

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA - UFU  
INSTITUTO DE QUÍMICA

JOÃO PEDRO DOELO PEREIRA LEITE

**Influência das variáveis climáticas sobre a composição química e a  
atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* e  
*Piper fuliginum***

UBERLÂNDIA – MG

2026

JOÃO PEDRO DOELO PEREIRA LEITE

**Influência das variáveis climáticas sobre a composição química e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* e *Piper fuliginum***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientação: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Raquel Maria Ferreira de Sousa

Uberlândia – MG

2026

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

L533  
2026 Leite, João Pedro Doelo Pereira, 2001-  
Influência das variáveis climáticas sobre a composição química  
e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas de  
Piper macedoi e Piper fuligineum [recurso eletrônico] / João Pedro  
Doelo Pereira Leite. - 2026.

Orientadora: Raquel Maria Ferreira de Sousa.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Química.  
Modo de acesso: Internet.  
DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2026.555>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Sousa, Raquel Maria Ferreira de, 1981-, (Orient.).  
II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química.  
III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química  
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



### ATA

|                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                 |         |                       |       |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------|-----------------------|-------|
| Programa de Pós-Graduação em:      | Química                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                 |         |                       |       |
| Defesa de:                         | Dissertação de Mestrado Acadêmico, 424, PPGQUI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                 |         |                       |       |
| Data:                              | Dezessete de julho de dois mil e vinte e seis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Hora de início: | 8h30min | Hora de encerramento: | 11:28 |
| Matrícula do Discente:             | 12422QMI003                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                 |         |                       |       |
| Nome do Discente:                  | João Pedro Doelo Pereira Leite                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                 |         |                       |       |
| Título do Trabalho:                | "Influência das variáveis climáticas sobre a composição química e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas de <i>Piper macedoi</i> e <i>Piper fuliginum</i> "                                                                                                                                                                                           |                 |         |                       |       |
| Área de concentração:              | Química                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                 |         |                       |       |
| Linha de pesquisa:                 | Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                 |         |                       |       |
| Projeto de Pesquisa de vinculação: | "Desenvolvimento de métodos de análises de metabólitos secundários de plantas medicinais ( <a href="http://www.ppgqui.iq.ufu.br/projetos-de-pesquisa/desenvolvimento-de-metodos-de-analises-de-metabolitos-secundarios-de-produtos">http://www.ppgqui.iq.ufu.br/projetos-de-pesquisa/desenvolvimento-de-metodos-de-analises-de-metabolitos-secundarios-de-produtos</a> )" |                 |         |                       |       |
| <a href="#">ODS 12 e 15</a>        | ODS 12 - Consumo e produção responsáveis: assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis. ODS 15 - Vida terrestre: proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da Terra e deter a perda da biodiversidade.                   |                 |         |                       |       |

Reuniu-se, por webconferência, *link*: <https://meet.google.com/nnt-xiic-vms>, e, no auditório da Pós-graduação em Química, bloco 5I, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta pelas professoras doutoras: **Amanda Danuello Pivatto**, da Universidade Federal de Uberlândia; **Roqueline Rodrigues Silva**, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri/UFVJM; e **Raquel Maria Ferreira de Sousa**, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, **Dr<sup>a</sup>. Raquel Maria Ferreira de Sousa**, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu



dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O discente compromete-se a acatar as sugestões de correção da banca examinadora e depositar a versão final da dissertação no repositório da UFU em até 30 (trinta) dias.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Maria Ferreira de Sousa, Professor(a) do Magistério Superior**, em 20/07/2026, às 11:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Amanda Danuello Pivatto, Professor(a) do Magistério Superior**, em 20/07/2026, às 12:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Roqueline Rodrigues Silva, Usuário Externo**, em 20/07/2026, às 16:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **7493086** e o código CRC **F2084AA8**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora, por possibilitar a conclusão deste trabalho.

Aos meus pais, Donizzetti Tavares Leite e Eloisa Pereira Leite, que me permitiram e incentivaram a correr atrás dos meus sonhos, sem o apoio deles nenhum sonho seria possível.

Aos meus tios e tias por todo esforço, apoio e dedicação para a realização dos meus sonhos e aos meus primos, Isaac Pereira Simas e Enzo Pereira Simas, que são como irmãos para mim, por todo companheirismo. Amo muito vocês.

À minha companheira de vida Jéssica Hoshi, por todo o carinho e compreensão nos momentos mais difíceis da realização desse trabalho. Sem ela, esse trabalho não seria possível. Não posso esquecer da Cacau, nossa cachorrinha, que sempre foi um ponto de paz.

Em especial minha vó, Dolorinda Lopes Pereira, que infelizmente não pode ver a conclusão desse trabalho, pela paciência, palavras de conforto, conhecimento e por ser a primeira a ver o valor dos estudos na vida de toda a família, para sempre amarei a senhora. Também agradeço aos meus outros avós, Pedro Fernandes da Silva, Emília Fernandes Leite e Waldemar Pereira Borges que permitiram aos meus pais, tios e tias iniciar essa trilha de estudos na família.

Aos professores pelos ensinamentos adquiridos em especial a minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Raquel Sousa pela orientação, dedicação, compreensão e enorme paciência durante todo o desenvolvimento desse trabalho. Só tenho a agradecer. Obrigado por tudo!

Agradeço também a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Amanda Danuello Pivatto e ao Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Allisson Benatti Justino, por terem participados da minha banca de qualificação. Obrigado por todos os conselhos e guias para a conclusão deste trabalho.

Ao Prof.<sup>o</sup> Dr.<sup>o</sup> Carlos Henrique G. Martins coordenador do Laboratório de Ensaio Antimicrobianos (LEA) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) pela realização das atividades antimicrobianas. Ao Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo (USP) pela realização das análises de espectrometria de massas. E ao Dr.<sup>o</sup> Wilson Pires Flauzino Neto pelo auxílio com as análises de CG-FID.

A todos os meus amigos, aqueles que se mantêm até hoje e aqueles que infelizmente a vida afastou. Agradeço pelos bons momentos que vivemos juntos ao longo de toda a graduação e pós. Em especial a minha irmã de vida, Marina Xavier Mendes, minha pequena afilhada Isabel Xavier Aguiar (“Bebel”) por todo o carinho e amor.

A todos os pesquisadores e amigos do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais (NuPPeN), em especial o doutorando Diego Godina e ao doutorando Augusto Hubaide Nozella, por toda paciência e conhecimento que contribuíram para a construção desse trabalho.

Ao CNPQ, a FAPEMIG e CAPES pelo auxílio à pesquisa. À rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM) da UFU pelos equipamentos utilizados e aprendizado.

E por fim agradeço também à UFU, ao Instituto de Química e ao Programa de Pós-Graduação em Química por terem me dado à chance e todas as ferramentas que permitiram chegar hoje ao final desse ciclo de maneira satisfatória.

## RESUMO

O gênero *Piper* destaca-se pela ampla diversidade de metabólitos secundários e pelo potencial biológico de seus óleos essenciais, cuja composição química pode ser influenciada por fatores ambientais, tornando os estudos sazonais importantes para a compreensão da dinâmica do metabolismo secundário vegetal. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da sazonalidade sobre a composição química dos óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* e *Piper fuliginum*, bem como investigar sua atividade antimicrobiana frente a leveduras do gênero *Candida* e à bactéria *Helicobacter pylori*. As folhas foram coletadas em seis períodos distintos, entre setembro de 2024 e julho de 2025, abrangendo diferentes condições climáticas. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação e caracterizados por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), cromatografia a gás com detector por ionização em chama (CG-FID) e ressonância magnética nuclear (RMN). Foram anotados 36 constituintes em *P. macedoi* e 40 em *P. fuliginum*, com predominância de sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados. O Germacreno D foi o principal constituinte de ambas as espécies, enquanto o cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila destacou-se como um dos metabólitos majoritários de *P. macedoi*, tendo sua estrutura confirmada por RMN. Os resultados demonstraram que *P. macedoi* apresentou perfil químico relativamente estável ao longo das coletas, enquanto *P. fuliginum* exibiu maior plasticidade química e maior influência das variáveis climáticas sobre sua composição. As análises de correlação indicaram associações entre precipitação, pressão atmosférica e temperatura com a abundância relativa de determinados constituintes e classes químicas. Quanto à atividade biológica, os óleos essenciais não apresentaram atividade frente a *H. pylori* nas concentrações avaliadas. Em contrapartida, foi observada atividade antifúngica seletiva contra *Candida glabrata*, especialmente para determinadas coletas de *P. fuliginum*, cujos valores de concentração inibitória mínima atingiram 23,48  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . De forma geral, os resultados ampliam o conhecimento químico e biológico sobre ambas as espécies e evidenciam a influência da sazonalidade na modulação do metabolismo secundário e das propriedades biológicas de seus óleos essenciais.

**Palavras-Chave:** óleos essenciais; sazonalidade; composição química; atividade antifúngica; atividade anti-*H. pylori*.

## ABSTRACT

The genus *Piper* is distinguished by its wide diversity of secondary metabolites and the biological potential of its essential oils, whose chemical composition can be influenced by environmental factors, making seasonal studies important for understanding the dynamics of plant secondary metabolism. In this context, the present study aimed to evaluate the influence of seasonality on the chemical composition of the essential oils from the leaves of *Piper macedoi* and *Piper fuliginum*, as well as to investigate their antimicrobial activity against yeasts of the genus *Candida* and the bacterium *Helicobacter pylori*. Leaves were collected during six distinct periods between September 2024 and July 2025, encompassing different climatic conditions. Essential oils were obtained by hydrodistillation and characterized by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID), and nuclear magnetic resonance (NMR). A total of 36 constituents were annotated in *P. macedoi* and 40 in *P. fuliginum*, with a predominance of hydrocarbon and oxygenated sesquiterpenes. Germacrene D was the major constituent in both species, while the chromene 2,2-dimethyl-2H-chromene-6-carboxylate methyl ester stood out as one of the major metabolites in *P. macedoi*, with its structure being confirmed by NMR. The results demonstrated that *P. macedoi* exhibited a relatively stable chemical profile throughout the collection periods, whereas *P. fuliginum* showed greater chemical plasticity and stronger influence of climatic variables on its composition. Correlation analyses indicated associations between precipitation, atmospheric pressure, and temperature with the relative abundance of specific constituents and chemical classes. Regarding biological activity, the essential oils did not show activity against *H. pylori* at the concentrations evaluated. In contrast, selective antifungal activity was observed against *Candida glabrata*, particularly for certain collections of *P. fuliginum*, whose minimum inhibitory concentration values reached 23.48  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Overall, the results expand the chemical and biological knowledge of both species and highlight the influence of seasonality on the modulation of secondary metabolism and the biological properties of their essential oils.

**Keywords:** essential oils; seasonality; chemical composition; antifungal activity; anti-*H. pylori* activity.

## LISTA DE FIGURAS

|            |                                                                                                                                                                  |    |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 01: | Esquema resumido das rotas biossintéticas dos terpenos e fenilpropanoides.                                                                                       | 16 |
| Figura 02: | Exemplos de constituintes de OEs com aplicações farmacêuticas.                                                                                                   | 17 |
| Figura 03: | Analogia ilustrativa da regulação do metabolismo secundário                                                                                                      | 18 |
| Figura 04: | Fotos retiradas em campo das espécies <i>Piper fuliginum</i> (esquerda) e <i>Piper macedoi</i> (direita).                                                        | 20 |
| Figura 05: | Principais compostos químicos do óleo essencial de <i>P. macedoi</i> .                                                                                           | 24 |
| Figura 06: | Perfis químicos dos óleos essenciais de cada artigo ( <i>Piper macedoi</i> ).                                                                                    | 25 |
| Figura 07: | Compostos majoritários presentes no óleo essencial de folhas secas de <i>P. fuliginum</i> , relatados no ArtF02.                                                 | 27 |
| Figura 08: | Fórmula estrutural da asaricina, apiol e dillapiol.                                                                                                              | 28 |
| Figura 09: | Compostos majoritários e composição química do óleo essencial da inflorescência de <i>P. fuliginum</i> relatados no ArtF05.                                      | 29 |
| Figura 10: | Constituintes principais do óleo essencial de <i>P. fuliginum</i> extraído de ramos (quadro verde), folhas (quadro azul) e frutos (quadro vermelho).             | 30 |
| Figura 11: | Propostas de rotas biossintéticas do 2,2-dimetilcromeno e 2,2-dimetilcromano. (A) via do ácido chiquímico e (B) via do acetyl-CoA.                               | 32 |
| Figura 12: | Classes de compostos presentes no óleo essencial das folhas de <i>P. fuliginum</i> (ArtF06).                                                                     | 33 |
| Figura 13: | Benzoato relatado no ArtF03 pela primeira vez em espécies vegetais.                                                                                              | 34 |
| Figura 14: | Esquema resumido da proposta de biossíntese dos benzoatos e kavalactonas encontradas na <i>Piper fuliginum</i> , segundo o ArtF03.                               | 35 |
| Figura 15: | Distância entre os pontos de coleta das espécies.                                                                                                                | 37 |
| Figura 16: | Foto do aparelho Clevenger utilizado na hidrodestilação.                                                                                                         | 38 |
| Figura 17: | Comparação dos rendimentos dos óleos essenciais e das variáveis ambientais entre <i>Piper fuliginum</i> (FLG) e <i>Piper macedoi</i> (MAC) ao longo das coletas. | 47 |
| Figura 18: | Variação mensal da precipitação acumulada (A), pressão atmosférica (B) e temperatura média (C) durante o período de setembro de 2024 a setembro de 2025.         | 48 |
| Figura 19: | Fórmula estrutural do benzoato anotado de forma errônea por CG-EM.                                                                                               | 53 |
| Figura 20: | Relação linear entre os tempos de retenção dos padrões de alcanos obtidos por CG-FID e CG-EM.                                                                    | 54 |
| Figura 21: | Cromatogramas obtidos por CG-EM dos óleos essenciais das folhas de <i>Piper macedoi</i> coletadas durante o período experimental.                                | 59 |
| Figura 22: | Distribuição sazonal das classes químicas presentes no óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> ao longo das seis coletas.                                         | 69 |
| Figura 23: | Distribuição sazonal dos principais constituintes químicos do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> ao longo das seis coletas.                                  | 71 |
| Figura 24: | Espectro de massas utilizado para a identificação do germacreno D no óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> .                                                    | 72 |
| Figura 25: | Proposta de fragmentação do germacreno D baseada nos principais íons observados no espectro de massas por impacto de elétron.                                    | 73 |
| Figura 26: | Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> .                                                      | 75 |
| Figura 27: | Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> .                                                     | 76 |

|            |                                                                                                                                                                      |     |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 28: | Espectro de massas utilizado na elucidação estrutural do composto 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila isolado do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> . | 77  |
| Figura 29: | Proposta de fragmentação do 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila.                                                                                          | 77  |
| Figura 30: | Mapa de correlações HSQC do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> .                                                                                                 | 79  |
| Figura 31: | Ampliação do mapa de correlações HSQC do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> .                                                                                    | 80  |
| Figura 32: | Cromatogramas obtidos por CG-EM dos óleos essenciais das folhas de <i>Piper fuliginum</i> coletadas durante o período experimental.                                  | 85  |
| Figura 33: | Distribuição sazonal das classes químicas presentes no óleo essencial de <i>Piper fuliginum</i> ao longo das seis coletas.                                           | 95  |
| Figura 34: | Rota biossintética para o Cariofileno e para o Cariofileno Oxide.                                                                                                    | 102 |
| Figura 35: | Comparação do perfil químico dos óleos essenciais de <i>P. macedoi</i> e <i>P. fuliginum</i> com base nos constituintes anotados por CG-EM.                          | 107 |

## LISTA DE TABELAS

|            |                                                                                                                                                                                                             |     |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 01: | Artigos coletados na base de dados Scopus até Maio de 2026 sobre a espécie <i>Piper macedoi</i> .                                                                                                           | 22  |
| Tabela 02: | Artigos coletados na base de dados Scopus até Maio de 2026 sobre a espécie <i>Piper fuligineum</i> .                                                                                                        | 26  |
| Tabela 03: | Dados referentes a cada coleta e cada triplicata de óleo preparado ao longo de um ano.                                                                                                                      | 45  |
| Tabela 04: | Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis climáticas e o rendimento do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> e <i>Piper fuligineum</i> .                                                | 51  |
| Tabela 05: | Valores de tempo de retenção do eicosano utilizados para ajuste dos sistemas cromatográficos CG-EM e CG-FID.                                                                                                | 55  |
| Tabela 06: | Número de compostos detectados e anotados referentes a cada análise, por meio de CG-EM.                                                                                                                     | 57  |
| Tabela 07: | Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de <i>P. macedoi</i> .                                                       | 61  |
| Tabela 08: | Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C do cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila obtido do óleo essencial de <i>Piper macedoi</i> e comparação com a literatura. | 78  |
| Tabela 09: | Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis climáticas e os principais constituintes e classes químicas do óleo essencial das folhas de <i>Piper macedoi</i> .                                | 83  |
| Tabela 10: | Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de <i>P. fuligineum</i> .                                                    | 87  |
| Tabela 11: | Distribuição sazonal dos principais constituintes químicos do óleo essencial de <i>Piper fuligineum</i> ao longo das seis coletas.                                                                          | 97  |
| Tabela 12: | Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis climáticas e os principais constituintes químicos do óleo essencial de <i>Piper fuligineum</i> .                                                  | 104 |
| Tabela 13: | Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis climáticas e as classes químicas do óleo essencial de <i>Piper fuligineum</i> .                                                                   | 104 |
| Tabela 14: | Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais das folhas de <i>Piper macedoi</i> e <i>Piper fuligineum</i> frente a <i>Helicobacter pylori</i> (ATCC 43526).                                    | 109 |
| Tabela 15: | Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos óleos essenciais das folhas de <i>P. macedoi</i> e <i>P. fuligineum</i> frente a espécies de <i>Candida</i> .                | 111 |



## LISTA DE ABREVIACÕES

|                |                                                        |
|----------------|--------------------------------------------------------|
| ATCC           | <i>American Type Culture Collection</i>                |
| CFM            | Concentração Fungicida Mínima                          |
| CG-EM          | Cromatografia a Gás acoplada a Espectrômetro de Massas |
| CG-FID         | Cromatografia a Gás com Detector de Ionização de Chama |
| CIM            | Concentração Inibitória Mínima                         |
| DMAPP          | Pirofosfato de Dimetilalila                            |
| FLG            | <i>Piper fuliginum</i>                                 |
| FPP            | Farnesil Difosfato                                     |
| IA             | Índice Aritmético                                      |
| ICBIM          | Instituto de Ciências Biomédicas                       |
| INMET          | Instituto Nacional de Meteorologia                     |
| ISO            | <i>International Organization for Standardization</i>  |
| LEA            | Laboratório de Ensaios Antimicrobianos                 |
| MAC            | <i>Piper macedoi</i>                                   |
| MS             | Modo <i>Scan</i>                                       |
| NuPPeN         | Núcleo De Pesquisa em Produtos Naturais                |
| OEs            | Óleos Essenciais                                       |
| RELAM          | Rede de Laboratório Multiusuários                      |
| RMN            | Ressonância Magnética Nuclear                          |
| SI             | <i>Similarity Index</i>                                |
| T <sub>R</sub> | Tempo de Retenção                                      |
| UFU            | Universidade Federal de Uberlândia                     |
| USP            | Universidade de São Paulo                              |

## SUMÁRIO

|        |                                                                         |     |
|--------|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.     | <b>INTRODUÇÃO</b>                                                       | 13  |
| 2.     | <b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>                                              | 14  |
| 2.1.   | <b>Óleos Essenciais e Metabólitos Secundários</b>                       | 14  |
| 2.2.   | <b>A Influência da Sazonalidade na Composição de Óleos Essenciais</b>   | 17  |
| 2.3.   | <b>Família Piperaceae e Gênero <i>Piper</i></b>                         | 19  |
| 3.     | <b>OBJETIVOS</b>                                                        | 21  |
| 4.     | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>                                            | 21  |
| 4.1.   | <i>Piper macedoi</i>                                                    | 22  |
| 4.2.   | <i>Piper fuliginenum</i>                                                | 26  |
| 5.     | <b>PARTE EXPERIMENTAL</b>                                               | 36  |
| 5.1.   | <b>Instrumentos</b>                                                     | 36  |
| 5.2.   | <b>Materiais e Reagentes</b>                                            | 36  |
| 5.3.   | <b>Material Vegetal</b>                                                 | 37  |
| 5.3.1. | Coleta e Identificação                                                  | 37  |
| 5.3.2. | Extração dos Óleos Essenciais                                           | 38  |
| 5.4.   | <b>Análise da Composição dos Óleos Essenciais</b>                       | 39  |
| 5.4.1. | Cromatografia a Gás acoplada à Espectrômetro de Massas (CG-EM)          | 39  |
| 5.4.2. | Cromatografia a Gás com Detector de Ionização de Chama (CG-FID)         | 40  |
| 5.4.3. | Ressonância Magnética Nuclear (RMN)                                     | 41  |
| 5.5.   | <b>Análise Estatística dos Óleos Essenciais (Correlação de Pearson)</b> | 41  |
| 5.6.   | <b>Análises Biológicas dos Óleos</b>                                    | 42  |
| 5.6.1. | Atividade Antibacteriana ( <i>Helicobacter pylori</i> )                 | 42  |
| 5.6.2. | Atividade Antifúngica (Gênero <i>Candida</i> )                          | 43  |
| 6.     | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                           | 44  |
| 6.1.   | <b>Coleta, Rendimento e Umidade</b>                                     | 44  |
| 6.2.   | <b>Caracterização Química dos Óleos Essenciais</b>                      | 52  |
| 6.2.1. | Correlação CG-FID e CG-EM                                               | 53  |
| 6.2.2. | Anotação dos Compostos                                                  | 55  |
| 6.3.   | <b>Análises Biológicas dos Óleos Essenciais</b>                         | 109 |
| 7.     | <b>CONCLUSÕES</b>                                                       | 113 |
|        | <b>REFERÊNCIAS</b>                                                      | 115 |
|        | <b>APÊNDICE</b>                                                         | 121 |

## 1. INTRODUÇÃO

Produtos naturais representam uma “família” de vários compostos químicos, que são sintetizados de forma natural, podendo ser produzidos por bactérias, fungos, plantas e animais. A importância dos produtos naturais dentro da sociedade moderna é indiscutível, tendo seus usos relatados desde os primórdios da humanidade, sendo considerada a área mais antiga da química orgânica. Um dos exemplos documentados mais antigos, do qual a humanidade teve acesso, foi o *Ebers Papyrus*, datado de 1550 a.C. em que é relatado o uso medicinal de plantas, incluindo tratamentos dermatológicos, problemas estomacais, queimadura, dentre outros. Além do uso medicinal, é descrito também o uso em rituais religiosos e na mumificação de cadáveres (Ghalioungi, 1987).

Os produtos naturais apresentam diversos usos como: corantes, odorizantes, cosméticos, repelentes, fins ritualísticos, usos diversos na agricultura e uso medicinal. Este último, cuja aplicação tem ganhado maior destaque nas últimas décadas, sendo a relevância desses compostos inegável. Na revisão de Newman e Cragg (2020), fica claro que uma grande porcentagem (cerca de 70%, desconsiderando macromoléculas e vacinas) de fármacos aprovados pelos órgãos regulamentadores, tem alguma origem em produtos naturais.

O estudo dos produtos naturais, especificamente dos óleos essenciais e seus constituintes terpênicos, tem sido um pilar fundamental no desenvolvimento da química orgânica e da farmacologia moderna. Desde a sistematização pioneira dos terpenos por Otto Wallach (Nobel de Química, 1910) e a formulação da regra do isopreno por Leopold Ružička (Nobel de Química, 1939), a compreensão estrutural dessas moléculas permitiu avanços significativos. Mais recentemente, a premiação de Tu Youyou (Nobel de Medicina, 2015) pela descoberta da artemisina, uma lactona sesquiterpênica, reforçou a relevância contínua da investigação fitoquímica de espécies vegetais como fonte de novos compostos bioativos.

A composição química dos óleos essenciais é resultado da interação entre fatores genéticos e ambientais. Nesse contexto, a sazonalidade constitui um dos principais fatores capazes de influenciar qualitativa e quantitativamente a produção de metabólitos secundários em plantas aromáticas. Variáveis como precipitação, temperatura, luminosidade, umidade relativa do ar e disponibilidade hídrica podem alterar o fluxo metabólico das rotas biossintéticas responsáveis pela formação dos compostos voláteis, promovendo variações na composição química e, conseqüentemente, nas propriedades biológicas associadas aos óleos essenciais (Gobbo-Neto; Lopes, 2007). Dessa forma, estudos sazonais são fundamentais para

compreender a dinâmica do metabolismo secundário vegetal e identificar os períodos mais favoráveis para a obtenção de metabólitos de interesse.

Entre as famílias botânicas reconhecidas pela produção de metabólitos bioativos, destaca-se a Piperaceae, representada principalmente pelo gênero *Piper*, um dos maiores e mais diversificados grupos de angiospermas tropicais. Espécies desse gênero são amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais e possuem longa história de utilização na medicina tradicional de diferentes culturas. Estudos fitoquímicos têm demonstrado que espécies de *Piper* apresentam grande diversidade de metabólitos secundários, incluindo amidas, lignanas, flavonoides, cromenos, fenilpropanoides e óleos essenciais ricos em terpenoides. Essa diversidade química está frequentemente associada a atividades biológicas relevantes, como ação antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, inseticida e gastroprotetora (Parmar *et al.*, 1997; Salehi *et al.*, 2019).

Apesar do crescente número de estudos envolvendo espécies do gênero *Piper*, ainda existem lacunas significativas relacionadas à influência da sazonalidade sobre a composição química dos óleos essenciais de diversas espécies nativas brasileiras, bem como sobre os possíveis reflexos dessas alterações em suas atividades biológicas. Nesse contexto, *Piper macedoi* e *Piper fuliginum* representam espécies ainda pouco exploradas sob o ponto de vista químico e biológico, especialmente em estudos que avaliem simultaneamente as variações sazonais da composição química e seu potencial antimicrobiano. A investigação dessas espécies torna-se particularmente relevante diante da necessidade de ampliar o conhecimento sobre a biodiversidade química da flora brasileira e identificar metabólitos com potencial aplicação biotecnológica e farmacêutica.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Óleos Essenciais e Metabólitos Secundários

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas e odoríferas produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vegetais (Simões *et al.*, 2017). Do ponto de vista técnico e normativo, a definição internacional mais aceita é estabelecida pela *International Organization for Standardization* (ISO), por meio da norma ISO 9235, que caracteriza o óleo essencial como o produto obtido de uma matéria-prima vegetal de

origem botânica definida, mediante destilação por arraste a vapor, hidrodestilação ou por processamento mecânico apropriado (ISO, 2013).

Quimicamente os óleos essenciais são constituídos por metabólitos secundários, principalmente por terpenos, terpenóides e derivados fenólicos de baixa massa molecular, que determinam as propriedades físico-químicas e biológicas dos óleos. A composição química dos óleos pode sofrer variações em função de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, incluindo sazonalidade, temperatura, luminosidade, disponibilidade hídrica, altitude e características climáticas (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Nas plantas, os óleos essenciais desempenham funções ecológicas importantes, funcionando como um mecanismo de defesa química contra microrganismos, insetos e herbívoros, além de participarem da atração de polinizadores e da adaptação a diferentes condições (Taiz *et al.*, 2017).

Os óleos essenciais são amplamente empregados na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e agrícola. Diversos estudos descrevem atividades biológicas relevantes, incluindo propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, anti-inflamatórias e gastroprotetoras associadas aos constituintes majoritários e minoritários presentes em óleos essenciais (Bakkali *et al.*, 2008). Dessa forma, os óleos essenciais têm despertado crescente interesse científico como fontes promissoras de compostos bioativos para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

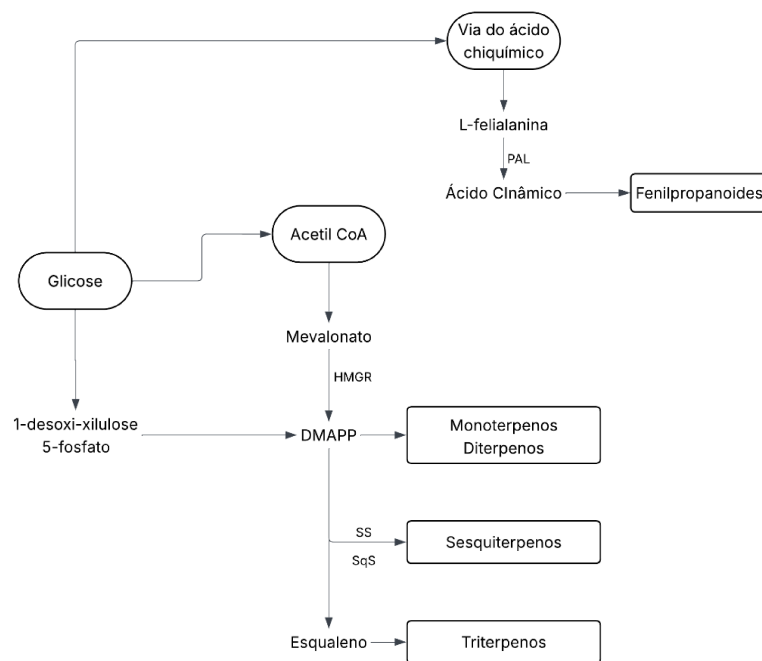
Os metabólitos secundários não estão envolvidos diretamente nos processos primários essenciais, como crescimento e reprodução de plantas, microrganismos e fungos, mas sim desempenham funções ecológicas fundamentais para a sobrevivência e adaptação dos organismos em seus ambientes naturais. Diferentemente dos metabólitos primários, como carboidratos, lipídeos e proteínas, os metabólitos secundários apresentam distribuição restrita entre espécies e são, frequentemente, específicos de determinados táxons, refletindo adaptações evolutivas a pressões ambientais e interações ecológicas (Dewick, 2009).

Do ponto de vista da biossíntese, esses compostos provêm de um número limitado de vias metabólicas principais, destacando-se as rotas do ácido chiquímico, responsável pela formação de compostos fenólicos e alcaloides aromáticos; do acetato-mevalonato, relacionada à biossíntese de policetídeos e flavonoides; e das vias do mevalonato e do metileritritol fosfato, responsável pela produção dos terpenos e terpenóides. A partir dessas rotas, é possível obter uma vasta gama de classes químicas, incluindo alcaloides, terpenos, flavonoides, ligninas,

fenilpropanoides, cumarinas, dentre outros, que apresentam grande variabilidade estrutural e funcional (Dewick, 2009).

Sobre os principais grupos de metabólitos secundários, destacam-se os terpenos, alcaloides e compostos fenólicos, os quais apresentam elevada relevância farmacológica e biotecnológica. As rotas biossintéticas dos terpenos e arilpropanoides podem ser vistas na Figura 01. Muitos fármacos possuem origem direta ou indireta em metabólitos secundários vegetais, evidenciando a importância dos produtos naturais na descoberta de novas moléculas bioativas (Newman & Cragg, 2020).

**Figura 01** – Esquema resumido das rotas biossintéticas dos terpenos e fenilpropanoides.

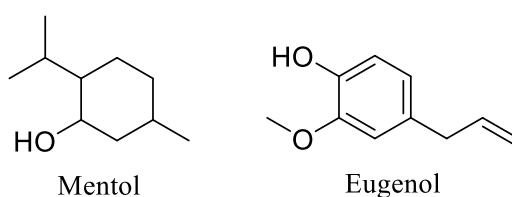


Adaptado de: Simões *et al.*, 2017

Entre os constituintes de óleos essenciais com aplicação farmacêutica consolidada, existem alguns exemplos, como o mentol (Figura 02), um monoterpeno empregado nas indústrias farmacêutica e cosmética, sendo utilizado em formulações tópicas, produtos para higiene oral, inalantes e preparações para alívio de sintomas respiratórios. Esse composto apresenta propriedades analgésicas, antipruginosas, descongestionantes e antimicrobianas (Patel; Ishiui; Yosipovitch, 2007). Outro exemplo é o eugenol (Figura 02), um fenilpropanoide

com amplo emprego farmacêutico e odontológico. Esse composto apresenta propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, anestésicas locais e antimicrobianas, sendo utilizado principalmente em materiais restauradores provisórios e formulações antissépticas para uso oral (Marchese *et al.*, 2017).

**Figura 02** – Exemplos de constituintes de OEs com aplicações farmacêuticas.



Fonte: o Autor

## 2.2. A Influência da Sazonalidade na Composição de Óleos Essenciais

O estudo de óleos essenciais traz um grande desafio que é a forte influência que a sazonalidade promove nos mesmos. Ela refere-se às variações periódicas nas condições ambientais ao longo do tempo, geralmente associadas a mudanças climáticas anuais, como temperatura, precipitação, luminosidade e umidade relativa. Essas variações exercem influência direta sobre o metabolismo dos organismos, especialmente em plantas, afetando tanto processos fisiológicos quanto a biossíntese de metabólitos secundários (Yang *et al.*, 2018). Como esses compostos provêm de poucas rotas biossintéticas e são uma resposta da espécie vegetal ao ambiente em que se encontra inserida, sua produção pode ser facilmente alterada e adaptada de acordo com as necessidades da espécie naquele momento (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

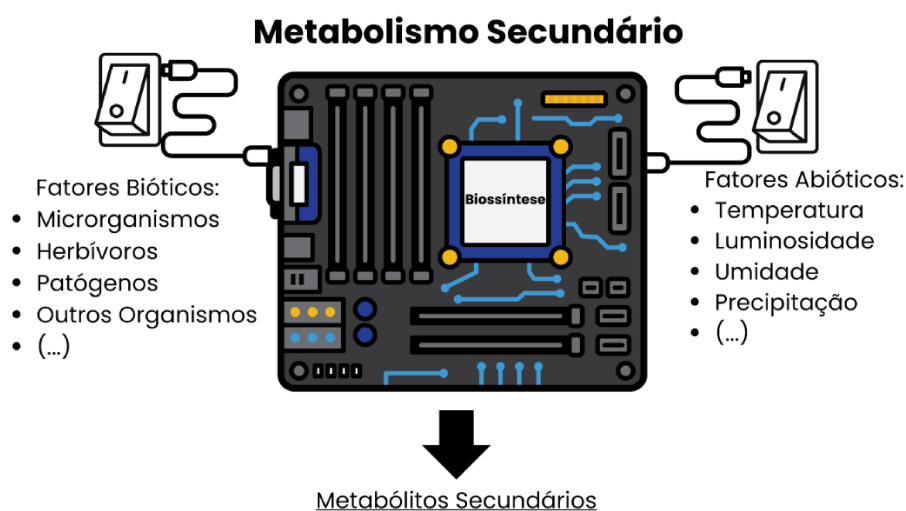
Diversos fatores abióticos têm sido descritos como determinantes na variação quantitativa e qualitativa dos metabólitos secundários. A temperatura, por exemplo, pode influenciar a atividade enzimática envolvida nas vias biossintéticas, enquanto a radiação solar, especialmente na faixa do ultravioleta, está associada ao aumento da produção de compostos fenólicos com função fotoprotetora. A disponibilidade hídrica também desempenha papel crucial, uma vez que o estresse hídrico pode induzir a síntese de metabólitos relacionados à defesa, como terpenóides e alcaloides. Além disso, fatores como a composição do solo e

disponibilidade de nutrientes pode impactar diretamente no metabolismo secundário de plantas (Taiz *et al.*, 2017).

Junto aos fatores abióticos, existem os fatores bióticos, como ataque de herbívoros, infecção por patógenos e interações com outros organismos, também contribuem para a modulação da produção de metabólitos secundários. Essas interações podem desencadear respostas metabólicas específicas, resultando no aumento da síntese de compostos com atividade defensiva ou sinalizadora (Wink, 2010).

Dessa forma, a produção de metabólitos secundários é resultado de uma complexa rede de interações entre fatores ambientais e biológicos, refletindo a plasticidade metabólica das plantas. Em uma analogia, o metabolismo secundário pode ser comparado a uma grande placa eletrônica e cada espécie possuir módulos específicos que podem ser ativados e desativados de acordo com o ambiente em que a planta se encontra (fatores bióticos e fatores abióticos), levando a respostas (produção de metabólitos secundários) diferentes (Figura 03).

**Figura 03** – Analogia ilustrativa da regulação do metabolismo secundário.



Fonte: o Autor

No caso específico de óleos essenciais, a sazonalidade pode afetar não apenas o rendimento, mas também a composição química dos constituintes voláteis, promovendo alterações relativas de monoterpenos, sesquiterpenos e terpenóides. Essa variação pode impactar diretamente nas propriedades biológicas e o potencial de aplicação desses óleos, tornando essencial o estudo sazonal para a compreensão da dinâmica metabólica e para a



otimização do uso de recursos naturais com fins farmacológicos, industriais e biotecnológicos (Baser; Buchbauer, 2015).

### 2.3. Família Piperaceae e Gênero *Piper*

Piperaceae é uma família pertencente as angiospermas e à ordem Piperales, sendo encontradas predominantemente em regiões tropicais e subtropicais. São constituídas por aproximadamente 3700 espécies e distribuídas em cinco gêneros, entres os quais o gênero *Piper* se destaca como o mais representativo (mais de 2150 espécies) e economicamente importante (Jaramillo & Manos, 2001).

Historicamente, espécies da família Piperaceae possuem grande relevância etnobotânica e medicinal. Diversas espécies do gênero *Piper* são utilizadas tradicionalmente na medicina popular para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, inflamações, dores, infecções e doenças respiratórias (Parmar *et al.*, 1997). Além disso, algumas espécies apresentam relevância econômica, como a pimenta do reino preta (*Piper nigrum*), considerada uma das especiarias mais antigas e comercialmente relevantes do mundo, recebendo a mesma relevância, nas grandes navegações, que o petróleo recebe na sociedade atual (Freedman, 2008).

Diversos estudos relatam atividades antimicrobianas e antifúngicas de óleos essenciais de espécies do gênero *Piper*. Essas atividades são frequentemente relacionadas à presença de compostos terpênicos capazes de promover alterações na permeabilidade e integridade das membranas celulares de microrganismos. Espécies como *Piper aduncum*, *Piper marginatum* e *Piper hispidinervum* têm demonstrado atividade frente a diferentes espécies de fungos patogênicos e leveduras do gênero *Candida*, evidenciando o potencial farmacológico dos metabólitos voláteis produzidos por essas plantas. Outras atividades também relatadas ao gênero são: antimicrobiana, anticâncer e analgésica (Salehi *et al.*, 2019).

Do ponto de vista fitoquímico, espécies do gênero *Piper* são reconhecidas pela elevada capacidade de biossíntese de diversos metabólitos secundários, incluindo alcaloides, lignanas, flavonoides, cromenos, amidas e constituintes voláteis presentes nos óleos essenciais (Scott *et al.*, 2008). Os óleos essenciais obtidos de espécies desse gênero são frequentemente ricos em monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (Parmar *et al.*, 1997).

A relevância farmacológica do gênero *Piper* também está associada à grande diversidade estrutural de seus metabólitos secundários, tornando essas espécies importantes fontes de compostos bioativos para pesquisas em produtos naturais e desenvolvimento de novas moléculas de interesse terapêutico. Como a piperina, molécula associada ao ardor na língua causado pelas pimentas desse gênero, que apresenta propriedades anti-inflamatória, antioxidante e termogênicas (Singh; Shukla, 2024). Nesse contexto, estudos envolvendo a composição química de óleos essenciais e avaliação biológica de espécies do gênero *Piper* contribuem significativamente para o conhecimento químico, ecológico e farmacológico dessas plantas aromáticas.

