



Neolignan e análise do óleo essencial das folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck

G.L. Pessini¹, B.P. Dias Filho², C.V. Nakamura², A.G. Ferreira³, D.A.G. Cortez^{1*}

¹Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá, PR, Brasil,

²Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá, PR, Brasil,

³Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Caixa Postal 676, 13565-955, São Carlos, SP, Brasil

RESUMO: O óleo essencial das folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck Piperaceae, coletadas no Horto de Plantas Mediciniais da Universidade Estadual de Maringá, foi obtido por hidrodestilação. Uma análise preliminar por CG/EM e RMN ¹³C foi realizada. O β-mirceno (70%) foi identificado como componente majoritário através da comparação dos espectros de massa e RMN ¹³C com dados da literatura. Quatro neolignanas foram isoladas do extrato hidroetanólico das folhas e identificadas: eupomatenóide-6, eupomatenóide-5, eupomatenóide-3 e conocarpano. As estruturas dessas substâncias foram estabelecidas por meio de estudos de RMN ¹H e ¹³C, ¹H x ¹H - COSY, HETCOR, HMBC, gNOE e EM.

Unitermos: *Piper regnellii*, Piperaceae, neolignanas, óleo essencial, CG/EM.

ABSTRACT: "Neolignans and the analysis of the essential oil of *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck leaves". The essential oil of *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck Piperaceae leaves, which were collected at a tree farm named Horto de Plantas Mediciniais of the Universidade Estadual de Maringá, was obtained by hydrodistillation. A preliminary analysis by GC/MS was carried out. β-mirceno (70%) was identified as the main constituent by comparing MS and ¹³C NMR with the literature data. Four neolignans were isolated from the leaves and identified: eupomatenoid-6, eupomatenoid-5, eupomatenoid-3 and conocarpan. Their structures were established by extensive ¹H and ¹³C NMR, ¹H x ¹H - COSY, HETCOR, HMBC, gNOE and MS spectral studies.

Keywords: *Piper regnellii*, Piperaceae, neolignans, essential oil, GC/MS

INTRODUÇÃO

Substâncias isoladas de diferentes espécies de *Piper* têm demonstrado interesse nos últimos anos, devido às atividades biológicas. Diversas neolignanas isoladas de espécies de Piperaceae apresentaram atividades biológicas como anti-PAF, antifúngica e inseticida (Sartorelli et al., 2001).

Piper regnellii (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck (Piperaceae) é uma espécie herbácea conhecida popularmente como pariparoba e está distribuída nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Cronquist, 1981). As folhas e raízes são usadas na forma de extratos, infusões ou emplastos para o tratamento de feridas, redução de inchaços e irritações na pele (Corrêa, 1984). *Screening* realizado com plantas medicinais reportou atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico das folhas *P. regnellii* (Miq.) C. DC sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*,

fungos *Candida krusei* e *C. tropicalis* (Holetz et al., 2002).

Em estudo prévio, Benevides et al. (1999) isolaram diferentes neolignanas presentes no extrato em acetato de etila das raízes de *P. regnellii* (Miq.) C. DC., dentre as quais o conocarpano, eupomatenóide-3, eupomatenóide-5 e eupomatenóide-6.

Estudos posteriores sobre constituintes voláteis relataram a atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. sobre o *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Os constituintes químicos do óleo essencial foram identificados e sua concentração relativa estabelecida por análise espectral de CG-EM. A substância majoritária do óleo de *P. regnellii* foi o mirceno (52,6 %), seguido pelo linalol (15,9 %), β-cariofileno (8,5 %), (*E*)-nerolidol (4,2 %) e limoneno (4,1 %) (Constantin et al., 2001).

Neolignanas isoladas das folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck,

como eupomatenoídes-6 e eupomatenoíde-5, mostraram boa atividade sobre *S. aureus* com CIM de 1.56 µg/mL e 3.12 µg/mL, respectivamente. Ambas substâncias apresentaram atividade em *B. subtilis* com CIM de 3.12 µg/mL. O conocarpano foi ativo sobre *S. aureus* e *B. subtilis* com CIM de 6.25 µg/mL (Pessini et al., 2003).

