Artigo

Perfil Químico Biomonitorado das Folhas de *Piper marginatum* durante a Ontogenia

Bezerra, G. B.; Ramos, C. S.*

Rev. Virtual Quim., 2021, 13 (1), 260-269. Data de publicação na Web: 16 de Dezembro de 2020

<http://rvq.sbg.org.br>**Biomonitored Chemical Profile of *Piper marginatum* Leaves during Ontogeny**

Abstract: The potential biological and chemistry of plants have been extensively investigated worldwide. However, studies using seedling tissues are limited which results in a knowledge gaps in the plant chemistry. Thus, the present work describes the biomonitored chemical profile of *Piper marginatum* leaves during ontogeny. The study revealed the presence of phenylpropanoids, such as elemicin, Z-asarone, E-asarone and dilapiol, in the extracts of adult leaves and seedlings with an average concentration of 23.9, 48.5, 55.5 and 5.9 µg/mg, respectively, and elemicin was not detected in the seedling extracts. The chemical profiles of the leaf extracts showed variations during the ontogeny, which affected antibacterial and antifungal activities against seven microorganisms. The leaf extracts showed a strong antifungal activity with MIC of 78.15 µg/mL, for *Malassezia furfur*, only from the eighth month of cultivation, where was observed a proportion of E-asarone:Z-asarone, E-asarone:dilapiol, Z-asarone:dilapiol of 0.4:3.8:8.8, respectively. The greater activity against bacteria was for the seedling extract of 6 monthold with a MIC of 625 µg/mL. In this extract the proportion of E-asarone:Z-asarone, E-asarone:dilapiol, Z-asarone:dilapiol was found in a ratio of 1.4:7.6:5.4, respectively. The study showed the importance of the plant's age for its use as an antimicrobial. For our knowledge, this is the first biomonitored study during the development stages of a plant species associated with the chemical profile.

Keywords: Piperaceae; antimicrobial activity; phenylpropanoid; *Piper marginatum*; ontogenesis

Resumo

O potencial biológico e químico das plantas tem sido extensivamente investigado em todo o mundo. No entanto, estudos usando tecidos de plântulas são limitados, o que deixa uma lacuna no conhecimento na química de plantas. Inserido neste contexto, o presente trabalho descreve o perfil químico biomonitorado das folhas de *Piper marginatum* durante a ontogenia. O estudo revelou a presença dos fenilpropanoides elemicina, Z-asarona, E-asarona e dilapiol, nos extratos das folhas adultas e de plântulas com concentração média de 23,9, 48,5, 55,5 e 5,9 µg/mg, respectivamente, sendo que a elemicina não foi detectada nos extratos das plântulas. Os perfis químicos dos extratos das folhas apresentaram variações durante a ontogenia que afetaram as atividades antibacteriana e antifúngica frente a sete microrganismos. Os extratos das folhas apresentaram forte atividade antifúngica com CMI de 78,15 µg/mL para o *Malassezia furfur* somente a partir do oitavo mês de cultivo, onde foi observado uma proporção de E-asarona:Z-asarona, E-asarona:dilapiol, Z-asarona:dilapiol de 0,4:3,8:8,8, respectivamente. A maior atividade contra bactérias foi observada no extrato das plântulas de 6 meses de idade com CMI de 625 µg/mL. Neste extrato, a proporção de E-asarona:Z-asarona, E-asarona:dilapiol, Z-asarona:dilapiol foi encontrada na proporção de 1,4:7,6:5,4, respectivamente. O estudo mostrou a importância da idade da planta para o seu uso como antimicrobiano. Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo biomonitorado durante as etapas de desenvolvimento de uma espécie vegetal associada ao seu perfil químico.

Palavras-chave: Piperaceae; atividade antimicrobiana; fenilpropanoide; *Piper marginatum*; ontogênese.

* Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil

Perfil Químico Biomonitorado das Folhas de *Piper marginatum* durante a Ontogenia

Giselle Barbosa Bezerra, Clécio Souza Ramos*

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil

*clecio.ramos@ufrpe.br

Recebido em 2 de Julho de 2020. Aceito para publicação em 10 de Novembro de 2020.

