

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

ROOSALYN SANTOS DA SILVA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO
BRUTO E FRAÇÕES DE *Piper marginatum***

ITACOATIARA-AM

2021

ROOSALYN SANTOS DA SILVA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO
BRUTO E FRAÇÕES DE *Piper marginatum***

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia - ICET como requisito final para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, sob orientação da Professora Doutora Renata Takeara.

RENATA TAKEARA HATTORI

ITACOATIARA - AM

2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586p Silva, Roosalyn Santos da
Prospecção fitoquímica e atividade antioxidante do extrato bruto e frações de *Piper marginatum* / Roosalyn Santos da Silva . 2021
41 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Renata Takeara Hattori
TCC de Graduação (Farmácia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Produtos naturais. 2. Propriedades biológicas. 3. Antioxidante.
4. Radicais livres. I. Hattori, Renata Takeara. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

A Deus, minha mãe, meu pai, irmãos,
amigos e à minha orientadora pelo
incentivo e auxílio necessários para a
realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder resiliência e determinação durante todos estes anos graduação;

A meu pai e minha mãe pelo auxílio financeiro, palavras de incentivo, paciência e por acreditarem no meu sonho;

À minha orientadora Renata Takeara pelas oportunidades de experiência e pela disposição de me instruir nos trabalhos de pesquisa e na elaboração deste TCC;

A toda equipe do laboratório de Produtos Naturais do Instituto, no qual fui introduzida à ciência, e onde fui ensinada a desenvolver meu senso crítico;

Aos meus amigos Milena Flores e Woslon Paes pelo apoio e incentivo nos momentos mais difíceis durante a graduação;

À minha melhor amiga Midiã Rodrigues pelo incentivo, inspiração, motivação, acolhimento, puxões de orelha e pelo auxílio oferecido de forma tão genuína e altruísta;

A todos os meus professores que contribuíram para a minha formação acadêmica e que me desafiaram a dar o meu melhor e me superar a cada período, dando-me a energia necessária para concluir o curso;

À Universidade Federal do Amazonas por ser a minha segunda casa e uma mãe exigente que busca sempre o melhor para os filhos.

“Trabalho duro é inútil para aqueles que não acreditam em si mesmos.”

Uzumaki Naruto

RESUMO

A família Piperaceae pertence à ordem Piperales e possui cinco gêneros, a saber: *Verhuellia*, *Zippelia*, *Manekia*, *Piper* e *Peperomia*. O gênero *Piper* possui aproximadamente 1000 espécies e muitas delas apresentam propriedades farmacológicas. A espécie *Piper marginatum* é conhecida por seu uso como analgésico, antiinflamatório e hemostático na medicina popular e por possuir muitas atividades biológicas evidenciadas, tais como: fungicida, larvicida e cercaricida além da atividade antioxidante de seus óleos essenciais. Os radicais livres são moléculas ou parte de moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados e são causadores de muitas doenças como o câncer, Mal de Alzheimer e Parkinson, além do processo natural de envelhecimento que afetam indiscriminadamente todos os tipos de pessoas, aumentando o número de pesquisas com a finalidade de buscar formas de prevenção dessas doenças. Os antioxidantes são capazes de estabilizar os radicais livres, pela doação de elétrons, impedindo a propagação das reações que os originam. O presente trabalho objetivou caracterizar o perfil químico e avaliar a atividade antioxidante do extrato bruto e frações de *Piper marginatum* através de reações cromáticas em tubos, cromatografia em camada delgada e inibição do radical DPPH. A prospecção fitoquímica do extrato bruto e frações de *Piper marginatum* demonstrou a presença de substâncias como compostos fenólicos, flavonas, flavonóis, flavanonas, terpenos, xantonas e catequinas. O ensaio realizado em CCD para avaliar a atividade antioxidante apresentou resultados positivos para o extrato bruto e frações de *Piper marginatum*, já o ensaio antioxidante quantitativo demonstrou melhores resultados para as frações em acetato de etila, butanol e hidroalcoólica, com valores de IC₅₀ de 29,97, 32,93 e 42,70 µg/mL respectivamente, esta atividade pode estar associadas as substâncias identificadas nos ensaios da prospecção fitoquímica. Estes resultados podem servir como base para pesquisa e desenvolvimento de produtos com diversas áreas de aplicação.

Palavras chave: Produtos naturais; Propriedades biológicas; Antioxidante; Radicais livres.

ABSTRACT

The Piperaceae family belongs to the order Piperales and has five genera, namely: *Verhuellia*, *Zippelia*, *Manekia*, *Piper*, and *Peperomia*. The genus *Piper* has approximately 1000 species, and many of them have pharmacological properties. The species *Piper marginatum* is known for its use as an analgesic, anti-inflammatory, and hemostatic in popular medicine and for having many biological activities evidenced, such as fungicide, larvicide, and cercaricide besides the antioxidant activity of its essential oils. Free radicals are molecules or part of molecules that have one or more unpaired electrons and are the cause of many diseases such as cancer, Alzheimer's, and Parkinson's, besides the natural aging process that affect all kinds of people indiscriminately, increasing the number of researches aiming to find ways to prevent these diseases. Antioxidants are molecules capable of stabilizing free radicals, by donating electrons, preventing the propagation of the reactions that originate them. The present work aimed to characterize the chemical profile and to evaluate the antioxidant activity of the crude extract and fractions of *Piper marginatum* through tube chromatic assay, thin-layer chromatography, and DPPH radical inhibition. The phytochemical prospection of the crude extract and fractions of *Piper marginatum* demonstrated the presence of substances such as phenolic compounds, flavones, flavonols, flavanones, terpenes, xanthones, and catechins. The test carried out in TLC to evaluate the antioxidant activity showed positive results for the crude extract and fractions of *Piper marginatum*, the quantitative antioxidant test showed better findings for fractions in ethyl acetate, n-butyl alcohol, and hydroalcoholic with IC_{50} values of 29.97, 32.93, and 42.70 $\mu\text{g/mL}$ accordingly, this activity may be associated with substances identified in the phytochemical prospection tests. These results can serve as a basis for the research and development of products with diverse application areas.

Keywords: Natural products; Biological properties; Antioxidant, Free radicals.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultado colorimétrico esperado para taninos e fenois	20
Tabela 2 - Relação dos constituintes e as cores esperadas para Antocianinas, antocianidinas e flavonoides.....	20
Tabela 3 - Classificação dos constituintes para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavonas.....	21
Tabela 4 - Classificação de saponinas através do teste de Lieberman-Burchard.....	22
Tabela 5 - Resultado da Prospecção Fitoquímica	28
Tabela 6 – Resultados do ensaio antioxidante quantitativo.....	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Rendimento do extrato bruto e das frações de <i>Piper marginatum</i>	24
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Espécie <i>Piper marginatum</i> em sítio de coleta.....	19
Figura 2 – Resultado do Ensaio para Identificação de Compostos Fenólicos.....	25
Figura 3 – Resultado do Ensaio de Lieberman-Burchard.....	26
Figura 4 – Resultado do Ensaio de Saponinas.....	27
Figura 5 – Resultado do Ensaio Confirmatório de Saponinas.....	27
Figura 6 – Resultado do Ensaio de Alcaloides.....	28
Figura 7 – Placa Revelada com Cloreto Férrico 1%.....	29
Figura 8 – Placa Revelada com NP/PEG.....	30
Figura 9 – Placa Revelada com Vanilina.....	30
Figura 10 – Placa Revelada com Dragendorff.....	31
Figura 11 – Placa Revelada com DPPH.....	32

Sumário

1.0 INTRODUÇÃO	14
2.0 JUSTIFICATIVA	14
3.0 OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo Geral.....	15
3.2 Objetivos específicos.....	15
4.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
4.1 Produtos Naturais.....	16
4.2 Família Piperaceae.....	16
4.3 Gênero <i>Piper</i>	16
4.4 A Espécie <i>Piper marginatum</i>	17
5.0 MATERIAL E MÉTODOS	17
5.1 Coleta do vegetal.....	17
5.2 Preparo do Extrato e Fracionamento.....	18
5.3 Prospecção Fitoquímica para caracterização dos constituintes fenólicos ..	18
5.4 Teste para Fenóis e Taninos	19
5.5 Teste para Antocianinas, antocianidinas e flavonoides	19
5.6 Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavonas	20
5.7 Prospecção fitoquímica para caracterização de terpenos (Lieberman- Burchard) 20	
5.8 Prospecção fitoquímica para caracterização de saponinas.....	20
5.9 Prospecção fitoquímica para caracterização de alcaloides	21
5.10 Análise do extrato e frações em placas cromatográficas de gel de sílica.	21
5.11 Ensaio de atividade antioxidante quantitativo.....	22
6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6.1 Extração e Fracionamento	23