Por vezes o estudo do gênero *Piper* apresenta um desafio como a alta semelhança morfológica e genética que algumas espécies apresentam, o que pode levar a ambiguidades taxonômicas. Nesse contexto, a caracterização química de seus metabólitos secundários torna-se uma ferramenta muito útil para a diferenciação entre espécies próximas e para compreensão de aspectos ecológicos e evolutivos. A semelhança morfológica entre a *Piper macedoi* e a *Piper fuligineum* (Figura 04), por exemplo, pode resultar em erros de identificação por observadores não especializados, visto que a *Piper fuligineum* se distingue principalmente por apresentar folhas ligeiramente menores e tricoma.

**Figura 04** – Fotos retiradas em campo das espécies *Piper fuligineum* (esquerda) e *Piper macedoi* (direita).



Fonte: o Autor

Esse problema se estende também à genética das duas, como demonstrado em um estudo prévio do grupo, onde o M.e. Augusto Hubaide Nozella, enviou amostra de ambas as espécies para identificação pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Micheline Carvalho Silva da Universidade de Brasília, especialista em Piperáceas. Foi realizado um trabalho de análise molecular do material genético, e foram utilizadas 52 sequências de material genético. Considerando todas as espécies brasileiras com morfologia próxima a *Piper fuligineum* e *Piper macedoi*, concluiu-se que as espécies apresentavam 97% de similaridade genética (Nozella, 2022).

### 3. OBJETIVOS

Avaliar o efeito da sazonalidade na distribuição de metabólitos secundários nos óleos essenciais das folhas de duas espécies do gênero *Piper*: *Piper fuligineum* e *Piper macedoi* utilizando: cromatografia a gás acoplada a espectrômetro de massas (GC-EM), cromatografia a gás com detector de ionização de chama (GC-FID) e verificar a influência em atividade antimicrobiana.

### 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica foi realizada por meio da base de dados bibliográficos “Scopus” do grupo Elsevier, usando como busca o nome das espécies: *Piper macedoi* e *Piper fuligineum*. As pesquisas foram realizadas até o dia primeiro de Maio de 2026 e todos os artigos que trazem algum estudo envolvendo uma das espécies foram considerados. Os artigos encontrados foram classificados de acordo com o tipo de extrato, órgão da planta utilizado e sua condição, local de coleta, atividade biológica avaliada. Para o foco desse trabalho, foram considerados somente informações quanto a composição química das espécies.

Um ponto muito importante é quanto ao número de artigos, como comentado anteriormente, o gênero *Piper* apresenta uma quantidade relativamente alta de estudos; na plataforma, foram encontrados em torno de 17 mil artigos ao pesquisar a palavra “*Piper*”. Algumas espécies se destacam quanto ao volume de publicações, como a *P. nigrum* com quase 3 mil artigos, a *P. aduncum*, com pouco mais de 400 artigos, a *P. tuberculatum* com pouco mais de 110 artigos, entre outras.

Por sua vez, as espécies focos desse estudo, apresentaram 06 artigos para a *P. macedoi* e 06 artigos para a *P. fuligineum*. Um volume pequeno ao comparar com outras espécies de mesmo gênero. Dessa forma, existe uma gama muito alta de possibilidades de estudos para ambas as espécies.

Nos próximos dois tópicos, cada espécie será trabalhada separadamente, mas os critérios utilizados e as análises estatísticas foram as mesmas para ambas.

#### 4.1. *Piper macedoi*

A revisão bibliográfica resultou na identificação de seis artigos sobre a *Piper macedoi*, sintetizados na Tabela 01:

**Tabela 01** – Artigos coletados na base de dados Scopus até Maio de 2026 sobre a espécie *Piper macedoi*.

| Código | Tipo de Extrato | Órgão e Característica | Atividade Biológica                     | Local de Coleta          | Referência                      |
|--------|-----------------|------------------------|-----------------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| ArtM01 | Óleo Essencial  | Folhas frescas         | -                                       | Patis - MG               | Oliveira <i>et al.</i> , 2016   |
| ArtM02 | Óleo Essencial  | Folhas frescas         | Antileishmania                          | Teixeira de Freitas - BA | Dos Santos <i>et al.</i> , 2021 |
| ArtM03 | Óleo Essencial  | Folhas secas           | Antifúngica (Antracnose)                | Alegre - ES              | Batista <i>et al.</i> , 2023    |
| ArtM04 | Óleo Essencial  | Folhas secas           | Inseticida ( <i>Cerosipha forbesi</i> ) | Alegre - ES              | Dos Santos <i>et al.</i> , 2024 |
| ArtM05 | Óleo Essencial  | Folhas frescas         | Controle de <i>Aedes aegypti</i>        | Teixeira de Freitas - BA | Fonseca <i>et al.</i> , 2024    |
| ArtM06 | Óleo Essencial  | Folhas secas           | Acaricida ( <i>Spider mite</i> )        | Alegre - ES              | Lima <i>et al.</i> , 2025       |

Fonte: o Autor

O primeiro artigo é do ano de 2016, seguido por um hiato sem publicações até o ano de 2021, e após esse período, foram publicados cinco artigos sobre a espécie. Nesse sentido, fica claro o quão jovem são os estudos da espécie e o interesse que alguns grupos de pesquisa têm por ela. O segundo ponto refere-se ao material utilizado nos trabalhos analisados. Em todos os casos, foram utilizados óleos essenciais de folhas, sendo em três (ArtM01, ArtM02 e ArtM05) foram utilizadas folhas frescas e nos outros três (ArtM03, ArtM04 e ArtM06), foram utilizadas as folhas secas e essa diferença no tipo de material pode acarretar diferentes composições. Durante o processo de secagem, os compostos mais voláteis presentes na amostra vegetal podem evaporar, levando a sua perda parcial ou completa. Além disso, o contato prolongado com o oxigênio junto ao calor pode levar a oxidação de alguns componentes, levando a formação de compostos que não estão presentes na planta em natura (Simões *et al.*, 2017). Sobre a técnica de extração, foi utilizada em todos a hidrodestilação com equipamento Clevenger.

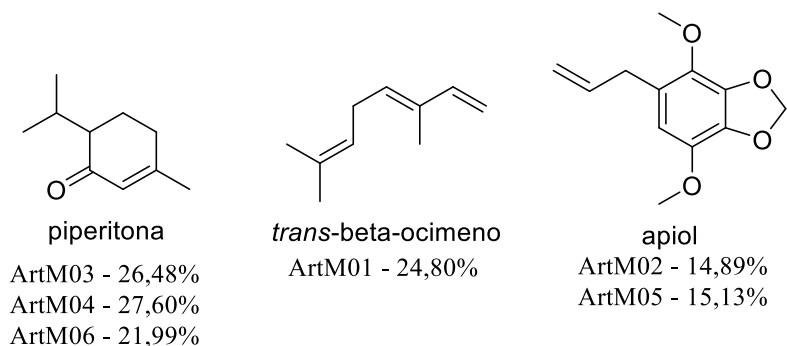
Em relação aos locais de coleta, ArtM01 cita que sua coleta foi realizada em Patis – MG, em espaço conservado de Cerrado, além de realizar a coleta da espécie cultivada em estufa. Os artigos ArtM02 e ArtM05 citam que suas coletas foram realizadas em Teixeira de Freitas – BA, em espaço conservado de Mata Atlântica. Por fim os artigos: ArtM03, ArtM04 e ArtM06, relatam que suas coletas foram realizadas em Alegre – ES, em espaço conservado de Mata Atlântica.

O primeiro ponto que fica claro ao se observar os artigos, é a variedade de atividades biológicas em que os óleos das folhas de *Piper macedoi* foram submetidos, desde o controle de pragas agrícolas e urbanas, até o uso frente o patógeno causador de Leishmania. Para todos os estudos, o resultado da atividade biológica se mostrou positivo, com destaque para o controle do pulgão *Cerosipha forbesi*, sendo capaz de matar mais de 81% dos indivíduos, na concentração de 0,5 mL L<sup>-1</sup> (Dos Santos *et al.*, 2024). Outro uso muito interessante, é no controle das larvas do mosquito *Aedes aegypti*, que é um sério problema nos centros urbanos por ser um vetor transmissor de dengue, Chikungunya e Zika vírus. Neste trabalho verificou-se que uma solução contendo o óleo a uma concentração de 250 ppm levou a mortalidade de 100% das larvas (Fonseca *et al.*, 2024). Tais trabalhos demonstram a relevância do gênero e da espécie para novos estudos, além de diversas outras aplicações que podem ser exploradas. Para isso, é fundamental entender o perfil químico da espécie.

Os seis artigos trazem análises da composição química dos óleos, utilizando CG-EM e CG-FID, técnicas consolidadas nos estudos metabolômicos de compostos voláteis por trazerem

informações valiosas e literatura vasta. Quanto a composição, a primeira observação é o principal constituinte de cada óleo (Figura 05).

**Figura 05** – Principais compostos químicos do óleo essencial de *P. macedoi*.

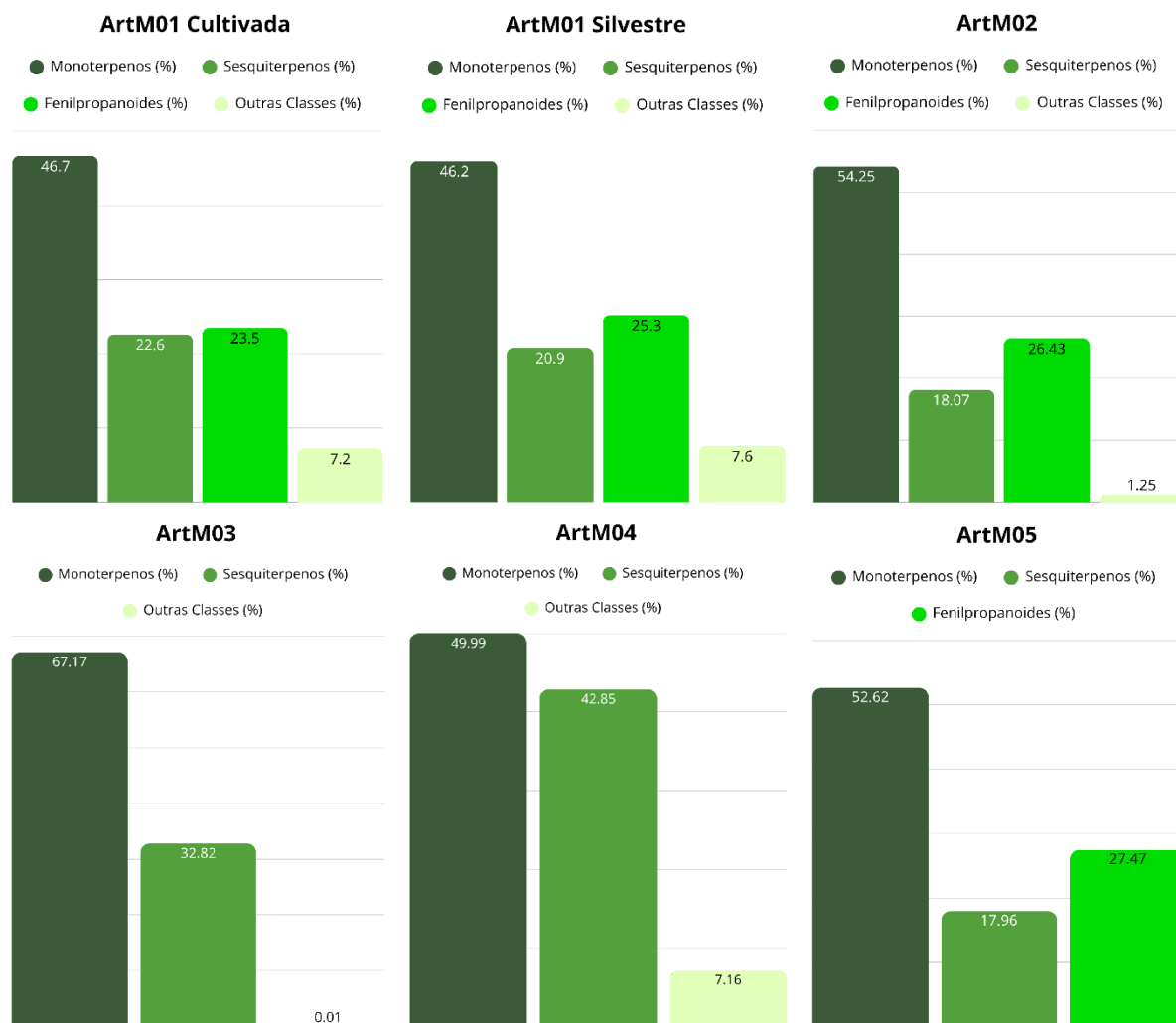


Fonte: o Autor

É possível inferir que o local de coleta é fundamental na biossíntese do composto majoritário do óleo, visto que, os três artigos que realizaram suas coletas em Teixeira de Freitas – BA (ArtM03, ArtM04 e ArtM06), apresentaram a piperitona como principal constituinte. Já no artigo onde a coleta foi realizada em Patis – MG (ArtM01), temos o *trans*-beta-ocimeno como majoritário e os dois últimos artigos que realizaram suas coletas em Alegre – ES, apresentou outro principal constituinte, o apiol. Esse comportamento é esperado e bem documentado em óleos essenciais: corresponde a quimiotipos e à forte influência de fatores genéticos e ambientais (solo, clima, altitude), além de variações fenológicas, manejo, diferenças metodológicas na extração e análise, etc. Estas fontes de variações levam a mudanças na abundância relativa dos compostos presentes, além da presença/ausência de certos metabólitos (Barra, 2009). No caso do gênero *Piper*, um fator em destaque é a presença de quimiotipos, que apesar de serem morfologicamente iguais e se tratar de uma mesma espécie, apresentam linhagens que biossintetizam predominantemente um conjunto diferente de compostos voláteis (Benomari *et al.*, 2023).

Quanto as classes dos compostos identificados relatados nos artigos, os dados foram resumidos e colocados na Figura 06. Para o ArtM01, tem dados quanto a *P. macedoi* coletada em campo e a cultivada em estufa. Já o ArtM06 não traz informações quanto a classe dos compostos, somente o principal constituinte, retratado anteriormente.

**Figura 06** – Perfis químicos dos óleos essenciais de cada artigo (*Piper macedoi*).



Fonte: o Autor

É visível que a constituição do óleo traz as mesmas classes de compostos como as principais, no caso: monoterpenos, depois fenilpropanoides e por fim sesquiterpenos, porém ocorre uma variação quanto a porcentagem de cada classe. No caso da síntese de terpenos e compostos aromáticos em plantas, esta é fortemente influenciada por variáveis ambientais – luz, temperatura, disponibilidade de água, nutrientes do solo, etc. Dessa forma, é esperado uma variação entre os compostos de uma coleta para outra, visto que no Brasil há muita variação entre os meses quanto a chuva, luz, etc (Barra, 2009). Um outro fator relevante, que deve ser levado em conta ao analisar óleos produzidos a partir de pontos de coleta distintos, é a existência de quimiotipos, bem comum ao gênero *Piper*, quanto as principais classes ocorrem uma

tendência a serem as mesmas entre dois quimiotipos diferentes, porém com proporções diferentes (Benomari *et al.*, 2023).

#### 4.2. *Piper fuliginum*

A revisão bibliográfica resultou na identificação de seis artigos sobre a *Piper fuliginum*, sintetizados na Tabela 02:

**Tabela 02** - Artigos coletados na base de dados Scopus até Maio de 2026 sobre a espécie *Piper fuliginum*.

| Código | Tipo de Extrato   | Órgão/Característica             | Atividade Biológica                          | Local de Coleta    | Referência                   |
|--------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------------------|--------------------|------------------------------|
| ArtF01 | -                 | -                                | -                                            | São Paulo          | Jardim <i>et al.</i> , 2015  |
| ArtF02 | Óleo Essencial    | Folhas secas                     | Ovicida<br>( <i>Anticarsia gemmatalis</i> )  | São Paulo          | Krinski <i>et al.</i> , 2018 |
| ArtF03 | Extrato Etanólico | Folhas secas                     | -                                            | Araraquara - SP    | Mazzeu <i>et al.</i> , 2018  |
| ArtF04 | -                 | -                                | -                                            | Mato Grosso do Sul | Pott <i>et al.</i> , 2019    |
| ArtF05 | Óleo Essencial    | Inflorescência fresca            | Acaricida                                    | Hidrolândia - GO   | Vieira <i>et al.</i> , 2025  |
| ArtF06 | Óleo Essencial    | Folhas, Frutos e Ramos secas(os) | Inseticida<br>( <i>Tribolium castaneum</i> ) | Hidrolândia - GO   | Vieira <i>et al.</i> , 2025  |

Fonte: o Autor

As primeiras informações que podem ser obtidas ao analisarmos a Tabela 02, indicam que a *P. fuliginum*, diferentemente da *P. macedoi*, traz artigos mais diversificados no banco

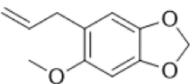
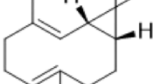
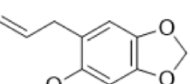
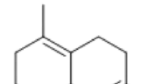
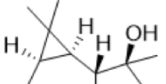


de dados utilizado, não sendo somente de óleos essenciais de folhas, além de artigos botânicos. Somente na metade dos artigos (ArtF02, ArtF05 e ArtF06), temos o perfil químico do óleo essencial da espécie em questão, cada um deles trabalhando com um material vegetal diferente. O artigo ArtF01, trabalha com uma molécula isolada de um extrato de *Piper fuliginum*. Por fim, o artigo ArtF03 traz algumas informações valiosas sobre algumas moléculas (kavalactonas e benzoatos), que foram isoladas da espécie em questão.

Quanto ao ano de publicação, como podemos ver, houveram quatro publicações entre os anos de 2015 e 2019. Após isso, houve um hiato de 06 anos, até uma nova publicação. Sendo assim, uma espécie com muito potencial a ser estudado e pouco explorada. Quanto às coletas, em todos os casos, foram realizadas em regiões do bioma Cerrado, com dois artigos (ArtF05 e ArtF06) com o mesmo local de coleta e mesma equipe de pesquisa.

Sobre o óleo preparado a partir de folhas secas, no artigo ArtF02, consta 06 compostos com presença superior a 3,5% (Figura 07). Quanto a outros compostos, o artigo não traz informações, nem mesmo as classes pertencentes. Esses compostos junto as porcentagens respectivas podem ser vistas abaixo:

**Figura 07** – Compostos majoritários presentes no óleo essencial de folhas secas de *P. fuliginum*, relatados no ArtF02.

|  |  |  | <table><tr><th colspan="2">COMPOSIÇÃO</th></tr><tr><td>ASARICINA</td><td>10,80%</td></tr><tr><td>DELTA-CADINENO</td><td>6,69%</td></tr><tr><td>BICICLOGERMACRENO</td><td>5,64%</td></tr><tr><td>TUJOPSAN-2-ALFA-OL</td><td>4,32%</td></tr><tr><td>ESPATULENOL</td><td>4,14%</td></tr><tr><td>DILLAPIOL</td><td>3,82%</td></tr></table> | COMPOSIÇÃO |  | ASARICINA | 10,80% | DELTA-CADINENO | 6,69% | BICICLOGERMACRENO | 5,64% | TUJOPSAN-2-ALFA-OL | 4,32% | ESPATULENOL | 4,14% | DILLAPIOL | 3,82% |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--|-----------|--------|----------------|-------|-------------------|-------|--------------------|-------|-------------|-------|-----------|-------|
| COMPOSIÇÃO                                                                          |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| ASARICINA                                                                           | 10,80%                                                                              |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| DELTA-CADINENO                                                                      | 6,69%                                                                               |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| BICICLOGERMACRENO                                                                   | 5,64%                                                                               |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| TUJOPSAN-2-ALFA-OL                                                                  | 4,32%                                                                               |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| ESPATULENOL                                                                         | 4,14%                                                                               |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| DILLAPIOL                                                                           | 3,82%                                                                               |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| asaricina                                                                           | biciclogermacrene                                                                   | tujopsan-2-alfa-ol                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
|  |  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
| dillapiol                                                                           | delta-cadineno                                                                      | espatulenol                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
|                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |
|                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |  |           |        |                |       |                   |       |                    |       |             |       |           |       |

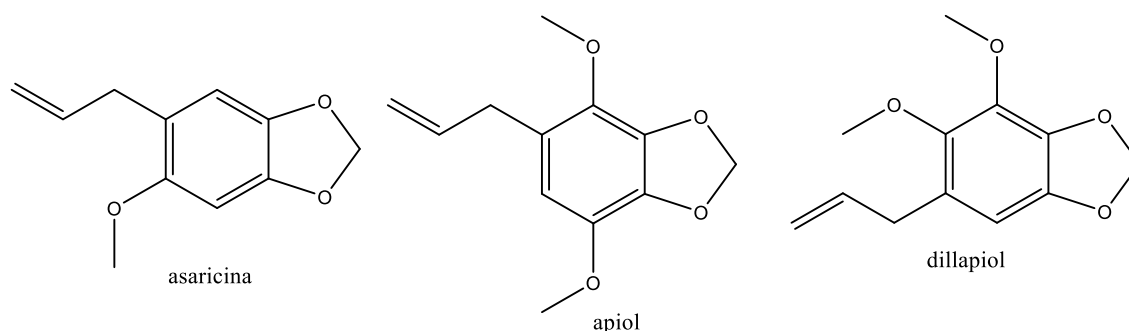
Fonte: o Autor

O principal constituinte do óleo essencial de *P. fuliginum* é o composto asaricina, um fenilpropanoide muito similar ao apiol (principal constituinte dos óleos de folhas secas de *Piper*

*macedoi*). Isso reforça a grande similaridade entre as espécies, considerando que as rotas biossintéticas levam a formação de compostos similares.

Além da asaricina, é relatado o dillapiol que seria um derivado do apiol. A diferença entre os dois compostos, é a presença de uma metoxila a mais no dillapiol. As três moléculas podem ser vistas na Figura 08. Apesar dessa alta semelhança, até mesmo nas rotas sintéticas, é possível visualizar compostos com uma proporção alta, que de acordo com a literatura, não estão presentes nos óleos de *P. macedoi*. São eles: espatulenol e o tujopsan-2- $\alpha$ -ol. A partir disso, esses compostos podem ser a chave para diferenciar as espécies.

**Figura 08** – Fórmula estrutural da asaricina, apiol e dillapiol.

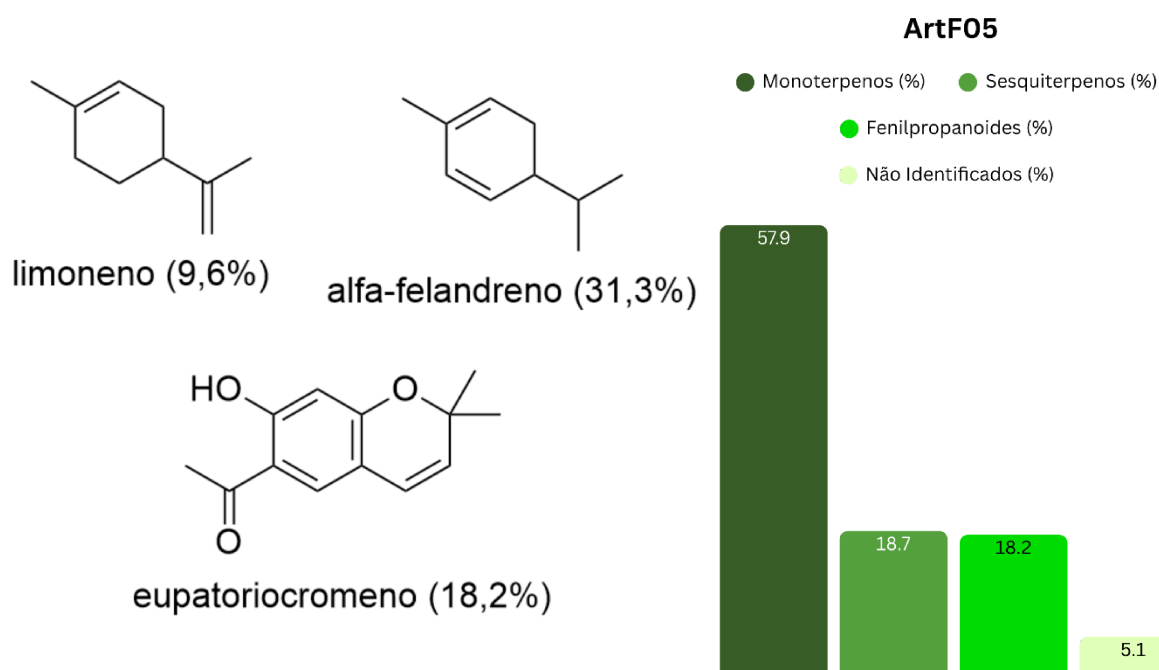


Fonte: o Autor

Quanto ao ArtF05, o óleo essencial foi preparado a partir de uma parte diferente da planta. Dessa forma, a tendência é que os principais constituintes sejam outros.

A Figura 09 mostra a composição do óleo essencial obtido da inflorescência da *Piper fuliginum*.

**Figura 09** - Compostos majoritários e composição química do óleo essencial da inflorescência de *P. fuligineum* relatados no ArtF05.

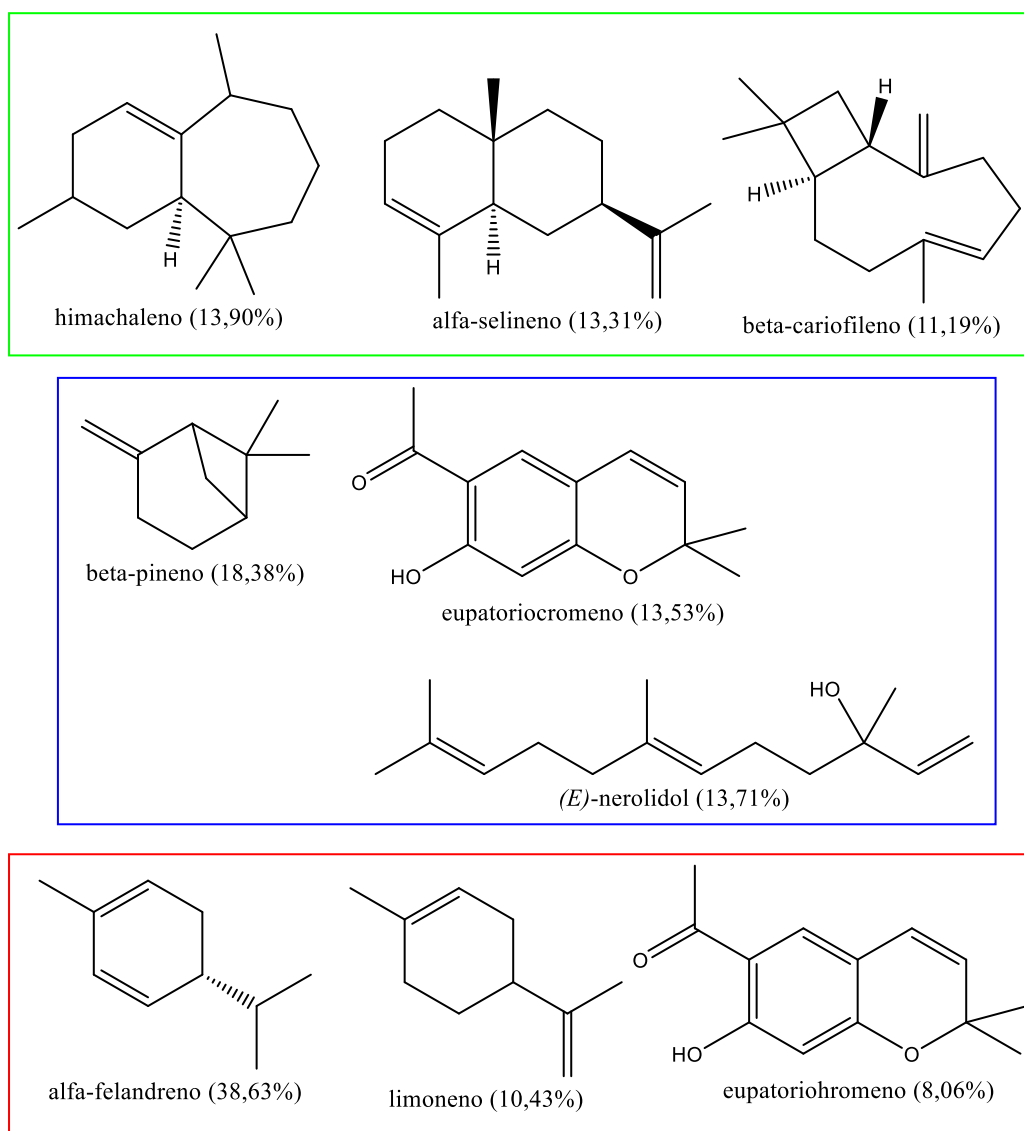


Fonte: o Autor

É possível observar que a principal classe de compostos se mantém a mesma, apesar de se tratar de uma parte diferente da planta, a constituição é parecida. Sobre os compostos, um monoterpeno constitui mais de 30% do óleo, o  $\alpha$ -felandreno. Essa substância também aparece na literatura da *P. macedoi*, como um dos constituintes dos óleos. Dessa forma, apesar de serem partes diferentes, os constituintes produzidos são pertencentes a uma mesma variedade de classes, apresentando alguns compostos em comum para ambas as espécies.

Por último, o ArtF06 traz o perfil químico do óleo essencial de três partes da *P. fuligineum*, sendo ramos, folhas e frutos. Na Figura 10 é apresentado os três principais constituintes de cada um dos óleos.

**Figura 10** – Constituintes principais do óleo essencial de *P. fuligineum* extraído de ramos (quadro verde), folhas (quadro azul) e frutos (quadro vermelho).



Fonte: o Autor

Ao analisarmos essas informações quanto aos principais compostos identificados, é possível observar que eles variam dependendo da parte da planta da qual o óleo essencial foi extraído. De forma geral é marcante a presença: dos monoterpenos, como beta-pineno e o limoneno; dos sesquiterpenos, como o beta-cariofileno; e da presença de um cromeno, o eupatoriocromeno, com porcentagem relevante. Um dado interessante que a própria autora destaca é a presença do eupatoriocromeno e do beta-cariofileno nos três óleos, trazendo a

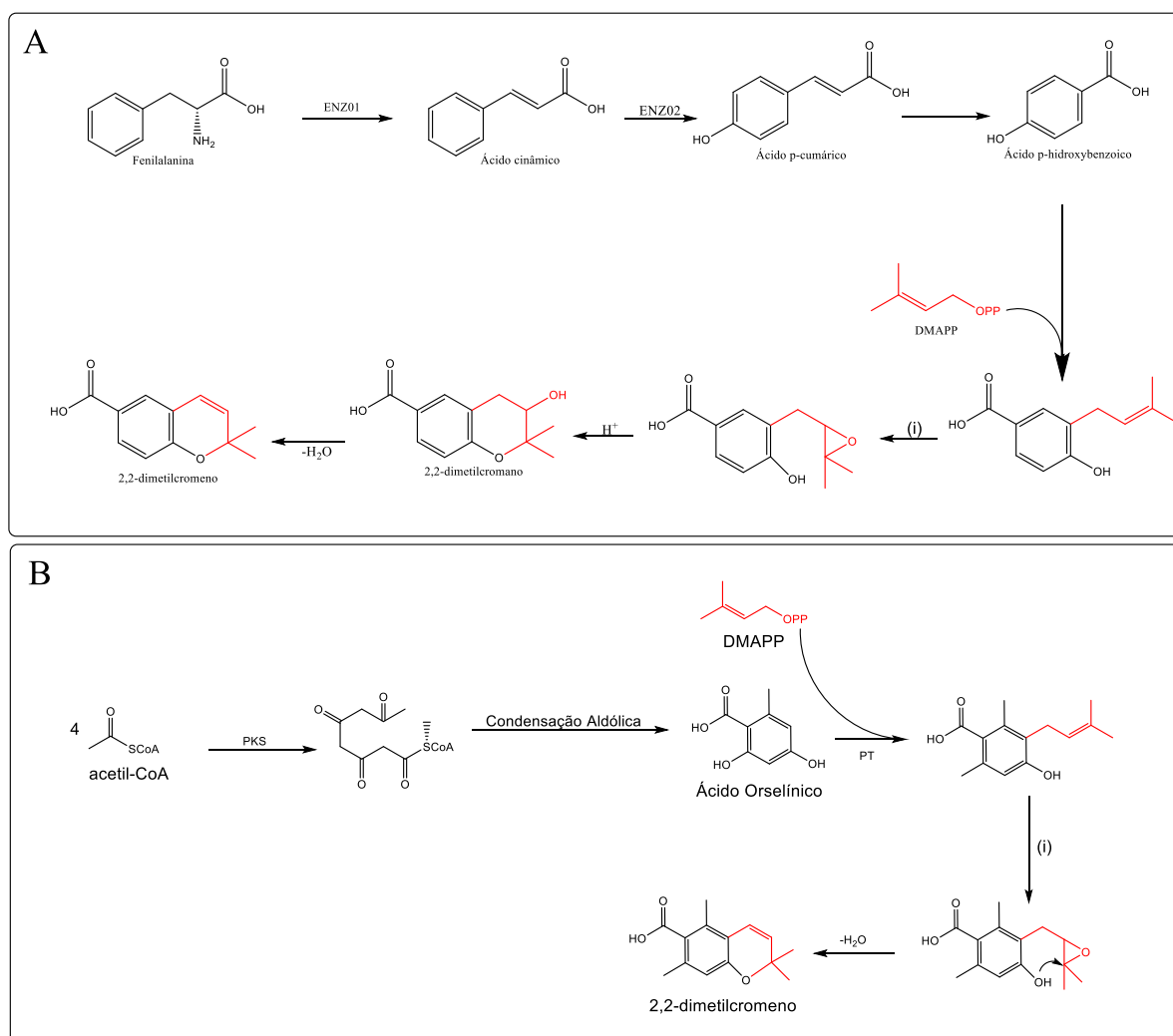
possibilidade de que esses compostos possam representar marcadores químicos importantes da espécie (Vieira *et al.*, 2025).

A presença desse cromeno é bem interessante, visto que ele também é relatado em outras espécies do gênero, como a *Piper mollicomum* (Ramos *et al.*, 2020). Além do cromeno já relatado, outros também aparecem no gênero, como os precoceno I e precoceno II, relatados para *Piper aduncum* (Scott *et al.*, 2008). Esses dois últimos apresentam uma forte atividade inseticida, sendo uma resposta da espécie ao ataque de herbívoros. Então, a presença de cromenos é comum ao gênero *Piper* e relativamente comum.

Não existe um consenso científico quanto a rota biossintética, porém, numa das revisões mais completas e recentes desenvolvidas, onde foram considerados 79 cromanos e 161 cromenos relatados na literatura como produtos naturais, os autores propõem algumas possibilidades de rotas biossintéticas iniciais (Figura 11) em comum para todos eles (Liu *et al.*, 2025).

**Figura 11** – Propostas de rotas biossintéticas do 2,2-dimetilcromeno e 2,2-dimetilcromano.

(A) via do ácido chiquímico e (B) via do acetil-CoA.



Nota: ENZ01 – phenylalanine ammonia-lyase; ENZ02 – cinnamate-4-hydroxylase

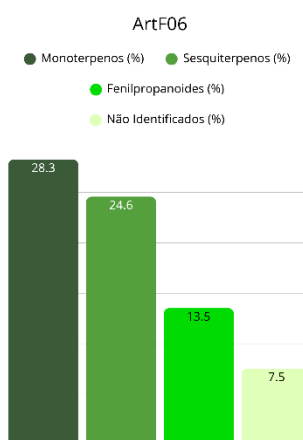
Adaptado de: Liu *et al*, 2025

O primeiro ponto a ser observado na figura é que, independentemente da proposta de formação do 2,2-dimetilcromeno, um cromeno que funciona como esqueleto para diversos outros compostos desta classe (Liu *et al.*, 2025), o DMAPP (Pirofosfato de Dimetilalila), uma molécula fundamental na formação dos terpenos, também aparece como uma importante molécula formadora para os cromenos. Esse fato demonstra a importância e plasticidade dessa rota biossintética nas espécies do gênero *Piper*. Agora comentando isoladamente, a rota A, traz a formação dos cromenos e cromanos por meio da via do ácido chiquímico, que é a mesma rota dos fenilpropanoides, outra classe relevante e bem presente nos óleos de espécies do gênero

*Piper*. O ácido p-cumárico reage formando o ácido p-hidroxibenzoico, que posteriormente reage com o DMAPP proveniente de outra rota biossintética, levando a formação do cromeno. Já na rota B, a proposta biossintética vem do acetil CoA, que forma um esqueleto intermediário, capaz de sofrer uma condensação, resultando na formação do ácido orselínico. Este, por sua vez, reage com o DMAPP formando o cromeno. Vale destacar que a rota do acetil CoA também constitui uma das possibilidades de formação do DMAPP e, consequentemente, dos terpenos. De forma geral é perceptível o quão ativas são essas rotas biossintéticas e a habilidade das plantas do gênero *Piper* em adaptar as rotas para formação de diferentes classes de compostos.

Por fim, ainda sobre esse artigo, temos o perfil químico do óleo essencial das folhas da *P. fuligineum*, que também é o mesmo material de trabalho dessa dissertação. Dessa forma, tanto o perfil químico quanto a classe de compostos podem ser vistos na Figura 12.

**Figura 12** – Classes de compostos presentes no óleo essencial das folhas de *P. fuligineum* (ArtF06).



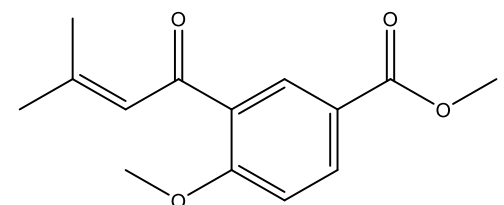
Fonte: o Autor

Como é possível observar, o óleo essencial das folhas de *Piper fuligineum* apresenta perfil químico compatível com o frequentemente descrito para espécies do gênero *Piper*, caracterizado pela presença expressiva de monoterpenos (28,27%), sesquiterpenos (24,58%) e fenilpropanoides (13,53%). Esse perfil evidencia a elevada plasticidade metabólica do gênero, reconhecido pela capacidade de biossíntese de ampla diversidade de metabólitos secundários associados a processos ecológicos adaptativos (Parmar *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2008).

Sobre os compostos identificados, o  $\beta$ -pineno (18,38%) aparece como o principal, além do (*E*)-nerolidol (13,71%) e o eupatoriocromeno (13,53%) que representam juntos cerca de 45% da composição total do óleo. Além desses três compostos, pode-se destacar a presença de  $\beta$ -cariofileno (10,82%),  $\alpha$ -pineno (7,39%), óxido de cariofileno (5,77%),  $\alpha$ -humuleno (4,76%), dentre outros compostos.

O ArtF03 apresenta uma contribuição significativa para o entendimento químico de *Piper fuliginum*, especialmente ao relatar a presença de derivados do ácido benzóico nas folhas da planta. Entre os compostos identificados, destaca-se a identificação de um benzoato (Figura 13) que, até então, não havia sido previamente descrito como produto natural. Os autores isolaram e caracterizaram três derivados benzóicos a partir do extrato etanólico, com um deles sendo reportado como inédito na literatura. A identificação desse composto enriquece consideravelmente a compreensão da diversidade metabólica da espécie e destaca o gênero *Piper* como uma fonte de metabólitos aromáticos ainda pouco investigados. Além disso, a caracterização estrutural detalhada, baseada principalmente em técnicas espectroscópicas, proporciona solidez aos resultados apresentados e reforça a originalidade da descoberta.