Devido ao uso popular, o estudo da composição química das folhas de *Piper regnellii* (Miq) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck é necessário, contribuindo para futura padronização de fitoterápicos originários desta espécie vegetal.

No presente trabalho, é apresentado o estudo fitoquímico, objetivando o isolamento e identificação de neolignan e a realização de uma análise preliminar da composição química do óleo essencial, por CG/EM e RMN ¹³C, obtido das folhas da *P. regnellii* (Miq) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros no infravermelho foram registrados em espectrômetro BOMEN - MV 100, Hartmann & Braun- Michelson. Os espectros de RMN foram registrados a 300 MHz para ¹H e 75,45 MHz para ¹³C em espectrômetro VARIAN modelo MERCURY PLUS. Foi utilizado CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna. Para a obtenção de espectro no ultravioleta foi utilizado o aparelho VARIAN Cary 1E. Os espectros de massa por electrospray foram obtidos em espectrômetro Micromass Quattro LC e por impacto eletrônico em um equipamento Shimadzu modelo QP2000A.

As cromatografias em coluna foram realizadas em colunas de vidro, utilizando-se sílica gel 60 (70-230 mesh ASTM) da Merck e na cromatografia no modo

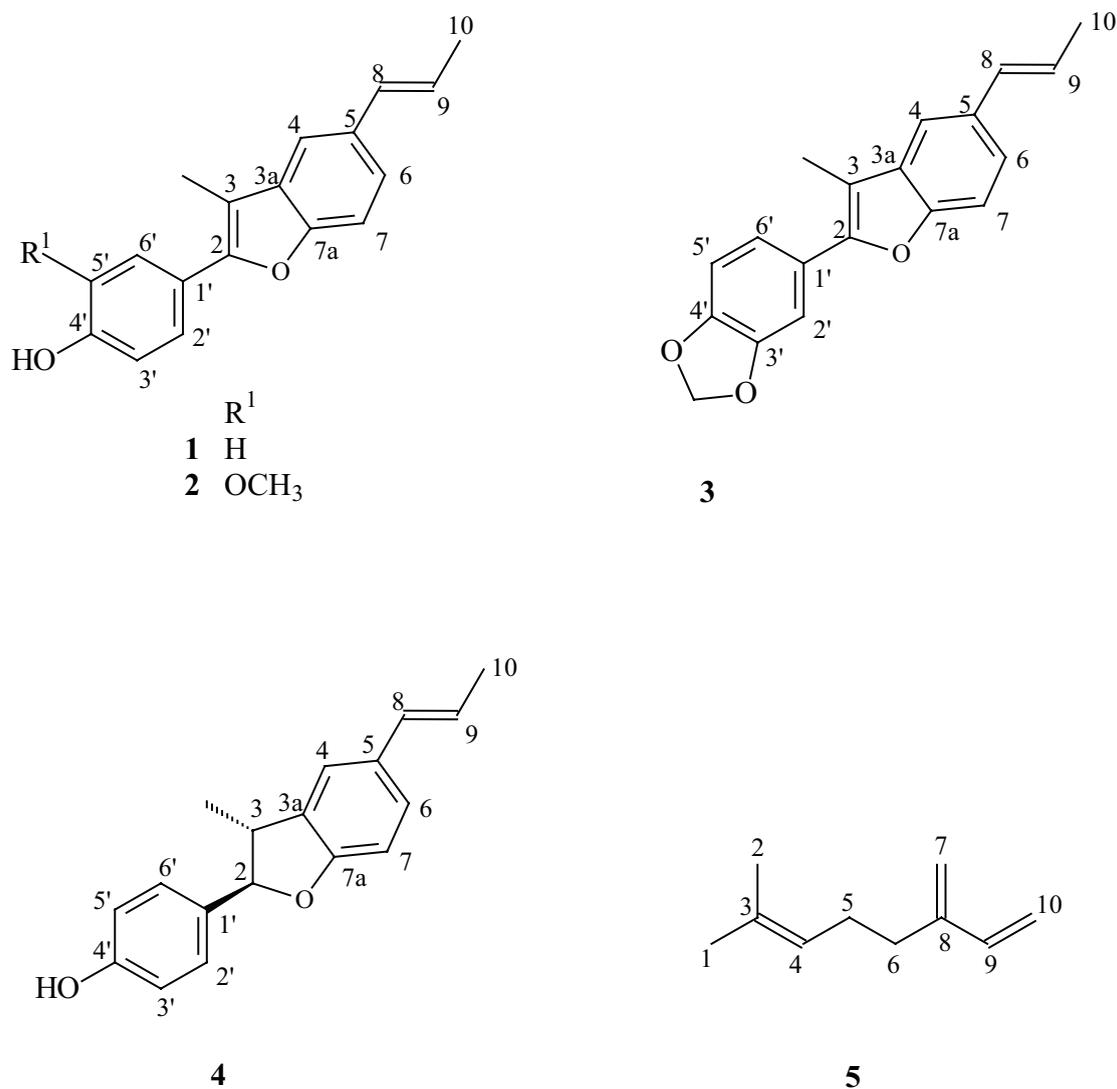


Figura 1. Estruturas das substâncias analisadas nas folhas de *Piper regnellii*: eupomatenoíde-6 (1), eupomatenoíde-5 (2), eupomatenoíde-3 (3), conocarpano (4) e β-mirceno (5).

flash sílica gel 60 (230-400 mesh ASTM) da Merck. Nas cromatografias em placa utilizou-se sílica gel 60 GF₂₅₄. As revelações deste tipo de cromatografia foram efetuadas por irradiação no ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm) e por pulverizações com solução de H₂SO₄/MeOH 1:1, seguidas de aquecimento a 105°C até a revelação das substâncias químicas.

Material vegetal

As folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck foram coletadas em agosto de 2001 no Horto de Plantas Medicinais Prof^a. Irenice Silva do Campus da Universidade Estadual de Maringá. O material vegetal foi identificado por Marília Borgo, do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná e uma exsicata deste material (n^o. HUM 8392) foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

Obtenção do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada por arraste a vapor d'água, como descrito pela Farmacopéia Brasileira (1988). Foram utilizadas as folhas frescas de *P. regnellii* var. *pallescens*. A densidade relativa do óleo essencial foi determinada pela técnica descrita na Farmacopéia Brasileira (1988).

Análise do óleo essencial.

O óleo essencial obtido por arraste a vapor de folhas frescas de *Piper regnellii* foi analisado por CG/EM em um equipamento Shimadzu modelo QP2000A. A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar de sílica fundida com fase estacionária SE-30 de 25 m de comprimento e 0,20 mm de diâmetro interno, sendo utilizado Hélio como gás carreador. As temperaturas foram de 220°C no injetor e 300°C no detector. A temperatura do forno foi programada de 100 a 300°C, com acréscimo de 10°C a cada minuto.

A identificação da substância majoritária presente no óleo essencial foi feita por meio da análise de espectro de massas, espectros de ¹H e ¹³C e por comparação com os dados da literatura.

Isolamento dos constituintes

As folhas foram coletadas, secas em estufa de ar circulante a 45°C e moída em moinho de facas Tecnal Marconi® (modelo TE 048), utilizando-se uma peneira de 1 mm de diâmetro. O pó das folhas secas (200 g) de *P. regnellii* foi extraído com etanol:água (9:1) v/v a temperatura ambiente até esgotamento total dos princípios ativos. O solvente foi removido em evaporador rotativo em temperatura máxima de 40°C e após liofilização, obteve-se um resíduo, o qual foi solubilizado em acetato

de etila. Este solvente foi evaporado à pressão reduzida e originou o extrato em acetato de etila (15,23 g), que foi analisado por meio de CCD e RMN ¹H.