1. Introdução
2. Parte Experimental
 - 2.1. Material vegetal
 - 2.2. Obtenção dos extratos
 - 2.3. Perfil químico
 - 2.4. Atividade Antimicrobiana
3. Resultados e Discussão
 - 3.1. Perfis Químicos
 - 3.2. Atividade antimicrobiana
4. Conclusão

1. Introdução

A família Piperaceae, com aproximadamente 3.700 espécies identificadas e distribuídas em cinco gêneros, tem sido uma fonte de novas moléculas bioativas.^{1,2} O gênero *Piper*, com mais 2.000 espécies, tem recebido grande atenção devido sua importância econômica, biológica, ecológica e diversidade estrutural de seus metabólitos secundários.^{3,4} Estudos prévios com espécies de *Piper* têm permitido o isolamento de amidas, lignanas, cromenos, ácidos benzóicos prenilados, flavonoides, neolignanas, alquilfenóis e fenilpropanoides associados a diversas atividades biológicas das espécies.^{5,6}

A amida piplartina isolada de *Piper longum* exibiu citotoxicidade contra um amplo espectro de linhagens celulares de câncer humano e tem sido extensivamente avaliada para fins

terapêuticos devido as suas potentes atividades antidepressiva, antidiabética, antiparasitário e leishmanicida.^{7,8,9} As amidas isoladas de espécies de *Piper* também são conhecidas devido a sua potente atividade inseticida contra pragas de importância econômica como no caso da lagarta da mariposa *Plutella xylostella* e da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatilis*.¹⁰

Os fenilpropanoides são outra classe de metabólitos naturais de ampla ocorrência no reino vegetal e desempenham uma série de funções fisiológicas e ecológicas cruciais para o crescimento, desenvolvimento e proteção das plantas. Onze fenilpropanoides foram isolados das folhas e caules de *Daphne feddei*, sendo que três apresentaram atividade citotóxica e anti-HIV-1.¹¹ Fenilpropanoides e derivados tem recebido atenção devido suas atividades anti-retrovirais, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, anti-oxidante, redução do risco de doenças

crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e osteoporose.¹²

Os compostos naturais bioativos são isolados de diversas partes da planta, em particular das folhas, frutos, sementes e raízes de espécies adultas. Entretanto, estudos com plântulas são raros, o que proporciona uma lacuna no conhecimento químico de plantas, considerando que em plântulas ocorrem mudanças químicas significativas e onde se obtém informações relevantes no estágio mais importante do ciclo vegetal. Um estudo com as espécies de *Piper caldense*, *P. regnellii*, *P. gaudichaudianum* e *P. solmsianum* demonstrou que as folhas das plantas adultas possuem perfis químicos diferenciados quando comparados com as suas respectivas folhas das plântulas.¹³

A *P. marginatum*, uma planta medicinal conhecida popularmente como malvaíscio, capeba-cheirosa, pimenta-dos-índios, possui atividade hemostática, anti-inflamatória, analgésica, inseticida e antimicrobiana.¹⁴⁻¹⁷ Estudos químicos prévios revelaram que suas folhas acumulam ácidos benzóico prenilados, amidas, flavonoides e são ricas em fenilpropanoides, principalmente nos óleos essenciais, onde há muitos relatos de estudos fitoquímicos quando comparados com os estudos a partir dos extratos.¹⁸⁻²⁰

Considerando a escassez de estudos químicos de plântulas, o uso etnofarmacológico de *P. marginatum* por comunidades indígenas, potencial antimicrobiano da planta,¹⁶ o presente trabalho objetivou em determinar o perfil químico biomonitorado das folhas de *P. marginatum* durante a ontogenia.

2. Parte Experimental

2.1. Material vegetal

As folhas de *P. marginatum* da planta adulta e de plântulas foram coletadas no seu habitat natural em um fragmento de Mata Atlântica, localizado no Campus na Universidade Federal Rural de Pernambuco em Recife em fevereiro de 2017. A planta foi identificada pela Dra. Margareth F. de Sales do Departamento de Biologia (UFRPE) e uma amostra do voucher foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, com o número de 48210. As florescências de espécies de *P. marginatum* foram coletadas de espécies adultas e utilizadas para germinação em solo composto por

uma mistura de terra adubada comercialmente e areia. As sementes obtidas da *P. marginatum* adulta foram cultivadas em vasos de plástico na cor preta contendo altura de 5 cm, diâmetro da superfície superior de 5,8 cm, diâmetro inferior de 4,2 cm e volume de 90 mL. Em seguida, os vasos foram vedados com um plástico transparente e mantidos em ambiente com condições controladas de temperatura a 28 ± 3 °C, umidade do ar $56 \pm 5\%$, luz artificial e irrigadas no intervalo de 3 dias.