**Figura 13** – Benzoato relatado no ArtF03 pela primeira vez em espécies vegetais.



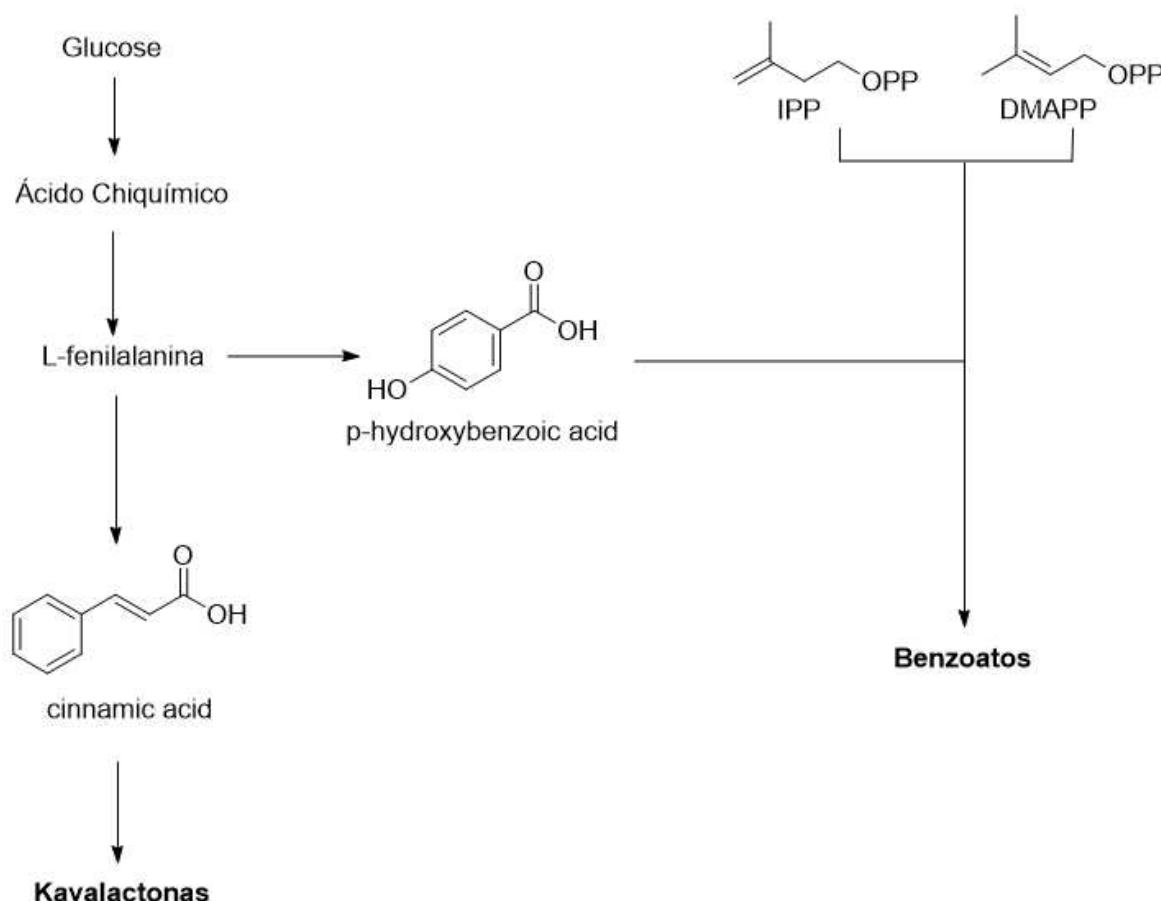
4-metoxi-3-(3-metilbut-2-enoil)benzoato de metila

Fonte: o Autor



O ArtF03 também aborda um aspecto importante: a discussão sobre a origem biossintética desses benzoatos e das kavalactonas (Figura 14).

**Figura 14** – Esquema resumido da proposta de biossíntese dos benzoatos e kavalactonas encontradas na *Piper fuliginum*, segundo o ArtF03.



Adaptado de: Mazzeu *et al.*, 2018

Os autores propõem que esses compostos estão ligados à via do ácido chiquímico, uma rota metabólica fundamental na produção de metabólitos aromáticos em plantas. Além disso, possui forte participação da rota do DMAPP, rota fundamental na produção de terpenos. A existência de variados padrões de substituição e grupos prenilados nos derivados benzóicos sugere que processos de modificação estrutural, como reações de prenilação e oxidação, desempenham um papel significativo na criação dessa diversidade química. Essa abordagem biossintética ajuda a entender melhor o metabolismo secundário de *P. fuliginum* e destaca a

relevância da espécie como modelo para pesquisas futuras em química de produtos naturais. Além disso, destaca a expressiva plasticidade química apresentada pela espécie, na qual duas principais rotas biossintéticas tem capacidade de produção de variadas classes de compostos.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1. Instrumentos

- Balança analítica SHIMADZU modelo ATX224;
- Balança de luz infravermelha para determinação da umidade Quimis modelo Kett FD-600;
- Aparelhagem de hidrodestilação tipo Clevenger;
- Cromatógrafo a gás acoplado a Espectômetro de Massas (CG-EM) Shimadzu modelo QP2020;
- Cromatógrafo a gás com Detector de Ionização de chama (CG-FID) Shimadzu modelo GC-2014 com injetor automático Shimadzu modelo AOC-20i;
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) BRUKER modelo Ascend 400 operado com o software MestReNova 14.2.1
- Coluna cromatográfica capilar BPX-F ((5%-Phenyl)-methylpolysiloxane) (30 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0.25  $\mu\text{m}$ );
- Chapa aquecedora rotativa IKA modelo C-MAG HS 7.

### 5.2. Materiais e Reagentes

- Solvente para extração e cromatografias: Cloreto de Metileno (Diclorometano) P.A. – A.C.S. da marca Synth com teor de pureza 99,5% e validade 29/09/2026;
- Padrão Interno: Eicosano 99% da marca Sigma-Aldrich, data de produção 02/05/2023, validade indeterminada;
- Padrão de alcanos da marca Fluka (C10 ; C20 - C40 Alkanes Standard Mixture) na concentração de 684  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em hexano;
- Sigma-Aldrich (C10 – C40 Alkane standard mixture for performance tests of GC-systems) na concentração de 50  $\text{mg L}^{-1}$  cada.

### 5.3. Material Vegetal

#### 5.3.1. Coleta e Identificação

A coleta das folhas das espécies *Piper fuliginum* e *Piper macedoi* foi realizada na reserva ecológica localizada na Fazenda Experimental do Glória pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (18°57'23.0"S 48°12'30.5"W) a cada dois meses entre 09/2024 e 07/2025. Ambas as espécies foram coletadas a pouco mais de 100 metros de distância entre uma e outra (Figura 15), próximas às margens de um lago, sob condições similares de solo, incidência solar, umidade, dentre outras variantes ecológicas que poderiam influenciar na produção de metabólitos secundários.

**Figura 15** – Distância entre os pontos de coleta das espécies.



Fonte: o Autor

A identificação das espécies foi realizada em um trabalho prévio (NOZELLA, 2022). As plantas foram identificadas pela Professora Doutora Micheline Carvalho Silva da Universidade de Brasília especialista no estudo de Piperáceas e depositadas no Herbário da Universidade de Brasília sob o código 311774 para *Piper fuliginum* e 311780 para *Piper macedoi*.

### 5.3.2. Extração dos Óleos Essenciais

A umidade das folhas frescas foi determinada pelo método gravimétrico através de uma balança de luz infravermelha. A análise foi realizada com cerca de 1,0 g de material vegetal sob temperatura de  $105 \pm 5$  °C, até que o teor de umidade permanecesse constante.

O material vegetal coletado foi pesado e dividido em três frações, para que o processo de hidrodestilação fosse realizado. Cada porção foi lavada com água destilada para retirar impurezas, como poeira ou fezes de pássaros, que poderiam significar contaminação. Em um balão de fundo redondo com capacidade de 2,0 L foi adicionada cada fração de folhas trituradas manualmente e um volume de água destilada suficiente para cobrir todo o material vegetal. O balão foi colocado sob uma manta aquecedora e acoplado a um aparelho de destilação tipo Clevenger (Figura 16). Cada sistema de hidrodestilação ficou sob refluxo por 4 horas.

**Figura 16** – Foto do aparelho Clevenger utilizado na hidrodestilação.



Fonte: o Autor

Ao fim de cada hidrodestilação, o óleo essencial foi extraído com 25,0 mL de diclorometano PA (5 x 5,0 mL). O solvente foi removido por evaporação em uma chapa

aquecedora a 35 °C até massa constante. O rendimento foi calculado de acordo com a Equação 01.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa de óleo obtida (g)} \times 100}{\text{massa de folhas descontando a umidade (g)}} \quad \text{Equação 01}$$

## 5.4. Análise da Composição dos Óleos Essenciais

### 5.4.1. Cromatografia a Gás acoplada à Espectrômetro de Massas (CG-EM)

A avaliação da composição química dos óleos essenciais foi realizada no Centro Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo (USP) em um CG-EM da marca Shimadzu modelo QP2020. Foi utilizada coluna cromatográfica capilar BPX-F (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane (30 m x 250 µm x 0.25 µm). Foram preparadas soluções de apenas um dos óleos essenciais das triplicatas com concentração de 5 mg mL<sup>-1</sup> em diclorometano. As condições cromatográficas empregadas foram: temperatura do injetor de 230 °C; hélio de alta pureza como gás de arraste; fluxo constante de 1,7 mL min<sup>-1</sup>; velocidade linear de 47,4 cm s<sup>-1</sup>; volume de injeção de 1 µL; programação de temperatura de 50 a 246 °C com taxa de 3 °C min<sup>-1</sup> (Adams, 2017). O Modo Scan (MS) foi varrido de *m/z* 50 – 550, com uma contagem de 150 limiar e atraso de solvente de 3 min. O quadrupolo foi mantido a 150 °C com a fonte de íons a 280 °C.

Os cromatogramas obtidos foram analisados pela equipe do Centro Analítico de Instrumentação da USP, utilizando o software CHMS Postrun Analysis da Shimadzu, onde os cromatogramas obtidos foram comparados com os presentes nas bibliotecas: NIST14 e NIST14s. A partir dessa comparação o software fornece um índice de similaridade, *similarity index* (SI), que permite observar qual cromatograma de composto mais se assemelha com o cromatograma do composto desconhecido obtido no equipamento.

O padrão de alcanos utilizado foi da marca Fluka (C10; C20 - C40 Alkanes Standard Mixture) na concentração de 684 µg mL<sup>-1</sup> em hexano. A identificação foi baseada em índices aritméticos (IA) calculados e comparados aos presentes no livro *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, edição 4.1 do autor Dr. Robert P. Adams (2007).

Para a identificação dos compostos foram consideradas as cinco moléculas com maior índice de similaridade, a partir disso foi considerado o IA como fator discriminante.

O índice aritmético (IA) correlaciona o tempo de retenção dos compostos aos do padrão de alcanos. Nesta equação são considerados os tempos de retenção do alcano anterior ( $T_R(P_z)$ ) e posterior ( $T_R(P_{z+1})$ ) ao tempo de retenção dos compostos analisados ( $T_R(x)$ ) e o número de carbonos do alcano ( $C(P_z)$ ) com tempo de retenção anterior ao analisado.

O IA foi calculado através da Equação 02, utilizando o tempo de retenção do composto analisado e dos padrões de alcanos (C10 ; C20 – C40) previamente injetados utilizando a mesma metodologia.

$$IA(x) = 100 \cdot C(P_z) + 100 \cdot \left[ \frac{T_R(x) - T_R(P_z)}{T_R(P_{z+1}) - T_R(P_z)} \right] \quad \text{Equação 02}$$

O IA calculado foi comparado com o de compostos isolados tabelados por Adams (2017).

Além desses fatores, também foi levado em conta os metabólitos relatados na literatura como sendo presentes nas espécies ou no gênero *Piper*.

#### 5.4.2. Cromatografia a Gás com Detector de Ionização de Chama (CG-FID)

A quantificação dos metabólitos secundários presentes nos óleos essenciais foi realizada na Rede de Laboratórios Multiusuários da Universidade Federal de Uberlândia (RELAM – UFU) em um CG-FID da marca Shimadzu, modelo GC-2014, com injetor automático da marca Shimadzu modelo AOC-20i (Figura 07). Foi utilizada coluna cromatográfica capilar de alta resolução HP-5MS (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane (30 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0.25  $\mu\text{m}$ ) da marca Agilent. Foram preparadas soluções de todos os óleos das triplicatas com concentração de 5 mg mL<sup>-1</sup> em diclorometano. As condições cromatográficas empregadas foram: temperatura do injetor igual a 220 °C. O gás de arraste era Nitrogênio com fluxo constante de 1.02 mL.min<sup>-1</sup> e foram feitas injeções de 1  $\mu\text{L}$ . O detector foi mantido a 260 °C. A temperatura inicial do forno foi programada de 60 °C aumentando a uma taxa de 3 °C.min<sup>-1</sup> até 246 °C, mantendo a essa temperatura por 38 minutos; O modo *Split* possuía uma proporção de divisão de 1:30;

Velocidade linear de 28,2 cm.s<sup>-1</sup>. Foi utilizado o padrão de alcanos da marca Sigma-Aldrich (C7-C40 Alkanes standard mixture, 49452-U)) na concentração de 1000 µg mL<sup>-1</sup> em hexano.

#### 5.4.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A caracterização foi realizada por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (BRUKER, modelo Ascend 400, operado com o software MestReNova 14.2.1). Os espectros de RMN de <sup>13</sup>C foram registrados em um espectrômetro Bruker Ascend™ 400 Avance III HD (9,4 T), operando a 100 MHz, a 30 °C. Foi utilizado o clorofórmio deuterado como solvente e preparou se na concentração de 40mg de óleo para 0,6 mL de solvente deuterado. A análise foi realizada dentro da rede de laboratório multiusuários (RELAM) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

#### 5.5. Análise Estatística dos Óleos Essenciais – Correlação Linear de Pearson (r)

A influência das variáveis climáticas sobre o rendimento, as classes químicas e os principais constituintes dos óleos essenciais de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum* foi avaliada por meio da correlação linear de Pearson (Equação 03). Foram considerados os dados de precipitação, temperatura média, pressão atmosférica e umidade relativa do ar, correlacionando-os com os valores de rendimento dos óleos essenciais, das classes químicas e da abundância relativa dos principais constituintes obtidos por cromatografia a gás.

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2][\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2]}} \quad \text{Equação 03}$$

Os coeficientes de correlação de Pearson (r) foram calculados utilizando o software Microsoft Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA), por meio da função estatística CORREL. Os valores de *r* variam de -1 a +1, indicando, respectivamente, correlação linear negativa perfeita, ausência de correlação (*r* ≈ 0) e correlação linear positiva perfeita. A interpretação da intensidade das correlações foi realizada com base no módulo do coeficiente

de correlação, sendo consideradas muito fracas ( $|r| < 0,20$ ), fracas ( $0,20 \leq |r| < 0,40$ ), moderadas ( $0,40 \leq |r| < 0,60$ ), fortes ( $0,60 \leq |r| < 0,80$ ) e muito fortes ( $|r| \geq 0,80$ ).

## 5.6. Análises Biológicas dos Óleos

As análises biológicas dos óleos foram realizadas em parceria com o Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). As análises foram realizadas pelas pesquisadoras: Anna Livia Oliveira Santos e Ieda Vieira da Cunha sobre supervisão do Prof.º Dr.º Carlos Henrique G. Martins.

### 5.6.1. Atividade Antibacteriana (*Helicobacter pylori*)

A cepa utilizada faz parte da coleção de culturas do LEA da UFU e é mantida criopreservada (-80 °C) em caldo Brucella (Difco Labs) suplementado com 10% de soro fetal bovino. A cepa provém da *American Type Culture Collection* (ATCC 43526).

As análises foram feitas para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), ou seja, a menor concentração do agente microbiano capaz de inibir o crescimento bacteriano. Para sua determinação, o método de microdiluição foi realizado em uma microplaca de 96 poços, de acordo com a metodologia recomendada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), com adaptações, utilizando resazurina (Sigma-Aldrich) como revelador de crescimento bacteriano e caldo Brucella (Difco) suplementado com 10% de soro fetal bovino.

Os óleos foram dissolvidos em DMSO a 5% para atingir concentração final de 0,195 a 400,0 µg/mL. O inóculo bacteriano foi ajustado para produzir concentração celular igual a  $5 \times 10^5$  CFU/mL. A tetraciclina (Sigma-Aldrich), em concentrações variando de 0,0115 a 5,9 µg/mL, foi utilizada como antibiótico padrão e solubilizada em água. Um controle de 5% DMSO foi feito, e o solvente não interferiu no crescimento bacteriano nessa concentração. As placas foram incubadas em uma incubadora CO<sub>2</sub> (Panasonic Biomedical) a 37 °C por 72 h em atmosfera contendo 10% de CO<sub>2</sub>. Após o período de incubação, 30,0 µL de uma solução aquosa de resazurina a 0,01% foram adicionados a cada poço da microplaca para avaliar o crescimento bacteriana.



### 5.6.2. Atividade Antifúngica (Gênero *Candida*)

As cepas utilizadas fazem parte da coleção de culturas do LEA da UFU e são mantidas criopreservadas (-80 °C). As seguintes cepas padrão foram utilizadas: *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida tropicalis* (ATCC 13803) e *Candida glabrata* (ATCC 2001), obtidas da *American Type Culture Collection*.

Para determinar a atividade antifúngica dos óleos, utilizou-se a metodologia de microdiluição em caldo para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM). O procedimento foi realizado de acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), no documento M27-A2, com adaptações, descritas a seguir. Os óleos foram solubilizados em DMSO (5% v/v) e diluída em RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640 tamponado com MOPS (ácido N-morfolinopropano sulfônico) (Sigma-Aldrich) até atingir uma concentração final no poço entre 1,46 e 3000 µg/mL. Suspensões celulares contendo leveduras foram preparadas na concentração final de  $0,5 \times 10^3$  a  $2,5 \times 10^3$  CFU/mL, verificadas em densitômetro (Densimat®, Biomérieux). Após o preparo das placas, elas foram para a incubação por 24 h a 37 °C, após a incubação foram adicionados 30 µL de solução aquosa de resazurina a 0,01% (Sigma-Aldrich) para observar o crescimento microbiano. A placa foi então reincubada por 4 h.

A mudança de cor para azul e rosa indicou a ausência e presença de crescimento, respectivamente. A interpretação da CIM foi realizada observando-se a menor concentração que permaneceu azul no sobrenadante do meio de cultura da microplaca. O antifúngico Miconazol foi utilizado como controle de qualidade do teste em concentrações de 0,031 a 16 µg/mL. Um controle com 5% de DSO foi realizado, e o solvente não interferiu no crescimento bacteriano nessa concentração.

Além do CIM, determinou-se a Concentração Fungicida Mínima (CFM), definida como a menor concentração da amostra de teste sem qualquer crescimento microbiano, conforme descrito a seguir. Antes da adição de resazurina, 10 µL do inóculo foram removidos de cada poço e depositados em ágar Sabouraud Dextrose (Difco), incubados a 37 °C por 24 h e, em seguida, observou-se a presença ou ausência de crescimento.

## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1. Coleta, Rendimento e Umidade**

Os dados de coleta, as condições ambientais e os rendimentos dos óleos essenciais extraídos das folhas de *Piper macedoi* e *Piper fuliginum* ao longo de seis períodos diferentes podem ser observados na Tabela 03 e na Figura 17. Essas informações permitem uma comparação tanto entre as espécies quanto dentro de cada uma, ajudando a entender como elas respondem às mudanças sazonais na natureza.

**Tabela 03** – Dados referentes a cada coleta e cada triplicata de óleo preparado ao longo de um ano.

(Continua)

| <b>Código</b> | <b>Umidade Folhas (%)</b> | <b>Coleta</b>  | <b>Data</b> | <b>Temperatura Ambiente (°C)</b> | <b>Umidade do Ar (%)</b> | <b>Massa Folhas (g)</b> | <b>Massa Óleo (mg)</b> | <b>Rendimento (%)</b> |
|---------------|---------------------------|----------------|-------------|----------------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|
| MOE1-1        | 72,5                      | 1 <sup>a</sup> | 11/09/24    | 26,8                             | 37                       | 55,37                   | 126,6                  | 0,83                  |
| MOE1-2        | 72,5                      | 1 <sup>a</sup> | 11/09/24    | 26,8                             | 37                       | 52,69                   | 120,5                  | 0,83                  |
| MOE1-3        | 72,5                      | 1 <sup>a</sup> | 11/09/24    | 26,8                             | 37                       | 47,81                   | 101,2                  | 0,77                  |
| FOE1-1        | 72,6                      | 1 <sup>a</sup> | 18/09/24    | 24,7                             | 50                       | 81,03                   | 158,9                  | 0,72                  |
| FOE1-2        | 72,6                      | 1 <sup>a</sup> | 18/09/24    | 24,7                             | 50                       | 77,58                   | 154,3                  | 0,73                  |
| FOE1-3        | 72,6                      | 1 <sup>a</sup> | 18/09/24    | 24,7                             | 50                       | 82,39                   | 160,8                  | 0,71                  |
| MOE2-1        | 83,7                      | 2 <sup>a</sup> | 11/11/24    | 26,0                             | 64                       | 50,98                   | 112,6                  | 1,36                  |
| MOE2-2        | 83,7                      | 2 <sup>a</sup> | 11/11/24    | 26,0                             | 64                       | 50,26                   | 100,4                  | 1,23                  |
| MOE2-3        | 83,7                      | 2 <sup>a</sup> | 11/11/24    | 26,0                             | 64                       | 52,01                   | 113,1                  | 1,33                  |
| FOE2-1        | 73,6                      | 2 <sup>a</sup> | 18/11/24    | 26,6                             | 71                       | 90,87                   | 176,2                  | 0,73                  |
| FOE2-2        | 73,6                      | 2 <sup>a</sup> | 18/11/24    | 26,6                             | 71                       | 89,12                   | 205,1                  | 0,87                  |
| FOE2-3        | 73,6                      | 2 <sup>a</sup> | 18/11/24    | 26,6                             | 71                       | 51,38                   | 84,4                   | 0,62                  |
| MOE3-1        | 87,6                      | 3 <sup>a</sup> | 10/01/25    | 24,0                             | 76                       | 71,43                   | 142,8                  | 1,61                  |
| MOE3-2        | 87,6                      | 3 <sup>a</sup> | 10/01/25    | 24,0                             | 76                       | 71,38                   | 133,6                  | 1,51                  |
| MOE3-3        | 87,6                      | 3 <sup>a</sup> | 10/01/25    | 24,0                             | 76                       | 67,18                   | 173,9                  | 2,09                  |
| FOE3-1        | 76,9                      | 3 <sup>a</sup> | 17/01/25    | 24,6                             | 72                       | 45,26                   | 83,6                   | 0,80                  |
| FOE3-2        | 76,9                      | 3 <sup>a</sup> | 17/01/25    | 24,6                             | 72                       | 45,84                   | 105,0                  | 0,99                  |
| FOE3-3        | 76,9                      | 3 <sup>a</sup> | 17/01/25    | 24,6                             | 72                       | 45,93                   | 94,3                   | 0,89                  |
| MOE4-1        | 77,1                      | 4 <sup>a</sup> | 10/03/25    | 29,0                             | 47                       | 66,71                   | 140,6                  | 0,92                  |
| MOE4-2        | 77,1                      | 4 <sup>a</sup> | 10/03/25    | 29,0                             | 47                       | 66,48                   | 128,9                  | 0,85                  |
| MOE4-3        | 77,1                      | 4 <sup>a</sup> | 10/03/25    | 29,0                             | 47                       | 66,91                   | 105,7                  | 0,69                  |
| FOE4-1        | 51,6                      | 4 <sup>a</sup> | 17/03/25    | 26,3                             | 63                       | 55,64                   | 192,2                  | 0,71                  |
| FOE4-2        | 51,6                      | 4 <sup>a</sup> | 17/03/25    | 26,3                             | 63                       | 55,86                   | 139,1                  | 0,51                  |
| FOE4-3        | 51,6                      | 4 <sup>a</sup> | 17/03/25    | 26,3                             | 63                       | 55,48                   | 124,6                  | 0,46                  |
| MOE5-1        | 73,7                      | 5 <sup>a</sup> | 13/05/25    | 21,6                             | 64                       | 75,76                   | 245,8                  | 1,23                  |
| MOE5-2        | 73,7                      | 5 <sup>a</sup> | 13/05/25    | 21,6                             | 64                       | 76,12                   | 211,2                  | 1,05                  |
| MOE5-3        | 73,7                      | 5 <sup>a</sup> | 13/05/25    | 21,6                             | 64                       | 75,60                   | 278,0                  | 1,40                  |

**Tabela 03** – Dados referentes a cada coleta e cada triplicata de óleo preparado ao longo de um ano

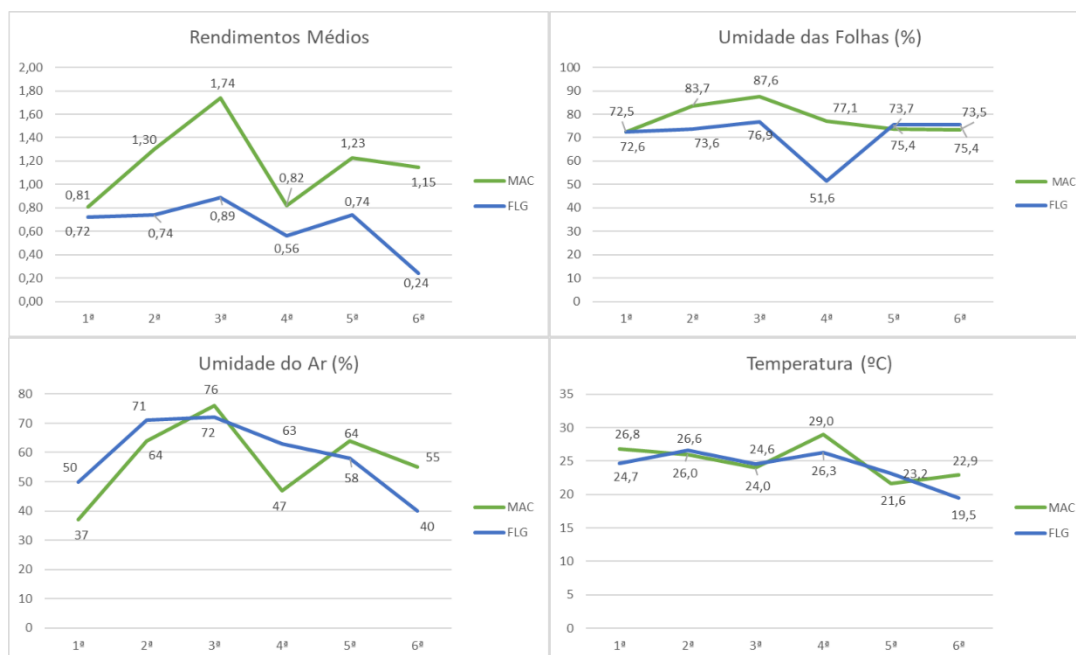
(Conclusão)

| <b>Código</b> | <b>Umidade Folhas (%)</b> | <b>Coleta</b>  | <b>Data</b> | <b>Temperatura Ambiente (°C)</b> | <b>Umidade do Ar (%)</b> | <b>Massa Folhas (g)</b> | <b>Massa Óleo (mg)</b> | <b>Rendimento (%)</b> |
|---------------|---------------------------|----------------|-------------|----------------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|
| FOE5-1        | 75,4                      | 5 <sup>a</sup> | 22/05/25    | 23,2                             | 58                       | 75,22                   | 134,6                  | 0,73                  |
| FOE5-2        | 75,4                      | 5 <sup>a</sup> | 22/05/25    | 23,2                             | 58                       | 75,43                   | 140,2                  | 0,76                  |
| MOE6-1        | 73,5                      | 6 <sup>a</sup> | 14/07/25    | 22,9                             | 55                       | 66,35                   | 210,9                  | 1,20                  |
| MOE6-2        | 73,5                      | 6 <sup>a</sup> | 14/07/25    | 22,9                             | 55                       | 66,95                   | 180,6                  | 1,02                  |
| MOE6-3        | 73,5                      | 6 <sup>a</sup> | 14/07/25    | 22,9                             | 55                       | 66,64                   | 216,9                  | 1,23                  |
| FOE6-1        | 75,4                      | 6 <sup>a</sup> | 17/07/25    | 19,5                             | 40                       | 59,95                   | 33,6                   | 0,23                  |
| FOE6-2        | 75,4                      | 6 <sup>a</sup> | 17/07/25    | 19,5                             | 40                       | 59,45                   | 33,9                   | 0,23                  |
| FOE6-3        | 75,4                      | 6 <sup>a</sup> | 17/07/25    | 19,5                             | 40                       | 59,58                   | 36,8                   | 0,25                  |

Fonte: o Autor

De modo geral, verificou-se que ambas as espécies apresentam variações importantes no rendimento de óleo essencial ao longo do ano. Essas mudanças parecem estar relacionadas a fatores ambientais como temperatura, umidade do ar e o nível de umidade nas folhas. No entanto, o padrão e a intensidade dessas variações são diferentes para cada uma, o que sugere que elas têm respostas metabólicas distintas, mesmo sendo morfologicamente parecidas. Os dados presentes na tabela foram agrupados nos gráficos a seguir, para melhor visualização:

**Figura 17** – Comparação dos rendimentos dos óleos essenciais e das variáveis ambientais entre *Piper fuliginum* (FLG) e *Piper macedoi* (MAC) ao longo das coletas.

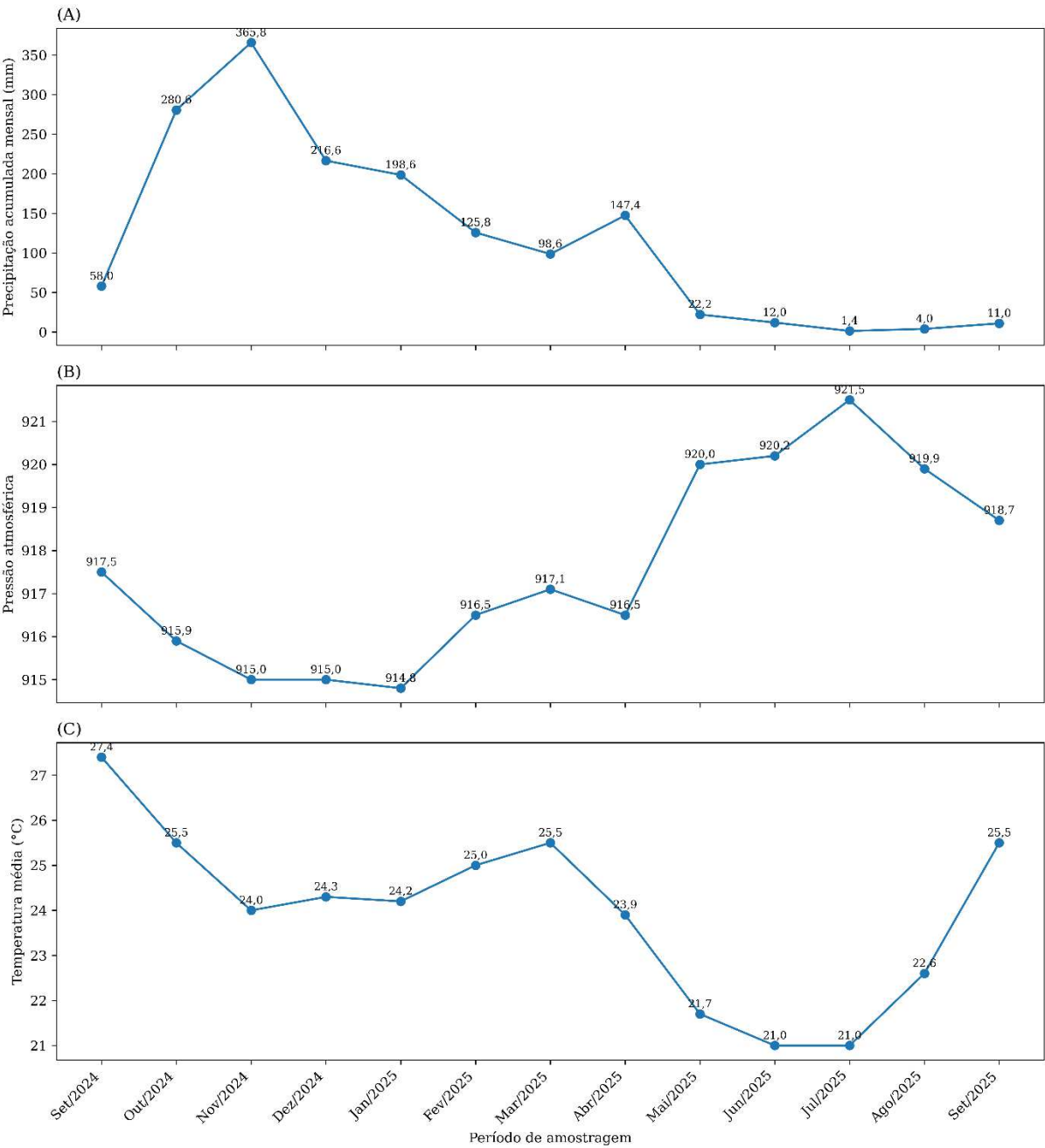


Fonte: o Autor

Observa-se que a espécie *P. macedoi* apresentou, de forma consistente, rendimento superiores à *P. fuliginum* em quase todos os pontos amostrais. Enquanto a *P. macedoi* atingiu picos de até 2,09% (Janeiro/25), a *P. fuliginum* manteve-se majoritariamente abaixo de 1,00% apresentando um declínio severo na 6ª coleta (0,23%).

Além dos dados obtidos no momento da coleta, a Figura 18 apresenta informações referentes à temperatura média mensal, à pluviosidade acumulada e à pressão atmosférica média na cidade de Uberlândia, fornecidas pelo Instituto Nacional de Meteorologia. Esses dados são fundamentais para entender melhor a resposta das espécies as variações sazonais do ambiente.

**Figura 18** – Variação mensal da precipitação acumulada (A), pressão atmosférica (B) e temperatura média (C) durante o período de setembro de 2024 a setembro de 2025.



Fonte: BRASIL, INMET

O primeiro aspecto que chama a atenção é que os maiores valores de rendimento do óleo essencial de *P. macedoi* foram observados durante períodos caracterizados por temperaturas mais amenas e maiores índices pluviométricos. Na terceira coleta (janeiro/2025), realizada durante a estação chuvosa, os rendimentos variam entre 1,51% e 2,09%, representando os

maiores valores registrados para a espécie. Janeiro apresentou elevada precipitação acumulada (198,6 mm) e alta umidade relativa do ar (76%), as folhas apresentaram o maior teor de umidade do período (87,6%). Esse resultado sugere que, a disponibilidade hídrica pode favorecer a atividade metabólica na *P. macedoi*, aumentando a produção de óleo essencial. Ambientes mais úmidos podem favorecer a biossíntese de compostos presentes em óleos essenciais em certas espécies de *Piper*, possivelmente como estratégia de defesa contra patógenos (fungos) que proliferam no calor úmido (Parmar *et al.*, 1997).

Entretanto, essa relação não parece ser exclusivamente dependente da precipitação. Na quinta coleta (maio/2025), realizada sob condições de baixa precipitação acumulada (22,2 mm) e temperaturas mais baixas (21,7 °C), os rendimentos permaneceram relativamente elevados, variando de 1,05 a 1,40%. Da mesma forma, na sexta coleta (julho/2025), período de estiagem severa (1,4 mm de precipitação acumulada), os rendimentos oscilaram entre 1,02 e 1,23%. Esses resultados demonstram que a *P. macedoi* apresenta certa estabilidade produtiva, respondendo melhor à elevada disponibilidade hídrica, mas ainda satisfatoriamente a períodos de maior seca.

Por outro lado, a *P. fuligineum* apresentou um comportamento distinto. Os rendimentos permaneceram relativamente constantes entre a primeira e a quinta coleta, variando de 0,46 a 0,99%, sem uma relação evidente com os índices de precipitação acumulada. O maior rendimento foi observado na terceira coleta (0,99%), durante o período chuvoso de janeiro, enquanto os menores valores, dessas cinco coletas, foram observados na quarta coleta (0,46 a 0,71%), realizada em março, quando ainda havia precipitação moderada (98,6 mm acumulados). Esses resultados sugerem que fatores adicionais, como o estágio fenológico, a idade foliar ou regulação genética das vias biossintéticas, podem exercer uma influência mais significativa sobre a produção de óleo essencial dessa espécie do que as variáveis climáticas analisadas isoladamente.

A coleta realizada em julho de 2025 merece destaque. Nesse período foram registrados os menores índices de precipitação (1,4 mm), temperaturas médias reduzidas (21,0 °C) e a maior pressão atmosférica do período (921,5 hPa). Nessas condições, a *P. fuligineum* apresentou os menores rendimentos observados em todo o estudo (0,23 a 0,25%). Em contraste, a *P. macedoi* manteve rendimentos superiores a 1,00%. Essa diferença evidencia respostas fisiológicas distintas das duas espécies frente às condições de seca, sugerindo que a *P. macedoi* possui maior plasticidade metabólica ou maior tolerância ao déficit hídrico.

A análise da umidade foliar também fornece informações relevantes. Em *P. macedoi*, os maiores rendimentos coincidiram com elevados teores de água nas folhas, especialmente na terceira coleta (87,6%). Já em *P. fuligineum*, não foi observada uma tendência semelhante. Por exemplo, na sexta coleta, apesar da umidade foliar permanecer elevada (75,4%), os rendimentos foram os menores do estudo. Esse comportamento indica que o teor de água nos tecidos vegetais, isoladamente, não explica as variações observadas na produção de óleo essencial de *P. fuligineum*.

De forma geral, os resultados sugerem que a sazonalidade climática influencia a produção de óleo essencial das duas espécies, porém de maneira distinta. *P. macedoi* demonstrou maior sensibilidade às variações ambientais, apresentando incrementos significativos na produção de óleo em períodos de elevada disponibilidade hídrica ou sob condições moderadas de estresse. Em contraste, *P. fuligineum* apresentou rendimentos mais estáveis ao longo do ano, exceto durante o período de estiagem mais intensa, indicando que fatores intrínsecos à espécie podem desempenhar papel mais importante na regulação da biossíntese de compostos voláteis do que as condições climáticas externas. Esses resultados reforçam a hipótese de que espécies morfologicamente semelhantes podem apresentar estratégias fisiológicas e metabólicas distintas frente às variações ambientais, aspecto particularmente relevante para a compreensão da ecologia química e da dinâmica metabólica do gênero *Piper*.

Outra forma de trabalhar com os dados, além da análise dos valores absolutos, existe a possibilidade de correlacionar a média dos rendimentos com os valores de precipitação, pressão e temperatura, utilizando a correlação de Pearson ( $r$ ) (Zar, 2010). A magnitude de correlação foi interpretada conforme Mukaka (2012), sendo considerada: muito fraca (0,00 a 0,19), fraca (0,20 a 0,39), moderada (0,40 a 0,59), forte (0,60 a 0,79) e muito forte (0,80 a 1,00), sejam valores positivos ou negativos. Os dados do coeficiente de Pearson correlacionando o rendimento médio, com as variáveis ambientais pode ser visto na tabela a seguir.



