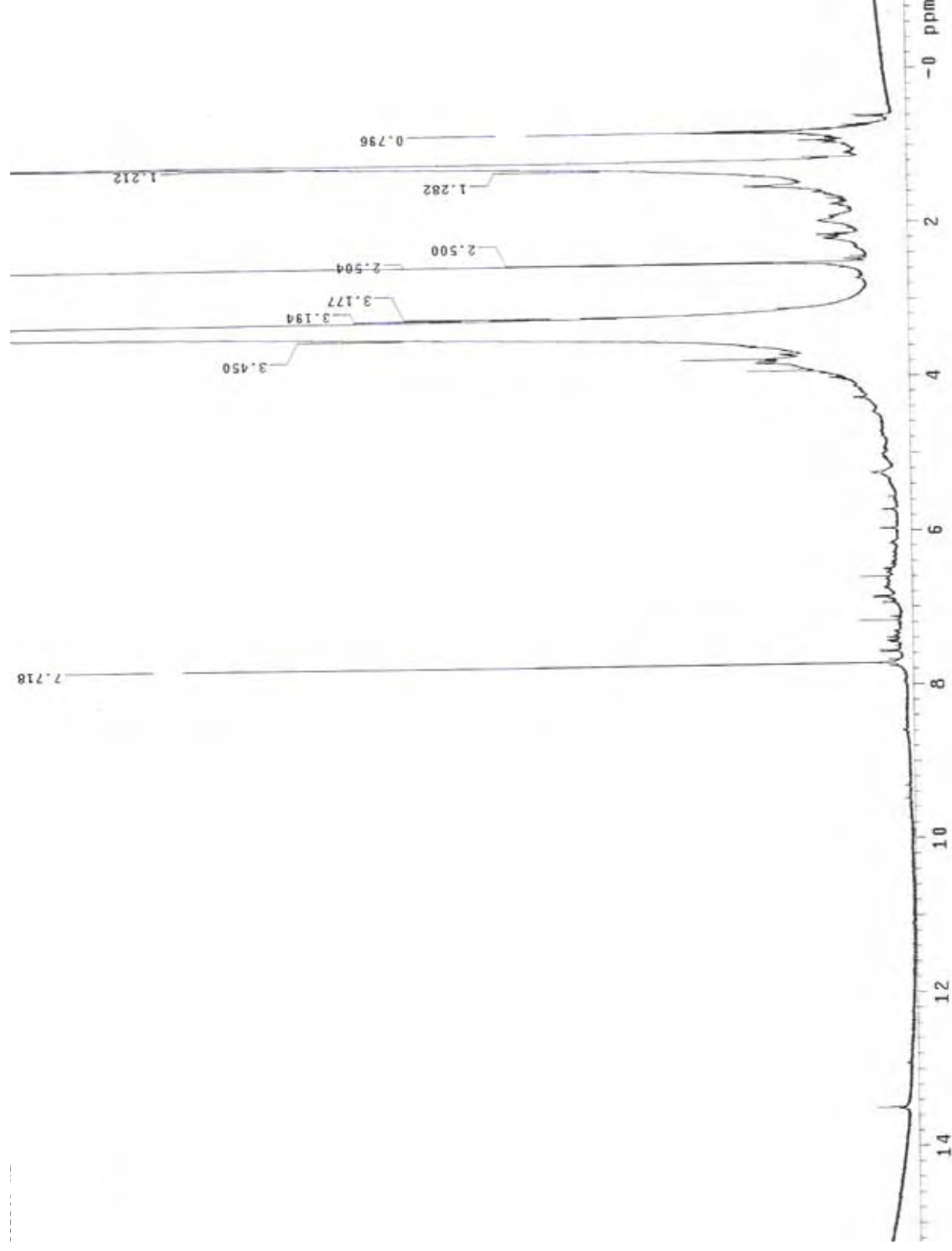


Figura 33. Espectro de RMN de ^1H de FA(1996) (DMSO- d_6 /CDCl $_3$ 3:1, 11,7 T).

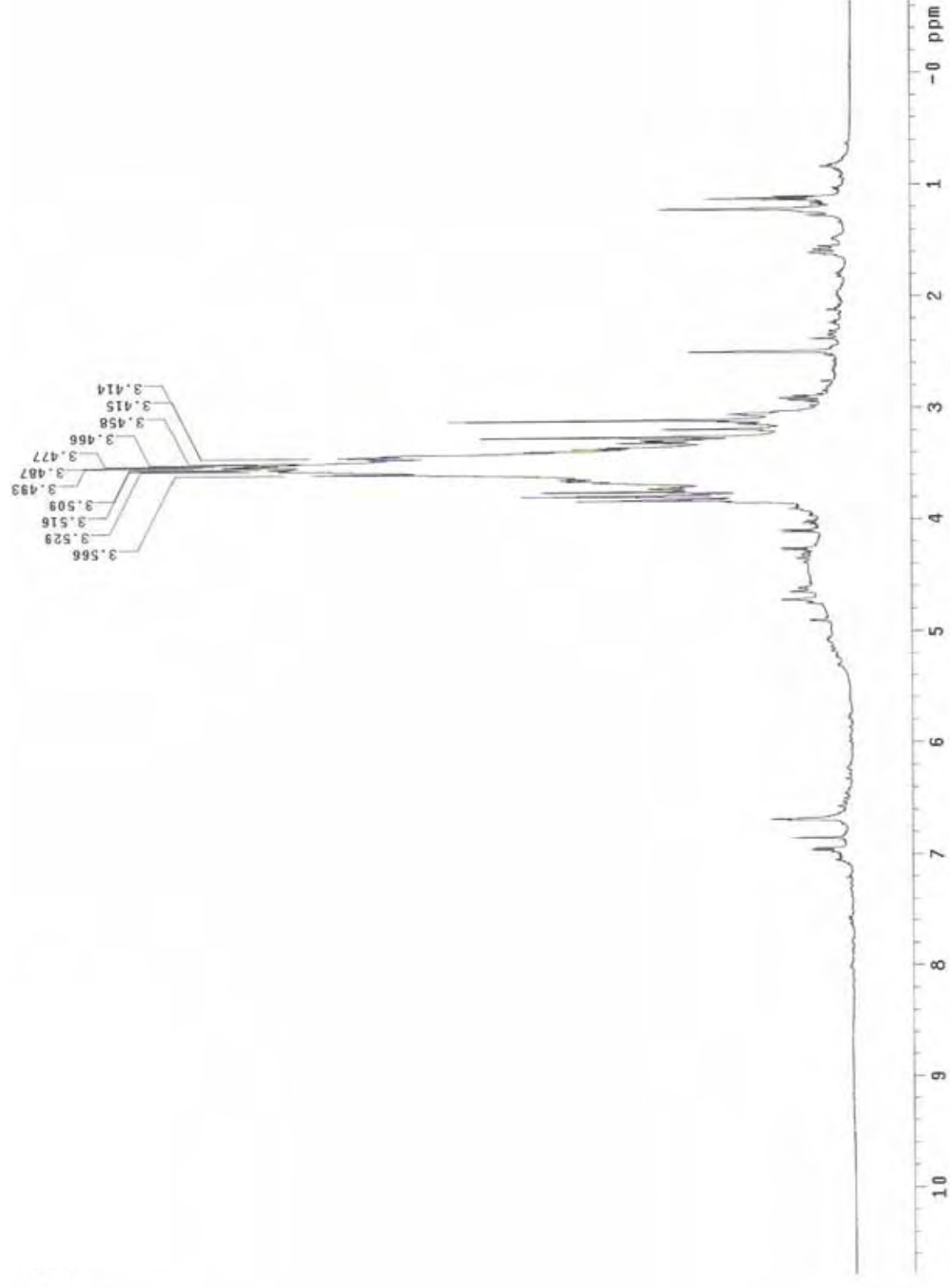


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H de CE(2004) ($\text{DMSO-}d_6$, 11,7 T).

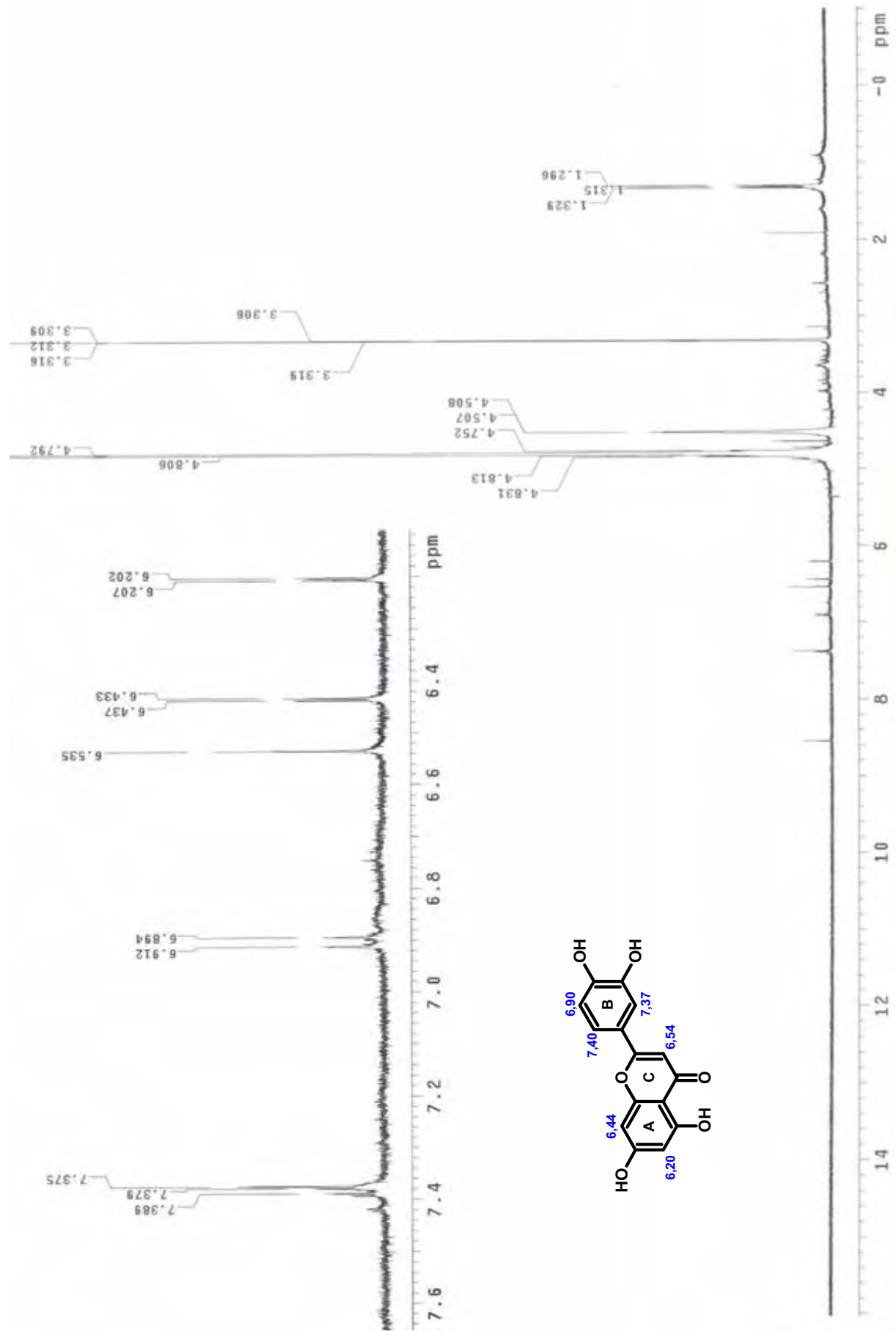


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H de **1** com ampliação (CD_3OD , 11,7 T).

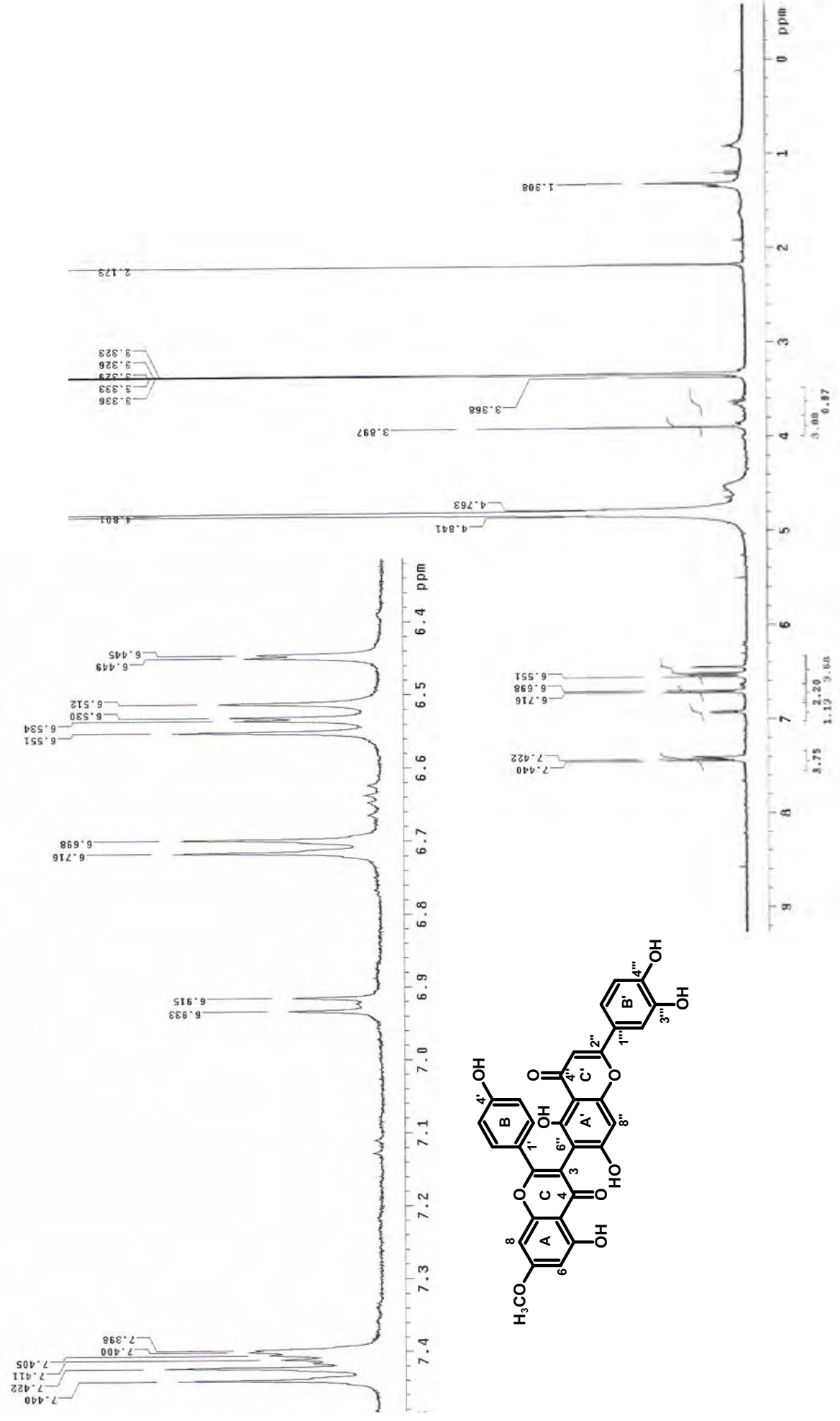
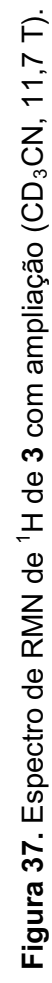
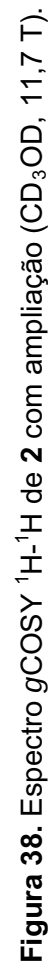


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H de **2** com ampliação (CD_3OD , 11,7 T).





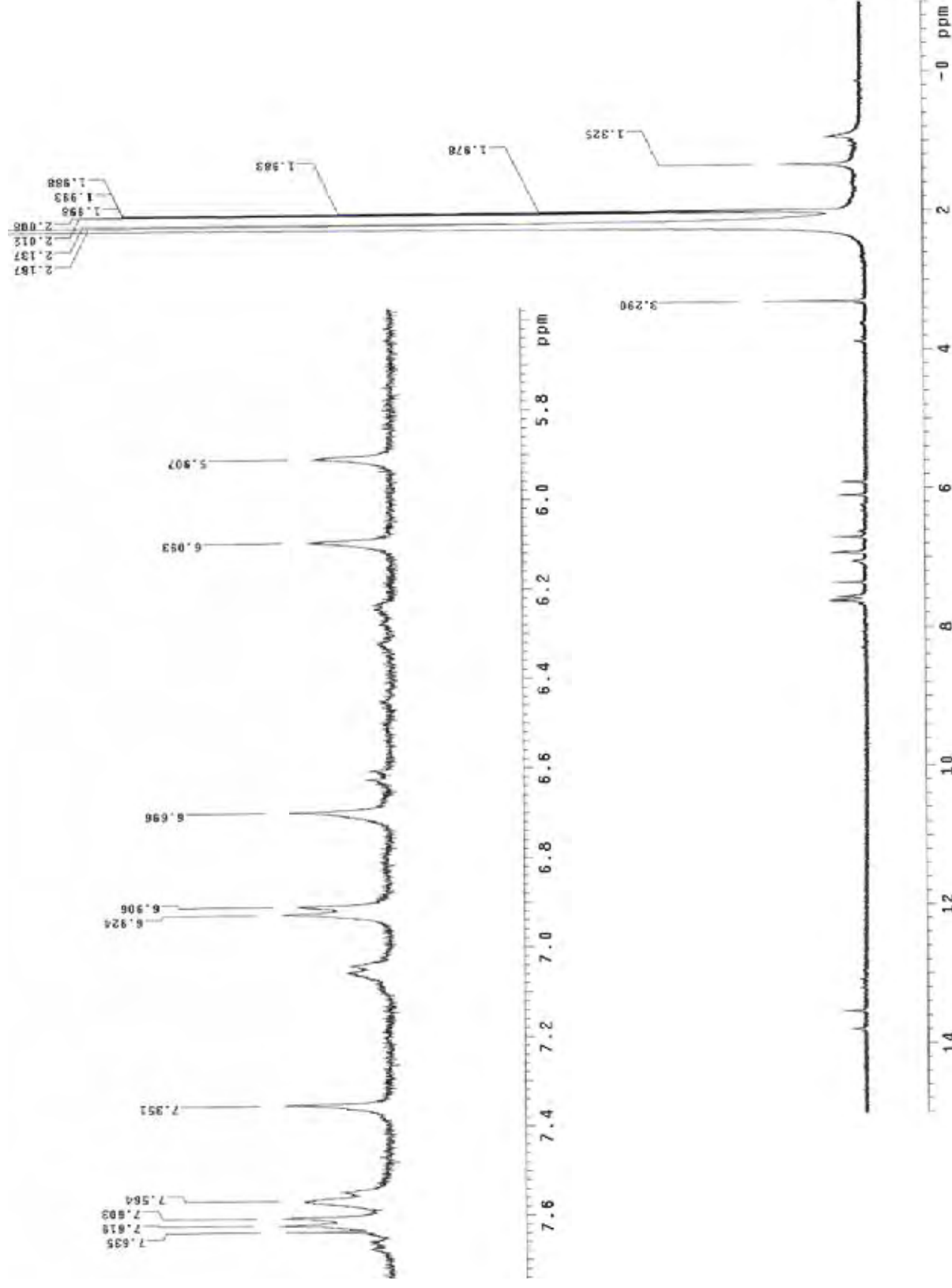


Figura 39. Espectro de RMN de ¹H de 2 com ampliação (CD₃CN, 11,7 T).

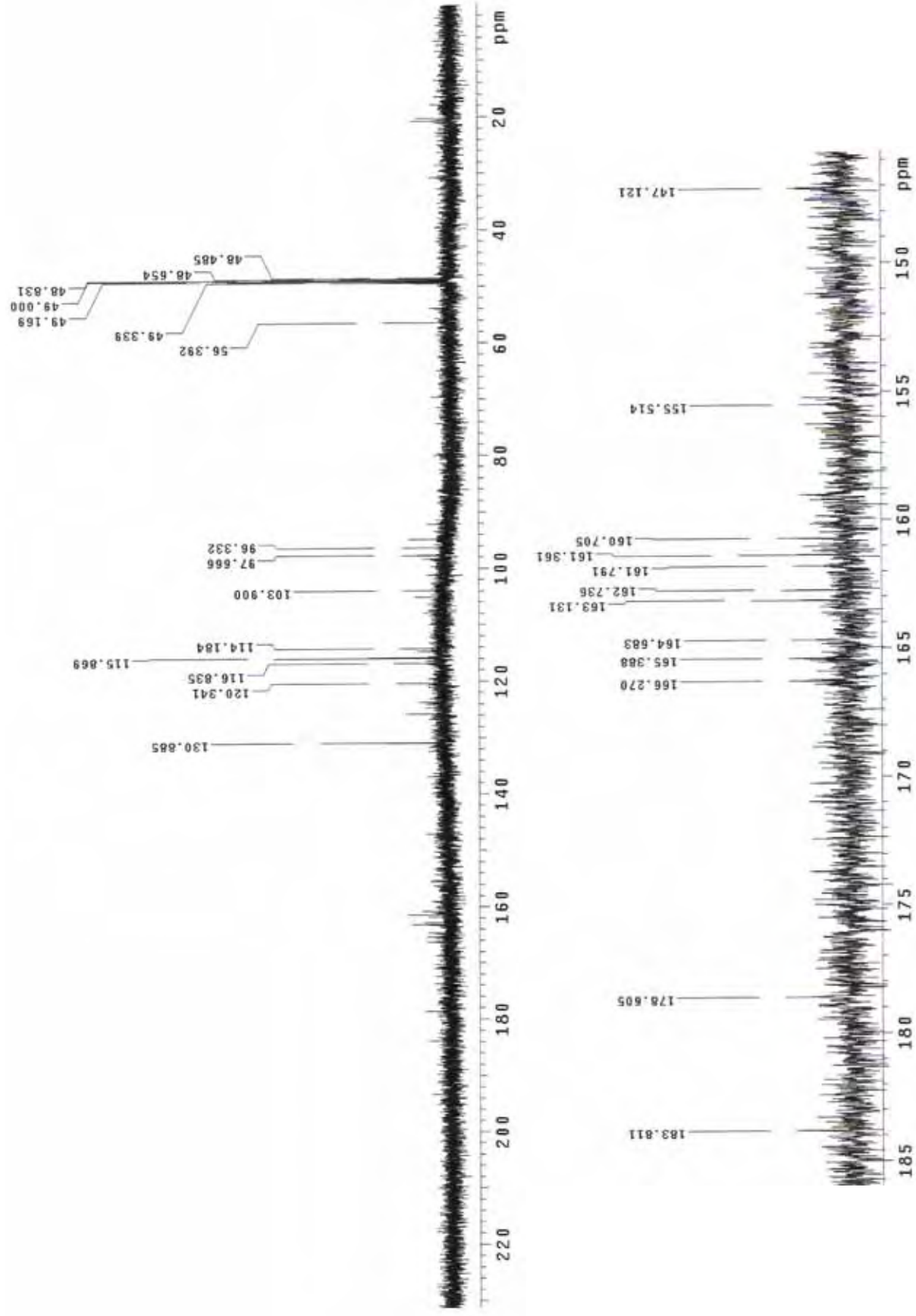


Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C de **2** com ampliação (CD_3OD , 11,7 T).

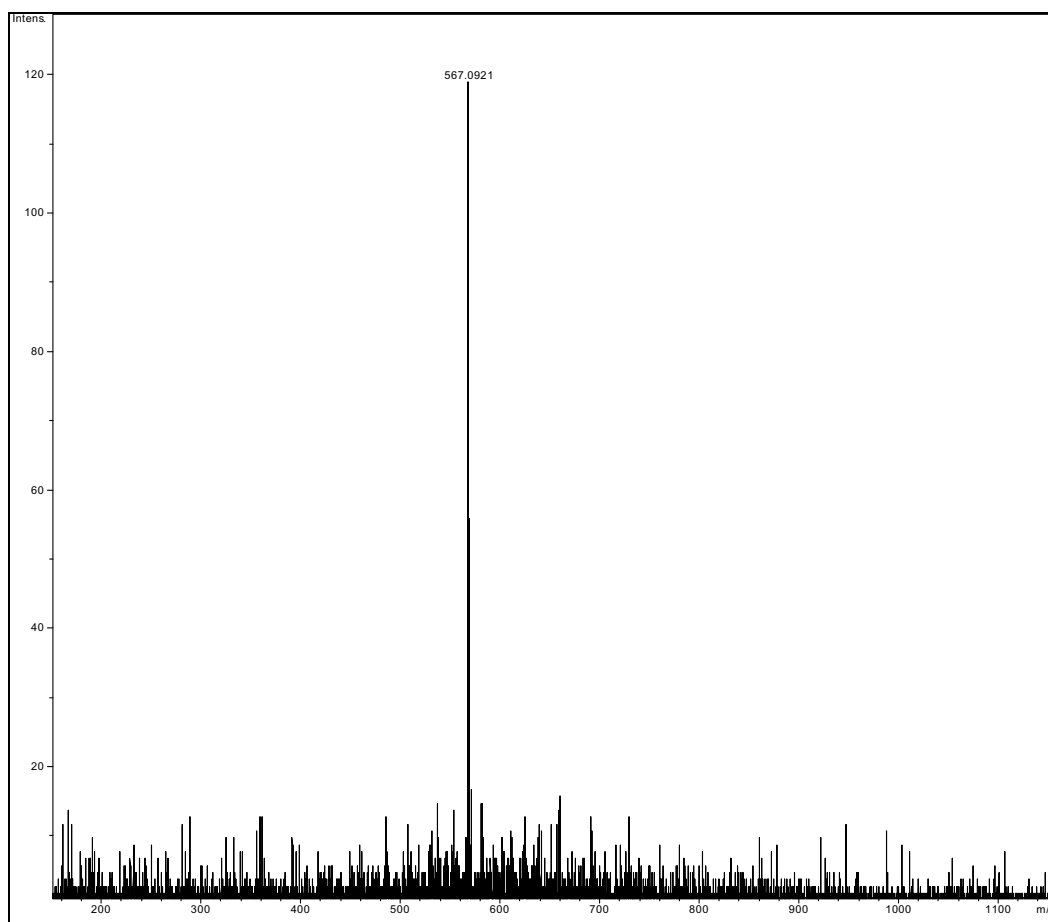


Figura 41. Espectro de massas de alta resolução de **2** (ESI, "full scan", -25 V).

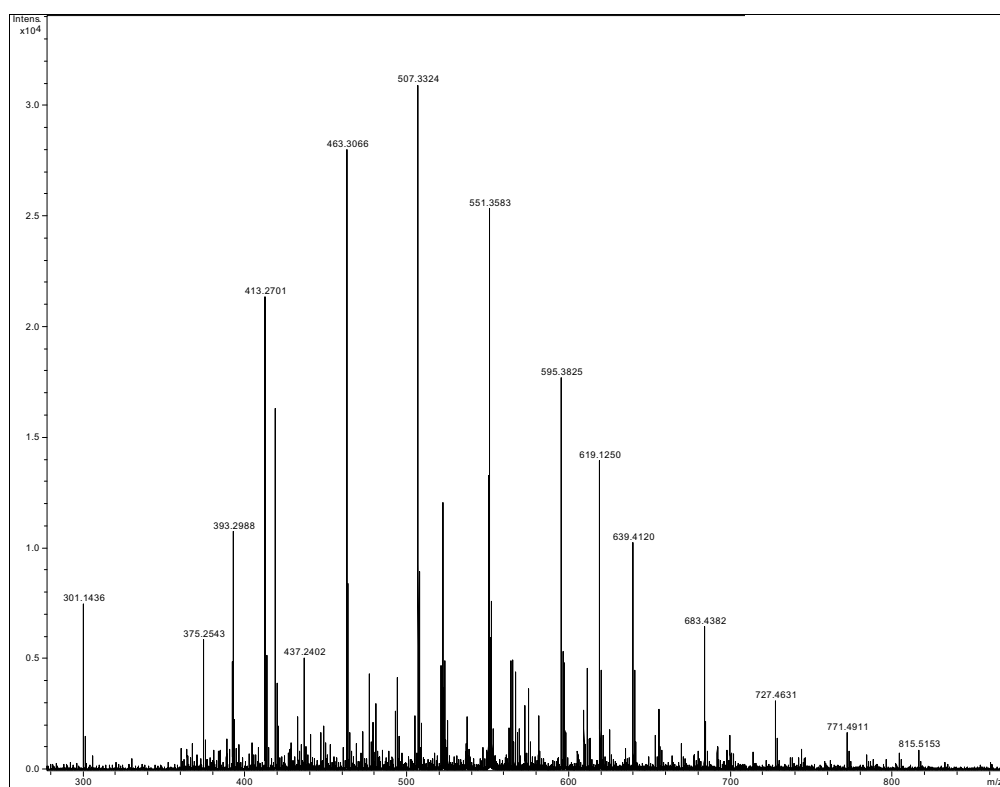


Figura 42. Espectro de massas de alta resolução de **3** (ESI, "full scan", +25 V).

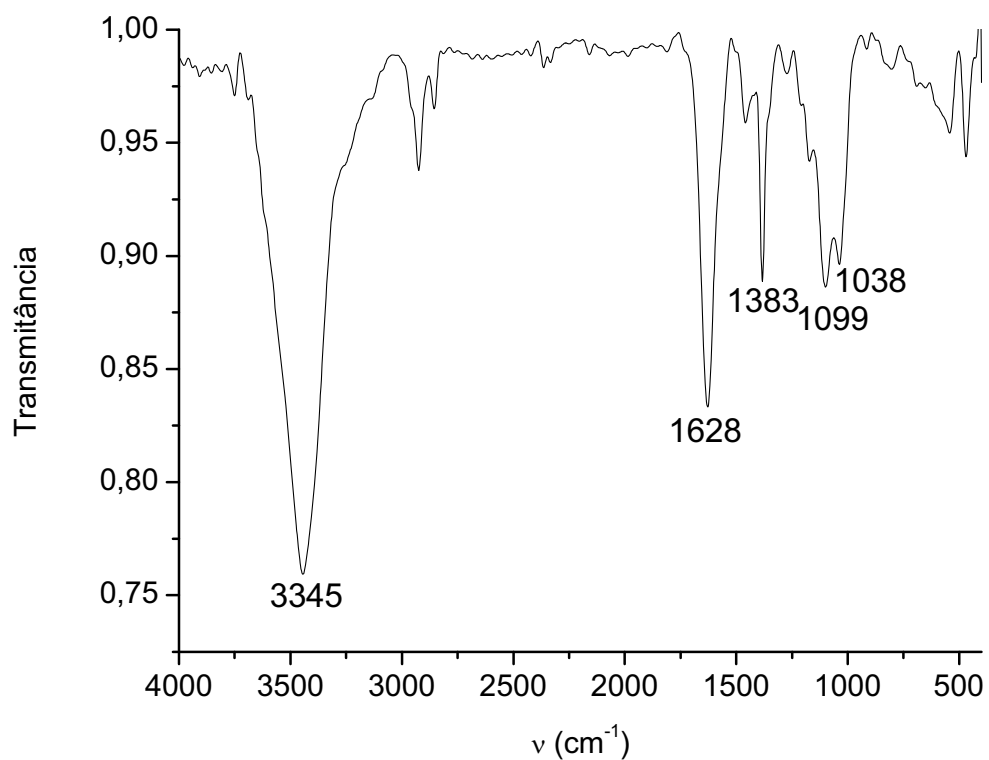


Figura 43. Espectro de absorção na região do IV de **2** (KBr).

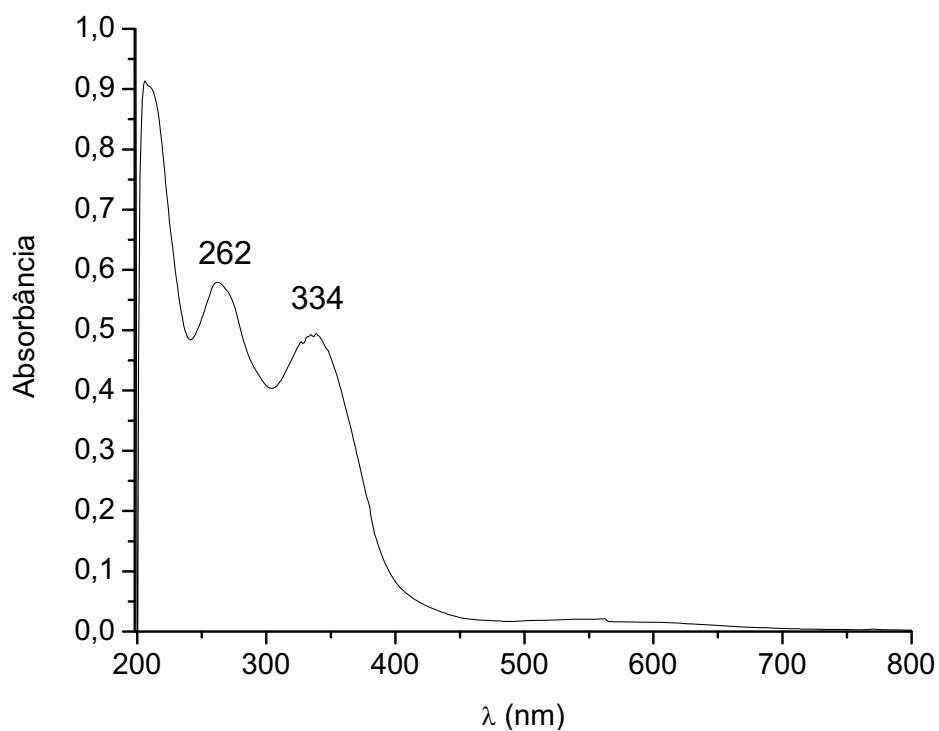


Figura 44. Espectro de absorção na região do UV de **2** (c. 0,018, MeOH).

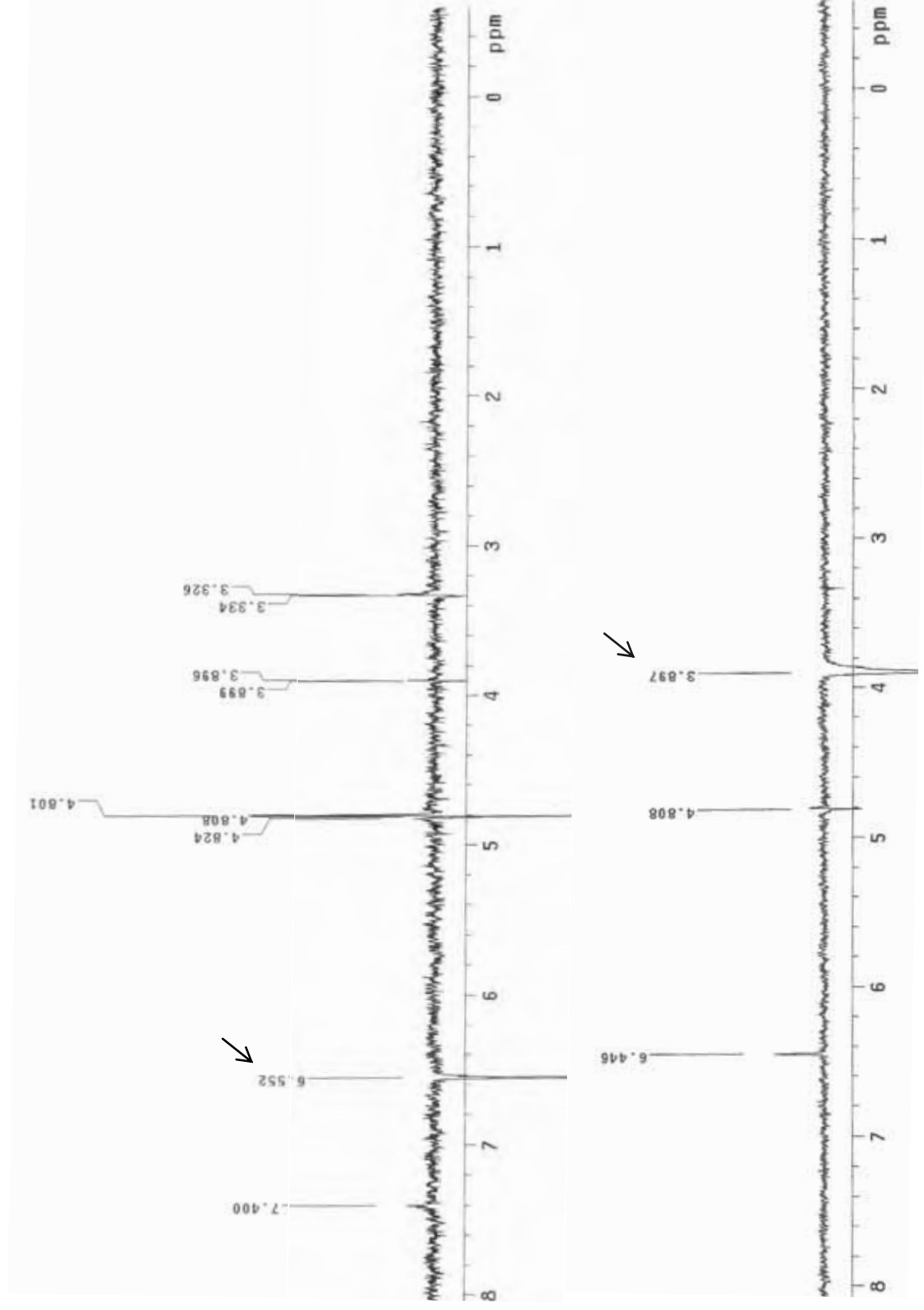


Figura 45. Espectros gNMR 1D de **2** irradiando em δ 6,55 e 3,90 (CD_3OD , 11,7 T).

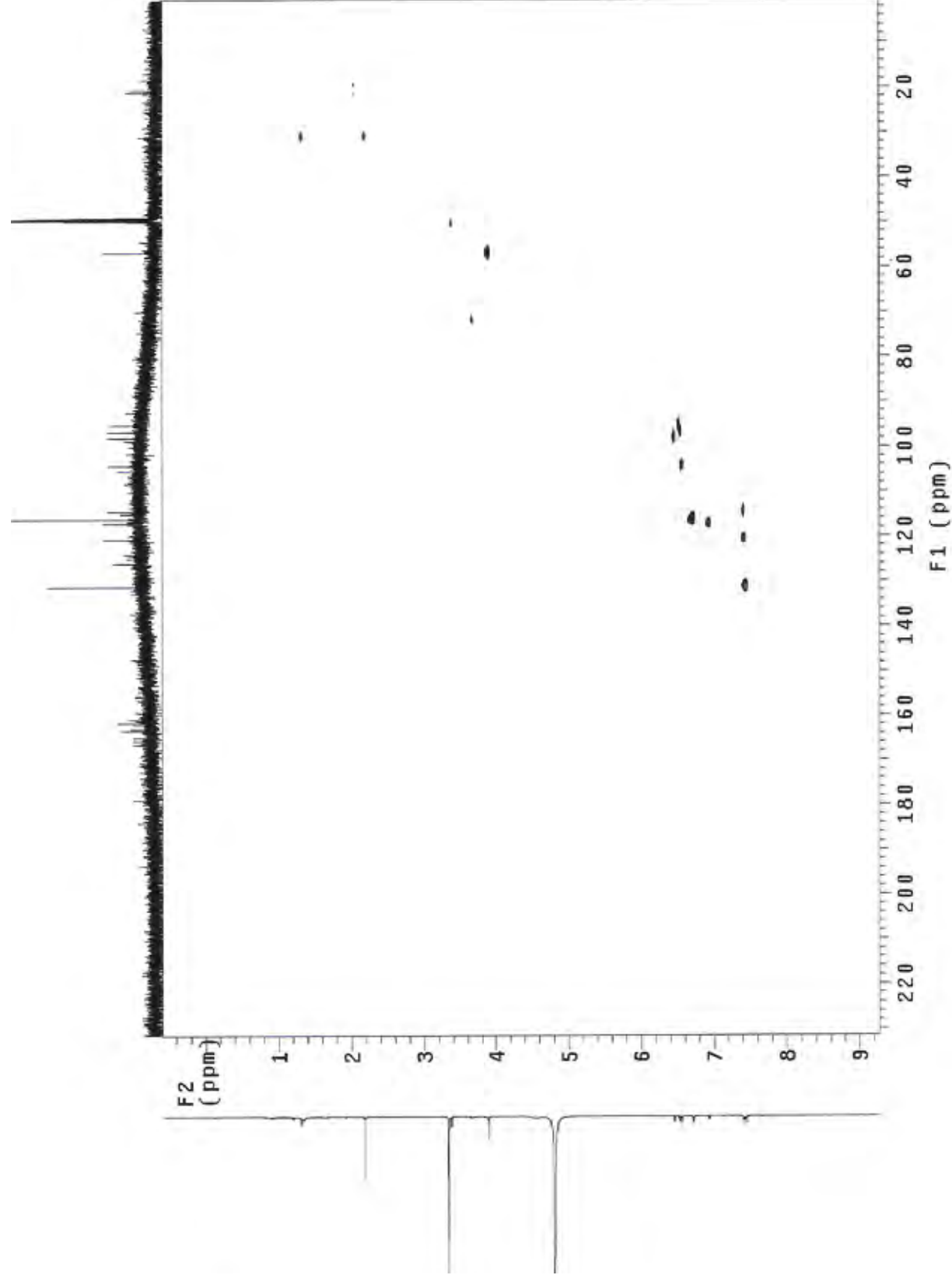
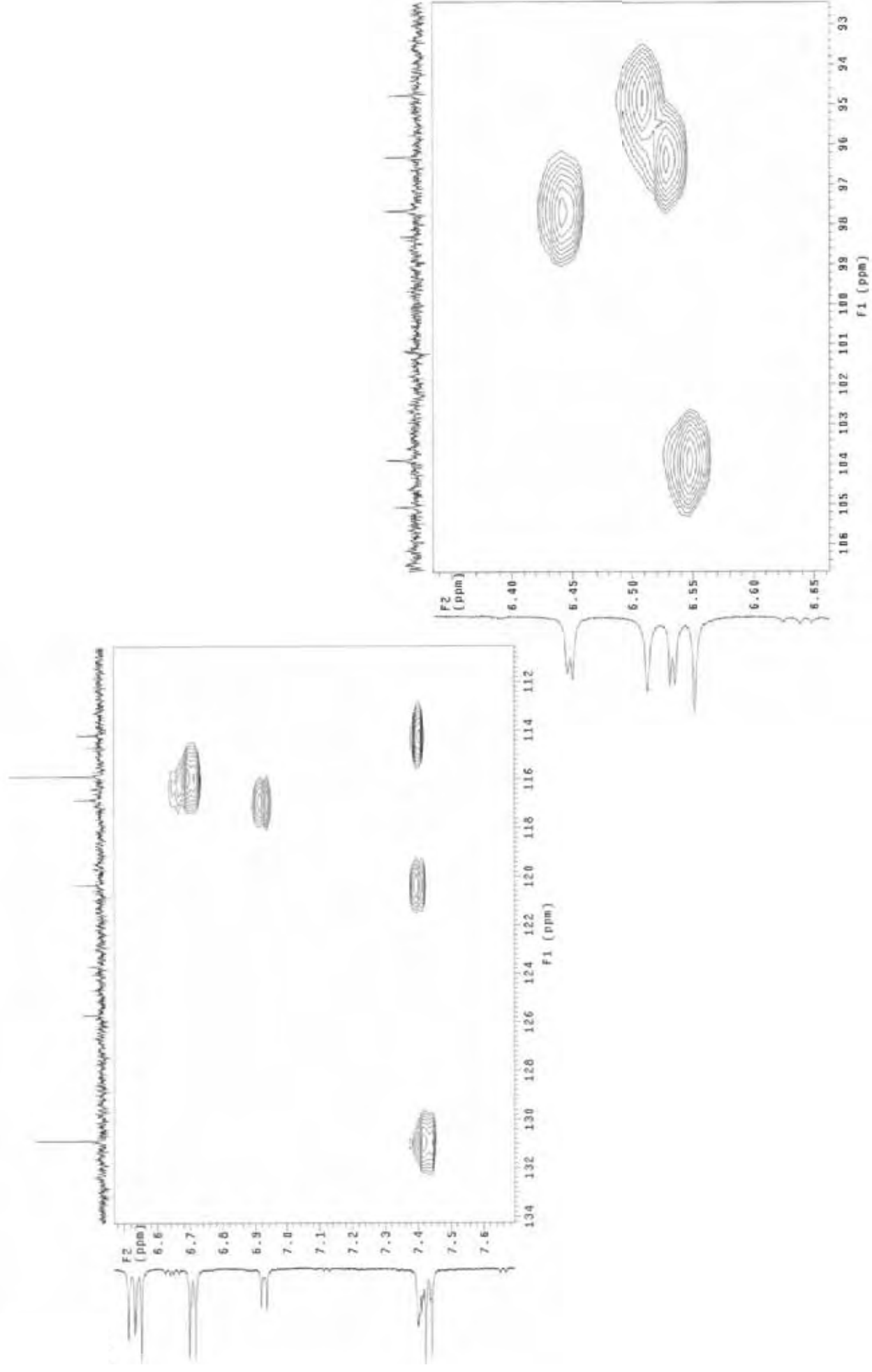


Figura 46. Mapa de contornos gHMQC de **2** (CD_3OD , 11,7 T).



Ampliações da Figura 46.

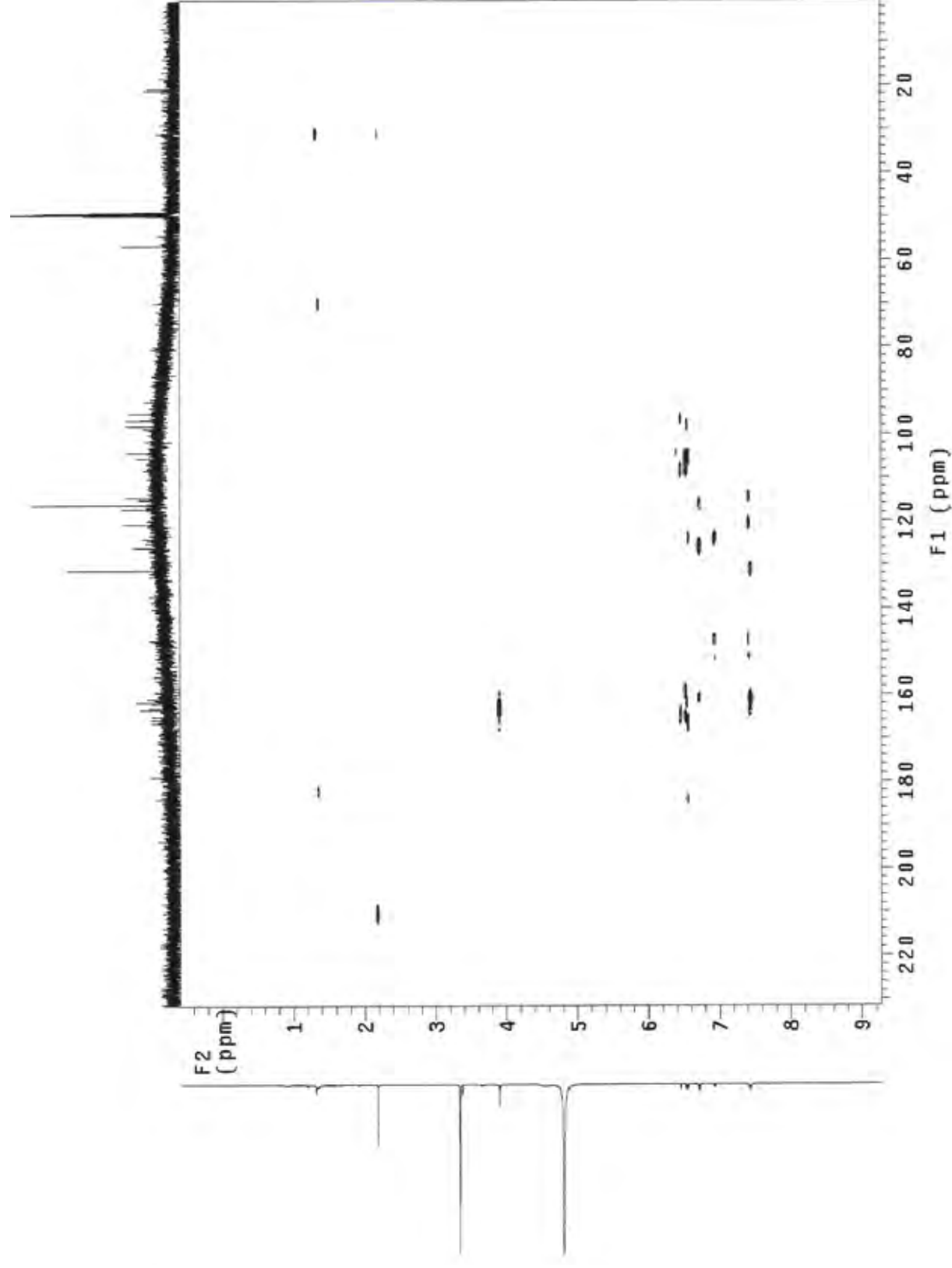
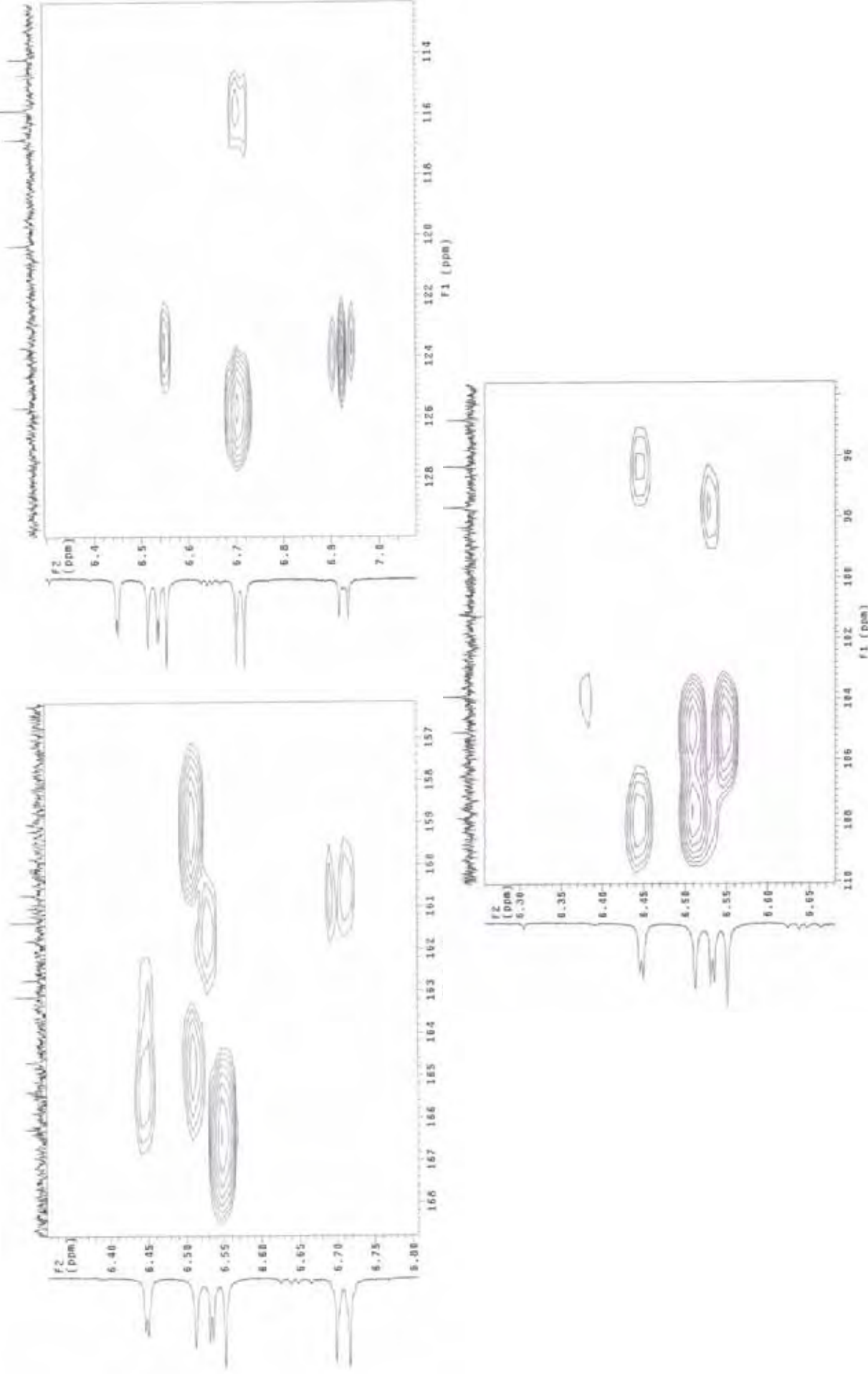


Figura 47. Mapa de contornos gHMBC de **2** (CD₃OD, 11,7 T).



Ampliações da Figura 47.

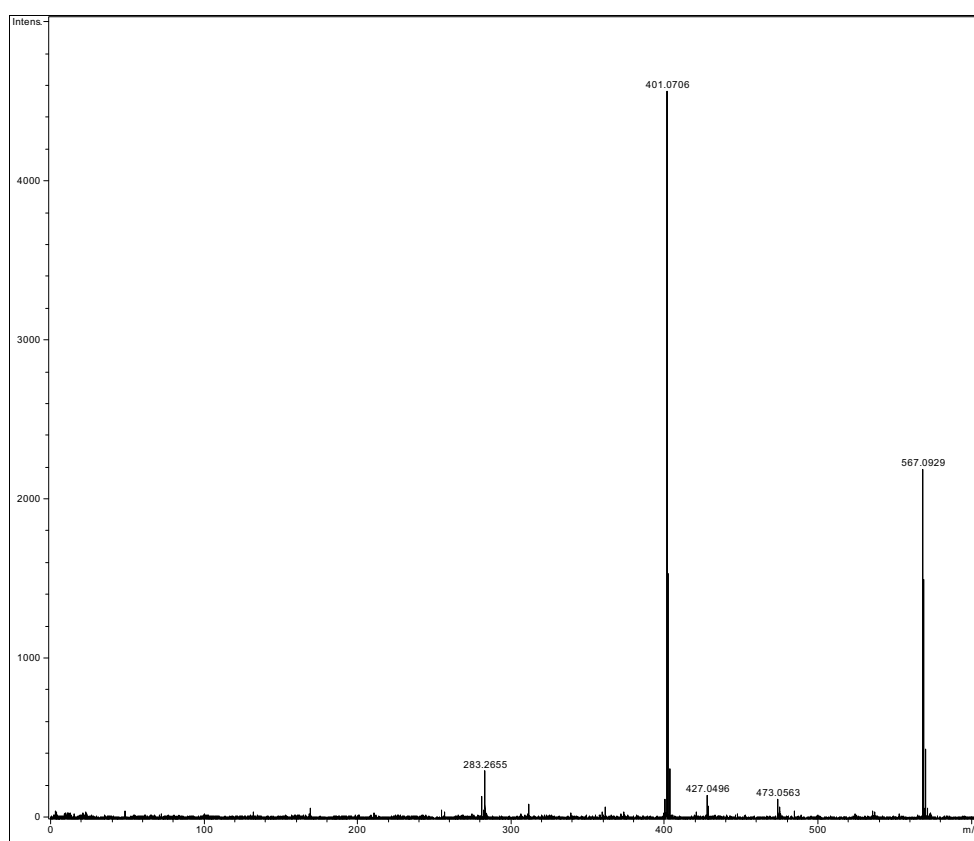


Figura 48. Espectro de massas-massas de **2** a partir dos íons de m/z 567,09 (ESI, "full scan", EM1:+25 V, EM2: +50 V).

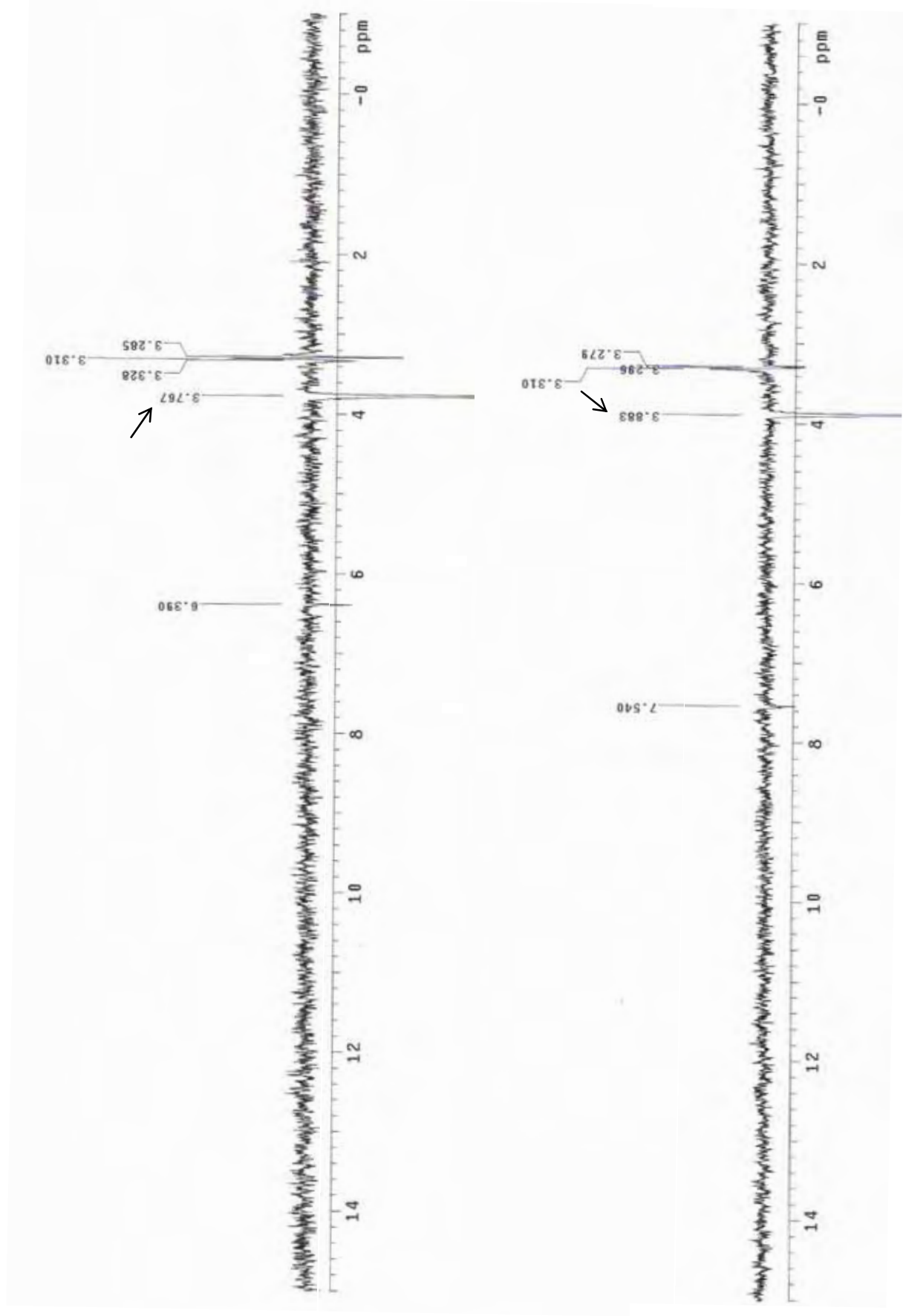


Figura 49. Espectros gNMR 1D de **3** irradiando em δ 3,77 (OCH₃-5) e 3,88 (OCH₃-3'') (DMSO- d_6 , 11,7 T).

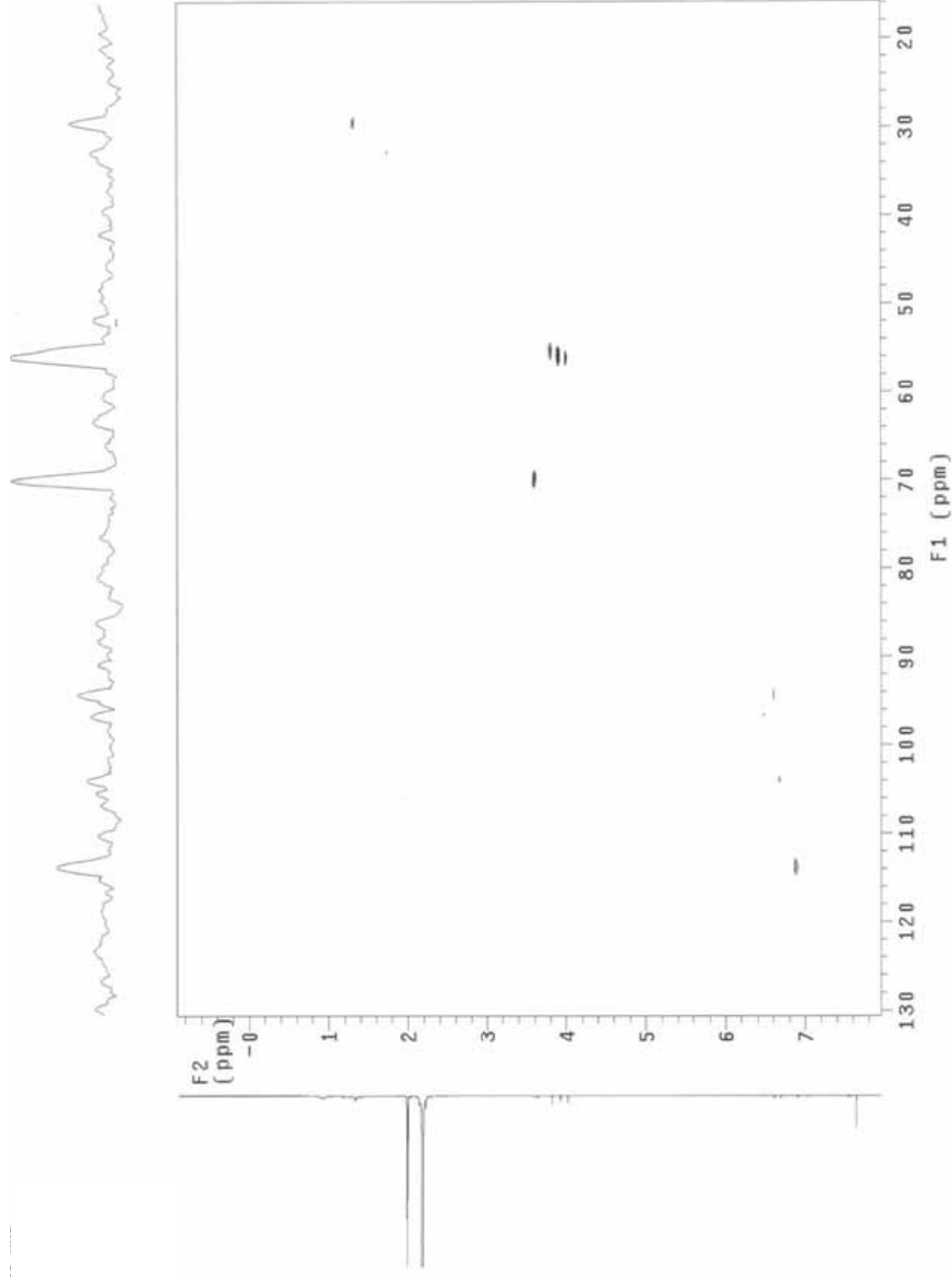
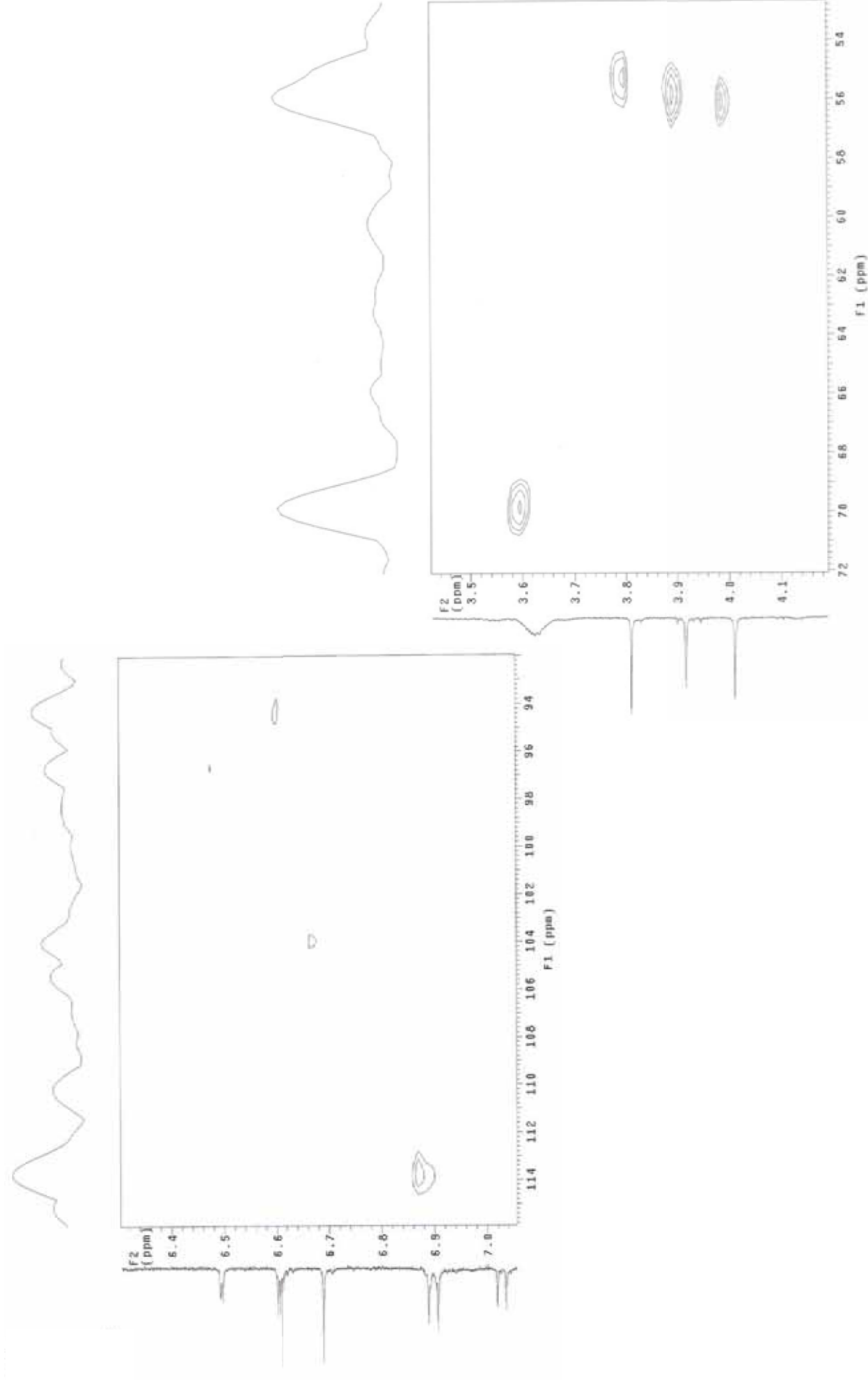


Figura 50. Mapa de contornos gHMQC de **3** (CD_3CN , 11,7 T).



Ampliações da Figura 50.

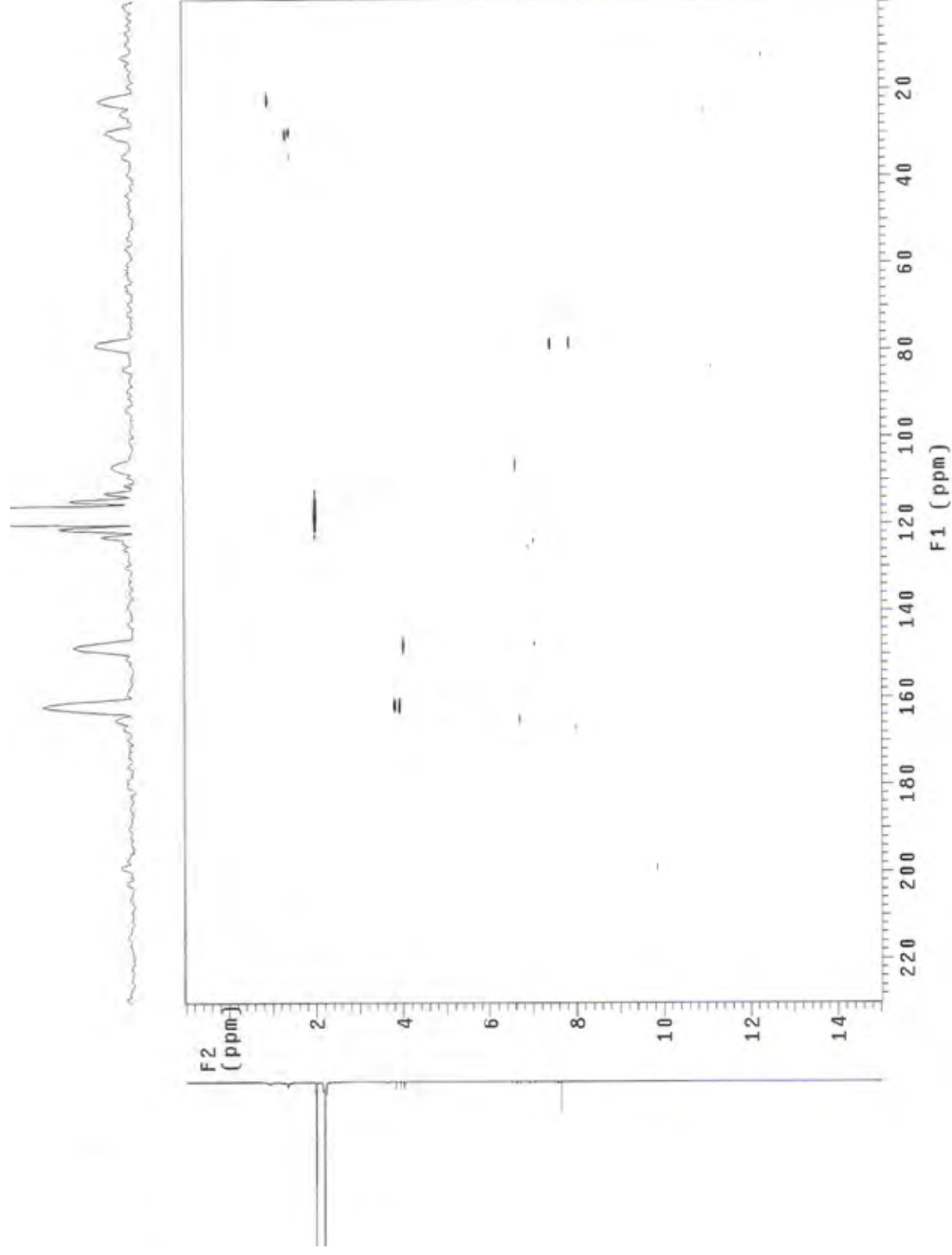
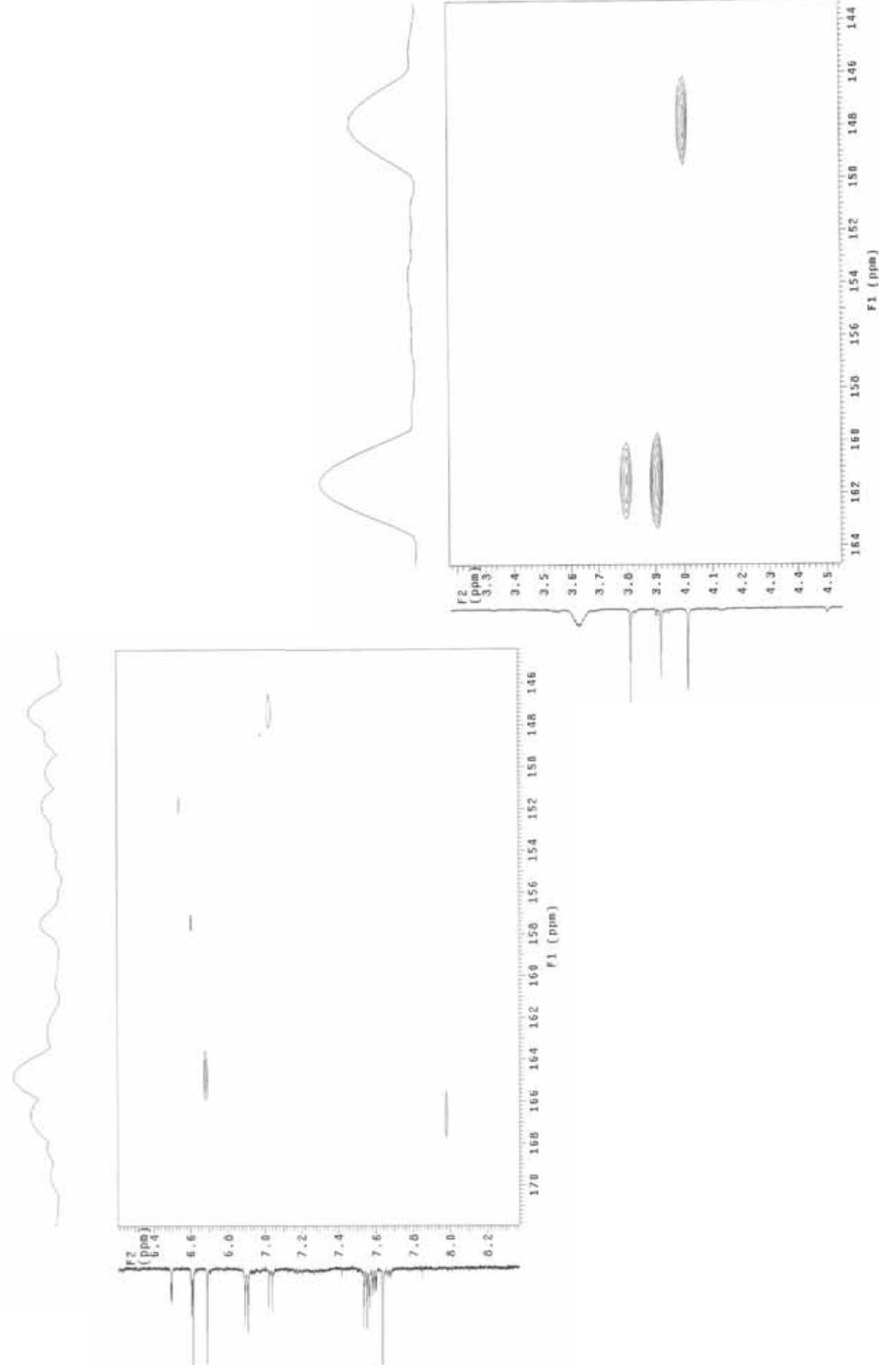


Figura 51. Mapa de contornos gHMBC de **3** (CD_3CN , 11,7 T).



Ampliações da Figura 51.

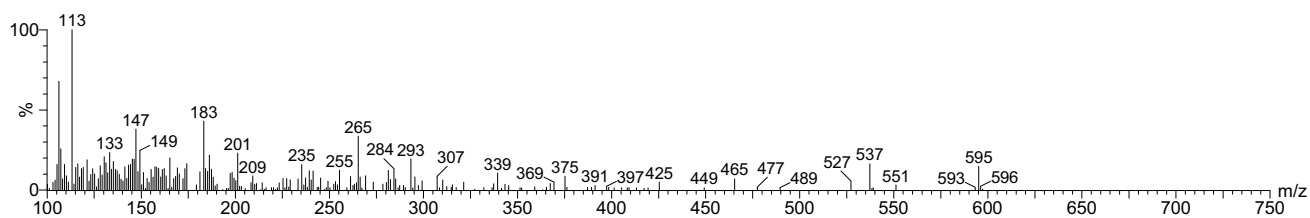


Figura 52. Espectro de massas de baixa resolução de **3** (ESI, "full scan", -50 V).

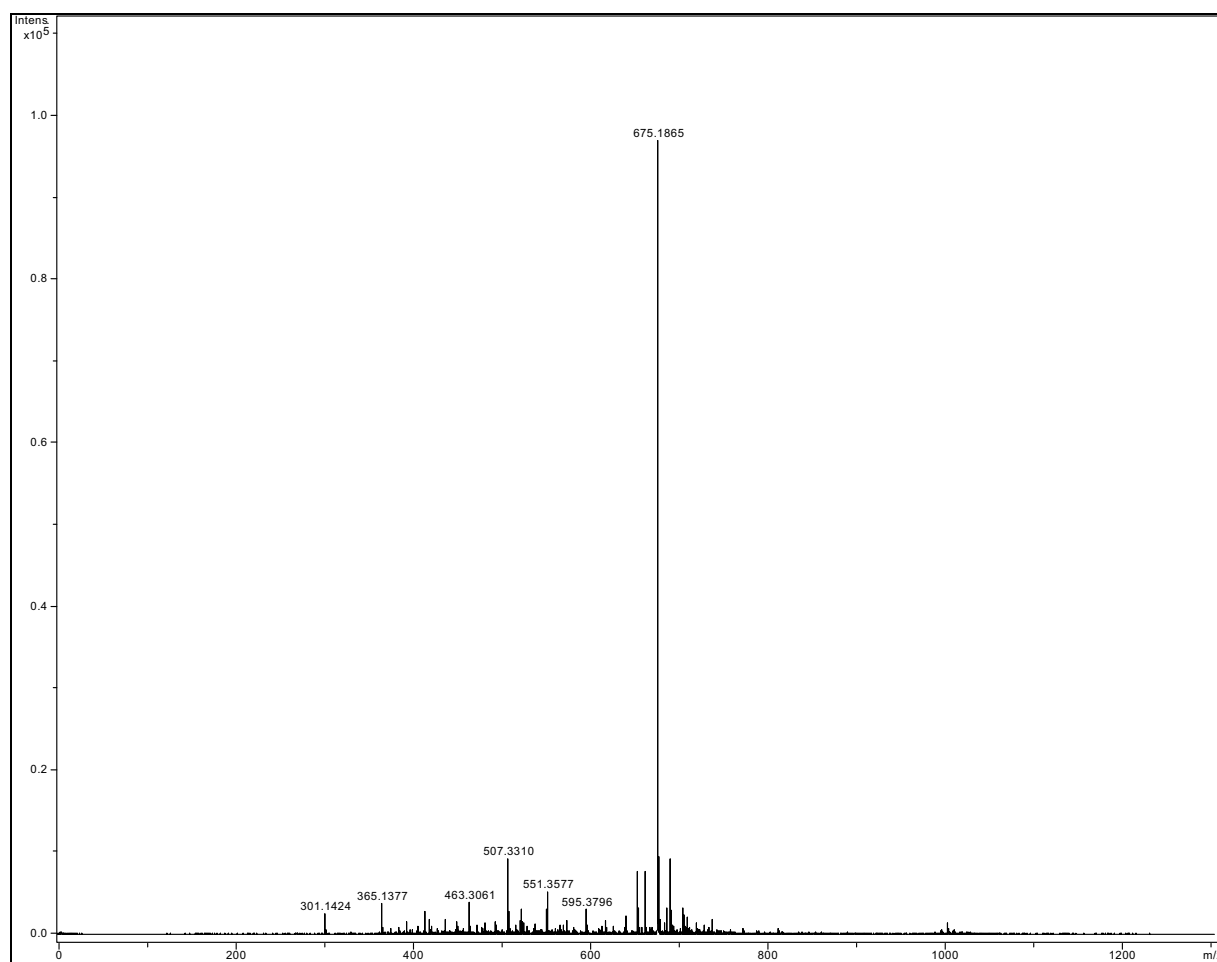
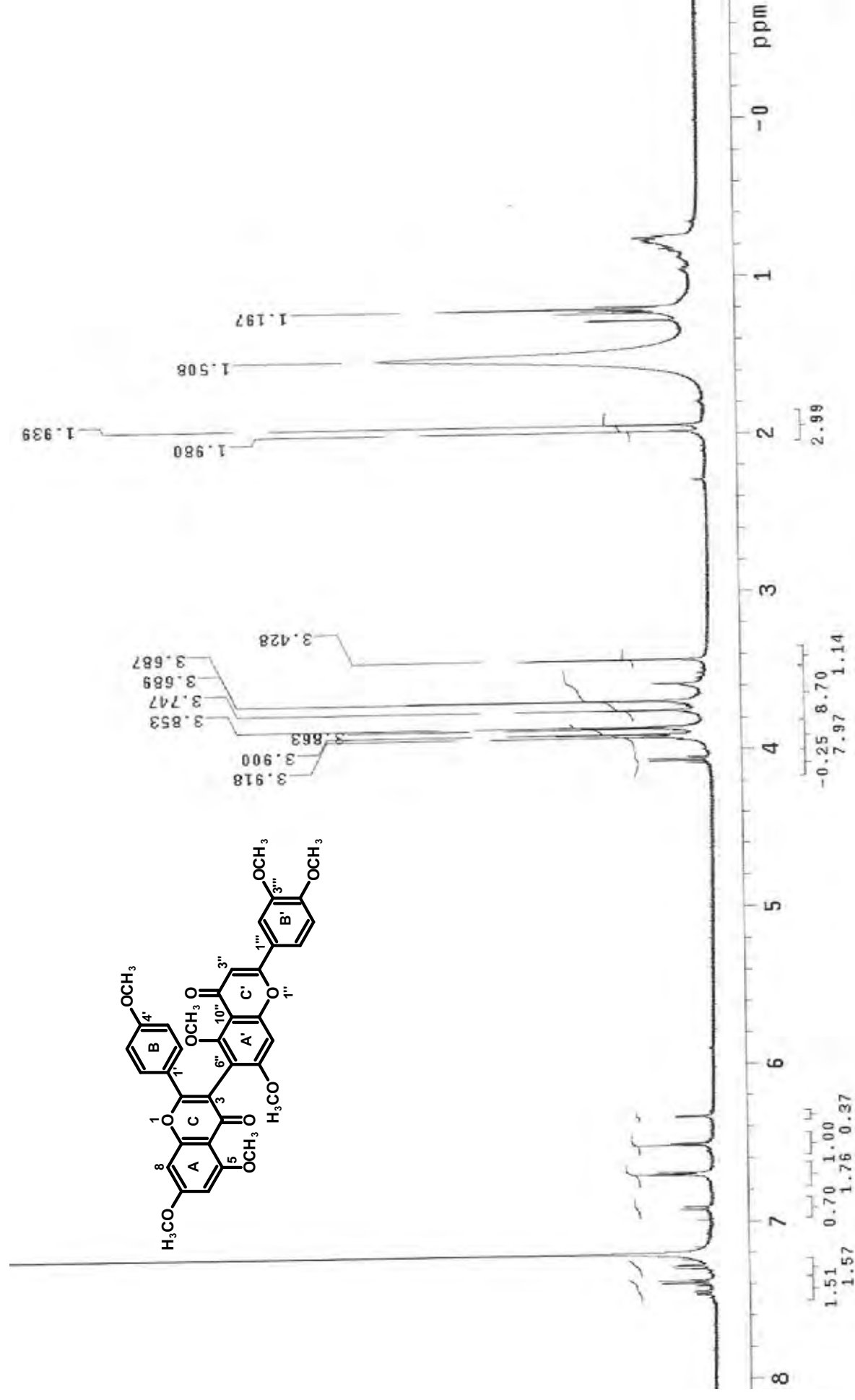
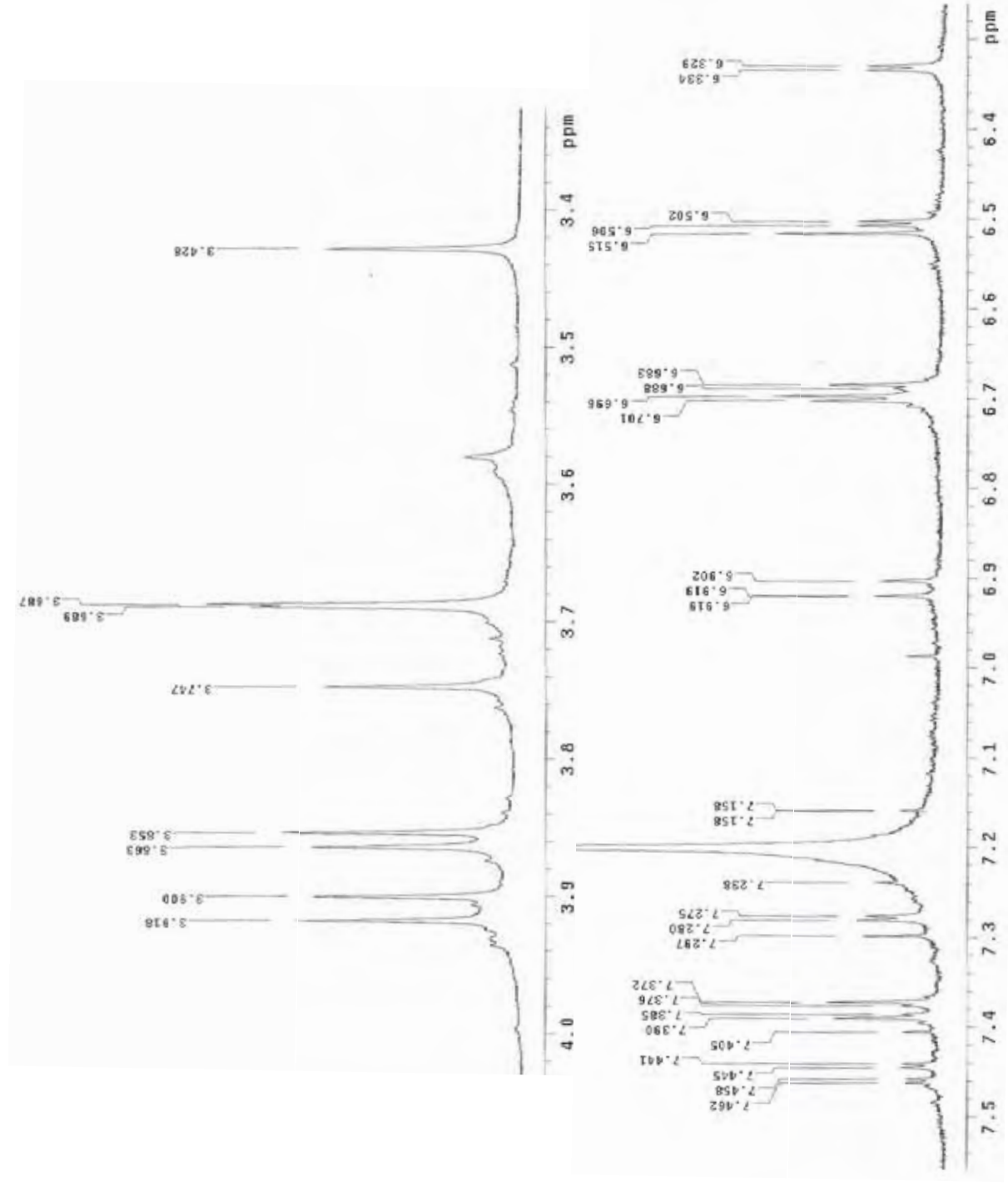
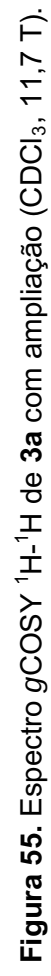


Figura 53. Espectro de massas de alta resolução de **3a** (ESI, "full scan", +25 V).

Figura 54. Espectro de RMN de ¹H de **3a** (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 54.



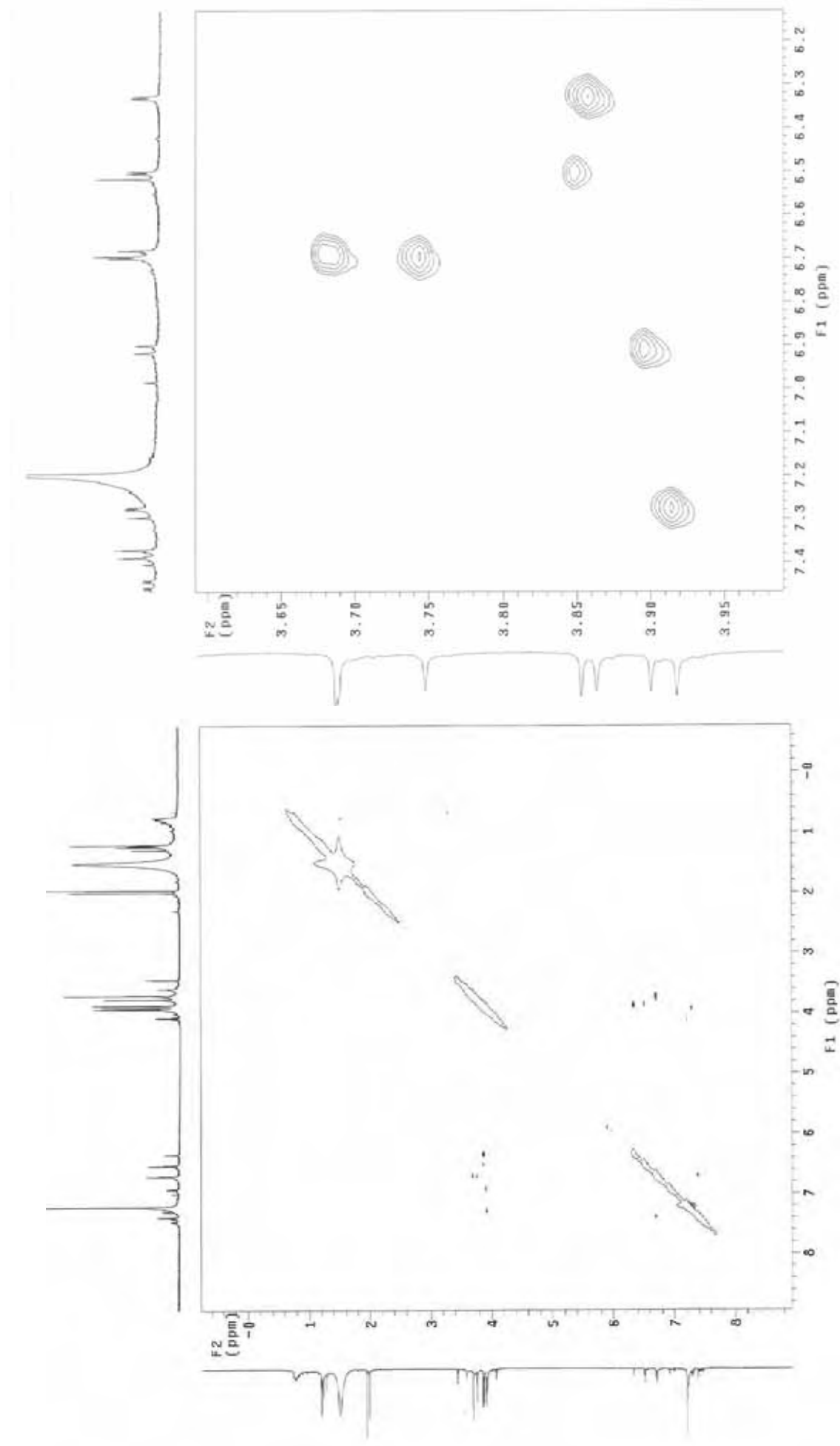
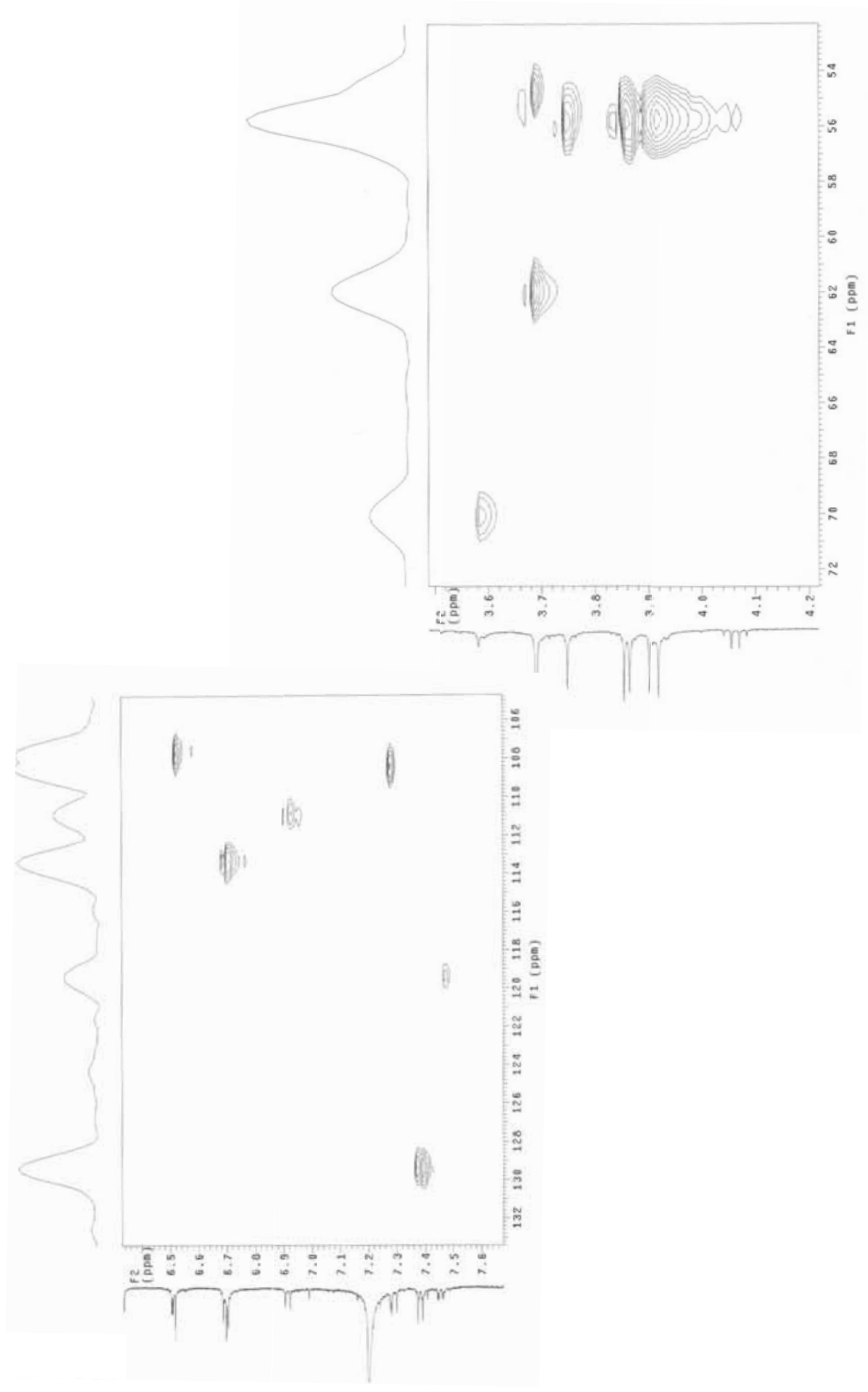


Figura 56. Espectro gNOESY 2D de **3a** com ampliação (CDCl_3 , 11,7 T).

Figura 57. Mapa de contornos *g*HMQC de **3a** (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 57.

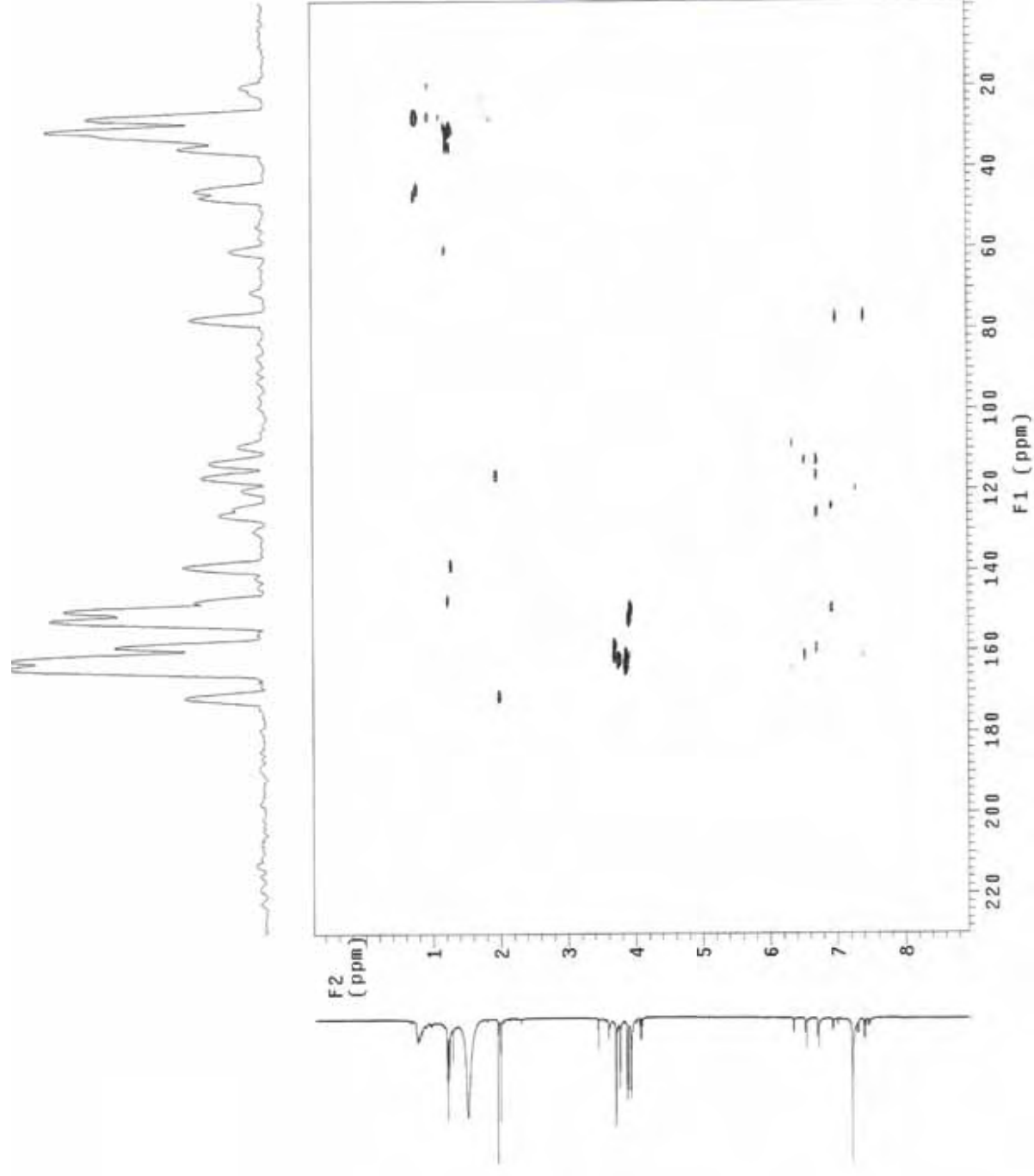
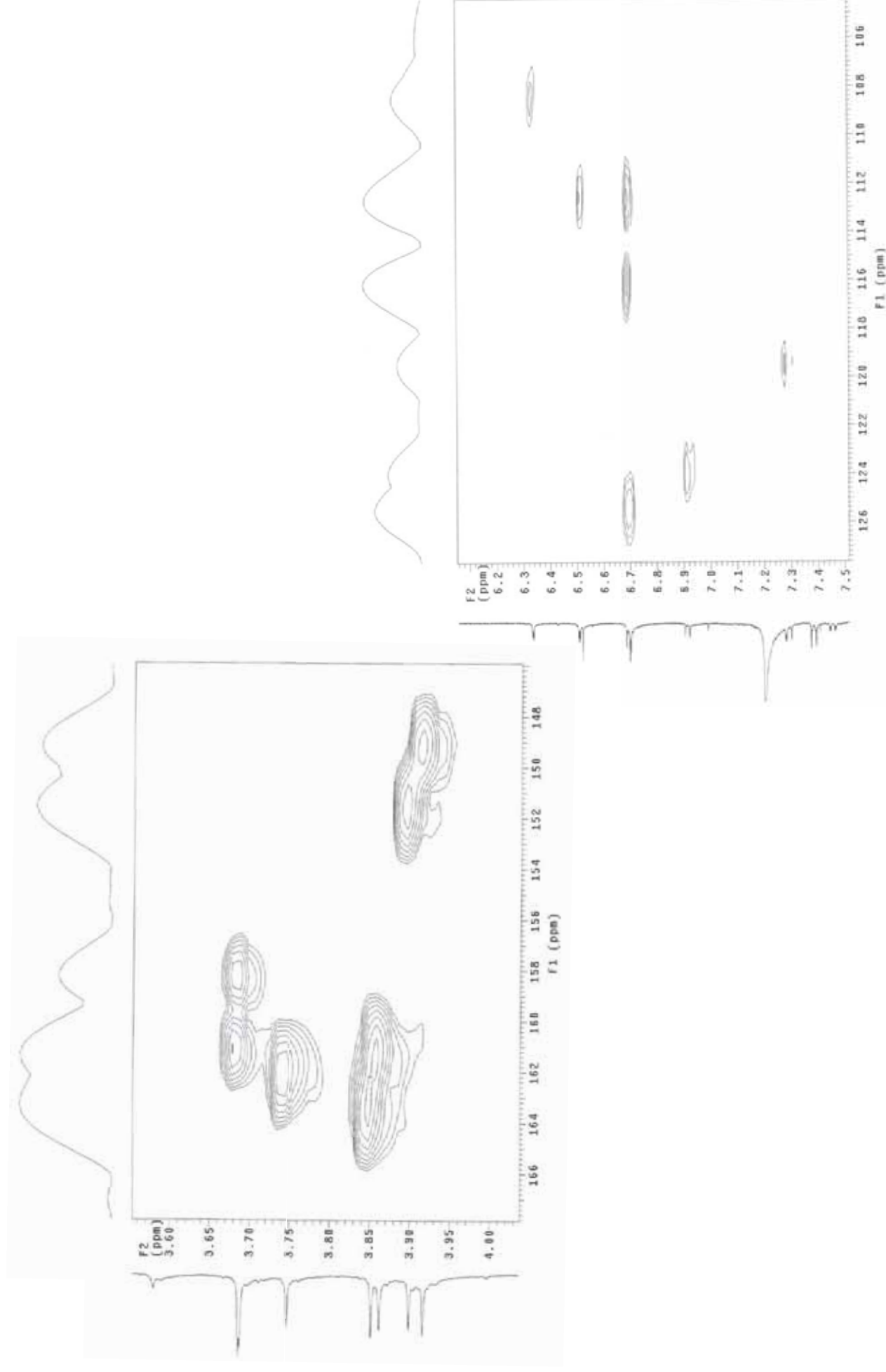
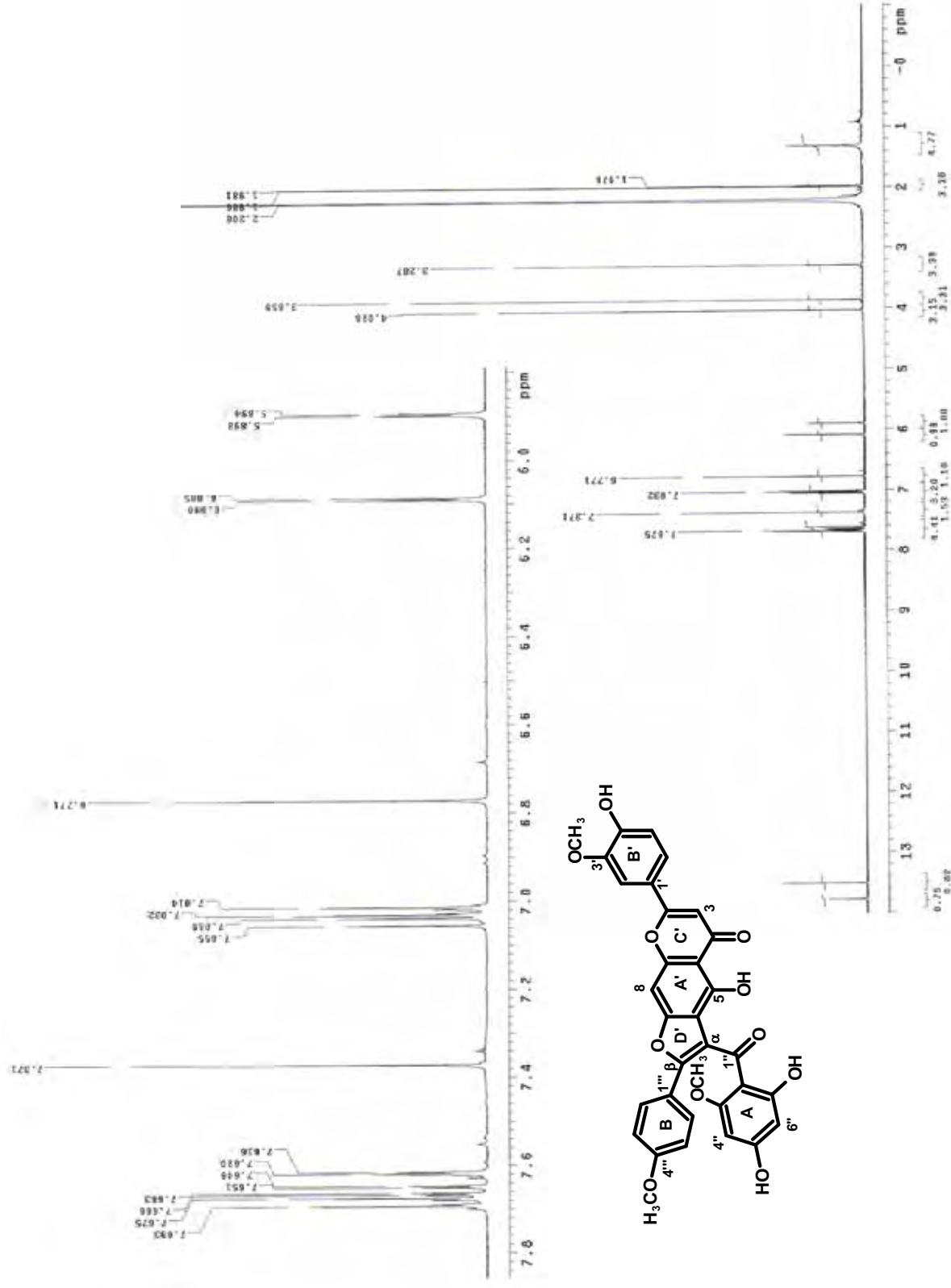


Figura 58. Mapa de contornos gHMBC de **3a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 58.