As sementes para cultivo das plântulas foram obtidas das florescências de plantas adultas coletadas em campo no período de maio de 2017 (SISGEN A5F543F). As folhas das plântulas foram coletadas nas idades de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12 e 15 meses para obtenção dos perfis químicos e avaliação da atividade antimicrobiana.

2.2. Obtenção dos extratos

As folhas de espécimes adultas e plântulas de *P. marginatum* coletadas em campo e de cultivo foram mantidas em freezer a uma temperatura de -80 °C, após a coleta. Em seguida foram maceradas separadamente em almofariz e pistilo para obter um pó fino que foi transferido para tubos de ensaios fechados. A extração foi realizada com uma mistura de três solventes: CHCl_3 :MeOH:H₂O na proporção de 1,0:0,5:0,5 em agitação mecânica por 5 min, seguido de sonicação por 1 min e centrifugação a 3.400 rpm por 10 minutos. O procedimento de extração foi repetido por três vezes. A fração clorofórmica foi seca a temperatura ambiente e o extrato aquoso foi liofilizado.²¹

2.3. Perfil químico

Os perfis químicos dos extratos das folhas foram obtidos por análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) usando um cromatógrafo Shimadzu LC10 acoplado a um detector UV-Vis com arranjo de diodos. As análises foram realizadas em coluna uma Phenomenex® de fase reversa C₁₈ (250 x 4,6 mm, 5 µm), eluída em sistema gradiente de fase móvel composta pela mistura MeOH/H₂O acidificada com ácido fórmico 0,01%, com fluxo de 1 mL/min e detecção em 360 nm. O gradiente iniciou com 30% de MeOH por 5 min, aumentando para 50% de MeOH em 15 min, chegando a 100% com mais 15 min e permanecendo em 100% por 5 min, voltando a 30% de MeOH em 5 min. Os extratos foram analisados na concentração de 2

mg/mL em MeOH. Os compostos referentes aos picos **1-4** detectados nos cromatogramas dos extratos foram identificados comparando com os padrões autênticos dos fenilpropanoides. As concentrações dos fenilpropanoides elemicina, Z-asarona, dilapiol e E-asarona nos extratos das folhas foram calculados a partir das áreas dos picos obtidos das análises de CLAE.

2.4. Atividade Antimicrobiana

Os extratos cultivados das folhas adultas e das plântulas de *P. marginatum* foram avaliados frente a sete microrganismos (SISGEN A59561A) incluindo as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02) e *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138), bactérias gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 416) e *Klebsiella pneumoniae* (UFPEDA 396), os fungos *Candida albicans* (UFPEDA 1007), *Penicillium* spp. (UFPEDA 2556) e *Malassezia furfur* (UFPEDA 1320). A suspensão dos microrganismos foi padronizada pela turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland em água destilada, correspondente a uma concentração de aproximadamente 10^8 UFC/mL para bactérias e 10^7 UFC/mL para fungos. Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi realizada através da técnica de microdiluição em multiplacas com 96 poços.²²

Foram utilizados os meios de cultura líquidos de Mueller Hinton para propagação das bactérias e Sabouraud para os fungos. Como controles

positivos foram utilizados o Metronidazol (2,5 µg/mL) e cetoconazol (2,5 µg/mL), enquanto o metanol como controle negativo. A análise foi realizada em triplicata para todas as amostras. As microplacas foram cultivadas a 37 °C por 18-24 horas para bactérias e 30 °C por 48-72 horas para os fungos. Após o período de cultivo, as amostras foram reveladas com a adição de 10 µL da solução de risazurina a 0,01% e incubadas por 3 horas para avaliação da mudança de coloração nos poços.²³⁻²⁴

A cada 20 mg de extrato das folhas de plântula e planta adulta (Coletadas em campo e cultivadas) foi adicionado 1mL de metanol, obtendo-se uma solução estoque de 20.000µg/mL. Para determinar o valor das CMI dos extratos foram utilizados 25µL da solução estoque para obter por diluições consecutivas soluções com concentrações de 2500, 1250, 625, 312,5, 78,1, 39 e 19,5 µg/mL. Os extratos com valor de CMI ≤ 500 µg/mL foram considerados fortes inibidores, 500 a 1500 µg/mL moderados inibidores e ≥ 1500 µg/mL fracos inibidores.²⁵

3. Resultados e Discussão

3.1. Perfis Químicos

Inicialmente foram obtidos os perfis químicos por CLAE dos extratos das folhas de *P. marginatum* adultas e de plântulas coletadas em seu habitat natural (Figura 1).

