



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS NATURAIS**

LUCIANO FERREIRA DE FREITAS

**POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Piper divaricatum* G. MEY. CONTRA O
FITOPATÓGENO *Fusarium kalimantanense***

FORTALEZA – CEARÁ

2025

LUCIANO FERREIRA DE FREITAS

POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Piper divaricatum* G. MEY. CONTRA O
FITOPATÓGENO *Fusarium kalimantanense*

Dissertação de Mestrado Acadêmico apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, do Centro de Ciências e Tecnologia, da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais. Área de concentração: Aproveitamento de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Kirley Marques Canuto

FORTALEZA – CEARÁ

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Estadual do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo SidUECE, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Freitas, Luciano Ferreira de
POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Piper divaricatum* G. MEY. CONTRA O
FITOPATÓGENO *Fusarium kalimantanense* [recurso eletrônico] /
Luciano Ferreira de Freitas. - 2025.
94 f. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Estadual do
Ceará, Centro de Ciências e Tecnologia, Curso de Mestrado
Acadêmico - Programa de Pós-graduação Em Ciências Naturais,
Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Pós-Dr. Kirley Marques Canuto.
1. Biofungicida. 2. mal-do-Panamá. 3. Metabolômica. 4.
Piperamidas. 5. UPLC-QTOF.. I. Título.

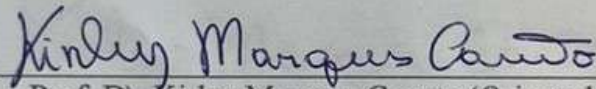
LUCIANO FERREIRA DE FREITAS

POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Piper divaricatum* G. MEY. CONTRA O
FITOPATÓGENO *Fusarium kalimantanense*

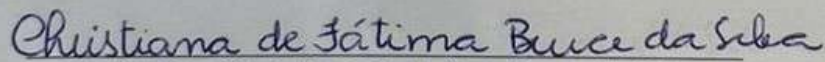
Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Naturais do Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, do Centro de Ciências e Tecnologia, da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais. Área de concentração: Aproveitamento de Recursos Naturais.

Aprovada em: 29/10/2025

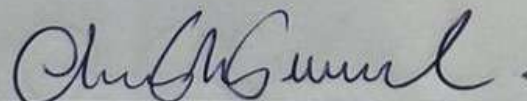
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Kirley Marques Canuto (Orientador)
Embrapa Agroindústria Tropical – CNPAT



Profa. Dra. Christiana de Fatima Bruce da Silva
Embrapa Agroindústria Tropical – CNPAT



Prof. Dr. Cléberson de Freitas Fernandes
Embrapa Agroindústria Tropical – CNPAT

A Deus, por Sua infinita misericórdia e bondade. À minha família, pelo amor e apoio em todos os momentos; à minha esposa, pelo carinho e companheirismo; e ao meu filho, fonte de inspiração, alegria e aprendizado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida. A Jesus Cristo e ao meu anjo da guarda, por sustentarem-me e carregarem-me nos momentos mais difíceis de minha vida. Sem essa proteção divina, nada do que alcancei seria possível.

À minha amada esposa, Cristina Freitas, agradeço por ser minha companheira nesta vida, por todo apoio incondicional, pela paciência, abraços e carinho.

Ao meu querido filho, Elias Freitas, que enche nosso lar de alegria e carinho.

À minha mãe, Maria Ivonete, expresse minha profunda gratidão por sua força de mulher guerreira, por seu amor enorme e pela semente de virtudes que plantou em mim. Espero que os frutos de seu amor e dedicação tenham, de alguma forma, rendido cem por um.

Ao meu querido pai, Luiz Alves, meu agradecimento pelo exemplo de trabalho honesto e pelo afeto demonstrado como avô amoroso, valores que sempre levarei comigo.

À minha irmã Tatiane Lima, que sempre foi luz a orientar-me pelas estradas da vida, meu sincero reconhecimento; não sei o que seria de mim sem sua presença, pequena.

À minha sogra, Maria, agradeço pela presença afetuosa e carinho, rogando a Deus. Aos meus primos Carol, Cauan e Sofia, deixo meu reconhecimento por serem essas pessoas tão especiais. Aos meus grandes amigos Victor Braz e Carlos Uchiha, agradeço por todo apoio, carinho e momentos de alegria e risadas compartilhados. Aos amigos Letícia, Joan e João Francisco, minha gratidão pelo companheirismo e amizade durante a jornada da graduação em Química.

Aos meus colegas de laboratório, em especial à amiga Nigéria, registro meu reconhecimento pela paciência, solicitude e companheirismo.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Dr. Kirley Marques Canuto, por seu apoio incondicional, por guiar-me com paciência, compreensão e humanidade, respeitando minhas limitações e imperfeições. As lições aprendidas, tanto acadêmicas quanto de vida, permanecerão sempre em minha memória e coração. Tenho com o senhor uma dívida de gratidão eterna.

Agradeço ainda à Stella, Dr. Oiram e Dra. Regimara, pelo trabalho de excelência em equipe, conversas edificantes, gentileza e disponibilidade. À equipe do Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais, em especial ao Dr. Paulo, Dra. Lorena e Dra. Ionete, deixo meu reconhecimento pelo apoio constante. Agradeço também à equipe do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa e à Profa. Dra. Christiana de Fátima Bruce da Silva, pelo auxílio e disponibilização de recursos nos testes biológicos.

Agradeço à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, especialmente ao secretário Gabriel e ao Prof. Dr. Hécio, pelo apoio incansável durante todo o mestrado, sobretudo nesta fase final. Aos membros da banca examinadora, meu reconhecimento pelas valiosas contribuições. Agradeço também à EMBRAPA pelo apoio financeiro ao projeto (SEG 10.22.02.002.00.00) e à CAPES e CNPq pela concessão das bolsas.

Por fim, manifesto minha gratidão à Universidade Estadual do Ceará, à EMBRAPA Agroindústria Tropical e ao LMQPN, por terem me acolhido tão bem e proporcionado a melhor experiência acadêmica e pessoal que eu poderia ter.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta dissertação, meu mais profundo e sincero agradecimento.

“A vida sem ciência é uma espécie de morte.”

(Sócrates)

RESUMO

A família Piperaceae, especialmente o gênero *Piper*, é reconhecida como fonte de metabólitos secundários com diversas atividades biológicas. *Piper divaricatum* G. Mey. (pau-de-angola) destaca-se pelo potencial antifúngico reportado na medicina tradicional, embora seus componentes bioativos e mecanismos de ação ainda não tenham sido elucidados. O presente estudo visou investigar a composição fitoquímica de extratos de raiz, caule e folhas de *P. divaricatum* e avaliar sua atividade antifúngica contra o fitopatógeno *Fusarium kalimantanense* (LPPC130), agente causal do mal do Panamá em bananeiras. Os extratos etanólicos foram particionados com acetato de etila, gerando as frações PDVR (raiz), PDVC (caule) e PDVF (folhas). A caracterização química foi realizada por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (CLUE-EMAR). A análise metabolômica revelou 23 metabólitos, sendo 20 caracterizados, com predominância de piperamidas nos extratos de raiz e caule. Compostos fenólicos, glicerideo e derivados da clorofila também foram detectados. Nos ensaios de inibição do crescimento micelial, o extrato da raiz (PDVR) apresentou a maior atividade antifúngica (83,7% de inibição a 2,0 mg/mL), semelhante ao fungicida sintético tiabendazol. Os extratos PDVC e PDVF apresentaram atividade moderada (40-48%). A análise estatística confirmou diferenças significativas em relação ao controle negativo (apenas com o crescimento fúngico). Os resultados indicam que a raiz de *P. divaricatum* concentra os compostos bioativos responsáveis pela potente atividade antifúngica, fornecendo base para futuros estudos de isolamento e desenvolvimento de biofungicidas naturais para o manejo sustentável do mal do Panamá em bananeiras.

Palavras-chave: biofungicida; mal-do-Panamá; metabolômica; piperamidas; UPLC-QTOF.

ABSTRACT

The Piperaceae family, especially the *Piper* genus, is recognized as a source of secondary metabolites with diverse biological activities. *Piper divaricatum* G. Mey. (pau-de-angola) stands out for its antifungal potential reported in traditional medicine, although its bioactive components and mechanisms of action have not been elucidated. This study aimed to investigate the phytochemical composition of root, stem, and leaf extracts of *P. divaricatum* and evaluate their antifungal activity against the phytopathogen *Fusarium kalimantanense* (LPPC130), the causal agent of Panama disease in banana plants. The ethanolic extracts were partitioned with ethyl acetate, generating the PDVR (root), PDVC (stem), and PDVF (leaves) fractions. Chemical characterization was performed by Ultra-Performance Liquid Chromatography coupled to High-Resolution Mass Spectrometry (UHPLC-HRMS). Metabolomic analysis revealed 23 metabolites, 20 of which were characterized, with a predominance of piperamides in the root and stem extracts. Phenolic compounds, glyceride, and chlorophyll derivatives were also detected. In mycelial growth inhibition assays, the root extract (PDVR) showed the highest antifungal activity (83.7% inhibition at 2.0 mg/mL), similar to the synthetic fungicide thiabendazole. The PDVC and PDVF extracts showed moderate activity (40-48%). Statistical analysis confirmed significant differences in relation to the negative control (fungal growth only). The results indicate that the root of *P. divaricatum* concentrates the bioactive compounds responsible for the potent antifungal activity, providing a basis for future studies on the isolation and development of natural biofungicides for the sustainable management of Panama disease in banana plants.

Keywords: biofungicide; panama disease; metabolomics; piperamides; UPLC-QTOF.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 -	Estruturas químicas dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de <i>Piper divaricatum</i>	13
Tabela 2 -	Atividade antifúngica de metabólitos isolados de espécies do gênero <i>Piper</i> contra fitopatógenos	26
Tabela 3 -	Estruturas químicas dos compostos previamente isolados da espécie <i>Piper divaricatum</i>	38
Quadro 1 -	Classes de Piperamidas Identificadas no Gênero <i>Piper</i>	19
Quadro 2 -	Classificação das piperamidas segundo Li et al. (2015) e Luca et al. (2021)	21
Quadro 3 -	Resumo das principais atividades biológicas relatadas para a <i>Piper divaricatum</i>	35
Figura 1 -	Informações estruturais dos tipos de Piperamidas	21
Figura 2 -	Fotografia de <i>Piper divaricatum</i> G. Mey	30
Figura 3 -	Mapa da distribuição geográfica da espécie <i>Piper divaricatum</i> no Brasil	31
Figura 4 -	Sintomas externos e internos da murcha de <i>Fusarium</i> em bananeira: necrose vascular no pseudocaule e no rizoma	43
Figura 5 -	Esquema de um sistema UHPLC-QTOF/MS	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
BDA	Batata-Dextrose-Ágar
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLUE-EMAR	Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com Espectrometria de Massas de Alta Resolução
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis
DMSO	Dimetilsulfóxido
DON	Deoxinivalenol
LC ₅₀	Concentração Letal Média para 50% dos organismos testados
LPPC130	Isolado fúngico de <i>Fusarium kalimantanense</i> utilizado no estudo
<i>m/z</i>	Razão massa/carga em espectrometria de massas
PDVC	Extrato do caule
PDVF	Extrato das folhas
PDVR	Extrato das raízes
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
UHPLC-QTOF HRMS	Cromatografia Líquida de Ultraeficiência acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução por Tempo de Voo Quadrupolar
ZEA	Zearalenona

SUMÁRIO

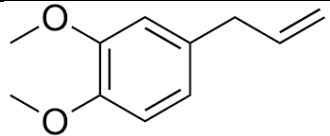
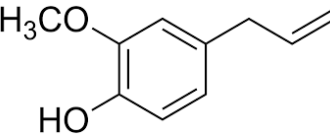
1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	A família Piperaceae	17
3.2	O gênero <i>Piper</i>	17
3.2.1	Usos etnofarmacológicos	17
3.2.2	Constituição fitoquímica de <i>Piper</i>	18
3.2.3	Atividades biológicas do gênero <i>Piper</i>	23
3.3	<i>Piper divaricatum</i> G. Mey.	30
3.3.1	Características botânicas	30
3.3.2	Distribuição geográfica	31
3.3.3	Usos etnobotânicos	31
3.3.4	Atividades biológicas	32
3.3.5	Composição química do óleo essencial	35
3.3.6	Constituintes químicos isolados de <i>P. divaricatum</i>	36
3.4	O gênero <i>Fusarium</i>	40
3.4.1	<i>Fusarium kalimantanense</i>	41
3.5	Técnicas analíticas de caracterização química de compostos orgânicos	44
3.5.1	Cromatografia Líquida de Ultraeficiências acoplada à Espectrometria de Massas (<i>UHPLC-HRMS</i>)	44
	REFERÊNCIAS	48
4	ARTIGO SUBMETIDO	58
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
	ANEXOS	83
	ANEXO A – ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS COMPOSTOS DOS EXTRATOS DE <i>PIPER DIVARICATUM</i>	83
	ANEXO B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO	85
	ANEXO C – ESPECTROS DE MASSAS (1 MS E 2 MS/MS) DOS 23 COMPOSTOS DETECTADOS VIA UHPLC-QTOF/MS	86

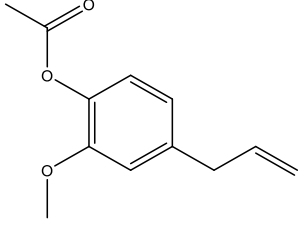
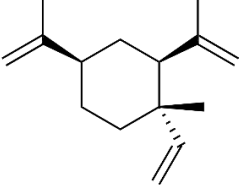
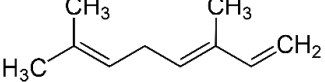
1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade da flora amazônica representa uma das maiores reservas naturais de compostos bioativos do planeta, despertando crescente interesse da comunidade científica internacional. Entre as inúmeras espécies vegetais dessa região, destaca-se o gênero *Piper*, amplamente distribuído nas zonas tropicais e conhecido pelo seu potencial farmacológico, inseticida e antimicrobiano. A prospecção química de espécies pertencentes a esse gênero tem revelado uma diversidade considerável de metabólitos secundários, cujas propriedades vêm sendo exploradas na medicina tradicional e em aplicações industriais. Dentre essas espécies, *Piper divaricatum* G. Mey. emerge como uma planta promissora, sobretudo pelos resultados obtidos em testes de bioatividade e composição química (CARNOSO et al., 2022).

A espécie *Piper divaricatum*, conhecida popularmente como pau-de-angola ou jaborandi-manso, é nativa da Amazônia e tradicionalmente utilizada em práticas etnobotânicas para o tratamento de dores reumáticas e cólicas (ANDRADE; GUIMARÃES; MAIA, 2009). Estudos recentes revelam que essa planta apresenta elevado teor de óleo essencial, constituído majoritariamente por compostos fenólicos como metileugenol e eugenol, reconhecidos por sua ação antifúngica, antioxidante e antibacteriana (CASTRO et al., 2022). Na tabela 1, pode-se observar a estrutura química dos principais metabólitos secundários identificados no óleo essencial desta espécie. Essas propriedades mostram o seu potencial como fonte de novos princípios ativos para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos e agrícolas (SILVA et al., 2010).

Tabela 1: Estruturas químicas dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de *Piper divaricatum*.

ESTRUTURA QUÍMICA	COMPOSTO
	Metileugenol
	Eugenol

	Acetato de eugenila
	β -Elemeno
	β -Ocimeno

Fonte: Silva et al., 2010.

Do ponto de vista químico, *P. divaricatum* integra um grupo de espécies que produz uma vasta gama de metabólitos, entre os quais se destacam as amidas, os terpenoides e os fenóis. Tais compostos têm sido associados a mecanismos de defesa natural das plantas, incluindo atividade inseticida, citotóxica e antimicrobiana (GÓMEZ-CALVÁRIO; RIOS, 2019). A identificação de constituintes majoritários e minoritários dessa espécie, bem como a compreensão de suas vias biossintéticas, podem fornecer subsídios relevantes para a aplicação biotecnológica desses compostos, especialmente em contextos em que o uso de insumos naturais se torna cada vez mais valorizado (FREIRE, 2022).

No cenário fitossanitário, a busca por alternativas naturais ao controle químico convencional de doenças de plantas tem impulsionado a investigação de espécies vegetais com ação antifúngica. Nesse contexto, os estudos envolvendo *P. divaricatum* têm demonstrado resultados promissores contra fitopatógenos como *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e *Cryptococcus neoformans* (DA SILVA et al., 2014; MEIRELES, 2014). Essa evidência reforça o interesse em elucidar os constituintes responsáveis pela bioatividade da planta, especialmente no manejo da fusariose que afeta culturas economicamente relevantes, como a pimenteira-do-reino (*Piper nigrum*) e banana (*Musa* spp.).

Além de seu potencial no manejo de doenças de plantas, *Piper divaricatum* também se mostra relevante para a conservação ambiental e o uso sustentável dos recursos naturais da Amazônia. A valorização de espécies nativas por meio da prospecção química contribui não apenas para a descoberta de novos compostos bioativos, mas também para

a promoção do uso racional da biodiversidade brasileira. Nesse sentido, é fundamental que as investigações científicas se pautem por princípios éticos, envolvendo comunidades locais e respeitando os conhecimentos tradicionais associados ao uso das plantas medicinais (CARNOSO et al., 2022).

Diante do exposto, este trabalho propõe uma investigação sobre a composição química de *Piper divaricatum* e a avaliação da sua atividade antifúngica contra um dos fitopatógenos mais importantes economicamente na cultura da banana, o *Fusarium kalimantanense*, agente causal do mal do Panamá ou murcha de Fusarium. A abordagem metodológica contempla técnicas modernas de análise, como UHPLC-MS/MS, que possibilitam a identificação e caracterização precisa dos metabólitos presentes, fornecendo base sólida para futuras aplicações biotecnológicas (CARNOSO et al., 2022; GÓMEZ-CALVÁRIO; RIOS, 2019).

Estrutura da Dissertação

Esta dissertação está organizada em capítulos que apresentam de forma lógica e sequencial o desenvolvimento da pesquisa. O capítulo 1 consiste na Introdução da pesquisa realizada, em seguida são explicitados os Objetivos do trabalho.

O capítulo 2 consiste no Referencial Teórico, o qual fundamenta a pesquisa a partir da literatura científica. Este capítulo aborda a família Piperaceae e o gênero *Piper*, com ênfase na espécie *Piper divaricatum*, seus usos, constituintes químicos e atividades biológicas. Também são discutidos o gênero *Fusarium*, com foco no fitopatógeno *Fusarium kalimantanense*, e as técnicas analíticas empregadas para a caracterização química, em especial a Cromatografia Líquida de Ultraeficiência acoplada à Espectrometria de Massas (UHPLC-HRMS). As Referências que sustentam este referencial são listadas ao final do capítulo.

A seguir, é apresentado o Artigo Submetido à revista *Pest Management Science*, que incorpora a metodologia desenvolvida, os resultados obtidos, a discussão dos dados e as considerações finais do estudo. As Referências específicas citadas no artigo são listadas em sua seção própria.

Por fim, os Anexos complementam a dissertação, fornecendo informações suplementares essenciais, como as estruturas químicas dos compostos identificados, o comprovante de submissão do artigo e os espectros de massas completos que embasam as caracterizações químicas realizadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o potencial antifúngico de *Piper divaricatum* contra o agente causal do mal do Panamá em bananeiras, *Fusarium kalimantanense*.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar a extração e caracterização química de extratos etanólicos de folhas, caule e raiz de *Piper divaricatum* através de Cromatografia Líquida de Ultraeficiência com Espectrometria de Massas de Alta Resolução (CLUE-EMAR);
- Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos extratos de *P. divaricatum* frente ao fitopatógeno *Fusarium kalimantanense*.
- Correlacionar as classes e compostos químicos identificados nos extratos de folhas, caule e raiz de *Piper divaricatum* com a atividade antifúngica observada frente a *Fusarium kalimantanense*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A Família Piperaceae

A família Piperaceae pertence à ordem Piperales e está incluída no grupo das Angiospermas. Ela é composta por 13 gêneros, incluindo *Artanthe*, *Lindenipiper*, *Macropiper*, *Manekia*, *Ottonia*, *Peperomia*, *Piper*, *Piperanthera*, *Pothomorphe*, *Sarcorrhachis*, *Trianaeopiper*, *Verhuellia* e *Zippelia*. Dentre estes gêneros, o *Piper* e o *Peperomia* são os mais representativos. No total, essa família botânica possui 6.933 denominações científicas relacionadas à classificação de suas espécies, das quais 1.919 são reconhecidas como espécies válidas (FREIRE, 2022; THE PLANT LIST, 2013;).

As plantas da família Piperaceae podem ser encontradas em diferentes formas de vida, incluindo ervas, arbustos, cipós e até pequenas árvores. Suas folhas geralmente apresentam disposição alternada, com margem inteira e venação pinada, além de apresentarem glândulas secretoras de óleos essenciais, responsáveis por seu aroma característico. As flores são pequenas e dispostas em inflorescências do tipo espiga, sem pétalas ou sépalas evidentes (CHANCHAL, THONGAM e HANDIQUE, 2015).

Diversas espécies pertencentes a essa família contêm biomoléculas em sua composição que apresentam um amplo espectro de ação contra diferentes enfermidades. Essas substâncias possuem propriedades antimicrobianas, inseticidas, fungicidas e/ou fungistáticas, demonstrando potencial no controle de patógenos e em aplicações terapêuticas (DIGNANI, 2009; PITON et al., 2014).

3.2 O gênero *Piper*

3.2.1 Usos etnofarmacológicos

O gênero *Piper* é um dos mais importantes gêneros da família Piperaceae, compreendendo mais de 2200 espécies representadas por ervas, arbustos e lianas distribuídas em zonas tropicais ao redor do mundo (COLORADO, SALGADO e HERRERA, 2025; SILVA et al., 2017). Espécies desse gênero são cultivadas principalmente por suas sementes e folhas, as quais possuem propriedades aromatizantes e podem ser utilizadas como temperos na alimentação. Praticamente todas as partes das plantas do gênero *Piper* (raízes, folhas, galhos, caule e frutos) são empregadas na medicina popular para tratar diversas doenças e condições, como febre, dor de barriga, diarreia, reumatismo, furúnculos, sarna, problemas gastrointestinais, câncer, dor,

infecções, inflamação e hipertensão, além de serem usadas como anti-helmínticas e diuréticas (ARAÚJO-BAPTISTA et al., 2019; HASHIM, 2018; LIMA et al., 2020; MGBEAHURUIKE et al., 2017; PELAYO et al., 2016; SAWADOGO et al., 2012; STOJANOVIĆ-RADI et al., 2019; WANG et al., 2014; XIANG et al., 2016).

3.2.2 Constituição fitoquímica de *Piper*

3.2.2.1 Óleos essenciais

As espécies de *Piper* produzem uma série de classes metabólicas com diversas atividades biológicas (TAKEARA et al., 2017). Os óleos essenciais extraídos de diferentes partes dessas espécies são constituídos principalmente por terpenos, que incluem os monoterpenos (ex.: α -pineno, mirceno, limoneno, α -terpineno, p-cimeno), monoterpenoides oxigenados (ex.: 1,8-cineol, linalol, terpinen-4-ol, borneol, cânfora), sesquiterpenos (ex.: beta-cariofileno, α -humeleno, germacreno D, biciclogermacreno, α -cubeno), sesquiterpenoides oxigenados (ex.: espatulenol, (*E*)-nerolidol, óxido de cariofileno, α -cadinol, *epi*- α -bisabolol) e fenilpropanoides (ex.: safrol, dilapiol, miristicina, elemicina, (*Z*)-asarona, eugenol) (NASCIMENTO et al., 2012; PAZ, GUIMARÃES e RAMOS, 2017).

Algumas espécies tropicais de *Piper* podem apresentar altos rendimentos de óleos essenciais e de constituintes voláteis majoritários, os quais podem variar de acordo com os diferentes quimiotipos, região geográfica e fatores ambientais (DE ALMEIDA et al., 2009; MAIA et al., 1998; MAIA e ANDRADE, 2009). O rendimento do óleo essencial presente nas folhas de *Piper xylosteoides*, por exemplo, é de 1,8%, sendo o monoterpeno mirceno (31%), amplamente utilizado na indústria alimentícia e cosmética, a substância majoritária (POTZERNHEIM et al., 2006). Para a espécie *P. divaricatum*, 46,0% do óleo essencial obtido corresponde ao eugenol, o qual é utilizado como anestésico para sedação de peixes e em certos tratamentos dentários (RIBEIRO et al., 2016; SILVA et al., 2011). Óleos essenciais de alto rendimento, bem como os compostos voláteis de valor econômico, são de grande importância para as indústrias farmacológica, cosmética, e de limpeza, sendo bastante valorizados pelo mercado internacional (MAIA e ANDRADE, 2009).

3.2.2.2 Constituintes característicos do gênero: Amidas e alcaloides

Além dos terpenos presentes nos óleos essenciais, outras classes de metabólitos produzidos por espécies do gênero *Piper* incluem as neolignanas, lignanas, lactonas,

hidroquinonas, amidas, alcaloides, esteroides, chalconas/dihidrochalconas, cromonas, ácidos graxos, ceramidas e flavonoides (BATISTA et al., 2018; FAN et al., 2023; WARE et al., 2024).

Em especial as amidas isoladas de espécies do gênero *Piper*, classe de compostos característica do gênero, apresentam grande diversidade estrutural e podem ser classificadas como amidas aromáticas, alifáticas, aristolactamas, ceramidas e 4,5-dioxoaporfinas. Certas amidas podem apresentar ainda em sua estrutura grupos como o pirrol, a pirrolidina, a peperidona, a piperidina e até uma porção alcaloídica, podendo neste último caso, serem classificadas como alcanidas. Essas estruturas citadas são geralmente isoladas de plantas pertencentes às famílias Asteraceae, Sonalaceae, Rutaceae e Piperaceae (KATO e FURLAN, 2007; GÓMEZ-CALVÁRIO e RIOS, 2019). No quadro 1, pode-se observar as diferentes classes de piperamidas já estudadas em espécies do gênero *Piper*.