**Tabela 04** – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre as variáveis climáticas e o rendimento do óleo essencial de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum*.

| <i>Piper macedoi</i> |        | <i>Piper fuligineum</i> |        |
|----------------------|--------|-------------------------|--------|
| Variável             | r      | Variável                | r      |
| Precipitação         | 0,441  | Precipitação            | 0,501  |
| Pressão atmosférica  | -0,363 | Pressão atmosférica     | -0,741 |
| Temperatura média    | -0,417 | Temperatura média       | 0,434  |

Fonte: o Autor

A análise de correlação de Pearson revelou que o rendimento do óleo essencial de *P. macedoi* apresentou correlação positiva moderada com a precipitação acumulada ( $r = 0,441$ ), sugerindo uma tendência de aumento na produção de óleo em períodos de maior disponibilidade hídrica. Em contrapartida, foram observadas correlações negativas moderadas com a pressão atmosférica ( $r = -0,363$ ) e a temperatura média ( $r = -0,417$ ), indicando que condições associadas a temperaturas mais amenas e menor pressão atmosférica podem favorecer o acúmulo de metabólitos voláteis nessa espécie. Esses resultados corroboram a hipótese de que fatores ambientais relacionados ao regime hídrico exercem influência sobre a biossíntese de compostos secundários em *P. macedoi*.

Para *P. fuligineum*, observou-se correlação positiva moderada entre o rendimento do óleo essencial e a precipitação acumulada ( $r = 0,501$ ), bem como com a temperatura média ( $r = 0,434$ ). Por outro lado, a pressão atmosférica apresentou correlação negativa forte ( $r = -0,741$ ), representando a associação mais intensa observada entre as variáveis analisadas. Esse resultado sugere que condições atmosféricas associadas ao período seco podem exercer influência negativa sobre a produção de óleo essencial nessa espécie.

Esse padrão é particularmente evidente na sexta coleta, realizada em julho de 2025, quando foram registrados os menores índices pluviométricos e os maiores valores de pressão atmosférica de todo o período experimental. Nessa ocasião, *P. fuligineum* apresentou os menores rendimentos de óleo essencial do estudo, enquanto *P. macedoi* manteve rendimentos relativamente elevados. Tal comportamento evidencia respostas fisiológicas distintas às variações ambientais, indicando que *P. macedoi* apresenta maior estabilidade produtiva frente às condições de estiagem, ao passo que *P. fuligineum* demonstra maior sensibilidade às alterações climáticas sazonais.

Embora os coeficientes de correlação indiquem tendências consistentes entre as variáveis climáticas e o rendimento dos óleos essenciais, os resultados devem ser interpretados com cautela devido ao número reduzido de pontos amostrais. Ainda assim, os dados sugerem que a sazonalidade climática desempenha papel relevante na modulação da produção de metabólitos voláteis nas espécies estudadas, reforçando a importância da influência ambiental sobre o metabolismo secundário de representantes do gênero *Piper*.

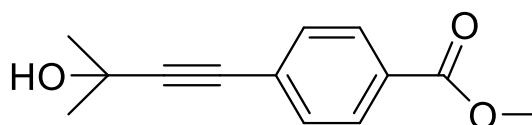
## 6.2. Caracterização Química dos Óleos Essenciais

A caracterização química dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia a gás com detector por ionização em chama (CG-FID). A anotação dos compostos foi baseada na comparação dos espectros de massas e dos índices de retenção obtidos experimentalmente com dados disponíveis na literatura (Adams, 2017) e em bibliotecas espectrais especializadas (NIST 14 e NIST 14s). Embora o CG-EM seja uma ferramenta extremamente eficiente para a anotação dos compostos voláteis, as áreas dos picos cromatográficos obtidas por essa técnica podem não refletir adequadamente as proporções relativas dos compostos presentes na amostra. Assim, para a determinação quantitativa relativa dos compostos, o detector por ionização em chama constitui uma alternativa mais apropriada, devido a apresentar uma resposta mais uniforme para a maioria dos compostos orgânicos contendo ligações carbono-hidrogênio, proporcionando maior confiabilidade para a determinação das abundâncias relativas dos constituintes presentes em misturas complexas, como os óleos essenciais (Adams, 2017). Dessa forma, enquanto o CG-EM foi empregado para a anotação dos compostos, o CG-FID foi utilizado para a determinação da porcentagem de cada composto.

Adicionalmente, a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi empregada para confirmar a estrutura do composto majoritário presente nos óleos essenciais. Embora a combinação entre espectrometria de massas e índices de retenção forneça elevado grau de confiabilidade na identificação de metabólitos voláteis, a RMN é considerada uma das técnicas mais robustas para elucidação estrutural, uma vez que fornece informações diretas sobre o ambiente químico dos núcleos atômicos, permitindo avaliar a conectividade molecular, a presença de grupos funcionais e alguns aspectos estereoquímicos da estrutura (Silverstein *et al.*, 2014). Assim, a utilização da RMN como técnica complementar permitiu confirmar a

identidade do constituinte majoritário previamente anotado de forma errônea por CG-EM (Figura 19), aumentando a confiabilidade da caracterização química realizada nesse estudo.

**Figura 19** – Fórmula estrutural do benzoato anotado de forma errônea por CG-EM.



4-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)benzoato de metila

Fonte: o Autor

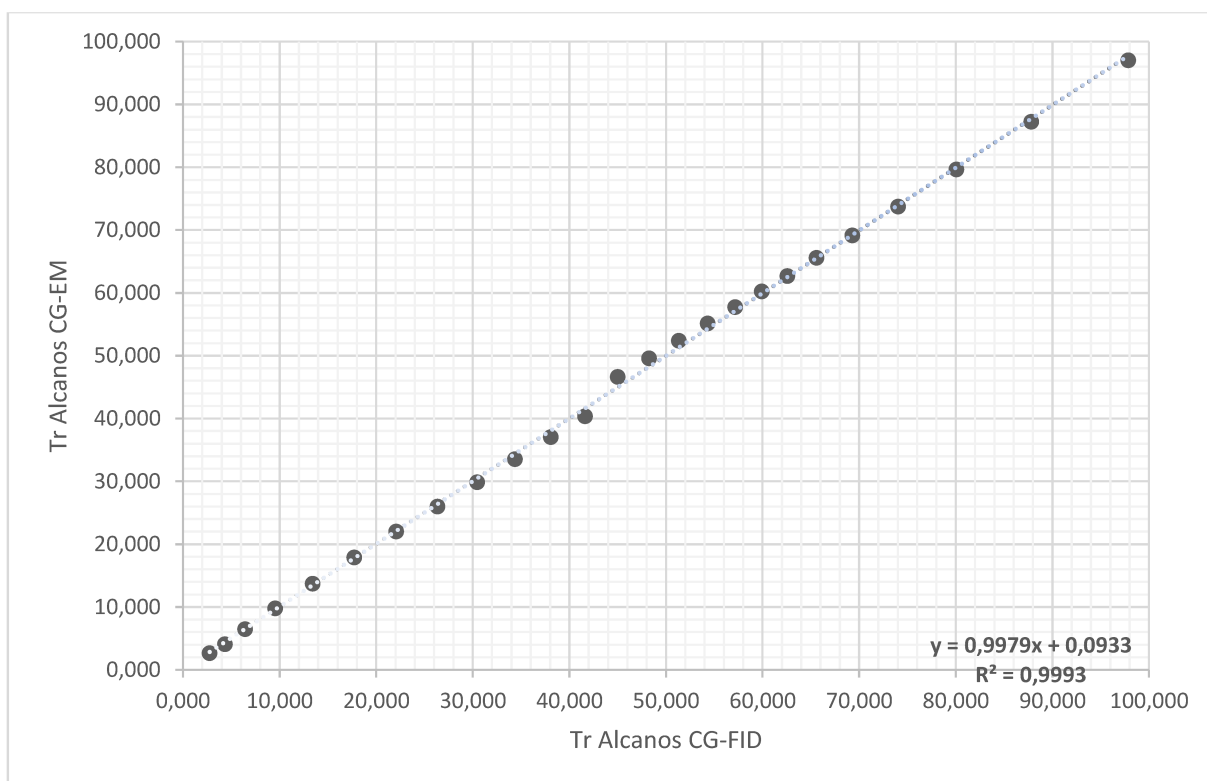
Durante a anotação dos constituintes por CG-EM, o composto 4-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)benzoato de metila foi inicialmente proposto pelo software de processamento espectral, apresentando um índice de similaridade (IS) de 85%. Embora esse valor esteja próximo da faixa considerada aceitável para anotações preliminares, a identificação despertou atenção por dois motivos principais. Primeiramente, o composto apresentava abundância relativa superior a 25% no óleo essencial da primeira coleta de *Piper macedoi*, configurando-se como um dos constituintes majoritários da amostra. Além disso, a estrutura proposta continha uma ligação tripla carbono-carbono (alcino), funcionalidade pouco comum entre os constituintes predominantes dos óleos essenciais do gênero *Piper*, cuja composição é geralmente dominada por terpenoides. Diante dessas evidências, optou-se por realizar análises de RMN do óleo essencial, visando confirmar a identidade do composto. A interpretação conjunta dos espectros de RMN e do espectro de massas demonstrou que a estrutura inicialmente sugerida pela biblioteca espectral não era compatível com os dados experimentais, permitindo a identificação do constituinte como 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila, posteriormente corroborada por dados descritos na literatura.

### 6.2.1. Correlação CG-FID e CG-EM

As técnicas de cromatografia a gás foram realizadas em equipamentos diferentes, utilizando gases de arraste diferentes sendo assim, é preciso buscar formas de correlacionar os

compostos de ambas as técnicas. Para isso, foram utilizadas duas abordagens para aproximar os tempos de retenção das duas análises. A primeira foi a injeção do padrão de alcanos nos dois equipamentos, utilizando as mesmas condições cromatográficas empregadas nas análises das amostras. A partir dos tempos de retenção obtidos para cada alcano, foi possível estabelecer uma correlação entre os sistemas cromatográficos por meio de regressão linear, gerando uma equação matemática capaz de converter os tempos de retenção observados no CG-FID para seus valores correspondentes no CG-EM. O gráfico gerado e a equação (canto inferior direito) utilizada para a correlação, podem ser vistos na figura abaixo.

**Figura 20** – Relação linear entre os tempos de retenção dos padrões de alcanos obtidos por CG-FID e CG-EM.



Fonte: o Autor

Após a correlação inicial dos tempos de retenção obtida por regressão linear, foi empregada uma segunda etapa de ajuste visando aumentar a precisão da correspondência entre os sistemas cromatográficos. Para isso, utilizou-se o Eicosano 99% (Sigma-Aldrich) como padrão interno. Os tempos de retenção observados para esse composto em cada uma das

técnicas foram comparados ao valor de referência descrito por Adams (2017) ( $T_r = 47,3300$  min), permitindo a aplicação de um fator de correção adicional. Esse procedimento possibilitou aproximar os tempos de retenção experimentais dos valores esperados na literatura, refinando a correlação entre as análises por CG-EM e CG-FID e aumentando a confiabilidade na atribuição dos compostos identificados. A Tabela 05 mostra os valores obtidos e os fatores de correção utilizados.

**Tabela 05** – Valores de tempo de retenção do eicosano utilizados para ajuste dos sistemas cromatográficos CG-EM e CG-FID.

|               | <b><math>T_r</math> Literatura</b> | <b><math>T_r</math> Obtido</b> | <b>Fator de Correção<br/>(Diferença)</b> |
|---------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|
| <b>CG-EM</b>  | 47,3300                            | 42,8620                        | 4,4680                                   |
| <b>CG-FID</b> | 47,3300                            | 48,2370                        | -0,9070                                  |

Fonte: o Autor

A combinação da regressão linear obtida a partir dos tempos de retenção dos alcanos com o ajuste adicional utilizando o eicosano como padrão interno permitiu estabelecer uma correspondência confiável entre os cromatogramas obtidos por CG-EM e CG-FID. Esse procedimento foi fundamental para integrar as informações qualitativas e quantitativas geradas por ambas as técnicas, possibilitando a associação dos compostos identificados por espectrometria de massas aos respectivos picos quantificados por FID. Dessa forma, foi possível aumentar a confiabilidade da caracterização química dos óleos essenciais, minimizando potenciais discrepâncias decorrentes da utilização de equipamentos, detectores e condições cromatográficas distintas.

### 6.2.2. Anotação dos Compostos

Para realizar a anotação dos compostos foram adotados alguns critérios, o primeiro foi o Índice de Similaridade (SI, “*similarity index*”), sendo considerado compostos que apresentaram  $SI \geq 85\%$ .

O segundo fator utilizado foi o índice aritmético (AI, “*arithmetic index*”) que foi calculado utilizando os tempos de retenção do padrão de alcanos utilizado na análise. Os valores obtidos foram comparados com os tabelados no livro *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, edição 4.1, do autor Robert P. Adams (2017).

Por fim, o terceiro fator a ser utilizado é a literatura. Como comentado anteriormente, a composição dos óleos essenciais das folhas de *P. macedoi* variou entre os artigos, então fatores climáticos e ambientais influenciam diretamente na síntese de metabólitos secundários, podendo levar a aparecimento de compostos não relatados na literatura. Além disso, é muito comum ao gênero *Piper*, a presença de quimiotipos (BENOMARI et al., 2023). Essa presença de quimiotipos dentro do gênero já foi bastante documentada, sendo vista em mais de uma espécie pertencente ao gênero *Piper*, como a *Piper aduncum*, onde o óleo essencial obtido de espécies da região amazônica apresenta 80-90% de dillapiol (um fenilpropanoide). Já os óleos obtidos a partir da espécie em outras regiões do Brasil, trazem o nerolidol (um sesquiterpeno) como principal constituinte levando a diferentes atividades biológicas (GAIA et al., 2014). Outros exemplos são: a *Piper gaudichaudianum* (SANTOS et al., 2014) e a *Piper marginatum*. Essa última, conhecida por apresentar sete quimiotipos diferentes (ANDRADE et al., 2008). De toda forma, é esperado que para uma mesma espécie, as classes de metabólitos se mantenham as mesmas. Nesse caso, a literatura indica presença de terpenos, sesquiterpenos e arilpropanoides, então isso foi levado em conta como fator discriminante na anotação dos compostos.

O número de compostos detectados e anotados nos óleos essenciais de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum* durante as seis coletas realizadas é exibido na Tabela 06. A análise desses dados mostra que, apesar de ambas as espécies pertencerem ao mesmo gênero e terem semelhanças morfológicas, elas respondem de forma diferente às variações sazonais, principalmente no que se refere à complexidade química dos óleos essenciais.

**Tabela 06** – Número de compostos detectados e anotados referentes a cada análise, por meio de CG-EM.

| <b>Código</b> | <b>Espécie (Coleta)</b>          | <b>Compostos Detectados</b> | <b>Compostos Anotados</b> |
|---------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| MAC1          | <i>P. macedoi</i> (1ª Coleta)    | 33                          | 26                        |
| MAC2          | <i>P. macedoi</i> (2ª Coleta)    | 36                          | 28                        |
| MAC3          | <i>P. macedoi</i> (3ª Coleta)    | 35                          | 22                        |
| MAC4          | <i>P. macedoi</i> (4ª Coleta)    | 33                          | 22                        |
| MAC5          | <i>P. macedoi</i> (5ª Coleta)    | 36                          | 26                        |
| MAC6          | <i>P. macedoi</i> (6ª Coleta)    | 37                          | 29                        |
| FLG1          | <i>P. fuligineum</i> (1ª Coleta) | 32                          | 19                        |
| FLG2          | <i>P. fuligineum</i> (2ª Coleta) | 36                          | 26                        |
| FLG3          | <i>P. fuligineum</i> (3ª Coleta) | 35                          | 23                        |
| FLG4          | <i>P. fuligineum</i> (4ª Coleta) | 36                          | 30                        |
| FLG5          | <i>P. fuligineum</i> (5ª Coleta) | 47                          | 20                        |
| FLG6          | <i>P. fuligineum</i> (6ª Coleta) | 46                          | 21                        |

Fonte: o Autor

Para a *Piper macedoi*, a quantidade de compostos detectados permaneceu bastante estável ao longo das coletas, oscilando entre 33 e 37 compostos. Esse comportamento indica uma relativa estabilidade do metabolismo secundário da espécie durante o período analisado. Em contrapartida, o total de compostos anotados apresentou variações mais significativas, com diminuição nas terceira e quarta coletas. Essa redução pode estar associada à menor presença relativa de certos componentes durante esses períodos, o que torna sua identificação confiável por CG-EM mais desafiadora, especialmente em casos de picos de baixa intensidade.

Por outro lado, para *Piper fuligineum*, nota-se um padrão mais irregular. Apesar de, nas primeiras coletas, a quantidade de compostos detectados ser similar à registrada para *P. macedoi*, nas 5ª e 6ª coletas, há um crescimento significativo no número de compostos detectados, atingindo 46 e 47 compostos, respectivamente. Contudo, esse crescimento não é

refletido na quantidade de compostos anotados, que continua sendo relativamente baixa (< 50%). Esse resultado sugere que, durante esses períodos, a espécie exibe uma maior diversidade química aparente.

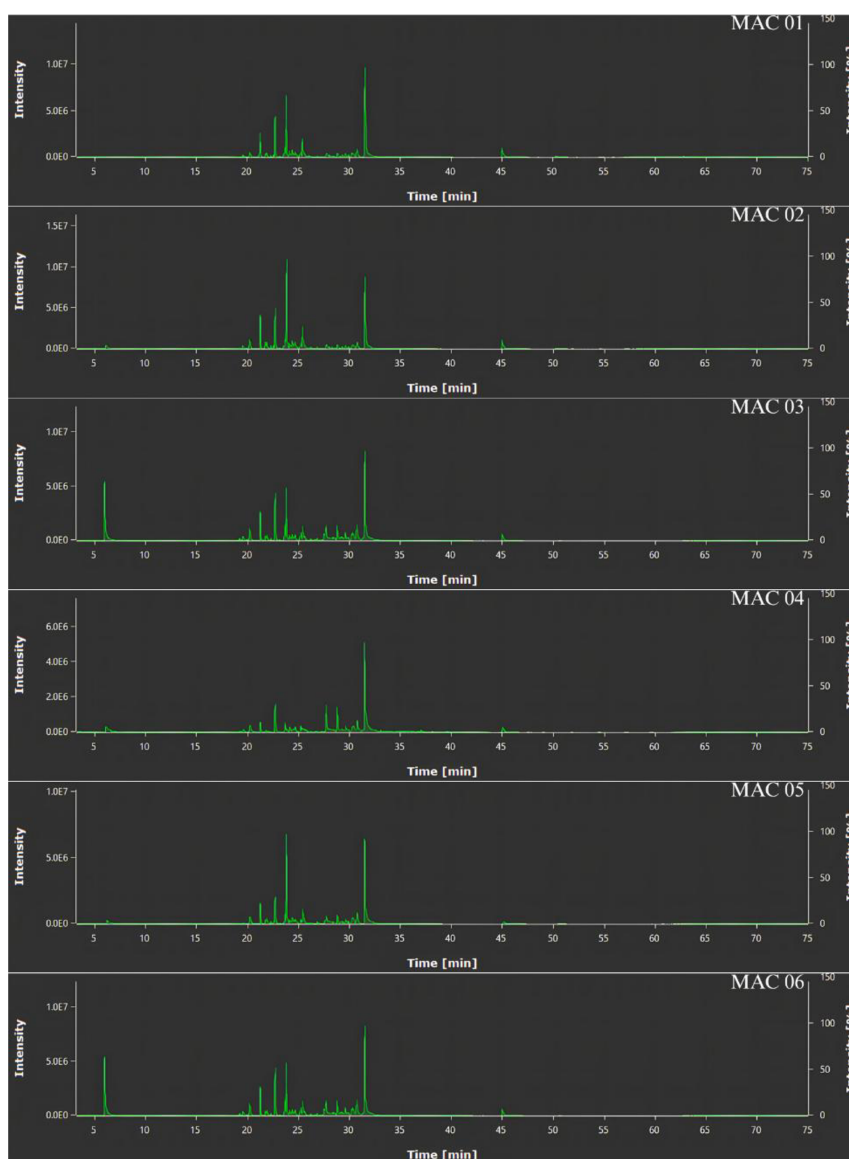
Ao analisar esses dados juntamente com os rendimentos dos óleos essenciais, percebe-se que um maior número de compostos detectados não está necessariamente ligado a maiores rendimentos. Em *Piper macedoi*, os períodos de maior rendimento geralmente coincidem com um maior número de compostos registrados, indicando uma composição química mais focada em constituintes predominantes. Em contrapartida, na *P. fuligineum*, particularmente, nas coletas mais recentes, a combinação de baixo rendimento e alto número de compostos identificados, indica uma maior dispersão metabólica, com a produção de diversos metabólitos em pequenas quantidades.

Essas diferenças destacam que, mesmo com a proximidade taxonômica, *Piper macedoi* e *Piper fuligineum* adotam estratégias metabólicas diferentes em resposta às mudanças ambientais. Assim, a análise conjunta do número de compostos e rendimentos ajuda a entender melhor como a sazonalidade afeta a produção e a diversidade química dos óleos essenciais dessas espécies.

Sobre o CG-EM e os compostos anotados, eles serão abordados individualmente para cada espécie e ao fim poderemos comparar o perfil químico das duas. Dessa forma, a Figura 21 traz os cromatogramas obtidos no CG-EM para os óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi*.



**Figura 21** – Cromatogramas obtidos por CG-EM dos óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* coletadas durante o período experimental.



Fonte: o Autor

De maneira geral, observa-se elevada similaridade entre os perfis cromatográficos das diferentes coletas, indicando a manutenção dos principais constituintes químicos produzidos pela espécie ao longo do ano. Em todas as amostras, os sinais de maior intensidade encontram-se concentrados principalmente entre 20 e 35 minutos de tempo de retenção ( $T_R$ ), sugerindo que os constituintes majoritários do óleo essencial se encontram distribuídos dentro de uma mesma faixa cromatográfica.

Embora o perfil cromatográfico geral tenha permanecido relativamente constante entre as coletas, foram observadas diferenças na intensidade relativa de diversos picos, evidenciando alterações quantitativas na composição química dos óleos essenciais. Destacam-se as variações observadas nos compostos eluídos entre aproximadamente 22 e 25 minutos, bem como no pico majoritário presente próximo a 31 minutos, cujas intensidades variaram ao longo do período amostral. Essas modificações sugerem que fatores sazonais influenciaram a biossíntese e o acúmulo dos metabólitos secundários produzidos pela espécie, afetando principalmente suas concentrações relativas.

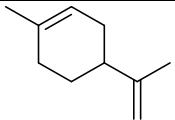
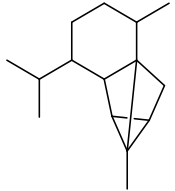
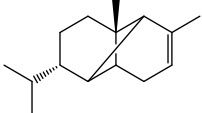
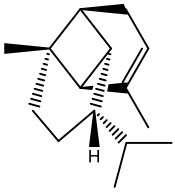
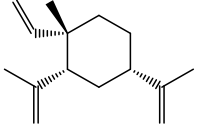
Além das alterações observadas nos constituintes majoritários, nota-se também a ocorrência de diferenças na intensidade de picos de menor abundância distribuídos ao longo do cromatograma. Esse comportamento indica que a sazonalidade não influenciou apenas os compostos predominantes, mas também metabólitos produzidos em menores concentrações, refletindo ajustes metabólicos da planta em resposta às condições ambientais vigentes em cada período de coleta.

Apesar dessas variações quantitativas, a manutenção dos principais sinais cromatográficos ao longo de todo o período experimental sugere que *P. macedoi* apresenta um perfil químico relativamente estável, sendo as alterações sazonais observadas mais relacionadas à modulação das abundâncias relativas dos constituintes do que ao aparecimento ou desaparecimento de compostos. Esse comportamento tem sido frequentemente relatado para espécies aromáticas tropicais, nas quais fatores ambientais atuam principalmente regulando o fluxo metabólico das rotas biossintéticas responsáveis pela produção de metabólitos secundários, sem promover mudanças substanciais na composição qualitativa dos óleos essenciais (Figueiredo *et al.*, 2008).

Na Tabela 07 encontram-se os compostos anotados ao longo das seis coletas, junto com suas respectivas fórmulas estruturais, classes e porcentagens relativas, retiradas do CG-FID conforme comentado anteriormente. A tabela com mais informações como  $T_R$  e SI para cada composto ao longo de cada coleta, pode ser encontrada no Apêndice.

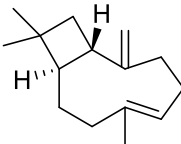
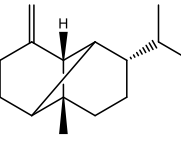
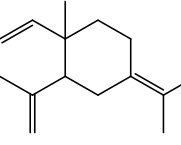
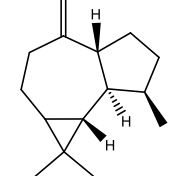
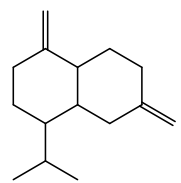
**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

(Continua)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                          | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|-------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                       |                    |                                                                                       | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC06 |
| 01     | D-Limoneno (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )         | Monoterpeno        |    | -                             | 1,08  | 0,70  | 1,02  | 4,93  | 2,35  |
| 02     | Ciclosativeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )      | Sesquiterpeno      |    | -                             | -     | 0,25  | -     | -     | -     |
| 03     | $\alpha$ -Ylangeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |    | -                             | 0,25  | -     | -     | -     | 0,20  |
| 04     | $\alpha$ -Copaeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )  | Sesquiterpeno      |   | 0,88                          | 0,89  | 0,78  | 0,78  | 0,63  | 0,68  |
| 05     | $\beta$ -Elemeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )   | Sesquiterpeno      |  | 1,19                          | 1,49  | 2,08  | 1,87  | 1,52  | 1,49  |

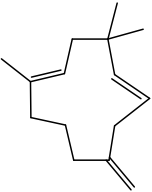
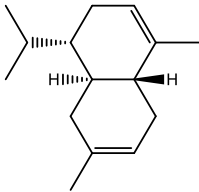
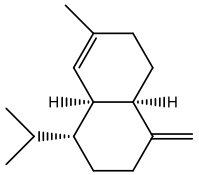
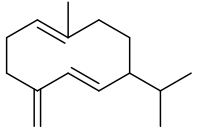
**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                                | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |        |
|--------|-------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |                                                             |                    |                                                                                       | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC 06 |
| 06     | Cariofileno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )              | Sesquiterpeno      |    | 4,72                          | 4,64  | 4,86  | 4,55  | 3,29  | 4,34   |
| 07     | $\beta$ -Copaeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )         | Sesquiterpeno      |    | 0,45                          | 0,64  | 0,60  | 0,18  | 0,34  | 0,48   |
| 08     | $\gamma$ -Elemeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )        | Sesquiterpeno      |    | 0,12                          | 0,14  | -     | -     | 0,10  | 0,16   |
| 09     | Aromadendreno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )            | Sesquiterpeno      |   | -                             | 0,14  | -     | -     | -     | 0,20   |
| 10     | $\varepsilon$ -Muuroleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |  | -                             | 0,16  | -     | -     | 0,11  | -      |

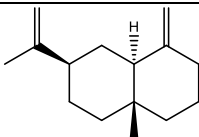
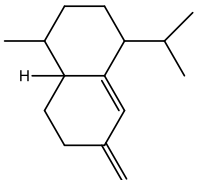
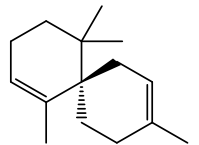
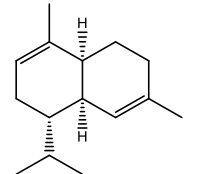
**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                           | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |        |
|--------|--------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |                                                        |                    |                                                                                       | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC 06 |
| 11     | humuleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )            | Sesquiterpeno      |    | 8,44                          | 7,11  | 7,35  | 8,11  | 5,10  | 7,16   |
| 12     | $\beta$ -Cadineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )   | Sesquiterpeno      |    | 0,41                          | 0,37  | -     | -     | -     | -      |
| 13     | $\gamma$ -Muuroleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |   | 2,55                          | 1,70  | 1,83  | 1,95  | 1,70  | 1,66   |
| 14     | Germacreno D (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )        | Sesquiterpeno      |  | 13,56                         | 27,36 | 32,31 | 23,44 | 19,49 | 22,23  |

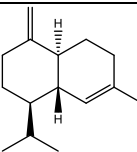
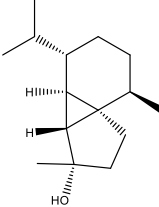
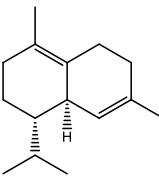
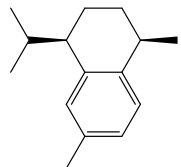
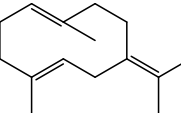
**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                                | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |        |
|--------|-------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |                                                             |                    |                                                                                       | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC 06 |
| 16     | $\beta$ -Selineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )        | Sesquiterpeno      |    | 1,85                          | 2,33  | 11,41 | 3,78  | 1,44  | 1,80   |
| 17     | Biciclo-sesquifelandreno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |    | 0,30                          | 2,32  | -     | -     | 2,13  | 0,41   |
| 18     | $\alpha$ -Chamigreno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )     | Sesquiterpeno      |   | 4,17                          | 1,50  | 3,52  | 1,21  | 1,69  | 3,72   |
| 19     | $\alpha$ -Muuroleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )      | Sesquiterpeno      |  | 1,20                          | 2,22  | 1,43  | 2,17  | 1,83  | 2,52   |

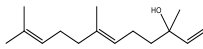
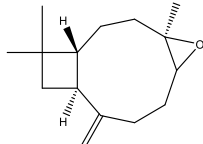
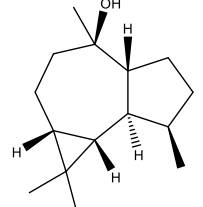
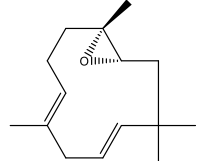
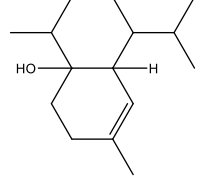
**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                          | Classe do Composto      | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |        |
|--------|-------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |                                                       |                         |                                                                                       | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC 06 |
| 20     | $\gamma$ -Cadineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno           |    | 1,95                          | 2,46  | 2,78  | 3,94  | 1,85  | 2,36   |
| 21     | Cubebol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)           | Sesquiterpeno oxigenado |    | -                             | -     | 3,93  | 0,49  | -     | -      |
| 22     | $\delta$ -Cadineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno           |   | 4,41                          | 4,16  | -     | -     | 3,36  | 3,79   |
| 23     | Cis-calameneno (C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> )     | Sesquiterpeno aromático |  | -                             | -     | 0,69  | 0,39  | -     | 0,65   |
| 24     | Germacreno B (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )       | Sesquiterpeno           |  | 0,22                          | 0,26  | -     | -     | 1,32  | 0,37   |

**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

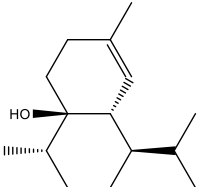
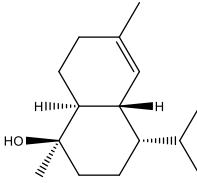
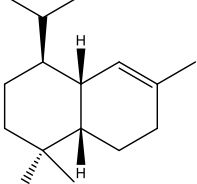
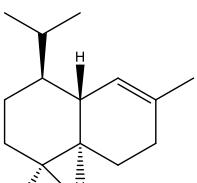
(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                               | Classe do Composto      | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |        |
|--------|------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |                                                            |                         |                                                                                       | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC 06 |
| 25     | ( <i>E</i> )-Nerolidol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O) | Sesquiterpeno oxigenado |    | -                             | -     | -     | -     | -     | 1,39   |
| 26     | Óxido de cariofileno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O)   | Sesquiterpeno oxigenado |    | -                             | 0,14  | 0,34  | 0,72  | 3,84  | 3,37   |
| 27     | Globulol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)               | Sesquiterpeno oxigenado |    | -                             | -     | -     | -     | 0,86  | -      |
| 28     | Epóxido de humuleno II (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O) | Sesquiterpeno oxigenado |  | 0,97                          | 0,34  | 0,471 | 0,78  | 1,54  | 1,15   |
| 29     | 1,10-di-epi-Cubenol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)    | Sesquiterpeno oxigenado |  | 0,45                          | 0,04  | 0,60  | 0,74  | 0,68  | 0,63   |



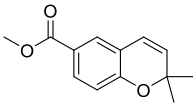
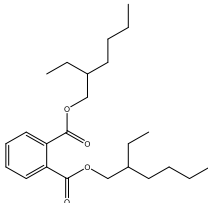
**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                          | Classe do Composto      | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |        |
|--------|-------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |                                                       |                         |                                                                                       | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC 06 |
| 30     | 1-epi-Cubenol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)     | Sesquiterpeno oxigenado |    | 0,59                          | 0,51  | 0,72  | 1,04  | 1,02  | 0,93   |
| 31     | $\tau$ -Cadinol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)   | Sesquiterpeno oxigenado |    | 1,95                          | 0,32  | -     | 2,21  | 2,12  | 0,54   |
| 32     | $\delta$ -Cadinol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O) | Sesquiterpeno oxigenado |   | 0,94                          | 1,45  | 0,81  | 1,01  | 1,04  | 1,75   |
| 33     | $\alpha$ -Cadinol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O) | Sesquiterpeno oxigenado |  | 3,68                          | 2,01  | 2,14  | 2,89  | 3,79  | 3,13   |

**Tabela 07** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi*.

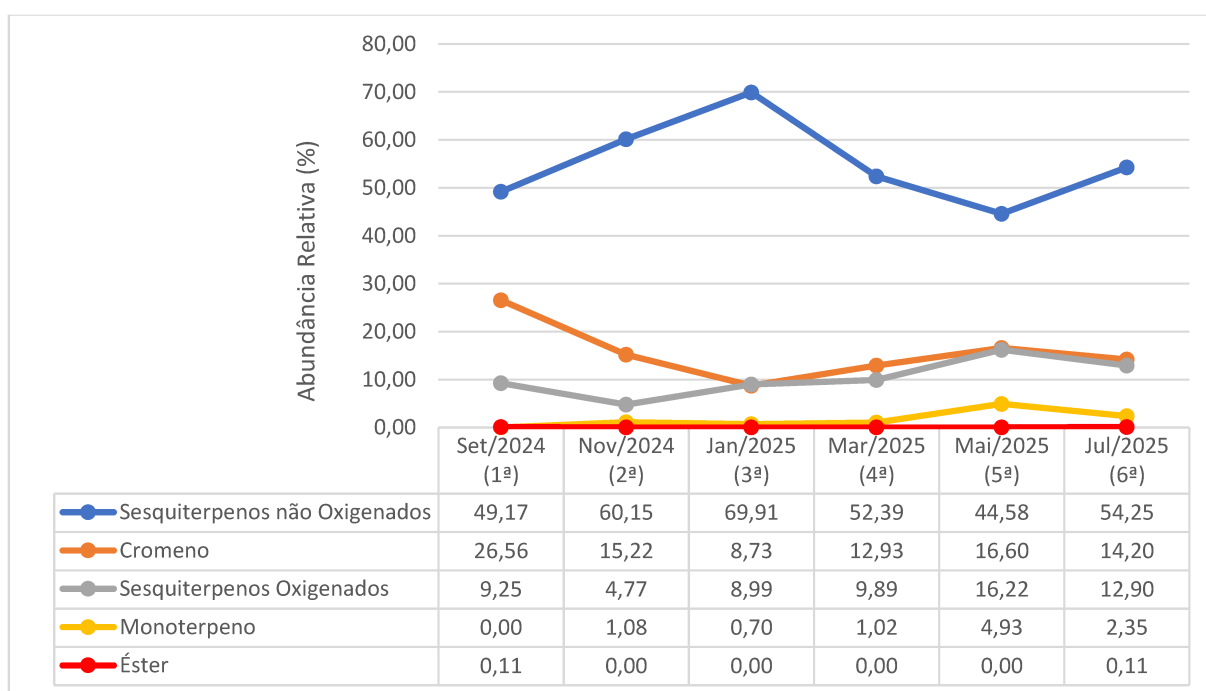
(Conclusão)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                                                                                | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                   | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |        |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |                                                                                                             |                    |                                                                                     | MAC01                         | MAC02 | MAC03 | MAC04 | MAC05 | MAC 06 |
| 34     | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila (C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> )            | Cromeno            |  | 26,56                         | 15,22 | 8,73  | 12,93 | 16,60 | 14,20  |
| 35     | Éster bis(2-etil-hexílico) ácido 1,4-benzenodicarboxílico (C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub> ) | Éster aromático    |  | 0,11                          | -     | -     | -     | -     | 0,11   |

Fonte: o Autor

A análise por CG-EM permitiu a anotação de 36 constituintes químicos nos óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* ao longo das seis coletas realizadas durante o estudo sazonal. Os compostos identificados pertencem predominantemente à classe dos sesquiterpenos, incluindo hidrocarbonetos sesquiterpênicos e sesquiterpenos oxigenados, além da ocorrência de monoterpenos, cromenos e ésteres aromáticos em menores proporções. De maneira geral, observou-se elevada similaridade qualitativa entre as amostras, uma vez que a maioria dos constituintes foi detectada em mais de uma coleta, indicando a manutenção de um perfil químico característico da espécie ao longo do período avaliado. Entretanto, diferenças na ocorrência e abundância relativa de determinados compostos evidenciam a influência de fatores sazonais sobre o metabolismo secundário da planta.

**Figura 22** – Distribuição sazonal das classes químicas presentes no óleo essencial de *Piper macedoi* ao longo das seis coletas.



Fonte: o Autor

A distribuição das classes químicas demonstra um predomínio dos sesquiterpenos nos óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* durante todo o período de estudo (Figura 22). Os sesquiterpenos não oxigenados constituíram a principal classe de metabólitos secundários em todas as coletas, variando entre 44,58–e 69,91% da composição total dos óleos essenciais. As

maiores proporções foram observadas na terceira coleta (69,91%) e na segunda coleta (60,15%), enquanto os menores valores foram registrados na quinta coleta (44,58%). Os sesquiterpenos oxigenados também estiveram presentes em todas as amostras, embora em menores proporções, variando de 4,77-a 16,22%. Em conjunto, esses resultados demonstram que a rota biossintética dos sesquiterpenos constituiu a principal fonte de metabólitos voláteis para a espécie ao longo do período avaliado.

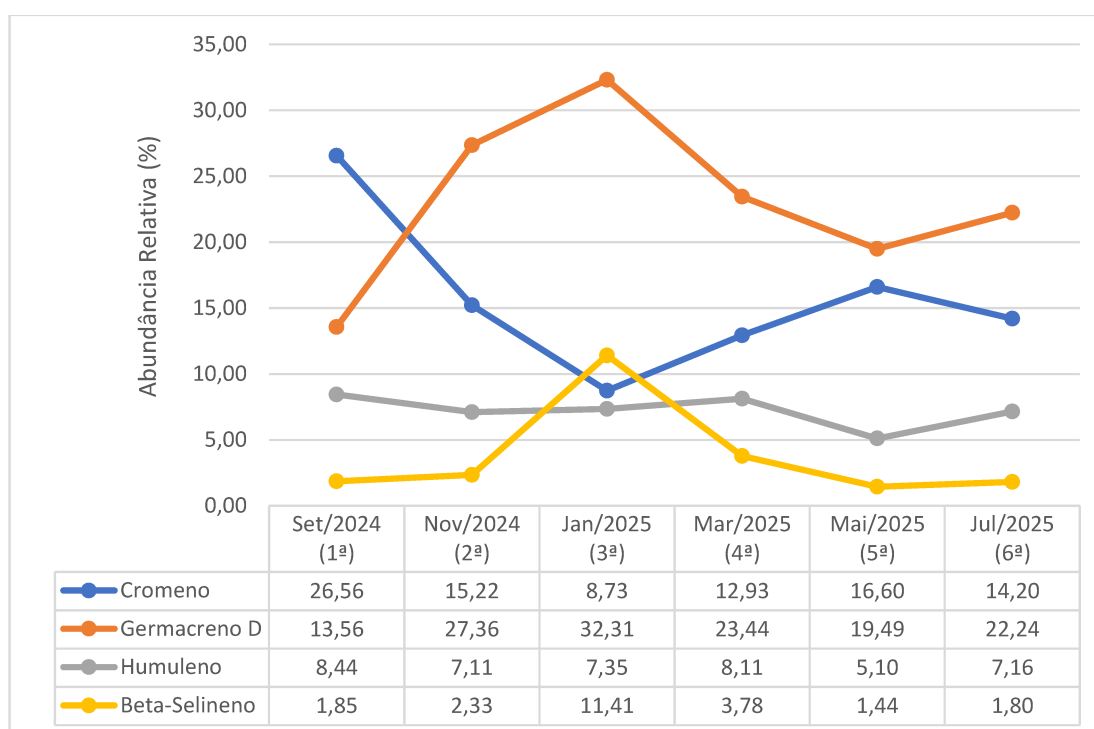
Além dos sesquiterpenos, observou-se uma presença expressiva do cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila, cuja contribuição variou entre 8,73 e 26,56% ao longo das coletas. A elevada abundância desse composto evidencia sua relevância para o perfil químico da espécie, sendo responsável por parcela significativa da composição dos óleos essenciais em todos os períodos avaliados. Em contraste, os monoterpenos foram detectados em baixas concentrações, não chegando a 5,00% da composição total, resultado diferente do relatado na literatura encontrada para a espécie. Por fim, traços de um éster aromático foi observado em duas das seis coletas. Esse padrão geral, reforça a predominância do metabolismo sesquiterpênico na *P. macedoi*, embora indique a contribuição complementar de outras rotas biossintéticas para a composição final dos óleos essenciais.