Figura 1. Perfis químicos obtidos por CLAE das folhas de *P. marginatum* adulta e das plântulas coletadas em seu habitat natural

Foram observadas mudanças qualitativas e quantitativas entre os perfis químicos, sendo que no cromatograma do extrato das folhas da planta adulta foi detectado o pico **1** adicional em tempo de retenção (t_r) de 16 min. Enquanto, no cromatograma do extratos das folhas das plântulas o pico **4** majoritário em t_r de 21,4 min foi detectado na concentração de 44,6 $\mu\text{g}/\text{mg}$, sendo que um pico de mesmo tempo de retenção foi observado no cromatograma do extrato das folhas adultas na concentração de 11,9 $\mu\text{g}/\text{mg}$. As folhas de *P. marginatum* são ricas em fenilpropanoides^{26,27} e os picos **1**, **2**, **3** e **4** foram identificados como os fenilpropanoides elemicina, Z-asarona, E-asarona e dilapiol (Figura 2), respectivamente, quando comparados com seus equivalentes padrões autênticos.

Somente, após a confirmação da variação química entre os extratos das folhas da planta adultas e de plântulas de *P. marginatum* coletada em campo foram obtidos extratos das folhas de

plântulas com idade de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12 e 15 meses de espécimes cultivadas em condições controladas.

Os cromatogramas obtidos por CLAE dos extratos das plântulas apresentaram perfis similares com diferenças nos teores de dilapiol e a ausência da elemicina, que só foi detectada no cromatograma do extrato das folhas adultas (Figura 3).

A presença da elemicina na concentração de 23,9 $\mu\text{g}/\text{mg}$, apenas nas folhas adultas e a sua ausência em folhas de plântulas coletadas em campo bem como em cultivo, sugere que este fenilpropanoide esteja envolvido em algum processo fisiológico ou ecológico da planta adulta. Por exemplo, no período de frutificação agindo como sinônimo por herbívoros dispersores de sementes ou polinizadores, considerando que a elemicina tem sido identificada em fragrâncias florais²⁸⁻³⁰ e é um dos compostos majoritários do óleo essencial de *P. marginatum*.³¹ Outra

Figura 2. Estruturas químicas dos fenilpropanoides identificados nos extratos das folhas de *P. marginatum*

Figura 3. Perfis químicos obtidos por CLAE dos extratos das folhas de *P. marginatum* cultivadas de 3 meses de idade até a fase adulta

observação interessante foi a presença do dilapiol como composto majoritário nas folhas das plântulas coletadas no campo em concentração de 44,6 µg/mg. Enquanto, a sua concentração variou de 0,6 e 13,3 µg/mg nas folhas de plântulas cultivadas, sendo o menor valor para a planta com 3 meses e o maior valor para 15 meses de cultivo. Isto demonstra a influência de fatores bióticos e abióticos no teor de dilapiol em plântulas de *P. marginatum*, sendo os mais prováveis os fatores bióticos. Por exemplo, como defesa química contra ataques de herbívoros, considerando que o dilapiol é conhecido como um potente inseticida natural.^{32,33} Em *P. gaudichaudianum* o dilapiol e seu isômero apiol foram identificados como compostos majoritários, apenas nos tecidos da planta com 6 meses de idade e não detectados nos tecidos da planta adulta.³⁴ A presença de fenilpropanóides como compostos majoritários nas folhas das plântulas de *P. marginatum* e *P. gaudichaudianum* pode indicar que estes compostos desempenham funções essenciais neste estágio para espécies de *Piper*.

Os fenilpropanóides *E*-asarona e *Z*-asarona foram os compostos majoritários identificados em todos os estágios da planta com concentração média de 55,5 e 48,5 µg/mg, respectivamente, exceto para as folhas das plântulas coletadas em campo, onde o composto majoritário foi o dilapiol. Em condições de campo a planta está sobre constantes interações com o ecossistema que induzem repostas da planta que podem ser químicas ou não. No caso da *P. marginatum*, o

presente estudo indicou que a elemicina está associada à reposta induzida devido às interações ecológicas ou envolvida em mecanismos fisiológicos da planta adulta, considerando que a elemicina só foi identificada em folhas de espécimes adultos em cultivo e coletadas. Nas folhas com idade de cultivo de 9 meses foi observado um aumento significativo na concentração de *Z*-asarona para 71,3 µg/mg com um decréscimo significativo do *E*-asarona a 30,5 µg/mg (Figura 4).

