



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INSTITUTO DE PESQUISA EM FÁRMACOS E MEDICAMENTOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS

BIOATIVOS



**ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Piper mollicomum* KUNTH E ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA**

FERNANDO FERREIRA LEITE

João Pessoa

2019

FERNANDO FERREIRA LEITE

**ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Piper mollicomum* KUNTH E ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. **Área de concentração: Farmacoquímica.**

Orientador: Profa. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

Co-Orientadora: Profa. Dra. Bárbara Viviana de Oliveira Santos

João Pessoa

2019

FERNANDO FERREIRA LEITE

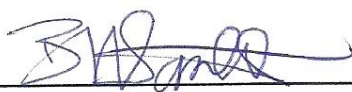
**Estudo Fitoquímico da Espécie *Piper mollicomum* Kunth e
Atividade Antibacteriana**

Aprovada em: 28 / 02 / 2019

COMISSÃO EXAMINADORA



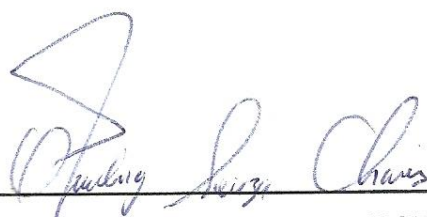
Prof.ª Dr.ª. Maria de Fátima Vanderlei de Souza (UFPB - Orientadora)



Prof.ª Dr.ª. Bárbara Viviana de Oliveira Santos (UFPB – Coorientadora)



Prof. Dr. Marcus Tullius Scotti (UFPB- Avaliador interno)



Prof. Dr. Otemberg Souza Chaves (ASPER- Avaliador externo)

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L533e Leite, Fernando Ferreira.

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Piper mollicomum* KUNTH E
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA / Fernando Ferreira Leite. -
João Pessoa, 2019.
132 f.

Orientação: Maria de Fátima Vanderlei SOUZA.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Piperaceae, *Piper mollicomum* Kunth, aristolactamas.
I. SOUZA, Maria de Fátima Vanderlei. II. Título.

UFPB/BC

*Não espere por uma crise para
descobrir o que realmente importa
em sua vida.*

Platão

*A vida é feita de pequenos momentos
que se tornam grandes quando
compartilhados com as pessoas que
amamos!*

Marcela Emylaine

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por sempre colocar pessoas maravilhosas e realmente grandes de espírito em meu caminho.

À todos meus familiares, em especial minha mãe Dalila Ferreira Leire por todos os ensinamentos e todos os momentos que passamos juntos, que levarei comigo pela eternidade.

Ao meu pai Luis de Sousa Leite e meus irmãos Fábio Ferreira Leite e Fernanda Ferreira Leite por sempre me apoiar em minhas decisões.

A minha orientadora Profa. Dr^a Maria de Fátima Vanderlei pela oportunidade de fazer parte dessa equipe maravilhosa e dedicada, e por todos os ensinamentos que com certeza levarei comigo.

A minha co-orientadora Profa. Dr^a Bárbara Viviana de Oliveira Santos, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, foi um período de um gigantesco crescimento pessoal e profissional.

Ao professor Dr. Kristerson Reinaldo de Luna Freire por todos os ensinamentos e pela grande amizade e carinho.

Aos meus tios Dione Ferreira Leite, Domício Ferreira Leite, Dejaci Ferreira Leite e Deusdete Ferreira Leite, por todo apoio e incentivo.

Ao meu tio Delson Ferreira Leite por ser meu grande pilar de apoio aqui em João Pessoa.

Aos meus tios Dimas Ferreira Leite e Francisco Ferreira Leite por sempre estarem ao meu lado.

A todos os meus primos que sempre fazem me sentir em casa, Joab, Denis, Júlio, Natália, Naiane, Carlinhos e Berguinho.

A toda a equipe do laboratório por sempre estar ao meu lado em todos os momentos, Denise, Diégina, Edleuza, Ana Laura, Janderson e Magna.

A equipe do Prof Dr Luis Cezar Rodrigues pelos ensinamentos e pelas boas risadas em sua companhia.

Aos meus amigos que me apoiaram em todos os momentos tanto na dificuldade quanto nos bons momentos Flávio, André, Bruno, Fernando e Vinicus.

A Nonato por toda assistência e pela paciência, é realmente uma pessoa grandiosa com todo seu carisma.

A professora Dr^a Ilzeth de Luna Freire Pessoa pela parceria fazendo contribuições significativas no desenvolvimento deste trabalho.

A banca examinadora pela disponibilidade em contribuir com o crescimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Edilberto Siveira Rocha do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear –CENAUREMN da Universidade Federal do Ceará pela confecção dos espectro de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais;

Aos técnicos e funcionários dos laboratórios pela colaboração na realização da pesquisa.

A todos que tiveram uma participação direta ou indiretamente na construção desse trabalho.

Deixo aqui a todos minha gratidão...

RESUMO

O gênero *Piper* é considerado o maior da família Piperaceae. Com mais de 2000 espécies já descritas, é encontrado principalmente em regiões tropicais e neotropicais. Possui um alto valor comercial pelo seu amplo uso tanto na medicina popular como na culinária tradicional, se tornando alvo de diversas pesquisas. Possuem um metabolismo diferenciado, produzindo classes de substâncias que não são usualmente encontradas como alcaloides aristolactamas, alcaloides aporfínicos e kavalactonas, aumentando ainda mais seu potencial terapêutico. Dentre as espécies do gênero *Piper* encontra-se a *Piper mollicomum* Kunth, conhecida popularmente como jaborandi ou jaborandi-manso e nesse trabalho, investigações químicas foram realizadas com suas raízes que foram coletadas no campus I da Universidade Federal da Paraíba, município de João Pessoa-PB. Os extratos metanólicos foram submetidos às cromatografias convencionais (adsorção-gel de sílica e XAD-2 e exclusão- gel de dextrana) resultando, após análises por métodos físicos (ponto de fusão) e espectrométricos (Espectrometria na região do Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas uni e bidimensionais), em quatro substâncias identificadas como sendo duas aristolactamas – a 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama e a 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama, além de um ácido identificado como Ácido 3,4,5-trimetoxifenilpropanóico e uma amida isobutílica identificada como a 2-Propenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-(2-metilpropil)-(2*E*), sendo as 3 primeiras relatadas pela primeira vez na espécie. Foram analisadas a atividade antimicrobiana dessas quatro substâncias em bactérias Gram-positivas (*Bacillus subtilis* CCT 0516; *Staphylococcus aureus* 47; *Staphylococcus aureus* ATCC8027;) e Gram-negativas (*Escherichia coli* 13; *Escherichia coli* ATCC 2536; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027; *Pseudomonas aeruginosa* 102) no entanto nenhuma delas exibiu atividade antibacteriana visto que não houve inibição do crescimento das cepas Gram-positivas e Gram-negativas testadas.

Palavras-Chave: Piperaceae, *Piper mollicomum* Kunth, aristolactamas *N*-metiladas, alcaloides, ácido propanóico, atividade antibacteriana.

ABSTRACT

The genus *Piper* is considered the largest of the family Piperaceae. With more than 2000 species already described, it is found mainly in tropical and neotropical regions. It has a high commercial value for its wide use in both popular medicine and traditional cuisine, becoming the target of several researches. They have a differentiated metabolism, producing classes of substances that are not usually found as alkaloids, aristolactams, aporphinic alkaloids and kavalactones, increasing even more its therapeutic potential. Among the species of the genus *Piper* are *Piper mollicomum* Kunth, popularly known as jaborandi or jaborandi-meso, and in this work, chemical investigations were carried out with their roots that were collected in campus I of the Federal University of Paraíba, municipality of João Pessoa- PB. The methanolic extracts were subjected to conventional chromatography (silica gel adsorption and XAD-2 and dextran gel exclusion) resulting, after physical (melting point) and spectrometric (Infrared Spectrometry and Nuclear Magnetic Resonance ^1H and ^{13}C , including uni and bidimensional techniques) in four substances identified as two aristolactams - 10-Methylamine-4-hydroxy-2,3-dimethoxyphenanthren-1-carboxylic acid-lactam and 10-methylamine-4-hydroxy -3-methoxyphenanthren-1-carboxylic acid-lactam, in addition to an acid identified as 3,4,5-trimethoxyphenyl propanoic acid and an isobutyl amide identified as 2-Propenamide, 3- (6-methoxy-1,3- benzodioxol-5-yl) -N- (2-methylpropyl) - (2*E*), the first 3 being reported for the first time in the species. The antimicrobial activity of these four substances in Gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis* CCT 0516; *Staphylococcus aureus* 47; *Staphylococcus aureus* ATCC8027; and Gram-negative strains (*Escherichia coli* 13, *Escherichia coli* ATCC 2536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027, *Pseudomonas aeruginosa* 102), however none of them exhibited antibacterial activity since there was no inhibition of the growth of Gram-positive and Gram-negative strains tested.

Key-words: Piperaceae, *Piper mollicomum* Kunth, N-methylated aristolactams, alkaloids, propanoic acid, antibacterial activity.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt	Acetato de etila
APT	Attached Proton Test
ATCC	American Type Culture Colectio
BB	Broad Band
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCDP:	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CHCl ₃	Clorofórmio
CIM	Concentração Inibitória Mínima
cm	Centímetro
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
DMSO-d ₆	Dimetil sulfóxido deuterado
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EtOH	Etanol
g	Grama
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation

Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	Multiplete
MeOH	Metanol
MeDO	Metanol deuterado
MHz	Mega hertz
mg	Miligrama
µg	Micrograma
mL	Mililitro
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
OMS	Organização Mundial da Saúde
PB	Paraíba
PgPNSB Bioativos	Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos
ppm	Partes por milhão
R _f	Fator de Retenção
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
s	Singleto
δ	Deslocamento químico em ppm

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Obtenção dos extratos e processo de extração.....	57
Esquema 2: Fracionamento cromatográfico da fração metanólica.....	62
Esquema 3: Fracionamento cromatográfico da fração Hexânica.....	63
Esquema 4: Fracionamento cromatográfico da fração Acetona.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica do gênero <i>Piper</i> L.	24
Figura 2: Biossíntese da Tiramina pela enzima Tirosina descarboxilase.	26
Figura 3: Esqueleto de aristolactamas.	27
Figura 4: Síntese de aristolactamas.	28
Figura 5: Rota biossintética de aristolactamas.	29
Figura 6: Proposta da biossíntese de precursores dos fenilpropanoides em <i>Piper</i>	40
Figura 7: Ativação dos derivados do ácido cinâmico em derivados tioéster	41
Figura 8: Formação do grupamento metilenodioxílico.	42
Figura 9: Formação do anel pirrolidínico em <i>Piper</i>	45
Figura 10: Biossíntese de fenilpropanoides.	48
Figura 11: <i>Piper mollicomum</i> Kunth.	50
Figura 12: Substâncias isoladas de <i>Piper mollicomum</i> Kunth.	70
Figura 13: 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama.	73
Figura 14: Espectro de Infra Vermelho de Pm-1 em pastilha de KBr.	75
Figura 15: Espectro de RMN ^1H de Pm-1 (CDCl_3 , 300 MHz).	76
Figura 16: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pm-1 (CDCl_3 , 300 MHz).	77
Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-1 (CDCl_3 , 75 MHz).	78
Figura 18: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-1 (CDCl_3 , 75 MHz).	79
Figura 19: Espectro bidimensional homonuclear ^1H x ^1H -COSY de Pm-1 (CDCl_3 , 300 MHz).	80
Figura 20: Espectro bidimensional heteronuclear ^1H x ^{13}C -HSQC de Pm-1 (CDCl_3 , 300/75 MHz).	81
Figura 21: Espectro bidimensional heteronuclear ^1H x ^{13}C -HMBC de Pm-1 (CDCl_3 , 300/75 MHz).	82
Figura 22: 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama.	84
Figura 23: Espectro de Infra Vermelho de Pm-2 em pastilha de KBr.	86
Figura 24: Espectro de RMN ^1H de Pm-2 (CDCl_3 , 300 MHz).	87
Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-2 (CDCl_3 , 75 MHz).	88

Figura 26: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-2 (CDCl_3 , 75 MHz).	89
Figura 27: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-2 (CDCl_3 , 75 MHz).....	90
Figura 28: Espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pm-2 (CDCl_3 , 300 MHz).....	91
Figura 29: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de Pm-2 (CDCl_3 , 300/75 MHz).....	92
Figura 30: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pm-2 (CDCl_3 , 300/75 MHz).....	93
Figura 31: 2-Prompenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpropil)-(2E).	95
Figura 32: Espectro de Infra Vermelho de Pm-3 em pastilha de KBr.	97
Figura 33: Espectro de RMN ^1H de Pm-3 (CDCl_3 , 500 MHz).	98
Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-3 (CDCl_3 , 125 MHz).....	99
Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-3 (CDCl_3 , 125 MHz).....	100
Figura 36: Espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pm-3 (CDCl_3 , 500 MHz).....	101
Figura 37: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de Pm-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).....	102
Figura 38: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pm-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).....	103
Figura 39: Ácido 3,4,5-trimetoxifenil-propanóico.	105
Figura 40: Espectro de Infra Vermelho de Pm-4 em pastilha de KBr.	107
Figura 41: Espectro de RMN ^1H de Pm-4 (CDCl_3 , 500 MHz).	108
Figura 42: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-4 (CDCl_3 , 125 MHz).....	109
Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-4 (CDCl_3 , 125 MHz).....	110
Figura 44: Espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pm-3 (CDCl_3 , 500 MHz).....	111
Figura 45: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de Pm-4 (CDCl_3 , 500/125 MHz).....	112
Figura 46: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pm-4 (CDCl_3 , 500/125 MHz).....	113

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classificação taxonômica de <i>Piper</i>	24
Quadro 2: Amidas isoladas de <i>Piper</i>	43
Quadro 3: Procedimento cromatográfico utilizado no XAD-2.....	58
Quadro 4: Processamento cromatográfico da fração MeOH em sephadex LH-20, das raízes de <i>Piper mollicomum</i>	59
Quadro 5: Processamento cromatográfico da fração Hexânica coluna 1, em sílica gel 41 (Merck), das raízes de <i>Piper mollicomum</i>	60
Quadro 6: Processamento cromatográfico da fração Hexânica coluna 2, em sílica gel 60 (Merck), das raízes de <i>Piper mollicomum</i>	60
Quadro 7: Processamento cromatográfico da fração Acetona em sephadex LH-20, das raízes de <i>Piper mollicomum</i>	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Aristolactamas encontradas em espécies do gênero <i>Piper</i> (1988-2013)...	30
Tabela 2: Ácidos fenólicos isolados em <i>Piper mollicomum</i>	46
Tabela 3: Substâncias isoladas na espécie <i>Piper mollicomum</i> Kunt.	50
Tabela 4: Dados de RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-1 em comparação com dados literários.	74
Tabela 6: Dados de RMN ^1H (300MHz), ^{13}C (75MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-2 em comparação com modelo literário.	85
Tabela 8: Dados de RMN ^1H (500MHz), ^{13}C (125MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-3 em comparação com modelo literário.	96
Tabela 10: Dados de RMN ^1H (500MHz), ^{13}C (125MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-4 em comparação com modelo literário.	106

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVOS GERAIS	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	23
3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA PIPERACEAE BAILL	23
3.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO <i>PIPER</i> LINNEAUS	24
3.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ARISTOLACTAMAS	25
3.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ALCAMIDAS	38
3.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE FENILPROPANOIDES	46
3.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE <i>PIPER MOLLIKOMUM</i> KUNNTH ...	49
3.7 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS EM <i>PIPER MOLLIKOMUM</i> KUNTH	50
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	55
4.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	55
4.1.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	55
4.1.2 MATERIAL VEGETAL: COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA	55
4.1.3 MATERIAIS UTILIZADOS PARA OS MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS ...	55
4.1.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS POR MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS E ESPECTROSCÓPICOS.....	56
4.2. PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO	57
4.2.1 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL RAÍZES DE <i>PIPER</i> <i>MOLLIKOMUM</i> KUNTH	57
4.2.2 PURIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO EXTRATO METANÓLICO DAS RAÍZES DE <i>PIPER MOLLIKOMUM</i>	58
4.3 AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS RAÍZES DE <i>PIPER MOLLIKOMUM</i> KUNTH	65
4.3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS	65
4.3.2 ESPÉCIES BACTERIANAS UTILIZADAS	65
4.3.3 MEIO DE CULTURA UTILIZADO NAS ANÁLISES.....	65
4.3.4 PREPARAÇÃO DO INÓCULO BACTERIANO	66

4.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	66
4.4.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)	66
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	68
5.1 DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>PIPER MOLLICOMUM</i> KUNTH	68
5.2. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>PIPER MOLLICOMUM</i> KUNTH	69
5.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-1	70
5.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-2	83
5.5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-3	94
5.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-4	104
5.7 RESULTADO DA AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA	114
6. CONCLUSÕES	116
7. PERSPECTIVAS	118
REFERÊNCIAS	120

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui em sua extensão territorial uma das maiores biodiversidades do mundo, sendo dividido em seis biomas, com isso podemos afirmar que possuímos enorme potencial para pesquisa científica em se tratando de compostos quimicamente ativos oriundos de vegetais (NOLDIN *et al.*, 2006). A grande importância medicinal, econômica e ecológica de espécies nativas brasileiras, assim como o risco de sua extinção pela interferência humana no seu habitat, vem motivando estudos destas plantas que visam seu melhor aproveitamento, uso racional e acima de tudo sua preservação. Uma vasta diversidade de plantas ainda desconhecidas na pesquisa, podem possuir atividades farmacológicas valiosas se tornando promissoras na terapêutica (SOUZA *et al.*, 2005).

A indústria farmacêutica vem aumentando seu interesse e seu investimento na busca de novas moléculas oriundas de plantas medicinais, que sejam promissoras no tratamento das doenças (LIMA, 2007). Os metabólitos secundários dos vegetais possuem uma enorme variedade estrutural e estão presentes em todos os vegetais (WINK, 2003). Estes compostos por sua vez são responsáveis por exercerem diferentes tipos de reações em sistemas biológicos por isso são aplicados em diferentes ramos da economia, como agricultura, indústrias alimentícia, cosmética, química e farmacêutica (KUTCHAN, 2001). Dentre os fitoterápicos presentes no mercado podemos destacar o uso de *Piper methysticum* contra tensão, agitação e ansiedade nervosa (SCHÜLZ *et al.*, 2002). Isto se deve ao extrato de kava, que atua no sistema nervoso central (SNC) proporcionando sensação de prazer e amenizando as sensações de medo (CAÑIGUERAL & VILLA, 1998). Perifericamente, age como potente anestésico local, exercendo também efeito protetor contra envenenamento por estricnina, sendo superior a todos os antagonistas não-narcóticos conhecidos (JAMIESON *et al.*, 1989; BACKHAUSS & KRIEGLSTEIN, 1992; SCHÜLZ *et al.*, 2002).

A Química de Produtos Naturais vem demonstrando sua importância, uma vez que serve de modelo para produtos sintéticos derivados desses metabólitos secundários, devido sua vasta variedade em estruturas químicas (VIEGAS e BOLZANI, 2006). A exemplo disso podemos citar o pioneiro dos medicamentos sintéticos, o Ácido Acetilsalicílico (ASS), sendo lançado ao mercado em 1897,

onde sua síntese se deu a partir do salicilato, obtido inicialmente da *Salix alba*, cujo seu extrato veio se tornar fitoterápico (Florien) possuindo propriedades analgésicas, antipiréticas e anti-inflamatórias (NASCIMENTO, et al., 2009).

Dentre as espécies do reino vegetal, podemos destacar as do gênero *Piper*, que possuem um metabolismo diferenciado, produzindo classes de compostos que não são usualmente encontrados, como alcanoides e aristolactamas, aumentando sua importância na área da fitoquímica. As espécies de *Piper* possuem uma grande diversidade de ação na área farmacológica, que incluem: atividade antifúngica de piperamidas (SILVA, et al., 2018), atividade antimicrobiana do extrato metanólico de *Piper crocatum* (LISTER, et al., 2014), atividade trypanocida de *Piper arboreum* e *Piper tuberculatum* (REGASINI, et al., 2009), atividade antibacteriana moderada dos óleos essenciais extraídos das folhas de *Piper mollicomum* (Guimarães & Valente 2001) e ação antifúngica com derivados obtidos de *Piper mollicomum* e *Piper lhotzkyanum* (LAGO, et al., 2007).

Tanto as aristolactamas quanto as alcanoides (também conhecidas como piperamidas), mostraram ser promissoras com relação às suas propriedades farmacológicas, das quais podem ser citadas: atividade anti agregante plaquetário de aristolactamas obtidas de *Piper taiwanense* (CHEN, et al., 2004), atividade antitumoral de análogos de aristolactamas (CHOI, et al., 2009), atividade mosquiticida de amidas obtidas de *Piper amalago* var. *nigrinodum* (JACOBS, et al., 1999), além atividade antitumoral com derivados de aristolactamas (CHOI, et al., 2009).

As espécies do gênero *Piper* são amplamente utilizadas na medicina tradicional, sendo indispensáveis estudos acerca da veracidade na comprovação dessas propriedades, além de procurar informações sobre qual metabólito ou grupo de metabólitos são responsáveis pela atividade em questão. Com esse olhar buscamos realizar um estudo fitoquímico com as raízes de *Piper mollicomum* Kunth, com a finalidade de explorar e conhecer os metabólitos secundários produzidos por esta espécie, contribuindo com o conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Piper* e da família Piperaceae, assim como objetivamos também investigar possíveis atividades que os metabólitos isolados possam apresentar.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Realizar um estudo fitoquímico da espécie *Piper mollicomum* Kunt e avaliar o potencial antibacteriano dos constituintes químicos isolados, contribuindo desta forma com o conhecimento da composição química e farmacológico tanto da espécie como do gênero *Piper*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar os constituintes químicos provenientes do metabolismo secundário da espécie *Piper mollicomum* Kunth através de técnicas cromatográficas convencionais.
- Elucidar e/ou caracterizar estruturalmente os constituintes químicos isolados, utilizando técnicas espectroscópicas de infravermelho e RMN¹H e ¹³C uni e bidimensionais e comparação com dados da literatura;
- Investigar a atividade antibacteriana das substâncias isoladas sobre 8 linhagens de bactérias, padrão e de origem clínica;

Bactérias Gram-positivas

- *Bacillus. subtilis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus mutans*

Bactérias Gram-negativas

- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*

fundamentação
Teórica

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA PIPERACEAE BAILL

Encontrada predominantemente em regiões tropicais e subtropicais, a família Piperaceae compreende cerca de cinco gêneros, sendo eles *Manekia*, *Zippelia*, *Verhuellia*, *Peperomia* e *Piper*, onde esses dois últimos são os mais representativos (SCHUBERT et al., 2012), possuindo cerca de 1700 e 2000 espécies descritas respectivamente (DA SILVA, et al., 2018), e são encontrados aqui no Brasil principalmente em florestas úmidas e sombreadas, nos domínios amazônico e atlântico (YUNCKER 1972, 1973, 1974; Guimarães et al. 2011). As espécies desta família chamam atenção pela variedade em seu uso na medicina popular, como agente anti-inflamatório, alívio de dores dentárias, distúrbios gastrointestinais e doenças ginecológicas, além de seu uso como ansiolítico e psicotrópico (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002).

A família Piperaceae pertence à Classe Magnoliopsida e ordem Piperales (Quadro 1, pág. 8), sendo suas espécies encontradas evolutivamente na base das angiospermas. A evolução destas espécies envolveu tanto fatores abióticos como fatores bióticos, das quais podemos destacar a predação e a presença de micro-organismos associados, podendo interferir no metabolismo e consequentemente sobrevivência de suas espécies (Resem, 2004, Souto, 2014). Além de seu amplo uso medicinal como já descrito anteriormente, as espécies da família Piperaceae são bastante utilizadas no controle de pragas e como inseticidas, devido a uma grande variedade de seus metabólitos secundários (BALDOQUI, et al., 2009, SOUTO, 2014).

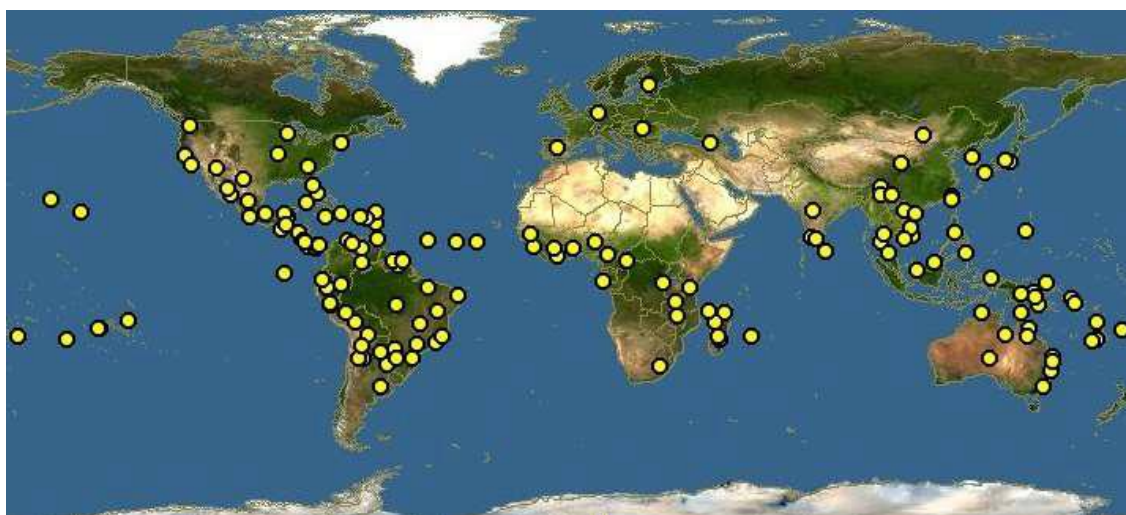
As espécies desta família se apresentam como arvoretas, ervas, arbustos, lianas, trepadeiras ou ainda podendo ser epífitas (GREIG, 2004). São amplamente encontradas nas florestas brasileiras, e se concentram principalmente na Mata Atlântica, onde se encontram 3 gêneros nativos: *Piper* (englobando os antigos gêneros *Ottonia* e *Pothomorphe*), *Peperomia* e *sarcohachis*. Grande quantidade das espécies de *Piper* se concentram em florestas quentes e úmidas, sendo o clima brasileiro bastante favorável para o seu crescimento (SOUZA; LORENZI, 2005; GREIG, 2004).

Quadro 1: Classificação taxonômica de *Piper*.

Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sub-Classe	Magnolidae
Ordem	Piperales
Família	Piperaceae
Gênero	<i>Piper</i>
Espécies	<i>Piper mollicomum</i>

3.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO *PIPER* LINNEAUS

Com aproximadamente 2000 espécies já descritas na literatura, o gênero *Piper* é considerado o maior da família Piperaceae. Suas espécies são encontradas principalmente em regiões neotropicais principalmente na Ásia e na América (Figura 1), onde são encontrados aproximadamente dois terços das espécies já descritas (Jaramillo, et al., 2008; Dyer, Palmer, 2004; Souto, 2014).

Figura 1: Distribuição geográfica do gênero *Piper* L.

Fonte: <http://data.gbif.org/species/> <Acessado em: 9/12/2018>

O gênero *Piper* é bem conhecido por possuir uma biossíntese bastante diversificada, das quais já foram relatadas fenilalcanóides/benzenóides de *Piper marginatum* (CHAVES; SANTOS; OLIVEIRA, 2003; CHAVES & SANTOS, 2002),

alcamidas/pipermidas de *Piper tuberculatum* (CHAVES; JÚNIOR; SANTOS, 2002) e *Piper mollicomum* (DA SILVA, et al., 2018), flavonoides de *Piper montealegreanum* (DE QUEIROZ, et al., 2014), butenolideos de *Piper fadyenii* e *Piper hispidum* (MICHEL, et al., 2010; NAIR, et al., 1986), óleos voláteis de várias espécies de *Piper* (SANTOS, et al., 2001; DE SOUZA, et al., 2014), terpenoides de *Piper mollicomum* e *Piper rivinoides* (DE SOUZA, et al., 2014), cromonas de *Piper mollicomum* (LAGO; YOUNG; KATO, 2007; DA SILVA, et al., 2018), cavalactonas de *Piper methysticum* (DHARMARATNE; NANAYAKKARA; KHAN, 2002), lignanas e neolignanas de *Piper regnellii*, *Piper cubeba* e *Piper retrofractum* (BODIWALA, et al., 2007; PESSINI, et al., 2005), aristolactamas de *Piper marginatum* (CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS, 2005), sendo as amidas (conhecidas também como piperamidas) um dos constituintes característicos de suas espécies (DA SILVA, et al., 2018).

Em termos de morfologia, as espécies do gênero *Piper* apresentam uma uniformidade, com folhas simples e alternadas, já o caule se apresenta dividido por nódulos salientes, semelhantes aos da cana-de-açúcar, o que facilita a quebra de seus galhos. Suas espécies produzem um tipo de espiga ou infrutescências, e geralmente se apresentam como arbustos (Dyer & Palmer, 2004; Pinto, 2012).

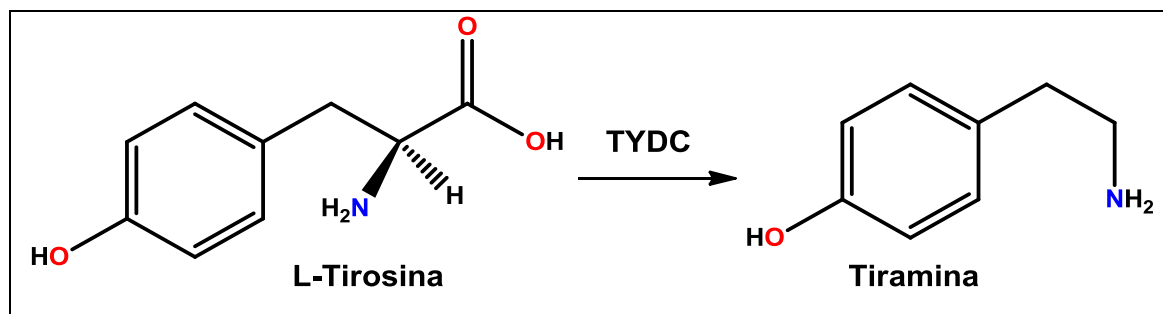
Este gênero é bastante atrativo por apresentar espécies com grandes potenciais medicinais, dos quais podemos destacar atividade sedativa de *P. methysticum* que deu origem a um fitoterápico, kava-kava, agindo através da transmissão dopaminérgica e serotoninérgica, outro destaque temos um potente fungicida contra espécies patogênicas a partir do óleo essencial de *P. hispidinervum*, atividade antiplasmodial com flavonoides obtidos de *P. hostmannianum* e efeito mutagênico da pipartina, que é um alcaloide obtido da *P. tuberculatum* (Silva, et al., 2016), além de atividade hemolítica e antibacteriana com flavonoides formilados em um estudo realizado com *Piper montealegreanum* (PINTO, et al., 2012).

3.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ARISTOLACTAMAS

As aristolactamas são uma classe de compostos que possuem em sua estrutura química um anel lactâmico entre um grupo carboxila no C-1 e uma amina no carbono C-10, em um núcleo fenantrênico (Figura 03, pág. 11). São substâncias derivadas do aminoácido L-Tirosina que sofre uma descarboxilação pela enzima

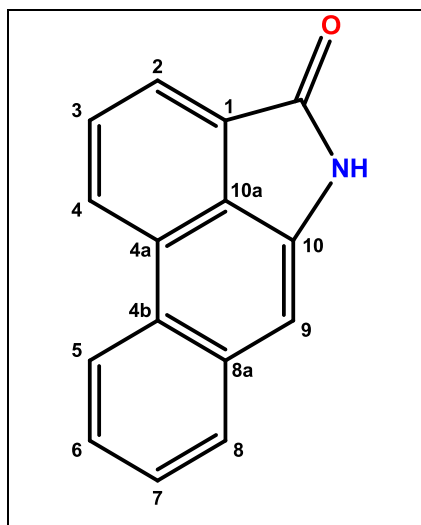
Tirosina descarboxilase (TYDC) gerando a tiramina (Figura 2), o qual pode gerar alcalóides aporfínicos e as aristolactamas através de uma nova descarboxilação.

Figura 2: Biossíntese da Tiramina pela enzima Tirosina descarboxilase.



Fonte: Adaptado de Navarro, 2009.

Essa classe de substâncias foram identificadas inicialmente em espécies de *Aristolochia* (Aristolocjiaceae), que pertence a ordem Piperales, porém em estudos posteriores já foram detectadas em espécies de Annonaceae, Menispermaceae, Monimiaceae e Piperaceae (KUMAR, et al., 2003; PINTO, 2012). Na família Piperaceae o primeiro relato de aristolactama se deu com estudo da espécie *Piper longum* (DESAI; PRABHU & MULCHANDANI, 1988). A detecção de aristolactamas em *Piper longum* impulsionou as pesquisas com espécies do gênero *Piper* que resultou no isolamento e identificação de diversos análogos desses compostos (Tabela 1, pág. 30), dentre os quais podemos citar o isolamento de duas aristolactamas em *Piper marginatum* a cefaranona B e a piperlactama A (CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS., 2006). As aristolactamas costumam apresentar substituintes nas posições C-2, C-3, C-4, C-6 e C-8 (Figura 3, pág. 27), porém no gênero *Piper* as substituições são restritas as posições C-2, C-3, C-4 e C-6 (Wu et al., 1997; Pinto, 2012).

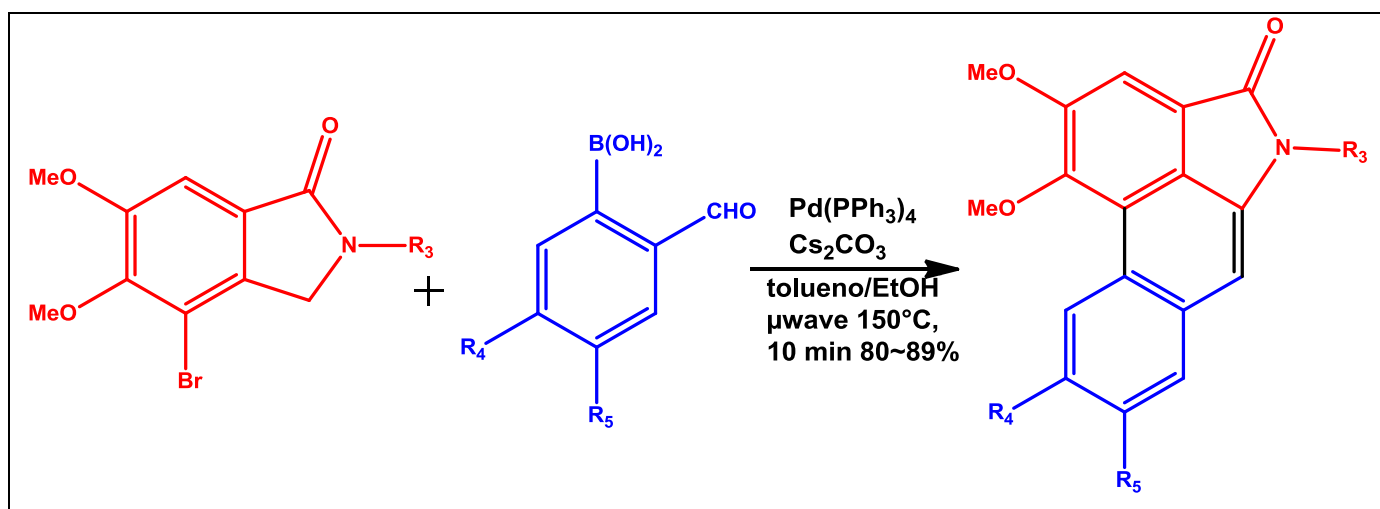
Figura 3: Esqueleto de aristolactamas.**Fonte:** Própria.

Estudos anteriores já relataram diversas atividades farmacológicas com essa classe de compostos, tais como: atividade antiinflamatória (LIN, et al., 2006; TABOPDA, et al., 2008), antioxidante (YAMAGUCHI, et al., 2006; TABOPDA, et al., 2008), citotóxica (SUN, et al., 1987; DUH, et al., 1990; RUANGRUNGSI, et al., 1992; TABOPDA, et al., 2008), anticancerígena e antimicrobiana (KUMAR; PRASAD; PARMAR, 2003). Como exemplo a aristolactama BII em testes realizados, mostrou inibição na proliferação de linfócitos T e B, a aristolactama FI apresentou efeito inibitório em NO e a aristolactama III apresentou atividade citotóxica em células cancerígenas (KIM, et al., 2004.) e aristolactama A que inibiu crescimento da *Mycobacterium tuberculosis* com valores de MIC variando entre 4 a 64 µg.mL (Mata et al., 2004).

Apesar da literatura relatar a toxicidade do ácido aristolóquico, estudos demonstram que a grande maioria das aristolactamas apresentaram pouca ou nenhuma atividade tóxica (KUMAR, et al., 2003). O mecanismo de ação que relaciona à toxicidade dos ácidos aristolóquicos em células renais, fez com que alguns países proibissem as vendas de formulação que contenham esses ácidos. Recentemente, pesquisas na área mostrou que o metabolismo desses ácidos no nosso organismo reagem com células de DNA. Nessas premissas, esses dados demonstram a relevância de estudos mais avançados na área em virtude da importância farmacológica das aristolactamas em vários alvos farmacológicos.

Com relação a sua biossíntese, não se sabe com exatidão a rota que geram as aristolactamas, mas a proposta mais aceita é a de que derivam do aminoácido L-tirosina e seguem a rota dos alcalóides aporfínicos (KUMAR; PRASAD; PARMAR, 2003), sendo o alcaloide 4,5-dioxoaporfina, um intermediário para sua biossíntese (Figura 5, pág. 29). No entanto essa classe de substâncias apresentam baixos rendimentos nos vegetais, e dada à importância em suas propriedades farmacológicas, assim como a possibilidade de variações em sua estrutura química podendo enriquecer ainda mais esse potencial, embasou a busca de rotas alternativas para a síntese desses compostos, que sejam mais baratas e com maior rendimento, dentre esses estudos podemos destacar o estudo de KIM e colaboradores em 2008, onde obtiveram sucesso na síntese de diversos análogos de aristolactamas, dentre elas a Piperolactama A e a Sauristolactama, fazendo uso do 4-bromoisoindolin-1-ona com análogos do Ácido 2-formilfenilborônico utilizando a técnica típica Suzuki-Miyaura com irradiação de micro-ondas (Figura 4).

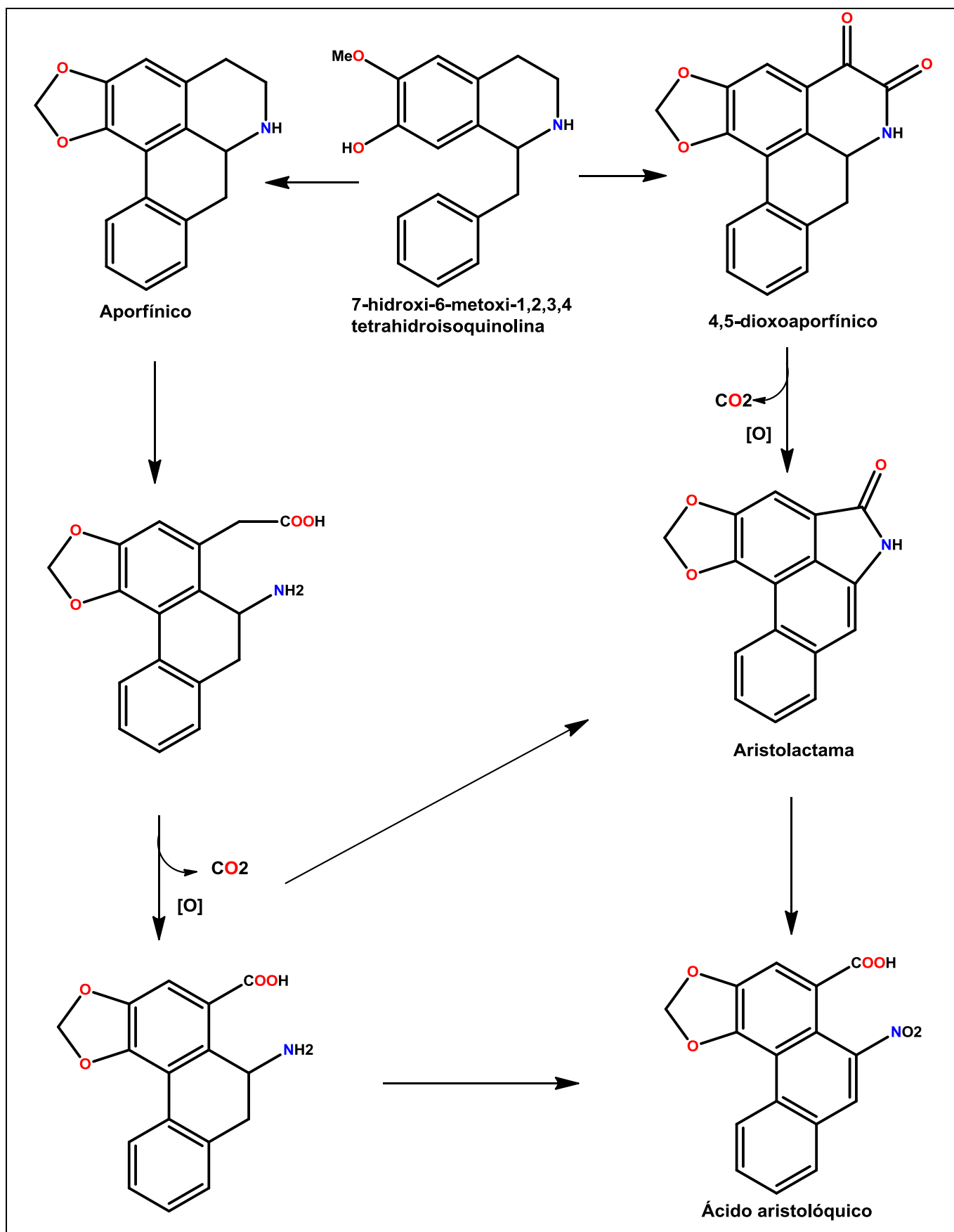
Figura 4: Síntese de aristolactamas (KIM, et al., 2008).



