



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA
UNIDADE DE DOURADOS

**Estudo químico do óleo essencial das espécies *Piper amalago* e
Peperomia obtusifolia e biológico de *Piper amalago***

Daiane Santana Souza

Dourados – MS
Novembro – 2010

**Estudo químico do óleo essencial das espécies *Piper amalago* e
Peperomia obtusifolia e biológico de *Piper amalago***

DAIANE SANTANA SOUZA

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial para
obtenção do título de Licenciatura em
Química, pela Universidade Estadual de
Mato Grosso do Sul, sob orientação do
Prof. Dr. Jonas da Silva Mota.

Dourados – MS
Novembro – 2010

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, que me deu força, paciência e coragem para enfrentar cada dificuldade encontrada.

Agradeço aos meus pais, Genivaldo e Cecília pelo apoio, dedicação e palavras de conforto, e a minha irmã, Beatriz, por todo incentivo e confiança, pois sem eles eu nada teria conseguido. Ao Jhonatan, por entender minha ausência e acreditar em mim, sempre.

Aos meus amigos, parceiros nesses longos quatro anos, Reinilda, Alfredo, Carlise, Vanessa, Gustavo, Elbio, Eric, Edinho e Carlão, e aos que encontrei pelo caminho, e que foram de igual importância, Keila, Andressa, Fabiano, Paty, Gaby, Kelly, Japa, Chirley, Raquel, Lucas, Vanessa, Glaucia, Jader, Saule e em especial à Fer Bottega, por toda ajuda. A todos que compartilharam de minhas dúvidas, anseios e confissões.

Ao Dr. Jonas Mota, orientador e professor paciente e à Dr^a. Cláudia Cardoso, que co-orientou este trabalho e tanto me auxiliou na produção deste e outros.

Ao Dr. Cristiano Raminelli e à Ana Cristina, pela parceria e auxílio na aplicação das amostras de óleo essencial.

A Dr^a Margareth Batistote e pelo auxílio em todo processo de realização dos testes biológicos Msc. Adriana Mary Mestriner por ter nos cedido as cepas utilizadas.

Aos professores Dr. Alex Jeller, Dr^a. Roberta Coelho e Msc. Frank por terem me auxiliado e compartilhado o seu conhecimento, sem se cansar. Obrigada pela paciência!

A todos os funcionários da biblioteca UEMS, pela paciência, amizade e auxílio.

"A vida é, em parte, o que fazemos dela, e em parte o que é feito pelos amigos que escolhemos"

Thomas Lanier Williams

Sumário

| | |
|---|----|
| ÍNDICE DE TABELAS | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| RESUMO | vi |
| 1.INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1. Óleos essenciais | 1 |
| 1.2. A família Piperaceae | 1 |
| 1.3. A espécie <i>Piper amalago</i> | 2 |
| 1.4. A espécie <i>Peperomia obtusifolia</i> | 3 |
| 2.OBJETIVO | 4 |
| 3.PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 4 |
| 3.A. Extração dos óleos essenciais das espécies <i>P. amalago</i> e <i>P. obtusifolia</i> ... | 4 |
| 3.A.1. Solventes | 4 |
| 3.A.2. Coleta do material vegetal e identificação das espécies | 4 |
| 3.A.3. Preparo do material vegetal | 5 |
| 3.A.4. Análise dos óleos essenciais | 5 |
| 3.B. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial da espécie <i>P. amalago</i> | 7 |
| 3.B.1. Local de realização dos testes | 7 |
| 3.B.2. Microorganismos | 7 |
| 3.B.3. Meios de cultura | 7 |
| 3.B.4. Preparo da solução fisiológica (salina) | 8 |
| 3.B.5. Inóculo | 8 |
| 3.B.6. Semeadura da placa | 8 |
| 3.B.7. Aplicação das amostras | 9 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 9 |
| 4.A. Análise do óleo essencial da espécie <i>Piper amalago</i> | 9 |
| 4.A.1. PAF – Folhas | 9 |
| 4.A.2. PAC – Caules | 12 |
| 4.A.3. PAFL - Inflorescências | 15 |
| 4.B. Análise do óleo essencial da espécie <i>Peperomia obtusifolia</i> | 20 |
| 4.B.1. POF – Folhas | 20 |
| 4.B.2. POC - Caules | 23 |
| 4.C. Teste Biológico | 26 |
| 5. CONCLUSÕES | 26 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |

Índice de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 01. Substâncias identificadas no óleo essencial da folha (PAF) da espécie <i>Piper amalago</i> , com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens..... | 11 |
| Tabela 02. Substâncias identificadas no óleo essencial do caule (PAC) da espécie <i>Piper amalago</i> , com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens..... | 14 |
| Tabela 03. Substâncias identificadas no óleo essencial das inflorescências (PAFL) da espécie <i>Piper amalago</i> , com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens..... | 17 |
| Tabela 04. Substâncias voláteis em comum identificadas nas folhas, caules e inflorescências da espécie <i>P. amalago</i> e suas respectivas porcentagens..... | 18 |
| Tabela 05. Substâncias em comum com outras espécies da família <i>Piperaceae</i> | 18 |
| Tabela 06. Substâncias identificadas no óleo essencial das folhas (POF) da espécie <i>Peperomia obtusifolia</i> , com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens..... | 22 |
| Tabela 07. Substâncias identificadas no óleo essencial dos caules (POC) da espécie <i>Peperomia obtusifolia</i> , com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens..... | 25 |
| Tabela 08. Resultados dos testes frente as bactérias testadas..... | 26 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 01. <i>Piper amalago</i> . Folhas e inflorescências..... | 3 |
| Figura 02. <i>Peperomia obtusifolia</i> . Folhas e inflorescências..... | 4 |
| Figura 03. Aparelho do tipo Clevenger semelhante ao utilizado na extração dos óleos essenciais..... | 5 |
| Figura 04. Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Piper amalago</i> (PAF)..... | 10 |
| Figura 05. Cromatograma do óleo essencial dos caules de <i>Piper amalago</i> (PAC)..... | 13 |
| Figura 06. Cromatograma do óleo essencial das inflorescências de <i>Piper amalago</i> (PAFL)..... | 16 |
| Figura 07. Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Peperomia obtusifolia</i> (POF)..... | 21 |
| Figura 08. Cromatograma do óleo essencial dos caules de <i>Peperomia obtusifolia</i> (POC)..... | 24 |

Resumo

A espécie *Piper amalago* é utilizada na medicina popular para dores no tórax, inflamações em geral e, em particular, inflamações de pele. Encontrada na flora do Mato Grosso do Sul, a espécie é rica em óleos essenciais. A espécie *Peperomia obtusifolia* tem ocorrência desde o nordeste do México até a América do Sul, e há relatos de usos medicinais atribuídos a algumas espécies, incluindo atividade antiasmática, antiinflamatória, analgésica e antibacteriana, para o tratamento da esterilidade, e de ulcera gástrica. Sendo assim, teve-se como objetivo o estudo químico do óleo essencial dos caules e folhas de ambas as espécies, e da inflorescência da *Piper amalago*, além do estudo da atividade antimicrobiana do óleo essencial desta. Os componentes voláteis foram extraídos dos vegetais frescos por hidrodestilação utilizando aparelho do tipo Clevenger, por 4 hr. O óleo foi analisado via CG-EM e a identificação dos constituintes voláteis foi feita por comparação dos índices de retenção (IR) e similaridade de seus espectros de massas com dados existentes na literatura. Das amostras enviadas para a análise, foram identificadas para as folhas da espécie *Piper amalago*, 53 substâncias, as quais representam 94,63% em percentagem de área relativa dos picos. Nas inflorescências de *P. amalago* foram identificadas 27 substâncias, as quais representam 88% em área relativa e nos caules de *P. amalago* foram identificadas 56 substâncias, representando 97,71% em área relativa. Para a espécie *Peperomia obtusifolia* foram identificados 53 componentes nas folhas, representando 30,41% e 13 componentes no caule, representando 54,07% dos presentes em área relativa. Os testes da atividade antibacteriana para a espécie *P. amalago* foram realizados utilizando cepas de bactérias e seus respectivos controles. Os extratos das folhas apresentaram halos de inibição frente as cepas, *S. tifi* a Tetraciclina (TET) 30 mcg, *E. coli* (TET) 30 mcg, *E. faecalis* a Amicacina (AMI) 30 mg, *S. aureus* a Cefuroxina (CRX) 30 mg e *Shigella flexonela* (TET) 30 mg. Os extratos do caule forneceram resultados positivos para as bactérias *S. tifi* e *E. faecalis*, os extratos das flores apresentaram halos de inibição frente as cepas *S. aureus* e *Shigella flexonela*.

Palavras-chave: Piperaceae, *Piper amalago*, *Peperomia obtusifolia*, óleo essencial, CG-EM;

1. Introdução

1.1. Óleos essenciais

A ISO (International Standard Organization) define óleos voláteis como os produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor d'água. De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (SIMÕES et al,1999). Estes são obtidos de parte de plantas através de destilação por arraste com vapor. São misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (SIMÕES et al., 1999).

Os óleos essenciais em sua maioria são constituídos de substâncias terpênicas (monoterpenos e sesquiterpenos), e freqüentemente de fenilpropanóides, acrescidos de moléculas menores, como alcoóis, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curta. Dependendo do método de extração e da composição da planta, terpenos menos voláteis podem aparecer na composição do óleo essencial (SIMÕES et al, 1999).

A composição do óleo volátil de uma planta é determinada geneticamente, sendo geralmente específica para um determinado órgão e característica para o seu estágio de desenvolvimento (TEUSCHER, 1990). Nas plantas os óleos apresentam-se em misturas de diferentes concentrações tendo normalmente um composto majoritário (CARDOSO et. al., 2008), sendo que condições ambientais são capazes de causar variações significativas.

1.2. A família Piperaceae

Piperaceae é uma família de plantas Magnoliídeas, que inclui as diversas variedades de pimentas. *Piper* e *Peperomia* são os maiores gêneros, respectivamente com 265 e 166 espécies (YUNCKER 1972,1973,1974). As espécies de Piperaceae têm sido posicionadas entre as angiospermas basais e são frequentemente encontradas em habitat diversificados, que incluem matas ciliares, vegetação secundária e campos rupestres. As espécies de *Piper* possuem hábitos de plantas herbáceas, arboretos e trepadeiras enquanto que, no caso de *Peperomia*, é freqüente o hábito de epífitas e suculentas. As classes de metabólitos secundários que caracterizam espécies de Piperaceae são amidas, fenilpropanóides/ lignóides e cromenos, além de diversos outros de origem biossintética mista de menor representatividade. Apesar de muitos desses possuírem atividades inseticidas, diversos insetos fitófagos, alguns considerados pragas de importância econômica, foram observados alimentando-se de espécies de Piperaceae. (VANIN et al.

2008), inclusive espécies de *Piper* são fontes de alimentos para alguns grupos de morcegos frugívoros (MELLO, 2002).

Várias espécies de Piperaceae têm sido usadas na medicina. Na Jamaica, das onze espécies conhecidas, *P. aduncum* L. e *P. hispidum* Sw. são mencionadas como medicamentos para dores de estômago e como repelentes de insetos (ASPREY e THORNTON, 1954). As sementes de pimenta-do-reino, *P. nigrum* L., originária do Leste Africano, é utilizada em todo o mundo como tempero, enquanto suas folhas, raízes e sementes são usadas no tratamento de bronquite, doenças gastrointestinais, doenças venéreas e reumatismo. A investigação fitoquímica de espécies de Piperaceae têm mostrado o acúmulo de vários compostos inseticidas em *P. nigrum* L., *P. betle* L., e *P. Longun*. (PARK et al 2002; NAVICKIENE et al. 2000; PAULA et al. 2000; PARMAR et al. 1997; CHAURET et al., 1996). Por outro lado, várias espécies de insetos foram descritos como visitantes, fitófagos ou polinizadores (FIGUEIREDO e SAZIMA, 2000).