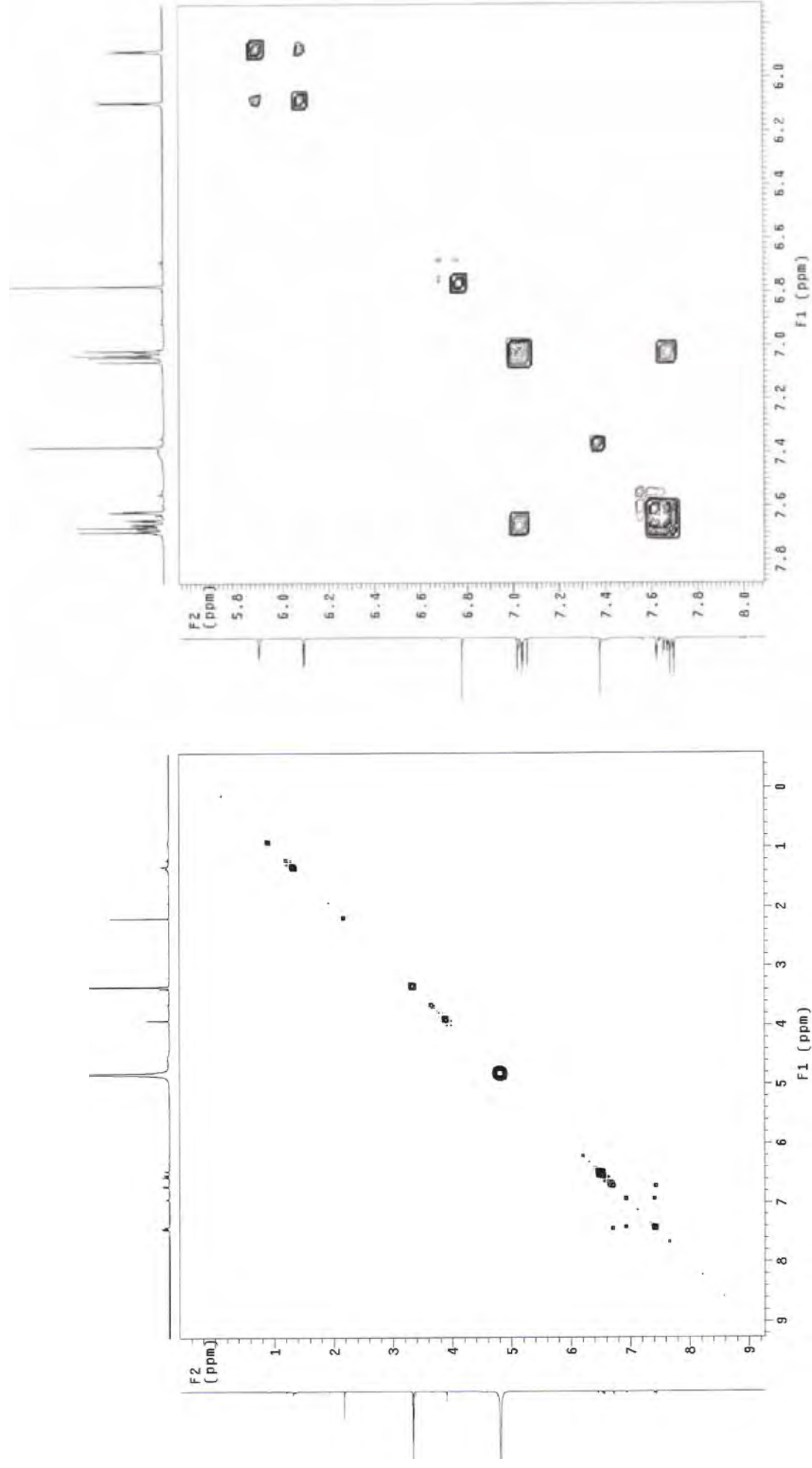


Figura 60. Espectro $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de **4** com ampliação (CD_3CN , 11,7 T).

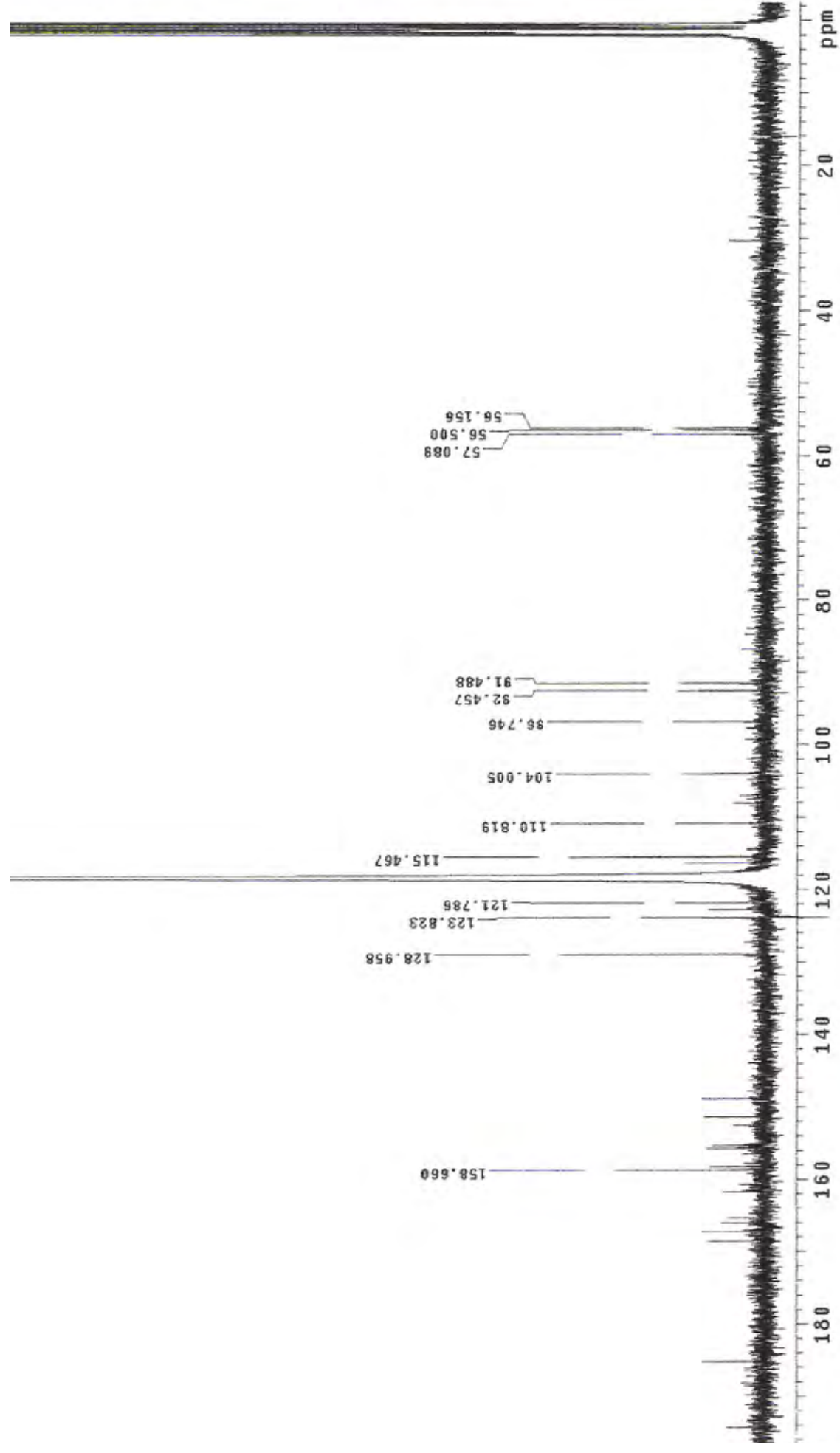
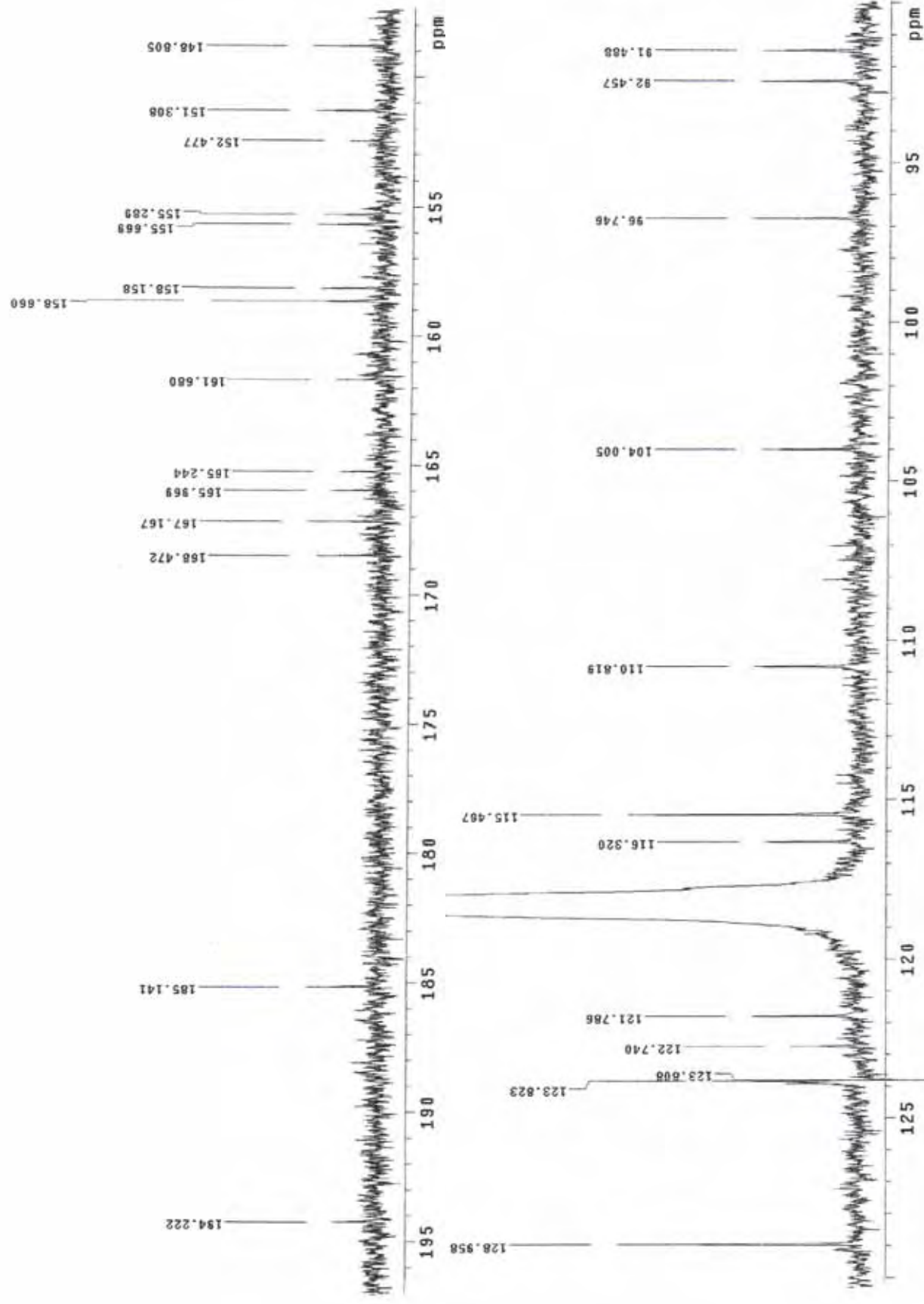


Figura 61. Espectro de RMN de ¹³C de **4** (CD₃CN, 11,7 T).



Ampliações da Figura 61.

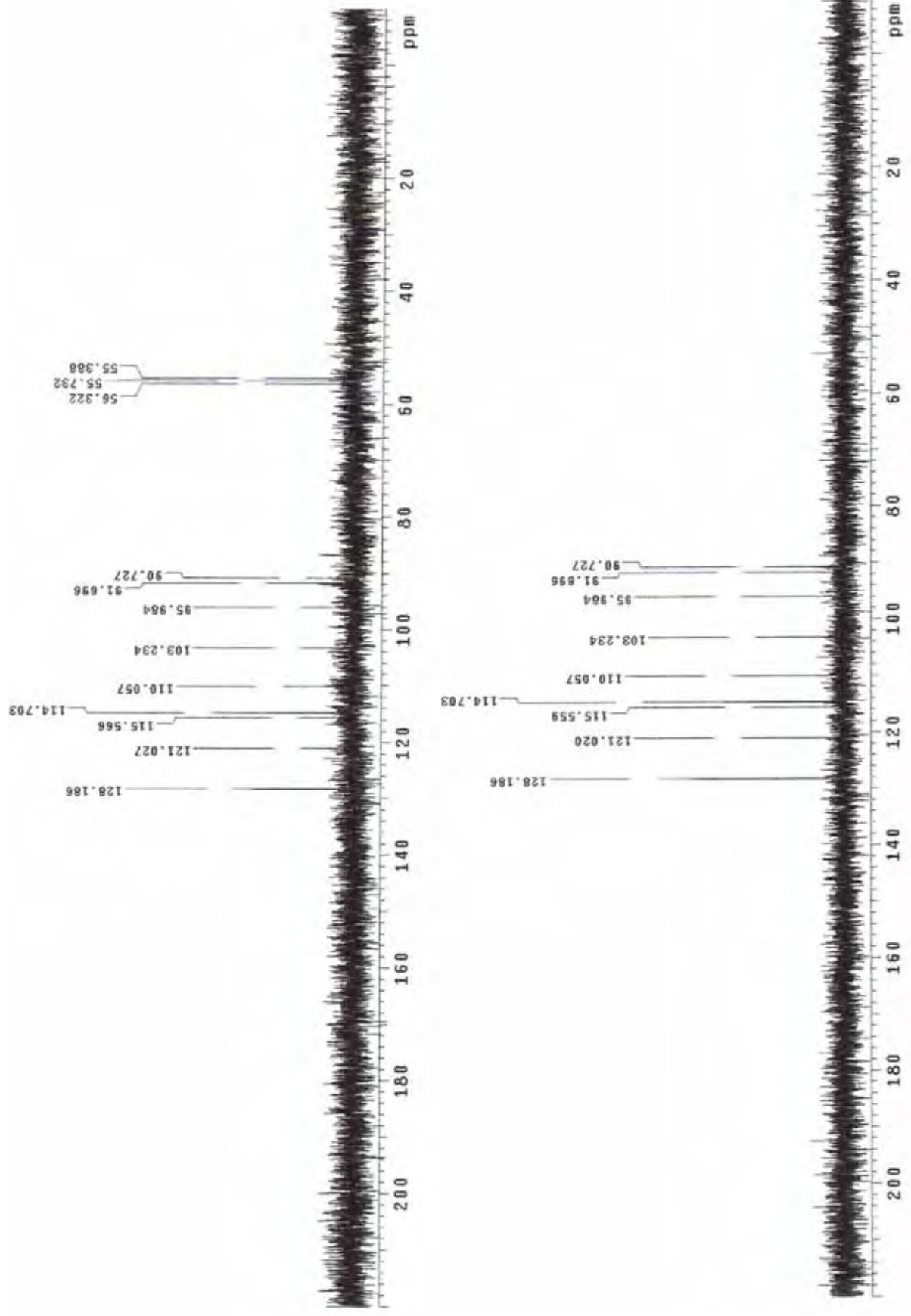


Figura 62. Espectros DEPT 135° e 90° de **4** (CD_3CN , 11,7 T).

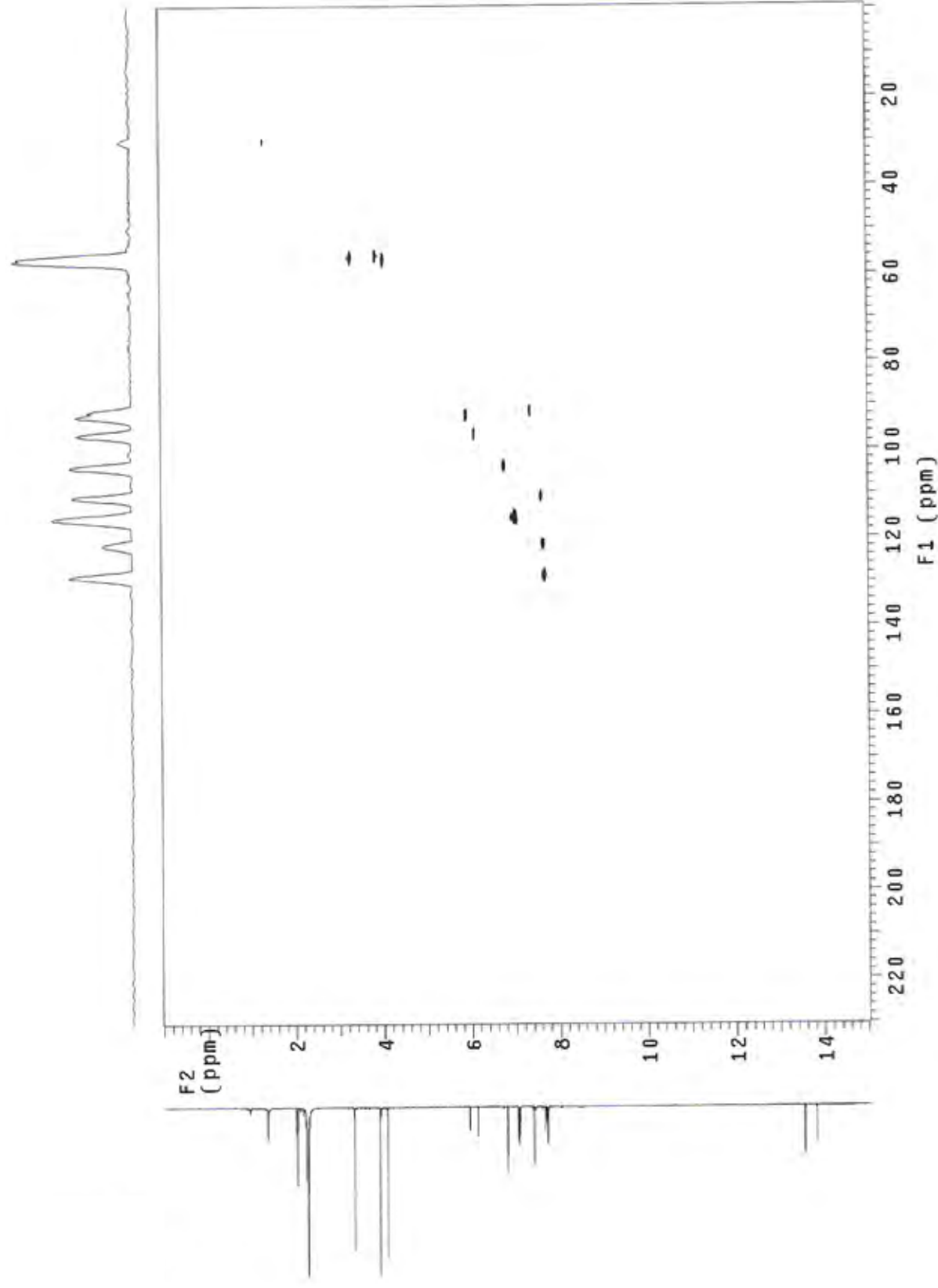
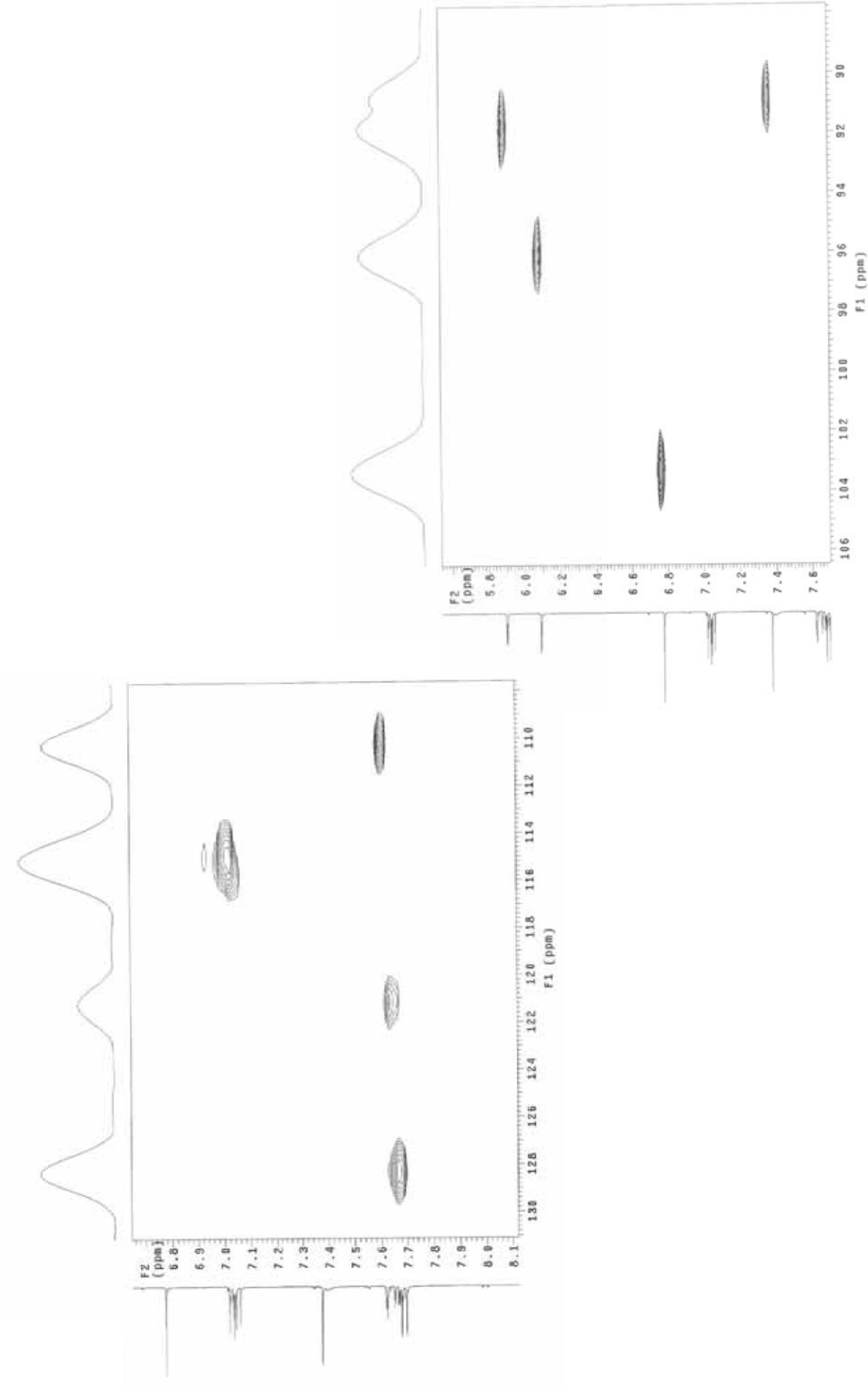


Figura 63. Mapa de contornos gHMQC de **4** (CD₃CN, 11,7 T).



Ampliações da Figura 63.

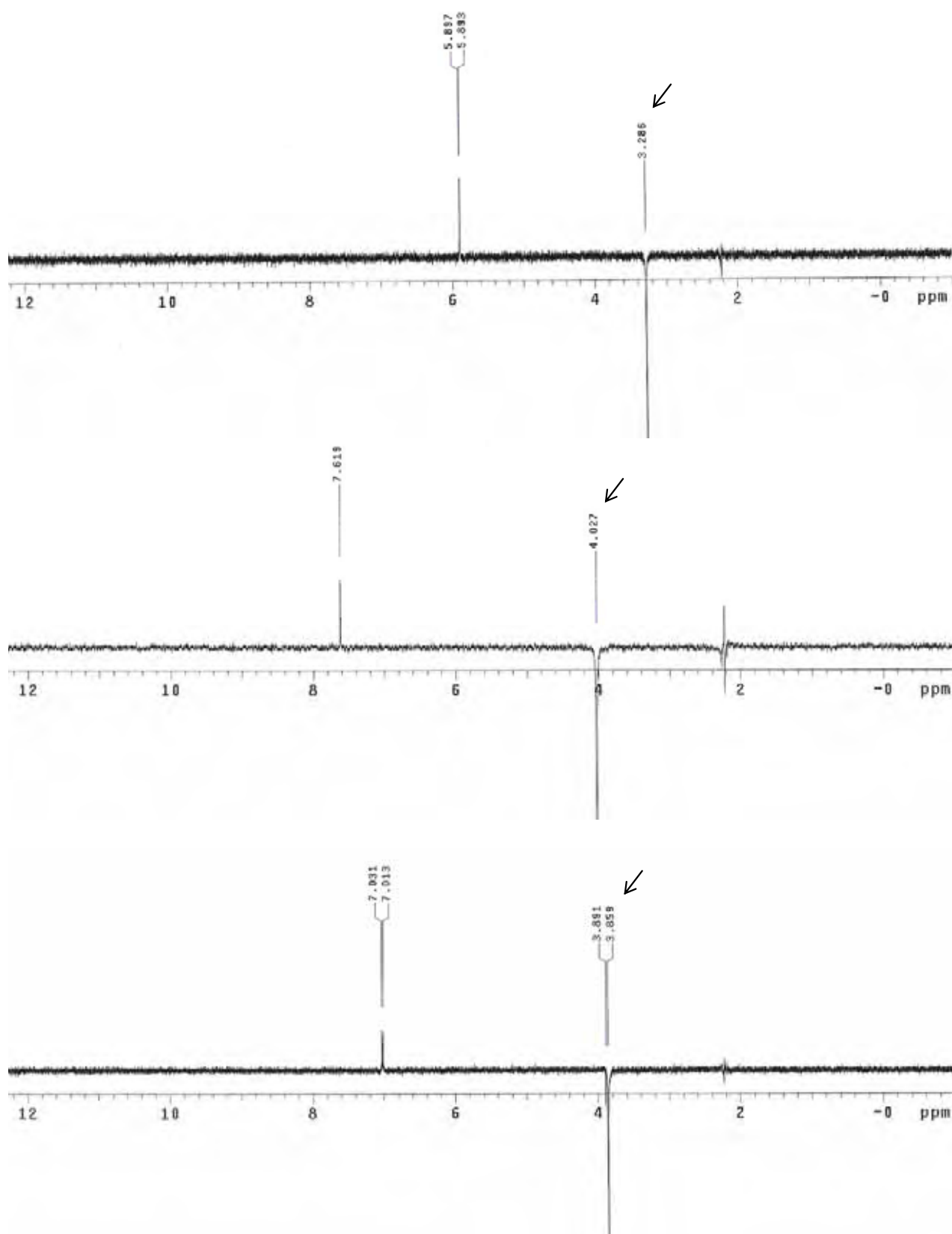


Figura 64. Espectros *g*NOESY 1D de **4** irradiando em δ 3,29, 4,03 e 3,86 (CD_3CN , 11,7 T).

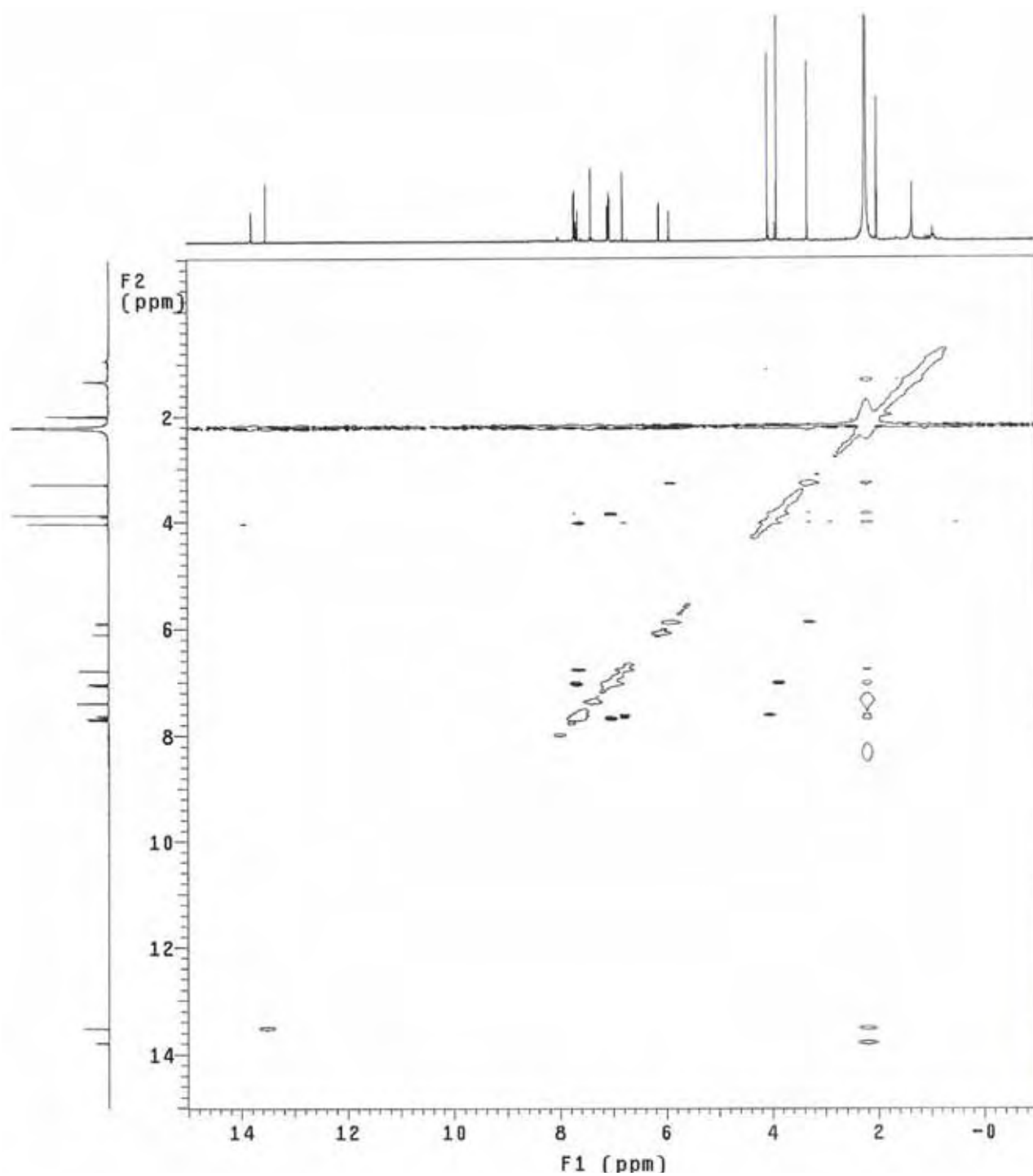
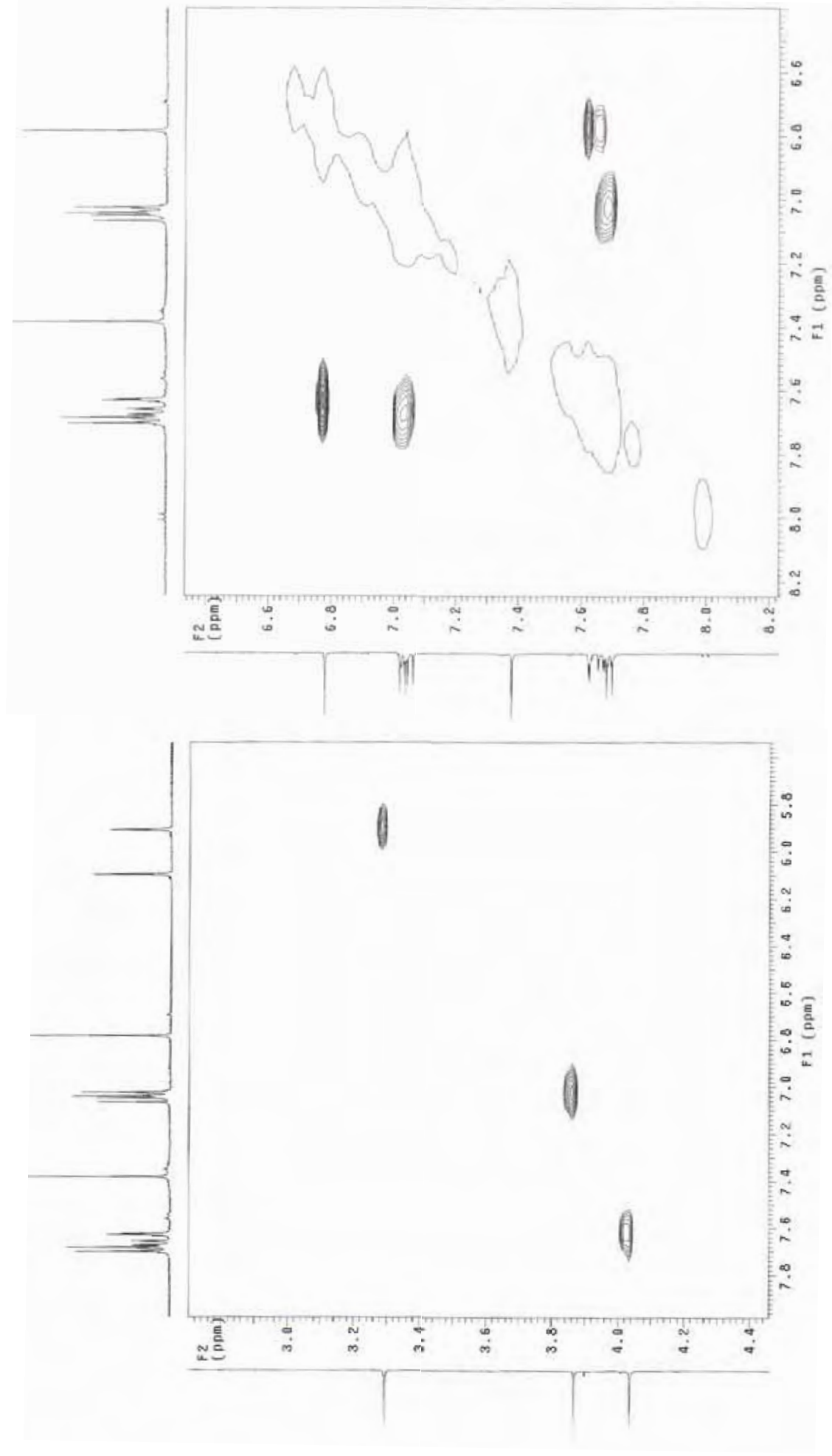


Figura 65. Espectro *g*NOESY 2D de **4** (CD₃CN, 11,7 T).



Ampliações da Figura 65.

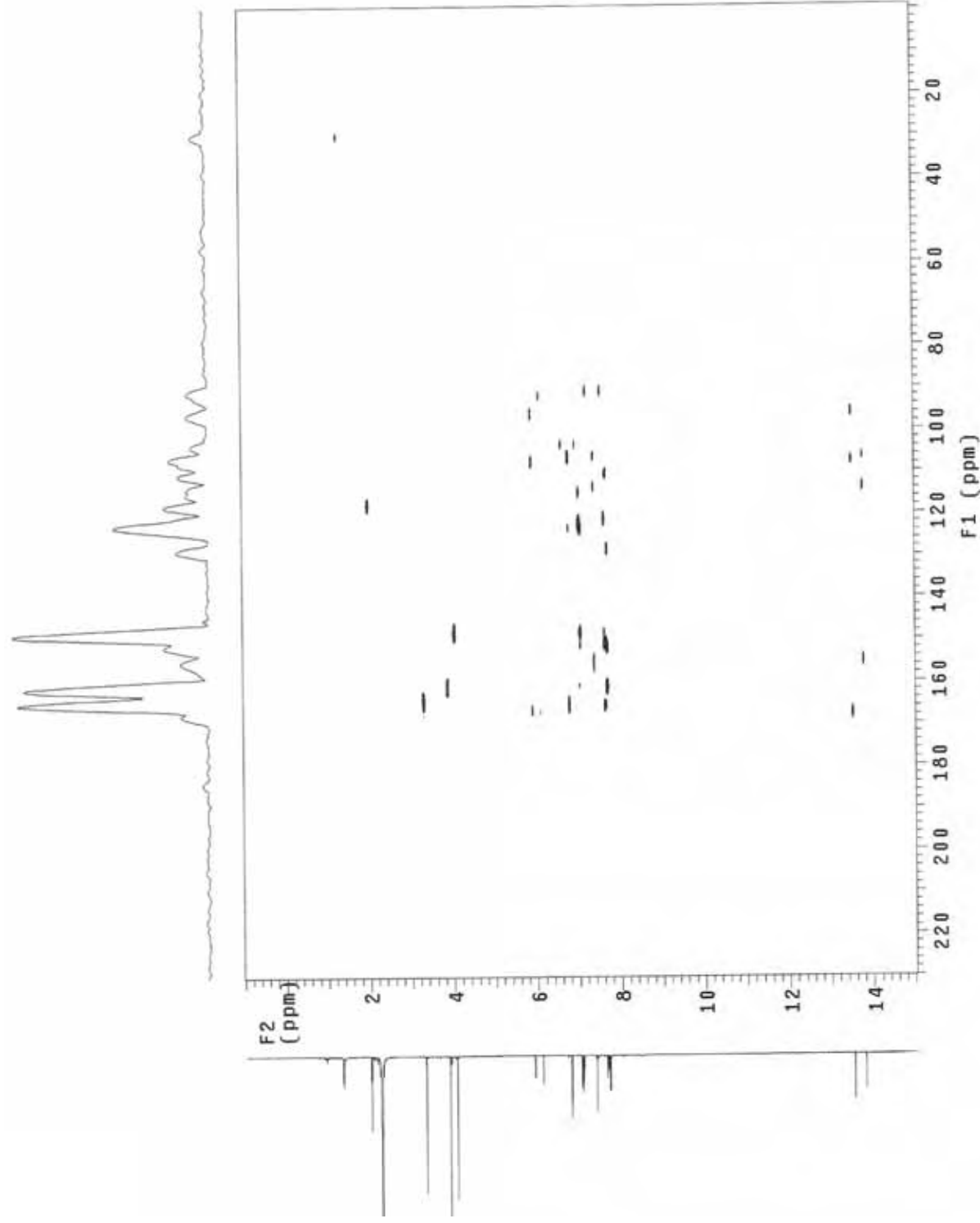
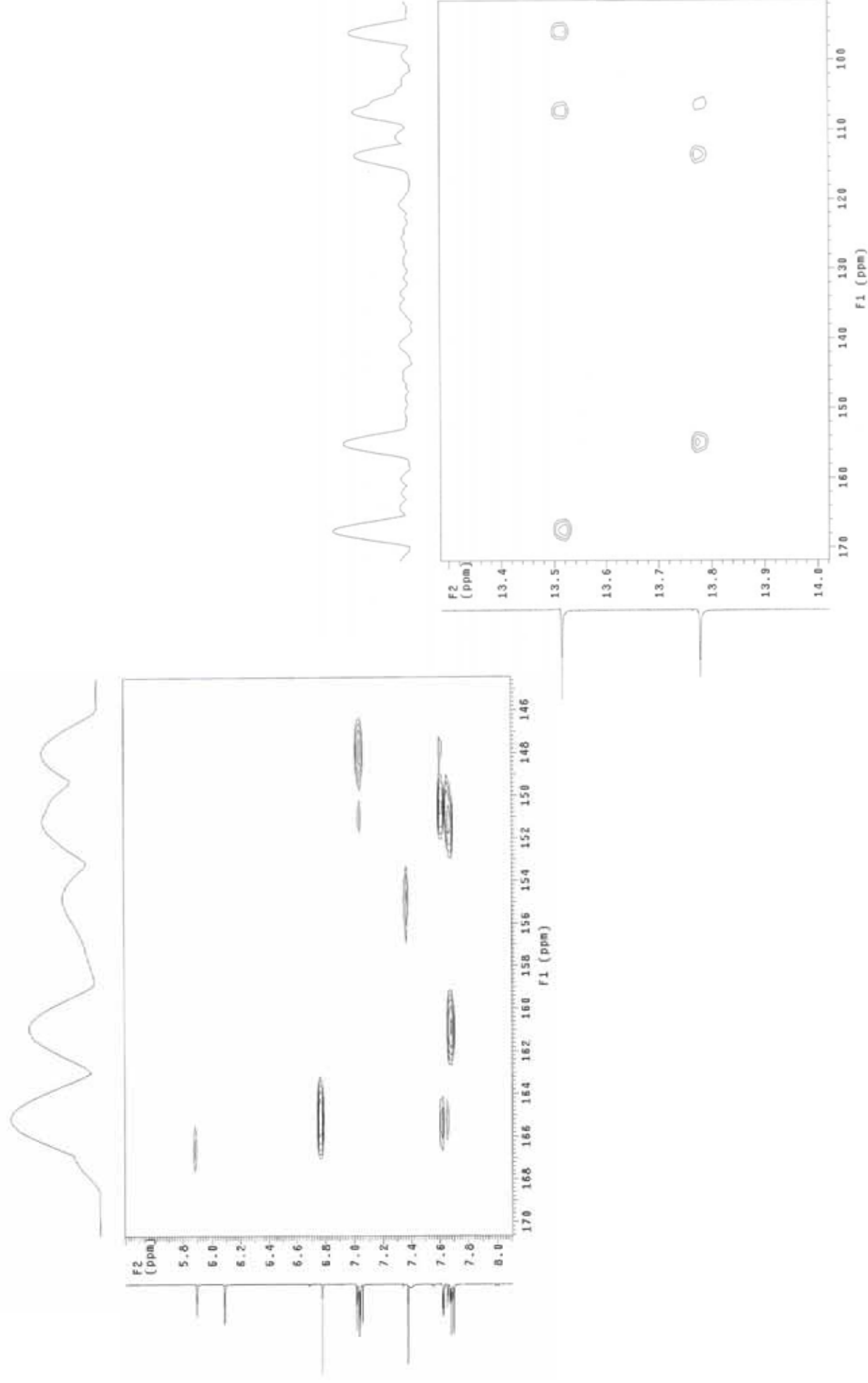


Figura 66. Mapa de contornos gHMBC de **4** (CD_3CN , 11,7 T).



Ampliações da Figura 66.

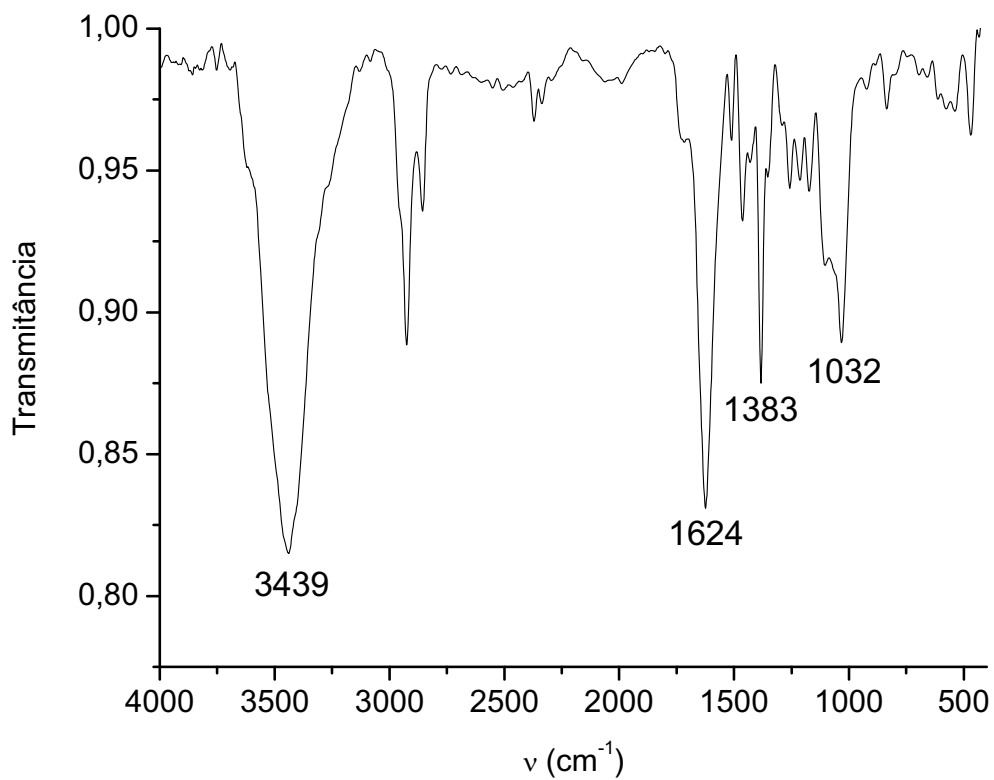


Figura 67. Espectro de absorção na região do IV de **4** (KBr).

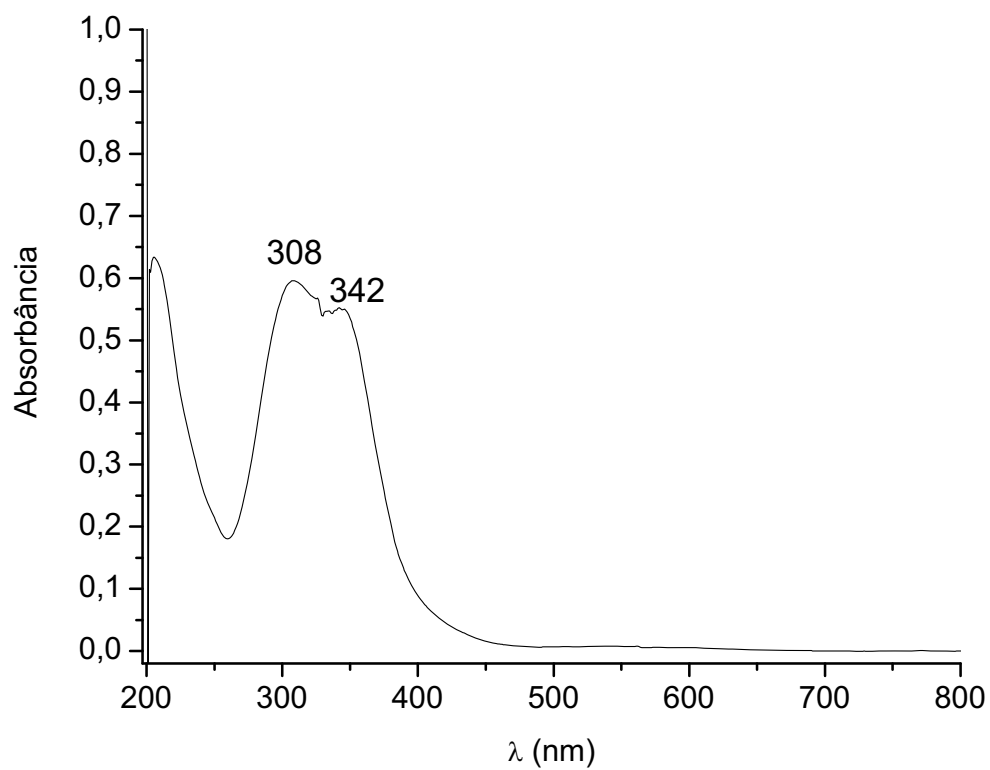


Figura 68. Espectro de absorção na região do UV de **4** (c. 0,010, MeOH).

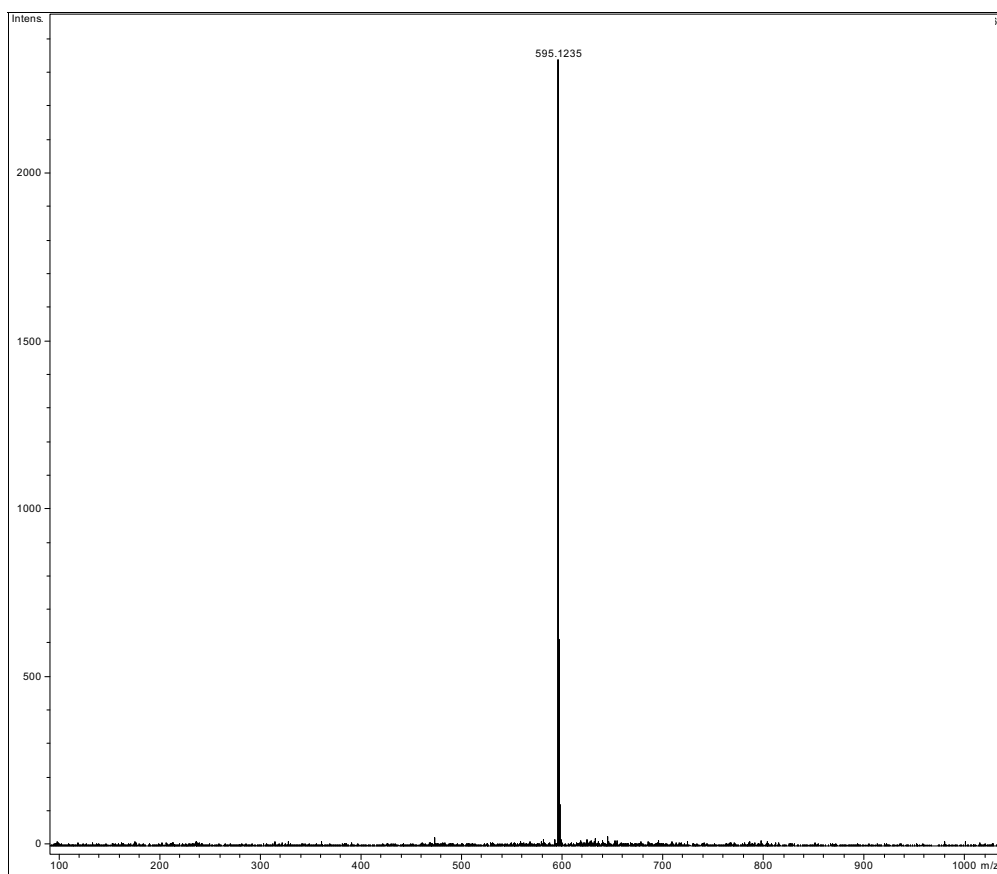


Figura 69. Espectro de massas de alta resolução de **4** (ESI, "full scan", -25 V).

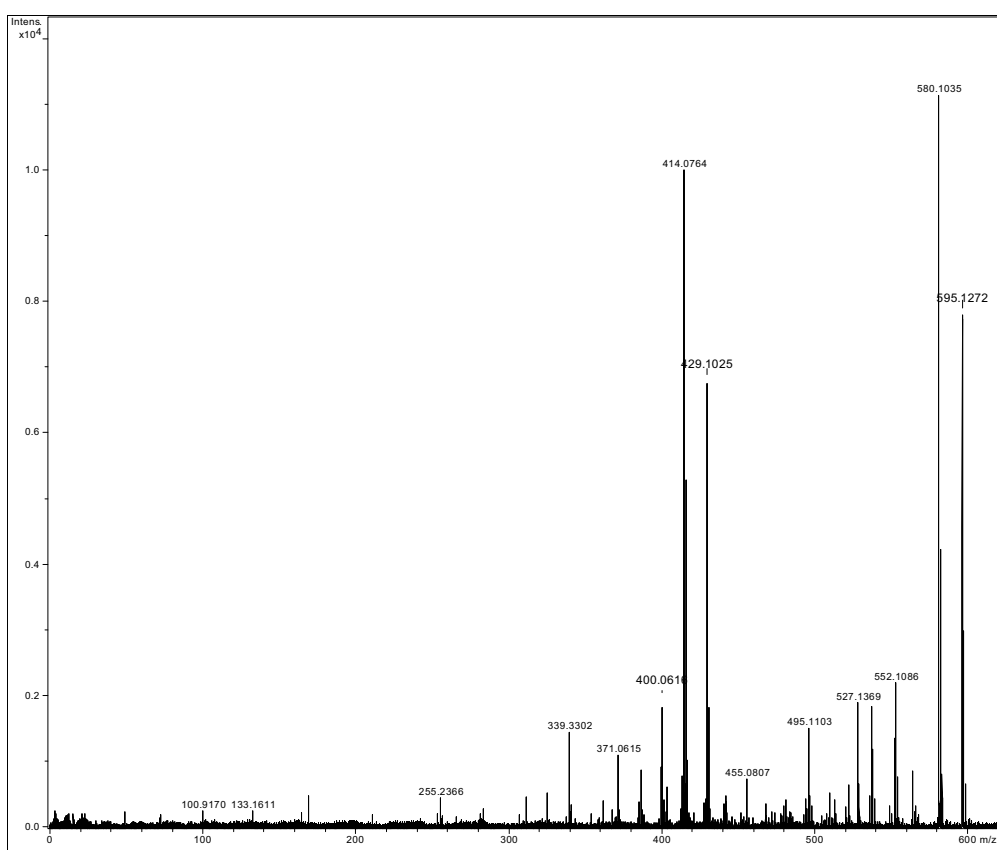


Figura 70. Espectro de massas-massas de **4** a partir dos íons de m/z 595,13 (ESI, "full scan", EM1: -25 V, EM2: -50 V).

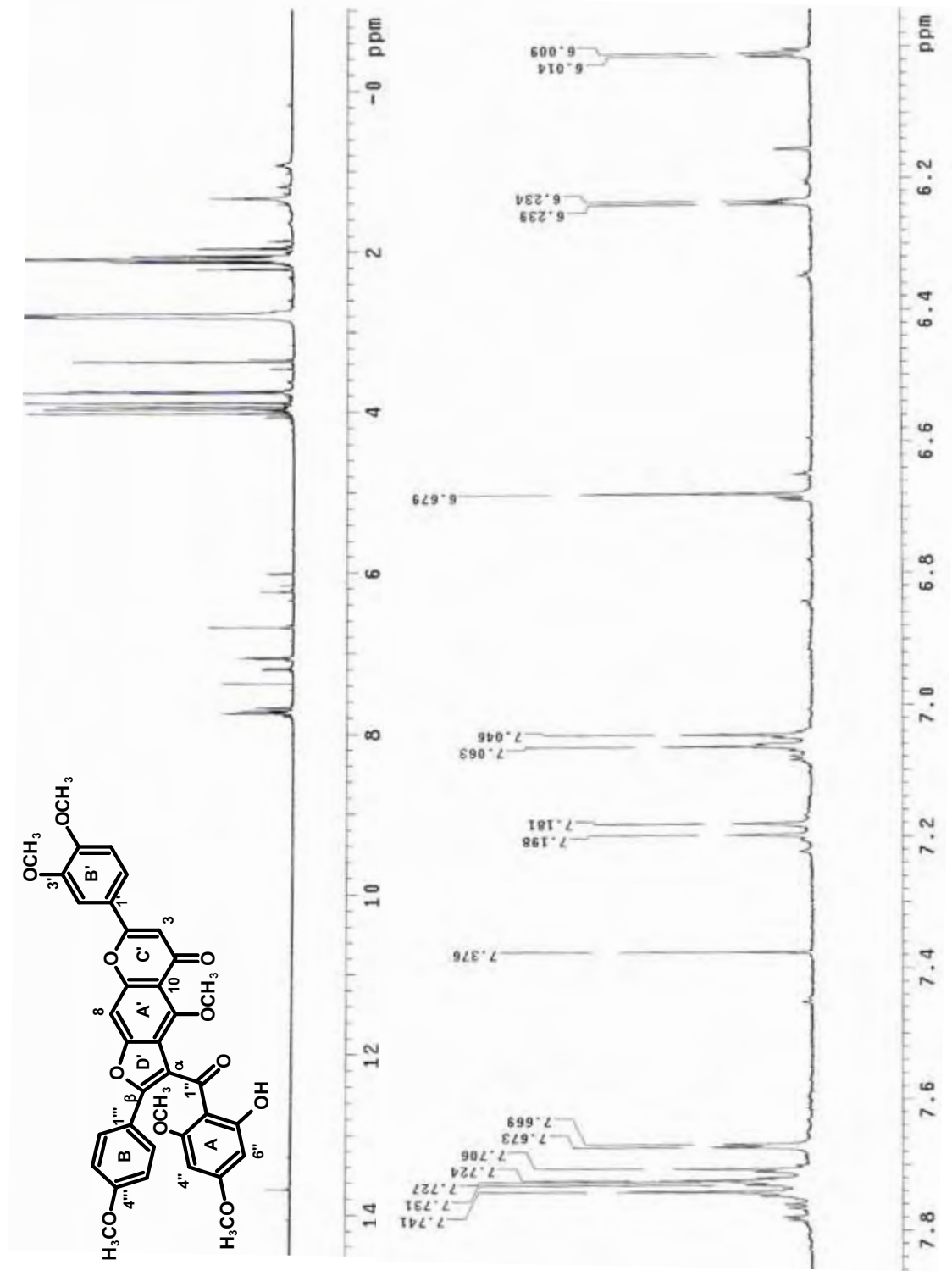


Figura 71. Espectro de RMN de ^1H de **4a** com ampliação $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).

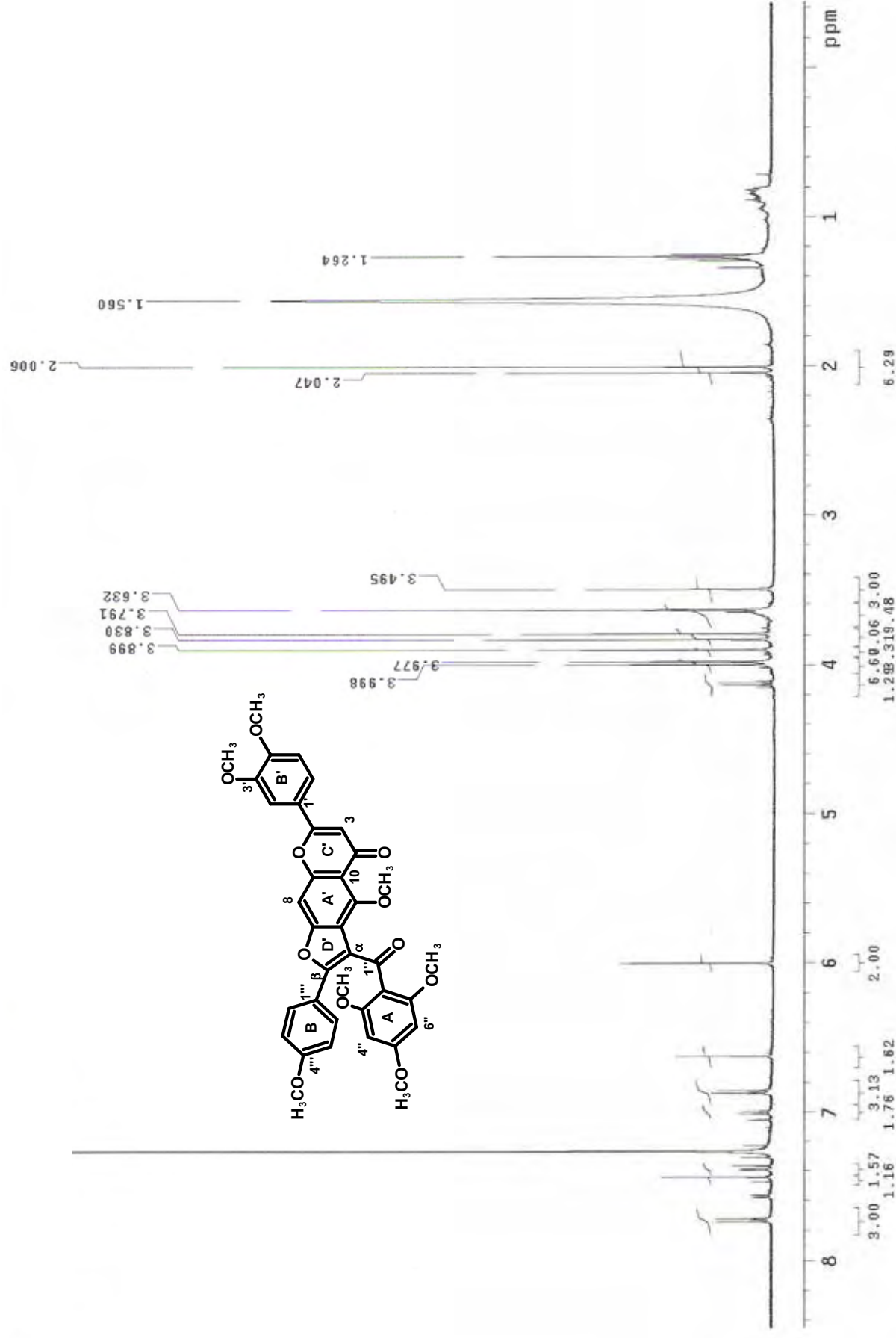
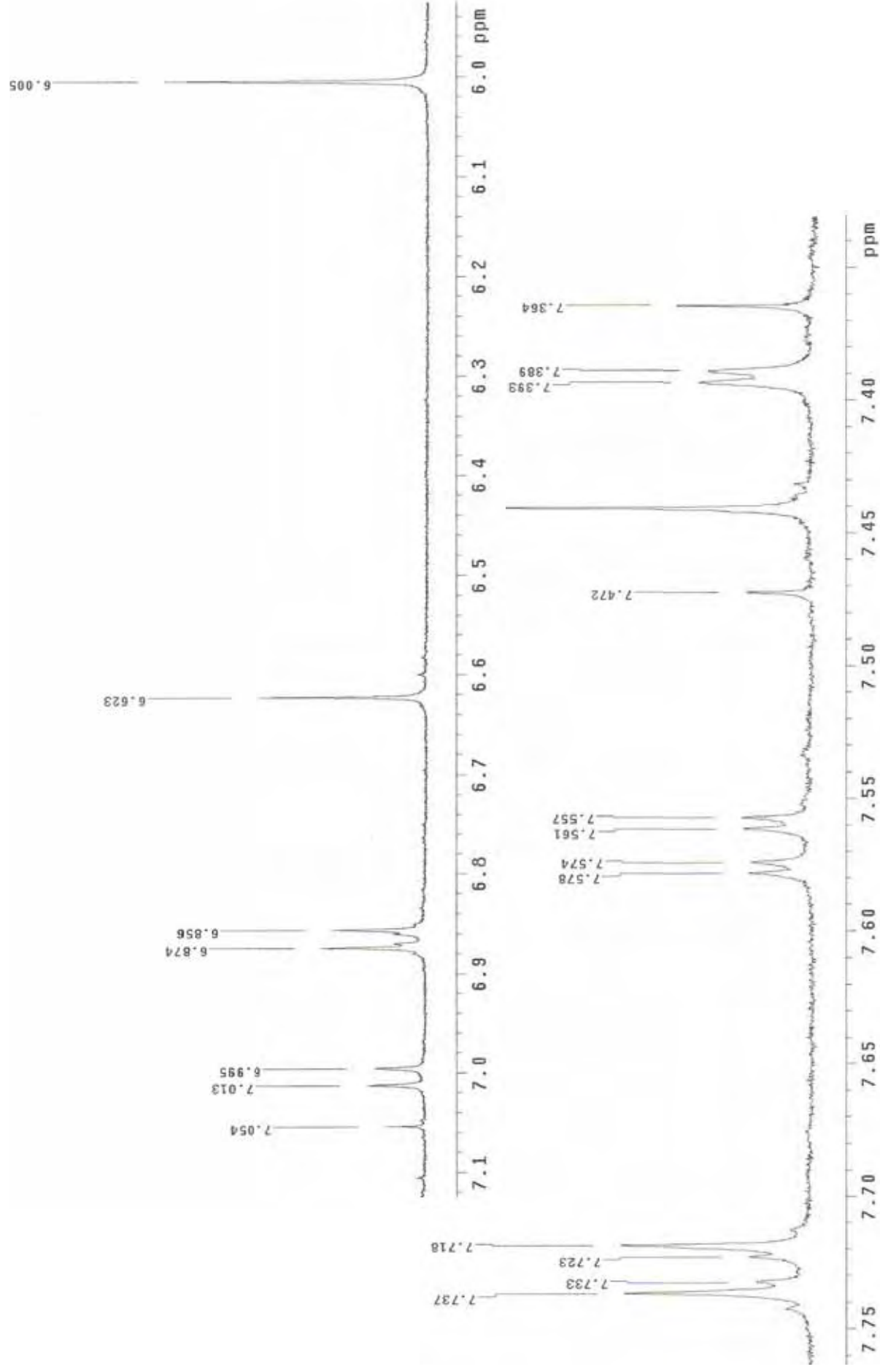


Figura 72. Espectro de RMN de ¹H de **4b** (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 72.

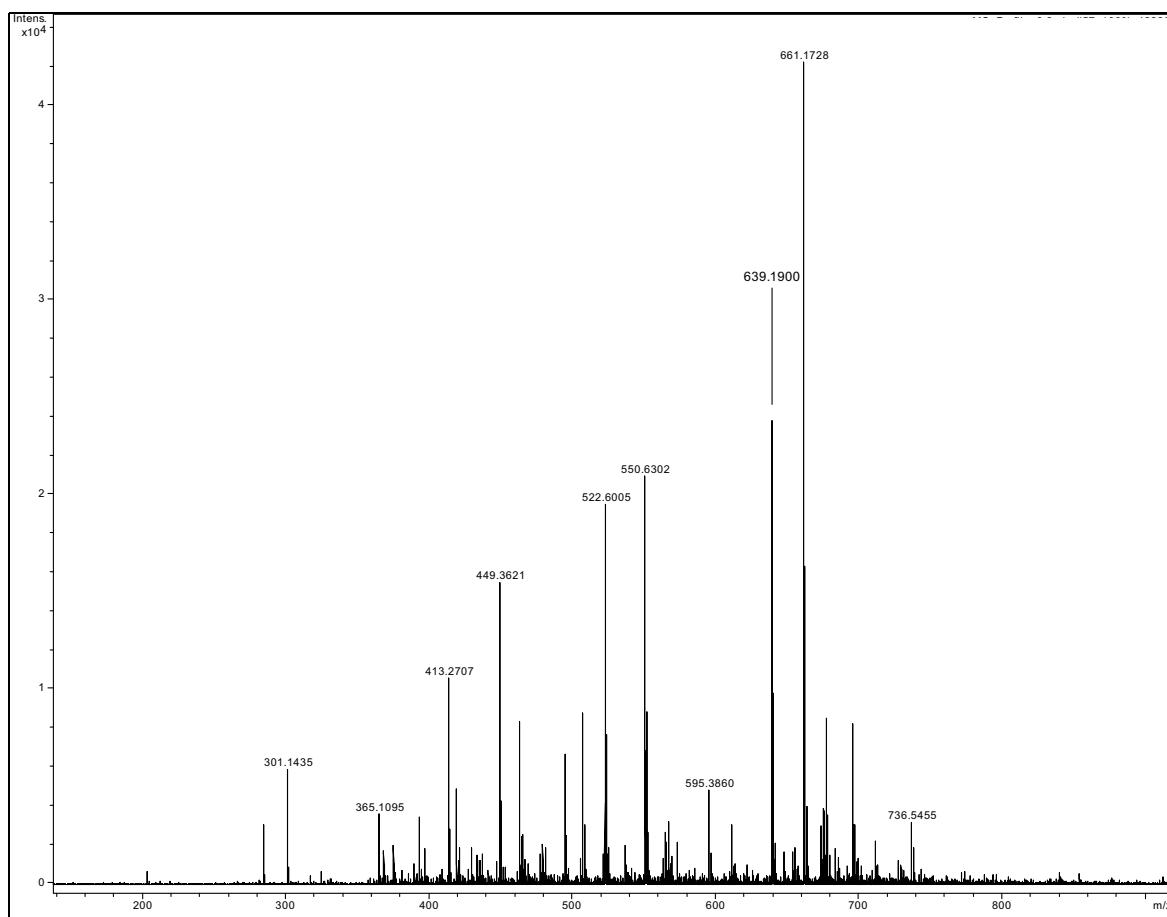


Figura 73. Espectro de massas de alta resolução de **4a** (ESI, "full scan", +25 V).

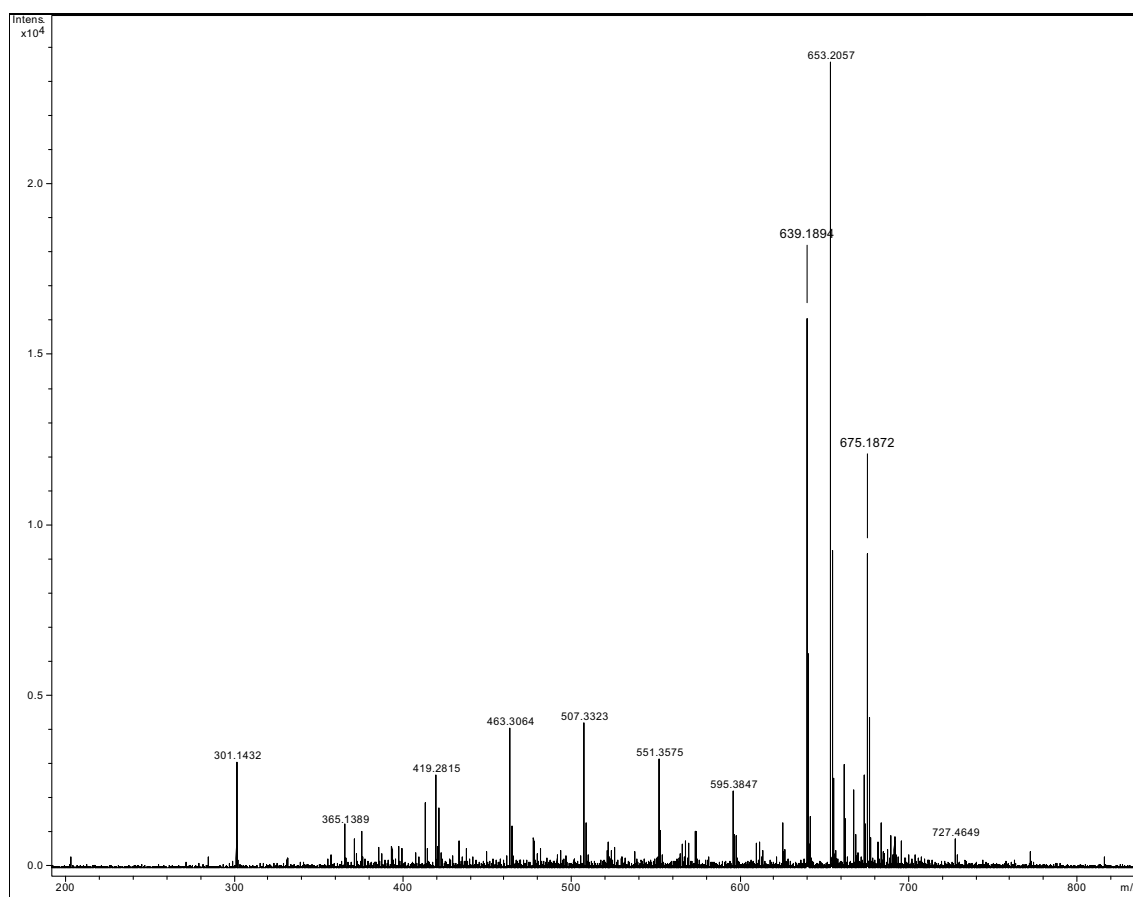


Figura 74. Espectro de massas de alta resolução de **4b** (ESI, "full scan", +25 V).

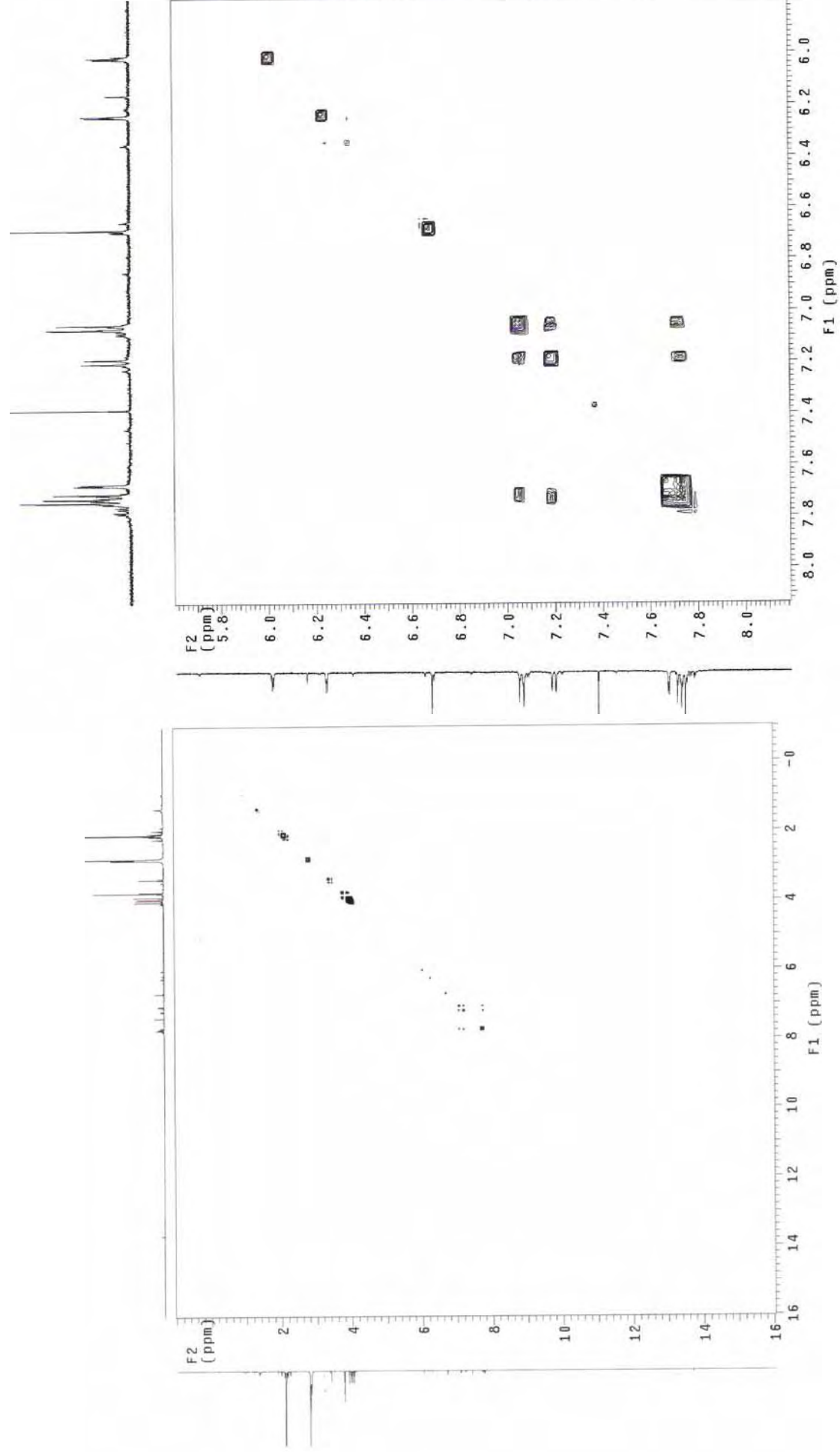


Figura 75. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **4a** com ampliação $((\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).

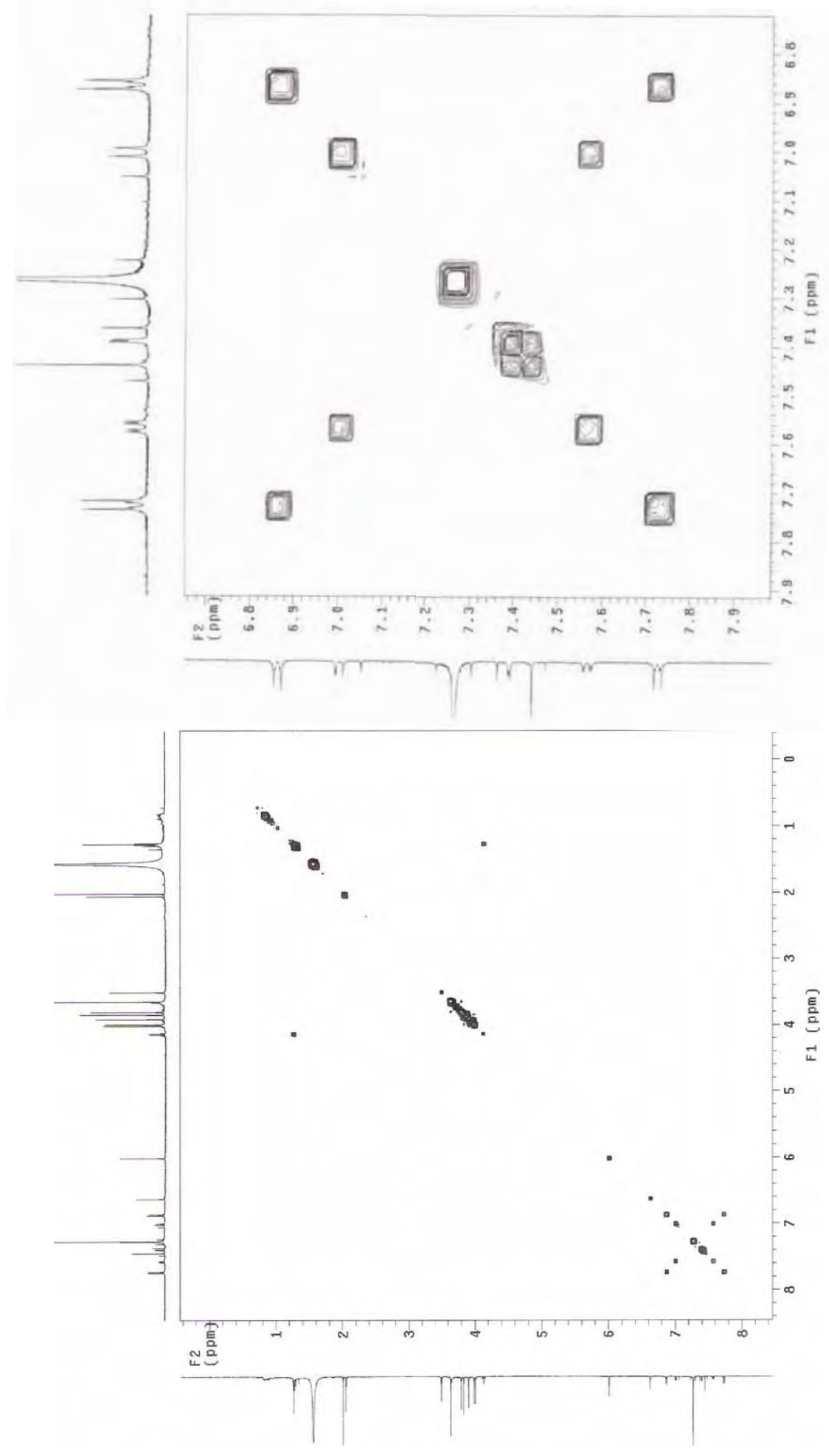


Figura 76. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **4b** com ampliação (CDCl_3 , 11,7 T).

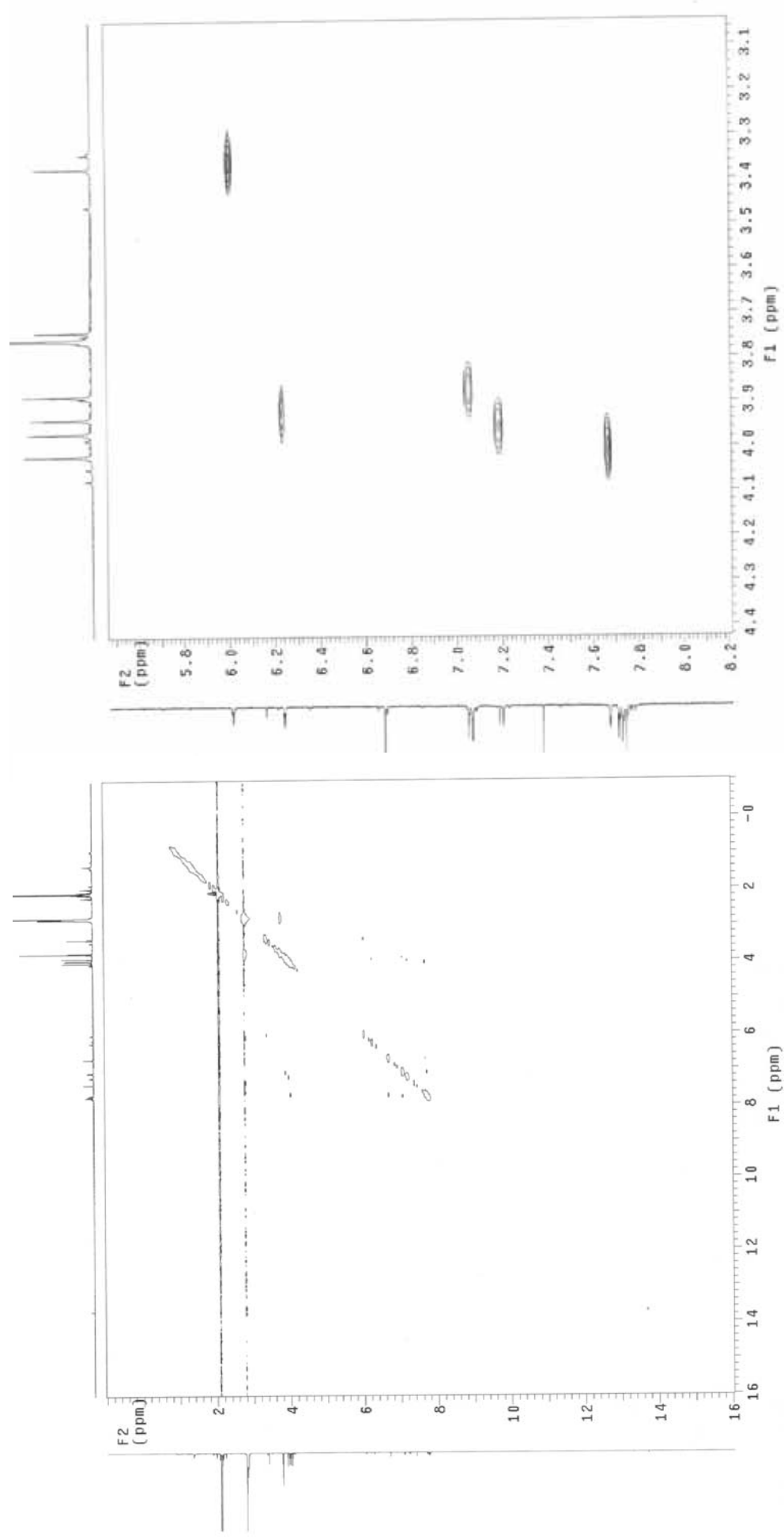


Figura 77. Espectro gNOESY 2D de **4a** com ampliação ((CD₃)₂CO, 11,7 T).

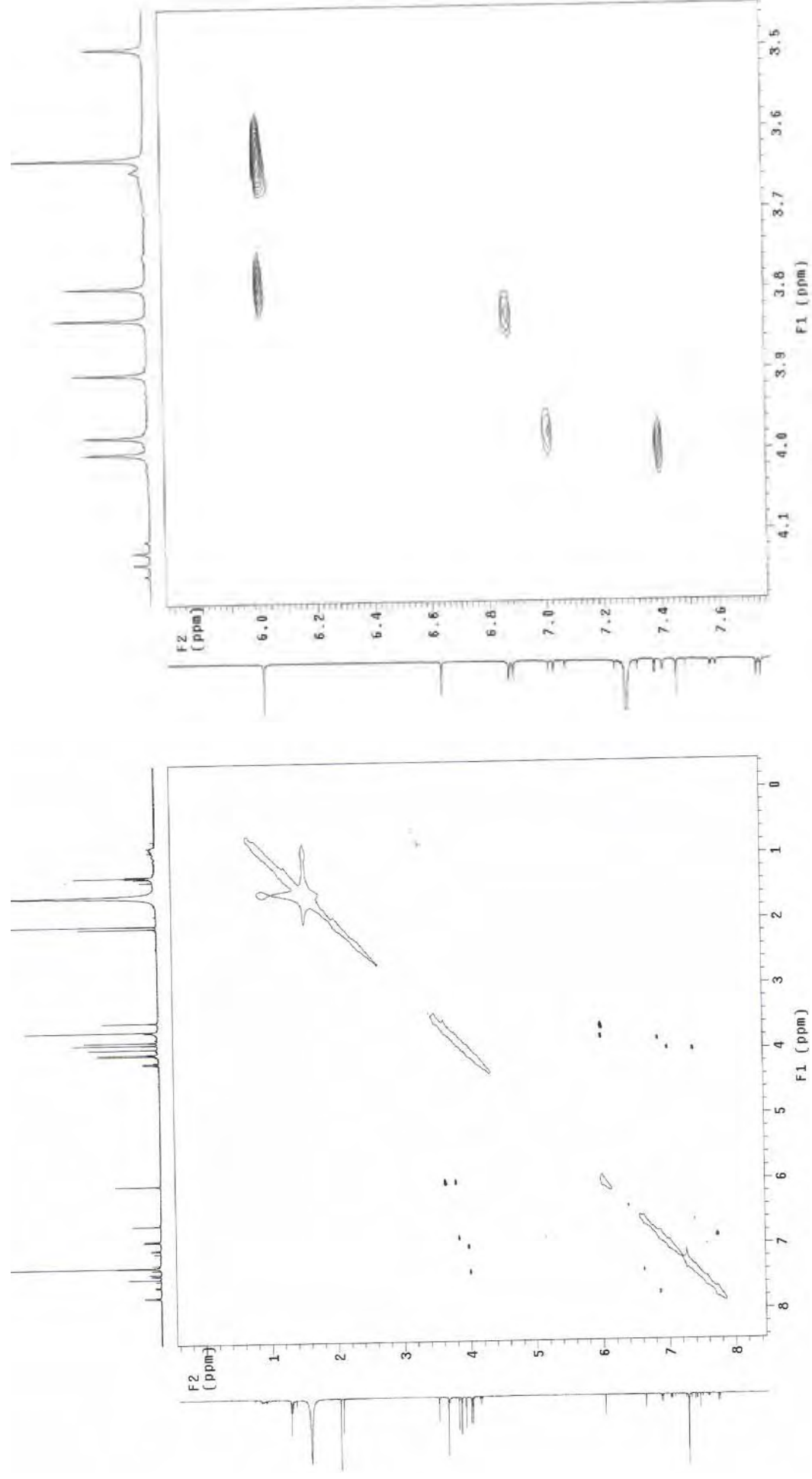


Figura 78. Espectro gNOESY 2D de **4b** com ampliação (CDCl₃, 11,7 T).

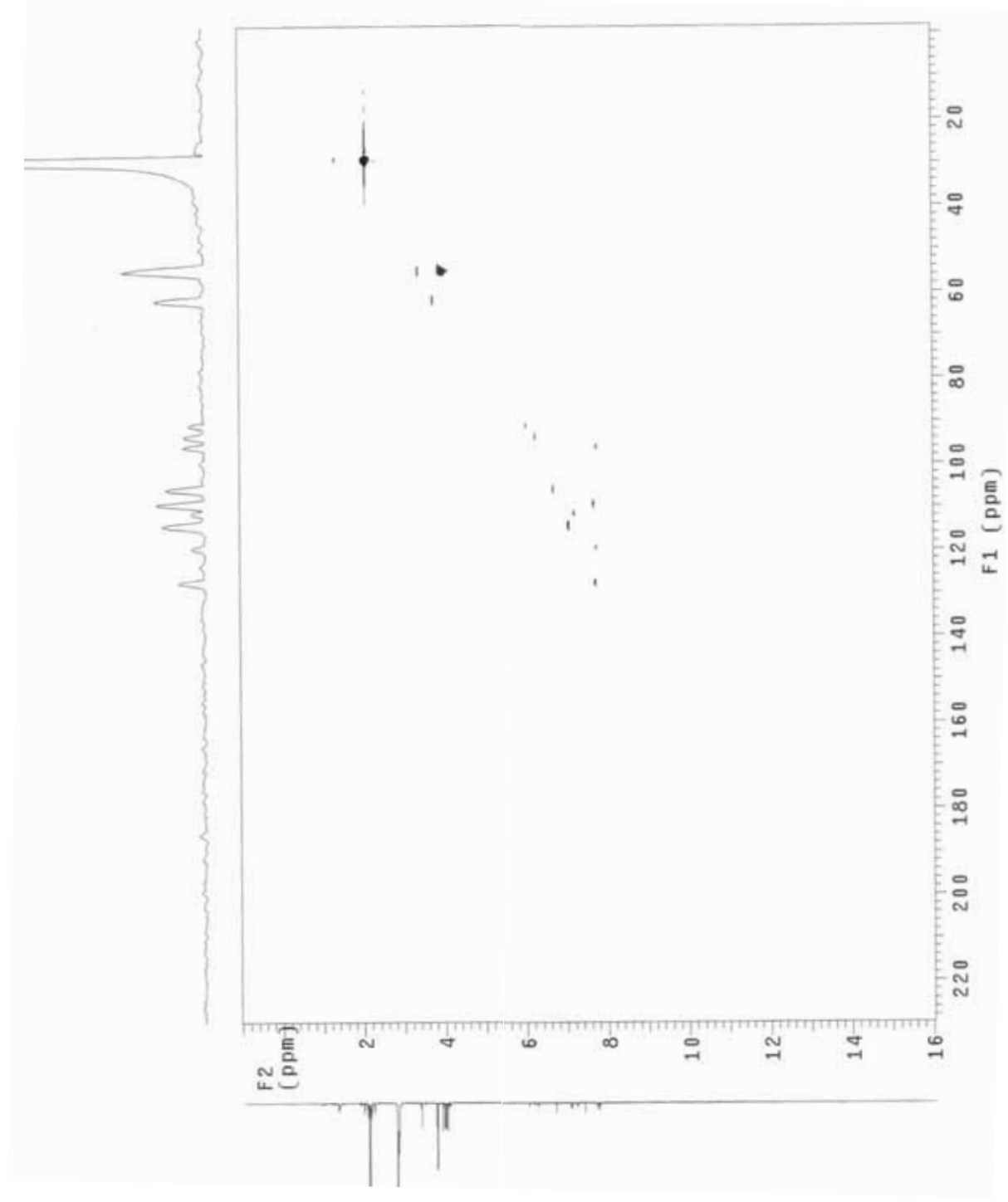
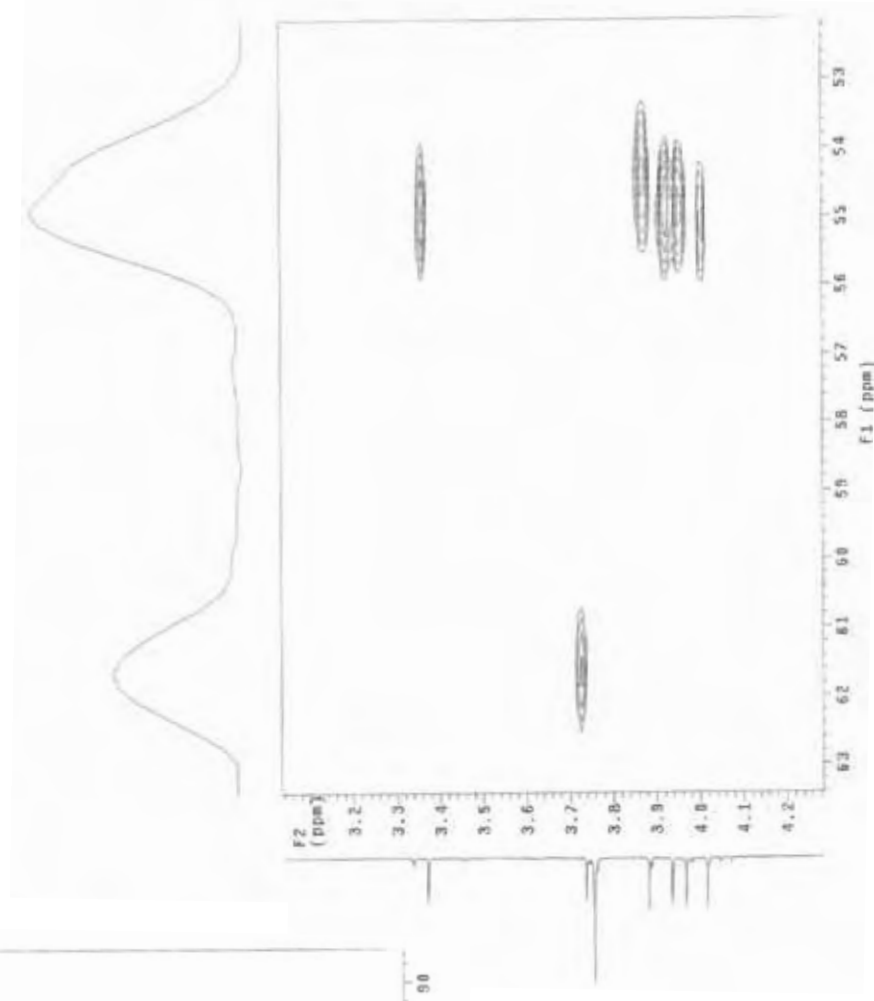
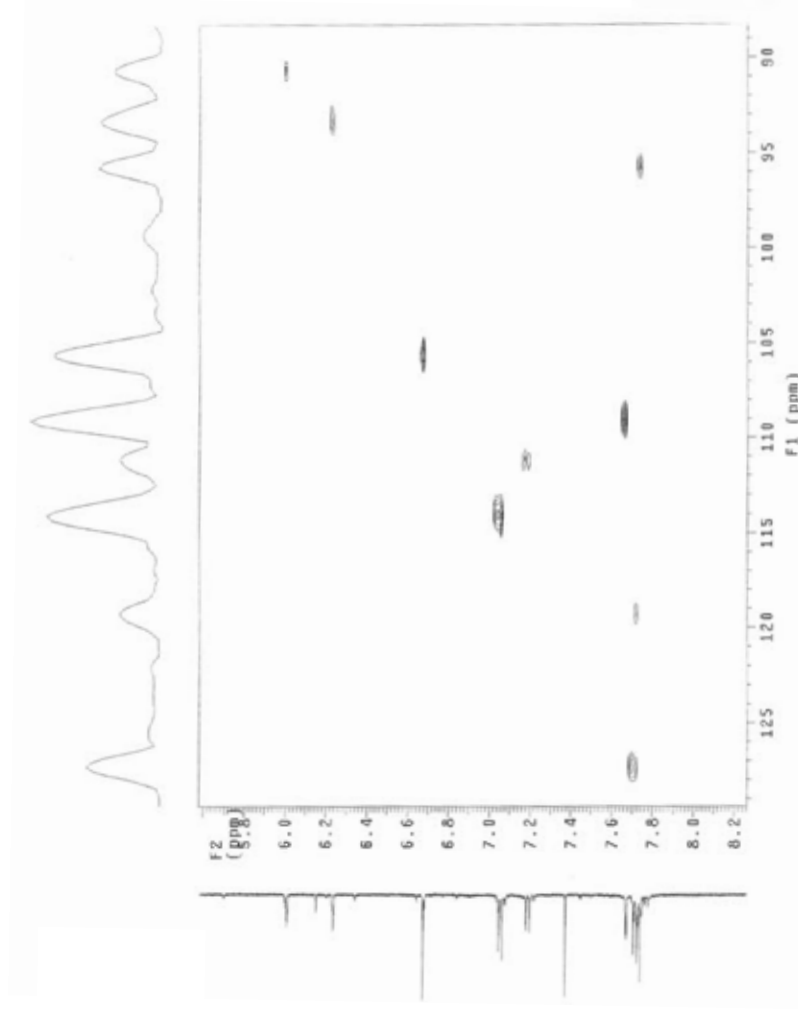


Figura 79. Mapa de contornos gHMQC de **4a** $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).



Ampliações da Figura 79.