Quadro 1: Classes de Piperamidas Identificadas no Gênero *Piper*

Classe	Exemplos de Substâncias	Principais Atividades Biológicas
Piperamidas Naturais	Piperina, Piperlongumina, Ácido piperico	Antiinflamatória, antimicrobiana, analgésica
Piperamidas Sintéticas	Derivados de Piperina (modificados quimicamente)	Propriedades antitumorais, atividade antifúngica
Piperamidas Alquílicas	Piperamidas contendo cadeias alquílicas longas	Potencial inseticida e antimicrobiano
Piperamidas Aromáticas	Piperamidas com anéis aromáticos ligados à estrutura	Propriedades antioxidantes e neuroprotetoras

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

Várias espécies do gênero *Piper* têm sido investigadas e novos compostos vem sendo identificados. Nesse sentido, um dos primeiros trabalhos de revisão realizado por Parmar et al., 1997 descreveu 144 diferentes amidas/alcaloides presentes em 67 espécies, e uma das revisões mais recentes reuniu informações acerca de 277 amidas/alcaloides provenientes de 158 espécies (GÓMEZ-CALVÁRIO e RIOS, 2019).

As amidas de *Piper* também são conhecidas como alcanidas e são metabólitos secundários encontrados em espécies do gênero *Piper*. Sua biossíntese envolve a condensação de vários ácidos graxos com resíduos de amina. A formação dessas amidas começa com a biossíntese de frações de amina, como piperidina, pirrolidina e

isobutilamina, que se originam de aminoácidos como L-lisina e L-ornitina. Esses aminoácidos sofrem modificações enzimáticas, incluindo transaminação e descarboxilação, para produzir as aminas correspondentes. Os precursores de ácidos graxos comumente envolvidos na formação de amidas incluem ácido benzoico, ácido cinâmico e ácidos alquil aromáticos de cadeia longa. A etapa final na via biossintética consiste na condensação dos componentes de amina e ácido graxo, resultando em uma gama diversificada de alcaloides característicos das espécies de *Piper* (GÓMEZ-CALVÁRIO e RIOS, 2019; COTINGUIBA et al., 2023).

Quimicamente, as piperamidas são definidas pela presença de uma ligação amida ligando uma porção amina a uma cadeia de ácido graxo ou ácido aromático. Suas propriedades físico-químicas incluem solubilidade moderada em solventes orgânicos, como clorofórmio (CHCl_3), acetona (CH_3COCH_3) e metanol (CH_3OH). Elas são relativamente estáveis sob condições laboratoriais padrão, mas podem se degradar em ambientes de pH elevado. Sua diversidade estrutural contribui para suas propriedades biológicas e farmacológicas variáveis (GÓMEZ-CALVÁRIO e RIOS, 2019).

3.2.2.2.1 Classificação das Piperamidas

As piperamidas, metabólitos secundários característicos do gênero *Piper*, apresentam grande diversidade estrutural e funcional. Para facilitar sua análise e identificação, diferentes estudos propuseram classificações baseadas em grupos estruturais e nos fragmentos diagnósticos obtidos por espectrometria de massas (LI et al., 2015; LUCA et al., 2021).

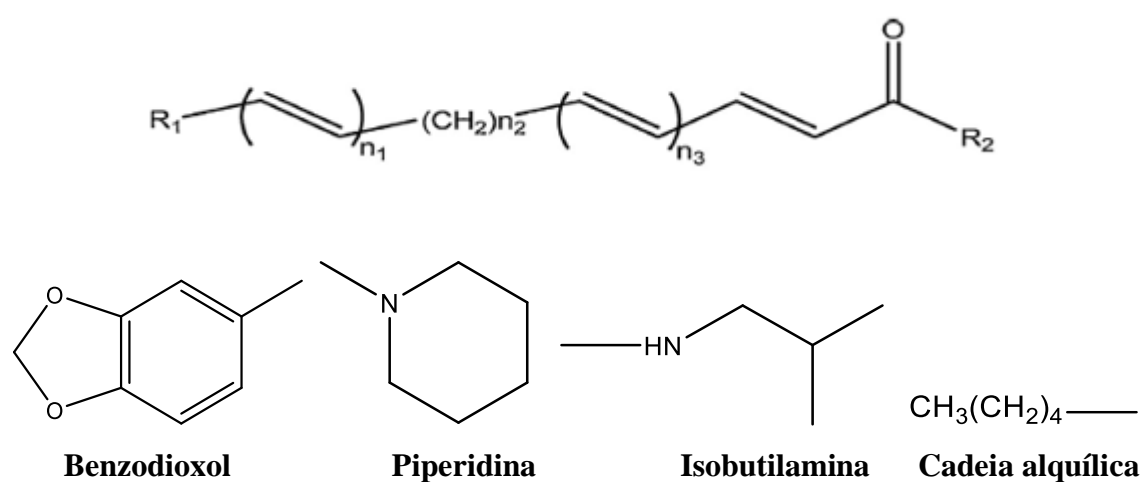
Segundo Li et al. (2015), os alcaloides amídicos isolados de *Piper longum* podem ser organizados em quatro grupos principais (A–D), definidos pela natureza dos substituintes presentes na porção aromática (R1) e na amina (R2). Posteriormente, Luca et al. (2021) ampliaram esta classificação com a inclusão de dois novos grupos (E e O), totalizando seis classes de piperamidas.

As piperamidas do tipo A possuem como característica a presença de grupo benzodioxólico na posição R1 e piperidina na posição R2. Já as do tipo B também apresentam o benzodioxol em R1, mas em R2 ocorre a substituição por isobutilamina. No tipo C, observa-se uma cadeia alquílica em R1 e isobutilamina em R2, enquanto no tipo D mantém-se a cadeia alquílica em R1, mas o grupo terminal em R2 é piperidina. O tipo E é constituído por estruturas que apresentam benzodioxol em R1 e pirrolidina em R2.

Finalmente, o tipo O engloba estruturas de maior diversidade, como lactamas (ex.: piperolactam C) e compostos com esqueletos diferenciados, incluindo a piperlongumina (LUCA et al., 2021).

Essa classificação estrutural não apenas facilita a organização e a identificação das piperamidas, como também orienta estudos quimiotaxonômicos e de correlação com atividades biológicas. O Quadro 2 a seguir apresenta um resumo comparativo das seis categorias de piperamidas descritas na literatura. A Figura 1 apresenta as representações estruturais de cada tipo de piperamida descrita por Li et al., 2015.

Figura 1: Informações estruturais dos tipos de Piperamidas



Fonte: Adaptado de Li et al., 2015.

Quadro 2: Classificação das piperamidas segundo Li et al. (2015) e Luca et al. (2021)

Tipo	Características estruturais principais	Exemplos de compostos	Referências
A	Benzodioxol em R1 + piperidina em R2	Piperina, piperonatina	Li et al. (2015); Luca et al. (2021)
B	Benzodioxol em R1 + isobutilamina em R2	Guineensina, retrofractamida B	Li et al. (2015); Luca et al. (2021)
C	Cadeia alquílica em R1 + isobutilamina em R2	Pellitorina, N-isobutil-2,4-dodecadienamida	Li et al. (2015); Luca et al. (2021)
D	Cadeia alquílica em R1 + piperidina em R2	Neopellitorina B, 1-(piperidinil)-octadecenona	Li et al. (2015); Luca et al. (2021)
E	Benzodioxol em R1 + pirrolidina em R2	Piperilina, braquiamida A	Luca et al. (2021)

Tipo	Características estruturais principais	Exemplos de compostos	Referências
O	Estruturas diversas (ex.: lactamas, outros esqueléticos)	Piperolactama C, piperlongumina	Luca et al. (2021)

Técnicas espectroscópicas, como ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis) e espectrometria de massa (MS), são cruciais para caracterizar as piperamidas. Na espectroscopia de RMN de ^1H , os sinais característicos correspondem a prótons de amida, hidrogênios aromáticos e cadeias alifáticas, enquanto os espectros de RMN de ^{13}C exibem picos para grupos carbonila de amida ($\text{C}=\text{O}$), carbonos aromáticos e carbonos alifáticos. A espectroscopia UV-Vis revela padrões de absorção associados a sistemas conjugados, particularmente em compostos com aromaticidade estendida. A espectrometria de massa (MS) fornece informações valiosas sobre o peso molecular, com picos de íons moleculares característicos observados na ionização por *eletrospray* positiva (ESI-MS). Os padrões de fragmentação auxiliam ainda mais na elucidação estrutural, indicando perdas características de frações amida ou cadeias de ácidos graxos ou aromáticos (WOLFF et al., 2015; LUCA et al., 2021).

As piperamidas exibem um amplo espectro de atividades biológicas, tornando-as valiosas em várias aplicações. Muitos desses compostos exibem potentes propriedades inseticidas e antialimentares, com exemplos como piperina, piperida e guineense mostrando atividade significativa contra insetos. Além disso, algumas amidas demonstram efeitos citotóxicos contra linhagens de células cancerígenas, notavelmente a pipartina. A atividade antimicrobiana das piperamidas também foi documentada, com certos compostos exibindo propriedades antibacterianas e antifúngicas. Além disso, algumas piperamidas mostram efeitos neuromoduladores, incluindo atividades analgésicas, anti-inflamatórias e antidepressivas, destacando seus potenciais em aplicações terapêuticas (COTINGUIBA et al., 2009; NASCIMENTO et al., 2012; PARK 2012; GÓMEZ-CALVÁRIO e RIOS, 2019).

No geral, os estudos das piperamidas continuam atraindo interesse científico devido às suas complexas vias biossintéticas, diversas estruturas químicas e atividades biológicas significativas. A sua caracterização usando técnicas espectroscópicas avançadas permitem *insights* mais profundos sobre seu potencial farmacológico,

reforçando sua importância tanto na medicina tradicional quanto na descoberta de novos compostos bioativos de interesse comercial, econômico e agrícola (LUCA et al., 2021).

3.2.3 Atividades biológicas do gênero *Piper*

Vários dos usos etnofarmacológicos do gênero *Piper* já foram evidenciados por estudos científicos, que reportam seu amplo espectro de atividades biológicas, sendo estas resultantes da presença de diversas classes de metabólitos (ARAÚJO et al., 2018; LIMA et al., 2020; MGBEAHURUIKE et al., 2017).

Os óleos essenciais produzidos por espécies de *Piper* são constituídos principalmente por terpenoides e apresentam várias atividades biológicas, como antiprotozoária, bactericida, inseticida, larvicida, repelente, antifúngica, anti-inflamatória, antinociceptiva, antioxidante, acaricida, antitumoral, dentre outras, sendo as mais comumente reportadas a herbicida, a antimicrobiana e a antitumoral (AL-SAYED, GAD e EL-KERSH, 2022; AYRES et al., 2021; CARNEIRO et al., 2020; DUROFIL et al., 2021; HAI et al., 2023; MENEZES et al., 2022; MOTHANA et al., 2016; PEREIRA-FILHO et al., 2021; RUIZ-VÁSQUEZ et al., 2022; SHAH et al., 2024; SHAN et al., 2024; SOARES, BRODIGNON e APEL, 2022; WANG et al., 2021)

Alcaloides e amidas isoladas de extratos de espécies do gênero *Piper* estão entre as principais classes de produtos naturais bioativos, os quais apresentam atividades anti-inflamatória, antioxidante, antiplasmódica, inseticida, antifúngica, citotóxica, ansiolítica/antidepressiva, antileishmaniose, esquistossomicida, hepatoprotetiva, alelopática, antimicrobiana, gastroprotetiva, antituberculose, larvicida e herbicida. Dentre estas, as mais investigadas são as atividades antifúngica, enzimática, hepatoprotetiva, citotóxica, inseticida, larvicida e antiplasmódica (BEHL et al., 2023; BHATTACHARYA et al., 2022; CHOY, AHMAD e ZAMAKSHSHARI, 2023; FENG et al., 2019; GOU, BAO e LI, 2025; HAN et al., 2023; KAMSU e NDEBIA, 2024; LERTNITIKUL et al., 2023; MENGARDA et al., 2020; MORIKAWA et al., 2004; MULLALLY et al., 2016; PARK et al., 2022; PEI et al., 2020; PEIXOTO et al., 2021; PHONG et al., 2025; PRASETYA et al., 2021; SWAIN et al., 2021; TIWARI et al., 2020).

3.2.3.1 Atividade antifúngica

O gênero *Piper* tem sido amplamente estudado devido às suas propriedades antifúngicas, apresentando resultados promissores contra diferentes fitopatógenos e fungos de interesse médico e comercial. Diversas espécies desse gênero demonstraram

capacidade de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos, tornando-se potenciais fontes de compostos antifúngicos naturais (DURANT-ARCHIBOLD, SANTANA e GUPTA, 2018).

A espécie *Piper nigrum* (pimenta-do-reino) mostrou atividade antifúngica significativa contra os fungos *Fusarium oxysporum* e *Aspergillus niger*. Estudos indicam que o óleo essencial dessa planta apresentou concentrações inibitórias mínimas (CIM) variando entre 400 e 500 ppm após 10 dias de cultivo. Além disso, em testes conduzidos em frutos de tomate, observou-se que o óleo essencial reduziu a severidade da doença ocasionada por *Aspergillus niger* em até 70% e de *Fusarium oxysporum* em aproximadamente 40%. Esses resultados evidenciam o potencial da pimenta-do-reino como agente antifúngico natural (CASTELLANOS et al., 2020).

Outra espécie relevante, *Piper divaricatum*, apresentou forte atividade antifúngica contra *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, fungo responsável pela fusariose em *P. nigrum*. O óleo essencial dessa planta obteve taxas de inibição do crescimento micelial superiores a 90%, sendo que seus principais constituintes, metileugenol (75%) e eugenol (10%), exibiram efeitos inibitórios significativos. O eugenol, em especial, demonstrou inibição total do crescimento fúngico em concentrações entre 0,75 e 2,5 mg/mL, reforçando a eficácia dessa espécie no controle de fitopatógenos (Da SILVA et al., 2014).

Estudos realizados com *P. callosum*, *P. marginatum* var. *anisatum* e *P. enckea* demonstraram inibição total do crescimento micelial de *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici* quando submetidas a concentrações de 0,75 µL/mL e 1 µL/mL de seus óleos essenciais (SILVA, BASTOS, 2007).

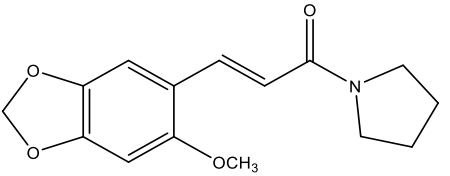
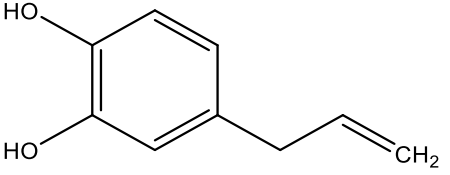
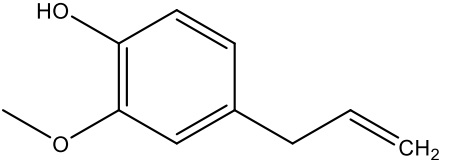
Resultados semelhantes foram obtidos para *P. aduncum*, cujos óleos essenciais exibiram forte atividade antifúngica contra espécies do gênero *Fusarium* e *Colletotrichum*, efeito atribuído à presença de compostos como fenilpropanóides e terpenóides (LIMA, 2009). Outras espécies de plantas que apresentam estudos direcionados à sua atividade antifúngica incluem: *P. betle* (NAYAKA et al., 2021), *P. retrofractum* (MUHARINI et al., 2015) e *P. umbellatum* (FREITAS et al., 2020).

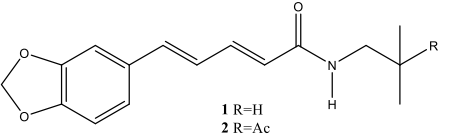
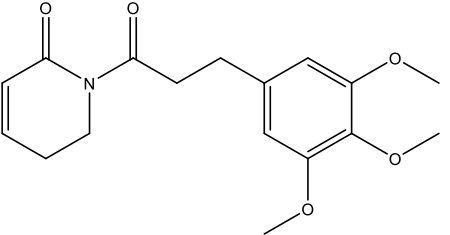
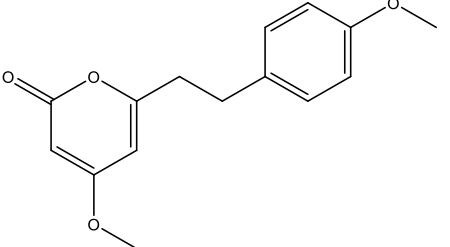
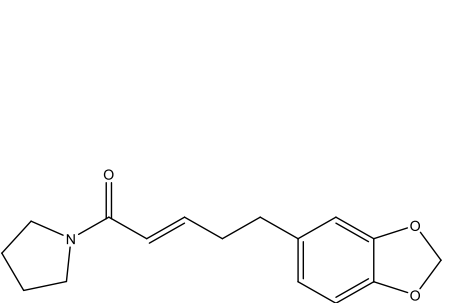
Tais estudos evidenciam o papel crucial das diferentes classes de constituintes químicos nas espécies do gênero *Piper*, como amidas, terpenoides e outros metabólitos secundários, na atividade antifúngica observada. Dessa forma, fica evidente que as diversas espécies do gênero *Piper* possuem grande potencial para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos naturais. Seus compostos bioativos podem ser explorados

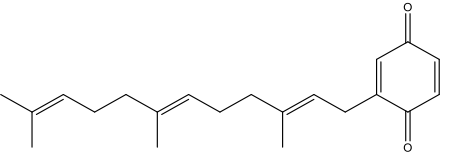
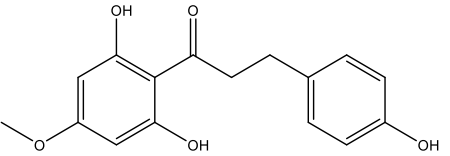
tanto na medicina quanto na agricultura, contribuindo para a busca por alternativas mais sustentáveis no controle de doenças causadas por fungos.

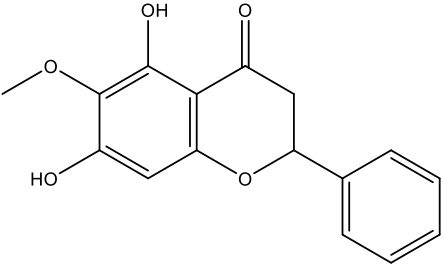
Na Tabela 2, pode-se observar a estrutura química de metabólitos acompanhados por seus respectivos nomes, a espécie de *Piper* da qual foram identificados e suas atividades antifúngicas reportadas.

Tabela 2: Atividade antifúngica de metabólitos isolados de espécies do gênero *Piper* contra fitopatógenos

Nº	Estrutura química	Composto	Espécie	Fitopatógeno	Atividade antifúngica	Referência
1		N-(2Z)-[3-(2'-etoxy-4',5'-methylenedioxyphenyl)prop-2-enil]pirrolidina	<i>P. tuberculatum</i>	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	5,0 ^b	NASCIMENTO et al., 2012
2		Hidroxichavicol	<i>P. betle</i>	<i>Cladosporium albicans</i> <i>C. krusei</i> <i>C. glabrata</i> Fungos dermatófitos Leveduras <i>Aspergillus</i> spp.	Efeito fungistático 400 ^a 7,81-62,5 ^a 15,62-500 ^a 125-500 ^a	NAYAKA et al., 2021
3		Eugenol	<i>P. betle</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	256 ^a	DE OLIVEIRA PEREIRA; MENDES; DE OLIVEIRA LIMA, 2013

4	 <p>1 R=H 2 R=Ac</p>	Scutifoliamida A e Scutifoliamida B	<i>P. scutifolium</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>C. sphaerospermum</i>	5,0 ^b 5,0 ^b	MARQUES et al., 2007
5		8,9-dihidropiplartina	<i>P. tuberculatum</i> e <i>P. rugosum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	21,1 ^c	CÁRDENAS- LAVERDE; BARBOSA- CORNELIO; BARRERA, 2021
6		7,8-dihidroyangonina	<i>P. pulchrum</i> <i>P. barcoense</i> <i>P. tuberculatum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	43,8 ^c	CÁRDENAS- LAVERDE; BARBOSA- CORNELIO; BARRERA, 2021
7		4,5-dihidropiperilina	<i>P. hispidum</i> e <i>P. arboreum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Cladosporium sphaerospermum</i> <i>C. cladosporioides</i> <i>Candida albicans</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida</i>	28-6 ^c 5,0 ^b 0,1 ^b	CÁRDENAS- LAVERDE; BARBOSA- CORNELIO; BARRERA, 2021 NAVICKIENE et al., 2000 DA SILVA et al., 2002

				<i>parapsilosis</i> <i>Cryptococcus</i> <i>neoformans</i>	125<CIM<15,6 _a	REGASINI et al., 2009
8		(2'E,6'E)-2-farnesil-1,4-benzoquinona	<i>P. pulchrum</i> <i>P. barcoense</i> <i>P. tuberculatum</i>	<i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> <i>Candida albicans</i>	48,6 ^c N.A.	CÁRDENAS-LAVERDE; BARBOSA-CORNELIO; BARRERA, 2021 DE ROSA; DE GIULIO; IODICE, 1994
9		Asebogenina	<i>P. elongatum</i>	<i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i>	25,6 ^c	CÁRDENAS-LAVERDE; BARBOSA-CORNELIO; BARRERA, 2021

10	 <p>The chemical structure of Oroxilina A is a complex molecule. It features a central benzene ring with a methoxy group (-OCH₃) at the top-left position and a hydroxyl group (-OH) at the bottom-left position. This benzene ring is fused to a six-membered ring containing a carbonyl group (=O) at the top and an oxygen atom at the bottom. A phenyl ring is attached to the right side of this six-membered ring.</p>	Oroxilina A	<i>P. sarmentosum</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	128 ng/mL (1-2 mg/mL de extrato)	ZHOU et al, 2023
----	--	-------------	-----------------------	-----------------------------	--	------------------

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

3.3. *Piper divaricatum* G. Mey.

3.3.1 Características botânicas

Piper divaricatum é uma espécie pertencente à família Piperaceae, amplamente reconhecida por suas propriedades aromáticas e medicinais. É tipicamente encontrada em florestas tropicais, onde cresce como uma planta arbustiva ou escandente, às vezes exibindo um hábito de escalada. Os caules são lenhosos na base, mas permanecem flexíveis nas partes mais jovens, com nós inchados característicos, típico do gênero *Piper*. As folhas são alternadas, simples e ovadas a lanceoladas, apresentando uma superfície superior verde brilhante e uma parte inferior mais clara (Figura 2). Elas possuem margens inteiras e venação proeminente, contribuindo para sua aparência distinta (DA SILVA et al., 2017; SALEHI et al., 2019).

A planta produz pequenas flores sésseis dispostas em espigas delgadas que emergem das axilas das folhas. Essas flores são unissexuais, com estruturas masculinas e femininas separadas, e não têm pétalas, sendo reduzidas a órgãos reprodutivos envoltos em brácteas protetoras. Após a polinização, *P. divaricatum* desenvolve pequenas drupas carnudas que ficam escuras quando maduras, com tons pretos, roxos ou avermelhados. Essas frutas são aromáticas e contêm inúmeras sementes pequenas, contribuindo para a dispersão e propagação da espécie (MEIRELES et al., 2014).

Figura 2: Fotografia de *Piper divaricatum* G. Mey.



. Fonte: Nádia Paracampo, 2025.

3.3.2 Distribuição geográfica

P. divaricatum é uma espécie amplamente distribuída na América tropical, incluindo regiões do México e América do Sul, principalmente no Brasil e na Colômbia, ocorrendo em florestas tropicais úmidas, geralmente em ambientes sombreados ou semi-sombrados (OLIVEIRA et al., 2022).

No Brasil é encontrada em quase todas as regiões, incluindo o Nordeste, onde ocorre nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco e Sergipe. No Centro-Oeste, registra-se sua presença no Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Na Região Sudeste, é encontrada nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Pode-se observar na Figura 3 o mapa da distribuição geográfica e dos domínios fitogeográficos desta espécie (GUIMARÃES et al., 2025).

Figura 3: Mapa da distribuição geográfica da espécie *Piper divaricatum* no Brasil



Identificação dos Domínios Fitogeográficos: Verde - Amazônia, Laranja - Caatinga, Amarelo - Cerrado, Vermelho - Mata Atlântica.

Fonte: Adaptado de GUIMARÃES et al., 2025.

3.3.3 Usos etnobotânicos

A espécie aromática *P. divaricatum*, nativa da Amazônia, é popularmente conhecida como pau-de-angola ou jaborandi-manso. As folhas e raízes, quando cozidas,

são usadas para banhos anti-reumáticos e, em infusão, são empregadas via oral contra dores reumáticas e cólicas (ANDRADE et al., 2009).

3.3.4 Atividades biológicas

3.3.4.1 Atividade antifúngica

Da Silva et al. (2010) em relação à atividade antifúngica, testaram o óleo essencial de *P. divaricatum* contra diversas espécies fúngicas de importância médica, incluindo *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Trichophyton rubrum* e *Microsporum gypseum*. O óleo mostrou-se particularmente eficaz contra *Cryptococcus neoformans* e *Candida albicans*, apresentando valores de concentração inibitória mínima (CIM) de 78 µg/mL e 156 µg/mL, respectivamente. A potente atividade antifúngica foi atribuída principalmente à elevada concentração de safrol na composição do óleo, um composto fenólico com propriedades antimicrobianas reconhecidas. Esses resultados reforçam o potencial de *Piper divaricatum* como uma fonte promissora de agentes naturais com aplicação no controle de infecções fúngicas.

Meireles (2014) realizou uma triagem da atividade antifúngica *in vitro* de óleos essenciais provenientes de espécies do gênero *Piper*, ricos em fenilpropanóides, que levou à descoberta de uma espécie com resistência à fusariose. Segundo o autor do estudo, essa resistência, observada em *P. divaricatum*, pode estar associada à produção de seus metabólitos secundários, especialmente o eugenol e o metileugenol, os quais, quando combinados, demonstraram efeito satisfatório contra *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, fitopatógeno que atinge e compromete os cultivos de pimenteiras-do-reino (*Piper nigrum*).

3.3.4.2 Atividade antioxidante

Da Silva et al. (2010) utilizaram dois métodos consagrados: o ensaio com o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e o sistema de descoloração do β-caroteno/ácido linoleico. Os resultados indicaram que o óleo essencial de *P. divaricatum* apresentou uma boa atividade antioxidante em ambos os ensaios, embora com eficácia inferior aos antioxidantes sintéticos de referência, como o BHT. No teste com DPPH, foi observada uma notável capacidade de neutralização dos radicais livres, enquanto no sistema β-caroteno/ácido linoleico, o óleo demonstrou uma inibição moderada da oxidação. Esses

achados sugerem que o óleo possui compostos capazes de atuar como agentes antioxidantes naturais, oferecendo proteção contra processos oxidativos.