O gênero *Piper* mostra o acúmulo de diferentes classes de metabólitos biologicamente ativos, tais como amidas (NAVICKIENE et al, 2000; SILVA et al, 2002, PARK, B.-S et al, 2007; HUSSAIN, K. et al, 2009), pironas e flavonóides (VIEIRA et al, 1980, PORTET, B. et al, 2008) fenilpropanóides e cromenos (LAGO et al, 2004, LEITE, A. C et al 2007; LOPES et al, 2008) lignóides (1985; TYAGI et al, 1993; BADHEKA et al, 1987, SENGUPTA et al., 1987).

Atualmente óleos essenciais de espécies de *Piper* vêm sendo testados frente a diversas atividades biológicas tais como atividade frente a larvas do mosquito *Aedes aegypti* (NEVES et al, 2009), atividade antioxidante e antimicrobiana (DE HELUANI et al, 2009), efeito inseticida (FRANÇOIS, T. et al, 2009), atividade antioxidante (WANG, H. F. et al 2008).

1.3. A espécie *Piper amalago*

A classificação botânica de acordo com o sistema de Cronquist para a *P. amalago* é descrita a seguir (CRONQUIST, 1981). **Reino** Plantae, **Filo** Magnoliophyta, **Classe** Magnoliopsida, **Subclasse** Magnoliidae **Ordem** Piperales, **Família** Piperaceae, **Gênero** *Piper*, **Espécie**, *Piper amalago*.

Em relação à espécie *Piper amalago* a literatura relata o isolamento de duas amidas (DOMÍNGUEZ et al, 1985, JACOBS et al, 1999) e a identificação de amidas piperinas em óleos essenciais (ACHENBACH et al, 1985). Não existem relatos de avaliação da atividade biológica e componentes do óleo essencial de outros órgãos, além das folhas.



Figura 01. *Piper amalago*. Folhas e inflorescências (Central Yucatán, MÉXICO - 2009)

1.4. A espécie *Peperomia obtusifolia*

A classificação botânica de acordo com o sistema de Cronquist para a *P. obtusifolia* é descrita a seguir (CRONQUIST, 1981). **Reino** Plantae, **Filo** Magnoliophyta, **Classe** Magnoliopsida, **Subclasse** Magnoliidae **Ordem** Piperales, **Família** Piperaceae, **Gênero** *Peperomia*, **Espécie** *Peperomia obtusifolia*.

Comparado com o gênero *Piper* poucos estudos fitoquímicos de *Peperomia* foram relatados. Um estudo fitoquímico anterior das partes aéreas de *Peperomia obtusifolia* revelou a presença de cinco compostos fenólicos tendo grupos metílicos, prenil e geranil (TANAKA et al, 1998) e também uma mistura racêmica de um conhecido metabólito bioativo de suas folhas, o 3,4-dihidro-5-hidroxi-2,7-dimetil-8-(3''-metil-2''-butenil)-2-(40-metil-10,30-pentadienil)-2H-1-benzopiran-6-ácido carboxílico. (BATISTA JUNIOR et al, 2009). Em estudos anteriores revelou-se que o extrato bruto etanólico das folhas de *P. Obtusifolia* apresenta atividade tripanossomicida significativa. Extratos das folhas e caules de *Peperomia obtusifolia* levaram ao isolamento de benzopiranos prenilados com atividade anti-tripanicida potente e um bom índice de seletividade quando testados em células de mamíferos. (MOTA et al, 2008)



Figura 02. *Peperomia obtusifolia*. Folhas e inflorescências (Homestead, Flórida. EUA – 2010)

2. Objetivos

Estudo químico-biológico dos óleos essenciais das folhas, caules e inflorescências da espécie de *Piper amalago*;

Estudo químico do óleo essencial das folhas e caules da espécie *Peperomia obtusifolia*.

3. Procedimento Experimental

3.A) Extração dos óleos essenciais das espécies *P. amalago* e *P. obtusifolia*

3.A.1. Solventes

- Água ultrapurificada (Pure Water System, Scholar-UV, Human UP 900).
- Hexano PA

3.A.2. Coleta do material vegetal e identificação das espécies vegetais

Para extração do óleo essencial foi realizada uma coleta de folhas, caule e inflorescências da espécie *P. amalago* (HUEM 14310), em fevereiro de 2010, na reserva da Fazenda Coqueiro nas proximidades da UEMS, em Dourados – MS e foi identificada por Adriana Lenita Meyer Albiero. A espécie *Peperomia obtusifolia* (Kato 070) foi comprada no comercio de plantas ornamentais de Araraquara – SP e identificada pela Dra. Inês Cordeiro do instituto de Botânica de São Paulo. A coleta de folhas e caules da espécie *P. obtusifolia* foi realizada em outubro de 2006, onde o óleo essencial foi preparado e submetido a cromatografia gasosa no mesmo ano e a análise dos resultados foi realizada em 2010, já que os dados ficaram armazenados visto que não havia disponibilidade para análise.

3.A.3. Preparo do material vegetal

O material vegetal (folhas, caule e inflorescências), *in natura* de *P. amalago* foi ligeiramente triturado e submetido, separadamente, à hidrodestilação em um sistema de destilação por arraste a vapor (consistido em um balão de fundo redondo e um condensador reto adaptado para haver poucas perdas do material volátil), com água em ebulição por cerca de 4 horas. O mesmo processo foi feito para os caules e folhas da espécie *P. obtusifolia*, no Departamento de Química da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Araraquara) em 2006.



Figura 03. Aparelho do tipo Clevenger semelhante ao utilizado na extração dos óleos essenciais. (Glassco Labware® – Clevenger Apparatus)

3.A.4. Análise dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de ambas espécies, encontrados em meio aquoso, foram extraídos com hexano, através de uma partição líquido-líquido. O volume de solvente utilizado na partição foi o mesmo da solução aquosa contendo o óleo essencial.

As amostras PAF (óleo essencial da folha de *P. amalago*), PAC (óleo essencial do caule de *P. amalago*) e PAFL (óleo essencial da inflorescência de *P. amalago*) foram encaminhadas para a Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Federal da Grande Dourados (FACET-UFGD) para análise em cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM).

Os constituintes voláteis de *P. amalago* foram analisados por um cromatógrafo a gás, GC 3900 marca Varian, acoplado a um Espectrômetro de massas com detector de massas Saturn 2100 T/MS/MS, injetor automático CP 8410 e processador de dados MS 2.0 com banco de dados da NIST/02 com 147.198 espectros de massas.

Para a separação cromatográfica do óleo essencial das folhas caules raízes e inflorescências de *Piper amalago* foi empregada a **condição 1**: coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária de poli-dimetil-siloxano com 5% de fenila, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e fase de 0,25 μm . A temperatura inicial do forno foi de 50°C, seguido de um aquecimento de 50°C a 250°C a 3°C /min. Foi empregado como gás de arraste o hélio 99,999% (fluxo de 1 ml/min); volume de injeção de 1 μL e razão de split (1:20). As temperaturas do injetor e do detector íon-trap foram de 240 °C e 240°C, respectivamente, manifold a 70°C e linha de transferência 240 °C. Para o espectrômetro de massas foram empregadas a energia de ionização de 70 Ev, com intervalo de massas de 40-450 m/z e um intervalo de varredura de 0.5s.

As amostras POF (óleo essencial da folha de *P. obtusifolia*), POC (óleo essencial do caule de *P. obtusifolia*) foram encaminhadas para o Departamento de Química da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Araraquara) para análise em cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM), em outubro de 2006, sendo que a identificação dos compostos foi realizada no presente ano.

A análise do óleo essencial de *Peperomia obtusifolia* foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) foram realizadas em um cromatógrafo a gás Varian CP 3800 juntamente com ion trap Varian Saturn 2000 GC-MS/MS, um amostrador automático Varian CP 8200, sistema de dados Star Workstation e as bibliotecas NIST MS (Varian, EUA).

Para análise do óleo essencial de *Peperomia obtusifolia* foi utilizada a **condição 2**: coluna capilar de sílica fundida VF-5MS (DB5), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e fase de 0,25 μm (Varian, EUA). Hélio foi usado como gás de arraste (pureza > 99,999%), sendo que a temperatura do forno foi, inicialmente 60 ° C, sendo. em seguida, elevada para 240°C a 3°C / min e mantido por 10 min. A temperatura de injeção foi de 220 ° C e split 1:20. volume de injeção foi 1 ml. Hélio foi usado como gás de arraste com um fluxo constante de 1,0 mL / min. O detector seletivo de massas foi operado em eletrônica de ionização (EI) a modalidade com 70 eV de energia do elétron. A temperatura da fonte de íons foi de 200°C e a temperatura da interface CG-EM foi de 220°C. O modo de varredura completa foi selecionado com uma ampla variedade de m/z (40-500 m/z) e um tempo de corte de solvente de 3,0 min.

Os componentes foram identificados através da comparação de seus índices de retenção e similaridade de seus espectros de massas com dados da literatura (ADAMS,

1995). Como referência externa utilizou-se uma mistura (1,56 mg/ml) de n-alcenos (C₈-C₂₂). O índice de retenção (*IK*, índice de Kovat's) foi calculado pela fórmula:

$$IK = \frac{(\log T_{rx} - \log Tr_z) 100}{(\log T_{rz+1} - \log Tr_z)} + 100z$$

Onde: *IK* é o índice de Kovat's, *n* é o número de carbonos do n-alceno com o tempo de retenção (*t_{Rz}*) imediatamente anterior ao padrão (em minutos), e *t_{Rz+1}* o tempo de retenção do n-alceno localizado imediatamente após o padrão avaliado. (PEREIRA, et al, 2002)

3.B) Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas da espécie *P. amalago*

Para a avaliação da atividade antimicrobiana do extrato vegetal foi empregado o método da difusão em ágar, baseado na técnica descrita por BAUER *et al.*, (1966).

3.B.1. Local de realização dos testes

Os testes microbiológicos foram realizados no laboratório CPBio da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS – Dourados), sob a orientação da professora Margareth Batistote. As cepas de bactérias usadas para a realização dos testes de atividade antibacteriana foram fornecidas pela Professora Msc. Adriana Mary Mestriner Felipe de Melo do Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN).

3.B.2. Microrganismos

Seis cepas bacterianas foram usadas para o teste de sensibilidade dos ensaios: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella tifi*, *Enterococcus faecalis* e *Shigella flexonela*. As cepas das bactérias testadas foram reativadas com repique em meio BHI. O procedimento é igual para as seis cepas testadas, seguindo corretamente todas as normas de biossegurança, bem como as regras assépticas.