6.2 Teste para Fenóis e Taninos	24
6.3 Teste para Antocianinas, antocianidinas e flavonoides	24
6.4 Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavonas	24
6.5 Prospecção fitoquímica para caracterização de terpenos (Lieberman-Burchard) 25	
6.6 Prospecção fitoquímica para caracterização de saponinas.....	25
6.7 Prospecção fitoquímica para caracterização de alcaloides	26
6.8 Análise do extrato e frações em placas cromatográficas de gel de sílica...	28
6.8.1 Cloreto férrico	28
6.8.2 NP/PEG	28
6.8.3 Vanilina.....	29
6.8.4 Dragendorff.....	30
6.8.5 DPPH	30
6.9 Ensaio de atividade antioxidante quantitativo.....	31
7.0 CONCLUSÃO.....	32
8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1.0 INTRODUÇÃO

Extratos são produtos provenientes de matéria animal, vegetal ou microbiana, obtidos por esgotamento a quente ou frio utilizando solventes, podendo apresentar-se sob as formas líquida ou seca. Neles, é possível identificar várias substâncias advindas do metabolismo primário e secundário da planta que possuem atividades terapêuticas (ANVISA 2007) entre elas, ação antioxidante (ZHOU et al, 2021).

Os antioxidantes são compostos químicos que ajudam na manutenção da saúde humana e tem se tornado um assunto importante entre os cientistas nas últimas décadas por sua capacidade de sequestrar radicais livres (RAJENDRAN et al, 2014). Radicais livres são moléculas ou fragmentos de moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados, essa configuração os torna altamente reativos e com grande capacidade de interagir inespecificamente com várias moléculas da estrutura celular e seus derivados. Na área da medicina ou biologia, radicais livres são conhecidos geralmente como espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio e podem estar associados a diversas doenças como o Mal de Alzheimer, Parkinson e Câncer (PROPAC et al, 2017) além da Esclerose Lateral Amiotrófica e Doença de Huntington (LOZADA-BARREIRO & BRAVO-DÍAZ, 2017).

O gênero *Piper* pertence à família Piperaceae e é amplamente estudado, possuindo espécies com comprovada atividade biológica frente a bactérias e fungos como é o caso da *Piper betle* (ALI et al, 2018). Além disso, o gênero *Piper* possui representantes que apresentam propriedade antioxidante em seus extratos como: *Piper nigrum* (ZARAI et al, 2013) e *Piper umbellatum* (AGBOR et al, 2012). Essa informação favorece o estudo da mesma atividade em outras espécies do gênero uma vez que plantas congêneres possuem marcadores taxonômicos em comum (MATOS, 2009). A espécie *Piper marginatum* por sua vez, também possui evidenciadas atividades biológicas como antibacteriana (PASCOLI et al, 2018) e fungicida (ARAÚJO, et al., 2014)

2.0 JUSTIFICATIVA

Os radicais livres, em especial as espécies reativas de oxigênio, estão sendo formados no corpo humano a todo instante e, quando em desequilíbrio, podem causar doenças como Mal de Alzheimer, Parkinson e Câncer, atingindo a maior parte da população (PROPAC et al, 2017). Dados de 2005 mostraram que mais de 24,2

milhões de pessoas viviam com o Mal de Alzheimer naquele tempo, sendo a América do Norte e a Europa as regiões com maior ocorrência com cerca de 6,4 e 5,4% da população na idade de 60 anos, respectivamente, seguida pela América Latina e China com 4,9 e 4,0% respectivamente (MAYEUX & STERN, 2015).

O grande número de casos de doenças causadas por radicais livres fez com que se investisse mais em pesquisas com a finalidade de buscar formas de prevenção dessas doenças acessíveis à população, uma vez que os medicamentos utilizados para diminuir a progressão dessas doenças são de custo elevado (LOSADA-BARREIRO & BRAVO-DÍAZ, 2017). As reações de oxidação levam à formação de substâncias tóxicas que podem causar modificações oxidativas no DNA nuclear e mitocondrial, contribuindo para patogênese de muitas doenças neurodegenerativas humanas como a degeneração de neurônios no Mal de Alzheimer (TAN et al, 2019). Os antioxidantes impedem a formação dessas substâncias tóxicas através da quebra da cadeia de oxidação por doação de elétrons, ou seja, impedem a propagação das reações de formação dos radicais e também estabiliza os radicais formados (LOSADA-BARREIRO & BRAVO-DÍAZ, 2017).

Muitas espécies do gênero *Piper* têm notável potencial antioxidante, é o caso da *Piper betle* (DASGUPTA & DE, 2004), *Piper arboreum* (SILVA et al, 2014) e *Piper nigrum* (ZARAI et al, 2013), por isso é importante estudá-las. Bay-Hurtado et al (2016) evidenciou em seu estudo com a espécie *P. marginatum* que o óleo essencial obtido de suas raízes possui potencial antioxidante. No entanto, óleo essencial obtido das folhas tem um rendimento baixo (RAMOS et al 1986) e sofre influência de vários parâmetros, dentre eles podemos citar a temperatura (GOBBO-NETO & LOPES, 2007), por isso é preferencial o uso do extrato das folhas da espécie.

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterizar o perfil químico e avaliar atividade antioxidante do extrato bruto e frações de *Piper marginatum*.

3.2 Objetivos específicos

1. Obter perfil químico do extrato bruto e frações por meio de ensaios em tubos

2. Avaliar atividade antioxidante do extrato bruto e frações por meio de inibição do radical DPPH.

4.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Produtos Naturais

Os produtos naturais são de grande importância para indústria farmacêutica, pois constituem uma das principais fontes de matéria prima para o isolamento de substâncias ativas puras (VIANA et al, 2018). Com o avanço da síntese orgânica, o uso de tais produtos reduziu significativamente, porém, nos dias atuais onde se busca mais o contato com a natureza e a preservação do meio ambiente, a utilização de medicamentos naturais voltou a ser preferida (COSTA, 2009). Muitos desses produtos têm sido utilizados para combater microrganismos causadores de doenças em humanos (PINHEIRO et al, 2012) e em animais destinados ao consumo humano (BOIJINK et al, 2011), além de combater fitopatógenos (VENTUROSOSO et al, 2011). Por exemplo, os óleos essenciais possuem um grande potencial inseticida (CHELLAPPANDIAN et al, 2018) e os extratos de diversas espécies apresentam atividade antiparasitária (PAULA et al, 2018).

4.2 Família Piperaceae

A família Piperaceae pertence ao grupo da ordem Piperales e possui cinco gêneros a saber: *Verhuellia*, *Zippelia*, *Piper*, *Peperomia* e *Manekia* (SAMAIN et al, 2010), sendo que estes três últimos possuem cerca de 500 espécies distribuídas em todo território brasileiro (GUIMARÃES & CARVALHO-SILVA, 2009). Alguns componentes químicos podem ser encontrados nas espécies pertencentes a essa família, tais como: fenilpropanoides, amidas, lignanas e neolignanas (PARMAR et al, 1997), substâncias estas que possuem atividades farmacológicas, como é o caso dos fenilpropanoides que apresentam atividade anticancerígena (HEMATPOOR et al, 2018) e atuam no tratamento de doenças neurodegenerativas (KOLAJ et al, 2018).

4.3 Gênero *Piper*.

O gênero *Piper* possui aproximadamente 1000 espécies (GREIG, 2004). No Brasil, cerca de 290 espécies e 45 variedades são encontradas (GUIMARÃES, et al

2015) e muitas apresentam propriedades farmacológicas tais como atividade anticancerígena (DE LEON et al, 2002), antiinflamatória (SOSA et al, 2002), antimicrobiana (ORJALA et al, 1989) e antiparasitária (TORRES-SANTOS et al, 1999).

Estudos anteriores demonstraram a atividade antimicrobiana de *Piper betle* contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* por meio da adição do extrato das folhas a produtos de higiene bucal comerciais, sugerindo que sua atividade pode estar relacionada aos compostos fenólicos presentes (ALI et al, 2018). Outras espécies do gênero como *Piper nigrum* (ZARAI et al, 2013), *Piper umbellatum* (AGBOR et al, 2012) e também *Piper betle* (ALI et al, 2018) já tiveram a atividade antioxidante de seus extratos evidenciadas.