Quando comparamos esse perfil químico de classes de metabólitos, com a literatura, percebemos uma ausência de arilpropanoides e uma baixa presença de monoterpenos, algo que difere ao que é relatado na revisão bibliográfica realizada. Essas diferenças reforçam duas possibilidades: uma forte influência do local de coleta na constituição dos óleos essenciais, ou, como comentado na própria revisão, a existência de quimiotipos, que levam a composições diferentes de óleos para espécies idênticas.

As variações observadas entre as classes químicas ao longo das coletas sugerem uma modulação sazonal da atividade metabólica da espécie. Observa-se, por exemplo, que os períodos de maior abundância de sesquiterpenos não oxigenados coincidem com menores proporções do cromeno, enquanto aumentos na participação dos sesquiterpenos oxigenados tendem a ocorrer concomitantemente à redução dos sesquiterpenos hidrocarbonados. Esse comportamento pode refletir alterações na atividade enzimática das vias terpênicas, especialmente em etapas relacionadas à oxidação de esqueletos sesquiterpênicos, fenômeno frequentemente observado em plantas aromáticas submetidas a diferentes condições ambientais (Figueiredo *et al.*, 2008).

Sobre os principais constituintes, a Figura 23 traz os três principais constituintes ao que se refere a abundância em cada coleta e suas variações ao longo das seis coletas. Cabe ressaltar que para cinco coletas o germacreno D, o cromeno (2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila) e o humuleno aparecem como os três principais constituintes, mudando somente a posição de maior abundância entre o cromeno e o germacreno D. A única exceção ocorre na terceira coleta, onde o  $\beta$ -selineno aparece como terceiro principal constituinte no lugar do humuleno, este que por sua vez mantém uma porcentagem considerável.

**Figura 23** – Distribuição sazonal dos principais constituintes químicos do óleo essencial de *Piper macedoi* ao longo das seis coletas.

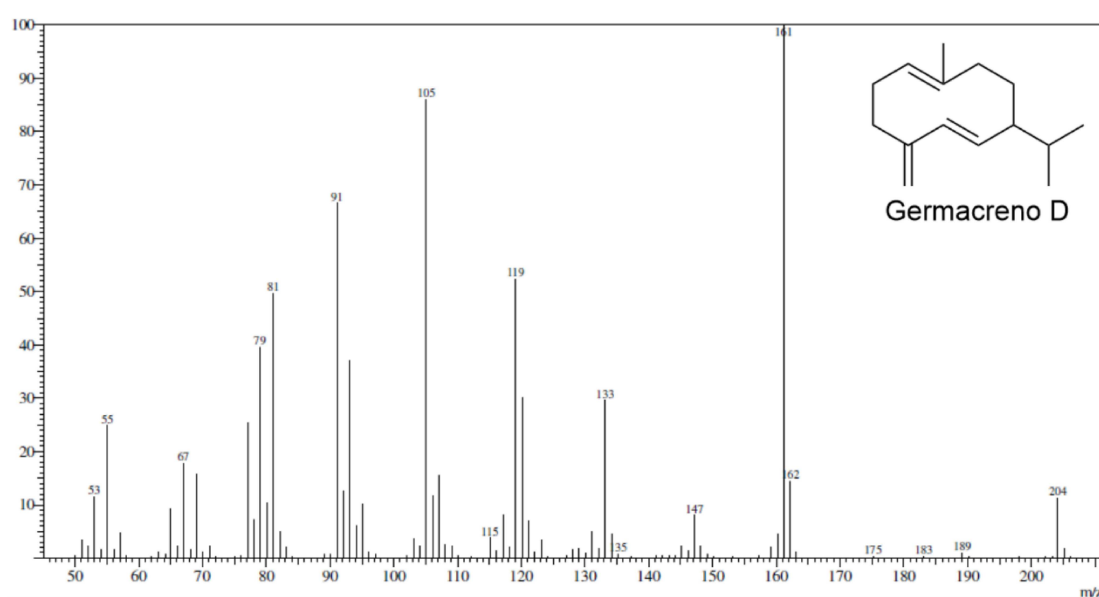


Fonte: o Autor

Entre os constituintes anotados, o germacreno D destacou-se como um dos principais componentes dos óleos essenciais das folhas de *P. macedoi*, estando presente em todas as coletas realizadas. Sua abundância relativa apresentou variação considerável ao longo do período amostral, com valores entre 13,56 e 32,31%, sendo observadas as maiores concentrações na terceira coleta (32,31%) e na segunda coleta (27,36%). Nas demais coletas, o composto mante-se como o primeiro ou segundo principal constituinte em termos de

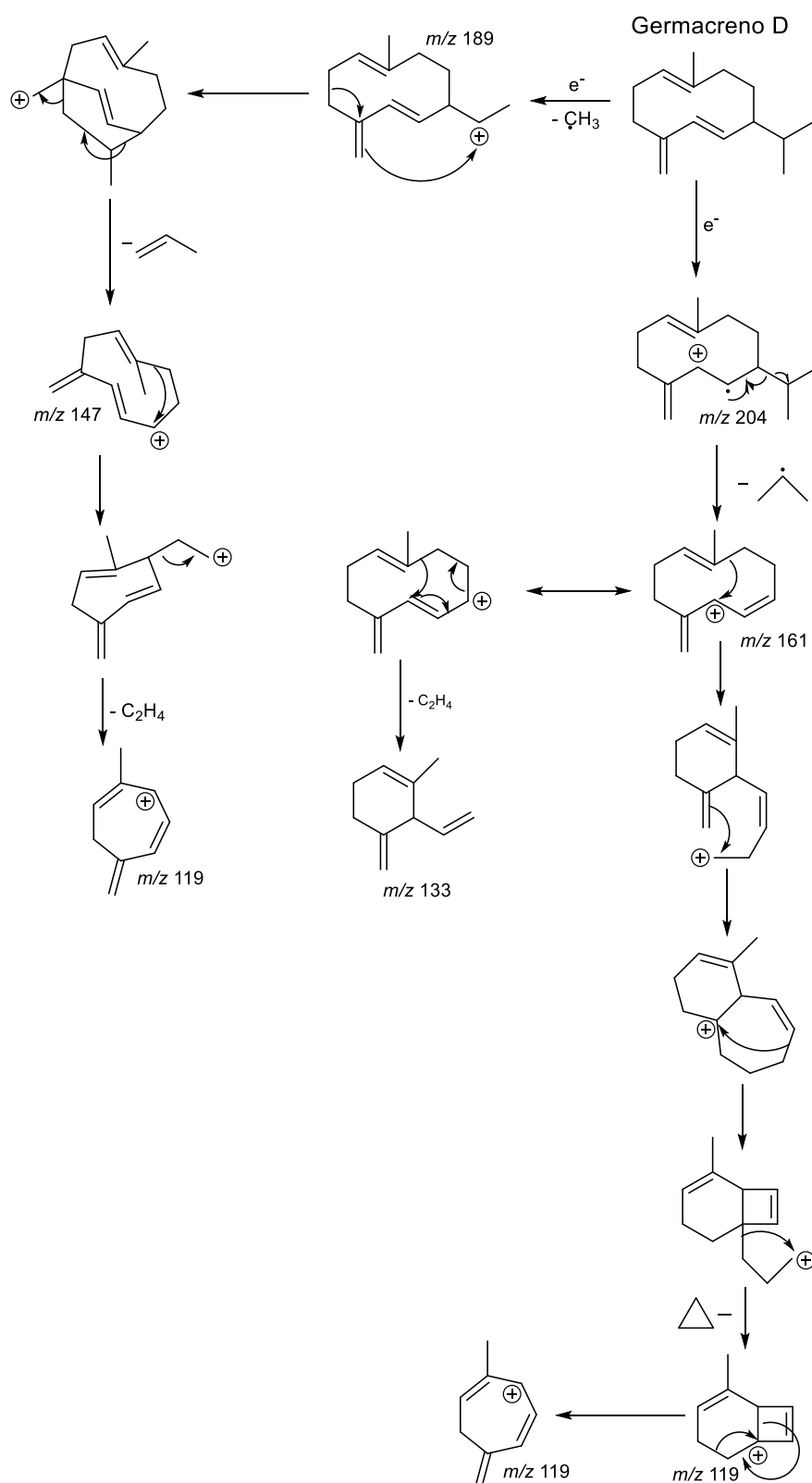
composição total dos óleos essenciais. Esses resultados indicam que o germacreno D constitui um dos principais metabólitos voláteis produzidos pela espécie, contribuindo significativamente para o perfil químico observado durante todo o estudo sazonal. O espectro de massas obtido para o composto se encontra na Figura 24. A proposta de fragmentação para alguns dos principais íons pode ser vista na Figura 25.

**Figura 24** - Espectro de massas utilizado para a identificação do germacreno D no óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: o Autor

**Figura 25** – Proposta de fragmentação do germacreno D baseada nos principais íons observados no espectro de massas por impacto de elétron.



Adaptado de: Steliopoulos & Mosandl, 2001

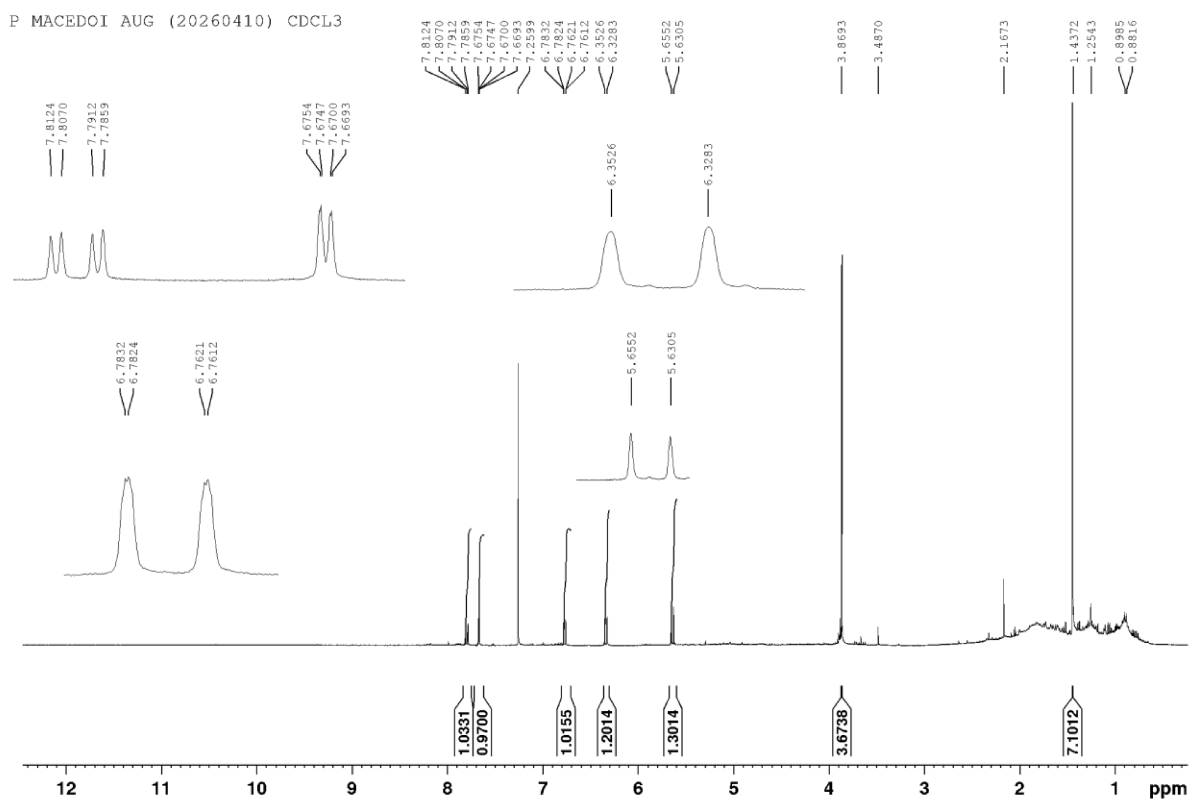
O predomínio de germacreno D observado neste trabalho está de acordo com relatos da literatura para diversas espécies do gênero *Piper*, nas quais esse sesquiterpeno frequentemente figura entre os constituintes majoritários dos óleos essenciais. Biossinteticamente, o composto é derivado do farnesil difosfato (FPP) e ocupa posição central na formação de diversos esqueletos sesquiterpênicos, sendo frequentemente considerado um importante intermediário nas rotas de ciclização catalisadas por sesquiterpeno sintases. Dessa forma, elevadas concentrações de germacreno D podem refletir intensa atividade da via dos sesquiterpenos, corroborando a predominância dessa classe química observada nos óleos essenciais de *P. macedoi* (Dewick, 2009).

Além de sua importância biossintética, o germacreno D tem sido amplamente descrito em espécies aromáticas devido ao seu papel ecológico na interação planta-ambiente. Estudos sugerem que esse sesquiterpeno pode atuar nos mecanismos de defesa vegetal contra herbívoros e microrganismos, além de contribuir para a atração de organismos polinizadores e para a comunicação química entre plantas. Adicionalmente, atividades antimicrobianas, antifúngicas e inseticidas têm sido associadas a óleos essenciais ricos nesse composto, reforçando sua relevância ecológica e farmacológica (Dewick, 2008).

Outro constituinte que aparece com porcentagem relevante é o cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila, espectro de massas na Figura 27, estando presente em todas as coletas e apresentando abundância relativa entre 8,73 e 26,56%. Inicialmente, a anotação por CG-EM indicava a possibilidade de um derivado benzoato que contava com uma ligação tripla. Essa ligação chamava a atenção por não ser algo comum entre constituintes de óleos essenciais e como existiam compostos aromáticos estruturalmente próximos, foi utilizado o RMN do primeiro óleo (maior porcentagem do cromeno) para a confirmação estrutural. Os dados de RMN 1D podem ser vistos nas Figuras 26 e 27.

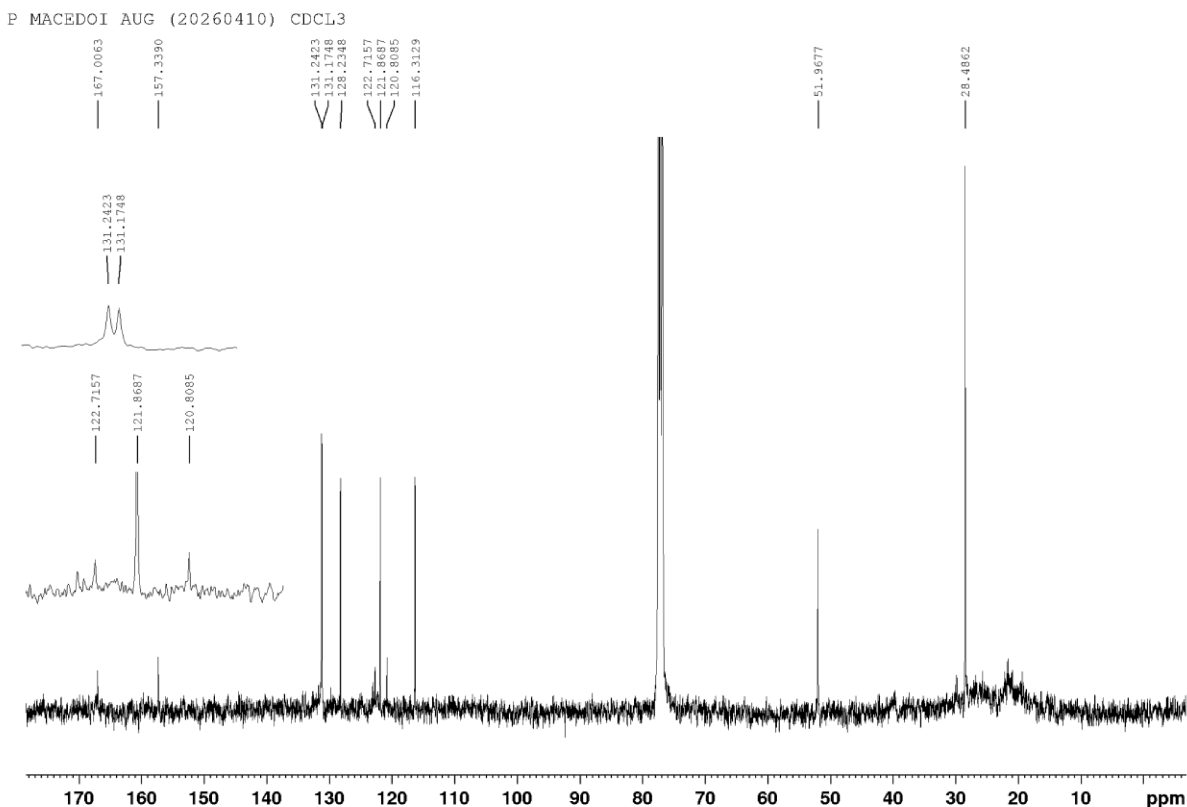


**Figura 26** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: o Autor

**Figura 27** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do óleo essencial de *Piper macedoi*.

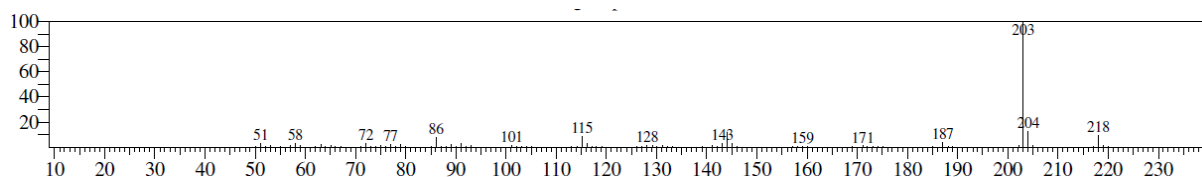


Fonte: o Autor

A anotação inicial realizada pelo software CGMSSolution sugeriu a identidade de um derivado benzoato contendo insaturação tripla. Embora o espectro de massas apresentado pelo composto tenha produzido um índice de similaridade (IS) dentro da faixa considerada aceitável para identificação preliminar, a análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  revelou inconsistências estruturais em relação à molécula proposta. Em particular, os deslocamentos químicos observados e o número de sinais presentes nos espectros não eram compatíveis com a estrutura inicialmente atribuída, indicando a necessidade de uma investigação mais detalhada.

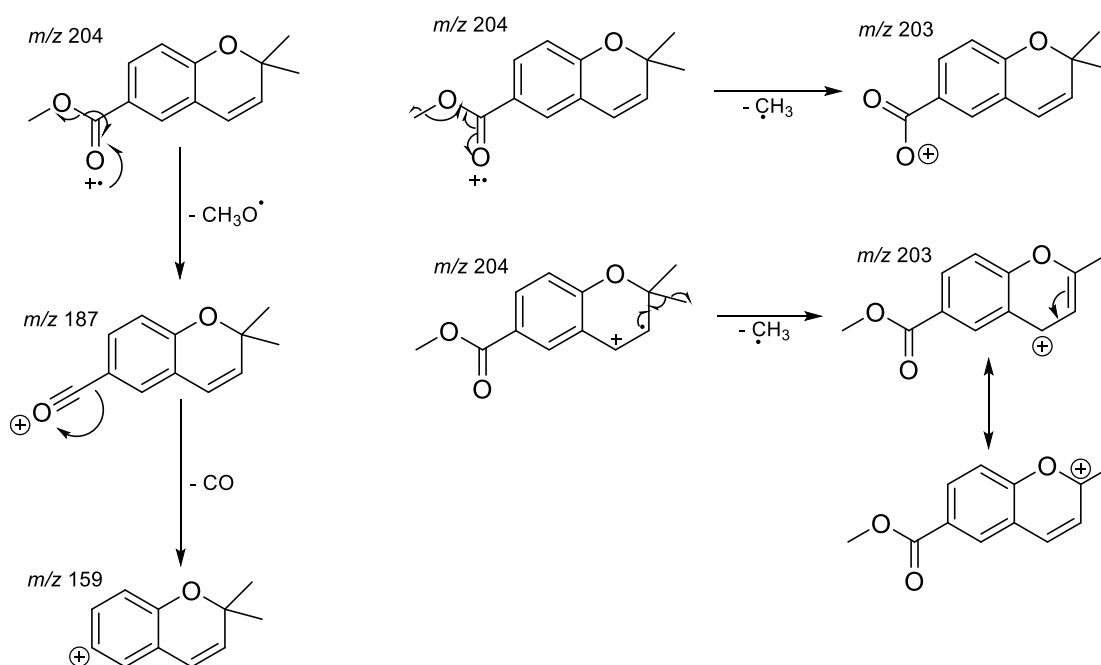
Diante dessa divergência, foram avaliadas outras possibilidades estruturais a partir da interpretação conjunta dos dados de espectrometria de massas (Figura 28) e dos experimentos de RMN (Figuras 25 e 26). O espectro de massas apresentou íon molecular em  $m/z$  218, acompanhado de fragmentos característicos que corroboram com a identificação (Figura 29). Adicionalmente, os dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC e HMBC indicaram a presença de um sistema benzopirânico substituído, permitindo a proposição da estrutura 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila.

**Figura 28** - Espectro de massas utilizado na elucidação estrutural do composto 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila isolado do óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: o Autor

**Figura 29** – Proposta de fragmentação do 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila.



Fonte: o Autor

A confirmação estrutural foi reforçada pelos experimentos bidimensionais de RMN. No espectro COSY observou-se correlação entre os sinais em  $\delta$  5,64 e  $\delta$  6,34, atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-4, confirmando a presença do sistema olefínico característico do núcleo cromênico. O experimento HSQC permitiu estabelecer as correlações diretas hidrogênio-carbono, possibilitando a atribuição inequívoca dos sinais protonados da molécula. Adicionalmente, o espectro HMBC revelou correlações de longa distância fundamentais para a determinação da conectividade molecular, especialmente envolvendo os hidrogênios aromáticos e os carbonos quaternários oxigenados do sistema benzopirânico, além da

correlação observada com o carbono carbonílico do grupo éster em  $\delta$  167,01. Em conjunto, essas informações corroboraram a presença do esqueleto 2,2-dimetilcromeno substituído por um grupo metoxycarbonila.

Para confirmar essa atribuição estrutural, os dados espectroscópicos obtidos foram comparados com aqueles descritos por Pedro *et al.* (1987), que relataram o isolamento desse mesmo cromeno a partir das cascas de *Piper hostmannianum*. A comparação dos deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  demonstrou elevada concordância entre os valores experimentais e os reportados na literatura, corroborando a identificação do composto presente no óleo essencial de *P. macedoi*. Os dados comparativos são apresentados na Tabela 08.

**Tabela 08** - Dados espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila obtido do óleo essencial de *Piper macedoi* e comparação com a literatura.

| Posição | $\delta$ $^1\text{H}$                       |                                            | $\delta$ $^{13}\text{C}$                    |                                             |
|---------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
|         | Experimental<br>(400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) | Literatura*<br>(100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) | Experimental<br>(100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) | Literatura*<br>(25,2 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) |
| 2       | -                                           | -                                          | **                                          | 77,23                                       |
| 3       | 5,64 (1H, d, $J=9,8$ Hz)                    | 5,66 (1H, d, $J=9,0$ Hz)                   | 131,17                                      | 121,53                                      |
| 4       | 6,34 (1H, d, $J=9,8$ Hz)                    | 6,40 (1H, d, $J=9,0$ Hz)                   | 121,87                                      | 127,88                                      |
| 5       | 7,67 (1H, d, $J=2,2$ Hz)                    | 7,70 (1H, d, $J=2,0$ Hz)                   | 128,23                                      | 130,88                                      |
| 6       | -                                           | -                                          | 122,71                                      | 122,37                                      |
| 7       | 7,80 (1H, dd, $J=8,5$ e $2,2$ Hz)           | 7,85 (1H, dd, $J=7,5$ e $2,0$ Hz)          | 131,24                                      | 130,81                                      |
| 8       | 6,77 (1H, d, $J=8,5$ Hz)                    | 6,82 (1H, d, $J=7,5$ Hz)                   | 116,31                                      | 115,97                                      |
| 9       | -                                           | -                                          | 157,34                                      | 156,94                                      |
| 10      | -                                           | -                                          | 120,81                                      | 120,48                                      |
| 11      | -                                           | -                                          | 167,01                                      | 166,57                                      |
| 12, 13  | 1,45 (6H, s)                                | 1,45 (6H, s)                               | 28,49                                       | 28,27                                       |
| 14      | 3,87 (3H, s)                                | 3,87 (3H, s)                               | 51,97                                       | 51,71                                       |

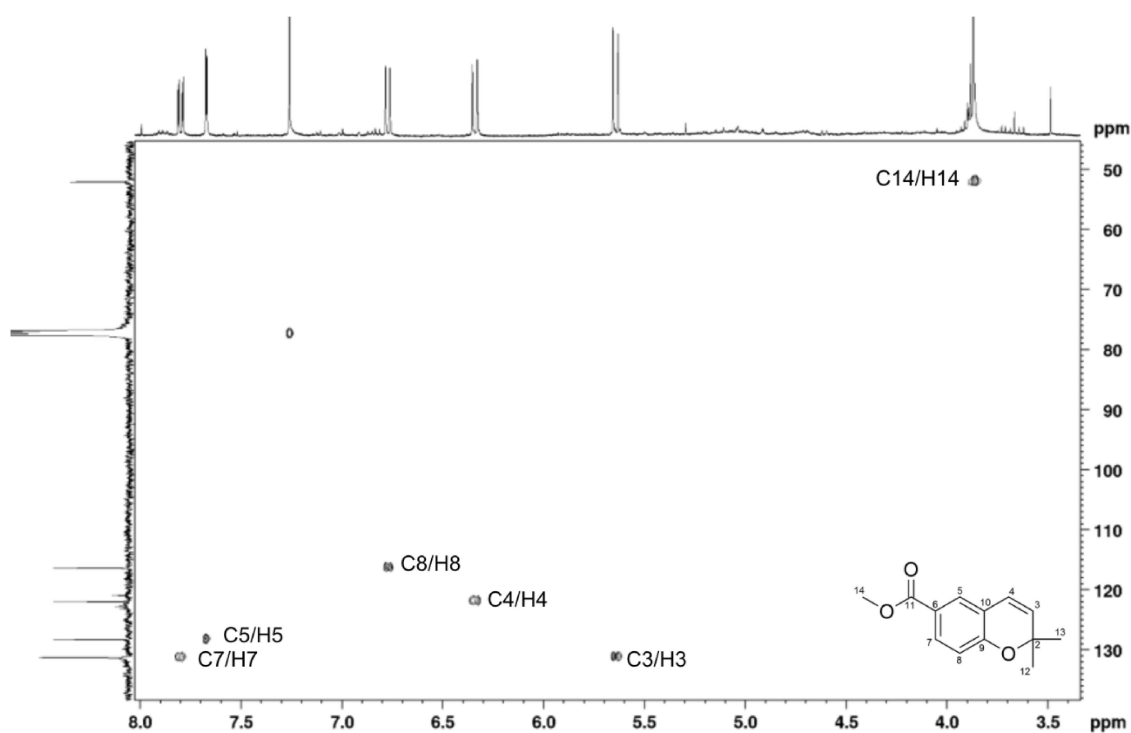
Nota: \*Pedro *et al.* (1987). \*\* sinal sobreposto ao  $\text{CDCl}_3$

Fonte: o Autor

Cabe destacar que os valores de deslocamento químico estão todos próximos, porém a atribuição dos carbonos 3, 4 e 5 estão diferentes. No artigo os autores utilizam somente os RMN's 1D de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para realizar a atribuição. Aqui o RMN HSQC foi fundamental para a atribuição correta para cada carbono.

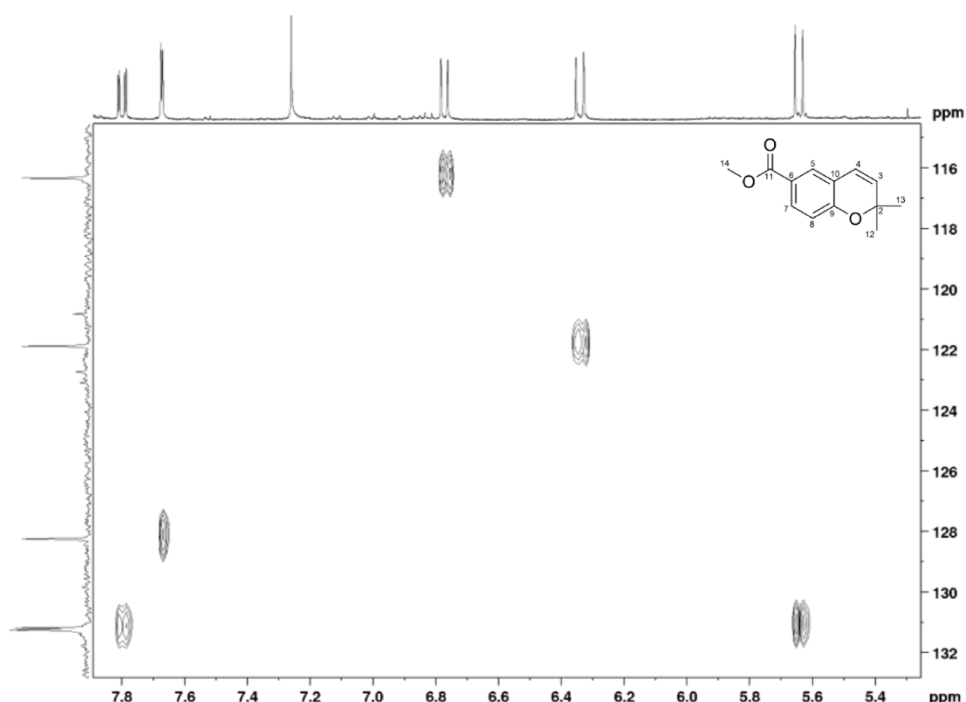
O espectro de RMN bidimensional HSQC (Figura 30) permite observar as correlações diretas entre os sinais de hidrogênio e seus respectivos carbonos. Na ampliação apresentada na Figura 30, verifica-se que o sinal de hidrogênio em  $\delta\text{H}$  5,66 está correlacionado ao carbono em  $\delta\text{C}$  131,17, enquanto o sinal em  $\delta\text{H}$  7,85 correlaciona-se ao carbono em  $\delta\text{C}$  131,24. Embora os deslocamentos químicos dos carbonos sejam muito próximos, a multiplicidade dos sinais de hidrogênio permitiu distingui-los: o sinal em  $\delta\text{H}$  5,66, observado como um dubleto (d), foi atribuído ao C-3, enquanto o sinal em  $\delta\text{H}$  7,85, caracterizado como um duplo dubleto (dd), foi atribuído ao C-7.

**Figura 30** – Mapa de correlações HSQC do óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: o Autor

**Figura 31** – Ampliação do mapa de correlações HSQC do óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: o Autor

Além dos compostos já discutidos, existem outros sesquiterpenos que apresentaram concentração relevante. Um deles é o humuleno que se mostrou o terceiro constituinte mais abundante em cinco coletas e mesmo na coleta que ele não está entre os três majoritários, ele aparece com porcentagem relevante. Sua concentração variou entre 5,10–e 8,44%, onde os maiores teores foram observados na primeira (8,44%) e quarta coleta (8,11%), enquanto a menor abundância foi registrada na quinta coleta (5,10%). Apesar das oscilações observadas ao longo do período amostral, o composto manteve-se entre os principais constituintes do óleo essencial, indicando que sua biossíntese permanece ativa durante todo o ciclo sazonal avaliado.

O humuleno é um sesquiterpeno hidrocarbonado derivado da ciclização do farnesil difosfato (FPP), precursor comum da biossíntese de diversos sesquiterpenos encontrados em espécies do gênero *Piper*. A ocorrência desse composto em concentrações relativamente elevadas reforça a predominância da rota dos sesquiterpenos observada para *P. macedoi*, corroborando os resultados discutidos anteriormente para a composição por classes químicas. Além disso, o humuleno é frequentemente relatado como constituinte relevante de óleos essenciais de espécies aromáticas tropicais, sendo associado a atividades anti-inflamatórias,

antimicrobianas e antifúngicas, características que podem contribuir para os mecanismos de defesa química da planta frente a estresses bióticos e abióticos (Baser & Buchbauer, 2015).

A manutenção de teores relativamente elevados de humuleno ao longo de todas as coletas sugere que esse composto integra o conjunto de metabólitos que compõem o núcleo químico estável da espécie. Esse comportamento é compatível com a hipótese anteriormente levantada de que a sazonalidade atua principalmente modulando as proporções relativas dos constituintes, sem alterar significativamente a identidade química dos óleos essenciais produzidos por *P. macedoi*.

O  $\beta$ -selineno também apresentou destaque entre os constituintes identificados, embora tenha exibido comportamento sazonal mais pronunciado que o observado para o humuleno. As concentrações variaram entre 1,44 e 11,41%, sendo registrado um aumento expressivo na terceira coleta, quando o composto atingiu sua maior abundância relativa (11,41%). Nas demais amostras, os teores permaneceram consideravelmente inferiores, variando entre 1,44 e 3,78%, evidenciando uma forte influência das condições ambientais sobre sua produção.

Assim como o humuleno, o  $\beta$ -selineno é um sesquiterpeno hidrocarbonado derivado do farnesil difosfato, sendo frequentemente encontrado em óleos essenciais de espécies pertencentes às famílias Piperaceae, Myrtaceae e Asteraceae. A literatura descreve esse composto como participante dos mecanismos de defesa vegetal, atuando na proteção contra herbivoria e infecções microbianas, além de contribuir para as propriedades aromáticas características dos óleos essenciais. Sua ocorrência em *P. macedoi* está de acordo com o perfil químico esperado para espécies do gênero *Piper*, reconhecidas pela elevada capacidade de produção de sesquiterpenos estruturalmente diversificados (Parmar *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 2008).

O aumento expressivo observado na terceira coleta sugere uma possível intensificação do fluxo metabólico direcionado à biossíntese de esqueletos selinênicos durante esse período. Considerando que os sesquiterpenos representam a principal classe química dos óleos essenciais analisados, a elevada concentração de  $\beta$ -selineno observada nessa coleta provavelmente contribuiu de maneira significativa para o aumento da fração de sesquiterpenos hidrocarbonados registrado no mesmo período.

Entre os demais constituintes relevantes identificados nos óleos essenciais de *Piper macedoi*, destacaram-se o  $\delta$ -cadineno e o  $\alpha$ -cadinol, ambos detectados em todas as coletas realizadas. O  $\delta$ -cadineno apresentou abundâncias relativas variando entre aproximadamente 4

e 7%, enquanto o  $\alpha$ -cadinol foi o principal representante da fração de sesquiterpenos oxigenados, atingindo concentrações de até 8,80% na quinta coleta. A ocorrência contínua desses compostos ao longo do período amostral sugere que ambos integram o conjunto de metabólitos característicos da espécie, contribuindo significativamente para a composição química dos óleos essenciais.

Do ponto de vista ecológico e farmacológico, tanto o  $\delta$ -cadineno quanto o  $\alpha$ -cadinol têm sido associados a mecanismos de defesa vegetal e a diferentes atividades biológicas. O  $\delta$ -cadineno é frequentemente relatado em óleos essenciais de espécies aromáticas e apresenta atividades antimicrobianas e antifúngicas descritas na literatura, enquanto o  $\alpha$ -cadinol tem despertado interesse devido ao seu potencial antifúngico, antibacteriano e anti-inflamatório (Parmar *et al.*, 1997). Além disso, o aumento da participação do  $\alpha$ -cadinol nas últimas coletas acompanhou a elevação da fração de sesquiterpenos oxigenados observada para a espécie, sugerindo possíveis alterações na atividade das enzimas oxidativas envolvidas no metabolismo terpênico em resposta às condições ambientais.

Considerando as variações observadas nas abundâncias relativas dos principais constituintes e classes químicas dos óleos essenciais de *Piper macedoi* ao longo do período experimental, foi realizada uma análise de correlação entre os parâmetros climáticos e os metabólitos de maior relevância química, além da correlação com os sesquiterpenos (principal classe encontrada). A composição de óleos essenciais pode ser influenciada por diversos fatores ambientais, incluindo precipitação, temperatura e pressão atmosférica, os quais atuam diretamente sobre processos fisiológicos e metabólicos relacionados à biossíntese de metabólitos secundários (Gobbo-Neto; Lopes, 2007). Dessa forma, a avaliação das correlações permitiu investigar possíveis associações entre as condições ambientais durante as coletas e as alterações observadas na composição química dos óleos essenciais, contribuindo para uma melhor compreensão da influência da sazonalidade sobre o metabolismo secundário da espécie. Os dados podem ser vistos na Tabela 09.



**Tabela 09** – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis climáticas e os principais constituintes e classes químicas do óleo essencial das folhas de *Piper macedoi*.

|                                      | Coeficiente de Correlação de Pearson (r) |                     |                   |
|--------------------------------------|------------------------------------------|---------------------|-------------------|
|                                      | Precipitação                             | Pressão Atmosférica | Temperatura Média |
| <b>Germacreno D</b>                  | 0,635                                    | -0,558              | -0,251            |
| <b>Cromeno*</b>                      | -0,290                                   | 0,218               | 0,479             |
| <b>Humuleno</b>                      | 0,127                                    | -0,381              | 0,764             |
| <b><math>\beta</math>-Selineno</b>   | 0,314                                    | -0,600              | 0,138             |
| <b><math>\alpha</math>-Cadinol</b>   | -0,855                                   | 0,735               | -0,027            |
| <b>Sesquiterpenos não Oxigenados</b> | 0,646                                    | -0,680              | 0,052             |
| <b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>     | -0,853                                   | 0,821               | -0,561            |

Nota: \* 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila

Fonte: o Autor

A análise de correlação entre as variáveis climáticas e os principais constituintes dos óleos essenciais de *Piper macedoi* evidenciou que a precipitação foi o fator ambiental mais associado às alterações observadas na composição química ao longo do período experimental. De maneira geral, verificou-se que os sesquiterpenos não oxigenados apresentaram correlação positiva com a precipitação ( $r = 0,646$ ) e negativa com a pressão atmosférica ( $r = -0,680$ ), indicando maior acúmulo durante os períodos mais úmidos do ano. Esse comportamento também foi observado para o Germacreno D, principal constituinte sesquiterpênico da espécie, que apresentou correlação positiva moderada com a precipitação ( $r = 0,635$ ) e negativa com a pressão atmosférica ( $r = -0,558$ ). Esses resultados sugerem que condições de maior disponibilidade hídrica favorecem o direcionamento do metabolismo secundário para a biossíntese de hidrocarbonetos sesquiterpênicos, provavelmente em função do aumento da atividade metabólica e da disponibilidade de precursores envolvidos na rota do farnesil difosfato.