3.3.4.3 Atividade antibacteriana

Castro et al. (2022) investigaram a eficácia do óleo essencial extraído de *P. divaricatum* frente a diferentes cepas bacterianas. Os resultados obtidos demonstraram que o óleo apresenta atividade antibacteriana significativa, especialmente contra bactérias Gram-positivas.

Dentre as cepas testadas, *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* foram as mais sensíveis ao tratamento com o óleo essencial, apresentando as menores concentrações inibitórias mínimas (CIMs). Esses dados indicam uma forte eficácia antimicrobiana do extrato frente a essas bactérias. Por outro lado, embora tenha havido atividade contra bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, as CIMs observadas foram mais elevadas, o que sugere uma menor efetividade nesses casos.

A composição química do óleo revelou a presença de compostos fenólicos e terpenoides, classes de metabólitos secundários frequentemente associadas a propriedades antimicrobianas. Dessa forma, Castro et al. (2022) concluíram que *P. divaricatum* possui um potencial promissor como fonte de agentes antibacterianos naturais, sobretudo no combate a infecções causadas por bactérias Gram-positivas. No entanto, os autores recomendaram a realização de pesquisas complementares, incluindo ensaios *in vivo* e avaliações toxicológicas, com vistas à futura aplicação terapêutica ou cosmética do óleo essencial.

3.3.4.4 Atividade inseticida

Com base nos estudos realizados por Souto et al. (2012), foi avaliada a atividade inseticida do óleo essencial extraído das partes aéreas (folhas e caules delgados) da espécie *P. divaricatum* contra operárias da formiga-de-fogo *Solenopsis saevissima*, uma espécie de importância médica e agrícola na região amazônica e em áreas urbanas do Brasil. O óleo essencial apresentou rendimento de 1,5% em base seca, sendo sua composição química analisada por cromatografia gasosa e espectrometria de massas (GC-MS). Dentre os compostos voláteis identificados, os principais constituintes foram o

metileugenol (69,2%) e o eugenol (16,2%), ambos pertencentes à classe dos fenilproenos, conhecidos por sua toxicidade e ação repelente contra diversos insetos.

Nos bioensaios realizados em laboratório, a exposição das formigas ao óleo de *P. divaricatum* resultou em mortalidade crescente com o aumento do tempo e da concentração do óleo, sendo que a concentração letal média (LC₅₀) após 48 horas foi estimada em 301,7 mg/L. Embora essa concentração demonstre atividade tóxica significativa, ela foi superior à observada para outras espécies do mesmo gênero, como *Piper aduncum* (LC₅₀ de 58,4 mg/L) e *Piper marginatum* (LC₅₀ variando de 122,4 a 167,0 mg/L, dependendo do quimiotipo), o que indica uma menor potência inseticida relativa para *P. divaricatum*. Ainda assim, os autores destacam que o metileugenol e o eugenol presentes nesse óleo são substâncias com eficácia já reconhecida contra diferentes ordens de insetos, sendo plausível atribuir a eles o efeito observado (SOUTO et al., 2012).

O estudo ressalta a importância da continuidade de pesquisas voltadas à caracterização da atividade inseticida de óleos essenciais do gênero *Piper*, incluindo investigações sobre possíveis efeitos sinérgicos entre seus constituintes químicos. Dessa forma, o óleo de *P. divaricatum* mostra-se como uma fonte promissora de metabólitos naturais com potencial aplicação no controle sustentável de pragas, particularmente em estratégias de manejo integrado de pragas na região amazônica. No quadro 3, pode-se observar as principais bioatividades relatadas para esta espécie.

Quadro 3: Resumo das principais atividades biológicas relatadas para a *Piper divaricatum*.

Atividade Biológica	Organismo-Alvo / Teste	Compostos Responsáveis	Resultados Principais	Referência
Antibacteriana	<i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>S. epidermidis</i> (Gram+)	Compostos fenólicos e terpenoides	Alta eficácia com baixas CIMs para Gram+, menor ação sobre Gram-.	CASTRO et al., 2022.
Antifúngica	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i>	Eugenol, Metileugenol	Inibição significativa do crescimento micelial <i>in vitro</i>	DA SILVA et al., 2010.
Inseticida	<i>Solenopsis saevissima</i> (formiga-de-fogo)	Eugenol, Metileugenol	LC ₅₀ após 48 horas foi estimada em 301,7 mg/L	SOUTO et al., 2012.
Antioxidante	DPPH e β -caroteno/ácido linoleico	Compostos fenólicos	Capacidade antioxidante moderada, atribuída à presença de fenóis	DA SILVA et al., 2010.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

3.3.5 Composição química do óleo essencial

DA SILVA et al., (2014) descrevem que o óleo obtido das partes aéreas (folhas e caules delgados) de *Piper divaricatum* apresentou rendimento de 3,0%. A análise por Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massas (CG-EM) identificou 16 componentes, sendo os principais constituintes voláteis os fenilpropenos metileugenol (77,1%), eugenol (7,9%) e acetato de eugenila (3,8%), que juntos corresponderam a aproximadamente 89% do total do óleo. Entre os constituintes minoritários, os monoterpenos α -pineno (2,1%) e β -pineno (3,2%) foram os mais representativos, totalizando cerca de 5,3% do óleo.

Além disso, pesquisas mais antigas já mostravam que os óleos essenciais produzidos pelas folhas de *Piper divaricatum* são constituídos predominantemente por substâncias como o metileugenol (63,8%) e o eugenol (23,6%) (SILVA et al., 2010). Ao todo neste estudo, os autores conseguiram detectar 25 constituintes químicos no óleo essencial de *P. divaricatum*, correspondendo a 99,1% da composição do óleo.

3.3.6 Constituintes químicos isolados de *P. divaricatum*

São relatados na literatura apenas dois estudos sobre o isolamento de substâncias químicas presentes em extratos de *P. divaricatum*. Avella, Díaz e De Díaz (1994), motivados pelo uso tradicional de *P. divaricatum* como inseticida, conduziram estudos para analisar os constituintes químicos obtidos a partir do extrato etanólico do caule dessa espécie e a sua atividade biológica. Foram isolados e identificados diversos constituintes por técnicas de fracionamento e cromatografia, dentre os quais destacam-se a cepharadiona A, um derivado 4,5-dioxoaporfínico previamente identificado em *Piper manausense*; a γ -asarona (2,4,5-trimetoxialilbenzeno), uma substância já relatada em *Piper futokadsura* e *Piper sarmentosum* (sendo esta última conhecida por suas propriedades antimicrobianas e por atuar como um agente antialimentar para insetos) e o 4-hidroxi-2,5-dimetoxialilbenzeno, um composto não relatado para a família Piperaceae. As estruturas químicas destes compostos isolados estão descritas na Tabela 3. Outros constituintes isolados incluem o β -sitosterol, um fitoesterol amplamente encontrado em plantas, e uma fração composta por ésteres graxos (AVELLA, DÍAZ, DE DÍAZ, 1994).

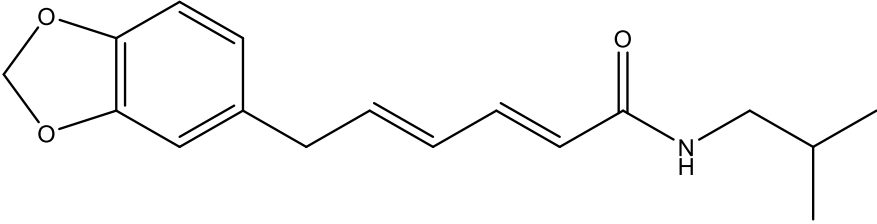
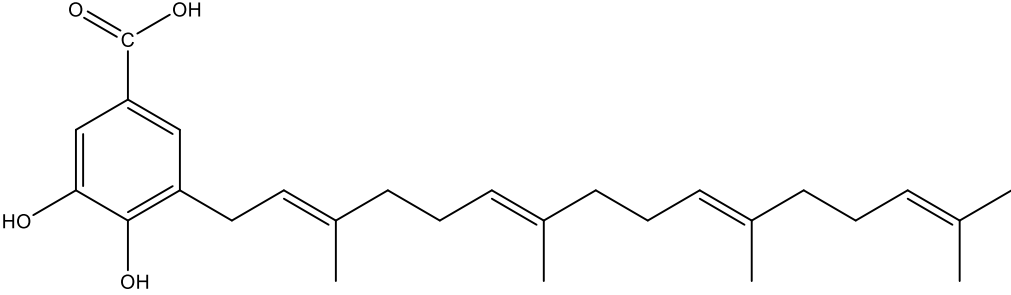
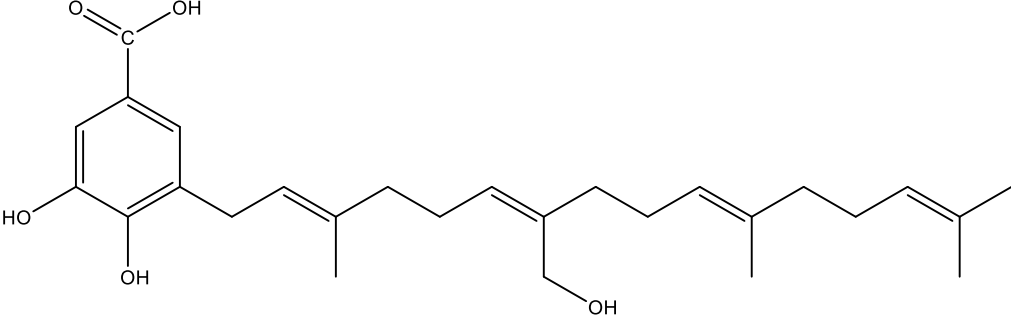
Os resultados obtidos por esses autores destacam a importância dos compostos isolados, em especial a cepharadiona A e a γ -asarona, devido as suas propriedades bioativas. A presença dessas substâncias também reforça o interesse no gênero *Piper* como uma fonte promissora para o desenvolvimento de produtos com aplicações farmacêuticas e agrícolas, sobretudo no controle de pragas e no combate a microrganismos patogênicos.

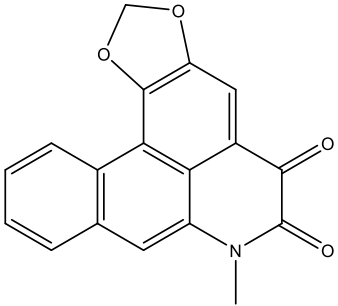
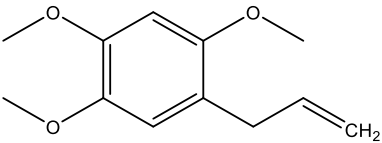
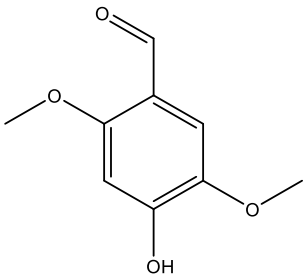
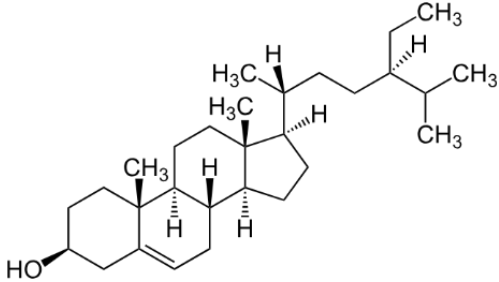
Chaves (2008) realizou uma análise cromatográfica do extrato hexano/acetato (1:1) das raízes de *Piper divaricatum*. Em seu trabalho, foram descritos o isolamento e a caracterização alguns compostos químicos, sendo o primeiro deles a piperlonguminina, uma amida amplamente conhecida e estudada por suas propriedades bioativas. Além dessa substância, Chaves (2008) também identificou dois derivados do ácido benzoico.

O primeiro deles, denominado ácido 5-(2'E,6'E,10'E)-3',7',11',15'-tetrametilhexadeca-2',6',10',14'-tetraenil)-3,4-dihidroxi benzóico, apresenta uma estrutura complexa com um sistema poli-insaturado ligado ao anel benzoico que, segundo os autores, podem conferir propriedades antioxidantes e antimicrobianas. O segundo derivado, identificado como ácido 5-(2'E,6'Z,10'E)-7-(hidroximetil)-3',11',15'-trimetilhexadeca-2',6',10',14'-tetraenil)-3,4-dihidroxi benzóico, também possui um núcleo

benzóico funcionalizado, sendo estruturalmente semelhante ao primeiro. No entanto, difere por uma modificação na cadeia lateral (CHAVES, 2008). Esses metabólitos, isolados a partir das raízes da espécie, representaram um importante marco para a compreensão da diversidade química de *Piper divaricatum* e reforçaram o potencial dessa planta como fonte de substâncias bioativas de interesse farmacológico e biotecnológico.

Tabela 3: Estruturas químicas dos compostos previamente isolados da espécie *Piper divaricatum*

NOME (FÓRMULA MOLECULAR)	ESTRUTURA QUÍMICA	REFERÊNCIA
Piperlonguminina (C ₁₇ H ₂₀ NO ₃)		Chaves, 2008
Ácido 5 (2'E,6'E,10'E)-3',7',11',15'-tetrametilhexadeca-2',6',10',14'-tetraenil)-3,4-dihidroxi benzóico (C ₂₇ H ₃₈ O ₄)		Chaves, 2008
5-(2'E,6'Z,10'E)-7-(hidroximetil)-3',11',15'-trimetil-hexadeca-2',6',10',14'-tetraenil)-3,4-dihidroxi benzóico (C ₂₇ H ₃₈ O ₅)		Chaves, 2008

<p>Cepharadiona A ($C_{18}H_{11}NO_4$)</p>	 <p>The structure of Cepharadiona A is a complex polycyclic molecule. It features a benzene ring fused to a five-membered ring containing a nitrogen atom with a methyl group. This is further fused to a six-membered ring with a carbonyl group, which is in turn fused to a seven-membered ring containing a furan ring system.</p>	<p>AVELLA, 1994</p>
<p>γ-asarona ($C_{12}H_{16}O_3$)</p>	 <p>The structure of γ-asarona is a benzene ring substituted with three methoxy groups (-OCH₃) at the 1, 3, and 4 positions, and a propenal side chain (-CH₂-CH=CH₂) at the 2 position.</p>	<p>AVELLA, 1994</p>
<p>4-hidroxi-2,5 dimetoxialilbenzeno ($C_9H_{10}O_4$)</p>	 <p>The structure is a benzene ring with a hydroxyl group (-OH) at the 4 position, two methoxy groups (-OCH₃) at the 2 and 5 positions, and an aldehyde group (-CHO) at the 1 position.</p>	<p>AVELLA, 1994</p>
<p>β-sitosterol ($C_{29}H_{50}O$)</p>	 <p>The structure of β-sitosterol is a steroid nucleus with a hydroxyl group at the 3 position, methyl groups at the 10 and 13 positions, and a side chain at the 17 position consisting of an ethyl group and an isopropyl group.</p>	<p>AVELLA, 1994</p>

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

3.4. O gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* pertence ao reino Fungi, filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Nectriaceae (SAMIKSHA; KUMAR et al., 2022). Este gênero de fungos é um dos mais relevantes tanto do ponto de vista agrícola quanto ambiental, pois é amplamente distribuído na natureza, está presente no solo e em matéria orgânica em decomposição e pode atuar como decompositor ou patógeno de plantas. Sua importância é evidenciada pelo impacto significativo na agricultura, causando doenças severas que comprometem a produtividade e a qualidade dos cultivos (OKUNGBOWA e SHITTU, 2012; GEISER et al., 2021; PODGÓRSKA-KRYSZCZUK; SOLARSKA; KORDOWSKA-WIATER, 2022).

A atuação de *Fusarium* como fitopatógeno é um dos maiores desafios para a agricultura mundial, pois diversas espécies desse gênero são responsáveis por importantes doenças em diferentes culturas. Entre as enfermidades mais preocupantes está a murcha de *Fusarium*, causada por *Fusarium oxysporum*, que atinge plantas como o tomate, banana, algodão e leguminosas (KARLSSON, PERSSON e FRIBERG, 2021). Esse fungo coloniza os vasos do xilema, bloqueando o transporte de água e nutrientes, resultando em murcha irreversível e morte da planta. Outro problema recorrente é a podridão e o tombamento de plântulas, frequentemente causados por espécies de *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum*, que afetam sementes e mudas, prejudicando o estabelecimento das culturas (XI, et al., 2022).

No cultivo de cereais, a fusariose dos grãos e espigas, provocada principalmente por *Fusarium graminearum*, compromete a qualidade do trigo, milho e cevada (DEL PONTE et al., 2022). Além da redução na produtividade, essa doença traz um risco adicional devido à produção de micotoxinas, como a deoxinivalenol (DON) e a zearalenona (ZEA), que podem contaminar alimentos e rações, representando um perigo para a saúde humana e animal (BRYŁA et al., 2022; MUNKVOLD, PROCTOR e MORETTI, 2021). No caso da bananicultura, o mal do Panamá, causado por um complexo de espécies de *Fusarium oxysporum*, dentre as quais *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), foi responsável pela redução dos plantios da variedade Gros Michel. Atualmente, com a presença da raça TR4 tropical de Foc, as variedades do grupo Cavendish que são resistentes a doença, vem tendo seu cultivo ameaçado em países vizinhos ao Brasil, como Peru, Venezuela e Colômbia. Foc coloniza as raízes das

bananeiras, bloqueando o seu sistema vascular, levando à morte progressiva da planta (PLOETZ, 2015).

Os prejuízos econômicos causados por *Fusarium* em diferentes culturas são imensos, incluindo as perdas de colheitas, a contaminação de grãos, o aumento dos custos com fungicidas e a necessidade de adoção de medidas fitossanitárias rigorosas (MILANESI et al., 2013). Além disso, o impacto ambiental do uso intensivo de fungicidas torna essencial a busca por alternativas sustentáveis. O manejo dessas doenças exige uma abordagem integrada, combinando diferentes métodos de controle, como o cultural (uso de rotação de culturas), o genético (uso de cultivares resistentes), o controle biológico (com microrganismos antagonistas, como *Trichoderma* e *Bacillus*) (MARTÍNEZ-SALGADO et al., 2021).

Diante da importância e da complexidade das doenças causadas por *Fusarium*, fungo habitante de solo, o seu manejo eficiente desses fungos continua sendo um grande desafio para a agricultura. A adoção de estratégias sustentáveis e o investimento em pesquisa são fundamentais para minimizar as perdas e garantir a segurança alimentar global. Nesse contexto, investigações iniciais têm demonstrado que a espécie *Piper divaricatum* apresenta resistência e tolerância a fungos do gênero *Fusarium*. Contudo, investigações fitoquímicas dessa espécie, que podem elucidar os metabólitos responsáveis pela atividade evidenciada, ainda precisam ser exploradas, de modo a contribuir para o aprimoramento das estratégias de controle da doença (CORPES et al., 2016).

A forte atividade antifúngica *in vitro* de alguns compostos isolados de *P. divaricatum* foi confirmada por Meireles (2014), que relatou uma inibição de até 93,3% do crescimento micelial de *Fusarium*, atribuindo esse efeito principalmente ao eugenol. Corpes et al. (2016) destacaram a relevância do estudo dessa espécie para o manejo da fusariose na pimenteira-do-reino, ressaltando, contudo, a necessidade de compreender melhor os mecanismos e metabólitos secundários envolvidos na resistência ou tolerância a esse fitopatógeno em espécies vegetais.

3.4.1 *Fusarium kalimantanense*

Pesquisas baseadas em marcadores morfológicos e patogênicos têm evidenciado que o mal do Panamá ou a murcha de *Fusarium* em variedades de bananeira no Brasil está etiologicamente vinculada a espécie *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)

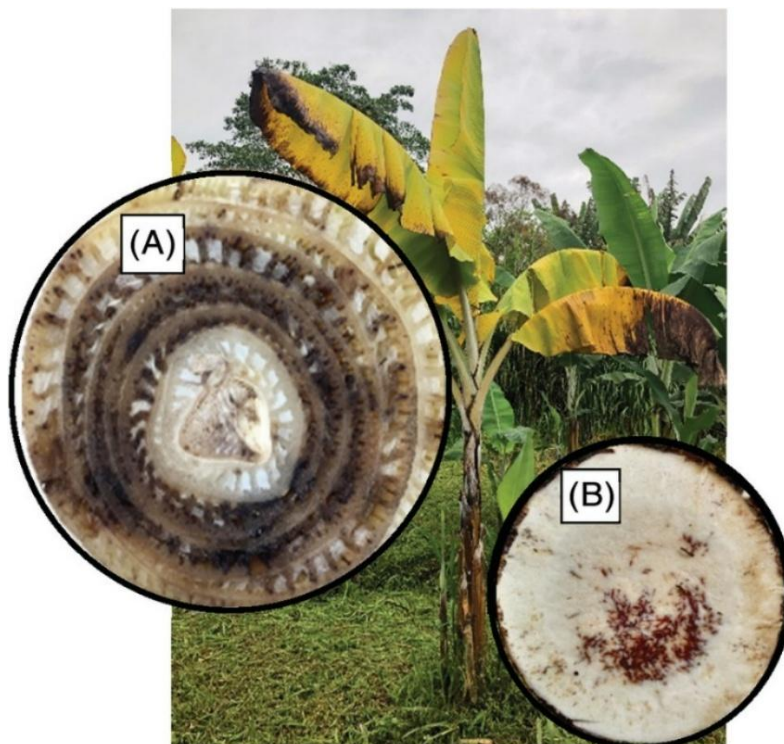
(PLOETZ, 2015). Já os estudos filogenéticos demonstram a existência de diferentes linhagens genéticas dentro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), levando à sua classificação como parte do complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (Foc) (MARYANI et al., 2019).

Nesse contexto, uma das culturas agrícolas mais prejudicadas pelos fitopatógenos desse complexo Foc é a banana. Nos bananais, o Foc é responsável por causar a doença denominada mal do Panamá, que provoca a murcha das plantas e pode dizimar plantações inteiras (PLOETZ, 2021). A banana (*Musa* spp.) é a segunda fruta mais consumida no Brasil, por isso a bananicultura desempenha um papel crucial na economia agrícola do país. O Brasil é quarto maior produtor mundial de bananas, com uma produção de aproximadamente 7 milhões de toneladas em 2024 (IBGE, 2024).

No Brasil, *F. kalimantanense* foi associado à podridão em frutos de melão, destacando-se como uma importante doença pós-colheita para muitos produtores brasileiros (ARAUJO et al., 2021). Outros estudos mostram que esse fitopatógeno atua como agente causador da murcha de *Fusarium* em bananeiras cv. Maçã no Brasil, além de estar associado aos pseudocauls de *Musa acuminata* var. Pisang Ambon. Os sintomas causados por esse patógeno incluem amarelecimento das folhas mais velhas, seguido de murcha e morte da planta (SANTOS et al., 2023a).

A Figura 4 ilustra os sintomas típicos da murcha de *Fusarium* em plantas de bananeira. Observa-se na imagem central a clorose e necrose foliar, sinais característicos da doença em campo, que refletem a disfunção vascular ocasionada pelo *Fusarium*. O detalhe (A) evidencia a descoloração escurecida e os anéis de necrose nos feixes vasculares do pseudocaul, sintoma clássico associado ao bloqueio do transporte de água e nutrientes. Já no detalhe (B), o córtex do rizoma apresenta manchas marrons-avermelhadas, resultantes da colonização fúngica e necrose vascular. Tais alterações estruturais internas confirmam a presença de *Fusarium* e são utilizadas como critério diagnóstico em experimentos de inoculação e avaliação da severidade da doença (SÁNCHEZ et al., 2021).

Figura 4: Sintomas externos e internos da murcha de *Fusarium* em bananeira: necrose vascular no pseudocaule (A) e no rizoma (B)



Fonte: Adaptado de Sánchez et al. (2021).

Dessa forma, estudos recentes investigam estratégias de manejo alternativo da enfermidade, como o uso do controle biológico. Por exemplo, os compostos orgânicos voláteis produzidos por cepas de *Bacillus* demonstraram atividade antagonista contra *F. kalimantanense*, inibindo o crescimento micelial do fungo e causando danos às suas estruturas vegetativas e reprodutivas (SANTOS et al., 2023b). Nesse estudo realizado por Santos et al. (2023b), os principais compostos orgânicos voláteis (COVs) responsáveis pela inibição do patógeno foram os ácidos orgânicos de cadeia curta. Alguns compostos emitidos pela cepa bacteriana LPPC170, como o ácido butanóico, o ácido isovalérico e o ácido valérico, assim como os compostos liberados durante o co-cultivo, como o ácido acético, podem ser determinantes para a inibição do patógeno.

Essas descobertas destacam a relevância da busca por compostos orgânicos com potencial de inibição do crescimento micelial do fitopatógeno *F. kalimantanense*, visando estratégias eficazes de manejo para reduzir perdas agrícolas e fortalecer a segurança alimentar.