4.4 A Espécie *Piper marginatum*

Piper marginatum é uma planta aromática de porte arbustivo conhecida popularmente no Brasil como “malvaíscó”, “caapeba-cheirosa” ou “pimenta do mato” (CHAHAL et al, 2011), suas folhas possuem formato cordiforme com ambas as faces glabras e nervura palmitinérvea, suas inflorescências são do tipo espiga de até 15 cm de comprimento (GUIMARÃES E GIORDANO, 2004). Tem como metabólitos secundários flavonoides (REIGADA et al, 2007), fenilalcaloides (SANTOS et al, 1998), aristolactamas (CHAVES et al, 2006) entre outros. Muitas atividades dessa espécie já foram evidenciadas, a saber: antibacteriana (PASCOLI et al, 2018), fungicida (ARAÚJO, et al., 2014), larvicida (AUTRAN et al, 2009) e cercaricida (FRISCHKORN et al, 1978). Outra importante atividade apresentada por essa espécie é a antioxidante (SILVA et al, 2018), essa propriedade é muito pesquisada atualmente para o tratamento de doenças causadas por radicais livres.

5.0 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Coleta do vegetal

As folhas de *Piper marginatum* (Figura 1) foram coletadas em uma propriedade particular no km 18 (S 03°01'50,5" W 58°32'37,3"), na estrada Am-010 sentido Itacoatiara-Manaus. A espécie foi identificada pelo Professor Ari de Freitas Hidalgo (Faculdade de Ciências Agrárias – UFAM). A exsicata da planta foi depositada no

Herbário da Universidade Federal do Amazonas (HUAM/UFAM), sob o número de tombo 8266.

Figura 1: Espécie *Piper marginatum* em sítio de coleta



AUTOR, 2019.

5.2 Preparo do Extrato e Fracionamento

Para a preparação do extrato foram utilizadas 300 g de material seco e moído que foi submetido a extração com etanol 70% sob refluxo, e em seguida concentrado para evaporação do etanol em evaporador rotatório. O extrato hidroalcoólico obtido foi dividido igualmente, sendo que metade foi submetido ao processo de secagem e a outra foi fracionada. A parte separada para fracionar foi submetida ao processo de partição líquido-líquido utilizando-se solventes em ordem crescente de polaridade, sendo estes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol. As frações foram concentradas em evaporador rotatório, secas em cápsula de porcelana em banho maria e seus rendimentos foram determinados (m/m) através da fórmula abaixo:

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{massa final}}{\text{massa inicial}} \times 100$$

5.3 Prospecção Fitoquímica para caracterização dos constituintes fenólicos

A metodologia para identificação dos constituintes fenólicos foi realizada segundo metodologia de Matos (2009) com adaptações. Esta análise foi realizada com o extrato bruto e as frações através de ensaios cromáticos usuais utilizando-se reagentes convencionais para detecção de grupos fenólicos específicos, tais como,

solução de cloreto férrico e diferentes valores de pH (3.0, 8.5, 11) utilizando solução de HCl (0,1 M) e NaOH (0,1 M). Inicialmente, pesou-se 100 mg do extrato bruto e das frações em acetato de etila, butanol e hidroalcolica. O extrato bruto foi lavado três vezes com 10 ml de clorofórmio cada, e a parte que não solubilizou foi diluída em 50 ml de metanol a 70%. As frações também foram solubilizadas em metanol 70% e em seguida as soluções estoque foram transferidas para balões volumétricos de 100 ml e o volume foi ajustado. O ensaio foi realizado em triplicata. Separou-se 7 tubos e adicionou-se 3 ml das soluções estoque preparadas e o pH de cada tubo foi ajustado. Os testes realizados estão descritos abaixo.

5.4 Teste para Fenóis e Taninos

Ao tubo 1 foram adicionadas 3 gotas de Cloreto férrico (1%), então observou-se a variação da cor da solução em tubo como apresentado na tabela 1.

Tabela1: Resultado colorimétrico esperado do teste

Cor Esperada	
Fenóis	Variável entre azul e vermelho
Taninos	Precipitado azul escuro

5.5 Teste para Antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Ao tubo 2 foram adicionadas 3 gotas de solução de HCl (0,1 M) para ajustar o pH para 3. O pH da solução do tubo 3 foi ajustado para 8,5 com solução de NaOH (0,1 M). O pH da solução do tubo 4 foi ajustado para 11 com solução de NaOH (0,1M). Então, observou-se a variação da cor das soluções nos tubos de acordo com a tabela 2.

Tabela 2: relação dos constituintes e as cores esperadas

Constituintes	Cor em meio		
	Ácido ⁽³⁾	Alcalino ^(8,5)	Alcalino ⁽¹¹⁾
Antocianinas e Antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, flavonois e xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelha	-	Verm. Púrpura
Flavanonol	-	-	Verm. Laranja

5.6 Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavonas

O pH da solução do tubo 5 foi ajustado para 3 com solução de HCl (0,1 M) e o pH da solução do tubo 6 para 11 com solução de NaOH (0,1 M). Então, os tubos foram aquecidos por dois minutos em chama de bico de bunsen e observou-se a variação da cor das soluções dos tubos como mostrado na tabela 3.

Tabela 3: Classificação dos constituintes

Constituintes	Cor em Meio	
	Ácido	Alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Catequinas (taninos catéquicos)	Pardo amarelada	-
Flavonas	-	Verm. Laranja

5.7 Prospecção fitoquímica para caracterização de terpenos (Lieberman-Burchard)

O extrato bruto e frações foram avaliados através de ensaios cromáticos usuais utilizando anidrido acético e ácido sulfúrico (MATOS, 2009). Inicialmente pesou-se 30 mg das frações em hexano e clorofórmio, que foram lavadas 3 vezes com clorofórmio para solubilização de substâncias apolares. Em seguida a solução do extrato bruto obtida no item anterior e a das frações foram filtradas em funil de vidro para os tubos de ensaio. Utilizou-se aproximadamente 3 ml de cada solução. Em seguida adicionou-se 1 ml de anidrido acético e 3 gotas de ácido sulfúrico, então observou-se o aparecimento de coloração.

5.8 Prospecção fitoquímica para caracterização de saponinas

Inicialmente pesou-se 100 mg do extrato bruto e das frações em acetato de etila, butanol e hidroalcolica. As amostras foram lavadas 3 vezes com 10 ml de clorofórmio para a remoção de substâncias apolares. Em seguida o resíduo insolúvel foi dissolvido com 10 ml de água destilada utilizando aparelho sonicador. As soluções obtidas foram transferidas para tubos de ensaio identificados. Em seguida os tubos foram agitados por dois minutos para observação da formação de espuma

persistente. O teste confirmatório foi realizado com a adição de 2 ml de ácido clorídrico concentrado seguido de aquecimento em banho Maria durante 1 hora. Após o término do tempo de aquecimento os tubos resfriaram até a temperatura ambiente e o pH foi neutralizado com solução de NaOH (0,1 M). Em seguida, os tubos foram agitados novamente para confirmação da presença de saponinas e em caso de resultado positivo, segue-se para a classificação da saponina através do teste de Lieberman-Burchard como mostrado na tabela 4 (Matos, 2009).

Tabela 4: Classificação de saponinas através do teste de Lieberman-Burchard

	Cor Esperada
Saponinas Esteroidais	Azul evanescente
Saponinas Triterpênicas	Vermelho

5.9 Prospecção fitoquímica para caracterização de alcaloides

Inicialmente pesou-se 300 mg do extrato bruto e das frações em acetato de etila, butanol e hidroalcolica. Em seguida solubilizou-se as amostras com aproximadamente 25 ml de água destilada e o pH foi ajustado para 4-5 com HCl 0,1 M. As soluções obtidas foram filtradas em papel de filtro e o pH do filtrado foi ajustado para 11 com solução de NaOH 0,1 M, em seguida a solução foi transferida para um funil de separação e a solução foi reparticionada com 7 ml de CHCl₃. O pH da fase clorofórmica foi ajustado para 2 com solução de HCl 0,1 M. Em seguida separou-se a fase clorofórmica e nova repartição foi realizada com água. A fase aquosa foi utilizada para o teste em tubo, às soluções foram adicionadas algumas gotas de Reagente de Dragendorff e observou-se as alterações de cor (MATOS, 2009).