Em contraste, os sesquiterpenos oxigenados apresentaram comportamento oposto, exibindo forte correlação negativa com a precipitação ( $r = -0,853$ ) e forte correlação positiva com a pressão atmosférica ( $r = 0,821$ ). Tendência semelhante foi observada para o  $\alpha$ -Cadinol,

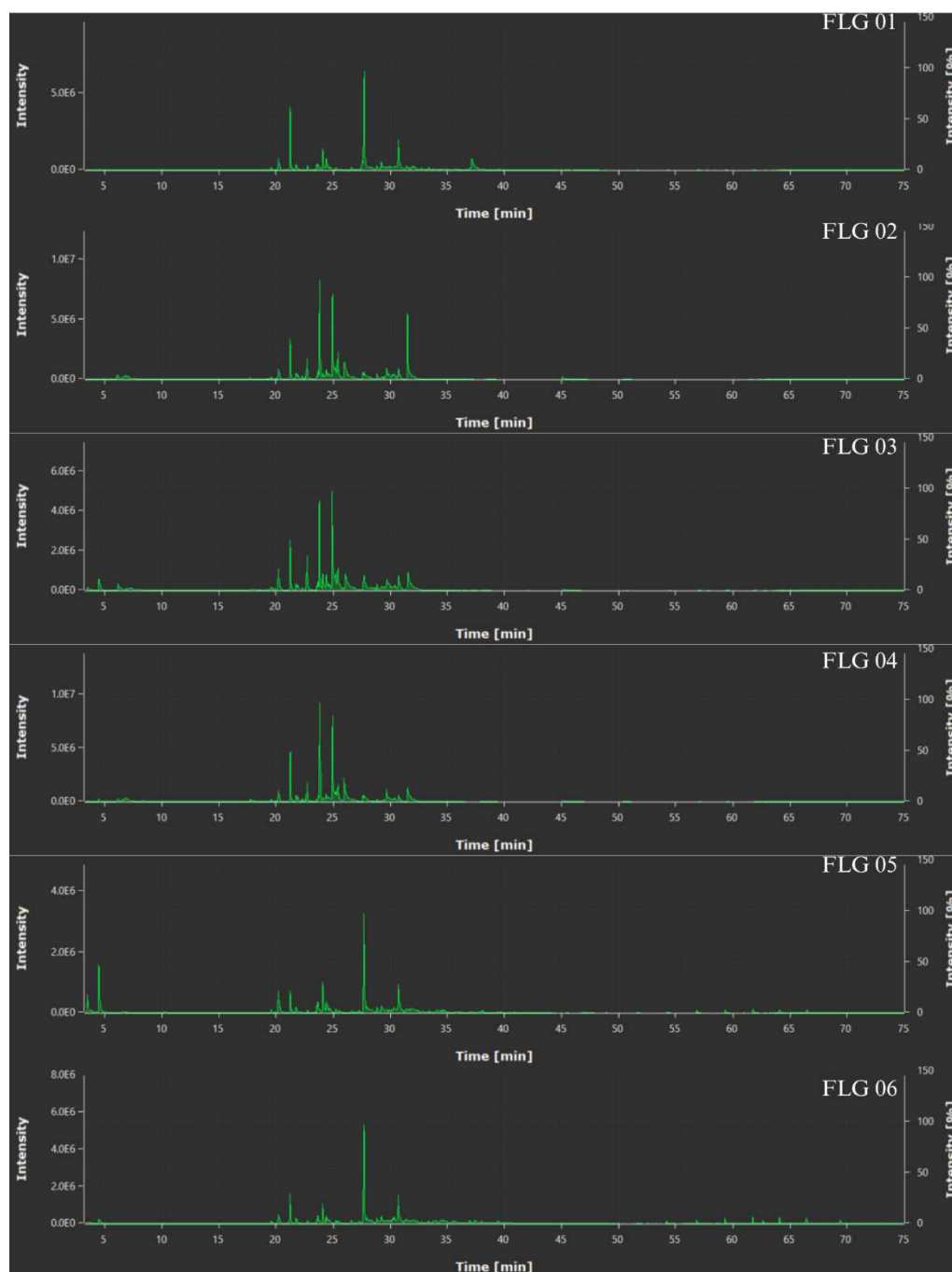
um dos principais representantes dessa classe, que apresentou correlação negativa com a precipitação ( $r = -0,855$ ) e positiva com a pressão atmosférica ( $r = 0,735$ ). Esses resultados indicam que períodos caracterizados por menor disponibilidade hídrica favoreceram o acúmulo de metabólitos oxigenados, possivelmente em decorrência da intensificação da atividade de enzimas oxidativas envolvidas na modificação de esqueletos terpênicos previamente formados. Esse comportamento tem sido frequentemente associado a mecanismos adaptativos de resposta ao estresse ambiental, nos quais compostos oxigenados podem desempenhar funções relacionadas à proteção celular e à defesa química da planta.

Entre os constituintes majoritários, o humuleno apresentou a maior correlação positiva com a temperatura média ( $r = 0,764$ ), sugerindo maior produção durante os períodos mais quentes do ciclo sazonal. Embora essa associação deva ser interpretada com cautela devido ao número reduzido de observações, ela indica que fatores térmicos também podem contribuir para a modulação da composição química dos óleos essenciais da espécie. Por outro lado, o  $\beta$ -selineno apresentou correlações de menor magnitude com as variáveis analisadas, sugerindo que sua biossíntese pode ser influenciada por fatores adicionais não avaliados neste estudo ou por interações mais complexas entre os parâmetros ambientais.

De forma geral, os resultados demonstram que a sazonalidade influenciou principalmente a abundância relativa dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *P. macedoi*, sem promover alterações expressivas em sua composição qualitativa. A maior disponibilidade hídrica esteve associada ao aumento dos sesquiterpenos hidrocarbonados, enquanto condições mais secas favoreceram a formação de sesquiterpenos oxigenados. Esses resultados corroboram observações descritas para outras espécies aromáticas tropicais, nas quais fatores ambientais atuam modulando a intensidade das rotas biossintéticas do metabolismo secundário, promovendo alterações quantitativas dos metabólitos produzidos sem modificar substancialmente o perfil químico característico da espécie (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Partindo para as análises da composição dos óleos essenciais das folhas de *Piper fuliginum*, a Figura 32 apresenta os cromatogramas obtidos para cada coleta.

**Figura 32** - Cromatogramas obtidos por CG-EM dos óleos essenciais das folhas de *Piper fuliginum* coletadas durante o período experimental.



Fonte: o Autor

De modo geral, observa-se que os principais sinais cromatográficos se encontram concentrados entre aproximadamente 20 e 30 minutos de tempo de retenção, indicando a predominância de um conjunto relativamente restrito de constituintes majoritários responsáveis

por grande parte da composição química dos óleos essenciais. Embora os cromatogramas apresentem elevada similaridade qualitativa entre as amostras, diferenças significativas nas intensidades relativas dos picos podem ser observadas ao longo das coletas, evidenciando alterações quantitativas na produção dos metabólitos voláteis da espécie.

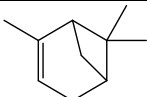
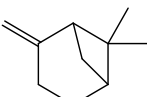
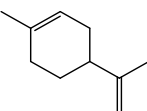
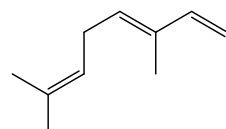
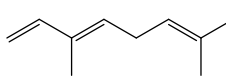
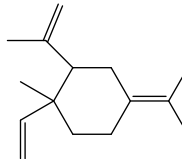
As maiores variações foram observadas principalmente nas regiões compreendidas entre 22 e 27 minutos, onde se concentram os picos de maior intensidade, sugerindo mudanças sazonais na abundância dos constituintes predominantes. Além disso, as coletas FLG05 e FLG06 apresentaram aumento da intensidade de sinais eluidos nos primeiros minutos da corrida cromatográfica, indicando maior contribuição de compostos mais voláteis durante esses períodos. Esse comportamento sugere que fatores ambientais associados à sazonalidade podem ter influenciado não apenas a quantidade produzida dos metabólitos majoritários, mas também a distribuição relativa de compostos pertencentes a diferentes classes químicas.

A análise do número de compostos detectados e anotados reforça essa tendência. Enquanto as quatro primeiras coletas apresentaram entre 32 e 36 compostos detectados, as duas últimas coletas registraram aumento expressivo desse número, alcançando 47 compostos na quinta coleta e 46 compostos na sexta coleta. Em contrapartida, o número de compostos anotados diminuiu nesse mesmo período, passando de 30 compostos na quarta coleta para 20 e 21 compostos nas coletas subsequentes. Esse resultado sugere que a sazonalidade pode ter favorecido a produção de metabólitos secundários presentes em baixas concentrações ou ainda pouco descritos para a espécie, aumentando a complexidade química dos óleos essenciais produzidos durante os períodos finais do estudo.

Na Tabela 10 encontram-se os compostos anotados ao longo das seis coletas, junto com suas respectivas fórmulas estruturais, classes e porcentagens relativas, retiradas do CG-FID conforme comentado anteriormente. A tabela com mais informações como  $T_R$  e SI para cada composto ao longo de cada coleta, pode ser encontrada no Apêndice.

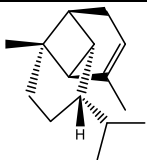
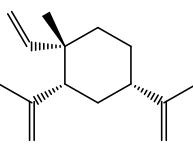
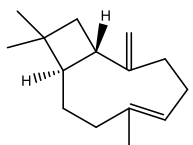
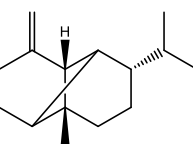
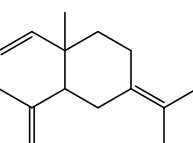
**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum*.

(Continua)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                               | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                    | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                            |                    |                                                                                      | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 37     | $\alpha$ -Pineno (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )        | Monoterpeno        |   | -                             | -     | 0,10  | -     | 0,14  | -     |
| 38     | $\beta$ -Pineno (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )         | Monoterpeno        |   | -                             | -     | 0,21  | 0,48  | 0,53  | 0,17  |
| 01     | D-Limoneno (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )              | Monoterpeno        |   | -                             | 1,50  | 1,08  | 2,17  | -     | -     |
| 39     | Trans- $\beta$ -Ocimeno (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> ) | Monoterpeno        |    | -                             | -     | -     | 0,41  | -     | -     |
| 40     | Cis- $\beta$ -Ocimeno (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )   | Monoterpeno        |  | -                             | 0,22  | -     | 0,14  | -     | -     |
| 41     | Elixeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )                 | Sesquiterpeno      |  | -                             | -     | -     | 0,12  | -     | -     |

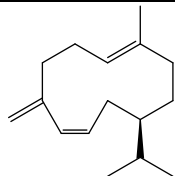
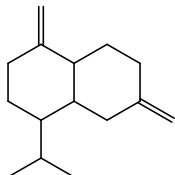
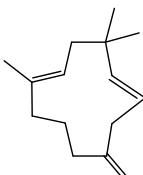
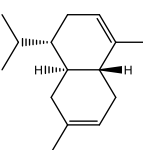
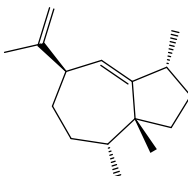
**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                         | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                    | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                      |                    |                                                                                      | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 04     | $\alpha$ -Copaeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |   | 1,01                          | 0,38  | 0,43  | 0,42  | 0,61  | 0,64  |
| 05     | $\beta$ -Elemeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )  | Sesquiterpeno      |    | 0,16                          | 1,22  | 3,87  | 1,62  | 2,98  | 3,48  |
| 06     | Cariofileno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )       | Sesquiterpeno      |    | 7,33                          | 4,21  | 5,42  | 5,64  | 17,62 | 10,66 |
| 07     | $\beta$ -Copaeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )  | Sesquiterpeno      |   | 0,48                          | 0,41  | 0,51  | 0,46  | 1,62  | 1,70  |
| 08     | $\gamma$ -Elemeno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |  | -                             | 0,18  | 0,14  | 0,12  | -     | -     |

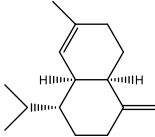
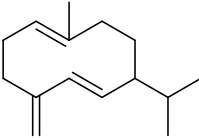
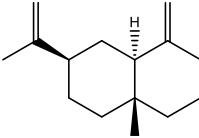
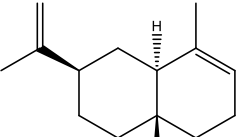
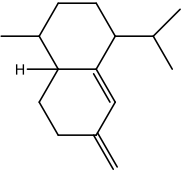
**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                             | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|----------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                          |                    |                                                                                       | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 42     | Iso-Germacreno D (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )      | Sesquiterpeno      |    | -                             | 0,15  | -     | 0,13  | -     | -     |
| 10     | $\epsilon$ -Muuroleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |    | -                             | -     | -     | 0,07  | -     | -     |
| 11     | Humuleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )              | Sesquiterpeno      |   | 0,85                          | 2,78  | 4,01  | 3,20  | 1,46  | 1,16  |
| 12     | $\beta$ -Cadineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )     | Sesquiterpeno      |  | -                             | 0,22  | -     | -     | -     | -     |
| 43     | $\gamma$ -Gurjuneno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )   | Sesquiterpeno      |   | -                             | -     | -     | 0,13  | -     | -     |

**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginenum*.

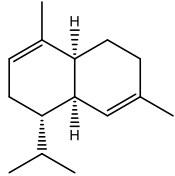
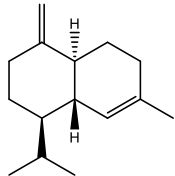
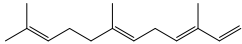
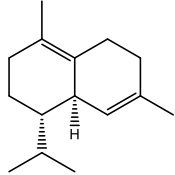
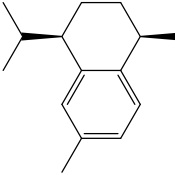
(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                                | Classe do Composto | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|-------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                             |                    |                                                                                       | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 13     | $\gamma$ -Muuroleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )      | Sesquiterpeno      |    | 1,21                          | 1,52  | 1,65  | 1,22  | 2,21  | 2,66  |
| 14     | Germacreno D (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )             | Sesquiterpeno      |     | 14,30                         | 16,52 | 21,39 | 20,57 | 29,12 | 5,92  |
| 16     | $\beta$ -Selineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )        | Sesquiterpeno      |     | 3,13                          | 1,56  | 3,07  | 1,78  | 4,18  | 5,33  |
| 44     | $\alpha$ -Selineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )       | Sesquiterpeno      |    | 5,04                          | 17,90 | 18,36 | 20,90 | 7,42  | 5,06  |
| 17     | Biciclo-sesquifelandreno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno      |  | -                             | 0,22  | -     | -     | -     | -     |



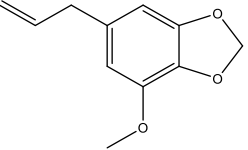
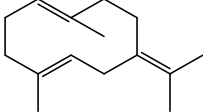
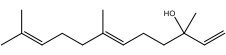
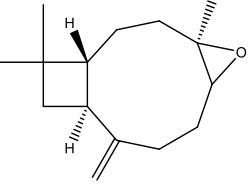
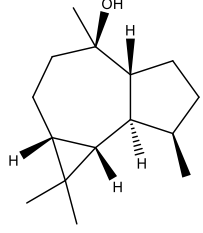
**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                           | Classe do Composto         | Estrutura Química                                                                     | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|--------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                        |                            |                                                                                       | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 19     | $\alpha$ -Muuroleno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno              |    | 1,00                          | 1,99  | 2,62  | 1,64  | 1,81  | 0,62  |
| 21     | $\gamma$ -Cadineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )  | Sesquiterpeno              |    | -                             | 1,52  | 1,72  | -     | -     | -     |
| 45     | $\alpha$ -Farneseno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> ) | Sesquiterpeno              |     | -                             | -     | -     | 1,47  | 2,40  | 1,06  |
| 23     | $\delta$ -Cadineno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )  | Sesquiterpeno              |   | -                             | 5,97  | 5,84  | 9,81  | -     | -     |
| 24     | Cis-calameneno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )      | Sesquiterpeno<br>Aromático |  | -                             | -     | 0,36  | -     | -     | -     |

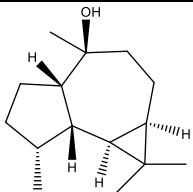
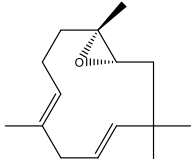
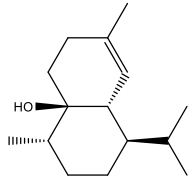
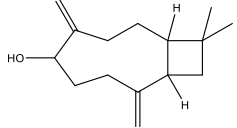
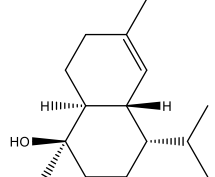
**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                                  | Classe do Composto      | Estrutura Química                                                                    | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|---------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                               |                         |                                                                                      | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 46     | Miristicina (C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> ) | Arilpropanoide          |    | -                             | 2,66  | 0,15  | 0,32  | -     | -     |
| 25     | Germacreno B (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )               | Sesquiterpeno           |    | -                             | -     | -     | 0,43  | -     | -     |
| 26     | (E)-Nerolidol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)             | Sesquiterpeno oxigenado |    | 7,00                          | 1,03  | -     | 2,71  | -     | -     |
| 27     | Óxido de Cariofileno (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O)      | Sesquiterpeno oxigenado |   | 7,96                          | 3,56  | 2,44  | 0,14  | 1,73  | 2,29  |
| 28     | Globulol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)                  | Sesquiterpeno oxigenado |  | 0,36                          | -     | -     | -     | 0,40  | 10,28 |

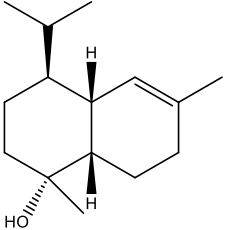
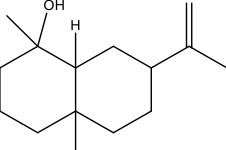
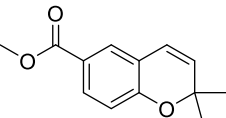
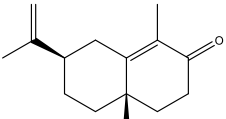
**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum*.

(Continuação)

| Código | Composto (Fórmula Molecular)                                          | Classe do Composto      | Estrutura Química                                                                    | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                                       |                         |                                                                                      | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 47     | Viridiflorol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)                      | Sesquiterpeno oxigenado |    | -                             | -     | -     | -     | 0,24  | 0,38  |
| 29     | Epóxido de humuleno II (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O)            | Sesquiterpeno oxigenado |    | 2,24                          | 0,32  | 0,36  | 0,45  | 0,85  | 1,66  |
| 31     | 1-epi-Cubenol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)                     | Sesquiterpeno oxigenado |   | 0,74                          | -     | -     | -     | 0,32  | 0,47  |
| 48     | Cariofila-4(12),8(13)-dien-5-α-ol (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O) | Sesquiterpeno oxigenado |  | 1,45                          | -     | -     | -     | -     | -     |
| 32     | τ-Cadinol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)                         | Sesquiterpeno oxigenado |  | 3,28                          | 1,72  | -     | 1,13  | -     | 3,83  |

**Tabela 10** – Compostos anotados (composto, classe e estrutura) por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginenum*.

(Conclusão)

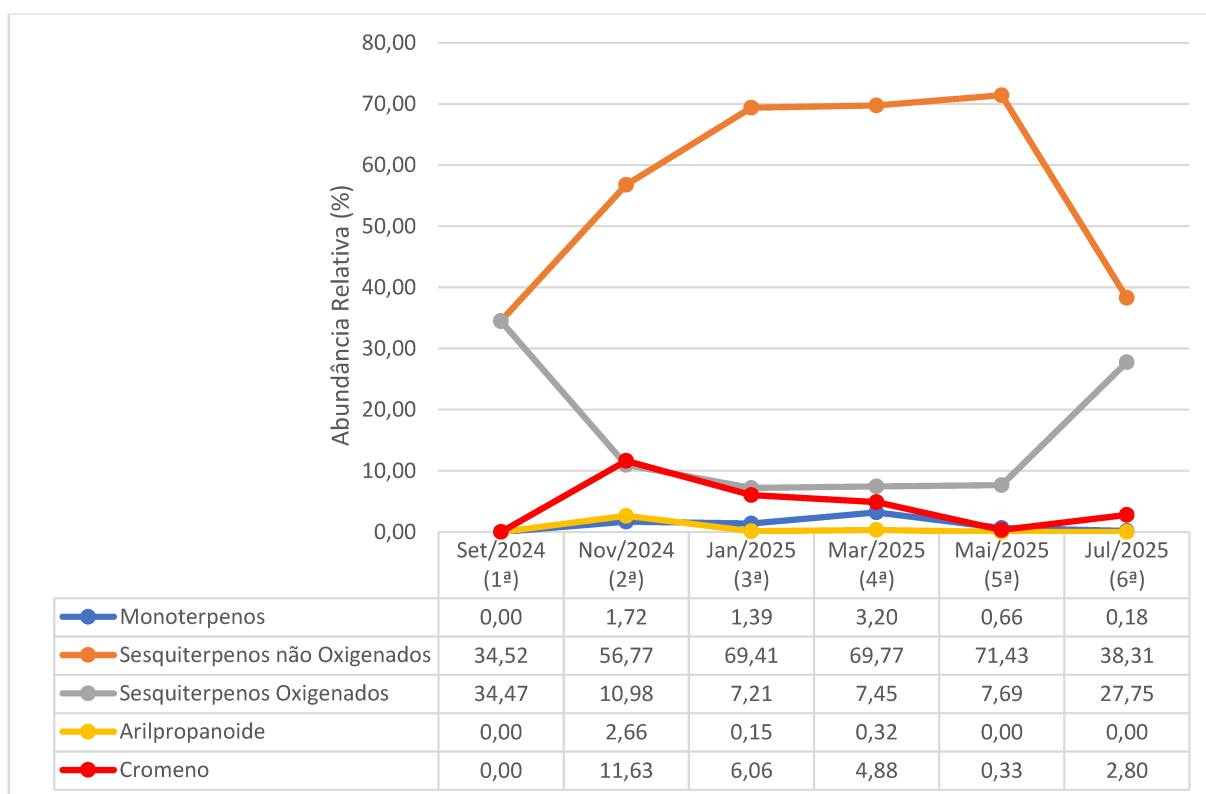
| Código | Composto (Fórmula Molecular)                                                                     | Classe do Composto      | Estrutura Química                                                                    | Área (CG-FID) por Amostra (%) |       |       |       |       |       |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        |                                                                                                  |                         |                                                                                      | FLG01                         | FLG02 | FLG03 | FLG04 | FLG05 | FLG06 |
| 33     | $\delta$ -Cadinol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)                                            | Sesquiterpeno oxigenado |    | 0,98                          | 0,92  | 1,21  | 0,62  | -     | -     |
| 49     | Neointermedeol (C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O)                                               | Sesquiterpeno oxigenado |    | 10,45                         | 3,42  | 3,19  | 2,39  | 4,14  | 8,18  |
| 35     | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila (C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> ) | Cromeno                 |   | -                             | 11,63 | 6,06  | 4,88  | 0,34  | 2,80  |
| 50     | $\alpha$ -Ciperona (C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O)                                           | Sesquiterpeno oxigenado |  | -                             | -     | -     | -     | -     | 0,66  |

Fonte: o Autor

A análise por CG-EM permitiu a anotação de 40 compostos nos óleos essenciais das folhas de *Piper fuligineum* ao longo das seis coletas realizadas durante o estudo sazonal. Os compostos identificados pertencem, em sua maioria, às mesmas classes vistas nos óleos essenciais da *P. macedoi*, onde predomina a classe dos sesquiterpenos, incluindo hidrocarbonetos sesquiterpênicos e sesquiterpenos oxigenados, além da ocorrência de monoterpenos em maior presença que na *macedoi* e cromenos. Além dessas classes, temos a presença de um arilpropanoide, classe não vista na outra espécie.

De maneira geral, existe uma certa similaridade qualitativa entre as amostras, uma vez que alguns dos constituintes foram detectados em mais de uma coleta, indicando a manutenção de um perfil químico característico da espécie ao longo do período avaliado. Entretanto, existem um número grande de compostos que aparecem em coletas específicas, além de uma variação muito grande entre os principais constituintes.

**Figura 33** - Distribuição sazonal das classes químicas presentes no óleo essencial de *Piper fuligineum* ao longo das seis coletas.



Fonte: o Autor

A distribuição das classes químicas dos óleos essenciais de *Piper fuliginum* (Figura 33) revelou predomínio dos sesquiterpenos ao longo de todo o período experimental, corroborando o padrão observado para diversas espécies do gênero *Piper*. Os sesquiterpenos não oxigenados constituíram a principal classe química em cinco das seis coletas realizadas, representando entre 34,52 e 71,43% da composição total dos óleos essenciais. Os maiores teores foram observados entre a terceira e a quinta coleta, período no qual essa classe correspondeu a aproximadamente 70% da composição química total. Esses resultados indicam elevada atividade da rota biossintética dos sesquiterpenos, refletindo o direcionamento preferencial do metabolismo secundário para a produção de hidrocarbonetos terpênicos.

Os sesquiterpenos oxigenados constituíram a segunda classe mais abundante, apresentando comportamento inverso ao observado para os sesquiterpenos não oxigenados. Enquanto as menores proporções foram registradas entre a segunda e a quinta coleta, variando entre 7,21 e 10,98%, a primeira e a sexta coletas apresentaram aumentos expressivos dessa classe, atingindo 34,47 e 27,75%, respectivamente. Esse comportamento sugere uma possível modulação sazonal dos processos oxidativos envolvidos no metabolismo terpênico, favorecendo em determinados períodos a conversão de hidrocarbonetos sesquiterpênicos em derivados oxigenados. Variações semelhantes têm sido associadas a respostas fisiológicas das plantas frente a alterações ambientais, especialmente aquelas relacionadas à disponibilidade hídrica, temperatura e intensidade luminosa (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

As demais classes químicas foram observadas em menores proporções ao longo do estudo. Os monoterpenos apresentaram participação reduzida, não ultrapassando 3,20% da composição total dos óleos essenciais, enquanto os arilpropanóides foram detectados apenas entre a segunda e a quarta coleta, atingindo sua maior abundância na segunda coleta (2,66%). O cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila também apresentou distribuição sazonal marcante, alcançando seu maior teor na segunda coleta (11,63%) e reduzindo progressivamente sua participação nas coletas subsequentes. Em conjunto, esses resultados demonstram que, embora os sesquiterpenos constituam a principal classe química da espécie, diferentes rotas biossintéticas contribuem para a composição dos óleos essenciais, conferindo elevada variabilidade química ao longo do ciclo sazonal.

Sobre os principais constituintes a Tabela 11 traz os três principais constituintes ao que se refere a abundância em cada coleta e suas variações ao longo das seis coletas. Dentre os três principais constituintes entre as coletas, foram anotados 08 compostos diferentes, ocupando diferentes posições, com compostos que aparecem com uma porcentagem elevada em certas

coletas e somem em outras, demonstrando que a espécie apresenta uma plasticidade química maior que a outra espécie.

**Tabela 11** - Distribuição sazonal dos principais constituintes químicos do óleo essencial de *Piper fuliginum* ao longo das seis coletas.

|                                     | Set/2024  | Nov/2024  | Jan/2025  | Mar/2025  | Mai/2025  | Jul/2025  |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                                     | 1ª Coleta | 2ª Coleta | 3ª Coleta | 4ª Coleta | 5ª Coleta | 6ª Coleta |
| <b>Germacreno D</b>                 | 14,30     | 16,52     | 21,40     | 20,57     | 29,12     | 5,92      |
| <b>Neointermedeol</b>               | 10,45     | 3,43      | 3,20      | 2,39      | 4,14      | 8,18      |
| <b>Óxido de Cariofileno</b>         | 7,96      | 3,57      | 2,44      | 0,14      | 1,73      | 2,29      |
| <b><math>\alpha</math>-Selinene</b> | 5,04      | 17,91     | 18,36     | 20,91     | 7,42      | 5,06      |
| <b>Cromeno*</b>                     | 0,00      | 11,63     | 6,06      | 4,88      | 0,33      | 2,80      |
| <b><math>\delta</math>-Cadineno</b> | 0,00      | 5,97      | 5,94      | 9,81      | 0,00      | 0,00      |
| <b>Cariofileno</b>                  | 7,34      | 4,21      | 5,42      | 5,64      | 17,62     | 10,62     |
| <b>Globulol</b>                     | 0,36      | 0,00      | 0,00      | 0,00      | 0,40      | 10,28     |

Nota: \* 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila

Fonte: o Autor

A distribuição dos compostos majoritários evidencia uma elevada variabilidade química nos óleos essenciais de *Piper fuliginum* ao longo do período experimental. Diferentemente do observado para *P. macedoi*, na qual os principais constituintes permaneceram relativamente constantes entre as coletas, a *P. fuliginum* apresentou mudanças expressivas na identidade e na abundância dos compostos predominantes. Entre os oito compostos que figuram entre os três mais abundantes ao longo das seis coletas, observou-se alternância frequente de posições e variações expressivas nas concentrações relativas, indicando forte influência da sazonalidade sobre o metabolismo secundário da espécie.

Entre os compostos identificados, o germacreno D destaca-se por sua presença em todas as coletas, apresentando concentrações entre 5,92 e 29,12%. O composto atingiu seu maior teor na quinta coleta, quando representou quase 30% da composição total do óleo, evidenciando sua importância para o perfil químico da espécie. Comportamento semelhante foi observado para o  $\alpha$ -selineno, que apresentou concentrações elevadas entre a segunda e a quarta coleta, atingindo

valor máximo de 20,91% na quarta coleta. A persistência desses compostos ao longo do período amostral sugere que ambos desempenham papel central na composição química dos óleos essenciais de *P. fuligineum*, embora suas abundâncias sejam fortemente moduladas pelas condições ambientais.

Por outro lado, alguns compostos apresentaram comportamento marcadamente sazonal, ocorrendo em elevadas concentrações apenas em períodos específicos. O cromeno (2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila), por exemplo, foi detectado apenas entre a segunda e a sexta coleta, alcançando 11,63% na segunda coleta e reduzindo progressivamente sua participação nas amostras subsequentes. Situação semelhante foi observada para o  $\delta$ -Cadineno, que figurou entre os constituintes majoritários apenas entre a segunda e a quarta coleta, e para o Globulol, cuja abundância aumentou significativamente na sexta coleta. Essas alterações demonstram que a *P. fuligineum* apresenta elevada plasticidade química, característica que pode refletir mecanismos adaptativos relacionados à resposta da planta frente às variações ambientais observadas ao longo do ano. Tal comportamento é compatível com a reconhecida capacidade de algumas espécies do gênero *Piper* de modular a produção de metabólitos secundários em resposta a mudanças nas condições ecológicas e fisiológicas.

Esse elevado predomínio do germacreno D observado para a *Piper fuligineum* está de acordo com diversos trabalhos realizados com espécies do gênero *Piper*, nos quais esses sesquiterpeno figura entre os principais constituintes dos óleos essenciais (Parmar *et al.*, 1997).

O germacreno D também aparece como um dos principais constituintes dos óleos essenciais de *Piper macedoi*, dessa forma uma discussão sobre a fragmentação (Figura 25) e a relevância biossintética desse composto já foi apresentada.

O  $\alpha$ -selineno destacou-se como um dos principais constituintes dos óleos essenciais de *Piper fuligineum*, apresentando concentrações elevadas em praticamente todo o período amostral. Os maiores teores foram observados na primeira (17,91%), segunda (18,36%) e terceira (20,91%) coleta, tornando-se um dos constituintes dominantes do óleo essencial nesse intervalo. Após esse período, observou-se uma redução acentuada em sua abundância relativa, chegando a 7,42% na quinta coleta e 5,06% na sexta coleta. Esse comportamento demonstra uma forte influência da sazonalidade sobre a produção desse metabólito, evidenciando que alterações ambientais podem afetar significativamente o fluxo biossintético direcionado à formação de esqueletos selinênicos.



O  $\alpha$ -selineno, pertence à classe dos sesquiterpenos hidrocarbonados, é biossintetizado a partir do farnesil difosfato (FPP), precursor universal dos sesquiterpenos. Compostos dessa classe são frequentemente relatados em óleos essenciais de espécies pertencentes às famílias Piperaceae, Myrtaceae e Asteraceae, estando associados tanto à defesa química vegetal quanto à comunicação ecológica da planta com o ambiente (Bakkali *et al.*, 2008). A elevada abundância observada em *P. fuligineum* reforça a predominância da rota dos sesquiterpenos não oxigenados identificada para a espécie, especialmente durante as coletas intermediárias, quando essa classe química representou mais de 67% da composição total dos óleos essenciais.

O Neointermedeol destacou-se como um dos principais sesquiterpenos oxigenados identificados nos óleos essenciais de *Piper fuligineum*, apresentando concentrações entre 2,39 e 10,45% ao longo das seis coletas realizadas. Os maiores teores foram observados na primeira (10,45%) e sexta coletas (8,18%), enquanto as menores concentrações ocorreram entre a segunda e a quarta coleta, período no qual predominou a fração dos sesquiterpenos hidrocarbonados. Esse comportamento sugere uma dinâmica sazonal distinta daquela observada para constituintes como germacreno D e  $\alpha$ -selineno, indicando que diferentes rotas metabólicas podem responder de maneira específica às variações ambientais.

O Neointermedeol é um álcool sesquiterpênico derivado da oxidação de esqueletos terpênicos biossintetizados a partir do farnesil difosfato (FPP). A presença de um grupo hidroxila confere ao composto maior polaridade em comparação aos sesquiterpenos hidrocarbonados, característica frequentemente associada ao aumento da reatividade química e da atividade biológica (Baser & Buchbauer, 2015). A ocorrência desse metabólito em concentrações elevadas nas coletas em que os sesquiterpenos oxigenados apresentaram maior abundância sugere que sua biossíntese está relacionada ao aumento da atividade de enzimas oxidativas envolvidas na modificação de precursores terpênicos previamente formados.

Do ponto de vista ecológico, sesquiterpenos oxigenados têm sido frequentemente associados a mecanismos de defesa vegetal contra microrganismos, insetos e outros agentes estressores, além de desempenharem papel relevante na interação das plantas com o ambiente. Embora existam poucos estudos específicos abordando as atividades biológicas do Neointermedeol, sua recorrente ocorrência em óleos essenciais com reconhecidas propriedades antimicrobianas sugere que esse composto possa contribuir para a atividade biológica observada nessas misturas complexas. Dessa forma, a elevada participação do Neointermedeol em determinadas coletas de *P. fuligineum* reforça a importância dos sesquiterpenos oxigenados na composição química e na potencial função ecológica dos óleos essenciais da espécie.

(Bakkali *et al.*, 2008; Baser & Buchbauer, 2015). Em *P. fuliginum*, a elevada participação desse composto nas coletas em que os sesquiterpenos oxigenados se mostraram mais abundantes reforça a hipótese de que processos oxidativos desempenham papel relevante na modulação sazonal do metabolismo secundário da espécie.

Além disso, o comportamento temporal do Neointermedeol apresentou tendência oposta à observada para os sesquiterpenos não oxigenados, especialmente  $\alpha$ -selineno e germacreno D. Enquanto esses compostos atingiram seus maiores teores durante as coletas intermediárias, o Neointermedeol apresentou maiores concentrações nos extremos do período experimental. Esse padrão sugere uma possível redistribuição do fluxo metabólico entre hidrocarbonetos sesquiterpênicos e seus derivados oxigenados, refletindo ajustes fisiológicos da planta frente às mudanças ambientais ocorridas ao longo do ciclo sazonal.

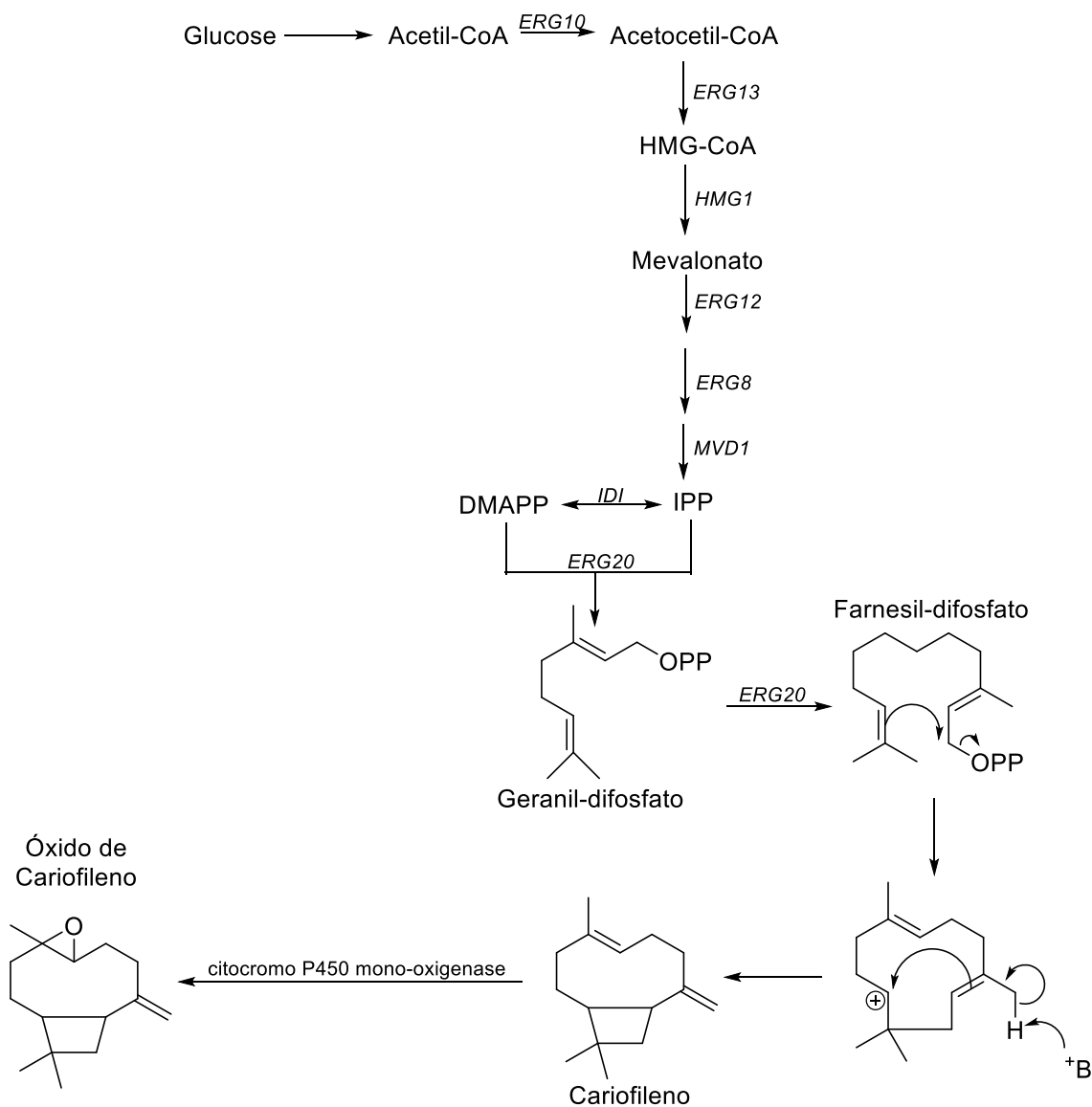
O 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila também figurou entre os constituintes majoritários dos óleos essenciais de *Piper fuliginum*, embora tenha apresentado comportamento sazonal distinto dos demais compostos discutidos. O cromeno foi detectado apenas entre a segunda e a sexta coleta, atingindo sua maior abundância na segunda coleta (11,63%) e apresentando redução gradual ao longo do período experimental, alcançando 3,31% na sexta coleta. Esse padrão sugere que a biossíntese desse metabólito é mais sensível às variações ambientais do que a observada para os principais sesquiterpenos da espécie.