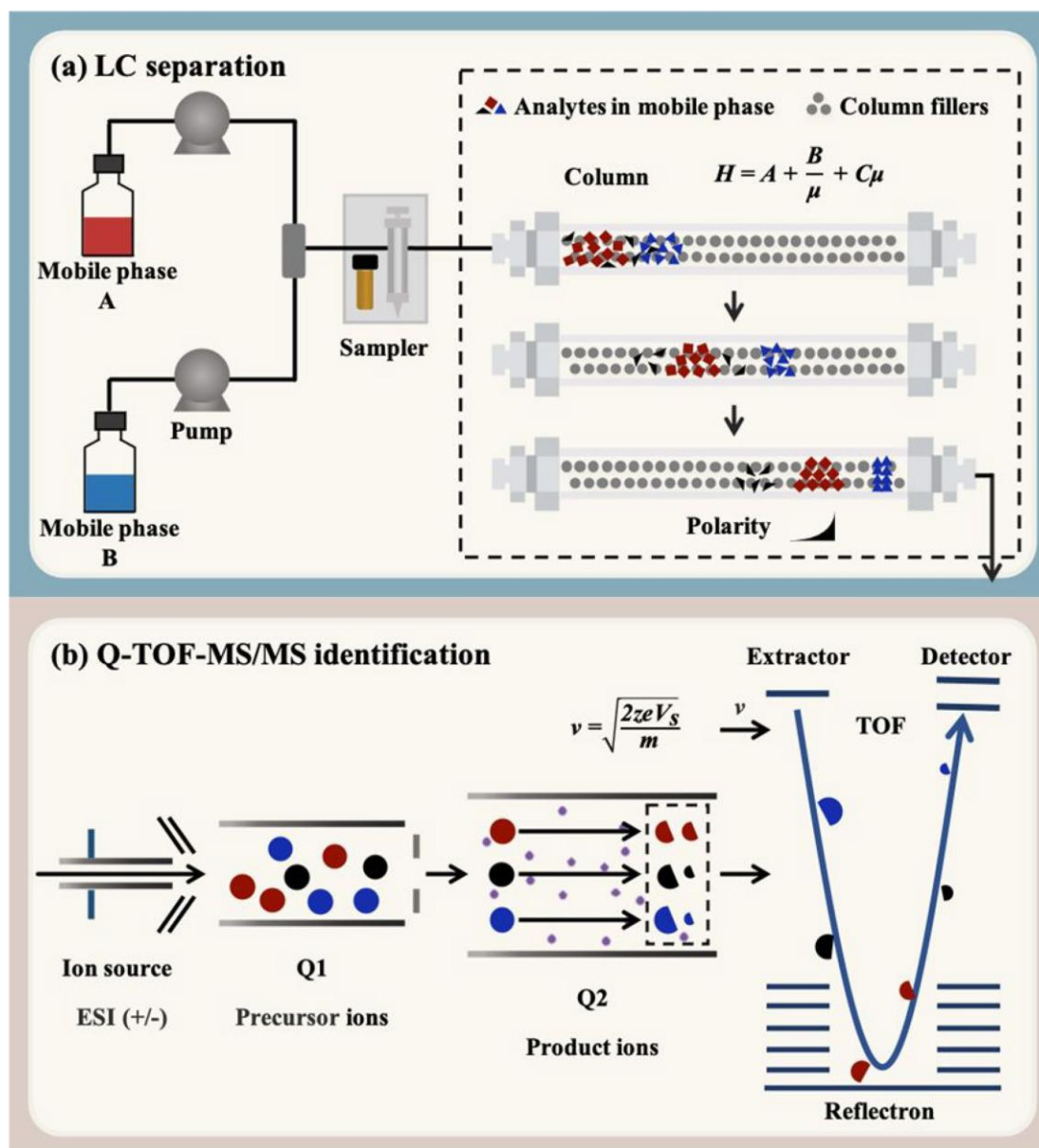
3.5. Técnicas analíticas de caracterização química de compostos orgânicos

A caracterização química é uma etapa essencial na pesquisa com produtos naturais, especialmente quando se busca compreender a estrutura de metabólitos secundários com potencial atividade biológica. Entre as técnicas mais empregadas para essa finalidade, destacam-se a Cromatografia Líquida de Ultraeficiência acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução (UHPLC-HRMS).

3.5.1 Cromatografia líquida de ultraeficiência acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-HRMS)

A figura 5 representa um fluxo de análise por UHPLC-QTOF/MS. O processo começa com a injeção das amostras no sistema UHPLC-QTOF, que combina a separação cromatográfica eficiente com a aquisição de massas exatas em alta resolução. A cromatografia líquida de ultraeficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (UHPLC-HRMS, *Ultra Performance Liquid Chromatography coupled to High Resolution Mass Spectrometry*) é uma técnica instrumental que alia a elevada eficiência da separação cromatográfica à sensibilidade e seletividade da espectrometria de massas, consolidando-se como uma das metodologias mais poderosas no estudo de metabólitos em matrizes complexas.

Figura 5: Esquema de um sistema UHPLC-QTOF/MS



Fonte: Yang et al, 2023.

Na etapa cromatográfica, a UHPLC emprega colunas empacotadas com partículas inferiores a 2 μm , o que proporciona maior eficiência, resolução e rapidez em relação à HPLC convencional. Esse avanço permite a separação precisa de misturas complexas em intervalos de tempo reduzidos, mantendo excelente reprodutibilidade analítica (Zhao et al., 2018). Após a separação, os compostos eluídos são direcionados ao espectrômetro de massas, no qual são analisados em alta resolução.

A análise em *tandem* (MS/MS) envolve duas etapas principais: (i) a seleção de íons precursores formados na primeira etapa de ionização e (ii) a fragmentação controlada

desses íons por colisão com um gás inerte, geralmente nitrogênio, em um processo denominado *Collision-Induced Dissociation* (CID). Os fragmentos gerados produzem espectros característicos que fornecem informações estruturais fundamentais, permitindo inferir subestruturas químicas e identificar grupos funcionais da molécula (ZHAO et al., 2018). A comparação desses espectros de fragmentação com bancos de dados espectrais consolidados, como GNPS e MassBank, possibilita a identificação rápida e precisa de compostos previamente descritos, além do reconhecimento de análogos estruturais e metabólitos relacionados (HORAI et al., 2010; WANG et al., 2016).

Nesse contexto, a espectrometria de massas de alta resolução (HRMS, *High Resolution Mass Spectrometry*) exerce papel central na caracterização de compostos químicos. Sua principal vantagem é a capacidade de medir a massa exata dos íons detectados com precisão da ordem de poucos ppm, o que é essencial para a determinação confiável da fórmula molecular dos analitos (DEHOOG; SZYMCZAK; BRIGGS, 2011). Dentre os diferentes analisadores empregados em HRMS, destaca-se o de tempo de voo (TOF, *Time-of-Flight*), capaz de registrar simultaneamente um amplo intervalo de massas com alta sensibilidade e velocidade. O princípio de funcionamento baseia-se no tempo de percurso dos íons acelerados em um tubo de voo: íons mais leves chegam mais rapidamente ao detector, enquanto íons mais pesados são registrados mais tardiamente, permitindo o cálculo exato da razão m/z (HOFMANN et al., 2015).

A combinação entre resolução de massa e exatidão possibilita estabelecer, de forma inequívoca, fórmulas moleculares candidatas para cada íon observado. Esse processo é fortalecido por regras de química elementar, como razões de insaturação, padrões isotópicos e restrições de valência, que permitem excluir fórmulas inviáveis. O uso do TOF em análises MS/MS acrescenta uma dimensão adicional: enquanto a massa exata delimita as fórmulas moleculares possíveis, o padrão de fragmentação fornece informações estruturais que contribuem para a elucidação da arquitetura química das moléculas (COOPER; WILLIAMS, 2019). Assim, a integração entre UHPLC e HRMS-TOF resulta em uma ferramenta analítica robusta, apta a lidar com matrizes complexas e a oferecer tanto separação cromatográfica de alta eficiência quanto identificação molecular precisa, sendo amplamente aplicado em metabolômica, descoberta de produtos naturais e anotação de metabólitos inéditos.

Além desses aspectos, destaca-se a contribuição da UHPLC-HRMS para a desreplcação e anotação de metabólitos quando associada a informações

quimiotaxonômicas. Segundo Wolfender et al. (2015), a determinação da massa exata e o uso de espectros de fragmentação de alta resolução permitem propor fórmulas moleculares confiáveis e, em muitos casos, distinguir compostos estruturalmente semelhantes. A integração de dados quimiotaxonômicos, por sua vez, aumenta a robustez do processo de identificação, uma vez que muitos metabólitos secundários apresentam distribuição característica em determinados gêneros ou famílias. Dessa forma, a combinação entre UHPLC-HRMS, massas exatas e informações taxonômicas constitui uma estratégia poderosa para a caracterização de metabólitos em extratos naturais complexos, acelerando a identificação de compostos bioativos e ampliando a confiabilidade dos estudos em química de produtos naturais.

REFERÊNCIAS

- AL-SAYED, E.; GAD, H. A.; EL-KERSH, D. M. Characterization of four *Piper* essential oils (GC/MS and ATR-IR) coupled to chemometrics and their anti-*Helicobacter pylori* activity. **ACS Omega**, v. 6, n. 39, p. 25652-25663, 2022.
- ANDRADE, E. H. A.; GUIMARAES, E. F.; MAIA, J. G. S. **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia**. 22. ed. Belém, PA: FEQ/UFPA, 2009.
- ARAUJO, M. B. M. et al. *Fusarium* rot of melon is caused by several *Fusarium* species. **Plant Pathology**, v. 70, n. 3, p. 712-721, 2021.
- AVELLA, E.; DÍAZ, P. P.; DE DÍAZ, A. M. P. Constituents from *Piper divaricatum*. **Planta medica**, v. 60, n. 02, p. 195-195, 1994.
- AYRES, V. F. S. et al. Chemical composition and insecticidal activity of the essential oils of *Piper marginatum*, *Piper callosum* and *Vitex agnus-castus*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 3, p. 1-11, 2021.
- BASTOS, M.; HOULY, R.; CONSERVA, L.; ANDRADE, V.; ROCHA, E.; LEMOS, R. Antimicrobial and wound healing activities of *Piper hayneanum*. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 3, p. 213-222, 2011.
- BATISTA, A. N. L. et al. Biosynthetic insights into p-hydroxybenzoic acid-derived benzopyrans in *Piper gaudichaudianum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 1105-1114, 2018.
- BEHL, T. et al. Exploring the multifocal role of phytoconstituents as antidepressants. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 123, 110693, p. 1-14, 2023.
- BHATTACHARYA, E. et al. Fractionation based evaluation of phytochemical constituents, antimicrobial and allelopathic potential of *Piper chaba* Hunter. stem and identification of “Pipericyclobutanamide-A” as a strong allelopathic agent. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, 102356, p. 1-10, 2022.
- CALVÁRIO-GÓMEZ, V.; RIOS, M. Y. 1H e 13C data, occurrence, biosynthesis, and biological activity of *Piper* amides. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 57, n.12, 2019.
- CÁRDENAS-LAVERDE, D.; BARBOSA-CORNELIO, R.; COY-BARRERA, E. Antifungal activity against *Fusarium oxysporum* of botanical end-products: an integration of chemical composition and antifungal activity datasets to identify antifungal bioactives. **Plants**, v. 10, n. 12, p. 2563, 2021.
- CARNEIRO, J. N. P. Et al. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the *Piper mikanianum* (Kunth) Steud. essential oil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, 110987, p. 1-8, 2020.

CARSONO, N. et al. A review of bioactive compounds and antioxidant activity properties of piper species. **Molecules**, v. 27, n. 19, p. 6774, 2022.

CARVALHO, A. M. S. Caracterização morfológica de isolados de *Fusarium oxysporum* associados ao mal do Panamá e inibição in vitro do crescimento micelial por isolados de *Bacillus*. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

CASTELLANOS, M. L. et al. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) and pepper (*Piper nigrum* L.) essential oils and functional extracts against *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus niger* in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **International Journal of Microbiology**, v. 2020, n. 1, p. 1-8, 2020.

CASTRO, S. M. **Avaliação do potencial antibacteriano dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* e *Piper divaricatum***. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Faculdade de Química, Campus Universitário de Ananindeua, Universidade Federal do Pará, Ananindeua, 2022.

CHANCHAL, C.; THONGAM, B.; HANDIQUE, P. J. Morphological diversity and characterization of some of the wild *Piper* species of North East India. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 62, p. 303-313, 2015.

CHAVES, J. **Contribuição ao estudo químico de *Piper divaricatum* e *Schinus terebinthifolius***. 2008. 118 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, CE.

CHOY, K. W.; AHMAD, F. B.; ZAMAKSHSHARI, N. H. Chemical constituents and biological activities of *Piper* as anticancer agents: A review. **Biochemistry & Biodiversity**, v. 20, n. 9, 2023.

CLARIDGE, T. D. W. **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2016. (Tetrahedron Organic Chemistry Series, v. 27).

COLORADO, B. E. J.; SALGADO, B. A.; HERRERA, F. M. P. Antifungal activity of four *Piper* genus oils against postharvest fungal *Fusarium* spp. isolated from *Mangifera indica* L. and *Persea americana* Mill. Fruits. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 223, 120170, p. 1-12, 2025.

CORPES, R. S. et al. **Influência dos reguladores de crescimento na indução de calos primários em *Piper divaricatum* G. Mayer**. In: SIMPÓSIO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS NA AMAZÔNIA, 5., 2016, Belém, PA. Anais. Belém, PA: UEPA, 2016. v. 2, p. 545-551.

COTINGUIBA, F. et al. Participação dos aminoácidos L-fenilalanina e L-lisina na biossíntese de piperamidas trans e cis em duas espécies de *Piper*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e268505, 2023.

COTINGUIBA, F. et al. Piperamides and their derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 18, p. 703-711, 2009.

CROUS, P. W. et al. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in Mycology**, v. 98, p. 100116, 2021.

DA SILVA, J. K. et al. Essential oils from neotropical *Piper* species and their biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 2571, 2017.

DA SILVA, J. K. R. et al. Antifungal activity and computational study of constituents from *Piper divaricatum* essential oil against *Fusarium* infection in black pepper. **Molecules**, v. 19, n. 11, p. 17926-17942, 2014.

DA SILVA, R. V. et al. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 59, n. 5, p. 521-527, 2002.

DE ALMEIDA, R. R. P. et al. Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of its dillapiole-rich essential oil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, n. 9, p. 1427-1434, 2009.

DE OLIVEIRA PEREIRA, F.; MENDES, J. M.; DE OLIVEIRA LIMA, E. Investigation on mechanism of antifungal activity of eugenol against *Trichophyton rubrum*. **Medical Mycology**, v. 51, n. 5, p. 507-513, 2013.

DE ROSA, S.; DE GIULIO, A.; IODICE, C. Biological effects of prenylated hydroquinones: structure-activity relationship studies in antimicrobial, brine shrimp, and fish lethality assays. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 12, p. 1711-1716, 1994.

DEL PONTE, E. M. et al. *Fusarium graminearum* species complex: A bibliographic analysis and web-accessible database for global mapping of species and trichothecene toxin chemotypes. **Phytopathology**, v. 112, n. 4, p. 741-751, 2022.

DIGNANI, D. F. **Peperomia blanda (Piperaceae): avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante**. 2009. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP, 2009.

DURANT-ARCHIBOLD, A. A.; SANTANA, A. I.; GUPTA, M. P. Ethnomedical uses and pharmacological activities of most prevalent species of genus *Piper* in Panama: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 217, p. 63-82, 2018.

DUROFIL, A. et al. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. **Parasite**, v. 28, n. 42, p. 1-19, 2021.

FAN, D. et al. Lignans from the genus *Piper* L. and their pharmacological activities: An updated review. **Fitoterapia**, v. 165, p. 105403, 2023.

FENG, G. et al. Herbicidal activities of compounds isolated from the medicinal plant *Piper sarmentosum*. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 41-47, 2019.

FREIRE, T. C. **Compostos bioativos de espécies do gênero Piper no controle de fitopatógenos**. 2022. 95 f. Tese de Doutorado (Biodiversidade e Conservação). Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2022.

FREITAS, J. A. et al. In vitro bioassay guided anti-dermatophyte and cytotoxic activities from *Piper umbellatum* L. Miq. led to 4-nerolidylcatechol. **Natural Product Research**, v. 34, n. 23, p. 3423-3427, 2020.

GEISER, D. M. et al. Phylogenomic analysis of a 55.1-kb 19-gene dataset resolves a monophyletic *Fusarium* that includes the *Fusarium solani* species complex. **Phytopathology**, v. 111, n. 7, p. 1064-1079, 2021.

GOU, G.; BAO, W.; LI, J. Structural diversity, biological activities and biosynthetic pathways of [2+2] and [4+2] amide alkaloid dimers from Piperaceae: An updated review. **Fitoterapia**, v. 180, 106305, p. 1-18, 2025.

GUIMARÃES, E. F.; MEDEIROS, E. V. S. S.; QUEIROZ, G. A. *Piper* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12772>>. Acesso em: 31 jan. 2025.

HAI, C. T. et al. Anticancer activity of *Piper chaudocanum* essential oils and essential oil-mediated silver nanoparticles. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 108, 104621, p. 1-6, 2023.

HAN, J.; ZHANG, S.; HE, J.; LI, T. Piperine: Chemistry and Biology. **Toxins**, v. 15, n. 12, p.1-30, 2023.

HASHIM, N. A. B. **Phytochemicals and bioactivities of *Piper maingayi* HK. F., *P. magnibaccum* C.DC and *P. caninum blume* species**. 2018. 49 f. Tese (Doutorado em Química), University Teknologi, Malaysia, 2018.

HORAI, H. et al. MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 45, n. 7, p. 703-714, 2010.

IBGE. SIDRA CENSO, 2024. <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Janeiro de 2025.

KARLSSON, I.; PERSSON, P.; FRIBERG, H. *Fusarium* head blight from a microbiome perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 1-17, 2021.

KATO, M. J.; FURLAN, M. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 4, p. 529-538, 2007.

LERTNITIKUL, N. et al., Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of amides and aristolactams from *Piper wallichii* (Miq.) Hand. Mazz. Stems. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 13, n. 2, p. 94-104, 2023.

LIMA, C. N. F. et al. Systematic review: Medicinal use and scientific elucidation of the *Piper* genus for the treatment of symptoms and inflammatory diseases. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 14, n. 2, p. 62-72, 2020.

- LI et al., Qualitative and quantitative analysis of an alkaloid fraction from *Piperlongum* L. using ultra-high performance liquid chromatography–diodearray detector–electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, V. 109, pp. 28-35, 2015.
- LIMA, M. V. L. Avaliação da ação de extratos, frações e óleo volátil de *Piper aduncum* com potencial para o controle de fitopatógenos. p 24, Relatório, Manaus, Universidade Federal do Amazonas, 2009.
- LUCA, S. V. et al. LC-HRMS/MS-based phytochemical profiling of *Piper* spices: Global association of piperamides with endocannabinoid system modulation. **Food Research International**, v. 141, p. 110123, 2021.
- MA, Li-Jun et al. *Fusarium* pathogenomics. **Annual Review of Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 399-416, 2013.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 595–622, 2009.
- MAIA, J. G. S. et al. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 13, n. 4, p. 269–272, 1998.
- MARQUES, J. V. et al. Antifungal amides from *Piper scutifolium* and *Piper hoffmanseggianum*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 12, p. 2036-2039, 2007.
- MARTÍNEZ-SALGADO, S. J. et al. Control *in vitro* de *Fusarium* sp. asociado al cultivo de cebolla mediante *Trichoderma harzianum*. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 39, n. 2, p. 314-328, 2021.
- MARYANI, N. et al. Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* in the Indonesian centre of origin. **Studies in Mycology**, v. 92, n. 1, p. 155-194, 2019.
- MEIRELES, E. das N. **Influência dos metabólitos secundários de *Piper divaricatum* da região amazônica no controle do *Fusarium solani* f. sp. *piperis* causador da fusariose em pimenta do reino**. 2014. 42 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, PA.
- MENEZES, R. P. B. et al. Machine learning analysis of essential oils from cuban plants: potential activity against protozoa parasites. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1-15, 2022.
- MENGARDA, A. C. et al. Antiparasitic activity of pipartine (piperlongumine) in a mouse model of schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 205, 105350, p. 1-5, 2020.
- MGBEAHURUIKE, E. E. et al. Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper* species. **South African Journal of Botany**, v. 112, p. 54–69, 2017.
- MILANESI, P. M. et al. Biocontrole de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 347-356, 2013.

MORIKAWA, T. et al. New amides and gastroprotective constituents from the fruit of *Piper chaba*. **Planta Medica**, v. 70, n. 2, p. 152-159, 2004.

MOTHANA, R. et al. Assessment of antinociceptive, antipyretic and antimicrobial activity of *Piper cubeba* L. essential oil in animal models. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 2, p. 671-677, 2016.

MUHARINI, R. et al. New amides from the fruits of *Piper retrofractum*. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 19, p. 2521-2525, 2015.

MULLALLY, M. et al. Anxiolytic activity and active principles of *Piper amalago* (Piperaceae), a medicinal plant used by the Q'eqchi' Maya to treat susto, a culture-bound illness. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 185, p. 147-154, 2016.

MUNKVOLD, G. P.; PROCTOR, R. H.; MORETTI, A. Mycotoxin production in *Fusarium* according to contemporary species concepts. **Annual Review of Phytopathology**, v. 59, n. 1, p. 373-402, 2021.

NASCIMENTO, J. C. do et al. Occurrence, biological activities and ¹³C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 35, p. 2288-2311, 2012.

NAVICKIENE, H. M. D. et al. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 621-626, 2000.

NAYAKA, N. M. D. M. W. et al. *Piper betle* (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. **Molecules**, v. 26, n. 8, p. 2321, 2021.

OKUNGBOWA, F. I.; SHITTU, H. O. *Fusarium* wilts: An overview. **Environmental Research Journal**, v. 6, n. 2, p. 83-102, 2012.

OLIVEIRA, B. S. et al. Pimenta-do-reino: importância da defesa fitossanitária para a sustentabilidade da atividade na região norte do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 1, n. 1, p. 84-88 2011.

OLIVEIRA, J. S. de et al. Secondary metabolism and plant growth of *Piper divaricatum* (Piperaceae) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus supplementation. **Agronomy**, v. 12, n. 3, p. 596, 2022.

PARK, B. S.; LEE, S. E.; CHOI, W. S.; JEONG, C. Y.; SONG, C.; CHO, K. Y. Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperocetadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. **Crop Protection**, v. 21, n. 3, p. 249-251, 2002.

PARK, Il-K. Insecticidal activity of isobutylamides derived from *Piper nigrum* against adult of two mosquito species, *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti*. **Natural Product Research**, v. 26, n. 22, p. 2129-2131, 2012.

PARK, J. B. Caffeodymine from cocoa has COX inhibitory activity suppressing the expression of a platelet activation marker, P-Selectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 6, p. 2171–2175, 2007.

PARMAR, V. S. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. Tradução de: Introduction to spectroscopy. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PAZ, R. F.; GUIMARÃES, E. F.; RAMOS, C. S. The occurrence of phenylpropanoids in the saps of six *Piper* species (Piperaceae) from Brazil. **Gayana Botánica**, v. 74, n. 1, p. 236–239, 2017.

PEI, H. et al. Alkaloids from black pepper (*Piper nigrum* L.) exhibit anti-Inflammatory activity in murine macrophages by inhibiting activation of NF- κ B pathway. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 8, p. 2406-2417, 2020.

PEIXOTO, J. F. et al. Potential of *Piper* spp. as a source of new compounds for the leishmaniasis treatment. **Parasitology Research**, v. 120, n. 8, p. 2731-2747, 2021.

PELAYO, V. R. T et al. A phytochemical and ethnopharmacological review of the genus *Piper*: As a potent bio-insecticide. **Research & Reviews. Research Journal of Biology**, v. 4, n. 2, p. 51104-114, 2016.

PEREIRA, F. G. et al. Composition of the essential oils from leaves of *Piper lepturum* Kunth (C.DC.) var. *lepturum* and *Piper lepturum* var. *angustifolium* (Miq.) Yunck. from Brazil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 88-93, 2016.

PEREIRA-FILHO, A. A. et al. Larvicidal activity of essential oils from *Piper* species against strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) resistant to pyrethroids. **Frontiers in Plant Science**, v. 22, p. 1-13, 2021.

PHONG, N. V. et al. Inhibition of β -glucuronidase by amide alkaloids isolated from the fruits of *Piper longum* L.: Enzyme kinetics, molecular docking, and molecular dynamics simulations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1329, p. 1-18, 2025.

PITON, L. P. et al. Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. **Ciência Rural**, v. 44, n 11, p. 1915-1920, 2014.

PLOETZ, R. C. *Fusarium* wilt of banana. **Phytopathology**, v. 105, n. 12, p. 1512-1521, 2015.

PLOETZ, Randy C. Gone bananas? Current and future impact of fusarium wilt on production. In: **Plant diseases and food security in the 21st century**. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 21-32.

PODGÓRSKA-KRYSZCZUK, I.; SOLARSKA, E.; KORDOWSKA-WIATER, M. Biological control of *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* and *Fusarium poae* by antagonistic yeasts. **Pathogens**, v. 11, n. 1, p. 86, 2022.

POTZERNHEIM, M. et al. Essential oil of *Piper xylosteoides* (Kunth) Steud. from Federal District, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 5, p. 523-524, 2006.

PRASETYA, F. et al. Novel amides derivative with antimicrobial activity of *Piper betle* var. *nigra* leaves from Indonesia. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 1-8, 2021.

REGASINI, L. O. et al. Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae) against opportunistic yeasts. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 12, 2009.

RIBEIRO, A. S. et al. Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrinxã. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 1, p. 1-7, 2016.

RUIZ-VÁSQUEZ, L. et al. Antifungal and herbicidal potential of *Piper* essential oils from the Peruvian Amazonia. **Plants**, v. 11, n. 14, p. 1-13, 2022.

SALEHI, B. et al. Review piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. **Molecules**, [s.l.], v. 24, n. 7, p. 1364-1368, 2019.

SAMIKSHA; KUMAR, S. **Molecular taxonomy, diversity, and potential applications of genus *Fusarium***. In: Industrially Important Fungi for Sustainable Development: Volume 1: Biodiversity and Ecological Perspectives. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 277-293.

SÁNCHEZ, C. et al. Can the banana weevil *Cosmopolites sordidus* be a vector of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 1? Unravelling the internal and external acquisition of effective inoculum. **Pest management science**, v. 77, n. 6, p. 3002-3012, 2021.

SANTOS, J. E. A. et al. First report of *Fusarium kalimantanense* causing *Fusarium* wilt on banana tree in Brazil. **Plant Disease**, v. 107, n. 1, p. 227, 2023a.

SANTOS, João E. A. et al. Antagonism of volatile organic compounds of the *Bacillus* sp. against *Fusarium kalimantanense*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 2, p. 60, 2023b.

SHAH, F. M. et al. Insecticidal and repellent activity of *Piper crassinervium* essential oil and its pure compounds against imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae). **Molecules**, v. 29, n. 22, p. 1-12, 2024.

SHAN, M. I. et al. Essential oils as biopesticides in pest management: safer alternatives to synthetic pesticides. **European Chemical Bulletin**, v. 13, n. 1, p. 246-267, 2024.

SILVA, D. M. M.H; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 143-145, 2007.

SILVA, J. K. R. et al. Essential oil composition, antioxidant capacity and antifungal activity of *Piper divaricatum*. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 3, p. 477-480, 2010.

SILVA, J. K. et al. Essential oils from neotropical *Piper* species and their biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. 1-42, 2017.

SILVA, J. P. L. et al. Effect of eugenol exposure time and post-removal delay on the bond strength of a self-etching adhesive to dentin. **Operative Dentistry**, v. 36, n. 1, p. 66-71, 2011.

SILVA, M. A. et al. Chemical composition and biological activities of the leaf extract and essential oil from *Piper alatabaccum* (Piperaceae) fruits. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 163-185, 2020.

SOARES, K. D.; BORDIGNON, S. A. L.; APEL, M. A. Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Piper gaudichaudianum* and *Piper mikanianum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 297, 115533, p. 1-6, 2022.