5.10 Análise do extrato e frações em placas cromatográficas de gel de sílica

A análise do extrato e frações em placas cromatográficas de gel de sílica foi realizada seguindo a metodologia de Guimarães (2005). Inicialmente pesou-se 5 mg do extrato bruto e das frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila, butanólica e

hidroalcoolica. Dissolveu-se as amostras com metanol para obter a concentração de 30 mg/mL. As placas de cromatografia em camada delgada em gel de sílica 60 F₂₅₄ foram cortadas com 5 cm de comprimento e 7 cm de largura, permitindo aos eluentes percorrerem a distância de 4 cm. Após os cortes as placas foram eluídas com metanol para limpeza das mesmas e em seguida foram colocadas em estufa a 100°C por 30 minutos para a ativação. Em seguida com o auxílio de um microcapilar calibrado aplicou-se em banda 5 µL das soluções do extrato bruto e das frações e as placas foram eluídas com sistema de eluição BAW (butanol, ácido acético e água) na proporção 5:1:4. Após a eluição foram aplicados os reveladores NP/PEG, Dragendorff, DPPH, Vanilina e Cloreto férrico. As placas que foram reveladas com NP/PEG foram observadas em câmara de ultravioleta (Biothec BT – 107/UV) no comprimento de onda de 365 nm. Já as placas reveladas com vanilina foram aquecidas em chapa. Em seguida calculou-se o fator de retenção (RF) de todas as manchas.

5.11 Ensaio de atividade antioxidante quantitativo

Adicionou-se em microplaca de 96 poços 30µL da solução 10 mg/mL de cada fração e completou-se o volume para 300µL adicionando-se 270µL da solução de DPPH em cada poço. Incubou-se a placa por trinta minutos. Após trinta minutos realizou-se a leitura em espectrofotômetro ELISA (DTX 800 Multimode Detector, Beckmam Coulter). Todas as leituras foram feitas em triplicata e com a média dos dados obtidos, foi possível calcular a diferença entre a amostra e o branco e as capacidades de sequestro por regressão linear para cada fração. Os valores de absorbância foram medidos em 518 nm, em seguida foi convertida a atividade antioxidante para percentagem (AA) com a seguinte fórmula:

$$\text{Atividade Antioxidante} = 100 \left[1 - \frac{(A_0 - A_t)}{(A_0^0 - A_t^0)} \right]$$

Onde :

A₀ = Absorbância inicial da amostra

A_t = Absorbância final da amostra

Etanol (1,0 ml) e solução da fração da amostra (2,5 mL) foram usados como branco. Solução de DPPH (1,0 ml; 0,3 mM) mais etanol (2,5 mL) foi utilizada como

um controle negativo. Os controles positivos foram aqueles que utilizam as soluções padrão.

Foi calculada a concentração necessária para se obter 50% do efeito máximo estimado de 100% (CI₅₀) apenas para as frações que apresentaram mais de 50% de inibição do DPPH. Para obtenção da CI₅₀, soluções de amostras (1,0 mg / mL) foram diluídas até às concentrações finais de 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg / mL, em etanol. 1 mL de uma solução de etanol a 0,3 mM DPPH foi adicionado a 2,5 ml de soluções de diferentes concentrações da amostra, deixando reagir à temperatura ambiente em uma câmara escura. Após 30 min, os valores de CI₅₀ foram calculados por regressão linear de parcelas onde a abscissa representa a concentração das amostras testadas e ordenada a porcentagem média de atividade antioxidante de três testes separados (MENSOR et al., 2001).

6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Extração e Fracionamento

A parte seca do extrato bruto e das frações obtidas das folhas de *Piper marginatum* apresentaram rendimento total de 21,17%, os rendimentos parciais estão expostos no quadro 1.

Quadro 1: Rendimento do extrato bruto e das frações

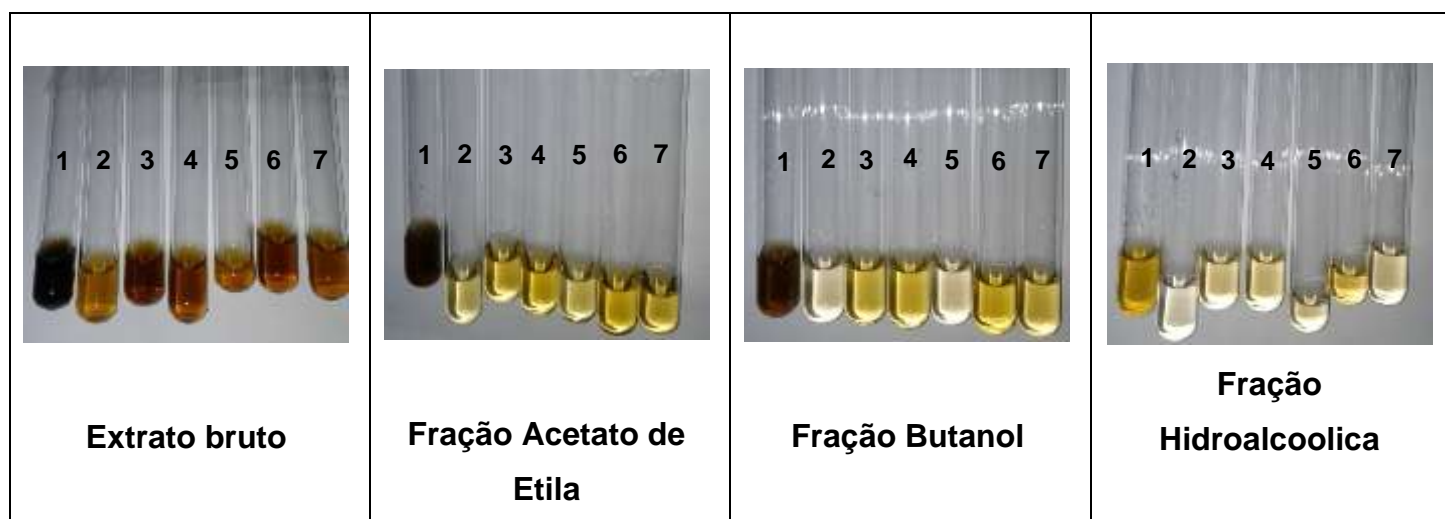
Fração	Massa obtida (g)	Rendimento (%)
Hexânica	5,26	1,75%
Clorofórmica	3,00	1,00%
Acetato de Etila	0,83	0,28%
Butanol	5,14	1,71%
Hidroalcoolica	19,09	6,36%
Extrato Bruto	30,20	10,06%

Macêdo et al (2018) obteve um rendimento de 21,4% no extrato etanólico das folhas de *P. marginatum*, no entanto, a diversidade de técnicas de extração existentes dificulta a comparação dos rendimentos obtidos com a literatura (MACÊDO et al, 2018).

6.2 Teste para Fenóis e Taninos

O extrato bruto e as frações em acetato de etila e butanol apresentaram resultado positivo para fenóis (Figura 2), pois todos mostraram coloração azul escura. Em seu trabalho com uma planta do mesmo gênero, Conde-Hernández e Guerrero-Beltrán (2014) observaram a presença de compostos fenólicos em extrato das folhas de *Piper auritum*.

Figura 2: Resultado do ensaio para identificação dos constituintes fenólicos



Legenda: Tubo 1: Cloreto Férrico (1%); Tubo 2: pH 3; Tubo 3: pH 8,5; Tubo 4: pH 11; Tubo 5: pH 3 + Δ ; Tubo 6: pH 11 + Δ ; Tubo 7: Branco. Fonte: AUTOR, 2019.

6.3 Teste para Antocianinas, antocianidinas e flavonoides

As frações em acetato de etila e butanol apresentaram resultado positivo para flavonas, flavonóis e xantonas (Figura 2) devido a mudança da cor das soluções do tubo 4 para amarelo. Parmar et al (1997) em seu trabalho observou a presença de flavonoides em *Piper marginatum*.

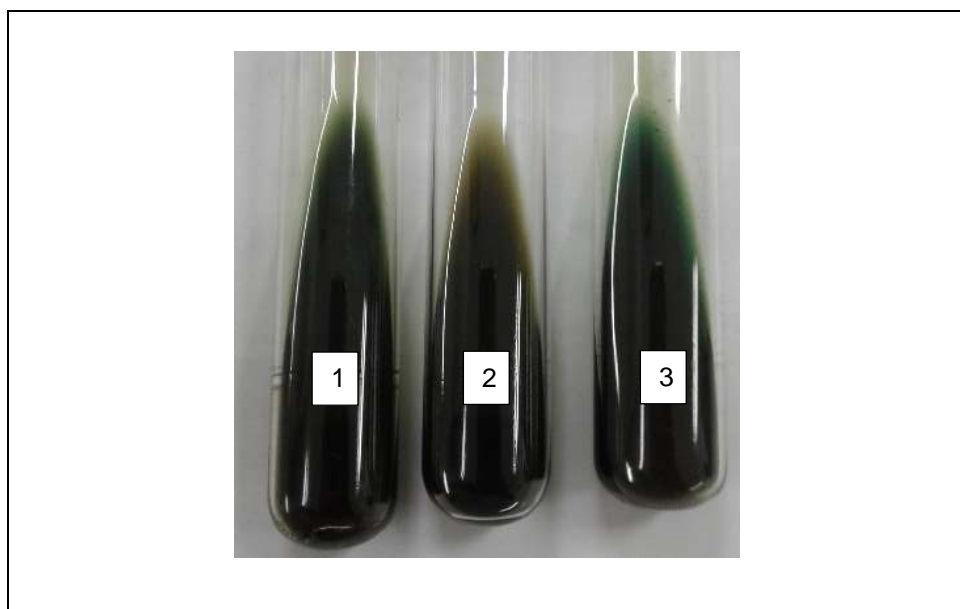
6.4 Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas

O extrato bruto e a fração em acetato de etila mostraram a presença de catequinas pela mudança da cor da solução do tubo 5 para pardo amarelado e o extrato bruto apresentou resultado positivo para flavanonas (Figura 2) através da mudança da cor do tubo 6 para vermelho alaranjado. Parmar et al (1997) em seu trabalho observou a presença de flavanonas em *Piper marginatum*.