Fonte: Própria.

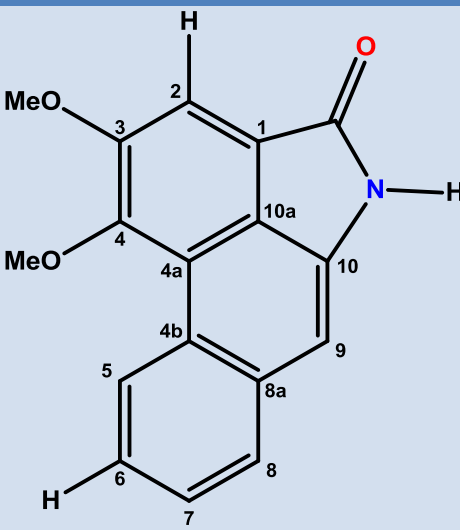
Outro estudo realizado (HEGDE, et al., 2010) foi possível obter derivados de aristolactamas através de uma semi-síntese, utilizando como material de partida o ácido aristolóquico através de uma hidrogenação catalítica com paládio. Ainda nesse estudo Hegde e colaboradores (2010) realizaram um estudo de relação estrutura atividade, onde detectaram uma boa inibição dessa classe de compostos frente à enzima CDK2, tanto das aristolactamas sintetizadas como de seus precursores, no caso ácidos aristolóquicos, onde uma aristolactama apresentou uma IC_{50} de 0,035 μ M, sendo considerado um resultado promissor.

Figura 5: Rota biossintética de aristolactamas.

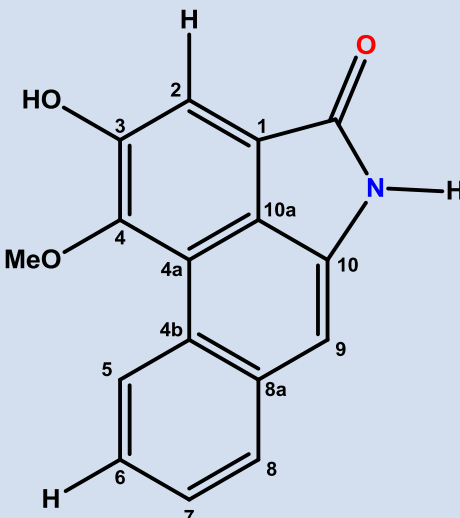
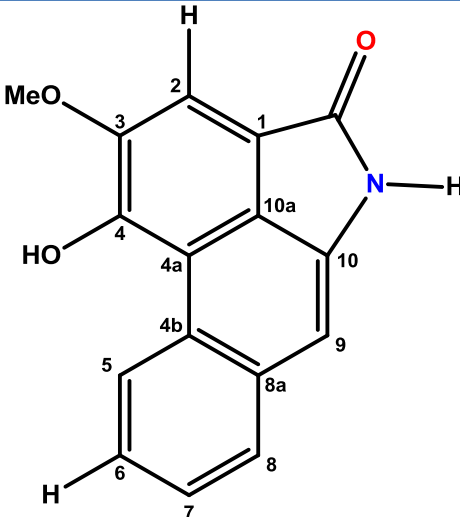


Fonte: Adaptado de Costa, 2015.

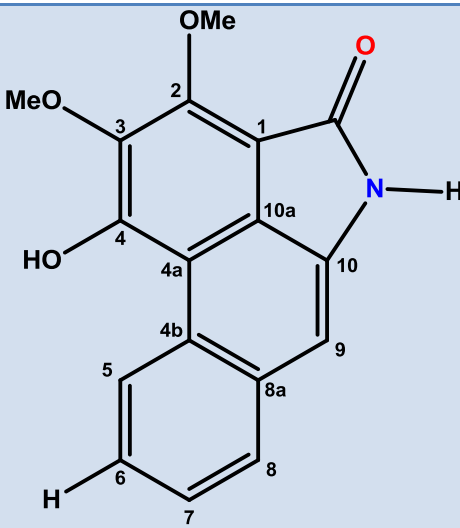
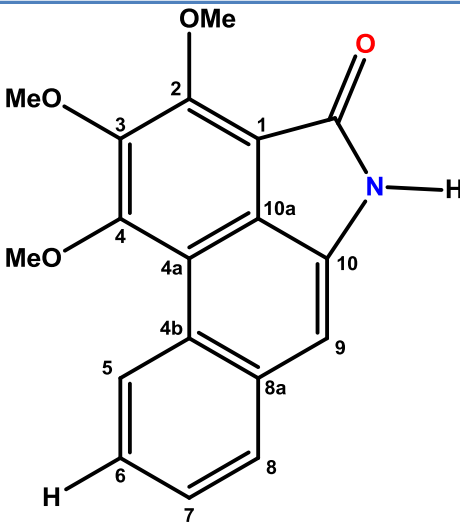
Tabela 1: Aristolactamas encontradas em espécies do gênero *Piper* (1988-2013).

Substância	Estrutura	Espécie	Referência
Cefaronona B		<i>P. argyrophylum</i>	SINGH et al., 1996
		<i>P. attenuatum</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. boehimeriaefolium</i>	DESAI et al., 1989; ZHANG; WEI; CHEN, 1999
		<i>P. sanctum</i>	MATA et al., 2004
		<i>P. chiadoense</i>	PENA; DIAZ, 1995
		<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI et al., 1989;
		<i>P. augustum</i>	DELGADO; AUVELLA; DIAZ, 1998
		<i>P. tuberculatum</i>	ARAÚJO JUNIOR et al., 1999
		<i>P. wightii</i>	BOLL et al., 1996
		<i>P. submultinerve</i>	NOBSATHIAN et al., 2012
		<i>P. wallichii</i>	ZHAO; RUAN; CAI, 2005; WEI, et al., 2011
		<i>P. lolot</i>	LI et al., 2007
		<i>P. marginatum</i>	CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS, 2006
		<i>P. arborescens</i>	TSAI et al., 2005
		<i>P. taiwanense</i>	CHEN et al., 2004
		<i>P. betle</i>	LIN et al., 2013

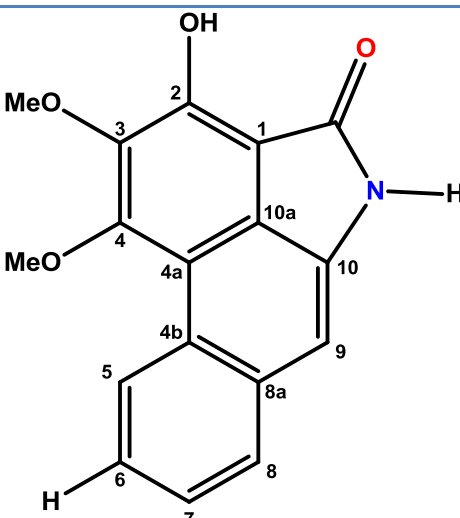
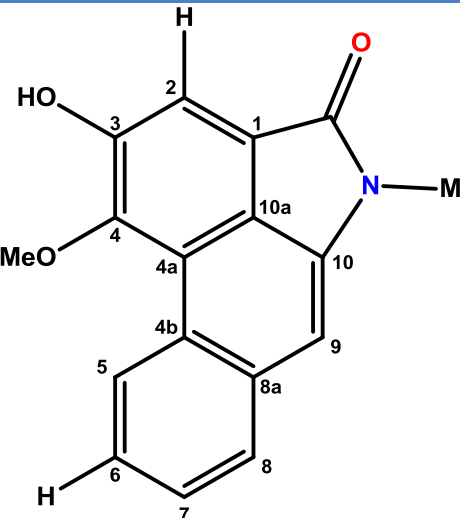
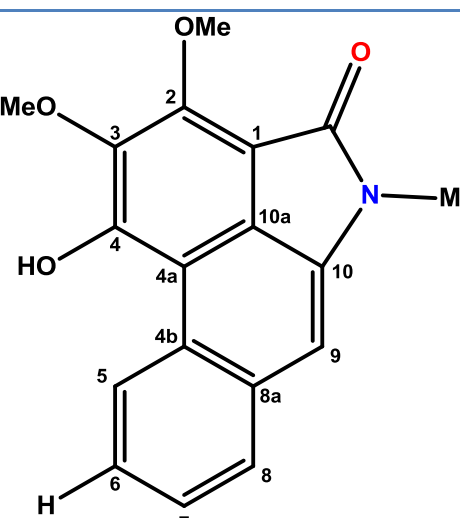
Continuação da Tabela 1.

Aristolactama All		<i>P. boehimeriaefolium</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. hamiltonii</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI et al., 1989
		<i>P. hancei</i>	ZHOU; YANG; TU, 2005
		<i>P. wallichii</i>	ZHAO; RUAN; CAI, 2005; WEI, et al., 2011
		<i>P. kadsura</i>	KIM et al., 2011
		<i>P. attenuatum</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. betle</i>	GHOSH; BHATTACHARY, 2005; LIN et al., 2013
Piperolactama A		<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI et al., 1989; LIU et al., 2009
		<i>P. argyrophylum</i>	SINGH et al., 1996
		<i>P. sanctum</i>	MATA et al., 2004
		<i>P. boehimerifolium</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. attenuatum</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. hamiltonii</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. wightii</i>	BOLL et al., 1996
		<i>P. submultinerve</i>	NOBSATHIAN et

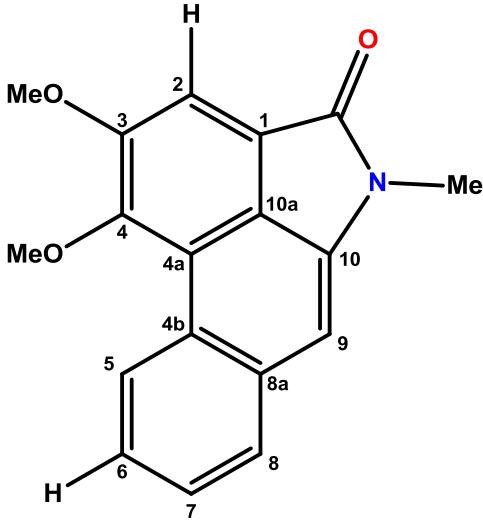
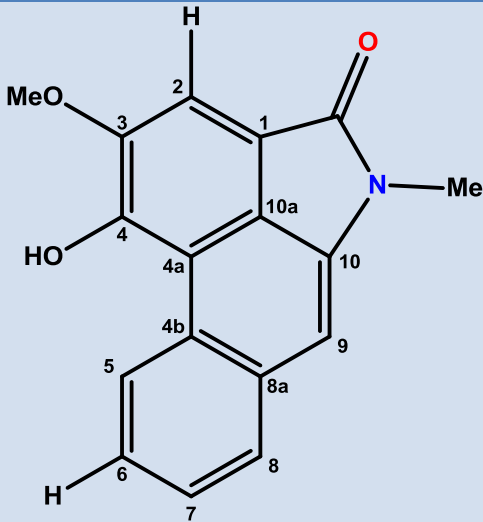
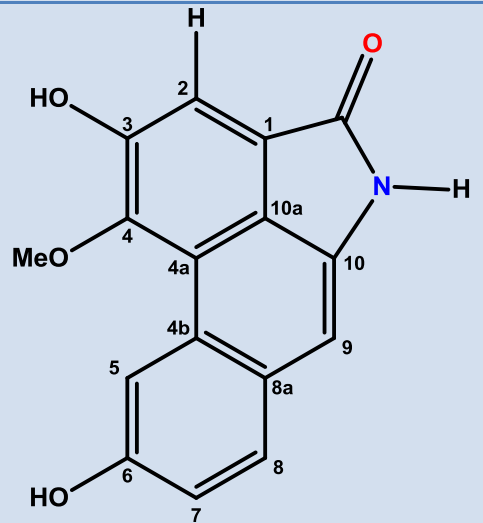
Continuação da Tabela 1.

			al., 2012
		<i>P. kadsura</i>	KIM et al., 2011
		<i>P. lolot</i>	LI et al., 2007
		<i>P. philippinum</i>	CHEN; LIAO; CHEN, 2007
		<i>P. marginatum</i>	CHAVES; OLIVEIRA; SANTOS, 2006
		<i>P. taiwanense</i>	CHEN et al., 2004
		<i>P. nigrum</i>	EE et al., 2008
		<i>P. betle</i>	LIN et al., 2013
Piperolactama B		<i>P. acutisleginum</i>	OLSEN et al., 1993
		<i>P. argyrophylum</i>	SINGH et al., 1996
		<i>P. boehimertfolium</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. longum</i>	DESAI; PRABHU; MULCHANDANI, 1988; DESAI et al., 1989
		<i>P. kadsura</i>	KIM et al., 2011
		<i>P. arborescens</i>	TSAI et al., 2005
		<i>P. taiwanense</i>	CHEN et al., 2004
Piperolactama C		<i>P. argyrophylum</i>	SINGH et al., 1996
		<i>P. boehimertfolium</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. scutifolium</i>	MARQUES et al., 2007
		<i>P. longum</i>	DESAI et al., 1989
		<i>P. wightii</i>	BOLL et al., 1996
		<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE et al., 2005
		<i>P. arborescens</i>	TSAI et al., 2005

Continuação da Tabela 1.

		<i>P. taiwanense</i>	CHEN et al., 2004
Piperolactama D		<i>P. argyrophylum</i>	SINGH et al., 1996
		<i>P. boehimertfolium</i>	DESAI; CHATURVEDI; MULCHANDANI, 1990
		<i>P. attenuatum</i>	DESAI; CHATURVEDI; MULCHANDANI, 1990
		<i>P. bogotense</i>	PENA; AVELLA; DIAZ, 2000.
		<i>P. taiwanense</i>	CHEN et al., 2013
		<i>P. nigrum</i>	EE et al., 2008.
Piperolactama S		<i>P. puberulum</i>	CHEN et al., 2004
		<i>P. kadsura</i>	DELGADO; AUVELLA; DIAZ, 1998
Piperolactama E		<i>P. taiwanense</i>	CHEN et al., 2004
		<i>P. augustum</i>	DELGADO; AUVELLA; DIAZ, 1998

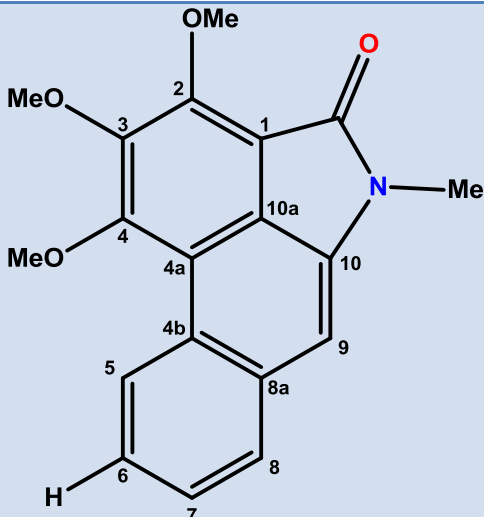
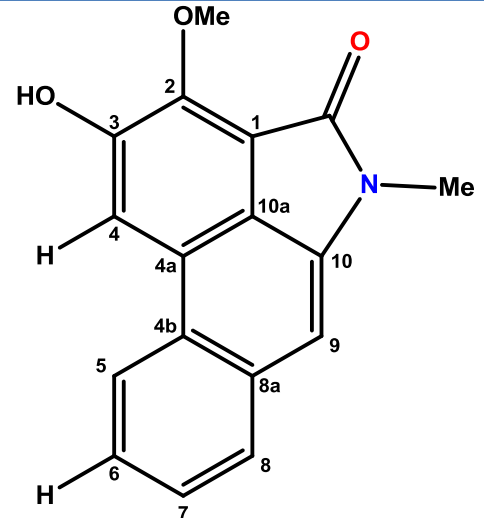
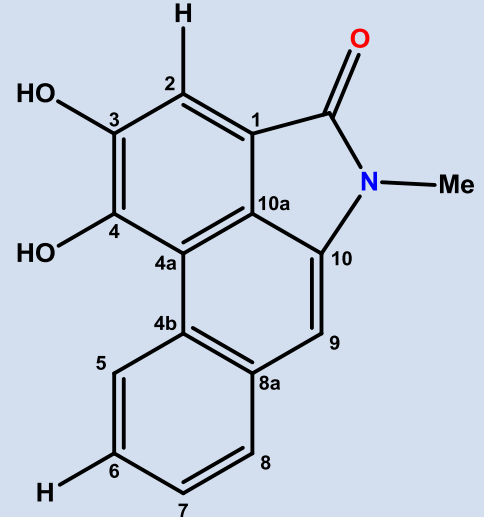
Continuação da Tabela 1.

Caldensina		<i>P. caldense</i>	CARDOSO-JÚNIOR; CHAVES, 2003
4-hidroxi-3-metoxi-N-metilaristolactama		<i>P. ribesioides</i>	LANGE et al., 1992
		<i>P. taiwanense</i>	CHEN et al., 2004
Aristolactama AIII		<i>P. wallichii</i>	WEI et al., 2011; ZHAO; RUAN; CAI, 2005
		<i>P. kadsura</i>	LIN et al., 2006
		<i>P. hancei</i>	FENG et al., 2009 ZHOU; YANG; TU, 2005

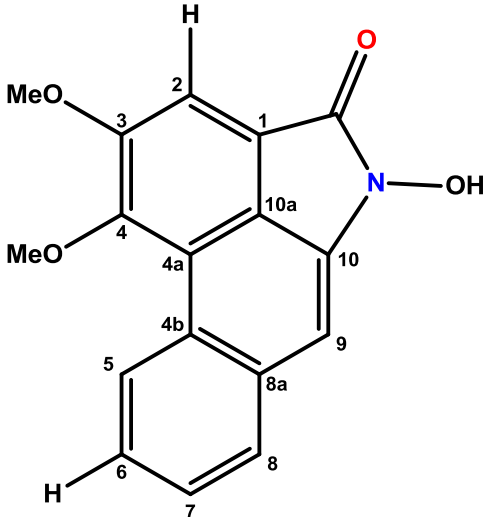
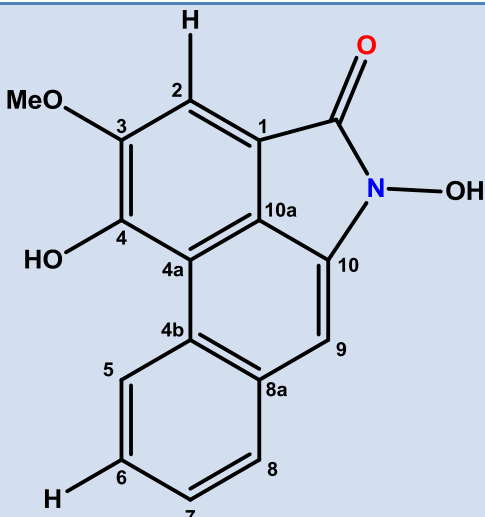
Continuação da Tabela 1.

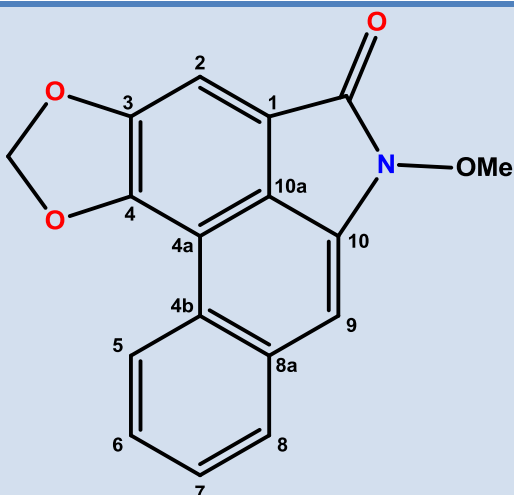
Aristolactama BIII		<i>P. arborescens</i>	TSAI et al., 2005
Goniolactama		<i>P. arborescens</i>	TSAI et al., 2005
Goniopedalina C		<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE et al., 2005

Continuação da Tabela 1.

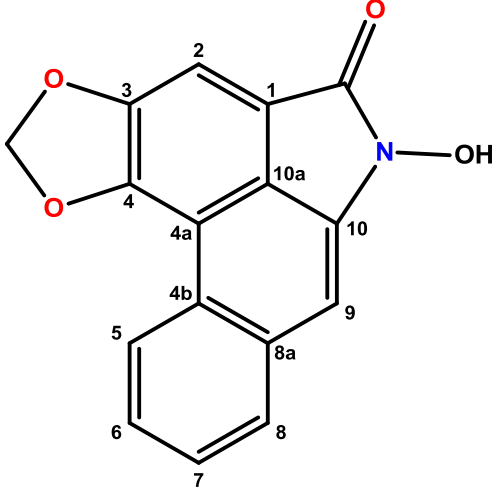
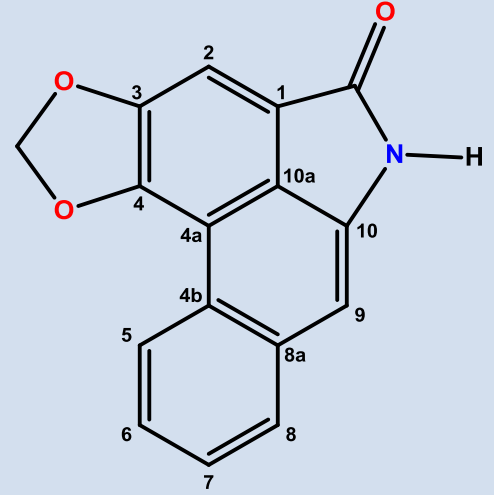
2,3,4-trimetoxi-N-metilaristola ctama		<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE et al., 2005
3-hidroxi-2-metoxi-N-metilaristola ctama		<i>P. crassinervium</i>	DANELUTTE et al., 2005
Piperumbel actama C		<i>P. umbellatum</i>	TABOPDA et al., 2008

Continuação da Tabela 1.

Piperumbelactama A		<i>P. umbellatum</i>	TABOPDA et al., 2008
Piperumbelactama B		<i>P. umbellatum</i>	TABOPDA et al., 2008

Nome do composto	Estrutura	Espécie	Referência
Piperumbelactama D		<i>P. umbellatum</i>	TABOPDA et al., 2008

Continuação da Tabela 1.

N-hidroxi-aristolactama II		<i>P. umbelatum</i>	TABOPDA et al., 2008
cefararona A		<i>P. boehmeriaefolium</i>	ZHANG; WEI; CHEN, 1999
		<i>P. hancei</i>	FENG et al., 2009

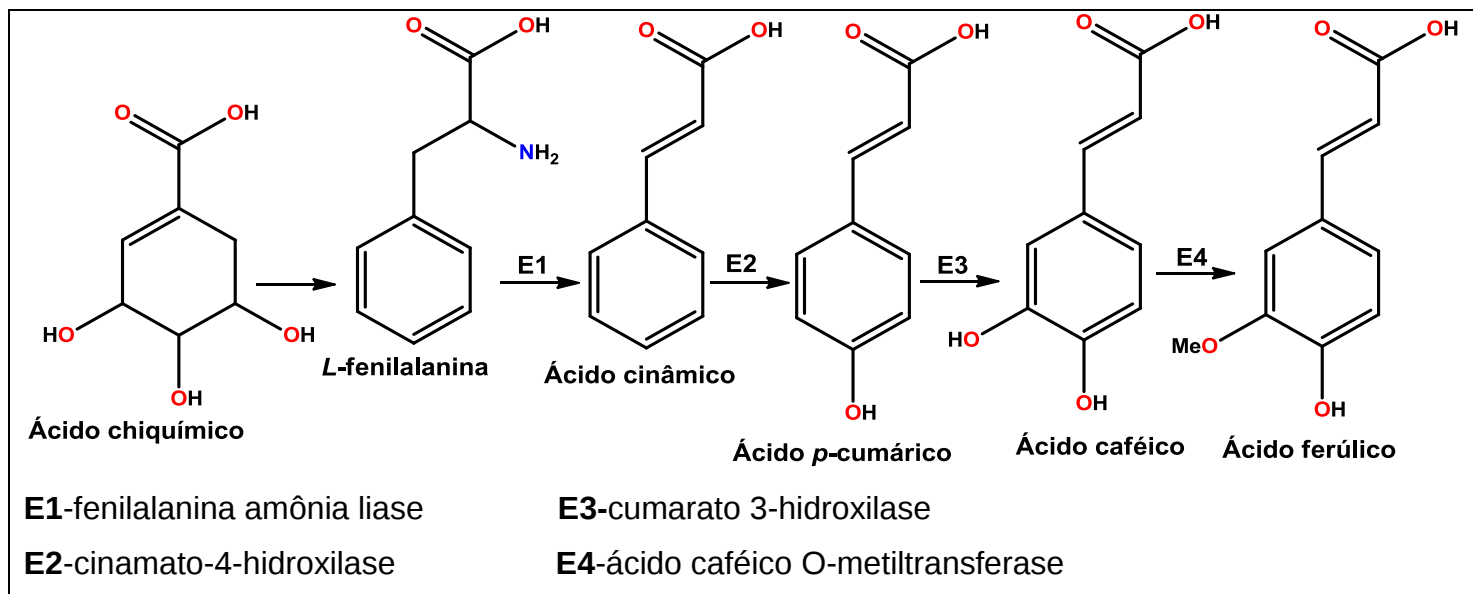
3.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ALCAMIDAS

As alcamidas são metabólitos secundários da classe das amidas fenólicas incluindo mais de 200 compostos distribuídos em várias famílias de plantas. Nas espécies de *Piper* são bastante comuns sendo a piperina a primeira alcamida isolada no gênero, através de um estudo com *Piper nigrum* (PARMAR, et al., 1997). Isto impulsionou as pesquisas com este gênero resultando no isolamento de diversas piperamidas, onde podemos citar o isolamento de uma piperina e uma N-(12,13,14-Trimetoxidihidrocinnamoil)- Δ^3 -piperidin-2-ona de *Piper tuberculatum* (CHAVES; JÚNIOR; SANTOS, 2002), além do isolamento da 1-Cinnamoil pirrolidina (CHAVES; SANTOS; OLIVEIRA, 2003), uma (E,E)-N-Isobutil-2,4-octadienamida (SANTOS & CHAVES, 1999), e fenilalcanoides (SANTOS; CHAVEZ; GRAY, 1998) todos isolados de *Piper marginatum*.

A piperina se tornou muito conhecida por ser a responsável do sabor pungente da pimenta-do-reino, sendo muito utilizada em condimentos e aumentando seu valor comercial. Outras alcanidas isoladas posteriormente se mostraram potencialmente importantes por possuírem boas atividades em sistemas biológicos. Como exemplo temos a deidropipernonalina, isolada de *Piper longum* que se apresentou com efeito vasodilatador em artérias coronárias (PARMAR, et al., 1997), outra importante alcanida é a aduncamida, isolada em *Piper aduncum*, que mostrou atividade antimicrobiana frente ao *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus* (NAVICKIENE, et al., 2000), a tembamida e ripina I que possuem atividades antifúngicas tão potentes quanto a nistatina contra cepas de *Cladosporium*, ambas isoladas de *Piper mollicomum* (SILVA; YAMAGUCHI; YOUNG; RAMOS, 2018).

Sua rota biosintética proposta se dá pela via mista, que envolve tanto o ácido chiquímico (Figura 6, pág. 40), na formação das unidades C₆-C₃, como o acetato, responsável pelo grupamento acetil (Figura 7, pág. 41) no fim da cadeia carbônica, e a ornitina (Figura 9, pág. 45) o qual fornece o anel pirrolidínico, gerando as piperamidas (PINTO, 2015). O ácido chiquímico é um importante intermediário na biossíntese alcaloides aromáticos, e a fenilalanina para a formação de fenilpropanoides além de outros metabolitos secundários como antocianinas, ácido hidroxicinâmico e flavonoides. A L-fenilalanina sofre uma trans-desaminação pela enzima fenilalanina amônia liase (PAL), dando origem ao ácido cinâmico, este por sua vez sofre ação da enzima cinamato 4-hidroxilase (C4H), em uma reação dependente da enzima citocromo P450, sendo convertido no ácido *p*-cumárico. O ácido *p*-cumárico pode sofrer reações de metilação, hidroxilação, desidratações, entre outras, dando origem a diversos análogos (LANDOLINO e COOK, 2010; DEWICK, 2009).

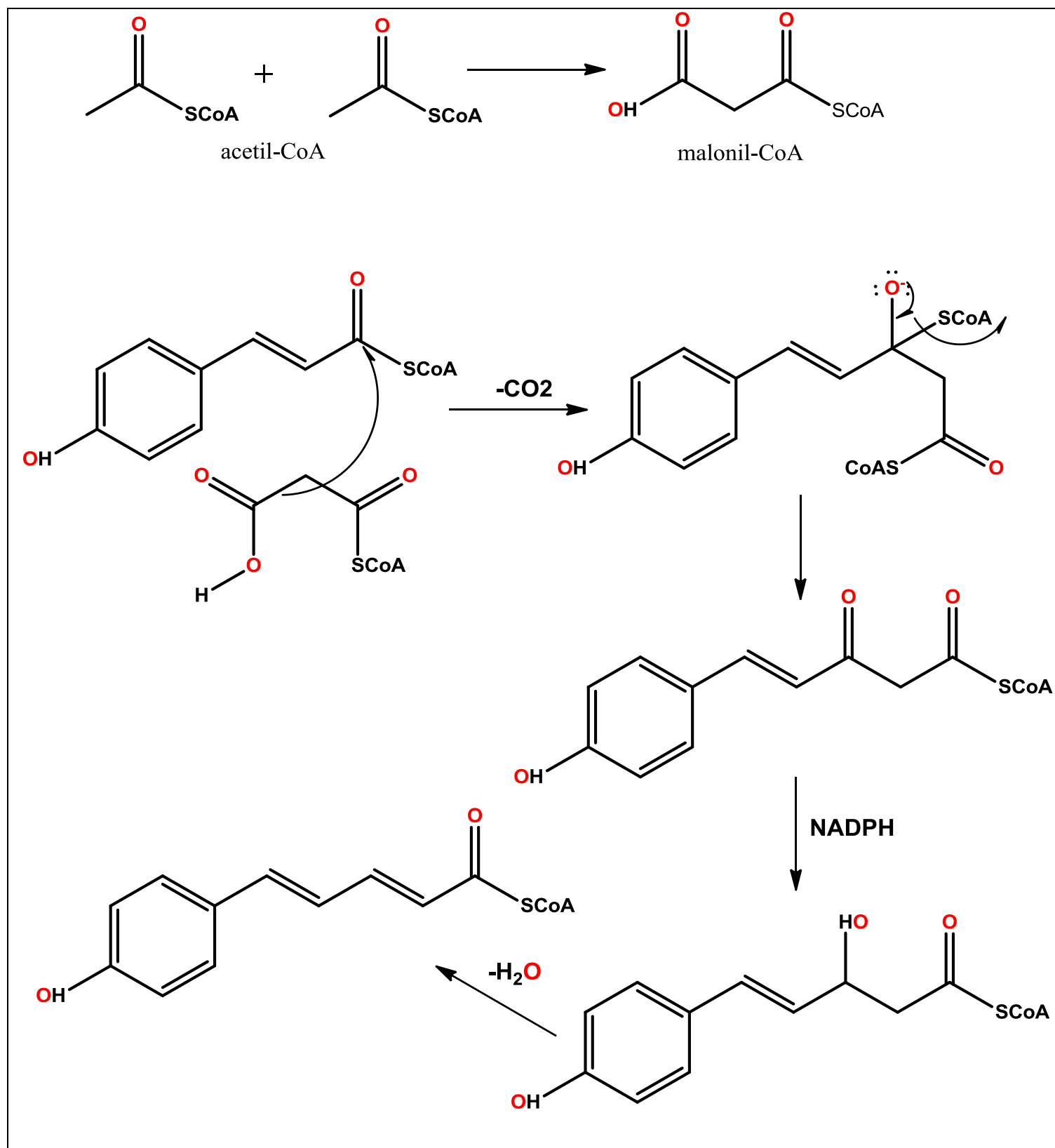
Figura 6: Proposta da biossíntese de precursores dos fenilpropanoides em *Piper* (DEWICK, 2009).



Fonte: Própria.

O alongamento da cadeia lateral se dá mediante a ativação dos derivados hidroxicinâmicos que se unem a moléculas de acetato livre através da ação de enzimas ligases e transferases (Figura 7, pág. 41), servindo de intermediário na biossíntese de vários metabólitos secundários. A formação da unidade malonil-CoA, alonga a cadeia mediante enzimas poliaacetil sintase (PKSs), enzima responsável por catalisar reações de hidrólise e descarboxilação (DEWICK, 2009).

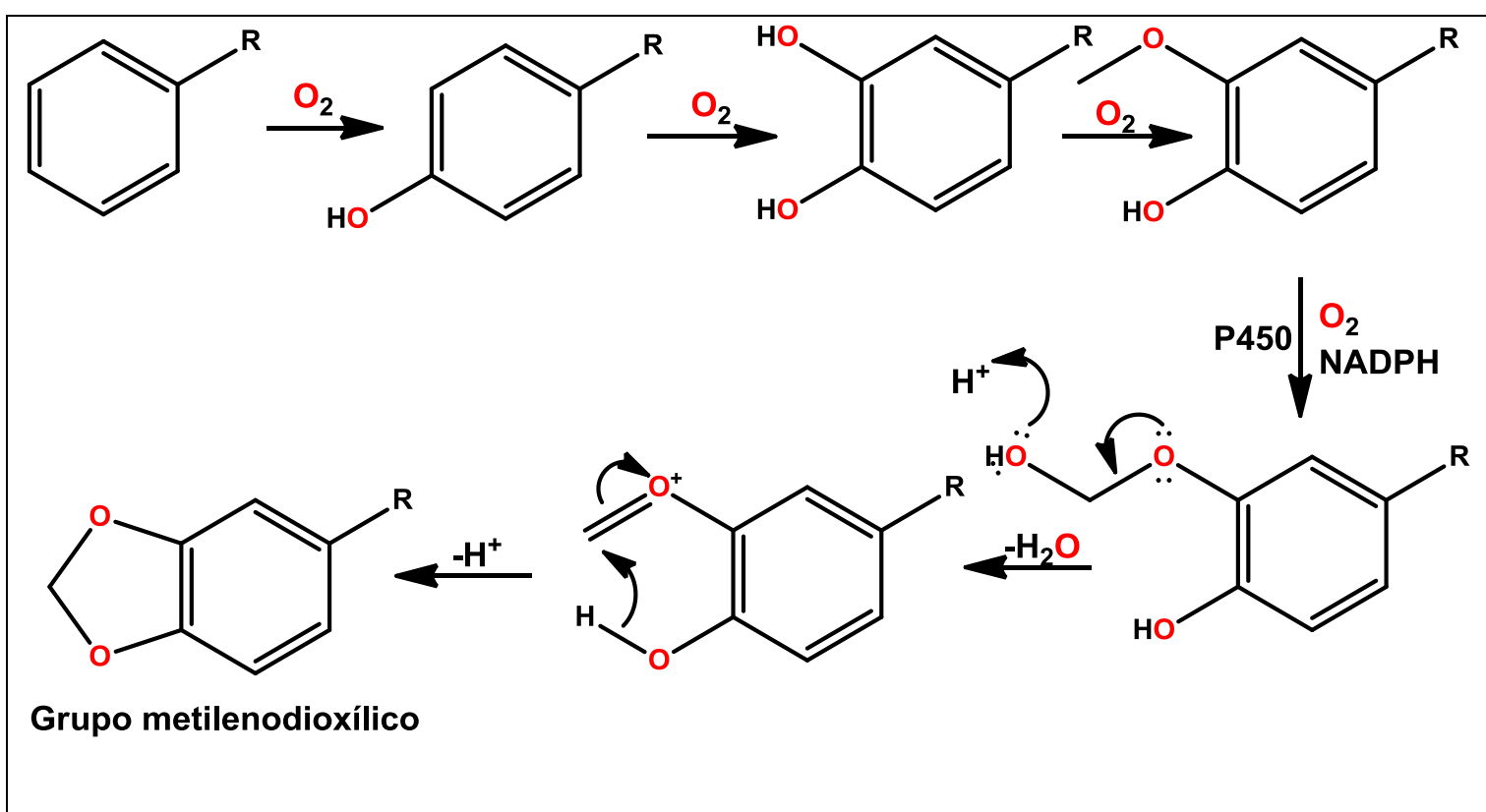
Figura 7: Ativação dos derivados do ácido cinâmico em derivados tioéster (DEWICK, 2009).



Fonte: Própria.

A formação do grupamento metilenodioxílico (Figura 8), comum em nas piperamidas, se dá pela interação da metoxila com a hidroxila vicinal, através da ação de duas enzimas: a S-adenosilmetionina com a utilização de NADPH em conjunto com O_2 , e a monoxigenase do citocromo P450 (LOBO e LOURENÇO, 2007). A enzima citocromo P450 age primeiro hidroxilando o grupamento metoxila formando um intermediário hemiacetal, e esse posteriormente forma uma ponte metilenodioxi, ciclizando esta parte da molécula (DEWICK, 2009).

Figura 8: Formação do grupamento metilenodioxílico (DEWICK, 2009).

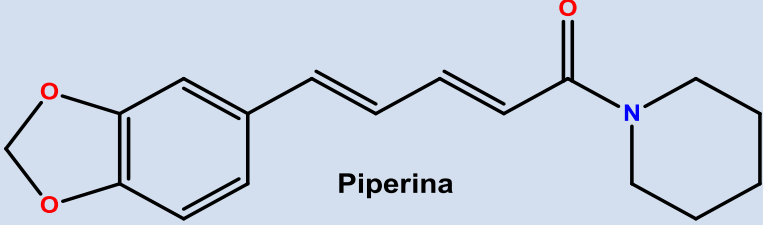
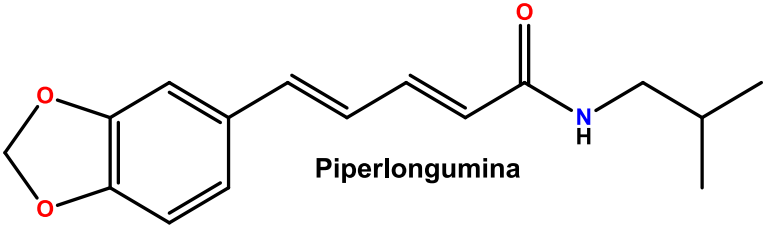
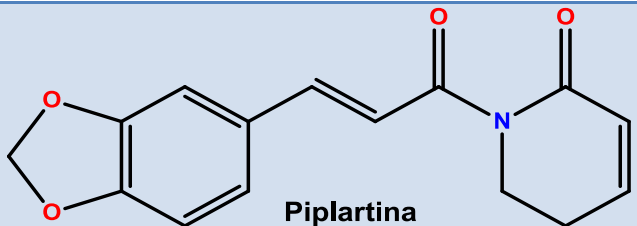


Fonte: Própria.