O decréscimo no teor de *E*-asarona começa desde o terceiro mês e volta ter um aumento significativo no décimo segundo mês com uma concentração de 64,4 µg/mg, chegando a uma concentração de 46,4 µg/mg na fase adulta, fase que começa depois do décimo quinto mês da germinação da planta.

3.2. Atividade antimicrobiana

Os extratos das folhas de plântulas e folhas adultas de *P. marginatum* foram submetidos à avaliação antimicrobiana frente a sete microrganismos pela determinação de suas CMI. Apenas, o extrato da plântula com 9 meses não exibiu atividade para o fungo *Penicillium* spp. até a concentração testada de 2.500 µg/mL (Tabela 1).

Os melhores resultados foram para o fungo *M. Furfur*, onde os extratos a partir do oitavo mês apresentaram CMI de 78,1 µg/mL até o extrato da planta adulta, exceto para o extrato do nono mês que exibiu uma CMI de 156,2 µg/mL. *M.*

Figura 4. Variação na concentração de elemicina, *Z*-asarona, *E*-asarona e dilapiol em folhas de *P. marginatum* em função da idade da planta. Depois, do décimo quinto mês de idade, as plantas de *P. marginatum* são consideradas adultas

Tabela 1. Valores de CMI em µg/mL dos extratos das folhas das plântulas e das folhas adultas de *P. marginatum* contra bactérias e fungos.

Microrg./Mês	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	12º	15º	Adulta	Padrão ^a
<i>S. aureus</i>	1250	1250	1250	625	625	1250	2500	2500	1250	1250	19,5
<i>P. aeruginosa</i>	1250	1250	1250	625	625	1250	1250	1250	1250	1250	19,5
<i>K. pneumoniae</i>	1250	1250	1250	625	625	1250	2500	1250	1250	1250	19,5
<i>E. faecalis</i>	1250	1250	1250	250	1250	1250	1250	1250	1250	1250	156,2
<i>C. albicans</i>	625	2500	625	625	625	2500	625	2500	2500	2500	>2500
<i>Penicillium</i> spp.	1250	1250	156,2	625	312,5	1250	>2500	2500	2500	2500	19,5
<i>M. furfur</i>	625	625	625	625	156,2	78,1	156,2	78,1	78,1	78,1	19,5

^aPadrão utilizado para as bactérias: Metronidazol. Padrão utilizado para os fungos: Cetoconazol

furfur é um fungo lipofílico que causa patologias dermatológicas, incluindo foliculite, dermatite e seborreia que são tratadas, principalmente pelo uso do cetoconazol,³⁵ que aqui apresentou uma CMI 19,5 µg/mL. O padrão cetoconazol não apresentou atividade antimicrobiana para o fungo *C. albicans* na concentração máxima de 2500 µg/mL, sendo que todos os extratos da planta apresentaram atividade para este fungo na concentração de 625 ou 2500 µg/mL.

Em geral, a presença adicional da elemicina no extrato das folhas da planta adulta não resultou em efeito sinérgico ou antagonista para atividade antimicrobiana da planta quando comparados com os resultados dos extratos das folhas das plântulas, onde não foi detectada a presença da elemicina. As variações dos valores de CMI entre os extratos estão associadas com alterações quantitativas nos perfis químicos e não com a ausência ou presença de um dos fenilpropanoides identificados (Tabela 2).

Por exemplo, o extrato da plântula com idade de 6 meses apresentou os melhores resultados contra as bactérias, sendo que neste extrato a proporção de *E*-asarona:*Z*-asarona/*E*-asarona:dilapiol/*Z*-asarona:dilapiol foi de 1,4:7,6:5,4. Esta proporção foi de 0,9:3,5:3,8 para o extrato das folhas da planta adulta, onde não foi observado nenhum valor de CMI menor do que 1250 µg/mL para as bactérias.