6.5 Prospecção fitoquímica para caracterização de terpenos (Lieberman-Burchard)

No ensaio para detecção de terpenos e esteroides o resultado mostrou-se positivo para esteroides livres no extrato bruto e nas frações PML-1 (hexânica) e PML-2 (clorofórmica), pois, após a adição do reagente de Lieberman-Burchard as soluções dos tubos apresentaram coloração azul seguida de um verde permanente (Figura 3). Ahmad et al (2015) observou a presença de esteroides livres em extrato dos frutos de *Piper nigrum*.

Figura 3: Resultado do Ensaio de Lieberman-Burchard.

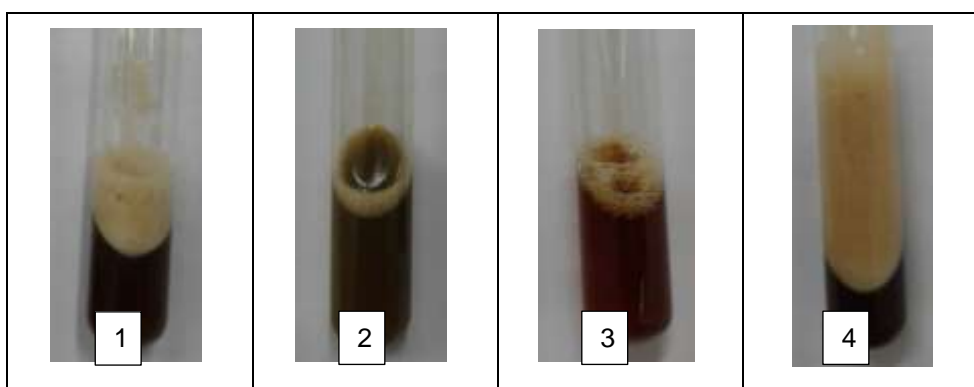


Legenda: Tubo 1: Extrato Bruto; Tubo 2: Fração Hexano; Tubo 3: Fração Clorofórmio. Fonte: AUTOR, 2019.

6.6 Prospecção fitoquímica para caracterização de saponinas

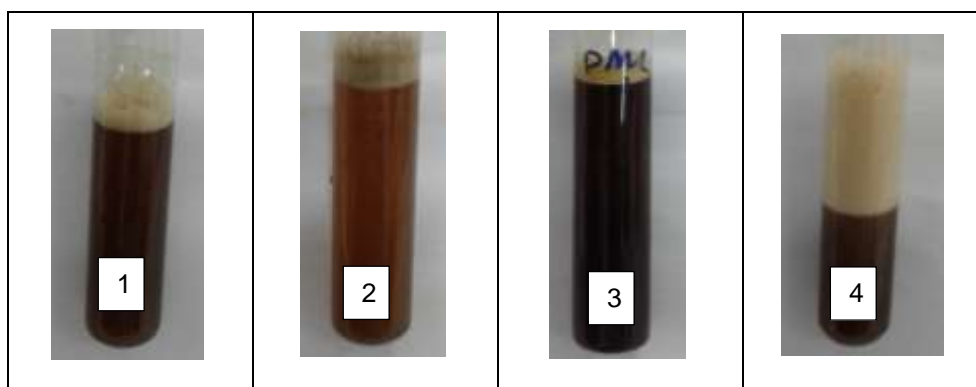
O ensaio para saponinas apresentou resultado negativo, pois, após o teste confirmatório houve a formação de espuma (Figuras 4 e 5).

Figura 4: Resultado do Ensaio de Saponinas



Legenda: Tubo 1: Extrato Bruto; Tubo 2: Fração Acetato de Etila; Tubo 3: Fração Butanol; Tubo 4: Fração Hidroalcoólica. Fonte: AUTOR, 2019.

Figura 5: Resultado do Ensaio Confirmatório de Saponinas

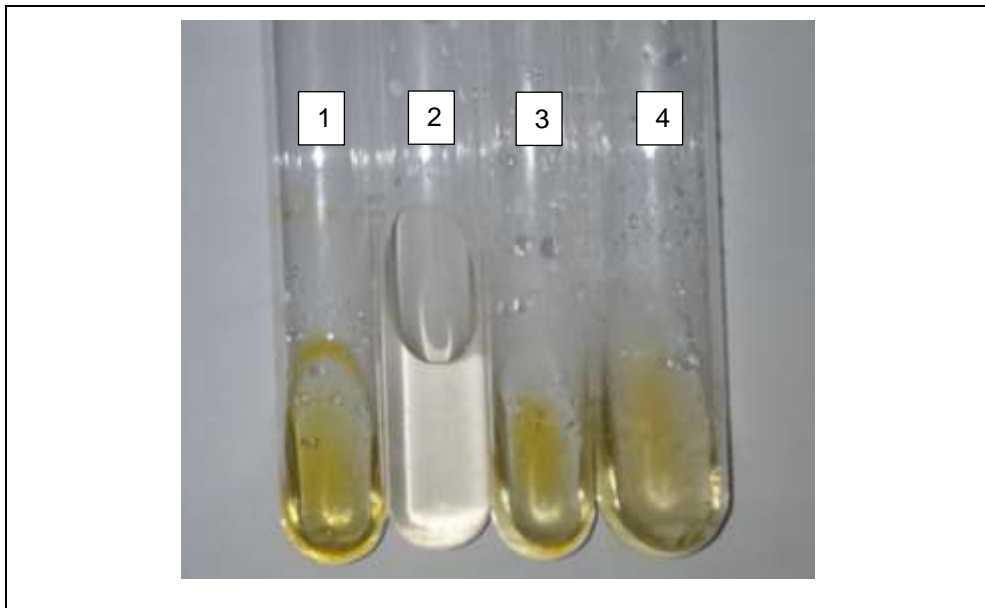


Legenda: Tubo 1: Extrato Bruto; Tubo 2: Fração Acetato de Etila; Tubo 3: Fração Butanol; Tubo 4: Fração Hidroalcoólica. Fonte: AUTOR, 2019.

6.7 Prospecção fitoquímica para caracterização de alcaloides

O ensaio para alcaloides apresentou resultado negativo, pois, após a aplicação do revelador de Dragendorff as amostras não apresentaram turvação ou precipitado característico da reação positiva para alcaloides (Figura 6). Para uma visão geral dos resultados, ver tabela 5 abaixo.

Figura 6: Resultado do Ensaio de Alcaloides



Legenda: Tubo 1: Extrato Bruto; Tubo 2: Fração Acetato de Etila; Tubo 3: Fração Butanol; Tubo 4: Fração Hidroalcoólica. Fonte: AUTOR, 2019.

Tabela 5: Resultado da Prospecção Fitoquímica

Constituintes Químicos	PML	PML-1	PML-2	PML-3	PML-4	PML-5
Fenois	+	-	-	+	+	-
Flavonas, Flavonois e Xantonas	-	-	-	+	+	-
Catequinas (Taninos Catéquicos)	+	-	-	+	-	-
Flavanonas	+	-	-	-	-	-
Esteroides Livres	+	+	+	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	-	-

Legenda: (+) presença; (-) ausência; PML: Extrato Bruto; PML1: Fração Hexano; PML-2: Fração Clorofórmio; PML-3: Fração Acetato de Etila; PML-4: Fração Butanol; PML-5: Fração hidroalcoólica.