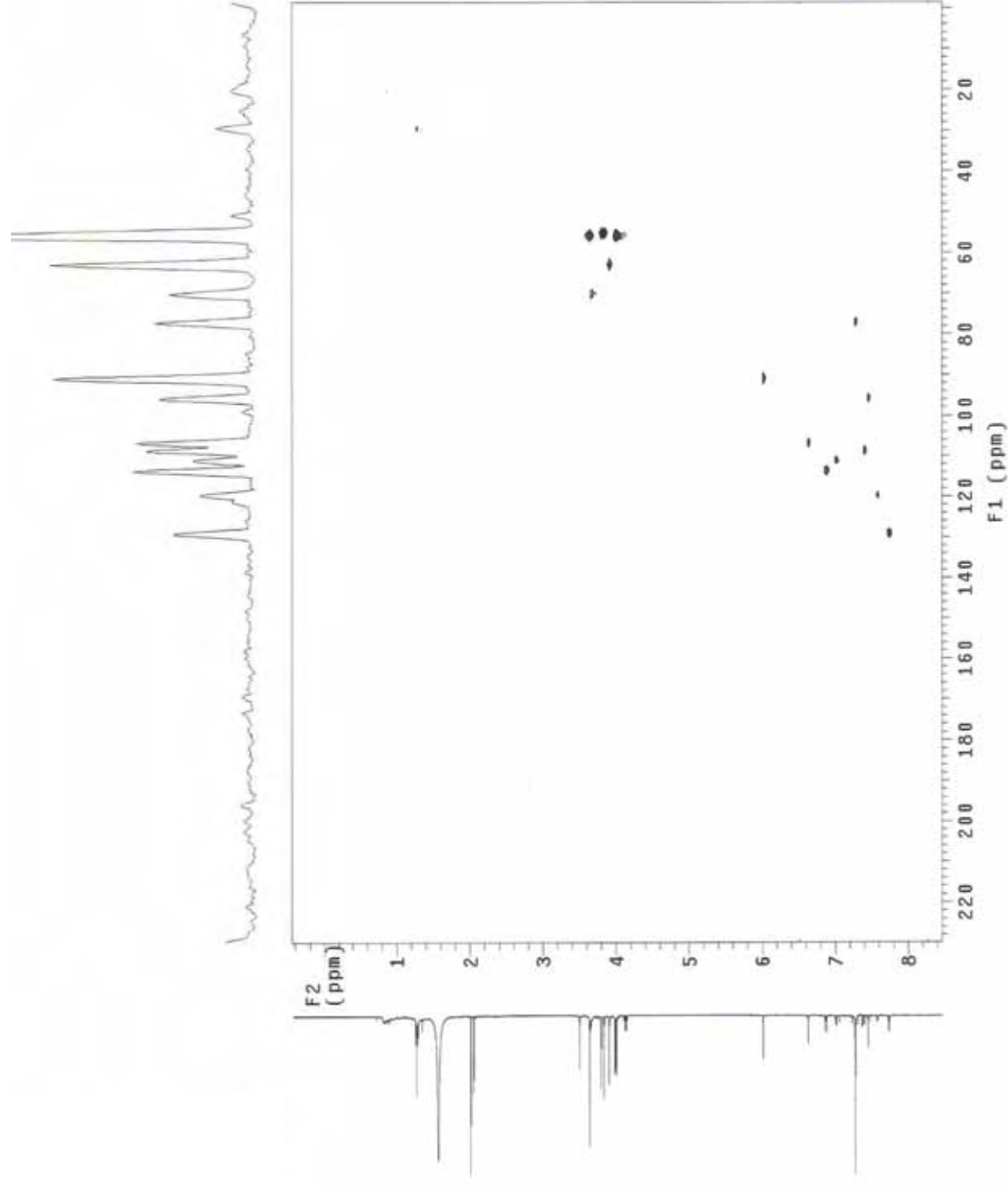
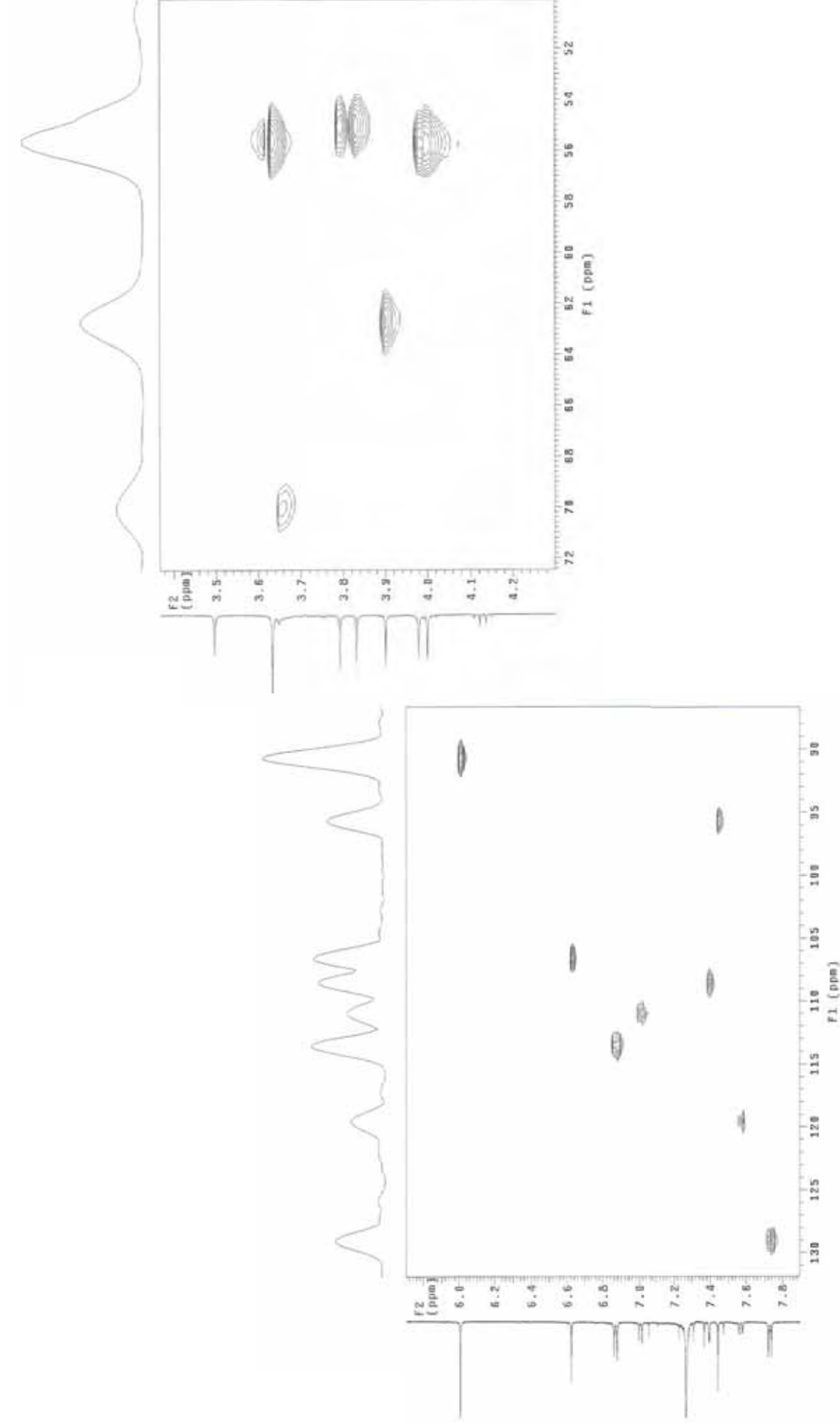


Figura 80. Mapa de contornos gHMBC de **4b** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 80.

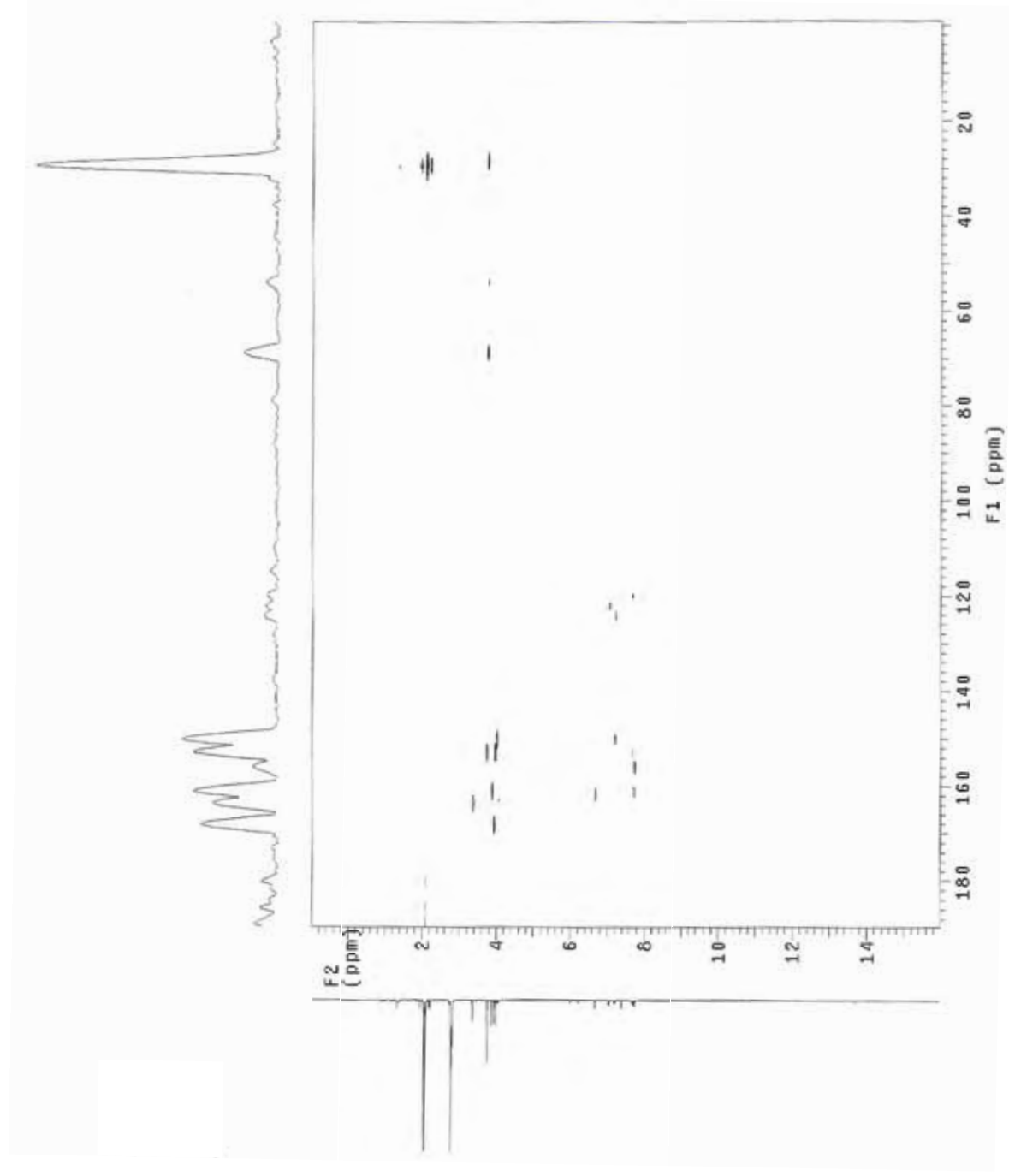
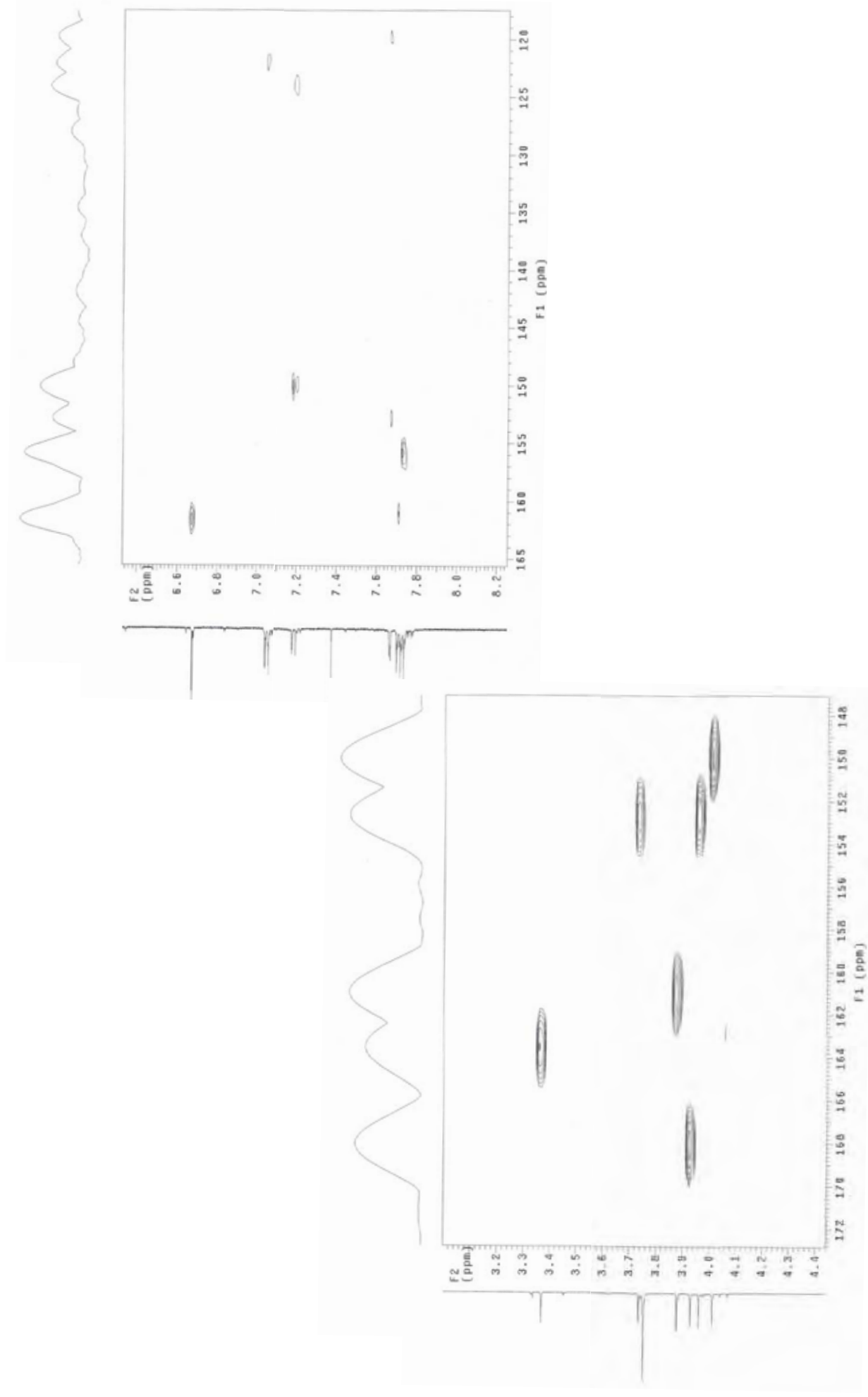


Figura 81. Mapa de contornos gHMBC de **4a** $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 11,7 T).



Ampliações da Figura 81.

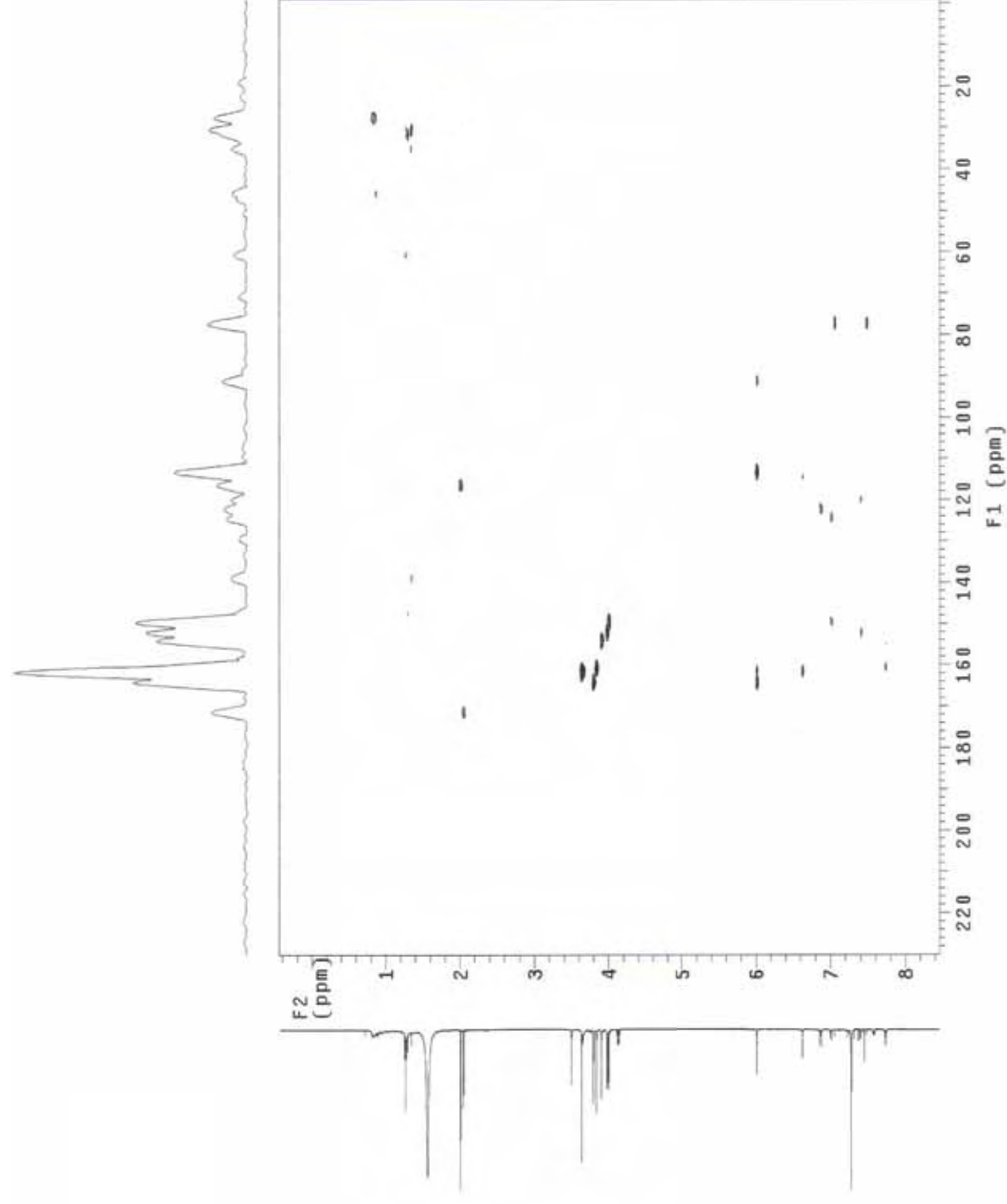
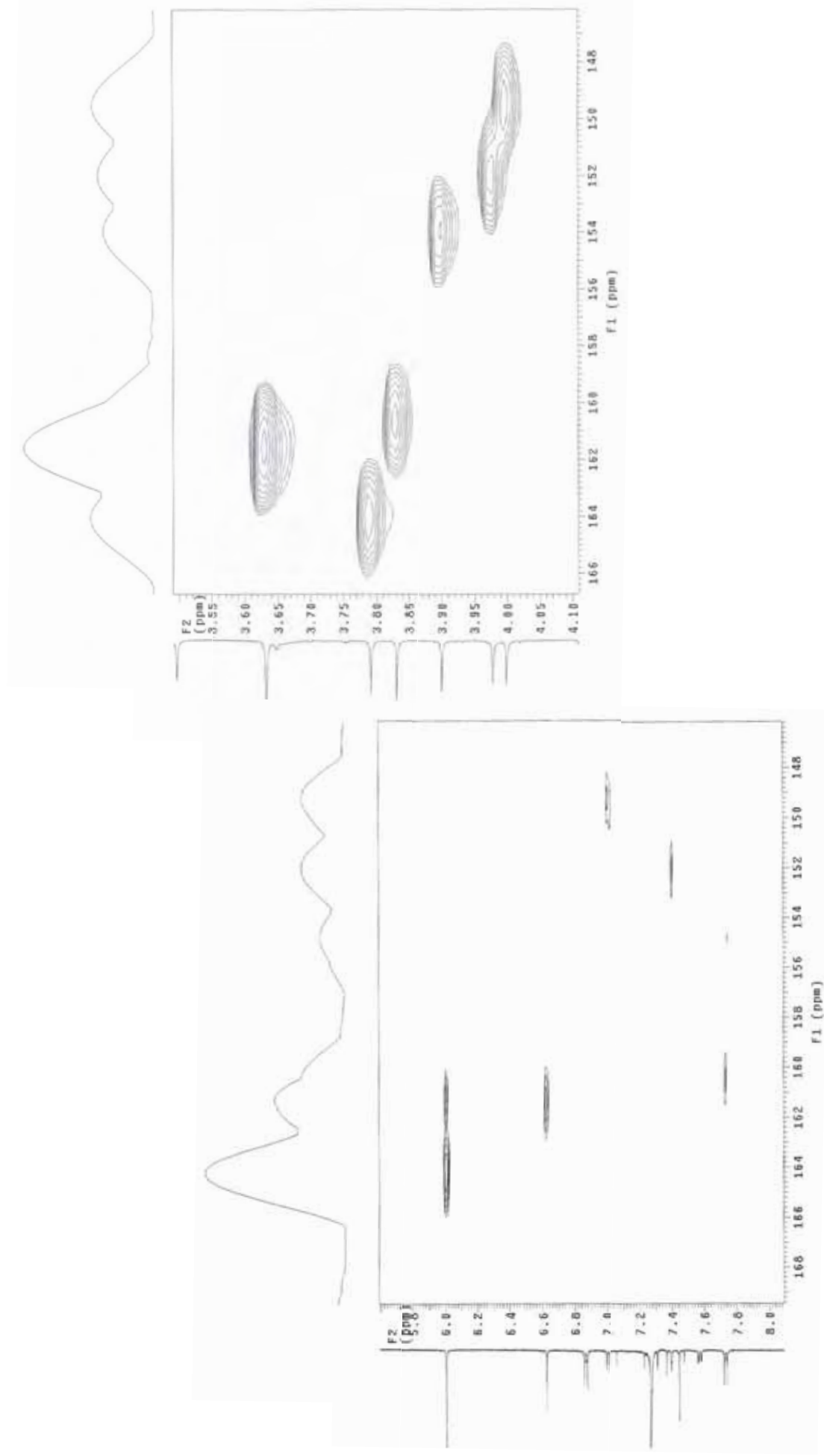


Figura 82. Mapa de contornos gHMBC de **4b** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 82.

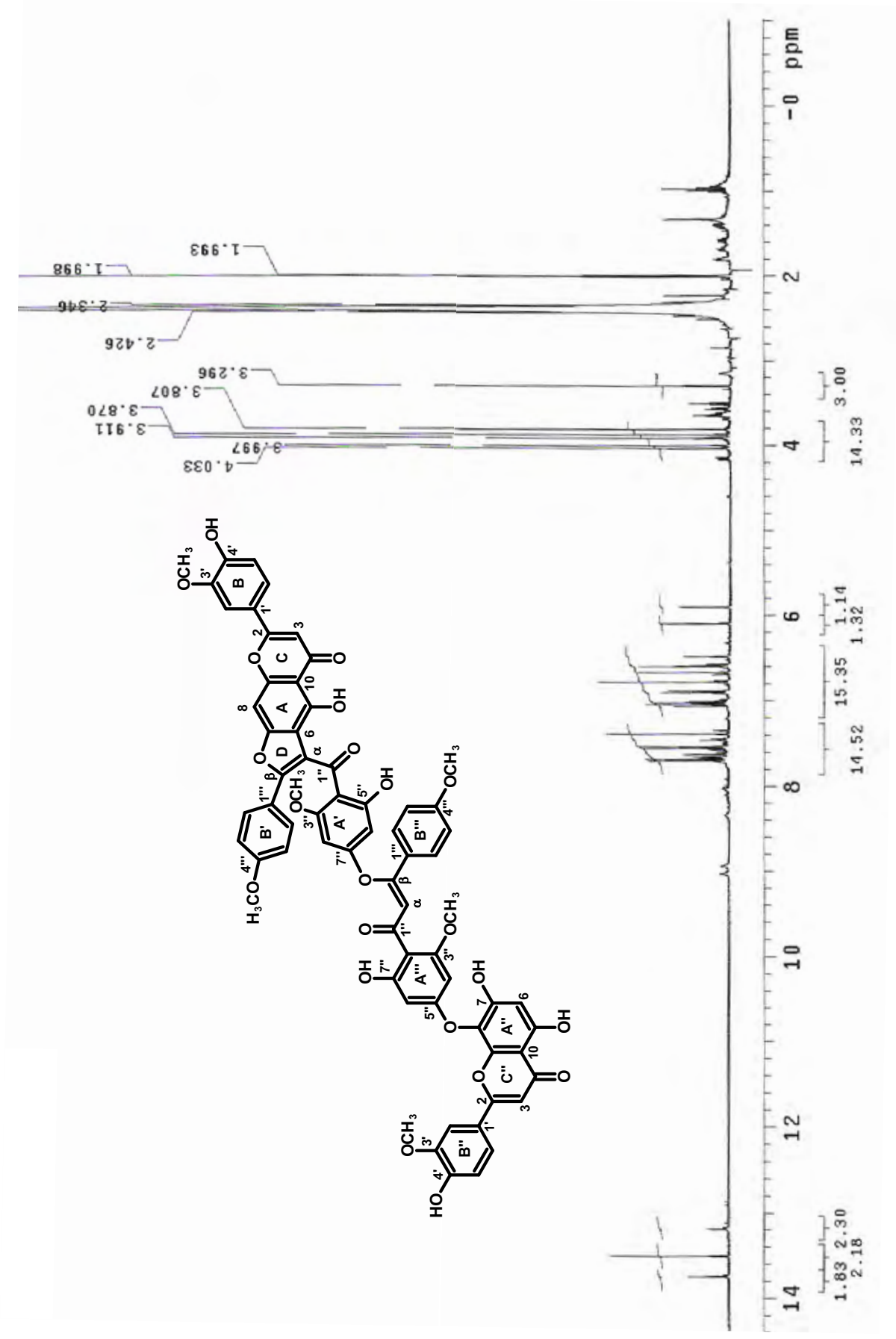
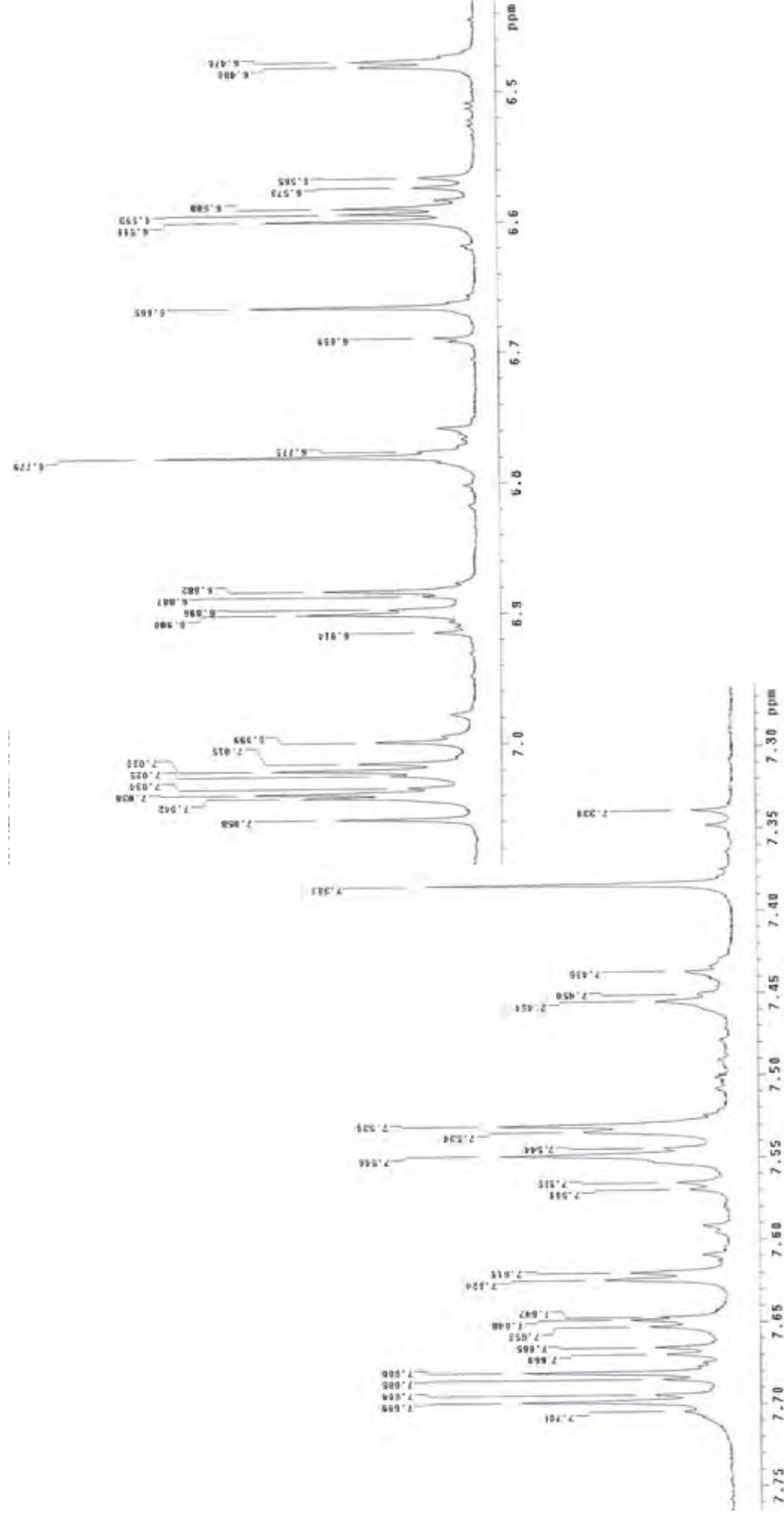


Figura 83. Espectro de RMN de ^1H de **5** (CD_3CN , 11,7 T).



Ampliações da Figura 83.

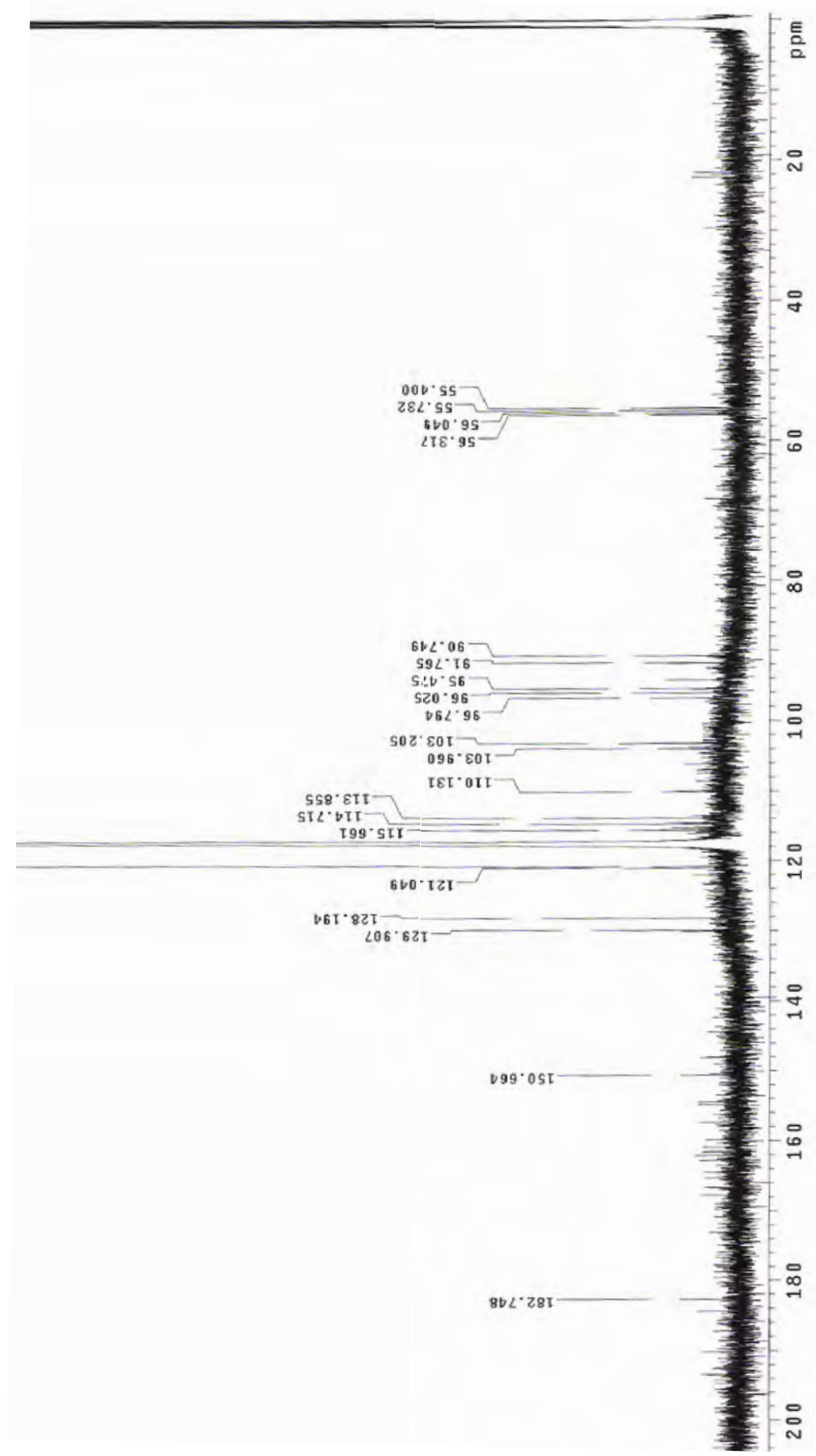
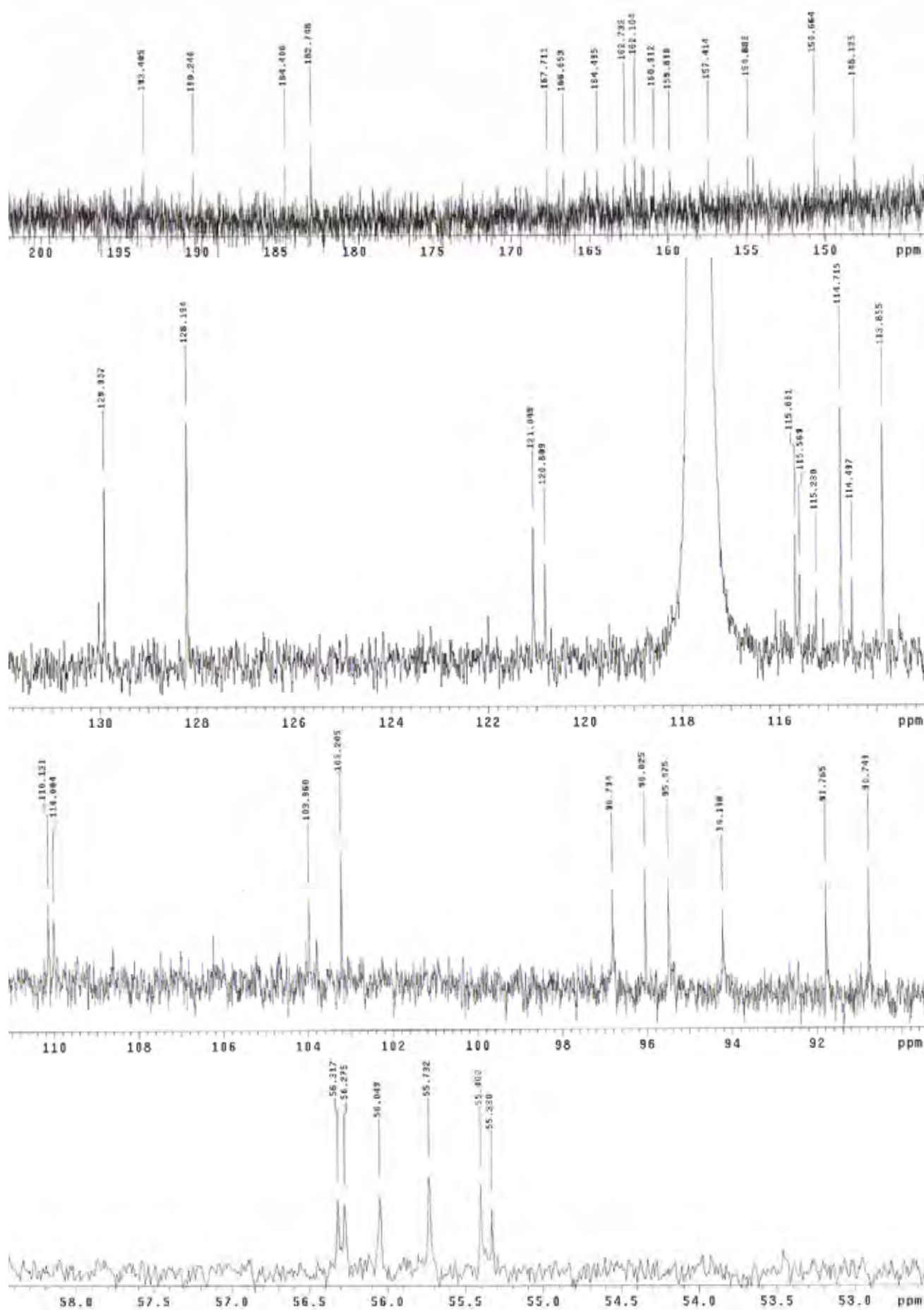


Figura 84. Espectro de RMN de ¹³C de **5** (CD₃CN, 11,7 T).



Ampliações da Figura 84.

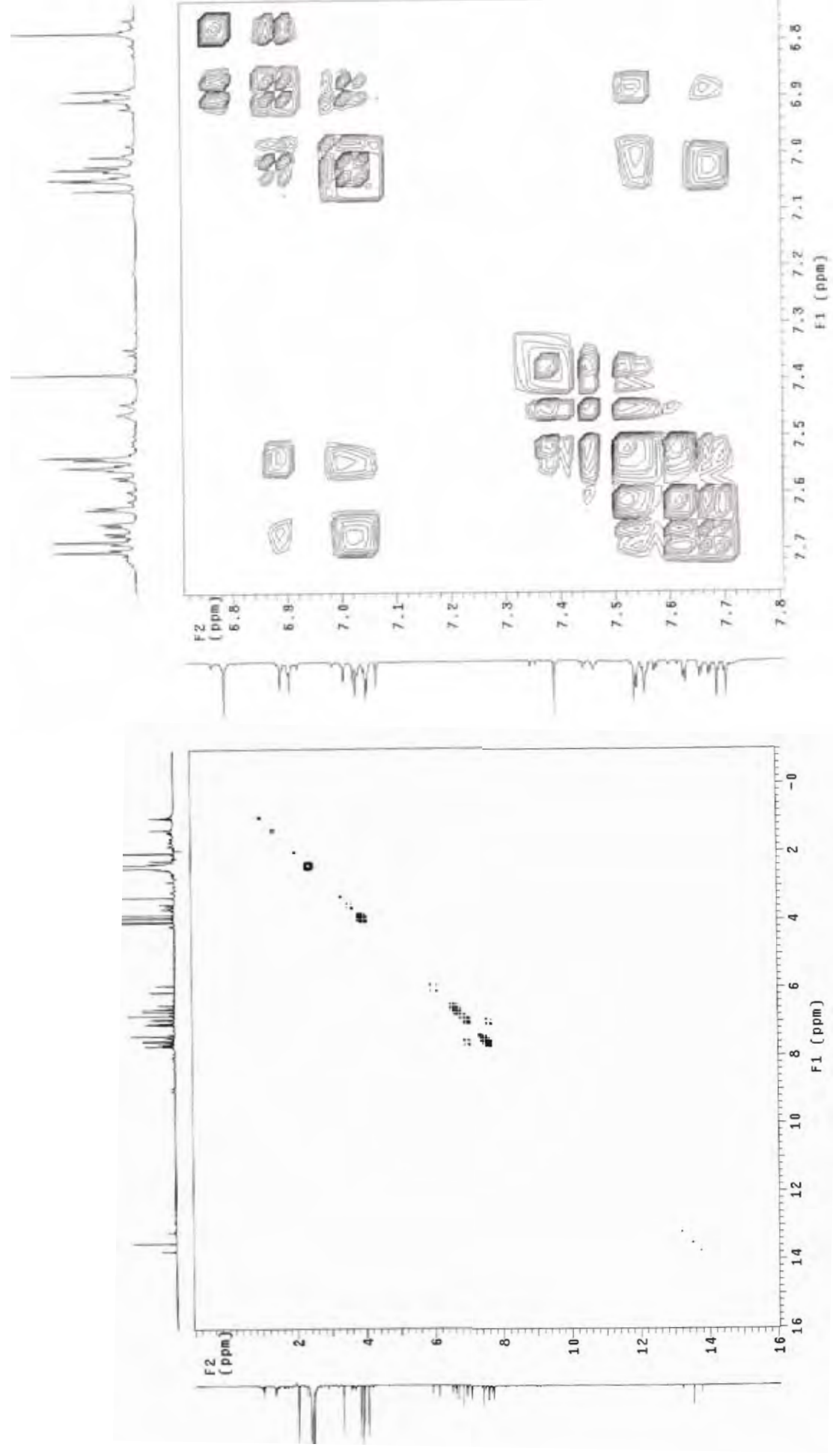


Figura 85. Espectro $g\text{COSY } ^1\text{H}-^1\text{H}$ de **5** com ampliação (CD_3CN , 11,7 T).

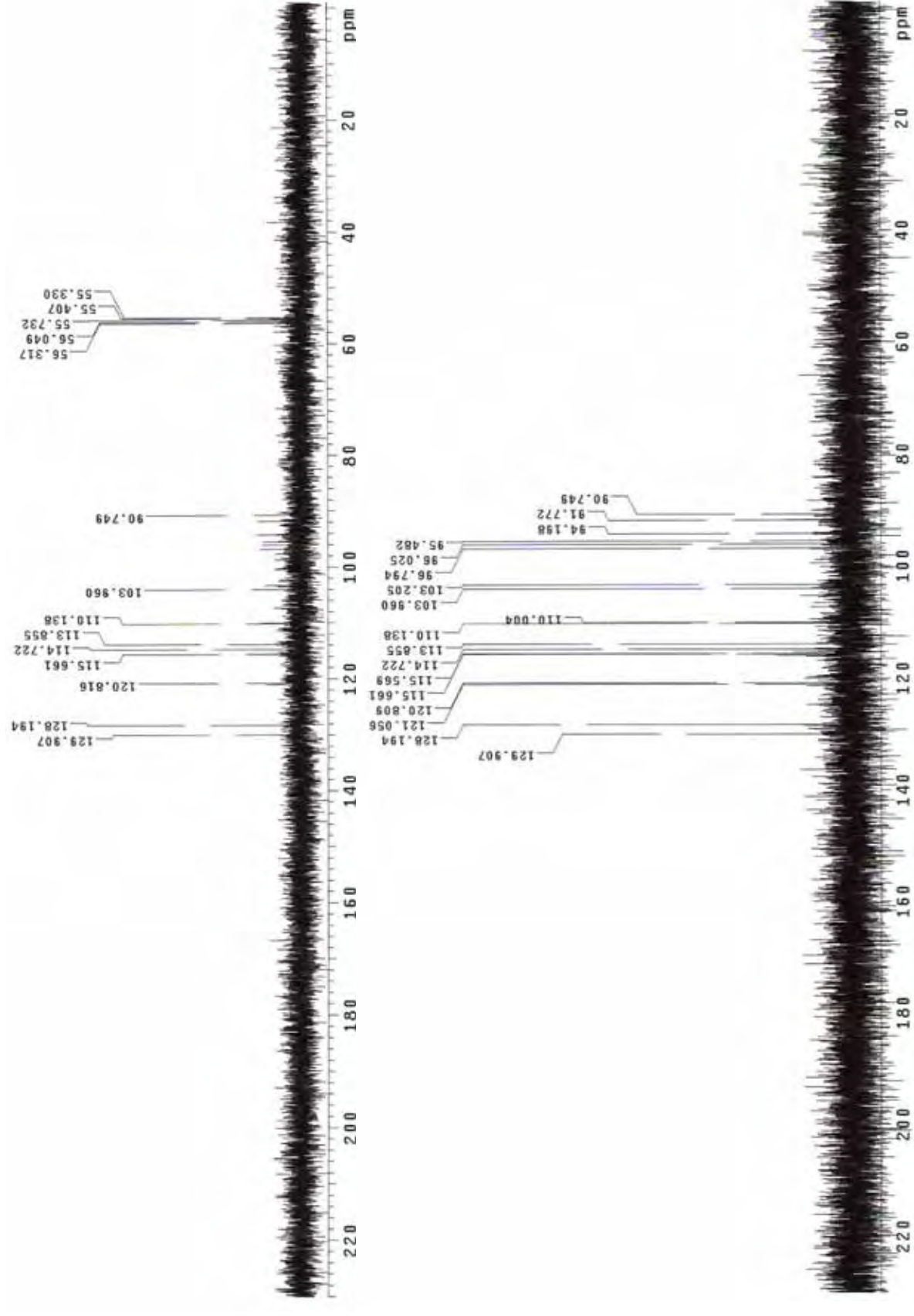


Figura 86. Espectros DEPT 135° e 90° de **5** (CD_3CN , 11,7 T).

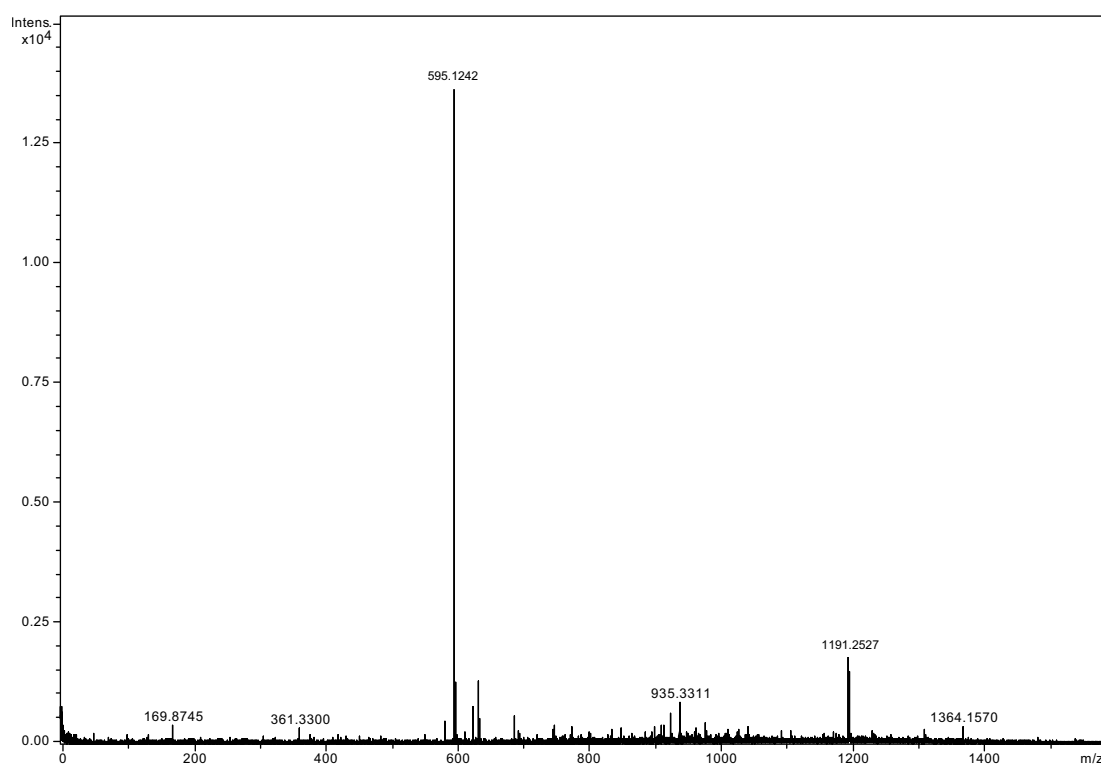


Figura 87. Espectro de massas de alta resolução de **5** (ESI, -25 V).

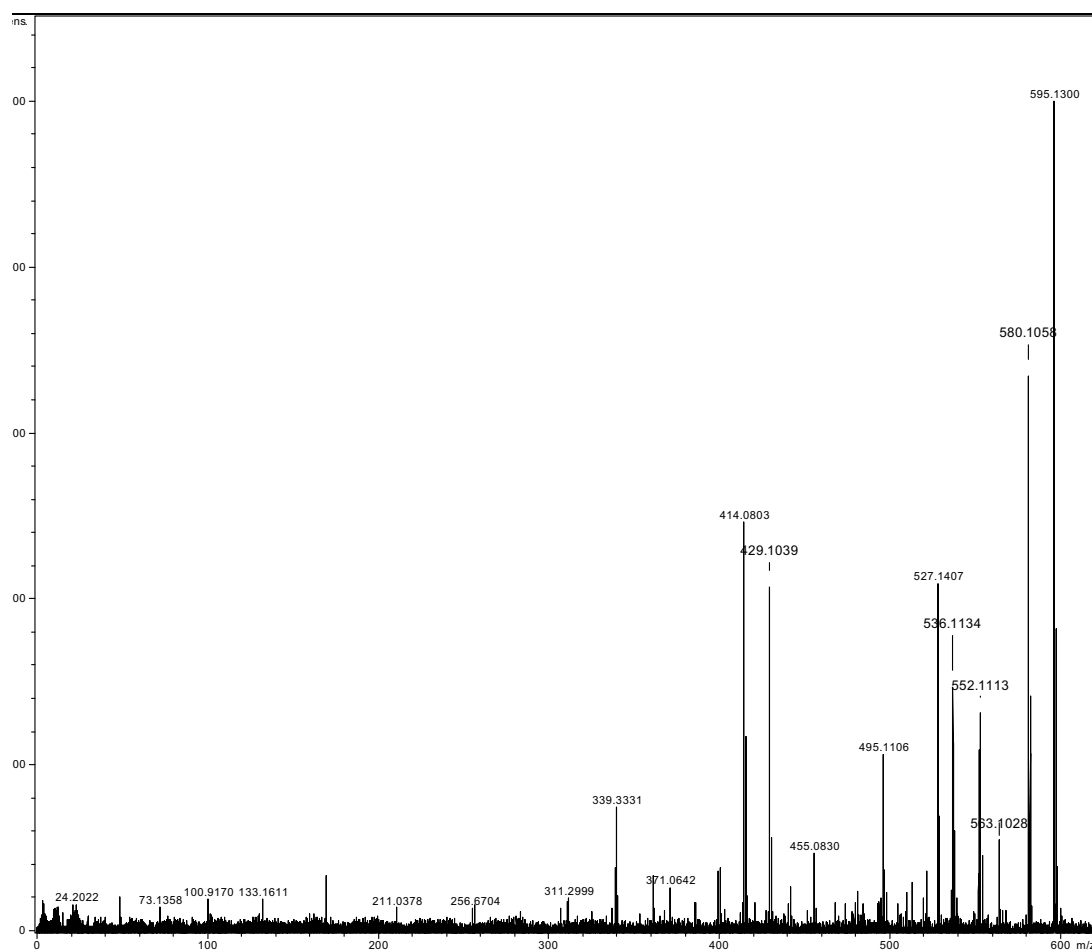


Figura 88. Espectro de massas-massas de **5** a partir de íons de m/z 595,13 (ESI, "full scan", EM1: -25 V, EM2: -50 V).

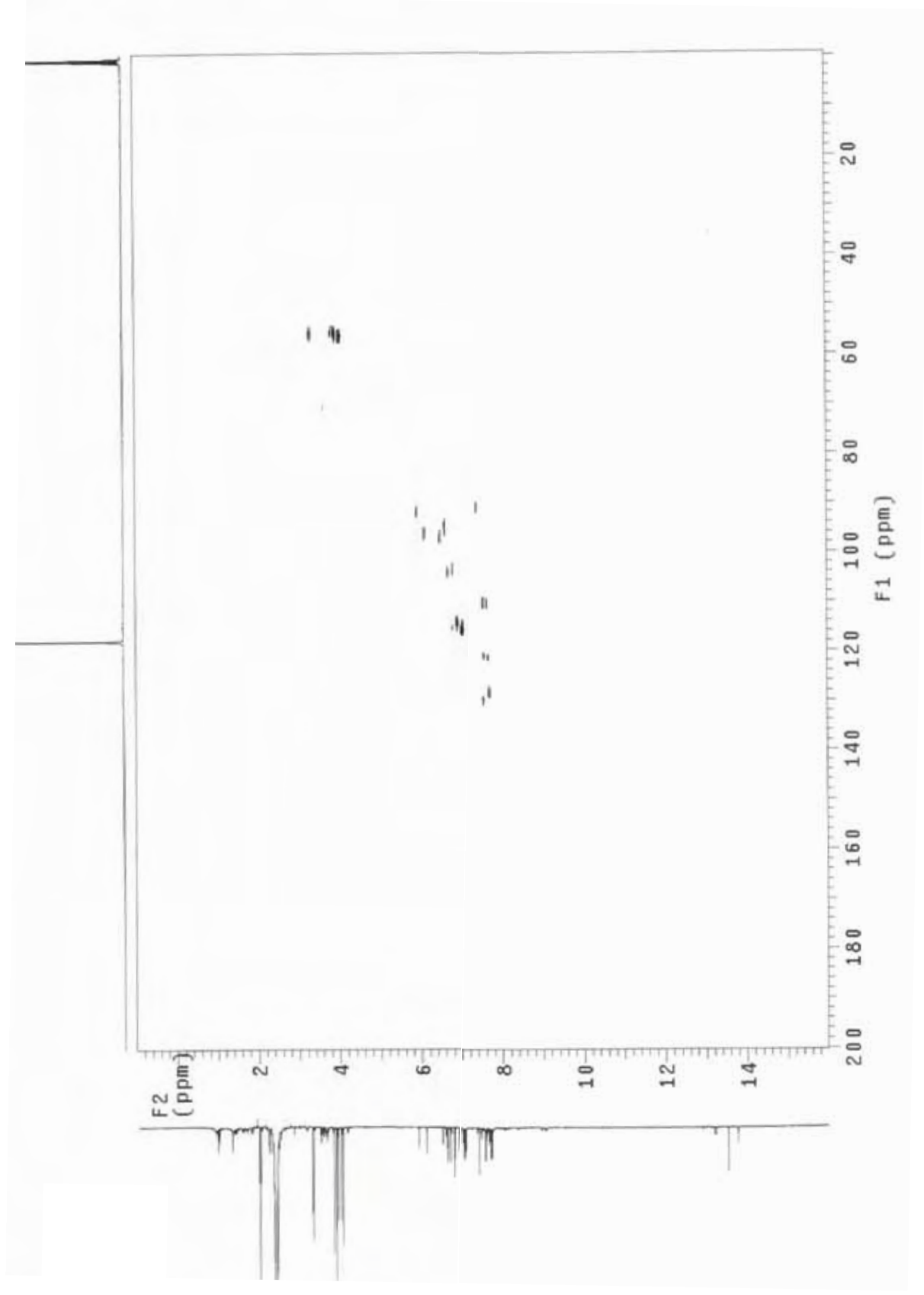
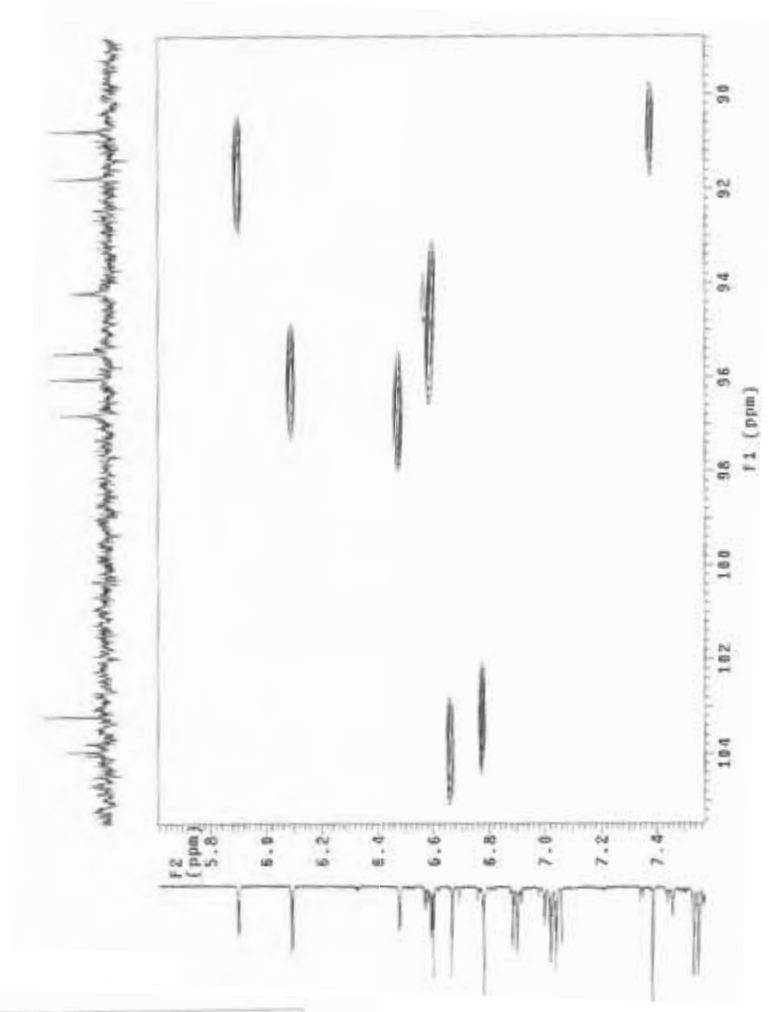
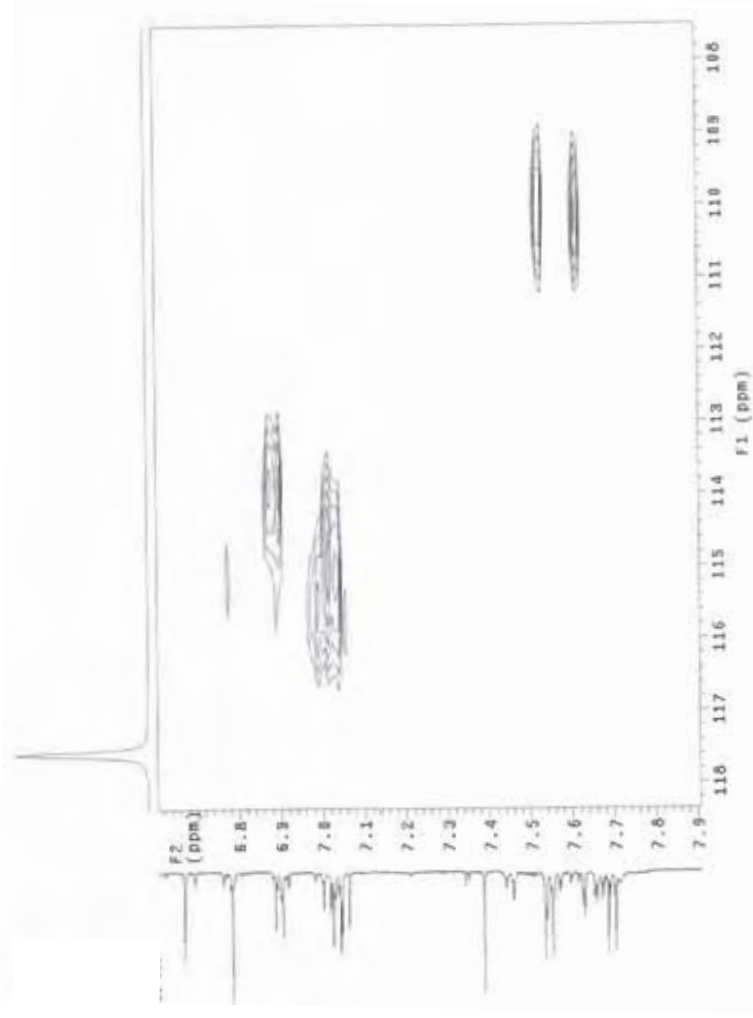


Figura 89. Mapa de contornos gHMQC de **5** (CD_3CN , 11,7 T).



Ampliações da Figura 89.

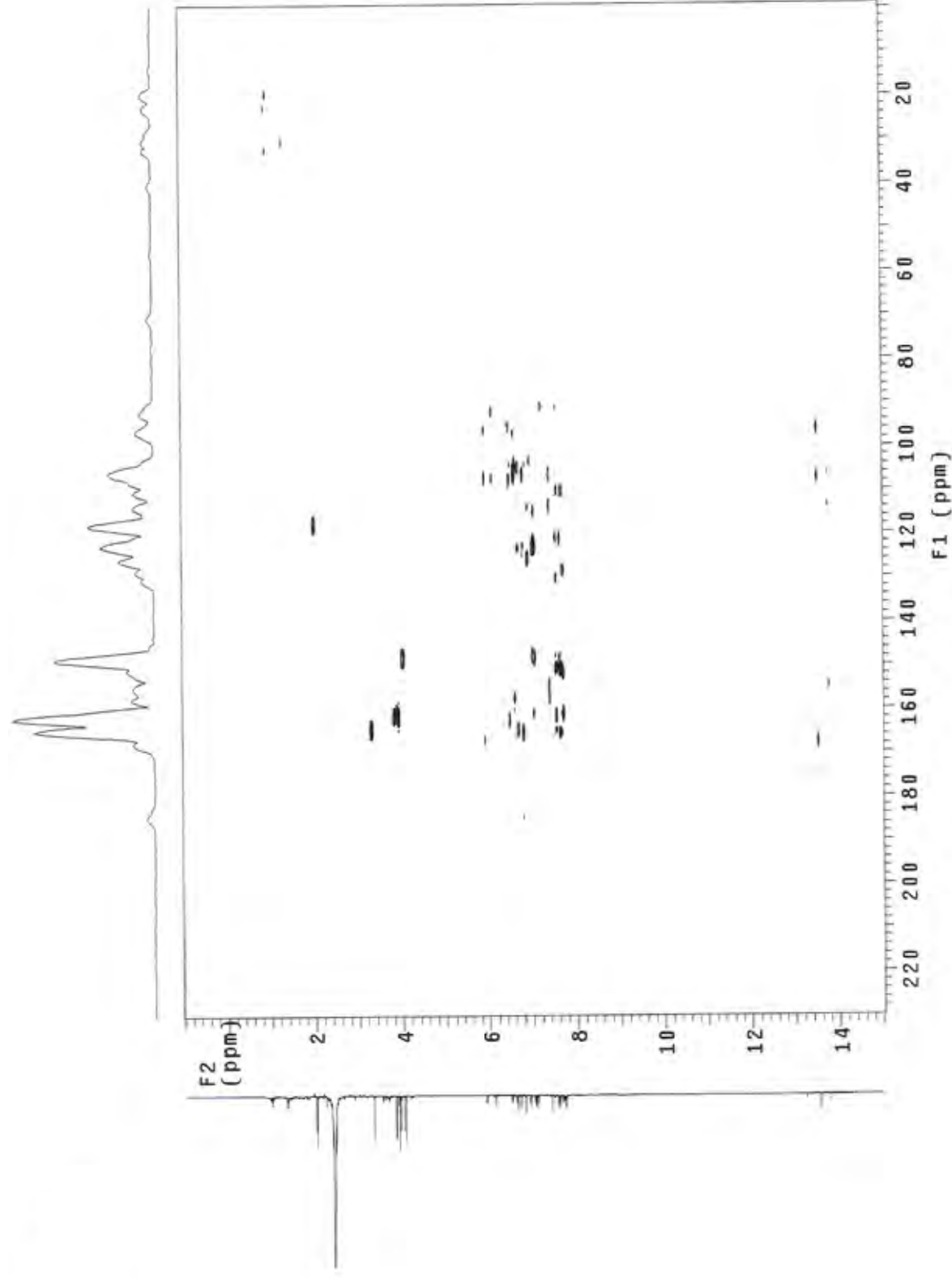
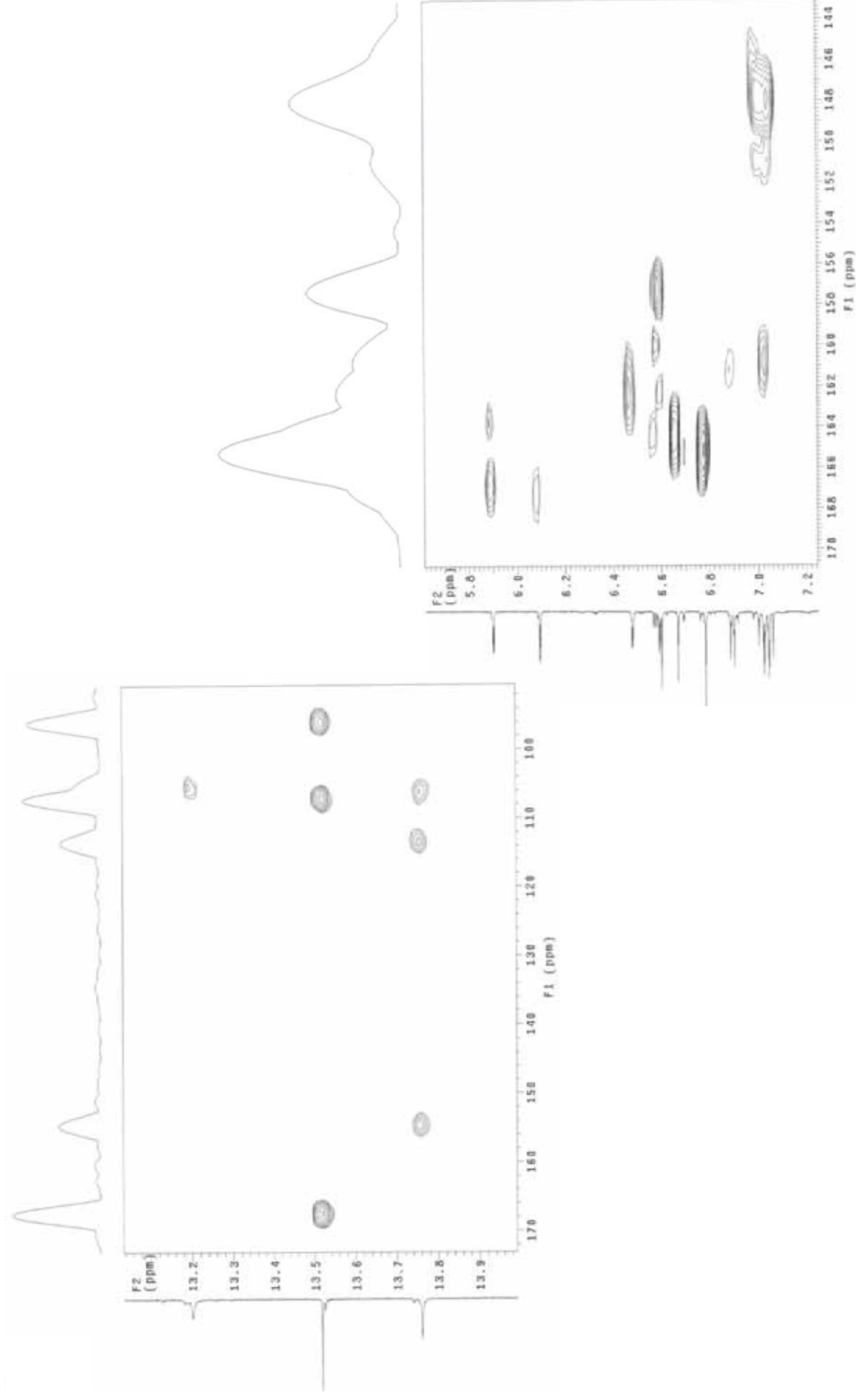
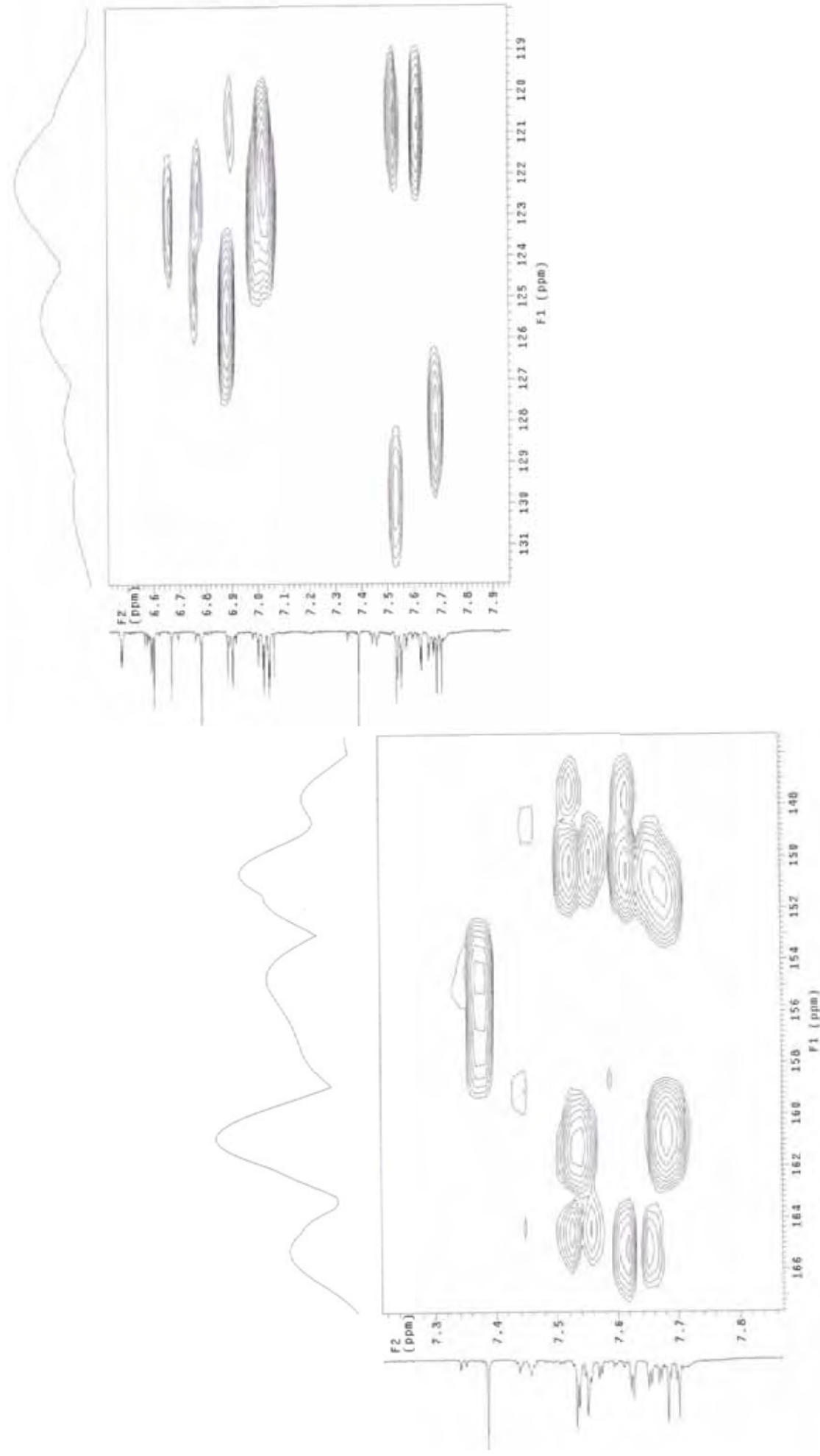


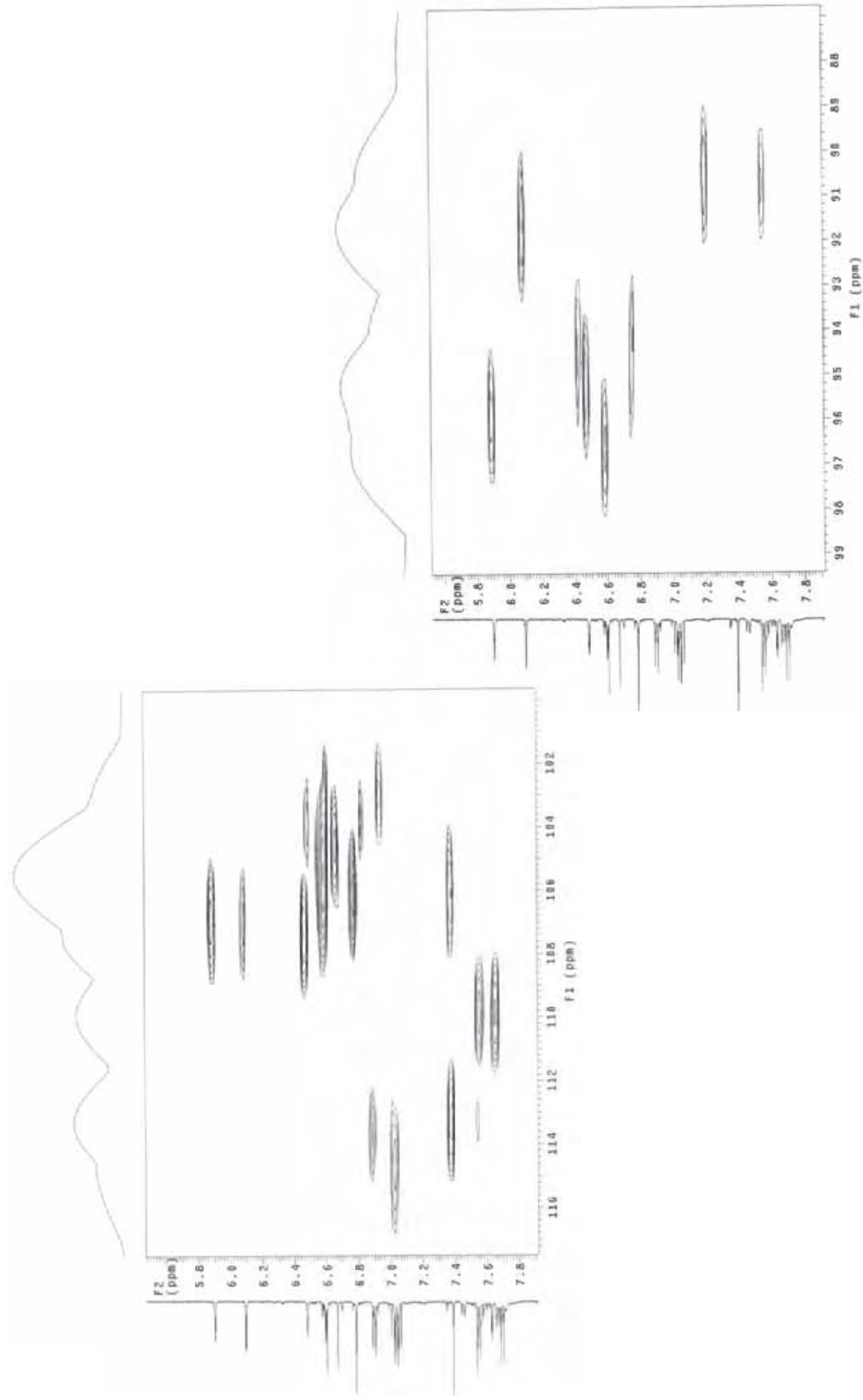
Figura 90. Mapa de contornos gHMBC de **5** (CD_3CN , 11,7 T).



Ampliações da Figura 90.



Ampliações da Figura 90.



Ampliações da Figura 90.

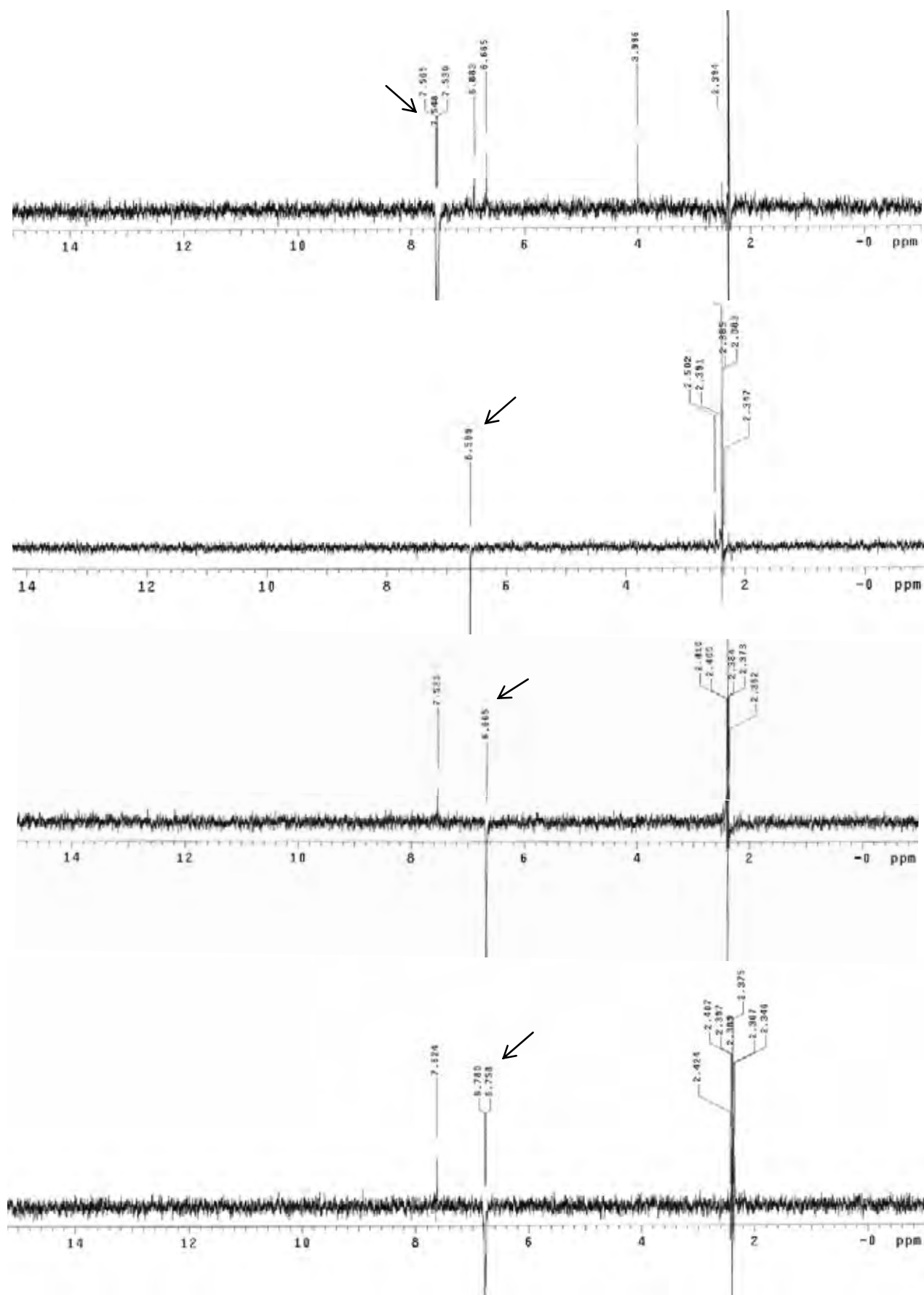


Figura 91. Espectros gNOESY 1D de **5** irradiando em δ 7,54, 6,60, 6,63 e 6,78 (CD₃CN, 11,7 T).

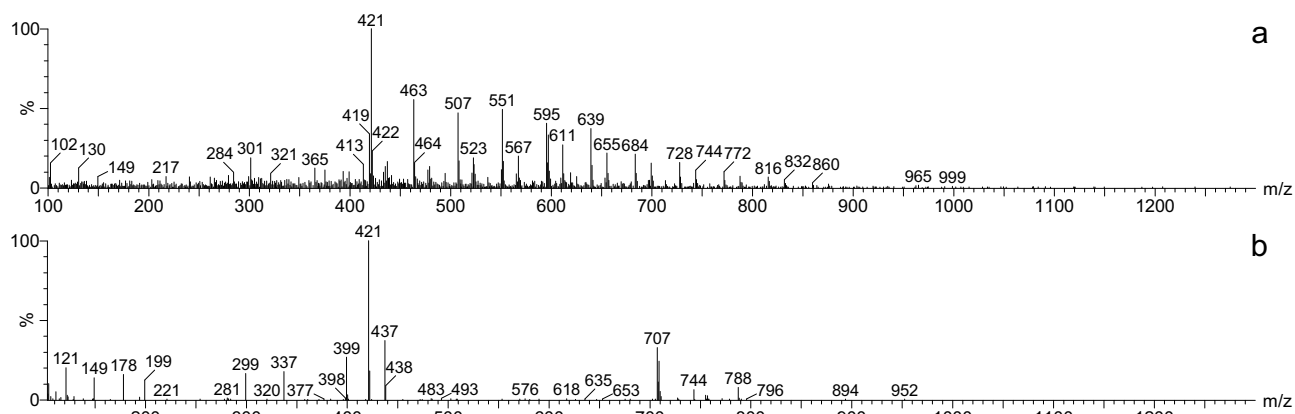


Figura 92. Espectros de massas de baixa resolução de **5** [ESI, +35 V (a), +30 V (b)].

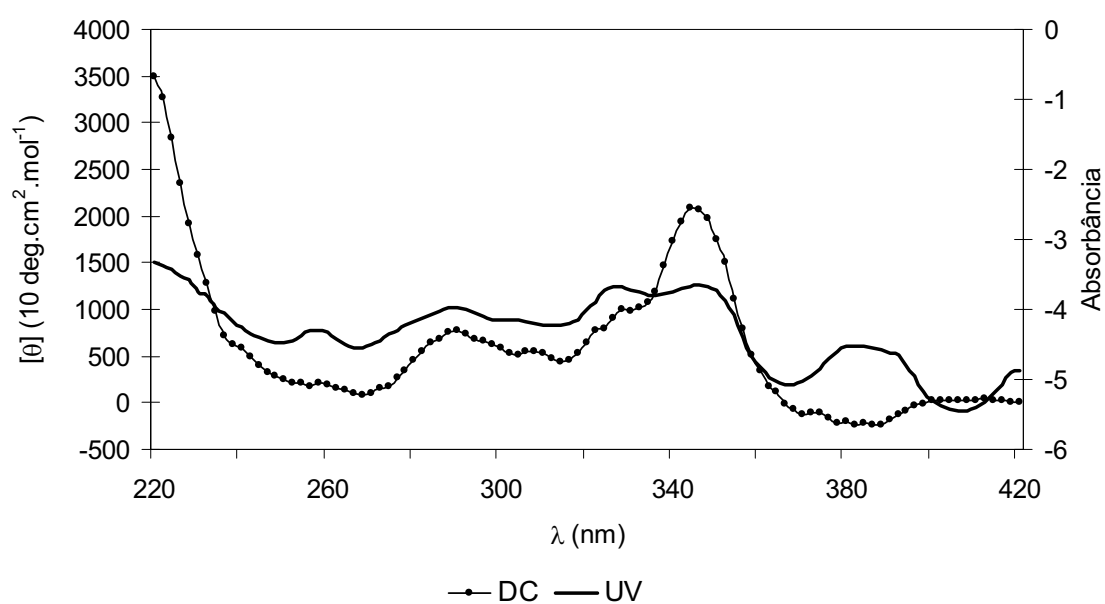


Figura 93. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de **4** (c. 0,035, c.o. 10, MeOH).

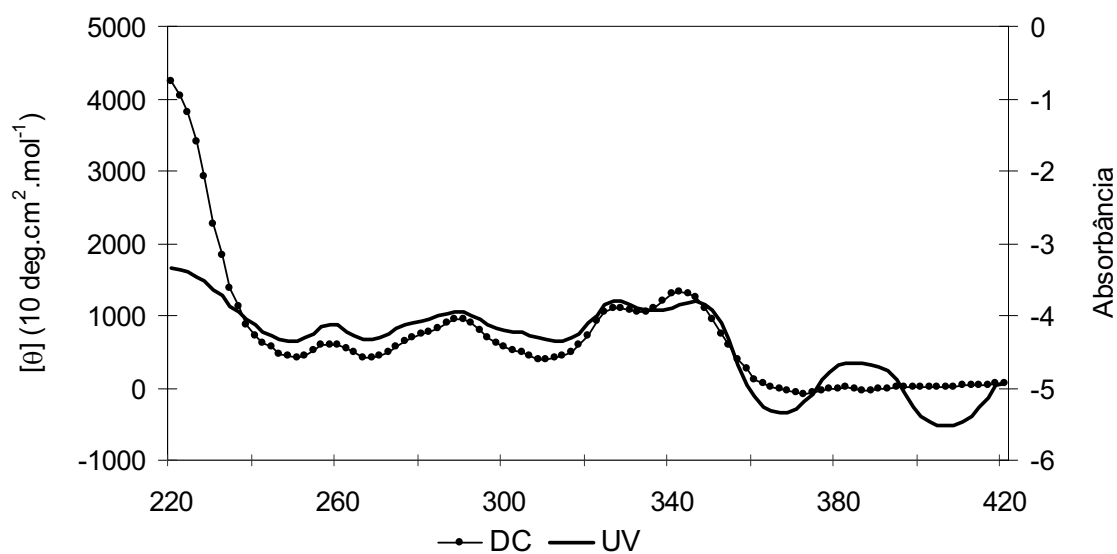


Figura 94. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de **4a** (c. 0,300, c.o. 5, MeOH).

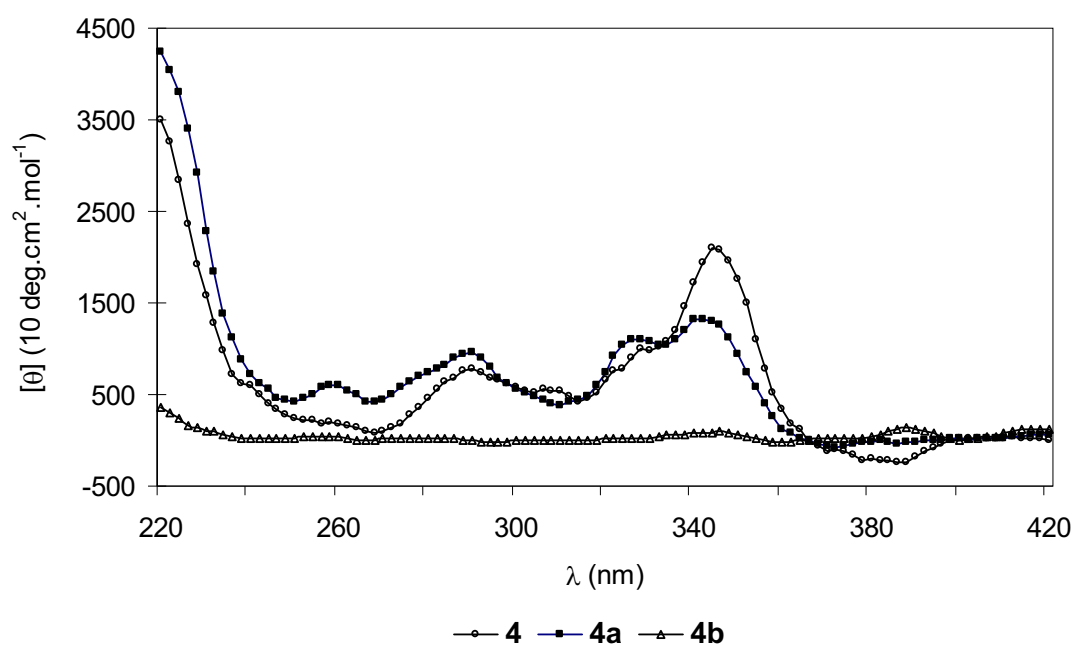


Figura 95. Curvas de DC de **4** (c. 0,035, c.o. 10), **4a** (c. 0,300, c.o. 5) e **4b** (c. 0,200, c.o. 5) em MeOH.

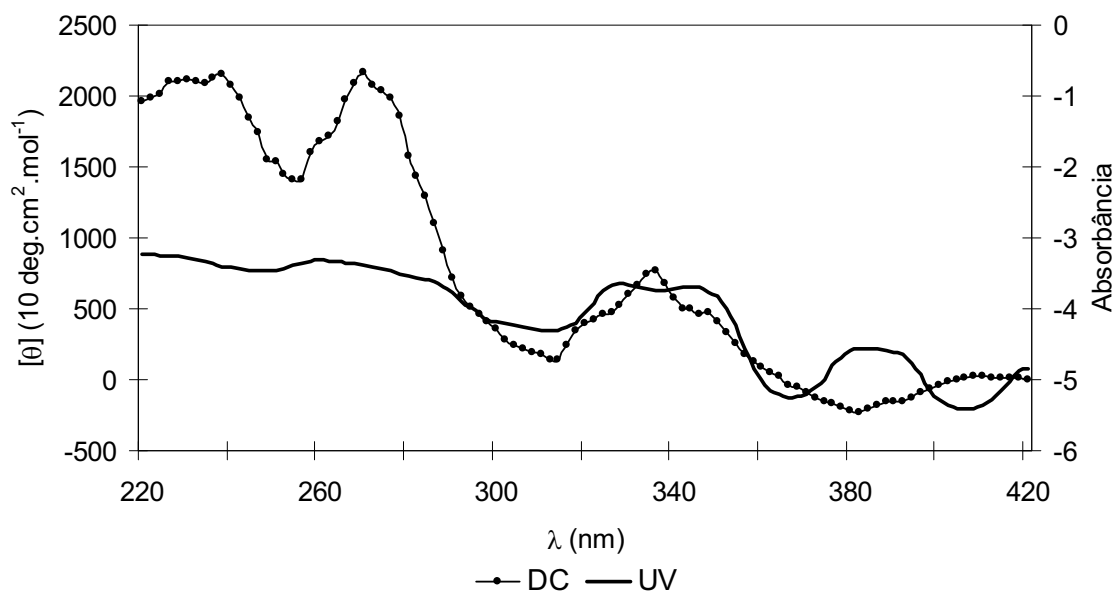


Figura 96. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de **2** (c. 0,040, c.o. 10, MeOH).

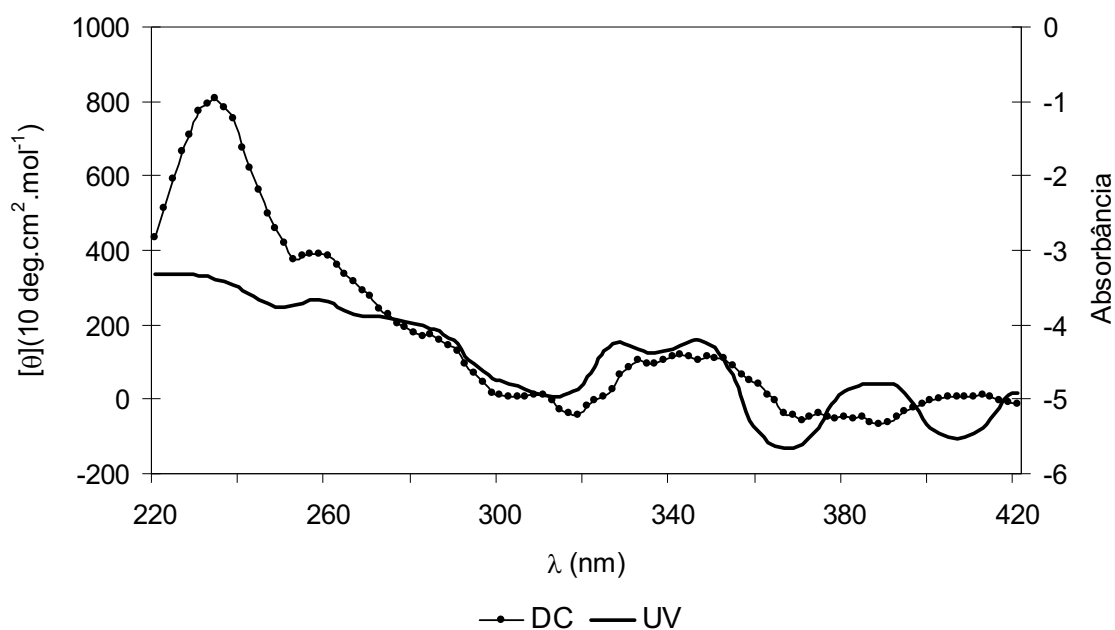


Figura 97. Curva de DC e espectro de absorção na região do UV de **5** (c. 0,200, c.o. 10, MeOH).

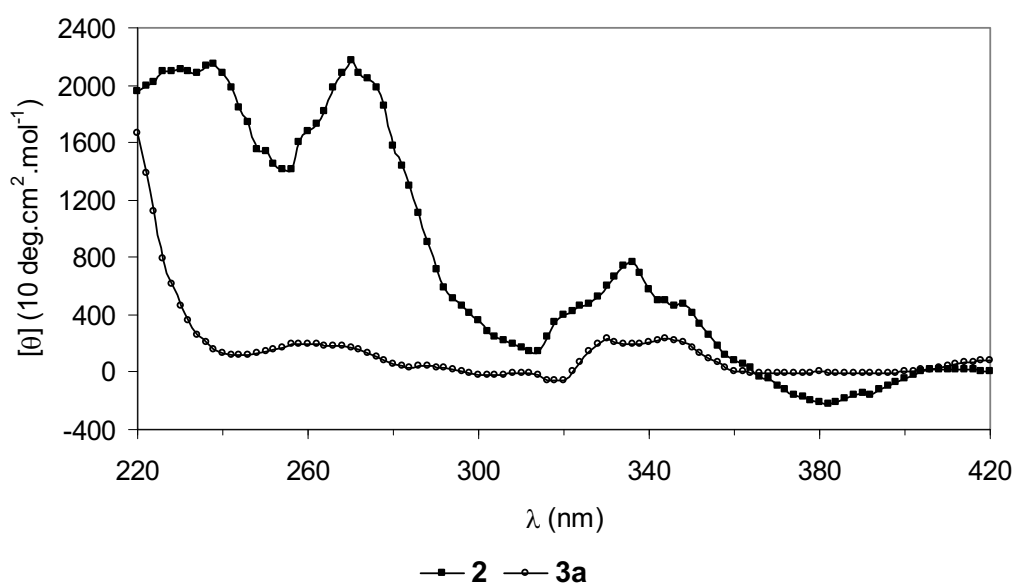


Figura 98. Curvas de DC de **2** (c. 0,040, c.o. 10) e **3a** (c. 0,300, c.o. 5) em MeOH.



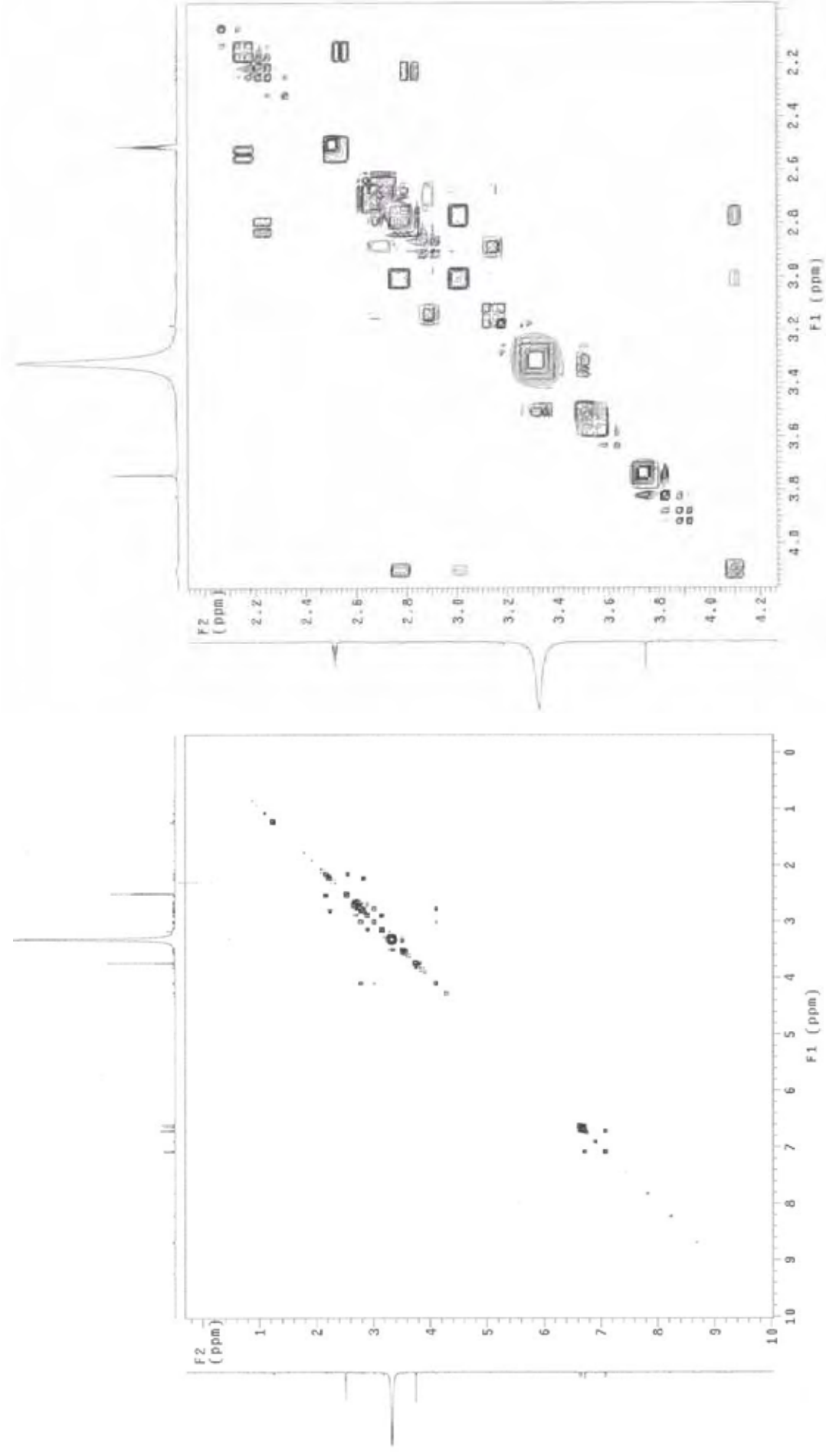


Figura 100. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **6** com ampliação (DMSO- d_6 , 11,7 T).

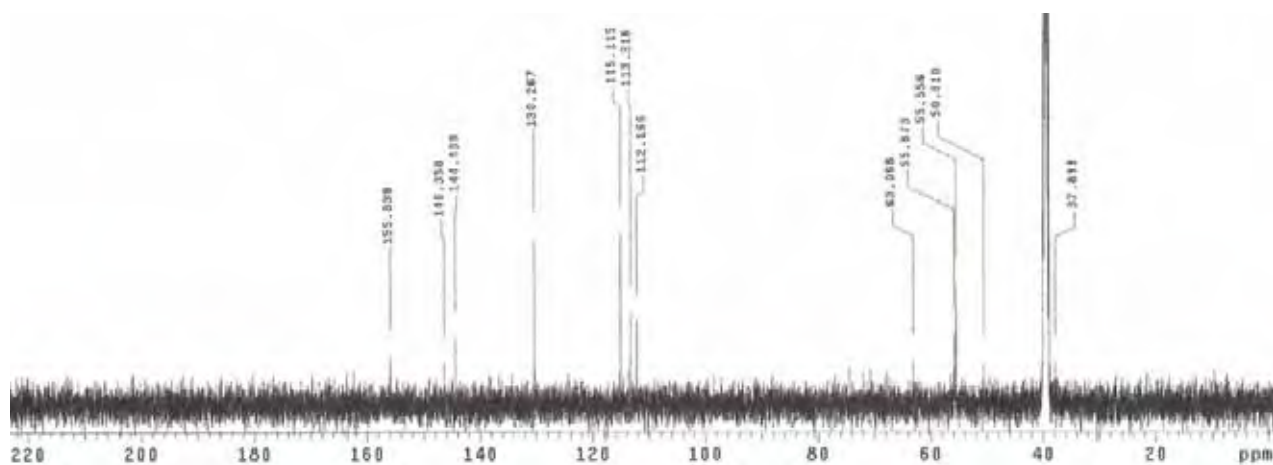


Figura 101. Espectro de RMN de ¹³C de **6** (DMSO-*d*₆, 11,7 T).

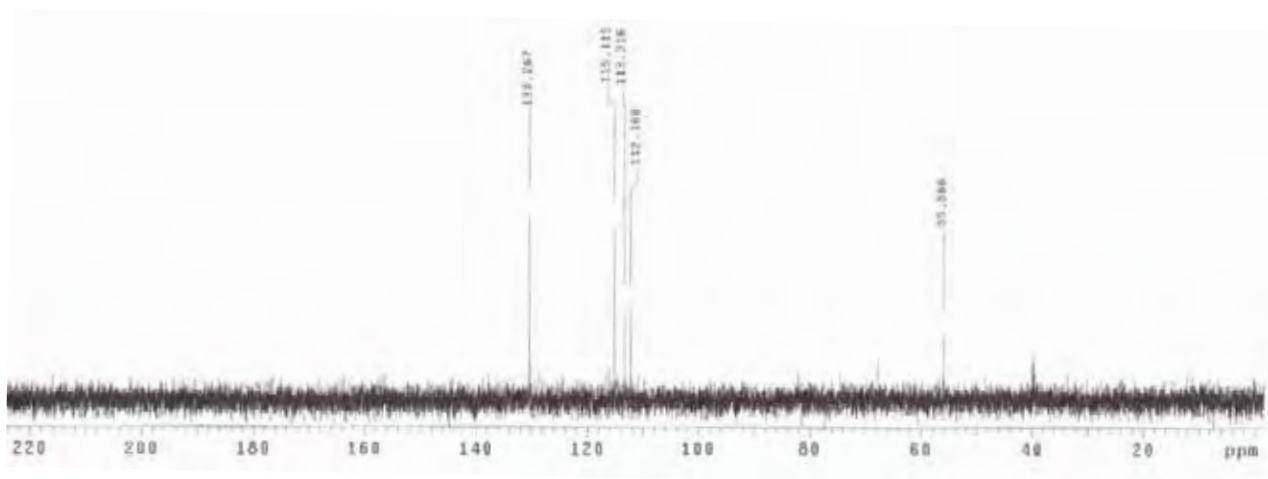
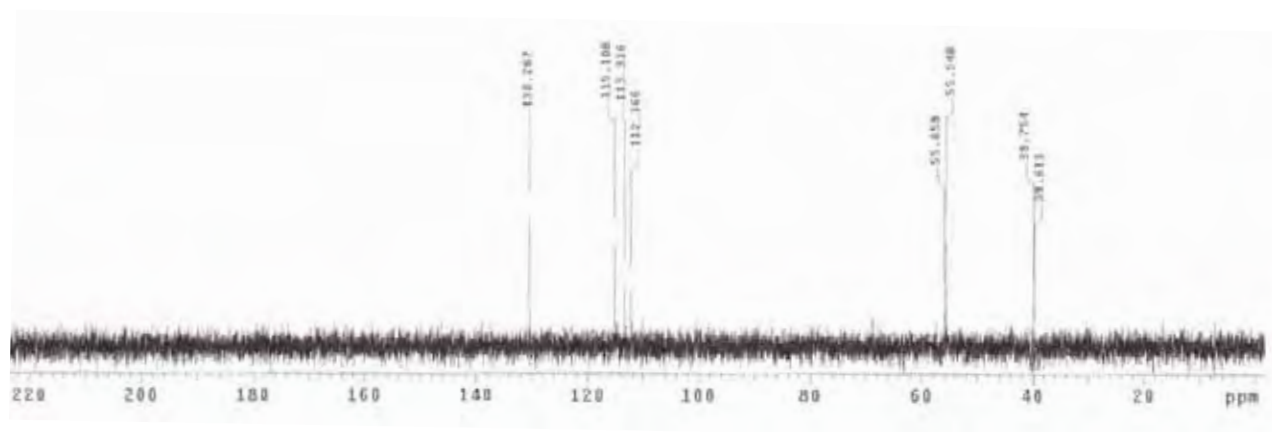


Figura 102. Espectros DEPT 135° e 90° de **6** (DMSO-*d*₆, 11,7 T).