SOUTO, R. N. P. et al. Insecticidal activity of *Piper* essential oils from the Amazon against the fire ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical entomology**, v. 41, p. 510-517, 2012.

SWAIN, S. S.; HUSSAIN, T.; PATI, S. Drug-lead anti-tuberculosis phytochemicals: A systematic review. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 20, p. 1832-1868, 2021.

TAKEARA, R. et al. Biological properties of essential oils from the *Piper* species of Brazil: A review. *Aromatic and Medicinal Plants—Back to Nature*. El-Shemy, H. (Ed.), InTech: Rijeka, Croatia, p. 81-93, 2017.

THE PLANT LIST. The Plant List is a working list of all known plant species. Version 1.1, released in September, 2013. Disponível em: <http://www.theplantlist.org>. Acesso em: 15 de janeiro de 2025.

TIWARI, A.; MAHADIK, K. R.; GABHE, S. Y. Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties. **Medicine in Drug Discovery**, v. 7, 100027, p. 1-21, 2020.

TORRES-CRUZ, Terry J. et al. FUSARIUM-ID v. 3.0: an updated, downloadable resource for *Fusarium* species identification. **Plant Disease**, v. 106, n. 6, p. 1610-1616, 2022.

WANG, M. et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 828-837, 2016.

WANG, Y. H. et al. Anticancer principles from medicinal *Piper* plants. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 4, n. 1, p. 8-16, 2014.

WANG, Y. et al. Comparative analysis of intracellular and *in vitro* antioxidant activities of essential oil from white and black pepper (*Piper nigrum* L.). **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 1-11, 2021.

WARE, Ismail et al. Comparative metabolite analysis of *Piper sarmentosum* organs approached by LC-MS-based metabolic profiling. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 14, n. 1, p. 30, 2024.

WOLFENDER, J.-L. et al. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. **Journal of Chromatography a**, v. 1382, p. 136-164, 2015.

WOLFF, T. et al. Piperamides from *Piper ottonoides* by NMR and GC-MS based mixture analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 11, p. 2321-2330, 2015.

XI, K.-Y. et al. Antifungal activity of ginger rhizome extract against *Fusarium solani*. **Horticulturae**, v. 8, n. 11, p. 983, 2022.

XIANG, C. P. et al. A survey of the chemical compounds of *Piper* spp. (Piperaceae) and their biological activities. **Natural Products Communications**, [s.l.], v. 11, n. 9, p. 1403-1408, 2016.

XIE, Z. et al. Alkaloids from *Piper nigrum* synergistically Enhanced the effect of paclitaxel against paclitaxel-resistant cervical cancer cells through the downregulation of Mcl-1. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 18, p. 5159-5168, 2019.

YANG, Z.-R. et al. UPLC-QTOF/MSE and bioassay are available approaches for identifying quality fluctuation of Xueshuantong lyophilized powder in clinic. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 633, 2018.

YANG, M. et al. LC-Q-TOF-MS/MS detection of food flavonoids: principle, methodology, and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 19, p. 3750-3770, 2023.

ZHAO, X. et al. Development and comparison of HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS methods for determining eight coccidiostats in beef. **Journal of Chromatography B**, v. 1087, p. 98-107, 2018.

ZHOU, L. et al. Antifungal activity and metabolomics analysis of *Piper sarmentosum* extracts against *Fusarium graminearum*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, (3), p. 27 – 43, 2023a.

ZHOU, L. et al. Antagonistic activity of oroxylin A against *Fusarium graminearum* and its inhibitory effect on zearalenone production. **Toxins**, v. 15, p. 535, 2023.

4. ARTIGO SUBMETIDO

Nome da Revista: Pest Management Science

I.F: 3.8

Qualis/CAPES: A1

Atividade antifúngica e perfil fitoquímico de extratos de *Piper divaricatum* contra
Fusarium kalimantanense

Título abreviado: Atividade antifúngica de extratos de *Piper divaricatum*

Luciano Ferreira de Freitas^a; Nádia Elígia Nunes Pinto Paracampo^b; Regimara Francisca
Bernardo da Silva Vieira^d; Stella Maria Nascimento Macêdo^c; Christiana de Fátima
Bruce da Silva^{a,c,d}; Cristiano Souza Lima^d; Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro^c; Kirley
Marques Canuto^{a,c}

^a*Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Ceará, Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, 60714-903, Fortaleza, Ceará, Brasil.*

^b*Embrapa Amazônia Oriental., Belém, Pará, Brasil.*

^c*Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, Fortaleza, 60511-110, Fortaleza, Ceará, Brasil.*

^d*Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil.*

† **Corresponding author:**

Kirley Marques Canuto

Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, 60511-110, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Resumo

CONTEXTO: *Piper divaricatum*, uma espécie amplamente distribuída na América Latina, pertence à família Piperaceae e é conhecida por seu rico óleo essencial e atividade antimicrobiana documentada. Apesar de sua relevância etnobotânica, poucos estudos abordaram o potencial antifúngico de diferentes partes da planta e seus perfis de metabólitos. Este estudo teve como objetivo caracterizar a composição química de extratos etanólicos de folhas, caules e raízes de *P. divaricatum* e avaliar sua atividade antifúngica contra *Fusarium kalimantanense*, um fitopatógeno emergente responsável pela doença de Panamá em plantações de banana.

RESULTADOS: A análise por UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS identificou 23 compostos, incluindo alquilamidas, fenóis, derivados de clorofila, lipídios e monoterpenos, com os extratos de raiz apresentando a maior diversidade química. Os ensaios de inibição do crescimento micelial revelaram que o extrato da raiz apresentou a atividade antifúngica mais forte, atingindo 83,7% de inibição a 2,0 mg/mL, sendo comparável ao fungicida de referência tiabendazol. Metabólitos-chave na raiz, como pelitorina, dihidropiperlonguminina, fagaramida, resveratrol e ácidos benzoicos prenilados (ácidos caldensínico e hidroxicaldensínico), são conhecidos por suas propriedades antimicrobianas e provavelmente são responsáveis pelos efeitos antifúngicos observados.

CONCLUSÃO: O estudo destaca o extrato da raiz de *P. divaricatum* como uma fonte natural promissora de compostos antifúngicos contra *F. kalimantanense*. Essas descobertas apoiam a aplicação potencial de metabólitos derivados de *Piper* na proteção sustentável de cultivos, contribuindo para o desenvolvimento de biopesticidas ecologicamente corretos e estratégias de manejo integrado para doenças fúngicas.

Palavras-chave: Atividade antifúngica; controle biológico; biopesticidas; piperamidas; mal-do-Panamá.

1 INTRODUÇÃO

A família Piperaceae compreende um grupo de plantas aromáticas amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo todo. Essa família inclui cinco gêneros com aproximadamente 2200 espécies reconhecidas, abrangendo ervas, lianas, arbustos e árvores. Dentre elas, o gênero *Piper* é o maior, com cerca de 700 espécies. Muitas dessas espécies são plantas medicinais nativas da América Latina, exibindo um amplo espectro de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, antitumorais, antidiarreicas, anti-inflamatórias, anti-hipertensivas, hepatoprotetoras, antimaláricas, analgésicas, antibacterianas e antifúngicas¹⁻³. Além de óleos voláteis complexos e uma grande variedade de metabólitos secundários com atividades inseticidas, acaricidas, repelentes e antialimentares relatadas, as espécies do gênero *Piper* têm atraído crescente interesse científico devido ao seu potencial antifúngico. Tais propriedades são particularmente relevantes no desenvolvimento de alternativas naturais para o controle de patógenos de plantas, incluindo fungos do gênero *Fusarium*⁴⁻⁹.

Os fungos patogênicos de plantas representam uma grande ameaça à segurança alimentar e à economia global, reduzindo anualmente tanto a produtividade quanto a qualidade de culturas essenciais. Entre eles, o gênero *Fusarium* se destaca como um dos grupos de fungos mais destrutivos, compreendendo pelo menos 300 espécies filogeneticamente identificadas. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) é um patógeno de plantas transmitido pelo solo que prospera em diversos ecossistemas em várias regiões geográficas. Foc pertence ao complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (Foc), no qual a espécie *Fusarium kalimantanense* representa um novo grupo dentro de Foc. Essa espécie infecta plantas em todos os estágios de crescimento, persiste por longos períodos em restos vegetais e é responsável pela murcha vascular e podridão radicular em inúmeros hospedeiros. Os sintomas da infecção incluem crescimento atrofiado, clorose foliar, murcha, descoloração vascular e, por fim, morte da planta¹⁰⁻¹³.

O controle químico de doenças de plantas causadas por fungos, embora eficaz na mitigação de efeitos negativos, nem sempre é ideal para aplicações em campo. O uso excessivo e inadequado de fungicidas sintéticos representa riscos significativos para a saúde humana e animal, bem como para o meio ambiente, suscitando preocupações globais. Conseqüentemente, extensas pesquisas têm sido conduzidas para desenvolver fungicidas ambientalmente seguros e facilmente biodegradáveis¹⁴.

Os produtos naturais são particularmente vantajosos por serem altamente específicos, atuando sobre um leque restrito de patógenos com modos de ação definidos.

Outras características benéficas incluem baixa toxicidade para microrganismos benéficos, persistência limitada no campo, tempos de degradação mais curtos e segurança geral para humanos e meio ambiente quando comparados a pesticidas químicos sintéticos convencionais¹⁵. Nesse contexto, materiais derivados de plantas, como extratos, óleos essenciais, gomas, resinas e metabólitos secundários isolados, demonstraram atividade biológica significativa contra patógenos fúngicos de plantas em estudos *in vitro* e *in vivo*. Esses produtos naturais funcionam como agentes fungicidas alternativos promissores, oferecendo alta aceitabilidade ecológica e riscos reduzidos para os ecossistemas¹⁵⁻¹⁸.

Piper divaricatum é conhecida por sua raiz aromática com um forte sabor semelhante ao do gengibre e é amplamente distribuída por toda a América Latina. Pertence ao gênero mais representativo da família Piperaceae, reconhecido por seu alto rendimento de óleo essencial e notáveis propriedades antifúngicas, antioxidantes e anti-inflamatórias. No entanto, poucos estudos exploraram o potencial biológico desta planta, com a maioria das pesquisas focando em seu óleo essencial. Investigações sobre o óleo essencial de *P. divaricatum* revelaram atividades anestésicas, biocidas (antialimentares e fitotóxicas), alelopáticas e antifúngicas. Além disso, vários compostos importantes identificados no óleo essencial desta espécie exibem atividade antioxidante e demonstraram inibir a acetilcolinesterase^{1-2, 19-20}.

Apesar das excelentes propriedades demonstradas pelo óleo essencial e seus constituintes em *P. divaricatum*, poucos estudos investigaram diferentes métodos de extração aplicados a várias partes da planta, a composição fitoquímica dos extratos resultantes e os compostos que podem apresentar atividades biológicas promissoras. Portanto, o presente estudo teve como objetivo obter extratos das raízes, caules e folhas de *P. divaricatum*, analisar sua composição química e avaliar sua atividade antifúngica contra o fitopatógeno *Fusarium kalimantanense*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes

Os reagentes utilizados foram acetonitrila (pureza $\geq 99,9\%$) obtida da Tedia (Fairfield, OH, EUA), metanol (pureza $\geq 99,9\%$) da Lichrosolv Merck (Darmstadt, Alemanha), água ultrapura de um sistema Milli-Q (São Paulo, Brasil) e etanol absoluto P.A. (pureza $\geq 99,5\%$) da Neon (Suzano, Brasil).

2.2 Material vegetal

O material botânico de *Piper divaricatum* foi coletado em novembro de 2023 em seu habitat natural nas instalações da Embrapa Amazônia Oriental (Belém, Pará, Brasil), nas seguintes coordenadas: 1°26'11,52" S e 48°26'35,50" O. A planta foi autenticada por um botânico e um espécime testemunho (n° 204450) foi depositado no Herbário Instituto Agrônômico do Norte (IAN) da Embrapa Amazônia Oriental.

As plantas foram separadas em três partes (folhas, caules e raízes), secas em estufa de circulação de ar a 45 °C por 10 dias e moídas em um moinho de facas tipo Willey equipado com uma peneira de aço inoxidável de 20 mesh (0,85 mm). As amostras em pó foram armazenadas em sacos de polietileno selados a 25 °C.

2.3 Preparação dos extratos

Os extratos foram preparados utilizando 13 g de cada parte da planta e 130 mL de etanol a 70% por maceração durante 7 dias em agitador orbital. Após esse período, o etanol foi removido por evaporação rotativa. A solução aquosa restante foi suplementada com 50 mL de água e particionada três vezes com porções de 30 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi combinada, tratada com sulfato de sódio anidro e seca sob pressão reduzida em um evaporador rotativo, resultando nas frações PDVR (raiz), PDVF (folha) e PDVC (caule).

2.4 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massa de Alta Resolução (UHPLC-HRMS)

A composição química dos extratos de *P. divaricatum* (folhas, caule e raízes) foi determinada por UHPLC-HRMS, com base no método previamente descrito por Lopes et al. (2018)²² com modificações. Aproximadamente 4 mg de extrato foram dissolvidos em 1 mL de metanol/água (50:50, v/v). A solução foi filtrada através de um filtro de PTFE

de 0,22 μm (Nova Analítica, São Paulo, Brasil), transferida para vials e analisadas.

As análises foram realizadas utilizando um sistema Acquity UHPLC (Waters) acoplado a um espectrômetro de massas de tempo de voo quadrupolo com ionização por *electrospray* (UHPLC-ESI-QTOF/MS, Waters). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Waters Acquity BEH C18 (150 mm \times 2,1 mm, 1,7 μm) a 50 °C. Uma alíquota de 5 μL de cada extrato foi eluída com uma fase móvel composta por água deionizada (A) e acetonitrila (B), ambas contendo 0,1% de ácido fórmico, sob o seguinte gradiente: 1–50% B (0–8 min), 98% B (8,1–12,0 min), 98% B (12,1–13,5 min), 1% B (13,6–15,0 min), a uma vazão de 0,5 mL.min⁻¹.

A ionização foi realizada no modo ESI positivo, com dados adquiridos na faixa de 110–1180 Da. Os parâmetros instrumentais otimizados foram os seguintes: tensão capilar de 3,2 kV, tensão do cone de 40 V, temperatura da fonte de 125 °C, temperatura de dessolvatação de 250 °C e fluxo de gás de dessolvatação de 600 L.h⁻¹. O sistema foi controlado pelo software MassLynx 2.0 (Waters Corporation). A caracterização dos compostos foi baseada em fórmulas moleculares geradas e analisadas pelo software MassLynx 4.2 (erro < 5 ppm), ajuste isotópico (i-fit), padrões de fragmentação de MS/MS e levantamentos quimiotaxonômicos para o gênero *Piper* utilizando o banco de dados SciFinder.

2.5 Coleta e identificação das cepas fúngicas

A cepa de *Fusarium kalimantanense* (LPPC130) utilizada neste estudo foi isolada de bananeiras (*Musa* spp.) que apresentavam sintomas de murcha de *Fusarium* ou mal-do-Panamá na Embrapa Roraima (02°45'26,89" N; 60°43'52,78" O), estado de Roraima, Brasil, em 2016. O acesso ao patrimônio genético foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A974700. A identificação taxonômica foi baseada em características morfológicas e moleculares, conforme descrito por Santos et al. (2023)²¹.

2.6 Ensaios de atividade antifúngica

A atividade antifúngica dos extratos de *Piper divaricatum* foi avaliada utilizando o método de inibição do crescimento micelial em meio sólido, conforme descrito por Mohammedi e Atik (2013)²⁴, com adaptações.

Inicialmente, os extratos brutos obtidos das folhas, caules e raízes foram ressuspensos em Dimetilsulfóxido (DMSO) para os ensaios biológicos. A cepa do fungo

fitopatogênico *Fusarium kalimantanense* foi cultivada em ágar dextrose de batata (BDA, Kasvi®) por seis dias a uma temperatura controlada de 25 ± 2 °C e um fotoperíodo de 12 horas.

Os bioensaios foram conduzidos em placas de cultura de 12 poços (Kasvi®), às quais foram adicionados os seguintes tratamentos: extratos brutos de folhas, caules e raízes nas concentrações de 0,05; 0,10; 0,50; 1,0; e 2,0 mg.mL⁻¹. Os extratos vegetais ressuspensos em DMSO foram incorporados ao meio de cultura líquido antes da sua solidificação.

Os controles utilizados foram DMSO (controle negativo), um fungicida comercial à base de tiabendazol (controle positivo) e meio com BDA puro com o fungo (controle de crescimento). Discos de micélio com 3 mm de diâmetro foram removidos da borda ativa das colônias de *F. kalimantanense* e inoculados no centro de cada poço contendo os diferentes tratamentos.

As placas foram incubadas sob as mesmas condições de temperatura e fotoperíodo, e o crescimento micelial foi medido diariamente (a cada 24 horas) em milímetros usando um paquímetro digital até que o controle de crescimento atingisse o diâmetro total da placa.

Cada tratamento foi realizado com três repetições. A eficácia antifúngica foi expressa como a porcentagem média de inibição do crescimento micelial (\pm desvio padrão), calculada em relação ao controle de crescimento.

A eficácia *in vitro* dos tratamentos fungicidas foi determinada por meio do cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial. O cálculo foi realizado utilizando a fórmula:

$$\% \text{ de Inibição} = [(C - T) / C] \times 100$$

onde 'C' representa a média da área da colônia fúngica no tratamento controle (sem fungicida) e 'T' representa a média da área da colônia no tratamento correspondente com o extrato. A inibição foi avaliada após um período de incubação de dois dias, permitindo a quantificação do efeito de cada concentração do produto sobre o isolado fúngico.

2.7 Análises estatística

Os dados de inibição do crescimento micelial foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as diferenças entre as médias dos tratamentos foram determinadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, com nível de significância de 5% ($p <$

0,05). Todas as análises estatísticas e representações gráficas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism (versão 10.6.1, GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

3. RESULTADOS

3.1 Perfil metabolômico e identificação de compostos em *Piper divaricatum* via UHPLC-HRMS

Os cromatogramas UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS (**Figura 1**) dos extratos de *P. divaricatum* exibiram 23 picos, com 21 compostos caracterizados com base em fórmulas moleculares e fragmentos MS/MS consistentes com registros anteriores em espécies do gênero *Piper*. A análise metabolômica revelou uma gama diversificada de metabólitos secundários, compreendendo dez alquilamidas (**2, 3, 5, 8, 11, 14, 15, 17, 19 e 23**), quatro compostos fenólicos (**4, 6, 12 e 13**), quatro derivados de clorofila (**18, 20-22**), um glicerídio (**7**), um monoterpenoide (**1**), um éster (**10**), além de dois compostos desconhecidos (**Tabela 1**).

Figura 1. Cromatograma UPLC-ESI-QTOF-MS/MS de extratos de diferentes partes de *Piper divaricatum*. a) Raiz; b) Caule; c) Folhas

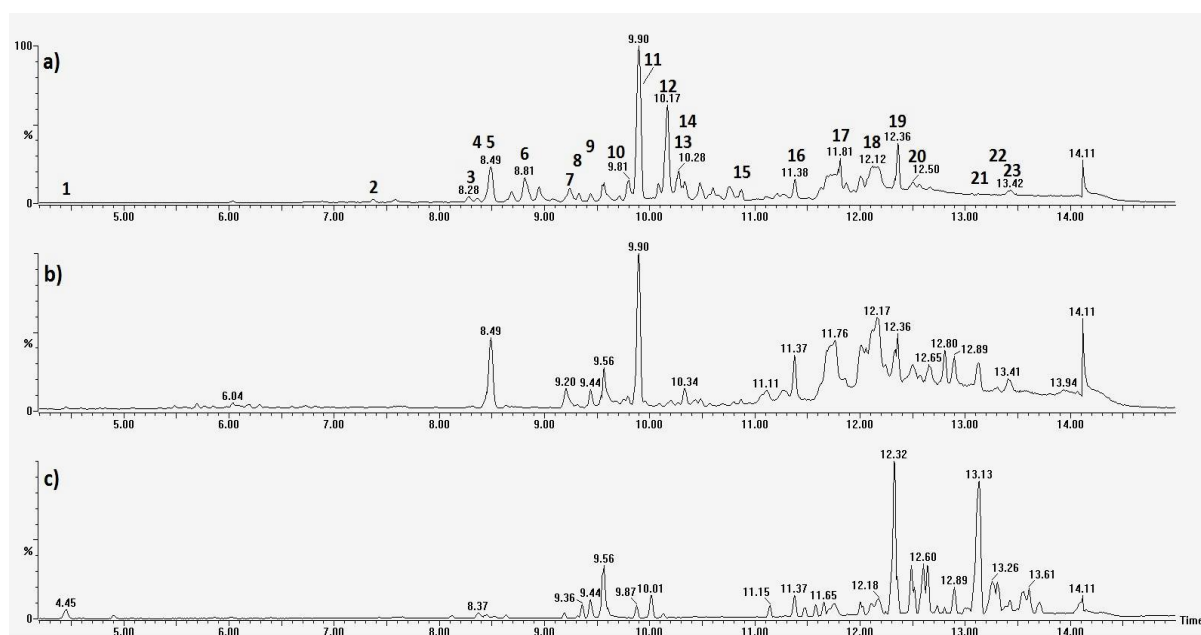


Tabela 1: Caracterização química dos extratos da raiz (R), caule (C) e folhas (F) de *Piper divaricatum* com base em análises UPLC-HRMS realizadas no modo de ionização por eletrospray positivo

Pico	TR (min)	[M + H] ⁺ Obs. m/z	[M + H] ⁺ Cal. m/z	Fragmentos MS ² m/z	Fórmula Molecular	Erro (ppm)	Composto	Cl*	R ¹	C ²	F ³	Ref.
1	4.45	197,1184	197,1178	179, 161, 135, 133, 107	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	3,0	Loliolida	2	-	-	x	Luna et al. 2024
2	7.37	248,1293	248,1287	175, 145	C ₁₄ H ₁₇ NO ₃	2,4	Fagaramida	2	x	-	-	Jayaprakash et al, 2022
3	8.28	276,1609	276,1605	173, 145, 135	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	3,3	Dihidropiperlonguminina	2	x	-	-	Vargas-Huertas et al., 2023
4	8.37	301,0720	301,0726	286	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	2,7	Éter 4'-metilfescutelareina	2	-	-	x	Sruthi et al, 2024
5	8.49	196,1705	196,1701	123	C ₁₂ H ₂₁ NO	2,0	N-isobutiloctadienamida	2	x	x	-	Jayaprakash et al, 2022
6	8.81	473,2539	473,2539	455, 437	C ₂₇ H ₃₆ O ₇	0,8	Ácido hidroxí-caldensínico	2	x	-	-	Flores et al, 2009
7	9.19	353,2695	353,2693	261, 243, 109, 95, 81	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	0,8	Monolinolenina	2	-	-	x	Luna et al. 2024
8	9.24	302,1760	302,1756	229, 135	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	1,3	Futoamida	2,4	x	-	-	Luca et al. 2021
9	9.44	316,3214	316,3216	298, 167	C ₁₉ H ₄₁ NO ₂	-0,6	Desconhecido	4	x	x	x	-
10	9.81	261,1138	261,1127	229, 135	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	4,2	Metil-7-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il) hepta-2,4-dienoato	2	x	-	-	Gaia et al., 2021
11	9.90	224,2012	224,2014	151, 133	C ₁₄ H ₂₅ NO	-1,8	Pelitorina	2	x	x	-	Luca et al. 2021
12	10.17	457,2604	457,2604	439, 421	C ₂₇ H ₃₆ O ₆	3,7	Ácido Caldensínico	2	x	-	-	Freitas et al., 2009

13	10.27	229,0872	229,0865	211, 135	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	3,5	Resveratrol	2	x	-	-	Feng et al, 2020
14	10.34	238,2171	238,2171	168, 151, 133, 123, 119, 109	C ₁₅ H ₂₇ NO	0,0	Homopelitorina	2	x	x	-	Shi et al, 2017 Toussirot et al., 2022
15	10.87	252,2329	252,2327	179, 151	C ₁₆ H ₂₉ NO	0,2	Isobutil-dodecadienamida	2	x	-	-	Luca et al. 2021
16	11.38	425,2154	425,2175	185, 129, 111	C ₂₂ H ₃₂ O ₈	-4,9	Desconhecido	4	x	x	x	-
17	11.81	412,2842	412,2852	339, 311, 161, 135	C ₂₆ H ₃₇ NO ₃	-2,4	Braquistamida B	2	x	-	-	Luca et al. 2021
18	12.32	593,2736	593,2751	533	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	-2,5	Feoforbídeo A	4	-	x	x	Breud et al, 2021
19	12.36	308,2948	308,2953	184, 168, 154, 122	C ₂₀ H ₃₇ NO	-1,6	N-Isobutilhexadecadienamida	2	x	x	-	Zhang et al, 2024
20	12.49	607,2915	607,2915	533	C ₃₆ H ₃₈ N ₄ O ₅	-0,2	Derivado de Feoforbídeo A	4	-	-	-	Breud et al, 2021
21	13.13	621,3066	621,3066	561	C ₃₇ H ₄₀ N ₄ O ₅	0,3	Feoforbídeo + CH ₂ CH ₂	4	-	x	x	Breud et al, 2021
22	13.30	635,3232	635,3233	621, 561	C ₃₈ H ₄₂ N ₄ O ₅	-0,2	Derivado de Feoforbídeo + CH ₂ CH ₂	4	-	-	-	Breud et al, 2021
23	13.42	338,3426	338,3423	321, 135	C ₂₂ H ₄₃ NO	0,9	13-Docosenamida	2	-	x	-	Luna et al. 2024

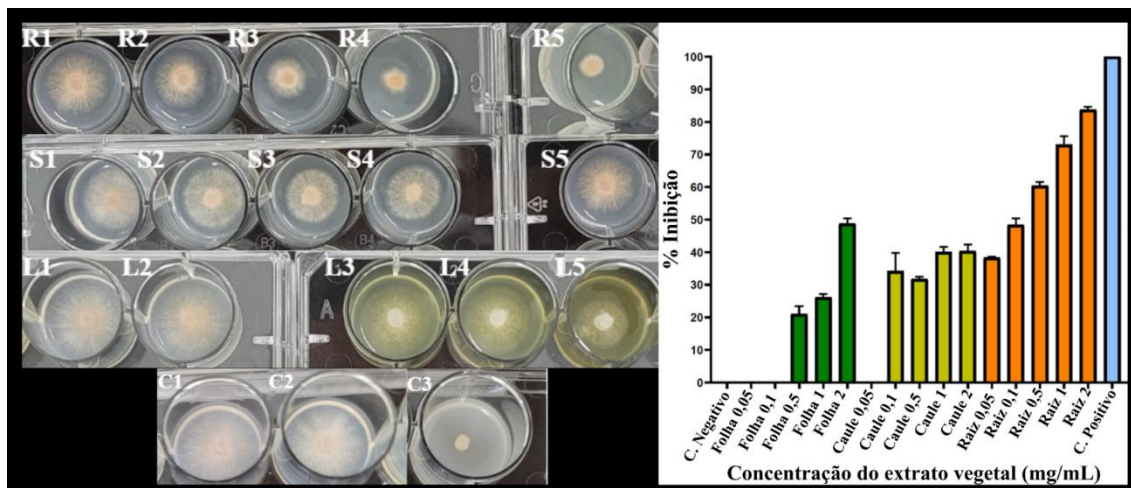
* Tipo de identificação: 1 - Espécie; 2 - Gênero; 3 - Família; 4 - MS e MS/MS a partir de dados da literatura. Correlação em extratos por R, Raízes, C, Caule e F, Folha.