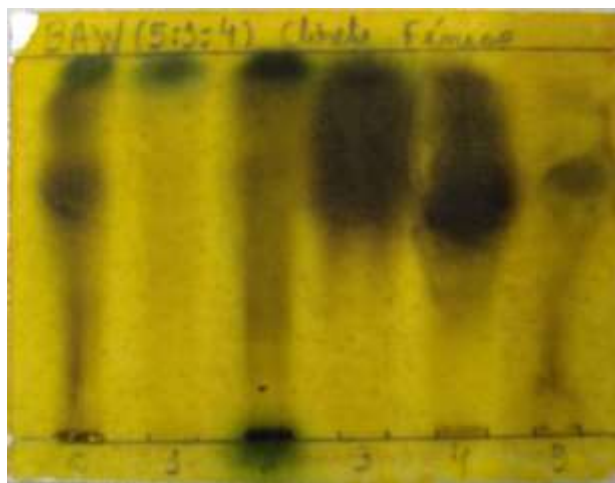
Essas substâncias podem ser utilizadas como marcadores taxonômicos para as espécies do gênero (ARROYO et al,2011) e algumas delas como os flavonoides possuem atividade antioxidante evidenciada (CHEN et al, 2019).

6.8 Análise do extrato e frações em placas cromatográficas de gel de sílica

6.8.1 Cloreto férrico

Na placa revelada com cloreto férrico o resultado foi positivo para presença de compostos fenólicos caracterizada pela mudança da coloração do extrato bruto (1) e das frações clorofórmica (2), acetato de etila (3), butanólica (4) e hidroalcolica (5) de amarelo para preto, assim como no ensaio realizado em tubo, o extrato bruto e as frações acetato de etila e butanólica apresentaram resultados positivos para Fenois (Figura 7).

Figura 7: Placa revelada com Cloreto Férrico 1%

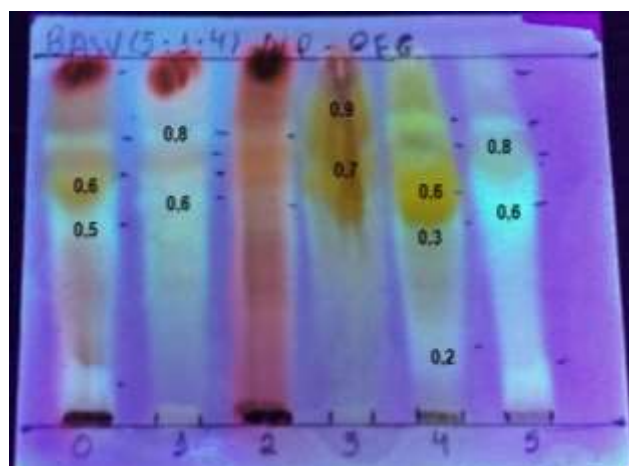


Legenda: 0 – Extrato Bruto; 1 – Fração Hexânica; 2 – Fração Clorofórmica; 3 – Fração Acetato de Etila; 4 – Fração Butanólica; 5 – Fração Hidroalcolica. Fonte: AUTOR, 2019.

6.8.2 NP/PEG

Na placa revelada com NP/PEG foi possível observar manchas amarelas no extrato bruto (0) nas frações acetato de etila (3) e butanólica (4) com Rf de 0,67; 0,70 a 0,90 e 0,62 respectivamente. Também foi possível observar e manchas azuis com Rf de 0,52; 0,60 a 0,80; 0,20 a 0,37 e 0,60 a 0,82 no extrato bruto (0) e nas frações hexânica (1), butanólica (4) e hidroalcolica (5) respectivamente. Segundo Lima et al (2003) o revelador NP/PEG é empregado na triagem fitoquímica para detectar flavonoides, mediante a coloração amarela ou laranja e compostos fenólicos mediante a coloração azul. Estes resultados corroboram com os resultados obtidos no ensaio realizado em tubos (Figura 8).

Figura 8: Placa revelada com NP/PEG

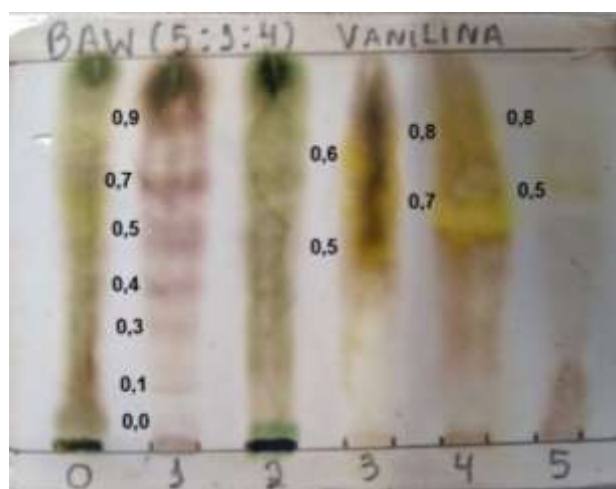


Legenda: 0 – Extrato Bruto; 1 – Fração Hexânica; 2 – Fração Clorofórmica; 3 – Fração Acetato de Etila; 4 – Fração Butanólica; 5 – Fração Hidroalcoolica. Fonte: AUTOR, 2019.

6.8.3 Vanilina

Na placa revelada com vanilina foi possível observar manchas variando entre as cores roxa e lilás na fração hexânica (1) com Rf variando de 0,05 a 0,97. Segundo o trabalho de Guimarães (2005) a cor vermelha é indicativa da presença de terpenos. Também é possível observar manchas amarelas nas frações acetato de etila (3), butanólica (4) e hidroalcoolica (5) com Rf variando entre 0,50 a 0,65; 0,72 a 0,80; 0,55 a 0,82 respectivamente sugerindo a presença de compostos fenólicos. Estes resultados coincidem com os obtidos no ensaio realizado em tubos (Figura 9).

Figura 9: Placa revelada com Vanilina

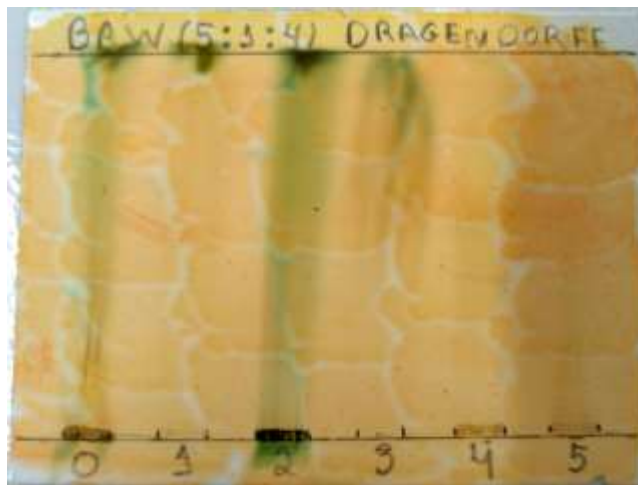


Legenda: 0 – Extrato Bruto; 1 – Fração Hexânica; 2 – Fração Clorofórmica; 3 – Fração Acetato de Etila; 4 – Fração Butanólica; 5 – Fração Hidroalcoolica. Fonte: AUTOR, 2019.

6.8.4 Dragendorff

A placa revelada com reagente de Dragendorff não demonstrou reação positiva para alcaloides no extrato bruto (0) e frações hexânica (1), clorofórmica (2), acetato de etila (3), butanólica (4) e hidroalcolica (5) de *Piper marginatum*. Este resultado corrobora com os resultados obtidos no ensaio realizado em tubos (Figura 10).

Figura 10: Placa revelada com Dragendorff

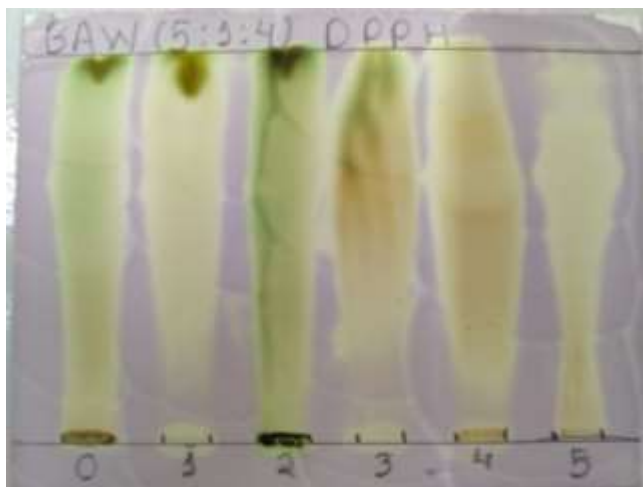


Legenda: 0 – Extrato Bruto; 1 – Fração Hexânica; 2 – Fração Clorofórmica; 3 – Fração Acetato de Etila; 4 – Fração Butanólica; 5 – Fração Hidroalcolica. Fonte: AUTOR, 2019.