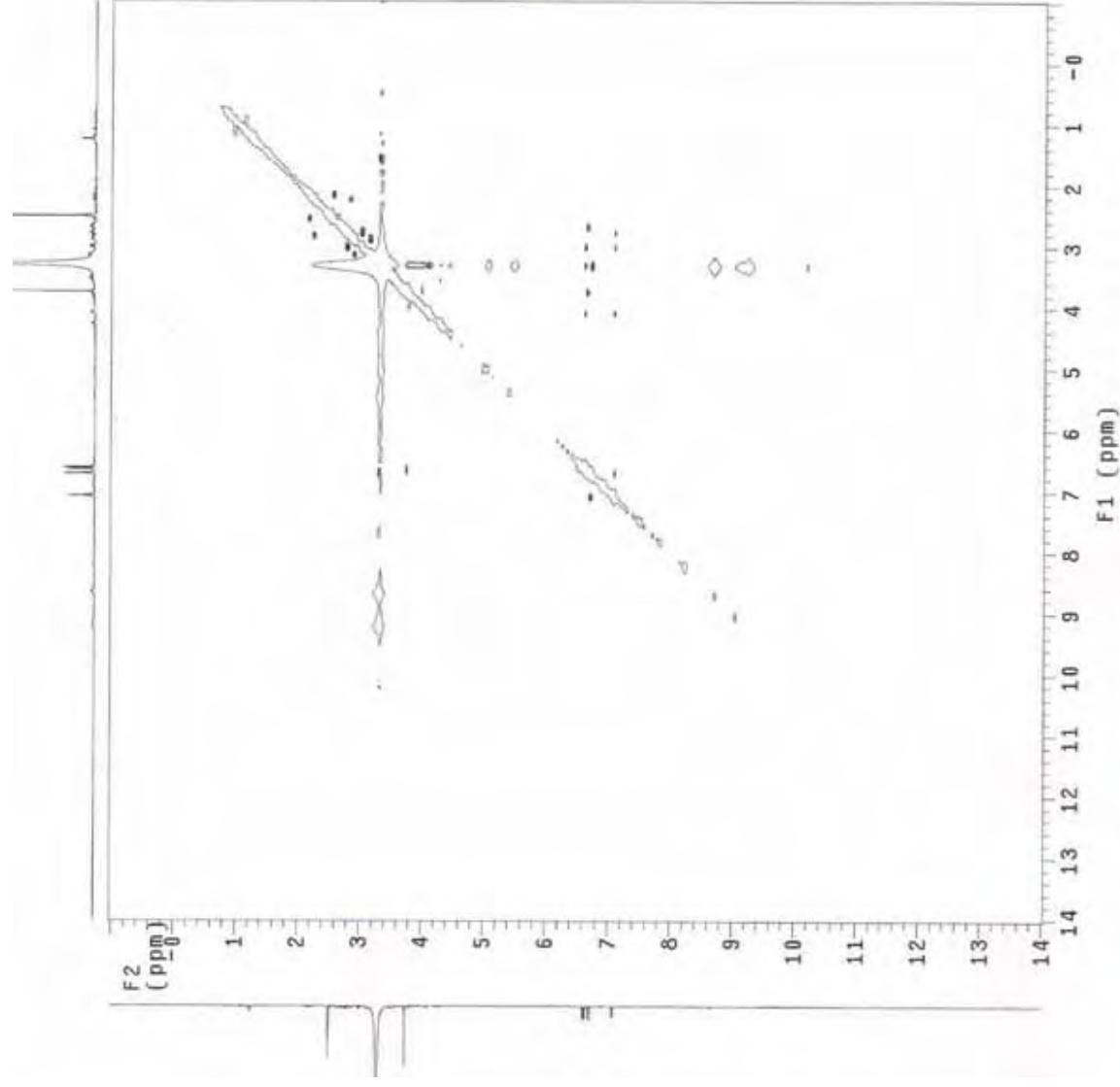
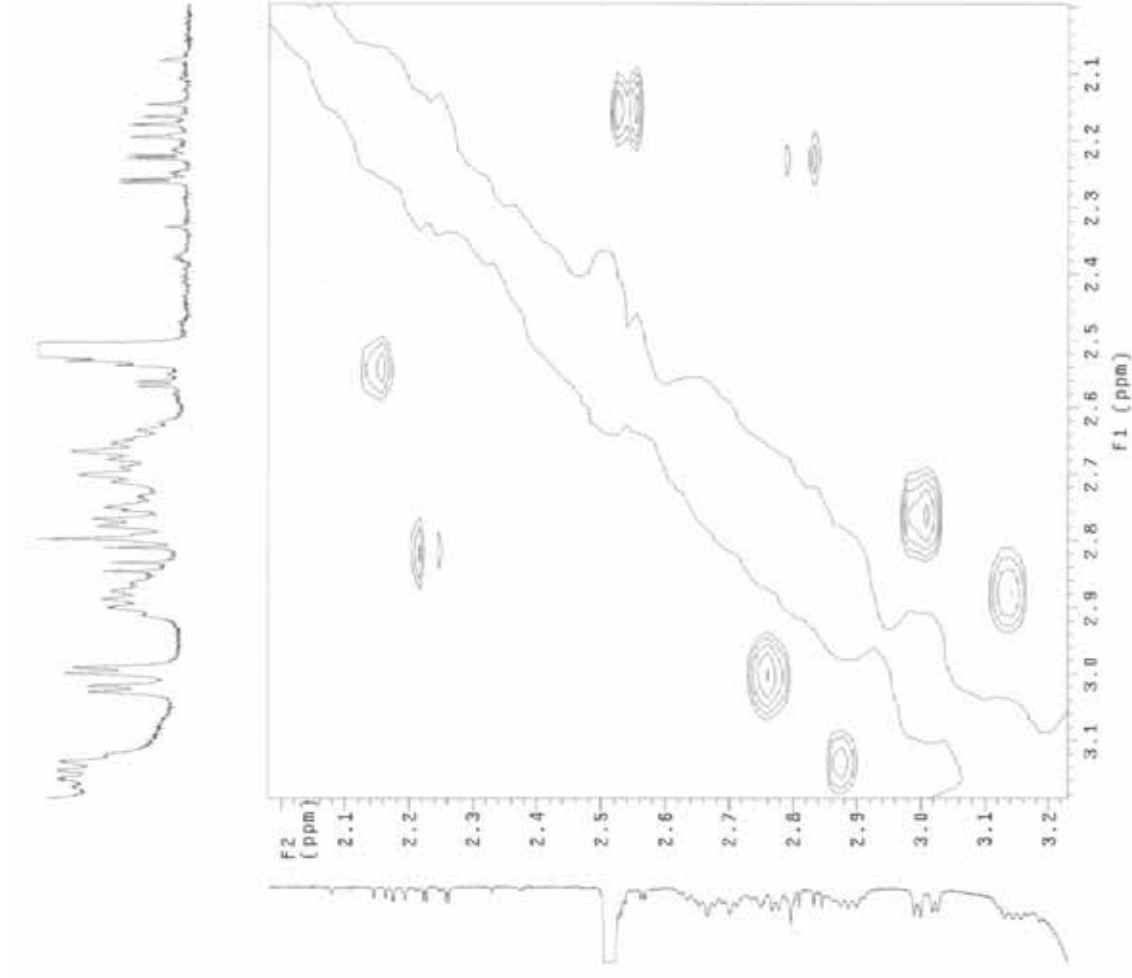
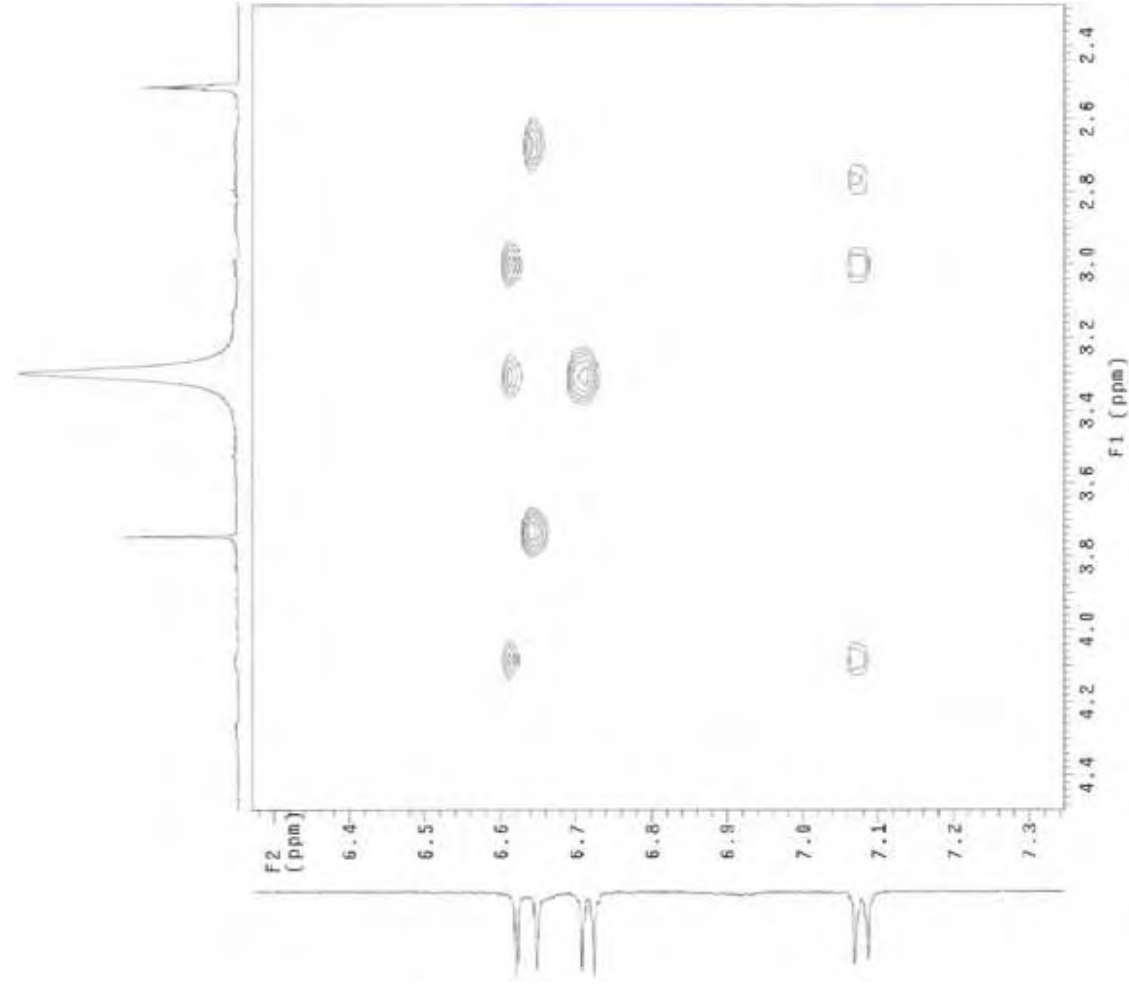


Figura 103. Espectro gNOESY 2D de **6** (DMSO- d_6 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 103.

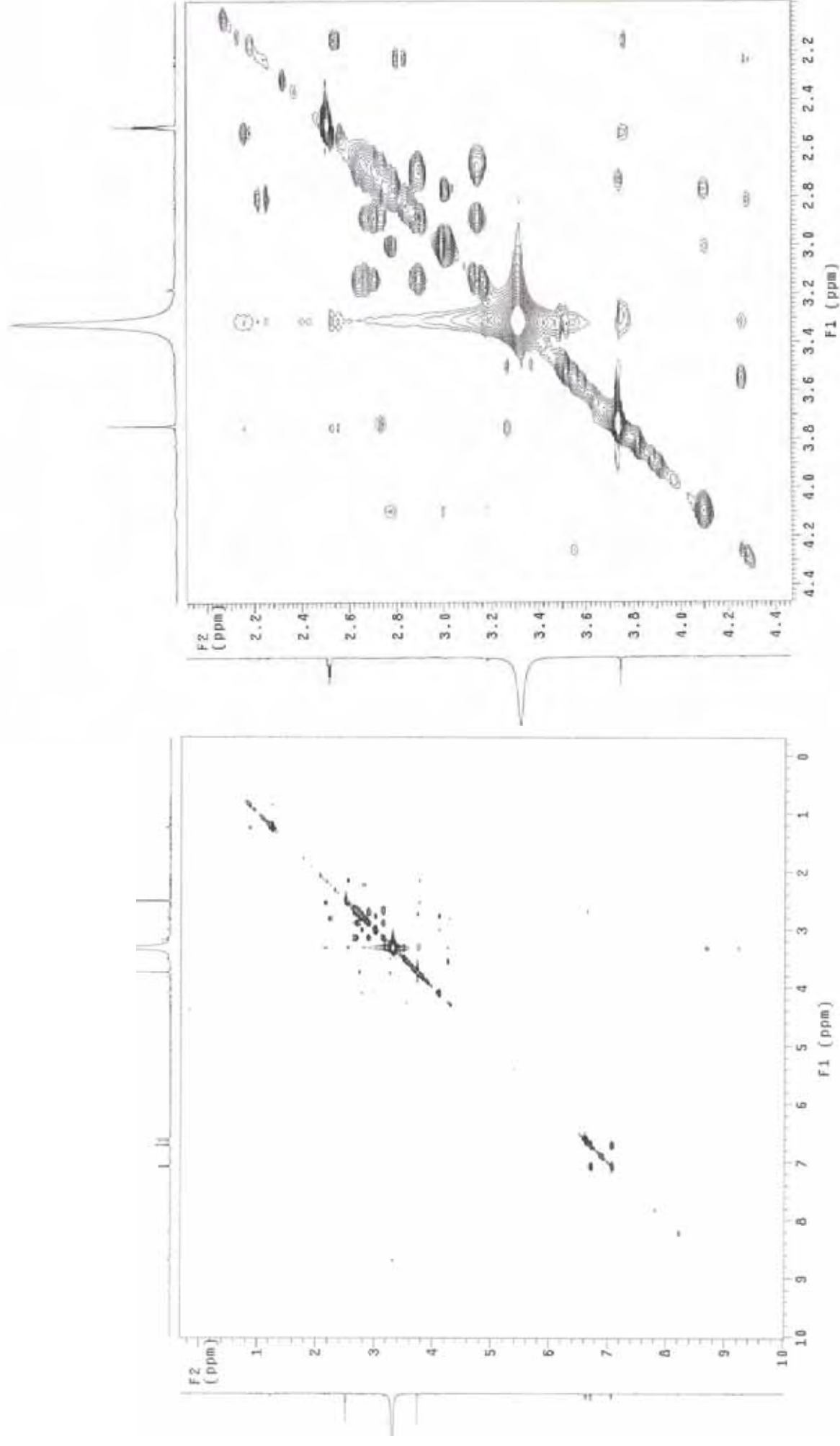


Figura 104. Espectro gTOCSY ^1H - ^1H de **6** com ampliação ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).

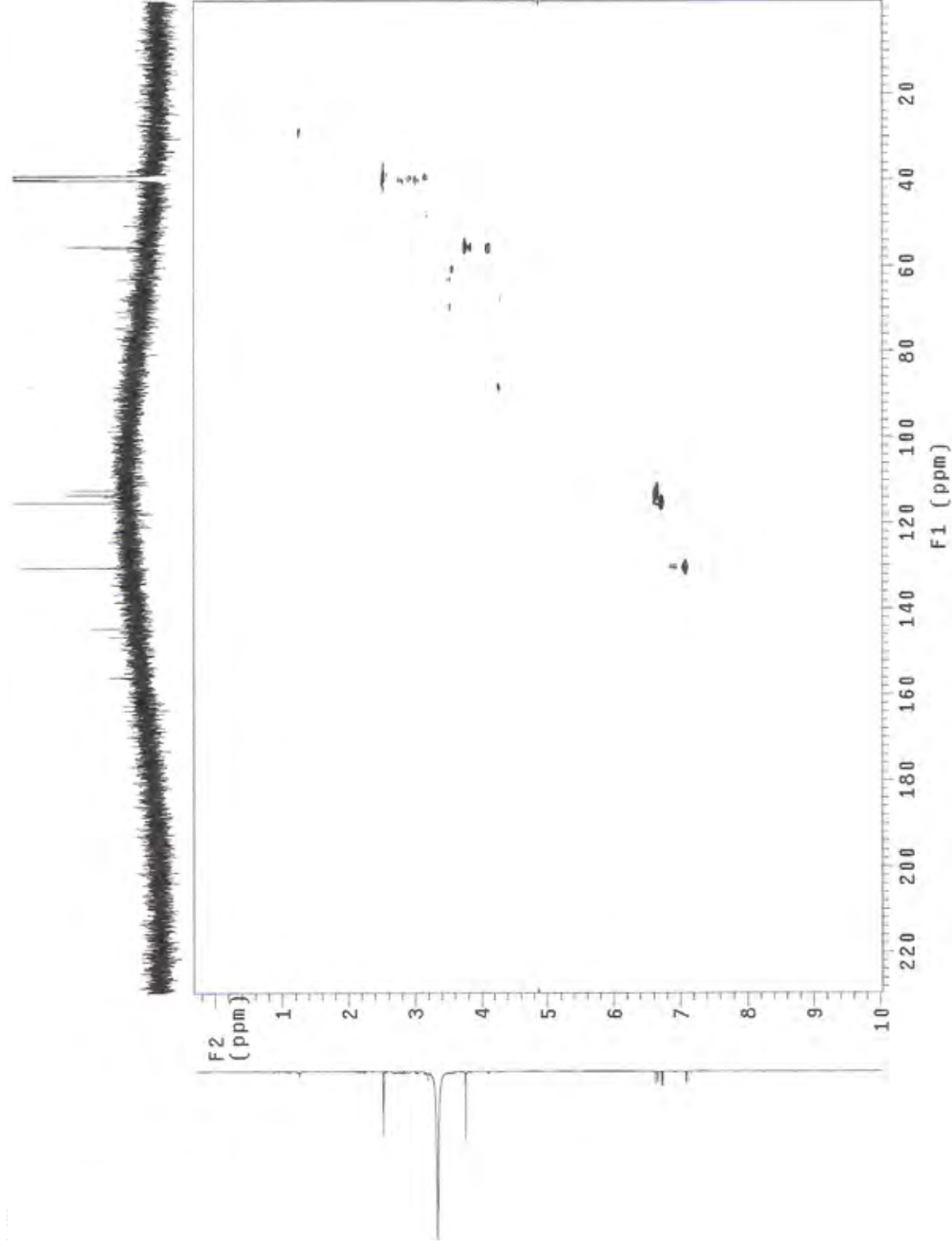
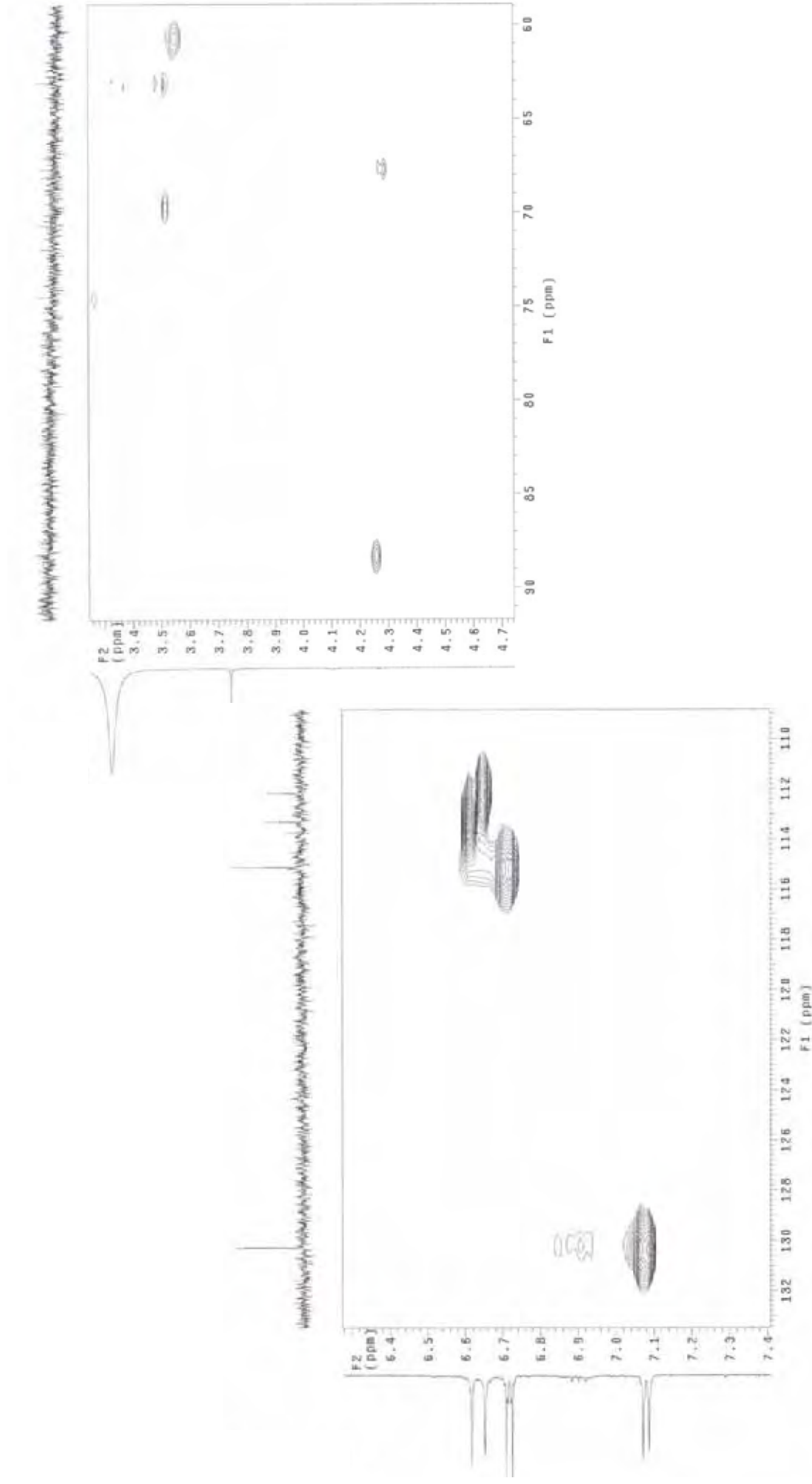
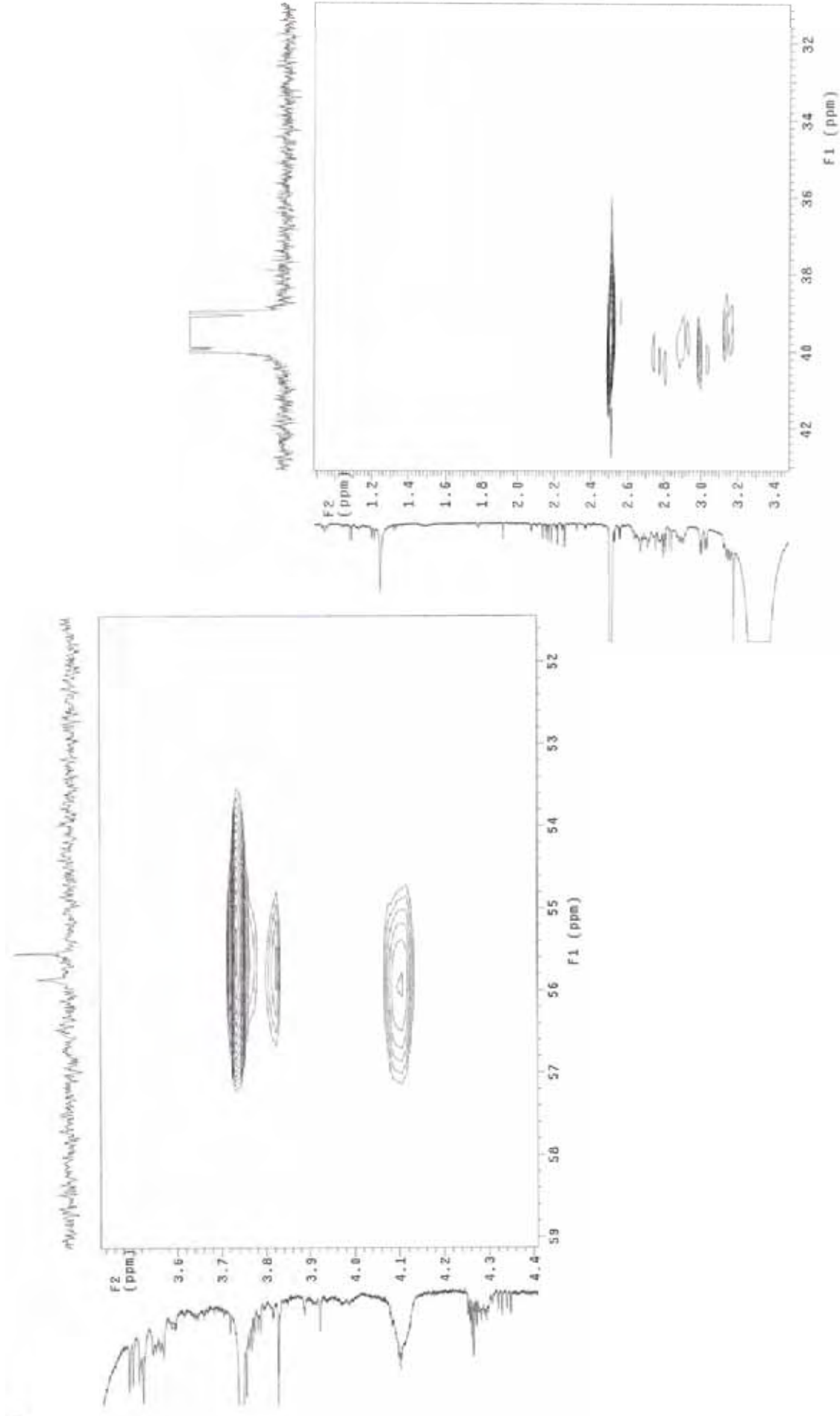


Figura 105. Mapa de contornos gHMQC de **6** (DMSO- d_6 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 105.



Ampliações da Figura 105.

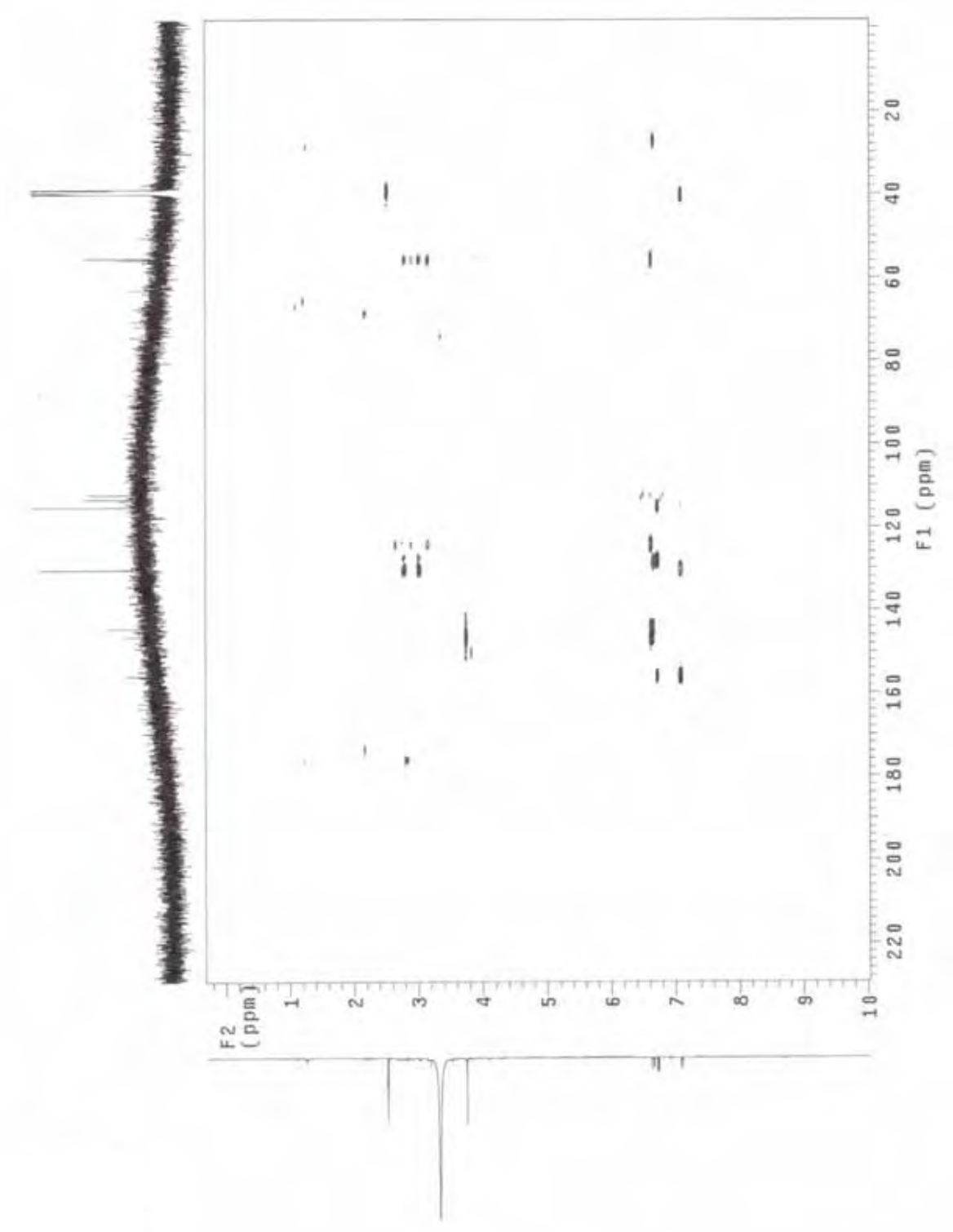
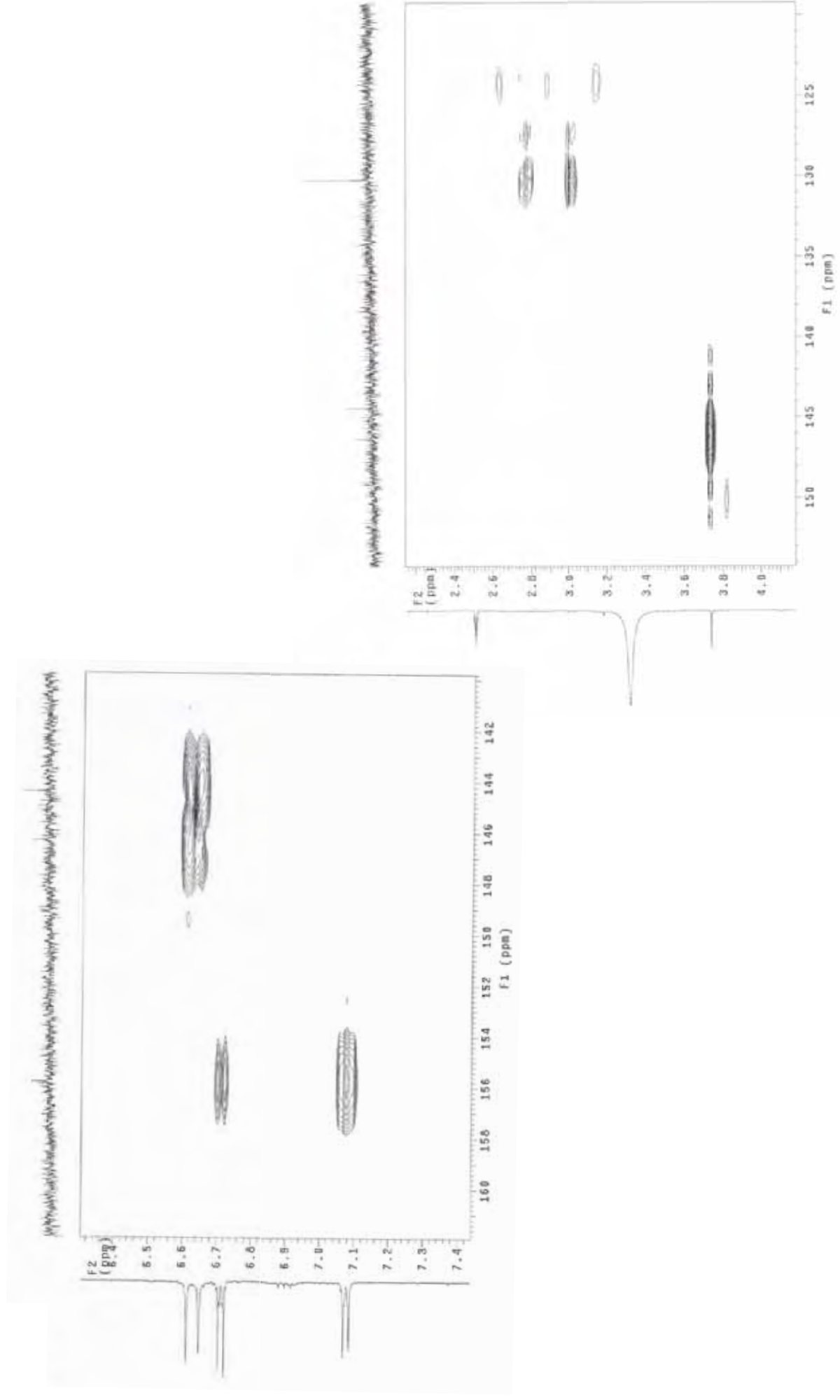
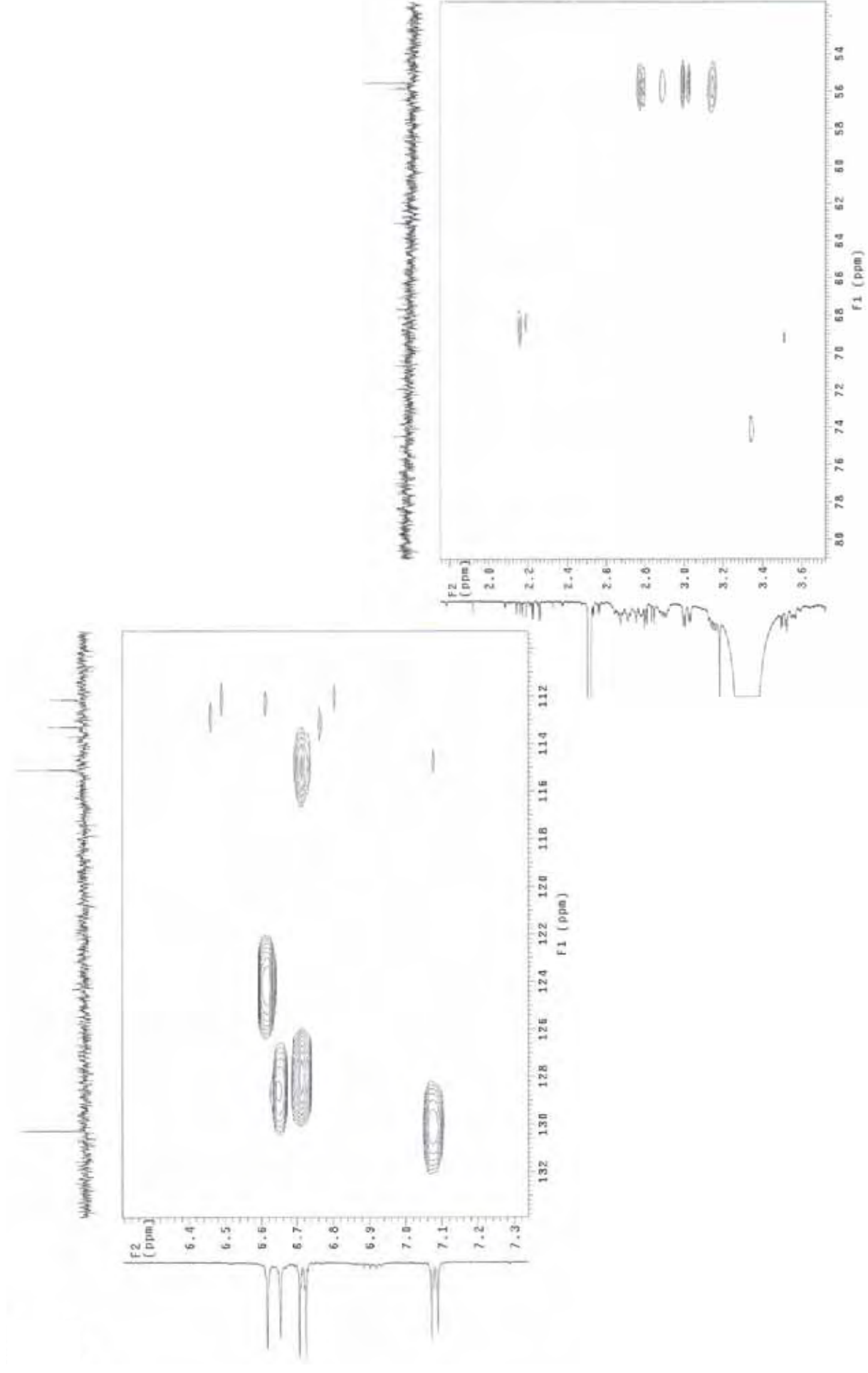


Figura 106. Mapa de contornos gHMBC de **6** (DMSO- d_6 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 106.



Ampliações da Figura 106.

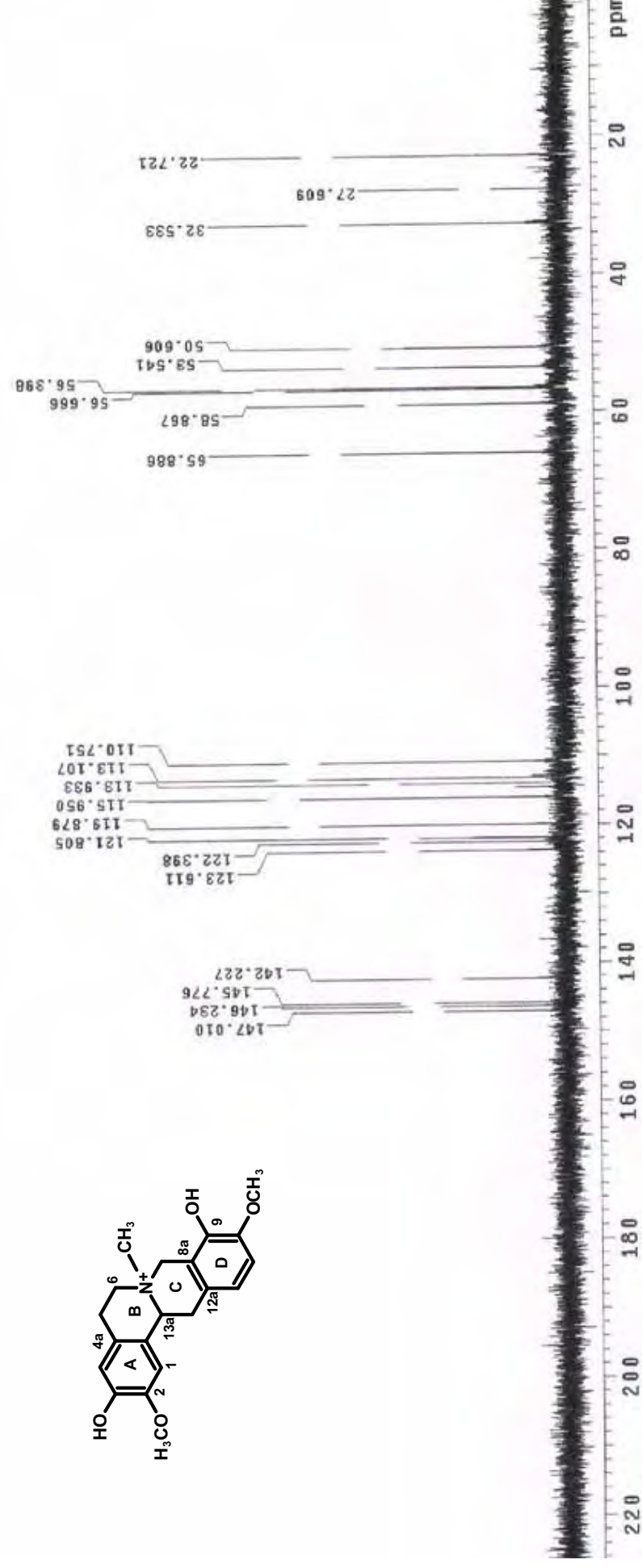
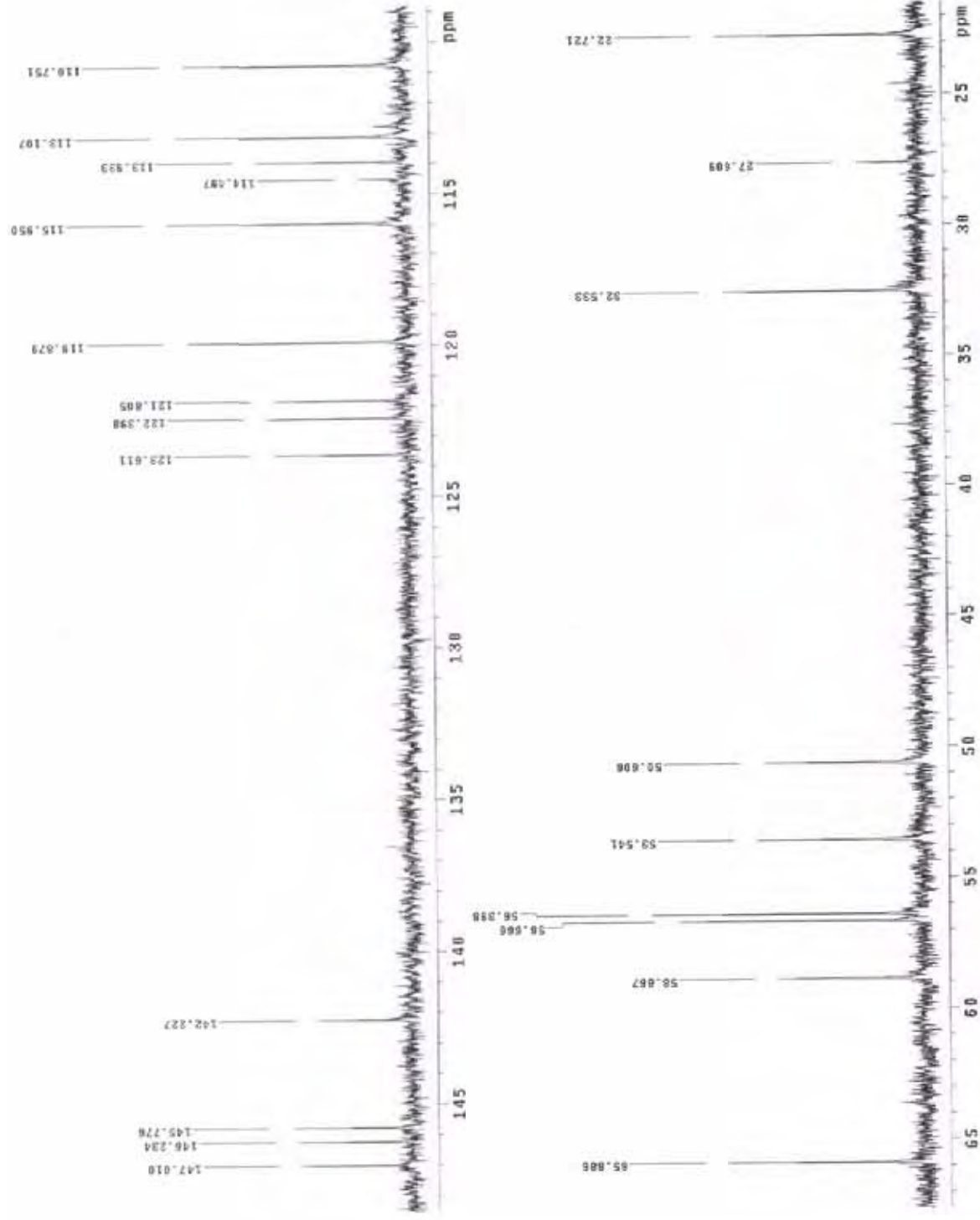


Figura 107. Espectro de RMN de ¹³C de 7 (D₂O, 11,7 T).



Ampliações da Figura 107.

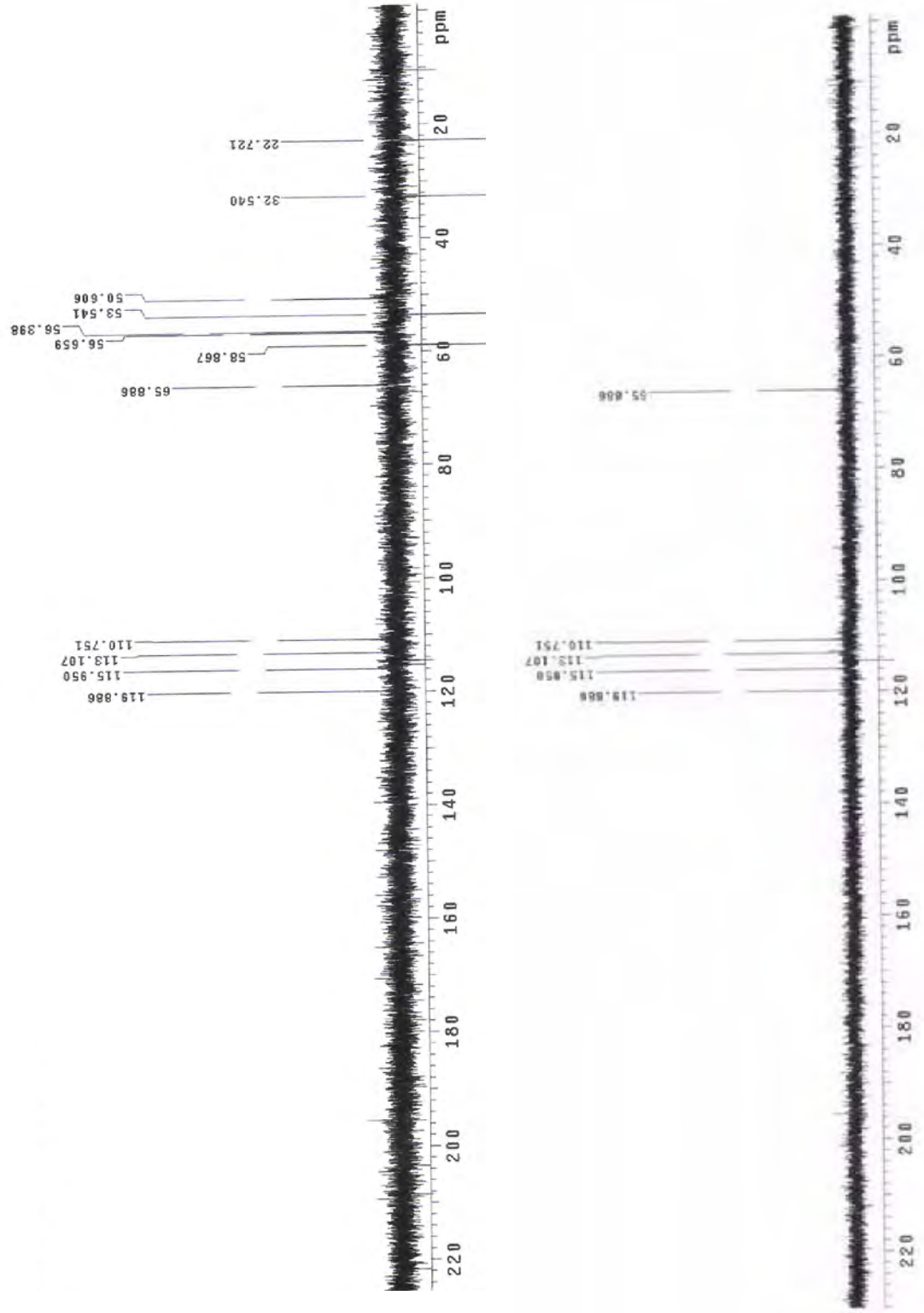


Figura 108. Espectros DEPT 135° e 90° de **7** (D_2O , 11,7 T).

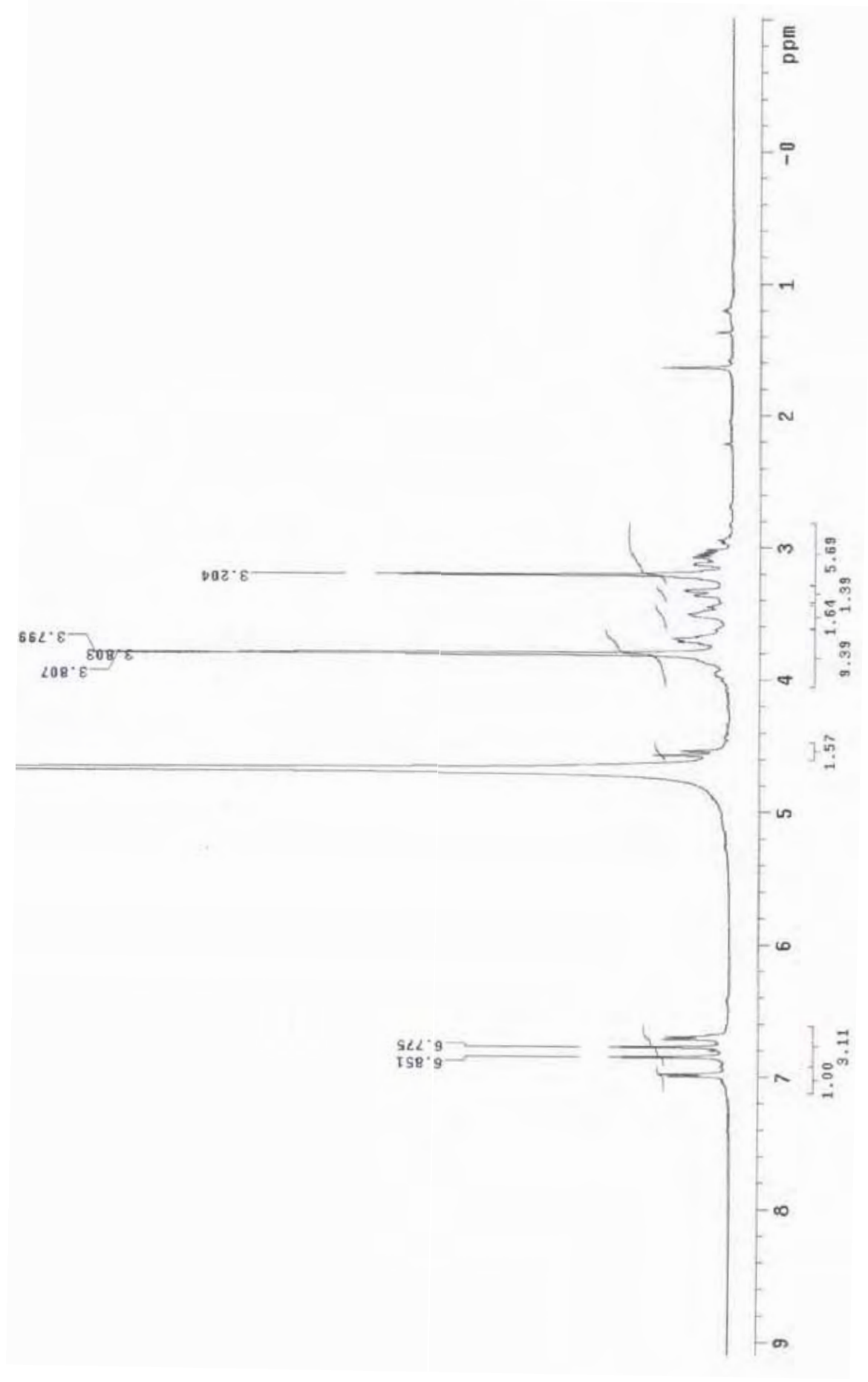
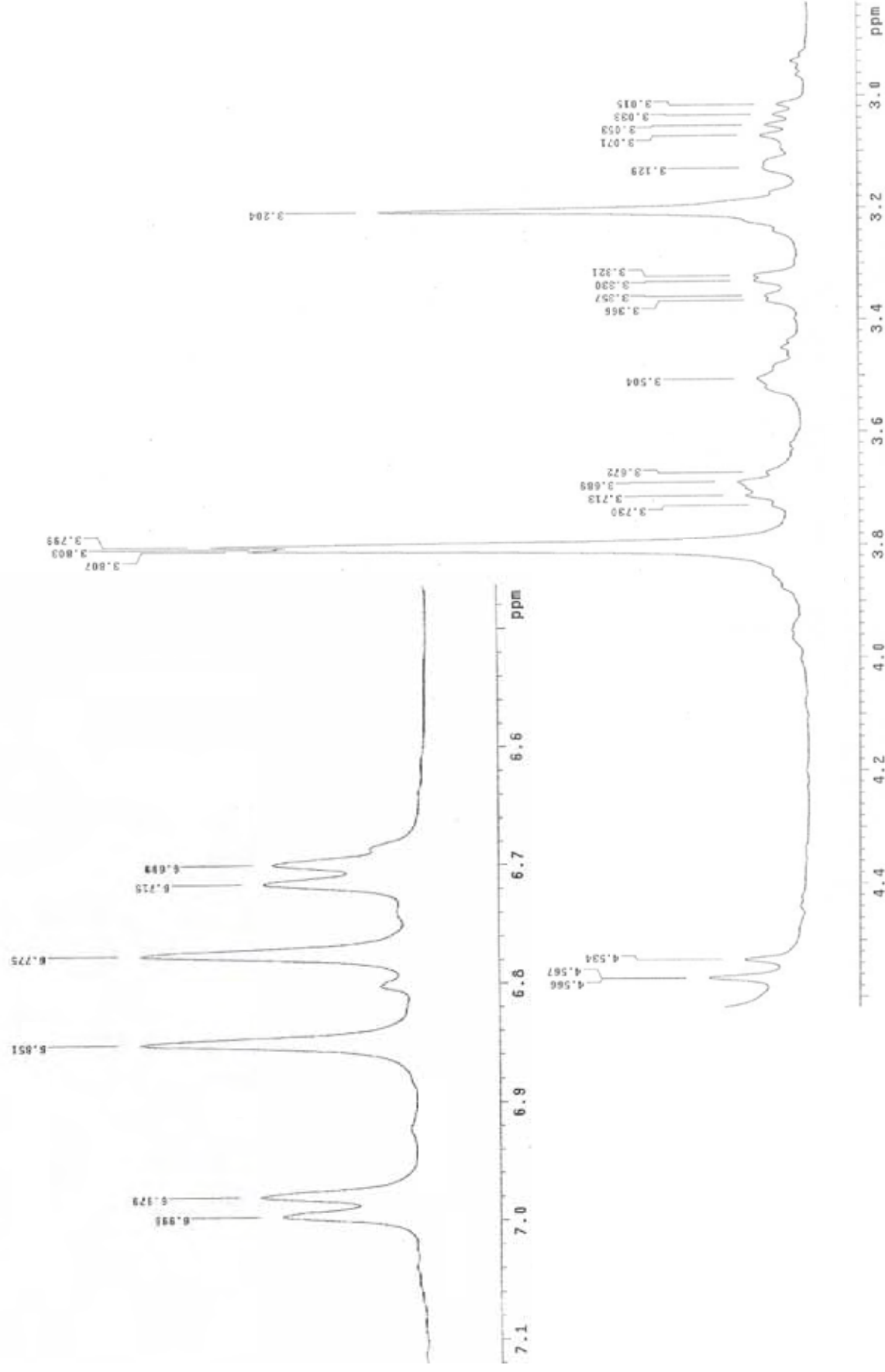


Figura 109. Espectro de RMN de ^1H de 7 (D_2O , 11,7 T).



Ampliações da Figura 109.

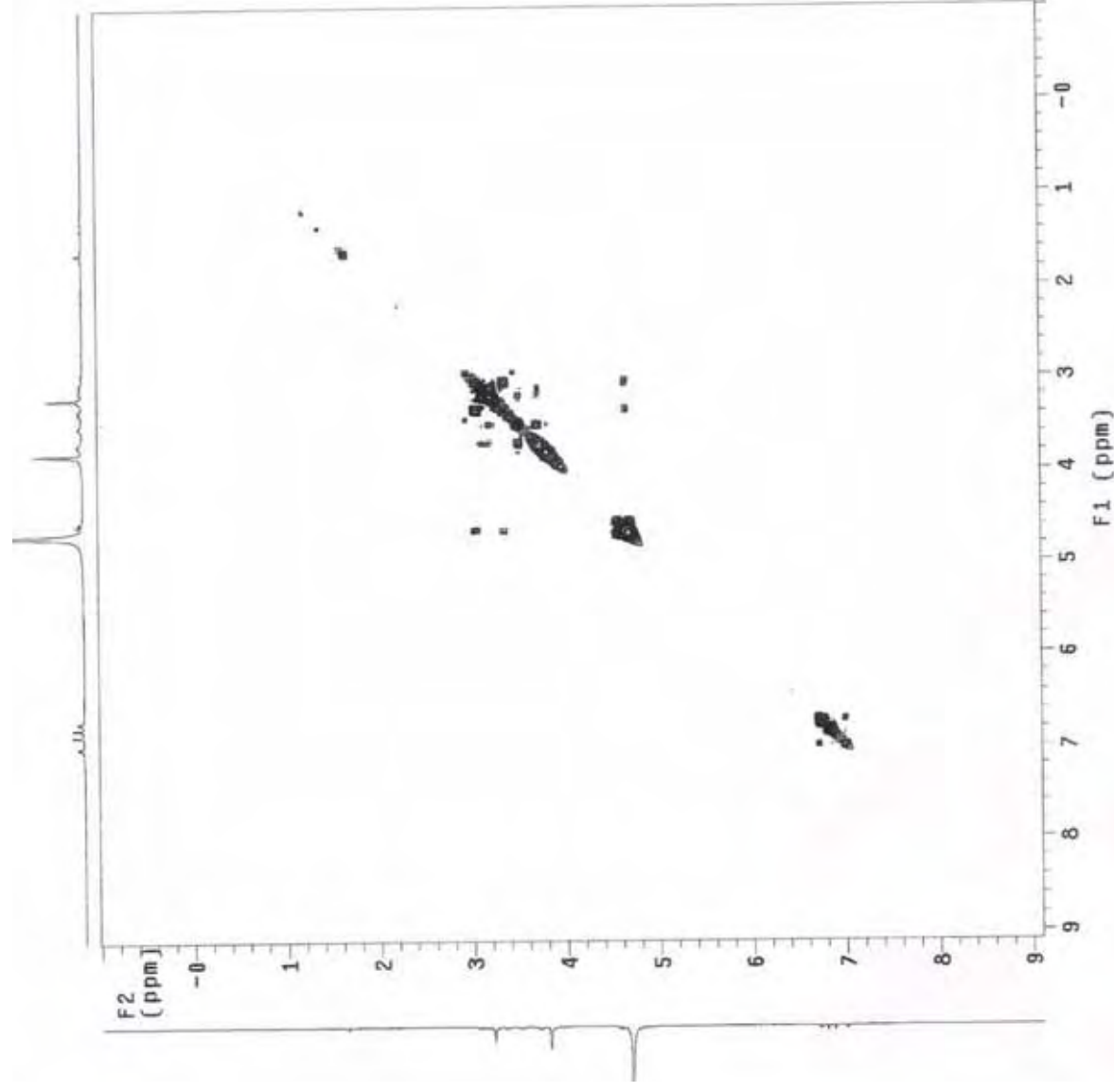
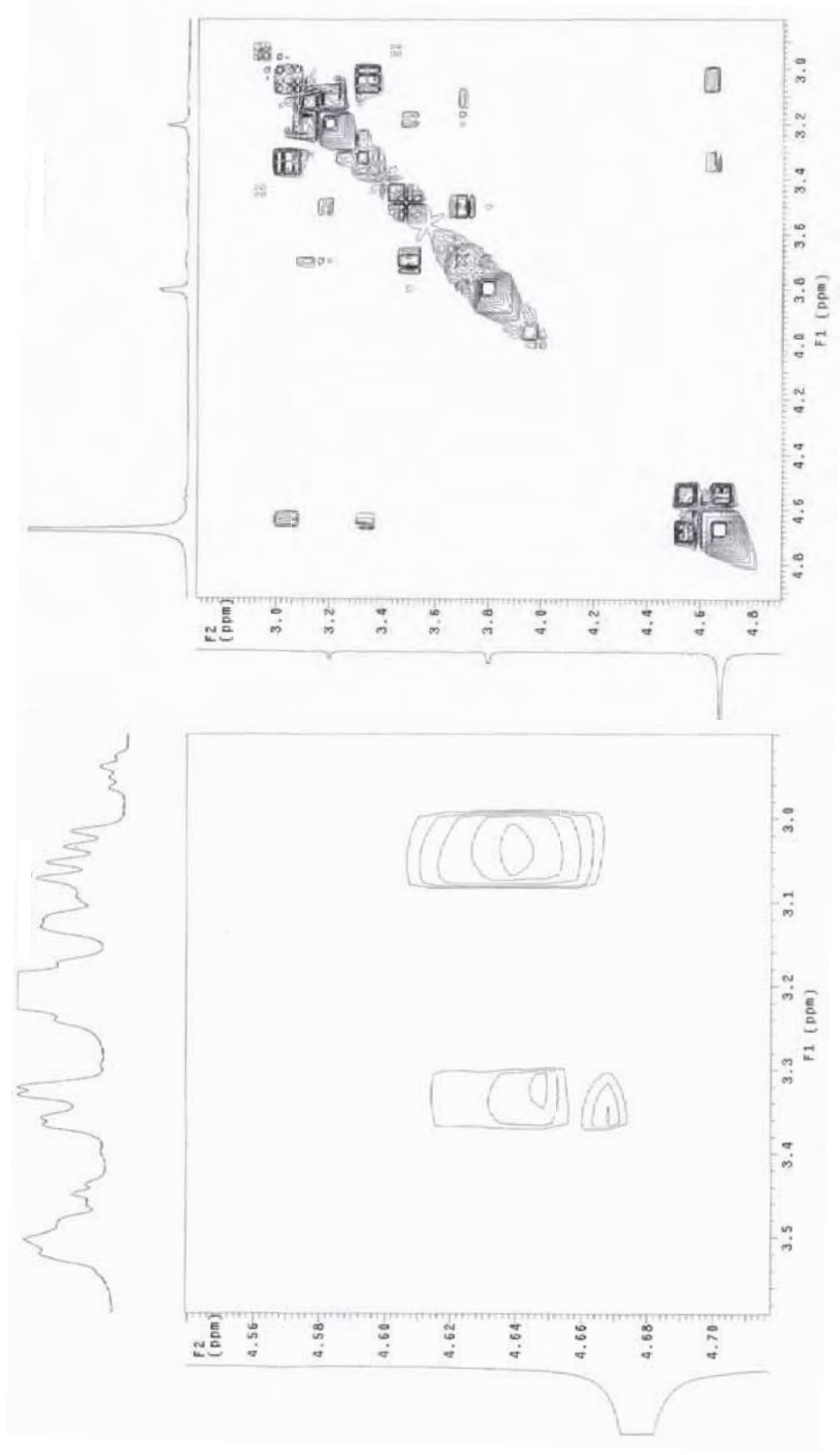


Figura 110. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **7** (D_2O , 11,7 T).



Ampliações da Figura 110.

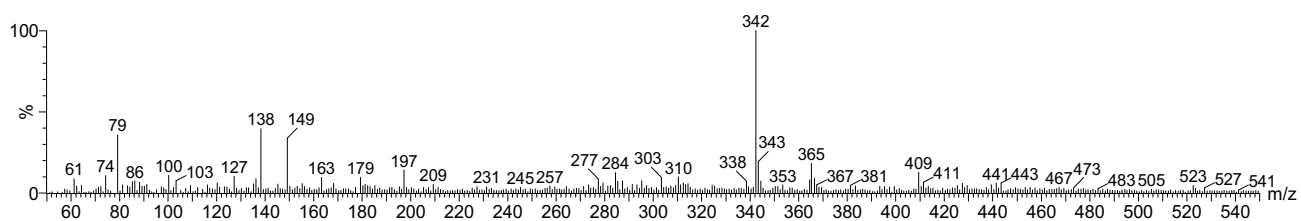


Figura 111. Espectro de massas de baixa resolução de **7** (ESI, "full scan", +30 V).

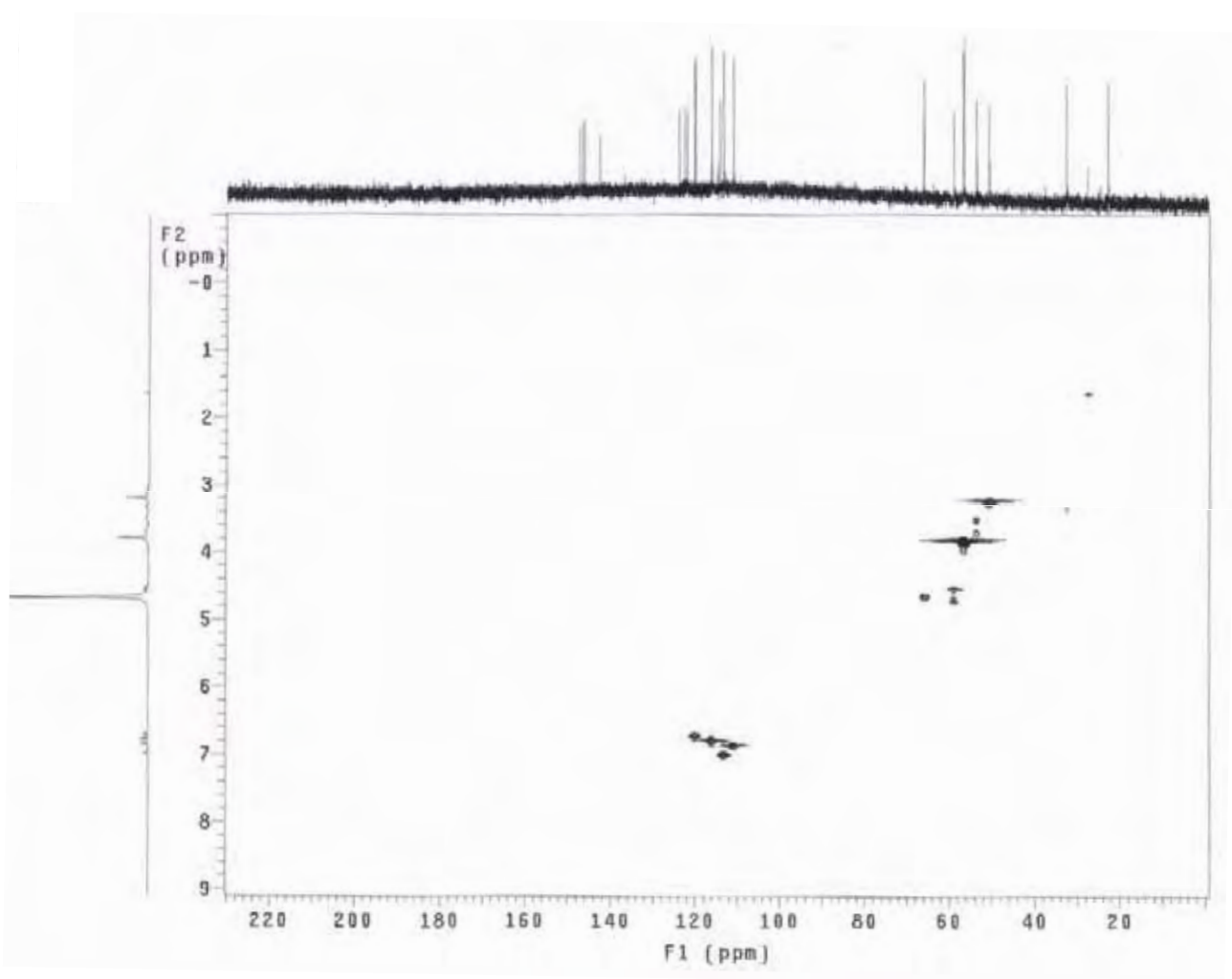
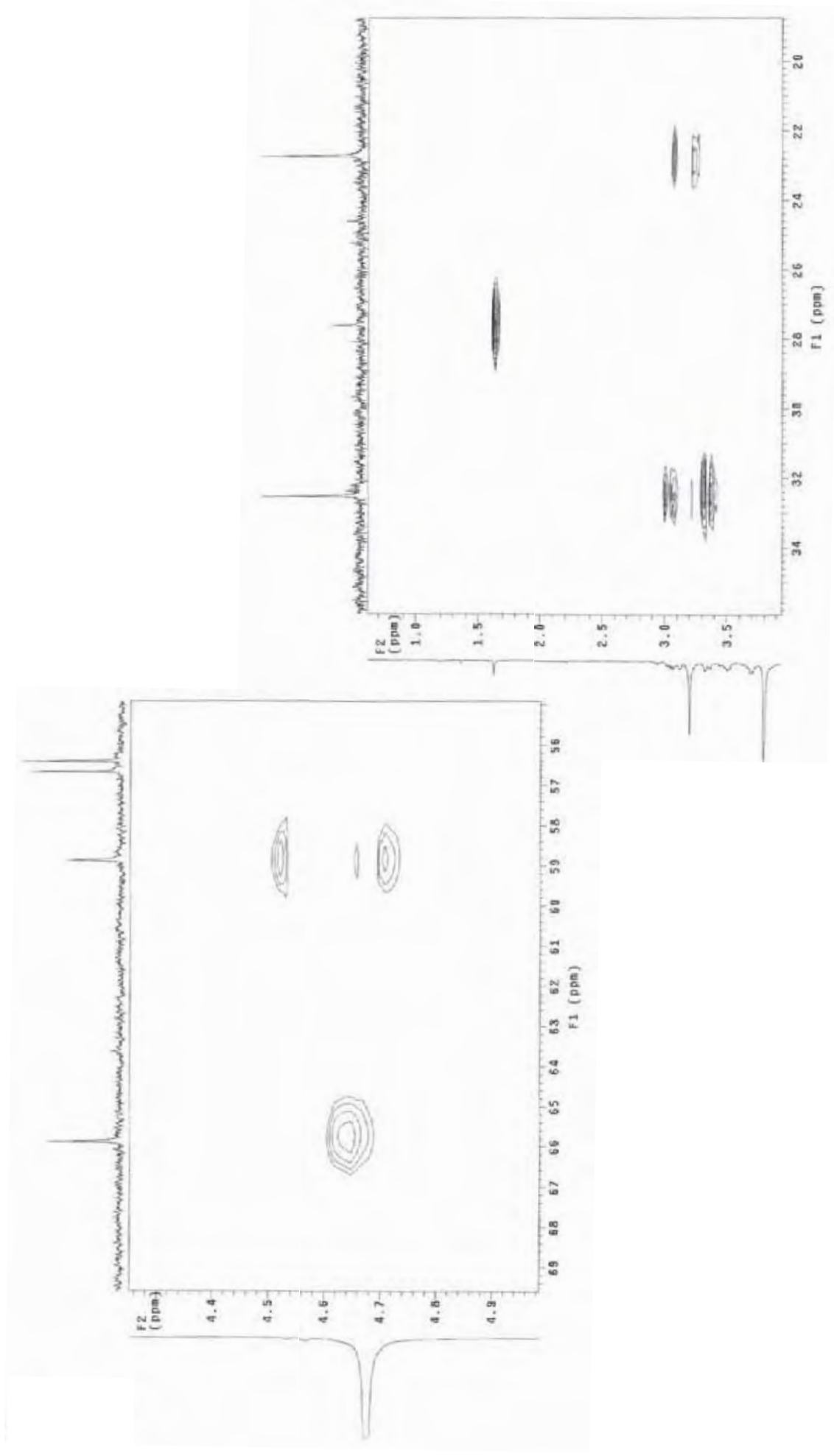


Figura 112. Mapa de contornos gHMQC de **7** (D_2O , 11,7 T).



Ampliações da Figura 112.

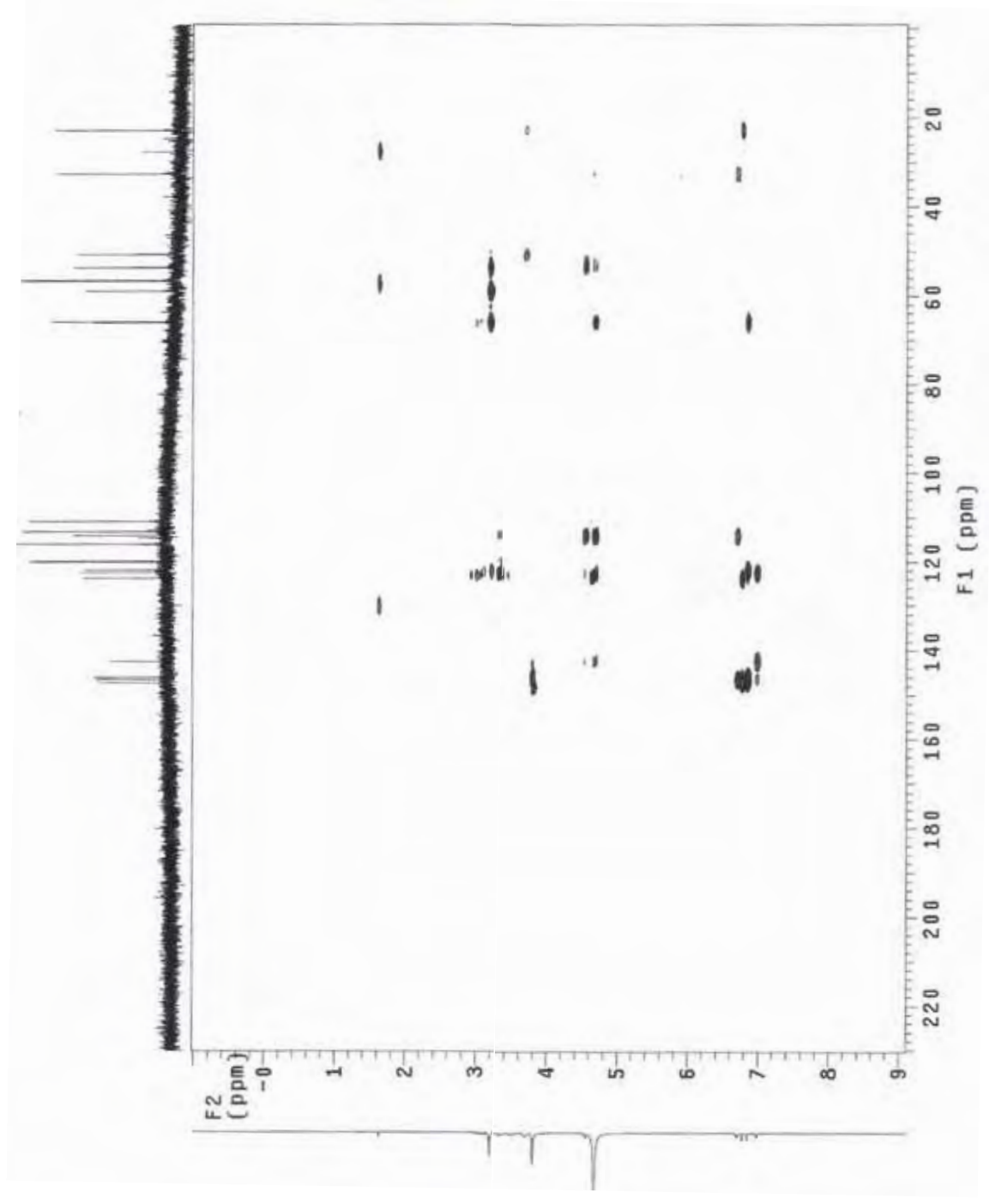
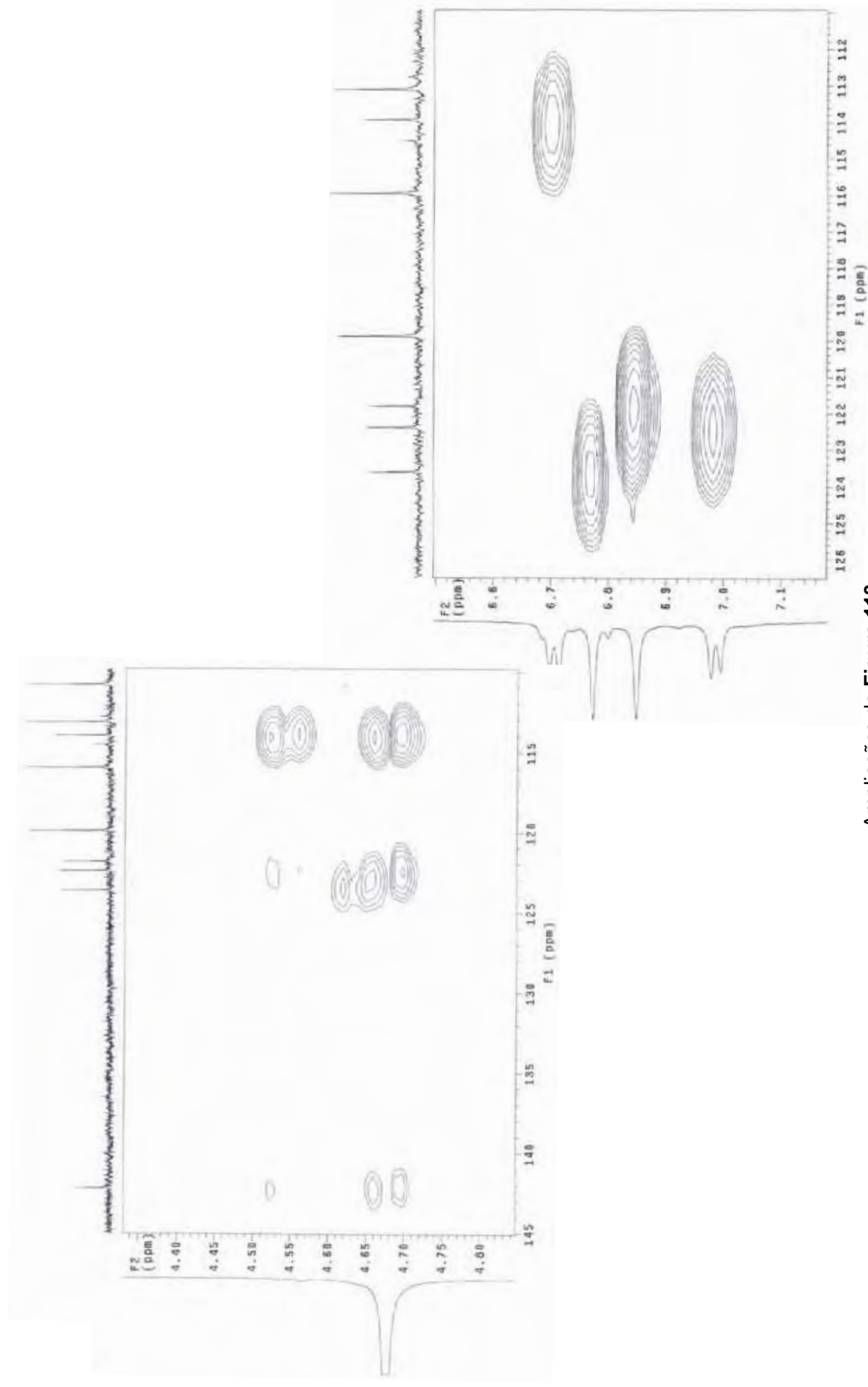
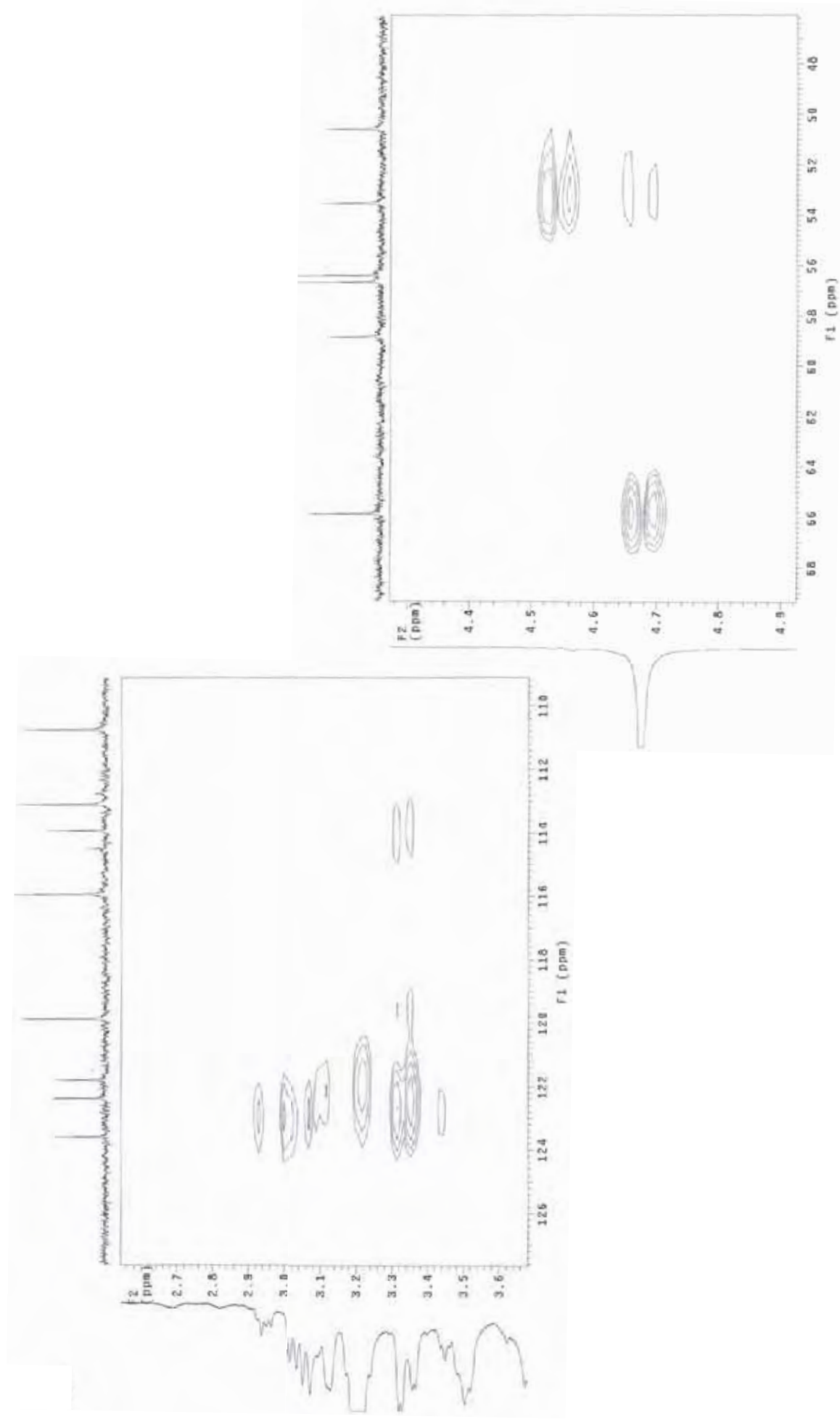


Figura 113. Mapa de contornos gHMBC de **7** (D_2O , 11,7 T).



Ampliações da Figura 113.



Ampliações da Figura 113.

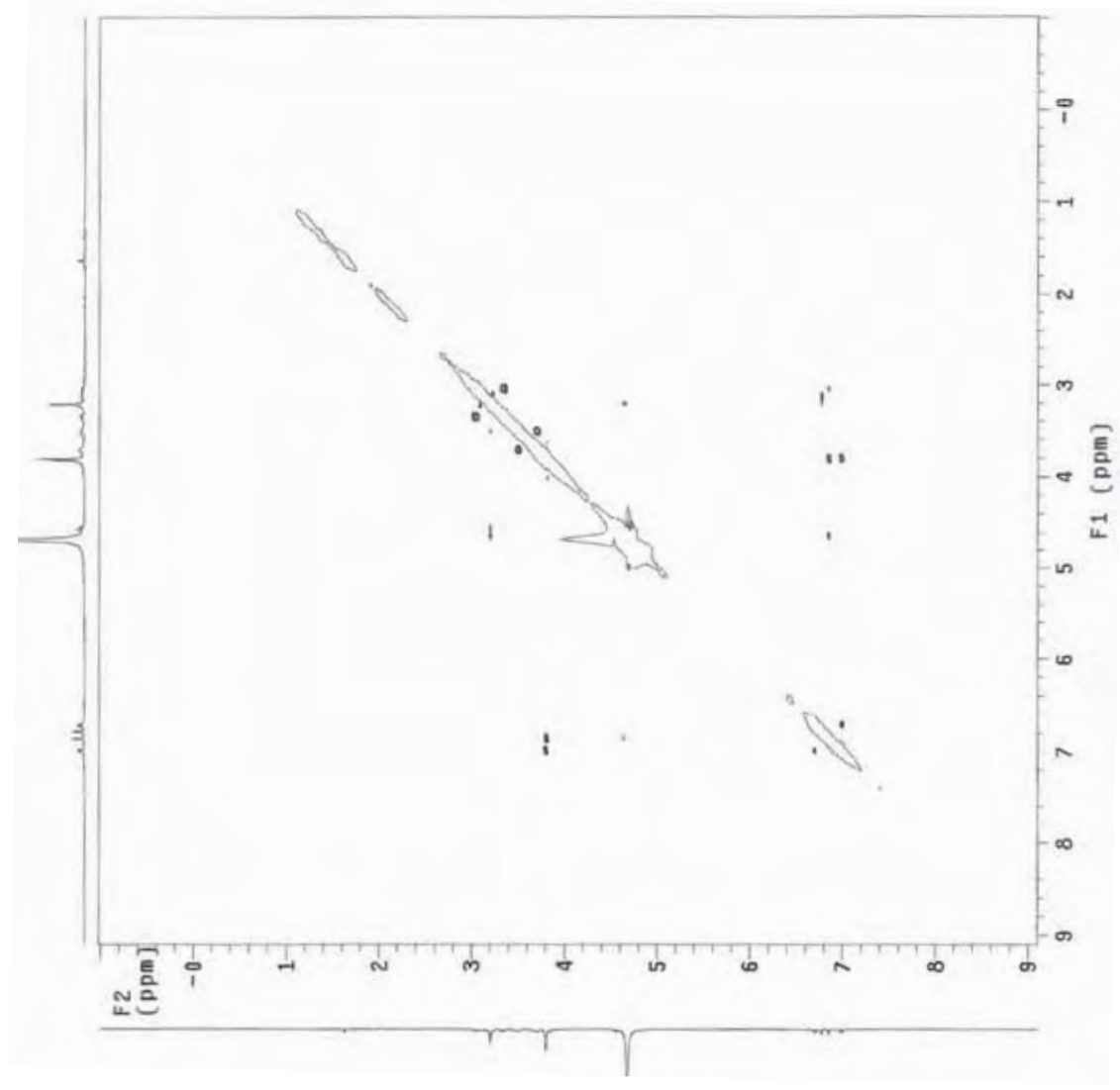
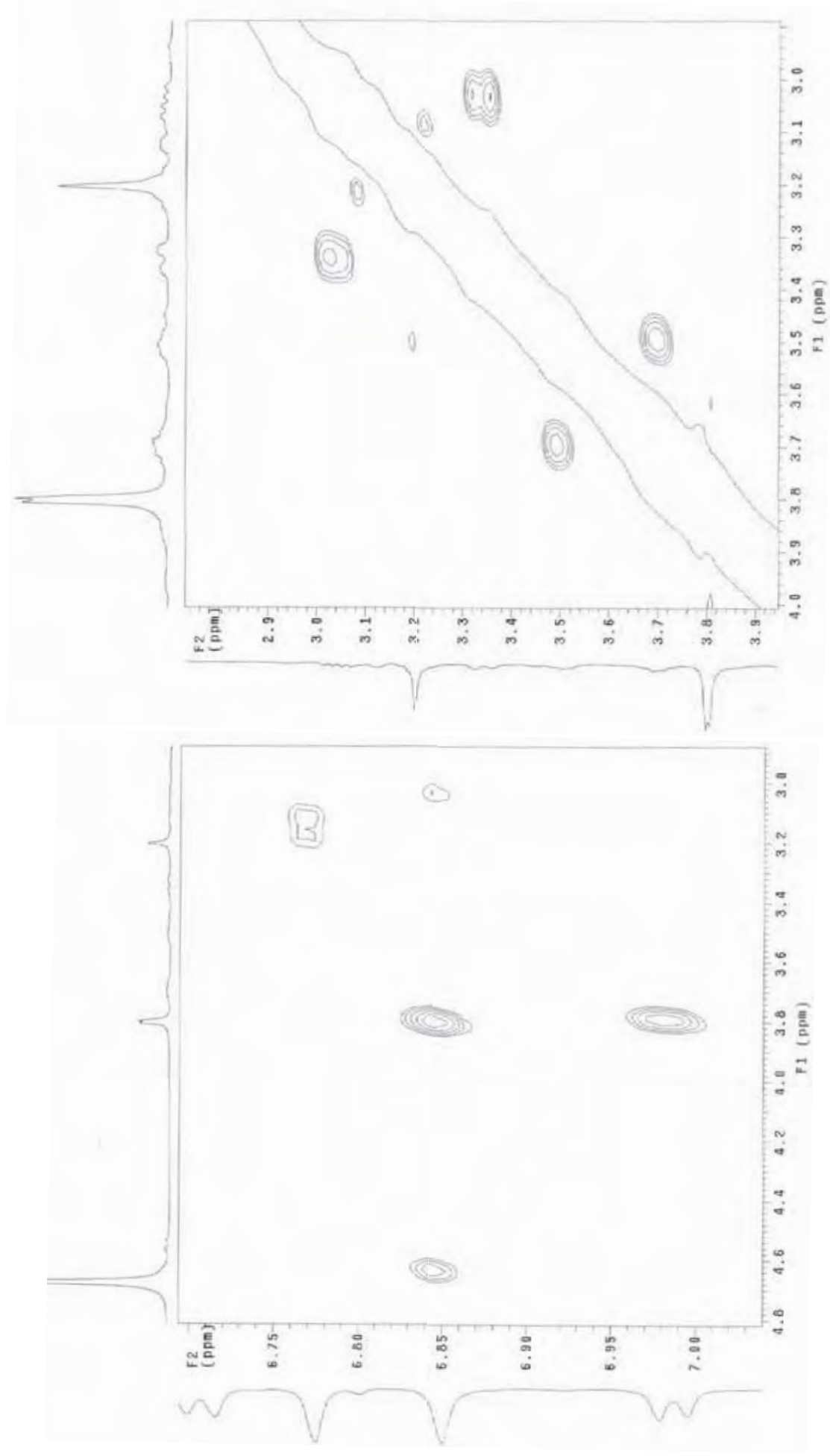


Figura 114. Espectro gNOESY 2D de **7** (D₂O, 11,7 T).



Ampliações da Figura 114.

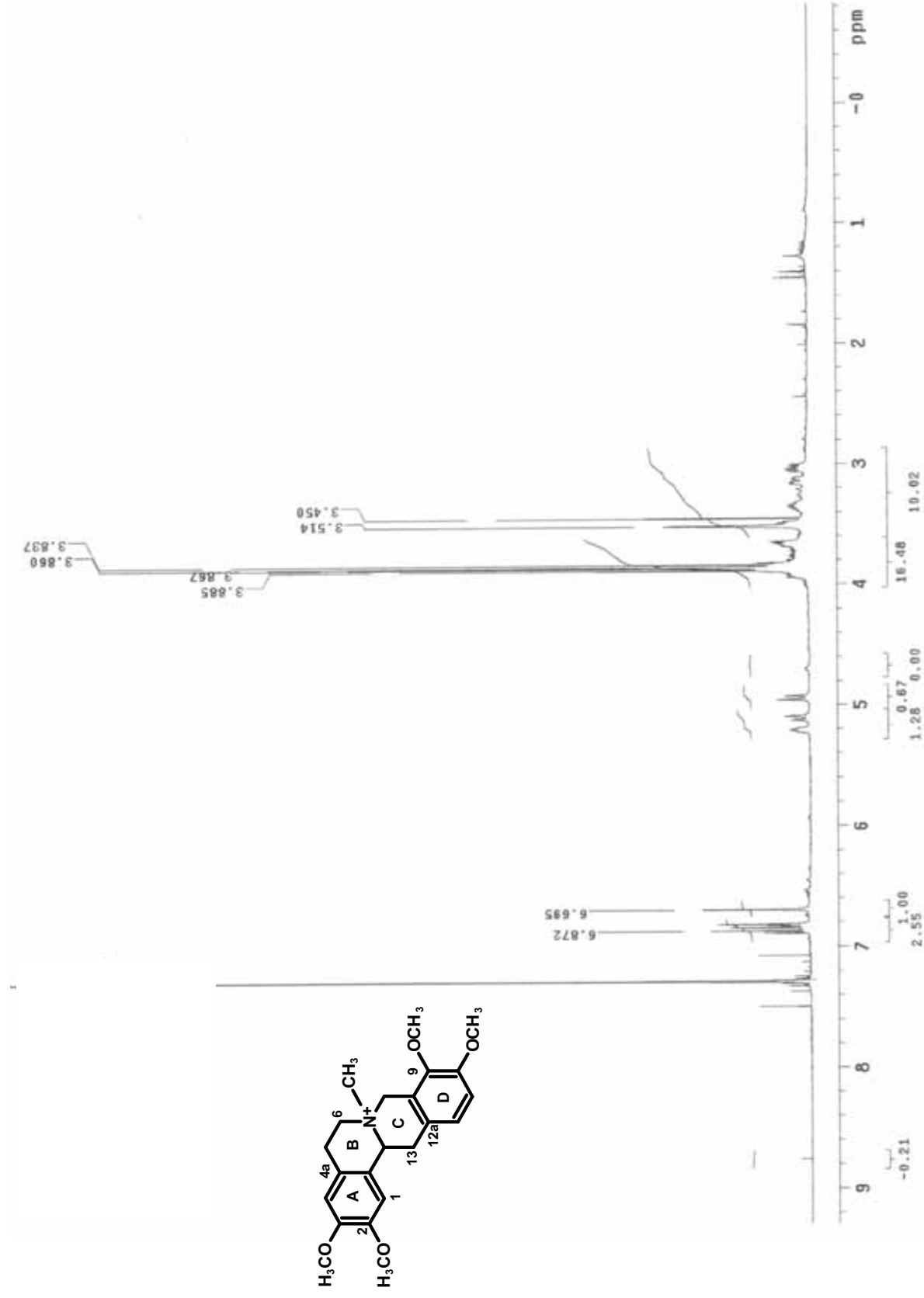
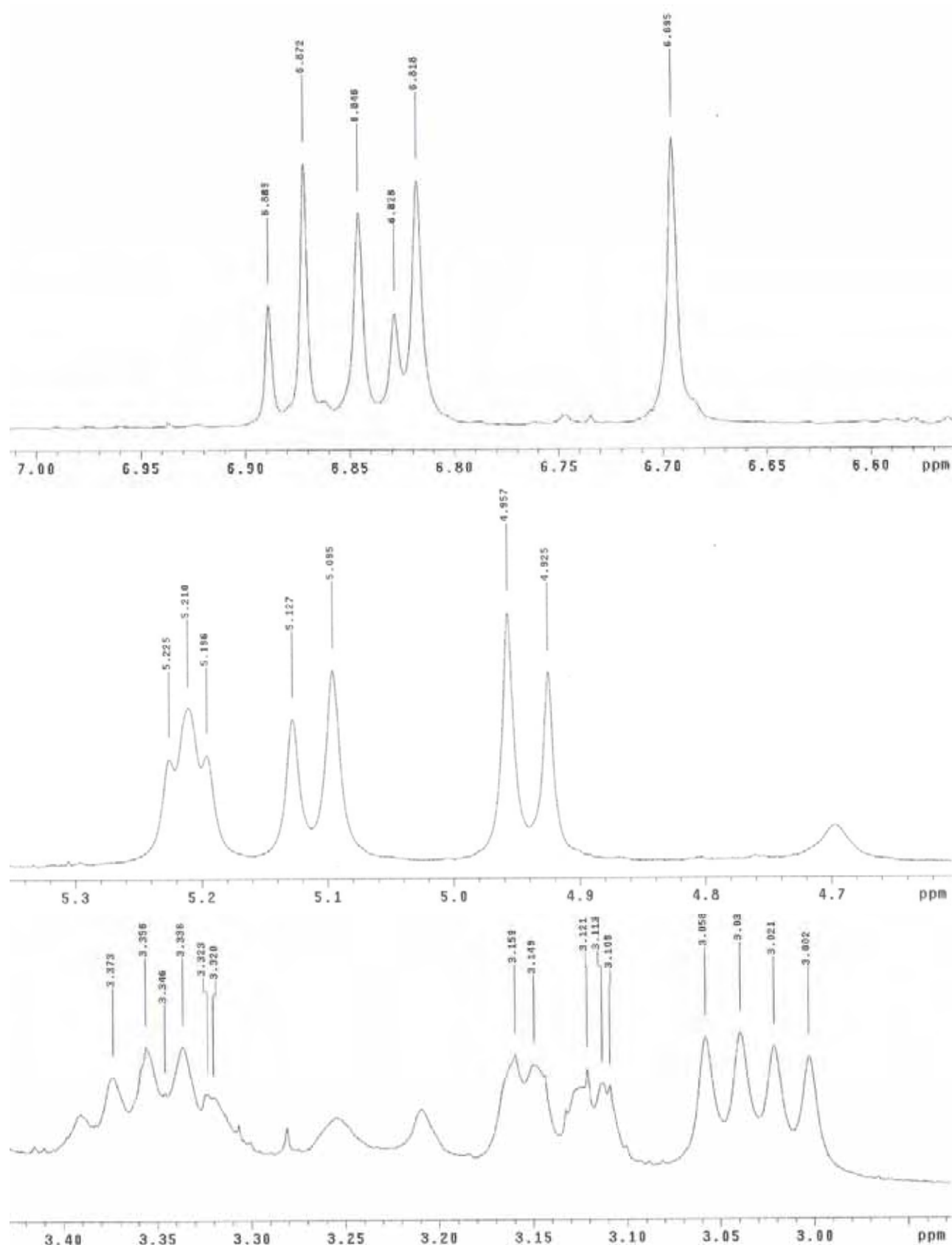


Figura 115. Espectro de RMN de ^1H de **7a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 115.