A formação da porção amídica se dá através da formação do anel pirrolidínico, partindo da ornitina o qual depende da ação da coenzima piridoxal fosfato (PLP). A ornitina acopla com o PLP, e em seguida sofre uma perda de CO_2 por um mecanismo concertado, através da captação de um próton (Figura 9, pág. 45). Em seguida ocorre uma hidrólise da base de Schiff gerando dois produtos, a putrescina, e o piridoxal fosfato. A putrescina por sua vez sofre uma desaminação oxidativa, sendo formado o aldeído. Com isso tem-se a formação da base de Schiff, que posteriormente sofre uma redução, dando origem ao anel pirrolidínico. Essa rota podem gerar tanto as alcamidas pirrolidínicas, como também as isobutílicas e outros derivados de alcamidas.

Dentre as amidas já relatadas no gênero *Piper*, é possível notar algumas semelhanças em suas estruturas, podendo ser classificadas como: piperidínicas, isobutílicas, piridonidas e pirrolidínicas (Quadro 2).

Quadro 2: Amidas isoladas de *Piper*.

Classe	Estrutura	Referência
Piperidínica	 Piperina	FERREIRA et al., 2012
Isobutílica	 Piperlongumina	MARQUES, 2009
Piridônica	 Piplartina	DODSON et al., 2000

Continuação do Quadro 2.

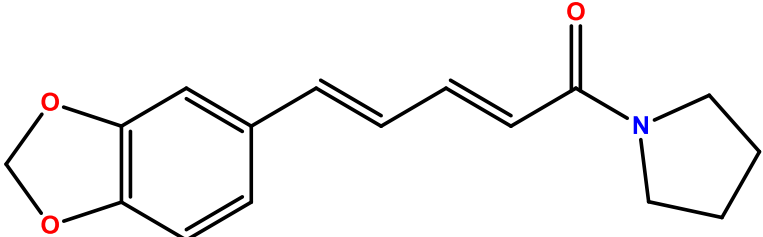
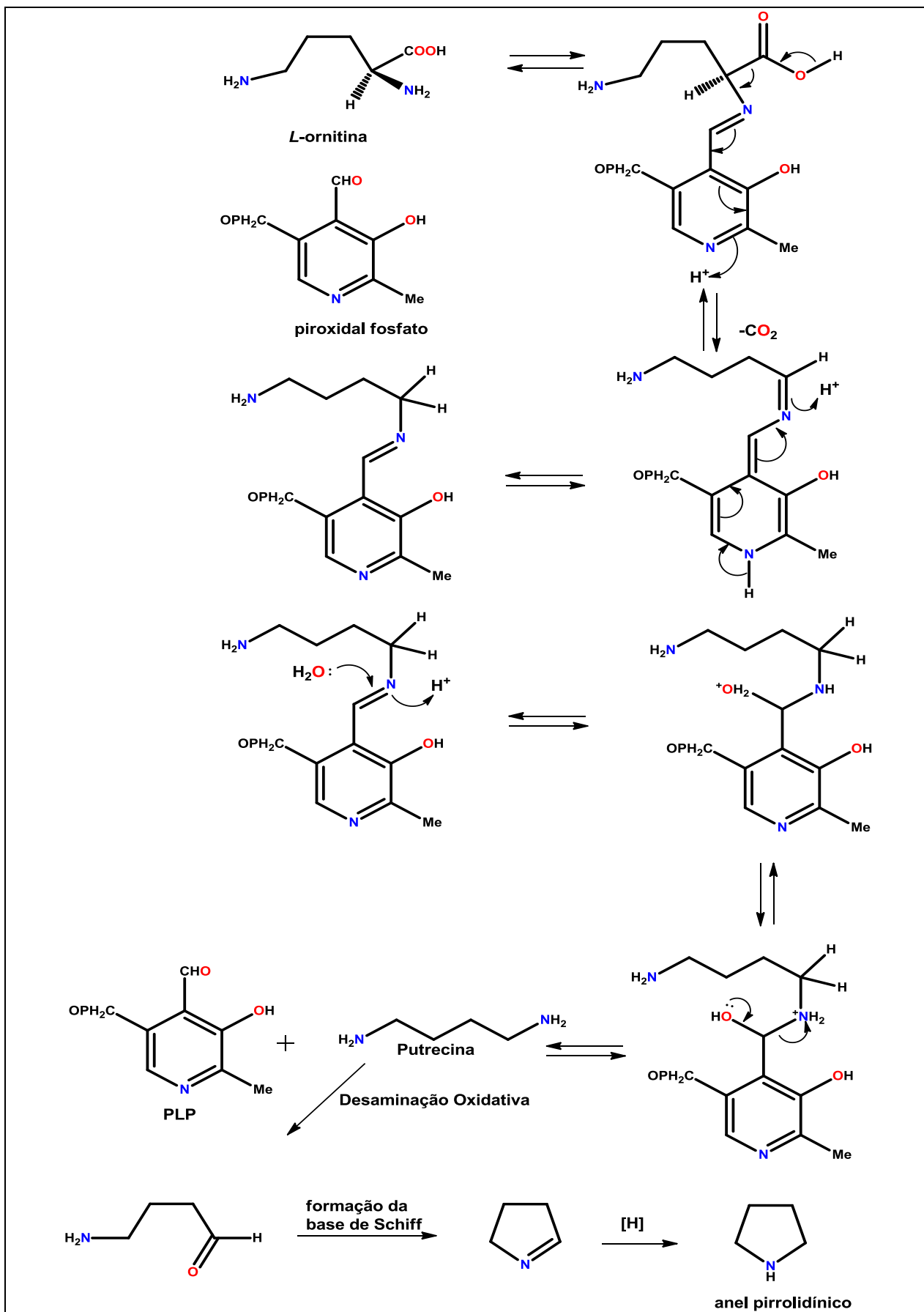
Pirrolidina	 N-[10-(13,14-Metilenodioxifenil)-7(E), 9(E)-pentadienoil]-pirrolidina)	SILVA et al., 2002
-------------	---	-----------------------

Figura 9: Formação do anel pirrolidínico em Piper.



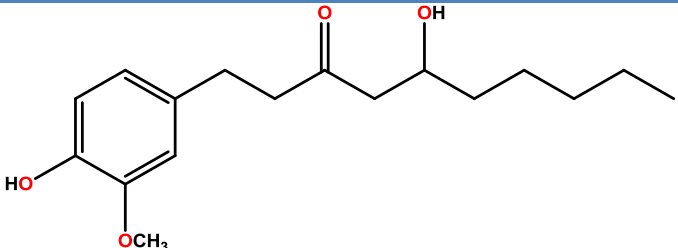
Fonte: Própria.

3.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE FENILPROPANOIDES

Os fenilpropanoides são uma importante classe encontrada no gênero *Piper*. Esses compostos derivam do ácido chiquímico (Navarro, 2009), que é formado através de uma condensação aldólica do fosfoenolpiruvato com uma molécula de eritrose 4-fosfato (Nicareta, 2006; Costa 2015). A via do ácido chiquímico leva a formação de três aminoácidos importantes: L-tirosina, L-triptofano e L-fenilalanina, esta ultima após sofrer uma perda do grupo amino, leva a formação do ácido cinâmico (Figura 10, pág. 48) (Herrmann & Weaver, 1999; Navarro, 2009; Costa, 2015). O ácido cinâmico por sua vez dá origem aos fenilpropanoides com reações de hidroxilação e metilação (Costa 2003).

Essa classe de compostos, embora seja comum a presença em diversos gêneros, constituem uma importante classe de substâncias, por apresentar várias atividades na área farmacológica (Tabela 2), das quais podemos citar, atividade antimicrobiana de fenilpropanoides isolados de *Piper sarmentosum* (MASUDA, et al., 1991), atividade larvicida frente as espécies *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Culex quinquefasciatus*, de fenilpropanoides obtidos também de *Piper sarmentosum* (HEMATPOOR, et al., 2016), atividade antiplaquetária com fenilpropanoides isolados de *Piper taiwanense* (CHEN, et al., 2013), atividade antioxidante com fenilpropanoides isolados de *Piper retrofractum* (LUYEN, et al., 2014), atividade inibitória da acetilcolinesterase frente ao óleo essencial de espécies de *Piper* com fenilpropanoides (XIANG, et al., 2017), dentre outras. No gênero *Piper* é comum encontrar esses metabólitos, sendo isolado o 1-(1-Z-propenil)-2,4,6-trimetoxibenzeno e o ácido 3-farnesil-4-hidroxibenzoico (CHAVES & SANTOS, 2002), Croweacin (SANTOS, et al., 1997) e o isolamento do 2,4,5-Trimetoxipropilfenona (SANTOS & CHAVES, 1999), todos obtidos de *P. marginatum*.

Tabela 2: Ácidos fenólicos isolados em *Piper mollicomum*.

Estrutura/Nome	Atividade relacionada	Referência
 Sesquifelandreno	Atividade antinociceptiva	Souza, 2014

Continuação da Tabela 2.

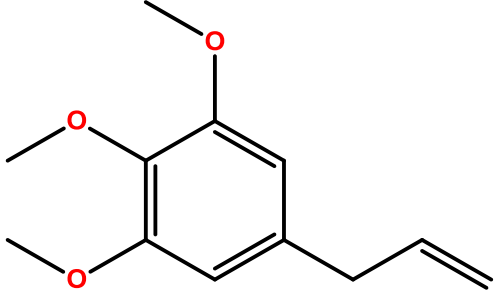
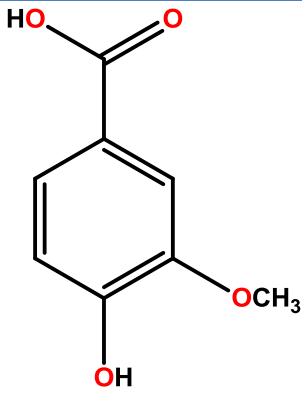
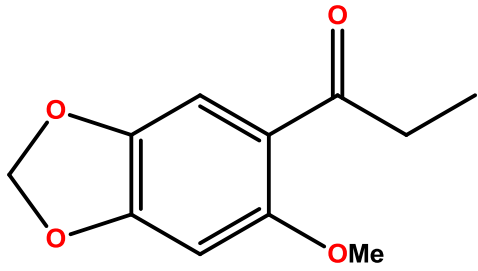
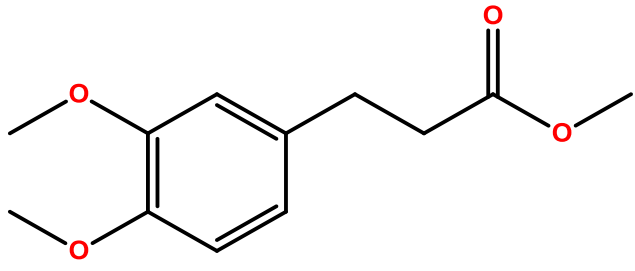
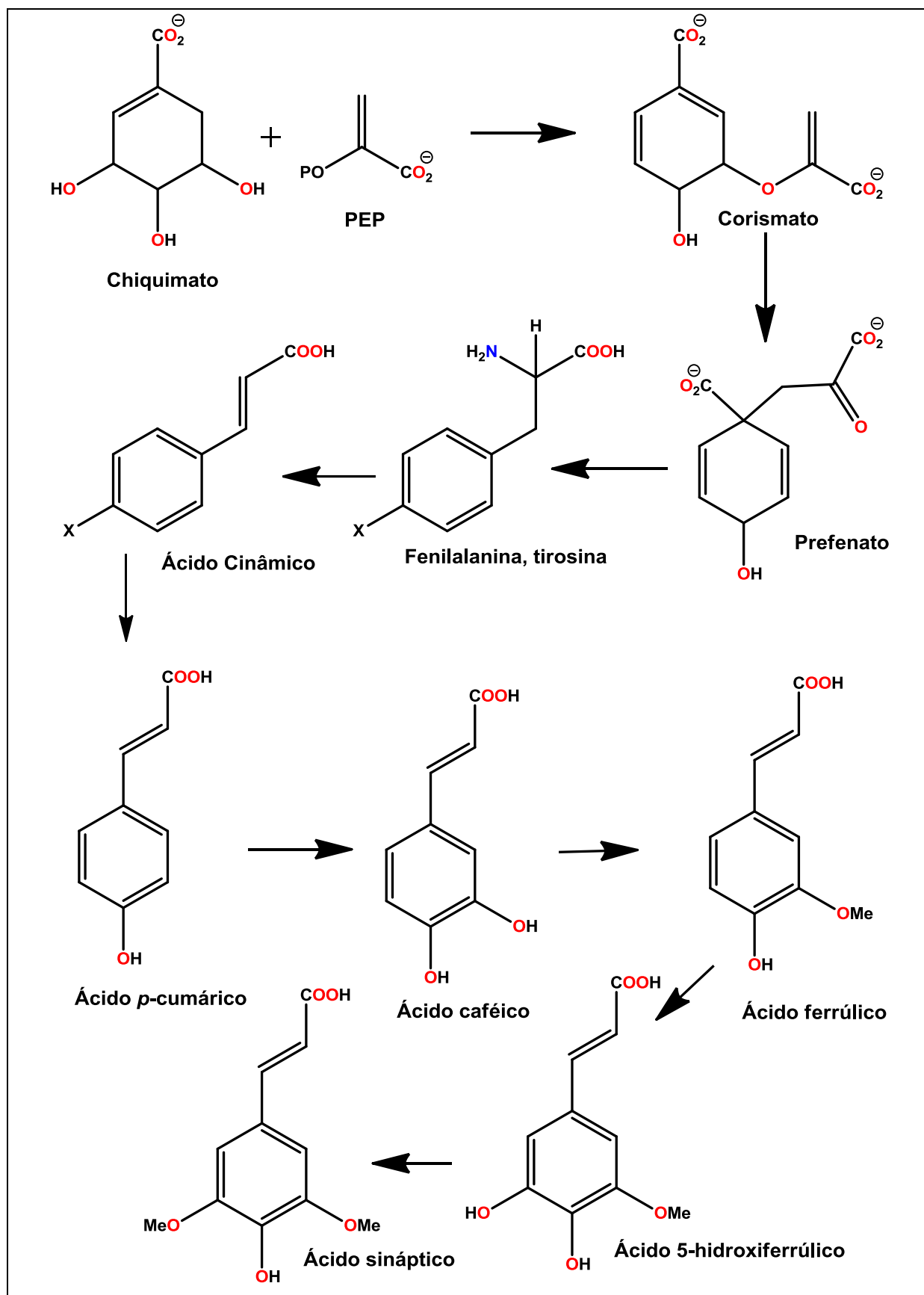
 Elemicin	Atividade antinociceptiva Souza, 2014
 Ácido Vanílico	Antibacteriana e antifúngica -Escherichia coli -Staphylococcus aureus - Pseudomonas aeruginosa -Candida albicans -Candida krusei -Candida tropicalis
 2-metoxi-4,5-metilenodioxipropilfenona	Sem atividade relacionada Jardim, 2012
 Benzenepropanoic acid, 3,4-dimethoxy-, methyl ester	Citotoxicidade seletiva contra células de carcinoma bucal Macedo, 2019

Figura 10: Biossíntese de fenilpropanoides.



Fonte: Adaptado de Costa, 2015.

3.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE *PIPER MOLLICOMUM* KUNNTH

A espécie *Piper mollicomum* Kunth, conhecida popularmente como jaborandi-manso, ou apenas jaborandi (Figura 11, pág. 50), se apresenta na forma de arbusto medindo até 3 m de altura, com ramos pubescentes e folhas com perfil formando um capuz. Possuem espigas isoladas medindo entre 7 – 10 cm, curvada (BARDELLI, KIRIZAWA & SOUZA, 2008) e são bastante encontradas no Brasil, principalmente nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais, Santa Catarina, Ceará, Goiás, Mato Grosso, Pernambuco e Paraíba (GUIMARÃES & GIORDANO, 2004). Seus frutos são utilizados na medicina popular no tratamento contra problemas estomacais, e suas raízes quando mastigadas são utilizadas para obtenção de efeito anestésico (PECKOLT & PECKOLT, 1888).

Estudos com esta espécie demonstraram atividade antifúngica de 3 flavonoides **(a)** 6'-di-hidroxi-4'-metoxidihidrochalcona; **(b)** 7-metoxi-5,4'-di-hidroxi-flavanona e **(c)** 7,4'-dimetoxi-5-hidroxi-flavanona) e 4 cumarinas **(a)** metilo 2,2-dimetil-2H -cromeno-6-carboxilato; **(b)** como 8-hidroxi-2,2-dimetil- 2H -cromeno-6-carboxilato de metilo; **(c)** 2-metil-2- [4'-metil-3'-pentenil] - 2H -1-benzopiran-6 -ácido carboxílico e **(d)** 2,2-dimetil- 2H ácido cromeno-6-carboxílico) frente duas espécies de fungos, sendo elas *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* (Lago, et al., 2007), além disso foram relatadas atividade citotóxica seletiva contra células cancerígenas (Macedo, et al., 2019), demonstrando a importância dos metabólitos secundários não apenas desta espécie como do seu gênero.

Figura 11: *Piper mollicomum* Kunth.



Fonte: http://webdrm.cpqba.unicamp.br/cpma/banco_de_dados.

<Acessado em 6/12/2018>

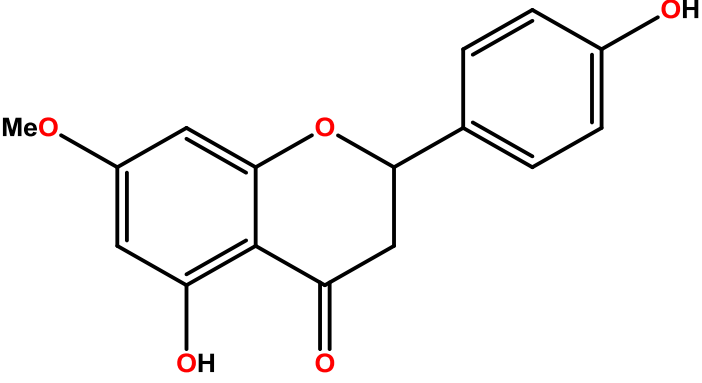
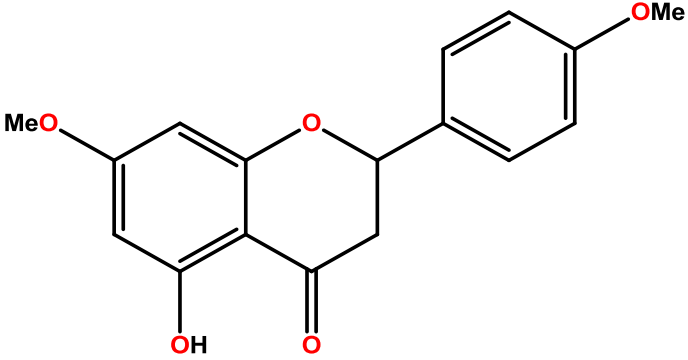
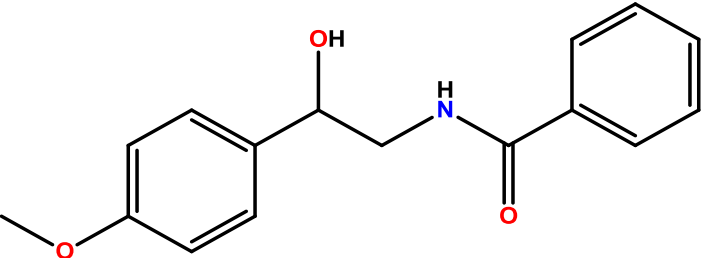
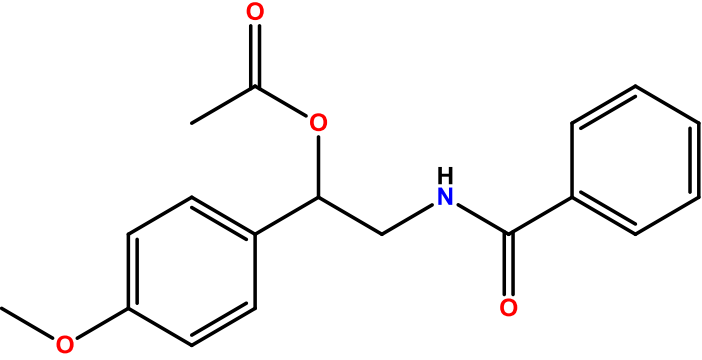
3.7 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS EM *PIPER MOLLICOMUM* KUNTH

Na espécie *Piper mollicomum* Kunth, já foram isolados diversos metabólitos secundários, tais como: Flavonoides (Lago, 2007), alcanidas (Silva, 2018; Pinto, 2012), fenilpropanoides (Souza, 2014; Pinto, 2012), cromonas (Silva, 2018) e aristolactamas (Pinto, 2012) (Tabela 3).

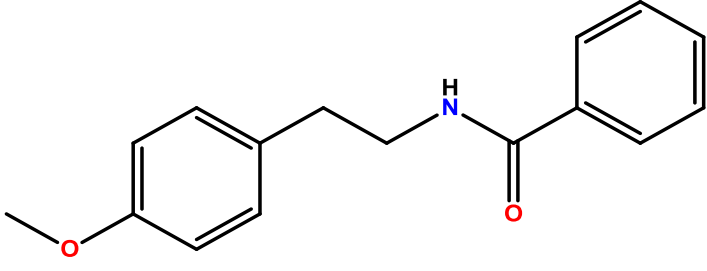
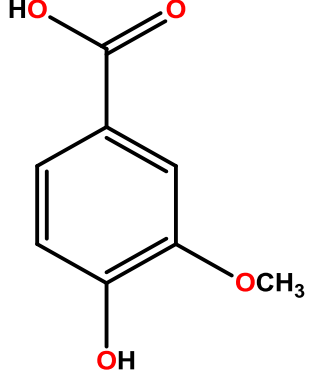
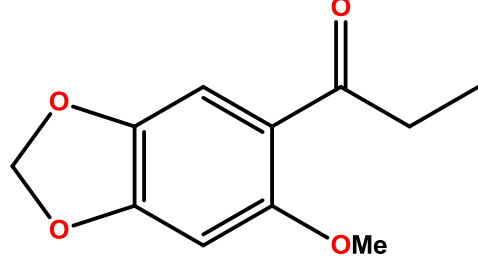
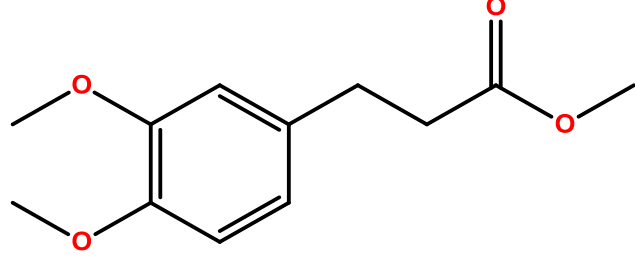
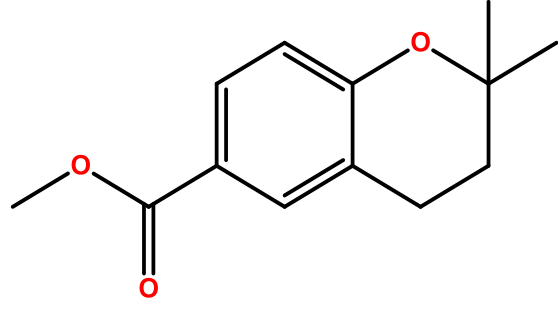
Tabela 3: Substâncias isoladas na espécie *Piper mollicomum* Kunt.

Estrutura	Nome da substância	Referência
	2',6'-dihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone	Lago, 2007

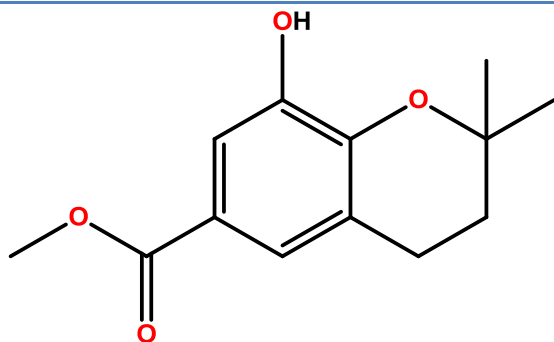
Continuação da Tabela 3.

	7-methoxy-5,4'- dihydroxy-flavanone	Lago, 2007
	7,4'-dimethoxy-5- hydroxy-flavanone	Lago, 2007
	Tembamida	Silva, 2018
	(R)-(-)-tembamida acetato	Silva, 2018

Continuação da Tabela 3.

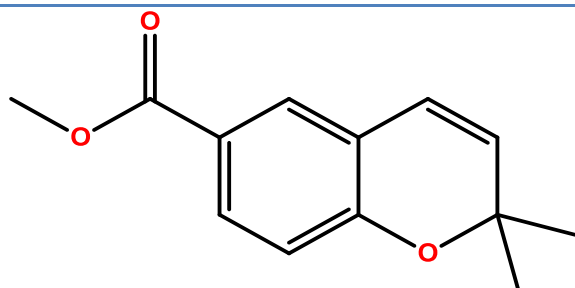
	Ripina I	Silva, 2018
	Ácido Vanílico	Pinto, 2012
	2-metoxi-4,5-metilenodioxipropilfenona	Jardim, 2012
	Benzenepropanoic acid, 3,4-dimethoxy-, methyl ester	Macedo, 2019
	Methyl 2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylate	Macedo, 2019

Continuação da Tabela 3.



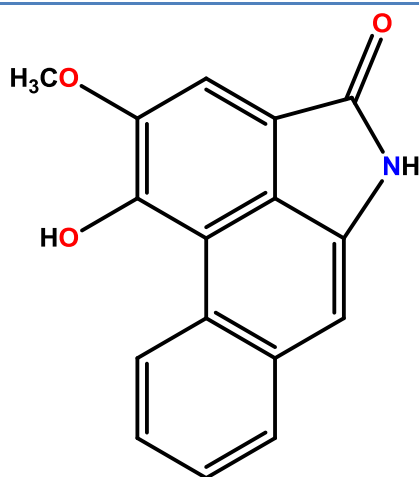
Methyl 8-hydroxy-2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylate

Macedo, 2019



metil 2,2-dimetil-2H-cromona-6-carboxilato

Silva, 2018



Piperolactama A

Pinto, 2012

Materiais e *Métodos*

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

O levantamento bibliográfico tanto da espécie *Piper mollicomum* Kunth como do gênero *Piper* e da família Piperaceae foi realizado, no decorrer de todo o desenvolvimento do projeto, utilizando bancos de dados e revistas como o Chemical Abstracts, Biological Abstracts, através de anais de eventos nacionais e internacionais, Portal periódicos CAPES, SciFinder, além de outras fontes.

4.1.2 MATERIAL VEGETAL: COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

As raízes de *Piper mollicomum* Kunth foram coletadas horto da Universidade Federal da Paraíba, (latitude-7,1372/longitude-34,8452) no campus I João Pessoa-PB, em outubro de 2016, e a identificação botânica da espécie foi realizada pela Professora Doutora Maria de Fátima Agra, sendo uma exsicata depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier (CCEN/UFPB) sob o número *MF Agra* 7228 (JPB).

4.1.3 MATERIAIS UTILIZADOS PARA OS MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

- **Cromatografia de Adsorção:** Na cromatografia de adsorção utilizou gel de sílica 60 da Merck (Partículas entre 70-230 μm) e Amberlite XAD-2 (partículas entre 20-60 mesh). O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e as quantidades de gel de sílica utilizadas. As cromatografias de camada delgada (CCD), utilizou-se cromatoplaquetas de gel de sílica 60 ($\emptyset$ μm 2-25) sobre alumínio, da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm). A revelação das substâncias nas cromatoplaquetas analíticas foi obtida por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm) e/ou por aspersão com solução de Dragendorff, específico para compostos nitrogenados e reveladores universais como *p*-anisaldeído e Cerium molybdate, seguido de aquecimento em pistola de ar quente a 98° C por aproximadamente 2 minutos.

- **Cromatografia de exclusão:** O fracionamento por cromatografia de exclusão foi realizado em gel de dextrana Sephadex LH-20, utilizando como solvente o metanol grau P.A.
- **Extração em Fase Sólida:** As extrações foram realizadas em cartuchos de fase reversa (C-18) de 50 g, fabricados pela Phenomenex. O uso dos cartuchos após ativação do adsorvente com metanol, era acondicionado com a fase móvel inicial, utilizando alíquotas equivalentes a três vezes o volume do cartucho.

4.1.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS POR MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS E ESPECTROSCÓPICOS

A elucidação das substâncias isoladas de *Piper mollicomum* Kunth foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas de Infra Vermelho e espectroscopia Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (COSY, HMQC e HMBC), e comparações com modelos obtidos na literatura.

- **Espectroscopia na região do infravermelho (IV):** Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro aparelho PerkinElmer, FT-IR-1750, localizado no IPeFarM campus I da UFPB, utilizando-se aproximadamente 1 mg de amostra em pastilhas de KBr, com frequência medida em cm^{-1} .

- **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de Carbono-13 (RMN ^{13}C):** Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram realizados em parceria com o Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN-UFC), localizado Universidade Federal do Ceará, os espectros tanto uni quanto bidimensionais, foram obtidos utilizando espectrômetros da Bruker, modelos Avance DRX-500 e DPX-300. Foram aplicadas frequências de 500,13 MHz (^1H) e 125,75 MHz (^{13}C), sob um campo magnético de 11,7 T, e 300,13 MHz (^1H) e 75,47 MHz (^{13}C), sob um campo magnético de 7,05 T.

Por convenção os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de prótio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não-deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ 7,27), metanol (δ 3,31) e água (δ 4,80). Nos espectros de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos centrais dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ 77,23), metanol (δ 49,15) e água (δ 4,80).

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (singleto), d (dubleto), t (triplete), sep (septeto) e m (multiplete).

- **Ponto de Fusão:** Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho da FISATOM (Modelo 431D), com termômetro que afere na faixa de 50 a 300 ° C.

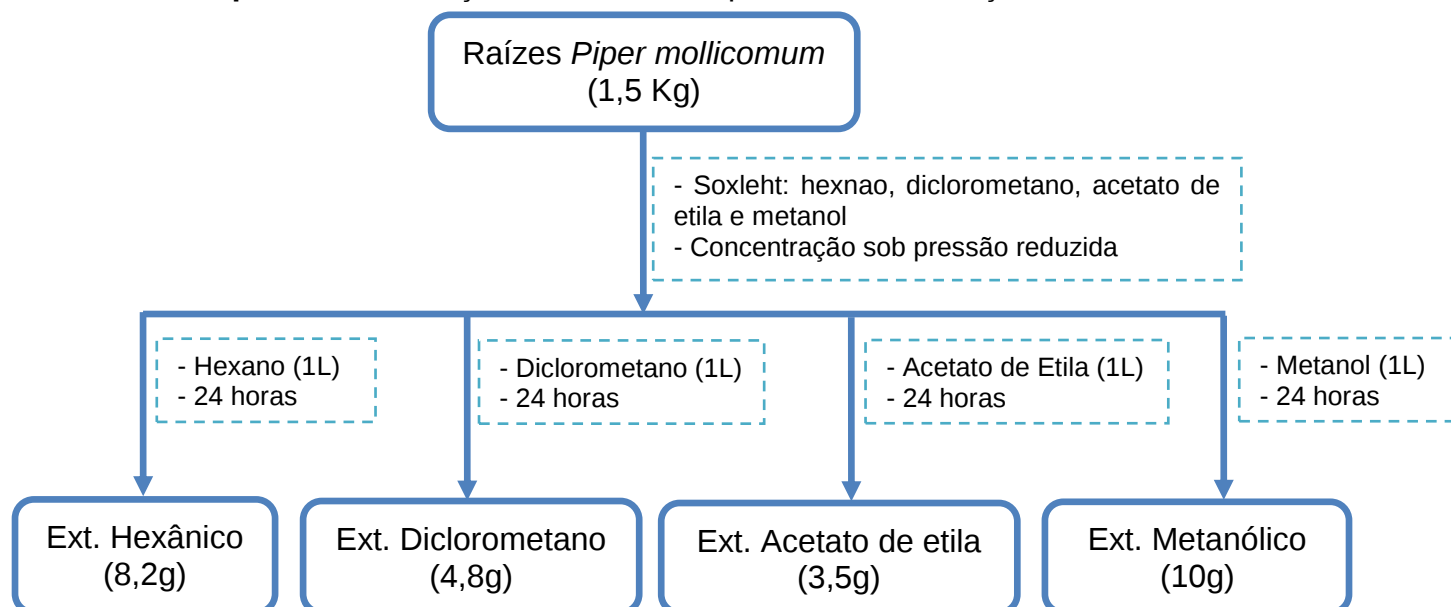
4.2. PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO

4.2.1 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL RAÍZES DE *PIPER MOLLICOMUM* KUNTH

Após a coleta das raízes de *Piper mollicomum*, o material vegetal foi submetido a um processo de desidratação em estufa de ar circulante a uma temperatura de aproximadamente 40°C por um período de 72 horas, sendo submetida posteriormente a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se assim um pó fino (1500 g). Em seguida o pó foi submetido a um processo de extração em soxhlet utilizando como líquido extrator hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol respectivamente, até completa exaustão do material.

Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida acoplado ao banho maria, cuja temperatura não excedeu os 40 °C, obtendo-se seus respectivos extratos: hexânico, diclorometano, acetato de etila e metanólico (Esquema 1).

Esquema 1: Obtenção dos extratos e processo de extração.



4.2.2 PURIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO EXTRATO METANÓLICO DAS RAÍZES DE *PIPER MOLLICOMUM*

Após a extração em aparelho de Soxleht, o extrato metanólico obtido (10g) foi submetido a uma cromatografia em coluna (CC) utilizando XAD-2 como fase estacionária. Como fase móvel foram utilizadas água milli-Q, metanol, acetato de etila, acetona e hexano, seguindo a ordem e quantidades descritas no (Quadro 3).

Quadro 3: Procedimento cromatográfico utilizado no XAD-2.

Sistema de eluição	Peso (g)
H ₂ O	2,8
H ₂ O(50%): (50%)MeOH	1,6
MeOH	4,3
Hexano	0,215
Acetona	0,268
Acetato de Etila	0,023

- Isolamento das substâncias codificadas com Pm-1 e Pm-2

A fração metanólica (4,3g, Quadro 3) foi submetida a uma cromatografia em coluna com sephadex LH-20 como fase estacionária e MeOH como eluente, obtendo 69 frações (Quadro 4, pág. 59), das quais foram reunidas segundo semelhança em análise com CCDA (Cromatografia em Camada Delgada Analítica) (Quadro 4). A fração codificada como Fr 04 se apresentou na forma de uma mistura mediante análise no ultra violeta. Essa fração foi submetida a uma cromatografia em placa CCDP (Cromatografia em Camada Delgada Preparativa), utilizando placas Merk com sistema de eluição Hex:AcOET numa proporção de 70:30% respectivamente, onde foram eluídas por 3 vezes. Em seguida foi realizada análise em lâmpada UV e delimitadas as regiões de cortes, sendo realizada a raspagem e solubilização em clorofórmio, sendo posteriormente filtradas e concentradas, gerando 2 frações com um bom grau de pureza, codificadas de Pm-1 e Pm-2 (Esquema 2, pág. 62). Essas substâncias foram encaminhadas para análises espectroscópicas.

Quadro 4: Processamento cromatográfico da fração MeOH em sephadex LH-20, das raízes de *Piper mollicomum*.

Eluente	Frações obtidas	Frações pós reunidas
MeOH	1-11	Fr 1
	12-17	Fr 2
	18-29	Fr 3
	30-36	Fr 4
	37-42	Fr 5
	43-49	Fr 6
	50-54	Fr 7
	54-59	Fr 8
	60-65	Fr 9
	66-69	Fr10

- Isolamento da substância codificadas com Pm-3

A fração hexânica (0,215 mg, Quadro 5, pág. 60) foi submetida a uma cromatografia em coluna com sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 nm, 230-400 mesh) como fase estacionária e Hexano e Acetato de Etila em solução com ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 26 frações das quais foram reunidas segundo semelhança em análise com CCDA (Quadro 5). A fr 2 foi submetida novamente a uma cromatografia em coluna com sílica gel repetindo o mesmo procedimento descrito acima (Quadro 6, pág. 60), onde foram obtidas 32 frações, onde a Fr 2 apresentou um bom grau de pureza, sendo encaminhada para as análises espectroscópicas sob o código Pm-3 (Esquema 3, pág. 63).

Quadro 5: Processamento cromatográfico da fração Hexânica coluna 3, em sílica gel 60 (Merck), das raízes de *Piper mollicomum*.

Eluente	Frações obtidas	Frações pós reunidas
Hexano	-	-
Hexano-AcOEt (9:1)	1-2	Fr 1
Hexano-AcOEt (8:2)	3-5	Fr 2
Hexano-AcOEt (7:3)	6-9	Fr 3
Hexano-AcOEt (6:4)	10-12	Fr 4
Hexano-AcOEt (1:1)	13-14	Fr 5
Hexano-AcOEt (4:6)	15-18	Fr 6
Hexano-AcOEt (3:7)	19-20	Fr 7
Hexano-AcOEt (2:8)	21-23	Fr 8
Hexano-AcOEt (9:1)	24-25	Fr 9
Aceta do Etila	26	Fr 10

Quadro 6: Processamento cromatográfico da Fr 2 da Ffração Hexânica coluna 4, em sílica gel 60 (Merck), das raízes de *Piper mollicomum*.

Eluente	Frações obtidas	Frações pós reunidas
Hexano	1	Fr 1
Hexano-AcOEt (9:1)	2-4	Fr 2
Hexano-AcOEt (8:2)	5-7	Fr 3
Hexano-AcOEt (7:3)	8-9	Fr 4
Hexano-AcOEt (6:4)	10	Fr 5
Hexano-AcOEt (1:1)	11-15	Fr 6
Hexano-AcOEt (4:6)	16-19	Fr 7
Hexano-AcOEt (3:7)	20-21	Fr 8

Hexano-AcOEt (2:8)	22-24	Fr 9
Hexano-AcOEt (9:1)	25-26	Fr 10
Aceta do Etila	27-30	Fr 11
	31-32	Fr 12

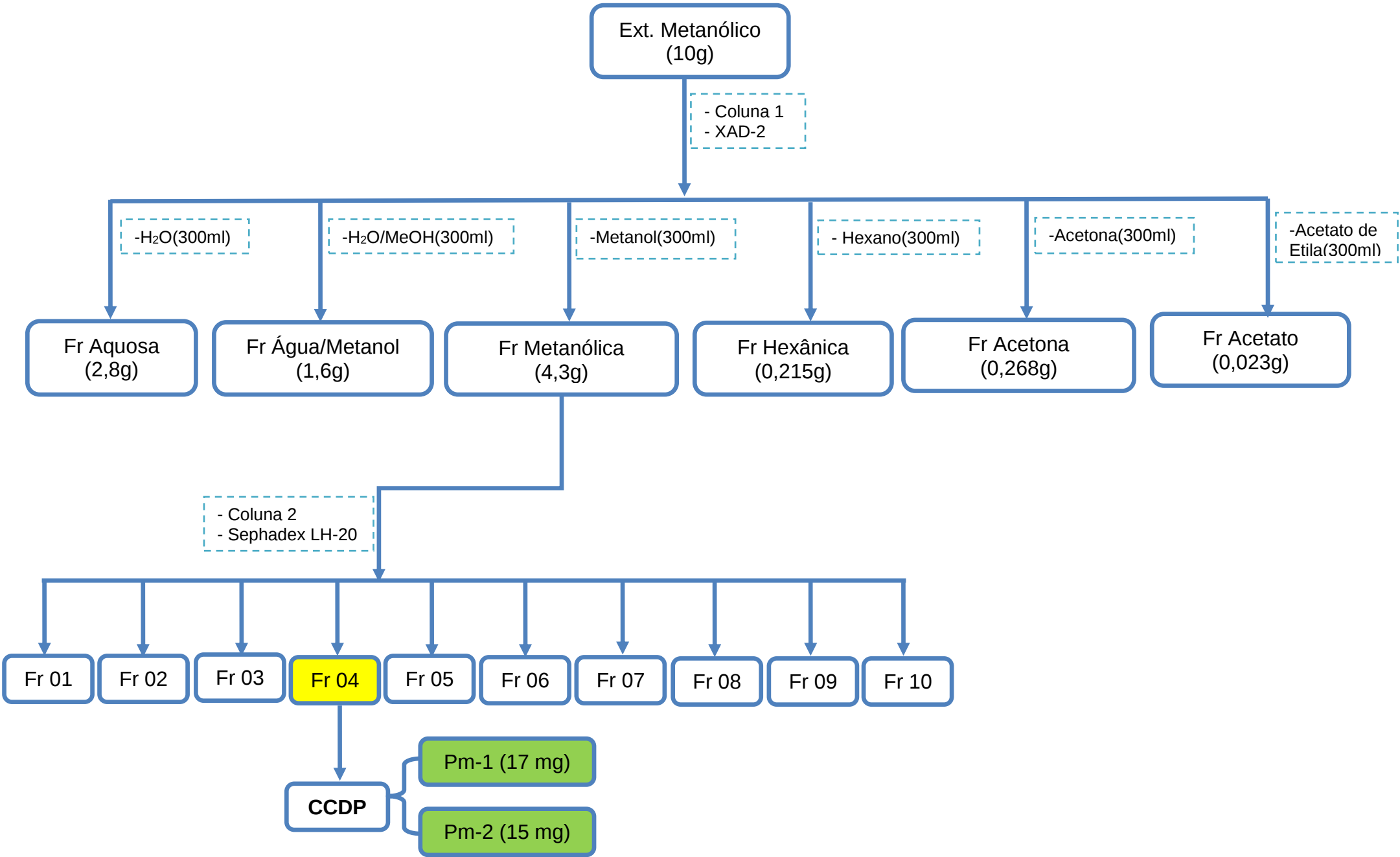
- Isolamento da substância codificadas com Pm-4

A fração Acetona (268 mg, Quadro 3, pág. 58) foi submetida a uma cromatografia em coluna com sephadex LH-20, com MeOH como eluente, onde foram obtidas 14 frações (Quadro 7), das quais as frações 8, 9 e 10 apresentaram o mesmo RF (Fator de retenção) com um bom grau de pureza, sendo reunidas e codificadas como Pm-4 (Esquema 4, pág. 64). Em seguida foram enviadas para análise espectroscópicas.