6.8.5 DPPH

Na placa revelada com DPPH (Figura 11) o extrato bruto e as frações apresentaram atividade antioxidante caracterizada pela mudança da coloração do revelador DPPH de roxo para amarelo, sendo esta atividade mais intensa nas frações hexânica (1), acetato de etila (3), butanólica (4) e hidroalcolica (5), e moderada no extrato bruto (0) e fração clorofórmica (2). A atividade antioxidante pode ser atribuída a substâncias como os flavonoides (CHEN et al, 2019).

Figura 11: Placa revelada com DPPH



Legenda: 0 – Extrato Bruto; 1 – Fração Hexânica; 2 – Fração Clorofórmica; 3 – Fração Acetato de Etila; 4 – Fração Butanólica; 5 – Fração Hidroalcoólica. Fonte: AUTOR, 2019.

6.9 Ensaio de atividade antioxidante quantitativo

As frações que obtiveram melhor resultado no ensaio antioxidante quantitativo foram as frações em Acetato de Etila, Butanol e Hidroalcoólica, com inibição média variando entre 77,20 a 80,11%. Em seu trabalho Ramesh et al (2011) evidenciou uma inibição do radical DPPH de 83,54% para o extrato etanólico das sementes de *Piper longum*. A fração que obteve melhor resultado de inibição do radical DPPH foi a fração Acetato de etila com IC₅₀ de 29,97 µg/mL. Esta atividade pode ser atribuída a presença de substâncias conhecidas por exercerem atividade antioxidante, como os compostos fenólicos (XIONG et al, 2021) e flavonoides (NURCHOLIS et al, 2021) observados nesta fração nos ensaios da prospecção fitoquímica. Mensor et al (2001) em seu trabalho com o extrato padronizado das folhas da *Ginkgo biloba*, observou um resultado de IC₅₀ de 40,72 µg/mL. A espécie *Ginkgo biloba* é reconhecida por sua atividade antioxidante e seu emprego no tratamento do Mal de Alzheimer (SINGH et al, 2019). Para visualização geral dos resultados deste ensaio, ver tabela 6 abaixo.

Tabela 6: Resultado do Ensaio Antioxidante Quantitativo

Frações	DPPH				
	% Inibição			Média ± Desvio padrão	IC ₅₀ ± Desvio padrão
Acetato de Etila	77,48	76,97	77,14	77,20±0,26	29,97 ±1,59
Butanol	79,34	81,05	79,93	80,11±0,87	32,93±1,83
Hidroalcoolica	70,92	71,43	74,06	72,14±1,69	42,70±0,26

7.0 CONCLUSÃO

Com base nos ensaios de prospecção fitoquímica realizados, foi possível detectar a presença de substâncias como compostos fenólicos, flavonas, flavonóis, flavanonas, xantonas e catequinas no extrato bruto e frações acetato de etila e butanólica. Também foi observada a presença de esteroides livres no extrato bruto e frações hexânica e clorofórmica. Já o teste para saponinas e alcaloides apresentou resultados negativos.

O ensaio em CCD para avaliação da atividade antioxidante apresentou resultados positivos para o extrato bruto e frações de *Piper marginatum*, já o ensaio quantitativo apresentou resultados promissores para as frações Acetato de Etila, Butanol e Hidroalcoolica das folhas de *Piper marginatum*, evidenciando que a espécie pode ser fonte de substâncias que podem ser utilizadas na prevenção de doenças causadas por radicais livres.

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOR, G. A.; AKINFIRESOYE, L.; SORTINO, J.; JOHNSON, R.; VINSON, J. A. *Piper* species protect cardiac, hepatic and renal antioxidant status of atherogenic diet fed hamsters. **Food Chemistry**. 134, 1354 – 1359, 2012.

AHMAD, A.; HUSAIN, A.; MUJEEB, M.; KHAN, S. A.; ALHADRAMI, H. A. A.; BHANDARI, A. Quantification of total phenol, flavonoid content and pharmacognostical evaluation including HPTLC fingerprinting for the standardization of *Piper nigrum* Linn fruits. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 5, 101-107, 2015.

ALI, A.; LIM, X. Y.; CHONG, C. H.; MAH, S. H.; CHUA, B. L. Optimization of ultrasound assisted extraction of natural antioxidants from *Piper betle* using response surface methodology. **LWT – Food Science and Technology**. 89, 681 – 688 , 2018.

ARAÚJO, E. R.; HARAND, W.; LIMA, I. C.; DIAS, F. C. R.; SANTANA, A. A. D.; CARVALLHO, R. R. C.; LARANJEIRA, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no Controle de *Colletotrichum scovillei* em Pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 49, 89-94, 2014.

ARROYO, A. J.; BONILLA, R. P.; TOMÁS, CH. G.; HUAMÁN, M. J. Estudio Fitoquímico Del Extracto Etanólico y de las Fracciones de las Hojas de *Piper aduncum* “matico”. **Revista Peruana de Química e Ingeniería Química**. 14, 62-67, 2011.

AUTRAN, E. S.; NEVES, I. A.; SILVA, C. S. B.; SANTOS, G. K. N.; CÂMARA, C. A. G.; NAVARRO, D. M. A. F. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Bioresource Technology**. 100, 2284–2288, 2009.

BAY-HURTADO, F.; LIMA, R. A.; TEIXEIRA, L. F.; SILVA, I. C. F.; BAY, M.; AZEVEDO, M. S.; FACUNDO, V. A. Atividade Antioxidante e caracterização do óleo

essencial das raízes de *Piper marginatum* Jacq. **Ciência e Natura**. 38, 1504 – 1511, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre aditivos Aromatizantes. Dispõe sobre os aditivos aromatizantes que são produzidos e comercializados nos territórios dos Estados Partes do MERCOSUL, ao comércio entre eles e às importações extra zona. ANVISA, **Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº 2 de 15 de janeiro de 2007**, Anexo 2.

BOIJINK, C. L.; INOUE, L. A. K. A.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M. Boas práticas de manejo na piscicultura para conservação da qualidade ambiental: uso de produtos naturais como anti-helmíntico em Tambaqui. **Anais do Seminário Produtividade Agropecuária e Benefícios Socioambientais das Pesquisas da Embrapa Amazônia Ocidental**. 1, 42 – 45, 2011.

CHAHAL, J.; OHLYAN, R.; KANDALE, A.; WALIA, A.; PURI, S. Introduction, Phytochemistry, Traditional uses and Biological Activity of Genus *Piper*: A review. **International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research**. 2, 130 – 140, 2011.

CHAVES, M. C. O.; OLIVEIRA, A. H.; SANTOS, B. V. O. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**. 34, 75-77, 2006.

CHELLAPPANDIAN, M.; VASANTHA-SRINIVASAN, P.; SENTHIL-NATHAN, S.; KARTHI, S.; THANIGAIVEL, A.; PONSANKAR, A.; KALAIVANI, K.; HUNTER, W. B. Botanical essential oils and uses as mosquitocides and repellents against dengue. **Environment International**. 113, 214 – 230, 2018.

CHEN, G.; FAN, M.; WU, J.; LI, N.; GUO, M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lótus plumule. **Food Chemistry**. 277, 706-712, 2019.

CONDE-HERNÁNDEZ, L. A.; GUERRERO-BELTRÁN, J. Á. Total phenolics and

antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. **Food Chemistry**. 142, 455-460, 2014.

COSTA, P. R. R. Produtos Naturais como Ponto de Partida para a Descoberta de Novas Substâncias Bioativas: Candidatos a Fármacos com Ação Antiofídica, Anticâncer e Antiparasitária. **Revista Virtual de Química**. 1, 58-66, 2009.

DASGUPTA, N.; DE, B. Antioxidant activity of *Piper betle* L. leaf extract in vitro. **Food Chemistry**. 88, 219–224, 2004.

DE LEÓN, E. J.; OLMEDO, D. A.; SOLÍS, P. N.; GUPTA, M. P.; TERCENIO, M. C. Diyangambin Exerts Immunosuppressive and Anti-Inflammatory Effects *in vitro* and *in vivo*. **Letter Planta Med**. 68, 1128-1131, 2002.

FRISCHKORN, C. G. B.; FRISCHKORN, H. E.; CARRAZZONI, E. Cercaricidal Activity of Some Essential Oils of Plants from Brazil. **Naturwissenschaften**. 65, 480-483, 1978.

GOBBO-NETO, L.; LOPES N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**. 30, 374 – 381, 2007.

GREIG, N. Introduction. In: DYER, A.; PALMER, A. D. N. *Piper*: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution. **Kluwer Academic/Plenum Publishers**. New York, 1, 2004.

GUIMARÃES, E. F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E. S.; QUEIROZ, G. A. 2015 *Piperaceae* in Lista de especies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12769>>. Acesso: 30 de dez. 2018.