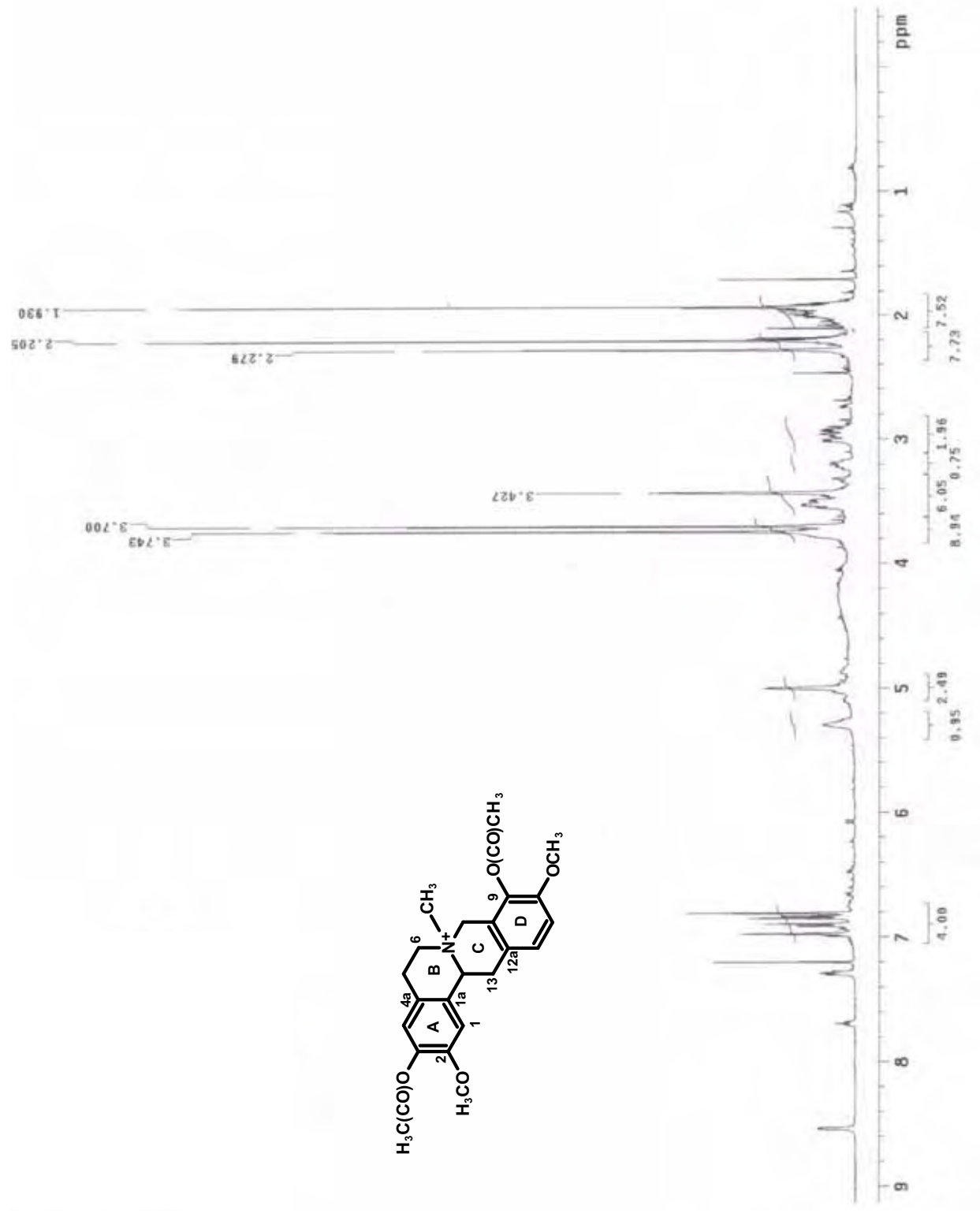
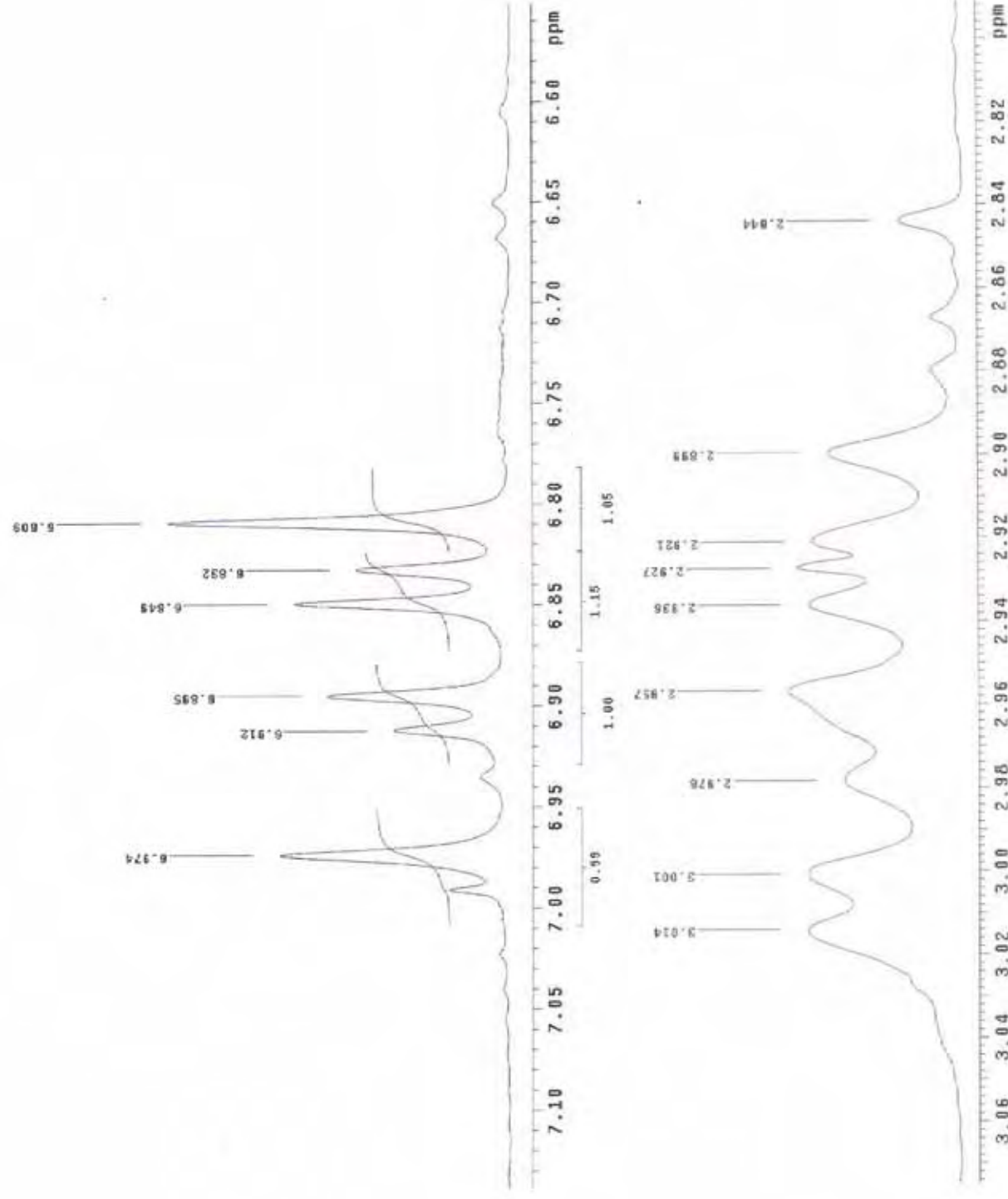


Figura 116. Espectro de RMN de ^1H de **7b** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 116.

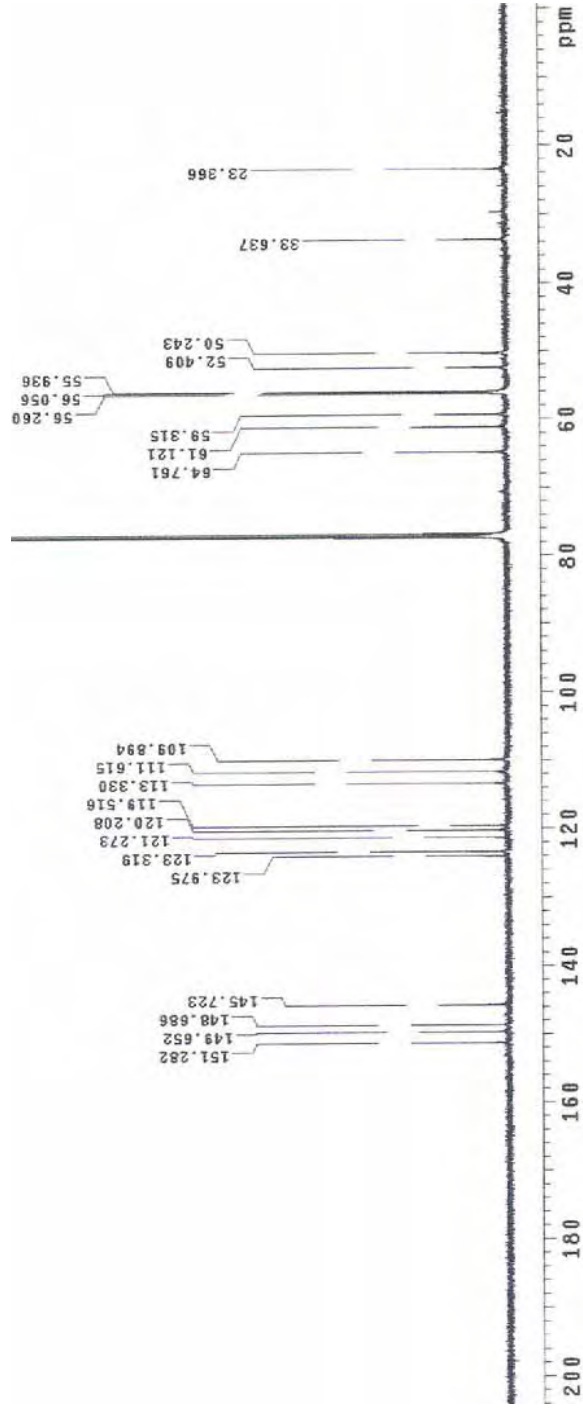


Figura 117. Espectro de RMN de ¹³C de **7a** (CDCl₃, 11,7 T).

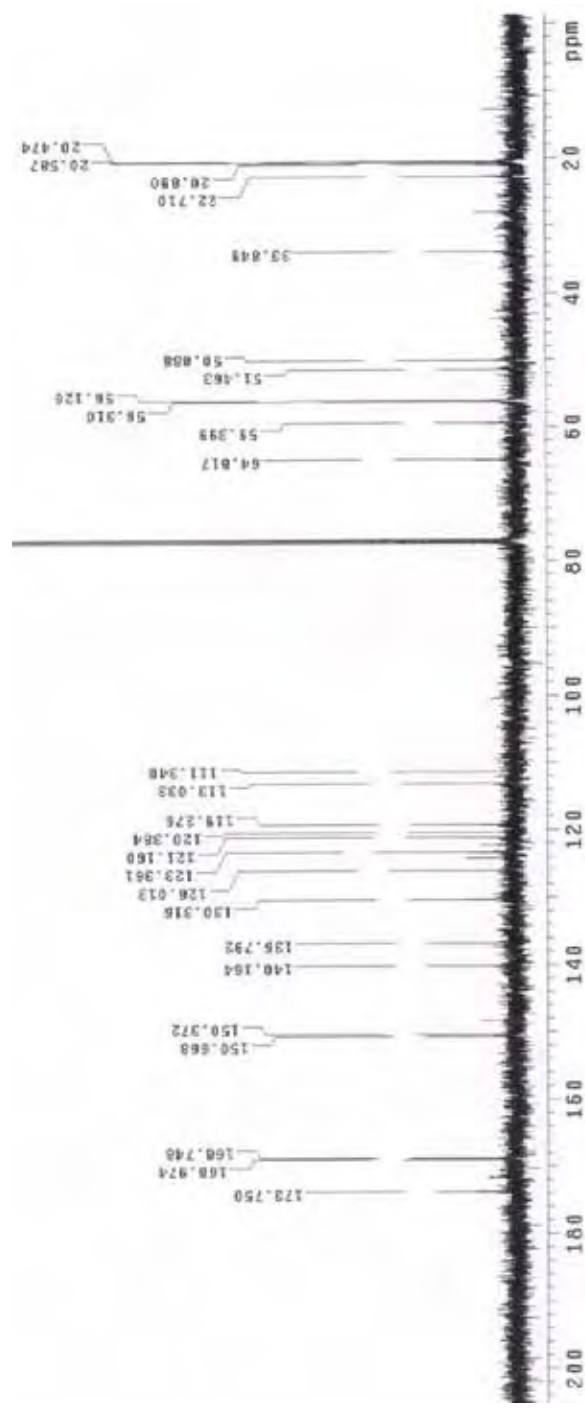


Figura 118. Espectro de RMN de ¹³C de **7b** (CDCl₃, 11,7 T).

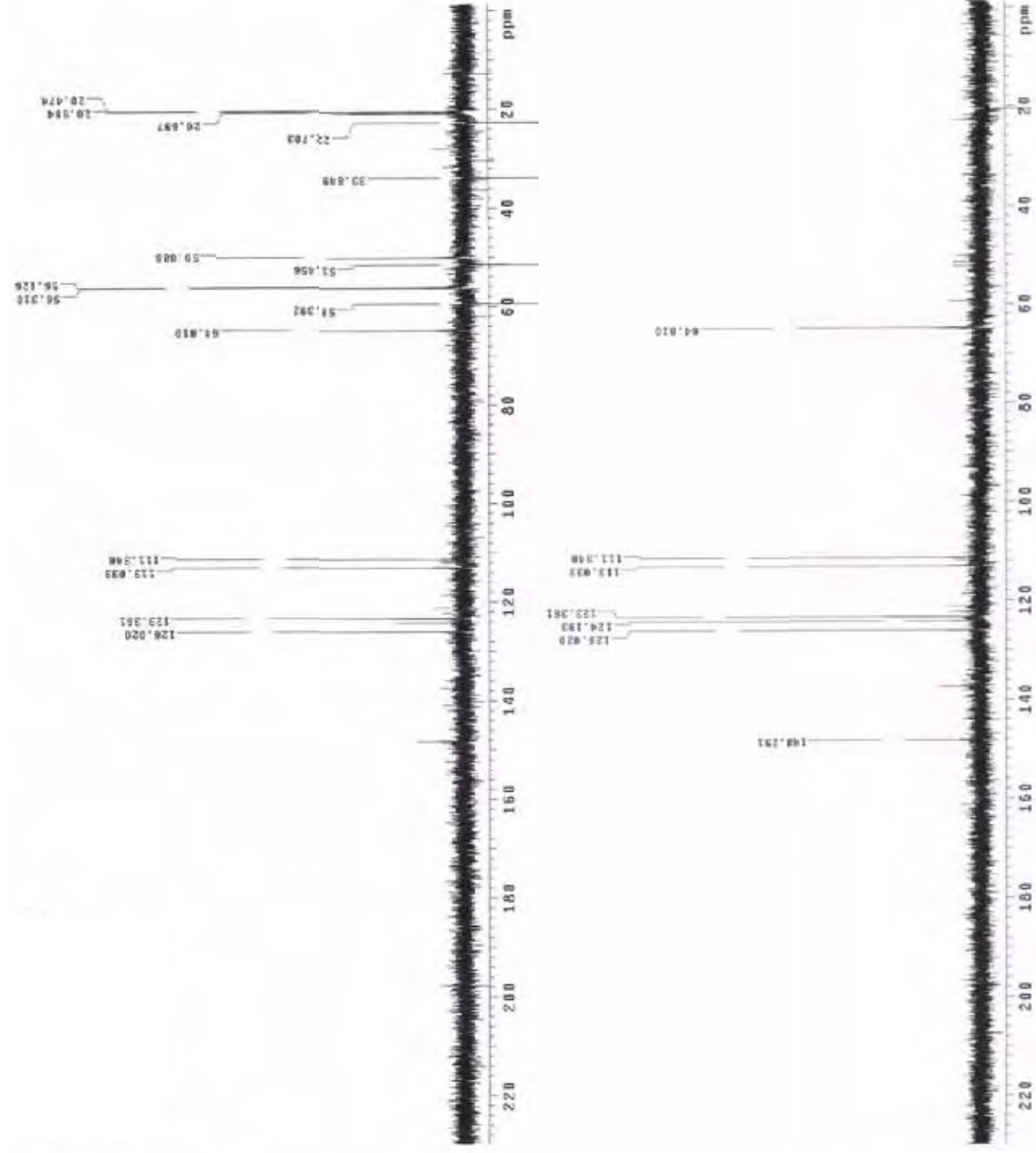


Figura 119. Espectros DEPT 135° e 90° de **7b** (CDCl_3 , 11,7 T).

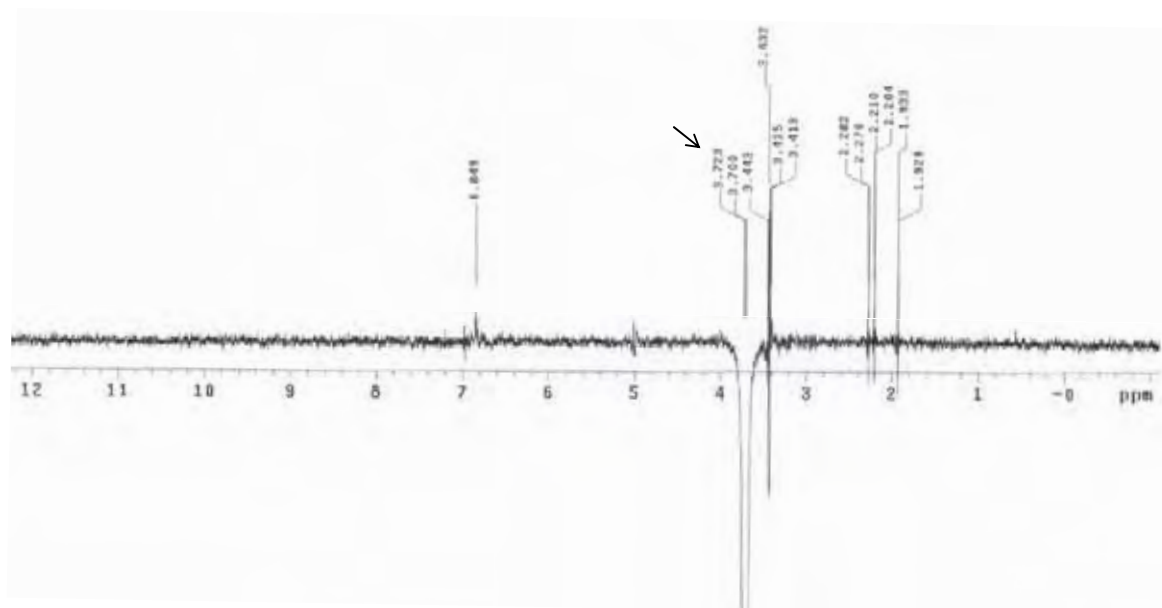


Figura 120. Espectro gNOESY 1D de **7b** irradiando em δ 3,70 (CDCl_3 , 11,7 T).

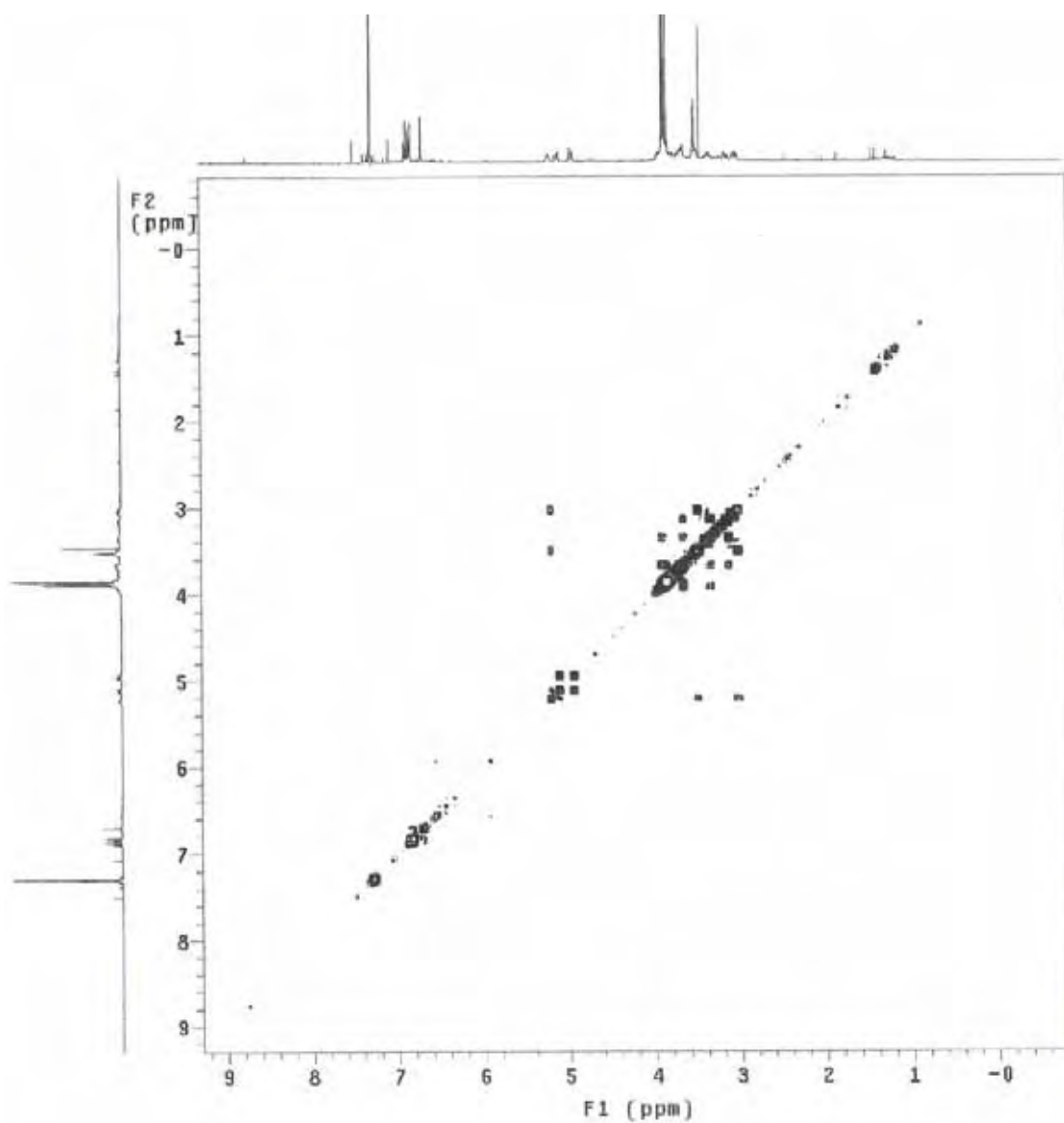
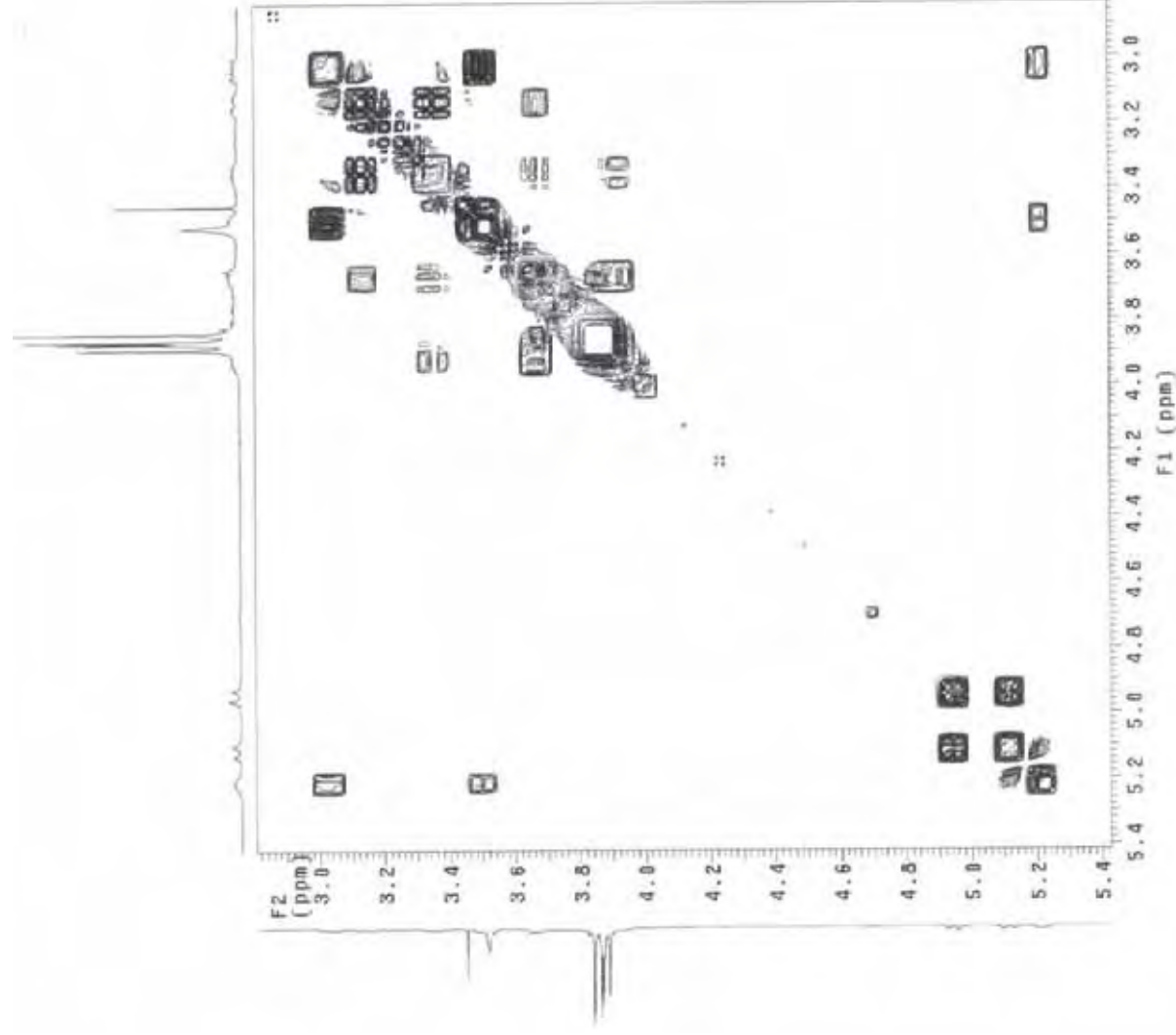


Figura 121. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **7a** com ampliação (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliação da Figura 121.

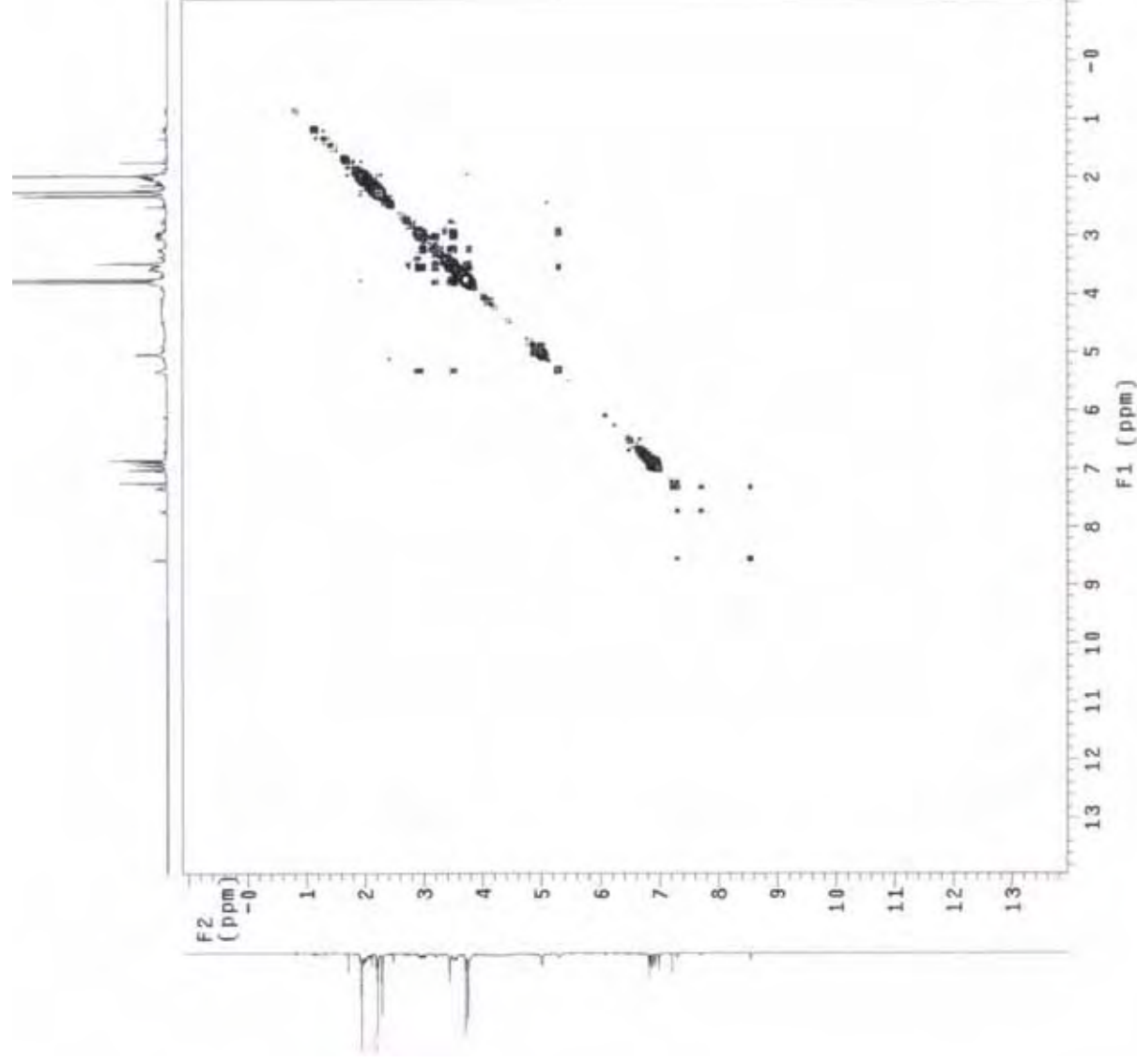
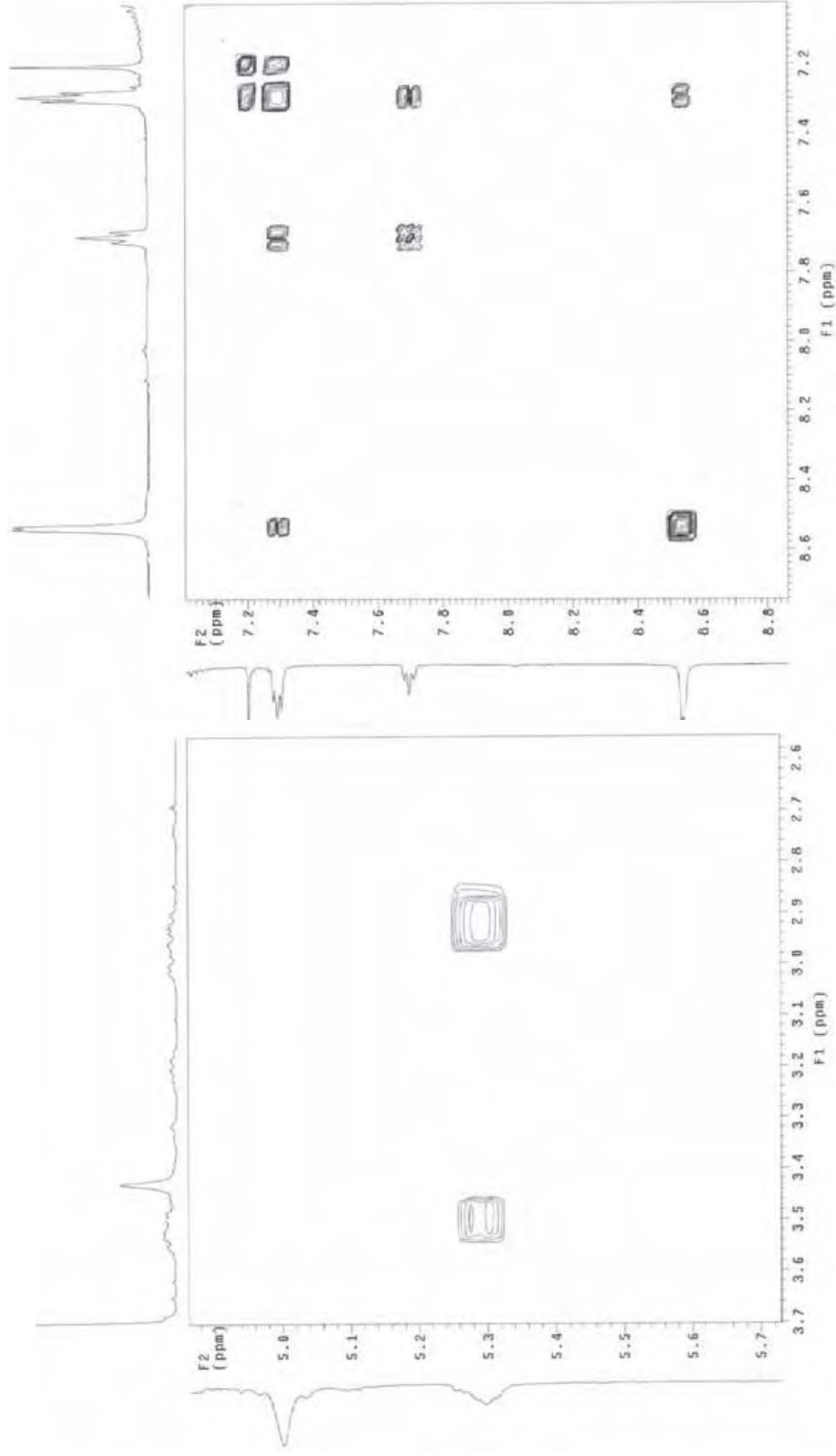


Figura 122. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **7b** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 122.

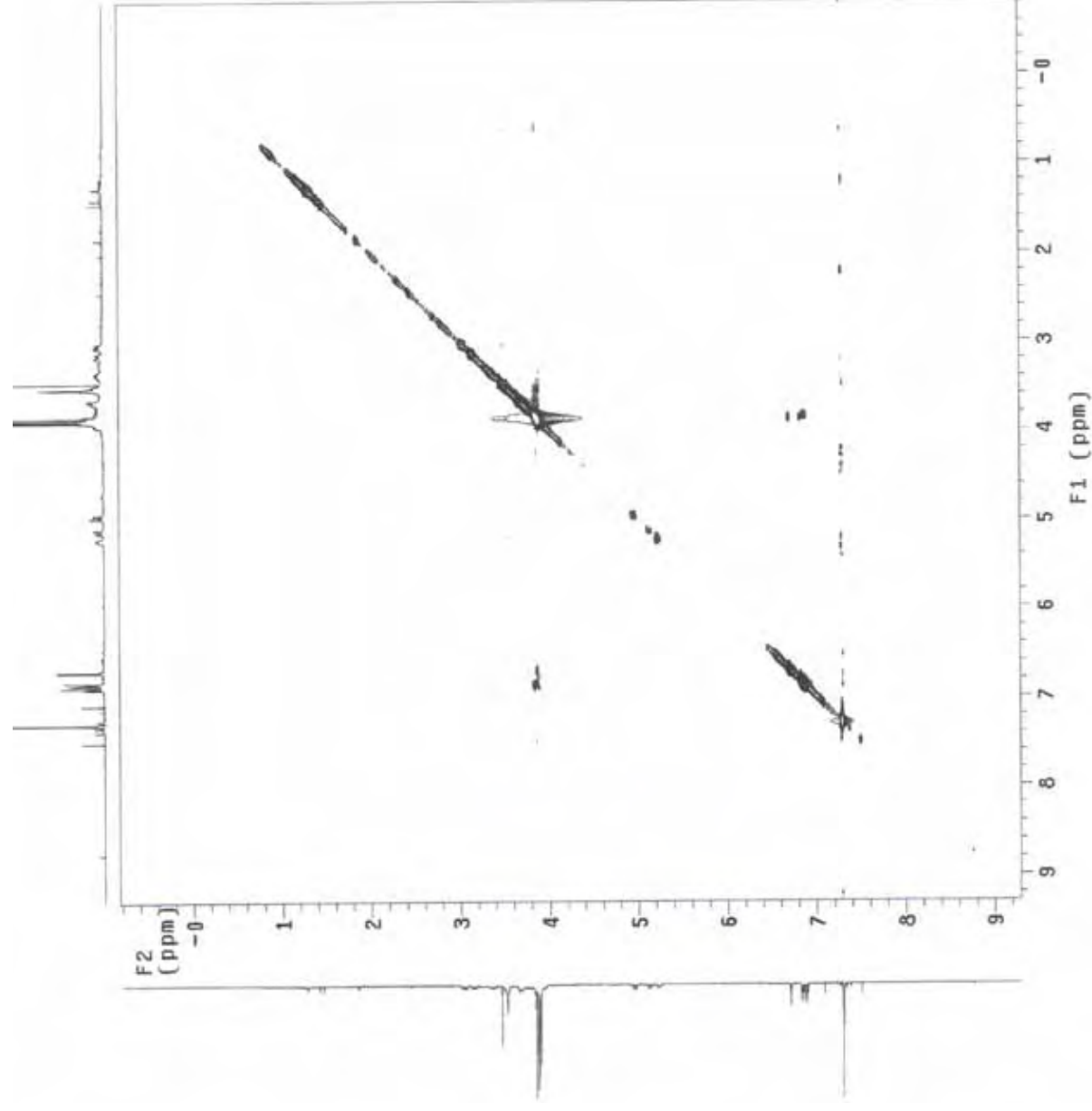
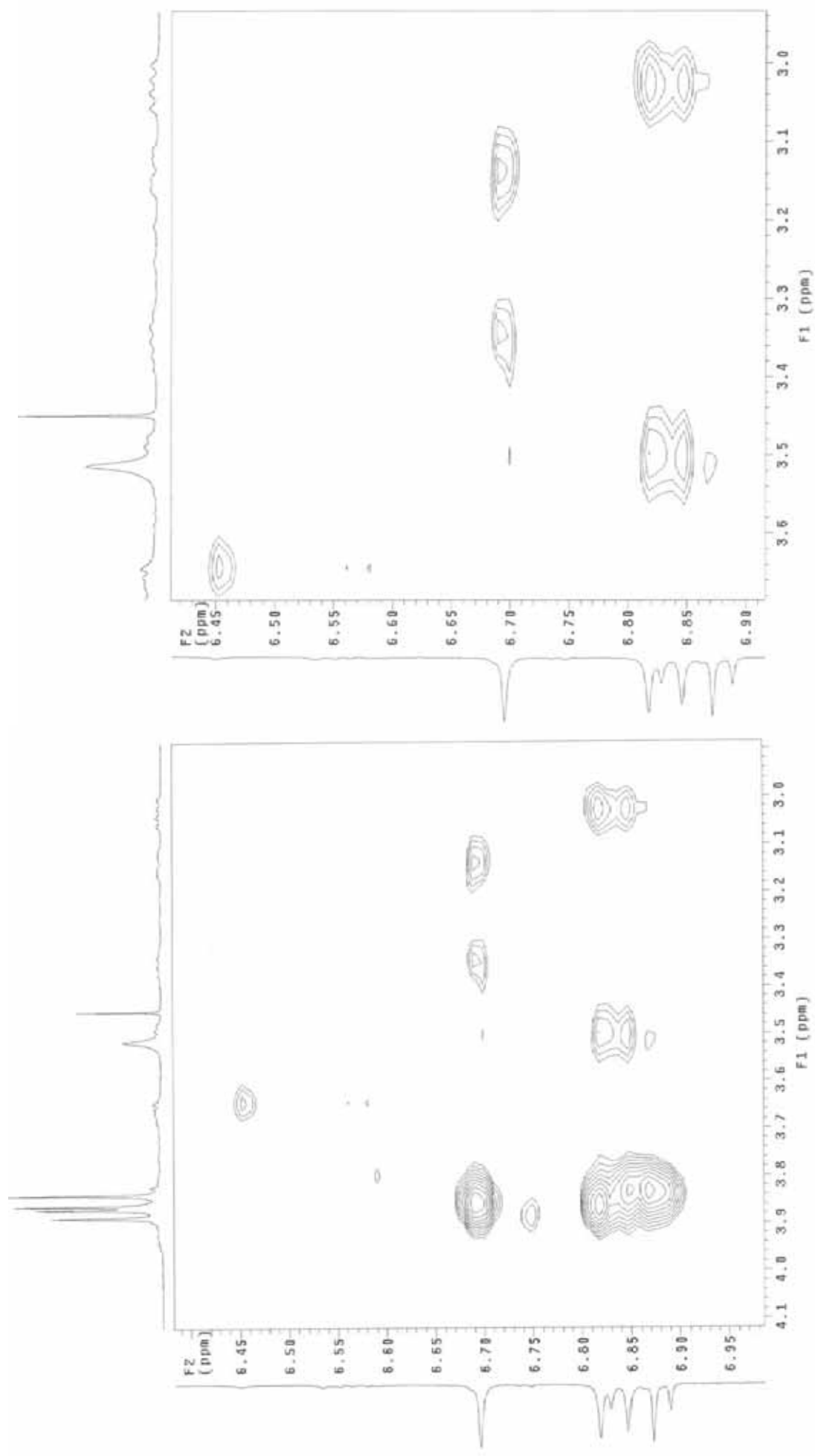


Figura 123. Espectro gNOESY 2D de **7a** (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 123.

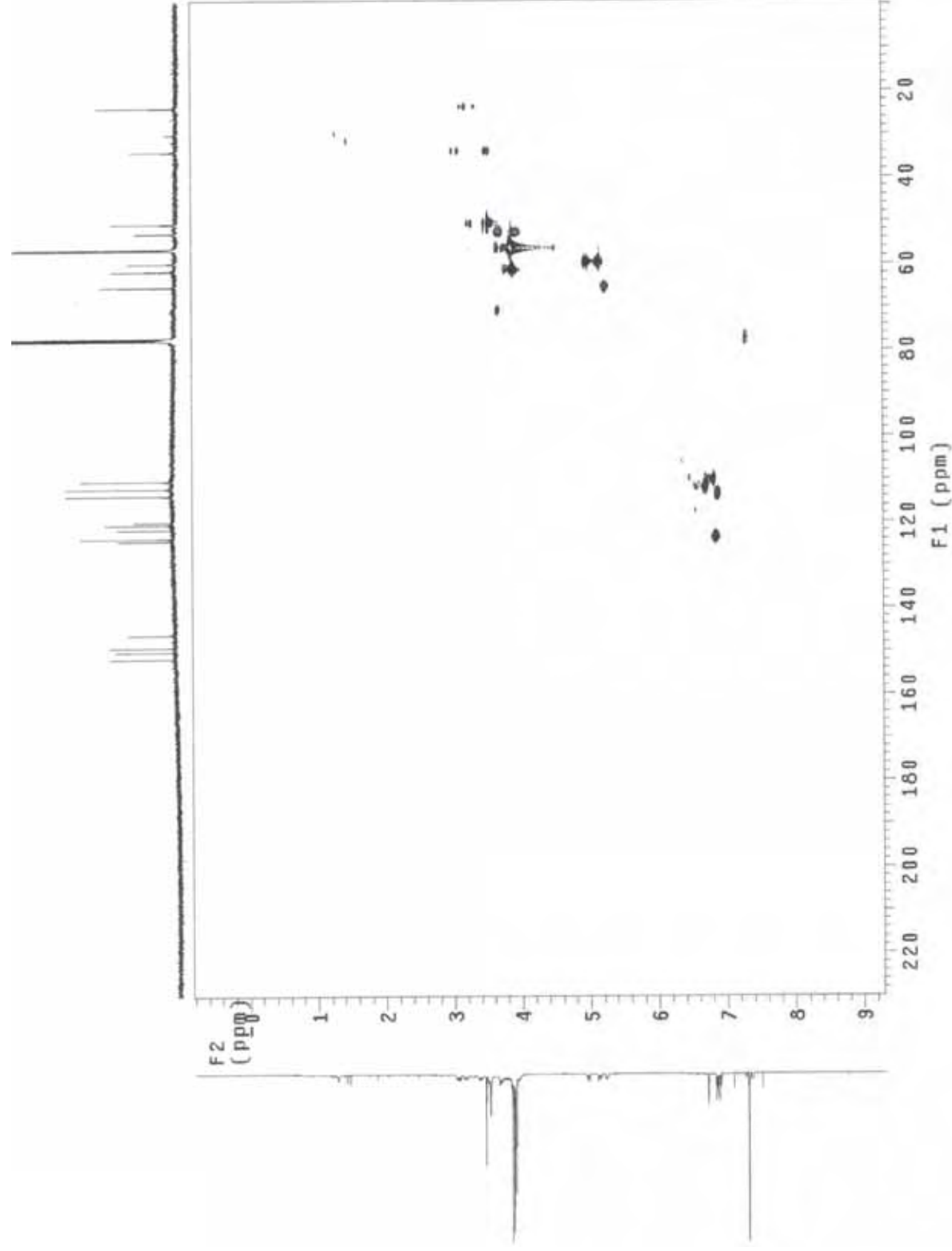
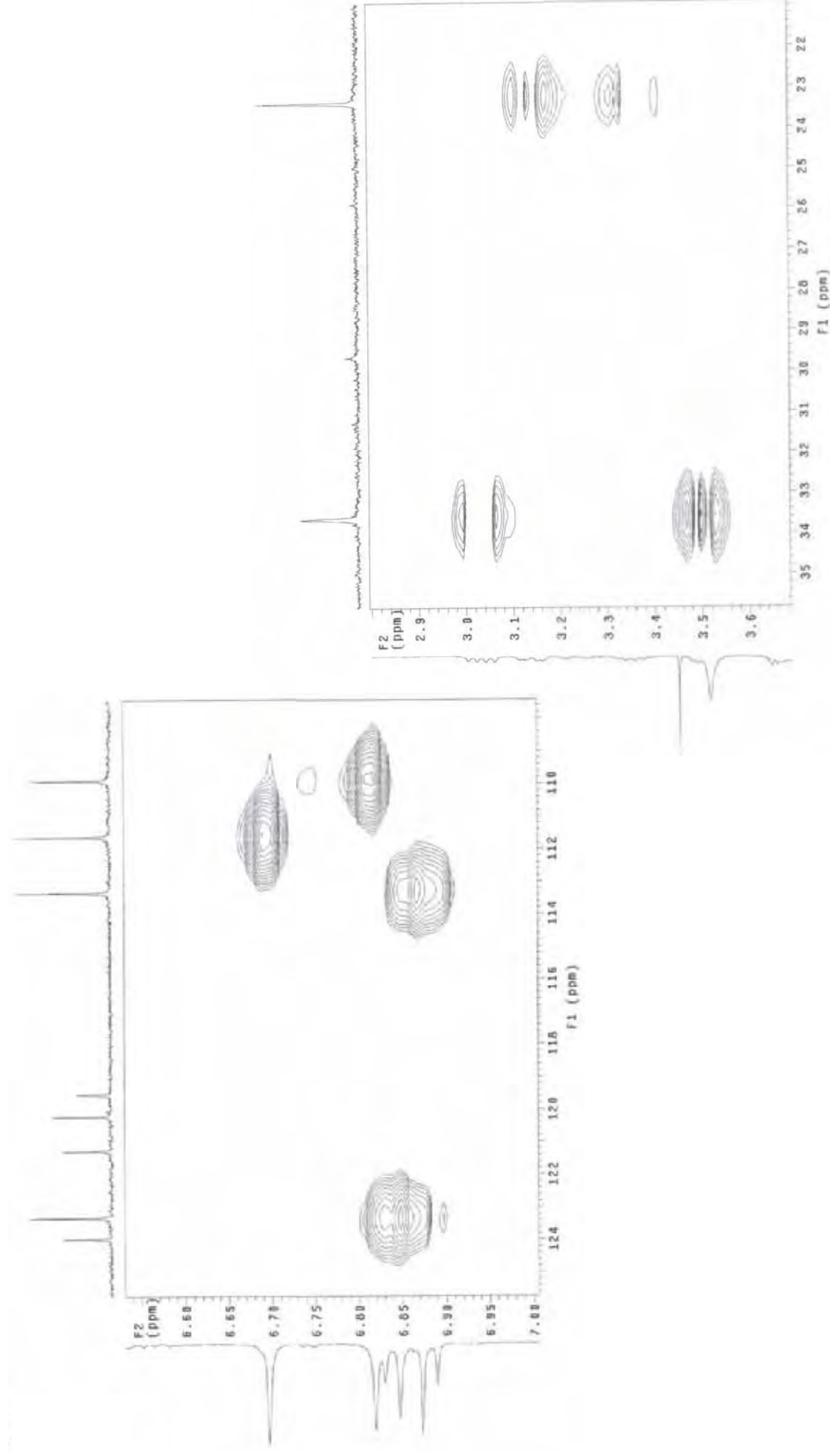


Figura 124. Mapa de contornos gHMQC de **7a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 124.

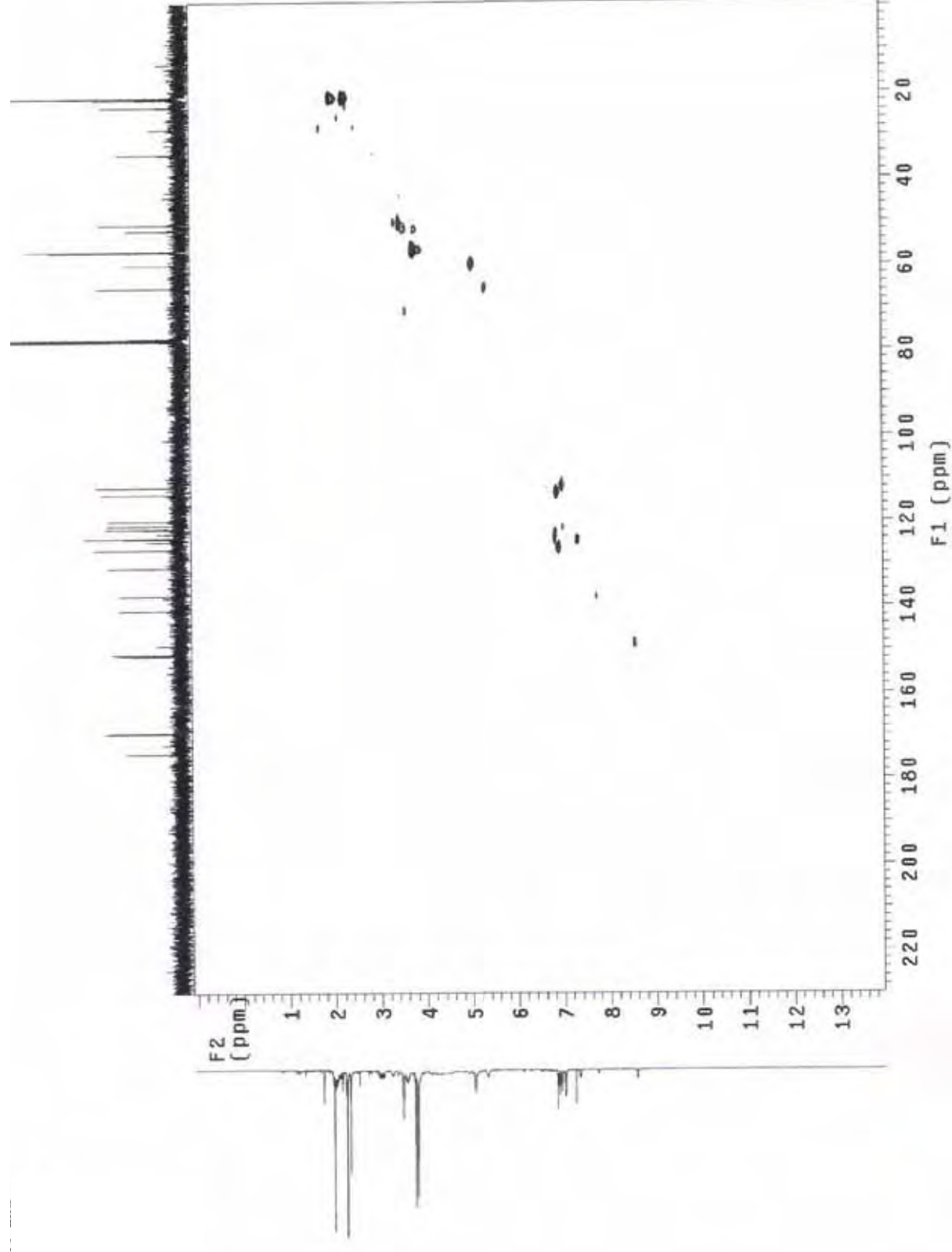
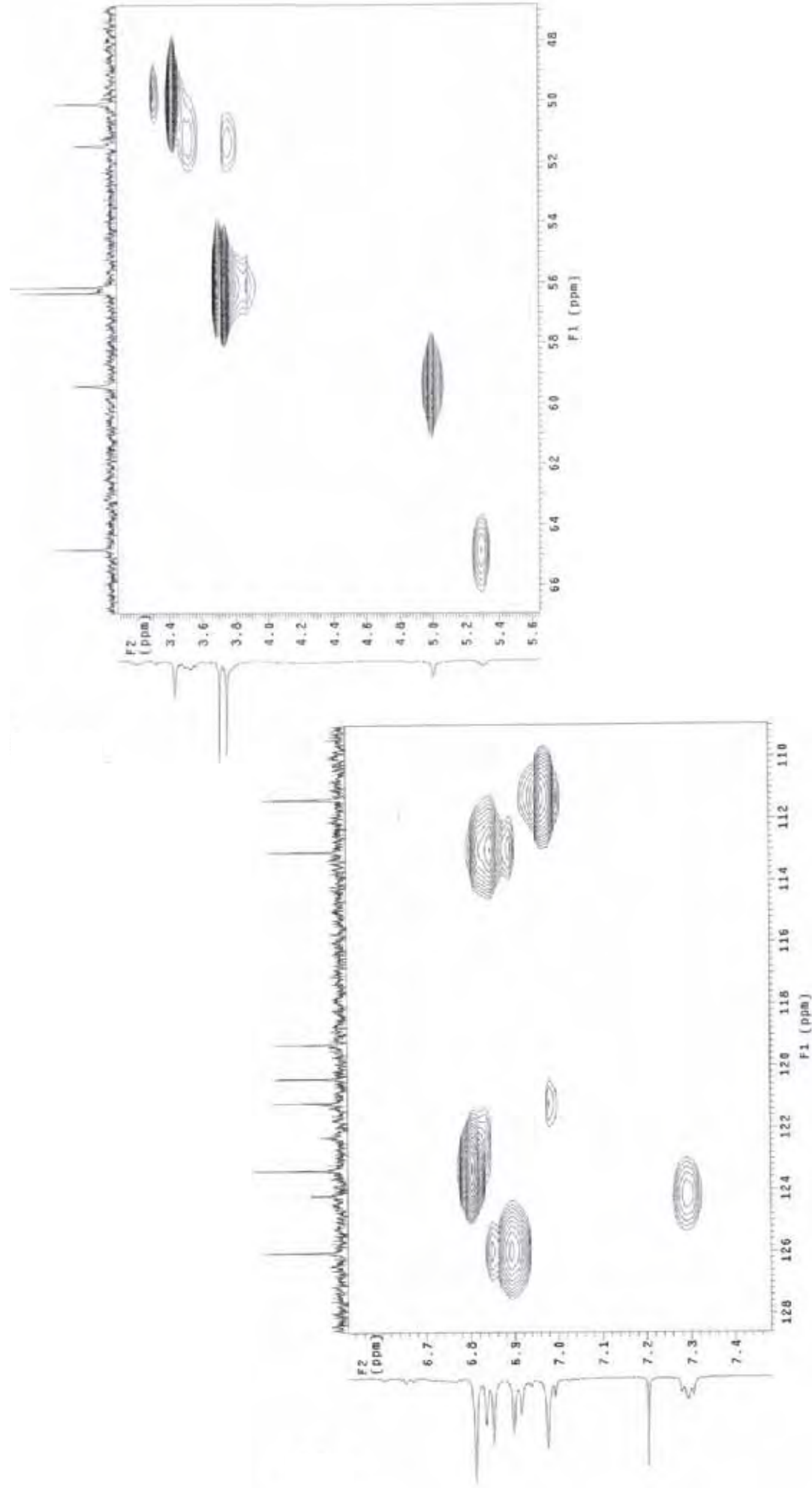


Figura 125. Mapa de contornos gHMQC de **7b** (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 125.

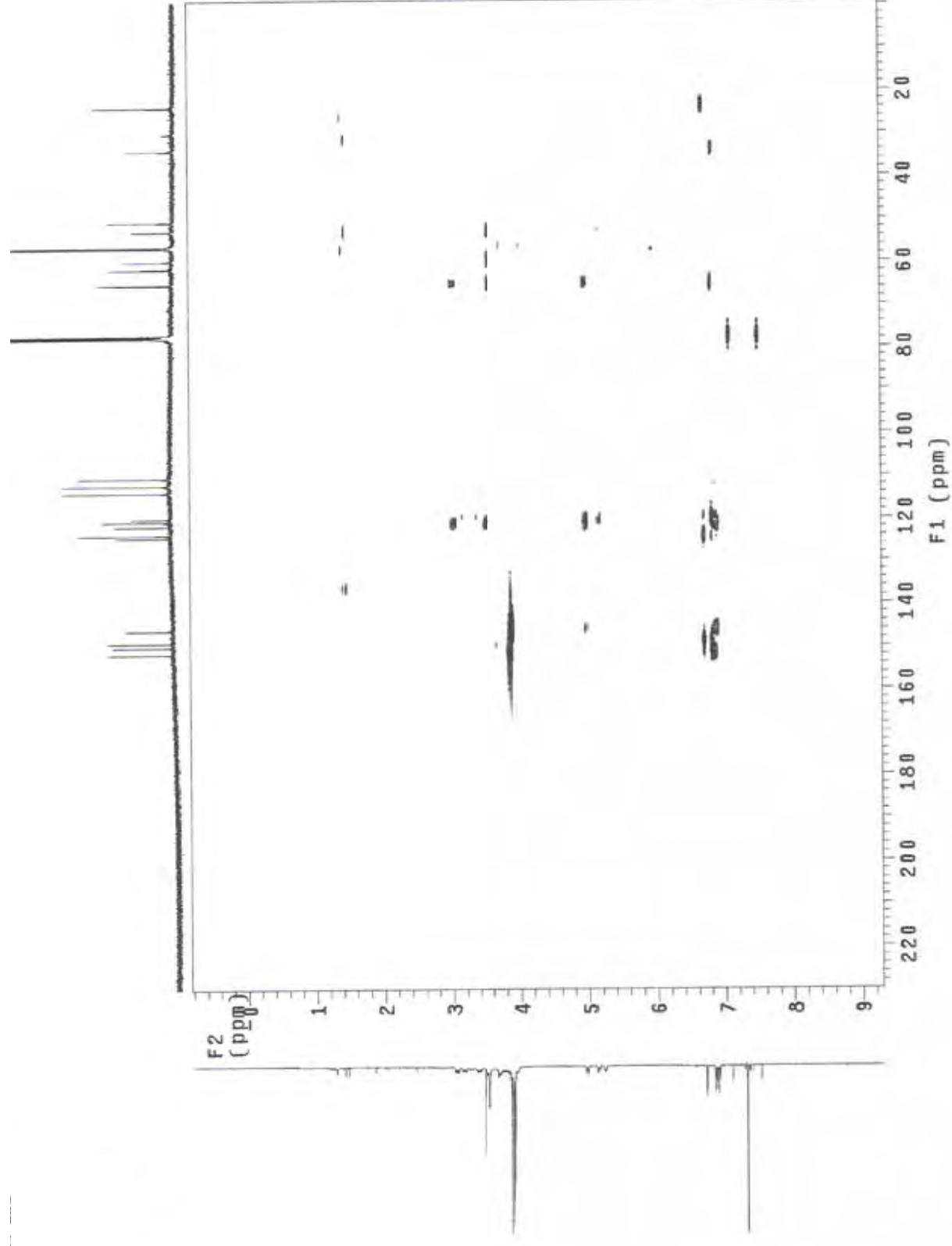
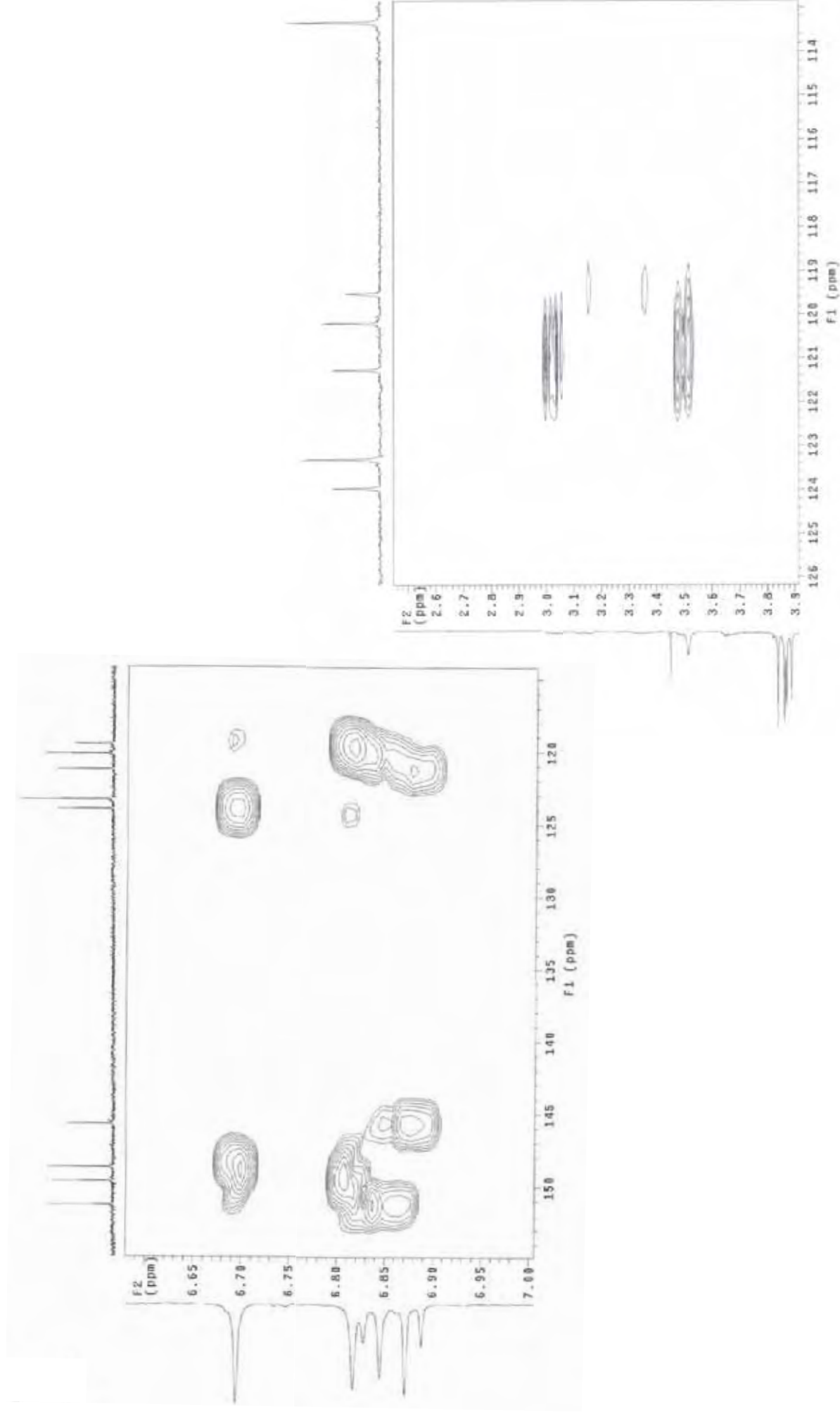
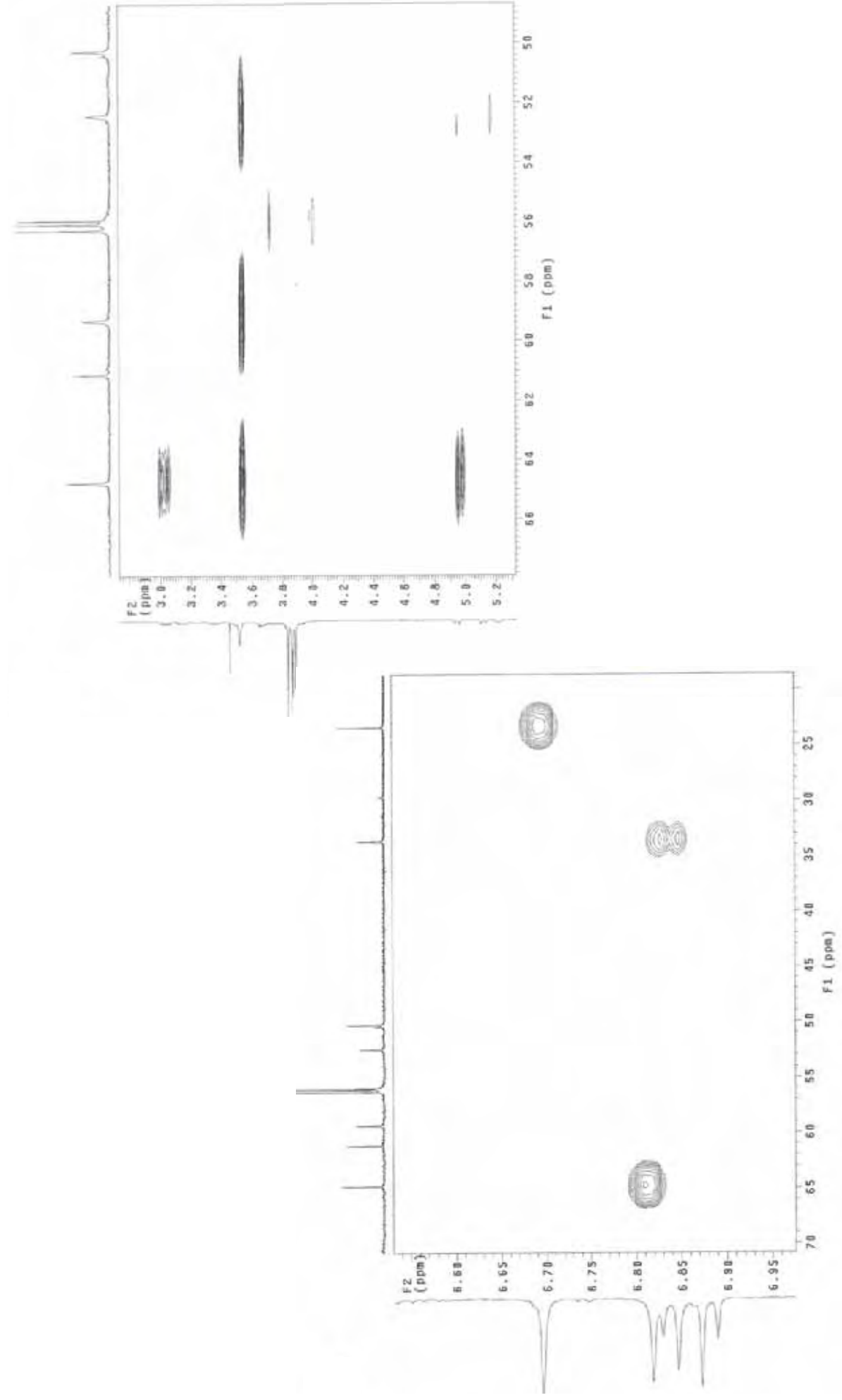


Figura 126. Mapa de contornos gHMBC de **7a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 126.



Ampliações da Figura 126.

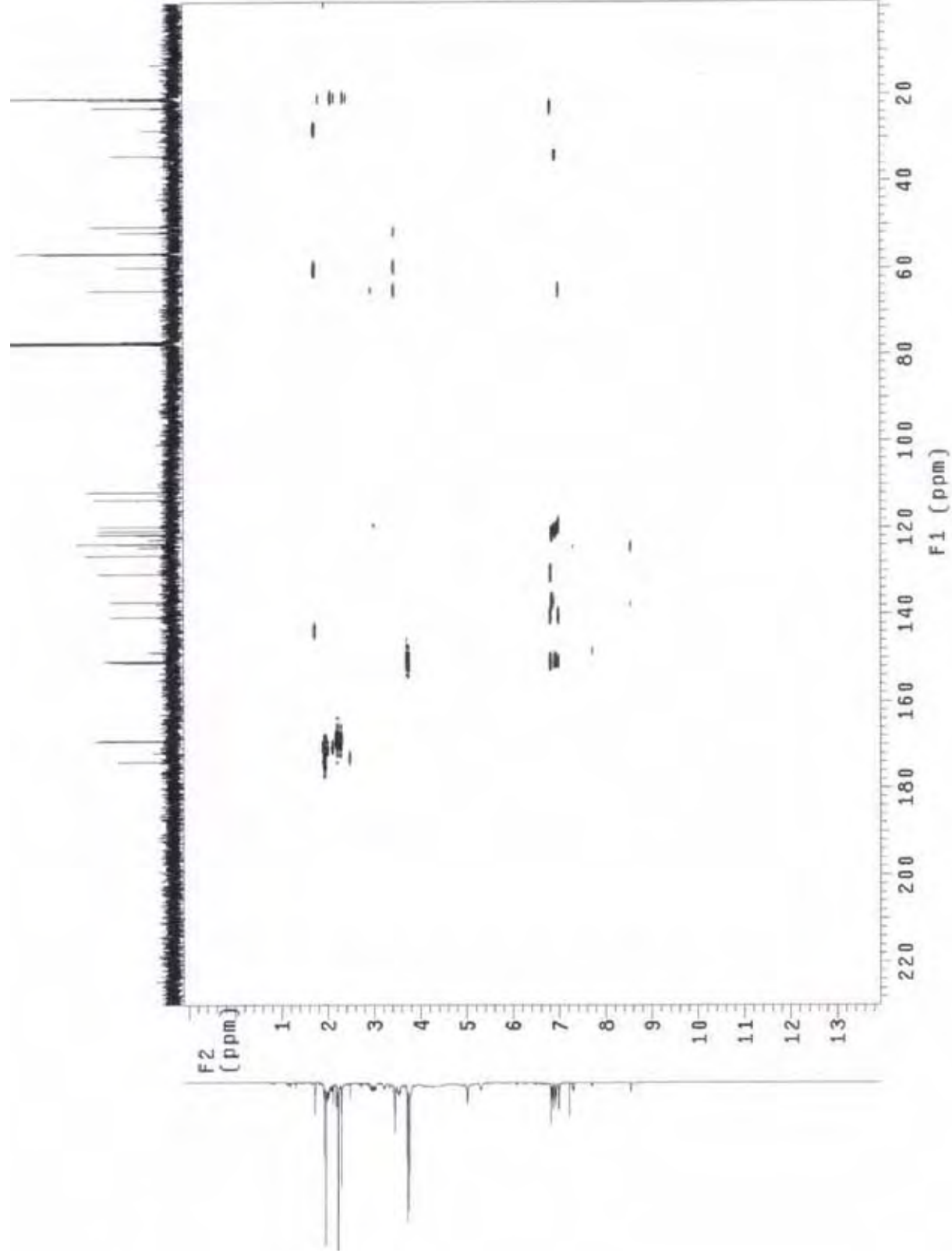
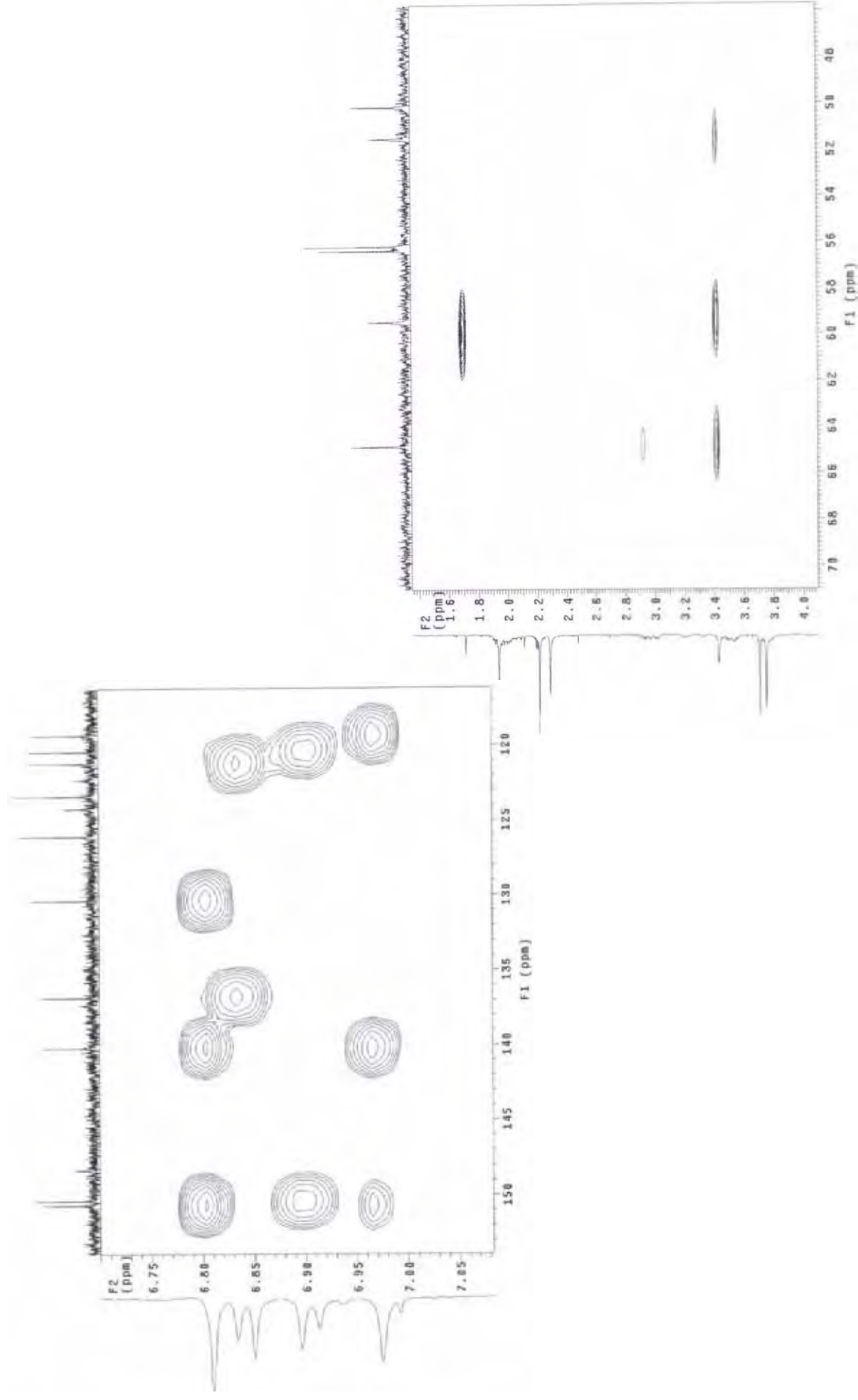


Figura 127. Mapa de contornos gHMBC de **7b** (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 127.

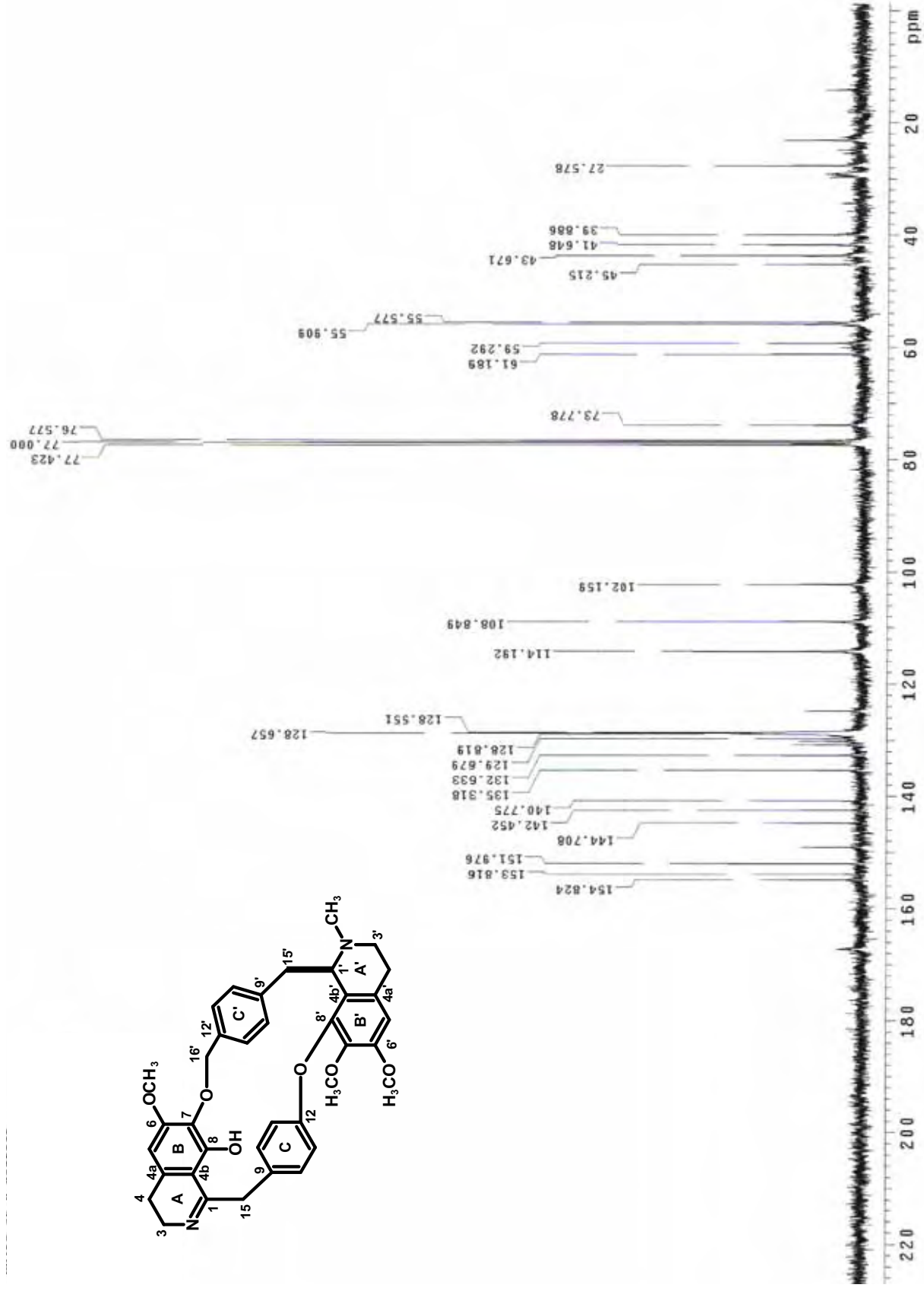
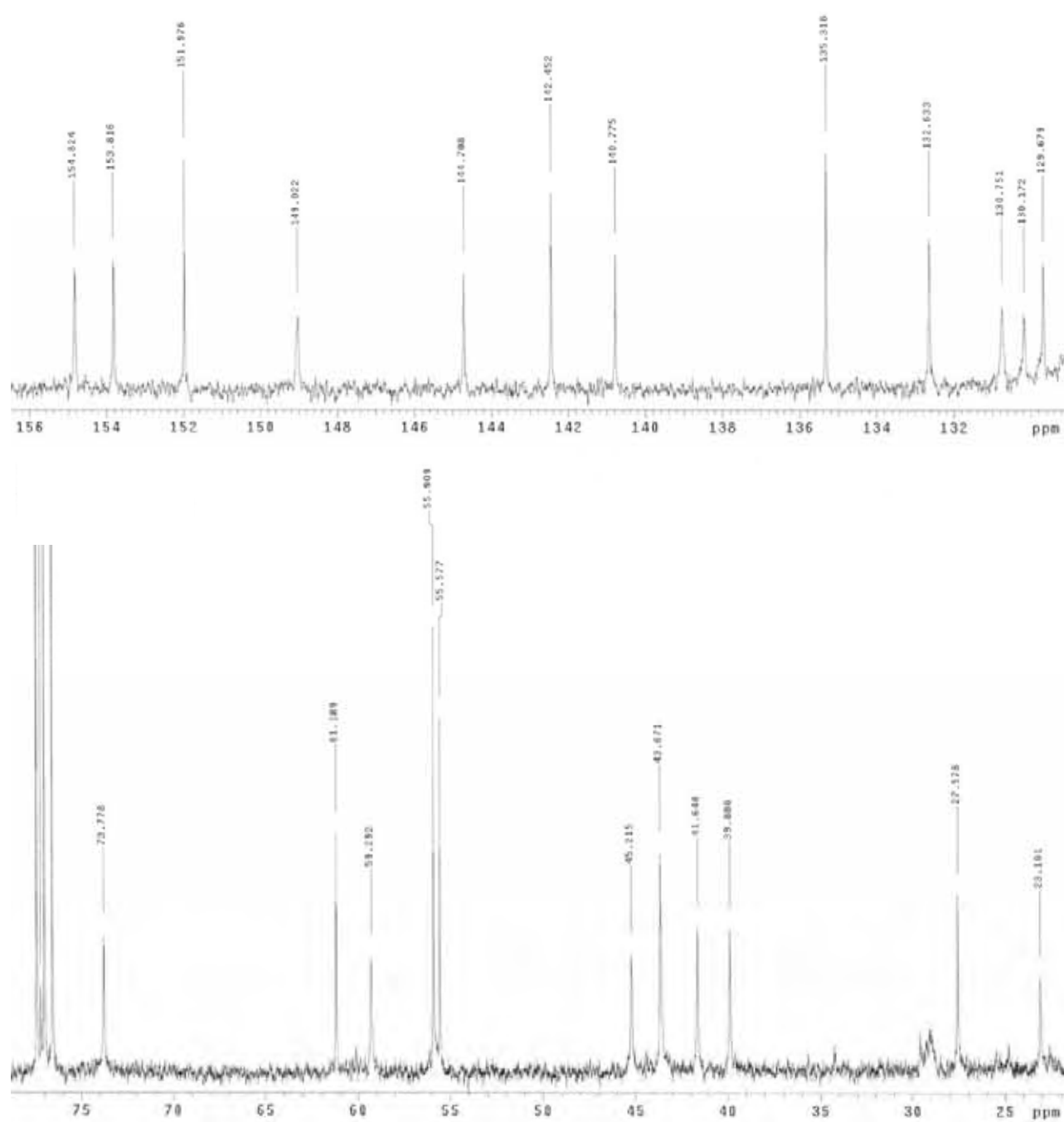


Figura 128. Espectro de RMN de ^{13}C de **8** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 128.

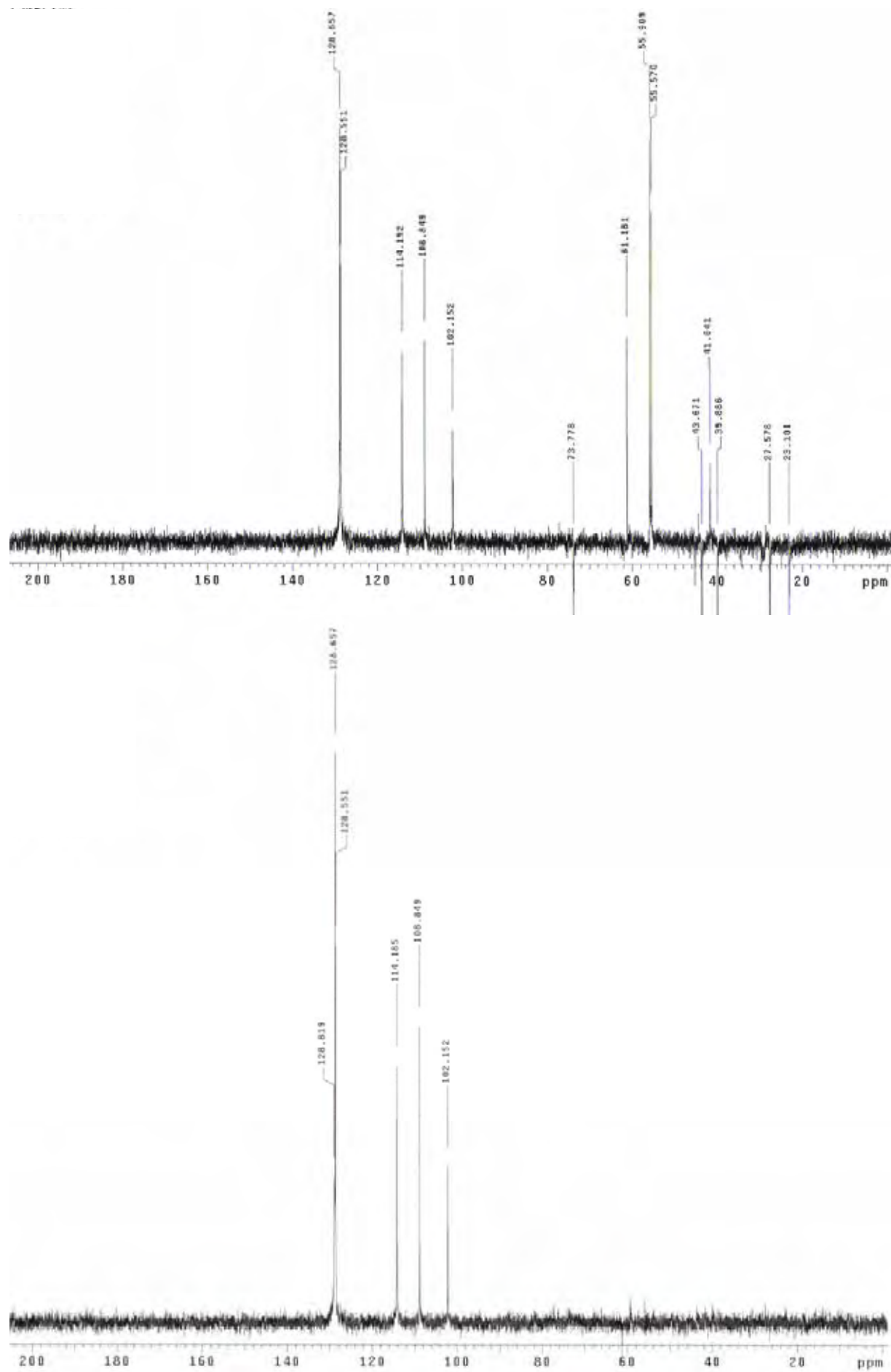


Figura 129. Espectros DEPT 135° e 90° de **8** (CDCl_3 , 11,7 T).

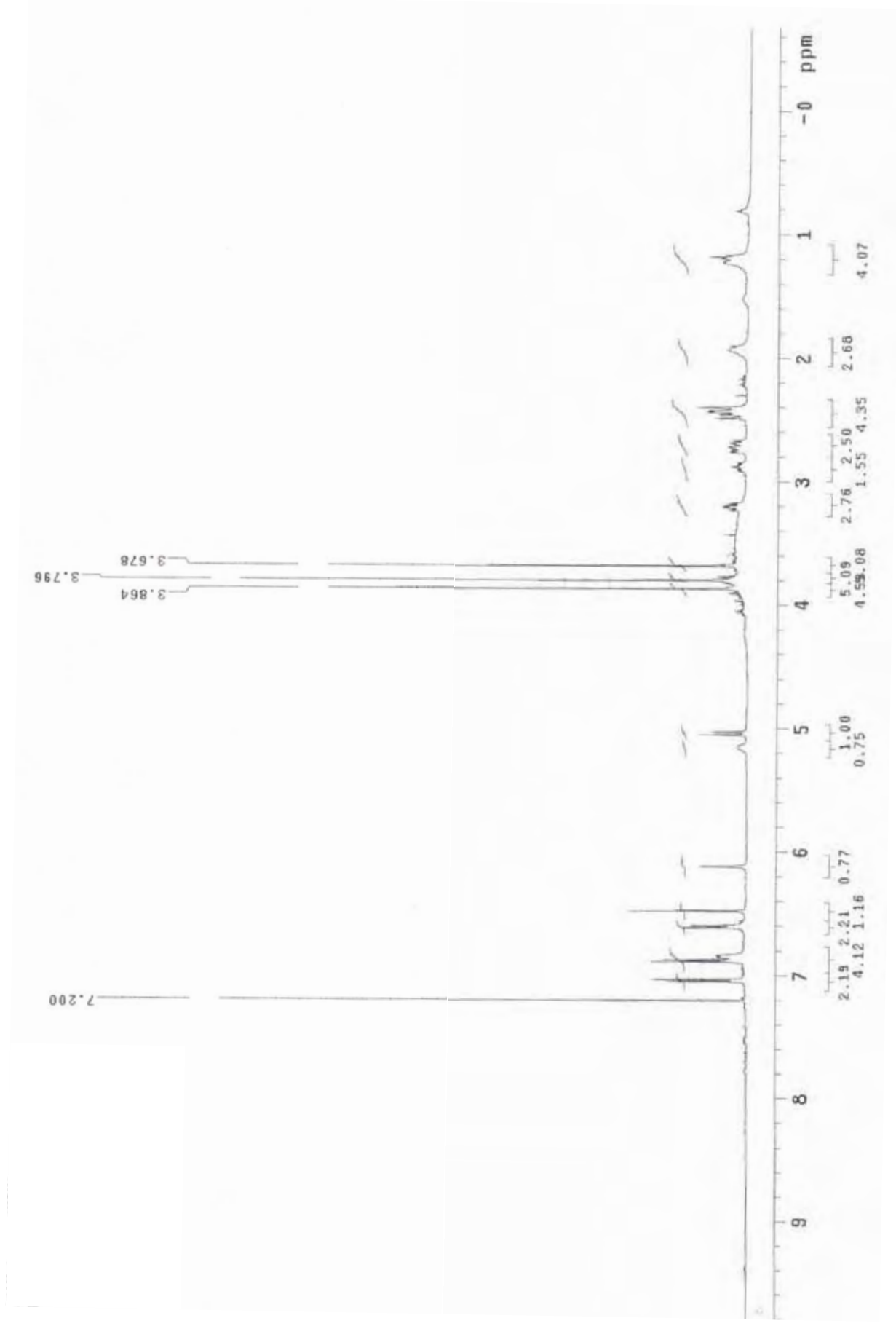
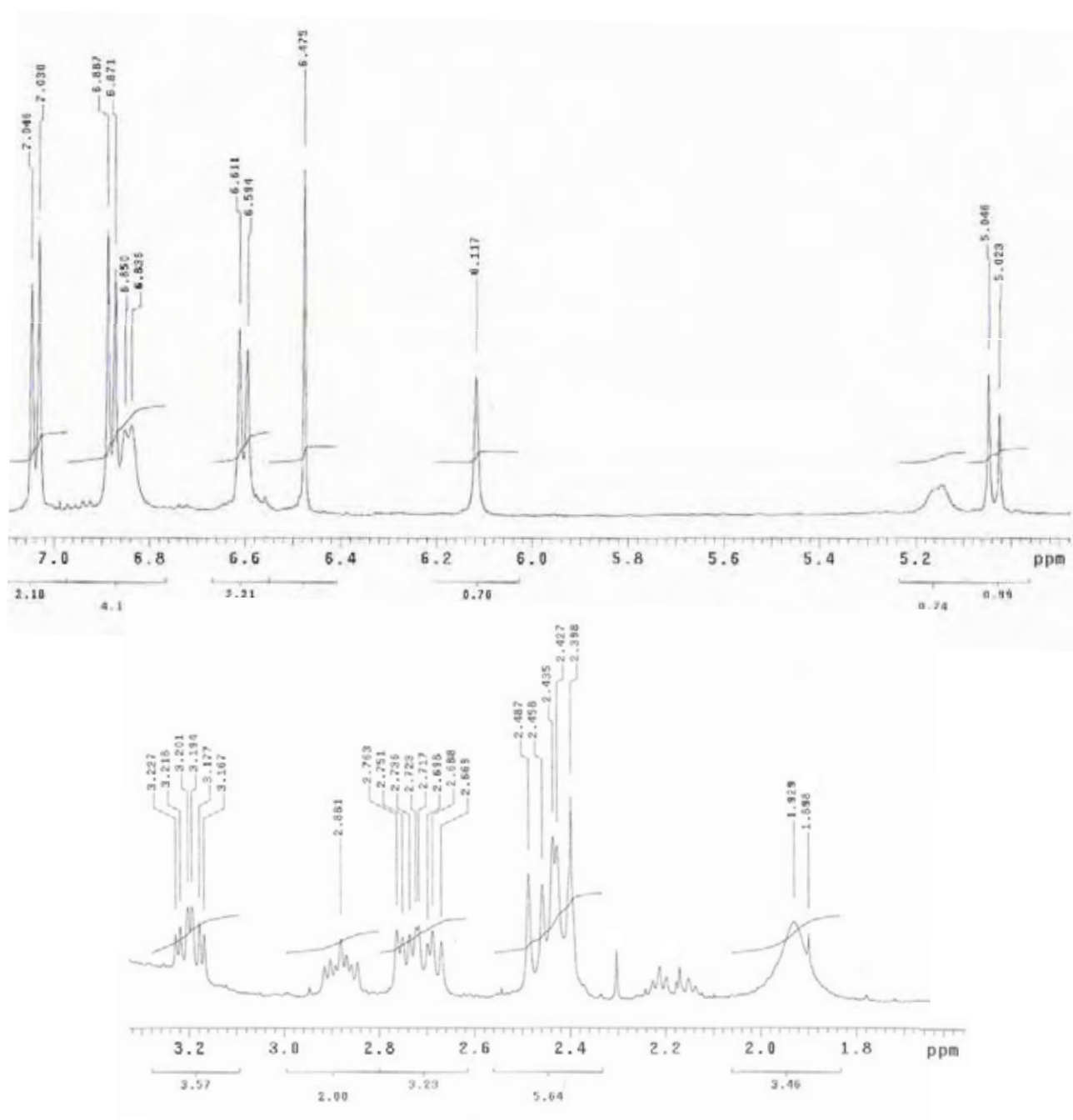


Figura 130. Espectro de RMN de ¹H de **8** (CDCl₃, 11,7 T).

Ampliações da **Figura 130**.

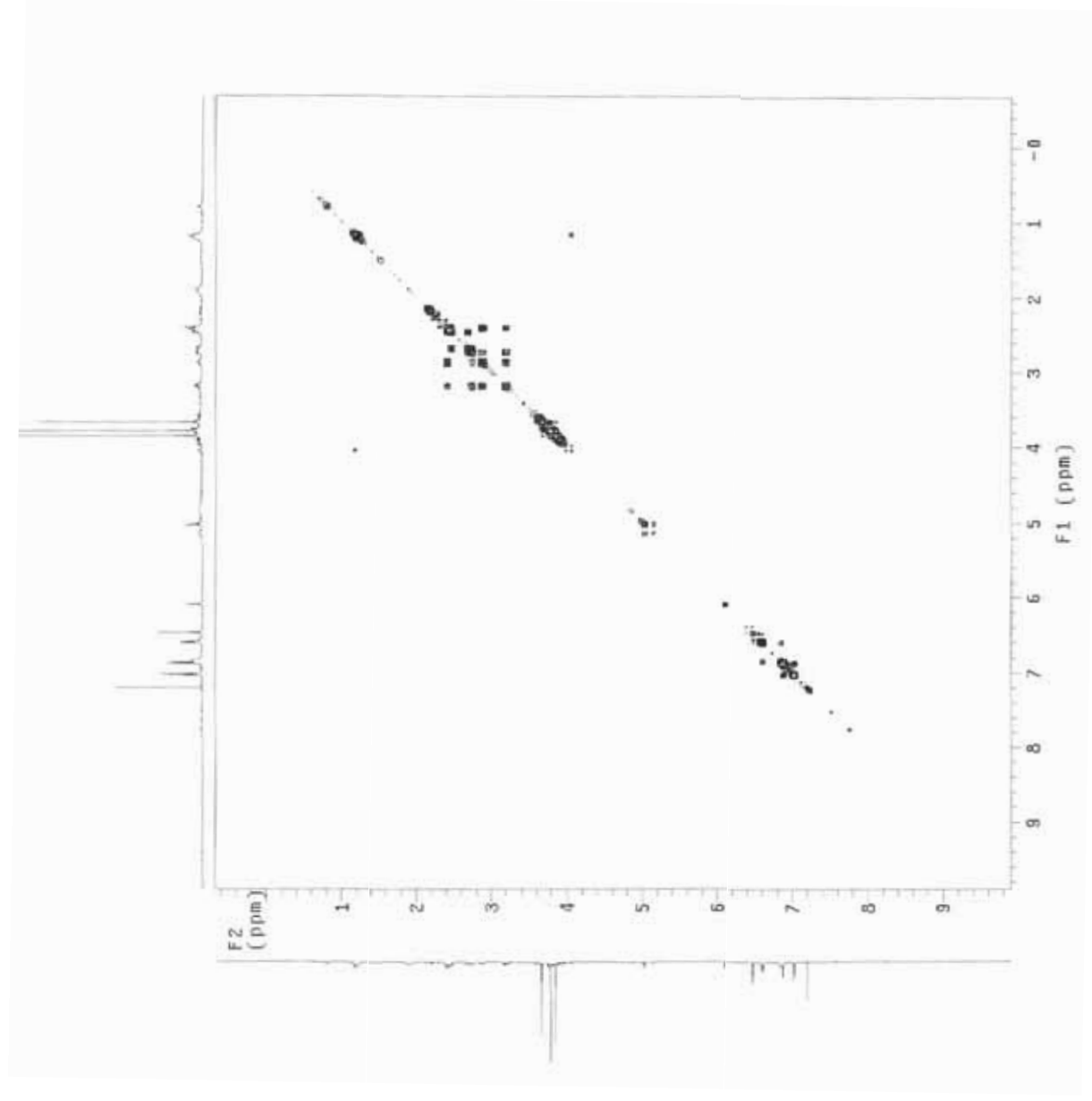
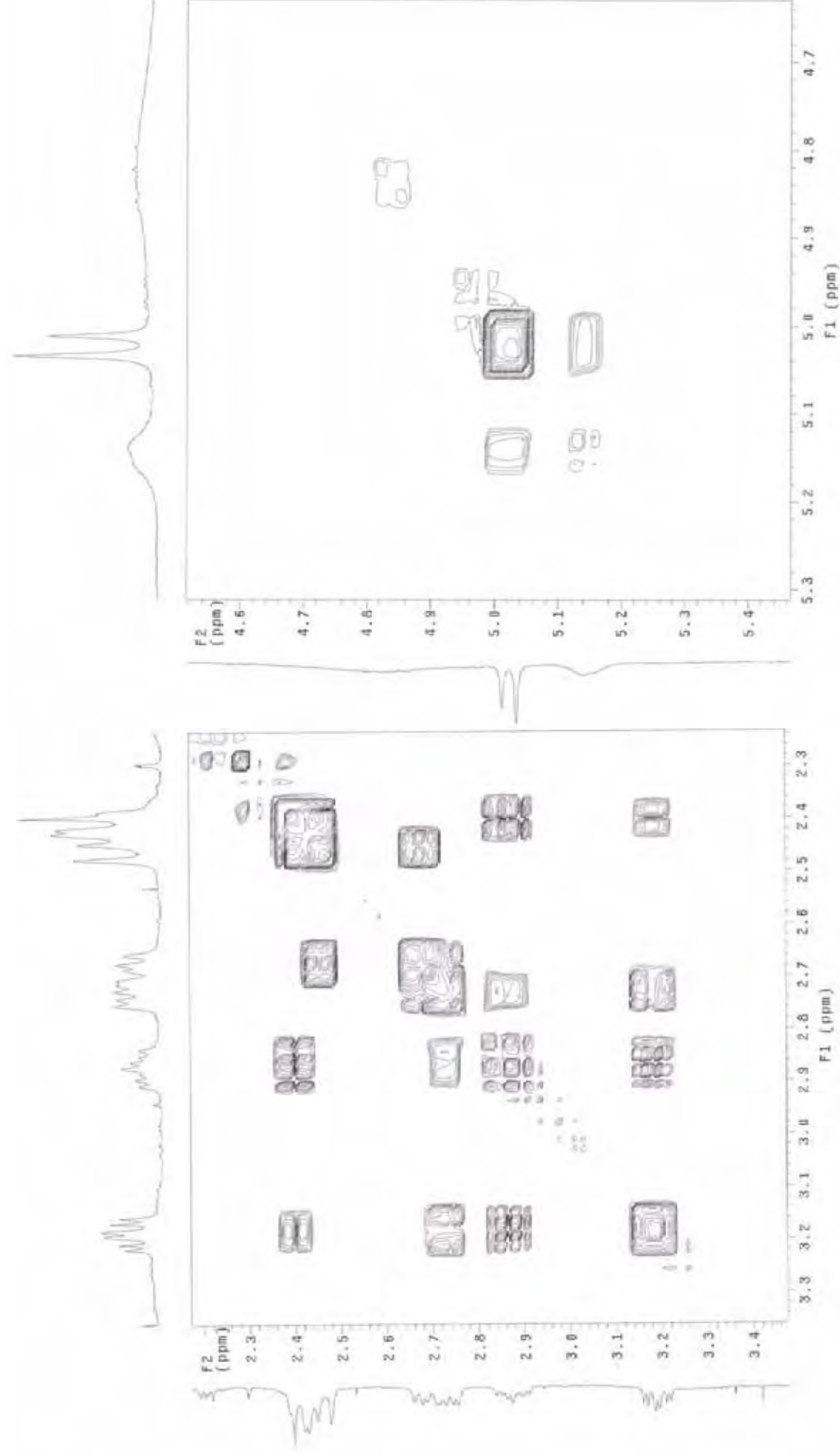


Figura 131. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **8** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 131.