3.B.3. Meios de cultura

O meio de cultura usado para a reativação das cepas bacterianas foi o caldo “Infusão de cérebro e coração” (BHI), e para o crescimento e manutenção das bactérias, o ágar Mueller-Hinton. Os meios BHI [(20,0 g de infusão de cérebro de bezerro, 25,0 g

de infusão de coração, 1,0 g de protease peptona, 2,0 g de dextrose, 5,0 g de cloreto de sódio e 2,5g de fosfato de disódico); foram dissolvidos 37,0 g do pó de infusão de cérebro e coração em 1000,00 ML de água destilada, homogeneizada e autoclavado a 120°C por 20 minutos] e o ágar Mueller-Hinton [(30,0 g de infusão de carne, 17,5 g de Hidrolizado ácido de caseína, 1,5 g de amido e 17,5 g de ágar -ágar); foram dissolvidos 38,0 g do pó Mueller – Hinton em 1000,00 ML de água destilada, homogeneizada e autoclavado a 120°C por 20 minutos)] foram preparados conforme a descrição do fabricante, contida na embalagem dos meios. Depois o caldo BHI foi transferido para tubos de ensaios, de modo que cada tubo tivesse uma alíquota de 5 ML do caldo, sendo esses armazenados em geladeira, após prévia esterilização em autoclave.

3.B.4. Preparo de solução fisiológica (salina)

Para o preparo da solução fisiológica pesou-se 0,9 g de cloreto de sódio e dissolveu-se em água destilada. Em seguida colocou-se a solução em uma proveta e completou-se o volume para 100 ML. Em tubos de ensaio foram pipetadas alíquotas de 9 ML da solução, que, após serem autoclavadas, foram armazenadas em geladeira.

3.B.5. Inóculo

Os inóculos foram obtidos a partir de uma suspensão bacteriana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^6$ células/ML. Esta suspensão foi obtida da seguinte maneira:

- a – Transferiu de 3 a 5 colônias da bactéria em estudo, com auxílio de uma alça de platina estéril, para um tubo contendo o meio líquido BHI.
- b – Incubou o tubo durante 2 a 5 horas a 37°C, em estufa.
- c – Após as culturas crescidas estas foram ressuspensas em solução fisiológica 0,9% (p/v) até obter-se uma turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala de Mac Farland, o que corresponde aproximadamente a $1,5 \times 10^6$ UFC/ml.

3.B.6. Semeadura da placa

A semeadura da suspensão bacteriana foi feita em placas de Petri contendo 15 ML do meio ágar Mueller-Hinton, com uma espessura de aproximadamente 4 mm. Com o auxílio do swab estéril as cepas foram inoculadas. O swab foi mergulhado na suspensão bacteriana e em seguida pressionado na parede interna do tubo de ensaio, para eliminar o excesso de meio. A semeadura foi feita de forma uniforme, deixando a placa secar em temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos.

3.B.7. Aplicação das amostras

Os discos de papel filtro, usados para a impregnação com solução de óleo essencial das folhas (PAF), do caule (PAC) e da inflorescência (PAFL) na placa, foram cortados com antecedência, com 6 mm de diâmetro e esterilizados em autoclave. Os discos estéreis foram distribuídos sob uma folha de papel alumínio em câmara de fluxo laminar, e com o auxílio de uma pipeta automática aplicou-se 20 µL da solução preparada, com concentração 1000 µg/ml, sobre cada disco. Após a secagem dos discos e com o auxílio de uma pinça foram aplicados sobre as placas já semeadas, e foram incubadas em estufa a 37°C, por vinte e quatro horas, para análise dos halos formados.

O teste foi realizado em triplicata e as zonas de inibição produzidas pelos óleos essenciais foram comparadas com as zonas de inibição dos antibióticos padrões (controle positivo): *P. aeruginosa* a Amicacina (AMI) 30 mg (B-1), *S. tifi* a Tetraciclina (TET) 30 mg (B-2), *E. coli* a Tetraciclina (TET) 30 mg (B-3), *E. faecalis* a Amicacina (AMI) 30 mg (B-4), *S. aureus* a Cefuroxina (CRX) 30 mg (B-5) e *Shigela flexonela* a Tetraciclina (TET) 30 mg (B-6). Controle negativo foi hexano, o solvente de preparo da solução de óleo essencial.

4. Resultados e Discussão

4.A) Análise do óleo essencial da espécie *Piper amalago*

4.A.1. PAF – folhas

Da amostra enviada para a análise via CG-EM, foram identificados um total de 53 substâncias, as quais representam 94,63 % em relação às áreas relativas dos picos do cromatograma, representando as substâncias presentes, que são apresentadas na tabela 1. A figura 4 apresenta o cromatograma obtido do óleo essencial.

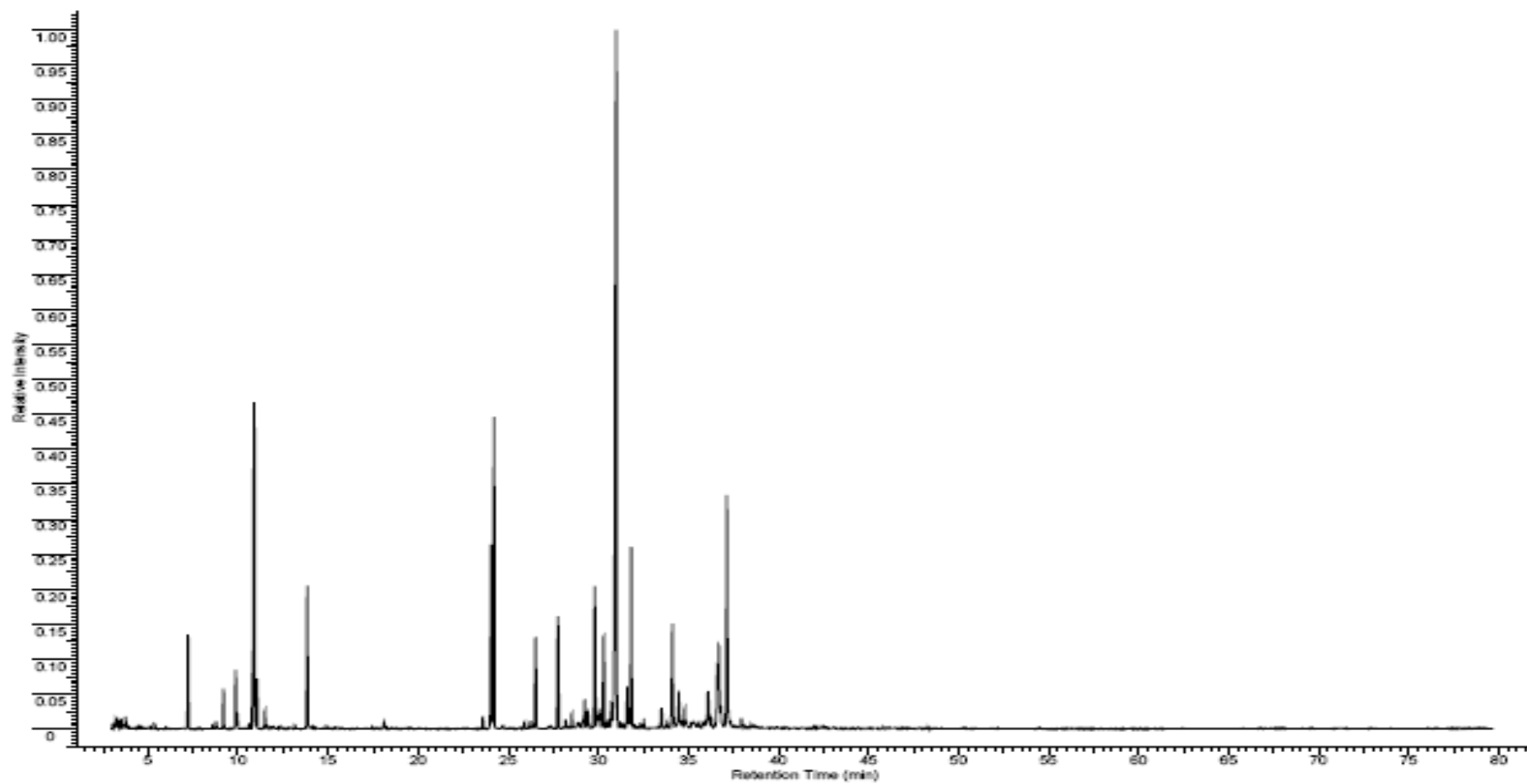


Figura 04. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Piper amalago* (PAF).

Tabela 01 – Substâncias identificadas no óleo essencial das folhas (PAF) da espécie *Piper amalago*, com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens.

| Composto | I _{cal} ^a | I _{lit} ^b | TR ^c | Area (%) |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|----------|
| Etil isovalerato | 858 | 858 | 5,347 | 0,122 |
| (α) Tujeno | 929 | 930 | 7,247 | 1,746 |
| Verbeneno | 967 | 968 | 8,598 | 0,072 |
| Sabineno | 974 | 975 | 8,892 | 0,143 |
| (β) Pineno | 980 | 979 | 9,001 | 0,773 |
| 2,3,5-trimetil-pirazina | 999 | 1000 | 9,869 | 1,176 |
| (δ) 2- careno | 1001 | 1002 | 9,959 | 0,288 |
| P- Cimeno | 1025 | 1026 | 10,842 | 9,376 |
| O- Cimeno | 1029 | 1029 | 11,029 | 0,017 |
| Limoneno | 1030 | 1030 | 11,05 | 0,922 |
| (β) Z- Ocimeno | 1037 | 1037 | 11,288 | 0,348 |
| P- Cimeneno | 1092 | 1091 | 13,808 | 3,36 |
| (α) Terpeneol | 1188 | 1189 | 18,106 | 0,141 |
| (<i>em</i>) acetato de Verbanol | 1310 | 1310 | 23,598 | 0,314 |
| (<i>neo</i>) acetato de Verbenol | 1321 | 1321 | 24,051 | 4,784 |
| (E) Metil geranato | 1325 | 1325 | 24,209 | 7,843 |
| (β) Z- Damascenona | 1365 | 1364 | 25,907 | 0,16 |
| Longiciclono | 1373 | 1374 | 26,247 | 0,224 |
| Silfiperfol-6-eno | 1378 | 1379 | 26,513 | 2,359 |
| Sativeno | 1392 | 1392 | 27,218 | 0,04 |
| Longifoleno | 1408 | 1408 | 27,788 | 2,984 |
| (β) Cedreno | 1421 | 1421 | 28,279 | 0,21 |
| (β) Duprezianeno | 1423 | 1423 | 28,403 | 0,367 |
| (β) Gurjuneno | 1434 | 1434 | 28,834 | 0,054 |
| Aromadendreno | 1441 | 1441 | 29,152 | 0,152 |
| Cedrano | 1444 | 1444 | 29,246 | 0,778 |
| (β) epi- Santaleno | 1448 | 1447 | 29,424 | 0,453 |
| (<i>cis</i>) Muurolo-3,5- dieno | 1450 | 1450 | 29,514 | 0,113 |
| (α) Patchouleno | 1457 | 1457 | 29,801 | 3,93 |
| (<i>allo</i>) Aromadrendreno | 1460 | 1460 | 29,939 | 0,136 |
| (<i>cis</i>) Muurolo -4(14),5-dieno | 1468 | 1467 | 30,299 | 0,537 |
| (γ) Muurolo | 1479 | 1480 | 30,723 | 0,112 |
| (γ) Himachaleno | 1485 | 1483 | 30,986 | 25,69 |
| (<i>cis</i>) 6,11- Eudesmo- dieno | 1490 | 1490 | 31,228 | 0,1809 |
| (<i>trans</i>)Muurolo-4(14),5-dieno | 1496 | 1494 | 31,398 | 1,0615 |
| (β) Epizonareno | 1502 | 1502 | 31,707 | 0,281 |
| (α) Z- Bisaboleno | 1505 | 1504 | 31,830 | 4,7977 |
| (β) Miristicino | 1518 | 1520 | 32,338 | 0,076 |
| Eugenol Acetato | 1523 | 1524 | 32,522 | 0,227 |
| Elemol | 1549 | 1550 | 33,504 | 0,541 |
| Germacreno D | 1557 | 1561 | 33,827 | 0,1483 |
| (<i>cis</i>)Muurolo-5-em-4-(α) -ol | 1564 | 1561 | 34,114 | 3,2166 |
| (Z) Isoelemicino | 1573 | 1573 | 34,469 | 1,2122 |
| (β) Óxido Cariofileno | 1581 | 1581 | 34,789 | 0,4943 |
| Thujopsan-2- <i>beta</i> -ol | 1583 | 1583 | 34,854 | 0,158 |
| Guaiol | 1606 | 1601 | 35,804 | 0,088 |
| (γ) 1,10-di-epi- Cubenol | 1615 | 1614 | 36,102 | 1,271 |
| (γ) 10- epi- Eudesmol | 1619 | 1619 | 36,269 | 0,2627 |
| Isoborneol | 1629 | 1628 | 36,609 | 1,5226 |
| (γ) Eudesmol | 1631 | 1631 | 36,696 | 2,3048 |
| (β) Acorenol | 1634 | 1634 | 36,793 | 0,6233 |
| Cubenol | 1643 | 1643 | 37,140 | 6,1713 |
| Bulnesol | 1665 | 1666 | 37,946 | 0,2726 |