Fonte: Elaboração própria do autor, 2025.

3.2 Inibição do crescimento fúngico

A avaliação da atividade antifúngica dos extratos de diferentes partes da planta *Piper divaricatum* contra *Fusarium kalimantanense* revelou diferenças marcantes (Figura 2).

Figura 2. Atividade antifúngica dos extratos de *Piper divaricatum* contra *Fusarium kalimantanense*.



* O ensaio de inibição do crescimento micelial avaliou extratos de raiz (R), caule (S) e folha (L) (1-5: 0,05 - 2,0 mg/mL). Controles: C1 (meio BDA puro + fungo, controle de crescimento), C2 (DMSO, controle negativo) e C3 (fungicida à base de tiabendazol, controle positivo). Todos os tratamentos e controles foram realizados com três réplicas.

Fonte : Elaborado pelo autor, 2025.

O potencial antifúngico dos extratos de *P. divaricatum* foi avaliado contra *Fusarium kalimantanense* por meio da inibição do crescimento micelial. Os extratos brutos obtidos das folhas, caules e raízes apresentaram graus variáveis de atividade, dependendo da concentração aplicada. Como mostrado na Tabela 2, o extrato da raiz demonstrou o efeito inibitório mais pronunciado, atingindo $83,74 \pm 0,79\%$ de inibição a $2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$, enquanto os extratos das folhas e caules apresentaram eficácia moderada, com valores máximos de $48,69 \pm 1,72\%$ e $40,27 \pm 2,02\%$, respectivamente. Nenhuma inibição foi observada para o controle negativo (DMSO) assim como para o controle de crescimento (BDA pura mais fungo), enquanto o controle positivo (fungicida à base de tiabendazol) suprimiu completamente o crescimento fúngico. Dessa forma, o extrato da raiz apresentou um IC_{50} de aproximadamente $0,10 \text{ mg/mL}$.

Tabela 2. Eficácia (média \pm desvio padrão) dos extratos brutos de *Piper divaricatum* contra *Fusarium kalimatanense*

Concentração (mg/mL)	% Inhibition		
	Folhas	Caule	Raízes
2	48,69 (\pm 1,72) ^{Aa}	40,27 (\pm 2,02) ^{Ab}	83,74 (\pm 0,79) ^{Ac}
1	26,19 (\pm 1,03) ^{Ba}	40,00 (\pm 1,56) ^{Ab}	73,00 (\pm 2,54) ^{Bc}
0,50	20,91 (\pm 2,46) ^{Ca}	31,66 (\pm 0,82) ^{Bb}	60,30 (\pm 1,21) ^{Cc}
0,10	0,00 (\pm 0,00) ^{Da}	34,18 (\pm 5,64) ^{Cb}	48,27 (\pm 2,08) ^{Dc}
0,05	0,00 (\pm 0,00) ^{Da}	0,00 (\pm 0,00) ^{Da}	38,29 (\pm 0,35) ^{Eb}
Controle Negativo	0,00 (\pm 0,00) ^{Da}	0,00 (\pm 0,00) ^{Da}	0,00 (\pm 0,00) ^{Fa}
Controle Positivo	100,00 (\pm 0,00) ^{Ea}	100,00 (\pm 0,00) ^{Ea}	100,00 (\pm 0,00) ^{Ga}

As letras maiúsculas indicam comparações das médias nas colunas e as letras minúsculas indicam comparações das médias nas linhas. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($P < 0,05$). O tratamento e o controle tiveram uma repetição com três réplicas cada.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

A análise estatística confirmou diferenças significativas entre os tratamentos com extratos de caule e raiz em relação ao controle negativo (DMSO) e ao BDA puro com o fungo. Além disso, nas concentrações mais elevadas, o efeito do extrato de raiz foi significativo, destacando seu potencial como uma alternativa biotecnológica para o controle da murcha de *Fusarium*.

Esses resultados reforçam estudos anteriores sobre o gênero *Piper*, nos quais compostos como amidas, flavonoides e fenólicos foram associados à atividade antimicrobiana. A predominância da atividade antifúngica no extrato de raiz sugere que essa parte da planta concentra um teor mais elevado desses metabólitos secundários.

4 DISCUSSÃO

4.1 Piperamidas

As amidas constituíram a classe predominante nos extratos, corroborando achados anteriores para espécies do gênero *Piper*. Entre os compostos identificados, distinguiram-se diferentes classes de piperamidas. As piperamidas do tipo B incluíram a fagaramida (**2**) com m/z 248.1293, a diidropiperlonguminina (**3**) com m/z 276.1609, a futoamida (**8**) com m/z 302.1760, a braquistamida B (**17**) com m/z 412.2842 e a N-isobutilhexadecadienamida (**19**) com m/z 308.2948. Compostos como a N-isobutiloctadienamida (**5**) com m/z 196.1705, a pelitorina (**11**) com m/z 224.2012, a homopelitorina (**14**) com m/z 238.2171 e a N-isobutildodecadienamida (**15**) com m/z 252.2329 foram classificados como piperamidas do tipo C. Por fim, a 13-docosenamida (**23**), com m/z 338.3426, foi categorizada como do tipo O.

Esses compostos apresentaram padrões de fragmentação característicos, com perdas sucessivas de grupos alquila e sinais diagnósticos em m/z 135, 145, 161 e 173, compatíveis com o perfil típico de clivagem da ligação amida. Íons diagnósticos dessa natureza são amplamente relatados para piperamidas e refletem tanto a estabilidade do anel aromático quanto a fragmentação das cadeias alifáticas²²⁻²³.

Esses resultados estão em consonância com relatos anteriores para espécies de *Piper*, nas quais as amidas são descritas como a classe predominante de substâncias em seus extratos. As piperamidas, metabólitos secundários característicos desse gênero, apresentam notável diversidade estrutural e funcional. Para facilitar sua análise e identificação, diversos estudos têm proposto classificações baseadas em grupos estruturais e em fragmentos diagnósticos obtidos por espectrometria de massas²⁴⁻²⁵.

De acordo com Li et al.²⁴, os alcaloides amídicos isolados de *Piper longum* podem ser agrupados em quatro classes principais (A–D), definidas pela natureza dos substituintes presentes na porção aromática (R_1) e no grupo amina (R_2). Posteriormente, Luca et al.²⁵ ampliaram essa classificação para incluir dois grupos adicionais (E e O), totalizando seis classes de piperamidas.

As piperamidas do tipo A caracterizam-se pela presença de um grupo benzodioxol em R_1 e de uma unidade piperidínica em R_2 . As piperamidas do tipo B também apresentam um grupo benzodioxol em R_1 , porém com substituição por isobutilamina em R_2 . No tipo C, há uma cadeia alifática em R_1 e isobutilamina em R_2 , enquanto no tipo D a cadeia alifática permanece em R_1 , mas o grupo terminal em R_2 é a

piperidina. O tipo E compreende estruturas que apresentam o grupo benzodioxol em R₁ e pirrolidina em R₂. Por fim, o tipo O abrange uma diversidade estrutural mais ampla, incluindo lactamas (por exemplo, piperolactama C) e compostos com esqueletos distintos, como a piperlongumina²⁶. Essa classificação estrutural não apenas facilita a organização e a identificação das piperamidas, mas também orienta estudos quimiotaxonômicos e investigações acerca das correlações com atividades biológicas.

Nesse contexto, diversas piperamidas foram identificadas nos extratos de *Piper divaricatum*, corroborando registros anteriores em diferentes espécies do gênero. A fagaramida (**2**) foi previamente descrita em *Piper arboreum* e *P. tuberculatum*²⁷, apresentando atividade antimicrobiana, incluindo efeitos inibitórios contra fungos filamentosos. A diidropiperlonguminina, relatada em *P. nigrum*²⁸, também demonstrou atividade antifúngica em ensaios *in vitro*, além de propriedades antibacterianas.

As N-isobutilamidas alifáticas, como a N-isobutiloctadienamida (**5**), a N-isobutildodecadienamida (**15**) e a N-isobutilhexadecadienamida (**19**), foram registradas em *P. nigrum* e *P. retrofractum*²⁶⁻²⁷. Esses compostos têm sido consistentemente associados a atividades antimicrobianas, incluindo efeitos antifúngicos, sugerindo um papel relevante dessas moléculas na defesa química das espécies.

A futoamida (**8**) e a pelitorina (**11**) foram relatadas em *P. nigrum*²⁵, sendo a pelitorina particularmente conhecida por seu amplo espectro de atividades biológicas, incluindo efeitos antifúngicos contra *Candida albicans* e fungos filamentosos, além de atividade inseticida. De modo semelhante, a homopelitorina, identificada em *P. nigrum*³⁰, compartilha esse perfil antimicrobiano, embora menos estudos tenham abordado especificamente sua ação antifúngica.

A braquistamida B (**17**), também registrada em *P. nigrum*²⁵, integra o grupo de piperamidas descritas como detentoras de potencial antimicrobiano, incluindo atividade antifúngica em diferentes ensaios experimentais. Por fim, a 13-docosenamida (**23**), identificada em *P. divaricatum* e *P. aduncum*²⁸, representa uma amida lipofílica de cadeia longa que, embora menos estudada individualmente, já foi associada a efeitos antimicrobianos em extratos complexos, incluindo atividade contra fungos.

Em conjunto, os compostos identificados compartilham tanto sua ocorrência em diferentes espécies de *Piper* quanto sua associação com atividades antimicrobianas, especialmente efeitos antifúngicos, reforçando, assim, a relevância desse grupo de metabólitos no contexto ecológico e farmacológico do gênero.

4.2 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos identificados nos extratos de *Piper divaricatum* incluíram estilbenos, flavonoides e derivados prenilados de ácido benzóico, classes amplamente reconhecidas por suas propriedades biológicas. O estilbeno resveratrol (**13**), m/z 229.0872, apresentou fragmentos característicos em m/z 211 e 135, resultantes de rearranjos envolvendo a clivagem do anel aromático e a perda de grupo hidroxila, um padrão diagnóstico típico de estilbenos. O resveratrol (**13**), previamente relatado em *P. divaricatum*²⁹, é extensivamente documentado por sua atividade antimicrobiana, incluindo efeitos antifúngicos contra espécies de *Candida* e fungos filamentosos, reforçando seu potencial farmacológico.

O flavonoide 4'-metilescutelareina (**4**), m/z 301.0720, identificado em folhas de *P. divaricatum*³⁰, produziu um fragmento em m/z 286, correspondente à perda de um grupo metila, um íon diagnóstico característico de flavonoides metoxilados. Flavonoides dessa classe têm sido associados à atividade antimicrobiana de amplo espectro, incluindo a inibição do crescimento fúngico, o que está em consonância com o papel ecológico e farmacológico desses metabólitos em *Piper*.

Entre os derivados prenilados de ácido benzóico, destacaram-se o ácido hidroxicaldensínico (**6**), m/z 473.2539, e o ácido caldensínico (**12**), m/z 457.2604, ambos previamente relatados em *P. caldense*³¹⁻³². Esses compostos apresentaram íons fragmento em m/z 455 e 437 para o primeiro, e em m/z 439 e 421 para o segundo, atribuídos a perdas sequenciais de grupos prenila e hidroxila, constituindo íons diagnósticos de ácidos benzóicos prenilados. Vale ressaltar que dois análogos dessa classe já haviam sido descritos em *P. divaricatum*, evidenciando a importância quimiotaxonômica desse grupo dentro do gênero³³. Ademais, estudos demonstraram que tais derivados possuem significativa atividade antimicrobiana, incluindo efeitos antifúngicos contra patógenos agrícolas e clínicos, ressaltando sua relevância tanto como marcadores químicos quanto como potenciais moléculas bioativas.

De modo geral, os compostos fenólicos identificados — representando estilbenos, flavonoides e derivados de ácido benzóico — não apenas demonstram ocorrência recorrente em espécies de *Piper*, mas também compartilham atividade antimicrobiana documentada, especialmente efeitos antifúngicos. Essa diversidade estrutural e funcional reforça o papel ecológico desses metabólitos na defesa química das plantas e seu potencial de aplicação em pesquisas farmacológicas e agrônômicas.

4.3 Éster

O composto (**10**) apresentou um pico de íon quase molecular em m/z 261.1138, compatível com a fórmula molecular $C_{15}H_{16}O_4$, sendo, portanto, identificado como o éster metílico metil 7-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) hepta-2,4-dienoato. Esse metabólito havia sido previamente relatado em *Macropiper excelsum*³⁴ e *Piper permucronatum*, espécie na qual variações ontogenéticas na composição química revelaram a ocorrência de diferentes classes de metabólitos ao longo do desenvolvimento, incluindo ésteres de cadeia longa e outros derivados fenólicos³⁸.

Esses achados reforçam a ampla plasticidade metabólica do gênero *Piper*, no qual compostos derivados de fenilpropanoides e seus respectivos derivados, como metil 7-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) hepta-2,4-dienoato, desempenham papéis relevantes na defesa química contra herbívoros, bem como em interações ecológicas mais complexas. Considerando que compostos contendo o núcleo benzodioxol e insaturações conjugadas têm sido associados a propriedades antimicrobianas e antifúngicas em diferentes espécies de *Piper*, a presença desse éster sugere uma possível contribuição para a atividade antifúngica observada em extratos da família, reforçando sua importância não apenas como marcador químico, mas também como candidato promissor para futuras investigações biofarmacológicas.

4.4 Monoterpenos

A loliolida (**1**) apresentou um íon molecular protonado $[M+H]^+$ em m/z 197.1184, além de íons fragmentos em m/z 161 e 135, compatíveis com a abertura do anel lactônico e subsequente rearranjo oxidativo³⁹. A loliolida é um composto sinalizador universal produzido e liberado por plantas sob estresses bióticos e abióticos, principalmente pelas raízes, desencadeando a biossíntese de metabólitos de defesa específicos de cada espécie (por exemplo, ácidos fenólicos, flavonoides, terpenoides e alcaloides), de maneira análoga ao ácido jasmônico²⁴.

4.5 Derivados lipídicos

A monolinolenina (**7**) apresentou um íon precursor em m/z 353.2695, sendo caracterizada predominantemente em folhas. Seu padrão de fragmentação revelou íons de baixa massa em m/z 109, 95 e 81, sugerindo clivagem de cadeias acila insaturadas. Esses resultados são consistentes com os perfis lipídicos relatados em outros representantes do gênero²⁸.

4.6 Derivados da clorofila

Compostos de feoforbídeos - feoforbídeo A (**18**), m/z 593.2736, e seus derivados em m/z 607.2915 (**20**), 621.3066 (**21**) e 635.3232 (**22**) - foram encontrados principalmente nos extratos foliares. Íons de fragmentação em m/z 561 e 533 indicaram perda sequencial de grupos metila e de cadeias laterais da porfirina. Esses padrões são consistentes com processos de degradação da clorofila previamente descritos em matrizes vegetais.

4.7 Compostos não identificados

Os picos em m/z 316.3214 (**9**) e 425.2154 (**16**) não puderam ser identificados, mas suas fórmulas moleculares foram determinadas como $C_{19}H_{41}NO_2$ e $C_{22}H_{32}O_8$, respectivamente. Além disso, seus perfis de fragmentação foram sugestivos de estruturas de amidas alifáticas e de compostos fenólicos complexos. Esses achados ressaltam a necessidade de análises complementares utilizando técnicas de isolamento e RMN, uma vez que podem representar metabólitos ainda não descritos em *Piper*.

4.8 Atividade antifúngica de *Piper divaricatum*

A avaliação antifúngica dos extratos de *Piper divaricatum* revelou uma relação clara entre o tipo de extrato, a concentração e o potencial inibitório contra *Fusarium kalimantanense*. Conforme apresentado na Tabela 2, todos os extratos brutos exibiram atividade dependente da concentração, sendo o extrato de raiz aquele que apresentou, de forma consistente, os maiores percentuais de inibição. Na concentração máxima testada ($2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$), o extrato de raiz inibiu 83,74% do crescimento micelial, superando significativamente os extratos de folha (48,69%) e caule (40,27%) ($P < 0,05$). Esse achado indica que os metabólitos bioativos responsáveis pela atividade antifúngica são mais abundantes ou mais potentes nos tecidos radiculares.

A diminuição progressiva da inibição com a diluição demonstra um comportamento dose-dependente, sugerindo que concentrações mais elevadas dos compostos ativos são necessárias para alcançar uma supressão substancial do crescimento. A ausência de efeito inibitório nos controles confirma que a atividade observada é intrínseca aos extratos vegetais e não resulta de interferência do solvente. Esses resultados estão de acordo com o potencial antifúngico amplamente estabelecido para o gênero *Piper*, historicamente associado à presença de alcaloides amídicos,

compostos fenólicos e outros metabólitos secundários com propriedades de desestabilização de membranas e inibição enzimática.

Os resultados corroboram relatos anteriores que descrevem espécies de *Piper* como fontes ricas em metabólitos secundários com potencial antimicrobiano, reforçando *P. divaricatum* como uma candidata promissora para o desenvolvimento de agentes antifúngicos naturais.

4.9 Análise comparativa do perfil químico de extratos de *Piper divaricatum*

A análise por UHPLC-HRMS dos extratos etanólicos das raízes, caules e folhas de *Piper divaricatum* revelou um perfil químico distinto e específico para cada tecido, totalizando 23 compostos identificados ou parcialmente caracterizados.

O extrato das raízes apresentou o perfil mais diverso, com 14 compostos. Esse tecido foi marcado pela predominância de amidas de ácidos graxos, incluindo N-isobutyloctadienamida (**5**), futoamida (**8**), pelitorina (**11**), homopelitorina (**14**), braquistamida B (**17**) e N-isobutilhexadecadienamida (**19**). Além disso, dois derivados prenilados — ácido hidroxicaldensínico (**6**) e ácido caldensínico (**12**) — foram detectados exclusivamente nesse extrato, juntamente com diidropiperlonguminina (**3**) e o estilbeno resveratrol (**13**). A ocorrência desses compostos especializados é compatível com o papel ecológico do sistema radicular como interface de defesa no ambiente do solo.

O extrato do caule exibiu um perfil menos complexo, composto por 8 substâncias. Esse tecido compartilhou algumas amidas presentes nas raízes, como pelitorina (**11**), homopelitorina (**14**) e N-isobutilhexadecadienamida (**19**). Entretanto, distinguiu-se pela detecção exclusiva da 13-docosenamida (**23**) e pela presença de derivados de feoforbídeo A (picos **18** e **21**), sugerindo associação com componentes estruturais e/ou metabólitos relacionados à senescência celular.

O extrato das folhas, por sua vez, apresentou um perfil qualitativamente distinto, formado por 7 compostos, refletindo seu metabolismo fotossintético ativo. Esse tecido foi caracterizado pela presença exclusiva de metabólitos oxidados, como a lactona loliolida (**1**), o flavonoide metilado escutelareína 4'-metil éter (**4**) e o glicerídeo monolinolenina (**7**). Assim como no caule, derivados de feoforbídeo A (picos **18** e **21**) foram detectados, compostos comumente associados à degradação de clorofila.

Alguns metabólitos, como uma amida não identificada (pico **9**) e outro composto não identificado (pico **16**), foram detectados em todos os extratos, sugerindo que representam constituintes centrais do metabolismo secundário da espécie. Em contraste,

a N-isobutiloctadienamida (**5**) foi observada apenas nas raízes e no caule, estando ausente nas folhas.

Em síntese, os resultados evidenciam uma clara compartimentalização dos metabólitos especializados em *Piper divaricatum*. As raízes se destacam como o principal sítio de biossíntese de amidas bioativas e derivados prenilados, enquanto as folhas acumulam metabólitos tipicamente associados ao metabolismo primário e à fotossíntese. O caule apresenta um perfil intermediário, compartilhando características químicas com ambos os tecidos. Essa variação específica entre órgãos é fundamental para orientar a escolha do tecido vegetal mais adequado em estudos farmacológicos ou de bioprospecção voltados a classes químicas específicas³⁵.

4.10 Possíveis compostos contribuintes para a atividade antifúngica do extrato da raiz de *Piper divaricatum*

Com base em relatos anteriores sobre a atividade antifúngica dos compostos identificados, é possível inferir que a atividade observada no extrato das raízes de *P. divaricatum* decorre, sobretudo, da contribuição conjunta de piperamidas e compostos fenólicos. Entre as amidas, destacam-se fagaramida (**2**) e dihidropiperlonguminina (**3**), ambas previamente documentadas por sua ação antimicrobiana e por seus efeitos inibitórios contra fungos filamentosos^{22,26}. De modo semelhante, as N-isobutilamidas alifáticas — N-isobutiloctadienamida (**5**), N-isobutildodecadienamida (**15**) e N-isobutilhexadecadienamida (**19**) — têm sido consistentemente associadas à atividade antifúngica em diferentes espécies de *Piper*²⁵⁻²⁷, sugerindo um papel relevante como metabólitos de defesa.

Outras piperamidas, como futoamida (**8**), pelitorina (**11**) e homopelitorina (**14**), reforçam ainda mais esse potencial, uma vez que pelitorine é amplamente reconhecida por seus efeitos inibitórios contra espécies de *Candida* e fungos filamentosos^{25,36}. Braquistamida B (**17**), também detectada nas raízes, pertence ao grupo de amidas previamente relatadas por seu potencial antimicrobiano, incluindo significativa atividade antifúngica²⁸.

No grupo dos fenólicos, resveratrol (**13**) desponta como um dos principais candidatos a contribuir para a atividade antifúngica, devido aos seus efeitos amplamente documentados contra *Candida* spp. e fungos filamentosos³¹. Além disso, os ácidos benzóicos prenilados ácido hidroxicaldensínico (**6**) e ácido caldensínico (**12**) têm sido

relatados por exercer forte atividade antimicrobiana, incluindo a inibição de fitopatógenos agrícolas³⁰⁻³¹, corroborando sua importância no perfil bioativo do extrato radicular.

Assim, a expressiva atividade antifúngica observada para o extrato das raízes de *P. divaricatum* parece resultar da sinergia entre diferentes classes de metabólitos. As piperamidas — especialmente pelitorina, fagaramida, dihidropiperlonguminina e as N-isobutilamidas — juntamente com fenólicos como resveratrol e ácidos prenilados, constituem, provavelmente, os principais responsáveis pelo efeito antifúngico, refletindo o papel ecológico das raízes como interface de defesa química contra microrganismos do solo.

Portanto, os resultados destacam o extrato radicular como o candidato mais promissor para aplicação prática no manejo sustentável de doenças fúngicas em culturas agrícolas.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo evidencia o potencial químico e biológico de *Piper divaricatum*, especialmente de seu extrato etanólico de raízes, como uma promissora fonte natural de compostos antifúngicos contra *Fusarium kalimantanense*. A análise metabolômica por UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS revelou uma ampla variedade de metabólitos secundários — incluindo diferentes classes de piperamidas, compostos fenólicos e derivados prenilados — com distribuição marcadamente específica entre os tecidos vegetais.

O extrato radicular apresentou o perfil químico mais diverso e bioativo, inibindo de forma significativa o crescimento micelial de *Fusarium kalimantanense*, um fitopatógeno de preocupação crescente na cultura da banana. Entre os compostos identificados, destacam-se fagaramida, dihidropiperlonguminina, pelitorina e resveratrol como principais contribuintes para o efeito antifúngico observado, corroborado por relatos prévios de sua atividade antimicrobiana.

Assim, nossos achados sustentam o potencial de aplicação dos metabólitos derivados de *Piper* na proteção sustentável de culturas agrícolas, contribuindo para o desenvolvimento de biopesticidas ecologicamente seguros e estratégias integradas de manejo de doenças fúngicas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa pelo apoio financeiro (SEG 10.22.02.002.00.00), bem como à CAPES e ao CNPq (#312252/2025-0) pelas bolsas de mestrado e produtividade, respectivamente. Esta pesquisa foi registrada no Sistema Brasileiro de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN nº A750230). Os autores também agradecem à Waters Technologies Brazil (Barueri, São Paulo) pela aquisição dos dados de UHPLC-HRMS.

REFERENCES

- Oliveira VR, Luz AI, Sousa PJ, Guimarães EF, Andrade EH. Essential oils of *Piper* species: chemical composition and bioactivity. *Ind Crops Prod.* 2019;130: 280–95.
- Colorado JL, Silva JF, Mendes R, Pereira JL. Bioactive metabolites from *Piper* species: chemical diversity and biological potential. *Phytochem Rev.* 2019;18: 1201–23.
- Colorado JL, Freitas L, Oliveira VR, et al. Advances in phytochemistry and pharmacology of *Piper* species. *Front Plant Sci.* 2025;16: 118–36.
- Andres MF, Rossa GE, Zacarías M, et al. Antifungal activity of essential oils from *Piper* spp. *Crop Prot.* 2017;98: 114–21.
- Jaramillo MA, Callejas R, Davidson C, Smith JF, Stevens AC, Tepe EJ. Phylogeny and classification of *Piper* and related genera. *Ann Mo Bot Gard.* 2015;102(2): 198–220.
- Souto R, Haraguchi H, Pastore GM, et al. Antifungal activity of extracts from *Piper* species. *J Agric Food Chem.* 2012;60: 3954–9.
- Naseem S, Khan SA. Antifungal potential of *Piper* spp. against plant pathogens. *Mycopathologia.* 2011;171: 203–10.
- Castro-Silva D, Lima RA, Gomes KS, et al. Antimicrobial activity of *Piper* essential oils. *Rev Bras Farmacogn.* 2009;19: 834–9.
- Upadhyay RK, Jaiswal G. Evaluation of antifungal activity of essential oils of *Piper* species. *J Med Plant Res.* 2007;1(6): 66–70.
- Yang X, Ma H, Yao J, et al. *Fusarium oxysporum*: biology, ecology and disease management. *Plant Pathol J.* 2017;33: 125–34.
- Rampersad SN. Pathogenomics and management of *Fusarium* wilt of banana: a global perspective. *Trop Plant Pathol.* 2020;45: 297–309.
- Soleha U, Susilowati DN, Rahayu YS. Pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* in tropical crops. *Biodiversitas.* 2022;23(3): 1358–67.
- Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA, et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 2012;13(4): 414–30.
- Zaker M. Natural fungicides and their role in sustainable agriculture. *Pestic Biochem Physiol.* 2016;133: 51–61.
- Nuzhat T, Vidyasagar GM. Antifungal investigations on plant essential oils: a review. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2013;5: 19–28.
- Fawzi EM, Khalil AA, Afifi AF. Antifungal activity of plant extracts on phytopathogenic fungi. *Pak J Biol Sci.* 2009;12(7): 582–8.