Este extrato (15,23 g) foi submetido a cromatografia a vácuo (sílica gel 150 g) e eluído com hexano (1000 mL), clorofórmio (1400 mL), clorofórmio/acetato de etila 19:1 v/v (1000 mL), clorofórmio/acetato de etila 9:1 v/v (700 mL), clorofórmio/acetato de etila 1:1 v/v (500 mL), acetato de etila (500 mL), acetona (700 mL), metanol (1400 mL) e metanol/água 9:1 v/v (1800 mL) e as frações resultantes foram analisadas por CCD e RMN ¹H. A fração hexânica (2,4 g) (F1) foi fracionada por coluna cromatográfica em sílica gel 60 (70-230 mesh), eluída com hexano, hexano/clorofórmio 49:1, 19:1, 9:1 e 1:1 v/v, clorofórmio, acetato de etila, acetona e metanol. Obteve-se 72 frações, dentre as quais as de número FH 20, FH 15 e FH 10 resultaram na obtenção das substâncias **1** (98,5 mg), **2** (82,9 mg) e **3** (55,1 mg) respectivamente. As frações FH 40-44 reunidas (328 mg) e cromatografadas em sílica gel 60 (230-400 mesh), utilizando-se como fase móvel hexano:diclorometano:acetato de etila 12:7:1 v/v/v, forneceram a substância **4** (181,3 mg). **1**, **2**, **3** e **4** foram identificadas como eupomatenóide-6, eupomatenóide-5, eupomatenóide-3 e conocarpano (Figura 1) respectivamente após análise de dados fornecidos por métodos espectroscópicos (UV, EI-EM, RMN ¹H, RMN ¹³C, H-HCOSY, gNOE, HETCOR e HMBC) e por comparação com dados da literatura (Chauret et al., 1996; Achenbach et al., 1987; Snider et al., 1997; Maxwell et al., 1999).

Eupomatenóide-6 (1)

Aspecto físico: cristal branco. P.F. 150-151°C (lit.: 148-151°C) (Achenbach et al., 1987). UV λ_{\max} CHCl₃, nm (log ϵ): 234 (9,46); 258 (9,45); 300 (9,43). IV ν_{\max} cm⁻¹: 3277, 2957, 2928, 2853, 1609, 1581, 1511, 1440, 1237. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,68 (d, $J = 8,7$ Hz, H-2' e H-6'); 7,43 (d, $J = 1,4$ Hz, H-4); 7,36 (d, $J = 8,7$ Hz, H-7); 7,27 (dd, $J = 8,7$ e $1,5$ Hz, H-6); 5,06 (s, OH-4'); 6,94 (d, $J = 8,6$ Hz, H-3' e H-5'); 6,52 (dd, $J = 15,6$ e $1,5$ Hz, H-8); 6,25 (dq, $J = 15,6$ e $6,6$ Hz, H-9); 2,42 (s, CH₃-3) e 1,90 (dd, $J = 6,6$ e $1,5$ Hz, CH₃-10). RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃): Tabela 1. EM m/z (int. rel. %): [M]⁺ 264 (100), 263 (20), 237 (7), 221 (7), 132 (7), 121 (9), 115 (5), 39 (5).

Eupomatenóide-5 (2)

Aspecto físico: cristal branco. P.F. 113-115°C (lit.: 114-115°C) (Chauret et al., 1996). UV λ_{\max} CHCl₃, nm (log ϵ): 235 (9,60); 258 (9,70); 314 (9,62). IV ν_{\max} cm⁻¹: 3473, 2970, 2925, 2872, 2845, 1580, 1516, 1459, 1430, 1262. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,43 (d, $J = 1,8$ Hz, H-4); 7,37 (d, $J = 8,4$ Hz, H-7); 7,32 (d, $J = 1,8$ Hz, H-6'); 7,29 (dd, $J = 8,1$ e $1,8$ Hz, H-2'); 7,27 (dd, $J = 8,4$ e $1,8$ Hz, H-6); 7,03 (d, $J = 8,1$ Hz, H-3'); 6,52 (dd, $J = 15,9$