A ocorrência desse composto em *P. fuliginum* é particularmente interessante por se tratar do mesmo cromeno identificado em *P. macedoi*, reforçando a importância dessa classe de metabólitos para determinadas espécies do gênero *Piper*. Entretanto, enquanto em *P. macedoi* o cromeno constituiu um dos principais componentes dos óleos essenciais durante todo o período avaliado, em *P. fuliginum* sua participação foi consideravelmente menor e mais variável, indicando diferenças na regulação das rotas biossintéticas entre as duas espécies.

Cromenos são metabólitos frequentemente associados a mecanismos de defesa química vegetal e diversas atividades biológicas têm sido descritas para compostos pertencentes a essa classe, incluindo atividades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes. Dessa forma, embora o 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila não tenha constituído o principal componente dos óleos essenciais de *P. fuliginum*, sua ocorrência em concentrações relativamente elevadas durante parte do período experimental sugere contribuição para o perfil químico e para as propriedades biológicas associadas à espécie.

Os cariofilenos também contribuíram significativamente para a composição dos óleos essenciais de *Piper fuliginum*, destacando-se principalmente o Cariofileno e o Cariofileno Oxide. O Cariofileno foi detectado em todas as coletas, apresentando concentrações entre 2,68% e 8,97%, enquanto o Óxido de Cariofileno variou entre 0,77 e 4,73%. A presença simultânea desses compostos é particularmente relevante, uma vez que o Óxido de Cariofileno pode ser formado por processos oxidativos, promovidos pela enzima P450 envolvendo o  $\beta$ -Cariofileno que é formado a partir da rota biossintética comum dos terpenos (Figura 34) (Dewick, 2009), refletindo a dinâmica entre sesquiterpenos hidrocarbonados e seus derivados oxigenados observada ao longo do período experimental.

**Figura 34** – Esquema resumido da rota biossintética para o cariofileno e para o Óxido de cariofileno.



Abreviações: IPP – isopentenil-difosfato; DMAPP – dimetilalil-difosfato; ERG10 – acetoacetil-CoA-tiolase; ERG13 – hidroximetilglutaril-CoA-sintase; HMG1 – HMG-CoA-redutase; ERG12 – mevalonato-quinase; ERG8 – fosfomevalonato-quinase; MVD1 – mevalonato-pirofosfato-descarboxilase; IDI – isopentenil-difosfato-isomerase; ERG20 – farnesil-pirofosfato-sintetase

Adaptado de: Park *et al.*, 2025; Oda *et al.*, 2011

O cariofileno é um dos sesquiterpenos mais amplamente distribuídos no reino vegetal e frequentemente figura entre os constituintes majoritários de óleos essenciais de espécies do gênero *Piper*. Além de sua importância ecológica nos mecanismos de defesa vegetal, esse

composto tem despertado interesse farmacológico devido às suas atividades anti-inflamatória, antimicrobiana e gastroprotetora descritas na literatura. De forma complementar, o óxido de cariofileno também apresenta atividades biológicas relevantes, incluindo propriedades antimicrobianas e antifúngicas (Bakkali *et al.*, 2008), sendo frequentemente associado à bioatividade de óleos essenciais ricos em sesquiterpenos.

Embora não tenham atingido as mesmas concentrações observadas para germacreno D ou  $\alpha$ -selineno, os cariofilenos estiveram presentes de maneira consistente durante todo o período avaliado, contribuindo para a predominância da fração sesquiterpênica dos óleos essenciais de *P. fuligineum*. A ocorrência simultânea dessas moléculas reforça a importância da rota dos sesquiterpenos para a composição química da espécie e sugere possível contribuição para as atividades biológicas observadas para os óleos essenciais avaliados neste estudo.

Com o objetivo de investigar a influência das variáveis climáticas sobre a composição química dos óleos essenciais de *Piper fuligineum*, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson entre os principais constituintes químicos (Tabela 12), as classes de metabólitos (Tabela 13) e os parâmetros ambientais monitorados durante o período experimental. Os resultados evidenciaram que a precipitação e a pressão atmosférica exerceram maior influência sobre determinados metabólitos, enquanto a temperatura mostrou associação mais pronunciada com a distribuição das principais classes terpênicas.

**Tabela 12** - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis climáticas e os principais constituintes químicos do óleo essencial de *Piper fuliginum*.

| Coeficiente de Correlação de Pearson (r) |              |                     |                   |
|------------------------------------------|--------------|---------------------|-------------------|
|                                          | Precipitação | Pressão Atmosférica | Temperatura Média |
| <b>Germacreno D</b>                      | 0,103        | 0,085               | -0,692            |
| <b>Neointermedeol</b>                    | -0,532       | 0,365               | 0,636             |
| <b>Óxido de<br/>Cariofileno</b>          | 0,003        | -0,101              | 0,558             |
| <b><math>\alpha</math>-Selinene</b>      | 0,740        | -0,725              | -0,154            |
| <b>Cromeno</b>                           | 0,916        | -0,795              | -0,156            |
| <b><math>\delta</math>-Cadineno</b>      | 0,622        | -0,653              | 0,008             |
| <b>Cariofileno</b>                       | -0,718       | 0,892               | -0,555            |
| <b>Globulol</b>                          | -0,491       | 0,399               | 0,197             |

Fonte: o Autor

**Tabela 13** - Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis climáticas e as classes químicas do óleo essencial de *Piper fuliginum*.

| Coeficiente de Correlação de Pearson (r) |              |                     |                   |
|------------------------------------------|--------------|---------------------|-------------------|
|                                          | Precipitação | Pressão Atmosférica | Temperatura Média |
| <b>Monoterpenos</b>                      | 0,461        | -0,429              | -0,114            |
| <b>Sesquiterpenos<br/>não Oxigenados</b> | 0,300        | -0,147              | -0,722            |
| <b>Sesquiterpenos<br/>Oxigenados</b>     | -0,455       | 0,268               | 0,741             |
| <b>Arilpropanoide</b>                    | 0,813        | -0,576              | -0,172            |
| <b>Cromeno</b>                           | 0,916        | -0,795              | -0,156            |

Fonte: o Autor

Entre os constituintes avaliados, o cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila apresentou a correlação positiva mais elevada com a precipitação ( $r = 0,916$ ) e correlação negativa com a pressão atmosférica ( $r = -0,795$ ), indicando maior produção durante os períodos

mais úmidos do ano. Tendência semelhante foi observada para o  $\alpha$ -selineno ( $r = 0,740$  para precipitação) e para o  $\delta$ -cadineno ( $r = 0,622$ ), sugerindo que a disponibilidade hídrica favorece a biossíntese desses metabólitos em *P. fuligineum*. O comportamento desses compostos coincide com as maiores precipitações registradas entre a segunda e a terceira coleta, período em que também foram observadas suas maiores abundâncias relativas.

Em contraste, o cariofileno apresentou forte correlação positiva com a pressão atmosférica ( $r = 0,892$ ) e correlação negativa com a precipitação ( $r = -0,718$ ), indicando maior acúmulo em períodos mais secos. Tendência semelhante foi observada para o Neointermedeol e o Globulol, embora com menor intensidade. Esses resultados sugerem que condições de menor disponibilidade hídrica pode favorecer o acúmulo de determinados sesquiterpenos relacionados a processos de defesa e adaptação fisiológica.

Em relação às classes químicas, observou-se comportamento oposto entre sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados. Enquanto os sesquiterpenos não oxigenados apresentaram correlação negativa com a temperatura média ( $r = -0,722$ ), os sesquiterpenos oxigenados exibiram correlação positiva de magnitude semelhante ( $r = 0,741$ ). Esse resultado sugere que alterações térmicas podem influenciar o equilíbrio entre hidrocarbonetos sesquiterpênicos e seus derivados oxigenados, possivelmente por meio da modulação de enzimas envolvidas em processos oxidativos do metabolismo terpênico.

De forma geral, os resultados indicam que a sazonalidade exerce influência significativa sobre a composição química dos óleos essenciais de *Piper fuligineum*, promovendo alterações tanto na abundância relativa dos constituintes majoritários quanto na distribuição das principais classes químicas. Diferentemente do observado para *P. macedoi*, onde as variações ocorreram principalmente em nível quantitativo mantendo um perfil químico relativamente estável, *P. fuligineum* apresentou elevada plasticidade química, evidenciada pela substituição de constituintes majoritários ao longo do período experimental e pelas fortes correlações observadas para compostos específicos, especialmente cromoeno,  $\alpha$ -Selinene e Cariofileno. Esses resultados reforçam a capacidade das espécies do gênero *Piper* de modular seu metabolismo secundário em resposta às condições ambientais, resultando em perfis químicos dinâmicos e sazonalmente dependentes.

A comparação entre os óleos essenciais de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum* evidencia diferenças marcantes na forma como essas espécies respondem às variações ambientais ao longo do ciclo sazonal. Embora ambas apresentem predomínio de sesquiterpenos e

compartilhem constituintes importantes, como germacreno D, cariofileno, óxido de cariofileno e o cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila, os padrões de distribuição desses metabólitos foram significativamente distintos entre as espécies.

Em *P. macedoi*, observou-se um perfil químico relativamente estável ao longo das seis coletas, caracterizado pela manutenção dos mesmos constituintes majoritários e por alterações predominantemente quantitativas. O germacreno D e o cromeno permaneceram entre os principais componentes durante todo o período experimental, enquanto as classes químicas apresentaram variações moderadas sem mudanças substanciais na composição qualitativa do óleo essencial. As correlações com as variáveis climáticas indicaram que a precipitação favoreceu principalmente a produção de sesquiterpenos não oxigenados, ao passo que períodos mais secos estiveram associados ao aumento dos sesquiterpenos oxigenados, sugerindo uma modulação quantitativa das rotas biossintéticas sem alteração significativa do perfil químico global da espécie.

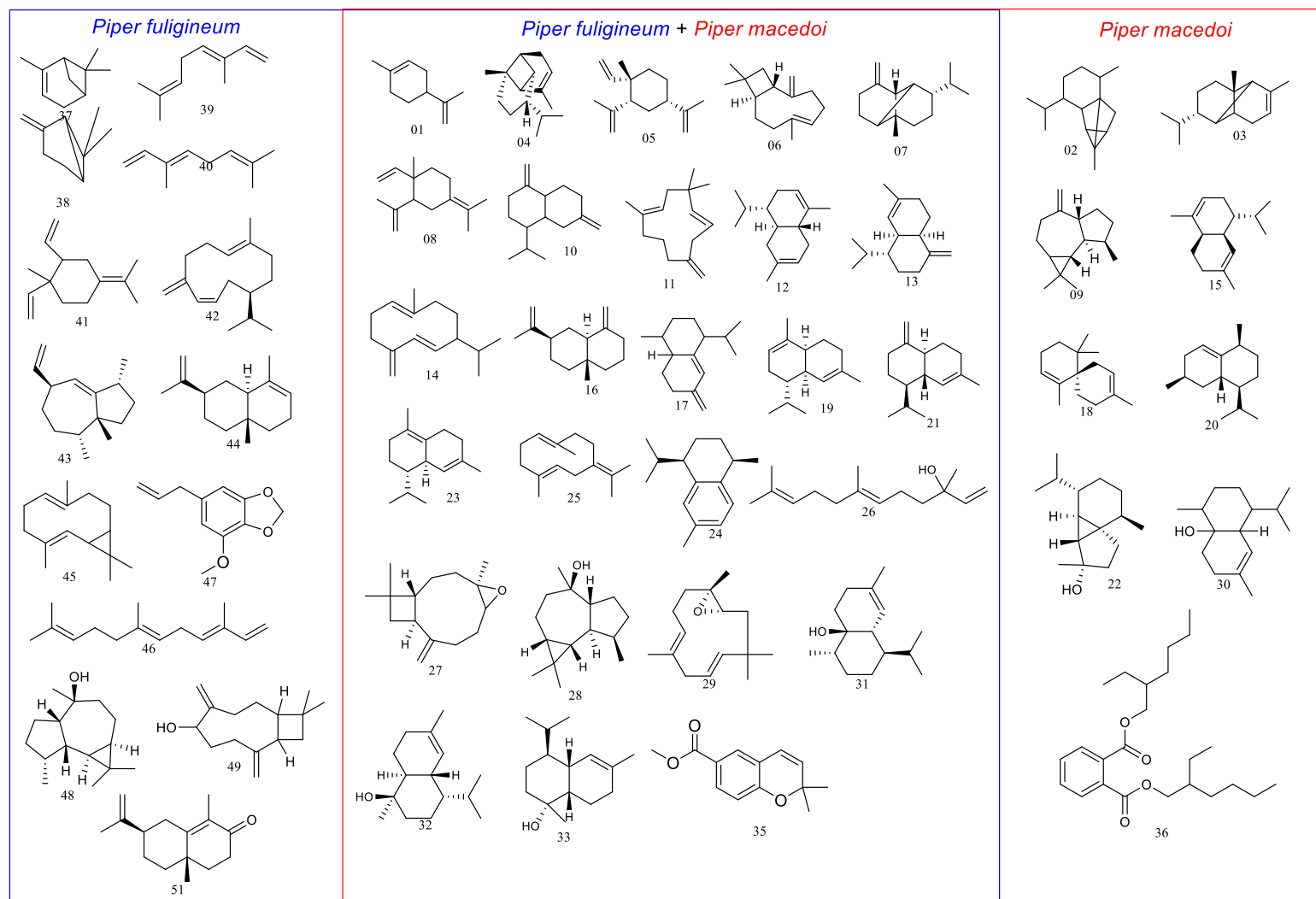
Por outro lado, *P. fuligineum* apresentou comportamento consideravelmente mais dinâmico, evidenciado pela alternância dos constituintes majoritários entre as coletas e pela maior variação na abundância relativa das diferentes classes químicas. Compostos como  $\alpha$ -selineno, neointermedeol,  $\delta$ -cadineno, cromeno e globulol apresentaram oscilações expressivas ao longo do período experimental, refletindo uma elevada plasticidade metabólica. As análises de correlação demonstraram ainda associações mais intensas entre determinados constituintes e os parâmetros climáticos, especialmente para o cromeno,  $\alpha$ -selineno e  $\beta$ -cariofileno, indicando que a composição química da espécie é fortemente influenciada pelas condições ambientais.

Outro aspecto relevante refere-se ao papel desempenhado pelo cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila. Embora esse composto tenha sido identificado em ambas as espécies, sua importância relativa diferiu substancialmente. Em *P. macedoi*, o cromeno figurou entre os principais constituintes durante todo o período experimental, alcançando concentrações superiores a 25% em determinadas coletas. Em contraste, em *P. fuligineum* o composto apresentou distribuição mais restrita e sazonal, atingindo valores máximos próximos a 12%, o que sugere diferenças na regulação da rota biossintética responsável pela sua formação.

Além da comparação entre os principais compostos, a Figura 35, mostra todos os compostos, onde a intercessão dos quadros traz os compostos em comum para as duas espécies.



**Figura 35** – Comparação do perfil químico dos óleos essenciais de *P. macedoi* e *P. fuligineum* com base nos constituintes anotados por CG-EM.



Fonte: o Autor

A comparação dos constituintes químicos anotados nos óleos essenciais de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum* evidência tanto a proximidade química entre as espécies quanto suas particularidades metabólicas. A presença de diversos compostos compartilhados, especialmente sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados, reflete a conservação de rotas biossintéticas características do gênero *Piper*, nas quais a via do FPP desempenha papel central na formação dos metabólitos voláteis. Entre os compostos comuns destacam-se Germacreno D,  $\beta$ -selineno, humuleno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -cadinol e o cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila, os quais contribuíram significativamente para a composição química dos óleos essenciais de ambas as espécies.

Por outro lado, a ocorrência de compostos exclusivos demonstra que, apesar da proximidade taxonômica, *P. macedoi* e *P. fuligineum* apresentam diferenças importantes na expressão de seu metabolismo secundário. Enquanto *P. fuligineum* apresentou maior diversidade de constituintes exclusivos, incluindo compostos pertencentes às classes dos monoterpenos, sesquiterpenos e arilpropanoides, *P. macedoi* foi caracterizada pela presença de um conjunto mais restrito de metabólitos exclusivos, associado a um perfil químico mais estável ao longo das coletas. Essas diferenças corroboram os resultados observados na análise sazonal, indicando que *P. fuligineum* apresenta maior plasticidade química em resposta às variações ambientais, ao passo que *P. macedoi* mantém um perfil composicional mais conservado.

Nesse contexto, as variações observadas nos compostos anotados permitem considerar, de forma cautelosa, a possibilidade de variação química intraespecífica, frequentemente discutida na literatura sob o conceito de quimiotipos. Conforme descrito por Gobbo-Neto e Lopes (2007), quimiotipos não representam diferenças taxonômicas, mas sim padrões distintos de produção metabólica dentro de uma mesma espécie, influenciados por fatores genéticos e ambientais. Assim, embora os dados do presente estudo não permitam afirmar de maneira conclusiva a existência de quimiotipos para *Piper macedoi* ou *Piper fuligineum*, os resultados obtidos reforçam a importância de abordagens sazonais e comparativas para uma caracterização química mais precisa, contribuindo para a compreensão da diversidade metabólica no gênero *Piper*.

### 6.3. Análises Biológicas dos Óleos Essenciais

As análises biológicas foram realizadas em parceria com o Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), sob a coordenação e supervisão do Prof. Dr. Carlos Henrique G. Martins.

Os resultados dos óleos frente a bactéria *H. pylori*, podem ser vistos na Tabela 14, onde FLG se refere a *P. fuligineum* e MCD a *P. macedoi*, o número subsequente a sigla representa a coleta de cada material para o preparo dos óleos.

**Tabela 14** – Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum* frente a *Helicobacter pylori* (ATCC 43526).

| Concentração Inibitória Mínima (CIM) em $\mu\text{g mL}^{-1}$ |                                          |
|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Amostras                                                      | Bactéria – <i>H. pylori</i> (ATCC 43526) |
| FLG1                                                          | >400                                     |
| FLG2                                                          | >400                                     |
| FLG3                                                          | >400                                     |
| FLG4                                                          | >400                                     |
| FLG5                                                          | >400                                     |
| FLG6                                                          | >400                                     |
| MCD1                                                          | >400                                     |
| MCD2                                                          | >400                                     |
| MCD3                                                          | >400                                     |
| MCD4                                                          | >400                                     |
| MCD5                                                          | >400                                     |
| MCD6                                                          | >400                                     |
| Tetraciclina (Controle positivo)                              | 0,3688                                   |

Os óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum* não apresentaram atividade inibitória frente a *Helicobacter pylori* (ATCC 43526) nas condições experimentais avaliadas, uma vez que todas as amostras exibiram valores de concentração inibitória mínima (CIM) superiores a 400  $\mu\text{g/mL}$ . Em contraste, a tetraciclina utilizada como controle positivo

apresentou CIM de  $0,3688 \mu\text{g mL}^{-1}$ , confirmando a adequação da metodologia empregada e a suscetibilidade da cepa bacteriana utilizada no ensaio.

A ausência de atividade observada pode estar relacionada à composição química dos óleos essenciais avaliados. Embora ambas as espécies apresentem elevada proporção de sesquiterpenos, incluindo constituintes como germacreno D,  $\alpha$ -Selinene, humuleno,  $\beta$ -selineno e derivados do cariofileno, a atividade anti-*H. pylori* relatada para óleos essenciais é frequentemente associada à presença de monoterpenos oxigenados, fenóis monoterpênicos ou fenilpropanoides específicos (Hung *et al.*, 2023), compostos que se encontram ausentes ou em baixas concentrações nos óleos estudados. Dessa forma, é possível que os constituintes majoritários presentes não sejam suficientemente ativos contra essa bactéria ou que as concentrações necessárias para exercer efeito inibitório sejam superiores às avaliadas neste estudo.

Além da composição química, a reduzida susceptibilidade observada pode estar relacionada às características fisiológicas de *H. pylori*. Essa bactéria apresenta elevada capacidade de adaptação ao ambiente gástrico, incluindo mecanismos de resistência associados à estrutura da membrana celular, formação de biofilmes e sistemas de resposta ao estresse, fatores que podem dificultar a ação de metabólitos lipofílicos presentes em óleos essenciais (Kao *et al.*, 2016). Assim, os resultados obtidos indicam que, nas condições avaliadas, os óleos essenciais de *P. macedoi* e *P. fuliginum* não constituem fontes promissoras de compostos com atividade anti-*H. pylori*, embora não se possa descartar a possibilidade de atividade para constituintes isolados ou frações específicas não avaliadas neste trabalho.

Os resultados da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Piper macedoi* e *Piper fuliginum* frente às leveduras do gênero *Candida* encontram-se apresentados na Tabela 15. De modo geral, observou-se uma resposta dependente da espécie fúngica avaliada, com reduzida atividade frente a *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, mas maior suscetibilidade de *Candida glabrata*. Além disso, foram observadas diferenças entre as coletas de uma mesma espécie vegetal, sugerindo que as variações sazonais na composição química dos óleos essenciais podem influenciar sua atividade biológica. O miconazol utilizado como controle positivo apresentou elevada atividade contra todas as cepas avaliadas, confirmando a adequação da metodologia empregada.

**Tabela 15** – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos óleos essenciais das folhas de *P. macedoi* e *P. fuligineum* frente a espécies de *Candida*.

| Concentração Inibitória Mínima (CIM)/Concentração Fungicida Mínima (CFM) |                                         |                                           |                                        |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------|
| Resultados em $\mu\text{g mL}^{-1}$                                      |                                         |                                           |                                        |
| Amostras                                                                 | Leveduras                               |                                           |                                        |
|                                                                          | <i>Candida albicans</i><br>(ATCC 90028) | <i>Candida tropicalis</i><br>(ATCC 13803) | <i>Candida glabrata</i><br>(ATCC 2001) |
| FLG1                                                                     | 3000/3000                               | 3000/3000                                 | 1500/>3000                             |
| FLG2                                                                     | 1500/1500                               | 3000/3000                                 | 750/>3000                              |
| FLG3                                                                     | 3000/3000                               | 3000/3000                                 | 375/>3000                              |
| FLG4                                                                     | 3000/3000                               | 3000/3000                                 | 375/>3000                              |
| FLG5                                                                     | 3000/3000                               | 3000/3000                                 | 93,75/3000                             |
| FLG6                                                                     | 3000/3000                               | 3000/3000                                 | 23,48/>3000                            |
| MCD1                                                                     | >3000/>3000                             | >3000/>3000                               | >3000/>3000                            |
| MCD2                                                                     | 3000/>3000                              | >3000/>3000                               | 3000/>3000                             |
| MCD3                                                                     | 3000/>3000                              | 3000/>3000                                | 375/>3000                              |
| MCD4                                                                     | 1500/1500                               | 1500/3000                                 | 375/>3000                              |
| MCD5                                                                     | 3000/>3000                              | 3000/3000                                 | 150/>3000                              |
| MCD6                                                                     | >3000/>3000                             | 3000/>3000                                | 1500/>3000                             |
| Miconazol<br>(Controle positivo)                                         | 0,031/0,031                             | 0,031/4,0                                 | 0,031/8,0                              |

Frente a *Candida albicans*, a maioria das amostras apresentou valores de CIM iguais ou superiores a  $3000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , indicando reduzida atividade antifúngica. Apenas as amostras FLG2 e MCD4 apresentaram inibição em concentrações de  $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ , valor ainda considerado elevado quando comparado ao controle positivo miconazol ( $0,031 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Resultado semelhante foi observado para *Candida tropicalis*, para a qual apenas a amostra MCD4 apresentou CIM de  $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ , enquanto todas as demais amostras exibiram valores iguais ou superiores a  $3000 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Esses resultados sugerem que os constituintes majoritários presentes nos óleos essenciais das duas espécies possuem baixa eficácia frente a essas leveduras, que frequentemente apresentam elevada tolerância a metabólitos terpênicos.

Em contraste, *Candida glabrata* apresentou maior suscetibilidade aos óleos essenciais avaliados. Os melhores resultados foram observados para *P. fuligineum*, especialmente nas coletas FLG5 e FLG6, que apresentaram CIM de 93,75 e 23,48  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Valores intermediários também foram observados para FLG3 e FLG4 (375  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), enquanto as amostras de *P. macedoi* apresentaram atividade mais discreta, destacando-se MCD5 (150  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e MCD3/MCD4 (375  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Esses resultados indicam que *C. glabrata* é significativamente mais sensível aos metabólitos presentes nos óleos essenciais estudados do que as demais espécies avaliadas.

A maior atividade observada para determinadas coletas pode estar relacionada às alterações sazonais na composição química dos óleos essenciais. Em *P. fuligineum*, as coletas FLG5 e FLG6, que apresentaram os menores valores de CIM frente a *C. glabrata*, foram caracterizadas pelo aumento da participação de sesquiterpenos oxigenados, incluindo compostos como Neointermedeol, Globulol e Cariofileno Oxide. Da mesma forma, em *P. macedoi*, a melhor atividade foi observada em períodos nos quais ocorreu aumento da fração de sesquiterpenos oxigenados. Compostos pertencentes a essa classe são frequentemente associados à atividade antifúngica devido à maior capacidade de interação com membranas celulares e estruturas intracelulares dos microrganismos, sugerindo que esses metabólitos possam contribuir para a atividade observada.

Outro aspecto relevante refere-se à diferença entre os valores de CIM e CFM. Embora algumas amostras tenham apresentado capacidade de inibir o crescimento de *C. glabrata* em concentrações relativamente baixas, os valores de CFM permaneceram elevados ou superiores ao limite máximo avaliado, indicando que a ação dos óleos essenciais ocorreu predominantemente de forma fungistática, e não fungicida. Esse comportamento é frequentemente observado para óleos essenciais, cujos constituintes podem interferir em processos fisiológicos e metabólicos dos microrganismos sem necessariamente promover sua eliminação completa (Baser & Buchbauer, 2015).

De forma geral, os resultados demonstram que os óleos essenciais de *P. macedoi* e *P. fuligineum* apresentam atividade antifúngica seletiva, com maior potencial frente a *Candida glabrata*. Além disso, a variação da atividade entre as diferentes coletas reforça a influência da sazonalidade sobre as propriedades biológicas dos óleos essenciais, evidenciando que alterações na composição química podem resultar em mudanças significativas na eficácia antifúngica. Entre as espécies avaliadas, *P. fuligineum* destacou-se por apresentar os menores

valores de CIM, sugerindo maior potencial para prospecção de metabólitos com atividade antifúngica.

## 7. CONCLUSÕES

Os óleos essenciais das folhas de *Piper macedoi* e *Piper fuliginum* apresentaram perfis químicos característicos do gênero *Piper*, com predominância de sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados, além da ocorrência de cromenos e, no caso de *P. fuliginum*, arilpropanoides. A análise por CG-EM permitiu a anotação de 36 constituintes em *P. macedoi* e 40 constituintes em *P. fuliginum*, evidenciando elevada diversidade química em ambas as espécies.

A combinação das técnicas de CG-EM, CG-FID e RMN mostrou-se eficiente para a caracterização dos óleos essenciais. A utilização do RMN foi fundamental para a correta identificação do composto majoritário inicialmente anotado por espectrometria de massas como um derivado benzoico, permitindo sua reatribuição ao cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila.

*Piper macedoi* apresentou um perfil químico relativamente estável ao longo das seis coletas realizadas, sendo caracterizada principalmente pela predominância de germacreno D e do cromeno 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila. As variações observadas foram predominantemente quantitativas, sem alterações expressivas na composição qualitativa dos óleos essenciais.

Em contraste, *Piper fuliginum* apresentou maior plasticidade química sazonal, evidenciada pela alternância dos constituintes majoritários entre as coletas e pela elevada variação na abundância relativa de compostos como germacreno D,  $\alpha$ -selinene, neointermedeol,  $\beta$ -cariofileno, globulol e cromeno, demonstrando maior sensibilidade às variações ambientais.

As análises de correlação demonstraram que a sazonalidade influenciou significativamente a produção dos metabólitos secundários em ambas as espécies. Em *P. macedoi*, a precipitação apresentou associação positiva com o rendimento dos óleos essenciais, enquanto pressão atmosférica e temperatura apresentaram correlações negativas. Em *P. fuliginum*, observou-se maior dependência das condições ambientais, com fortes correlações

entre precipitação, pressão atmosférica e a abundância de determinados constituintes e classes químicas.

A comparação entre as espécies revelou que, embora compartilhem diversos metabólitos e rotas biossintéticas características do gênero *Piper*, apresentam estratégias metabólicas distintas frente às mudanças ambientais. *P. macedoi* mostrou maior estabilidade composicional, enquanto *P. fuligineum* apresentou maior capacidade de modulação do metabolismo secundário em resposta às condições sazonais.

Os óleos essenciais das duas espécies não apresentaram atividade inibitória frente a *Helicobacter pylori* nas concentrações avaliadas, indicando que seus constituintes majoritários não possuem atividade significativa contra essa bactéria ou que concentrações superiores às testadas seriam necessárias para promover efeito antimicrobiano.

Em relação à atividade antifúngica, os óleos essenciais apresentaram baixa atividade frente a *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, porém demonstraram atividade promissora contra *Candida glabrata*, especialmente para determinadas coletas de *P. fuligineum*. Os resultados sugerem que a atividade antifúngica está associada às alterações sazonais da composição química, principalmente ao aumento da participação de sesquiterpenos oxigenados, evidenciando a importância da sazonalidade na modulação das propriedades biológicas dos óleos essenciais.

De forma geral, os resultados demonstram que a sazonalidade exerce influência direta sobre a composição química dos óleos essenciais de *Piper macedoi* e *Piper fuligineum*, afetando a abundância relativa de metabólitos secundários e, consequentemente, suas atividades biológicas. Além de ampliar o conhecimento químico sobre duas espécies ainda pouco exploradas do gênero *Piper*, este estudo evidencia a importância de considerar fatores ambientais em investigações fitoquímicas e biológicas, contribuindo para a compreensão das relações entre sazonalidade, metabolismo secundário e potencial biotecnológico de espécies da flora brasileira.



## REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4.1. ed. Baylor University: Allured Pub Corp. 2017

ANDRADE, E. H. A. et al. Variability of the essential oil of *Piper marginatum* Jacq. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 19, n. 7, p. 1241-1245, 2008. DOI: 10.1590/S0103-50532008000700004

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106

BARRA, A. Factors affecting chemical variability of essential oils: a review of recent developments. *Natural Product Communications*, v. 4, n. 8, p. 1934578X0900400827, 2009. DOI: 10.1177/1934578X0900400827

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2015.

BATISTA, R. S. et al. Essential oil of *Piper macedoi* Yunck. leaves: potential alternative for the management of banana anthracnose disease. *Journal of Natural Pesticide Research*, v. 5, p. 100039, 2023. DOI: 10.1016/j.napere.2023.100039

BENOMARI, F. Z. et al. Chemical variability and chemotype concept of essential oils from Algerian wild plants. *Molecules*, v. 28, n. 11, p. 4439, 2023. DOI: 10.3390/molecules28114439

BRASIL. INMET. **Banco de Dados Meteorológicos**. BDMEP-IMET. Disponível em: <https://bdmep.inmet.gov.br/#>. Acesso em: 02 jun. 2026.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 3. ed. Wiley, 2009.

DOS SANTOS, A. T. B. *et al.* Aphid *Cerosipha forbesi* control using *Piper macedoi* Yunck essential oil in strawberry crop. *Natural Product Research*, v. 38, n. 10, p. 1753–1758, 2024. DOI: 10.1080/14786419.2023.2214832

DOS SANTOS, V. N. *et al.* Leishmanicidal activity of the volatile oil of *Piper macedoi*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 31, n. 3, p. 342–346, 2021. DOI: 10.1007/s43450-021-00155-4

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 23, n. 4, p. 213–226, 2008. DOI: 10.1002/ffj.1875

FONSECA, Y. S. *et al.* Volatile oil from *Piper macedoi*: a new perspective for *Aedes aegypti* mosquito control. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 34, n. 6, p. 1333–1339, 2024. DOI: 10.1007/s43450-024-00569-z

FREEDMAN, P. H. **Out of the East: Spices and the Medieval Imagination**. New Haven: Yale University Press, 2008. p. 288

GAIA, A. M. *et al.* Essential oil composition of *Piper aduncum* L. (Piperaceae) from different regions of Brazil. *Journal of Essential Oil Research*, v. 26, n. 4, p. 248-253, 2014. DOI:10.1080/10412905.2014.912282

GHALIOUNGI, P. **The Ebers Papyrus: A New English Translation, Commentaries and Glossaries**. Cairo: Academy of Scientific Research and Technology, 1987. 298 p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007. DOI: 10.1590/S0100-40422007000200026

HUNG, T.T. *et al.* Effects of plant essential oils and their constituents on *Helicobacter pylori*: A Review. *Plant Science Today*, v. 10, n. 2, p. 334-344, 2023. DOI: 10.14719/pst.2200

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 9235: Aromatic natural raw materials — Vocabulary**. Geneva: ISO, 2013.

JARDIM, A. C. G. *et al.* Natural compounds isolated from Brazilian plants are potent inhibitors of hepatitis C virus replication in vitro. *Antiviral Research*, v. 115, p. 39–47, 2015. DOI: 10.1016/j.antiviral.2014.12.018

JARAMILLO, M. A.; MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American Journal of Botany*, v. 88, n. 4, p. 706–716, 2001. DOI: 10.2307/2657072

KAO, C. Y.; SHEU, B. S.; WU, J. J. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomedical Journal*, v. 39, n. 1, p. 14–23, 2016 DOI: 10.1016/j.bj.2015.06.002

KRINSKI, D.; FOERSTER, L. A.; DESCHAMPS, C. Ovicidal effect of the essential oils from 18 Brazilian *Piper* species: controlling *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera, Erebidæ) at the initial stage of development. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 40, n. e35273, 2018. DOI: 10.4025/actasciagron.v40i1.35273

LIMA, K. F. *et al.* Management potentiality of emulsions based on essential oil of *Piper macedoi* and *Piper arboreum* for spider mite: a possible alternative for agroecological control. *Natural Product Research*, v. 39, n. 12, p. 3556–3562, 2025. DOI: 10.1080/14786419.2024.2330505

LIU, Y.; XU Y.; ZHANG, N.; LI, H.; CHEN, L. Structure, biological activity, and biosynthesis of natural chromanes and chromenes. *Archives of Pharmacal Research*, v. 48, n. 11–12, p. 1094–1130, 2025. DOI: 10.1007/s12272-025-01573-x

MARCHESE, A. *et al.* Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 43, n. 6, p. 668–689, 2017. DOI: 10.1080/1040841X.2017.1295225

MAZZEU, B. *et al.* Kavalactones and benzoic acid derivatives from leaves of *Piper fuligineum* Kunth (Piperaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 29, n. 6, p. 1286-1290, 2018. DOI: 10.21577/0103-5053.20170225

MUKAKA, M. M. A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, v. 24, n. 3, p. 69–71, 2012. PMID: 23638278

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285

NOZELLA, A. H. *Estudo químico das folhas de Piper fuligineum e P. macedoi por espectrometria de massas combinadas às redes moleculares e avaliação in silico da inibição da Mpro de SARS-CoV-2*. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022.