^a Índice de retenção calculado/ ^b Índice de retenção da literatura/ ^c Tempo de retenção

Das 53 substâncias identificadas, nove (9) se apresentaram como majoritárias, dentro da faixa estipulada para esta amostra de porcentagens de área entre 3,00 e 26,00%, sendo elas o (γ) Himachaleno (25,69 %), *p*-Cimeno (9,37%), (E)-metil geranato (7,84%), Cubenol (6,17%), (α) Z- Bisaboleno (4,80%), (*neo*) Acetato de verbenol (4,78%), (α) patchouleno (3,93 %), *p*-Cimeno (3,36%), (*cis*) Muurol-5-em-4-(α)-ol (3,22%).

Não se encontrou na literatura citação relevante sobre o (γ) Himachaleno, constituinte majoritário.

O *p*-Cimeno (*p*-isopropil tolueno, 1-metil-4-isopropil benzeno ou metilpropil benzeno) é um hidrocarboneto aromático, de fórmula molecular $C_{10}H_{14}$, líquido, sem coloração, de odor agradável e insolúvel em água.

A terceira substância com maior porcentagem em área, o (E)-metil geranato possui fórmula molecular $C_{11}H_{18}O_2$ e um odor frutado.

O cubenol, presente no óleo com porcentagem de 3,93%, apresenta fórmula molecular $C_{15}H_{26}O$.

4.A.2. PAC – caules

Da amostra enviada para a análise via CG-EM, foram identificados um total de 55 substâncias, as quais representam 75,67 %, em área relativa de picos das substâncias presentes, que são apresentadas na tabela 2. A figura 5 apresenta o cromatograma obtido do óleo essencial.

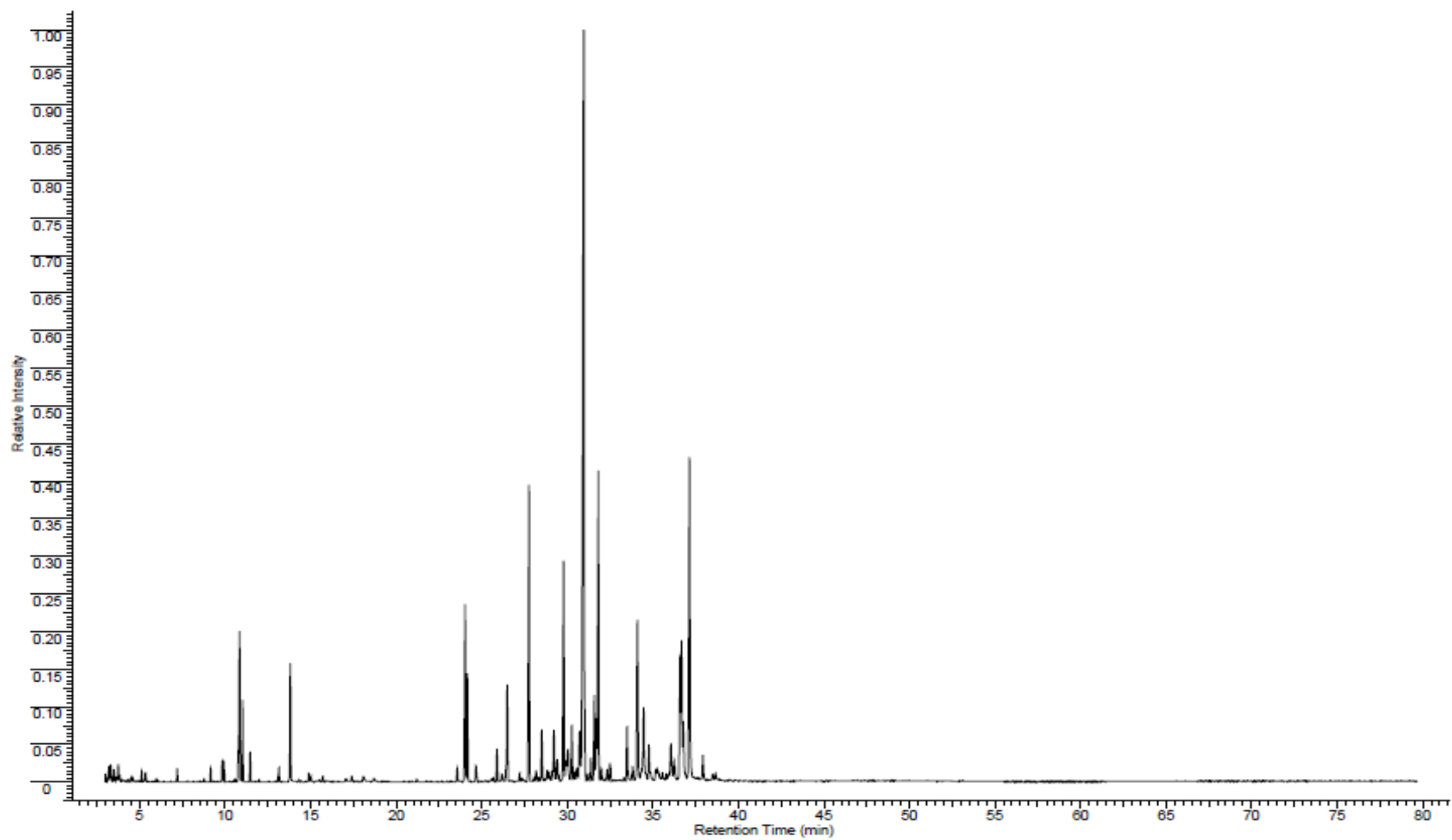


Figura 05. Cromatograma do óleo essencial dos caules de *Piper amalago* (PAC).

Tabela 02 – Substâncias identificadas no óleo essencial do caule (PAC) da espécie *Piper amalago*, com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens.

| Composto | I _{cal} ^a | I _{lit} ^b | TR ^c | Area (%) |
|--|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|----------|
| (2E) Octeno | 822 | 821 | 4,602 | 0,053 |
| Etil-isovalerato | 858 | 858 | 5,349 | 0,2459 |
| Triciclono | 927 | 927 | 7,203 | 0,1276 |
| (β) Pineno | 980 | 979 | 9,158 | 0,1910 |
| 2,3,5-trimetil-pirazina | 999 | 1000 | 9,891 | 0,2123 |
| <i>m</i> -1(7),8-dieno – Menta | 1000 | 1001 | 9,933 | 0,2104 |
| <i>p</i> - cimeno | 1024 | 1025 | 10,799 | 0,3083 |
| <i>o</i> - cimeno | 1025 | 1026 | 10,842 | 2,0843 |
| Limoneno | 1029 | 1029 | 11,029 | 1,1316 |
| (β) Z- Ocimeno | 1038 | 1037 | 11,46 | 0,3191 |
| Formato de Benzila | 1077 | 1076 | 13,139 | 0,233 |
| Terpinoleno | 1090 | 1089 | 13,811 | 1,5869 |
| (dehidro) Sabine cetona | 1119 | 1120 | 14,901 | 0,138 |
| Pirazina 3-metil-2-isobutil | 1137 | 1137 | 15,708 | 0,097 |
| Mentol | 1173 | 1172 | 17,409 | 0,106 |
| (α)Terpineol | 1188 | 1189 | 18,086 | 0,013 |
| (<i>trans</i>)Dihidro acetato de carieol | 1308 | 1307 | 23,469 | 0,2365 |
| (<i>neo</i>) Acetato de Verbenol | 1321 | 1321 | 24,029 | 3,5471 |
| (E) Metil geranato | 1324 | 1325 | 24,16 | 2,3114 |
| Presilfiperfol-7-eno | 1336 | 1337 | 24,664 | 0,3778 |
| (β) Z – Damascenona | 1364 | 1364 | 25,889 | 0,5920 |
| Ciclosativo | 1371 | 1371 | 26,181 | 0,207 |
| Longiciclono | 1373 | 1374 | 26,293 | 2,087 |
| Sativeno | 1392 | 1392 | 27,218 | 0,143 |
| Longifoleno | 1407 | 1408 | 27,762 | 6,5845 |
| (α) Gurjuneno | 1411 | 1410 | 27,855 | 0,066 |
| (β) Funebreno | 1416 | 1415 | 28,067 | 0,246 |
| (β) Cedreno | 1421 | 1421 | 28,333 | 0,086 |
| (β) Duprezianeno | 1423 | 1423 | 28,413 | 1,016 |
| (β) Copaeno | 1433 | 1432 | 28,813 | 0,213 |
| (β) Gurjuneno | 1435 | 1434 | 28,953 | 0,217 |
| Aromadendreno | 1441 | 1441 | 29,141 | 1,045 |
| (β) Z- Farneseno | 1443 | 1443 | 29,221 | 1,3942 |
| (α) Himachaleno | 1448 | 1451 | 29,408 | 0,5256 |
| (<i>cis</i>) Muurola -3,5-dieno | 1450 | 1450 | 29,494 | 0,1311 |
| (<i>cis</i>) Muurola -4(14),5-dieno | 1468 | 1467 | 30,272 | 1,1558 |
| (β) Acoradieno | 1472 | 1471 | 30,416 | 0,0401 |
| (<i>trans</i>)Cadina-1(6),4-dieno | 1475 | 1477 | 30,577 | 0,2711 |
| (β) Chamigreno | 1479 | 1478 | 30,713 | 1,2456 |
| (α) Amorfeno | 1484 | 1485 | 30,965 | 23,227 |
| (<i>cis</i>) 6,11- Eudesmo- dieno | 1490 | 1490 | 31,197 | 0,2746 |
| (<i>trans</i>) Muurola -4(14),5-dieno | 1494 | 1494 | 31,378 | 0,4986 |
| (α) Muuroleno | 1501 | 1500 | 31,698 | 1,211 |
| (γ) Cadineno | 1509 | 1512 | 31,986 | 0,2465 |
| (δ) Cadineno | 1523 | 1523 | 32,502 | 0,3558 |
| Spatulenol | 1581 | 1578 | 34,773 | 0,9395 |
| Carotol | 1600 | 1598 | 35,569 | 0,1082 |
| Guaiol | 1606 | 1601 | 35,782 | 0,1213 |
| 1,10-di-epi- Cubenol | 1619 | 1619 | 36,253 | 0,5398 |
| Benzofenona | 1629 | 1628 | 36,594 | 2,9886 |
| (α) Acorenol | 1631 | 1633 | 36,683 | 3,0914 |
| Eremoligenol | 1634 | 1631 | 36,784 | 1,4317 |
| (α) muurolol | 1644 | 1646 | 37,141 | 9,2703 |
| (<i>neo</i>)Intermedeol | 1662 | 1660 | 37,930 | 0,5577 |
| (<i>neo</i>) 5-Cedranol | 1684 | 1684 | 38,673 | 0,0125 |

^a Índice de retenção calculado/ ^b Índice de retenção da literatura/ ^c Tempo de retenção

Das 55 substâncias identificadas, cinco (5) se apresentaram como majoritárias, dentro da faixa estipulada para esta amostra de porcentagens de área entre 2,90 e 24,00%, sendo elas o (α) Amorfeno (23,23 %), Longifoleno (6,58 %), (neo) Acetato de Verbenol (3,55 %), (α) Acorenol (3,09 %), e a Benzofenona (2,98%).