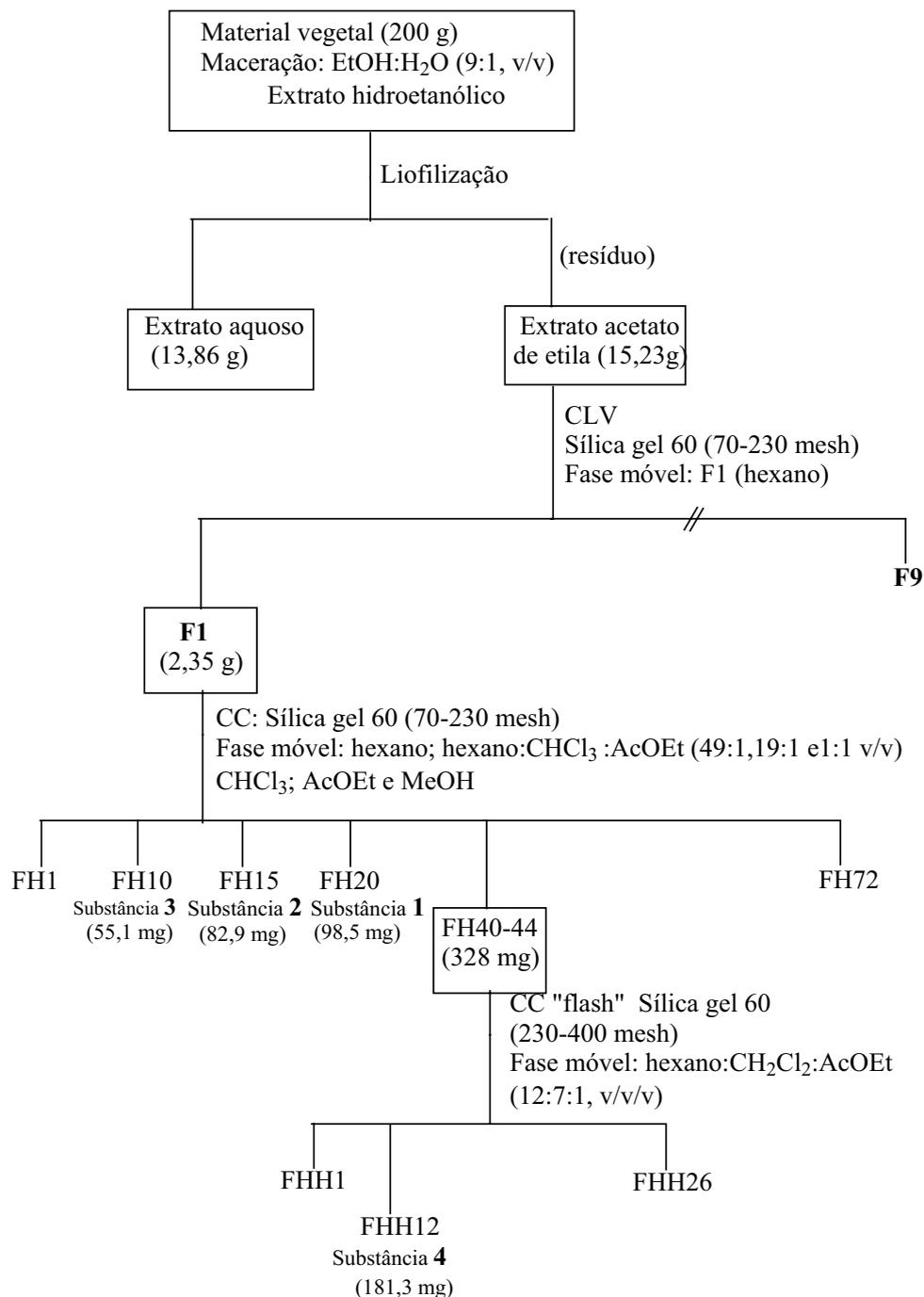


Figura 2. Fluxograma do fracionamento do extrato hidroalcoólico das folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck.

e 1,8 Hz, H-8); 6,23 (dq, $J = 15,6$ e $6,6$ Hz, H-9); 5,75 (s, OH-4'); 3,98 (s, OCH₃); 2,42 (s, CH₃-3) e 1,90 (dd, $J = 6,6$ e $1,8$ Hz, CH₃-10). RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃): δ Tabela 1. EM m/z (int. rel.%): [M]⁺ 294 (100), 293 (6), 279 (8), 251 (7), 147 (6), 55 (4); ESIEM m/z (int. rel.%): 293 (100) [M-H]⁻.