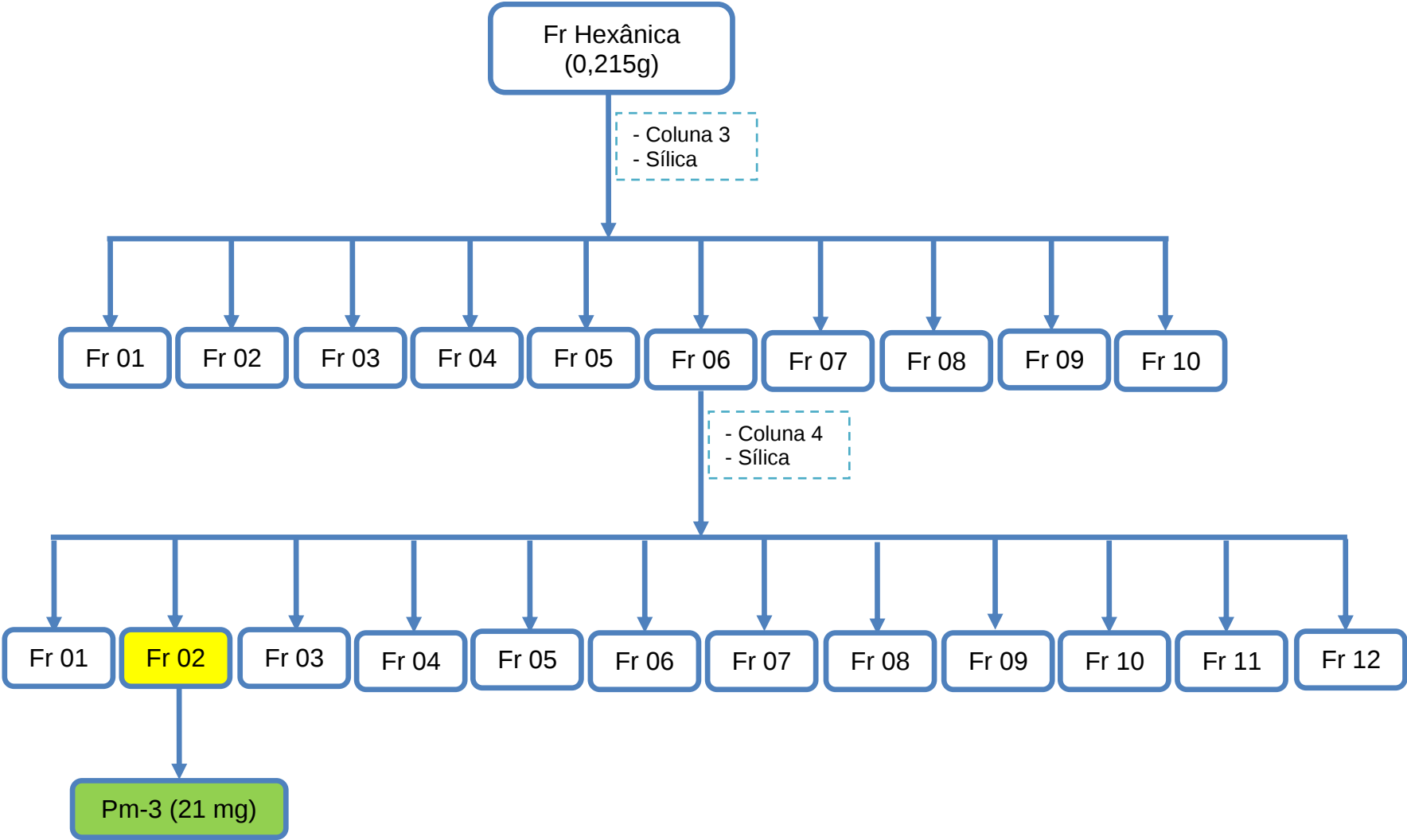
Quadro 7: Processamento cromatográfico da fração Acetona em sephadex LH-20, das raízes de *Piper mollicomum*.

Eluente	Frações obtidas	Frações pós reunidas
MeOH	1	Fr 1
	2-3	Fr 2
	4	Fr 3
	5	Fr 4
	6-7	Fr 5
	8	Fr 6
	9-11	Fr 7
	12	Fr 8
	13	Fr 9
	14	Fr10

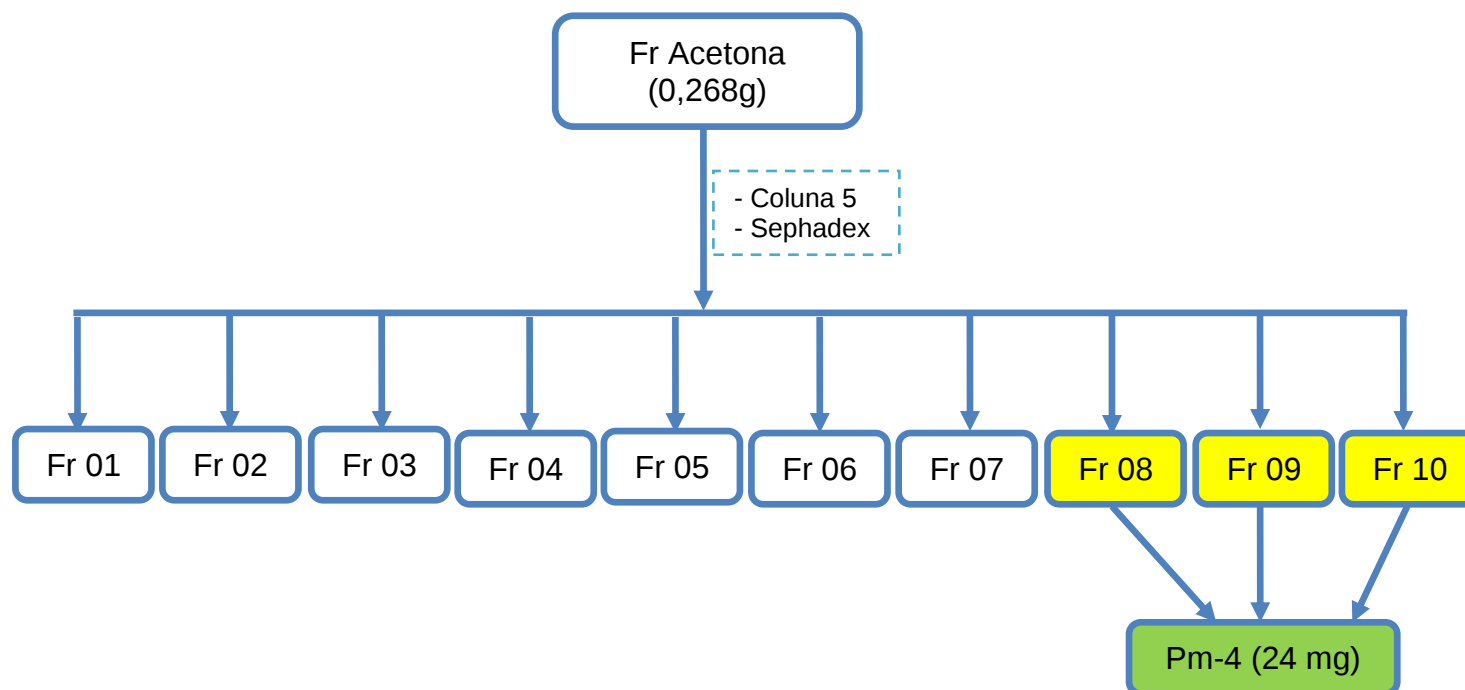
Esquema 2: Fracionamento cromatográfico da fração metanólica.



Esquema 3: Fracionamento cromatográfico da fração Hexânica.



Esquema 4: Fracionamento cromatográfico da fração Acetona.



4.3 AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS RAÍZES DE *PIPER MOLLIKOMUM* KUNTH

Esses experimentos foram realizados no LabETox (Laboratório de Ensaios Toxicológicos Clínicos e Não-clínicos) localizado no IPeFarM, sob co-orientação da Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessoa.

4.3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para a realização dos testes antibacterianos preparou-se uma solução com 10 mg/mL de cada uma das quatro substâncias utilizando-se uma solução de DMSO 5% e Tween® em água destilada.

4.3.2 ESPÉCIES BACTERIANAS UTILIZADAS

Foram avaliadas tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas oriundas da American Type Culture Collection (ATCC), Coleção de Culturas Tropicais (CCT) e de origem clínica, sendo elas:

- *Bacillus subtilis* CCT 0516
- *Escherichia coli* 13
- *Escherichia coli* ATCC 2536
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027
- *Pseudomonas aeruginosa* 102
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25925
- *Staphylococcus aureus* 47
- *Streptococcus mutans* ATCC 25175

4.3.3 MEIO DE CULTURA UTILIZADO NAS ANÁLISES

As bactérias foram cultivadas em meio constituído por: extrato de levedura (HIMEDIA) 5 g, peptona (MERCK) 10 g, NaCl (MERCK) 5 g, KH₂PO₄ (MERCK) 1,5 g; NaHPO₄.12 H₂O (MERCK) 9 g solubilizados em 1 L de água destilada e esterilizados em autoclave, a 121 °C, 1 atm, por 20 minutos.

4.3.4 PREPARAÇÃO DO INÓCULO BACTERIANO

As bactérias foram inoculadas em meio de cultura estéril e incubados a 37 °C durante 24 h. A suspensão bacteriana para a realização dos testes foi ajustada de acordo com o padrão 0,5 da escala de McFarland, contendo $1-5 \times 10^8$ UFC/mL (HADACEK; GREGER, 2000).

4.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

4.4.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A determinação da CIM foi realizada por meio da técnica de microdiluição, utilizando-se placas de 96 poços para cada uma das cepas testadas, conforme descrito por Gerhardt et al. (1994). Para isso, distribuiu-se 100 µL do meio de cultura em todos os poços, exceto os da 1ª e 2ª coluna que receberam 170 µL. Posteriormente, adicionou-se 30 µL da solução a 10 mg/mL de cada uma das substâncias aos poços da 1ª e 2ª coluna. A partir da 2ª coluna se deu a diluição seriada a metade, obtendo-se as concentrações finais de 300; 150; 75; 32,5; 16,2 e 8,1; 4,0 e 2,0 µg/mL para cada uma das substâncias testadas. O volume foi completado com 100 µL da cultura bacteriana perfazendo o volume final de 200 µL.

As placas foram incubadas a 37°C por 24 h e a inibição do crescimento bacteriano foi confirmada com a adição de 20 µL de uma solução 0,01% (p/v) de resazurina sódica (SIGMA), um indicador colorimétrico de atividade metabólica.

Foi considerada como CIM para os produtos testados a menor concentração que inibiu completamente o crescimento bacteriano sendo verificado pela manutenção da cor azul da resazurina. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Resultados e

Discussões

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *PIPER MOLLICOMUM* KUNTH

Pm-1

IV (KBr, n_{MAX}): 3438 cm^{-1} ; 2946 cm^{-1} ; 2400 cm^{-1} ; 1672 cm^{-1} ; 1645 cm^{-1} ; 1598 cm^{-1} ; 1491 cm^{-1} ; 1396 cm^{-1} ; 1299 cm^{-1} ; 979 cm^{-1} ; 823 cm^{-1} e 616 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 9,18 (m, 1H); δ_{H} 7,85 (m, 1H); δ_{H} 7,55 (m, 2H); δ_{H} 7,39 (s, 2H); δ_{H} 4,56 (s, 3H); δ_{H} 4,05 (s, 3H); δ_{H} 3,48 (s, 3H).

^{13}C RMN-BB (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 166,14; δ_{C} 152,53; δ_{C} 152,32; δ_{C} 138,46; δ_{C} 136,56; δ_{C} 133,16; δ_{C} 128,66; δ_{C} 127,31; δ_{C} 127,13; δ_{C} 126,39; δ_{C} 125,67; δ_{C} 125,29; δ_{C} 111,08; δ_{C} 105,56; δ_{C} 104,77; δ_{C} 63,13; δ_{C} 62,08; δ_{C} 26,58.

Pm-2

IV (KBr, n_{MAX}): 3431 cm^{-1} ; 2927 cm^{-1} ; 2400 cm^{-1} ; 1682 cm^{-1} ; 1643 cm^{-1} ; 1612 cm^{-1} , 1504 cm^{-1} ; 1427 cm^{-1} ; 1325 cm^{-1} ; 1005 cm^{-1} ; 800 cm^{-1} e 603 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 9,19 (m, 1H); δ_{H} 7,82 (m, 1H); δ_{H} 7,71 (s, 1H); δ_{H} 7,66 (m, 1H); δ_{H} 7,57 (m, 2H); δ_{H} 7,27 (s, 1H); δ_{H} 7,21 (s, 1H); δ_{H} 6,98 (s, 1H); δ_{H} 4,10 (s, 3H) e δ_{H} 3,47 (s, 3H).

^{13}C RMN-BB (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 168,57; δ_{C} 148,24; δ_{C} 147,18; δ_{C} 137,28; δ_{C} 134,28; δ_{C} 128,96; δ_{C} 128,39; δ_{C} 127,44; δ_{C} 127,22; δ_{C} 125,81; δ_{C} 123,95; δ_{C} 116,86; δ_{C} 114,62; δ_{C} 107,61; δ_{C} 104,44; δ_{C} 57,51; δ_{C} 26,52.

Pm-3

IV (KBr, n_{MAX}): 3458 cm^{-1} ; 3303 cm^{-1} ; 3100 cm^{-1} ; 2959 cm^{-1} ; 2865 cm^{-1} ; 1638 cm^{-1} ; 1591 cm^{-1} ; 1505 cm^{-1} ; 1396 cm^{-1} ; 1038 cm^{-1} ; 878 cm^{-1} e 655 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 6,95 (s, 1H); δ_{H} 6,52 (s, 1H); δ_{H} 5,95 (s, 2H); δ_{H} 3,81 (s, 3H); δ_{H} 7,86 (d, 1H; $J=15,7$ Hz) e δ_{H} 6,31 (d, 1H; $J=15,7$ Hz); δ_{H} 5,68 (s, 1H); δ_{H} 3,22 (m, 2H); δ_{H} 1,86 (m, 1H) e δ_{H} 0,95 (s, 6H).

^{13}C RMN-BB (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 166,94; δ_{C} 154,82; δ_{C} 150,01; δ_{C} 141,75; δ_{C} 135,91; δ_{C} 119,11; δ_{C} 116,64; δ_{C} 106,91; δ_{C} 101,75; δ_{C} 94,92; δ_{C} 56,96; δ_{C} 47,27; δ_{C} 29,92; δ_{C} 28,89; δ_{C} 20,39.

Pm-4

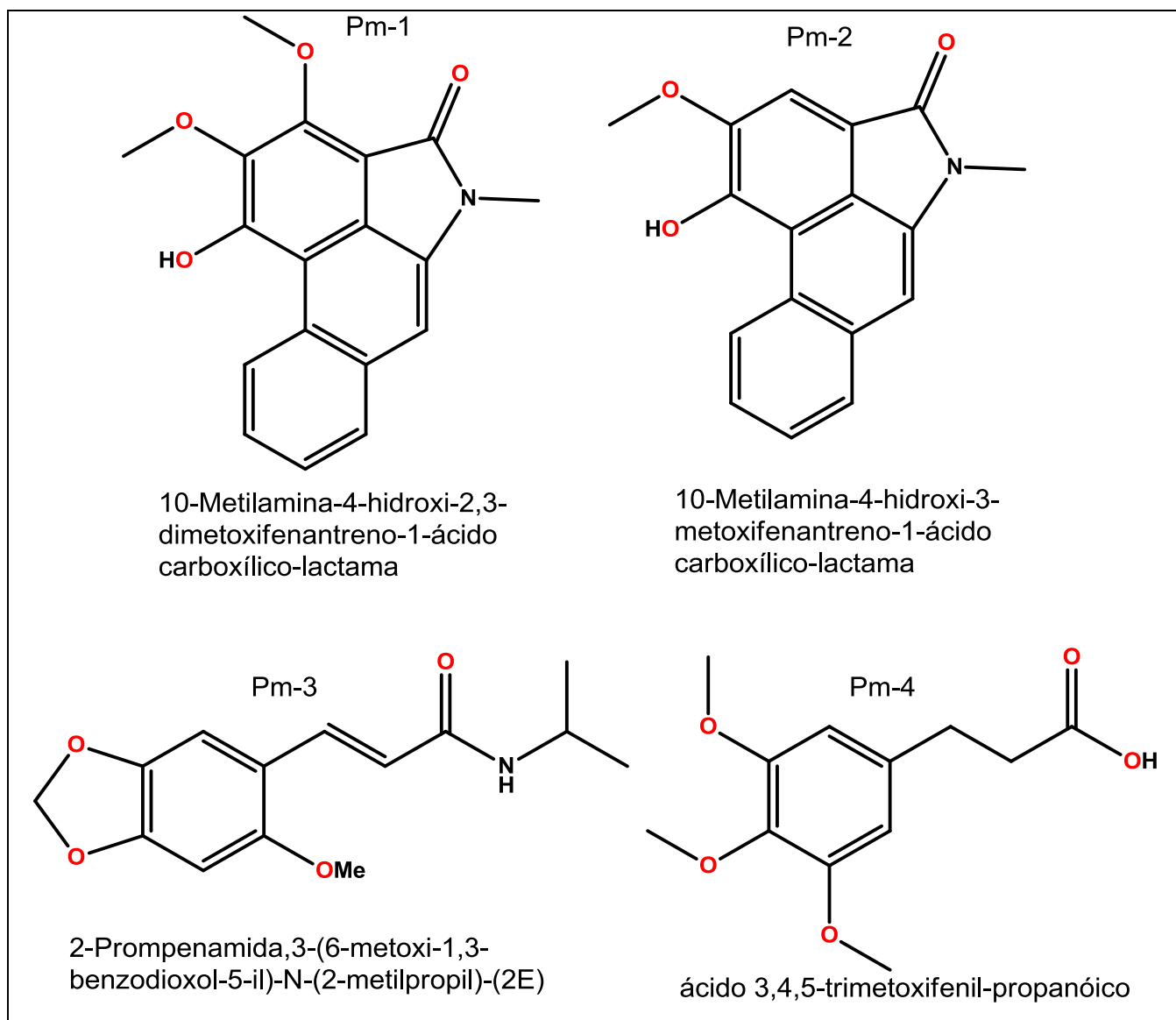
IV (KBr, n_{MAX}): 3438 cm^{-1} ; 2986 cm^{-1} ; 2831 cm^{-1} ; 1706 cm^{-1} ; 1584 cm^{-1} ; 1505 cm^{-1} ; 1423 cm^{-1} ; 1241 cm^{-1} ; 1025 cm^{-1} ; 857 cm^{-1} e 648 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 6,46 (s, 2H); δ_{H} 3,87 (s, 9H); δ_{H} 2,94 (s, 2H); δ_{H} 2,71 (s, 2H).

^{13}C RMN-BB (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 179,04; δ_{C} 153,41; δ_{C} $\approx$ 137; δ_{C} 136,12; δ_{C} 105,44; δ_{C} 61,01; δ_{C} 56,25; δ_{C} 35,91; δ_{C} 31,17

5.2. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *PIPER MOLLICOMUM* KUNTH

O estudo fitoquímico do extrato metanólico das raízes de *Piper mollicomum* Kunth levaram ao isolamento e identificação de duas aristolactamas, uma alcalamida isobutílica e um ácido propanóico, sendo nomeadas de Pm-1, Pm-2, Pm-3 e Pm-4 respectivamente (Figura 12, pág. 70).

Figura 12: Substâncias isoladas de *Piper mollicomum* Kunth.**Fonte:** Própria.

5.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-1

As aristolactamas por possuírem núcleos fenantrênicos apresentam um sistema π com alto grau de conjugação, características estas que quando irradiadas por luz UV (365 nm) apresentam propriedades fluorescentes de coloração azul ou verde intensa. A substância codificada como Pm-1 após análise em CCDA apresentou fluorescência azul e com característica e forma de cristais incolores com formato de agulha, com um ponto de fusão entre 177,2 - 180,5 °C e sendo completamente solúvel em diclorometano.

A análise do espectro de absorção na região de Infra Vermelho de Pm-1 (Figura 14, pág. 75), realizado com pastilhas de KBr, sugere na estrutura em análise a presença de lactama e grupo hidroxila fenólica visto que apresentou uma banda em 3438 cm^{-1} sugerindo a presença de grupamento (O-H), seguido de uma banda na região de 2946 cm^{-1} indicando a presença de ligação C-H de carbono sp^3 . É possível observar um dubleto na região de 1672 cm^{-1} e 1645 cm^{-1} referente a estiramento de carbonila (C=O) de amida cíclica (indicando núcleo lactâmico), seguido de uma banda harmônica em 1535 cm^{-1} indicando ressonância de Fermi, e absorções em 1598 cm^{-1} , 1491 cm^{-1} e 1396 cm^{-1} indicando estiramentos de ligações C=C de anel aromático. Podemos notar ainda absorções na região entre 1299 cm^{-1} e 979 cm^{-1} sugestivo de estiramento do tipo C-O de metoxila ligada a aromático e um grande número de absorções fora do plano, nas regiões entre 823 cm^{-1} à 616 cm^{-1} indicando um alto padrão de substituições nos anéis aromáticos.

O espectro de RMN de ^1H de Pm-1 foi obtido utilizando clorofórmio deuterado (CDCl_3) em uma frequência de 300 MHz, o espectro mostrou 4 sinais referentes a 5 hidrogênios aromáticos em δ_{H} 9,18 (m, 1H); δ_{H} 7,85 (m, 1H); δ_{H} 7,55 (m, 2H); δ_{H} 7,39 (s, 2H) (Figuras 15 e 16, pág. 76 e 77, respectivamente). O espectro ainda apresentou 3 sinais integrando para três hidrogênios em: δ_{H} 4,56 (s, 3H); δ_{H} 4,05 (s, 3H) e δ_{H} 3,48 (s, 3H) que são característicos de hidrogênios metílicos ligados a heteroátomos sugerindo H-metoxílicos e metílicos. No espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (CDCl_3 , 300 MHz) podemos observar as correlações dos hidrogênios δ_{H} 9,18 (m, 1H)/ δ_{H} 7,55 (m, 2H); δ_{H} 7,85 (m, 1H)/ δ_{H} 7,55 (m, 2H) mostrando proximidade entre esses hidrogênios (Figuras 19, pág. 80).

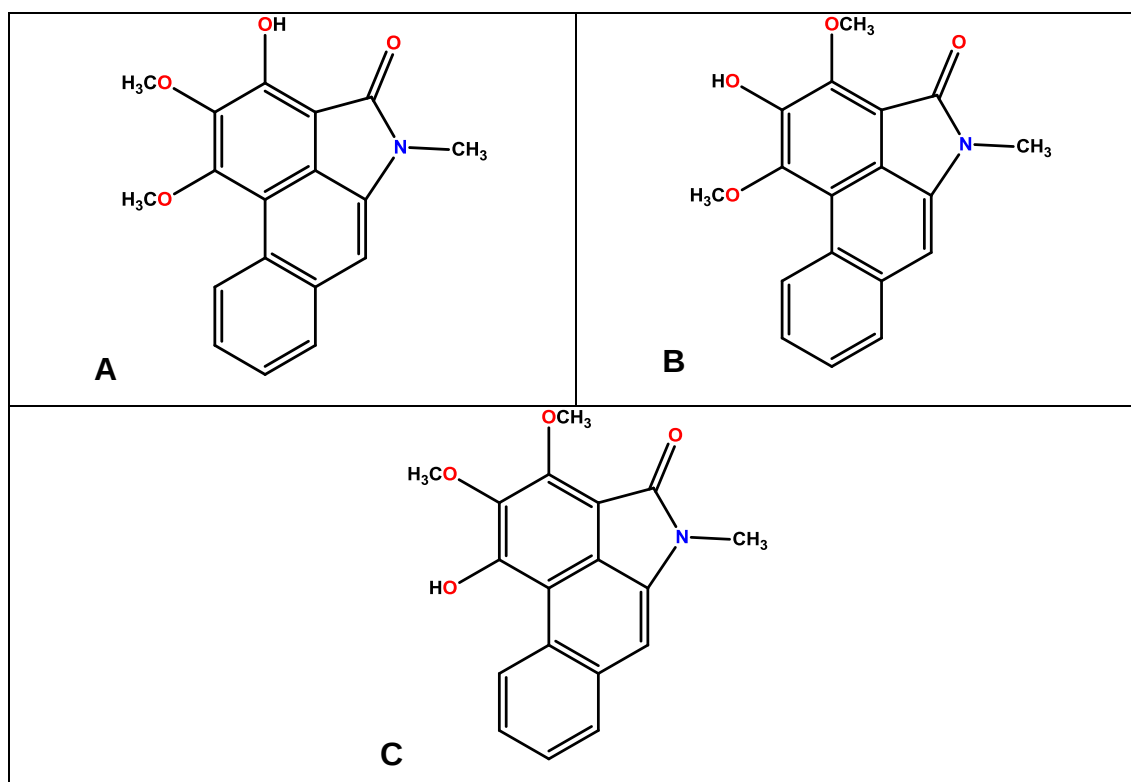
O espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz) apresentou 17 sinais, sendo eles em: δ_{C} 166,14; δ_{C} 152,53; δ_{C} 152,32; δ_{C} 138,46; δ_{C} 136,56; δ_{C} 133,16; δ_{C} 128,66; δ_{C} 127,31; δ_{C} 127,13; δ_{C} 126,39; δ_{C} 125,67; δ_{C} 125,29; δ_{C} 111,08; δ_{C} 105,56; δ_{C} 104,77; δ_{C} 63,13; δ_{C} 62,08; δ_{C} 26,58 (Figura 17, pág. 78).

Com base no espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (CDCl_3 , 300/75 MHz), pode-se atribuir os sinais de carbonos em: δ_{C} 127,31; δ_{C} 128,66; δ_{C} 127,13; δ_{C} 105,56; que se correlacionam com os hidrogênios: δ_{H} 9,18/ δ_{C} 127,31; δ_{H} 7,85/ δ_{C} 128,66; δ_{H} 7,55/ δ_{C} 127,13; δ_{H} 7,08/ δ_{C} 105,56; para as posições C-5, C-8, C-6, C-7, e C-9, respectivamente (Figura 20, pág. 81). Os carbonos metoxílicos em: δ_{C} 63,13 e δ_{C} 62,08, se correlacionam com os hidrogênios em δ_{H}

4,56 e δ_H 4,05 respectivamente. A metila em δ_C 26,58 foi observada correlacionando-se com os hidrogênios em δ_H 3,48 sugerido que grupo metílico estaria ligado ao nitrogênio do anel lactâmico, dado esse confirmado pela correlação a três ligações heteronuclear $^1H \times ^{13}C$ —HMBC dos hidrogênios metílico (δ_H 3,48) com a carbonila em δ_C 166,14.

O espectro bidimensional heteronuclear $^1H \times ^{13}C$ —HMBC ($CDCl_3$, 300/75 MHz), mostra ainda correlações entre: δ_H 4,05/ δ_C 138,43; δ_H 4,56/ δ_C 152,53 permitindo atribuir aos carbonos ligados aos grupos metoxílicos, respectivamente (Figura 21, pág. 82). Observa-se também as correlações do hidrogênio-9 em δ_H 7,09 com os carbonos em δ_C 128,66; δ_C 127,31 e δ_C 125,29; atribuídos ao carbono C-8, C-10a e C-4b, respectivamente. Por fim a correlação do H- 5 em δ_H 9,18/ δ_C 126,39 permite confirmar que δ_C 126,39 trata-se do C-7. (Tabela 4, pág. 74).

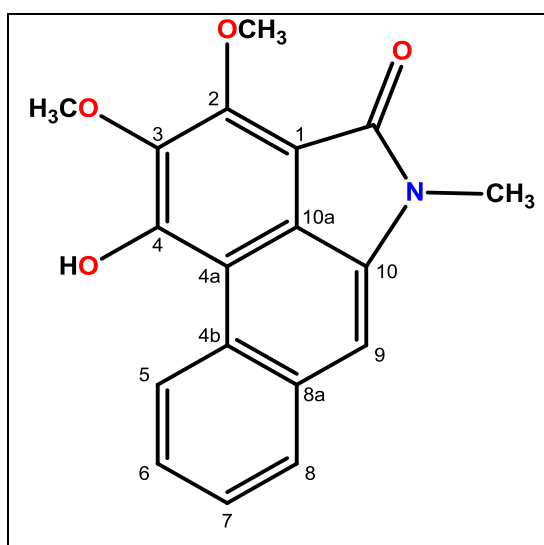
Dessa forma, a soma dos dados espectrais apresentados permitiram sugerir uma estrutura do tipo N-metil aristolactama trissubstituída, sendo o sinal em δ_H 3,48 (s, 3H) atribuído aos hidrogênios do N-metil dados sugeridos pela ausência da absorção no IV em 3.175 cm^{-1} e confirmados experimento bidimensional heteronuclear $^1H \times ^{13}C$ —HMBC ($CDCl_3$, 300/75 MHz) (Figura 21, pág. 82), que mostra correlações dos H metílicos (δ_H 3,48) com o carbono carbonílico do anel lactâmico em δ_C 166,14, sendo possível chegar as seguintes hipóteses estruturais:



Os dados obtidos dos espectros RMN ^1H mostra o sinal da metoxila em δ_{H} 4,57 que por está significativa desprotegida devido o efeito da carbonila do anel lactâmico, estará na posição 2 descartando a hipótese estrutural A.

Para determinar com segurança se a outra metoxila em δ_{H} 4,05 estaria nas posições 3 ou 4 seria necessário realizar os experimentos de NOESY. Nesse experimento ausência das correlações espaciais da metoxila em δ_{H} 4,05 com o multiplete em δ_{H} 9,18 atribuído ao H-5 descartaria a hipótese C no entanto em virtude da ausência desse experimento, dados comparativos da literatura, sugere que a substância em análise (Tabela 4. Pág. 74), codificada como Pm-4 trata-se da 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama, conhecida também como Piperlactama E, e isolada anteriormente em, *Piper augustum* (WILMAN, et al., 1998), *Piper arboreum* (COSTA, 2011), *Piper taiwanense* (CHEN, et al., 2004) e pela primeira vez na espécie *Piper mollicomum* Kunth (Figura 13).

Figura 13: 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama.



Fonte: Própria.

Tabela 4: Dados de RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-1 em comparação com dados literários (Chen, et al., 2004).

Posição	HSQC		HMBC		Modelo literário (CDCl ₃ , 400 MHz)	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J	δ_{C}	δ_{H}
1		105,56			105,3	
2		152,53			152,3	
3		138,46			138,2	
4		152,32			152,3	
4a		111,08			110,81	
4b		127,13			126,9	
5	9,18(m, 1H)	127,31		C-7	127,1	9,28(m, 1H)
6	7,55(m, 2H)	125,67	C-5	C-4b	125,5	7,58(m, 2H)
7	7,55(m, 2H)	126,39			126,2	7,55(m, 2H)
8	7,85(m, 1H)	128,66		C-6	128,4	7,87(m, 1H)
8a		133,16			132,9	
9	7,39(s, 2H)	104,77			104,6	7,14(s, 1h)
10		136,56			136,3	
10a		125,29			125,1	
C=O		166,14			165,9	
2-OMe	4,56(s, 3H)	63,13		C-2	62,9	4,56(s, 3H)
3-OMe	4,05(s, 3H)	62,08		C-3	61,9	4,06(s, 3H)
N-Me	3,48(s, 3H)	26,58		C=O	26,4	3,50(s, 3H)
O-H	7,51(s, 1H)	-			δ_{C}	δ_{H}

Figura 14: Espectro de Infra Vermelho de Pm-1 em pastilha de KBr.

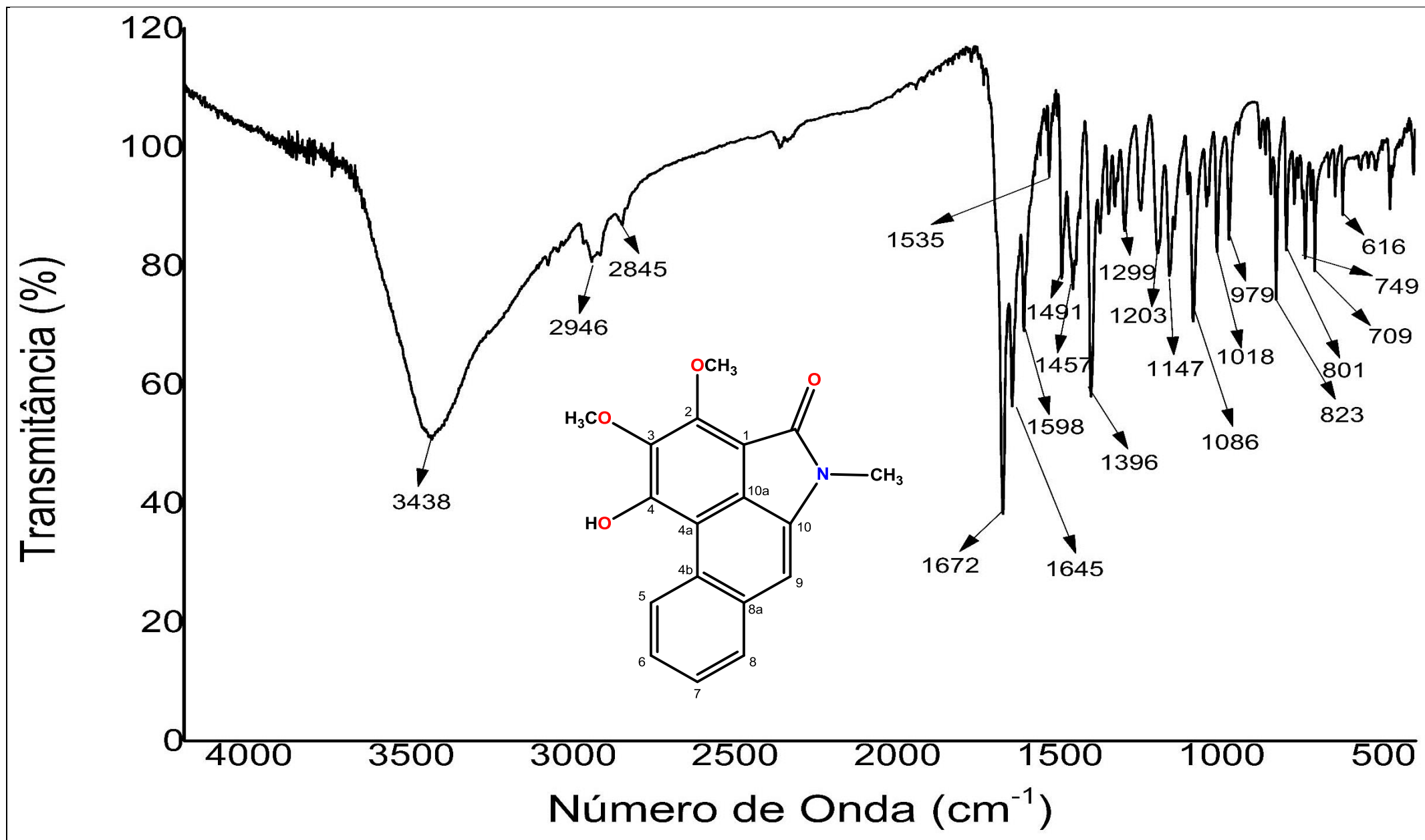


Figura 15: Espectro de RMN ^1H de Pm-1 (CDCl_3 , 300 MHz).

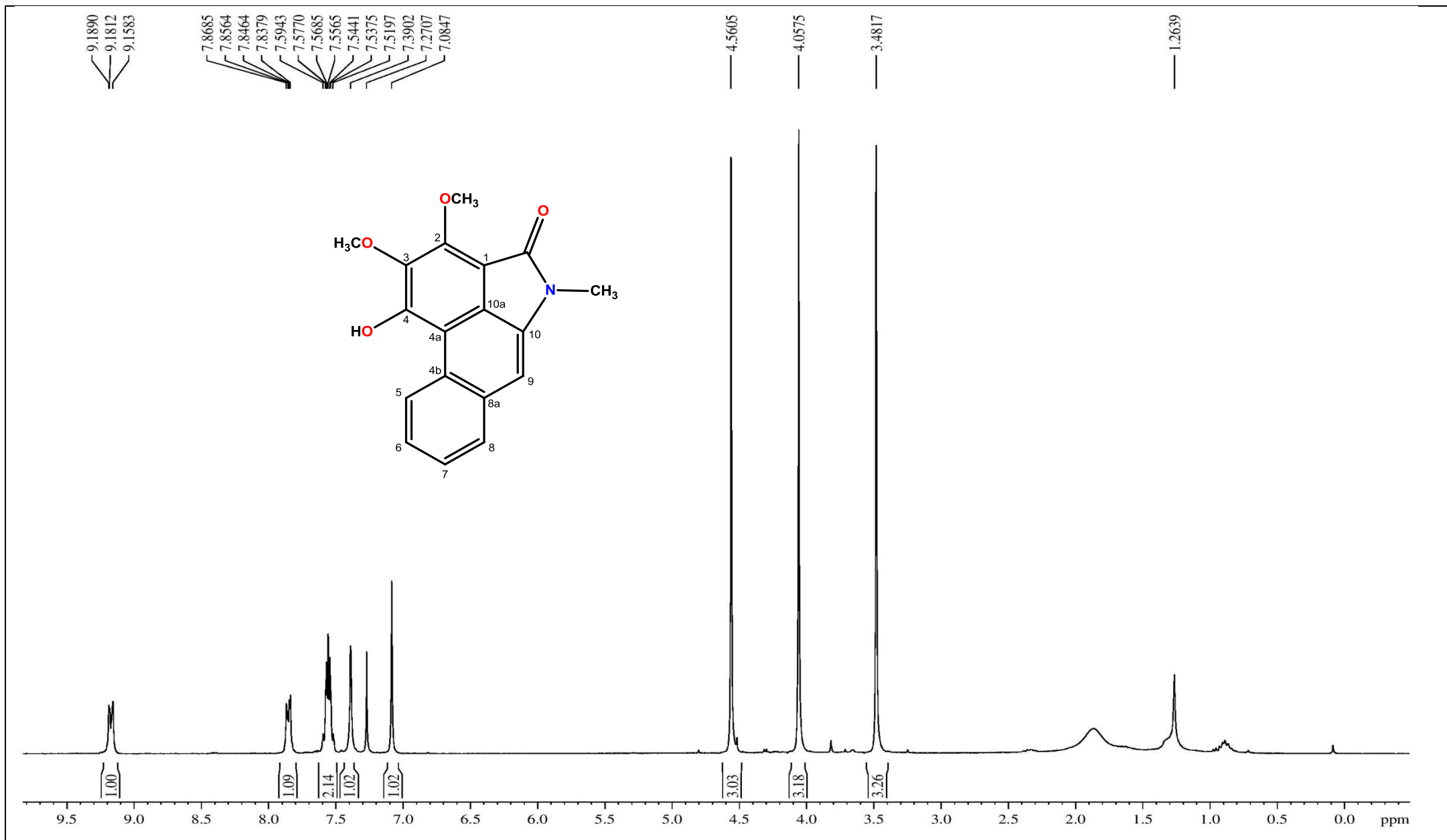


Figura 16: Expansão do espectro de RMN ^1H de Pm-1 (CDCl_3 , 300 MHz).