O constituinte majoritário, (α) Amorfeno, possui fórmula molecular $C_{15}H_{24}$ e é encontrado em vários óleos essenciais, tanto de frutos, como folhas e raízes.

O Longifoleno tem seu nome derivado de um pinheiro a partir do qual o composto foi isolado, o *Pinus longifolia* e é utilizado em síntese orgânica para a preparação do dilongifolilborano, um agente de hidroboração.

O acetato de verbenol possui fórmula $C_{12}H_{18}O_2$ e nenhuma informação relevante foi encontrada na literatura acerca deste composto.

Já o acorenol é um constituinte volátil também encontrado no óleo das folhas de *E. grandis* (ESTANISLAU, et al, 2001) e *C. pubescens* (SILVA, et al, 2009)

A benzofenona uma cetona aromática, é um composto importante na fotoquímica orgânica e na perfumaria bem como em síntese orgânica. A benzofenona age como filtro óptico, pois é capaz de utilizar a energia da radiação UV para se excitar e na volta para o estado fundamental ela dissipa essa energia em forma de calor para o ambiente ao invés de emitir radiação.

4.A.3. PAFL – inflorescências

Da amostra enviada para a análise via CG-EM, foram identificados um total de 27 substâncias, as quais representam 87,72% das substâncias presentes, que são apresentadas na tabela 3. A figura 6 apresenta o cromatograma obtido do óleo essencial.

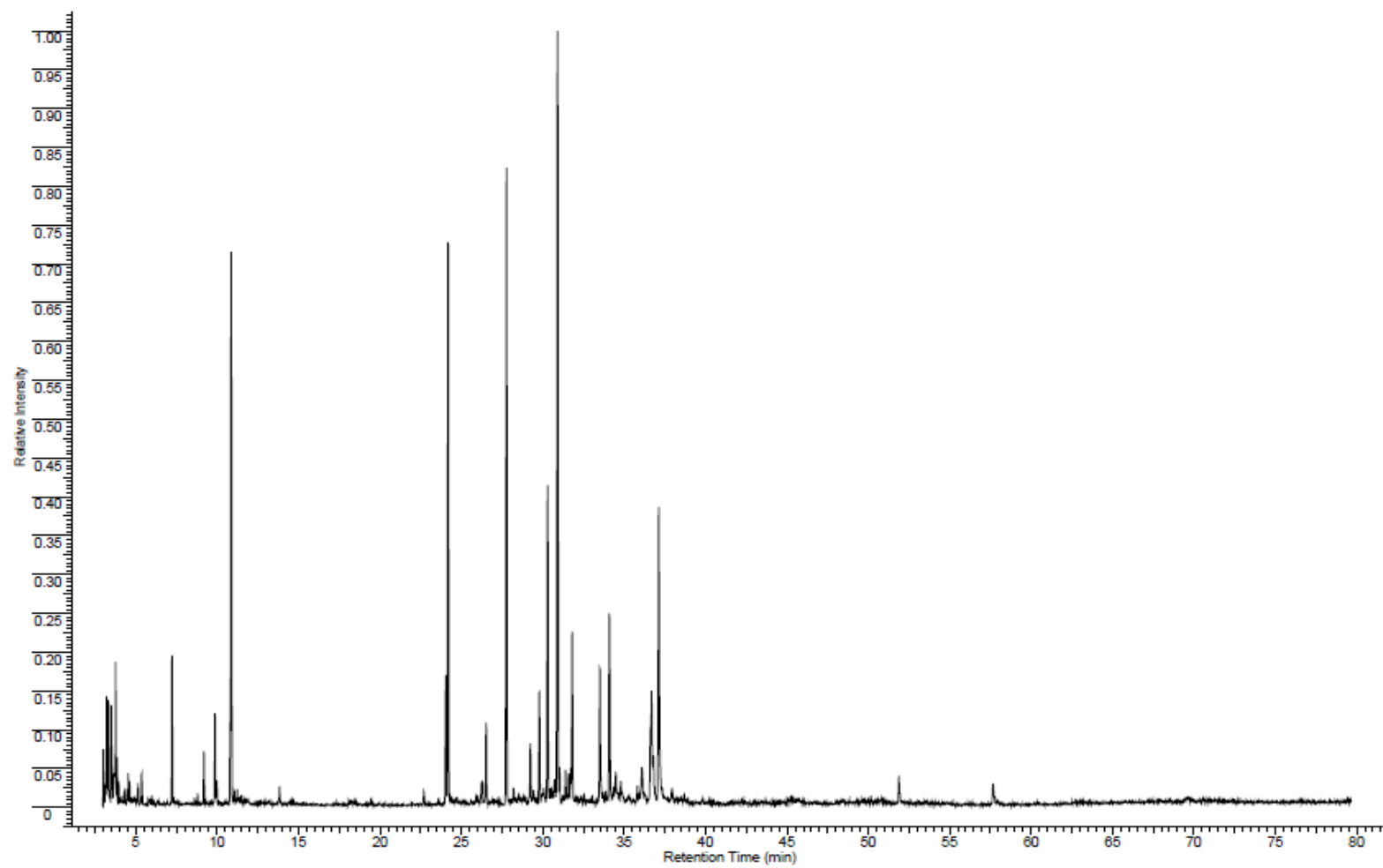


Figura 06. Cromatograma do óleo essencial das inflorescências de *Piper amalago* (PAFL).

Tabela 03 – Substâncias identificadas no óleo essencial da inflorescência (PAFL) da espécie *Piper amalago*, com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens.

| Composto | I _{cal} ^a | I _{lit} ^b | TR ^c | Area (%) |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|----------|
| (2E) Octeno | 822 | 821 | 4,595 | 0,635 |
| Etil-isovalerato | 859 | 858 | 5,363 | 2,229 |
| (α) Tujeno | 929 | 930 | 7,230 | 0,774 |
| (endo) 2-Norborneol | 985 | 986 | 9,291 | 1,500 |
| 2,3,5-trimetil-pirazina | 999 | 1000 | 9,870 | 0,380 |
| (δ) 2- Careno | 1001 | 1002 | 9,967 | 1,110 |
| P – cimeno | 1024 | 1025 | 10,799 | 9,314 |
| O – cimeno | 1026 | 1026 | 10,868 | 0,061 |
| Acetil Piridina | 1034 | 1034 | 11,227 | 10,632 |
| (E) Metil geranato | 1325 | 1325 | 24,192 | 0,093 |
| Longiciclono | 1374 | 1374 | 26,297 | 1,175 |
| Silfiperfol-6-eno | 1379 | 1379 | 26,524 | 13,506 |
| Longifoleno | 1407 | 1408 | 27,770 | 1,183 |
| Cedrano | 1444 | 1444 | 29,250 | 2,465 |
| (<i>allo</i>) Aromadendreno | 1459 | 1460 | 29,864 | 6,968 |
| (<i>cis</i>) Muurola -4(14),5-dieno | 1468 | 1467 | 30,299 | 0,464 |
| (γ) Muuroleno | 1479 | 1480 | 30,723 | 0,08 |
| Germacreno D | 1484 | 1485 | 30,922 | 17,940 |
| Germacreno D | 1486 | 1485 | 31,036 | 0,496 |
| (<i>trans</i>) Muurola -4(14),5-dieno | 1494 | 1494 | 31,390 | 0,539 |
| (γ) Amorfenoleno | 1496 | 1496 | 31,497 | 0,271 |
| Valenceno | 1497 | 1496 | 31,517 | 0,124 |
| (α) Muuroleno | 1501 | 1500 | 31,710 | 0,490 |
| Cupareno | 1505 | 1505 | 31,817 | 3,596 |
| Epóxido Italiceno | 1549 | 1549 | 33,514 | 2,908 |
| Epi – Longipinanol | 1564 | 1564 | 34,097 | 4,339 |
| (α) Muurolol | 1645 | 1646 | 37,223 | 4,447 |

^a Índice de retenção calculado/ ^b Índice de retenção da literatura/ ^c Tempo de retenção

Das 27 substâncias identificadas, 4 (quatro) se apresentaram como majoritárias, com percentagens de área entre 9,00 e 18,50%, sendo elas o Germacreno D (18,43%), Silfiperfol-6-eno (13,50%), Acetil Piridina (10,63%) e P-Cimeno (9,31%).

O Germacreno D ou (*S*,1*Z*,6*Z*)-8-isopropil-1-metil-5-metilenociclodeca-1,6-dieno, substância em maior percentagem na composição da amostra, é um sesquiterpeno volátil, de fórmula C₁₅H₂₄,

Não se encontrou na literatura dados relevantes sobre o Silfiperfol-6-eno.

A Acetil-piridina, terceiro componente majoritário no óleo PAFL (10,63%), é um líquido amarelo pálido/ castanho claro, com fórmula química C₇H₇NO,

Por fim, procedeu-se um estudo comparativo entre as substâncias identificadas nos três óleos extraídos de *P. amalago*, que resultou nos dados presentes na tabela 4.

Tabela 04. Substâncias voláteis em comum identificadas nas folhas, caules e inflorescências da espécie *P. amalago* e suas respectivas percentagens

| Composto | PAF | PAC | PAFL |
|---|-------|-------|--------|
| (2E) Octeno | - | 0,053 | 0,635 |
| Etil-isovalerato | 0,122 | 0,200 | 2,229 |
| (α) Tujeno | 1,746 | - | 0,774 |
| 2,3,5-trimetil-pirazina | 1,176 | 0,331 | 0,380 |
| (δ) 2- Careno | 0,288 | - | 1,110 |
| P – cimeno | 9,376 | 0,456 | 9,314 |
| O – cimeno | 0,017 | 2,563 | 0,061 |
| Metil geranato | 7,843 | 2,029 | 0,093 |
| Longiciclono | 0,224 | 2,087 | 1,175 |
| Germacreno D | 0,148 | - | 18,436 |
| Longifoleno | 2,984 | 6,310 | 1,183 |
| (<i>trans</i>) Muuro-la-4(14),5-dieno | 1,062 | 0,499 | 0,539 |
| (<i>cis</i>) Muuro-la -4(14),5-dieno | 0,537 | 1,156 | 0,464 |
| (<i>allo</i>) Aromadendreno | 0,136 | - | 6,968 |
| (γ) Muuroleno | 0,112 | - | 0,080 |
| Silfiperfol-6-eno | 2,359 | - | 13,506 |
| Guaiol | 0,088 | 0,121 | - |
| (β) Cedreno | 0,21 | 0,086 | - |
| (α) Muuroleno | - | 1,211 | 0,490 |
| (β) Pineno | 0,773 | 0,191 | - |
| Limoneno | 0,922 | 1,299 | - |
| (β) Z- Ocimeno | 0,348 | 0,466 | - |
| (α) Terpeneol | 0,141 | 0,130 | - |
| (β) Z- Damascenona | 0,160 | 0,646 | - |
| Sativeno | 0,040 | 0,143 | - |
| (β) Duprezianeno | 0,367 | 1,016 | - |
| (β) Gurjuneno | 0,054 | 0,217 | - |
| Aromadendreno | 0,152 | 1,045 | - |
| (<i>cis</i>) Muuro-la-3,5- dieno | 0,113 | 0,131 | - |
| (<i>cis</i>) 6,11- Eudesmo- dieno | 0,181 | 0,275 | - |

^a Índice de retenção calculado/ ^b Índice de retenção da literatura/ ^c Tempo de retenção

Com base em estudos dos componentes voláteis de outras dez espécies da família Piperaceae (oito do gênero *Piper* e duas *Peperomia*), pode-se comparar os resultados obtidos, observando-se que diversas substâncias são encontradas em outras plantas, como por exemplo, o Germacreno D, encontrado na amostra PAF e majoritariamente em PAFL, é encontrado em *Piper amplum*, *Piper arboreum*, *Piper dilatatum*, *Piper*

goesii, *Piper hispidum* e *Piper mollicomum*. Outro exemplo é o (*trans*) Muuro-la-4(14),5-dieno, identificado nas três amostras analisadas, também encontrado na *Piper goesii*. (SANTOS, et al, 2001).