Eupomatenoide-3 (3)

Aspecto físico: cristal branco. P.F. 109-111°C

(lit.: 110-111°C) (Maxwell et al., 1999). UV λ_{\max} CHCl₃, nm (log ϵ): 240 (9,82); 257 (9,77); 324 (9,66). IR ν_{\max} cm⁻¹: 2785, 2850, 2921, 2951 1502, 1460 1238. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,41 (d, $J = 1,5$ Hz, H-4); 7,35 (d, $J = 8,7$ Hz, H-7); 7,28 (dd, $J = 8,7$ e $1,5$ Hz, H-6'); 7,26 (d, $J = 1,5$ Hz, H-2'); 7,27 (dd, $J = 8,6$ e $1,5$ Hz, H-6); 6,90 (d, $J = 8,7$ Hz, H-5'); 6,51 (dd, $J = 15,9$ e $1,8$ Hz, H-8); 6,21 (dq, $J = 15,9$ e $6,6$ Hz, H-9); 6,00 (s, OCH₂O); 2,40 (s, CH₃-3); e 1,90 (dd, $J = 6,6$ e $1,8$ Hz, CH₃-10). RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃): δ Tabela 1. EM m/z (int. rel.%):

Tabela 1. Dados de RMN¹³C das substâncias **1**^a, **2**^{a,b}, **3**^a e **4**^a [75,5 MHz, CDCl₃, δ (ppm)]

| C | 1 | 2 | 3 | 4 |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| 1' | 124,5 | 123,9 | 125,6 | 132,4 |
| 2 | 151,2 | 151,4 | 151,1 | 92,6 |
| 2' | 128,4 | 120,5 | 120,9 | 127,9 |
| 3 | 109,8 | 109,9 | 110,2 | 45,2 |
| 3 ^a | 131,6 | 131,7 | 131,5 | 133,0 |
| 3' | 115,6 | 114,6 | 108,6 | 115,5 |
| 4 | 116,2 | 116,2 | 116,2 | 121,0 |
| 4' | 155,5 | 146,8 | 147,5 | 155,8 |
| 5 | 132,7 | 132,8 | 132,8 | 131,4 |
| 5' | 115,6 | 145,8 | 148,1 | 115,5 |
| 6 | 122,3 | 122,3 | 122,4 | 126,4 |
| 6' | 128,4 | 109,3 | 107,2 | 128,0 |
| 7 | 110,7 | 110,7 | 110,7 | 109,3 |
| 7a | 153,1 | 153,2 | 153,0 | 158,4 |
| 8 | 131,4 | 131,4 | 131,4 | 130,8 |
| 9 | 124,3 | 124,3 | 124,3 | 123,1 |
| CH ₃ -10 | 18,4 | 18,4 | 18,4 | 18,3 |
| CH ₃ -3 | 9,2 | 9,2 | 9,3 | 17,7 |
| CH ₃ O | - | 56,0 | - | - |
| O-CH ₂ -O | - | - | 101,3 | - |

^aOs sinais de átomos de carbono C, CH, CH₂ e CH₃ foram reconhecidos pela análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C, RMN ¹³C-DEPT, HETCOR, HMBC, e ^bg-NOE.

[M]⁺ 292 (100), 291 (11), 265 (5), 189 (7), 146 (7), 89 (6), 76 (6).

m/z (int. rel.%): [M]⁺ 136 (2), 93 (65), 91 (15), 69 (60), 41 (100).

Conocarpano (4)