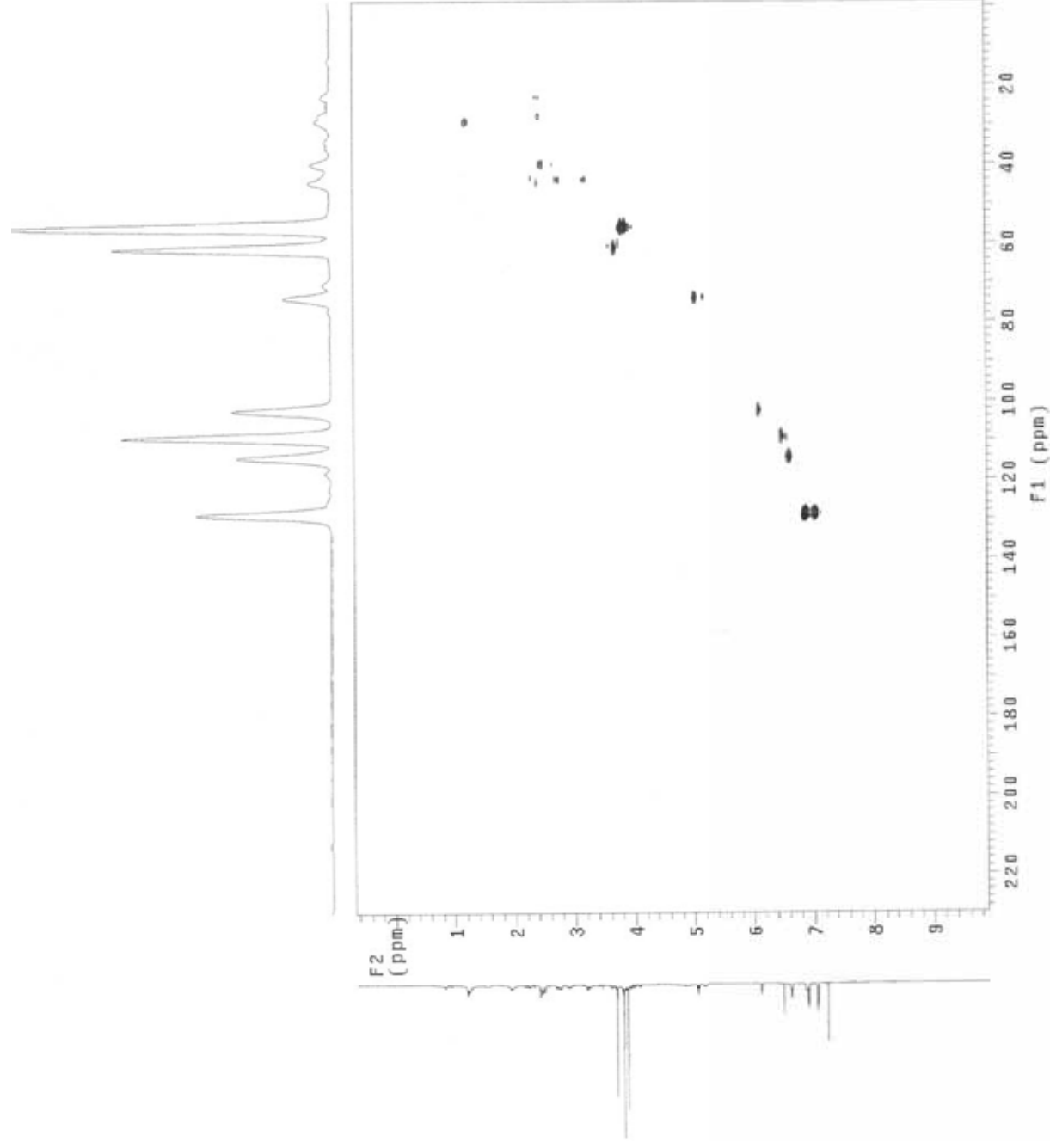
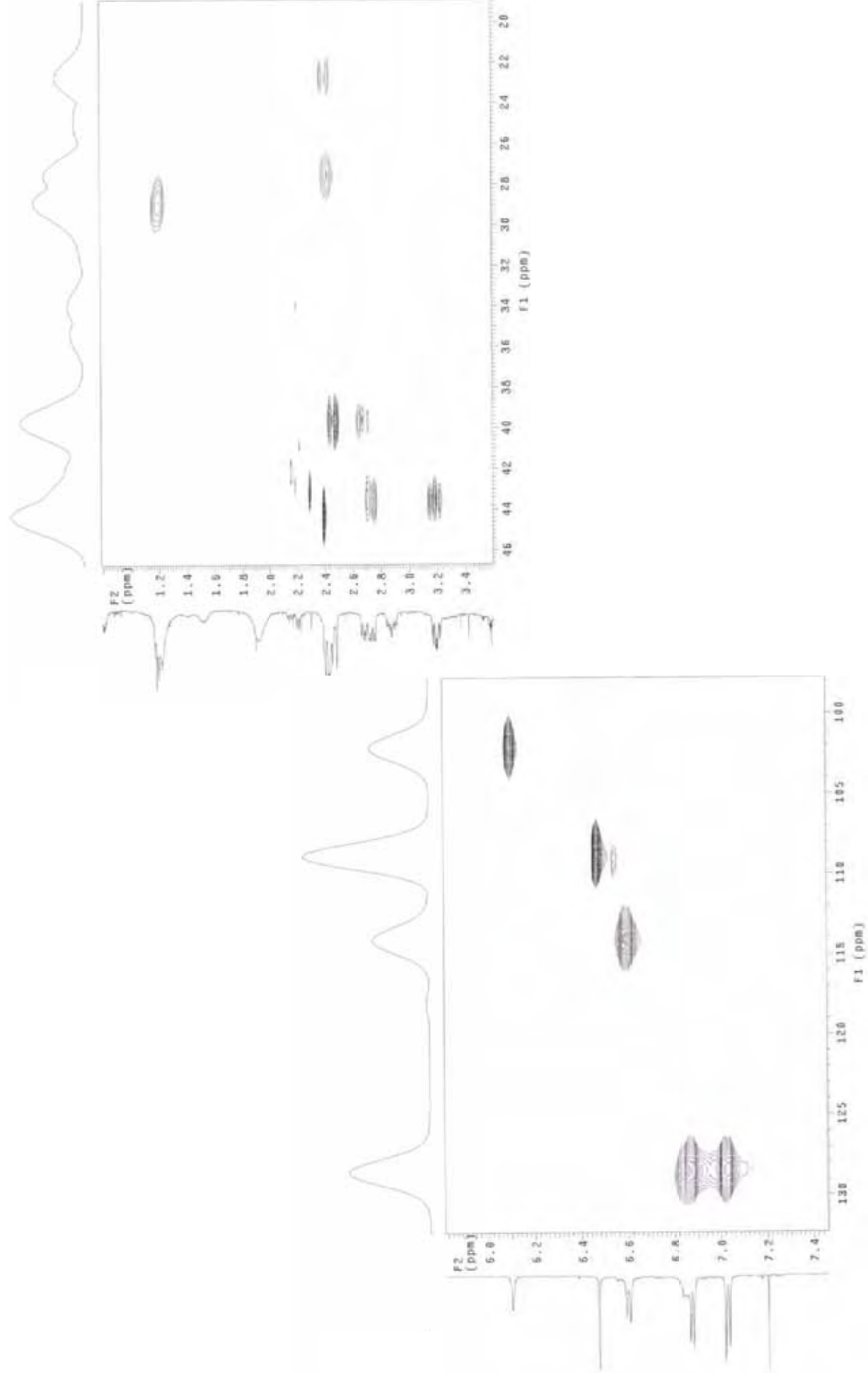
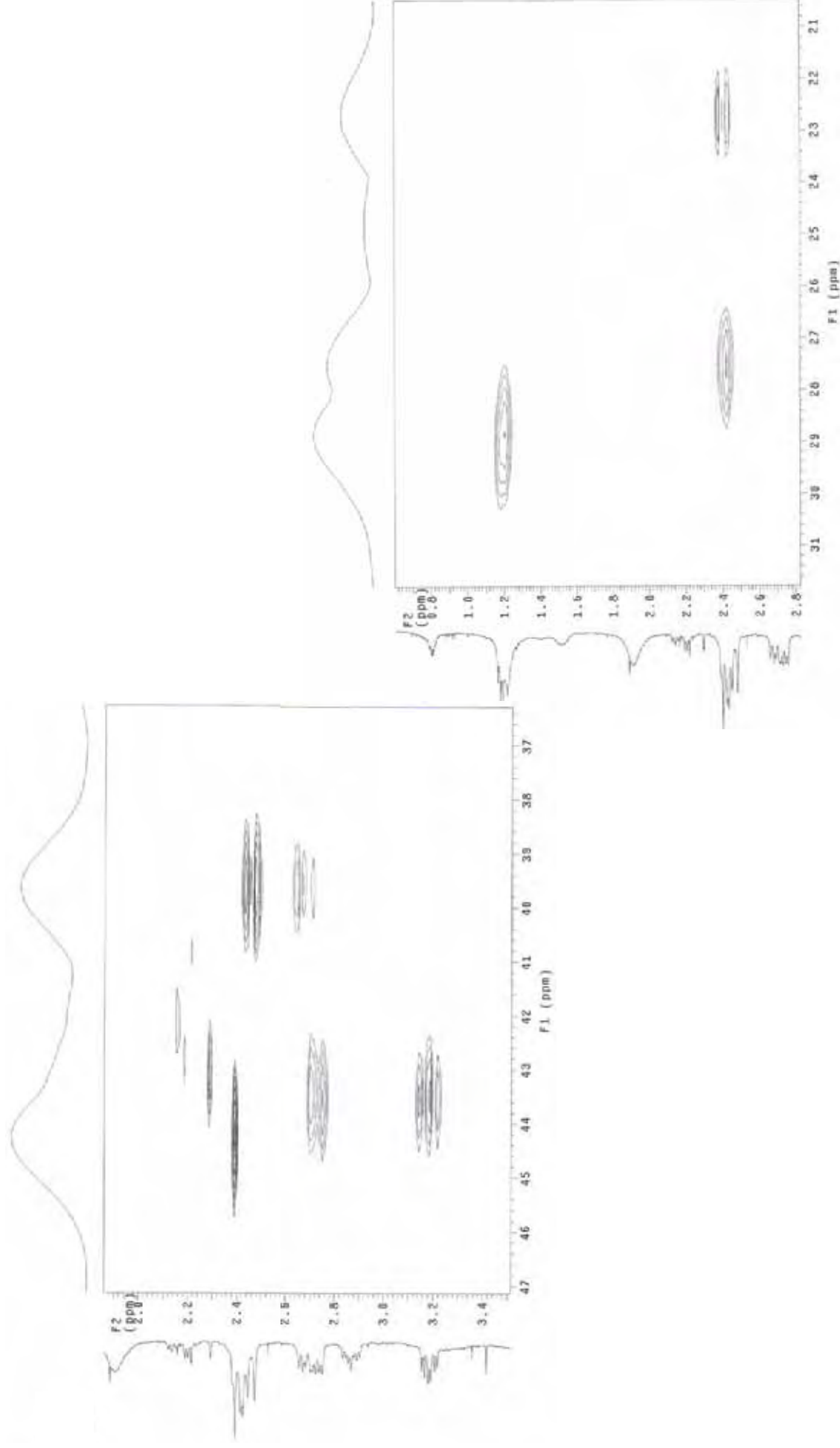


Figura 132. Mapa de contornos gHMQC de **8** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 132.



Ampliações da Figura 132.

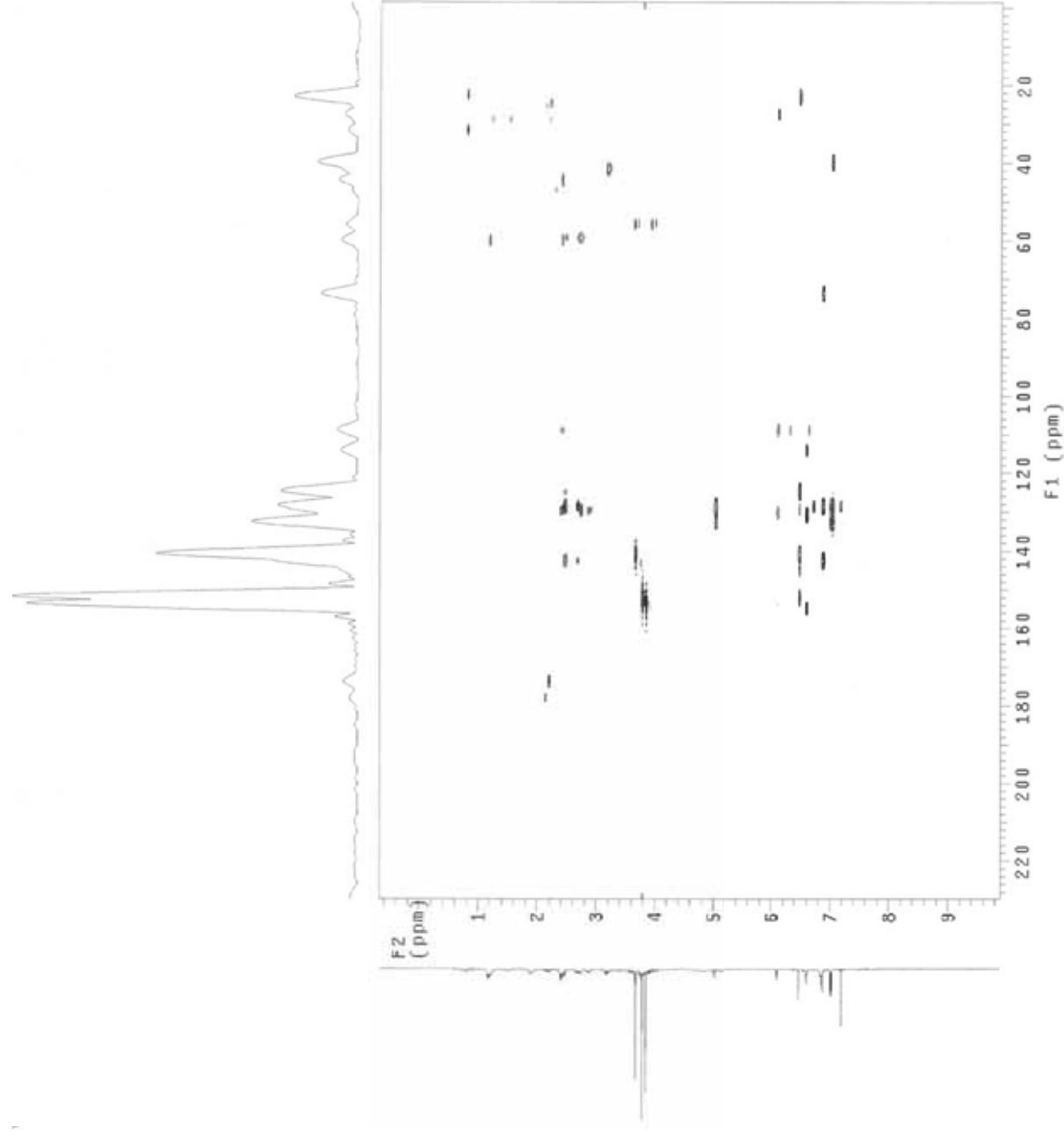
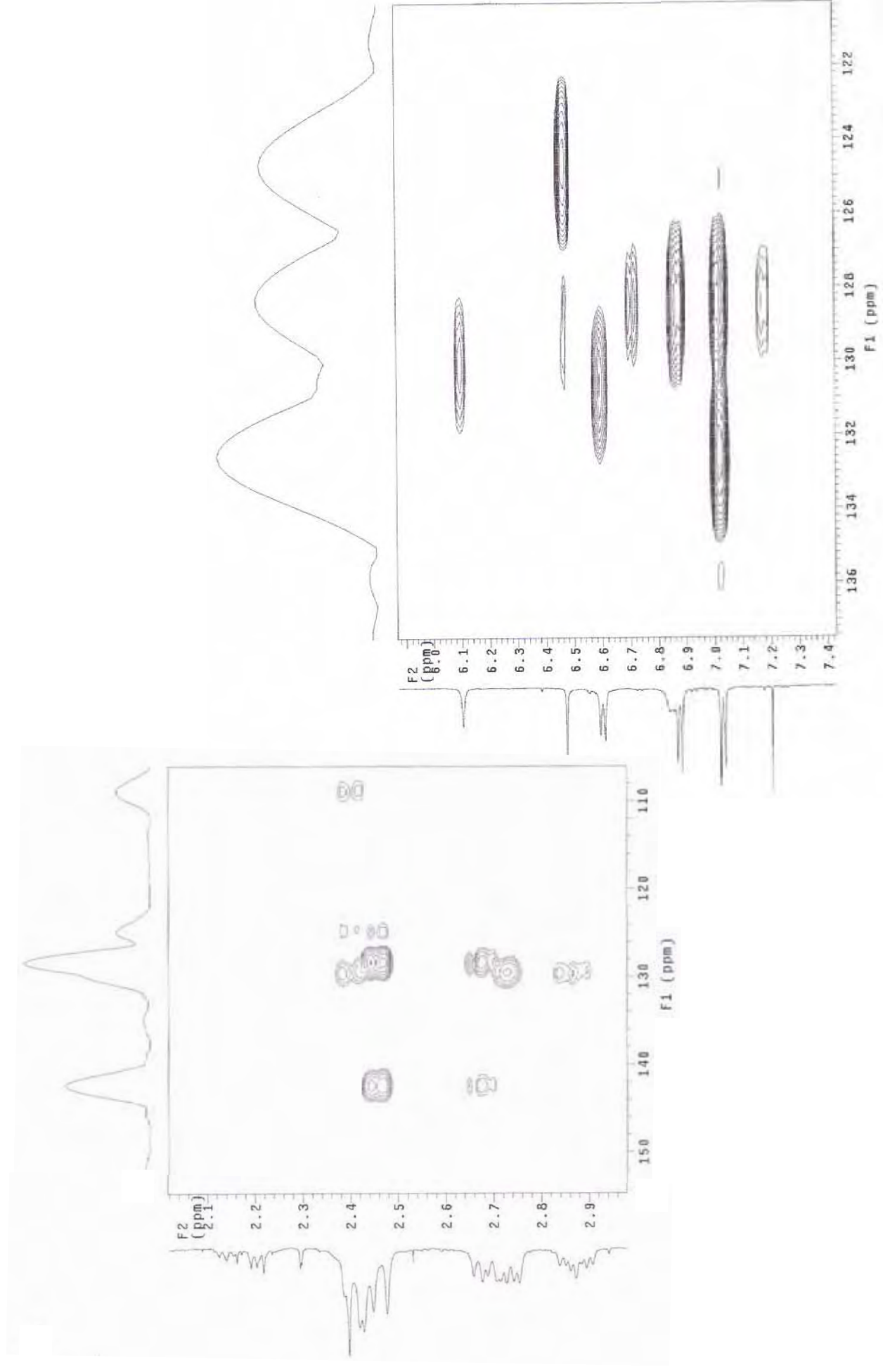
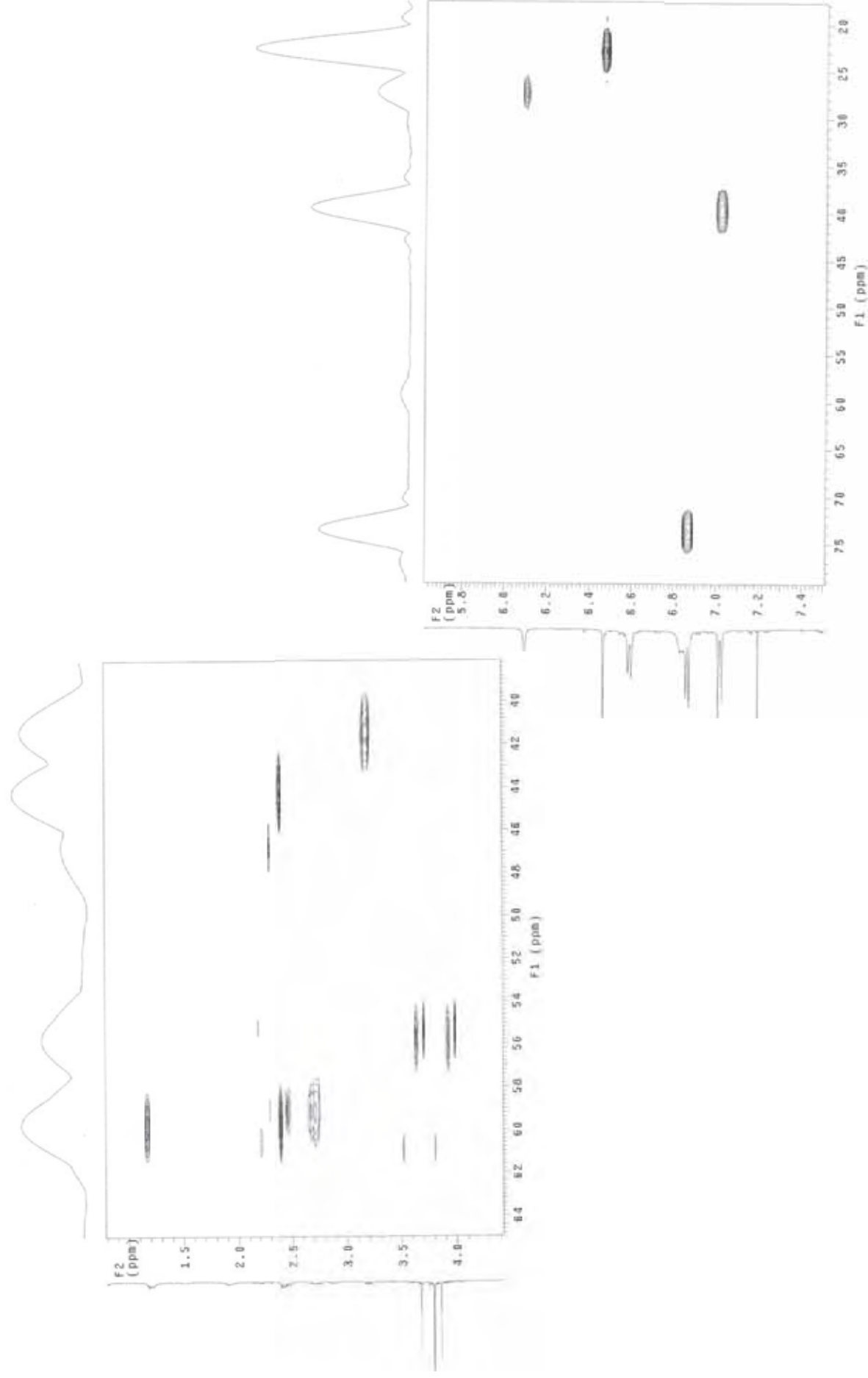


Figura 133. Mapa de contornos *g*HMBC de **8** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 133.



Ampliações da Figura 133.

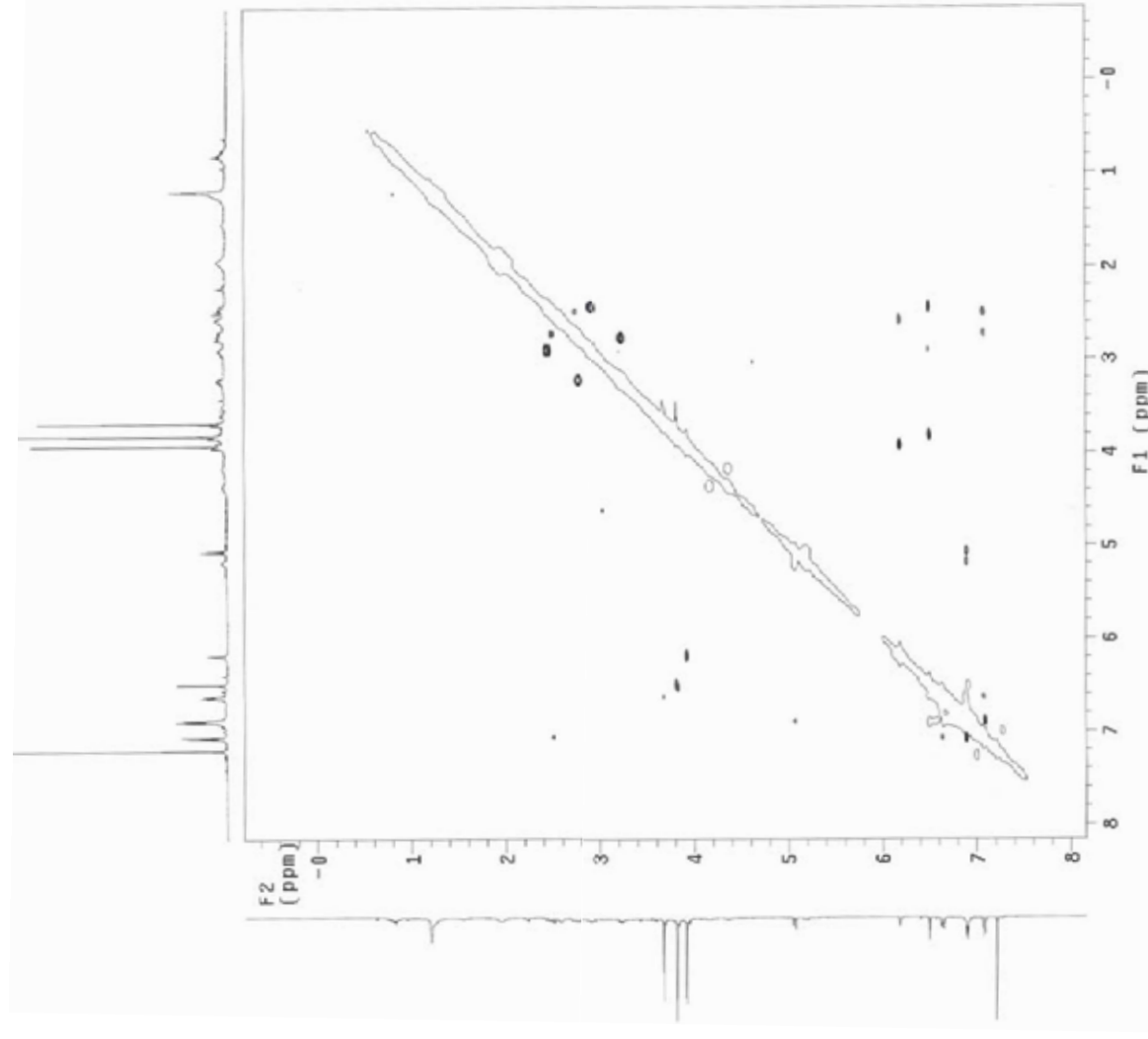
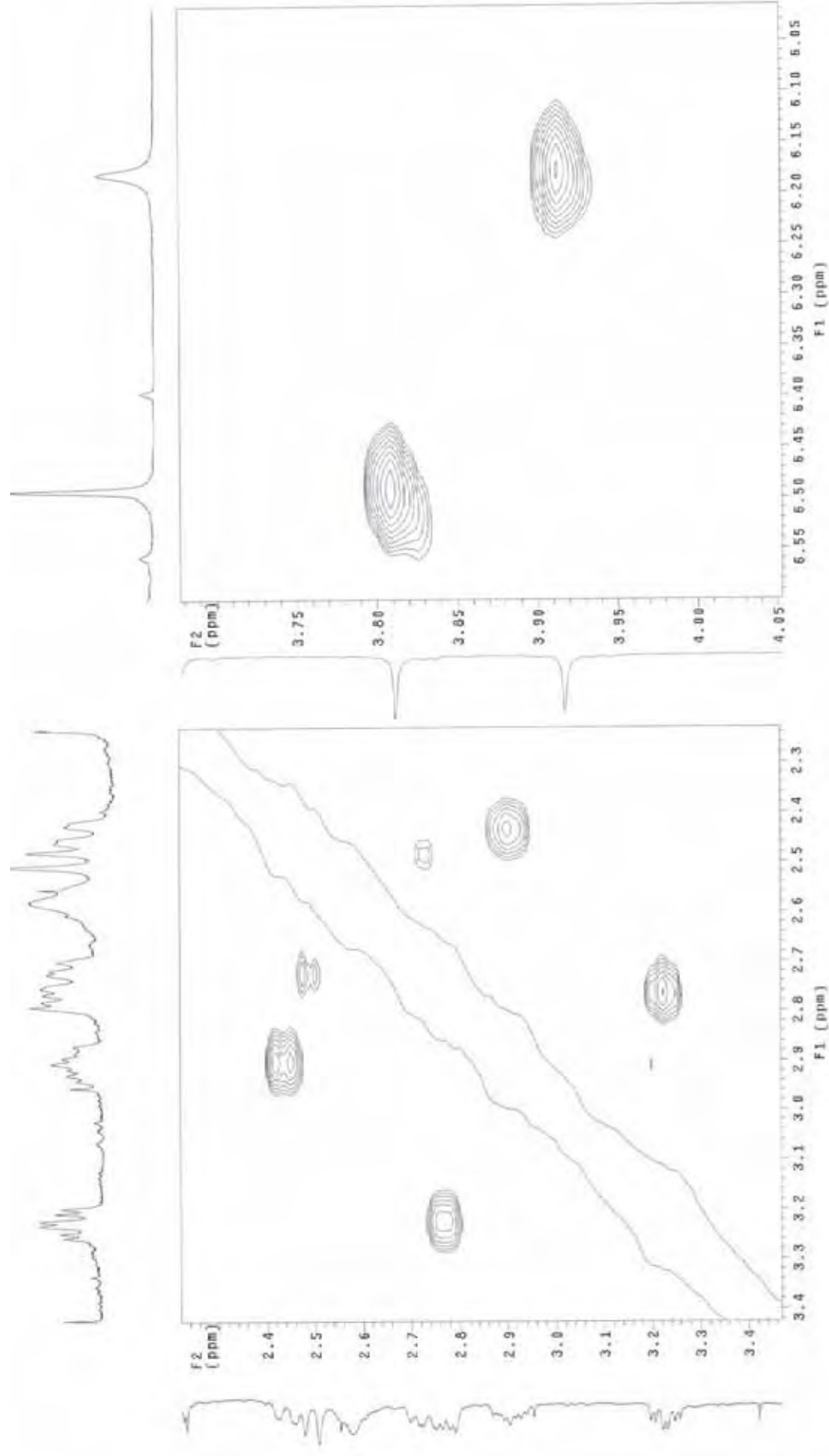
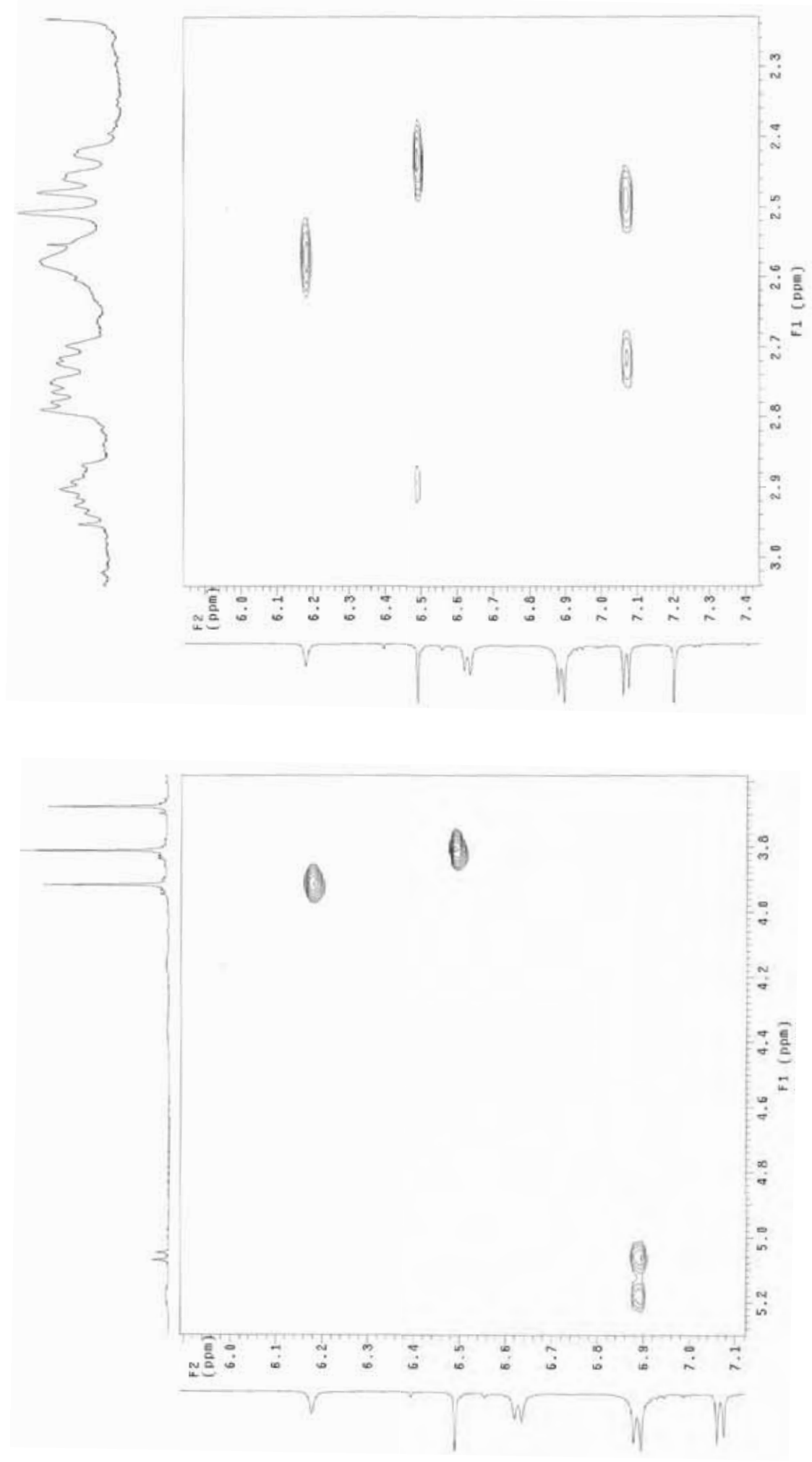


Figura 134. Espectro gNMR 2D de **8** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 134.



Ampliações da Figura 134.

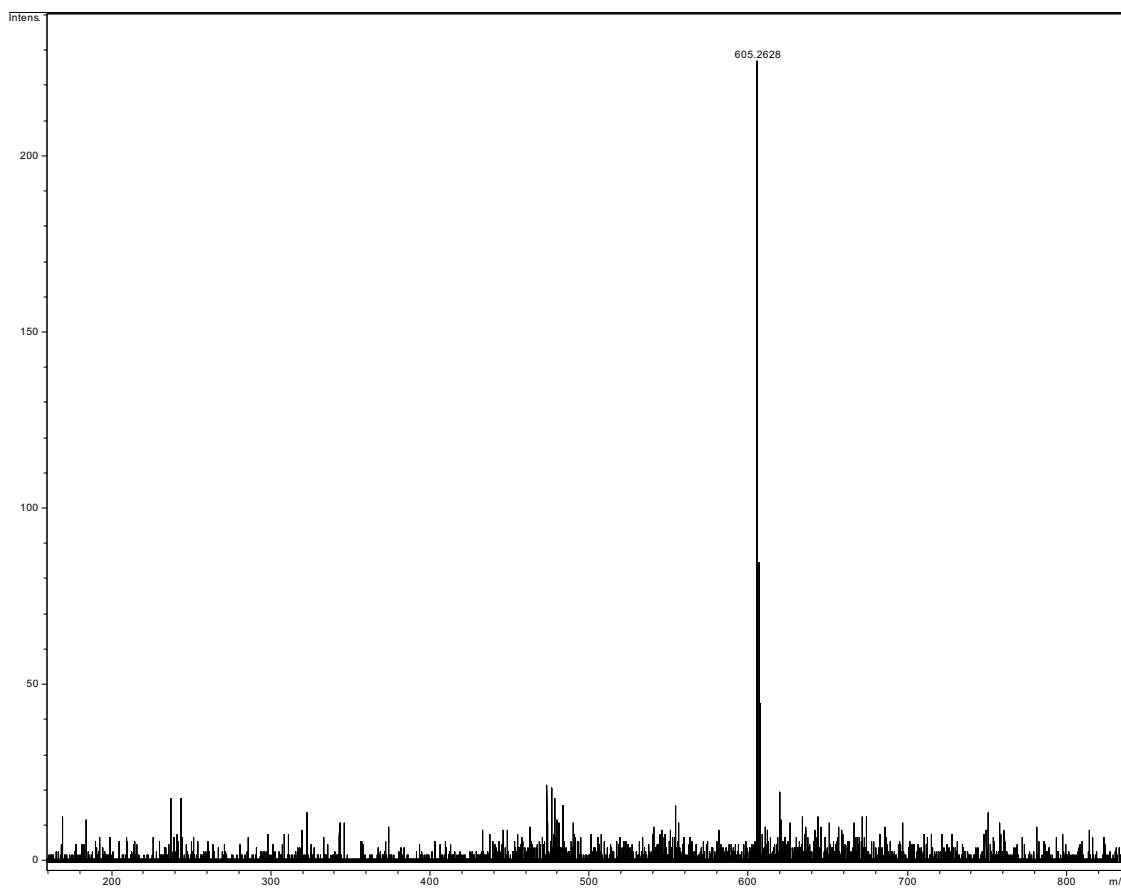


Figura 135. Espectro de massas de alta resolução de **8** (ESI, "full scan", -25 V).

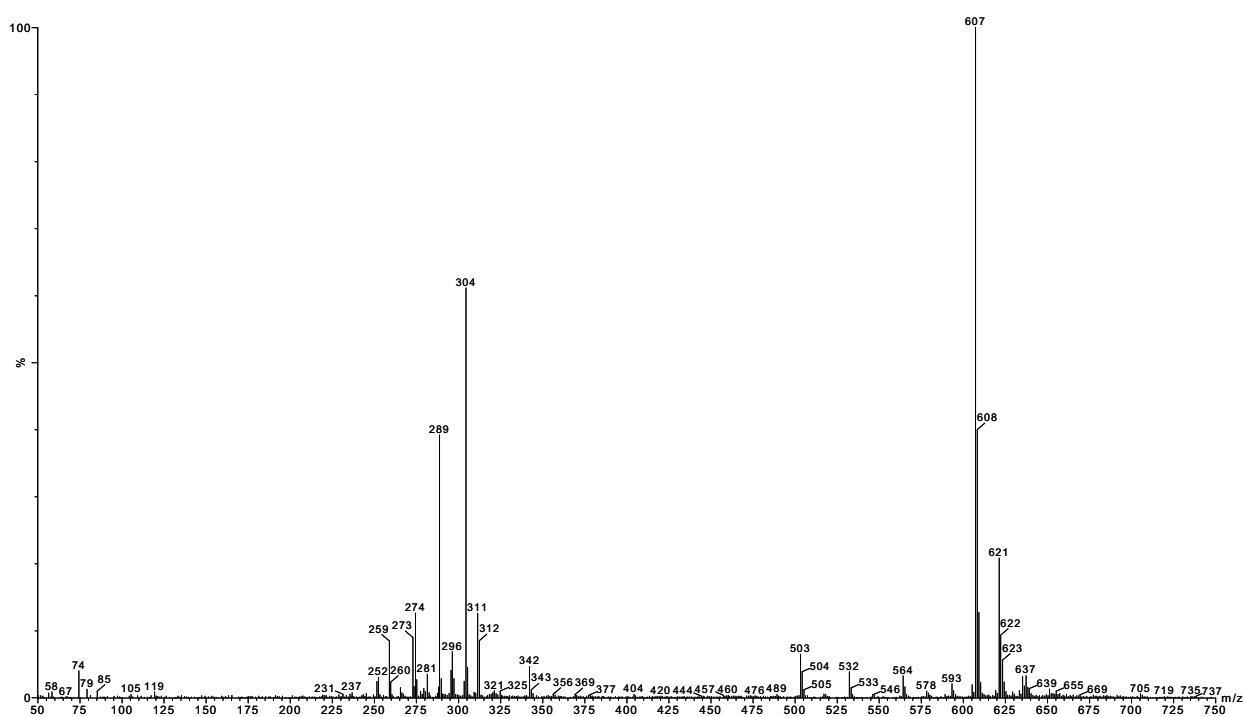


Figura 136. Espectro de massas de baixa resolução de **8** (ESI, "full scan", +30 V).

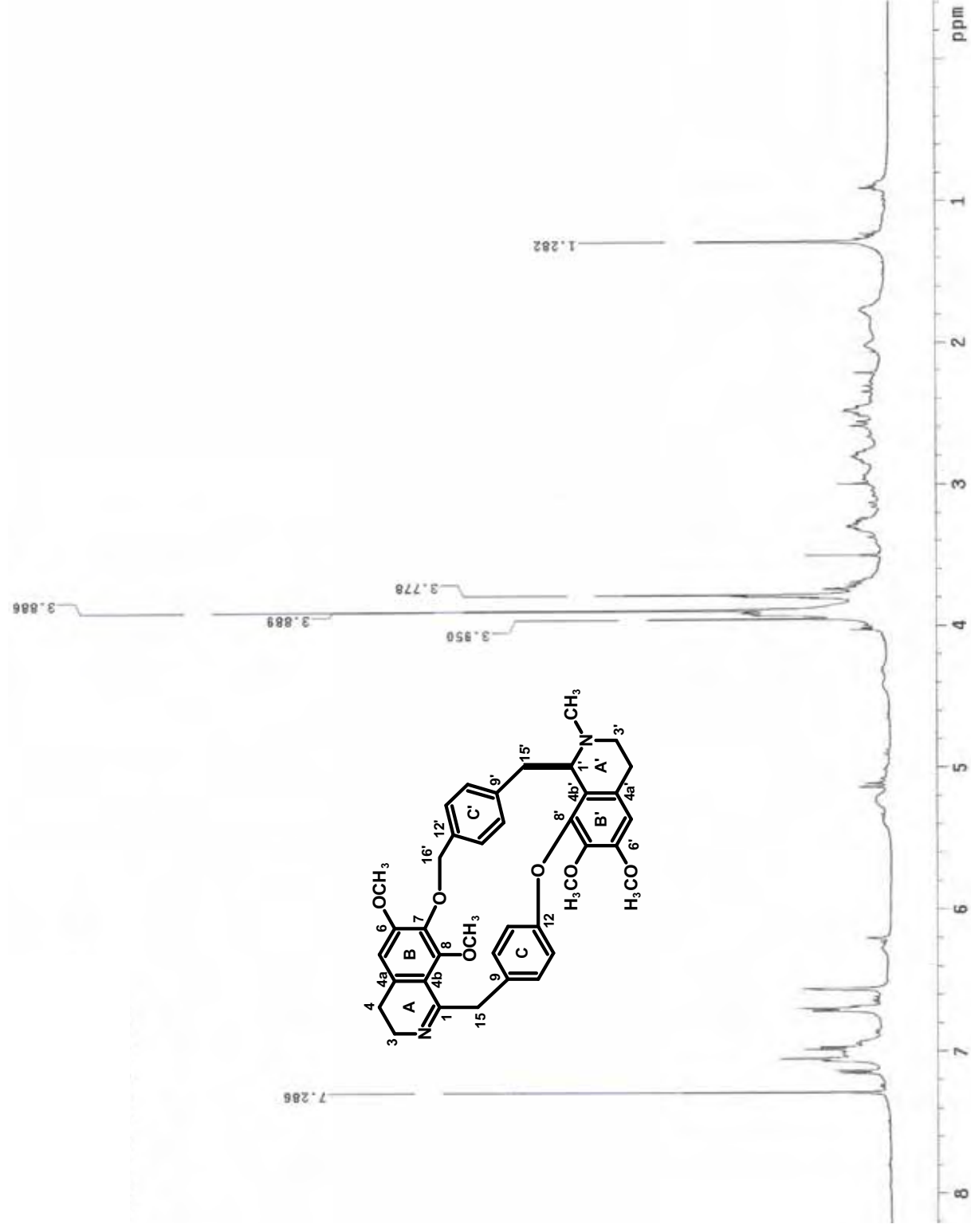
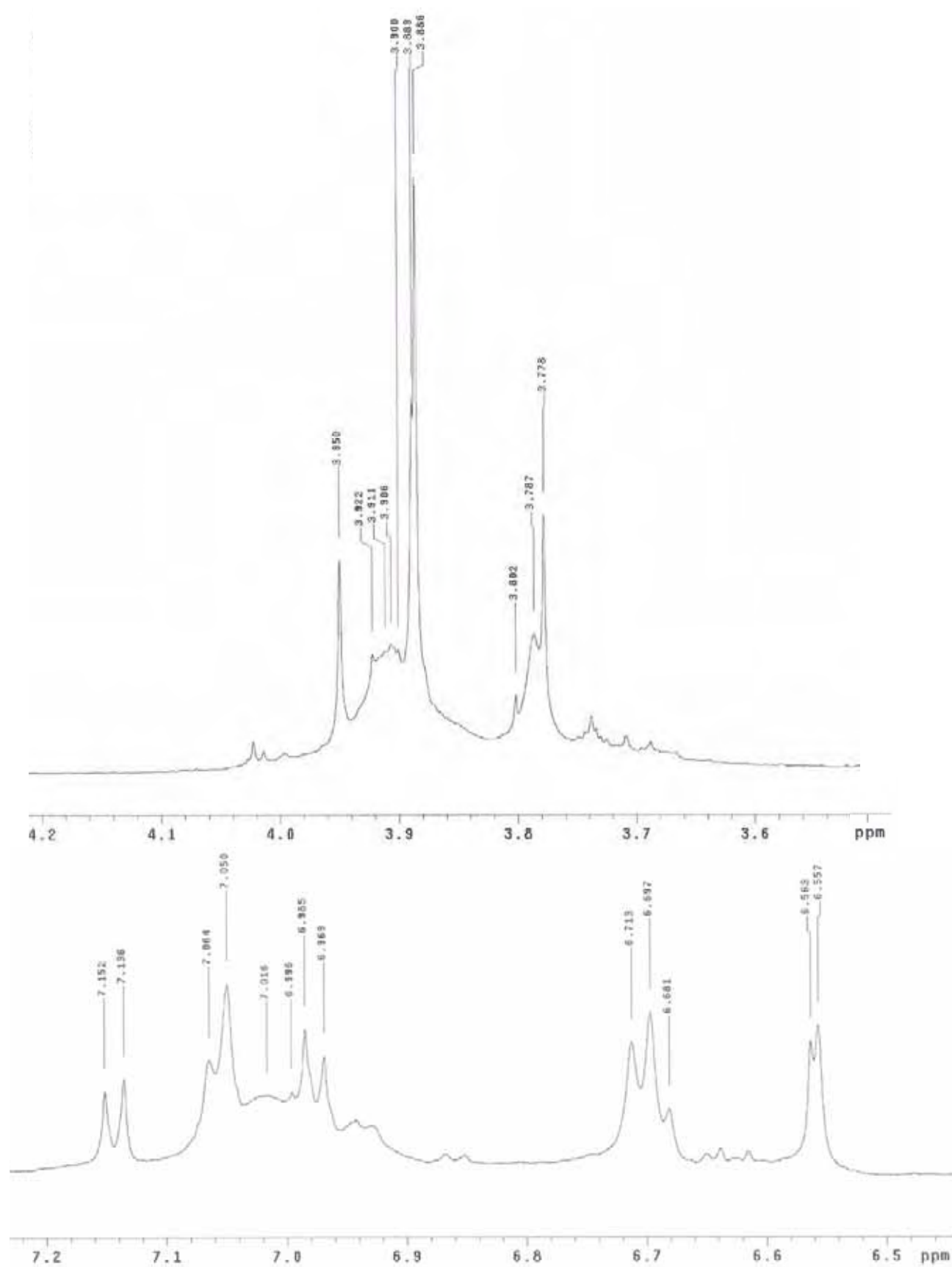


Figura 137. Espectro de RMN de ^1H de **8a** (CDCl_3 , 11,7 T).

Ampliações da **Figura 137**.

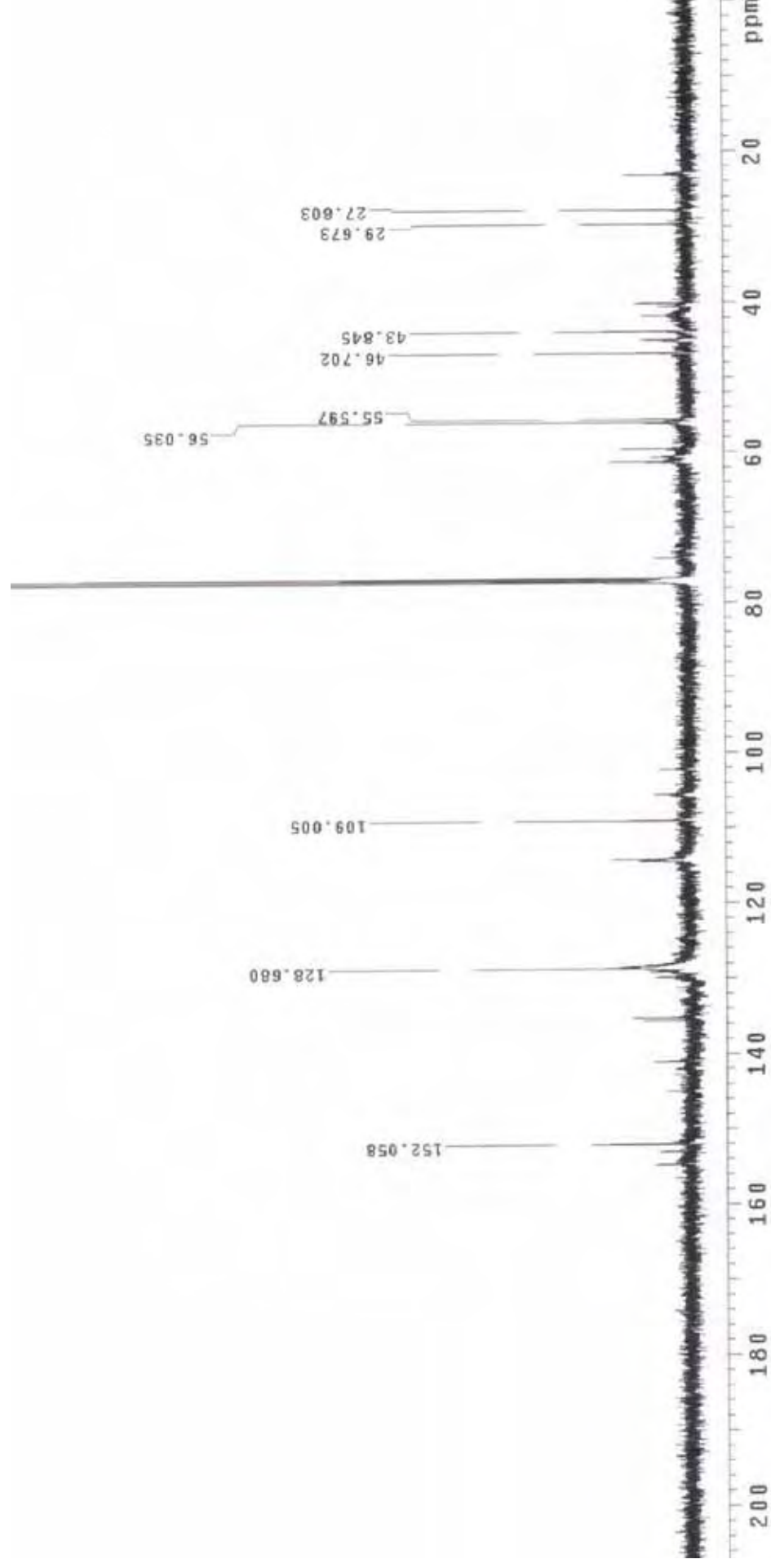
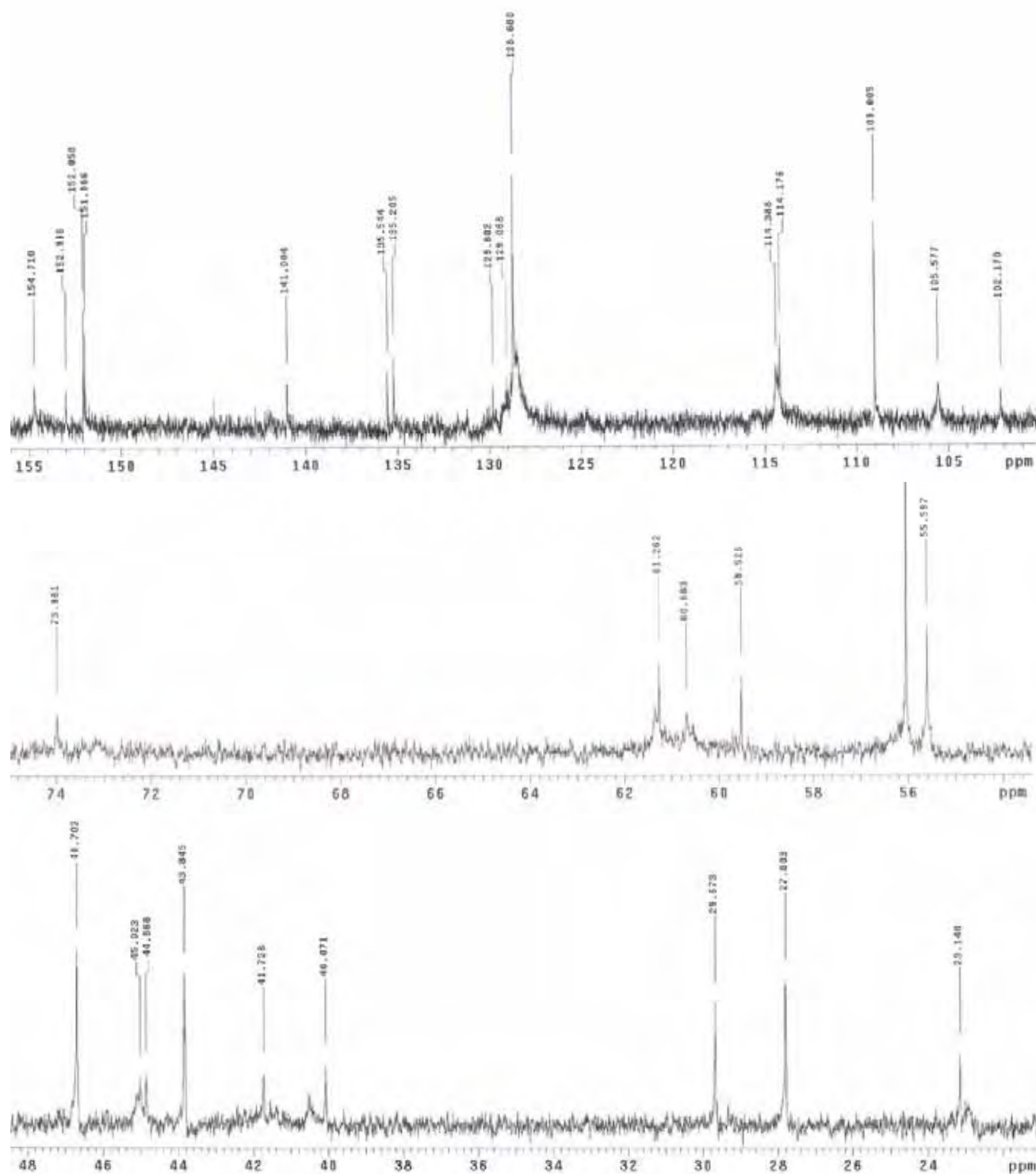


Figura 138. Espectro de RMN de ^{13}C de **8a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 138.

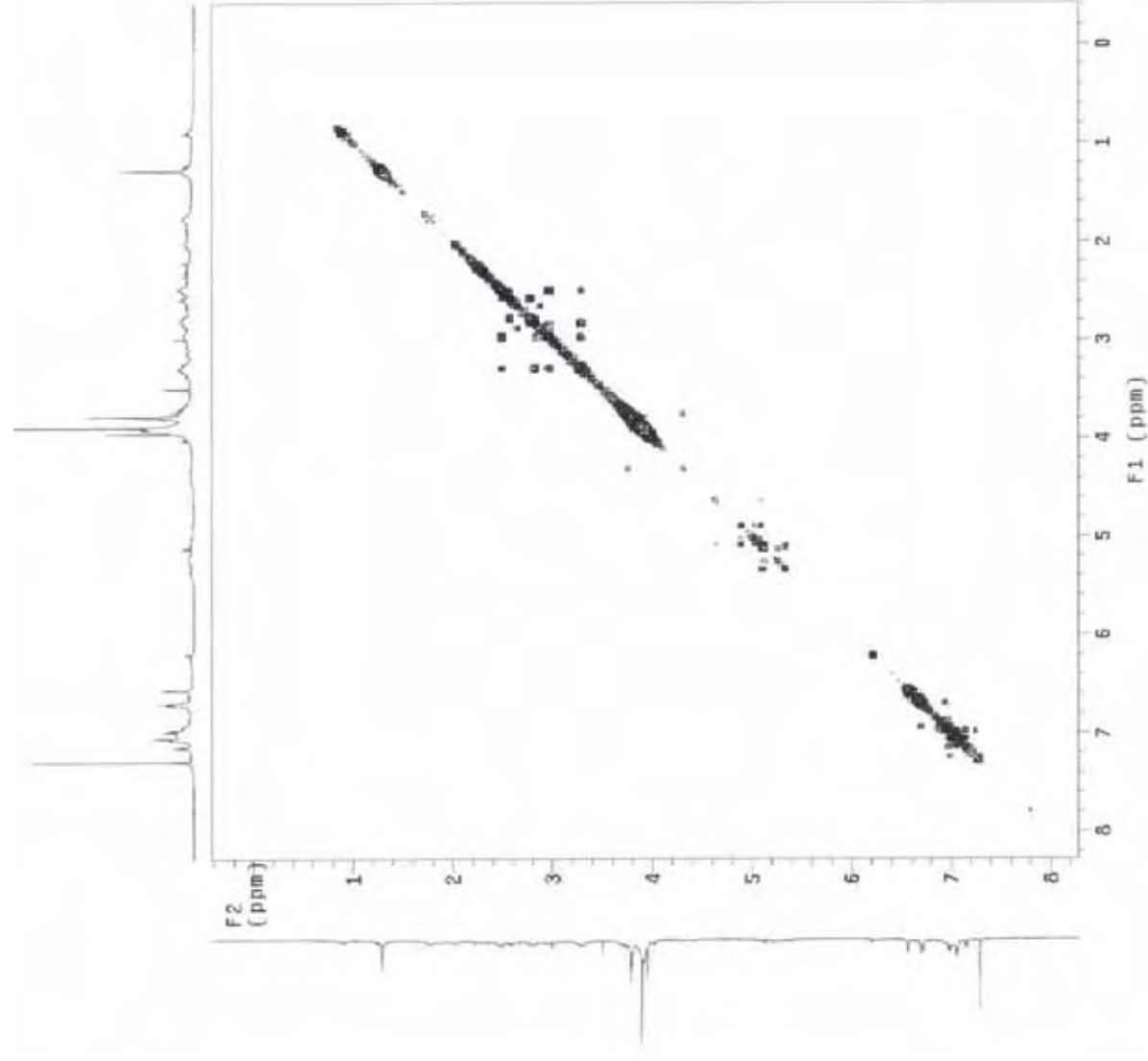
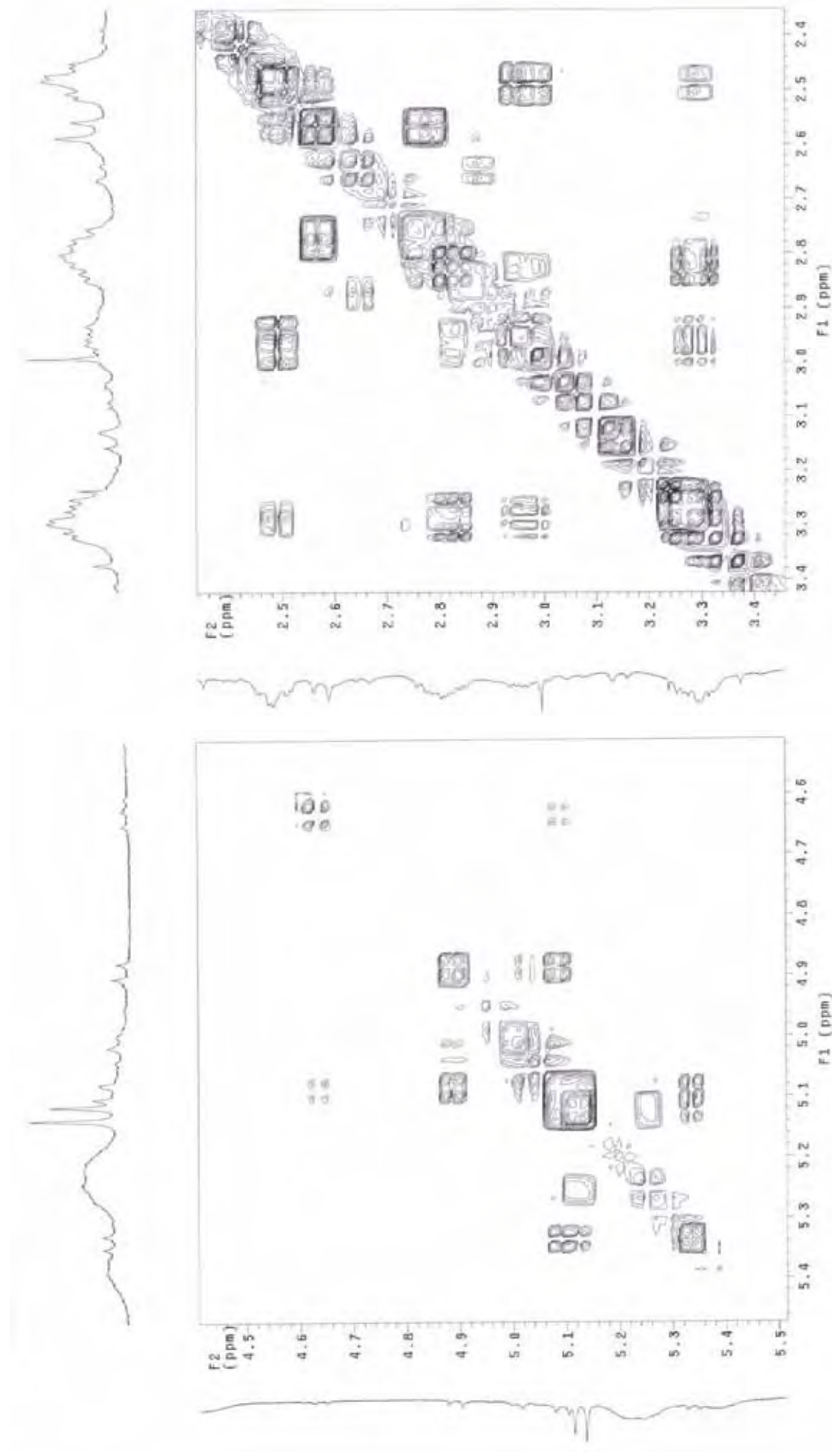


Figura 139. Espectro gCOSY ^1H - ^1H de **8a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 139.

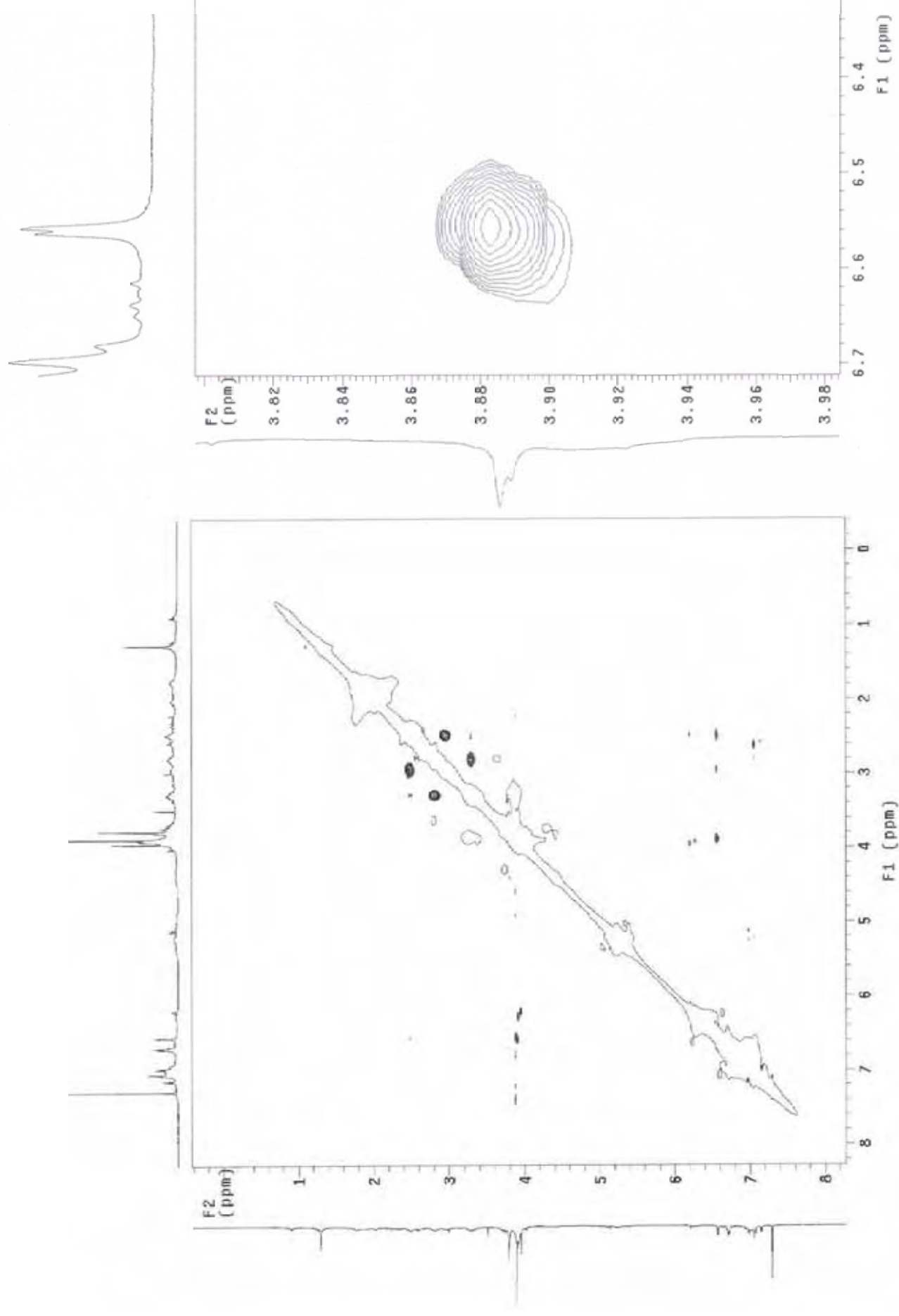
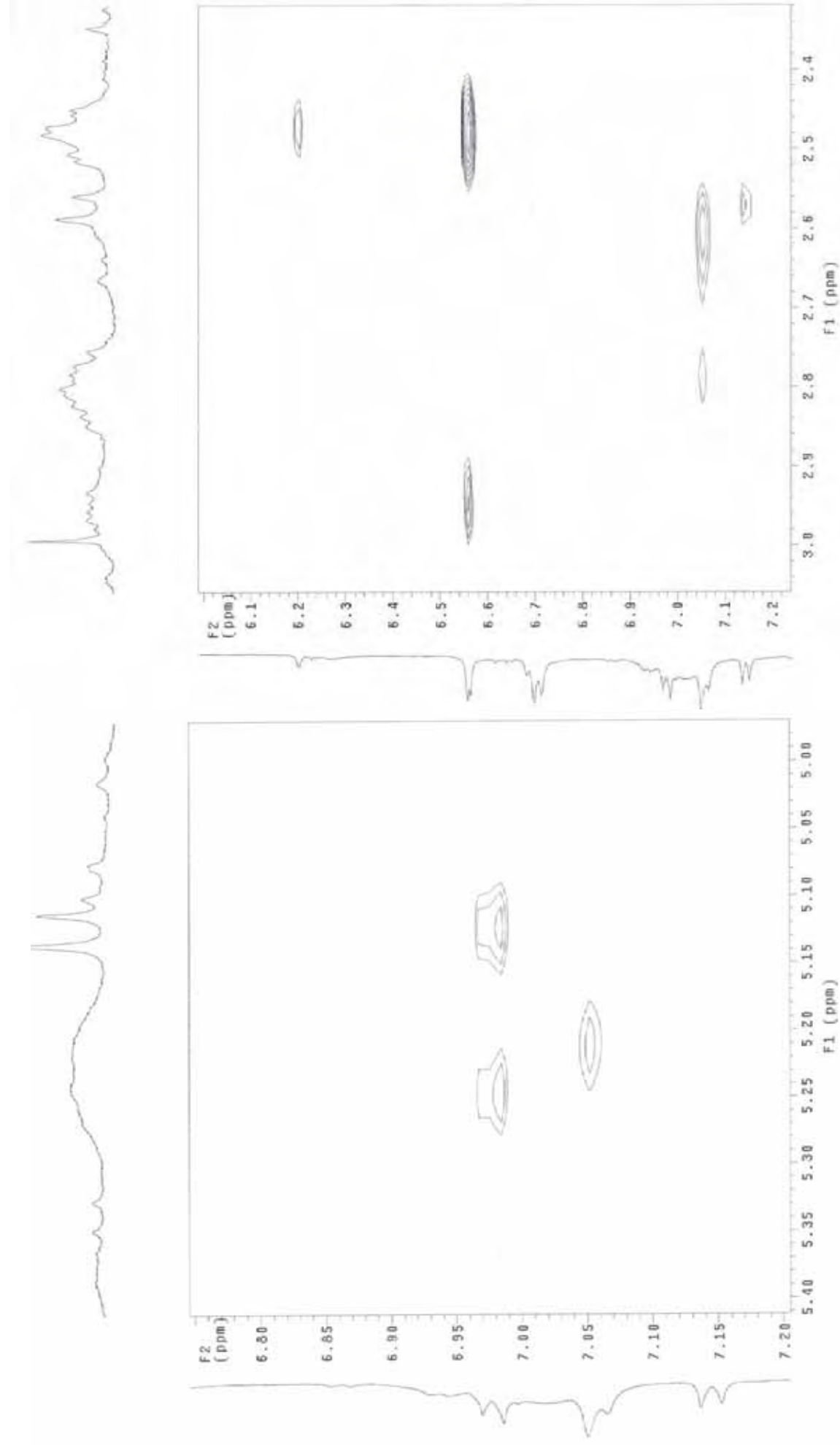


Figura 140. Espectro gNMR 2D de **8a** com ampliação (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 140.

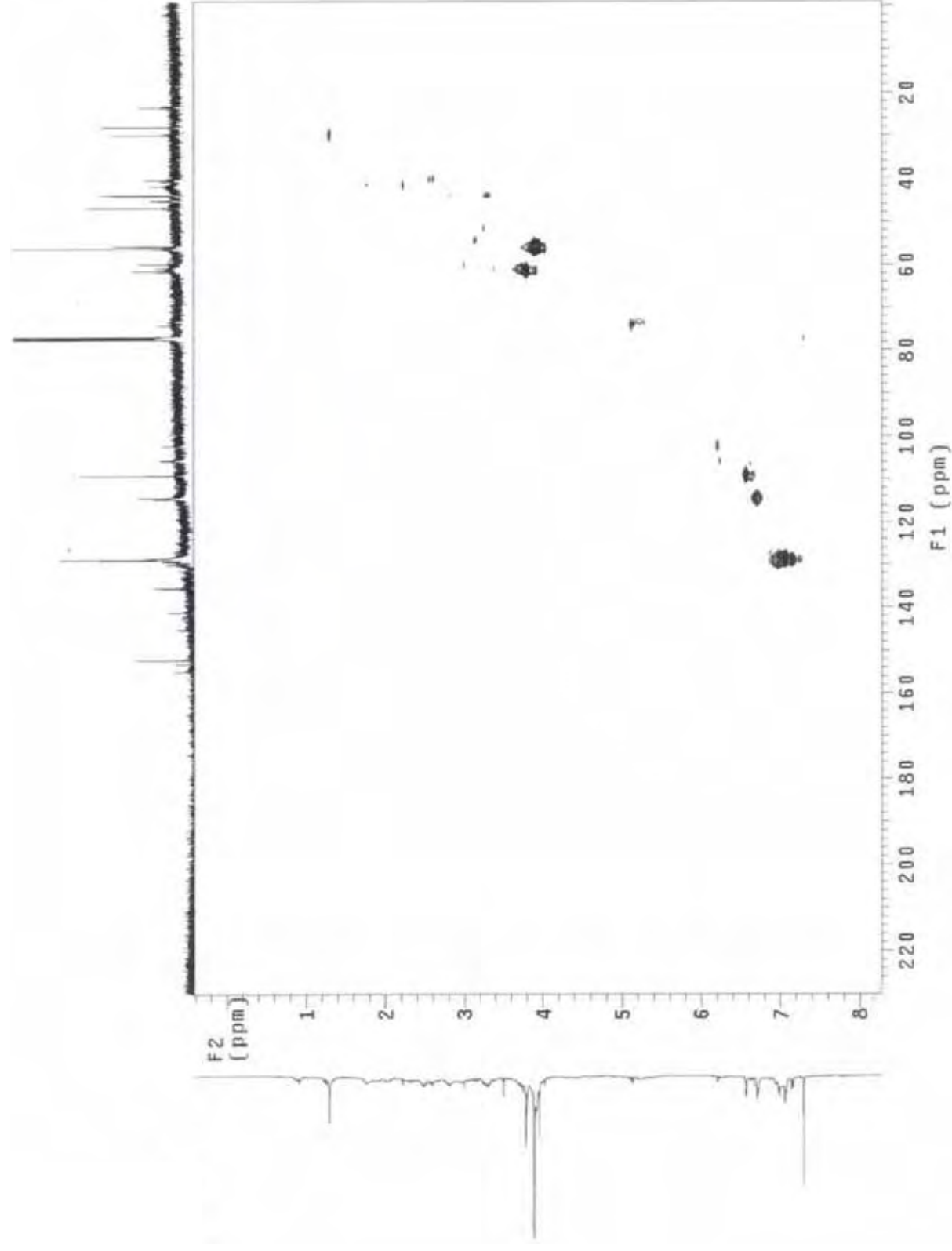
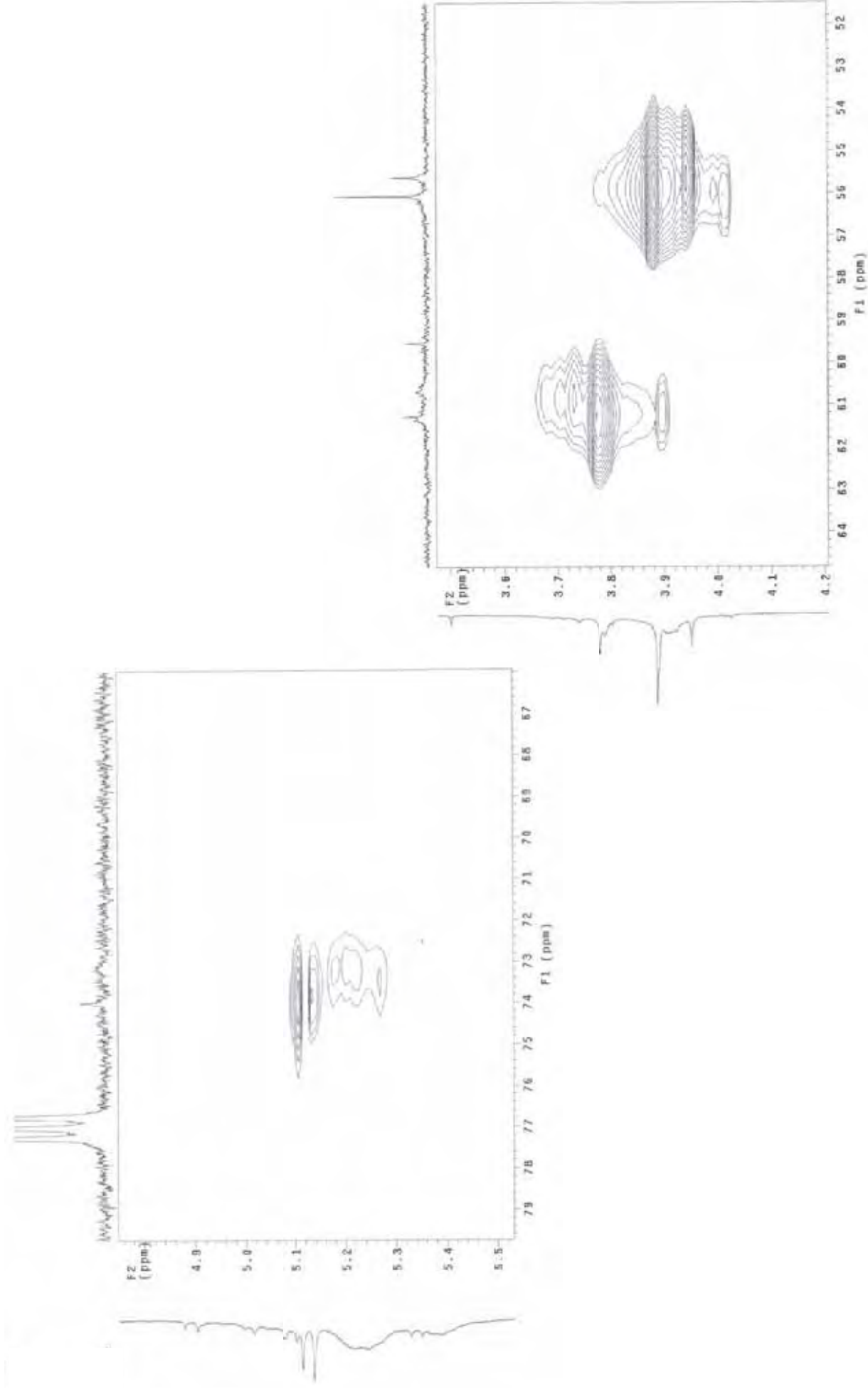
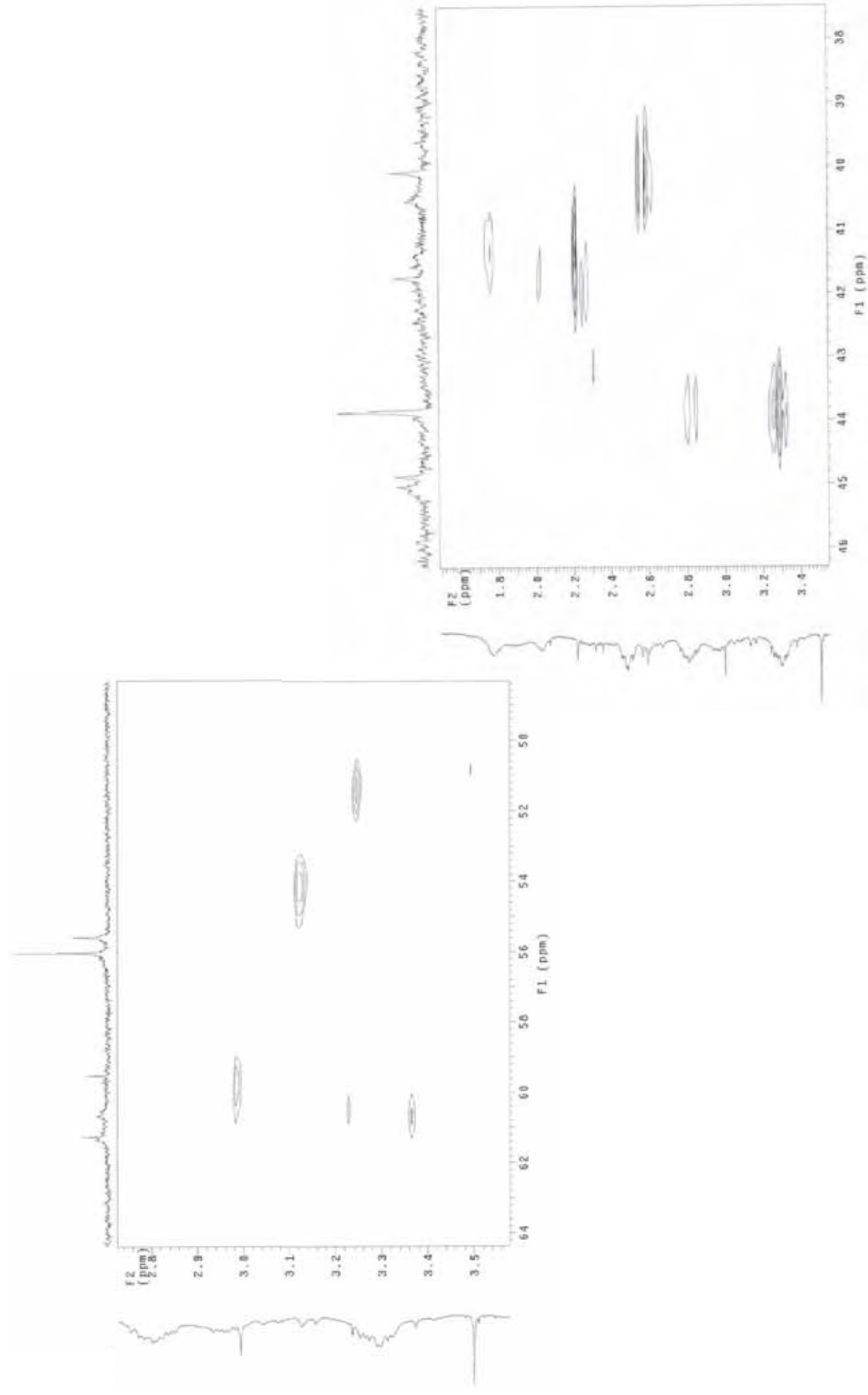


Figura 141. Mapa de contornos gHMQC de **8a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 141.



Ampliações da Figura 141.

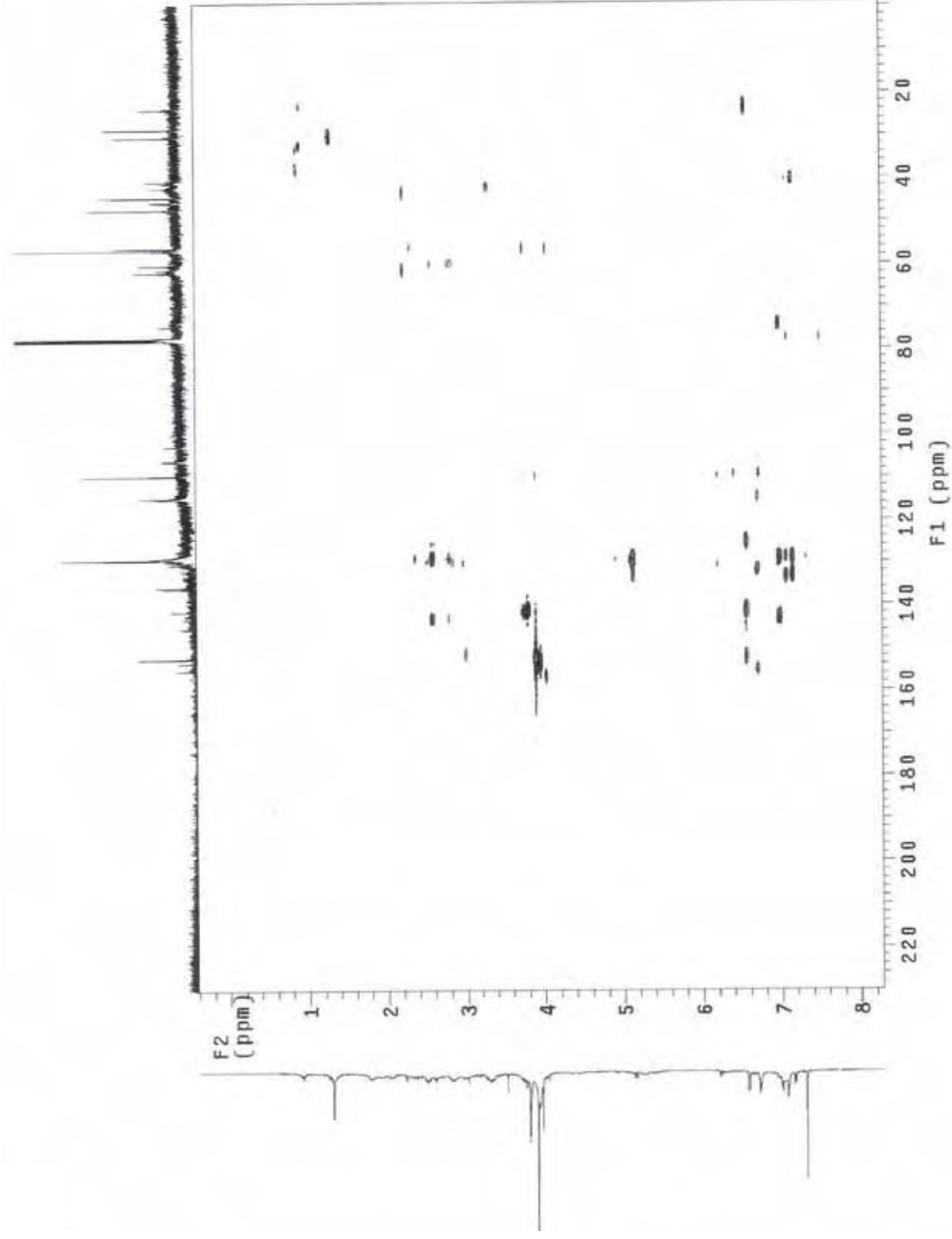
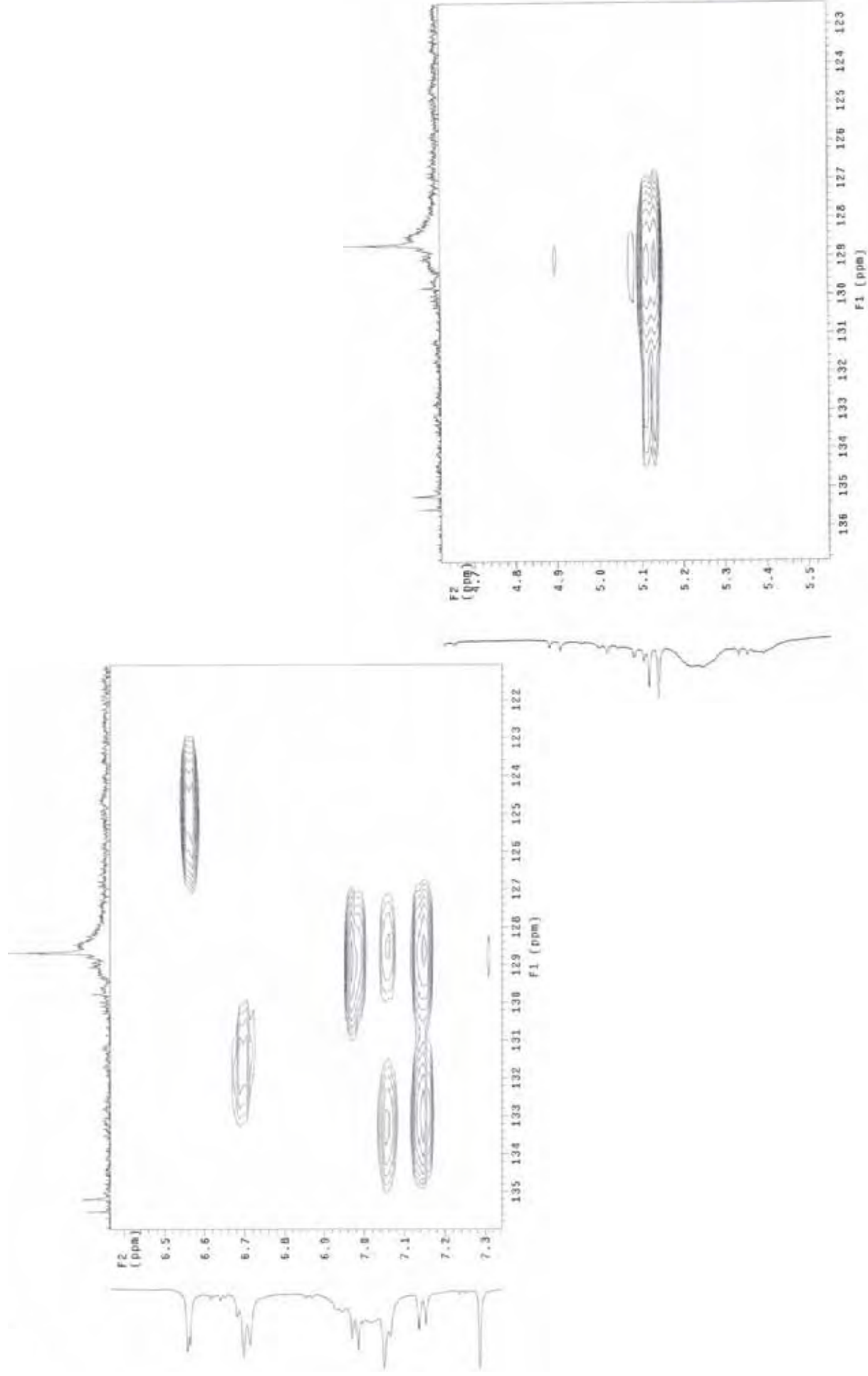
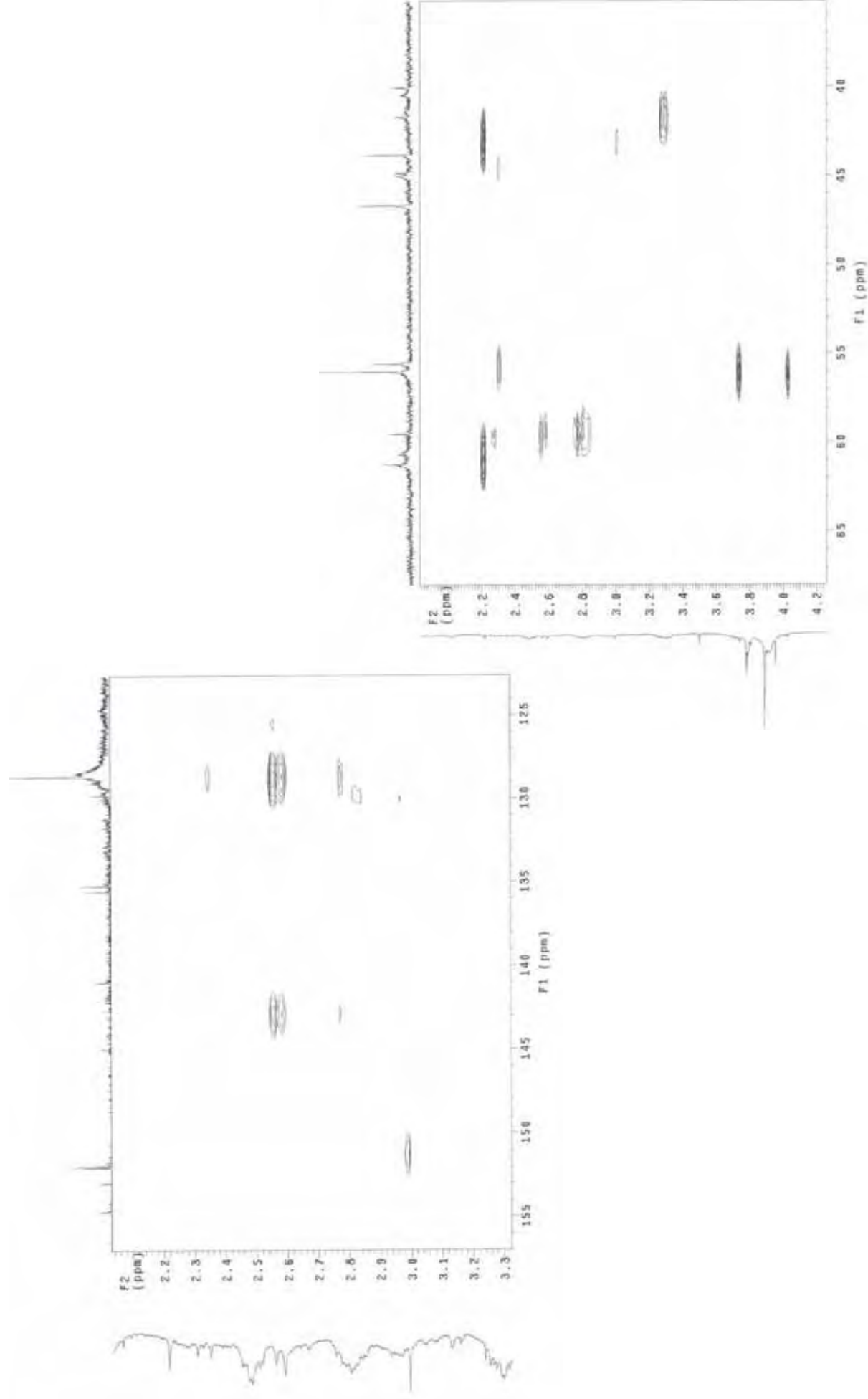


Figura 142. Mapa de contornos gHMBC de **8a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 142.



Ampliações da Figura 142.

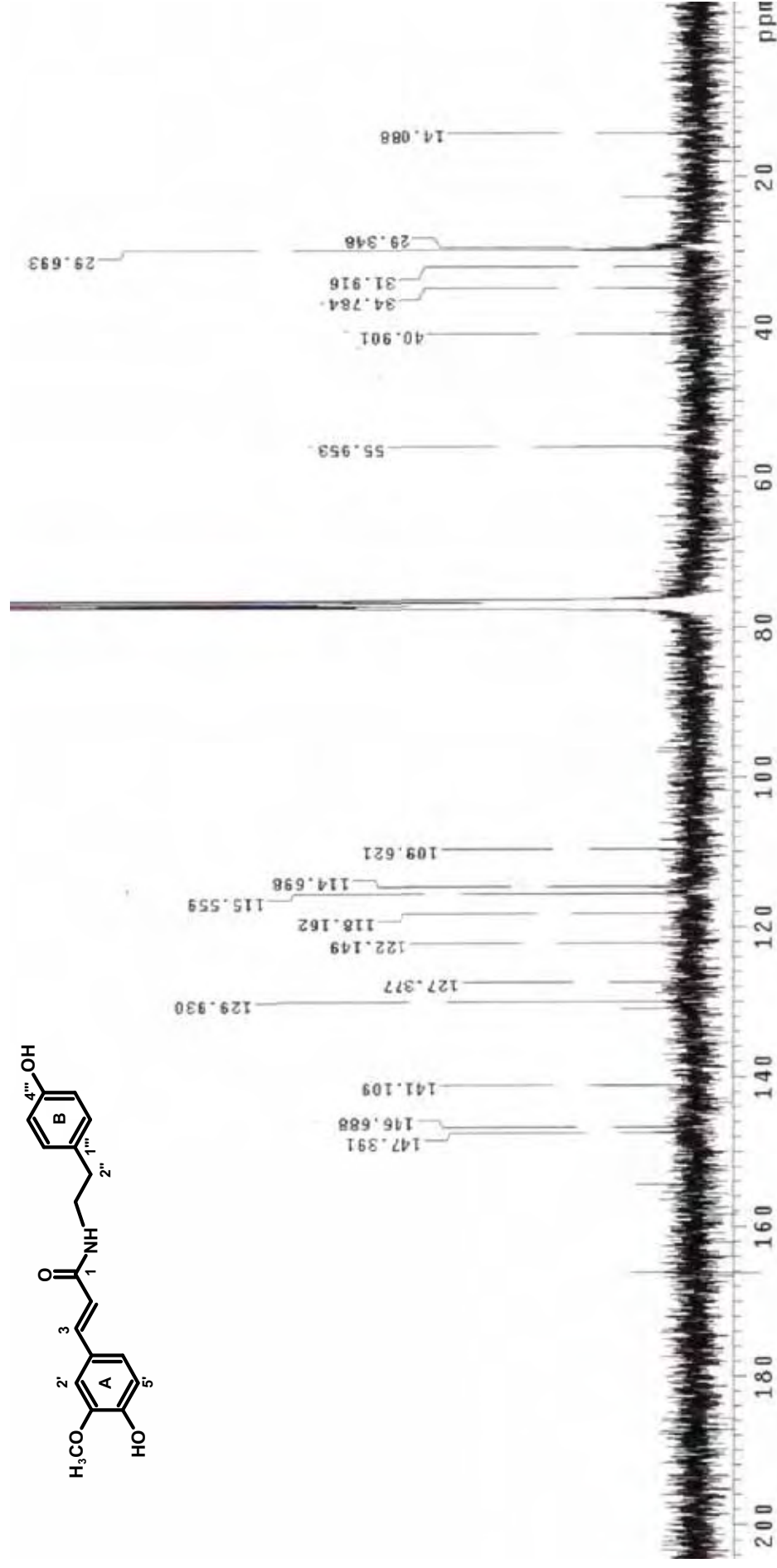
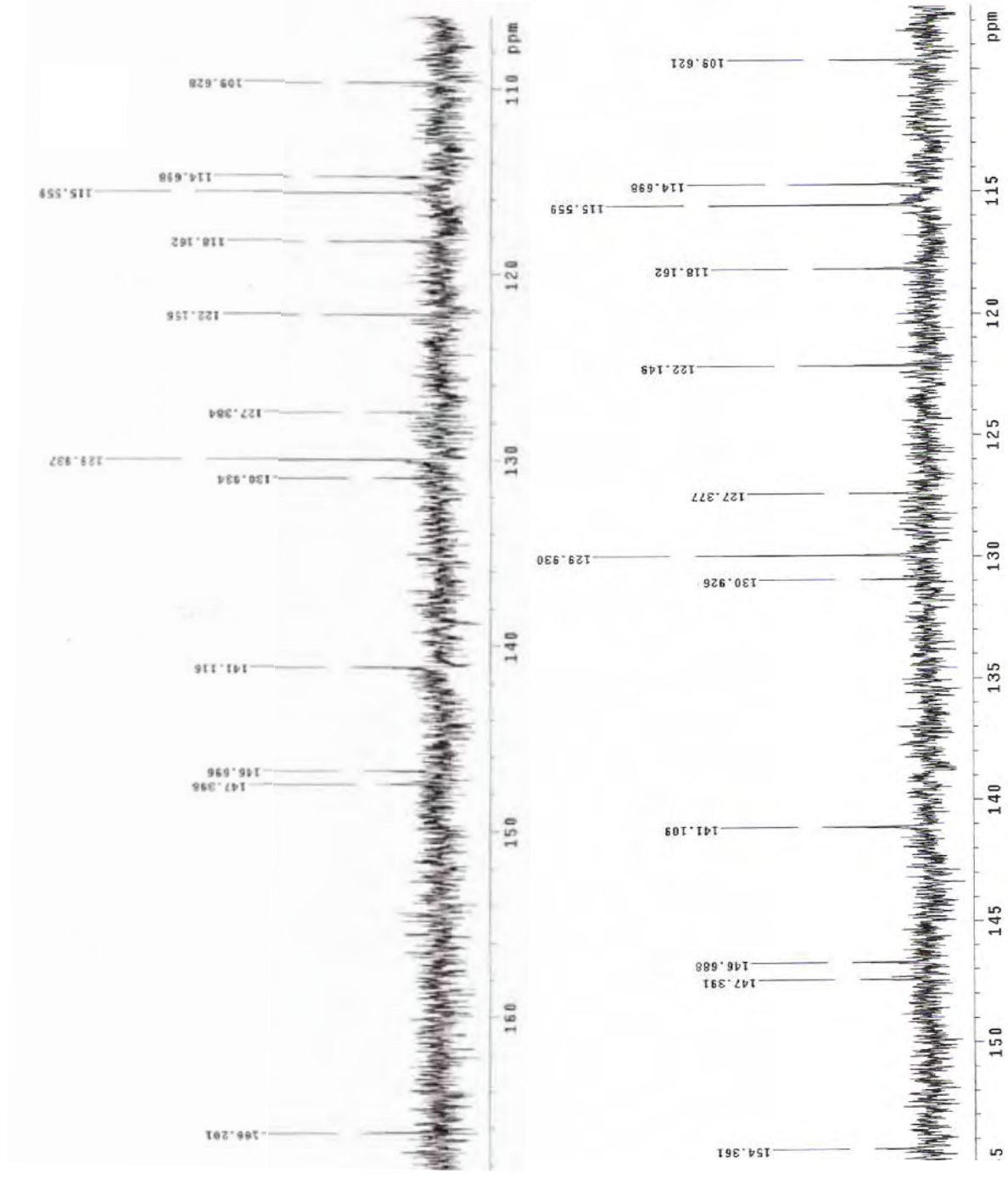


Figura 143. Espectro de RMN de ¹³C de **9** (CDCl₃, 11,7 T).



Ampliações da Figura 143.

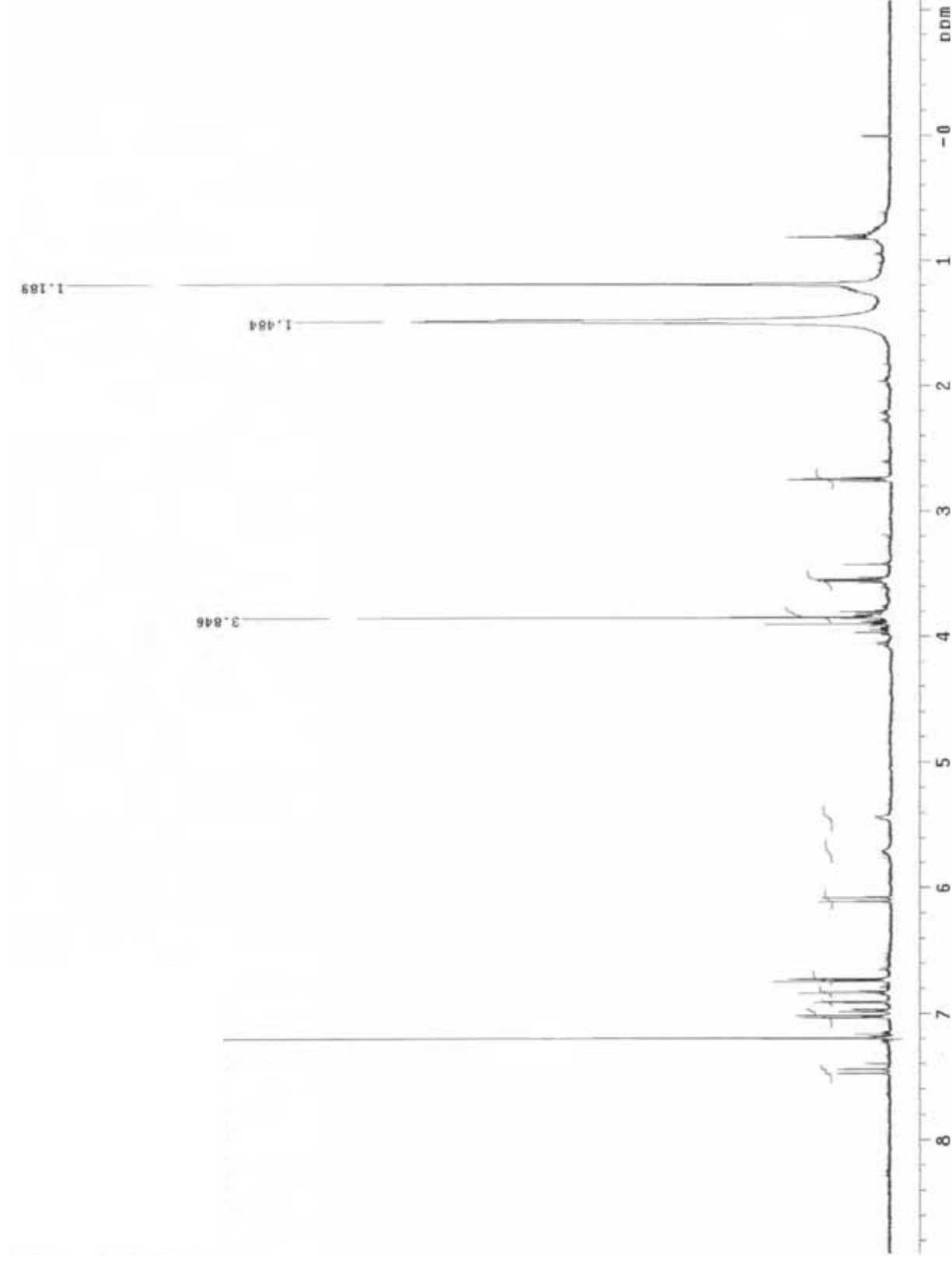
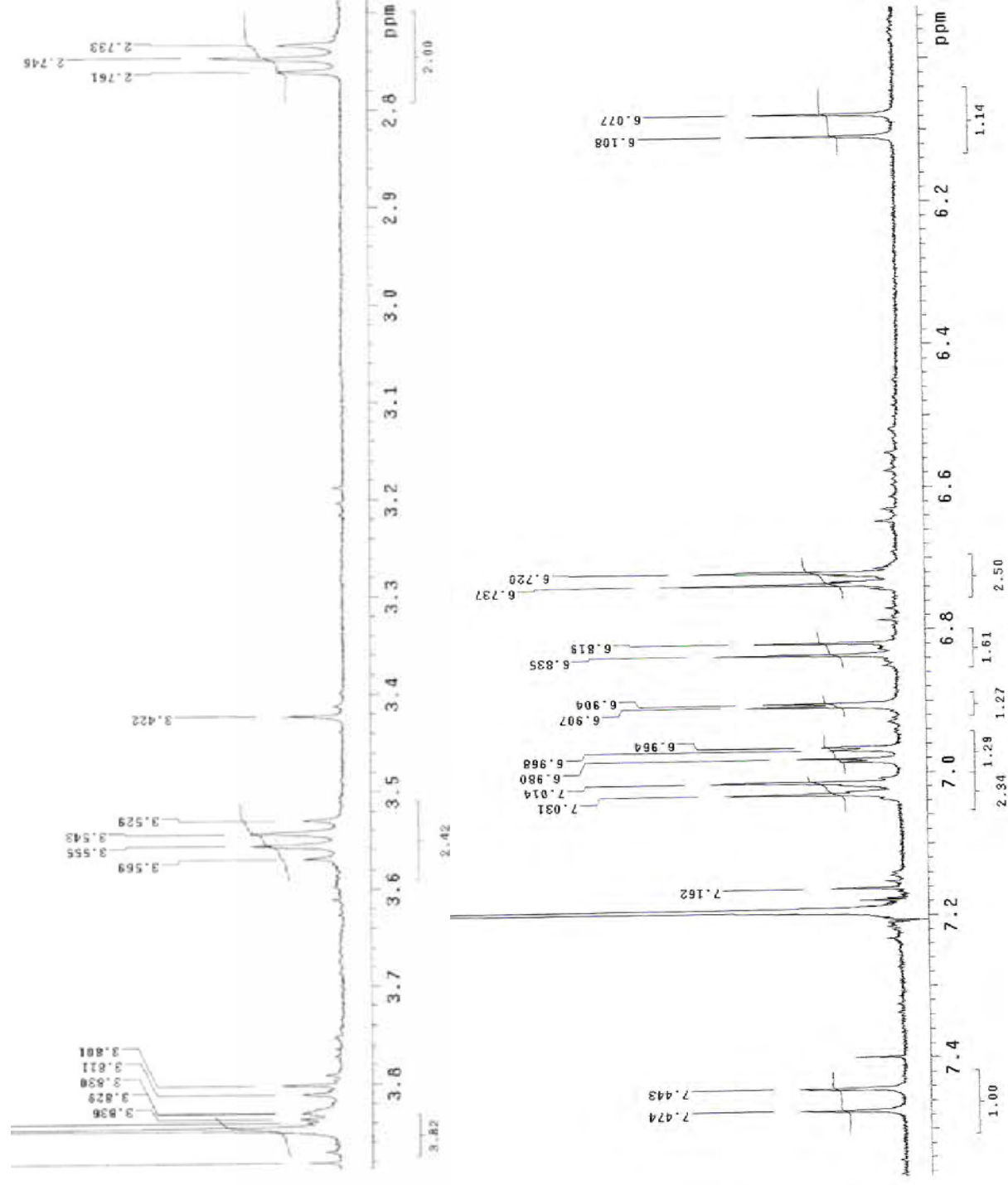


Figura 144. Espectro de RMN de ^1H de **9** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 144.