GUIMARÃES, A. C. Estudo químico e biológico de *Cladocolea micranta* (Loranthaceae), uma planta medicinal da região Amazônica. Tese de Doutorado em

Ciências. **Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais. Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, Brasil, 305 p., 2005.

GUIMARÃES, E. F.; CARVALHO-SILVA, M. Uma nova espécie e novos nomes em *Piper* seção *Ottonia* (Piperaceae) para o sudeste do Brasil. **Hoehnean**. 36, 431 – 435, 2009.

GUIMARÃES, E. F.; GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do Nordeste brasileiro I: estado do Ceará. **Rodriguésia**. 55, 21-46, 2004.

HEMATPOOR, A.; PAYDAR, M.; LIEW, S. Y.; SIVASOTHY, Y.; MOHEBALI, N.; LOOI, C. Y.; WONG, W. F.; AZIRUN, M. S.; AWANG, K. Phenylpropanoids isolated from *Piper sarmentosum* Roxb. induce apoptosis in breast cancer cells through reactive oxygen species and mitochondrial-dependent pathways. **Chemico-Biological Interactions**. 279, 210 – 218, 2018.

KOLAJ, I.; LIYANAGE, S. I.; WEAVER, D. F. Phenylpropanoids and Alzheimer's disease: A potential therapeutic platform. **Neurochemistry International**. 120, 99-11, 2018.

LIMA, A. K.; AMORIM, E.L. C.; AQUINO, T. M.; LIMA, C. S. A.; PIMENTEL, R. M. M.; HIGINO, J. S.; ALBUQUERQUE, U. P.. Estudo farmacognóstico de *Indigofera microcarpa* Desv. (Fabaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 4, p. 373-379, 2003.

LOSADA-BARREIRO, S.; BRAVO-DÍAZ, C. Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 133, 379-402, 2017.

MACÊDO, C. G.; SOUSA, B. C. M.; FRAGA, S. S.; LOURIDO, K. A.; SILVA, E. O.; CASTRO, K. C. F.. Fitoquímica e atividade antifúngica do extrato de folhas de *Piper marginatum* no controle de fitopatógenos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.6, p.70-77, 2018.

MAYEUX, R.; STERN, Y. Epidemiology of Alzheimer Disease. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**. 1 -18, 2015.

MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental. 3. ed. – **Fortaleza Edições UFC**, 2009.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; dos SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother. Res.**, v.15, p.127-130, (2001).

NURCHOLIS, W.; PUTRI, D.N.S.; HUSNAWATI, H.; AISYAH, S.I.; PRIOESOERYANTO, B.P. Total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts from accessions of *Amomum compactum* fruits. **Annals of Agricultural Sciences**. 66, 58-62, 2021.

ORJALA, J.; ERDELMEIER, C. A. J.; WRIGHT, A. D.; BAUMGARTNER, B.; RALI, T.; STICHER, O. Biologically Active Phenylpropene and Benzoic Acid Derivatives from *Piper aduncum* Leaves. **Planta Medica**. 55, 619 – 620, 1989.

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

PASCOLI, I. C.; ANJOS, M. M.; SILVA, A.; LORENZETTI, F. B.; CORTEZ, D. A. G.; MIKCHA, J. M. G.; NAKAMURA, T. U.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. A. A. Piperaceae extracts for controlling *Alicyclobacillus acidoterrestris* growth in commercial orange juice. **Industrial Crops & Products**. 116, 224-230, 2018.

PAULA, R. C.; SILVA, S. M.; FARIA, K. F.; FRÉZARD, F.; MOREIRA, C. P. S.; FOUBERT, K.; LOPES, J. C. D.; CAMPANA, P. R. V.; ROCHA, M. P. SILVA, A. F.; SILVA, C. G.; PIETERS, L. ALMEIDA, V.L. *In vitro* antileishmanial activity of leaf and

stem extracts of seven Brazilian plant species. **Journal of Ethnopharmacology**. 232, 155 - 164, 2018.

PINHEIRO, M. A.; BRITO, D. B. A.; ALMEIDA, L. F. D.; CAVALCANTI, Y. W.; PADILHA, W. W. N. Efeito antimicrobiano de tinturas de produtos naturais sobre bactérias de cárie dentária. **Revista Brasileira de Promoção Saúde**. 197 – 201, 2012.

PROPAC, P.; JOMOVA, K.; SIMUNKOVA, M.; KOLLAR, V.; RHODES, C. J.; VALKO, M. Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases. **Trends in Pharmacological Sciences**. 38, 592 - 607 2017.

RAJENDRAN, P.; NANDAKUMAR, N.; RENGARAJAN, T.; PALANISWAMI, R.; GNANADHAS, E. N.; LAKSHMINARASIAH, U.; GOPAS, J.; NISHIGAKI, I. Antioxidants and Human diseases. **Clinica Chimica Acta**.436, 332-347, 2014.

RAMOS, L. S.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; MAIA, J. G. S. Essential Oil Of *Piper marginatum*. **Journal of Natural Products**. 49, 712-741, 1986.

RAMESH, V.; HARI, R.; PADIAN, S.; ARUMUGAM, G. Antioxidant Activity of Combined Ethanolic Extract of *Eclipta alba* and *Piper longum* Linn. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**. 8, 33, 2011.

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: Asymetry**. 18, 1054-1058, 2007.

SANTOS, B. V. O.; DA-CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Phenylalkanooids from *Piper marginatum*. **Phytochemistry**. 49, 1381-1384, 1998.

SAMAIN, M.S.; VRIJDAGHS, A.; HESSE, M.; GOETGHEBEUR, M.H.; RODRIGUES, F.J.R; STOLL, A.; NEINHUIS, C.; WANKE, S. *Verhuellia* is a segregate lineage in

Piperaceae: more evidence from flower fruit and pollen morphology, anatomy and development. **Annals of Botany**. 105, 88-677, 2010.

SILVA, I. A.; CAMPELO, L. H. B. P.; PADILHA, M. R. F.; SHINOHARA, N. K. S. Mecanismos de resistência das plantas alimentícias não convencionais (PANC) e benefícios para a saúde humana. **Anais da academia Pernambucana de Ciências Agrônômica**. 15, 77-91, 2018.

SILVA. J. A.; OLIVEIRA, F. F.; GUEDES, E. S.; BITTENCOURT, M. A. L.; OLIVEIRA, R. A. Atividade antioxidante de *Piper arboreum*, *Piper dilatatum* e *Piper divaricatum*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 16 , 700-706, 2014.

SINGH, S.K.; SRIVASTAV, S.; CASTELLANI, R.J.; PLASCENCIA-VILLA. G.; PERRY, G. Neuroprotective and Antioxidant Effect of Ginkgo biloba Extract Against AD and Other Neurological Disorders. **Neurotherapeutics**. 16, 666–674. 2019.

SOSA, S.; BALICK, M. J.; ARGIVO, R.; ESPOSITO, R. G.; PIZZA, C.; ALTINIER, G.; TUBARO, A. Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. **Journal of Ethnopharmacology**. 81, 211 - 215, 2002.

TAN, S. H.; KARRI, V.; TAY, N. W. R.; CHANG, K. H.; AH, H. Y.; NG, P. Q.; HO, H. S.; KEH, H. W.; CANDASAMY, M. Emerging pathways to neurodegeneration: dissecting the critical molecular mechanisms in Alzheimer's disease, Parkinson's disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 111, 765-777, 2019.

TORRES-SANTOS, E. C.; MOREIRA, D. L.; KAPLAN, M. A. C.; MEIRELLES, M. N.; ROSSI-BERGMANN, B. Selective Effect of 29,69-Dihydroxy-49-Methoxychalcone Isolated from *Piper aduncum* on *Leishmania amazonensis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. 43, 1234–1241,1999.

VENTUROSU, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, C. A.; BERGAMIN, A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**. 37, 18-23, 2011.

VIANA, G. A.; SAMPAIO, C. G.; MARTINS, V. E. P. Produtos de origem vegetal como ferramentas alternativas para o controle larvário de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. **Journal of Health and Biological Sciences**. 6, 49-462, 2018.

XIONG, Y.; TEIXEIRA, T.V.D.; ZHANG, P.; WARNER, R.D.; SHEN, S.; FANG, Z. Cellular antioxidant activities of phenolic extracts from five sorghum grain genotypes. **Food Bioscience**. 41, 2021.

ZARAI, Z.; BOUJELBENE, E.; SALEM, N. B.; GARGOURI, Y.; SAYARI, A. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. **LWT - Food Science and Technology**. 50, 634 – 641, 2013.

ZHOU, S.; ZOU, H.; HUANG, G.; CHEN, G. Preparations and antioxidant activities of sesamol and its derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 31, 2021.