De todas as substâncias identificadas, nos três óleos, dezesseis são comuns a outras espécies da família Piperaceae, segundo estudo feito em 2001. PAF foi o que apresentou mais substâncias em semelhança (doze delas). PAC apresentou oito componentes em comum e PAFL apenas três, sendo uma delas o constituinte majoritário Germacreno D (SANTOS, et al, 2001).

Tabela 05. Substâncias em comum com outras espécies da família *Piperaceae*

| Composto | Piperaceae |
|--|--|
| Limoneno (PAF e PAC) | Per, Pam, Par, Pdi |
| (β) Gurjuneno (PAF e PAC) | Oan, Par, Pdi, Pgo, Phi |
| (<i>trans</i>)- Muuro-la-4-(14),5-dieno (PAF, PAFL, PAC) | Pgo |
| Germacreno-D (PAF e PAFL) | Oan, Peb, Per, Pam, Par, Pdi, Pgo, Phi, Pho, Pmo |
| (β) - Z- Ocimeno (PAC) | Per, Pam, Par, Pdi, Pgo |
| (β)- Z- Farneseno (PAC) | Oan, Pmo |
| Elemol (PAF) | Per, Par |
| Óxido Cariofileno (PAF) | Peb, Pam, Pdi, Phi, Pmo |
| Guaiol (PAF e PAC) | Per, Phi |
| 10-epi-Eudesmol (PAF) | Per, Par, Pdi, Pho |
| (α)- Muurolol (PAFL) | Oan, Pgo |
| (γ)-1,10-di-epi-Cubenol (PAF e PAC) | Phi |
| (γ)-Eudesmol (PAF) | Par, Pho |
| Cubenol (PAF) | Oan, Pgo |
| Bulnesol (PAF) | Par |
| (γ)- Cadineno (PAC) | Per, Pgo, Phi, Pmo |

Onde: *Ottonia anisum* (Oan), *Piper amplum* (Pam), *Piper arboreum* (Par), *Piper dilatatum* (Pdi), *Piper goesii* (Pgo), *Piper hispidum* (Phi), *Piper hoffmanseggianum* (Pho), *Piper mollicomum* (Pmo), *Peperomia blanda* (Peb) e *Peperomia rupestris* (Per).

Segundo estudos do óleo essencial da espécie *Piper amalago*, realizado com espécies coletadas e diferentes anos, observou-se predominância de hidrocarbonetos sesquiterpênicos, na composição do óleo, para amostra coletada em 1999. Nas amostras coletadas em 2000 e 2001, a predominância passou a ser de sesquiterpenos oxigenados, cujo teor de elemol foi maior que 20%, (MESQUITA et al, 2004). Nas amostras analisadas, apenas PAF apresentou a substância elemol, sendo este um constituinte minoritário (0,54%).

Em um estudo comparativo com a análise do óleo essencial das folhas de *P. amalago* realizada em Brasília, observa-se o (α)- Pineno e o Canfeno como constituintes

majoritários. O (α)- Pineno está presente minoritariamente em PAF e PAC e o canfeno não foi identificado em nenhuma das amostras (PORTZERNHEIM et al, 2006).

4.B) Análise do óleo essencial da espécie *Peperomia obtusifolia*

4.B.1. POF – folhas

Da amostra enviada para a análise via CG-EM, foram identificados um total de 53 substâncias, as quais representam 30,41 % das substâncias presentes, que são apresentadas na tabela 5. A figura 7 apresenta o cromatograma obtido do óleo essencial.

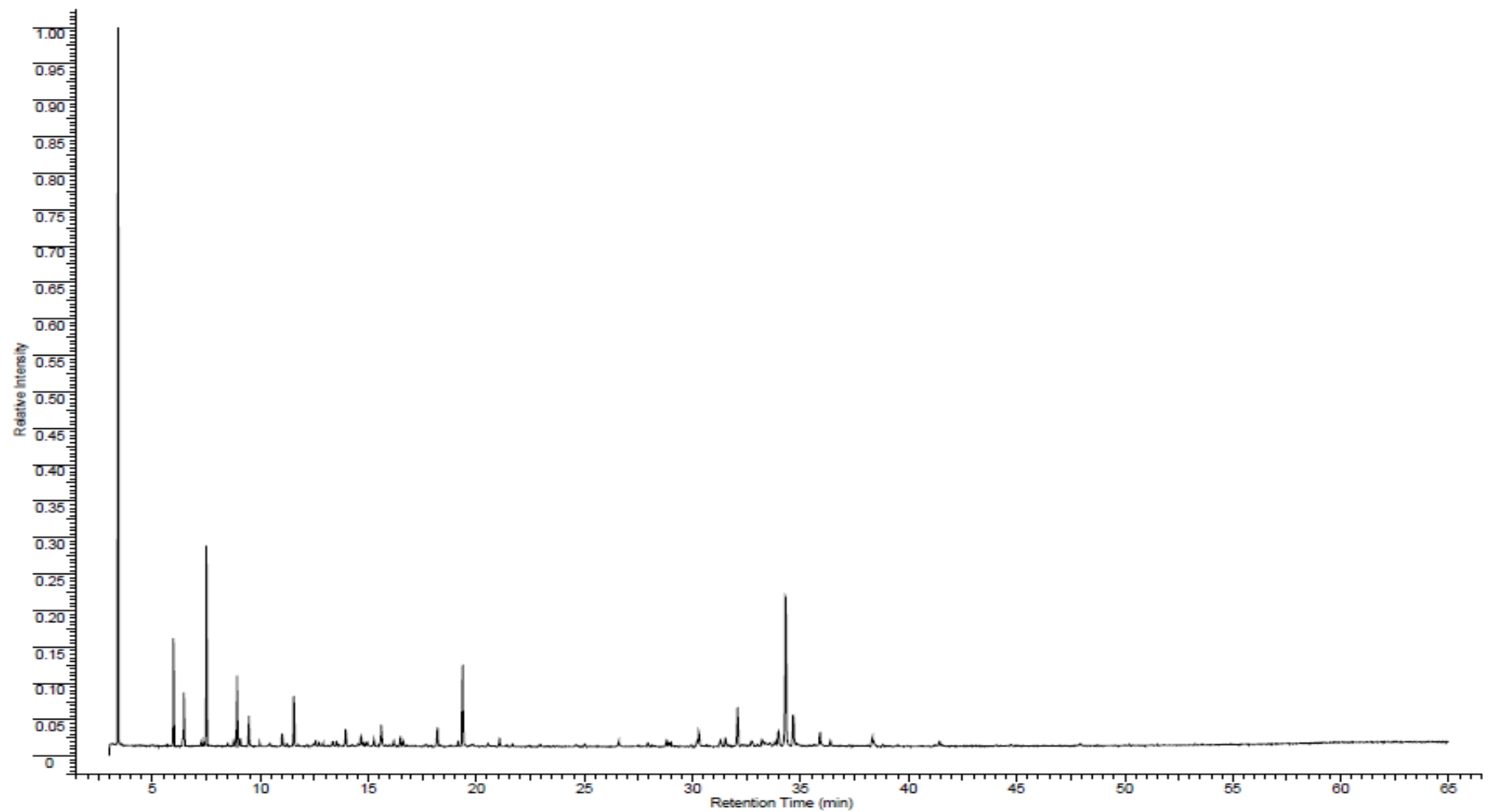


Figura 07. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Peperomia obtusifolia* (POF).

Tabela 06 – Substâncias identificadas no óleo essencial das folhas (POF) da espécie *Peperomia obtusifolia*, com seus respectivos tempos de retenção, índices e área.

| Composto | I _{cal} ^a | I _{lit} ^b | TR ^c | Area (%) |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|----------|
| Santeno | 886 | 889 | 5,988 | 1,5489 |
| (α) Tujeno | 930 | 930 | 7,279 | 0,5737 |
| Cumeno | 933 | 931 | 7,398 | 0,3408 |
| TetraHidro Citroneleno | 937 | 937 | 7,511 | 2,5380 |
| Verbeneno | 965 | 968 | 8,495 | 0,3108 |
| Artemiseole | 976 | 977 | 8,93 | 1,1611 |
| 3-P-Menteno | 989 | 988 | 9,475 | 0,4331 |
| (δ) 2- careno | 1001 | 1002 | 9,973 | 0,4357 |
| 1,4 – Cineole | 1015 | 1015 | 10,453 | 0,3863 |
| (δ) 3- careno | 1029 | 1031 | 11,014 | 0,1878 |
| (β) Z- Ocimeno | 1035 | 1037 | 11,233 | 0,3539 |
| (cis) Dihidro rose óxido | 1042 | 1043 | 11,556 | 0,5500 |
| (β) E- Ocimeno | 1048 | 1050 | 11,76 | 0,1878 |
| Bergamal | 1057 | 1057 | 12,18 | 0,1917 |
| Acetofenona | 1064 | 1065 | 12,451 | 0,3765 |
| <i>o</i> - Tolualdeído | 1066 | 1068 | 12,566 | 0,7525 |
| (<i>trans</i>) Arbusculona | 1070 | 1071 | 12,729 | 0,4345 |
| Dihidro mircenol | 1074 | 1074 | 12,91 | 0,4148 |
| (<i>cis</i>) Vertocitral C | 1078 | 1080 | 13,122 | 0,2137 |
| Artemísia álcool | 1083 | 1084 | 13,355 | 0,8974 |
| Fenchona | 1087 | 1087 | 13,533 | 0,6683 |
| Terpinoleno | 1089 | 1089 | 13,637 | 0,3488 |
| Linalool | 1096 | 1097 | 13,954 | 0,2713 |
| (<i>trans</i>)Vertocitral | 1107 | 1107 | 14,484 | 0,2714 |
| Benzaldeido dimetil acetal | 1112 | 1112 | 14,663 | 1,6374 |
| (<i>trans</i>) Tujona | 1114 | 1114 | 14,765 | 0,3985 |
| Fenchol endo | 1117 | 1117 | 14,892 | 0,5279 |
| (α) Camfolenal | 1126 | 1126 | 15,262 | 1,0234 |
| (<i>allo</i>) –Ocimeno | 1132 | 1132 | 15,509 | 0,2784 |
| (Z) Miroxido | 1135 | 1135 | 15,602 | 0,2381 |
| Nopinona | 1139 | 1140 | 15,802 | 0,1839 |
| (<i>trans</i>) Sabinol | 1143 | 1143 | 15,989 | 0,2075 |
| Cânfora | 1148 | 1146 | 16,186 | 0,8666 |
| 2E,6Z- Nonadienal | 1155 | 1155 | 16,489 | 1,3260 |
| 3Z – Nonen-1-ol | 1157 | 1157 | 16,624 | 0,6660 |
| Isoborneol | 1161 | 1162 | 16,805 | 0,2251 |
| Santalona | 1179 | 1181 | 17,651 | 0,2636 |
| Neoisoverbanol | 1190 | 1190 | 18,198 | 0,2771 |
| Formato de linalil | 1216 | 1216 | 19,364 | 1,2644 |
| Carvona | 1243 | 1243 | 20,543 | 0,4746 |
| Acetato de Linalila | 1256 | 1256 | 21,071 | 0,2840 |
| (<i>cis</i>) Óxido de Carvona | 1263 | 1263 | 21,395 | 0,2545 |
| (<i>trans</i>) ascaridol-glicol | 1269 | 1269 | 21,672 | 0,3903 |
| (α) Terpinen-7-al | 1285 | 1285 | 22,462 | 0,1840 |
| Acetato de Mentila | 1295 | 1295 | 22,951 | 0,4861 |
| Verbanol acetato | 1344 | 1344 | 25,014 | 0,4176 |
| (8- <i>epi</i>) Dictamnol | 1380 | 1381 | 26,58 | 1,0574 |
| (β) Elemeno | 1391 | 1391 | 27,989 | 0,3476 |
| (δ) Amorfeno | 1512 | 1512 | 32,081 | 0,4035 |
| Em- elemicin | 1570 | 1570 | 34,313 | 0,5501 |
| Spatulenol | 1578 | 1578 | 34,658 | 0,3610 |
| Valeranona | 1675 | 1675 | 38,322 | 1,2728 |
| Aristolona | 1762 | 1763 | 41,435 | 0,6940 |