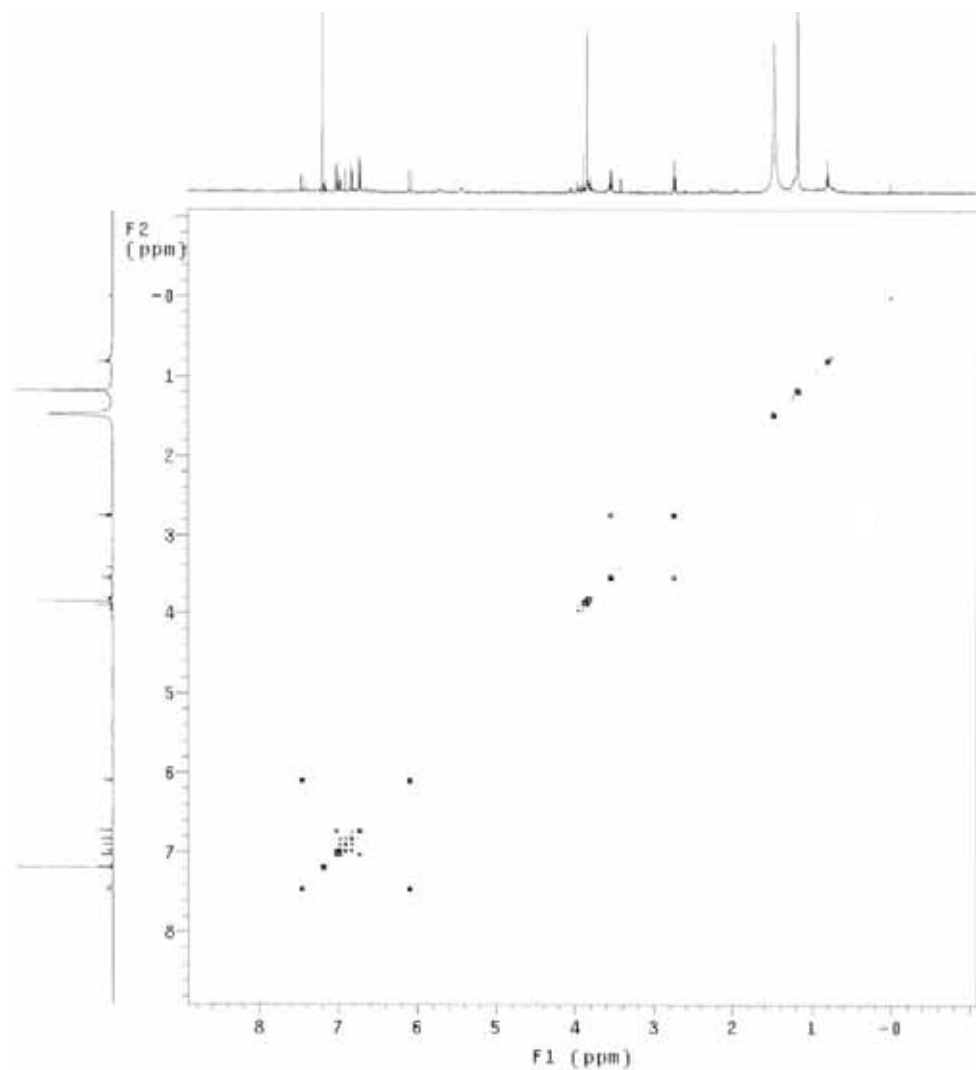


Figura 145. Espectro $g\text{COSY } ^1\text{H}$ - ^1H de **9** (CDCl_3 , 11,7 T).

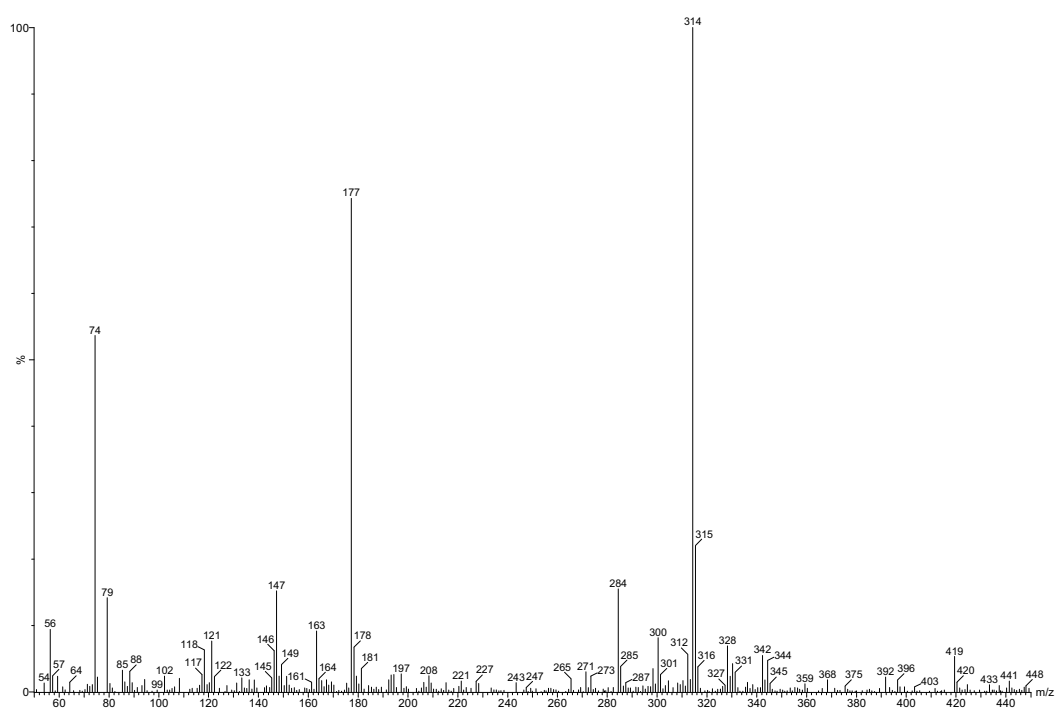


Figura 146. Espectro de massas de baixa resolução de **9** (ESI, "full scan", +25 V).

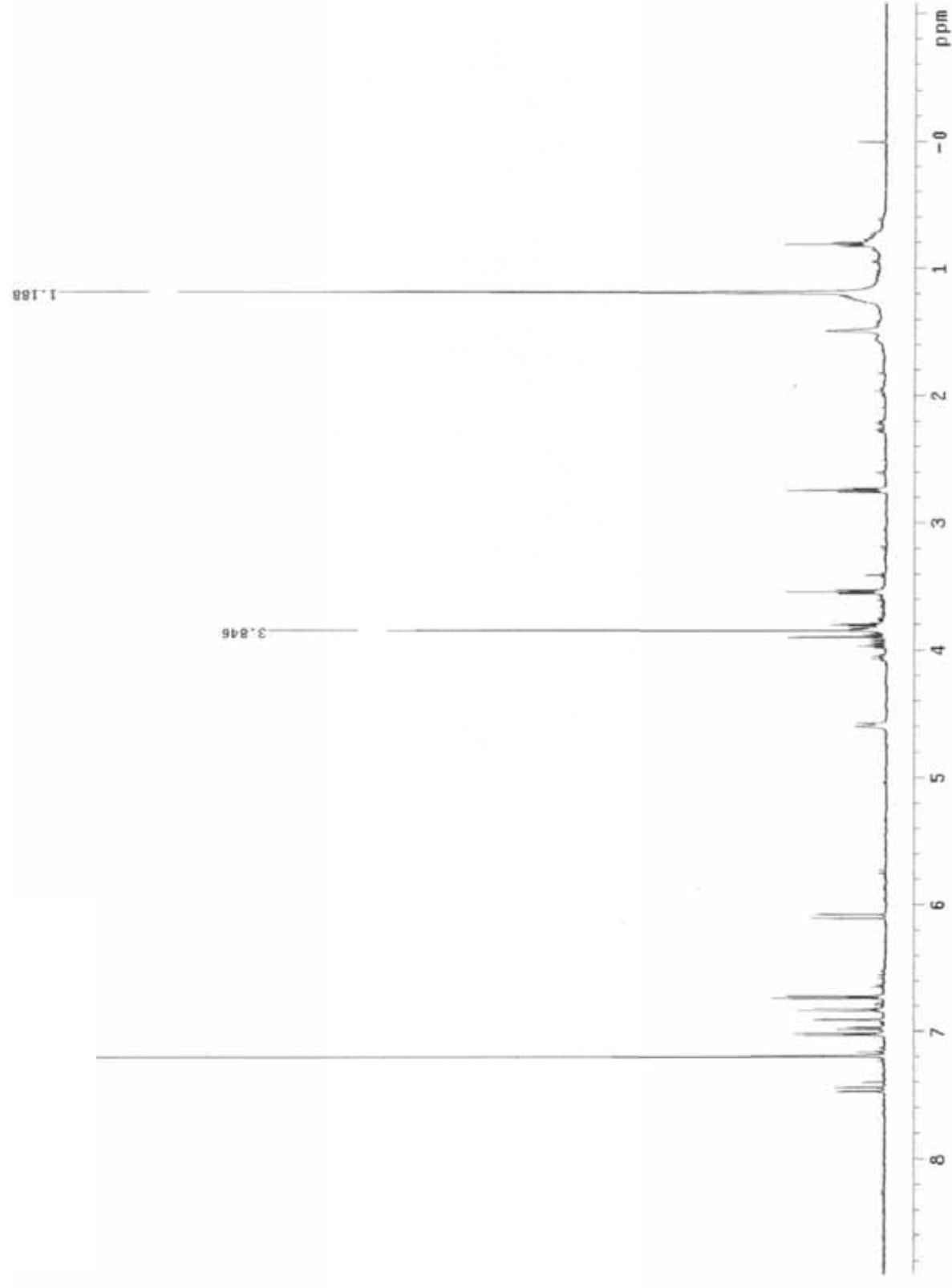
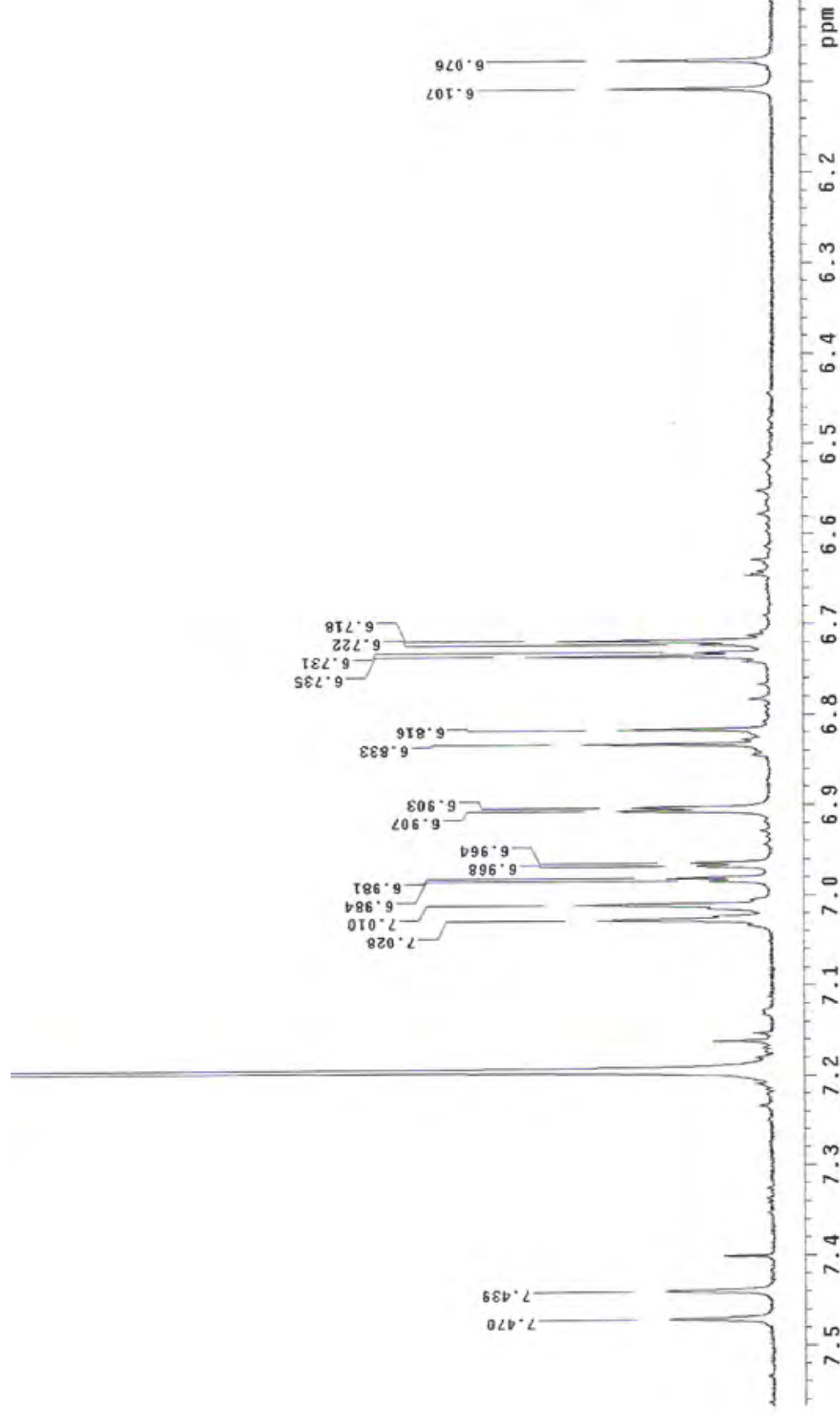
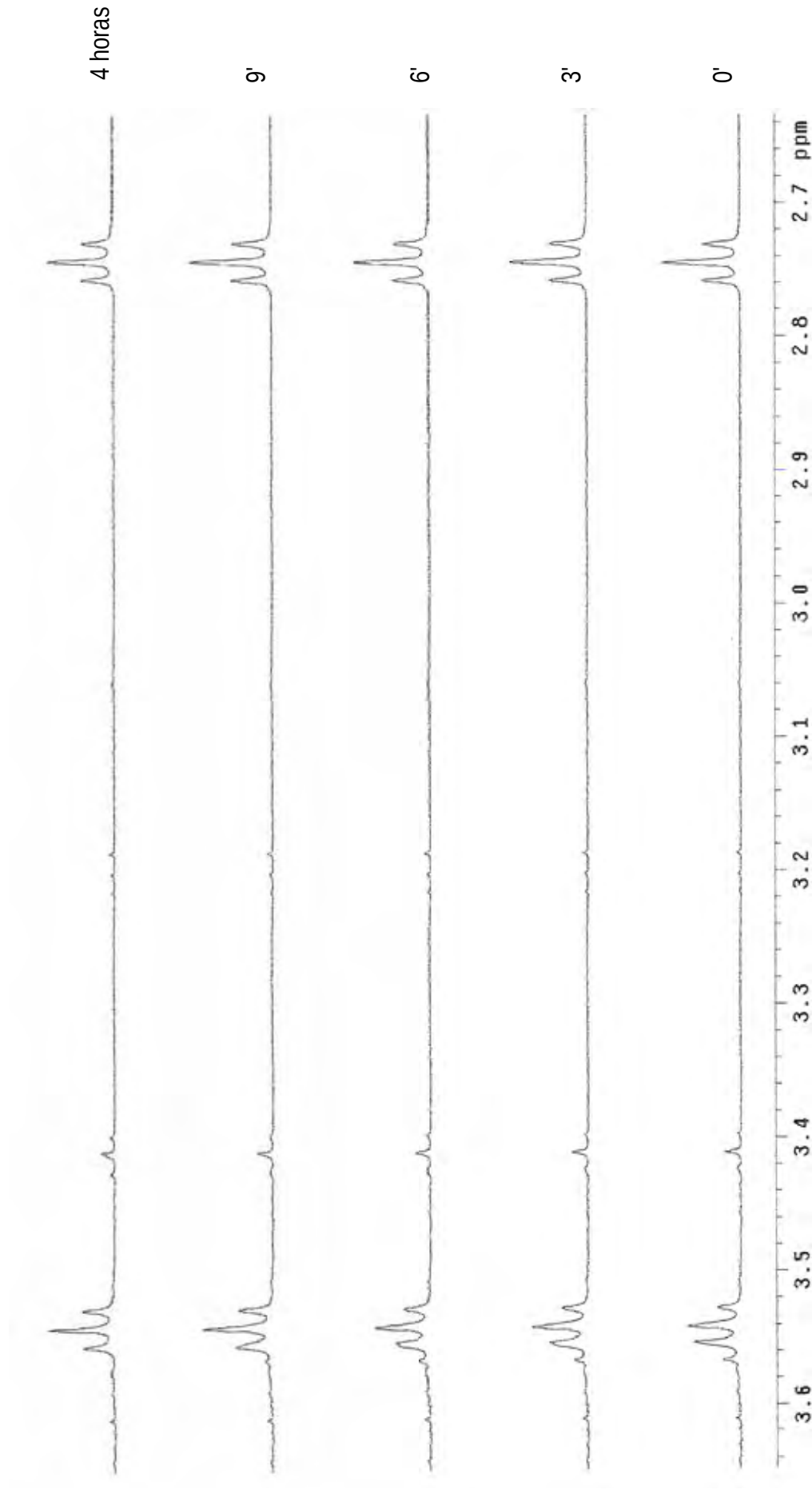


Figura 147. Espectro de RMN de ^1H de **9** ($\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$, 11,7 T).



Ampliação da Figura 147.



Ampliações da Figura 147.

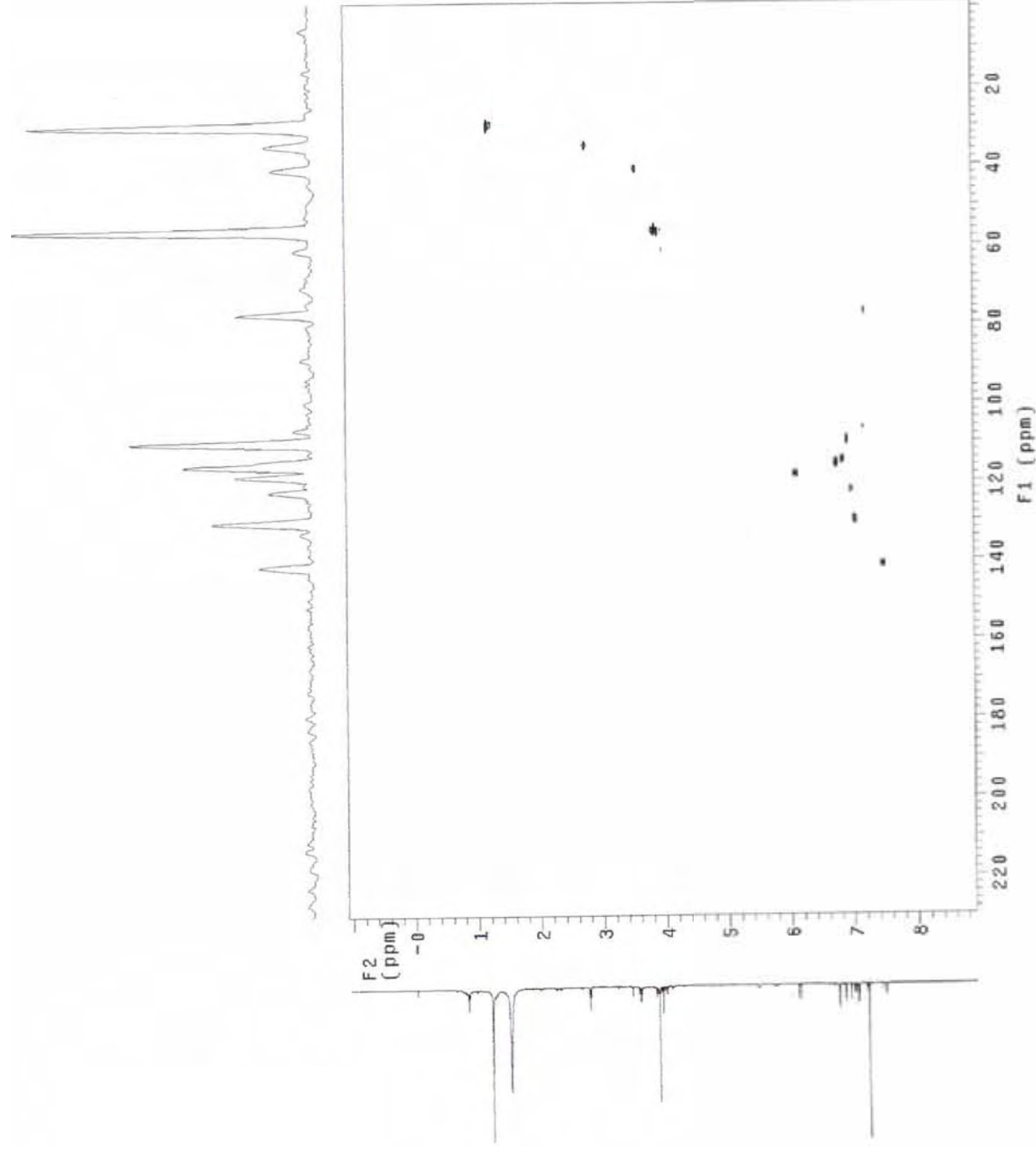
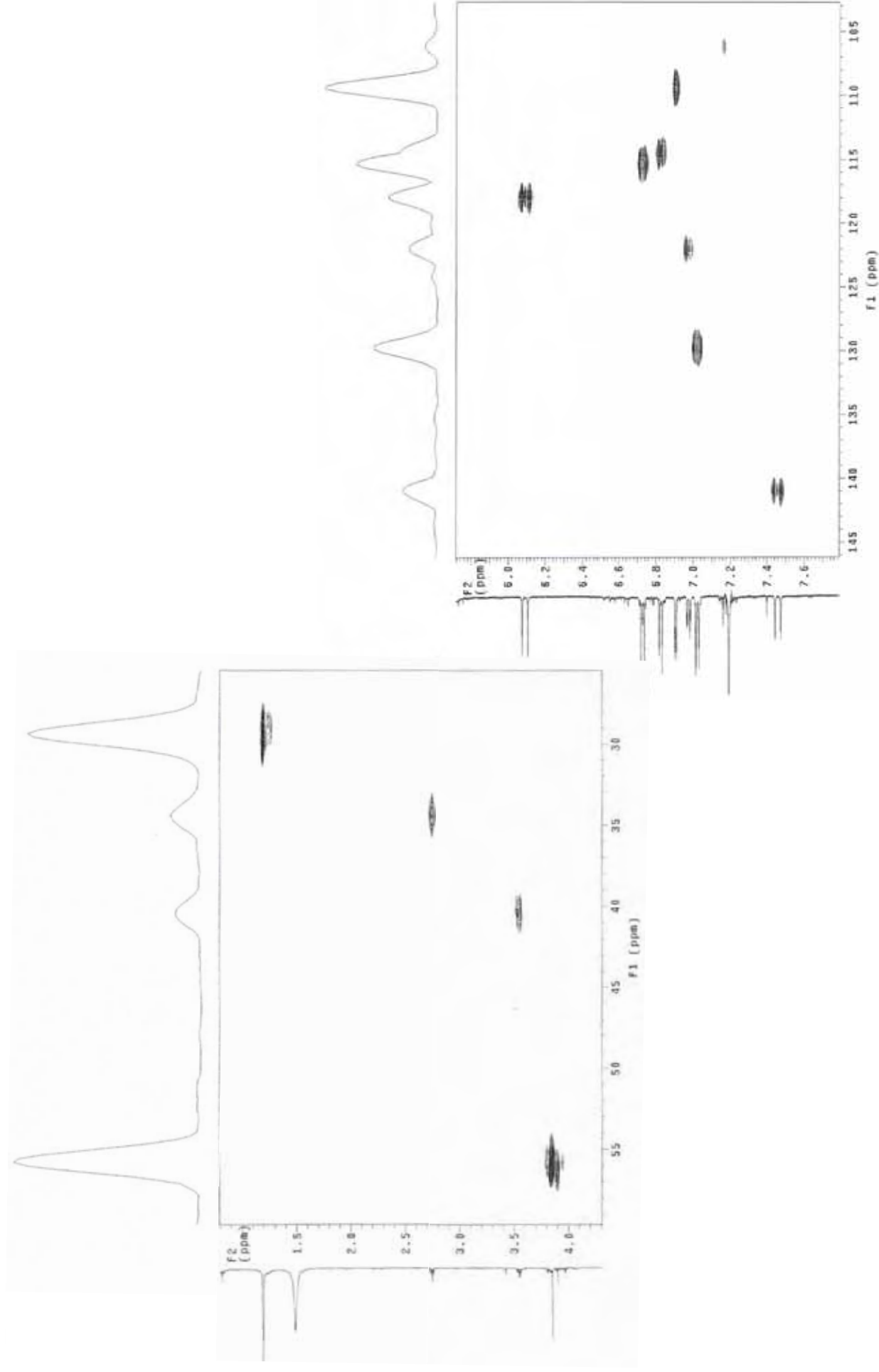


Figura 148. Mapa de contornos gHMQC de **9** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 148.

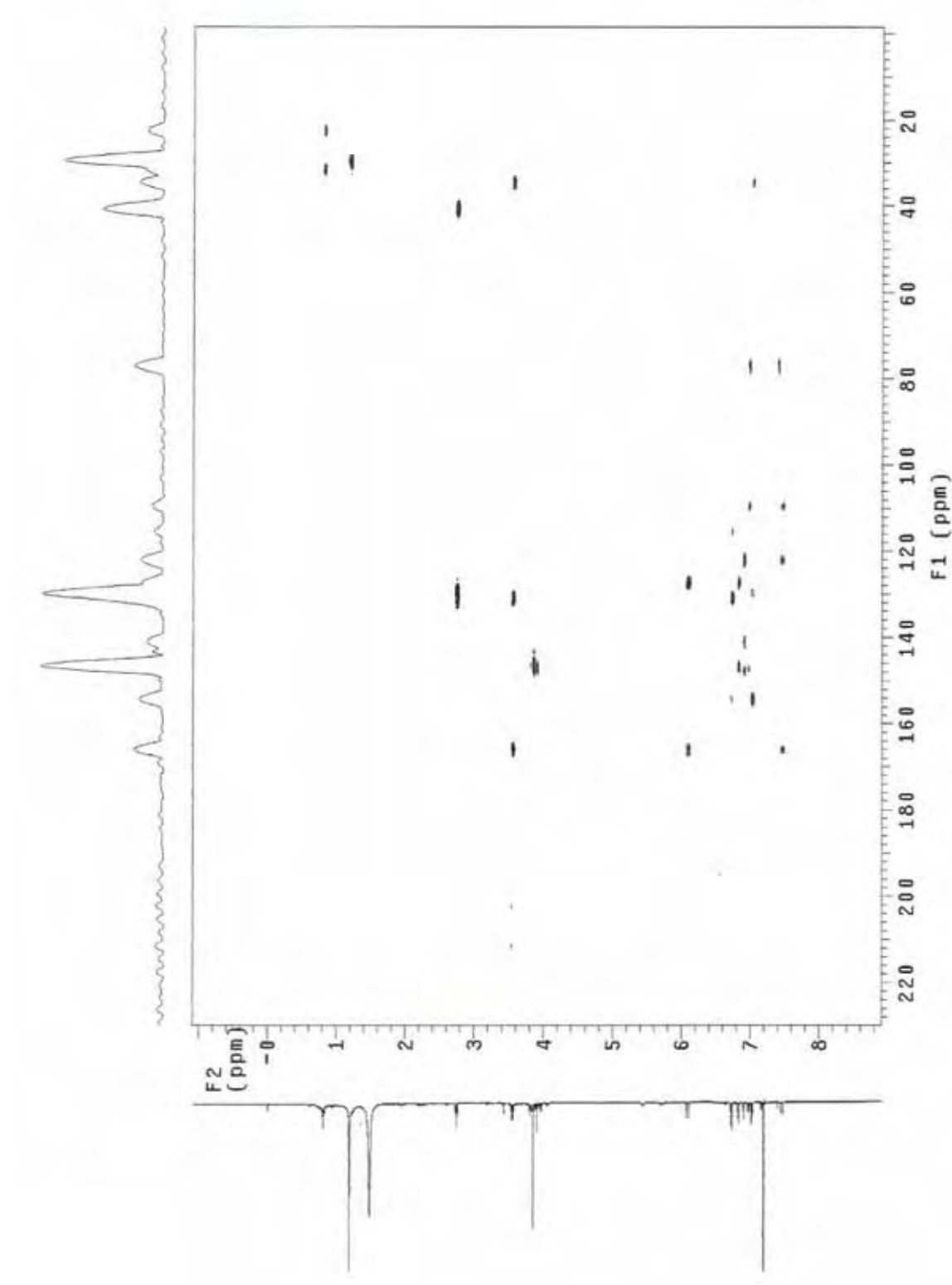
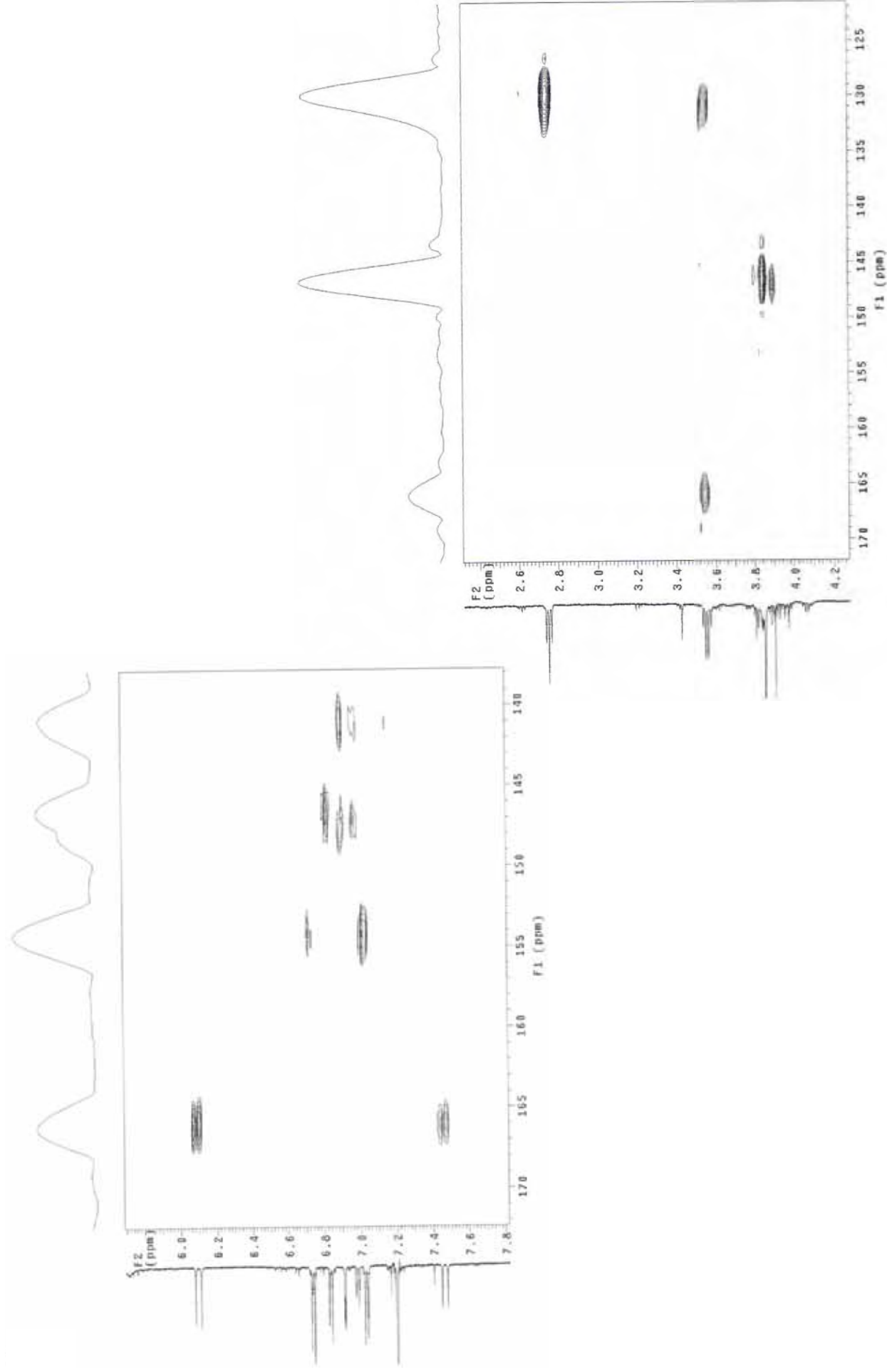
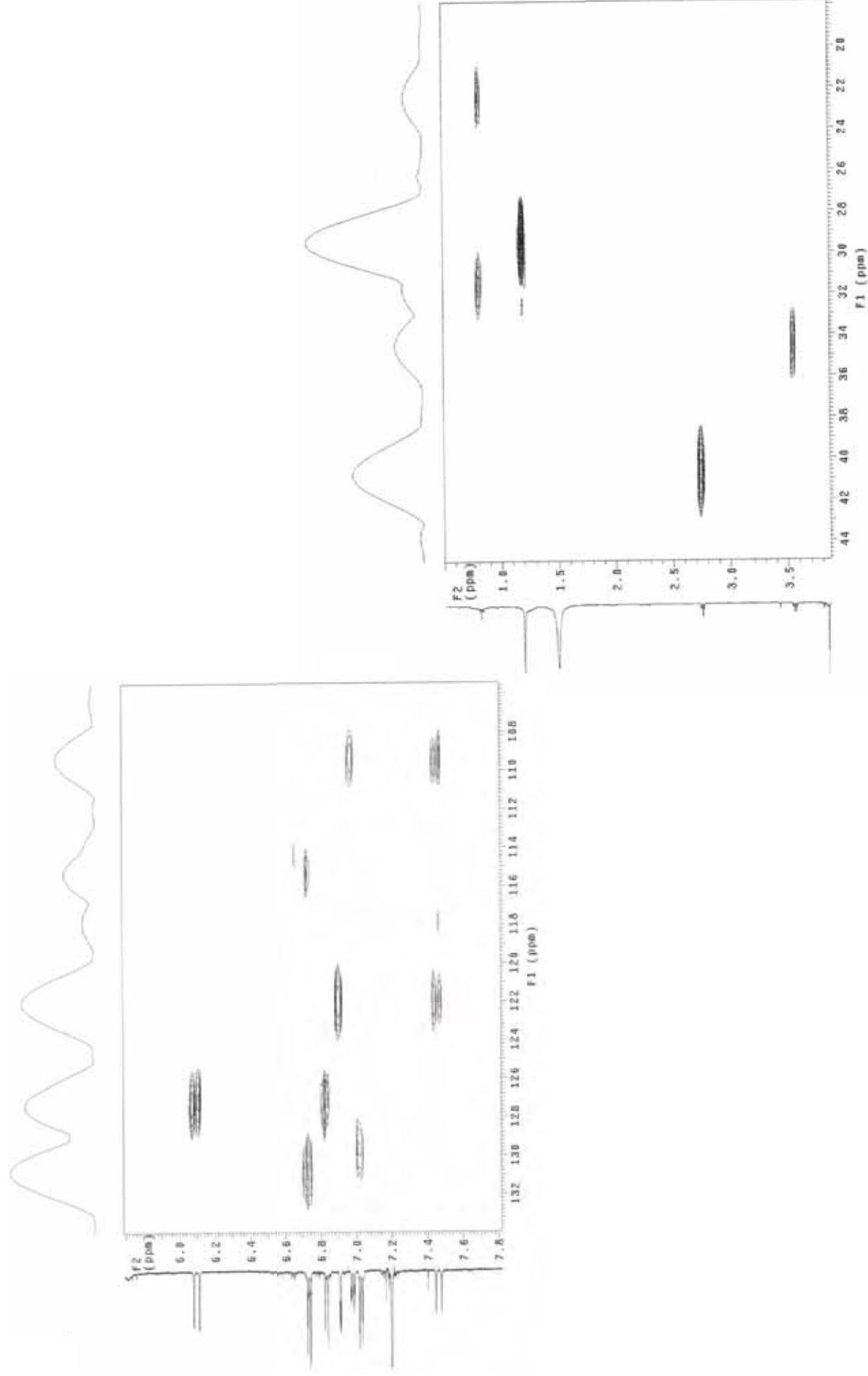


Figura 149. Mapa de contornos gHMBC de **9** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 149.



Ampliações da Figura 149.

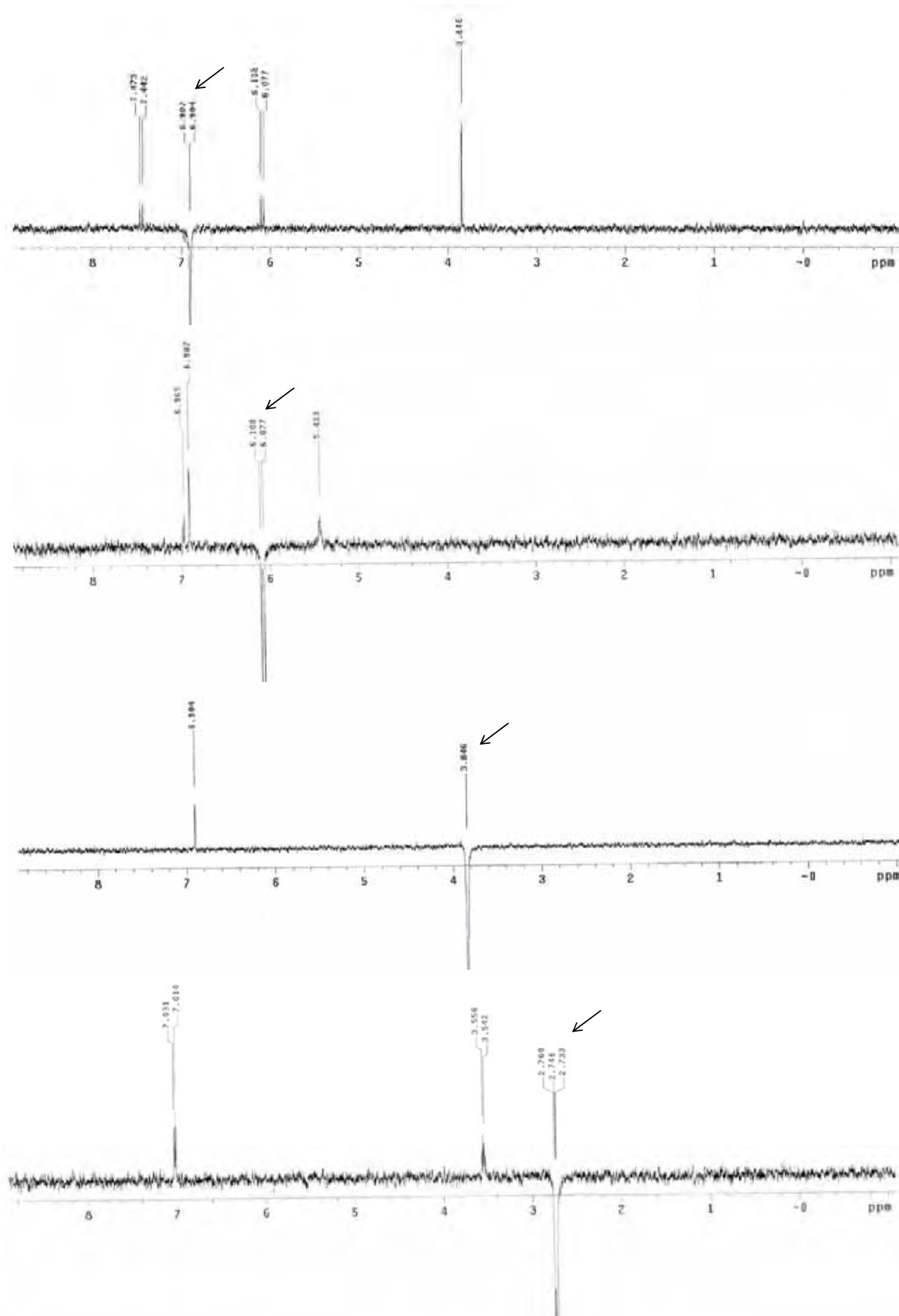


Figura 150. Espectros gNOESY 1D de **9** irradiando em δ 6,91, 6,09, 3,85 e 2,75 (CDCl_3 , 11,7 T).

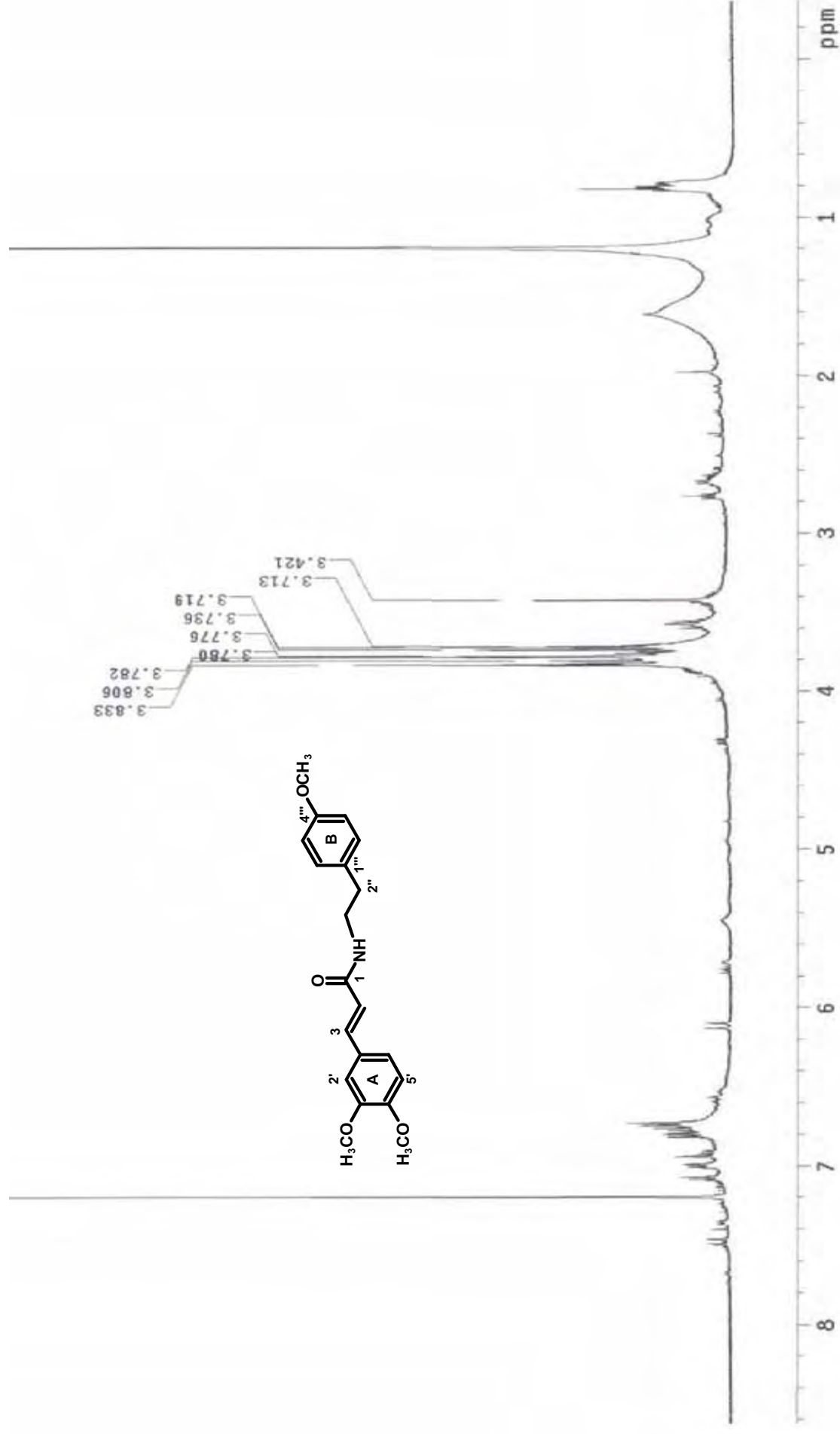
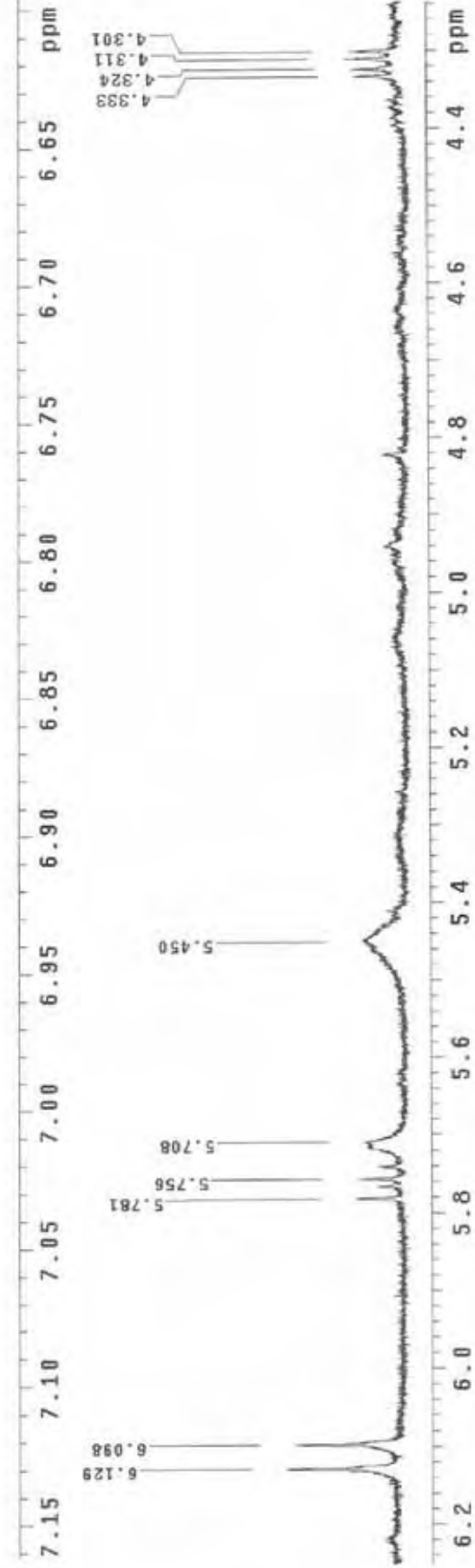
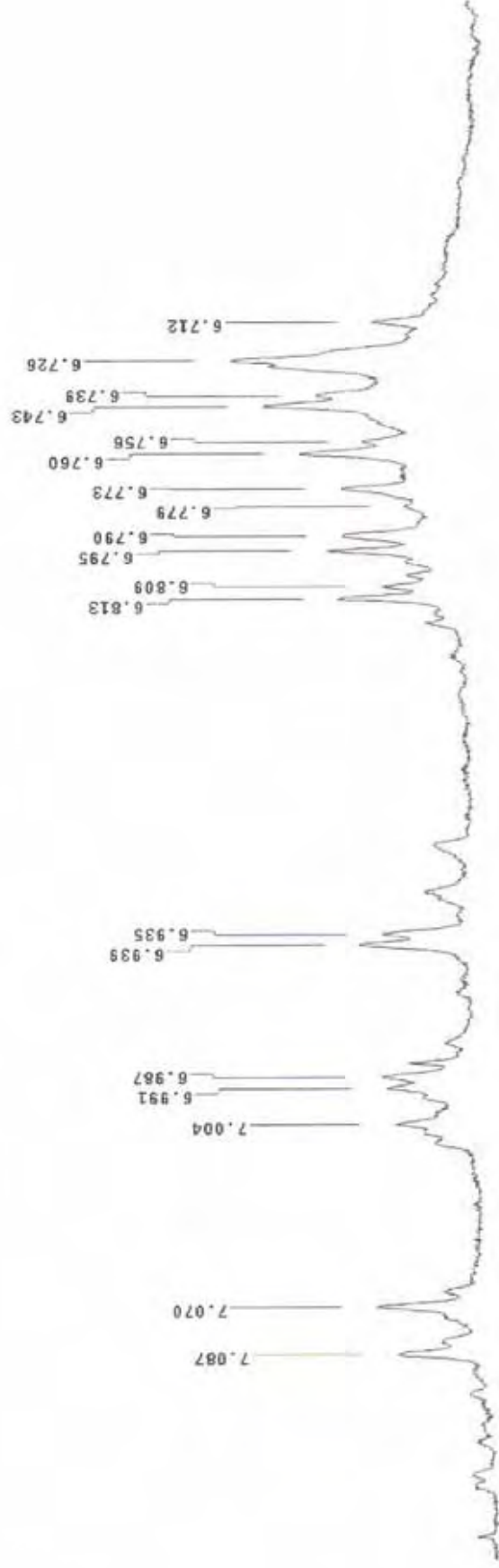


Figura 151. Espectro de RMN de ^1H de **9a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 151.

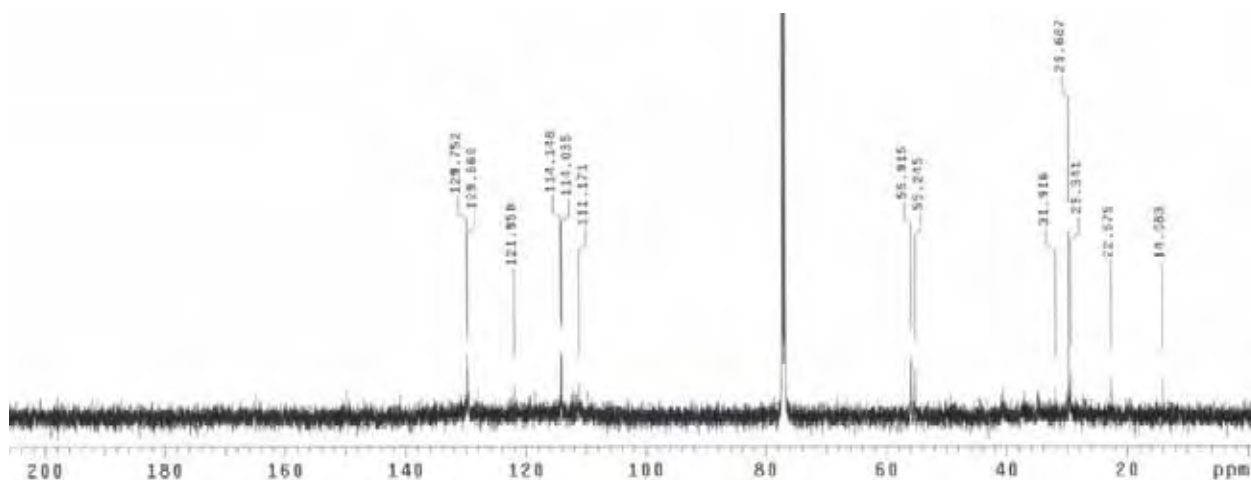
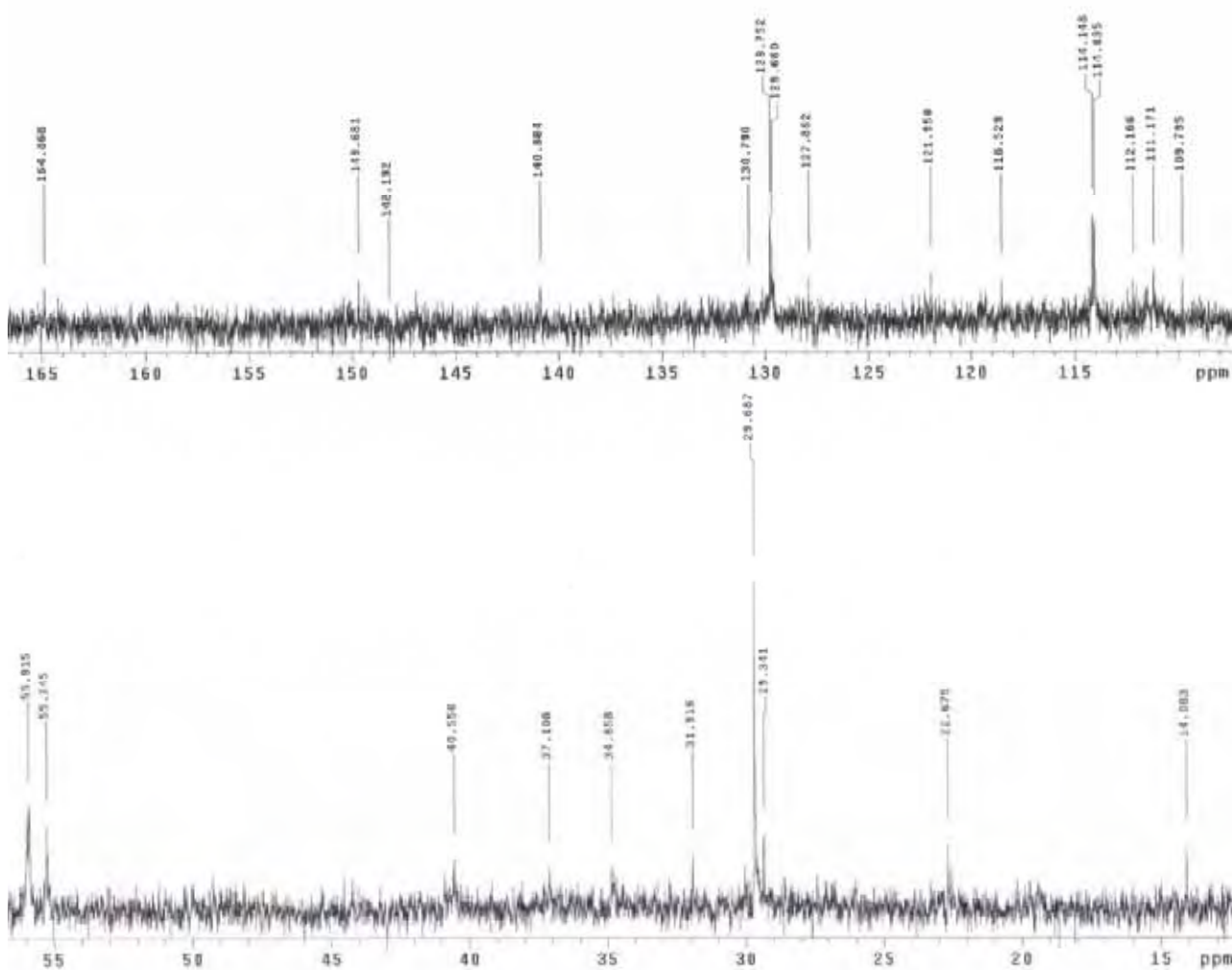


Figura 152. Espectro de RMN de ^{13}C de **9a** (CDCl_3 , 11,7 T).



Ampliações da Figura 152.

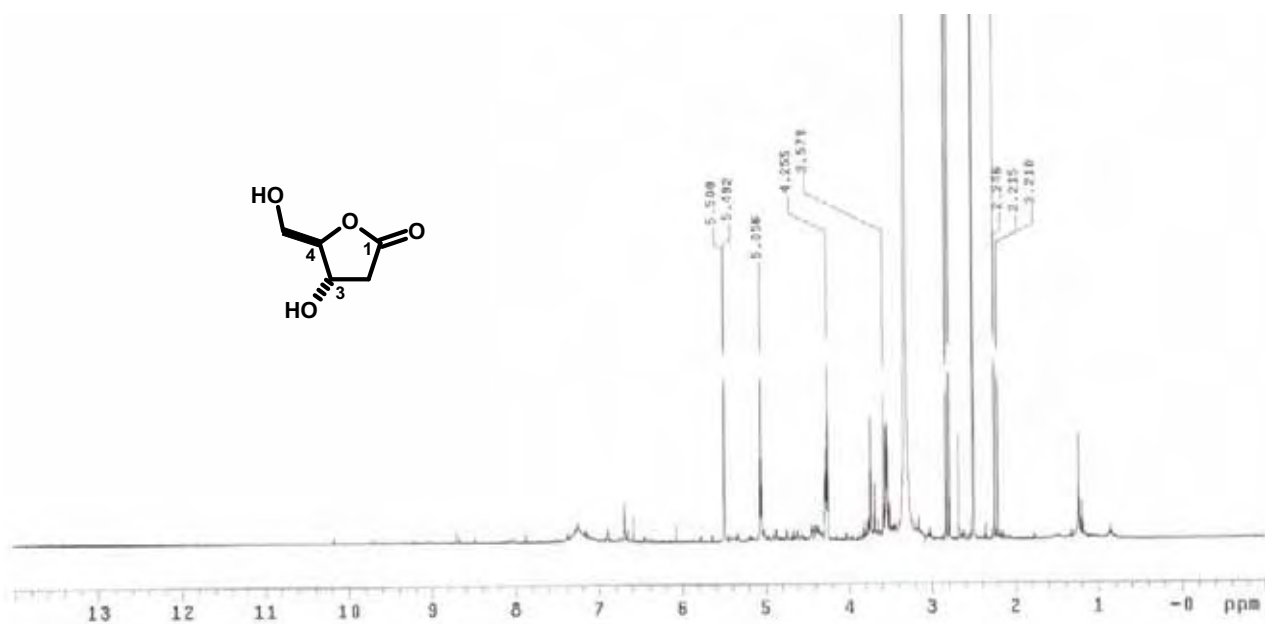
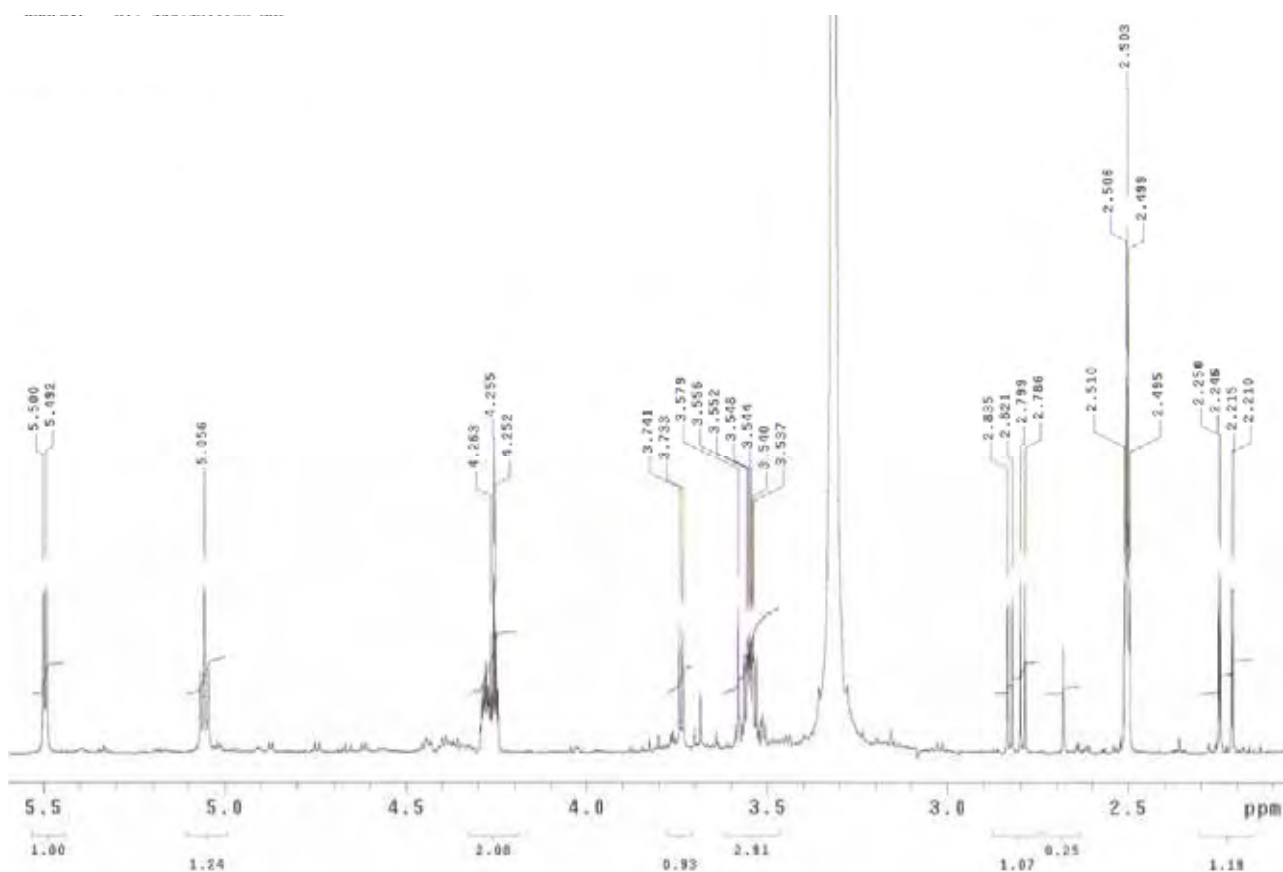


Figura 153. Espectro de RMN de ^1H de **10** ($\text{DMSO}-d_6$, 11,7 T).



Ampliação da **Figura 153**.

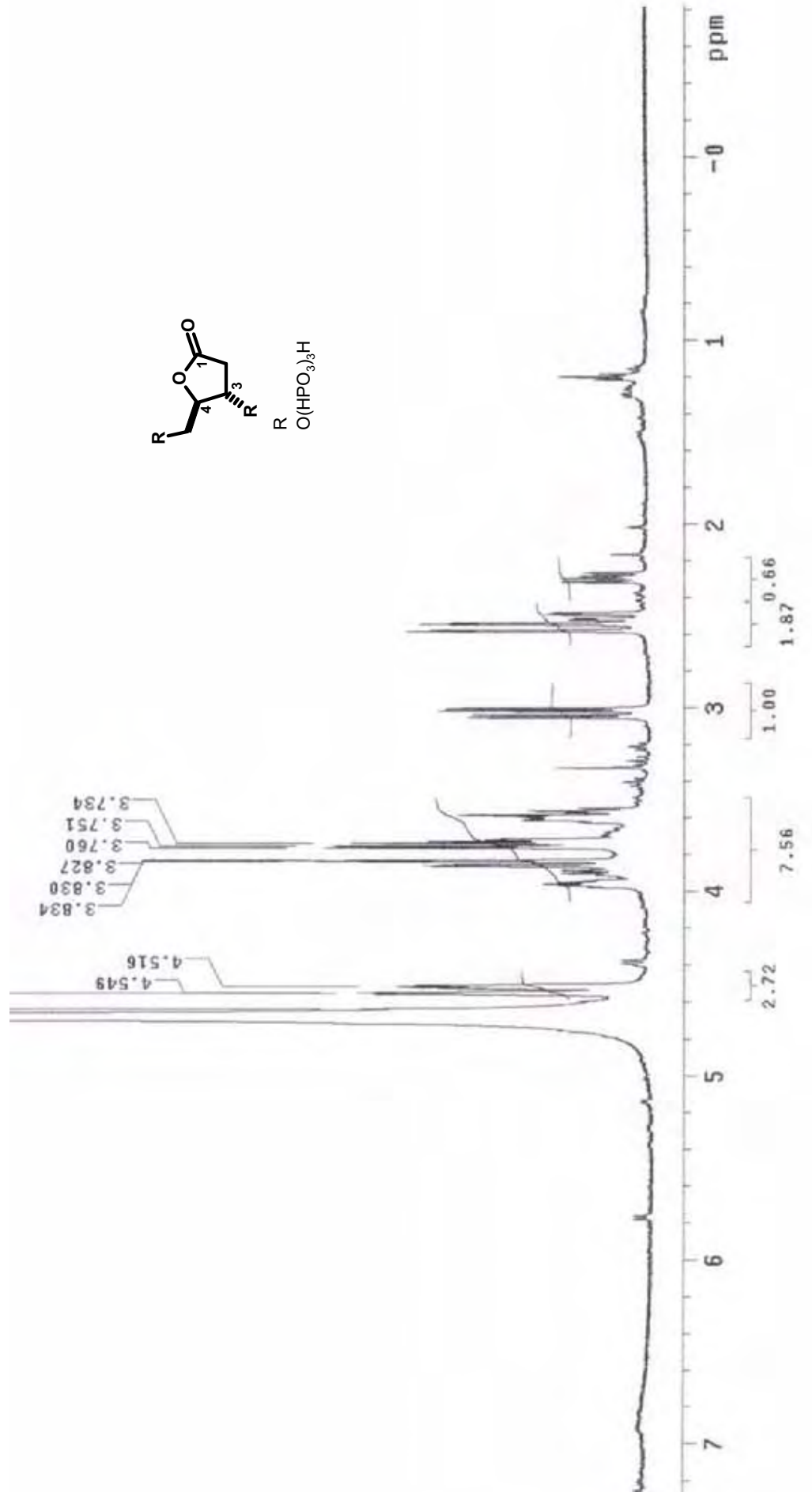
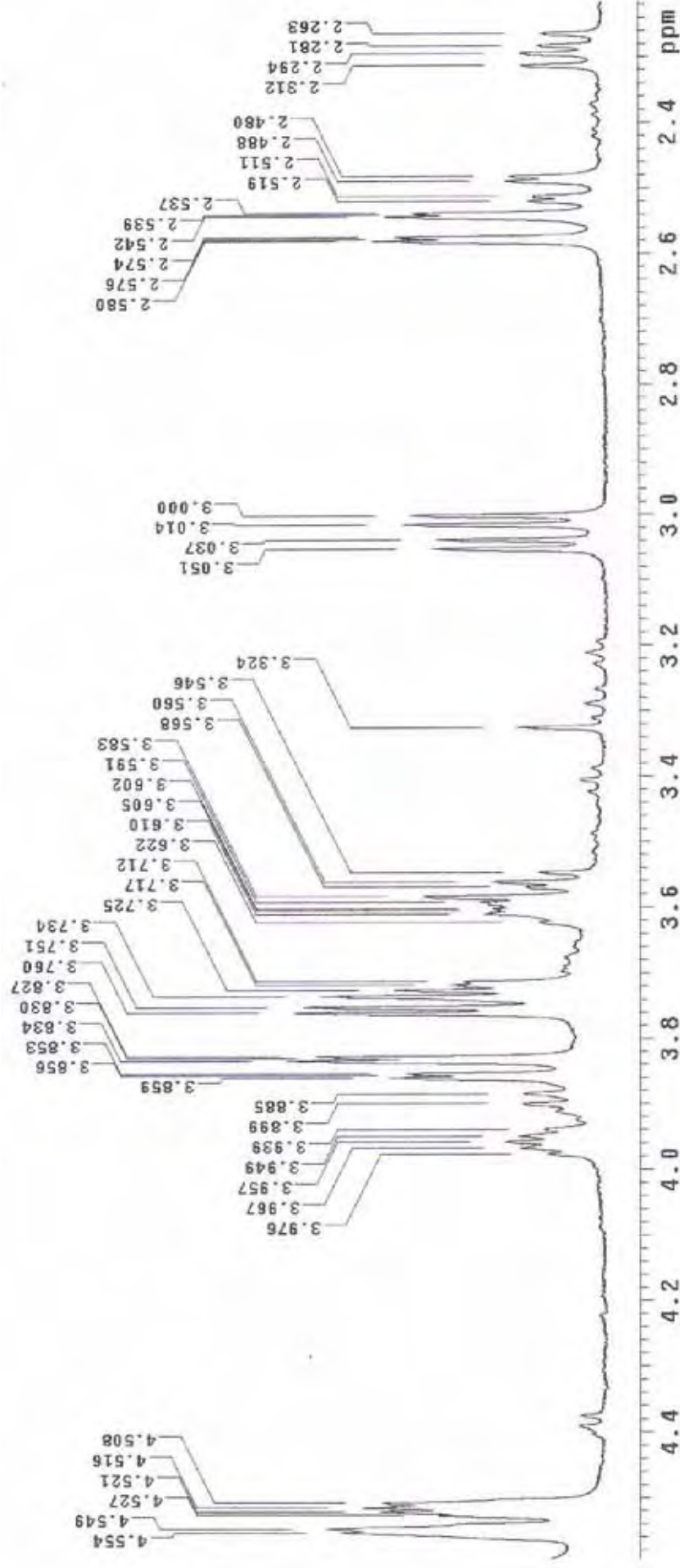


Figura 154. Espectro de RMN de ^1H de **11** (D₂O, 11,7 T).



Ampliação da Figura 154.

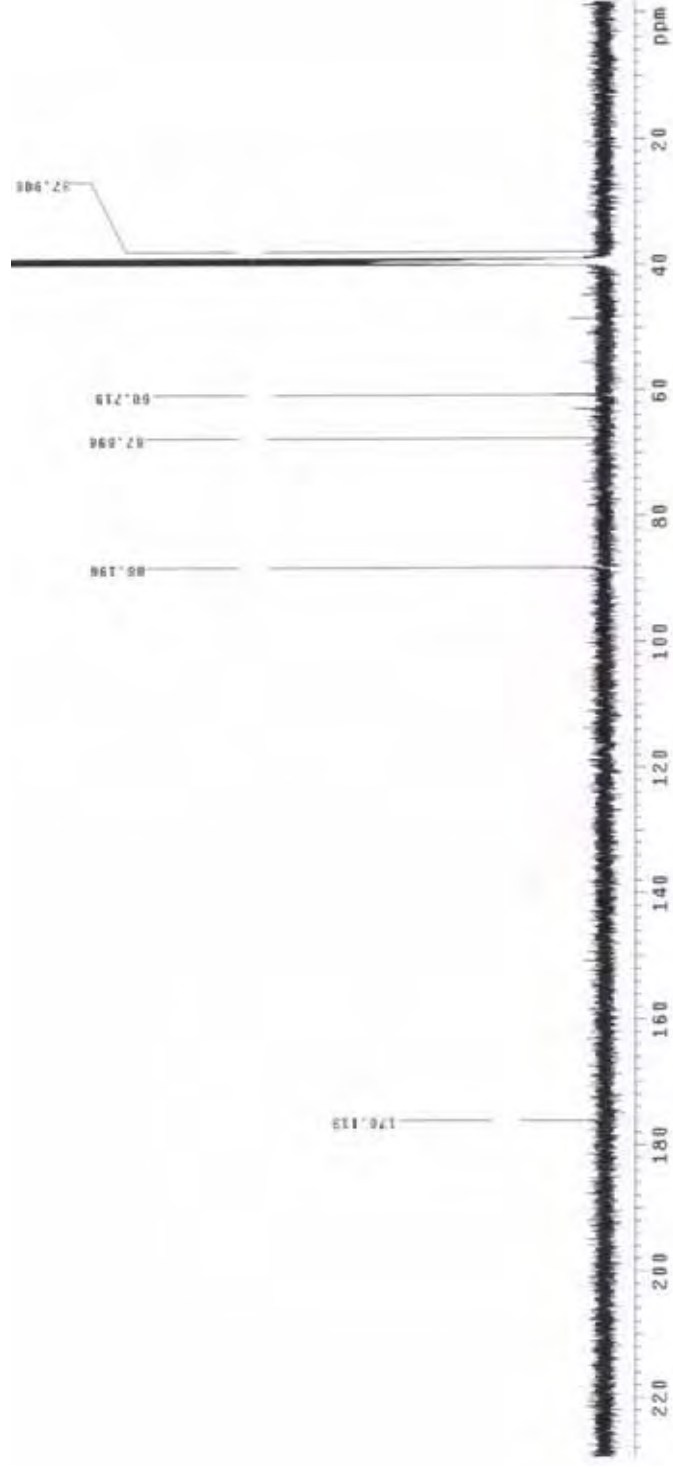


Figura 155. Espectro de RMN de ¹³C de **10** (DMSO-*d*₆, 11,7 T).

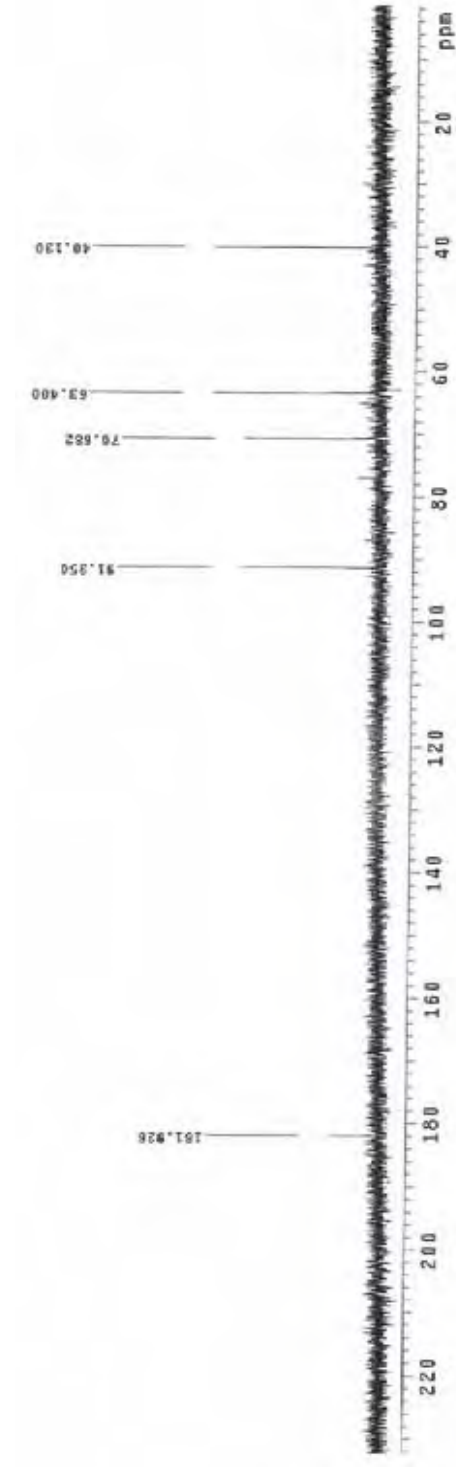


Figura 156. Espectro de RMN de ¹³C de **11** (D₂O, 7,0 T).

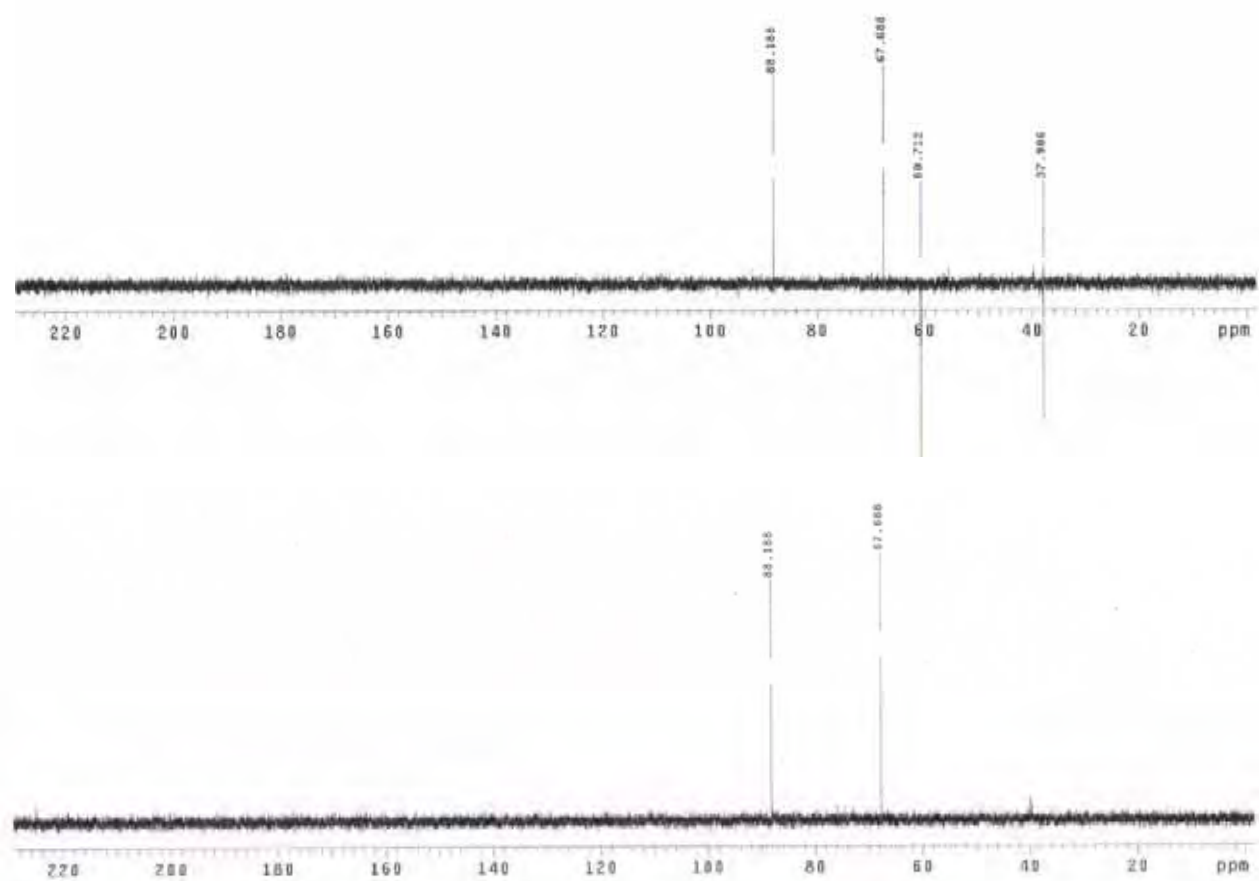


Figura 157. Espectros DEPT 135° e 90° de **10** (DMSO- d_6 , 11,7 T).

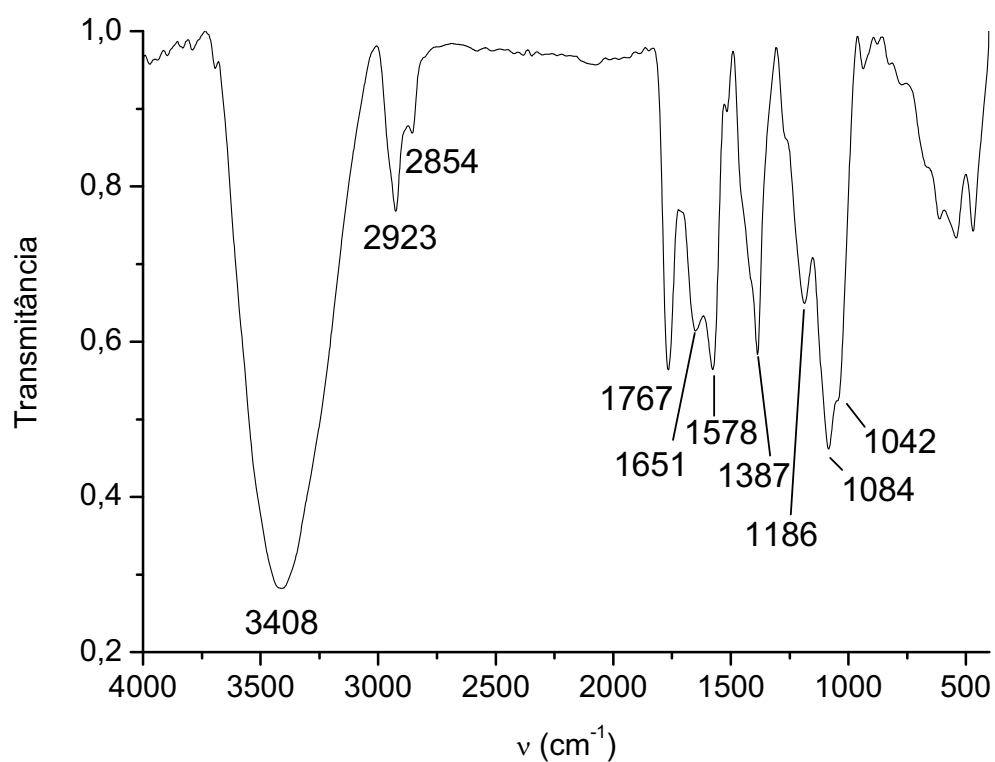


Figura 158. Espectro de absorção na região do IV de **10** (KBr).

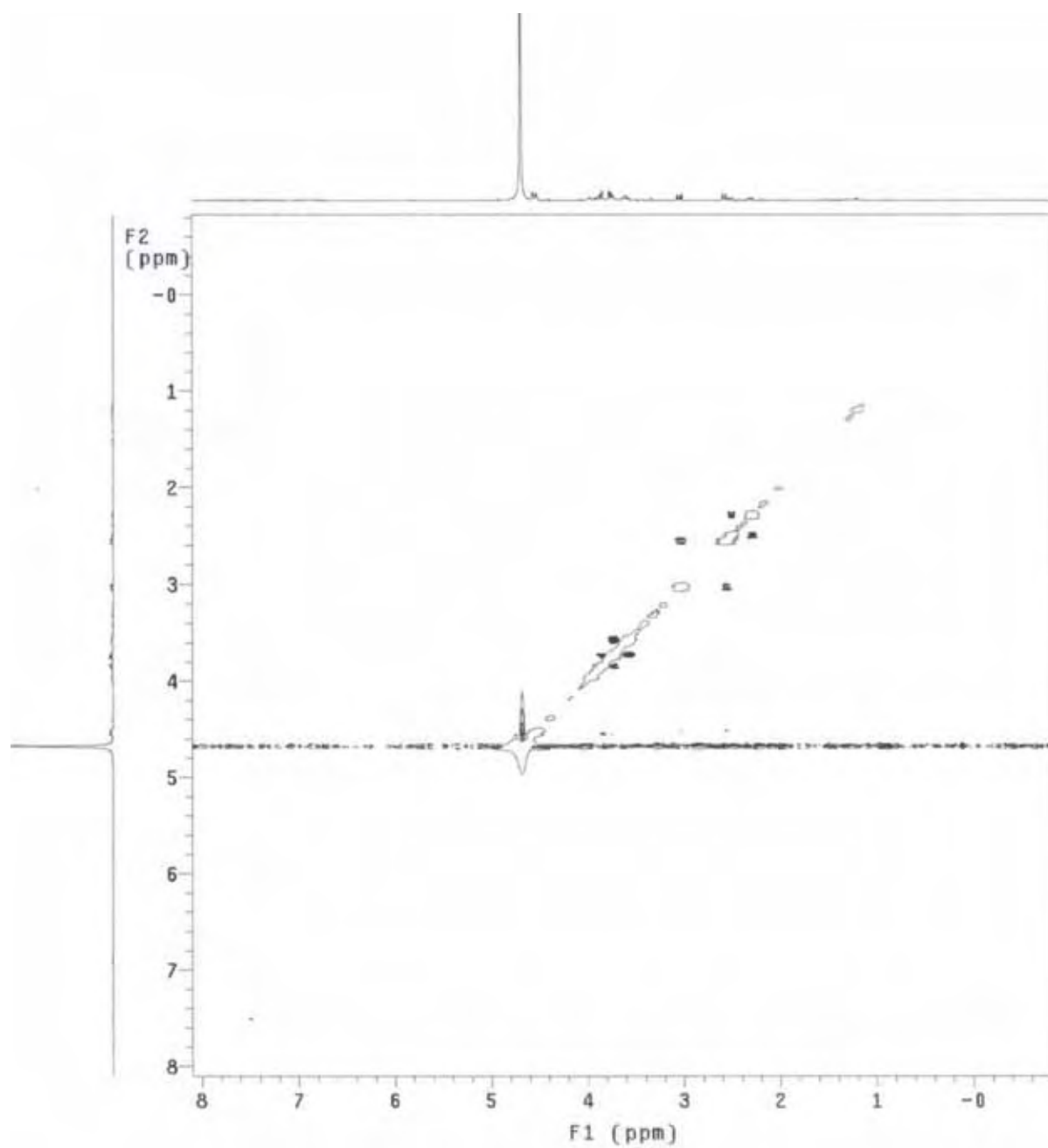
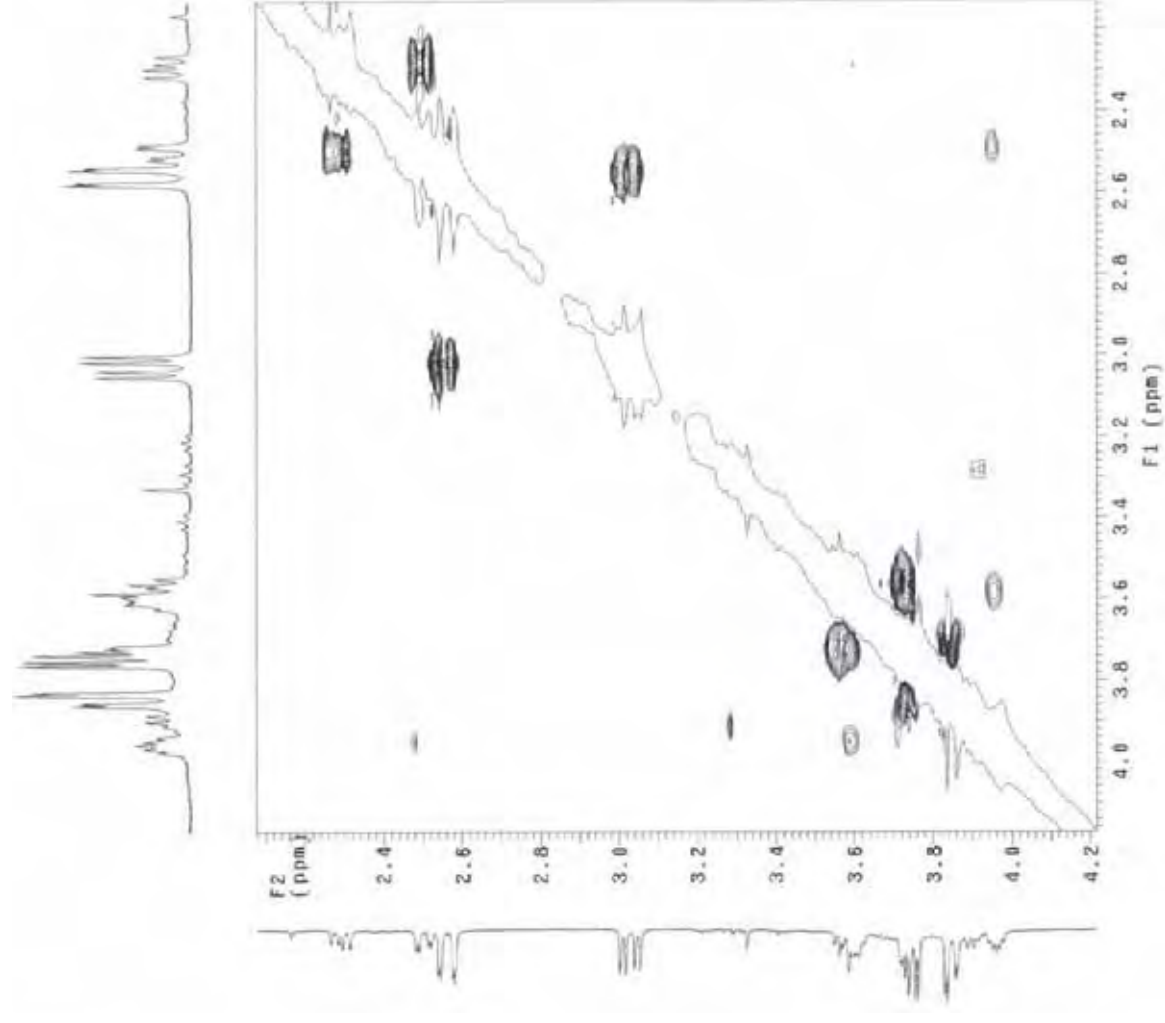
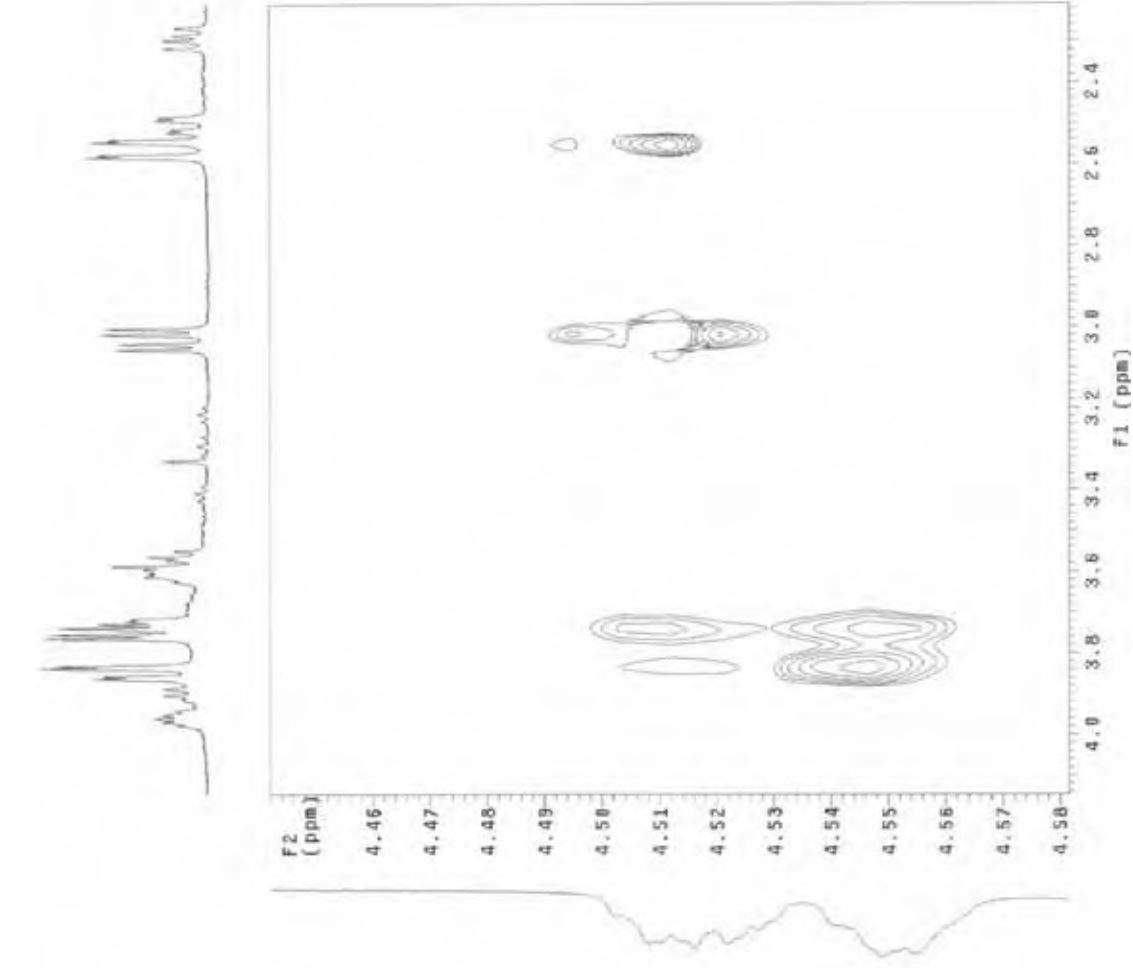


Figura 159. Espectro *g*NOESY 2D de **11** (D₂O, 11,7 T).



Ampliações da Figura 159.

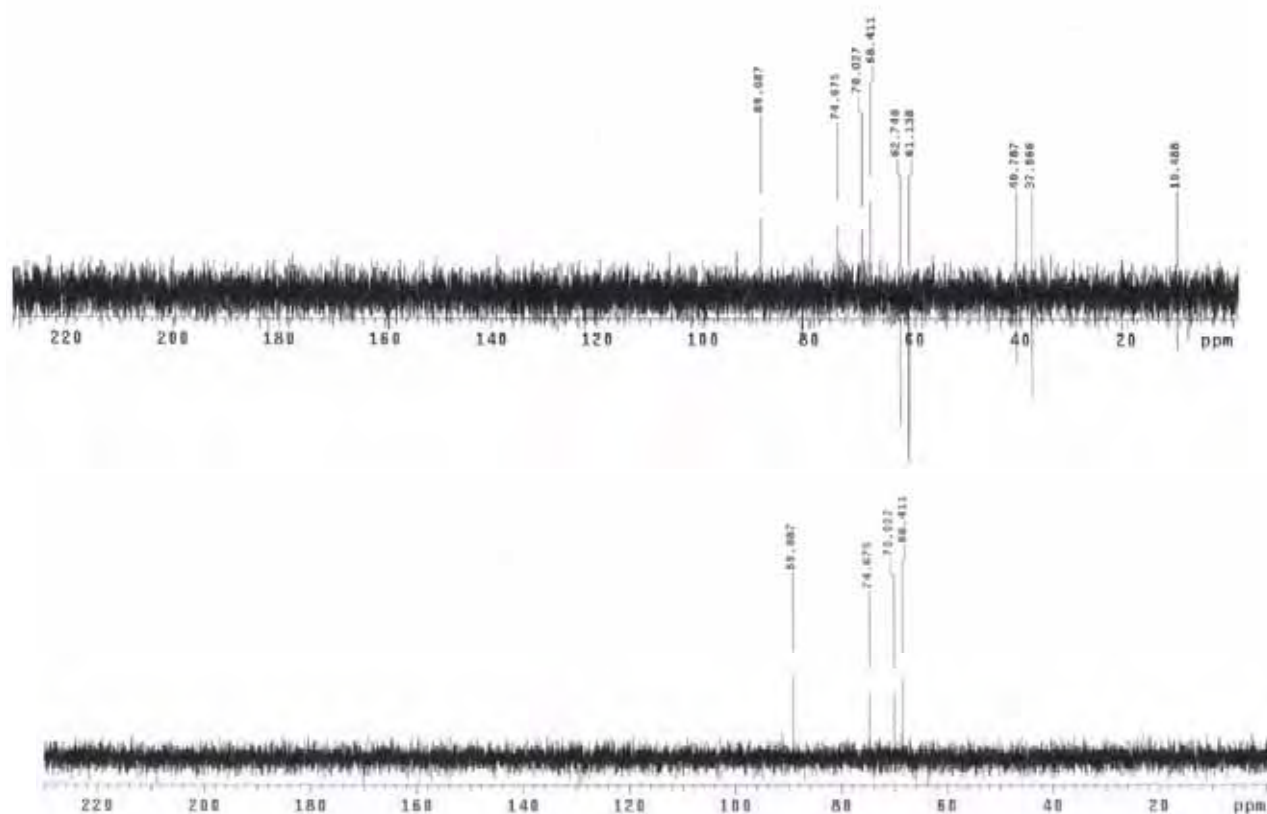


Figura 160. Espectros DEPT 135° e 90° de **11** (D_2O , 11,7 T).

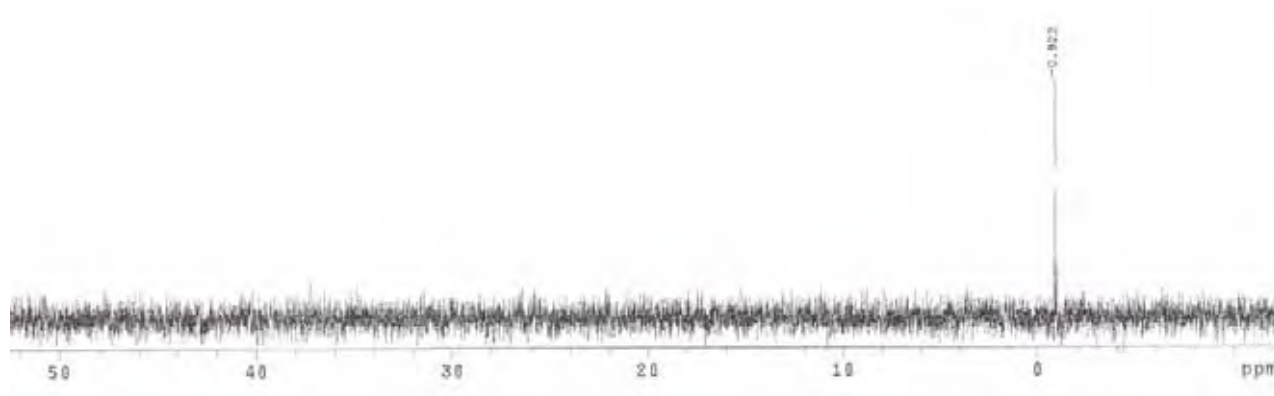


Figura 161. Espectro de RMN de ^{31}P de **11** (D_2O , 11,7 T).

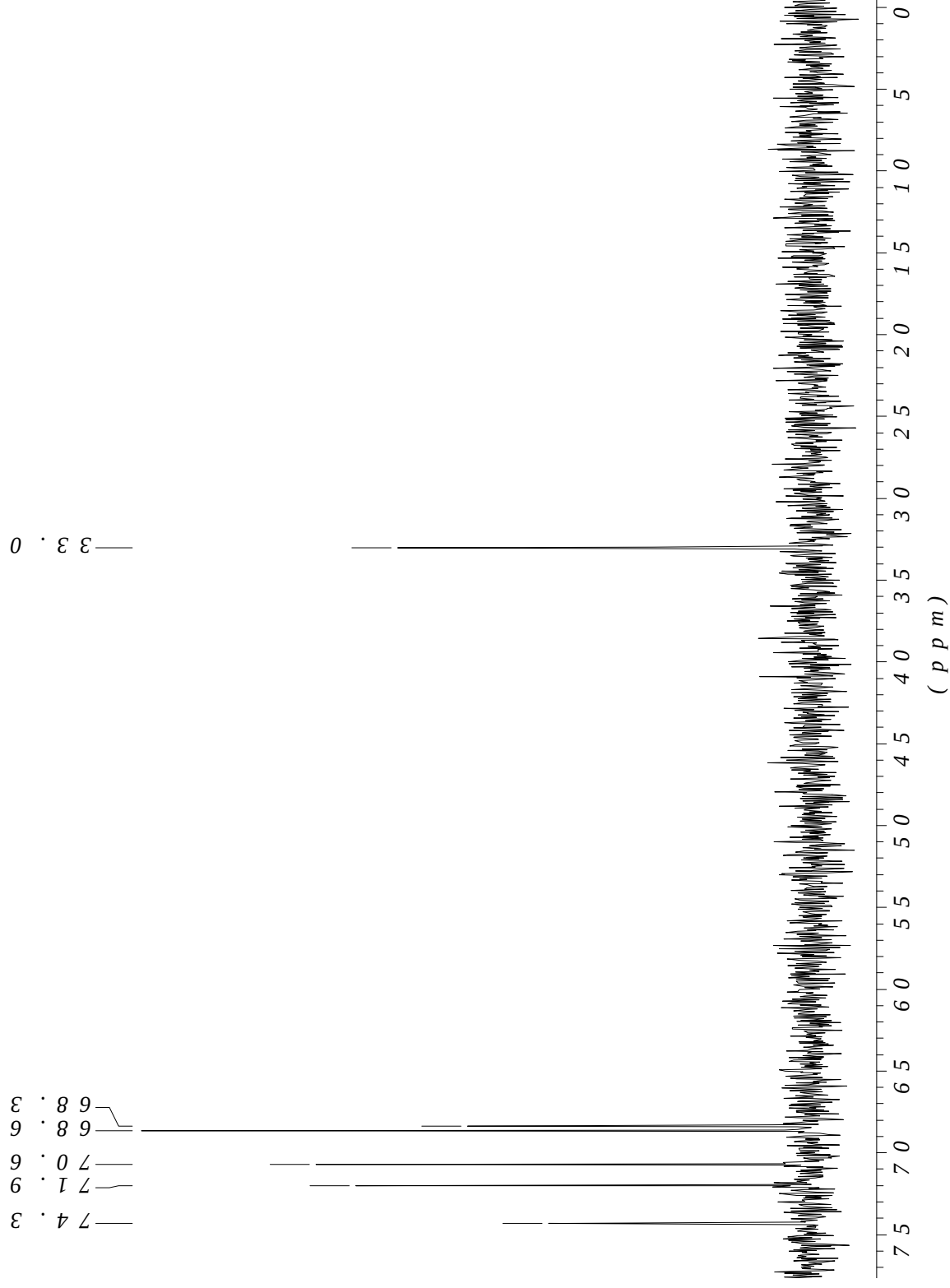


Figura 162. Espectro de RMN de ^{13}C de **12** (D_2O , 4,7 T).