Aspecto físico: cristal branco. P.F. 128-130°C (lit.: 128-130 °C) (Snider et al., 1997). [α]_D²⁵ + 123° (c 1.05; MeOH) [lit. [α]_D²¹ + 122° (c 1.03; MeOH) (Snider et al., 1997)]. UV λ_{max} CHCl₃, nm (log ε): 235 (9,57); 267 (9,79); 305 (9,23). IV ν_{max} cm⁻¹: 3376, 2961, 2930, 2912, 2874, 1615, 1599, 1518, 1490, 1239. RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃): δ 7,30 (d, *J* = 8,7 Hz, H-2' e H-6'); 7,12 (dl, *J* = 8,1 Hz, H-6); 7,10 (sl, H-4); 6,83 (d, *J* = 8,7 Hz, H-3' e H-5'); 6,76 (d, *J* = 8,1 Hz, H-7); 6,36 (dd, *J* = 15,6 e 1,5 Hz, H-8); 6,11 (dq, *J* = 15,6 e 6,6 Hz, H-9); 5,08 (d, *J* = 9,0 Hz, H-2); 4,98 (s, OH-4'); 3,39 (m, H-3); 1,86 (dd, *J* = 6,6 e 1,5 Hz, CH₃-10); 1,39 (d, *J* = 6,9 Hz, CH₃-3). RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃): δ Tabela 1. EM *m/z* (rel. int. %): [M]⁺ 266 (100), 251 (31), 237 (9), 224 (7), 107 (22), 91 (17), 77 (16), 39 (12).

β-Mirceno (5)

Aspecto físico: óleo translúcido. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 6,37 (1H, dd; *J* = 10,8 e 17,4 Hz, H-4); 5,30-4,93 (5H, m, H-7, H-9 e H-10); 2,23-2,14 (4H, m, H-5 e H-6); 1,69 (3H, s, CH₃-1); 1,60 (3H, s, CH₃-2). RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃): δ 146,1 (C, C-8); 139,0 (CH, C-9); 132,0 (C, C-3); 124,1 (CH, C-4); 115,6 (CH₂, C-7); 113,0 (CH₂, C-10); 31,4 (CH₂, C-6); 26,7 (CH₂, C-5); 25,7 (CH₃, C-1); 17,7 (CH₃, C-2). EM

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato aquoso e o extrato em AcOEt, obtidos do extrato hidroalcoólico liofilizado das folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck, foram analisados por RMN ¹H. A análise destes extratos sugeriu que o extrato em AcOEt era constituído por uma mistura de lignanas. O fracionamento cromatográfico do extrato AcOEt (Esquema 1) resultou no isolamento de eupomatenóide-6 (**1**), eupomatenóide-5 (**2**), eupomatenóide-3 (**3**) e conocarpano (**4**). Os dados de RMN ¹³C de **1** a **4** encontram-se na Tabela 1. A presença destas substâncias em espécies da família Piperaceae já havia sido relatada anteriormente (Chauret et al., 1996; Freixa et al., 2001).

As raízes de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. da família Piperaceae, também conhecida popularmente como pariparoba, estão inscritas na primeira edição da Farmacopéia Brasileira. Elas tem sido confundidas com as de outras espécies como a *P. regnellii* (Miq.) C. DC. var. *regnellii* e *P. regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck e são consideradas adulterantes desta espécie oficial (Freitas, 1999). No estudo fitoquímico das folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck, foram isoladas, pela primeira vez, as neolignan denominadas de eupomatenóide-6 (**1**), eupomatenóide-5 (**2**), eupomatenóide-3 (**3**) e conocarpano (**4**), diferindo da composição encontrada nas raízes da *Pothomorphe*

umbellata, das quais foram isolados alcalóides, flavona, diidrochalcona e esteróide (Isobe et al., 2002). As neolignananas **1** a **4** foram isoladas também das raízes de *P. regnellii* por Benevides (1999), mas a variedade dessa espécie não foi identificada. Seriam necessários estudos fitoquímicos complementares nas folhas e raízes da *Pothomorphe umbellata* com o objetivo de uma comparação química entre as espécies que a população utiliza como pariparoba, com o objetivo da inclusão de novas drogas na Farmacopéia Brasileira.

O óleo essencial utilizado para análise de RMN de ^1H e ^{13}C , extraído das folhas frescas de *P. regnellii* (Miq.) apresentou um teor médio de 0,80% v/p com uma densidade relativa calculada em $d = 0,845 \text{ g/mL}$, sendo estes dados relatados pela primeira vez.

Através de uma análise preliminar do óleo essencial por CG/EM foi identificada um componente majoritário o β -mirceno numa concentração relativa de 70%. A identificação desta substância foi realizada pela comparação com os espectros de massas do banco de dados do equipamento e de carbono treze com os dados da literatura, (Nemethy et. al., 1982).