ODA, S. *et al.* Synthesis of (–)-β-Óxido de Cariofilenovia regio- and stereoselective endocyclic epoxidation of β-Cariofileno with Nemanía aenea SF 10099-1 in a liquid–liquid interface bioreactor (L–L IBR). *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 112, n. 6, p. 561–565, 2011. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2011.07.024

OLIVEIRA, G. L. *et al.* Rooting of cuttings and analysis of essential oils from wild and cultivated *Piper macedoi* Yunck. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 18, n. 4, p. 782–790, 2016. DOI: 10.1590/1983-084X/0033

PARK, Y. K. *et al.* Efficient biosynthesis of β-Cariofileno by engineered *Yarrowia lipolytica*. *Microbial Cell Factories*, v. 24, n. 1, p. 38, 2025. DOI: 10.1186/s12934-025-02660-w

PARMAR, V. S. *et al.* Phytochemistry of the genus Piper. *Phytochemistry*, v. 46, n. 4, p. 597–673, 1997. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00328-2

PATEL, T.; ISHIUJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. Menthol: A refreshing look at this ancient compound. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 57, n. 5, p. 873–878, 2007. DOI: 10.1016/j.jaad.2007.04.008

PEDRO, P. *et al.* A chromene an isoprenylated methyl hydroxybenzoate and a C-methyl flavanone from the bark of *Piper hostmannianum*. *Phytochemistry*, v. 26, n. 3, p. 809–811, 1987. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)84792-5

POTT, A. *et al.* Floristic elements as basis for conservation of wetlands and public policies in Brazil: the case of veredas of the Prata River. *Oecologia Australis*, v. 23, n. 4, p. 744–763, 2019. DOI: 10.4257/oeco.2019.2304.04

RAMOS, Y. J. *et al.* Chemical composition of the essential oils of circadian rhythm and of different vegetative parts from *Piper mollicomum* Kunth - A medicinal plant from Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 92, p. 104116, 2020. DOI: 10.1016/j.bse.2020.104116

SALEHI, B. *et al.* Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. *Molecules*, v. 24, n. 7, p. 1364, 2019. DOI: 10.3390/molecules24071364

SANTOS, T. G. *et al.* Essential oil yield and composition of *Piper gaudichaudianum* Kunth: effect of drying method and storage time. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, n. 4, p. 838-844, 2014. DOI: 10.1590/1983-084X/13\_029

SCOTT, I. M.; JENSEN, H.; PHILOGÈNE, B. J. R.; ARNASON, J. T. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Reviews*, v. 7, p. 65–75, 2008. DOI: 10.1007/s11101-006-9058-5

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; BRYCE, D. L. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 8. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2014.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SINGH, Sonia; SHUKLA, Arpit. Therapeutic Potential of Piperine: A Comprehensive Review. *The Natural Products Journal*, v. 14, n. 3, p. 53-67, 2024. DOI: 10.2174/0122103155273860230928071249

STELIOPOULOS, P.; MOSANDL, A. Electron Impact-Induced Fragmentation of the Sesquiterpene Germacrene D. *European Journal of Mass Spectrometry*, v. 7, n. 6, p. 503–508, 2001. DOI: 10.1255/ejms.466

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VIEIRA, T. E. S. *et al.* Chemical composition of the essential oil from *Piper fuliginum* inflorescence and its acaricidal potential. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 61, n. 1, p. 186–187, 2025. DOI: 10.1007/s10600-025-04607-4

WINK, M. Introduction: Biochemistry, Physiology and Ecological Functions of Secondary Metabolites. In: WINK, M. (Org.) **Biochemistry of Plant Secondary Metabolism**. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2010. p. 1-19 DOI: 10.1002/9781444320503.fmatter

YANG, L.; WEN, K.-S.; RUAN, X.; ZHAO, Y.-X.; WEI, F.; WANG, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*, v. 23, n. 4, p. 762, 2018. DOI: 10.3390/molecules23040762

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 5. ed ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2010

## APÊNDICE

**Tabela S01**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi* (1ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                              | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|-------------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 19,539               | 1350            | Alpha-Copaene                                         | C15H24   | 1374            | 96% | 0,88     | NIST14s    |
| 20,202               | 1367            | Beta-Elemene                                          | C15H24   | 1389            | 96% | 1,19     | NIST14s    |
| 21,209               | 1392            | Cariofileno                                           | C15H24   | 1417            | 96% | 4,72     | NIST14     |
| 21,738               | 1405            | Beta-Copaene                                          | C15H24   | 1430            | 95% | 0,45     | NIST14     |
| 21,859               | 1408            | Gamma-Elemene                                         | C15H24   | 1434            | 95% | 0,12     | NIST14     |
| 22,701               | 1429            | humuleno                                              | C15H24   | 1452            | 97% | 8,44     | NIST14     |
| 23,526               | 1450            | Beta-Cadinene                                         | C15H24   | NA              | 90% | 0,41     | NIST14s    |
| 23,651               | 1453            | Gamma-Murolene                                        | C15H24   | 1478            | 96% | 2,55     | NIST14s    |
| 23,817               | 1457            | Germacreno D                                          | C15H24   | 1484            | 95% | 13,56    | NIST14     |
| 24,104               | 1465            | Beta-Selinene                                         | C15H24   | 1489            | 97% | 1,85     | NIST14s    |
| 24,225               | 1468            | Bicyclosesquiphellandrene                             | C15H24   | NA              | 89% | 0,30     | NIST14     |
| 24,389               | 1472            | Alpha-Selinene                                        | C15H24   | 1498            | 91% | 4,17     | NIST14     |
| 24,654               | 1479            | Alpha-Murolene                                        | C15H24   | 1500            | 93% | 1,20     | NIST14     |
| 24,769               | 1482            | Delta-Cadinene                                        | C15H24   | 1522            | 87% | 2,73     | NIST14     |
| 25,170               | 1492            | Gamma-Cadinene                                        | C15H24   | 1513            | 96% | 1,95     | NIST14s    |
| 25,390               | 1497            | Delta-Cadinene                                        | C15H24   | 1522            | 92% | 4,41     | NIST14     |
| 26,801               | 1533            | Germacreno B                                          | C15H24   | 1559            | 92% | 0,22     | NIST14     |
| 27,741               | 1557            | Cariofileno Oxide                                     | C15H24O  | 1582            | 88% | 0,67     | NIST14     |
| 28,806               | 1584            | humuleno Epoxide II                                   | C15H24O  | 1608            | 95% | 0,97     | NIST14     |
| 29,140               | 1592            | 1,10-di-epi-cubenol                                   | C15H26O  | 1618            | 90% | 0,45     | NIST14     |
| 29,610               | 1605            | 1-epi-Cubenol                                         | C15H26O  | 1627            | 90% | 0,59     | NIST14     |
| 30,217               | 1622            | Tau-Cadinol                                           | C15H26O  | 1638            | 89% | 1,95     | NIST14s    |
| 30,394               | 1627            | Delta-Cadinol                                         | C15H26O  | 1644            | 89% | 0,94     | NIST14s    |
| 30,710               | 1636            | Alpha-Cadinol                                         | C15H26O  | 1652            | 93% | 3,69     | NIST14     |
| 31,573               | 1661            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila        | C13H14O3 | NA              | NA  | 26,56    | NA         |
| 62,694               | 2743            | 1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester | C24H38O4 | NA              | 92% | 0,11     | NIST14s    |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S02**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi* (2ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 6,071                | 1013            | D-Limonene                                     | C10H16   | 1024            | 96% | 1,08     | NIST14s    |
| 19,257               | 1343            | Alpha-Ylangene                                 | C15H24   | 1373            | 91% | 0,25     | NIST14     |
| 19,531               | 1350            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 95% | 0,89     | NIST14s    |
| 20,191               | 1366            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 96% | 1,49     | NIST14s    |
| 21,219               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 94% | 4,64     | NIST14     |
| 21,718               | 1404            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 94% | 0,65     | NIST14     |
| 21,848               | 1408            | Gamma-Elemene                                  | C15H24   | 1434            | 95% | 0,14     | NIST14     |
| 22,020               | 1412            | Aromadendrene                                  | C15H24   | 1439            | 85% | 0,14     | NIST14s    |
| 22,546               | 1425            | Epsilon-Muurolene                              | C15H24   | NA              | 91% | 0,16     | NIST14     |
| 22,709               | 1429            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 96% | 7,11     | NIST14s    |
| 23,527               | 1450            | Beta-Cadinene                                  | C15H24   | NA              | 90% | 0,37     | NIST14s    |
| 23,686               | 1454            | Gamma-Muurolene                                | C15H24   | 1478            | 96% | 1,70     | NIST14s    |
| 23,863               | 1459            | Germacreno D                                   | C15H24   | 1484            | 94% | 27,36    | NIST14     |
| 24,120               | 1465            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 95% | 2,33     | NIST14s    |
| 24,230               | 1468            | Bicyclosesquiphellandrene                      | C15H24   | NA              | 92% | 2,32     | NIST14     |
| 24,362               | 1471            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 92% | 1,50     | NIST14     |
| 24,646               | 1478            | Alpha-Muurolene                                | C15H24   | 1500            | 94% | 2,22     | NIST14s    |
| 25,171               | 1492            | Gamma-Cadinene                                 | C15H24   | 1513            | 96% | 2,46     | NIST14s    |
| 25,396               | 1497            | Delta-Cadinene                                 | C15H24   | 1522            | 92% | 4,16     | NIST14     |
| 26,804               | 1533            | Germacreno B                                   | C15H24   | 1559            | 92% | 0,26     | NIST14     |
| 27,723               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 89% | 0,09     | NIST14s    |
| 28,806               | 1584            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 95% | 0,35     | NIST14     |
| 29,135               | 1592            | 1,10-di-Epicubenol                             | C15H26O  | 1618            | 91% | 0,04     | NIST14     |
| 29,604               | 1605            | 1-epi-Cubenol                                  | C15H26O  | 1627            | 91% | 0,51     | NIST14     |
| 30,226               | 1622            | Tau-Cadinol                                    | C15H26O  | 1638            | 89% | 0,32     | NIST14s    |
| 30,387               | 1627            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 91% | 1,45     | NIST14s    |
| 30,721               | 1637            | Alpha-Cadinol                                  | C15H26O  | 1652            | 93% | 2,02     | NIST14     |
| 31,553               | 1660            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 15,22    | NA         |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.



**Tabela S03**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi* (3ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 5,996                | 1011            | D-Limonene                                     | C10H16   | 1024            | 97% | 0,70     | NIST14s    |
| 19,193               | 1342            | Cyclosativene                                  | C15H24   | 1369            | 92% | 0,25     | NIST14s    |
| 19,554               | 1351            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 95% | 0,78     | NIST14s    |
| 20,220               | 1367            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 96% | 2,08     | NIST14s    |
| 21,226               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 4,86     | NIST14     |
| 21,776               | 1406            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 92% | 0,60     | NIST14     |
| 22,699               | 1429            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 96% | 7,35     | NIST14s    |
| 23,654               | 1453            | Gamma-Murolene                                 | C15H24   | 1478            | 96% | 1,83     | NIST14s    |
| 23,850               | 1458            | Alpha-Amorphene                                | C15H24   | 1483            | 87% | 32,31    | NIST14s    |
| 24,135               | 1465            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 96% | 11,41    | NIST14s    |
| 24,465               | 1474            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 89% | 3,52     | NIST14     |
| 24,666               | 1479            | Alpha-Murolene                                 | C15H24   | 1500            | 93% | 1,43     | NIST14     |
| 25,189               | 1492            | Gamma-Cadinene                                 | C15H24   | 1513            | 96% | 2,78     | NIST14s    |
| 25,348               | 1496            | Cubebol                                        | C15H26O  | 1514            | 86% | 3,93     | NIST14     |
| 25,657               | 1504            | cis-calamenene                                 | C15H22   | 1528            | 90% | 0,70     | NIST14     |
| 27,700               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 94% | 0,35     | NIST14s    |
| 28,790               | 1583            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 96% | 0,44     | NIST14     |
| 29,140               | 1592            | 1,10-di-Epicubenol                             | C15H26O  | 1618            | 84% | 0,60     | NIST14     |
| 29,631               | 1605            | 1-epi-Cubenol                                  | C15H26O  | 1627            | 87% | 0,72     | NIST14     |
| 30,403               | 1627            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 89% | 0,81     | NIST14s    |
| 30,734               | 1637            | Alpha-Cadinol                                  | C15H26O  | 1652            | 92% | 2,14     | NIST14     |
| 31,479               | 1658            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 8,73     | NA         |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S04**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi* (4ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 6,136                | 1014            | D-Limonene                                     | C10H16   | 1024            | 95% | 1,02     | NIST14s    |
| 19,576               | 1351            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 95% | 0,78     | NIST14s    |
| 20,236               | 1367            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 97% | 1,88     | NIST14s    |
| 21,228               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 4,55     | NIST14     |
| 21,792               | 1406            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 90% | 0,18     | NIST14     |
| 22,697               | 1429            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 96% | 8,11     | NIST14s    |
| 23,657               | 1453            | Gamma-Murolene                                 | C15H24   | 1478            | 96% | 23,44    | NIST14s    |
| 23,836               | 1458            | Alpha-Amorphene                                | C15H24   | 1483            | 89% | 1,95     | NIST14s    |
| 24,142               | 1466            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 97% | 3,78     | NIST14s    |
| 24,461               | 1474            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 89% | 1,21     | NIST14     |
| 24,675               | 1479            | Alpha-Murolene                                 | C15H24   | 1500            | 93% | 2,17     | NIST14s    |
| 25,201               | 1492            | Gamma-Cadinene                                 | C15H24   | 1513            | 96% | 3,94     | NIST14s    |
| 25,364               | 1497            | Cubebol                                        | C15H26O  | 1514            | 83% | 0,49     | NIST14     |
| 25,681               | 1505            | Cis-Calamenene                                 | C15H22   | 1528            | 90% | 0,39     | NIST14     |
| 27,702               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 94% | 0,72     | NIST14s    |
| 28,793               | 1583            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 96% | 0,78     | NIST14     |
| 29,140               | 1592            | 1,10-di-Epicubenol                             | C15H26O  | 1618            | 86% | 0,74     | NIST14     |
| 29,625               | 1605            | 1-epi-Cubenol                                  | C15H26O  | 1627            | 89% | 1,04     | NIST14     |
| 30,235               | 1623            | Tau-Cadinol                                    | C15H26O  | 1638            | 85% | 2,21     | NIST14s    |
| 30,404               | 1627            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 90% | 1,01     | NIST14s    |
| 30,729               | 1637            | Alpha-Cadinol                                  | C15H26O  | 1652            | 92% | 2,89     | NIST14     |
| 31,488               | 1658            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 12,93    | NA         |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S05**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi* (5ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 6,176                | 1015            | D-Limonene                                     | C10H16   | 1024            | 95% | 4,93     | NIST14s    |
| 19,600               | 1352            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 91% | 0,63     | NIST14s    |
| 20,221               | 1367            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 96% | 1,52     | NIST14s    |
| 21,219               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 3,29     | NIST14     |
| 21,749               | 1405            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 95% | 0,34     | NIST14     |
| 21,871               | 1408            | Gamma-Elemene                                  | C15H24   | 1434            | 94% | 0,10     | NIST14     |
| 22,567               | 1426            | Epsilon-Muurolene                              | C15H24   | NA              | 90% | 0,11     | NIST14     |
| 22,695               | 1429            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 96% | 5,10     | NIST14s    |
| 23,661               | 1453            | Gamma-Muurolene                                | C15H24   | 1478            | 96% | 1,70     | NIST14s    |
| 23,817               | 1457            | Germacreno D                                   | C15H24   | 1484            | 94% | 19,49    | NIST14     |
| 24,138               | 1466            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 92% | 1,44     | NIST14s    |
| 24,250               | 1468            | Bicyclosquiphallandrene                        | C15H24   | NA              | 85% | 2,13     | NIST14     |
| 24,375               | 1472            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 91% | 1,69     | NIST14     |
| 24,684               | 1479            | Alpha-Muurolene                                | C15H24   | 1500            | 90% | 1,83     | NIST14s    |
| 25,195               | 1492            | Gamma-Cadinene                                 | C15H24   | 1513            | 96% | 1,85     | NIST14s    |
| 25,407               | 1498            | Delta-Cadinene                                 | C15H24   | 1522            | 92% | 3,36     | NIST14     |
| 26,824               | 1534            | Germacreno B                                   | C15H24   | 1559            | 91% | 1,32     | NIST14     |
| 27,730               | 1557            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 91% | 3,84     | NIST14s    |
| 28,000               | 1563            | (-)-Globulol                                   | C15H26O  | 1590            | 88% | 0,86     | NIST14     |
| 28,811               | 1584            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 95% | 1,54     | NIST14     |
| 29,157               | 1593            | 1,10-di-Epicubenol                             | C15H26O  | 1618            | 91% | 0,68     | NIST14     |
| 29,623               | 1605            | 1-epi-Cubenol                                  | C15H26O  | 1627            | 92% | 1,02     | NIST14     |
| 30,312               | 1625            | tau-Muurolol                                   | C15H26O  | 1638            | 88% | 2,12     | NIST14     |
| 30,400               | 1627            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 89% | 1,04     | NIST14s    |
| 30,723               | 1637            | Alpha-Cadinol                                  | C15H26O  | 1652            | 92% | 3,80     | NIST14     |
| 31,505               | 1659            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 16,60    | NA         |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S06**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. macedoi* (6ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 5,969                | 1010            | D-Limonene                                     | C10H16   | 1024            | 97% | 2,35     | NIST14s    |
| 19,257               | 1343            | Alpha-Ylangene                                 | C15H24   | 1373            | 92% | 0,20     | NIST14     |
| 19,532               | 1350            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 95% | 0,68     | NIST14s    |
| 20,195               | 1366            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 96% | 1,49     | NIST14s    |
| 21,214               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 4,34     | NIST14     |
| 21,734               | 1405            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 95% | 0,48     | NIST14     |
| 21,861               | 1408            | Gamma-Elemene                                  | C15H24   | 1434            | 94% | 0,16     | NIST14     |
| 22,030               | 1412            | Aromadendrene                                  | C15H24   | 1439            | 89% | 0,20     | NIST14     |
| 22,704               | 1429            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 96% | 7,16     | NIST14s    |
| 23,642               | 1453            | Gamma-Murolene                                 | C15H24   | 1478            | 96% | 1,66     | NIST14s    |
| 23,800               | 1457            | Germacrene D                                   | C15H24   | 1484            | 94% | 22,24    | NIST14     |
| 24,111               | 1465            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 96% | 1,80     | NIST14s    |
| 24,215               | 1468            | Bicyclosquiphellandrene                        | C15H24   | NA              | 84% | 0,41     | NIST14     |
| 24,413               | 1473            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 91% | 3,72     | NIST14     |
| 24,650               | 1479            | Alpha-Murolene                                 | C15H24   | 1500            | 93% | 2,52     | NIST14s    |
| 25,161               | 1491            | Gamma-Cadinene                                 | C15H24   | 1513            | 96% | 2,36     | NIST14s    |
| 25,395               | 1497            | Delta-Cadinene                                 | C15H24   | 1522            | 91% | 3,79     | NIST14     |
| 25,609               | 1503            | cis-Calamenene                                 | C15H24   | 1528            | 92% | 0,66     | NIST14     |
| 26,802               | 1533            | Germacrene B                                   | C15H24   | 1559            | 89% | 0,37     | NIST14     |
| 27,480               | 1550            | (E)-Nerolidol                                  | C15H26O  | 1561            | 94% | 1,39     | NIST14s    |
| 27,696               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 91% | 3,37     | NIST14s    |
| 28,792               | 1583            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 96% | 1,15     | NIST14     |
| 29,110               | 1592            | 1,10-di-Epicubenol                             | C15H26O  | 1618            | 87% | 0,63     | NIST14     |
| 29,587               | 1604            | 1-epi-Cubenol                                  | C15H26O  | 1627            | 93% | 0,93     | NIST14     |
| 30,206               | 1622            | tau-Cadinol                                    | C15H26O  | 1638            | 90% | 0,54     | NIST14s    |
| 30,384               | 1627            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 90% | 1,75     | NIST14s    |
| 30,697               | 1636            | Alpha-Cadinol                                  | C15H26O  | 1652            | 93% | 3,13     | NIST14     |
| 31,529               | 1660            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 14,20    | NA         |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S07**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuligineum* (1ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                 | Fórmula | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------|---------|-----------------|-----|----------|------------|
| 19,568               | 1351            | Alpha-Copaene                            | C15H24  | 1374            | 92% | 1,01     | NIST14s    |
| 20,200               | 1367            | Beta-Elemene                             | C15H24  | 1389            | 96% | 0,16     | NIST14s    |
| 21,217               | 1392            | Cariofileno                              | C15H24  | 1417            | 95% | 7,34     | NIST14s    |
| 21,741               | 1405            | Beta-Copaene                             | C15H24  | 1430            | 94% | 0,48     | NIST14     |
| 22,714               | 1429            | humuleno                                 | C15H24  | 1452            | 96% | 0,85     | NIST14s    |
| 23,649               | 1453            | Gamma-Murolene                           | C15H24  | 1478            | 93% | 1,21     | NIST14s    |
| 23,813               | 1457            | Germacrene D                             | C15H24  | 1484            | 92% | 14,30    | NIST14     |
| 24,079               | 1464            | Beta-Selinene                            | C15H24  | 1489            | 97% | 3,13     | NIST14s    |
| 24,400               | 1472            | Alpha-Selinene                           | C15H24  | 1498            | 92% | 5,04     | NIST14     |
| 24,696               | 1480            | Alpha-Murolene                           | C15H24  | 1500            | 90% | 1,00     | NIST14s    |
| 27,510               | 1551            | (E)-Nerolidol                            | C15H26O | 1561            | 95% | 7,00     | NIST14s    |
| 27,730               | 1557            | Cariofileno Oxide                        | C15H24O | 1582            | 95% | 7,96     | NIST14s    |
| 27,959               | 1562            | Globulol                                 | C15H26O | 1590            | 93% | 0,36     | NIST14s    |
| 28,818               | 1584            | humuleno Epoxide II                      | C15H24O | 1608            | 93% | 2,24     | NIST14     |
| 29,620               | 1605            | 1-epi-Cubenol                            | C15H26O | 1627            | 86% | 0,74     | NIST14     |
| 29,955               | 1615            | Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5.alpha.-ol | C15H24O | 1639            | 89% | 1,45     | NIST14     |
| 30,235               | 1623            | Tau-Cadinol                              | C15H26O | 1638            | 88% | 3,28     | NIST14s    |
| 30,396               | 1627            | Delta-Cadinol                            | C15H26O | 1644            | 86% | 0,98     | NIST14s    |
| 30,696               | 1636            | Neointermedeol                           | C15H26O | 1658            | 95% | 10,45    | NIST14     |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S08** – Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum* (2ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 6,090                | 1013            | D-Limonene                                     | C10H16   | 1024            | 95% | 1,50     | NIST14s    |
| 6,801                | 1031            | Cis-Beta-Ocimene                               | C10H16   | 1044            | 96% | 0,22     | NIST14s    |
| 19,551               | 1351            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 94% | 0,39     | NIST14s    |
| 20,202               | 1367            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 95% | 1,22     | NIST14s    |
| 21,212               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 4,21     | NIST14     |
| 21,728               | 1405            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 94% | 0,42     | NIST14     |
| 21,857               | 1408            | Gamma-Elemene                                  | C15H24   | 1434            | 94% | 0,18     | NIST14     |
| 22,290               | 1419            | IsoGermacreno D                                | C15H24   | NA              | 92% | 0,15     | NIST14     |
| 22,688               | 1429            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 96% | 2,78     | NIST14s    |
| 23,535               | 1450            | Beta-Cadinene                                  | C15H24   | NA              | 91% | 0,23     | NIST14s    |
| 23,661               | 1453            | Gamma-Murolene                                 | C15H24   | 1478            | 94% | 1,52     | NIST14s    |
| 23,824               | 1458            | Germacreno D                                   | C15H24   | 1484            | 94% | 16,52    | NIST14     |
| 24,117               | 1465            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 95% | 1,56     | NIST14s    |
| 24,225               | 1468            | Bicyclosesquiphellandrene                      | C15H24   | NA              | 86% | 0,29     | NIST14     |
| 24,365               | 1471            | BicycloGermacreno                              | C15H24   | 1500            | 93% | 17,91    | NIST14     |
| 24,660               | 1479            | Alpha-Murolene                                 | C15H24   | 1500            | 92% | 1,99     | NIST14s    |
| 25,167               | 1492            | Gamma-Cadinene                                 | C15H24   | 1513            | 94% | 1,52     | NIST14s    |
| 25,398               | 1497            | Delta-Cadinene                                 | C15H24   | 1522            | 91% | 5,97     | NIST14     |
| 25,970               | 1512            | Myristicin                                     | C11H12O3 | 1517            | 94% | 2,66     | NIST14s    |
| 27,564               | 1552            | (E)-Nerolidol                                  | C15H26O  | 1561            | 94% | 1,03     | NIST14     |
| 27,724               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 90% | 3,57     | NIST14s    |
| 28,814               | 1584            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 95% | 0,32     | NIST14     |
| 30,213               | 1622            | Tau-Cadinol                                    | C15H26O  | 1638            | 92% | 1,72     | NIST14s    |
| 30,389               | 1627            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 89% | 0,92     | NIST14s    |
| 30,717               | 1636            | Neointermedeol                                 | C15H26O  | 1658            | 91% | 3,43     | NIST14     |
| 31,481               | 1658            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 14,20    | NA         |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S09**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum* (3ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 3,496                | NA              | Alpha-Pinene                                   | C10H16   | 932             | 94% | 0,10     | NIST14     |
| 4,487                | NA              | Beta-Pinene                                    | C10H16   | 974             | 96% | 0,21     | NIST14     |
| 6,110                | 1014            | D-Limonene                                     | C10H16   | 1024            | 94% | 1,08     | NIST14s    |
| 19,565               | 1351            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 94% | 0,44     | NIST14s    |
| 20,193               | 1366            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 96% | 3,87     | NIST14s    |
| 21,208               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 5,42     | NIST14     |
| 21,736               | 1405            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 94% | 0,51     | NIST14     |
| 21,879               | 1408            | Gamma-Elemene                                  | C15H24   | 1434            | 92% | 0,14     | NIST14s    |
| 22,689               | 1429            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 96% | 4,01     | NIST14s    |
| 23,647               | 1453            | Gamma-Murolene                                 | C15H24   | 1478            | 94% | 1,65     | NIST14s    |
| 23,790               | 1457            | Germacreno D                                   | C15H24   | 1484            | 94% | 21,40    | NIST14     |
| 24,092               | 1464            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 96% | 3,07     | NIST14s    |
| 24,401               | 1472            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 92% | 18,36    | NIST14     |
| 24,670               | 1479            | Alpha-Murolene                                 | C15H24   | 1500            | 91% | 2,62     | NIST14s    |
| 25,171               | 1492            | Gamma-Cadinene                                 | C15H24   | 1513            | 95% | 1,72     | NIST14s    |
| 25,394               | 1497            | Delta-Cadinene                                 | C15H24   | 1522            | 92% | 5,84     | NIST14s    |
| 25,572               | 1502            | Cis-Calamenene                                 | C15H22   | 1528            | 92% | 0,36     | NIST14     |
| 26,016               | 1513            | Myristicin                                     | C11H12O3 | 1517            | 96% | 0,15     | NIST14s    |
| 27,712               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 90% | 2,44     | NIST14s    |
| 28,826               | 1584            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 94% | 0,36     | NIST14     |
| 30,409               | 1628            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 91% | 1,21     | NIST14s    |
| 30,727               | 1637            | Neointermedeol                                 | C15H26O  | 1658            | 91% | 3,20     | NIST14     |
| 31,522               | 1659            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 14,20    | NA         |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S10**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum* (4ª Coleta).

(Continua)

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto              | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|-----------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 4,507                | NA              | Beta-Pinene           | C10H16   | 974             | 95% | 0,48     | NIST14     |
| 6,115                | 1014            | D-Limonene            | C10H16   | 1024            | 95% | 2,17     | NIST14s    |
| 6,648                | 1027            | trans-Beta-Ocimene    | C10H16   | 1032            | 92% | 0,41     | NIST14s    |
| 6,766                | 1030            | cis-Beta-Ocimene      | C10H16   | 1044            | 96% | 0,14     | NIST14s    |
| 17,733               | 1306            | Elixene               | C15H24   | NA              | 94% | 0,13     | NIST14     |
| 19,562               | 1351            | Alpha-Copaene         | C15H24   | 1374            | 93% | 0,42     | NIST14s    |
| 20,197               | 1367            | Beta-Elemene          | C15H24   | 1389            | 96% | 1,62     | NIST14s    |
| 21,224               | 1392            | Cariofileno           | C15H24   | 1417            | 95% | 5,64     | NIST14     |
| 21,725               | 1404            | Beta-Copaene          | C15H24   | 1430            | 94% | 0,46     | NIST14     |
| 21,862               | 1408            | Gamma-Elemene         | C15H24   | 1434            | 94% | 0,12     | NIST14     |
| 22,286               | 1419            | IsoGermacreno D       | C15H24   | NA              | 93% | 0,13     | NIST14     |
| 22,549               | 1425            | Epsilon-Muurolene     | C15H24   | NA              | 91% | 0,08     | NIST14     |
| 22,687               | 1429            | humuleno              | C15H24   | 1452            | 96% | 3,20     | NIST14s    |
| 23,555               | 1451            | Gamma-Gurjunene       | C15H24   | 1475            | 90% | 0,13     | NIST14s    |
| 23,670               | 1454            | Gamma-Muurolene       | C15H24   | 1478            | 94% | 1,23     | NIST14s    |
| 23,834               | 1458            | Germacreno D          | C15H24   | 1484            | 94% | 20,57    | NIST14s    |
| 24,124               | 1465            | Beta-Selinene         | C15H24   | 1489            | 94% | 1,78     | NIST14s    |
| 24,360               | 1471            | (+)-BicycloGermacreno | C15H24   | 1500            | 95% | 20,91    | NIST14     |
| 24,659               | 1479            | Alpha-Muurolene       | C15H24   | 1500            | 90% | 1,64     | NIST14s    |
| 25,220               | 1493            | Alpha-Farnesene       | C15H24   | 1505            | 90% | 1,47     | NIST14s    |
| 25,399               | 1498            | Delta-Cadinene        | C15H24   | 1522            | 91% | 9,81     | NIST14     |
| 25,942               | 1511            | Myristicin            | C11H12O3 | 1517            | 96% | 0,32     | NIST14s    |
| 26,787               | 1533            | Germacreno B          | C15H24   | 1559            | 93% | 0,43     | NIST14     |
| 27,576               | 1553            | (E)-Nerolidol         | C15H26O  | 1561            | 93% | 2,71     | NIST14     |
| 27,730               | 1557            | Cariofileno Oxide     | C15H24O  | 1582            | 89% | 0,14     | NIST14s    |
| 28,832               | 1584            | humuleno Epoxide II   | C15H24O  | 1608            | 92% | 0,45     | NIST14     |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.



**Tabela S10**– Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuliginum* (4<sup>a</sup> Coleta).

|                      |                 |                                                |          |                 |     |          | (Conclusão) |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|-------------|
| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca  |
| 30,225               | 1622            | Tau-Cadinol                                    | C15H26O  | 1638            | 90% | 1,13     | NIST14s     |
| 30,401               | 1627            | Delta-Cadinol                                  | C15H26O  | 1644            | 90% | 0,62     | NIST14s     |
| 30,742               | 1637            | Neointermedeol                                 | C15H26O  | 1658            | 90% | 2,39     | NIST14      |
| 31,494               | 1659            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 14,20    | NA          |

Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S11** – Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuligineum* (5ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 3,469                | NA              | Alpha-Pinene                                   | C10H16   | 932             | 96% | 0,14     | NIST14     |
| 4,473                | NA              | Beta-Pinene                                    | C10H16   | 974             | 96% | 0,53     | NIST14     |
| 19,570               | 1351            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 92% | 0,61     | NIST14s    |
| 20,194               | 1366            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 96% | 2,98     | NIST14s    |
| 21,207               | 1392            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 17,62    | NIST14s    |
| 21,751               | 1405            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 94% | 1,62     | NIST14     |
| 22,741               | 1430            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 90% | 1,46     | NIST14s    |
| 23,637               | 1453            | Gamma-Muurolene                                | C15H24   | 1478            | 94% | 2,21     | NIST14s    |
| 23,816               | 1457            | Germacreno D                                   | C15H24   | 1484            | 91% | 29,12    | NIST14     |
| 24,077               | 1464            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 97% | 4,18     | NIST14s    |
| 24,412               | 1473            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 91% | 7,42     | NIST14     |
| 24,694               | 1480            | Alpha-Muurolene                                | C15H24   | 1500            | 90% | 1,81     | NIST14     |
| 25,219               | 1493            | Alpha-Farnesene                                | C15H24   | 1505            | 93% | 2,40     | NIST14s    |
| 27,693               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 95% | 1,73     | NIST14s    |
| 27,970               | 1563            | Globulol                                       | C15H26O  | 1590            | 88% | 0,40     | NIST14s    |
| 28,283               | 1571            | Viridiflorol                                   | C15H26O  | 1592            | 80% | 0,24     | NIST14s    |
| 28,825               | 1584            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 92% | 0,86     | NIST14     |
| 29,649               | 1607            | 1-epi-Cubenol                                  | C15H26O  | 1627            | 89% | 0,33     | NIST14     |
| 30,701               | 1641            | Neointermedeol                                 | C15H26O  | 1658            | 93% | 4,14     | NIST14     |
| 31,816               | 1678            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 14,20    | NA         |

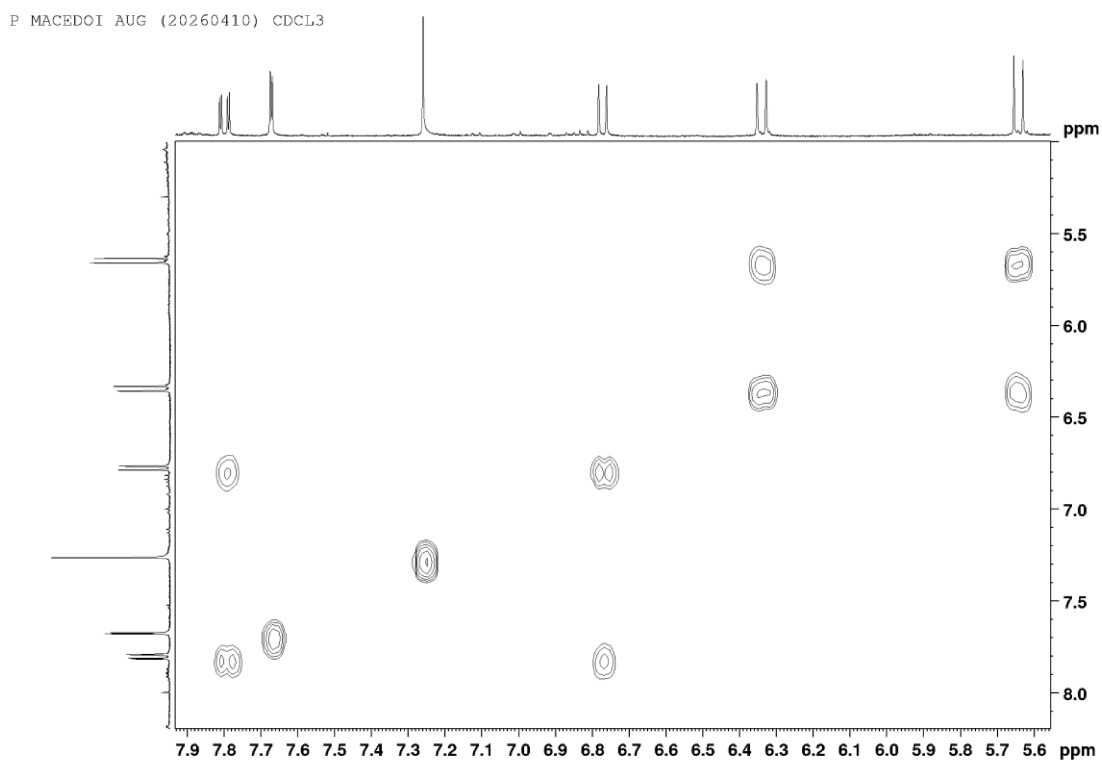
Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Tabela S12** – Compostos anotados por CG-EM e suas áreas relativas por CG-FID para o óleo essencial das folhas de *P. fuligineum* (6ª Coleta).

| <i>t<sub>R</sub></i> | IA <sub>e</sub> | Composto                                       | Fórmula  | IA <sub>t</sub> | IS  | Área (%) | Biblioteca |
|----------------------|-----------------|------------------------------------------------|----------|-----------------|-----|----------|------------|
| 4,478                | NA              | Beta-Pinene                                    | C10H16   | 974             | 95% | 0,18     | NIST14s    |
| 19,555               | 1351            | Alpha-Copaene                                  | C15H24   | 1374            | 93% | 0,64     | NIST14s    |
| 20,199               | 1367            | Beta-Elemene                                   | C15H24   | 1389            | 96% | 3,48     | NIST14s    |
| 21,195               | 1391            | Cariofileno                                    | C15H24   | 1417            | 95% | 10,66    | NIST14     |
| 21,724               | 1404            | Beta-Copaene                                   | C15H24   | 1430            | 94% | 1,71     | NIST14     |
| 22,720               | 1430            | humuleno                                       | C15H24   | 1452            | 95% | 1,16     | NIST14s    |
| 23,630               | 1453            | Gamma-Murolene                                 | C15H24   | 1478            | 94% | 2,66     | NIST14s    |
| 23,805               | 1457            | Germacreno D                                   | C15H24   | 1484            | 90% | 5,92     | NIST14     |
| 24,070               | 1464            | Beta-Selinene                                  | C15H24   | 1489            | 96% | 5,33     | NIST14s    |
| 24,406               | 1472            | Alpha-Selinene                                 | C15H24   | 1498            | 91% | 5,06     | NIST14     |
| 24,664               | 1479            | Alpha-Murolene                                 | C15H24   | 1500            | 93% | 0,62     | NIST14     |
| 25,189               | 1492            | Alpha-Farnesene                                | C15H24   | 1505            | 94% | 1,06     | NIST14s    |
| 27,710               | 1556            | Cariofileno Oxide                              | C15H24O  | 1582            | 96% | 2,29     | NIST14s    |
| 27,951               | 1562            | Globulol                                       | C15H26O  | 1590            | 94% | 10,28    | NIST14s    |
| 28,249               | 1570            | Viridiflorol                                   | C15H26O  | 1592            | 87% | 0,38     | NIST14     |
| 28,812               | 1584            | humuleno Epoxide II                            | C15H24O  | 1608            | 93% | 1,66     | NIST14     |
| 29,613               | 1605            | 1-epi-Cubenol                                  | C15H26O  | 1627            | 88% | 0,47     | NIST14     |
| 30,289               | 1624            | Tau-Cadinol                                    | C15H26O  | 1638            | 90% | 3,83     | NIST14     |
| 30,692               | 1636            | Neointermedeol                                 | C15H26O  | 1658            | 92% | 8,18     | NIST14     |
| 31,851               | 1669            | 2,2-dimetil-2H-cromeno-6-carboxilato de metila | C13H14O3 | NA              | NA  | 14,20    | NA         |
| 33,934               | 1728            | Alpha-Cyperone                                 | C15H22O  | NA              | 87% | 0,89     | NIST14     |

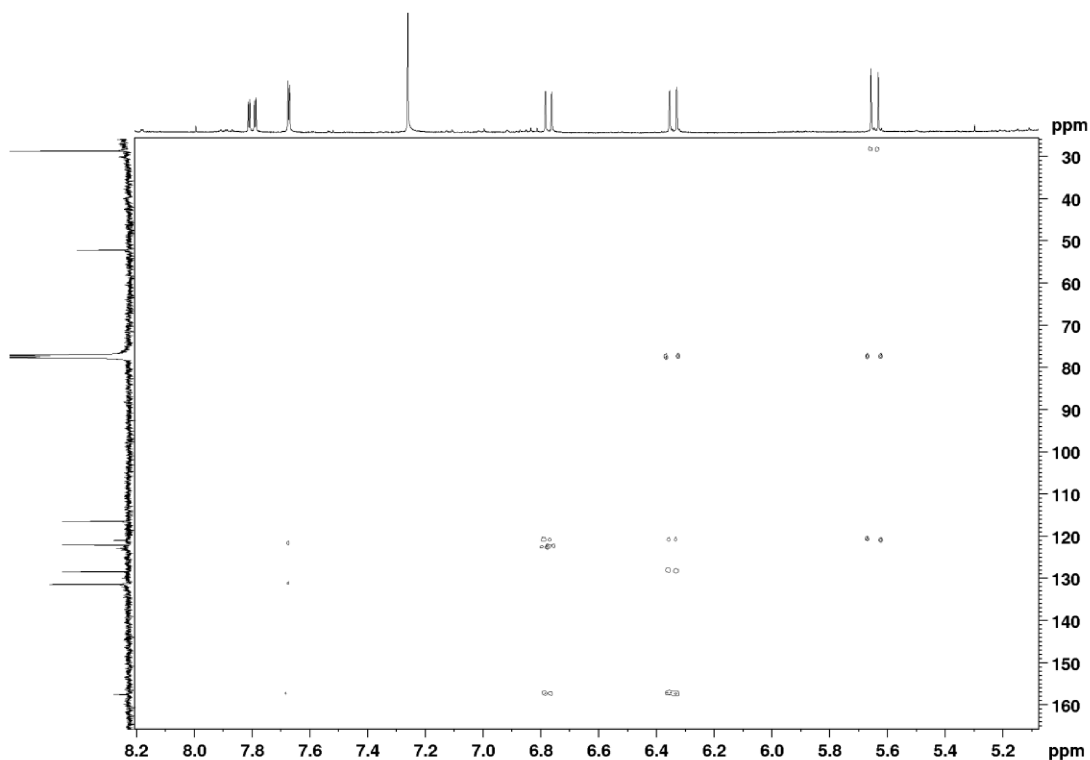
Nota: *t<sub>R</sub>* – Tempo de Retenção; IA<sub>e</sub> – Índice Aritmético Experimental; IA<sub>t</sub> – Índice Aritmético Teórico; IS – Índice de Similaridade; NA: não identificado.

**Figura S13** – Mapa de correlações COSY do óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: o Autor

**Figura S13** – Mapa de correlações HMBC do óleo essencial de *Piper macedoi*.



Fonte: o Autor

**Tabela S13** – Tabela utilizada para o cálculo da correlação de Pearson (r)

| Mês    | Precipitação | Pressão Atmosférica | Temperatura Média | Dado de Interesse (MAC) | Dado de Interess (FLG) |
|--------|--------------|---------------------|-------------------|-------------------------|------------------------|
| set/24 | 58,0         | 917,5               | 27,4              | Valor                   | Valor                  |
| nov/24 | 365,8        | 915,0               | 24,0              | Valor                   | Valor                  |
| jan/25 | 198,6        | 914,8               | 24,2              | Valor                   | Valor                  |
| mar/25 | 98,6         | 917,1               | 25,5              | Valor                   | Valor                  |
| mai/25 | 22,2         | 920,0               | 21,7              | Valor                   | Valor                  |
| jul/25 | 1,4          | 921,5               | 21,0              | Valor                   | Valor                  |

| <i>Piper Macedoi</i> |                           | <i>Piper Fuligineum</i> |                           |
|----------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Dado                 | Correlação de Pearson (r) | Dado                    | Correlação de Pearson (r) |
| Precipitação         | Valor de r (=CORREL)      | Precipitação            | Valor de r (=CORREL)      |
| Pressão Atmosférica  | Valor de r (=CORREL)      | Pressão Atmosférica     | Valor de r (=CORREL)      |
| Temperatura Média    | Valor de r (=CORREL)      | Temperatura Média       | Valor de r (=CORREL)      |

Fonte: o Autor