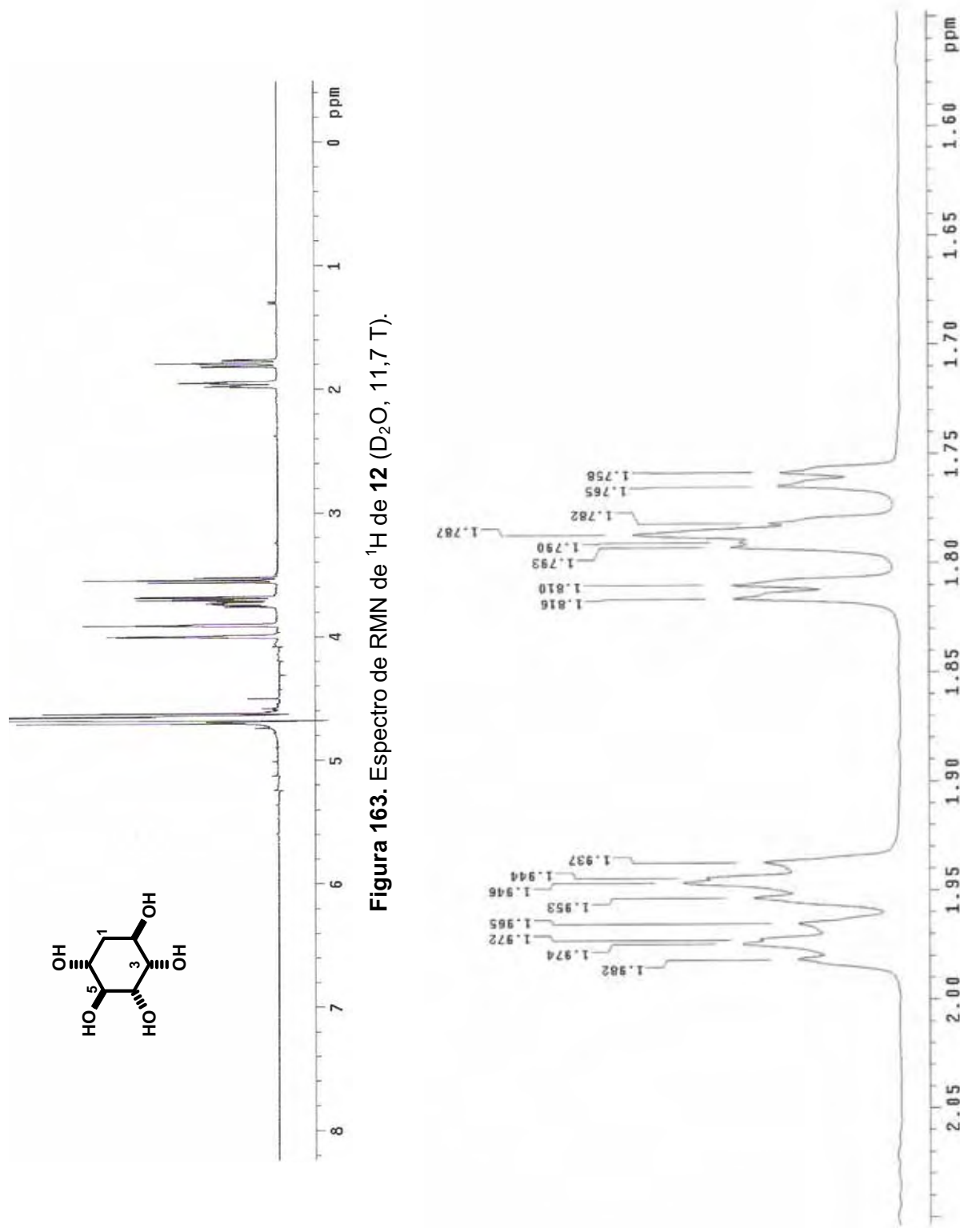
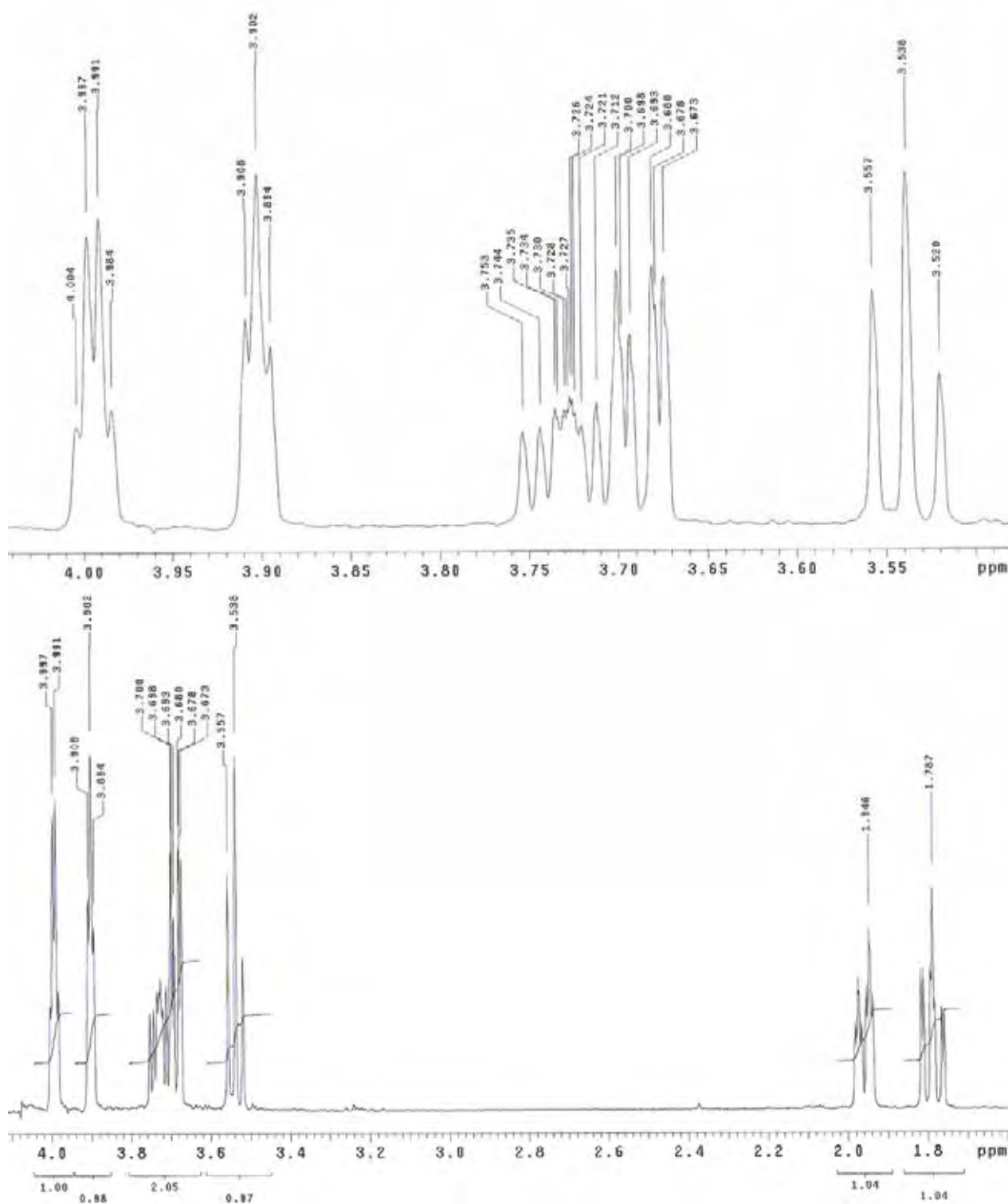


Figura 163. Espectro de RMN de ^1H de **12** (D_2O , 11,7 T).

Ampliação da Figura 163.

Ampliações da **Figura 163**.

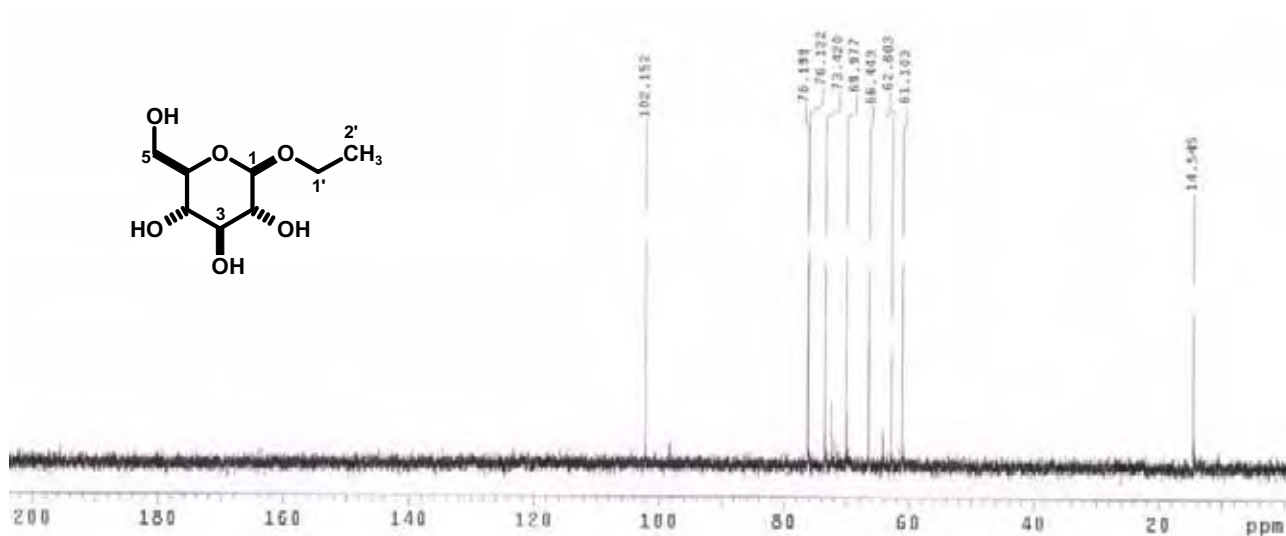


Figura 164. Espectro de RMN de ^{13}C de **13** (D_2O , 11,7 T).

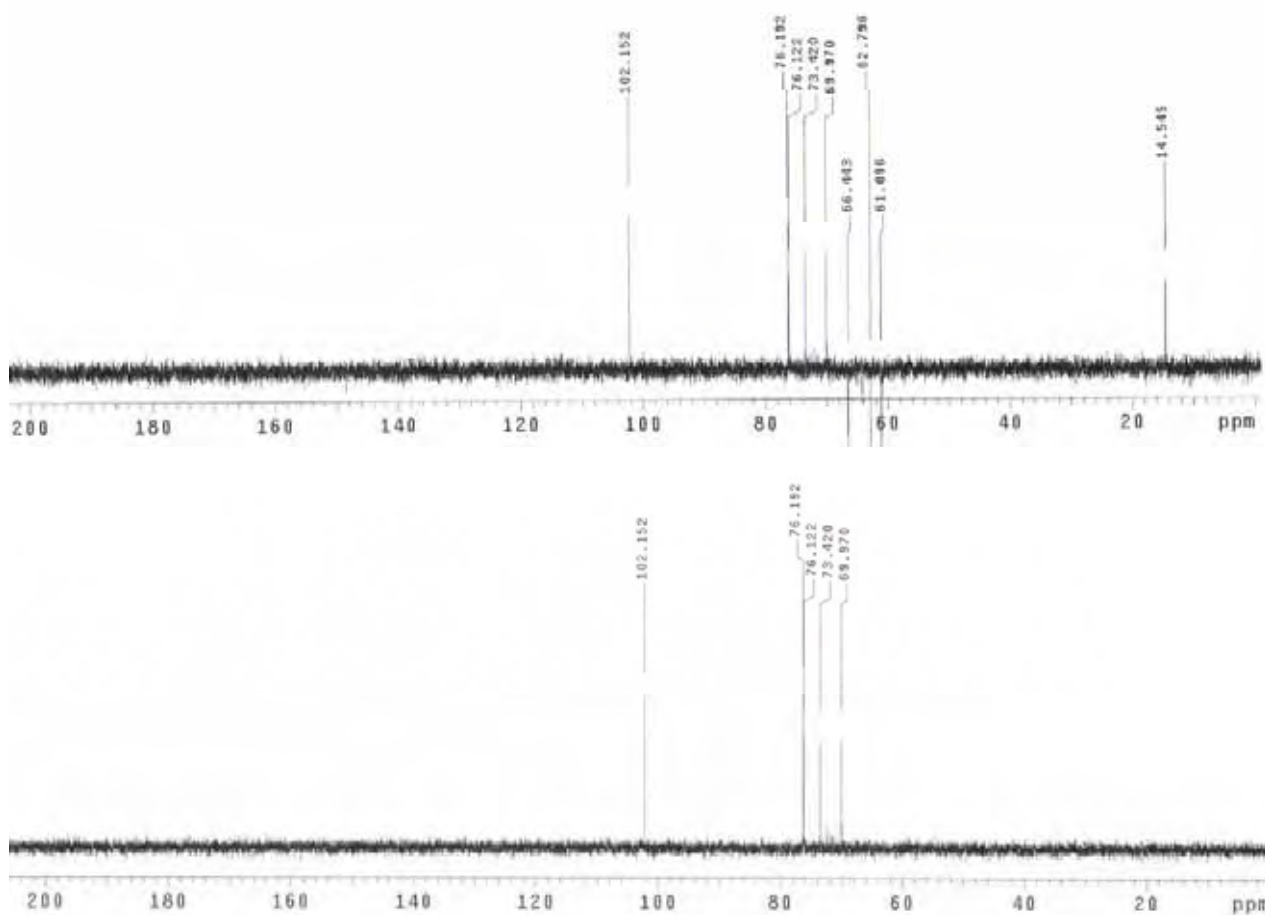


Figura 165. Espectros DEPT 135° e 90° de **13** (D_2O , 11,7 T).

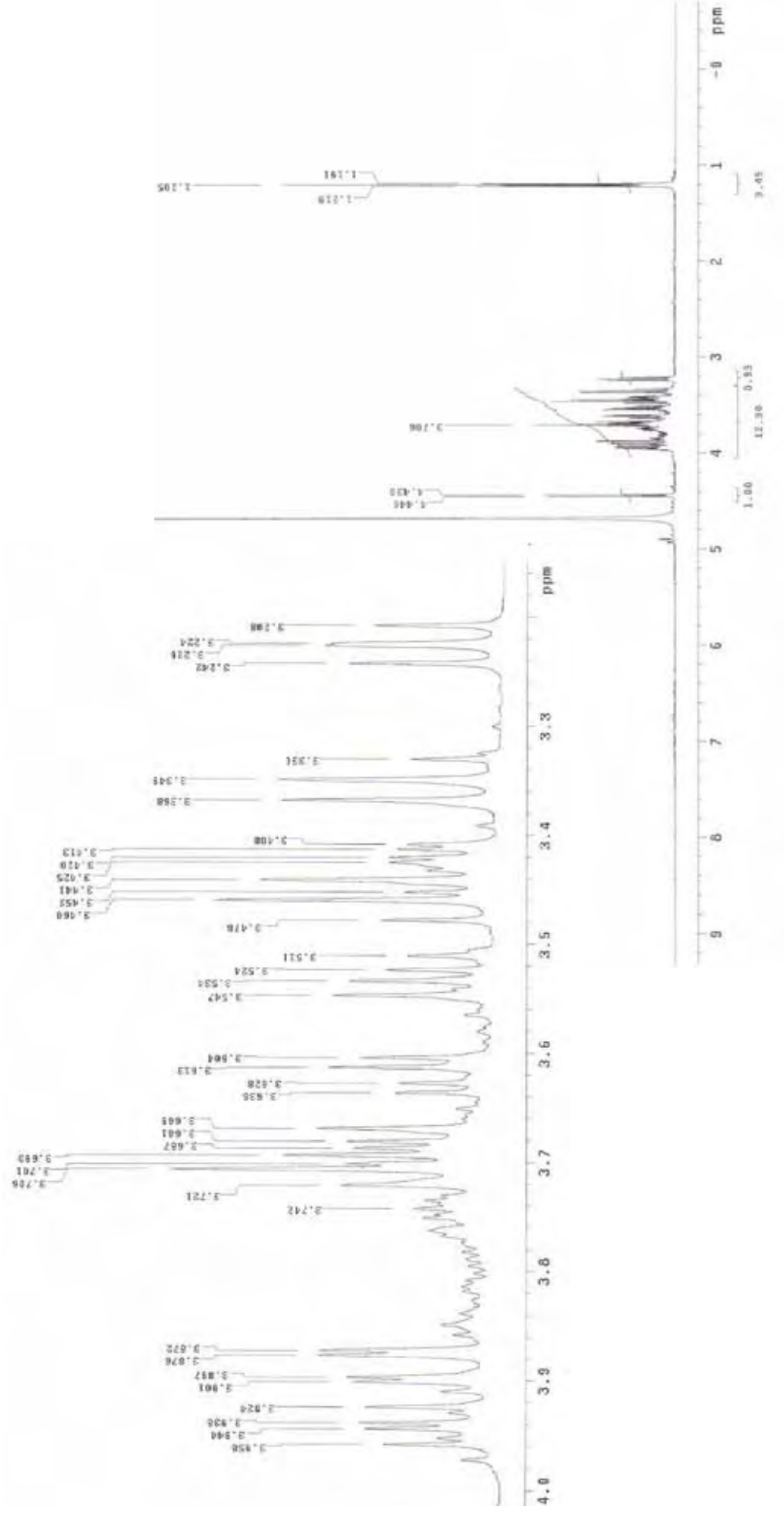


Figura 166. Espectro de RMN de ^1H de **13** (D_2O , 11,7 T).

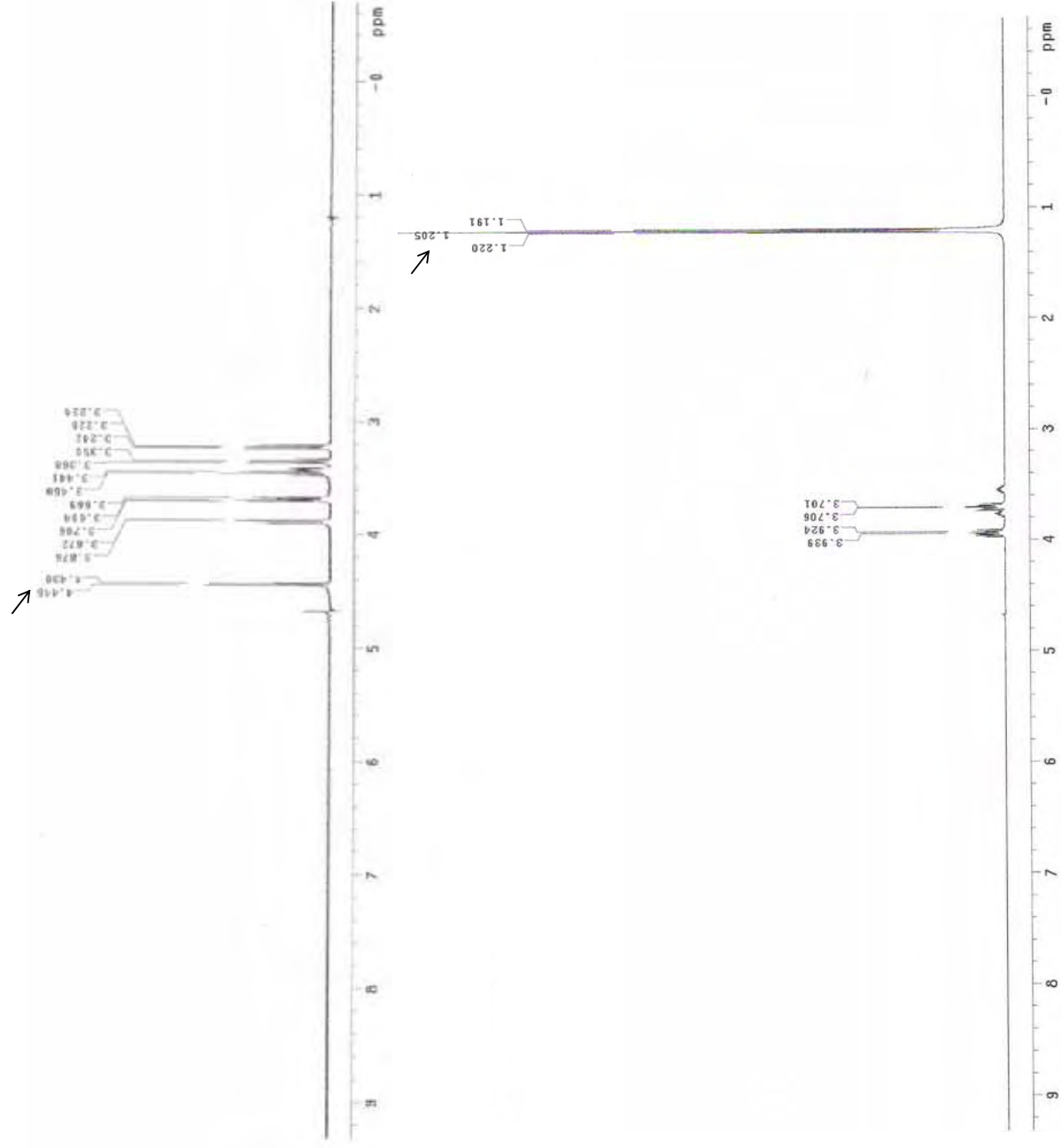


Figura 167. Espectros gTOCSY 1D de **13** irradiando em δ 4,44 e 1,25 (D_2O , 11,7 T).

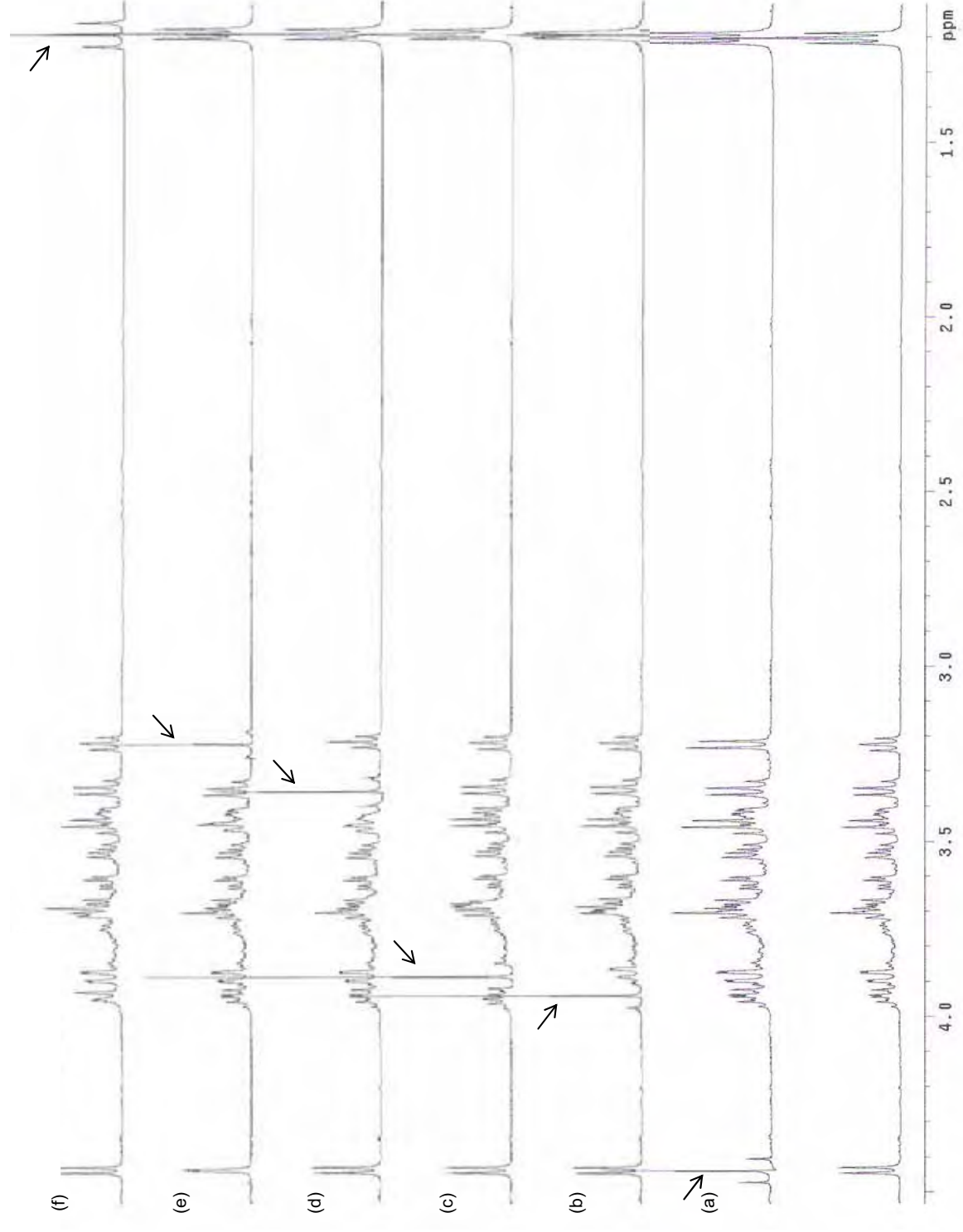


Figura 168. Espectros HOMODEC de **13** irradiando em δ 4,44 (a), 3,94 (b), 3,88 (c), 3,46 (d), 3,35 (e) e 1,25 (f) (D_2O , 11,7 T).

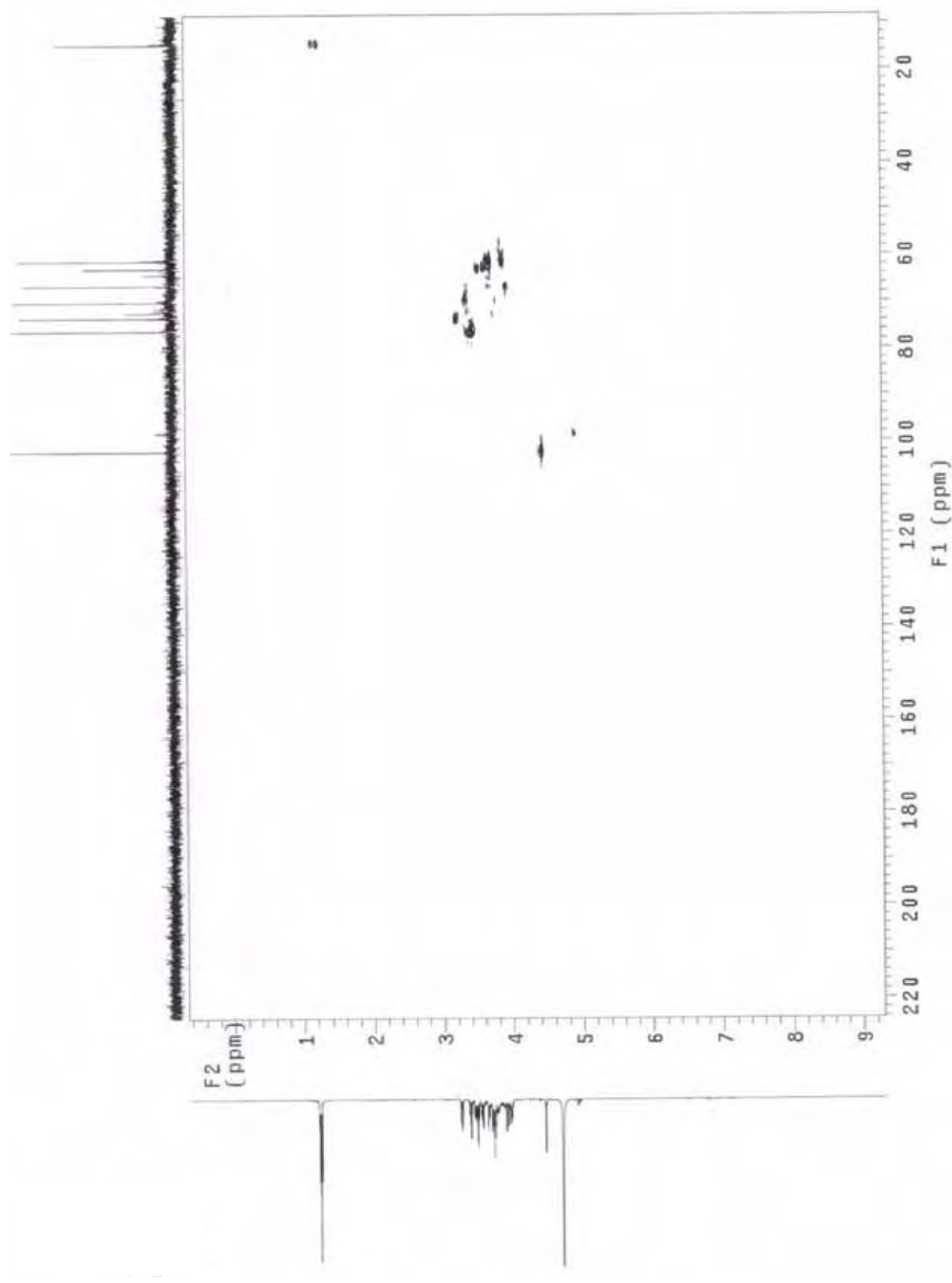
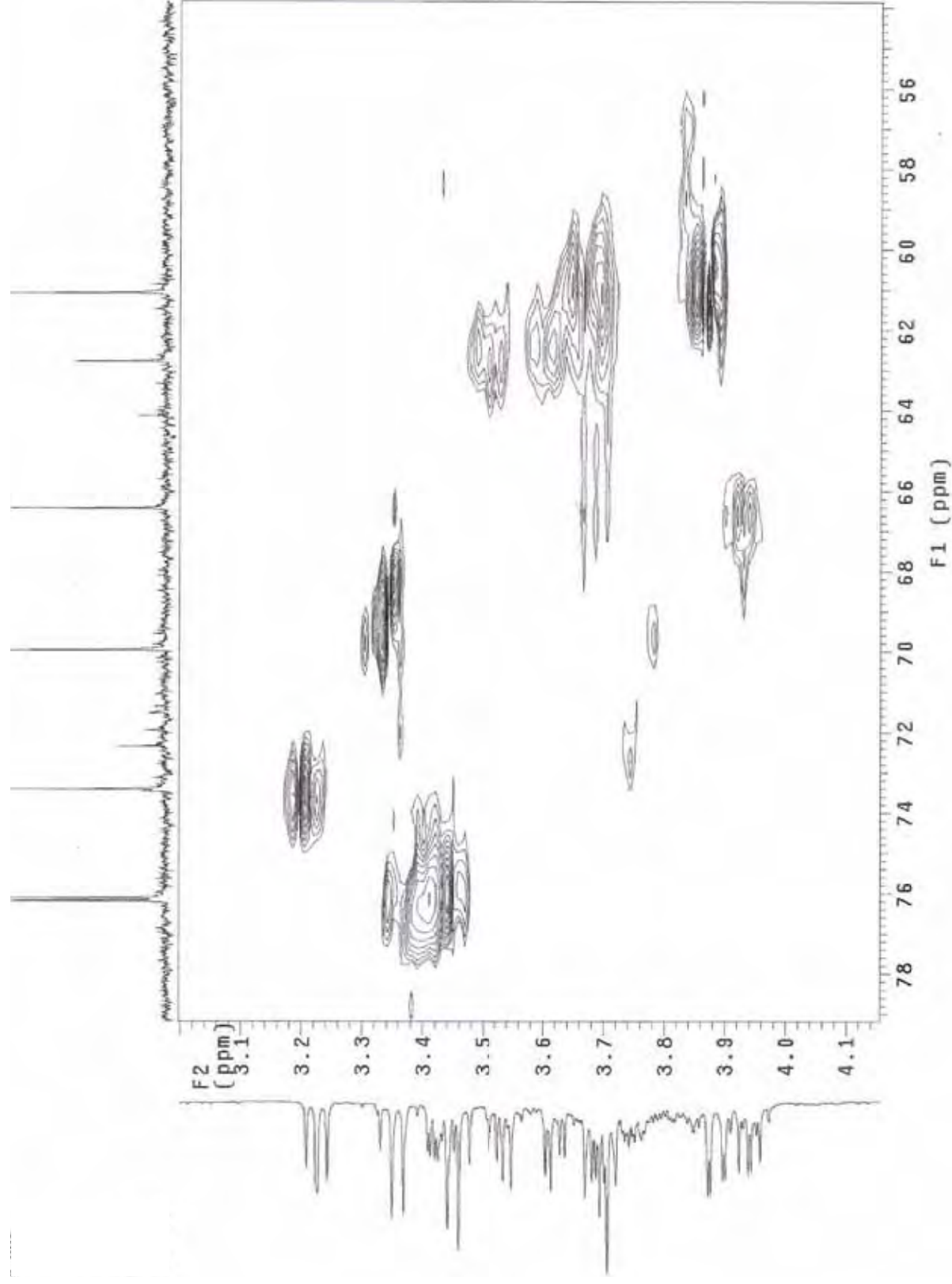


Figura 169. Mapa de contornos gHMQC de **13** (D_2O , 11,7 T).



Ampliação da Figura 169.

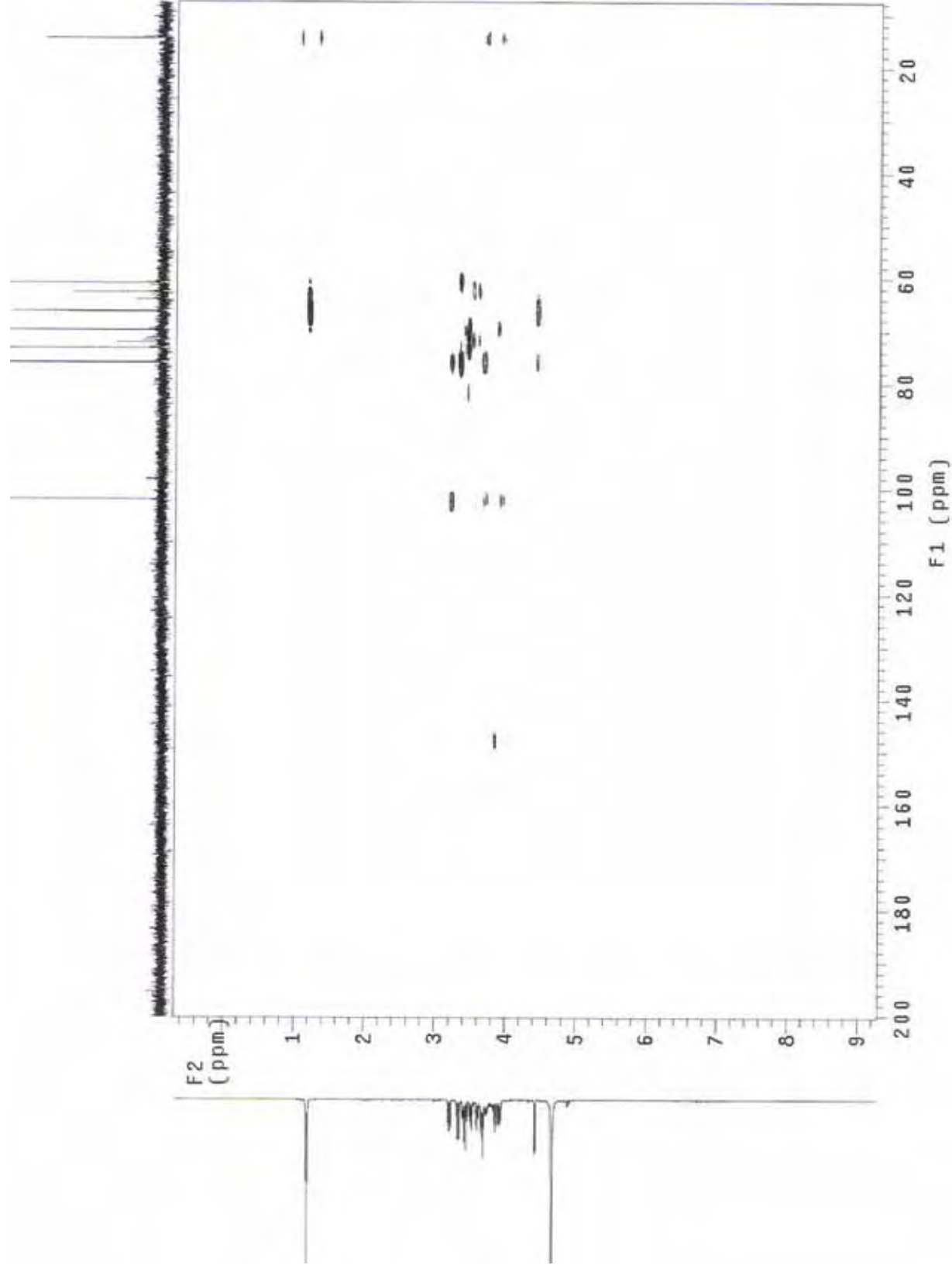
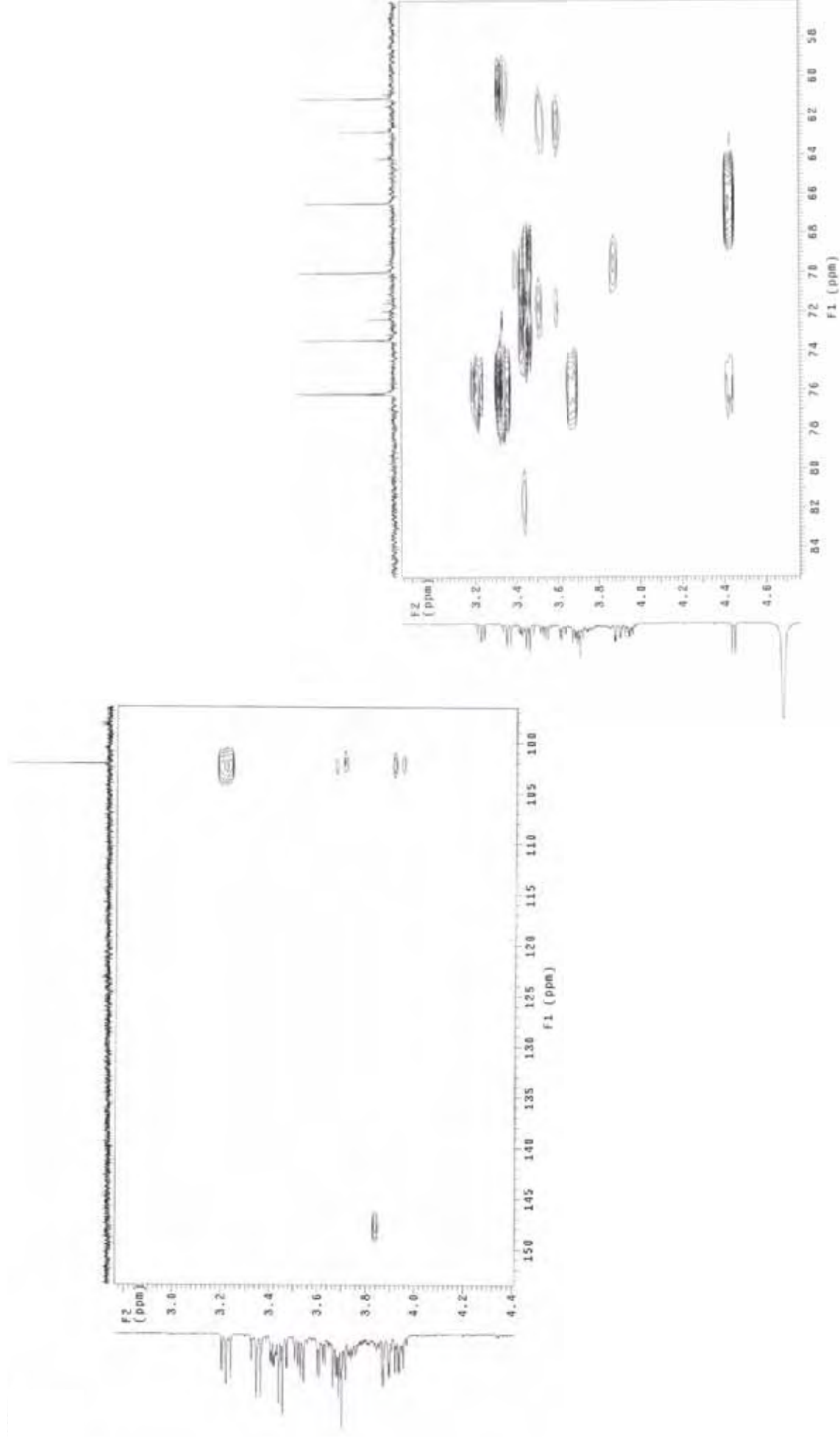


Figura 170. Mapa de contornos gHMBC de **13** (D_2O , 11,7 T).



Ampliações da Figura 170.

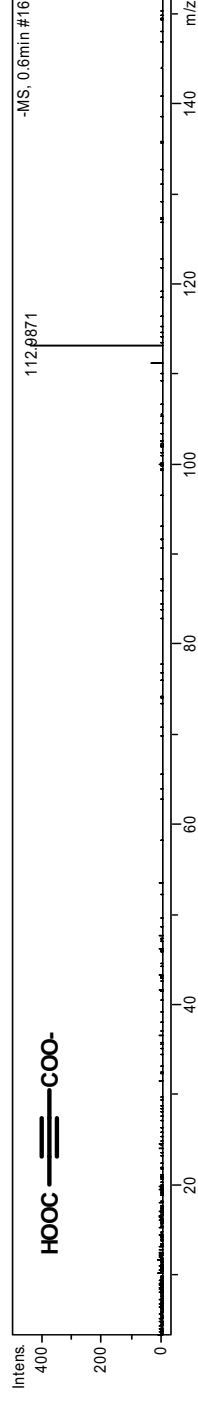


Figura 171. Espectro de massas de alta resolução de **14** (ESI, "full scan", -25 V).

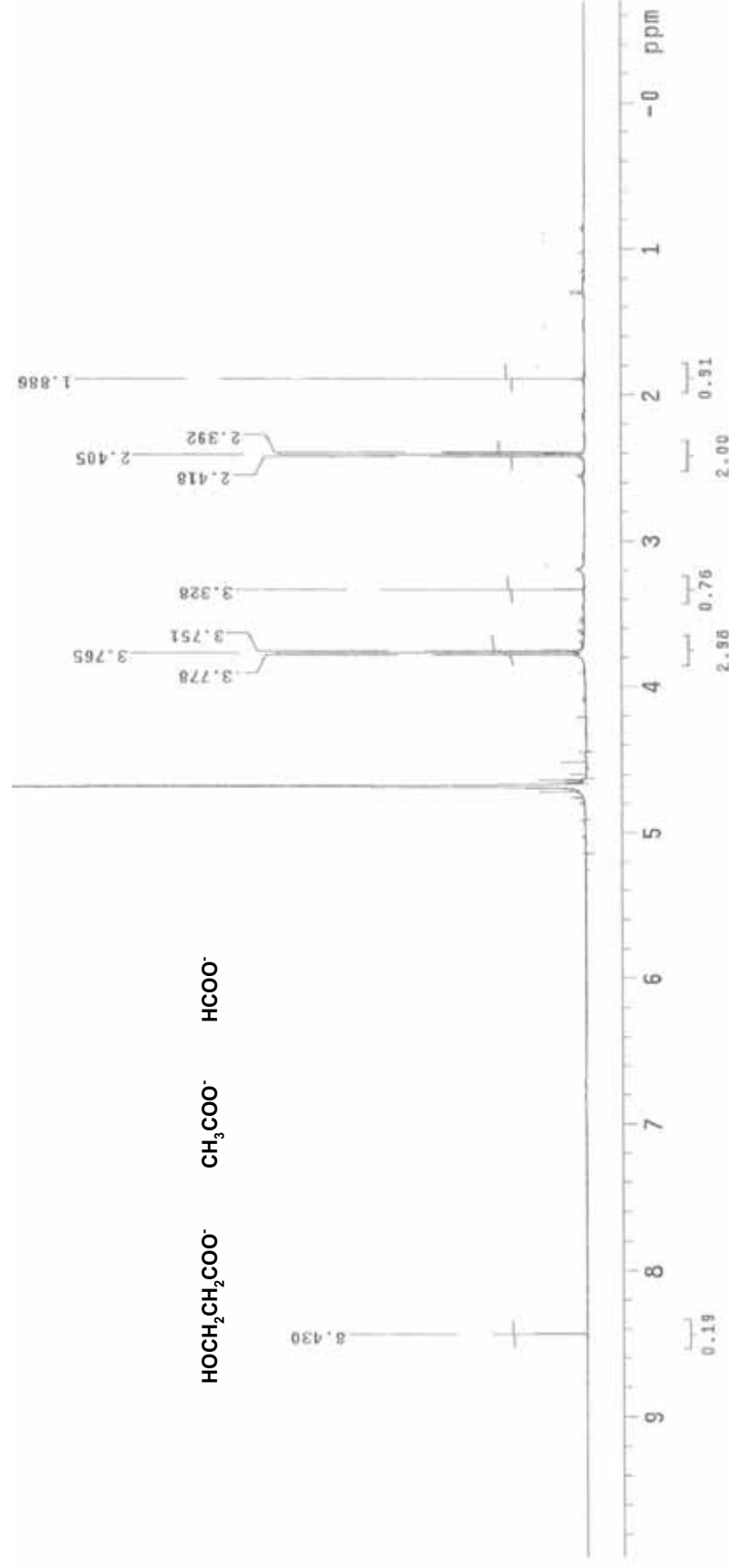
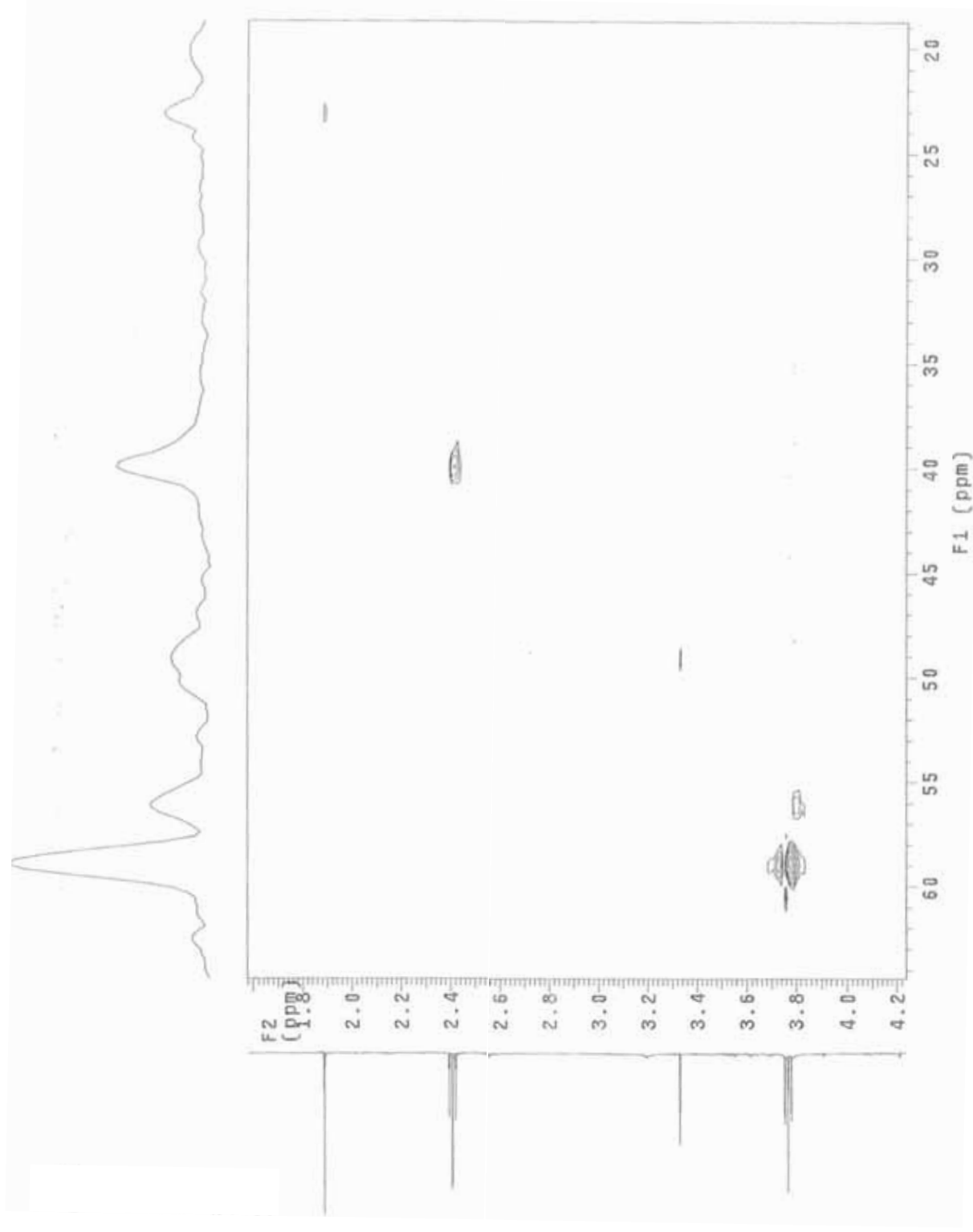


Figura 172. Espectro de RMN de ^1H de CEI-3-N-3 (D_2O , 11,7 T).





Ampliação da Figura 173.

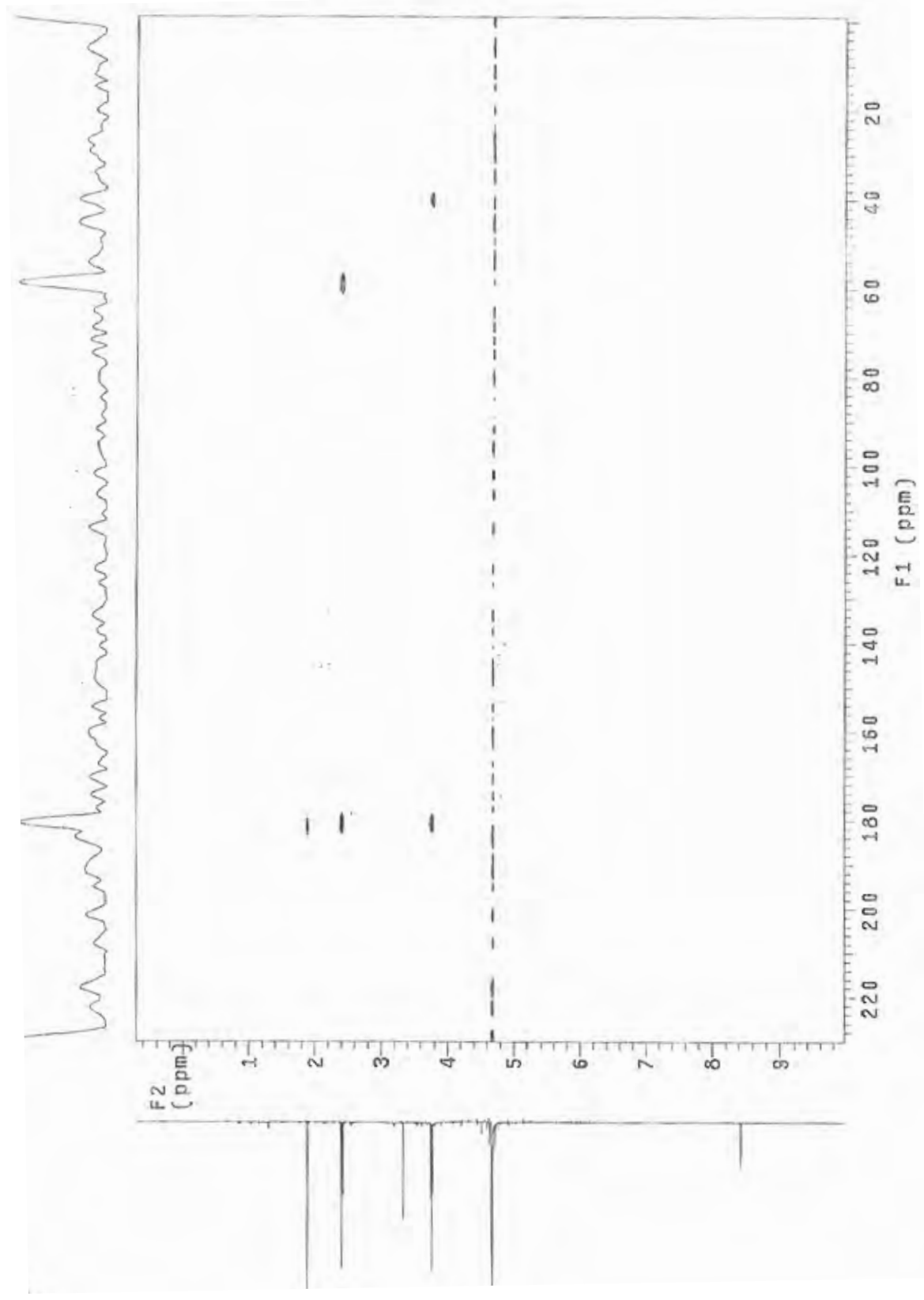
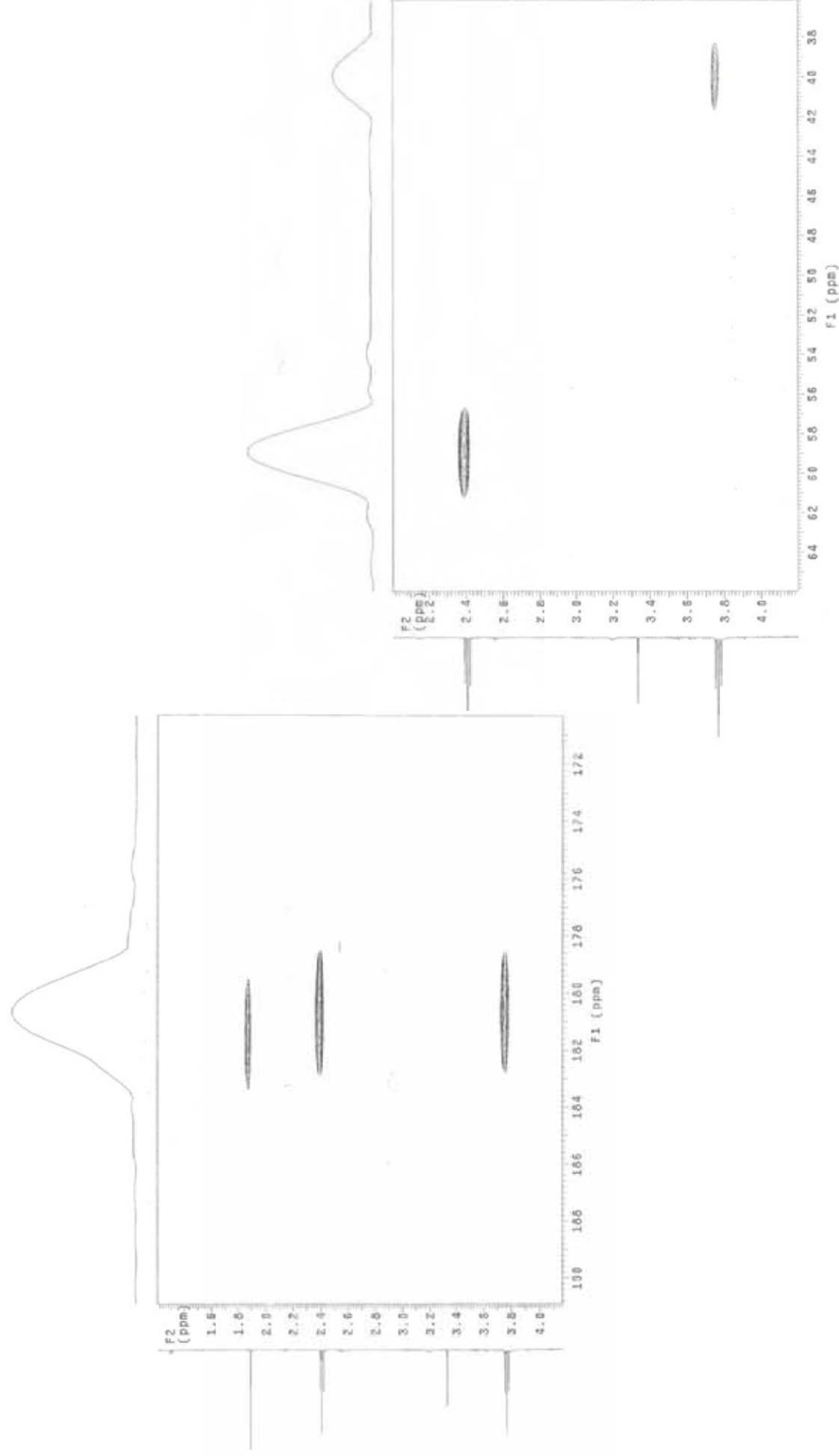


Figura 174. Mapa de contornos gHMBC de CEI-3-N-3 (D_2O , 11,7 T).



Ampliações da Figura 174.

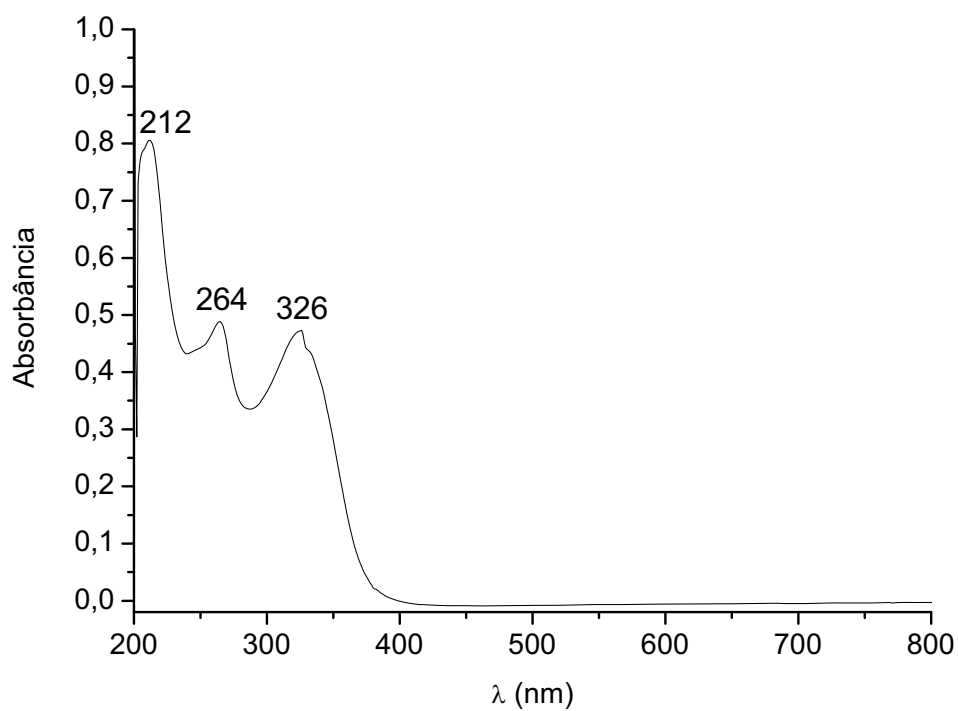


Figura 175. Espectro de absorção na região do UV de **3a** (c. 0,024, MeOH).

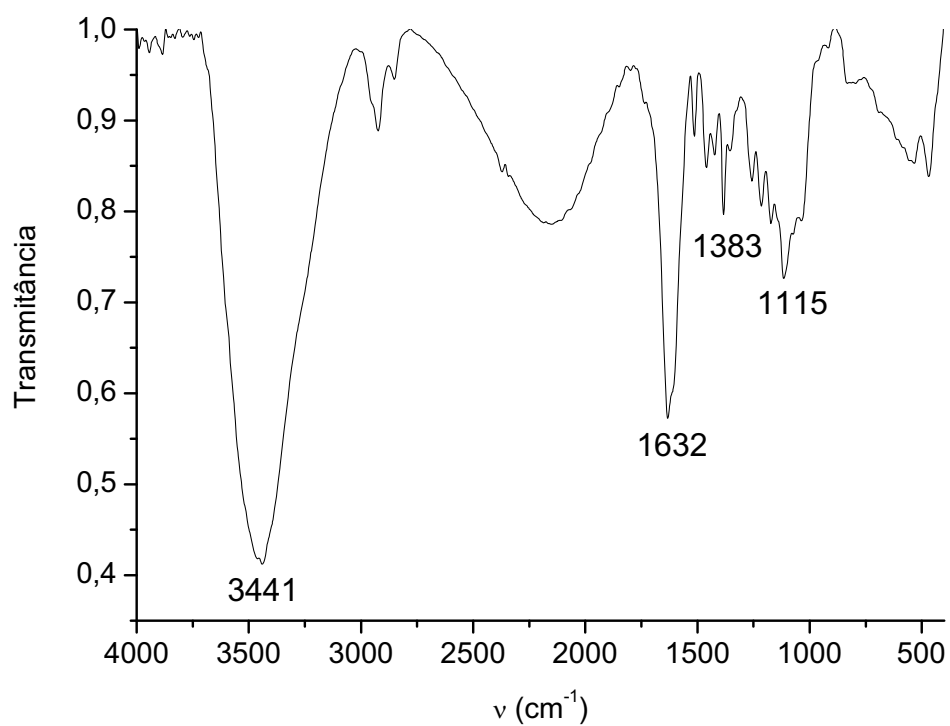


Figura 176. Espectro de absorção na região do IV de **3a** (KBr).

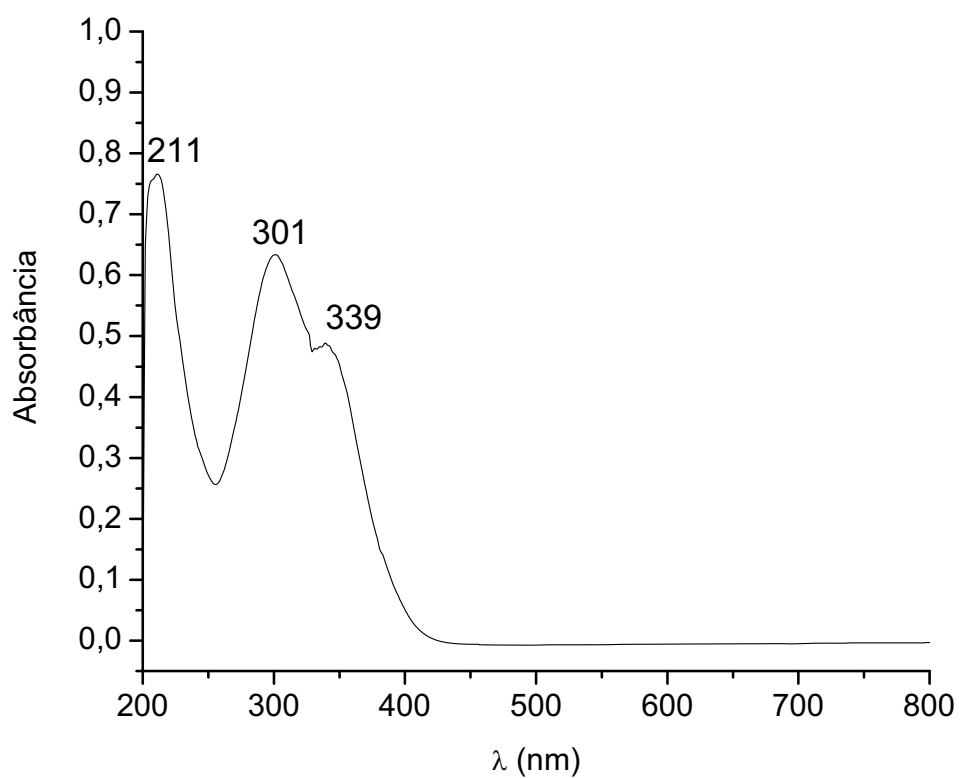


Figura 177. Espectro de absorção na região do UV de **4a** (c. 0,028, MeOH).

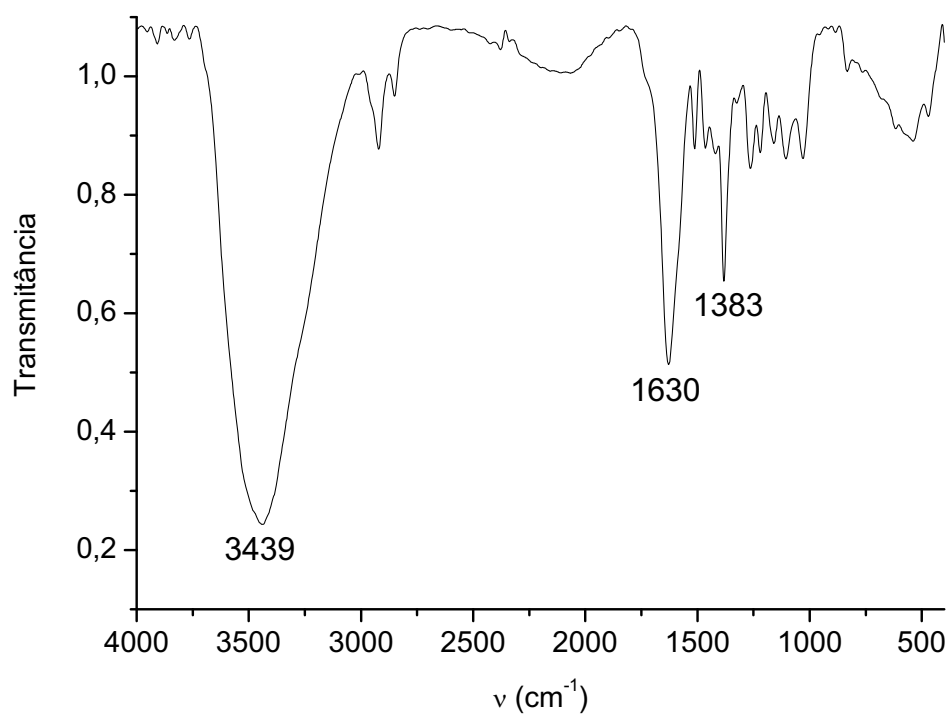


Figura 178. Espectro de absorção na região do IV de **4a** (KBr).

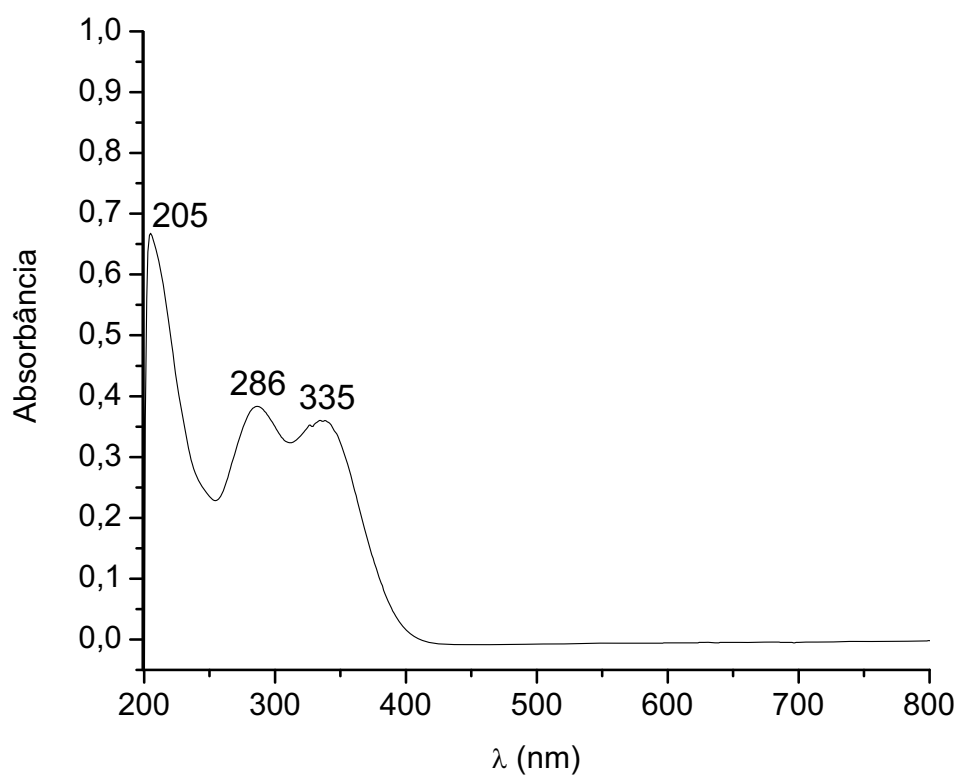


Figura 179. Espectro de absorção na região do UV de **4b** (c. 0,026, MeOH).

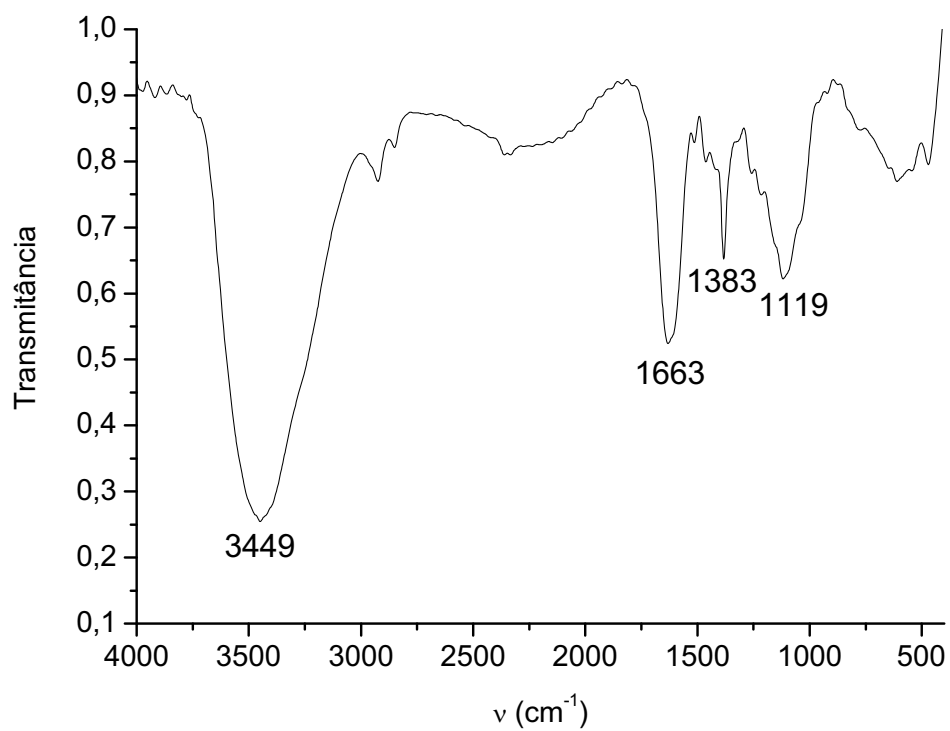


Figura 180. Espectro de absorção na região do IV de **4b** (KBr).

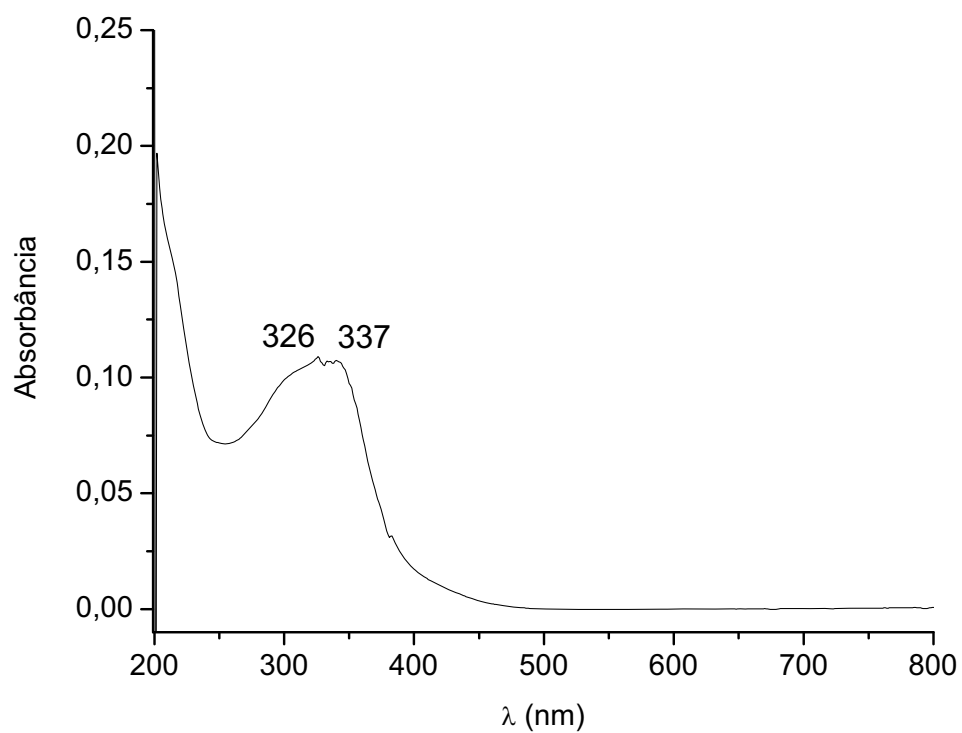


Figura 181. Espectro de absorção na região do UV de **5** (c. 0,017, MeOH).

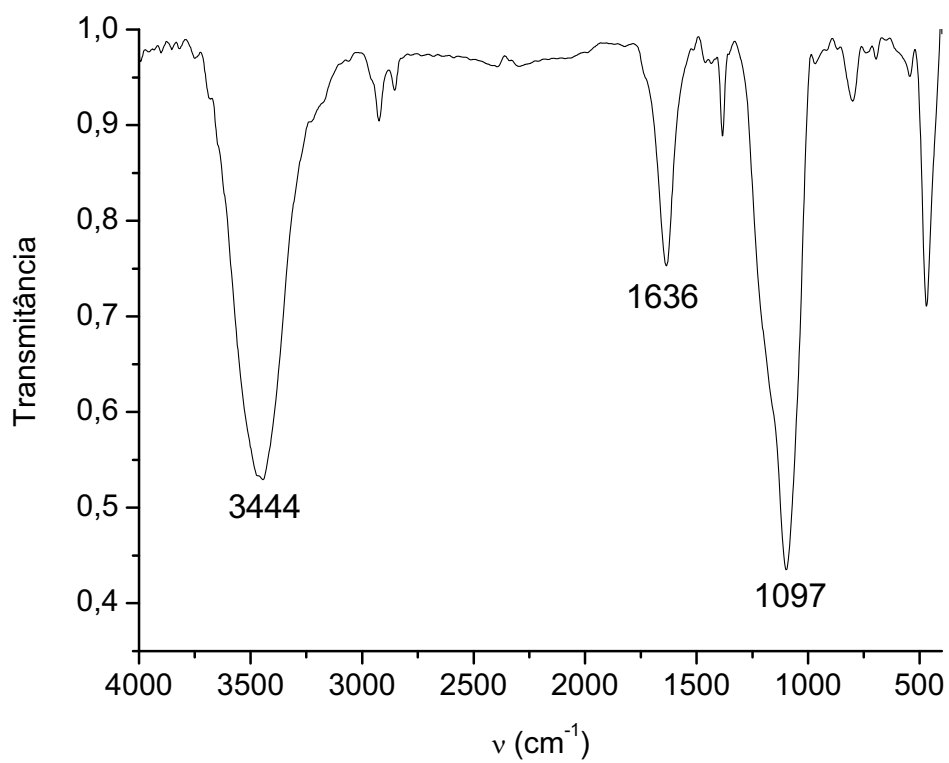


Figura 182. Espectro de absorção na região do IV de **5** (KBr).

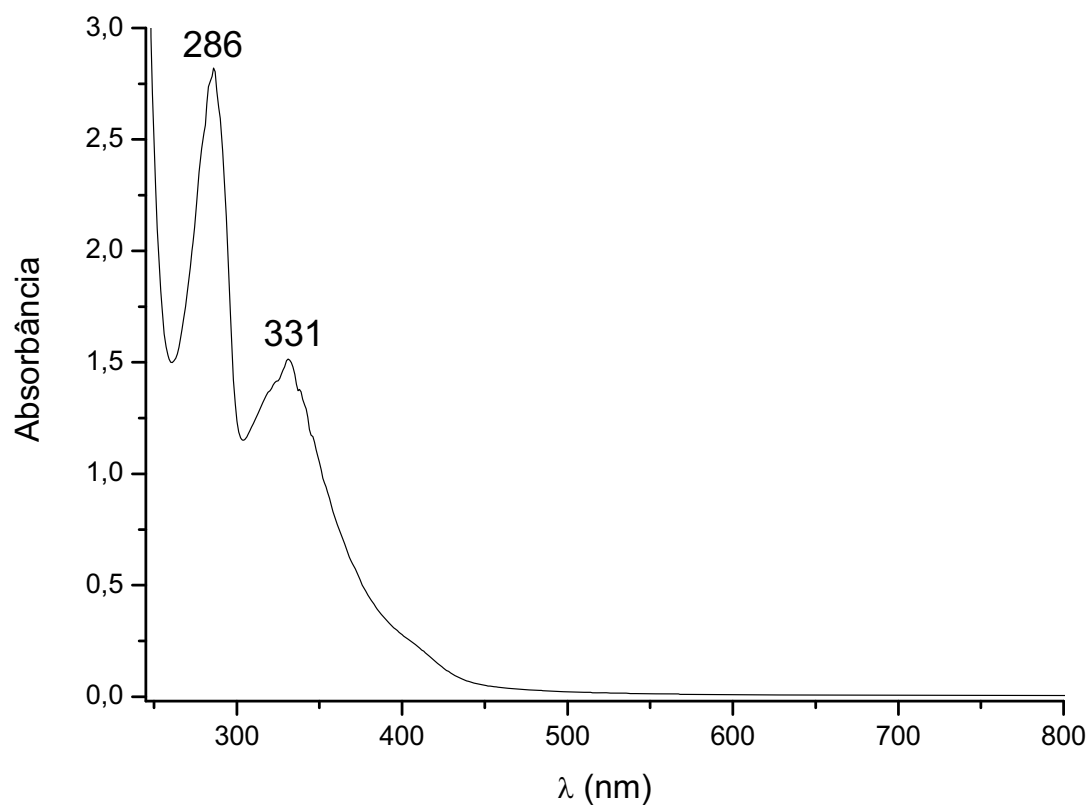


Figura 183. Espectro de absorção na região do UV de **7** (c. 0,25, MeOH).

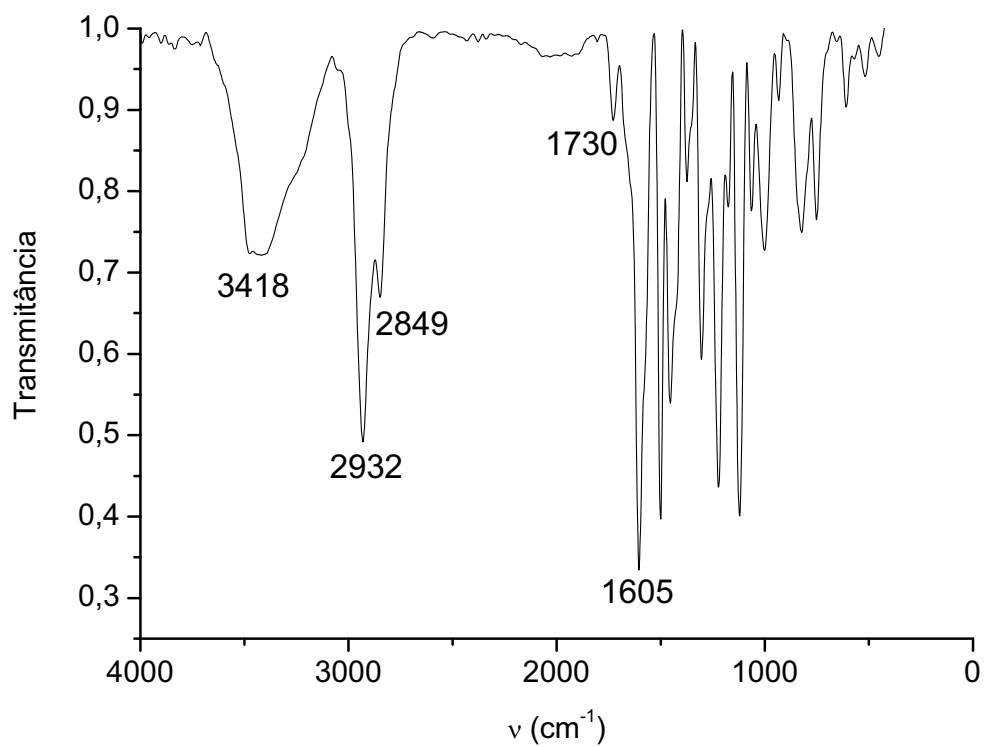


Figura 184. Espectro de absorção na região do IV de **7** (KBr).

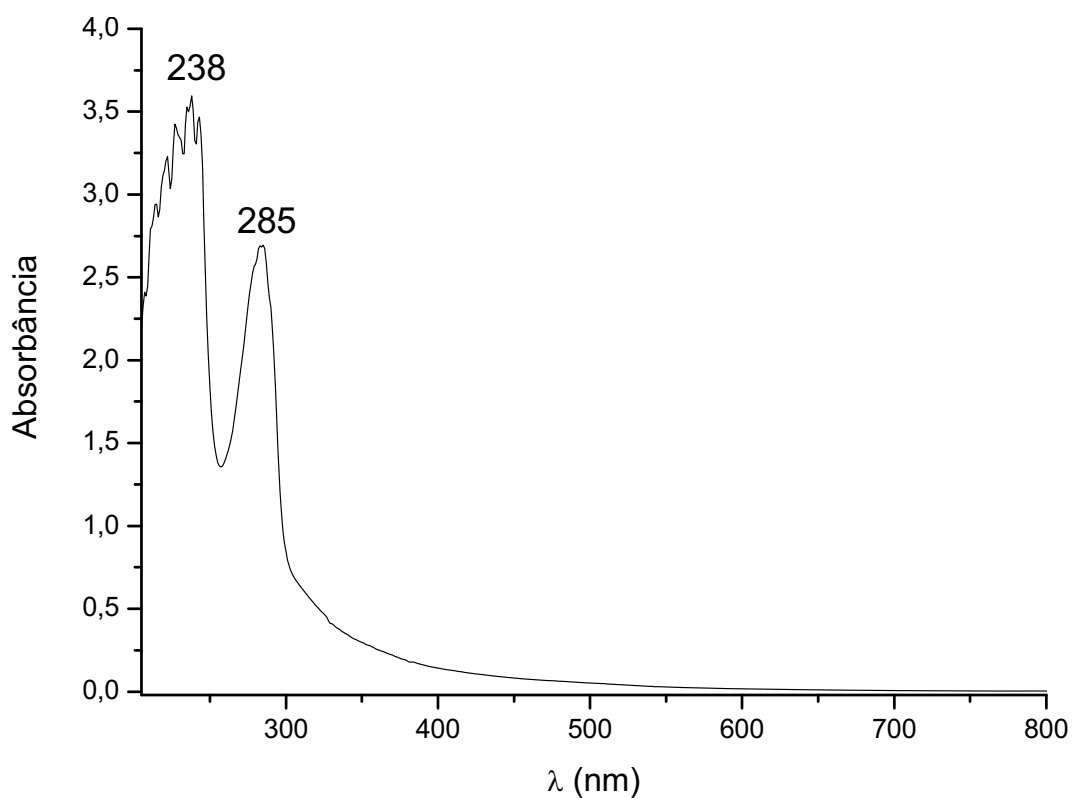


Figura 185. Espectro de absorção na região do UV de **7a** (c. 0,24, MeOH).

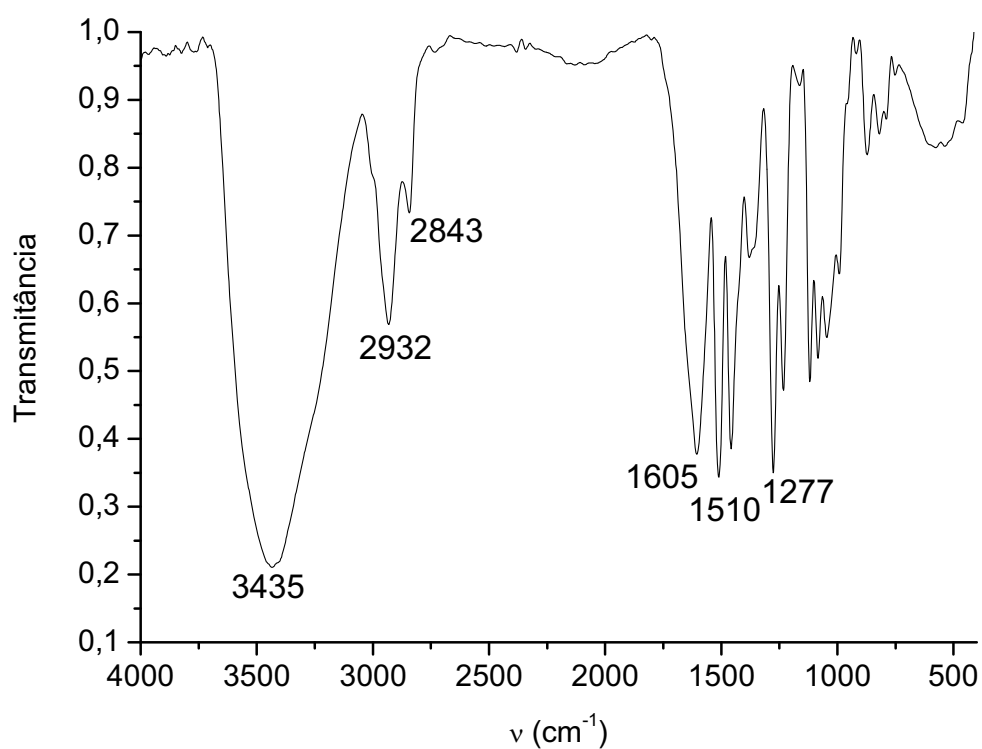


Figura 186. Espectro de absorção na região do IV de **7a** (KBr).

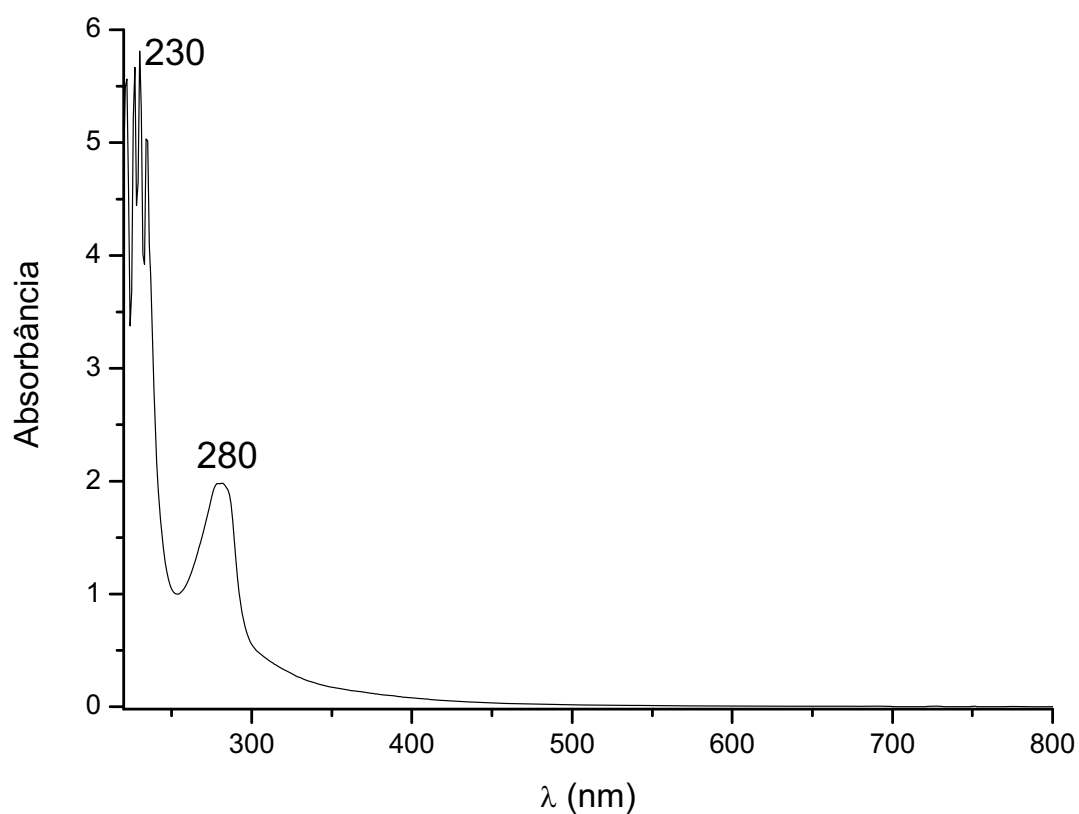


Figura 187. Espectro de absorção na região do UV de **7b** (c. 0,24, MeOH).

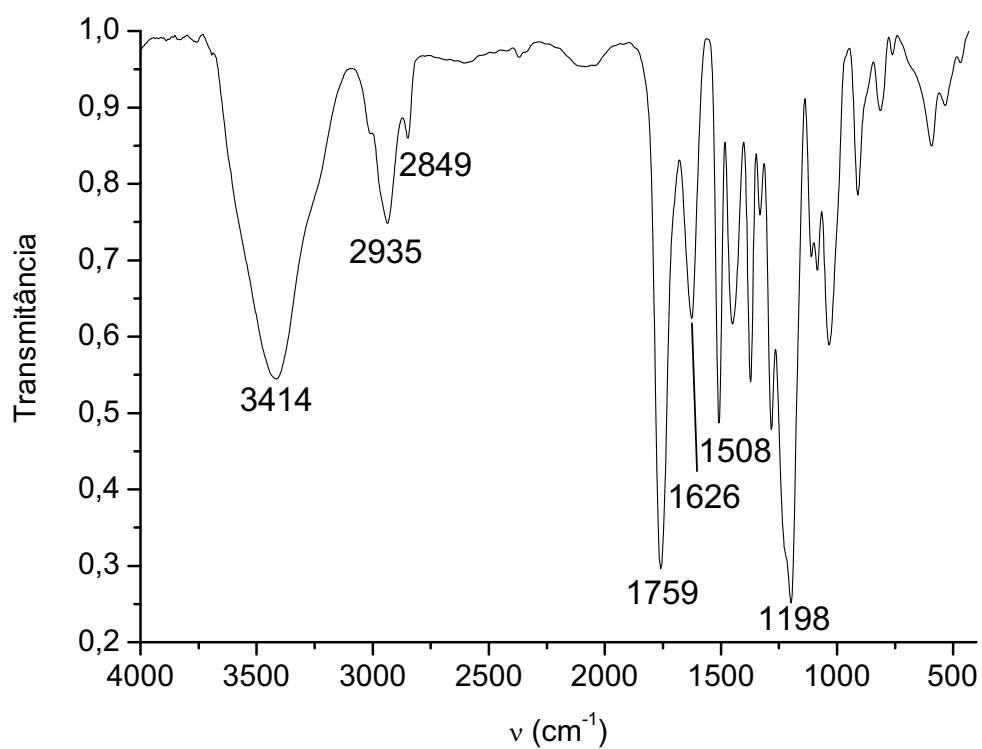


Figura 188. Espectro de absorção na região do IV de **7b** (KBr).

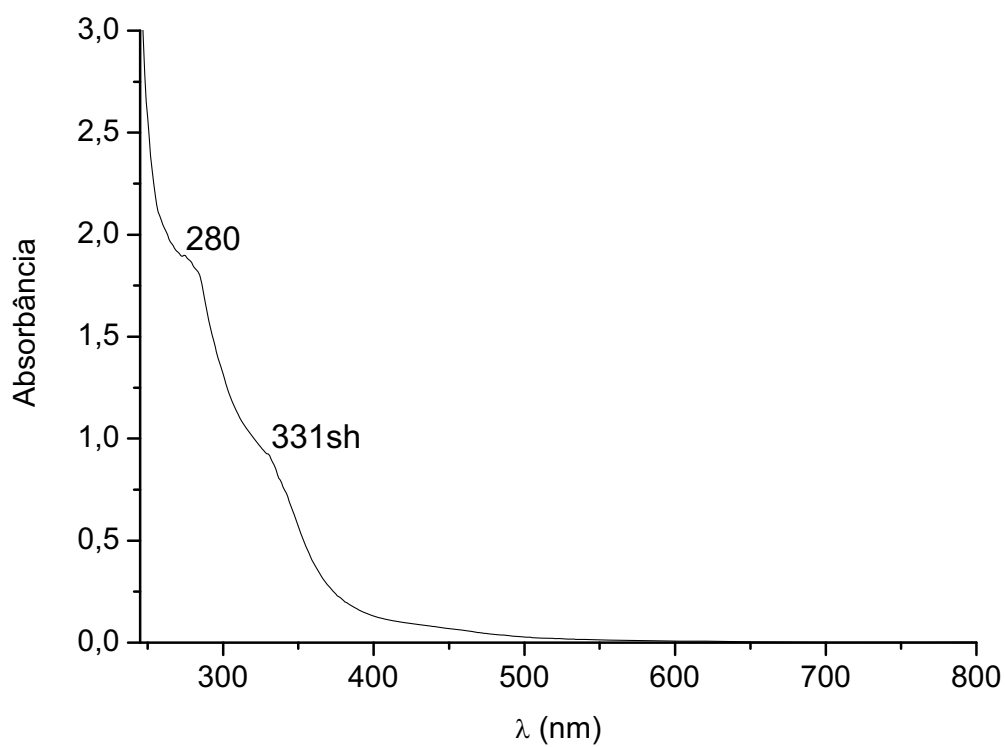


Figura 189. Espectro de absorção na região do UV de **8** (c. 0,24, MeOH).

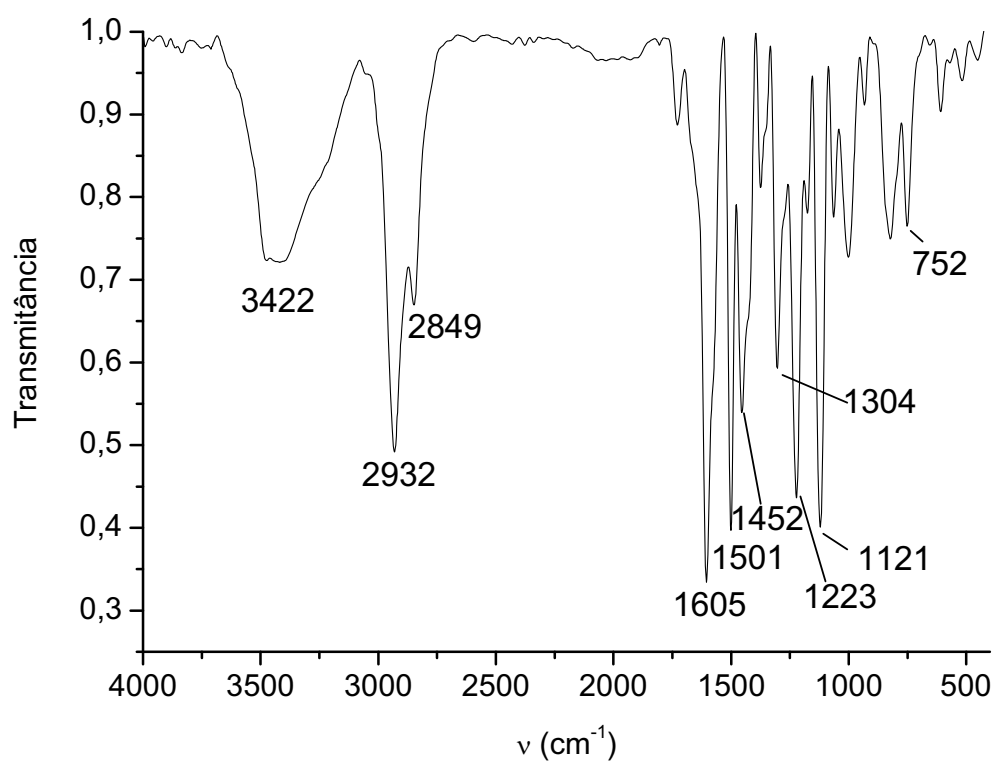


Figura 190. Espectro de absorção na região do IV de **8** (KBr).

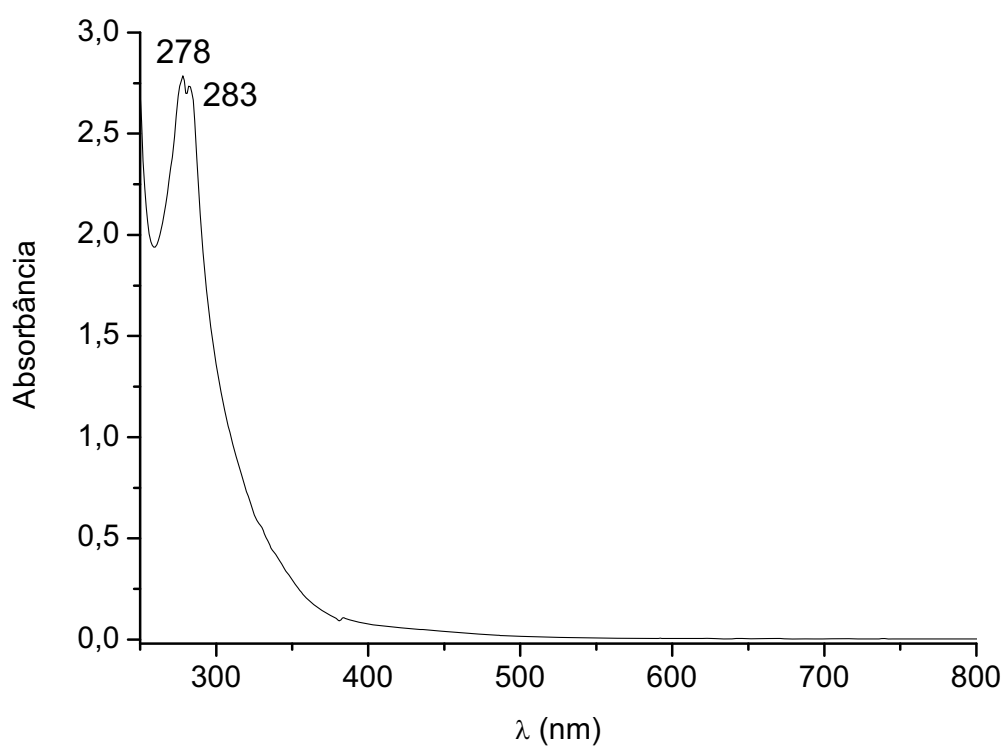


Figura 191. Espectro de absorção na região do UV de **8a** (c. 0,17, MeOH).

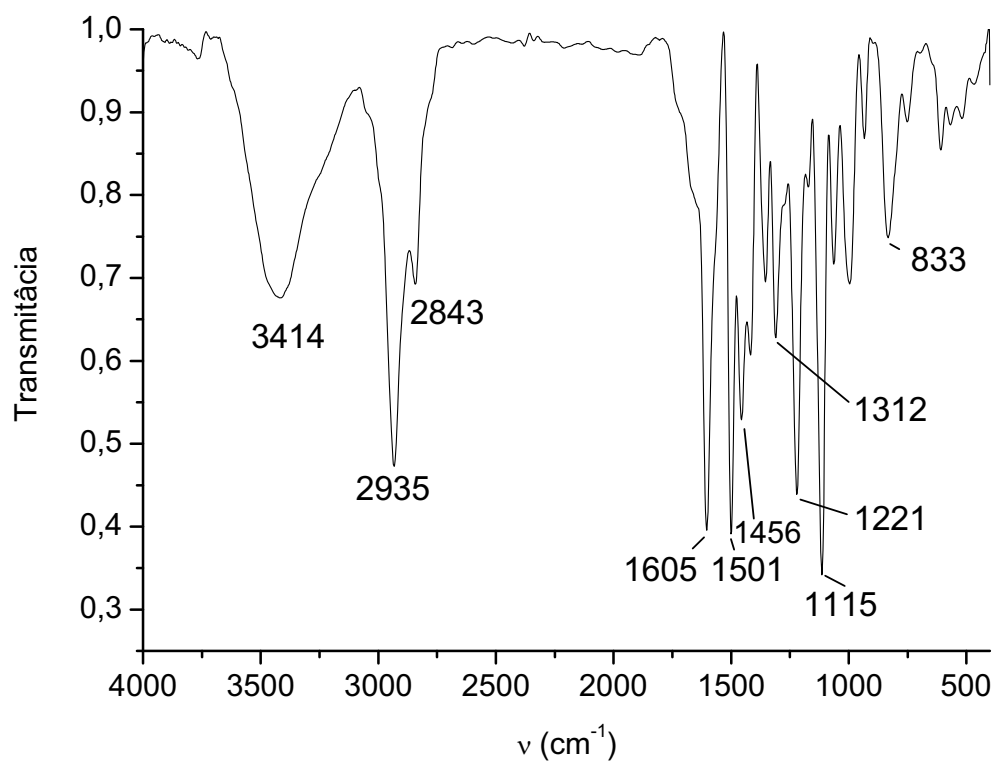


Figura 192. Espectro de absorção na região do IV de **8a** (KBr).