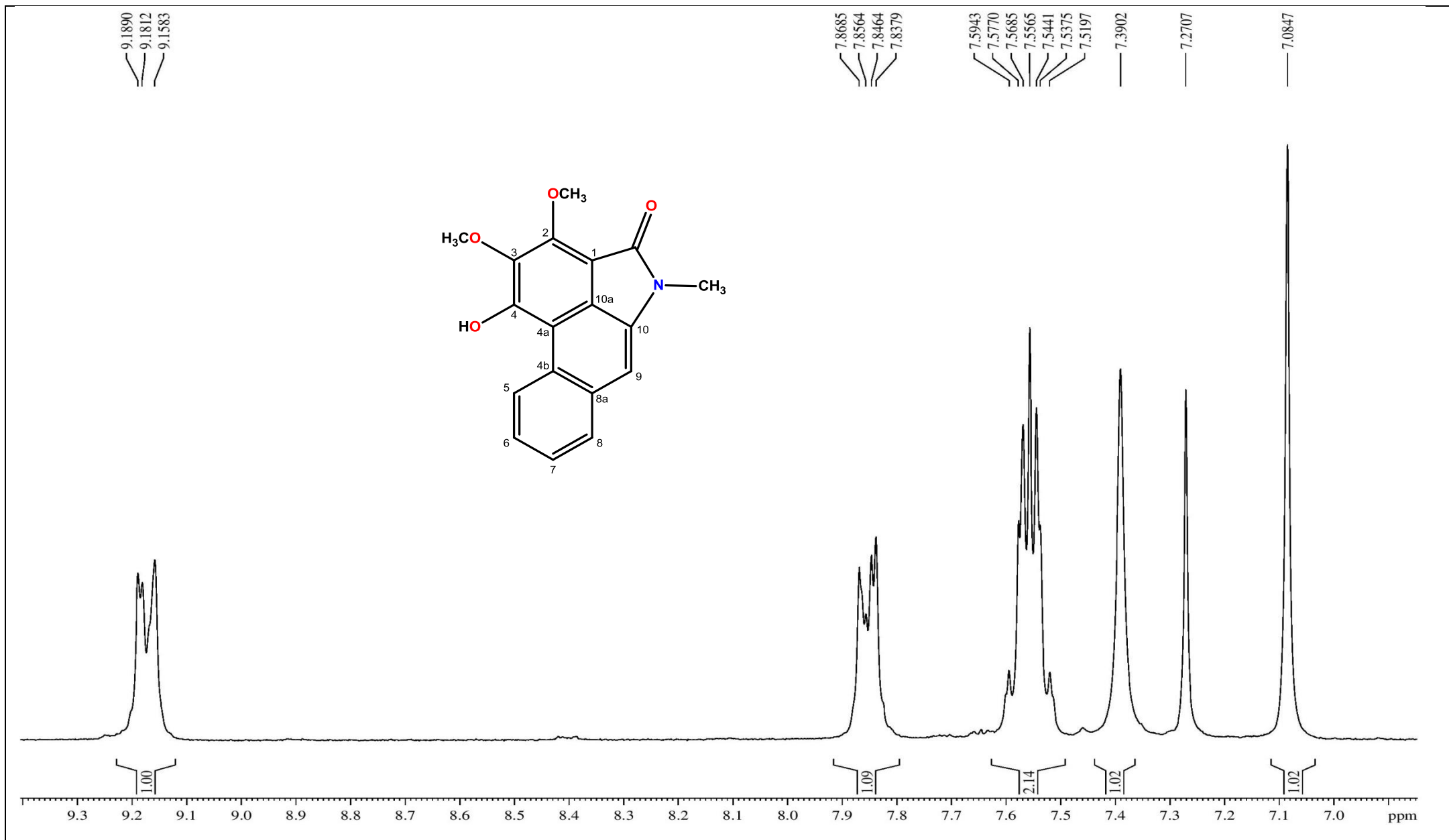


Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-1 (CDCl_3 , 75 MHz).

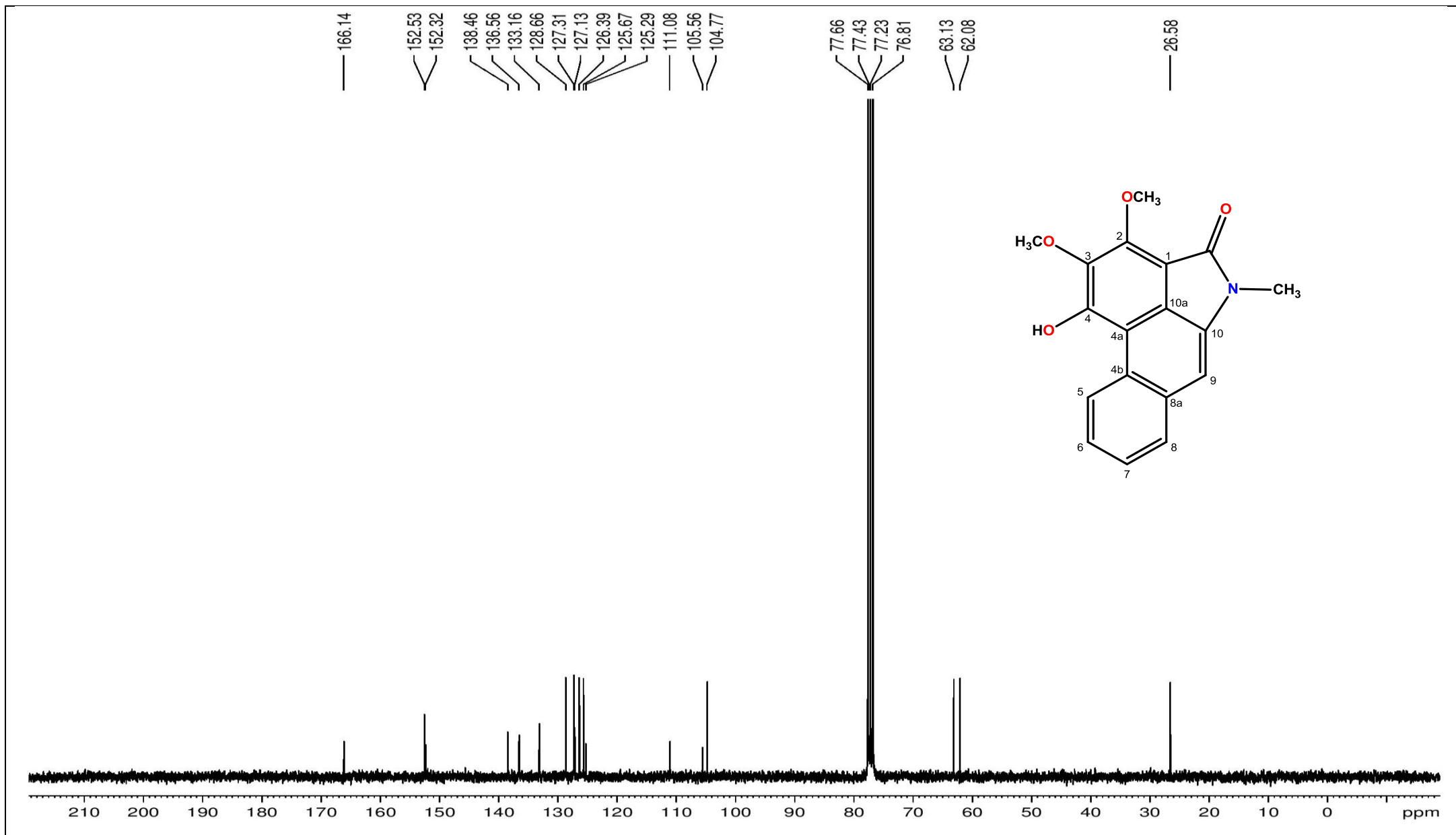


Figura 18: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-1 (CDCl_3 , 75 MHz).

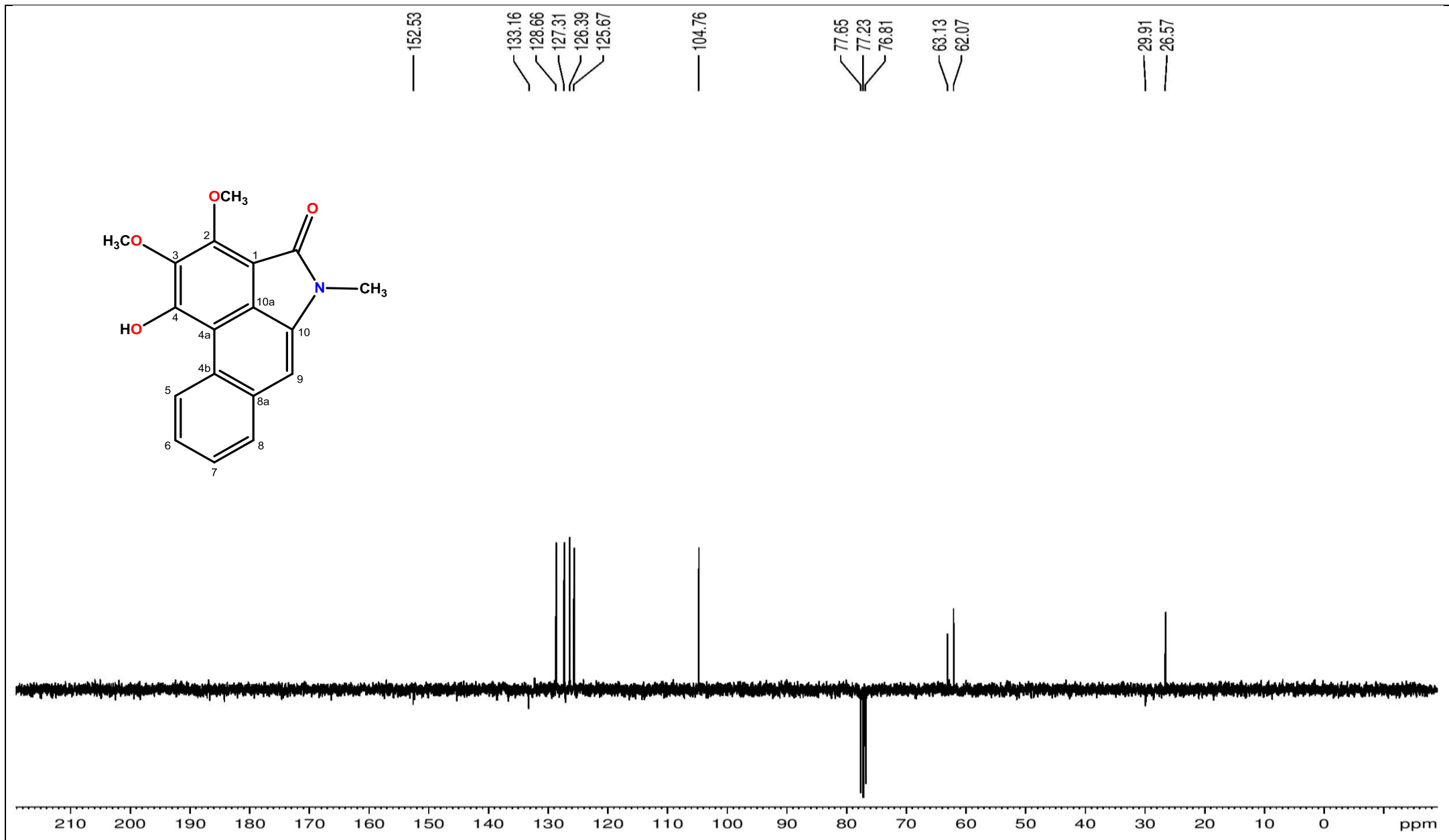


Figura 19: Espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pm-1 (CDCl_3 , 300 MHz).

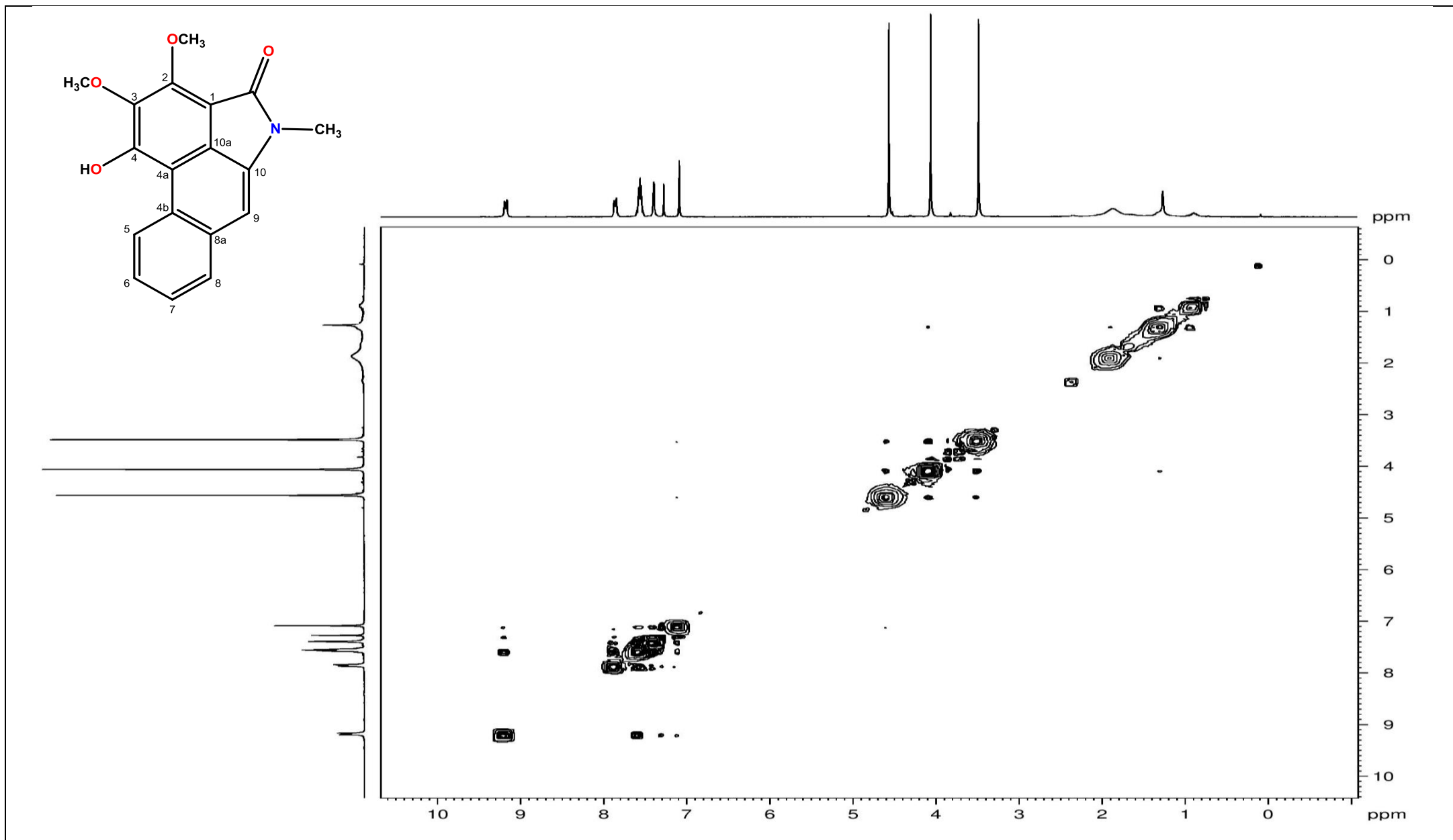


Figura 20: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSOC de Pm-1 (CDCl_3 , 300/75 MHz).

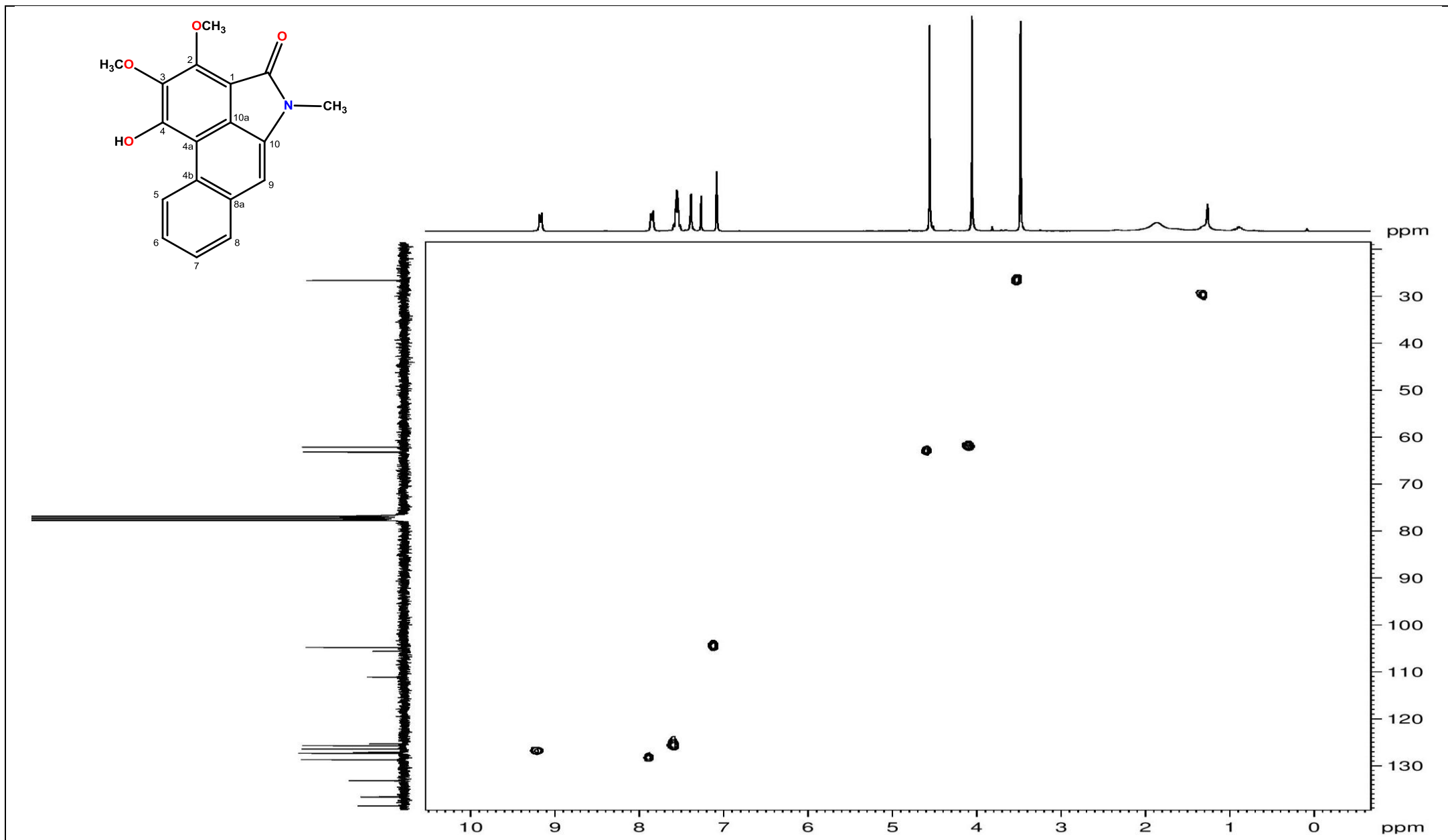
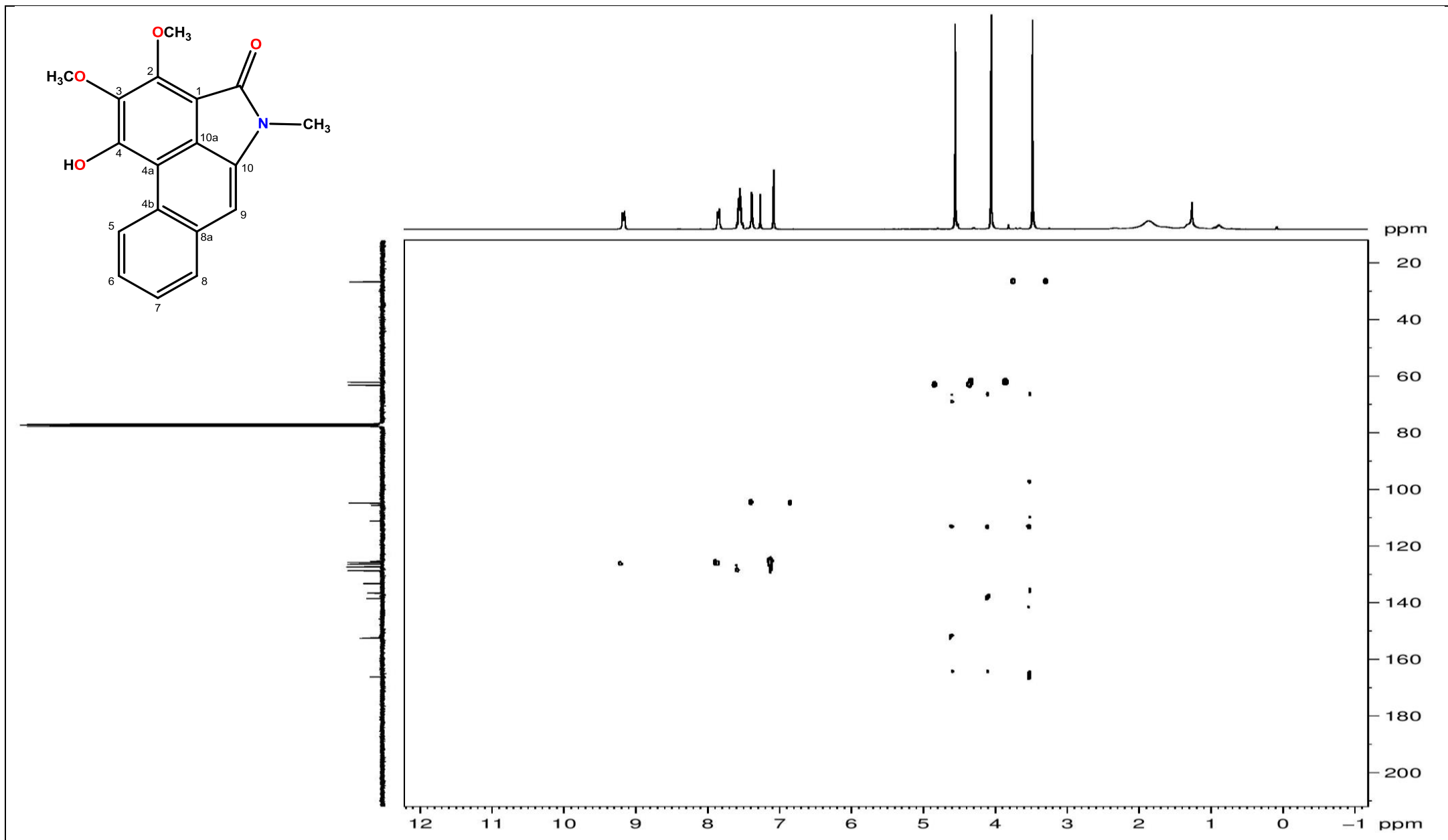


Figura 21: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pm-1 (CDCl_3 , 300/75 MHz).



5.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-2

A substância codificada como Pm-2, também se apresentou na forma de cristais incolores em formato de agulha, com um ponto de fusão entre 207,2 - 209,1 °C e sendo completamente solúvel em diclorometano.

O espectro de Infra Vermelho de Pm-2 (Figura 23, pág. 86) obtido com pastilhas de KBr, apresentou uma grande semelhança com o espectro de IV de Pm-1, indicando uma similaridade entre as substâncias possuindo o mesmo núcleo estrutural.

O espectro de RMN ^1H obtido com clorofórmio deuterado em uma frequência de 300 MHz (CDCl_3 , 300MHz) mostrou sinais similares aos do espectro de Pm-1 onde podemos destacar sinais de hidrogênios em: δ_{H} 9,19 (m, 1H); δ_{H} 7,82 (m, 1H); δ_{H} 7,71 (s, 1H); δ_{H} 7,57 (m, 2H); δ_{H} 7,21 (s, 1H); δ_{H} 6,98 (s, 1H); δ_{H} 4,10 (s, 3H) e δ_{H} 3,47 (s, 3H) (FIGURA 24, pág. 87), além de apresentar um sinal em δ_{H} 7,66 (m, 1H) indicando um padrão de substituição menor que o de Pm-1, podendo ser confirmado pela ausência de um sinal referente a metoxila em torno de δ_{H} 4,5, como destacado em Pm-1. Análise detalhada desse espectro de RMN de ^1H mostra sinais referentes a hidrogênios aromáticos (δ_{H} 9,5 ~ 6,5) e hidrogênios metoxílicos (δ_{H} 4,10) e metílicos (δ_{H} 3,47).

O espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 75 MHz) mostrou 17 sinais para carbono, sendo eles em: δ_{C} 168,57; δ_{C} 148,24; δ_{C} 147,18; δ_{C} 137,28; δ_{C} 134,28; δ_{C} 128,96; δ_{C} 128,39; δ_{C} 127,44; δ_{C} 127,22; δ_{C} 125,81; δ_{C} 123,95; δ_{C} 116,86; δ_{C} 114,62; δ_{C} 107,61; δ_{C} 104,44; δ_{C} 57,51; δ_{C} 26,52 (FIGURAS 25 e 26, pág. 88 e 89, respectivamente), demonstrando se tratar de uma substância semelhante a Pm-1 porém com uma substituição a menos.

Esses dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C -BB e IV juntamente com os dados de ^1H x ^{13}C -HSQC (CDCl_3 , 300/75 MHz) e ^1H x ^{13}C -HMBC (CDCl_3 , 300/75 MHz), sugerem que a substância em análise trata-se de uma N-metilaristolactama dissubstituída visto que:

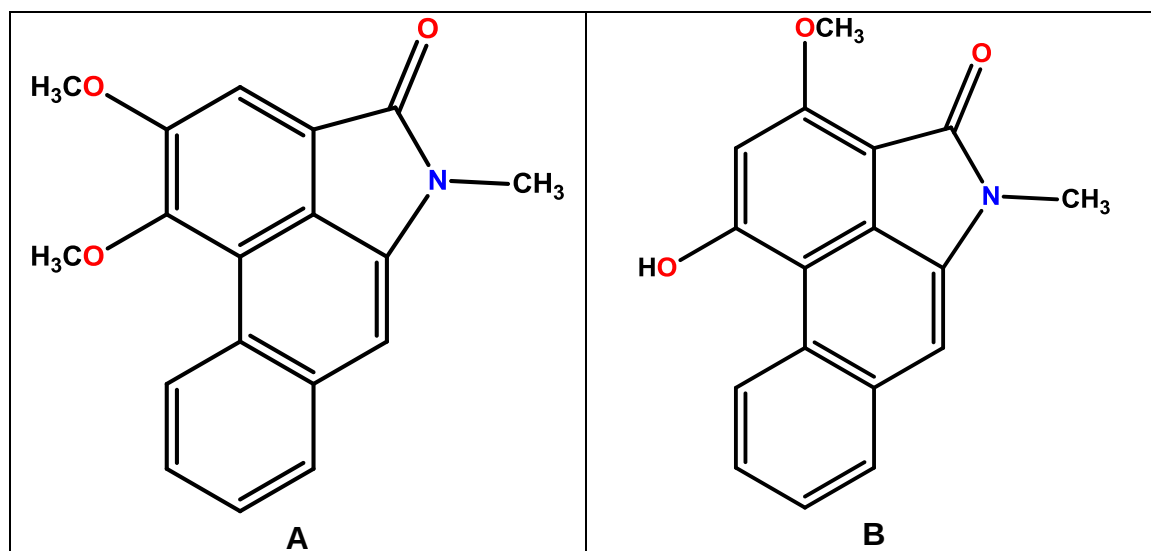
a) O sinal em δ_{H} 3,47 (s, 3H) foi atribuído aos hidrogênios do N-metil dados sugeridos pela ausência da absorção no IV em 3.175 cm^{-1} e confirmados experimento bidimensional heteronuclear ^1H x ^{13}C -HMBC (CDCl_3 , 300/75 MHz) (Figura 30, pág. 93), que mostra correlações dos H metílicos (δ_{H} 3,47) com o carbono carbonílico do anel lactâmico em δ_{C} 168,57 e com δ_{C} 137,28 referente ao carbono C-10;

b) O sinal em δ_{H} 4,10 (s, 3H) é de uma metoxila vizinho a carbonos metínicos uma vez que os seus hidrogênios metoxílico estão se correlacionando com seu carbono na região δ_{C} 57,51 (dados observados no experimento bidimensional

heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (CDCl_3 , 300/75 MHz) (Figura 29, pág. 92), correlação direta de δ_{H} 4,10 / δ_{C} 57,51);

c) O sinal em δ_{H} 7,21(s, 1H) trata-se de um substituinte hidroxílico visto a correlação a duas e três ligações no experimento de HMBC com 148,24 (C-4) e 114,62 (C-4a), respectivamente;

Nessas premissas permite-se sugerir as seguintes propostas estruturais em relação as posições da metoxila e da hidroxila:



Análise minuciosa do espectro de HMBC observa-se a correlação a três ligações do δ_{H} 7,71(s, 1H) com o carbono carbonílico em δ_{H} 168,57, descartando portanto a **estrutura B** e confirmando que a substância é **estrutura A** e trata-se da 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama (Figura 22), já isolada anteriormente em *Piper ribesioids* (RUANGRUNGSI, et al., 1992), *Piper arboreum* (COSTA, 2011) e isolada pela primeira vez na espécie *Piper mollicomum* Kunth.

Todos os dados espectrais de RMN ^{13}C -BB, RMN ^1H , $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY estão plotados nas Tabela 6, pág. 85.

Figura 22: 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama.

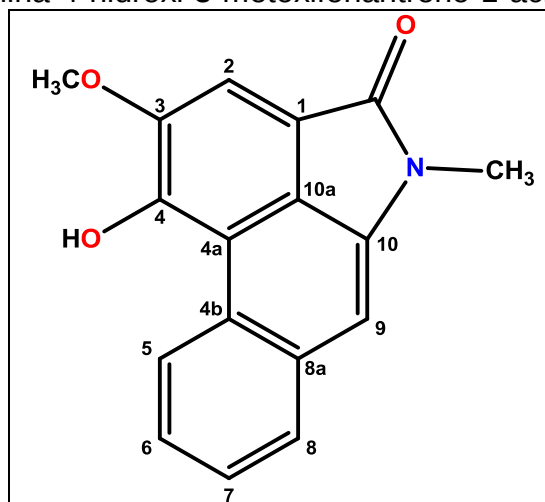


Tabela 5: Dados de RMN ^1H (300MHz), ^{13}C (75MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-2 em comparação com modelo literário (COSTA, 2011).

Posição	HSQC		HMBC		Modelo literário (CDCl ₃ , 500MHz)	
	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J	δ_{H}	δ_{C}
1		116,86				116,57
2	7,71(s, 1H)	107,61	C-1; C-3	C-4; C-10a; C=O	7,67(s, 1H)	107,34
3		147,18				146,91
4		148,24				147,97
4a		114,62				114,34
4b		127,44				127,19
5	9,19(m, 1H)	128,39			9,15(m, 1H)	128,14
6	7,57(m, 2H)	125,81			7,53(m, 2H)	125,57
7	7,57(m, 2H)	127,22			7,53(m, 2H)	126,98
8	7,82(m, 1H)	128,96	C-7	C-6	7,80(m, 1H)	128,72
8a		134,28				134,21
9	6,98(s, 1H)	104,44		C-4b; C-8	6,95(s, 1H)	104,23
10		137,28				136,99
10a		123,95				123,67
C=O		168,57				168,33
3-OMe	4,10(s, 3H)	57,51		C-3	4,06(s, 3H)	57,23
4-OH	7,21(s, 1H)	-	C4	C-4a	7,17(s, 1H)	-
N-Me	3,47(s, 3H)	26,52		C-10; C=O	3,44(s, 3H)	26,29

Transmittância (%)

Número de Onda (cm^{-1})

Chemical structure of 6-methoxy-7-hydroxy-1-methyl-8-phenyl-1H-benz[e][1,2-b]oxazole is shown in the inset. The structure is numbered 1 through 10a, with a methoxy group (H_3CO) at position 3 and a methyl group (CH_3) on the nitrogen atom.

Key IR peaks (wavenumbers in cm^{-1}):

- 3431 (O-H stretch)
- 2927 (C-H stretch)
- 2857 (C-H stretch)
- 1682 (C=O stretch)
- 1643 (C=C stretch)
- 1618 (C=C stretch)
- 1504 (C=C stretch)
- 1459 (C=C stretch)
- 1427 (C=C stretch)
- 1357 (C-N stretch)
- 1325 (C=C stretch)
- 1235 (C-O stretch)
- 1114 (C-O stretch)
- 1050 (C-O stretch)
- 1005 (C-O stretch)
- 725 (C-H bend)
- 603 (C-H bend)

Figura 24: Espectro de RMN ^1H de Pm-2 (CDCl_3 , 300 MHz).

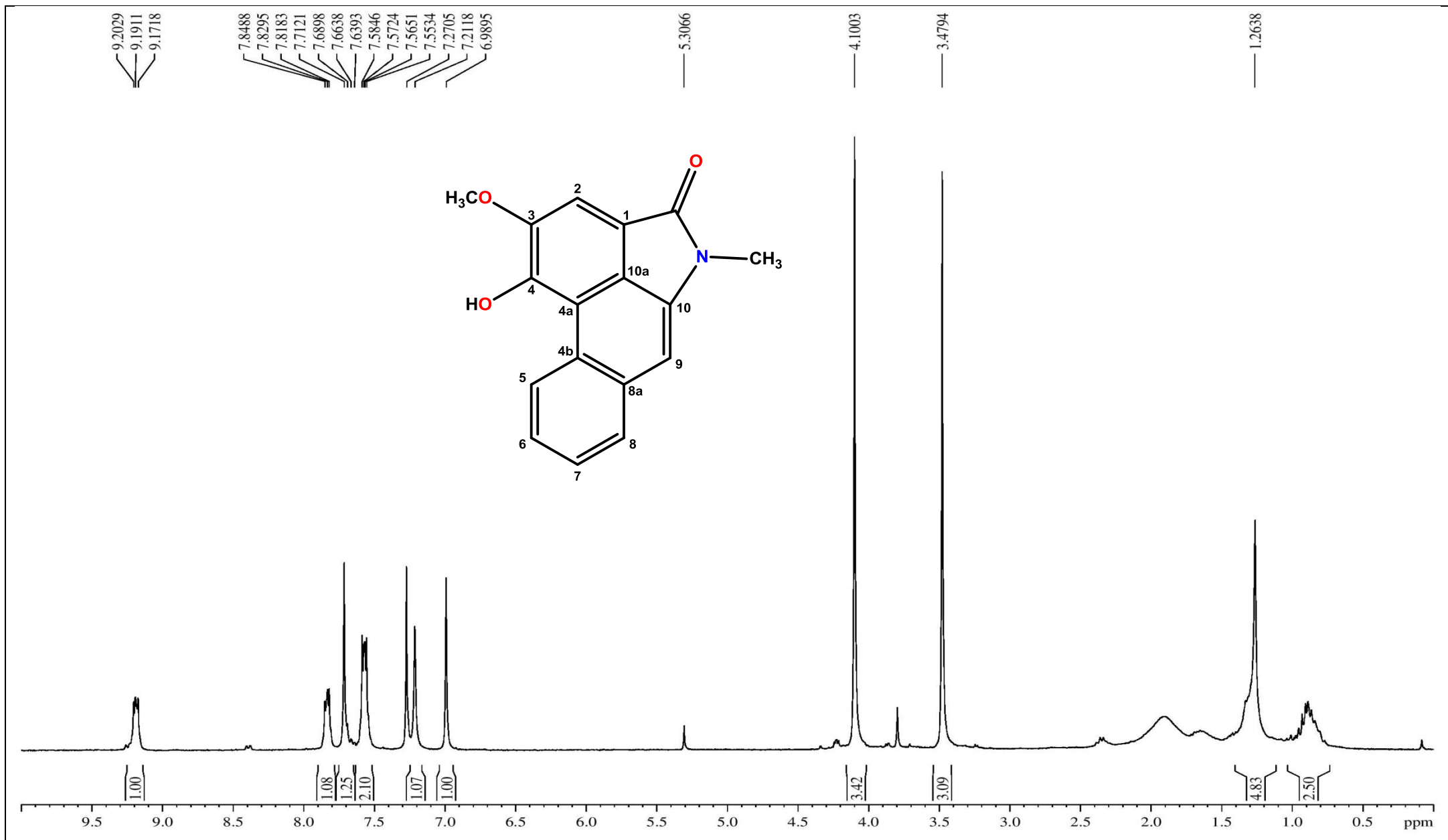


Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-2 (CDCl_3 , 75 MHz).

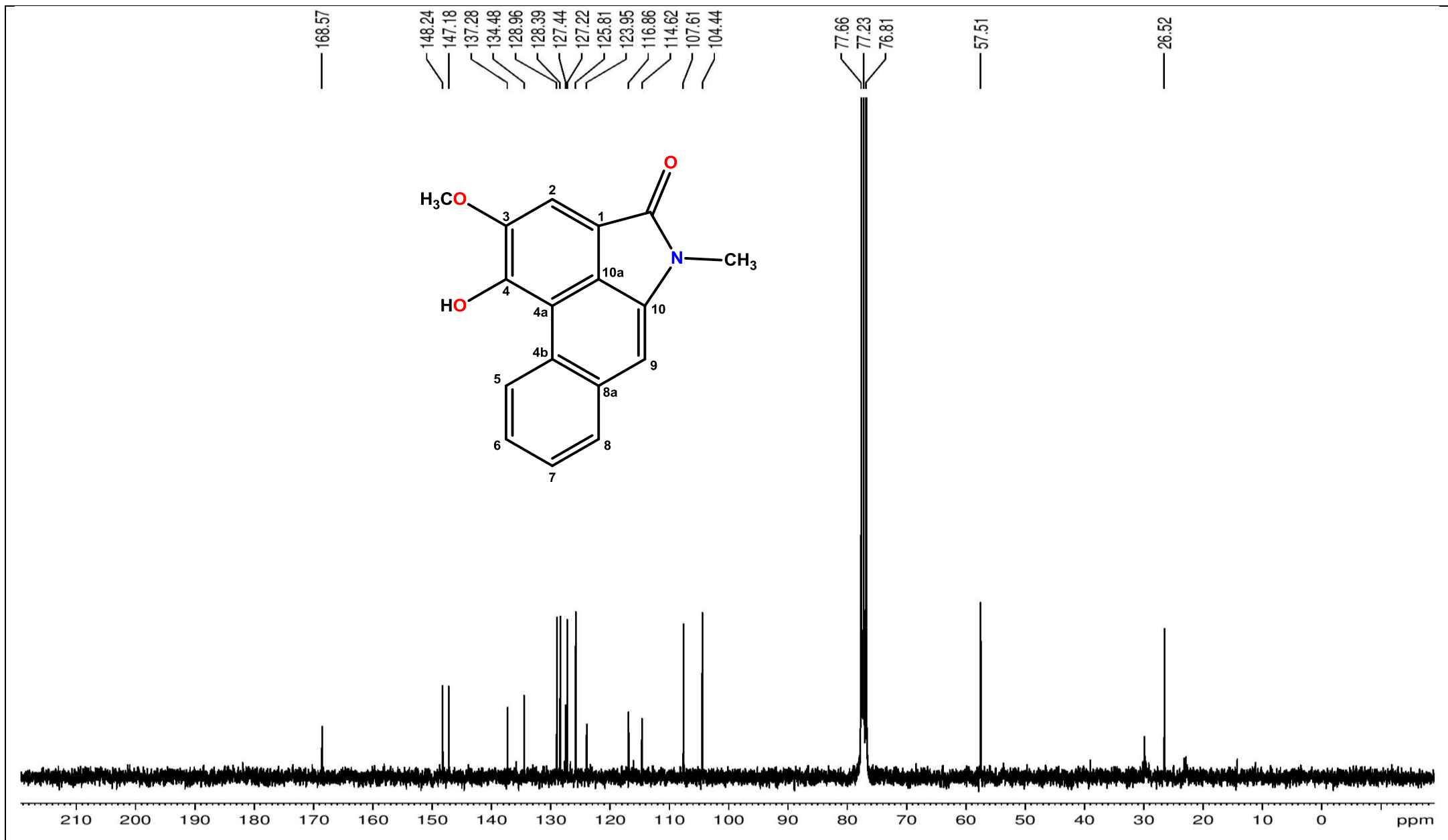


Figura 26: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-2 (CDCl_3 , 75 MHz).