Jalili S, Jahanbakhsh S, Jafarpour M. Evaluation of antifungal potential of natural extracts. *Afr J Microbiol Res.* 2010;4(14): 1506–10.

Romanazzi G, Nigro F, Ippolito A. Natural compounds for controlling postharvest decay of fruit and vegetables. *Postharvest Biol Technol.* 2012;64: 141–7.

Vilhena T, Ramos D, Bastos CN, et al. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of *Piper divaricatum*. *Nat Prod Commun.* 2019;14(12): 1–8.

Martis R, Santos S, Lima R, et al. Bioactivity of *Piper* essential oils against insects and fungi. *Ind Crops Prod.* 2021;162: 113–9.

Santos JL, Almeida RP, Moura GF, et al. Taxonomic revision and molecular identification of *Fusarium kalimantanense*. *Mycol Prog.* 2023;22: 77–91.

Vargas-Huertas F, Guzmán J, Pérez J. Bioactive piperamides from *Piper nigrum*. *Nat Prod Res.* 2023;37(9): 1457–67.

Baky MH, Maamoun AA, Nicolescu A, Mocan A, Farag MA. Multi-targeted MS-based metabolomics fingerprinting of black and white pepper coupled with molecular networking in relation to their in vitro antioxidant and antidiabetic effects. *RSC Adv.* 2025;15:27606-22.

Li W, Koike K, Ohmoto T. Classification of alkamides from *Piper longum*. *Phytochemistry.* 2015;110: 91–102.

Luca SV, Bujor A, Miron A, et al. Comprehensive review on *Piper* alkamides: phytochemistry and biological activity. *Phytochem Rev.* 2021;20: 583–622.

Jayaprakash P, Rao NR, Thomas A, et al. Antimicrobial alkamides from *Piper* species. *J Ethnopharmacol.* 2022;292: 115–25.

Zhang L, He S, Wang Y, et al. Structural diversity and bioactivity of *Piper* alkaloids. *J Agric Food Chem.* 2024;72: 2205–19.

Luna AV, da Silva VC, de Almeida RA, Tavares JF, da Silva MS, Rodrigues ACBC, et al. UHPLC-HRMS/MS chemical fingerprinting of the bioactive partition from cultivated *Piper aduncum* L. *Molecules.* 2024;29(8):1690.

Feng Y, Wang J, Zhang X, et al. Resveratrol as an antifungal agent: evidence from *Piper* spp. *Phytother Res.* 2020;34: 2231–40.

Sruthi, D.; Zachariah, T.J. Volatile and non-volatile metabolite profiling of under-explored crop *Piper colubrinum* Link. with chromatography mass spectrometry approach and its biochemical diversity from medicinally valued *Piper* species. *Journal of Chromatography B* 2024; 1245: 124260.

Flores R, Pereira J, Silva F. Prenylated benzoic acids from *Piper caldense*. *Phytochemistry.* 2009;70: 1231–6.

- Freitas A, Chaves MH, Silva JR. Antimicrobial activity of prenylated benzoic acids in *Piper*. *J Braz Chem Soc*. 2009;20(8): 1571–6.
- Chaves JH. Contribution to the chemical study of *Piper divaricatum* and *Schinus terebinthifolius* [dissertation]. Fortaleza: Federal University of Ceará; 2008 [cited 2024 June 20]. 117 p. Available from: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/15017>.
- Obst K, Lieder B, Reichelt KV, Backes M, Paetz S, Geissler K, et al. Structure-activity relationships of bitter tastants from *Gentiana lutea* and their synthetic analogues. *Phytochemistry*. 2017;135:181-90.
- Ware I, Al-Majmaie S, Al-Mehna AK, Nakouti I, Nahar L, Sarker SD, et al. Comparative metabolite analysis of *Piper sarmentosum* organs approached by LC-MS-based metabolic profiling. *Nat Prod Bioprospect*. 2024;14(1):30.
- Shi J, Li H, Yang L, et al. Antimicrobial activity of pellitorine and derivatives. *J Nat Med*. 2017;71: 177–84.
- Breud C, et al. LC-MS based phytochemical profiling towards the identification of antioxidant markers in some endemic *Aloe* species from Mascarene Islands. *Antioxidants*. 2022;12(1):50.
- Gaia AM, de Mesquita LSS, Palmeira SML, da Silva JKR, Maia JGS, Setzer WN, et al. Ontogenetic changes in the chemical profiles of *Piper* species. *Plants (Basel)*. 2021;10(6):1085.
- COLORADO, B. E. J.; SALGADO, B. A.; HERRERA, F. M. P. Antifungal activity of four *Piper* genus oils against postharvest fungal *Fusarium* spp. isolated from *Mangifera indica* L. and *Persea americana* Mill. Fruits. *Industrial Crops & Products*, 2025; 223 (120170): 1-12.
- Maryani N, Lombard L, Poerba YS, Subandiyah S, Crous PW, Kema GHJ. Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Stud Mycol*. 2019, 92:155-194.
- Lopes AA, Silva C, Rocha J, et al. UPLC-HRMS profiling of *Piper* species. *Phytochem Anal*. 2018;29: 543–52.
- Mohammedi H, Atik F. Antifungal activity of natural products against *Fusarium*. *Ann Microbiol*. 2013;63: 219–26.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

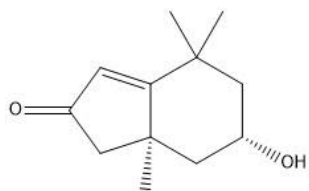
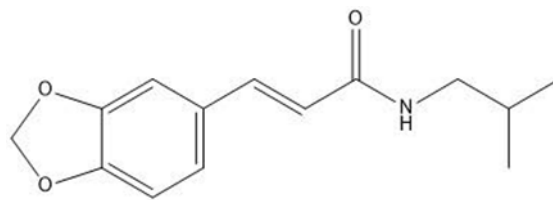
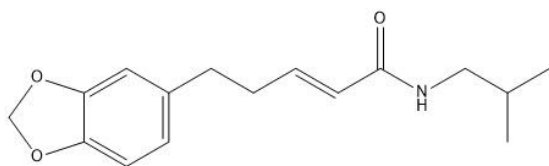
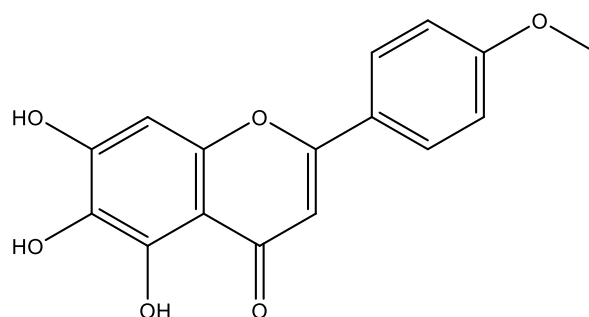
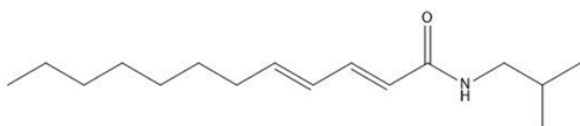
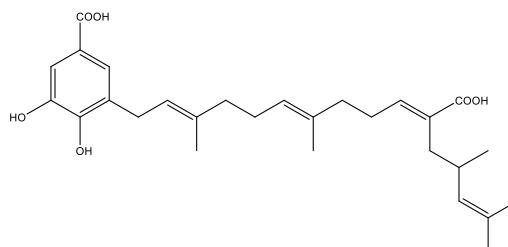
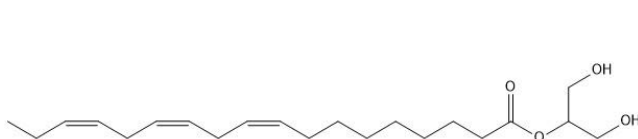
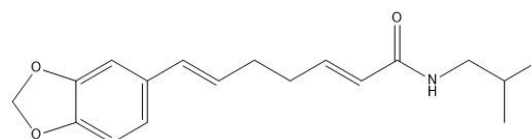
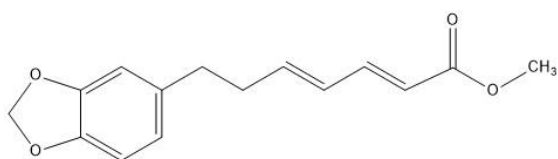
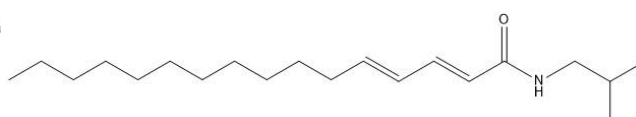
O presente estudo, ao investigar o potencial antifúngico de *Piper divaricatum* contra *Fusarium kalimantanense*, cumpriu com os objetivos propostos e permitiu alcançar contribuições significativas para a área de produtos naturais e o controle de fitopatógenos. A abordagem integrada, que aliou a prospecção fitoquímica à avaliação biológica, forneceu um panorama abrangente e robusto sobre o potencial biotecnológico desta espécie.

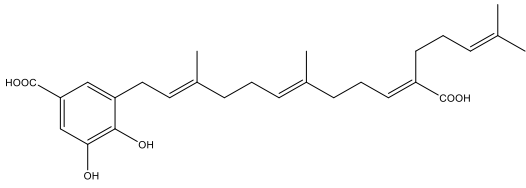
Em síntese, a caracterização química via UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS revelou um perfil metabólico complexo e diversificado nos extratos de *P. divaricatum*, com a identificação de 21 metabólitos, entre os quais se destacam as piperamidas, compostos fenólicos e ácidos benzóicos prenilados. A análise comparativa entre raiz, caule e folhas demonstrou uma clara compartimentalização dos metabólitos especializados, sendo a raiz o órgão que apresentou a maior diversidade química, concentrando a maioria das piperamidas e dos compostos fenólicos de interesse.

Esta constatação química foi corroborada pelos ensaios biológicos, que atestaram a superior atividade antifúngica do extrato radicular, o qual inibiu 83,7% do crescimento micelial de *F. kalimantanense* na concentração de 2,0 mg/mL. A forte correlação estabelecida entre a presença de piperamidas como a pelitorina, fagaramida e di-hidropiperlonguminina, bem como de compostos fenólicos como o resveratrol e os ácidos caldensínico e hidroxicaldensínico, e a atividade biológica observada, valida o uso etnobotânico da espécie e aponta para a sinergia entre estas classes de compostos como a base da sua atividade antifúngica.

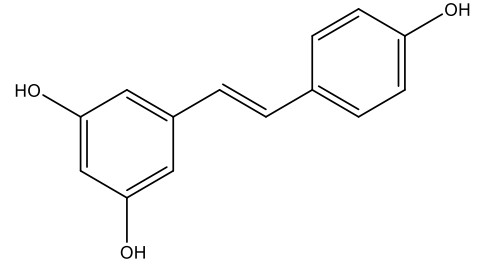
Do ponto de vista prático, os resultados indicam a *P. divaricatum*, em especial suas raízes, como uma fonte promissora e sustentável de compostos bioativos. O potencial de desenvolvimento de um biofungicida natural a partir deste recurso fitogenético representa uma alternativa viável para o manejo integrado do mal do Panamá na bananicultura, uma doença de grande impacto econômico e social, frente à crescente demanda por soluções agroecológicas e à necessidade de reduzir a dependência de agentes químicos sintéticos.

ANEXOS

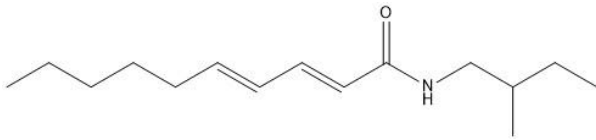
ANEXO A – ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS COMPOSTOS DOS EXTRATOS DE
Piper divaricatum**1****2****3****4****5****6****7****8****10****11**



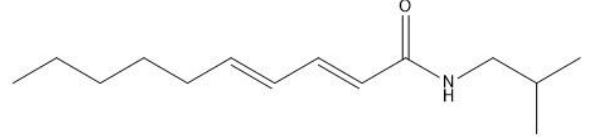
12



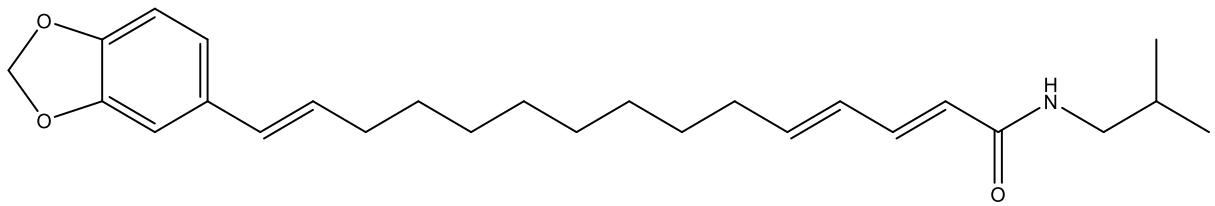
13



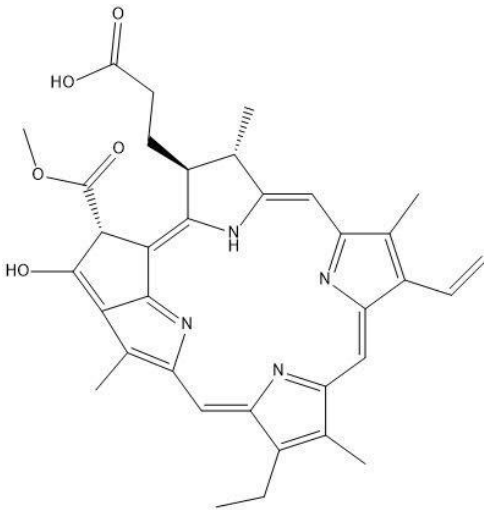
14



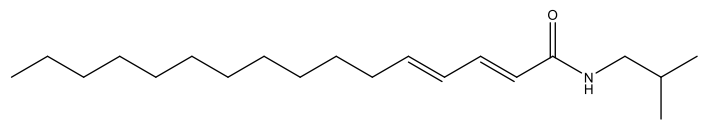
15



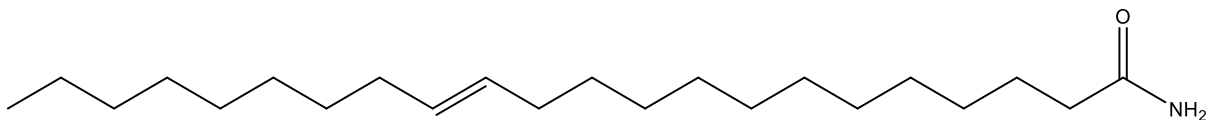
17



18



19



23

ANEXO B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO

For consideration in *Pest Management Science*

Page 1 of 37

Pest Management Science

Research Article

Antifungal Activity and Phytochemical Profile of Piper divaricatum Extracts against Fusarium kalimantanense

Submission ID 16f197f6-7fe1-4a48-9606-6ee39ae0cdf
Submission Version Initial Submission
PDF Generation 26 Sep 2025 21:08:10 EST by Atypon ReX

Authors

Luciano Ferreira de Freitas

Affiliations

- Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Ceará, Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, 60714-903, Fortaleza, Ceará, Brasil

Nádia Elígia Nunes Pinto Paracampo

Affiliations

- Embrapa Amazônia Oriental., Belém, Pará, Brasil

Regimara Francisca Bernardo da Silva Vieira

Affiliations

- Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil

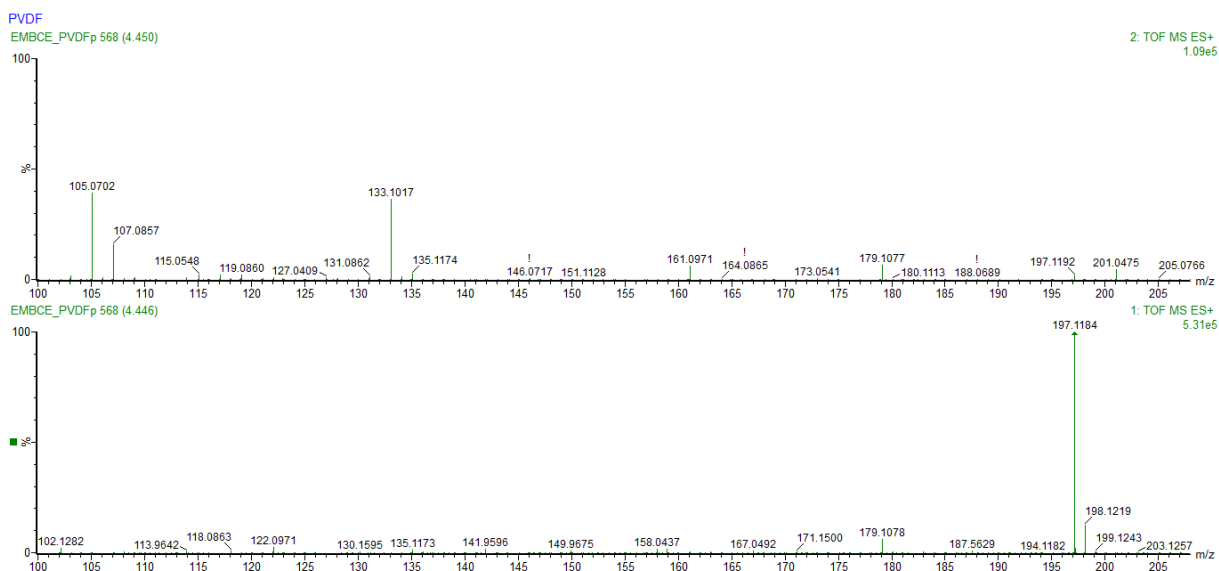
Stella Maria Nascimento Macêdo

Affiliations

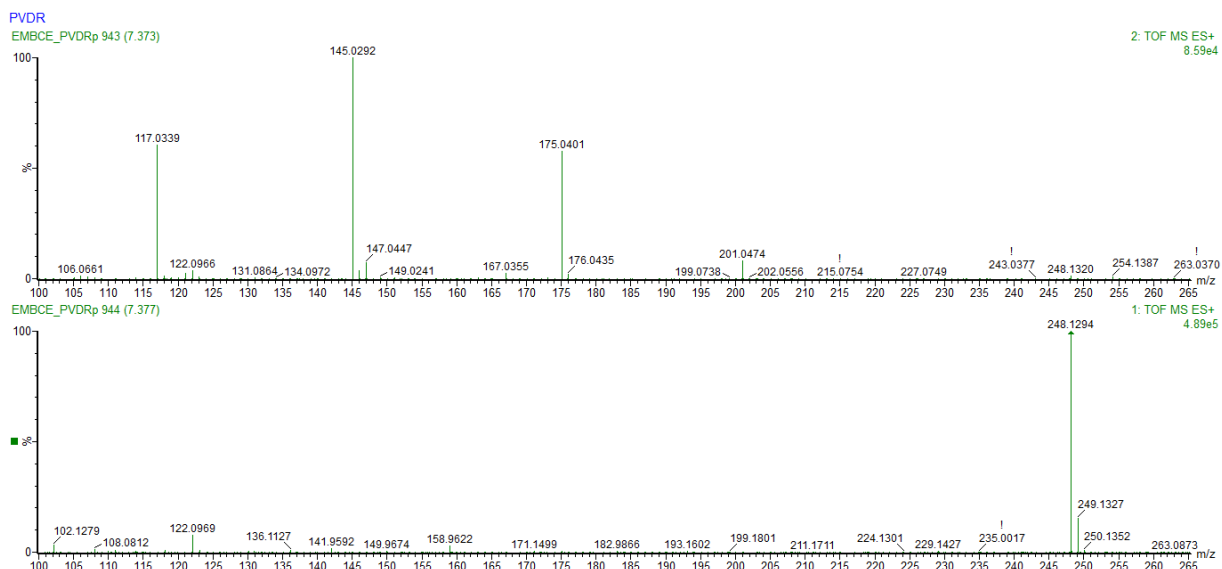
- Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, Fortaleza, 60511-110, Fortaleza, Ceará, Brasil