Há poucos relatos sobre a atividade antimicrobiana com os extratos de *P. marginatum*.²⁶ Prévios relatos, apenas avaliam a atividade antimicrobiana dos extratos sem determinar o perfil químico, que revelaram a atividade antimicrobiana dos extratos contra as bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Alicyclobacillus acidoterrestris* e *Fusobacterium nucleatum*.^{36,37} O *E*-asarona apresentou atividade frente os microrganismos *E. coli* e *C. albicans* com valores de CMI de 16000 e 2000 µg/mL, respectivamente. Enquanto, o *Z*-asarona apresentou CMI de 8000

Tabela 2. Variação da razão das concentrações de *E*-asarona:*Z*-asarona, *E*-asarona:dilapiol e *Z*-asarona:dilapiol dos extratos das folhas de *P. marginatum* com a idade da planta

Mês/Proporção	<i>E</i> -asarona: <i>Z</i> -asarona	<i>E</i> -asarona:dilapiol	<i>Z</i> -asarona:dilapiol
3º	1,4	100,0	70,0
4º	1,5	37,0	25,0
5º	1,3	50,0	37,5
6º	1,4	7,6	5,4
7º	1,4	5,6	4,0
8º	0,9	28,0	32,0
9º	0,4	3,8	8,8
12º	1,4	125,0	87,5
15º	1,3	4,0	3,0
Adulta	0,9	3,5	3,8

e 500 µg/mL para os microrganismos *E. coli* e *C. albicans*, respectivamente, sendo que o *E*-asarona e *Z*-asarona não apresentaram atividades frente as bactérias *E. faecalis* e *S. aureus*.³⁸ O dilapiol apresentou uma CMI de 500 µg/mL frente à bactéria *S. aureus*.³⁹

4. Conclusão

Para o nosso conhecimento, este é o primeiro relato da ontogenia de *P. marginatum* e o primeiro estudo por biomonitoramento durante as fases de desenvolvimento de uma espécie de planta associado com o perfil químico.

O estudo revelou que os extratos das folhas das plântulas quando comparadas com as folhas adultas apresentam mudanças químicas quantitativas. Enquanto, o extrato das folhas adultas apresentou adicionalmente o fenilpropanoide elemicina quando comparado com os extratos das folhas das plântulas. As folhas de *P. marginatum* só apresentaram uma forte atividade antifúngica para o fungo *M. furfur* a partir do oitavo mês de idade e maior atividade antibacteriana contra todas as bactérias testadas, no sexto mês de idade, sendo o menor valor de CMI de 250 µg/mL observado para a bactéria *E. faecalis*.

O estudo mostrou a importância da idade da planta para o seu uso como antimicrobiano, principalmente com relação às variações químicas quantitativas que afetaram significativamente os valores de CMI para os fungos e bactérias testados.

Agradecimentos

Ao Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE (CENAPESQ). A PRPPG pelo apoio financeiro do projeto através do incentivo a pesquisa institucional da UFRPE. G. B. Bezerra agradece a CAPES pela bolsa concedida.

Referências Bibliográficas

¹ Baldoqui, D. C.; Bolzani, V.; S., Furlan, M.; Kato, M. J.; Marques, M. O. M. Flavonas, lignanas e terpeno de *Piper umbellata* (Piperaceae) *Química Nova* **2009**, 32, 1107. [CrossRef]

² Takeara, R.; Goncalves, R.; Ayres, V. F. Santos.; Guimaraes, A.; El-Shemy, H. Biological properties of essential oils from the *Piper* species of Brazil: A review. *Aromatic and Medicinal Plants* **2017**, 81. [CrossRef]

³ Alves, H. S.; Souza, M. F. V.; Chaves, M. C. de O. Three new compounds from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2011**, 22, 1610. [CrossRef]

⁴ Xiang, C.; Shi, Y.; Liu, F.; Li, H.; Zhang, Y.; Yang, C.; Xu, M. A Survey of the Chemical Compounds of *Piper* spp. (Piperaceae) and Their Biological Activities. *Natural Product Communication* **2016**, 11, 1403. [CrossRef]

⁵ Nascimento, J. C.; De Paula, V. F.; David, J. M.; David, J. P. Occurrence, biological activities and ¹³C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). *Química Nova* **2012**, 35, 2288. [CrossRef]

⁶ Mazzeu, B. F.; Felipe, L. G.; Cotinguiba, F.; Kato, M. J.; Furlan, M. Kavalactones and Benzoic Acid Derivatives from Leaves of *Piper fuliginum* Kunth (Piperaceae). *Journal of Brazilian of the Chemical Society* **2018**, 29, 1286. [CrossRef]