^a- Índice de retenção calculado/ ^b- Índice de retenção da literatura/ ^c- Tempo de retenção

Das 53 substâncias identificadas, seis (6) se apresentaram como majoritárias, com porcentagens de área entre 1,20 e 2,60%, sendo elas o TetraHidro Citroneleno (2,53%), o Benzaldeído dimetil acetal (1,64%), Santeno (1,57%), 2E,6Z- Nonadienal (1,32%), Valerona (1,27%) e o Formato de Linalil (1,26%).

Não se encontrou na literatura informações relevantes sobre o tetrahidro Citroneleno.

O Benzaldeído dimetil acetal, segundo componente majoritário identificado, possui fórmula $C_9H_{12}O_2$.

O Santeno é possui fórmula C_9H_{14} e nome IUPAC 2,3-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno.

O 2E,6Z- Nonadienal é um aldeído é responsável por um boa parte do aroma do pepino fresco. (http://scienceblogs.com/moleculeoftheday/2006/10/2e6znonadienal_cucumber_ketone.php).

A Valerona é uma cetona e possui nomenclatura IUPAC 2,6-dimetilheptan-4-ona.

Formato de Linalil possui fórmula $C_{11}H_{18}O_2$ e odor cítrico.

4.B.2. POC – caule

Da amostra enviada para a análise via CG-EM, foram identificados um total de 13 substâncias, as quais representam 54,07 % das substâncias presentes, que são apresentadas na tabela 6. A figura 8 apresenta o cromatograma obtido do óleo essencial.

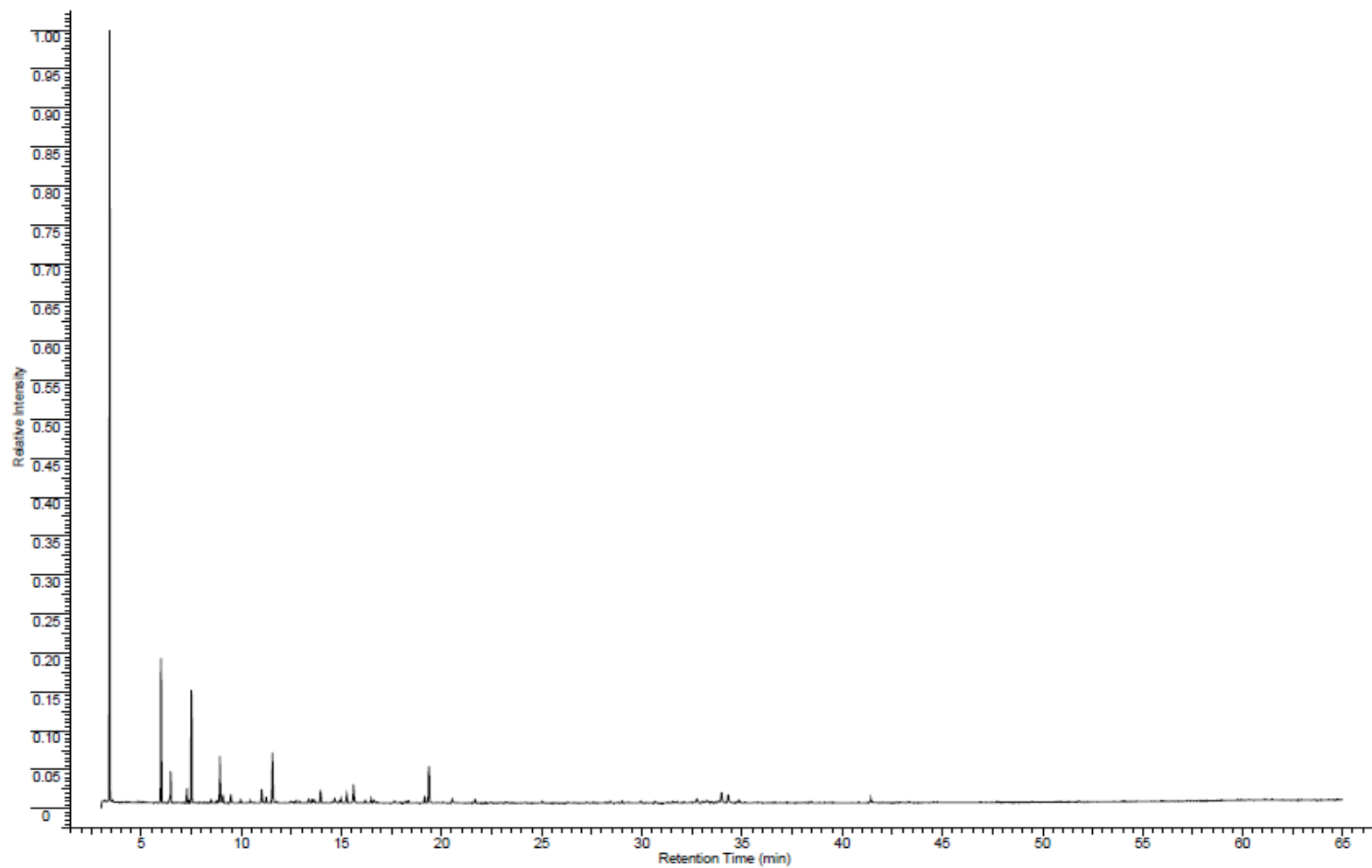


Figura 08. Cromatograma do óleo essencial dos caules de *Peperomia obtusifolia* (POC).

Tabela 07 – Substâncias identificadas no óleo essencial dos caules (POC) da espécie *Peperomia obtusifolia*, com seus respectivos tempos de retenção, índices e percentagens

| Composto | I _{cal} ^a | I _{lit} ^b | TR ^c | Area (%) |
|---------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|----------|
| Santeno | 886 | 889 | 5,99 | 13,078 |
| Santolina trieno | 903 | 909 | 6,47 | 3,292 |
| Artemísia trieno | 929 | 930 | 7,27 | 1,437 |
| (α) Pineno | 937 | 939 | 7,51 | 10,775 |
| Artemiseole | 976 | 977 | 8,931 | 4,707 |
| Silvestreno | 1029 | 1031 | 11,015 | 1,677 |
| (<i>cis</i>) dihidro rose óxido | 1043 | 1043 | 11,554 | 5,819 |
| Linalool | 1096 | 1097 | 13,954 | 1,511 |
| Crisantenona | 1127 | 1128 | 15,262 | 1,314 |
| <i>allo</i> – Ocimeno | 1134 | 1132 | 15,60 | 2,421 |
| Formato de Linalil | 1216 | 1216 | 19,364 | 4,918 |
| Muurool-5-n-4-alpha-ol < <i>cis</i> > | 1561 | 1561 | 33,975 | 1,607 |
| Longipinanol | 1569 | 1569 | 34,311 | 1,518 |

^a Índice de retenção calculado/ ^b Índice de retenção da literatura/ ^c Tempo de retenção

Das 13 substâncias identificadas, 5 se apresentaram como majoritárias, com porcentagens de área entre 4,60 e 13,10 %, sendo elas o Santeno (13,08%), (α) Pineno (10,77%), (*cis*) dihidro rose óxido (5,82%), Formato de Linalil (4,92%) e Artemiseole (4,71%).

O santeno, constituinte majoritário do óleo POC, possui fórmula C₉H₁₄ e nome IUPAC 2,3-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno.

A segunda substância com maior porcentagem de área, o α -pineno, é um dos monoterpenos mais difundido em folhas, flores e frutos (PERGO et. al., 2002), sendo um bicyclo terpênico com fórmula C₁₀H₁₆. Estudos anteriores revelaram que o α -pineno interfere na respiração de mitocôndrias isoladas de raízes de milho (PERGO et. al., 2002).

Não se encontrou na literatura informação relevante sobre (*cis*) dihidro rose óxido e Formato de Linalil, também identificado no óleo POF, já foi descrito anteriormente.

Artemiseole possui fórmula C₁₀H₁₆O e nome IUPAC 6-etenil-2,2,5-trimetil-3-oxabicyclo[3.1.0]hexano.

4.C – Teste biológico

A avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas, caules e inflorescências da espécie *P. amalago* são apresentados na tabela 8.

Tabela 08 – Resultados dos testes frente as bactérias testadas

| Óleo essencial | Concentração de óleo | | | | | | |
|----------------|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | por disco (mg/ml) | B-1 | B-2 | B-3 | B-4 | B-5 | B-6 |
| PAF | 1 (1000 µg/ml) | 0 | 0,8 | 0,8 | 1,0 | 1,0 | 0,8 |
| PAC | 1 (1000 µg/ml) | 0 | 0,8 | 0 | 0,8 | 0,0 | 0,0 |
| PAFL | 1 (1000 µg/ml) | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0,8 | 0,8 |

B-1: *Pseudomonas aeruginosa*; B-2: *Salmonella tifi*; B-3: *Escherichia coli*; B-4: *Enterococcus faecalis*; B-5: *Staphylococcus aureus*; B-6: *Shigella flexonela*.

O óleo das folhas apresentou halos inibição frente as cepas, *S. tifi* a Tetraciclina (TET) 30 mg, *E. coli* (TET) 30 mg, *E. faecalis* a Amicacina (AMI) 30 mg, *S. aureus* a Cefuroxina (CRX) 30 mg e *Shigela flexonela* (TET) 30 mg. O óleo do caule (PAC) deu resultado positivo para as bactérias, *S. tifi* e *E. faecalis*, enquanto que o óleo das flores apresentou halos inibição frente as cepas, *S. aureus* e *Shigela flexonela*. O controle negativo empregado foi hexano, os quais não apresentaram respostas.