Esses valores encontrados para o β -mirceno (70%) são superiores aos encontrados por Constantin et. al. (2001), que obteve 52,6 %, embora não tivesse citado a variedade de *Piper regnellii* estudada. Estudos futuros como a comparação do óleo essencial extraído de variedades de *Piper regnellii* deverão ser realizados. Estes resultados preliminares são um bom indicativo para estudos comparativos da variação sazonal entre estas variedades.

CONCLUSÕES

Este trabalho permitiu traçar o perfil químico de lignanas presentes nas folhas de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck.

A alta concentração de β -mirceno (70%) no óleo essencial desta variedade é uma perspectiva de uma nova fonte deste metabólito secundário como matéria-prima na síntese de novos medicamentos. A metodologia estabelecida para a obtenção destas neolignananas (Figura 2), a partir de folhas, poderá ser uma fonte de extração desses princípios ativos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Capacitação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Capes e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Maringá pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

Achenbach H, Grob J, Xorge AD, Cano G, Verde JS, Brussolo

- LDC, Muñoz G, Salgado F, López L 1987. Lignans, neolignananas e norneolignananas from *Krameria cystisoides*. *Phytochemistry* 26: 1159-1166.
- Benevides PJC, Sartorelli P, Kato MJ 1999. Phenylpropanoids e neolignananas from *Piper regnellii*. *Phytochemistry* 52: 339-343.
- Chauret DC, Bernard CB, Arnason JT, Durst T, Krishnamurty HG, Sanchezvindas P, Moreno N, Sanroman L, Poveda L 1996. Insecticidal neolignananas from *Piper decurrens*. *J Nat Prod* 59: 152-155.
- Constantin MB, Sartorelli P, Limberger R, Henriques AT, Steppe M, Ferreira MJP, Ohara MT, Emerenciano VP, Kato MJ 2001. Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: antimicrobial activities, analysis by GC/MS and ^{13}C -NMR. *Planta Med* 67: 771-773.
- Corrêa MP 1984. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Brasília: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, vol. V, p 687.
- Cronquist A 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press.
- Farmacopéia Brasileira 4. ed. 1988. São Paulo: Atheneu, Editora São Paulo, pt.1, vol.2.2, vol. 2.5, vol. 2.6, vol. 2.9, vol. 4.2.4, vol. 4.2.6.
- Freitas PCD 1999. *Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: Pothomorphe umbellata (L) Miq e Piper regnellii (Miq) CDC*. São Paulo, 115 p. Tese de Doutorado- Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Universidade de São Paulo.
- Freixa B, Vila R, Ferro EA, Adzet T, Canigual S 2001. Antifungal principles from *Piper fulvescens*. *Planta Med* 67: 873-875.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho BP 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem I Oswaldo Cruz* 97: 1027-1031.
- Isobe T, Ohsaki A, Nagata K 2002. Antibacterial constituents against *Helicobacter pylori* of Brazilian medicinal plant, pariparoba. *Yakugaku Zasshi* 122: 291-294.
- Maxwell A, Dabideen D, Reynolds FW, Mclean S 1999. Neolignananas from *Piper aequale*. *Phytochemistry* 50: 499-504.
- Nemethy EK, Calvin M 1982. Terpenes from Pittosporaceae. *Phytochemistry* 21: 2981-2982.
- Pessini GL, Dias BP, Nakamura CV, Cortez DAG 2003. Antibacterial activity of extracts and neolignananas from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Mem I Oswaldo Cruz* 98: 1115-1120.
- Sartorelli P, Benevides PJC, Ellensohn RM, Rocha MVA, Moreno PRH, Kato MJ 2001. Enantioselective conversion of *p*-hydroxypropenylbenzene to (+)-conocarpan in *Piper regnellii*. *Plant Sci* 161: 1083-1088.
- Snider BB, Han LN, Xie CY 1997. Synthesis of 2,3-dihydrobenzofurans by Mn(OAc)₃-based oxidative cycloaddition of 2-cyclohexenones with alkenes. Synthesis of (+/-)-conocarpan. *J Org Chem* 62: 6978-6984.