⁷ Bezerra, D. P.; Pessoa, C.; de Moraes, M. O.; Saker-Neto, N.; Silveira, E. R.; Costa-Lotufo, L. V. Overview of the therapeutic potential of pipartine (piperlongumine). *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2013**, 48, 453. [CrossRef]

⁸ Piska, K.; Gunia-Krzyzak, A.; Koczurkiewicz, P.; Wojcik-Pszczola, K.; Pekala, E. Piperlongumine (pipartine) as a lead compound for anticancer agents - Synthesis and properties of analogues: A mini-review. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, 156, 13. [CrossRef]

⁹ Ferreira, W. S.; Franklim, T. N.; Lopes, N. D.; de Lima, M. E. F. Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como Antiparasitários. *Revista Virtual de Química* **2012**, 4, 208. [CrossRef]

¹⁰ Jeon, H.; Kim, K.; Kim, Y.; Kim, Y.-D.; Lee, S.-E. Naturally occurring *Piper* plant amides potential in agricultural and pharmaceutical industries: perspectives of piperine and piperlongumine. *Applied Biological Chemistry* **2019**, 62, 1. [CrossRef]

¹¹ Lu, Y.; Li, Xuesen, M.; Huaixue, H.; Haitao, Li, G.-P.; Hu, Q. Bioactive phenylpropanoids from *Daphne feddei*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2012**, 23, 656. [CrossRef]

¹² Tohge, T.; Fernie, A. R. An Overview of Compounds Derived from the Shikimate and Phenylpropanoid Pathways and Their Medicinal Importance. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2017**, 17, 1013. [CrossRef]

- ¹³ Gaia, A. M.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, 2014. [\[Link\]](#)
- ¹⁴ D'Angelo, L. C. A.; Xavier, H. S.; Torres, L. M. B.; Lapa, A. J.; Souccar, C. Pharmacology of *Piper marginatum* Jacq. a folk medicinal plant used as an analgesic, antiinflammatory and hemostatic. *Phytomedicine* **1997**, *4*, 33. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁵ Villasmil, J. Abad, M. J.; Arsenak, M.; Fernández, A.; Ruiz, M.-C.; Williams, B.; Michelangeli, F.; Herrera, F.; Taylor, P. Cytotoxic and antitumor activities of Venezuelan plant extracts *in vitro* and *in vivo*. *Pharmacology Online* **2006**, *3*, 808. [\[Link\]](#)
- ¹⁶ Jennifer, B.; David, G. J. Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2016**, *26*, 767. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁷ Reigada, J. B.; Tcacenco, C. M.; Andrade, L. H.; Kato, M. J.; Porto, A. L. M.; Lago, J. H. G. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) – antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). *Tetrahedron-Asymmetry* **2007**, *18*, 1054 [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁸ Andrade, E. H. A.; Carreira, L. M. M.; da Silva, M. H. L.; Domingos da Silva, J.; Bastos, C. N.; Sousa, P. J. C.; Guimaraes, E. F.; Maia, J. G. S. Variability in Essential-Oil Composition of *Piper marginatum* sensu lato. *Chemistry & Biodiversity* **2008**, *5*, 197. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁹ Jaramillo-Colorado, B.; Julio-Torres, J.; Duarte-Restrepo, E.; Gonzalez-Coloma, A.; Julio-Torres, L. F. Comparative study of volatile composition and biological activities of essential oil from Colombian *Piper marginatum* Jacq. *Bol. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas* **2015**, *14*, 343. [\[Link\]](#)
- ²⁰ Sequeda-Castaneda, L. G.; Celis, C.; Gutierrez, S.; Gamboa, F. *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae): Phytochemical, therapeutic, botanical insecticidal and phytosanitary uses. *Pharmacologyonline* **2015**, *3*, 136. [\[Link\]](#)
- ²¹ Kim, H. K.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R. NMR-based metabolomic analysis of plants. *Nature Protocols* **2010**, *5*, 537. [\[Link\]](#)
- ²² Bezerra, G. B.; Araújo, J. M.; Belian, M. F.; Silva, W. E.; Ramos, C. S. Um novo complexo híbrido formado a partir de piplartina e o íon vanadila: síntese, caracterização e estudo da atividade biológica. *Química Nova* **2017**, *40*, 998. [\[CrossRef\]](#)
- ²³ Clinical and Laboratory Standards Institute; Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts and Filamentous Fungi. Approved standard: M27-A3 e M38- A2. Wayne (PA): CLSI, **2008**. [\[Link\]](#)
- ²⁴ Clinical and Laboratory Standards Institute; Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twentieth Informational Supplement: M100-S20 e M100-S20-U. Wayne (PA): CLSI, 2010. [\[Link\]](#)
- ²⁵ Duarte, M. C. T.; Figueira, G. M.; Sartoratto, A.; Rehder, V. L. G.; Larmelina, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *97*, 305. [\[Link\]](#)
- ²⁶ Bru, J.; Guzman, J. David. Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2016**, *26*, 767. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁷ Silva, A. S.; da Silva, J. M.; Almeida, A. V.; Ramos, C. S. Herbivory causes chemical and biological changes on essential oil from *Piper marginatum* leaves. *The Natural Products Journal* **2016**, *6*, 313. [\[Link\]](#)
- ²⁸ Carvalho, A. T.; Dotterl, S.; Schlindwein, C. An aromatic volatile attracts oligolectic bee pollinators in an interdependent bee-plant relationship. *Journal of Chemical Ecology* **2014**, *40*, 1126. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- ²⁹ Flamini, G.; Cioni, P. L.; Morelli, I. Differences in the Fragrances of Pollen and Different Floral Parts of Male and Female Flowers of *Laurus nobilis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 4647. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁰ Jurgens, A.; Witt, T.; Gottsberger, G. Flower scent composition in *Dianthus* and *Saponaria* species (Caryophyllaceae) and its relevance for pollination biology and taxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology* **2003**, *31*, 345. [\[CrossRef\]](#)
- ³¹ Moraes, M. M.; da Silva, T. M. G.; da Silva, R. R.; Ramos, C. S.; da Camara, C.A. G. Circadian variation of essential oil from *Piper marginatum* Jacq. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas* **2014**, *13*, 270. [\[Link\]](#)
- ³² Fazolin, M.; Estrela, J. L. V.; Medeiros, A. F. M.; Silva, I. M.; Gomes, L. P.; Silva, M. S. F. Synergistic potential of dillapiol-rich essential oil with synthetic pyrethroid insecticides against fall armyworm. *Ciência Rural* **2016**, *46*, 382. [\[CrossRef\]](#)
- ³³ Liu, S. Q.; Scott, I. M.; Pelletier, Y.; Kramp, K.; Durst, T.; Sims, S. R.; Arnason, J. T. Dillapiol: A Pyrethrum Synergist for Control of the Colorado Potato Beetle. *Journal of Economic Entomology* **2014**, *107*, 797. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁴ Gaia, A. M.; Yamaguchi, L. F.; Jeffrey, C. S.; Kato, M. J. Age-dependent changes from allylphenol to prenylated benzoic acid production in *Piper gaudichaudianum* Kunth. *Phytochemistry* **2014**, *106*, 86. [\[CrossRef\]](#)