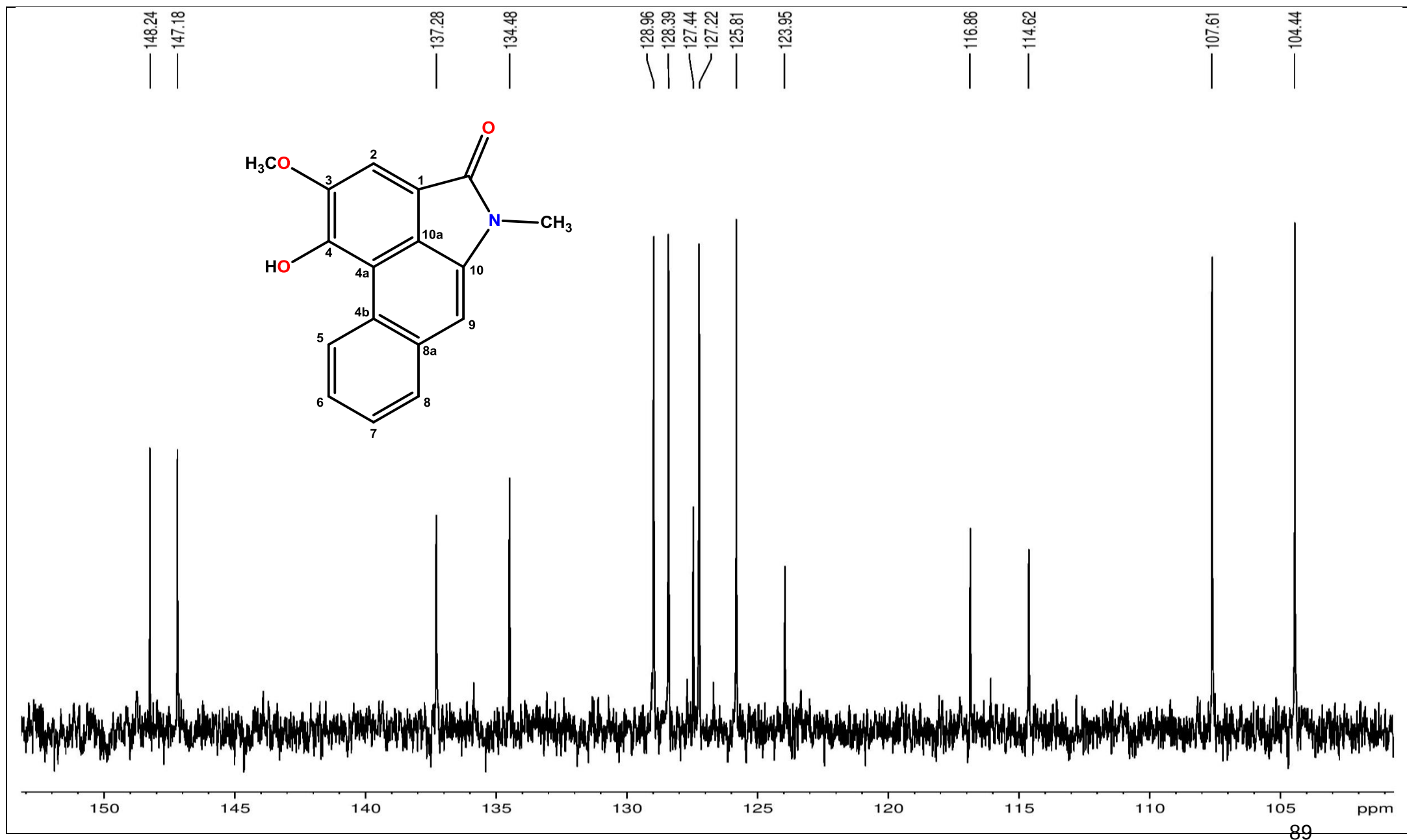


Figura 27: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-2 (CDCl_3 , 75 MHz).

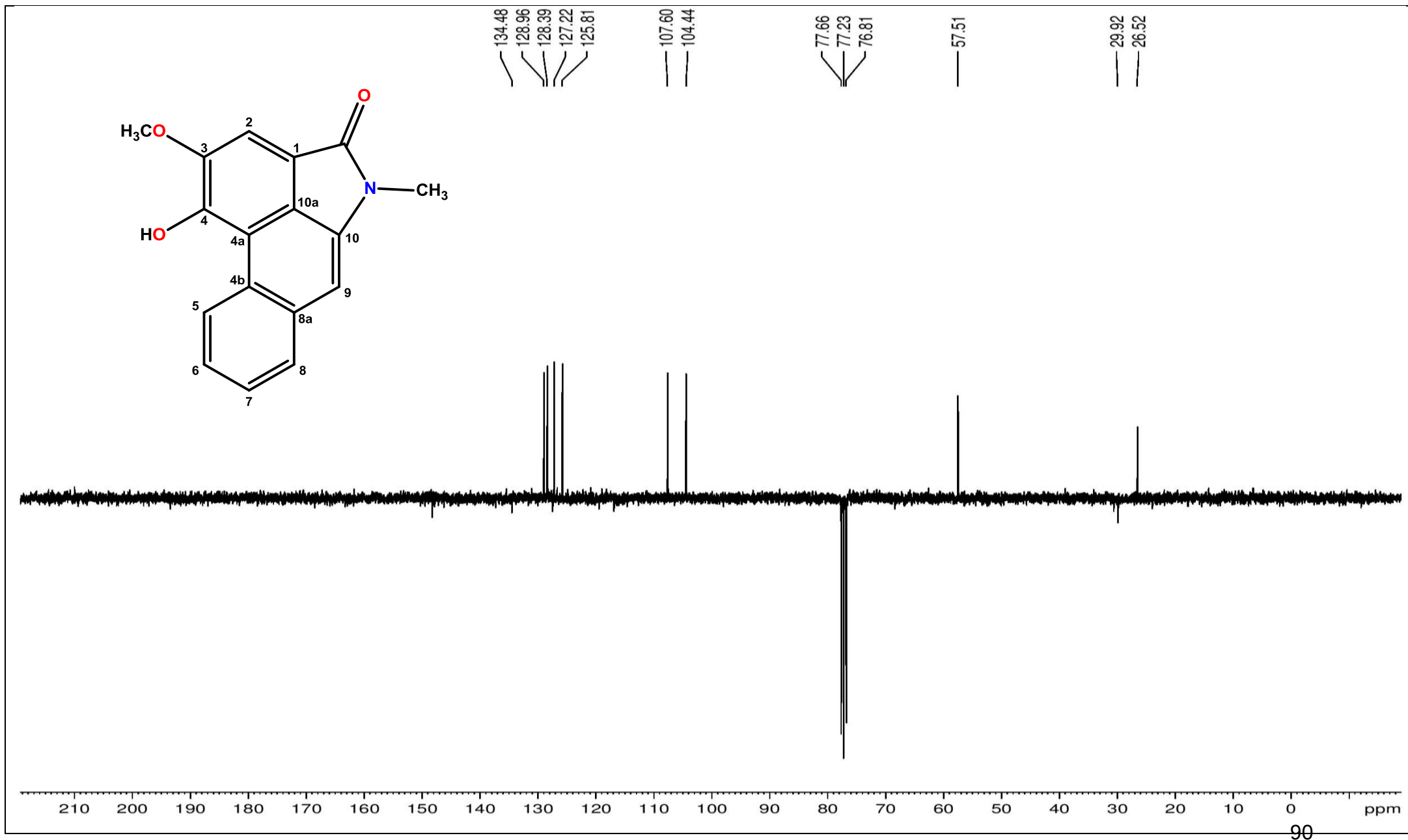


Figura 28: Espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pm-2 (CDCl_3 , 300 MHz).

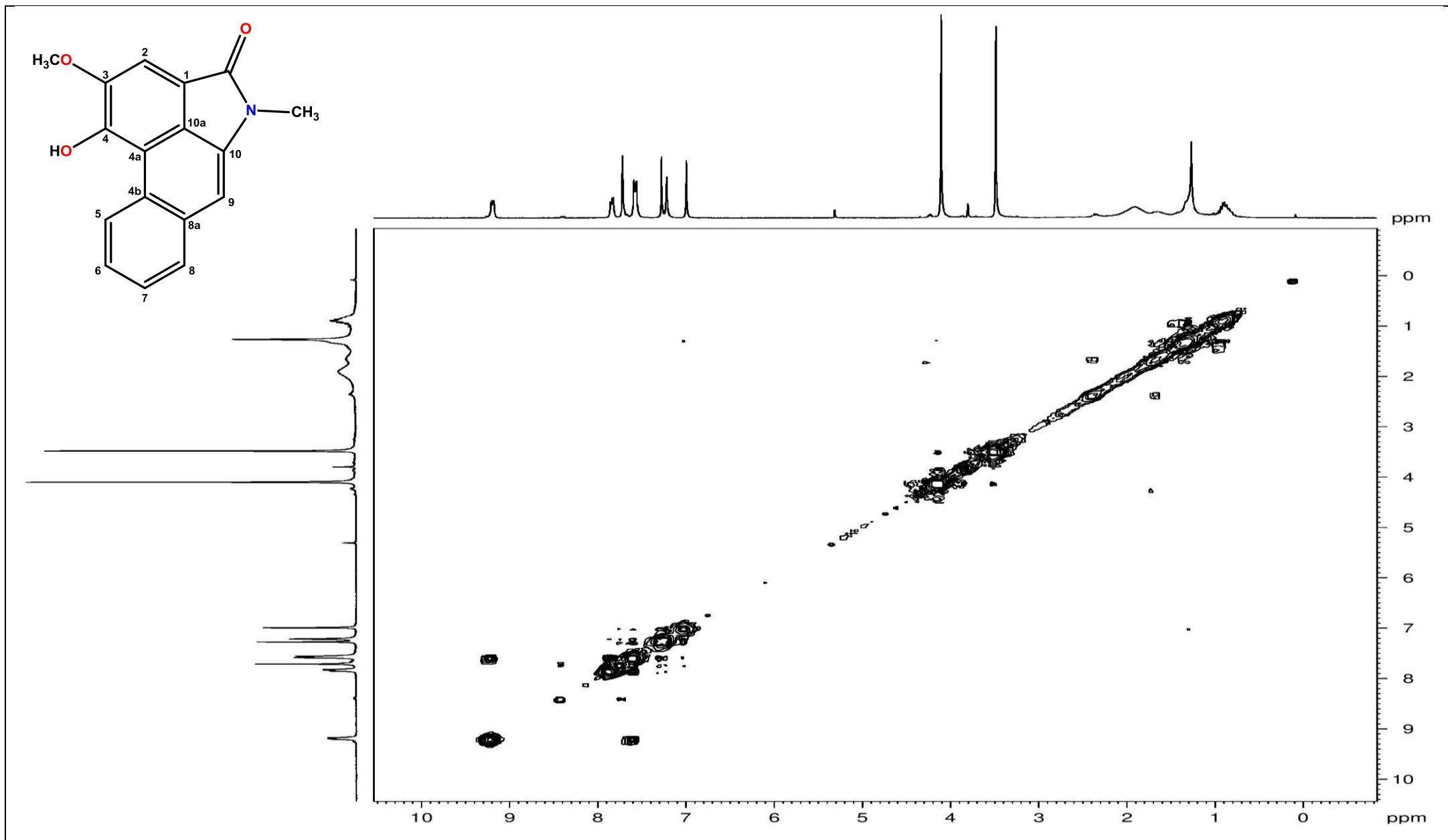


Figura 29: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de Pm-2 (CDCl_3 , 300/75 MHz).

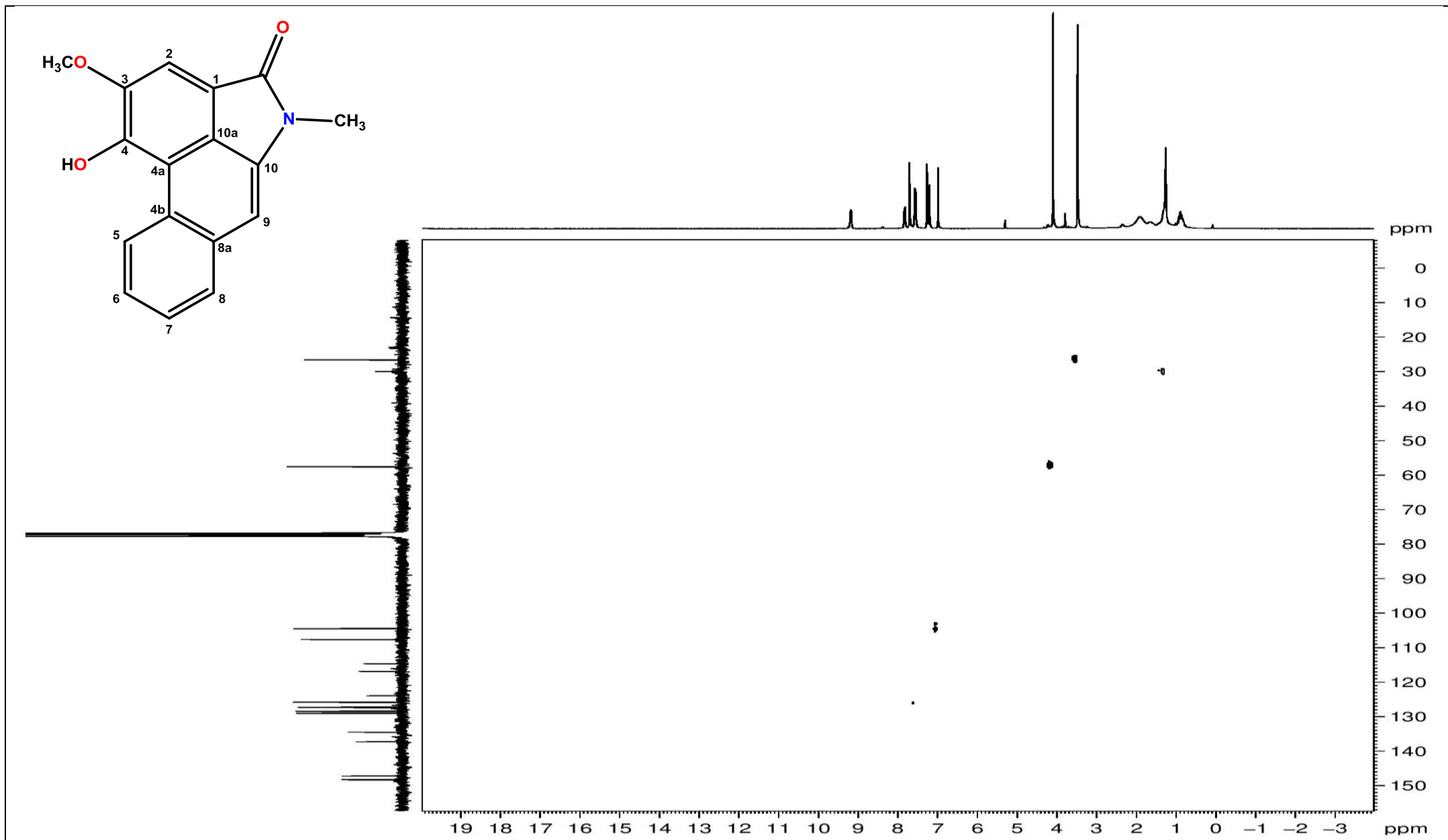
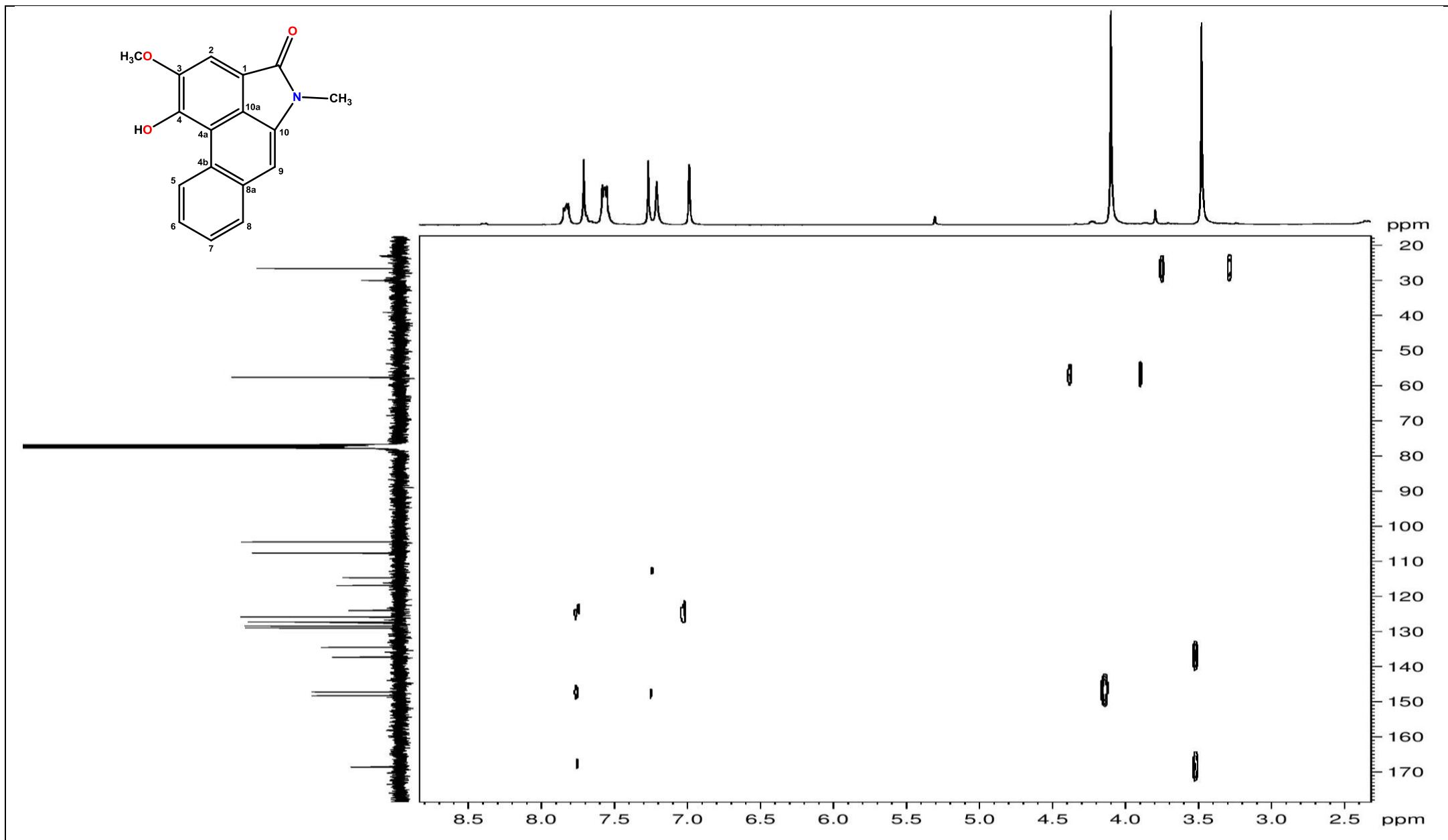


Figura 30: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pm-2 (CDCl_3 , 300/75 MHz).



5.5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-3

A substância codificada como Pm-3 se apresentou na forma de cristais incolores com formato de agulha, com um ponto de fusão entre 147,1 - 153,4 °C, sendo completamente solúvel em diclorometano.

O espectro de Infra Vermelho de Pm-3 (Figura 32, pág. 97) obtido em pastilhas de KBr, apresentou absorções nas regiões de 3458 cm^{-1} e 3303 cm^{-1} característico de estiramento de amida secundária, diferindo das substâncias descritas anteriormente, seguido de absorções na região entre 2959 cm^{-1} a 2865 cm^{-1} característico de estiramento C-H de carbono sp^3 e absorções entre 3100 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} característico de estiramento de carbono do tipo sp^2 . Na região de 1638 cm^{-1} notamos uma absorção característica de estiramento de carbonila de amida secundária, seguido de absorções em 1591 cm^{-1} , 1505 cm^{-1} e 1396 cm^{-1} indicando estiramento C=C de anel aromático. Em 1525 cm^{-1} temos uma banda harmônico relacionada ao dobramento N-H indicando uma ressonância de Fermi. Na região de 1038 cm^{-1} temos uma absorção característico de estiramento do tipo C-O de éter fenilalquílico. Ainda observa-se um grande número de absorções fora do plano entre as regiões 878 cm^{-1} e 655 cm^{-1} indicando um alto padrão de substituição no anel aromático.

O espectro de RMN ^1H obtido com clorofórmio deuterado em uma frequência de 500 MHz (CDCl_3 , 500MHz) mostrou sinais de hidrogênios aromáticos em: δ_{H} 6,95 (s, 1H); δ_{H} 6,52 (s, 1H). Podemos observar também a presença de 1 sinal em: δ_{H} 5,95 (s, 2H) sugerindo a presença de um grupamento metileno dióxido e 1 sinal em: δ_{H} 3,81 característico de metoxila, indicando a presença de um anel aromático tetrassubstituído (Figura 33, pág. 98). O espectro ainda apresentou 2 dubletos em: δ_{H} 7,86 (d, 1H; $J=15,7$ Hz) e δ_{H} 6,31 (d, 1H; $J=15,7$ Hz) característicos de acoplamento do tipo trans, além de 1 sinal em δ_{H} 5,68 (s, 1H) e 3 sinais em δ_{H} 3,22 (m, 2H); δ_{H} 1,86 (m, 1H) e δ_{H} 0,95 (s, 6H) sugestivo de um grupo isobutil ligado a amida secundária.

O espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3 , 500MHz), mostrou as correlações entre os sinais: δ_{H} 7,86/ δ_{H} 6,28; δ_{H} 3,22/ δ_{H} 1,86 e δ_{H} 1,81/ δ_{H} 0,95, sugerindo uma insaturação na conformação TRANS e de um grupamento isobutílico presente na estrutura (Figura 36, pág. 101). O espectro ainda apresenta uma correlação entre os sinais δ_{H} 3,22/ δ_{H} 5,68, indicando que a substância pode se tratar de uma amida isobutílica.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (CDCl_3 , 125 MHz) mostrou 14 sinais para 15 carbonos, sendo eles em: δ_{C} 166,94; δ_{C} 154,82; δ_{C} 150,01; δ_{C} 141,75; δ_{C} 135,91; δ_{C} 119,11; δ_{C} 116,64; δ_{C} 106,91; δ_{C} 101,75; δ_{C} 94,92; δ_{C} 56,96; δ_{C} 47,27; δ_{C} 29,92; δ_{C} 28,89; δ_{C} 20,39 (Figura 34, pág. 99).

O espectro de RMN ^{13}C -APT (CDCl_3 , 125 MHz) mostrou 14 sinais para 15 carbonos, dos quais 5 são de carbonos não hidrogenados em δ_{C} 166,94; δ_{C} 154,82; δ_{C} 150,01; δ_{C} 141,75; e δ_{C} 116,64; 5 sinais para carbonos metínicos em δ_{C} 135,92; δ_{C} 119,11; δ_{C} 106,92; δ_{C} 94,92; δ_{C} 28,90; 2 sinais para carbonos metilênicos em δ_{C} 101,75 e δ_{C} 47,27 e 2 sinais para carbonos metílicos em δ_{C} 56,68 e δ_{C} 20,40 (Figura 35, pág. 100).

O espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (CDCl_3 , 500/125 MHz), mostrou as correlações entre δ_{H} 3,22/ δ_{C} 47,27; δ_{H} 0,95/ δ_{C} 20,39; δ_{H} 1,86/ δ_{C} 28,89 (Figura 37, pág. 102), que aliadas com as correlações apresentadas pelo espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC(CDCl_3 , 500/125 MHz), entre

δ_H 3,22/ δ_C 20,39; δ_C 28,89 e δ_C 166,94; δ_H 1,86/ δ_C 47,27 e δ_C 20,39; δ_H 0,95/ δ_C 47,27; δ_C 28,89 e δ_C 20,39, confirmaram a presença de uma amida isobutílica na estrutura da molécula (Figura 38, pág. 103 e Tabela 08, pág. 96).

Ainda no espectro $^1H \times ^{13}C$ -HSBC($CDCl_3$, 500/125 MHz), podemos notar as correlações entre: δ_H 7,86/ δ_C 135,91; δ_H 6,31/ δ_C 119,11; δ_H 6,95/ δ_C 106,91; δ_H 6,52/ δ_C 94,92; δ_H 5,95/ δ_C 101,75; dos quais aliando aos dados das correlações presentes no HMBC entre: δ_H 7,86/ δ_C 119,11; δ_C 106,91; δ_C 166,94 e δ_C 154,82; δ_H 6,28/ δ_C 135,91; δ_C 116,64; δ_C e δ_C 166,94; δ_H 6,95/ δ_C 135,91, podemos confirmar a presença de uma insaturação do tipo α - β carbonila, assim como atribuir aos δ_C 116,64 e δ_C 106,91 as posições C-1 e C-6 do anel aromático respectivamente. Ainda com base no espectro HMBC com as correlações entre: δ_H 3,81/ δ_C 154,82 e δ_H 5,95/ δ_C 150,01 e δ_C 141,75, podemos atribuir aos δ_C 154,82; δ_C 150,01 e δ_C 141,75, as posições C-2, C-5 e C-4 do anel aromático respectivamente.

Com os dados obtidos dos espectros de Infra vermelho e RMN 1H e ^{13}C uni e bidimensionais (Tabela 8, pág. 96) em conjunto com os dados da literatura, nos permite sugerir que a substância codificada como Pm-3 trata-se da 2-Prompenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpropil)-(2E), já isolada anteriormente na espécie *Piper mollicomum* Kunth (JARDIM, 2012) (Figura 31).

Figura 31: 2-Prompenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpropil)-(2E).

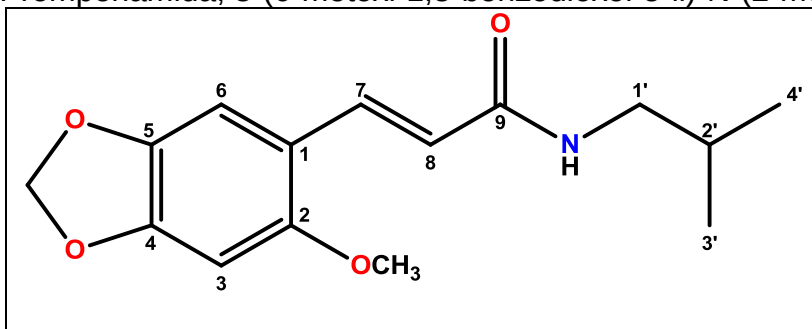


Tabela 6: Dados de RMN ^1H (500MHz), ^{13}C (125MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-3 em comparação com modelo literário (Jardim, 2012).

Posição	HSQC		HMBC		Modelo literário (CDCl_3 , 500 MHz)	
	δ_{C}	δ_{H}	2J	3J	δ_{C}	δ_{H}
1	116,64	-	-	-	116,52	-
2	154,82	-	-	-	154,59	-
3	94,92	6,52(s, 1H)	C-2; C-4	C-5; C-1	94,75	6,49(s, 1H)
4	141,75	-	-	-	141,56	-
5	150,01	-	-	-	149,76	-
6	106,91	6,95(s, 1H)	C-5	C-7; C-2; C-4	106,68	6,92(s, 1H)
7	135,91	7,86(d, 1H; $J=15,7$ Hz)	C-8	C-6; C-9; C-2	135,61	7,79(d, 1H; $J=15,7$ Hz)
8	119,11	6,31(d, 1H; $J=15,7$ Hz)	C-7; C-9	C-1	119,01	6,25(d, 1H; $J=15,7$ Hz)
9	166,94	-	-	-	166,65	-
2-OMe	56,69	3,81(s, 3H)	-	C-2	56,48	3,79(s, 3H)
1'	47,27	3,22(t, 2H)	C-2'	C-4'; C-3'; C-9	47,02	3,18(t, 2H)
2'	28,89	1,86(sep, 1H)	C-1'; C-12; C13	-	28,68	1,81(sep, 1H)
Me-3' e 4'	20,39	0,95(d, 6H)	C-2'	C-1'	20,15	0,92(d, 6H)
N-H	-	5,68(s, 1H)	-	-	-	5,65(s, 1H)
CH₂O₂	101,75	5,95(s, 1H)	-	C-5,C-4	101,50	5,91(s, 1H)

Figura 32: Espectro de Infra Vermelho de Pm-3 em pastilha de KBr.

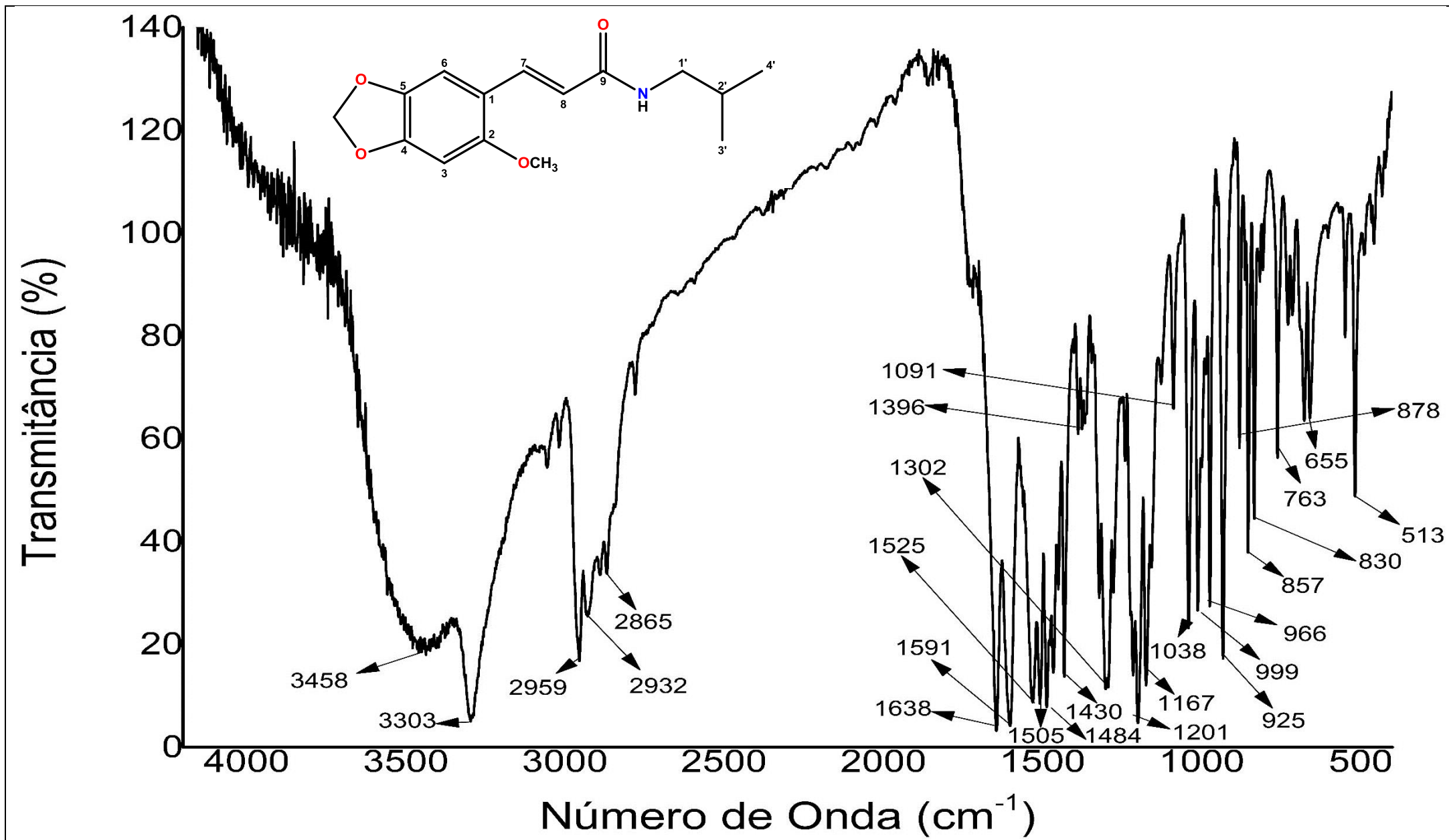


Figura 33: Espectro de RMN ^1H de Pm-3 (CDCl_3 , 500 MHz).

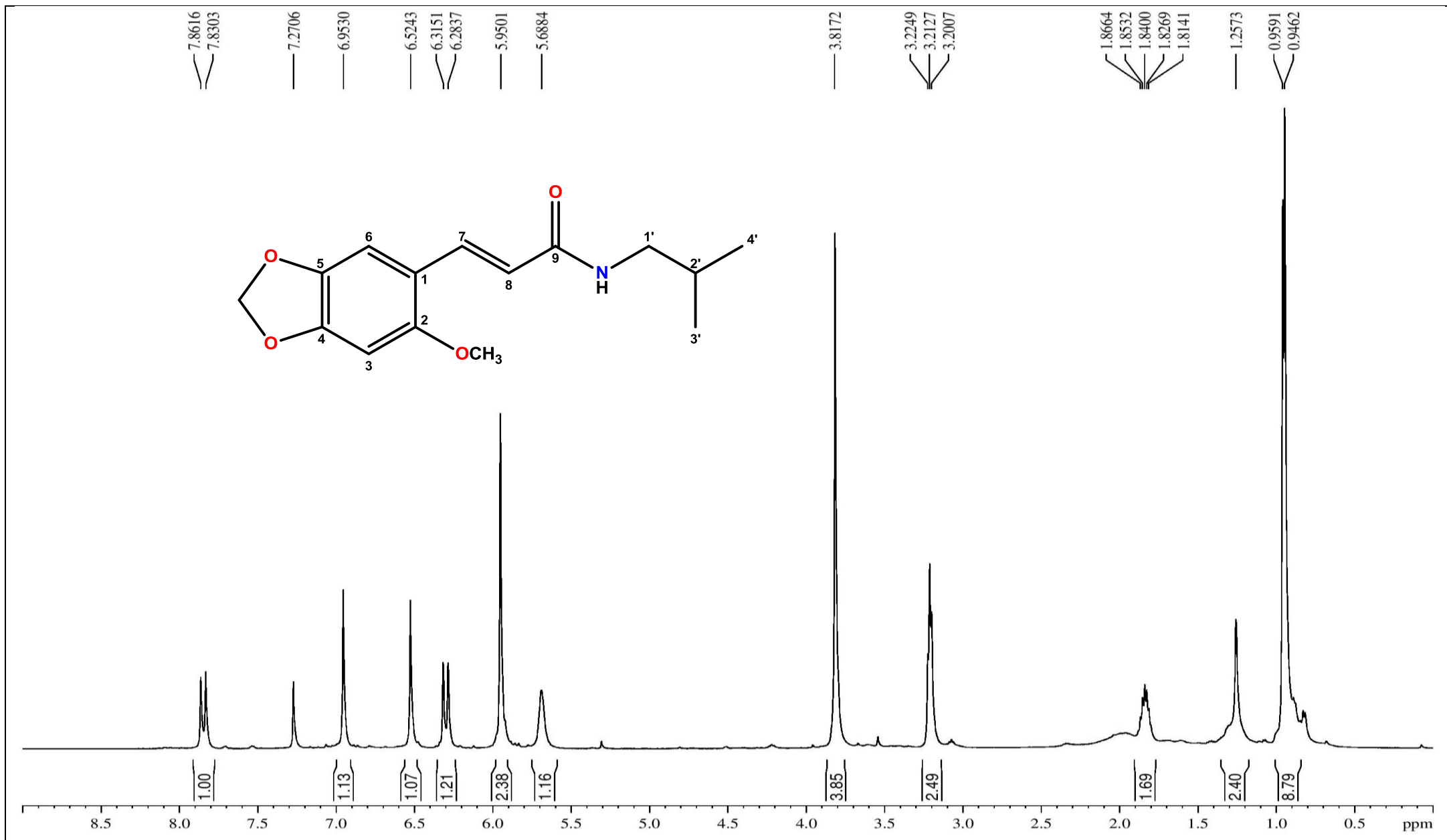


Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-3 (CDCl_3 , 125 MHz).

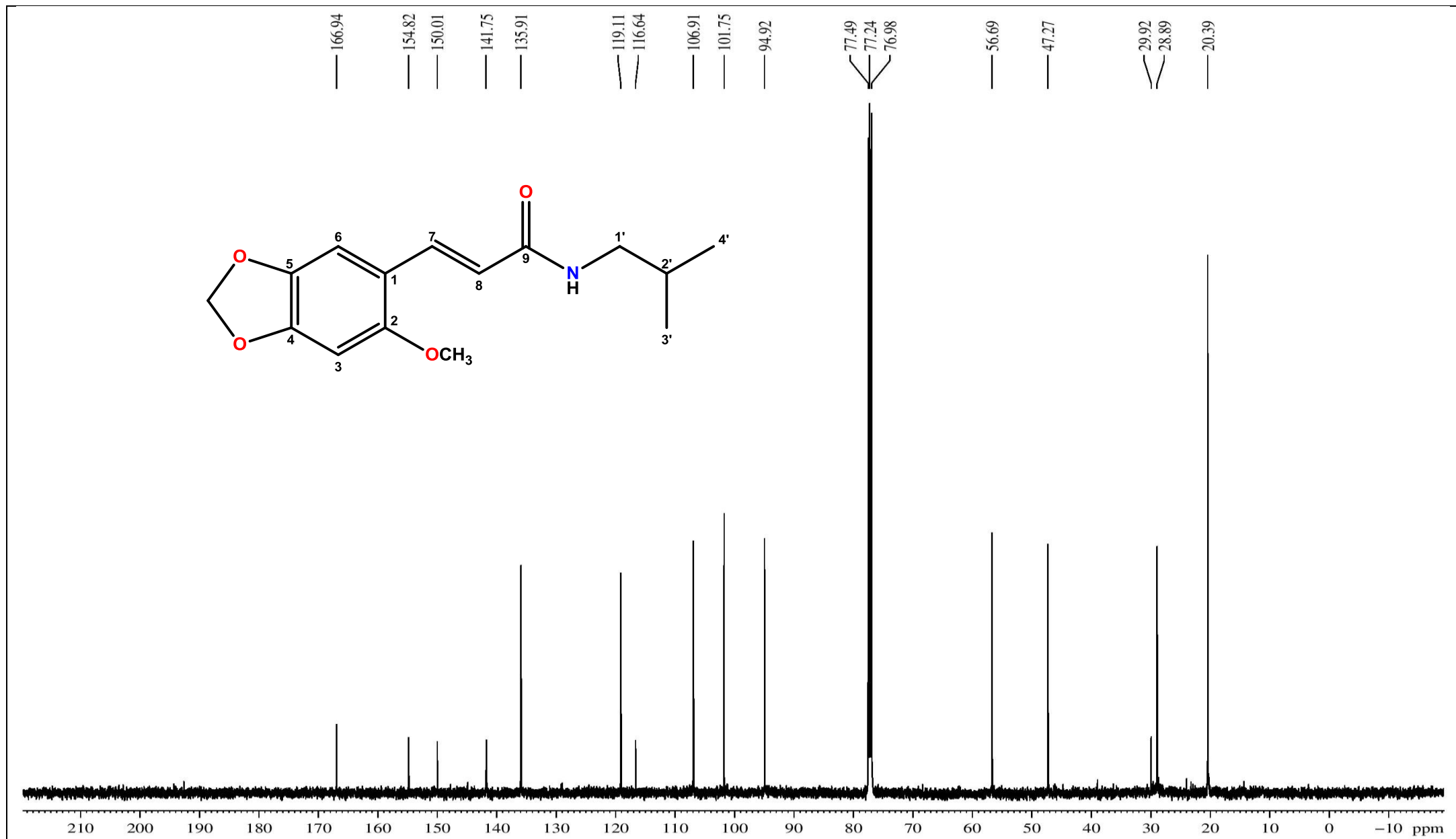


Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-3 (CDCl_3 , 125 MHz).