5 . Conclusões

- Foram identificados 53 componentes no óleo essencial das folhas da espécie *Piper amalago*, amostra PAF, sendo os três componentes majoritários (γ) Himachaleno, *p*-Cimeno e o (E)-metil geranate.
- Foram identificados 56 componentes no óleo essencial do caule da espécie *Piper amalago*, amostra PAC, sendo os três componentes majoritários (α) Amorfenol, Longifoleno e (neo) Acetato de Verbenol.
- Foram identificadas 27 substâncias no óleo essencial das inflorescências da espécie *Piper amalago*, sendo os constituintes majoritários o Germacreno D, Silfiperfol-6-eno e Acetil Piridina.
- Foram identificados 53 componentes no óleo essencial das folhas da espécie *Peperomia obtusifolia*, amostra POF, sendo os três constituintes majoritários TetraHidro Citroneleno, Benzaldeído dimetil acetal e Santeno.
- Foram identificados 13 componentes no óleo essencial dos caules da espécie *Peperomia obtusifolia*, amostra POC, sendo os três constituintes majoritários Santeno, (α) Pineno e (*cis*) dihidro rose óxido.
- Todos os óleos extraídos apresentaram atividade frente às bactérias testadas.

6. Referências Bibliográficas

ADAMS, R. P.; Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Allured Publishing: Illinois-USA, 1995

ACHENBACH, H.; FIETZ, W.; WÖRTH, J.; WAIBEL, R.; PORTECOP, J. GC/MS- Investigations of the Constituents of *Piper amalago* -30 New Amides of the Piperine-Type. **Constituents of Tropical Medicinal Plants** **IXX**. 1985

ASPREY, G. F. & THORNTON, P. Medicinal plants of Jamaica Part II. **West Indian Medicinal Journal**, v. 55, n. 4, p. 17–41, 2006.

BADHEKA, L.P.; PRABHU, B.R.; MULCHANDANI, N. B. Lignans from *Piper cuberata*, **Pytochemistry**, v. 26, n. 6, p. 2033-2037, 1987.

BATISTA JR., J. M.; LOPEZ, S. N.; MOTA, J. S.; VANZOLINI, K. L.; CASS, Q. B.; RINALDO, D.; VILEGAS, W. BOLZANI, V. S.; KATO, M. J.; FURLAN, M. Resolution and Absolute Configuration Assignment of a Natural Racemic Chromane from *Peperomia obtusifolia* (Piperaceae). **CHIRALITY**, v. 21, n. 9, p. 799–801, 2009.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.

CARDOSO, M. G. et. al. Óleos essenciais. Disponível em [HTTP://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_62.pdf](http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_62.pdf), acessado pela última vez em 29 de julho de 2010.

CHAURET, D. C.; BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; DURST, T. Insecticidal neolignans from *Piper decurrens*. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 2, p. 152-155, 1996.

CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. New York, Columbia University Press, p. 1262, 1981.

DE HELUANI, C. S.; KAPOOR, I. P. S.; SINGH, B.; LAMPASONA, M. P.; CATALAN, C. A. N. Chemistry and in Vitro Antioxidant Activity of Volatile Oil and Oleoresins of Black Pepper (*Piper nigrum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5358–5364. 2009

ESTANISLAU, A. A.; BARROS, F. A. S.; PEÑA, A. P.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Composição química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de cinco espécies de eucalyptus cultivados em Goiás, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n.2, 2001.

FIGUEIREDO, R. A. de; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae Species in Southeastern Brazil. **Annals of Botany**, v. 85, n. 4, p. 455- 460.

FRANÇOIS, T.; MICHEL, J. D. P.; LAMBERT, S. M.; NDIFOR, F. VYRY, W. N. A.; HENRI, A. Z. P.; CHANTAL, M. Comparative essential oils composition and insecticidal effect of different tissues of *Piper capense* L., *Piper guineense* Schum. Et Thonn., *Piper nigrum* L. and *Piper umbellatum* L. grown in Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 3, p. 424-431, 2009.

http://scienceblogs.com/moleculeoftheday/2006/10/2e6znonadienal_cucumber_ketone.php, acessado em 15 de julho de 2010

HUSSAIN, K.; ISMAIL, Z.; SADIKUN, A; IBRAHIM, P. Antioxidant, anti-TB activities, phenolic and amide contents of standardized extracts of *Piper sarmentosum* Roxb. **Natural Product Research, Part A: Structure and Synthesis**, v.23, n. 3, p. 238 – 249, 2009.

JACOBS, H.; SEERAM, N. P.; NAIR, M. G.; REYNOLDS, W. F.; McLEAN, S. Amides of *Piper amalago* var. *nigrinodum*. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 76, n. 11-12, p. 713-717, 1999.

KUBECZKA, K. H.; SCHMAUS, F.; FORMACEK, V. Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon 13 NMR spectroscopy. Chichester: John Wiley, 1985.

LAGO, J. H. G.; RAMOS, C. S.; CASANOVA, D. C. C.; MORANDIM, A. DE A.; BERGAMO, D. C. B.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. DA S.; FURLAN, M.; GUIMARÃES, E. F.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. esphaerospermum*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 11, p. 1783-1788, 2004.

LEITE, A. C.; LOPES, A. A.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M. Biosynthetic origin of the isoprene units in chromenes of *Piper aduncum* (Piperaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1500-1503, 2007.

LOPES, A. A.; LOPEZ, S. N.; REGASINI, L. O.; BATISTA, J. M. J.; AMBROSIO, D. L.; KATO, M. J. BOLZANI, V. S.; CICARELLI, R. M. B.; FURLAN, M. In vitro activity of compounds isolated from *Piper crassinervium* against *Trypanosoma cruzi*. **Natural Product Research, Part B: Bioactive Natural Products**, v. 22, n. 12, p. 1040 – 1046, 2008.

MELLO, M. A. R.. Morcegos gostam de pimentas. **Ciência Hoje** v. 32, n. 241, p. 74-76. 2002.

MESQUITA. J. M. O.; CAVALEIRO, C.; CUNHA, A. P.; LOMBARDI, J.; OLIVEIRA, A. B. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 1, p. 6-12, 2005.

MOTA, J. S.; LEITE, A. C.; BATISTA JR, J. M.; LÓPEZ, S. N.; AMBRÓSIO, D. L.; PASSERINI, G. D.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; CICARELLI, R. M. B.; FURLAN, M. *In vitro* Trypanocidal activity of phenolic derivatives from *Peperomia obtusifolia*. **Planta medica – Journal of Medicinal Plant and Natural Product Research**, v.75, n. 3, p. 620–623, 2009.

NAVICKIENE, H. M. D.; ALÉCIO, A. C.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M.C. M.; CAVALHEIRO, A. J.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 10, p. 621-626, 2000.

PAULA, V. F.; BARBOSA, L. C. D.; DEMUNER, A. J.; PILÓ-VELOSO, D.; PICANÇO, M. C. Synthesis and activity of new amide derivative of piperine. **Pest and Management Science**, v. 56, n. 3, p. 168–174, 2000.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEIA, 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. 591-673, 1997.

PARK, B.-S.; SON, D.-J.; PARK, Y.-H. KIM, T.W.; LEE, S.-E. Antiplatelet effects of acidamides isolated from the fruits of *Piper longum* L. **Phytomedicine**, v.14, n. 12, p. 853-5, 2007.

PEREIRA, M. G.; MARQUES, M. A. S.; CARDOSO, J. N.; NETO, F. R. A. Análise de glicocorticosteróides por CG-EM: Uma nova abordagem de derivatização para o controle de dopagem no esporte. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p.1096-1102, 2002.

PERGO, E. M.; FRANCISCHINI, A. C.; ABRAHIM, D.; KELMER-CRACHT, A. M. O α -pineno inibe a respiração de ápices radiculares e o crescimento de plântulas de milho. **XI Encontro Anual de Iniciação Científica**, Maringá, 2002.

PORTET, B.; FABRE, N.; ROZENBERG, R.; HABIB-JIWAN, J. L.; MOULIS, C.; QUETIN-LECLERCG, J. Analysis of minor flavonoids in *Piper hostmannianum* var. *berbicense* using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography, A**, v. 1210, n. 1, p. 45-54, 2008.

PORTZERNHEIM, M; BIZZO, H. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; VIEIRA, R. F.; CARVALHO-CILVA, M; GRACINDO, L. A. M. B. Chemical characterization of seven *Piper* species (Piperaceae) from Federal District, Brazil, based on volatile oil constituents. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.esp., p.10-12, 2006

ROSTELIEN, T.; BORG-KARLSON, A. K.; BIRG-KARLSON, J.; FÄLDT, J.; FÄLDT, U.; JACOBSSON, U.; JACOBSSON, H.; MUSTAPARTA, H. The Plant Sesquiterpene Germacrene D Specifically Activates a Major Type of Antennal Receptor Neuron of the Tobacco Budworm Moth *Heliothis virescens*. **Chem. Senses – Oxford University Press**, v. 25, p. 141-148, 2000. Disponível em <http://chemse.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/25/2/141>

SANTOS, P. R. D.; MOREIRA, D. L.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. C.; Essential oil analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic Forest.

Phytochemistry, v. 58, n. 4, p. 547-551, 2001.

SENGUPTA, S.; RAY, A. B. The chemistry of *Piper* species: a review. **Fitoterapia**, v. 58, n. 20, p. 147-166, 1987.

SILVA, R. V.; NAVICKIENE, H. M. D.; MÉDA, C. I.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 59, n. 20, p. 521-527, 2002.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.; **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. UFRGS Editora. 6ª edição, p. 467- 478, 1999.

TANAKA, T.; ASAI, F.; IINUMA, M. Phenolic Compounds from *Peperomia obtusifolia*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 1, p. 229-232, 1998.

TEUSCHER, E. **Pharmazeutische biologie**. Braunschweig: Vieweg, 1990.

TYAGI, O .D.; JESEN, S.; BOLL, P. M.; SHARM, N. K., BISHT, K. S. E., PARMAR, V. S. Lignans and neolignans from *Piper schnidii*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 12, p. 335-339, 1993.

VANIN, S. A.; RAMOS, C. S.; GUIMARÃES, E. F.; KATO, M. J. Insect feeding preferences on Piperaceae species observed in São Paulo city, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 1, p. 72-77, 2008.

VIEIRA, P. C. DE; ALVARENGA, M. A.; GOTTLIEB, O. R.; GOTTLIEB, H. E. The chemistry of brazilian Piperaceae 3. 4-hexadecenylphenol and flavonoids from *Piper hispidum*. **Planta Medica**, v. 39, n. 2, p. 153-156, 1980.

WANG, H.-F; WANG, Y.-K.; YIH, K.H. DPPH free-radical scavenging ability, total phenolic content, and chemical composition analysis of forty-five kinds of essential oils. **Journal of Cosmetic Science**, v. 59, n. 6, p. 509-22, 2008.

YUNCKER, T. G. **The Piperaceae of Brazil I: Piper** - Groups I, II, III, IV. *Hoehnea* v.2, p. 19-366. 1972.

YUNCKER, T. G. **The Piperaceae of Brazil II: Piper** - Group V; *Ottonia*; *Pothomorphe*; *Sarcorrhachis*. *Hoehnea* v. 3, p. 121-144. 1973.

YUNCKER, T. G. **The Piperaceae of Brazil III: Peperomia**; taxa of uncertain status. *Hoehnea* v. 4, p. 71-413. 1974