- ³⁵ Lima, E. O.; Belém, L. F.; Cechinel Filho, V.; Corrêa, R.; Nunes, R. J.; Andricopulo, A.; Silva, V. E. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Malassezia furfur* a imidas cíclicas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2002**, *38*, 443. [[CrossRef](#)]
- ³⁶ Devi, A.; Ganjewala, D. Antimicrobial activity of *Acorus calamus* (L.) rhizome and leaf extract. *Acta Biologica Szegediensis* **2009**, *53*, 45. [[Link](#)]
- ³⁷ Brazão, M. A.; Brazão, F. V.; Maia, J. G. S.; Monteiro, M. C. Antibacterial activity of the *Piper aduncum* oil and dillapiole, Its main constituent, Against multidrug-resistant strains. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas* **2014**, *13*, 517. [[Link](#)]
- ³⁸ Gamboa, F.; Gutierrez, S. J.; Tellez, N. Antimicrobial Activity of *Piper marginatum* Jacq and *Ilex guayusa* Loes on Microorganisms Associated with Periodontal Disease. *International Journal of Microbiology* **2018**, *4147383*, 1. [[CrossRef](#)]
- ³⁹ Pascoli, I. C.; Anjos, M. M.; Silva, A. A.; Lorenzetti, F. B.; Cortez, D. A. G.; Mikcha, J. M. G.; Nakamura, T. U.; Nakamura, C. V.; Abreu Filho, B. A. Piperaceae extracts for controlling *Alicyclobacillus acidoterrestris* growth in commercial orange juice. *Industrial Crops and Products* **2018**, *116*, 224. [[CrossRef](#)]