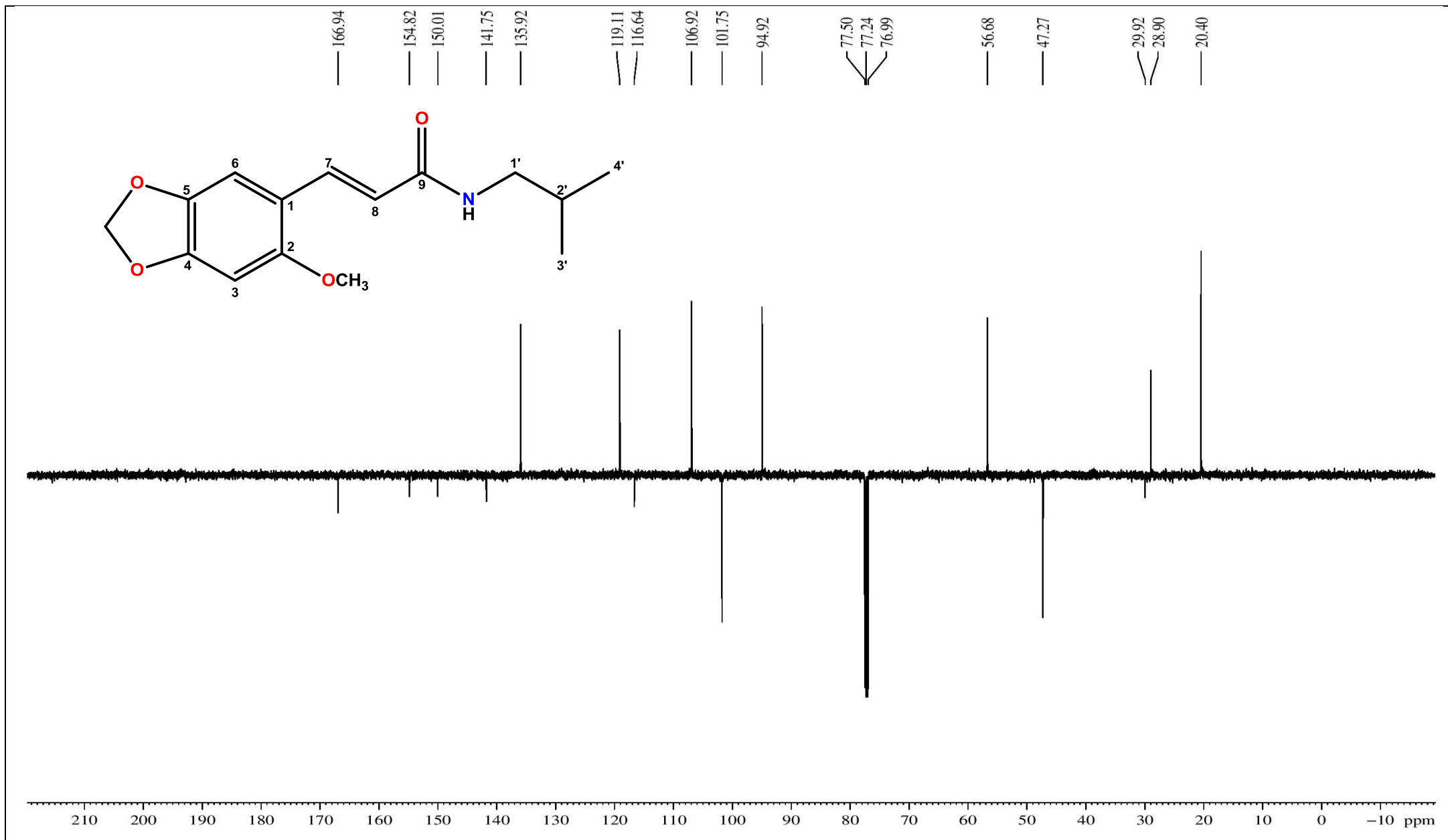


Figura 36: Espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pm-3 (CDCl_3 , 500 MHz).

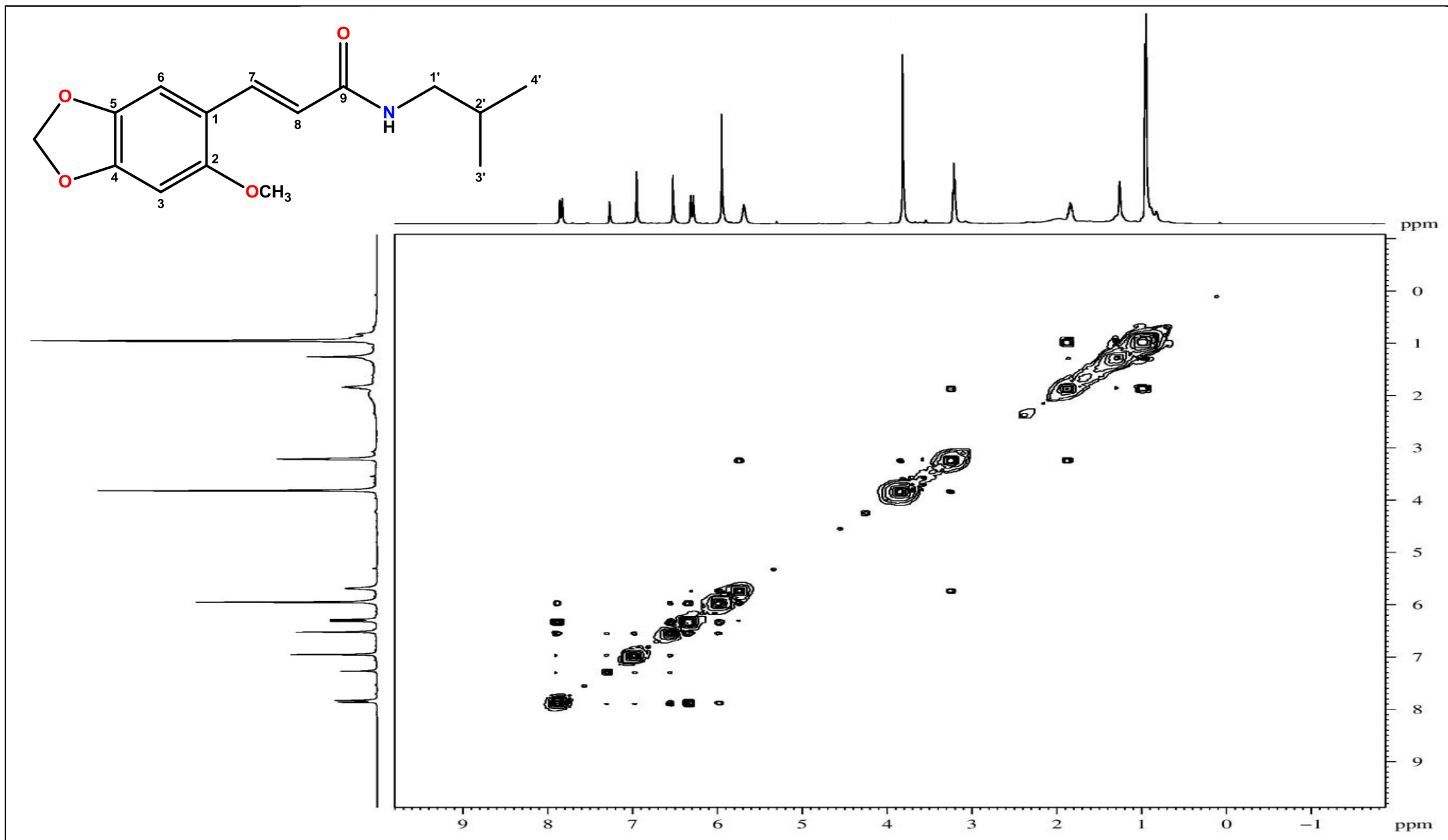


Figura 37: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de Pm-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).

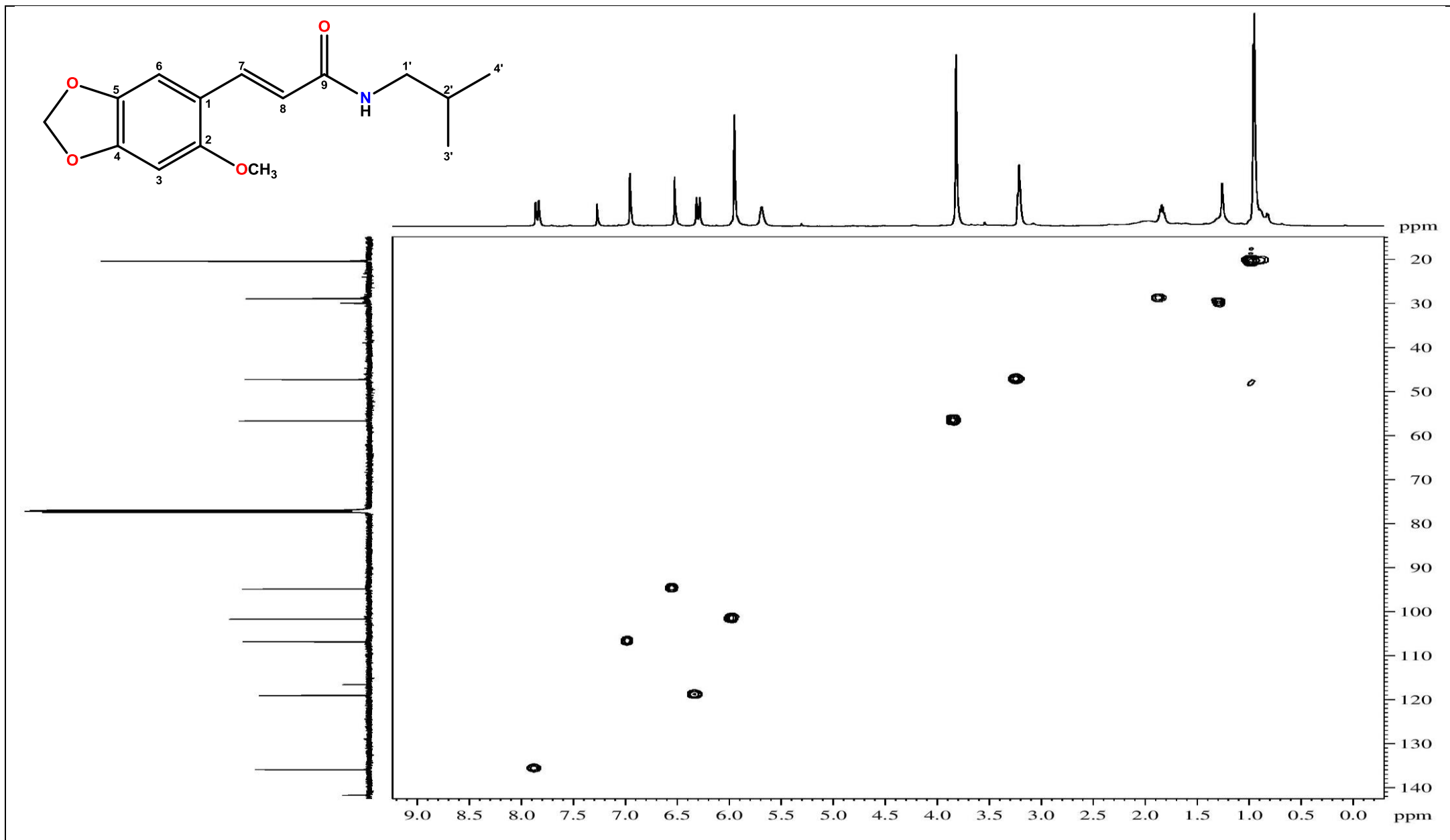
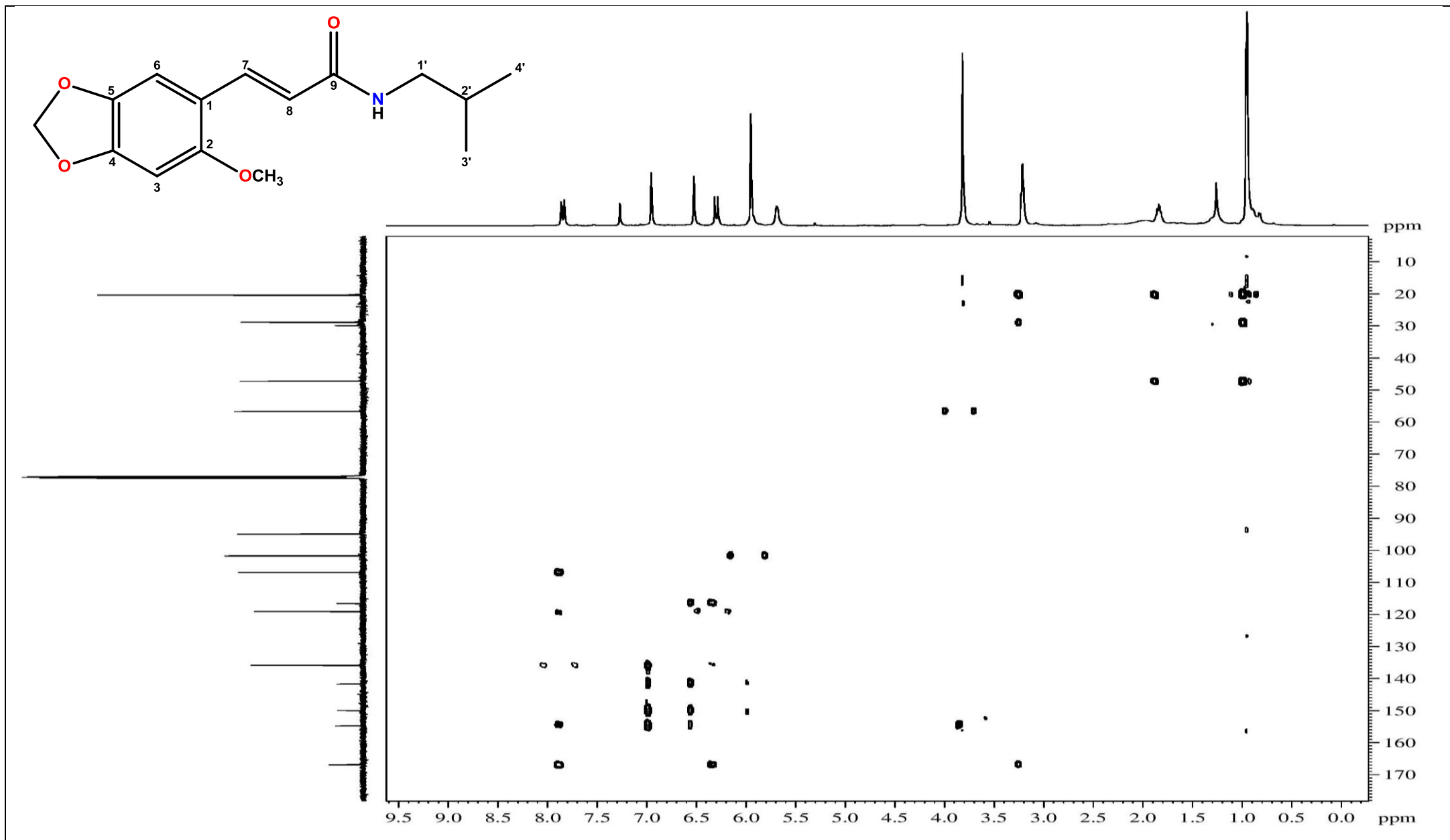


Figura 38: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pm-3 (CDCl_3 , 500/125 MHz).



5.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PM-4

A substância codificada como Pm-4 se apresentou na forma de cristais esbranquiçados com ponto de fusão entre 98,7 - 101,5 °C, sendo completamente solúvel em diclorometano.

No espectro de Infra vermelho de Pm-4 (Figura 40, pág. 107) obtido com pastilhas de KBr, é possível notar uma absorção larga em 3438 cm⁻¹ sugestivo de estiramento O-H, seguido de absorções na região entre 2986 cm⁻¹ e 2831 cm⁻¹ característico de estiramento C-H de carbono sp³. Notamos uma absorção em 1706 cm⁻¹ referente a estiramento de C=O de carbonila de ácido carboxílico, e absorções nas regiões de 1584 cm⁻¹, 1505 cm⁻¹ e 1423 cm⁻¹ característico de estiramento C=C de anel aromático. Temos ainda absorções em 1241 cm⁻¹ e 1025 cm⁻¹ característico de estiramento de ligação C-O de éter fenilalquílico e várias absorções na região entre 857 cm⁻¹ e 648 cm⁻¹ indicando um alto grau de substituição do anel aromático.

O espectro de RMN ¹H foi obtido com clorofórmio deuterado em uma frequência de 500 MHz (CDCl₃, 500MHz), o espectro mostrou a presença de 4 singletos em δ_H 6,46 (s, 2H); δ_H 3,87 (s, 9H); δ_H 2,94 (s, 2H); δ_H 2,71 (s, 2H) (Figura 41, pág. 108), sendo possível sugerir uma estrutura do tipo fenilpropanoide.

No espectro de RMN ¹³C-BB (CDCl₃, 125 MHz) podemos notar a presença de 9 sinais para carbono, onde os 9 sinais correspondem a 12 carbonos, os sinais aparecem em: δ_C 179,04; δ_C 153,41; δ_C ≈137; δ_C 136,12; δ_C 105,44; δ_C 61,01; δ_C 56,25; δ_C 35,91; δ_C 31,17 (Figura 42, pág. 109).

O espectro de ¹³C-APT (CDCl₃, 125 MHz) mostrou 9 sinais que correspondem a 12 carbonos, sendo 4 sinais para 5 carbonos não hidrogenados em: δ_C 178,95; δ_C 153,26 (correspondente a 2C); δ_C 136,6 e δ_C 135,96, sendo o sinal δ_C 178,95 sugestivo de carbonila de ácido carboxílico, 1 sinal que corresponde a 2 carbonos metínicos em: δ_C 105,28; 2 sinais correspondentes a carbono metilênico em: δ_C 35,78 e δ_C 31,02; e 2 sinais que correspondem a 3 carbonos de metoxila em: δ_C 61,09 e δ_C 56,10 (2C) (Figura 43, pág. 110).

O espectro bidimensional heteronuclear ¹H x ¹³C-HSQC (CDCl₃, 500/125 MHz), de correlação heteronuclear direta entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos, notamos as correlações entre: δ_H 3,87/ δ_C 56,25 e δ_H 3,85/ δ_C 61,01, com isso podemos confirmar a presença de 3 metoxilas ligadas ao anel aromático sendo 2 nas posições meta e 1 na posição para. Ainda temos as correlações em: δ_H 6,46/ δ_C 105,44; δ_H 2,94/ δ_C 31,17 e δ_H 2,71/ δ_C 35,91 (Figura 45, pág. 112).

No espectro de HSQC (CDCl₃, 500/125 MHz), ainda foram observados correlações de hidrogênios metilênicos com seus respectivos carbonos em: δ_H 2,94/ δ_C 35,91 e δ_H 2,71/ δ_C 31,17. As correlações a longa distância vista no HMBC mostrou acoplamento do δ_H 2,94/ δ_C 35,91, δ_C 105,44, δ_C 136,12 e δ_C 179,04 e do δ_H 2,71/ δ_C 31,17, δ_C 136,12 e δ_C 179,04, o que permite afirmar que δ_H 2,94 e δ_H 2,71 são hidrogênios das posições C-7 e C-8, e atribuir os sinais de carbono δ_C 31,17, δ_C 35,91 para as posições C-7 e C-8, assim como a carbonila δ_C 179,04 para a posição C-9.

O espectro bidimensional heteronuclear ¹H x ¹³C-HMBC (CDCl₃, 500/125 MHz), mostrou a correlação a duas ligações do δ_H 6,46/ δ_C 135,96, e a três ligações δ_H 6,46/ δ_C 136,12, confirmando δ_H 6,46 para as posições C-2 e C-6 e, sugerindo δ_C 136,12 e δ_C 135,96 para as posições C-1 e C-4, respectivamente. Ainda no espectro de HMBC com base nas correlações δ_H 3,87/ δ_C 153,41 e δ_H 3,85/ δ_C 135,96

podemos afirmar que δ_c 135,96 está na posição C-4 e δ_c 153,41 estão nas posições C-3 e C-5 respectivamente (Figura 46, pág. 113).

Com base nos dados obtidos a partir dos espectros de Infra Vermelho e de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (Tabela 9, pág. 106), juntamente com a comparação de dados da literatura, podemos sugerir que substância codificada como Pm-4 se trata do ácido 3,4,5-trimetoxifenil-propanóico (Figura 39), isolado anteriormente nas espécies *Piper arboreum* (COSTA, 2015), *Piper tuberculatum* (FERREIRA, et al., 2010) e *Piper longum* (DAS et al., 1996).

Figura 39: Ácido 3,4,5-trimetoxifenil-propanóico.

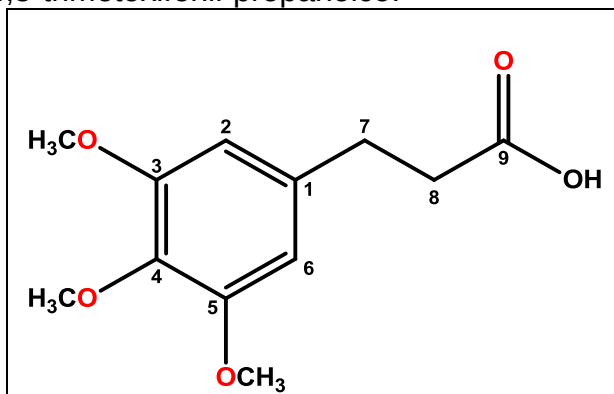


Tabela 7: Dados de RMN ^1H (500MHz), ^{13}C (125MHz) e correlações entre sinais de ^1H x ^{13}C de Pm-4 em comparação com modelo literário (Costa, 2015).

HSQC			HMBC		Modelo literário (CDCl_3 , 500/125 MHz)	
Posição	δ_{C}	δ_{H}	2J	3J	δ_{C}	δ_{H}
1	136,52	-	-	-	135,9	-
2	108,98	6,46(s, 1H)	C-1	C-4-; C-6; C-7	105,3	6,40(s, 1H)
3	153,26	-	-	-	153,2	-
4	135,96	-	-	-	136,6	-
5	153,26	-	-	-	153,2	-
6	108,98	6,46(s, 1H)	C-1	C-2; C-4; C-7	105,3	6,40(s, 1H)
7	35,78	2,95(t, 2H; $J=15,7$ Hz)	C-1; C-8	C-2; C-6; C-9	31,0	2,88(t, 2H; $J=7,8$)
8	29,71	2,73(t, 2H; $J=15,7$ Hz)	C-7,C-9	C-1	35,7	2,66(t, 2H; $J=7,8$ Hz)
9	178,95	-	-	-	178,9	-
3-OMe	56,16	3,87(s, 3H)	-	C-3	56,1	3,82(s, 3H)
4-OMe	61,14	3,85(s, 3H)	-	C-4	60,8	3,80(s, 3H)
5-OMe	56,16	3,87(s, 3H)	-	C-5	56,1	3,82(s, 3H)

Figura 40: Espectro de Infra Vermelho de Pm-4 em pastilha de KBr.

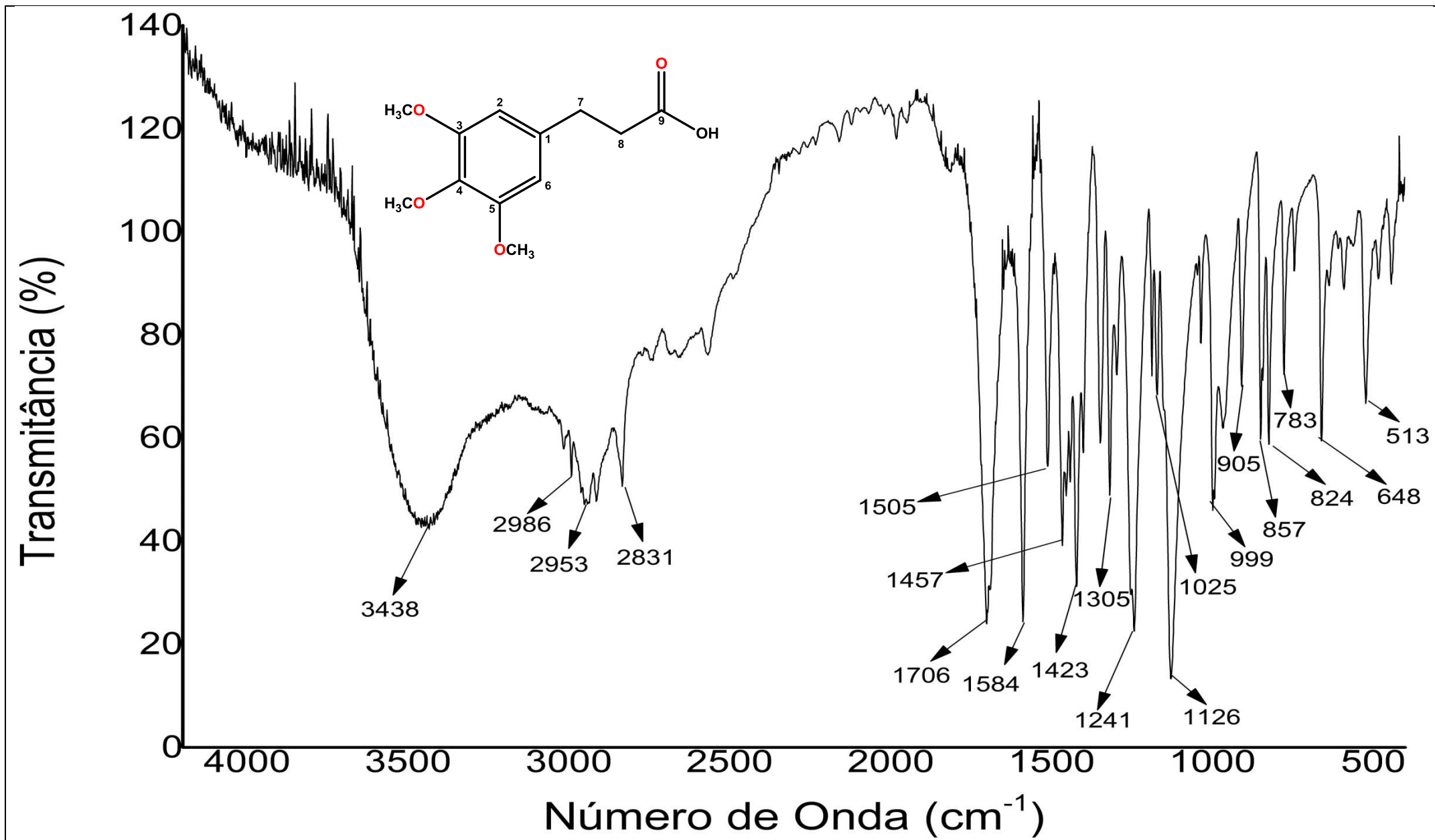


Figura 41: Espectro de RMN ^1H de Pm-4 (CDCl_3 , 500 MHz).

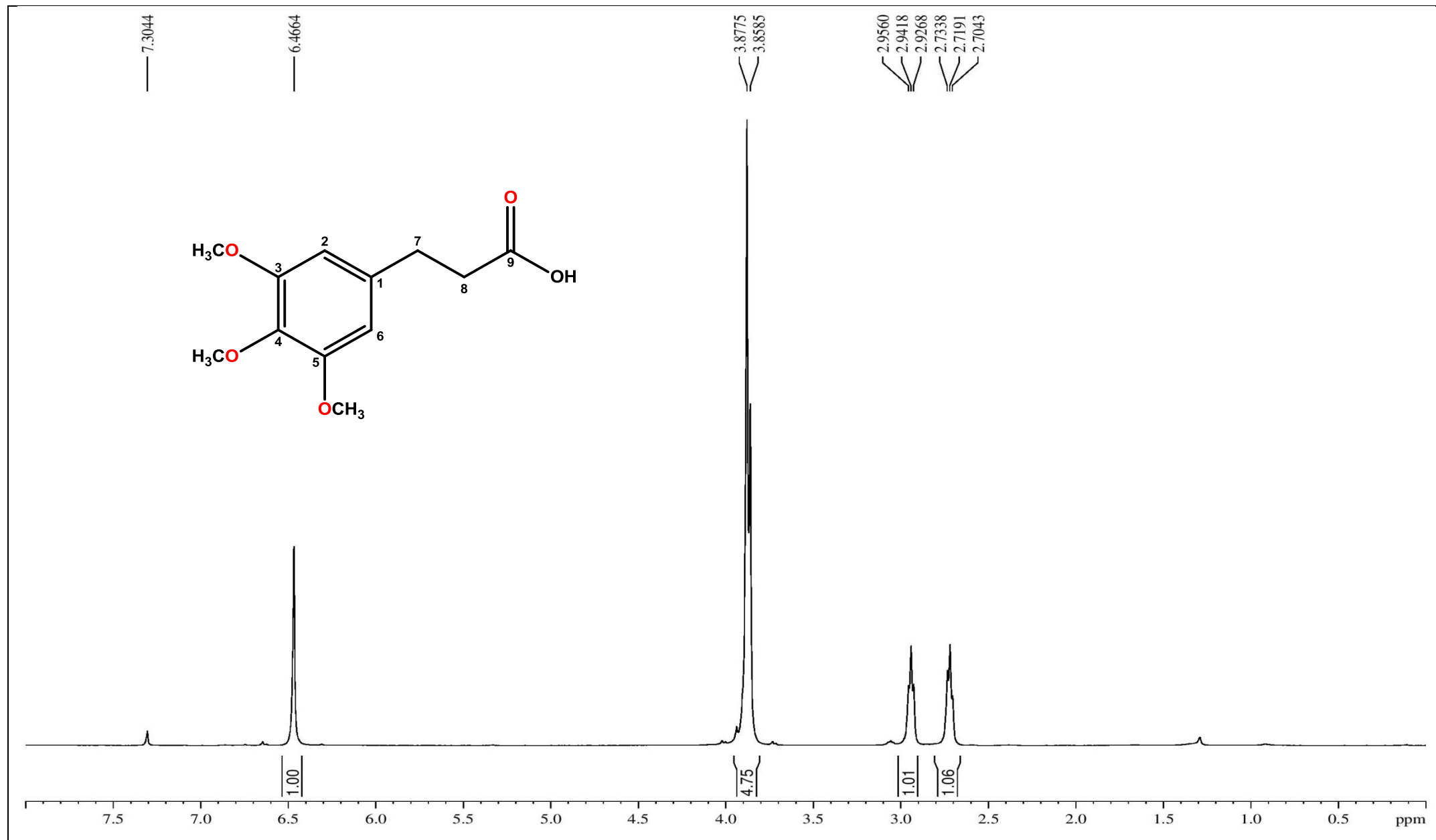


Figura 42: Espectro de RMN ^{13}C -BB de Pm-4 (CDCl_3 , 125 MHz).

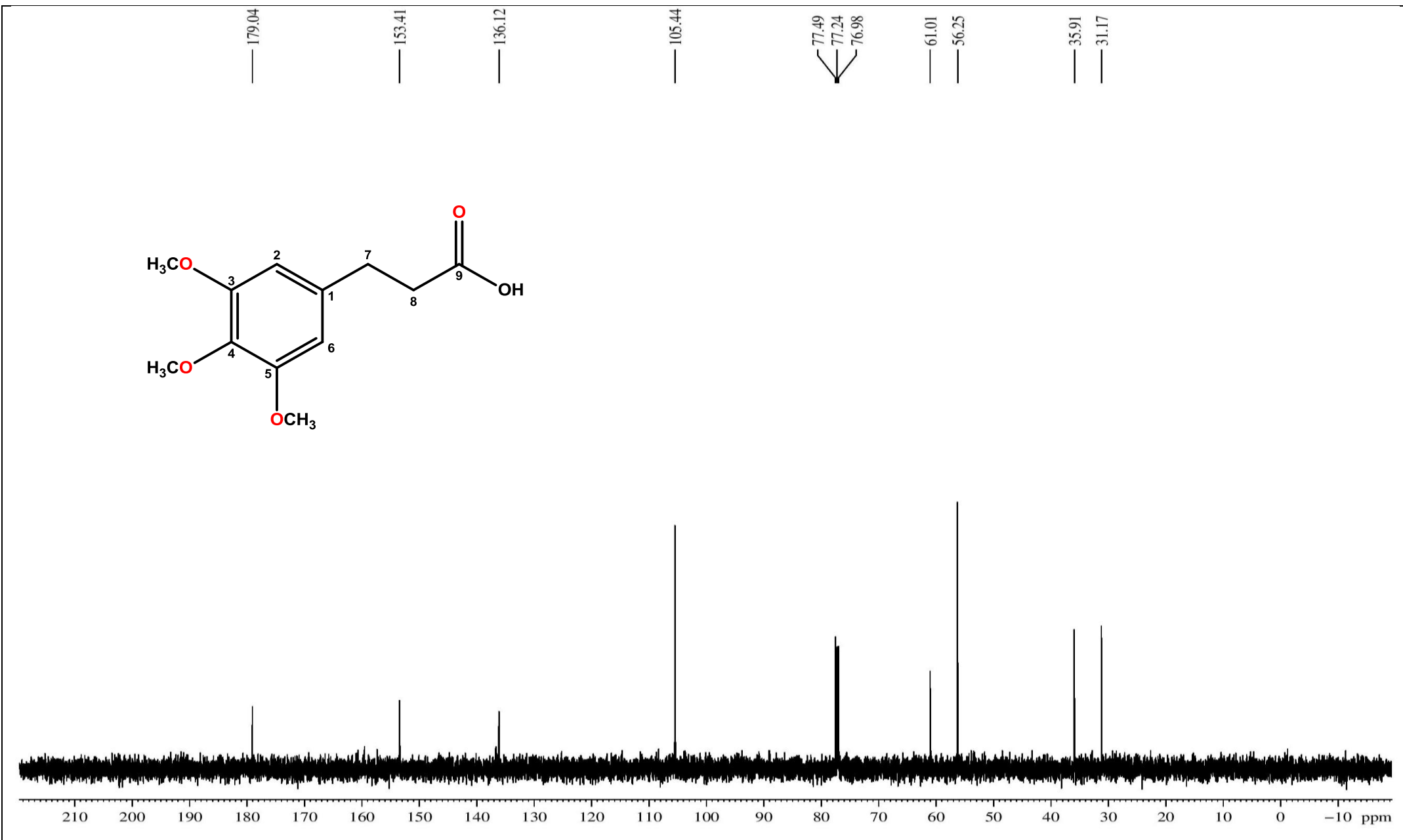
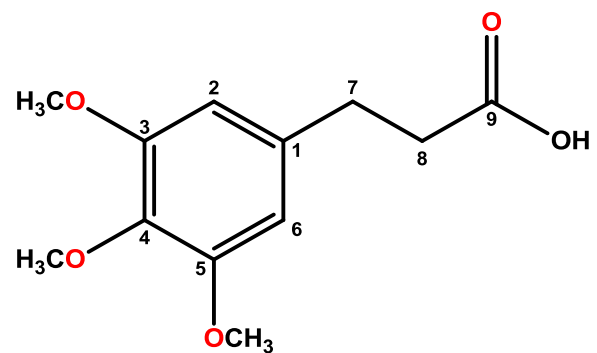


Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pm-4 (CDCl_3 , 125 MHz).

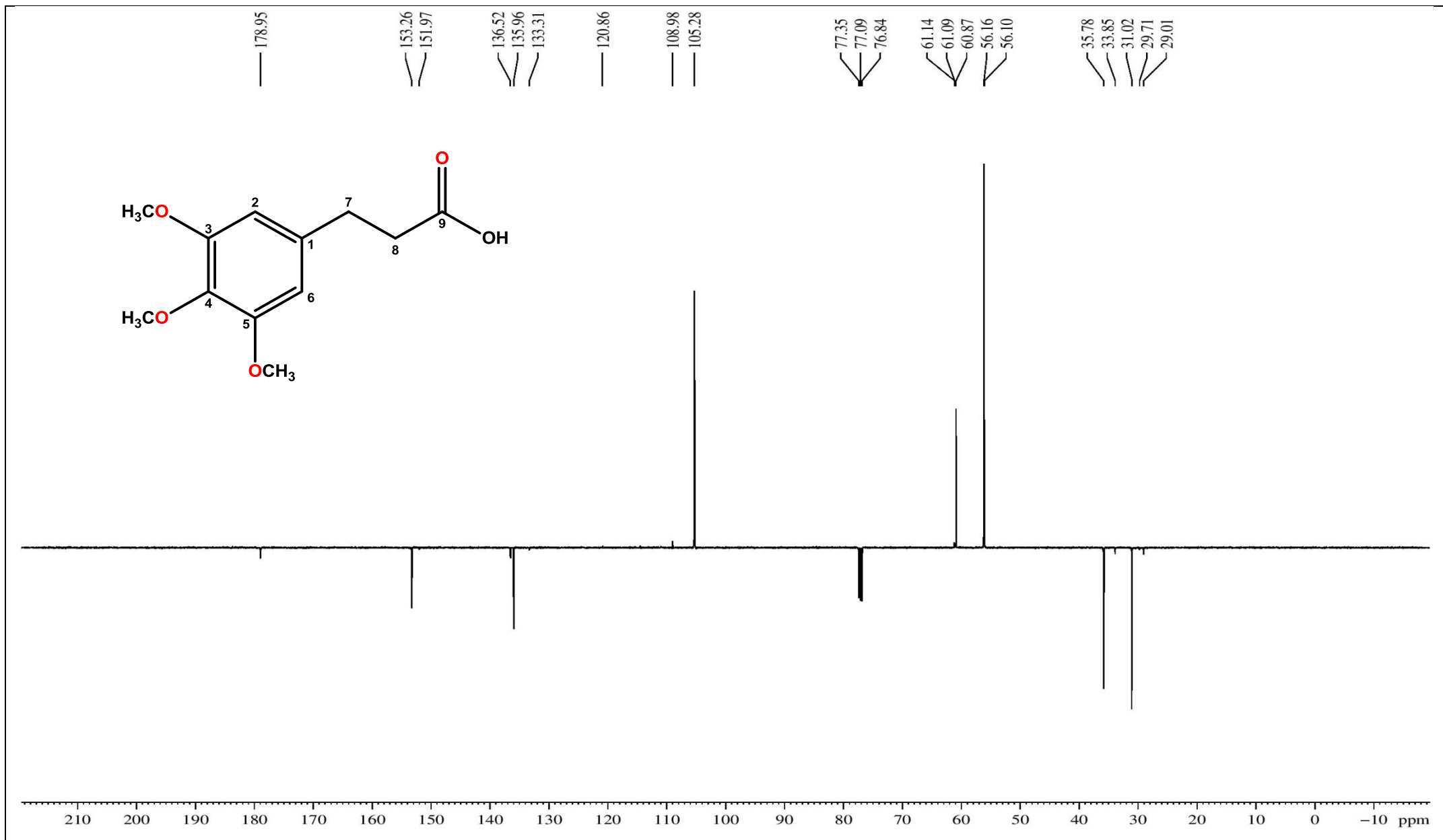


Figura 44: Espectro bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY de Pm-3 (CDCl_3 , 500 MHz).

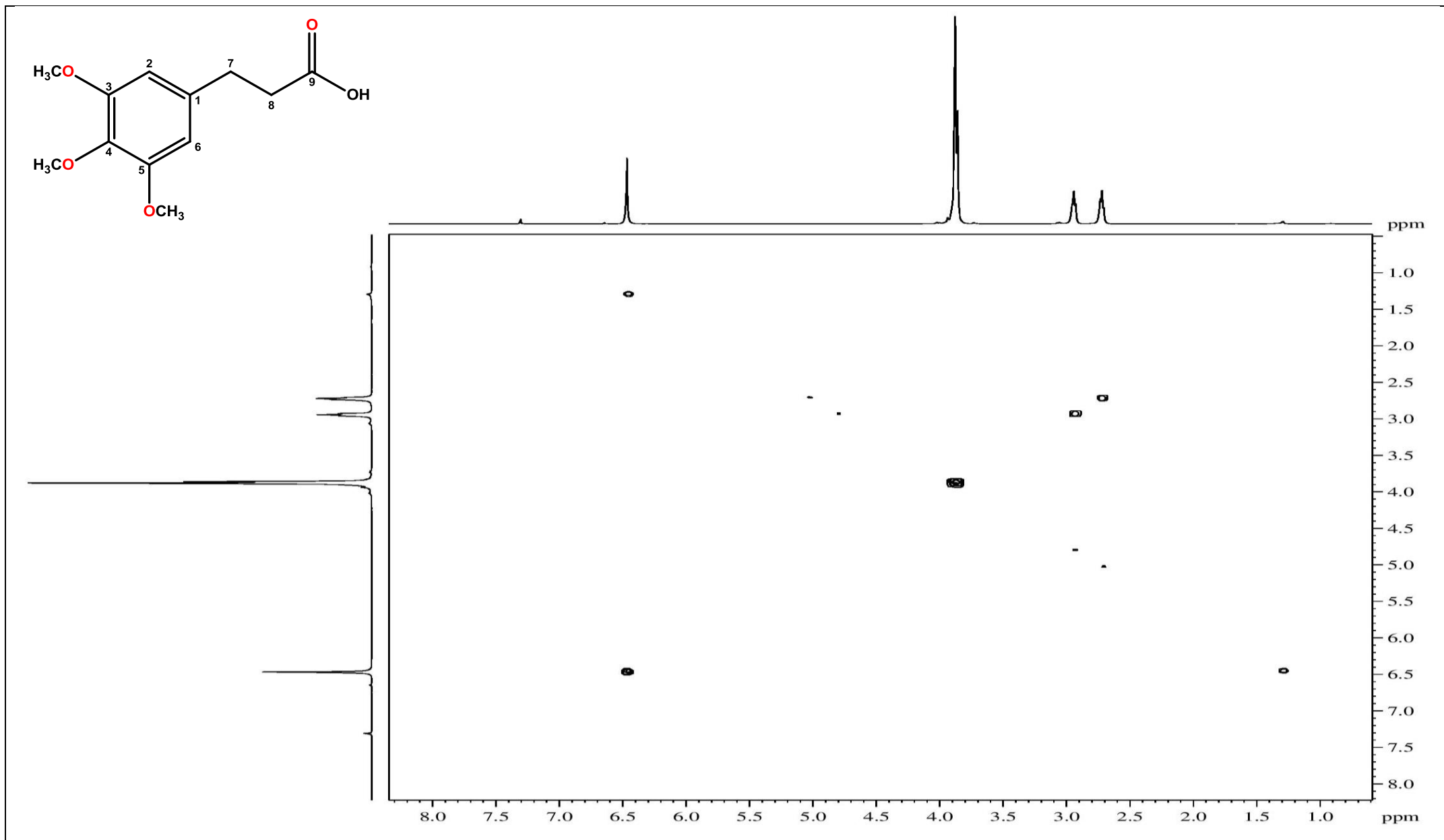


Figura 45: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC de Pm-4 (CDCl_3 , 500/125 MHz).

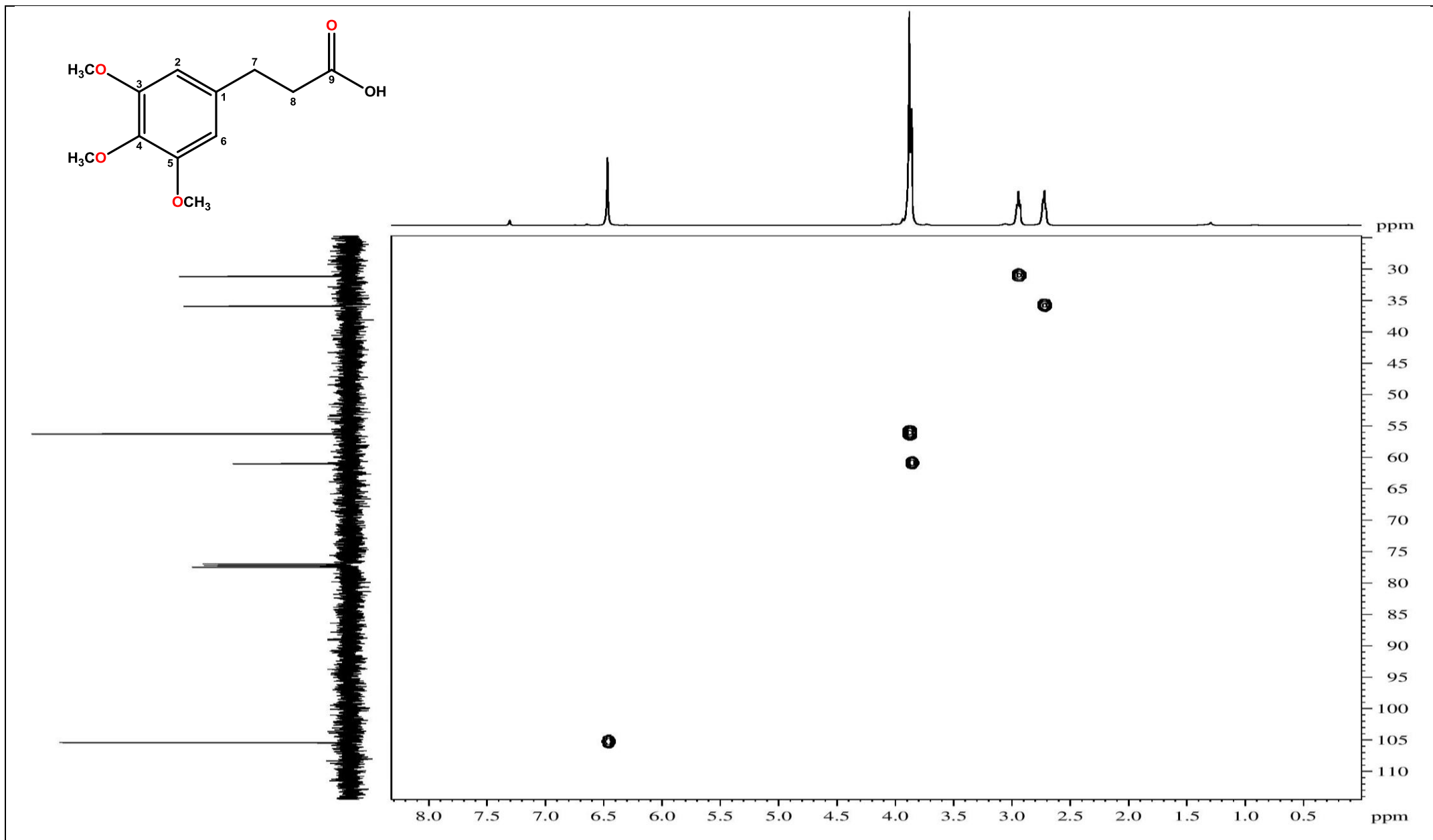
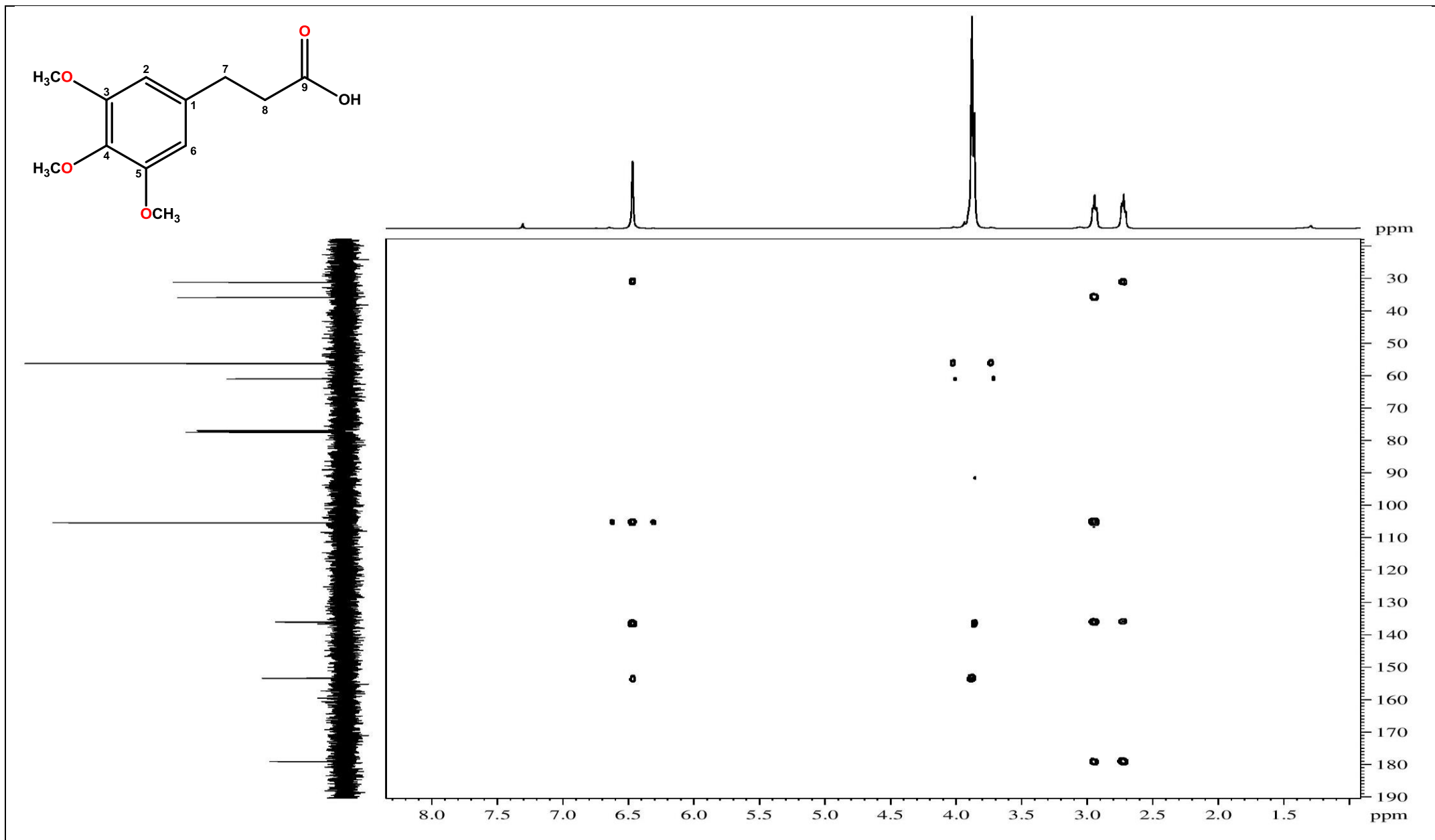


Figura 46: Espectro bidimensional heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC de Pm-4 (CDCl_3 , 500/125 MHz).



5.7 RESULTADO DA AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA

A análise antibacteriana desses compostos mostraram que nenhuma das substâncias testadas foram capazes de inibir o crescimento das linhagens de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. mutans* padrão e de origem clínica até a concentração (300 µg/mL).

Ríos & Recio (2005) colocam que devem ser evitados testes de avaliação de atividade antibiótica com concentrações superiores a 1000 µg/mL para extratos ou 100 µg/mL para substâncias isoladas, sendo consideradas interessantes a detecção deste potencial em concentrações abaixo de 100 µg/mL para extratos e 10 µg/mL para princípios ativos, respectivamente, deixando-se de atribuir atividade positiva para diluições ou concentrações excessivamente altas.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

No estudo fitoquímico das raízes de *Piper mollicomum* kunth, utilizando técnicas cromatográficas usuais e espectroscopia de IV e RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, foi possível isolar e identificar quatro substâncias, sendo elas duas aristolactamas codificadas como Pm-1 e Pm-2 como sendo 10-Metilamina-4-hidroxi-2,3-dimetoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama e 10-Metilamina-4-hidroxi-3-metoxifenantreno-1-ácido carboxílico-lactama, respectivamente, além de um ácido codificado de Pm-4 como sendo o Ácido 3,4,5-trimetoxifenil-propanóico e uma amida isobutílica codificada como Pm-3 identificada como a 2-Prompenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-*N*-(2-metilpropil)-(2*E*). Sendo as três primeiras relatadas pela primeira vez na espécie e essa última já relatada anteriormente em um estudo realizado por (Jardim, 2012).

Perspectivas

7. PERSPECTIVAS

Levando em consideração a riqueza de metabólitos secundários e a variedade estrutural entre as classes encontradas no gênero *Piper*, pretende-se dar continuidade com os estudos e contribuições fitoquímicas com a espécie *Piper mollicomum* Kunth, além de avaliar possíveis outras atividades que seus metabólitos possam ter, a fim de aumentar a riqueza de conhecimento sobre a família Piperaceae.

Por possuir baixos rendimentos em sua biossíntese, pode-se considerar ainda a síntese desses compostos (aristolactamas), a partir de derivados mais simples com baixo custo para aumentar o rendimento na obtenção desses produtos, promovendo uma melhor e mais ampla investigação sobre as análises farmacológicas que essa classe de substâncias pode apresentar.

Com relação à ausência de atividade antibacteriana, estudos posteriores podem ser realizados para avaliar se a ação das substâncias isoladas em conjunto com antibióticos utilizados na clínica pode provocar um efeito sinérgico, podendo diminuir a concentração necessária do antibiótico o que reduziria os possíveis efeitos tóxicos apresentados pelo mesmo. Ainda pode ser avaliada a capacidade inibitória destes compostos frente a outras linhagens bacterianas, podendo ser realizado testes tanto com substâncias isoladas como em misturas para avaliar um possível sinergismo entre elas.

Referências

REFERÊNCIAS

- ALVES, H. S. NOVOS FLAVONÓIDES MONOTERPÊNICOS E OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DE *Piper* (PIPERACEAE), Tese (Doutorado), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2008.
- ALVES, H. S. et al., Atividade antimicrobiana de produtos obtidos de espécies de *Piper* (Piperaceae), Revista Cubana de Plantas Medicinales 2016;21(2):168-180.
- ARAÚJO JUNIOR, J. X.; CHAVES, M. C. de O.; da CUNHA, E. V. L.; GRAY, A. I. Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. Biochemical Systematics and Ecology, v. 27, n. 3, p. 325-327, 1999
- BALDOQUI, Debora Cristina et al. Flavones, lignans and terpene from *Piper umbellata* (piperaceae). Química Nova, v. 32, n. 5, p. 1107-1109, 2009.
- BARDELLI, Karen Cristina; KIRIZAWA, Mizué; SOUSA, Amélia Vera Guimarães de. The genus *Piper* L.(Piperaceae) of microbasin of Sítio Cabuçu-Proguaru Atlantic Rain Forest of Guarulhos, SP, Brasil. Hoehnea, v. 35, n. 4, p. 553-561, 2008.
- BODIWALA, Hardik S. et al. Antileishmanial amides and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. Journal of Natural Medicines, v. 61, n. 4, p. 418-421, 2007.
- BOLL, Per M. et al. Neolignans, cyclohexanes and alkaloids from *Piper wightii*. Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, v. 115, n. 1, p. 9-12, 1996.
- BUNSICKER, K. et al. Growth factors and their implications for the injured brain: regulation and neuroprotective effects of FGFs and TGF- β s in ischemic and other lesion paradigms. Pharmacol Cereb Ischemia, v. 1, p. 229-238, 1992.
- CARDOZO JÚNIOR, Euclides Lara; OLIVEIRA CHAVES, Maria Célia. Caldensin, a new natural N-methylaristolactam from *Piper caldense*. Pharmaceutical biology, v. 41, n. 3, p. 216-218, 2003.
- CHAVES, Maria Célia de Oliveira ; SANTOS, B. V. O. . Constituents from *Piper marginatum* Jacq. fruits. Fitoterapia (Milano, 1934) (Cessou em 1960. Foi fundido com ISSN 1971-5498 Fitoterapia. Edizione Farmaceutica; ISSN 1971-5501 Fitoterapia. Edizione Me, v. 73, p. 547-549, 2002.
- CHAVES, Maria Célia de Oliveira ; SANTOS, B. V. O. ; OLIVEIRA, Agna Hélio de . 1-Cinnamoyl pyrrolidide from *Piper marginatum*. Biochemical Systematics and Ecology, Austrália, v. 31, p. 1213-1214, 2003.
- CHAVES, MC de O.; DE F JÚNIOR, A. G.; DE O SANTOS, B. V. Amides from *Piper tuberculatum* fruits. Fitoterapia, v. 74, n. 1-2, p. 181-183, 2003.
- CHAVES, M. C. O.; OLIVEIRA, A. H.; SANTOS, B. V. O. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq (Piperaceae). Biochemical Systematics and Ecology, v. 34, n. 1, p. 75-77, 2006.

CHEN, Yu-Chang et al. A new aristolactam alkaloid and anti-platelet aggregation constituents from *Piper taiwanense*. *Planta medica*, v. 70, n. 02, p. 174-177, 2004.

CHEN, Yu-Chang; LIAO, Chang-Hui; CHEN, Ih-Sheng. Lignanas, uma amida e atividades antiplaquetárias de *Piper philippinum*. *Fitoquímica*, v. 68, n. 15, p. 2101-2111, 2007.

CHEN, S.; HUANG, H.-Y.; CHENG, M.-J.; WU, C.-C.; ISHIKAWA, T.; PENG, C.-F.; CHANG, H.-S.; WANG, C.-J.; WONG, S.-L.; CHEN, I.-S. Neolignans and phenylpropanoids from the roots of *Piper taiwanense* and their antiplatelet and antitubercular activities. *Phytochemistry*, v. 93, p. 203-209. 2013.

CHOI, Young Lok et al. Synthesis of aristolactam analogues and evaluation of their antitumor activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, v. 19, n. 11, p. 3036-3040, 2009.

COSTA, J. I. V. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *PIPER ARBOREUM* AUBLET (PIPERACEAE); Dissertação (Mestrado), Universidade Federal da Paraíba, João pessoa-PB, 2011.

COSTA, J. I. V. ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS E CAULE DE *Piper arboreum* AUBLET (PIPERACEAE); Tese (Doutorado), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2015.

DANELUTTE, Ana P. et al. Divergence of secondary metabolism in cell suspension cultures and differentiated plants of *Piper cernuum* and *P. crassinervium*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16, n. 6B, p. 1425-1430, 2005.

DAS, B.; KASHINATHAM, A.; SRINIVAS, K. V. N. S. Alkamides and other constituents of *Piper longum*. *Planta Medica*, v. 62(6), p. 582, 1996.

DE ARAÚJO JÚNIOR, João Xavier et al. Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. *Biochemical systematics and ecology*, v. 27, n. 3, p. 325-327, 1999.

DE ARAÚJO-JÚNIOR, João X. et al. Cardiovascular effects of two amides (Piperine and Piperdardine) isolated from *Piper tuberculatum* Jacq. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, p. 265-274, 2011.

DELGADO, Wilman; AVELLA, Eliseo; DE DÍAZ, Aura MP. Alcaloides bencilisoquinolínicos del tallo de *piper augustum* rudge. *Revista Colombiana de Química*, v. 27, n. 1, p. 12-21, 1998.

DE OLIVEIRA CHAVES, M. C.; DE OLIVEIRA SANTOS, B. V.; DE OLIVEIRA, A. H. 1-cinnamoyl pyrrolidide from *Piper marginatum*. *Biochemical systematics and ecology*, v. 10, n. 31, p. 1213-1214, 2003.

DE OLIVEIRA CHAVES, Maria Célia; DE OLIVEIRA, Agna Hélia; DE OLIVEIRA SANTOS, Bárbara Viviana. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq (Piperaceae). *Biochemical systematics and ecology*, v. 1, n. 34, p. 75-77, 2006.

DE O SANTOS, Bárbara Viviana et al. Phenylalkanoids from *Piper Marginatum* fn2. *Phytochemistry*, v. 49, n. 5, p. 1381-1384, 1998.

DE SANTOS, B. V. O.; DE CHAVES, M. C. O. (E, E)-N-Isobutyl-2, 4-octadienamide from *Piper marginatum*. *Biochemical systematics and ecology*, 1999.

DE SOUZA, Stefânia P. et al. Chemical composition and antinociceptive activity of the essential oil of *Piper mollicomum* and *Piper rivinoides*. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 8, n. 22, p. 788-793, 2014.

DELGADO A, W.; AUVELLA M., E.; DE DIAZ, A. M. P. Benzylisoquinoline alkaloids from the stem of *Piper augustum* RUDGE. *Revista Colombiana de Química*, v. 27, n. 1, p. 13-21, 1998.

DESAI, S. J.; CHATURVEDI, R. N.; BADHEKA, L. P.; MULCHANDANI, N. B. Aristolactams and 4, 5-dioxoaporphines from Indian *Piper* species. *Indian Journal of Chemistry section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, v. 28, n. 9, p. 775-777, 1989.

DESAI, Sanjay J.; CHATURVEDI, Rohit; MULCHANDANI, Newand B. Piperolactam D, a new aristolactam from Indian *Piper* species. *Journal of Natural Products*, v. 53, n. 2, p. 496-497, 1990.

DESAI, Sanjay J.; PRABHU, Bharathi R.; MULCHANDANI, Newand B. Aristolactams and 4, 5-dioxoaporphines from *Piper longum*. *Phytochemistry*, v. 27, n. 5, p. 1511-15, 1988.

DEWICK, P. M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. 3rd ed. Chichester: Wiley & Sons, 2009. 539 p.

DHARMARATNE, H. Ranjith W.; NANAYAKKARA, NP Dhammika; KHAN, Ikhlas A. Kavalactones from *Piper methysticum*, and their ¹³C NMR spectroscopic analyses. *Phytochemistry*, v. 59, n. 4, p. 429-433, 2002.

Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2nd ed. São Paulo: UNESP; 2002.

DODSON, C. D.; DYER, L. A.; SEARCY, J.; WRIGHT, Z.; LETOUNEAU, D. K. Cenocladamide, a dihydropyridone alkaloid from *Piper cenocladum*. *Phytochemistry*, v. 53(1), p. 51-54, 2000.

DOS SANTOS, Paulo Roberto Dias et al. Essential oil analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest. *Phytochemistry*, v. 58, n. 4, p. 547-551, 2001.

DOSSEAU, S. AÇÃO REGULADORA DE ELICIADORES NAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS, ECOFISIOLÓGICAS, ANATÔMICAS E NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper mollicomum* Kunth, Tese (Doutorado), Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2013.

DYER, Lee A.; PALMER, Aparna DN (Ed.). Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution. New York: Kluwer academic/Plenum publishers, 2004.

EBENSO, E. E.; EDDY, N. O.; ODIONGENYI, A. O. Corrosion inhibitive properties and adsorption behaviour of ethanol extract of *Piper guinensis* as a green corrosion inhibitor for mild steel in H₂SO₄. African Journal of Pure and Applied Chemistry, v. 2, n. 11, p. 107-115, 2008.

EE, G. C. L.; LIM, S. K.; LIM, C. M.; DZULKEFLY, K. Alkaloids and carboxylic acids from *Piper nigrum*. Asian Journal of Chemistry, v. 20, n. 8, p. 5931-5940, 2008.

FAZOLIN, M. et al. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *piper hispidinervum* C. DC.; *piper aduncum* L. e *tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120, jan./fev. 2005.

FENG, Y.; YANG, S.; WANG, Y.; FAN, M.; LUO, X.; RAO, Y.; ZHANG, X.; QIAN, X. Extraction method of total alkaloids from Chinese medicine Piper. Faming Zhuanli Shengqing, CN 101401850 A 20090408, 2009.

FERREIRA, Maria Goretty PR et al. Antileishmanial activity of 3-(3, 4, 5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian *Piper tuberculatum* Jacq., Piperaceae, fruits. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 6, p. 1003-1006, 2010.

FERREIRA, W. S.; FRANKLIM, T. N.; LOPES, N. D.; LIMA, M. E. F. Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como Antiparasitários. Revista Virtual de Química, v. 4(3), p. 208-224, 2012.

GERHARDT, P. editor-in-chief; MURRAY, R.G.E.; WOOD, W.A.; KRIEG, N.R. Methods for general and molecular bacteriology, Washington. **American Society for Microbiology**, p. 791, 1994.

GHOSH, K.; BHATTACHARYA, T. Chemical constituents of Piper betle Linn.(Piperaceae) roots. Molecules, v. 10, n. 7, p. 798-802, 2005.

GREIG, N. Introduction. In: DYER, L.A.; PALMER, A.D.N., orgs. Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 2004. p. 1-4.

GUIMARÃES, Elsie Franklin; GIORDANO, Luiz Carlos da Silva. Piperaceae do Nordeste brasileiro I: estado do Ceará. Rodriguésia, v. 55, n. 84, p. 21-46, 2004.

Guimarães, E.F. & Valente, M.C. 2001. Piperaceae - Piper. In: R. Reitz (ed.). Flora Ilustrada Catarinense, Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí.

HEGDE, Vinod R. et al. Semi-synthetic aristolactams-inhibitors of CDK2 enzyme. Bioorganic & medicinal chemistry letters, v. 20, n. 4, p. 1384-1378, 2010.

HEMATPOOR, Arshia et al. Inhibition and larvicidal activity of phenylpropanoids from *Piper sarmentosum* on acetylcholinesterase against mosquito vectors and their binding mode of interaction. PloS one, v. 11, n. 5, p. e0155265, 2016.

HERRMANN, Klaus M.; WEAVER, Lisa M. The shikimate pathway. Annual review of plant biology, v. 50, n. 1, p. 473-503, 1999.

HOLZBACH, Juliana Cristina. Aristolactamas e alcanoidas isoladas de *Aristolochia gigantea* Mart. 2011.

JARAMILLO, M. Alejandra; MANOS, Paul S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). American Journal of Botany, v. 88, n. 4, p. 706-716, 2001.

JARDIM, J. U. G. Estudo fitoquímico das raízes de *Piper mollicomum* Kunth. 2012. 174 f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

JACOBS, Helen et al. Amides of *Piper amalago* var. *nigrinodum*. ChemInform, v. 31, n. 40, p. no-no, 2000.

JAMIESON, D. D. et al. Comparison of the central nervous system activity of the aqueous and lipid extract of kava (*Piper methysticum*). Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie, v. 301, p. 66-80, 1989.

JARAMILLO, M. Alejandra et al. A phylogeny of the tropical genus *Piper* using ITS and the chloroplast intron psbJ–petA. Systematic Botany, v. 33, n. 4, p. 647-660, 2008.

KIM, H. J. et al. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, Easton, v. 53, n. 9, p. 3696-701, Sept. 2005.

KIM, Ki Hyun et al. The chemical constituents of *Piper kadsura* and their cytotoxic and anti-neuroinflammatory activities. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, v. 26, n. 2, p. 254-260, 2011.

KIM, Joa Kyum et al. Total Synthesis of Aristolactams via a One-Pot Suzuki–Miyaura Coupling/Aldol Condensation Cascade Reaction. Organic letters, v. 10, n. 16, p. 3543-3546, 2008.

KIM, So Ra et al. Aristolactam BII of *Saururus chinensis* attenuates glutamate-induced neurotoxicity in rat cortical cultures probably by inhibiting nitric oxide production. Planta medica, v. 70, n. 05, p. 391-396, 2004.

- KIM, Y. S. et al. Adventitious root growth and ginsenoside accumulation in *Panax ginseng* cultures as affected by methyl jasmonate. *Biotechnology Letters*, Dordrecht, v. 26, n. 21, p. 1619-1622, Nov. 2004.
- KIM, H. J. et al. Effect of methyl jasmonate on secondary metabolites of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 54, n. 6, p. 2327-2332, June 2006.
- KIM, O. T. et al. Upregulation of ginsenoside and gene expression related to triterpene biosynthesis in ginseng hairy root cultures elicited by methyl jasmonate. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v. 98, n. 4, p. 25-33, 2009.
- KUMAR, Vineet et al. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxoaporphines and their biological activities. *Natural product reports*, v. 20, n. 6, p. 565-583, 2003.
- KUTCHAN, Toni M. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Plant physiology*, v. 125, n. 1, p. 58-60, 2001.
- LAGO, João Henrique G. et al. Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *P. lhotzkyanum* (Piperaceae). *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1222-1224, 2007.
- LANDOLINO, A. B.; COOK, D. R. Phenylpropanoid metabolism in plant: biochemistry, functional biology, and metabolic engineering. In: FRAGA, C. G. (Ed.). *Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition, and pharmacology*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2010. Chap. 21, p. 489-563.
- LANGE, Gordon L. et al. An N-methyl aristolactam and an oxygenated cyclohexane derivative from *Piper ribesioides*. *Phytochemistry*, v. 31, n. 7, p. 2397-2400, 1992.
- LI, C.-Y.; TSAI, W.-J.; DAMU, A. G.; LEE, E.-J.; WU, T.-S.; DUNG, N. X.; THANG, T. D.; THANH, L. Isolation and Identification of Antiplatelet Aggregatory Principles from the Leaves of *Piper lolot*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 23, p. 9436-9442, 2007.
- LI, J. J.; CORE, E. J. *Name Reactions of Functional Group Transformations*. Wiley, John and Sons, 2007.
- LIN, C.F.; HWANG, T. L.; CHIEN, C. C.; TU, H. Y.; LAY, H. L. A new hydroxychavicol dimer from the roots of *Piper betle*. *Molecules*, v. 18, n. 3, p. 2563-2570, 2013.
- LIN, L. C.; SHEN, C. C.; SHEN, Y. C.; TSAI, T. H. Anti-inflammatory neolignans from *Piper kadsura*. *Journal of Natural Products*, v. 69, n. 5, p. 842-844, 2006.
- LISTER, I. N. E. et al. Antimicrobial activities of methanol extract of Sirih Merah (*Piper crocatum* L.) leaf. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, v. 6, n. 12, p. 650-654, 2014.
- LIU, W.; JIANG, Z.; CHEN, J.; ZHANG, X.; MA, Y. Chemical constituents from *Piper longum*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, v. 34, n. 22, p. 2891-2894, 2009.

LOBO, A. M.; LOURENÇO, A. M. Biosíntese de produtos naturais. Lisboa: IST Press, 2007. 272 p.

LOCKWOOD, G. B. et al. Production of d-limonene in Chitosan elicited citrus Japonica suspension cultures. Journal of Essential Oil Research, Carol Stream, v. 19, n. 2, p. 113-116, Mar./Apr. 2007.

LUYEN, Bui Thi Thuy et al. A new phenylpropanoid and an alkylglycoside from *Piper retrofractum* leaves with their antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity. Bioorganic & medicinal chemistry letters, v. 24, n. 17, p. 4120-4124, 2014.

MACEDO, A. L. Cytotoxicity and selectiveness of Brazilian *Piper* species towards oral carcinoma cells, Biomedicine & Pharmacotherapy 110 (2019) 342–352.

MARQUES, J. V.; KITAMURA, R. O. S.; LAGO, J. H. G.; YOUNG, M. C. M.; GUIMARÃES, E. F.; KATO, M. J. Antifungal Amides from *Piper scutifolium* and *Piper hoffmanseggianum*. Journal of Natural Products, v. 70, n. 12, p. 2036-2039, 2007.

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

MASUDA, Toshiya et al. Antimicrobial phenylpropanoids from *Piper sarmentosum*. Phytochemistry, v. 30, n. 10, p. 3227-3228, 1991.

MATA, R.; MORALES, I.; PÉREZ, O.; RIVERO-CRUZ, I.; ACEVEDO, L.; ENRIQUEZMENDOZA, I.; BYE, R.; FRANZBLAU, S.; TIMMERMAN, B. Antimycobacterial Compounds from *Piper sanctum*. Journal of Natural Products, v. 67, n. 12, p. 1961- 1968, 2004.

MICHEL, Joanna L. et al. Estrogenic and serotonergic butenolides from the leaves of *Piper hispidum* Swingle (Piperaceae). Journal of ethnopharmacology, v. 129, n. 2, p. 220-226, 2010.

MICHEL, Johanna et al. LC-MS-and ¹H NMR-based metabolomic analysis and in vitro toxicological assessment of 43 *Aristolochia* species. Journal of natural products, v. 79, n. 1, p. 30-37, 2015.

NAIR, Muraleedharan G.; MANSINGH, Ajay P.; BURKE, Basil A. Insecticidal properties of some metabolites of Jamaican *Piper* spp., and the amides synthesized from 5, 6-Z and E-butenolides of *Piper fadyenii*. Agricultural and biological chemistry, v. 50, n. 12, p. 3053-3058, 1986.

NASCIMENTO, Demétrius F, et al. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico contendo *Passiflora incarnata* L., *Crataegus oxyacantha* L., *Salix alba* L. em voluntários saudáveis. Rev. Bras. Farmacognosia. Vol. 19 n 1b João Pessoa Jan/Mar 2009.

NAVARRO, Lucas Bergamo. Variabilidade de fenilpropanóides, lignanas tetraidrofurânicas e aristolactamas em *Piper solmsianum* C. DC. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

NAVICKIENE, H. M. D.; ALÉCIO, A. C.; KATO, M. J.; BOLZANI V. S.; YOUNG, M. C. M.; CAVALHEIRO, A. J. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, v. 55, p. 621-626, 2000.

NAVICKIENE, Hosana M. Deboni et al. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Química Nova*, v. 29, n. 3, p. 467-470, 2006.

NOBATHIAN, S.; TUCHINDA, P.; SOORUKRAM, D.; POHMAKOTR, M.; REUTRAKUL, V.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; NAPASWA, C. A new conjugated amide-dimer from the aerial parts of *Piper submultinerve*. *Natural Product Research*, v. 26, n. 19, p. 1824- 1830, 2012.

NOLDIN, Vânia Floriani; ISAIAS, Daniela Buffon; CECHINEL-FILHO, Valdir. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. *Química Nova*, v. 29, n. 3, p. 549-554, 2006.

OLSEN, Carl Erik et al. An aristolactam from *Piper acutisleginum* and revision of the structures of piperolactam B and D. *Phytochemistry*, v. 33, n. 2, p. 518-520, 1993.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O. D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. *Phytochemistry of the genus Piper*. *Phytochemistry*, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.

PECKOLT, T.; PECKOLT, G. *Smilaceas. História das plantas medicinais e úteis do Brasil: Conteúdo a descrição botânica, cultura, partes usadas, composição química, seu emprego em diversas moléstias, closes, usos industriaes, etc.* Laemmert, Rio de Janeiro, Brazil, p. 98-113, 1888.

PENA, L. A.; AVELLA, E.; DIAZ, A. M. P. Benzoquinona e hidroquinona preniladas y otros constituyentes aislados de *Piper bogotense* C. DC. *Revista Colombiana de Química*, v. 29, n. 2, p.25-37, 2000.

PENA, L. A.; DIAZ, A. M. P. Aristolactam and sterols from the stem of *Piper chiadoense*. *Revista Colombiana de Química*, v. 24, n. 1, p. 17-23, 1995.

PESSINI, Greisiele Lorena et al. Antifungal activity of the extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Journal of the brazilian chemical society*, v. 16, n. 6A, p. 1130-1133, 2005.

PINTO, Danielle et al. Antibacterial and hemolytic activities from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae). *Anti-Infective Agents*, v. 10, n. 1, p. 1-5, 2012.

PINTO, D. S. ESTUDO FITOQUÍMICO DE PIPERACEAS DO NORTE E NORDESTE BRASILEIRO: *Piper lateripilosum* Yuncker, *Piper mollicomum* Kunth e *Piper montealegreanum* Yuncker; Tese (Doutorado), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2012.

PINTO, Rute Alves. Estudo biológico e biossintético com alvo nas amidas pirrolidínicas de *Piper arboreum* Aublet (Piperaceae). 2015.

QUEIROZ, Aline Cavalcanti et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of flavonoids PMT1 and PMT2 isolated from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae) in mice. *Natural product research*, v. 28, n. 6, p. 403-406, 2014.

REGASINI, Luis Octávio et al. Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 1B, p. 199-203, 2009.

REGASINI, Luis Octávio et al. Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae) against opportunistic yeasts. *African journal of Biotechnology*, v. 8, n. 12, 2009.

RESEM – XXVI Reunião Annual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares. Evolução Metabólica em Espécies de Piperaceae. Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, livro de anais p. 27, dezembro de 2004.

RUANGRUNGSI, N. et al., AN N-METHYL ARISTOLACTAM AN OXYGENATED CYCLOHEXANE DERIVATIVE FROM *PIPER RIBESIOIDES*, faculty of Pharmaceutical Sciences, 25 de novembro de 1991.

SANTOS, BV de O.; CHAVES, MC de O. 2, 4, 5-Trimethoxypropiophenone from *Piper marginatum*. *Biochemical systematics and ecology*, 1999.

SANTOS, Oliveira et al. Croweacin from *Piper marginatum*. *Biochemical systematics and ecology*, 1997.

SANTOS, P. R. D. dos. et al. Essential oil analysis of 10 *Piperaceae* species from the Brazilian Atlantic forest. *Phytochemistry: chemistry, biochemistry, molecular biology*, New York, v. 58, p. 547–551, 2001.

SCHUBERT, H. K.; TAYLOR, M. S.; SMITH, J. F.; BORNSTEIN, A. J. A Systematic Revision of the Genus *Manekia* (Piperaceae). *Systematic Botany*, v. 37, n. 3, p. 587 - 598, 2012.

SILVA, R. V.; NAVICKIENE, H. M. D.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; MÉDA, C. I.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M. Antifungal Amides from *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, v. 59, P. 521-527, 2002.

SILVA, G. A. T. ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS E FRUTOS DE *Piper caldense* C.DC. (PIPERACEAE), Dissertação (Mestrado), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2013.

SILVA, Herlle Aparecido et al. Antifungal piperamides from *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae). *Eclética Química Journal*, v. 43, n. 1, p. 33-38, 2018.

SINGH, S. K.; ASHOK, P. K.; OLSEN, C. E.; JHA, A.; JAIN, S. C.; PARMAR, V. S.; WENGE, J. Neolignans and alkaloids from *Piper argyrophylum*. *Phytochemistry*, v. 43, n. 6, p. 1355-1360, 1996.

SOUTO, Jéssica Romualdo. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos e frações de espécies de piper (Piperaceae) por bioautografia. 2014.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. *Botânica Sistemática*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

SOUZA, E.T. ; QUEIROZ, A. C. ; LORENZO, V. P. ; SILVA, E. F. ; Freire-Dias, T.L.M. ; SILVA, Y. K. C. ; MELO, G. M. A. ; MIRANDA, G. E. C. ; SANTOS, B. V. O. ; CHAVES, M. C. O. ; MOREIRA, Magna Suzana Alexandre . Antinociceptive activities of crude methanolic extract and phases, N-butanolic, chloroformic and ethil acetate from *Caulerpa racemosa* (Caulerpanceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia (Impresso)*, v. 19, p. 115-120, 2009.

SOUZA, Stefânia P. et al. Chemical composition and antinociceptive activity of the essential oil of *Piper mollicomum* and *Piper rivinoides*. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 8, n. 22, p. 788-793, 2014.

SRINIVASA REDDY, P. et al. Antibacterial activity of isolates from *Piper longum* and *Taxus baccata*. *Pharmaceutical biology*, v. 39, n. 3, p. 236-238, 2001.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. *SAS/STAT user's guide*. 4. ed. Cary: SAS Institute, 1990.

TABOPDA, T. K.; NGOUPAYO, J.; LIU, J.; MITAINE-OFFER, A.-C.; TANOLI, S. A. K.; KHAN, S. N.; SHAIQ ALI, M.; NGADJUI, B. T.; TSAMO, E.; LACAILLE-DUBOIS, M.-A.; UU, B. Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. *Phytochemistry*, v. 69, n. 8, p. 1726–1731, 2008.

TELASCREA, M. et al. Essential oil from leaves of *cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. *Biochemical Systematics and Ecology*, Oxford, v. 35, n. 3, p. 222-232, 2007.

TSAI, I. L.; LEE, F. P.; WU, C. C.; DUH, C. Y.; ISHIKAWA, T.; CHEN, J. J.; CHEN, Y. C.; SEKI, H.; CHEN, I. S. New cytotoxic cyclobutanoid amides, a new furanoid lignan and anti-platelet aggregation constituents from *Piper arborescens*. *Planta Medica*, v. 71, n. 6, p. 535-542, 2005.

WEI, A.; ZHOU, D. N.; RUAN, J. L.; CAI, Y. L.; XIONG, C. M.; WU, G. H.; LIU, H. B. Study on the contents of aristololactams in *Piper wallichii* and their renal cytotoxicities. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 19, n. 3, p. 349-354, 2011.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, v. 64, n. 1, p.3-19, 2003.

ZHANG, K.; WEI, N.; CHEN, C.; Chemical constituents of *Piper boehmeriaefolium* var. *Tonkinense*. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa*, v. 11, n. 1, p. 44-47, 1999.

ZHAO, Y.; RUAN, J.; CAI, Y. Study on three aristololotams from *Piper wallichii*. *Journal of Chinese Medicinal materials*, v. 28, n. 3, p. 191-3, 2005.

ZHOU, L.; YANG, J.; TU, G. Study on chemical components of *Piper hancei*. *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, v. 40, n. 3, p. 184-185, 2005.