ANEXO C – ESPECTROS DE MASSAS (1 MS e 2 MS/MS) DOS 23 COMPOSTOS DETECTADOS VIA UHPLC-QTOF/MS NO MODO POSITIVO

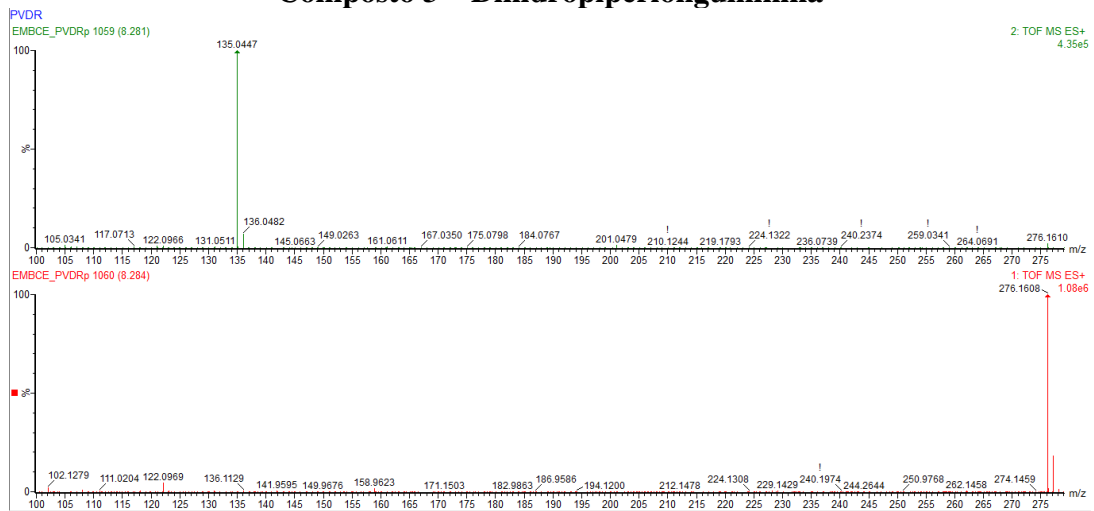
Composto 1 – Loliolida – Folha



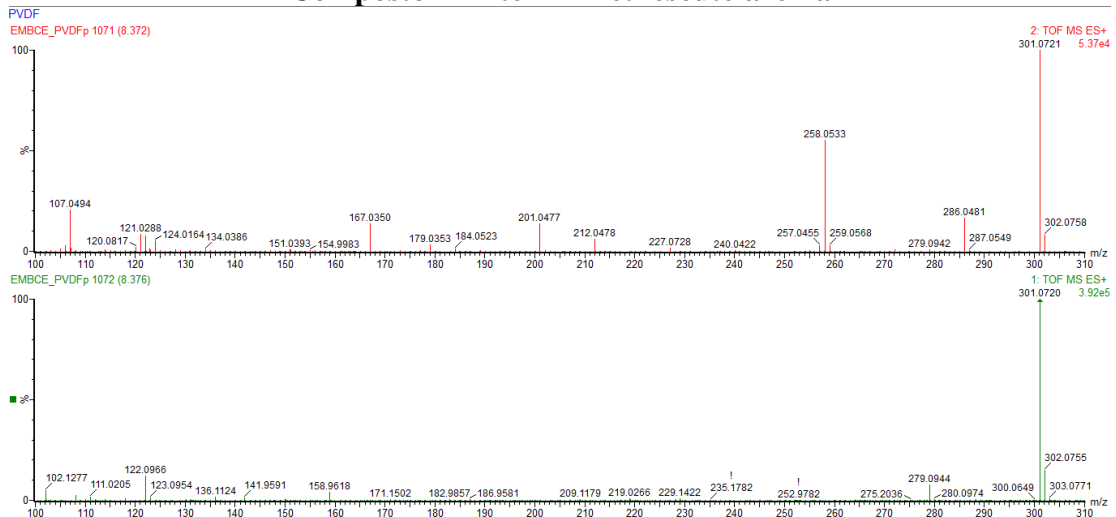
Composto 2 – Fagaramida



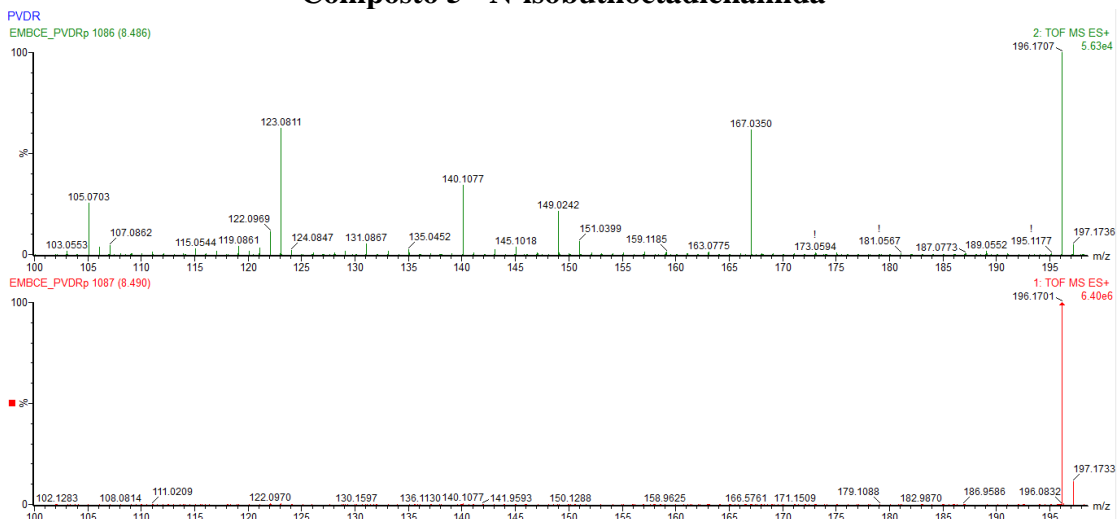
Composto 3 – Dihidropiperlonguminina



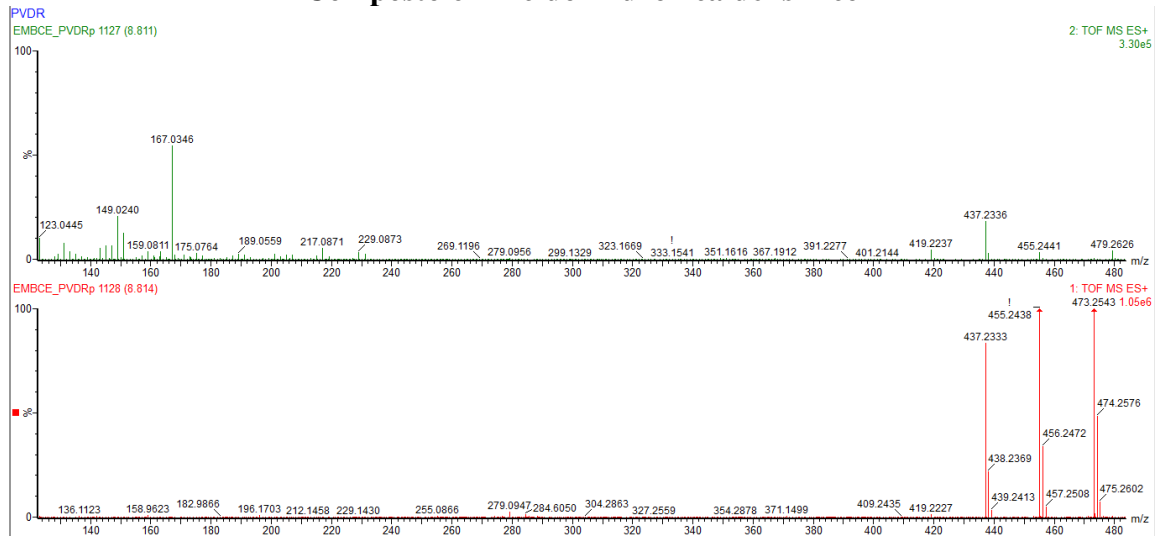
Composto 4 – Éter 4'-metilscutelareina



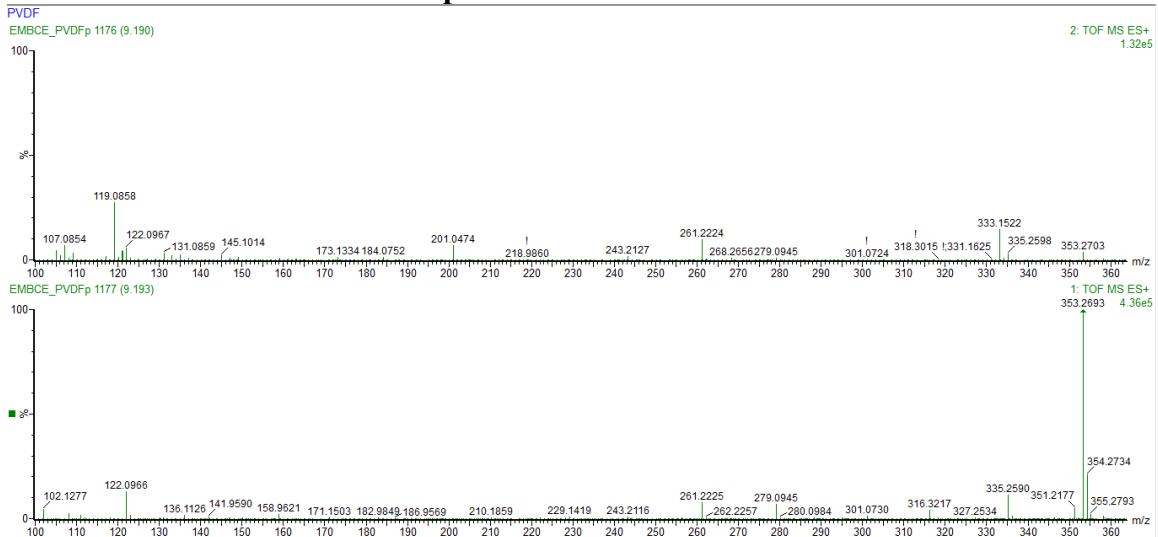
Composto 5 - N-isobutiloctadienamida



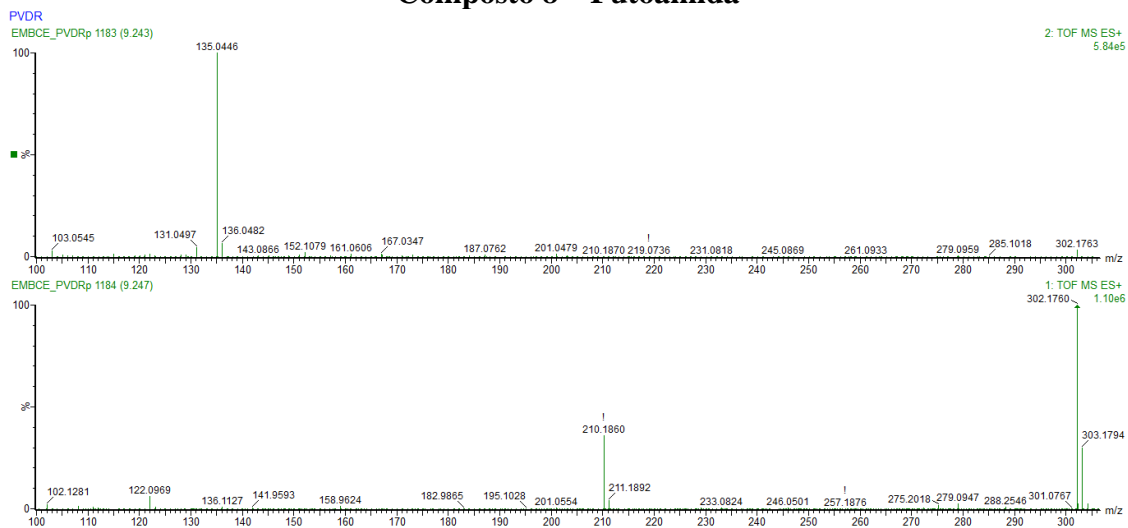
Composto 6 – Ácido Hidroxicaldensínico



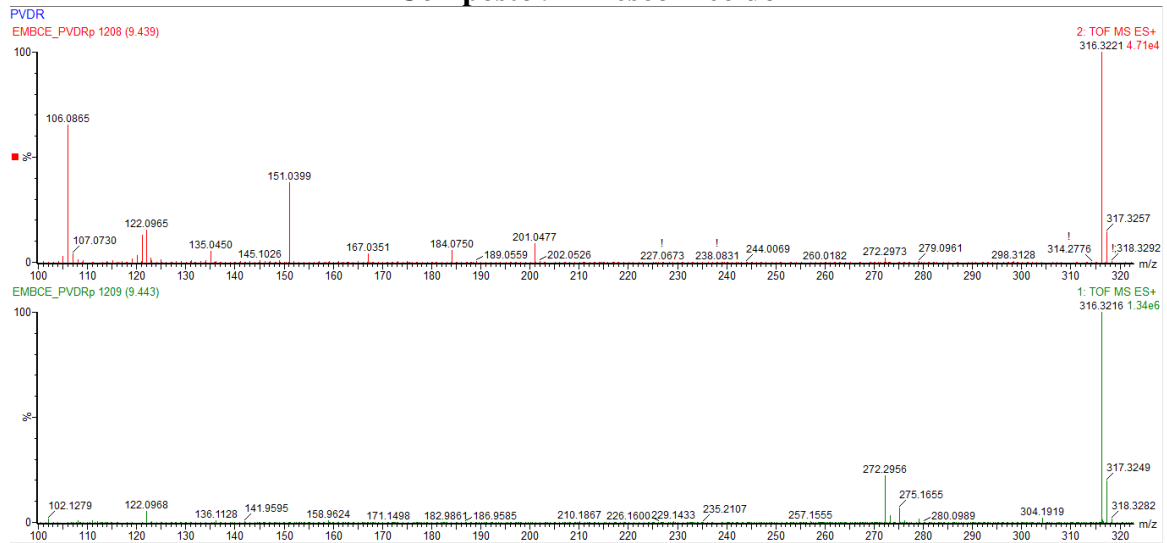
Composto 7 – Monolinolenina



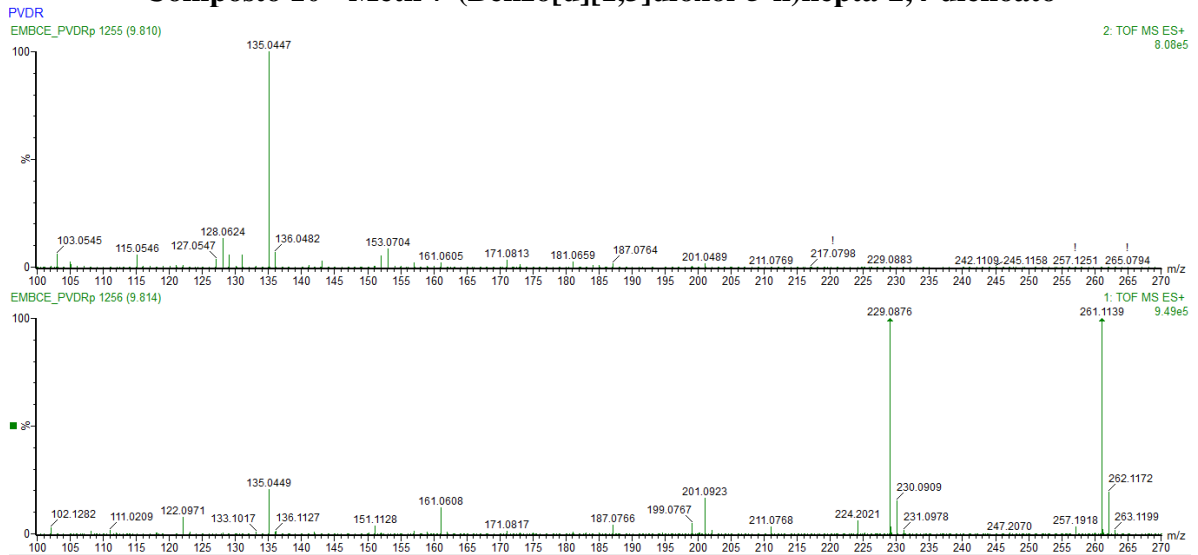
Composto 8 – Futoamida



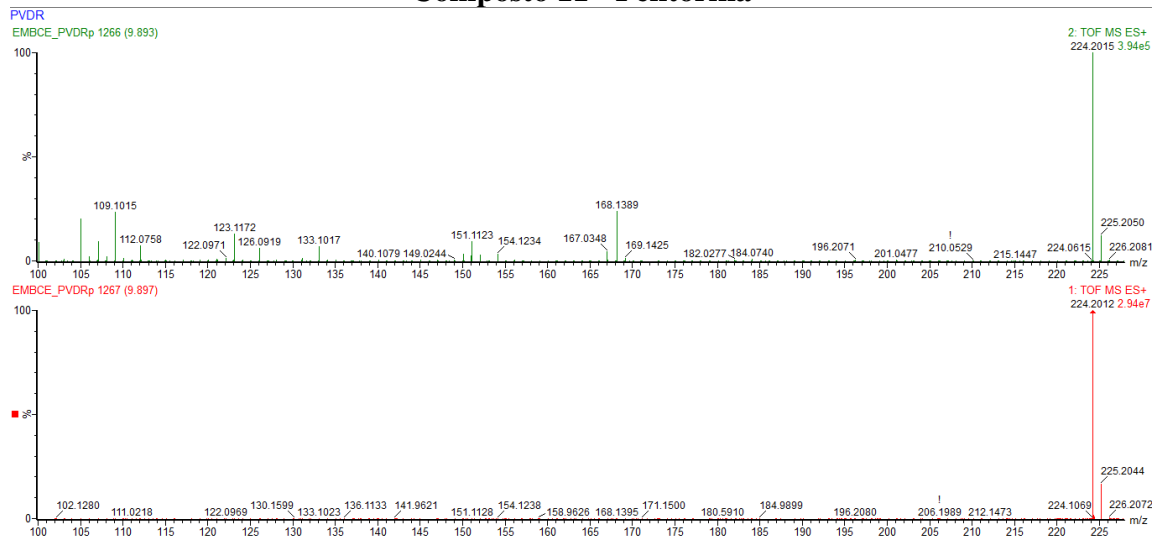
Composto 9 – Desconhecido



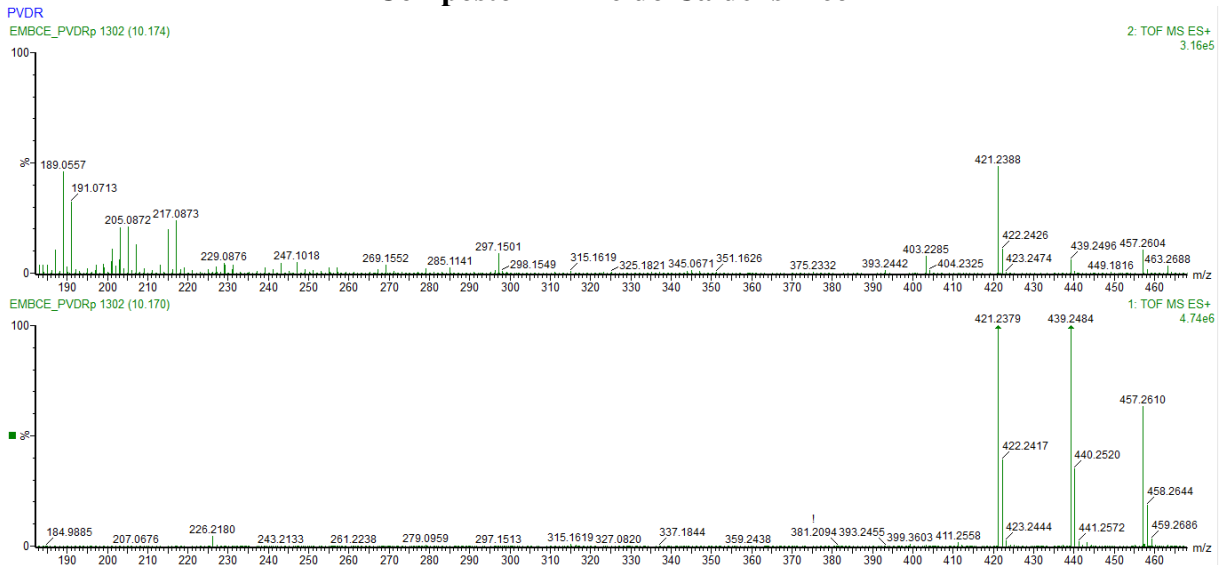
Composto 10 - Metil 7-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)hepta-2,4-dienoato



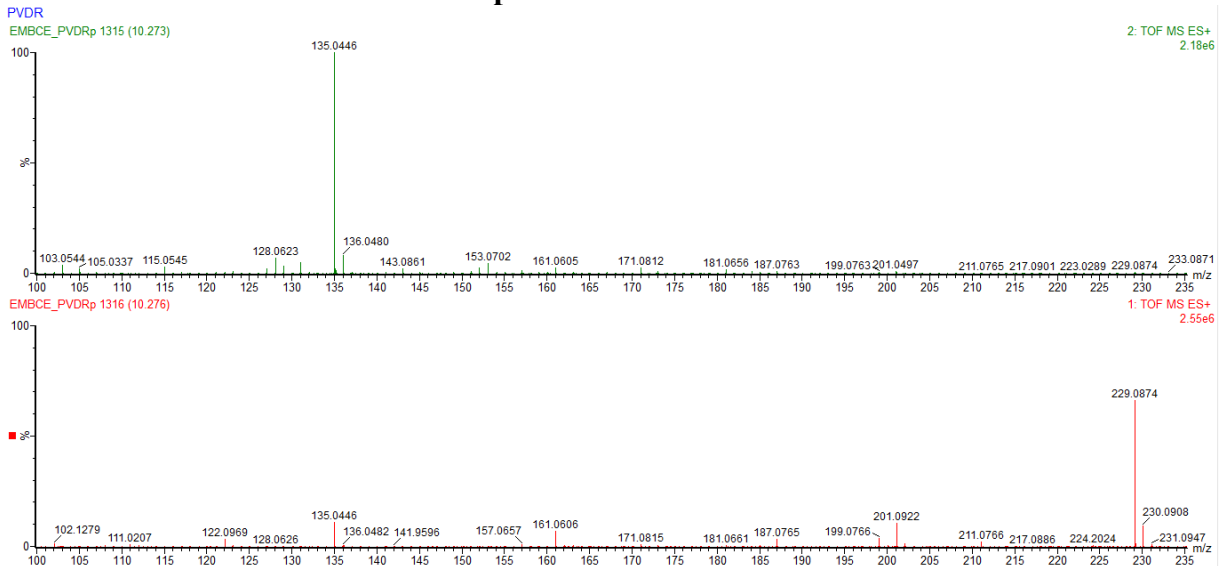
Composto 11 - Pelitorina



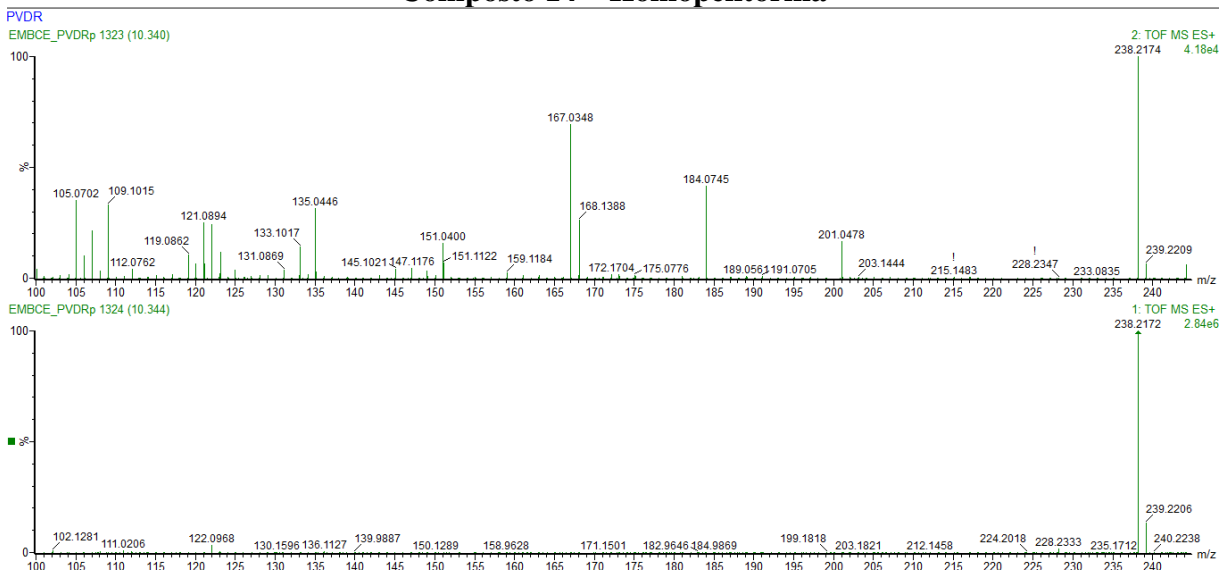
Composto 12 – Ácido Caldensínico



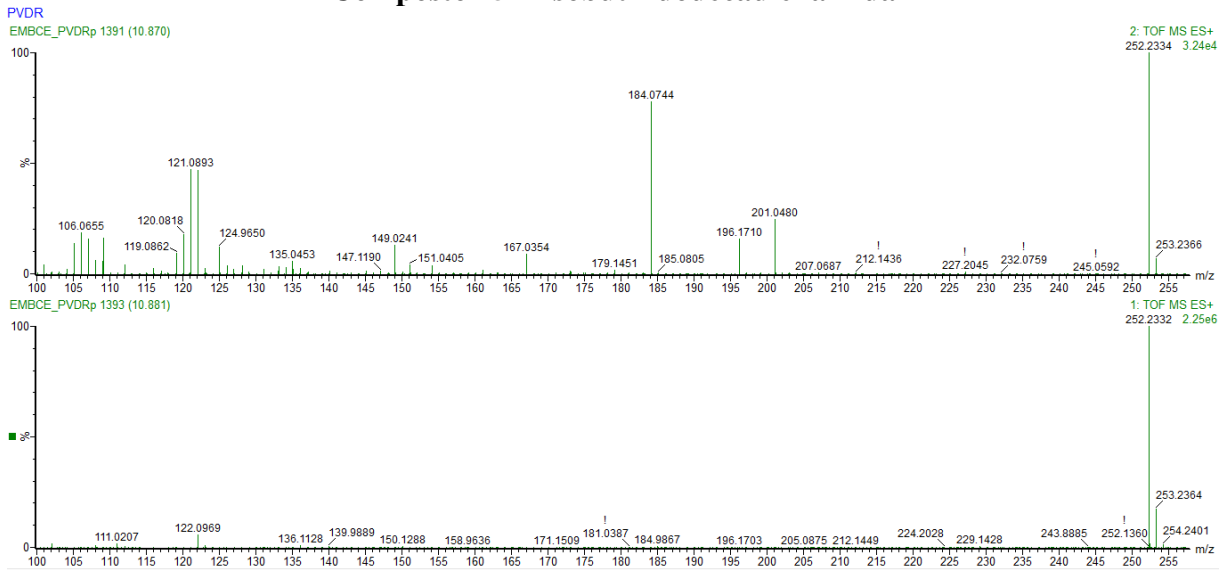
Composto 13 – Resveratrol



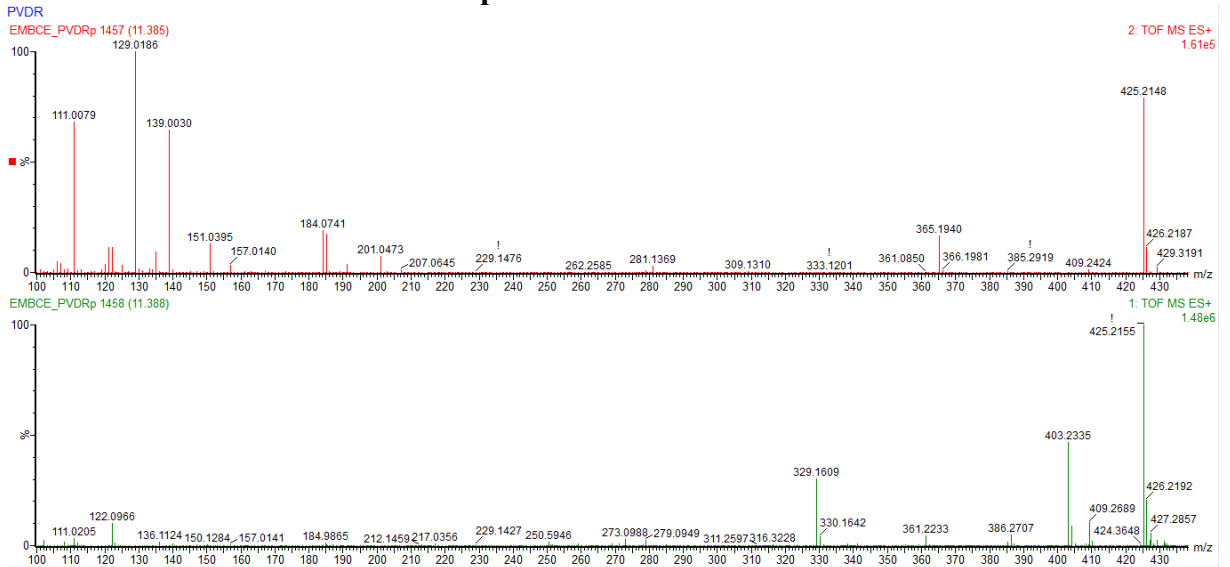
Composto 14 – Homopelitorina



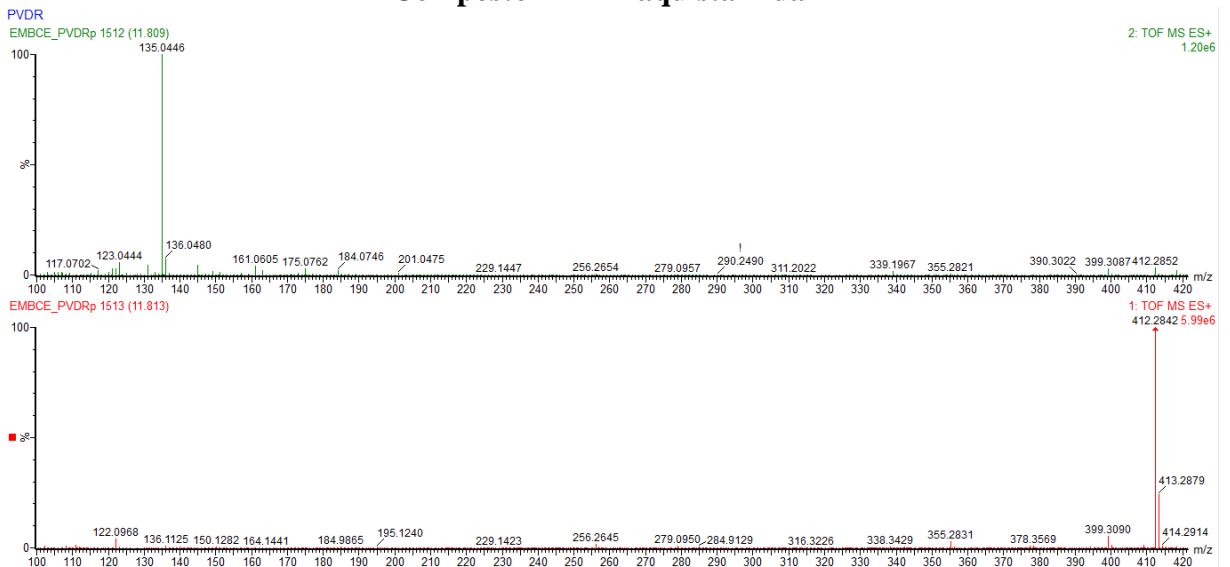
Composto 15 – Isobutil-dodecadienamida



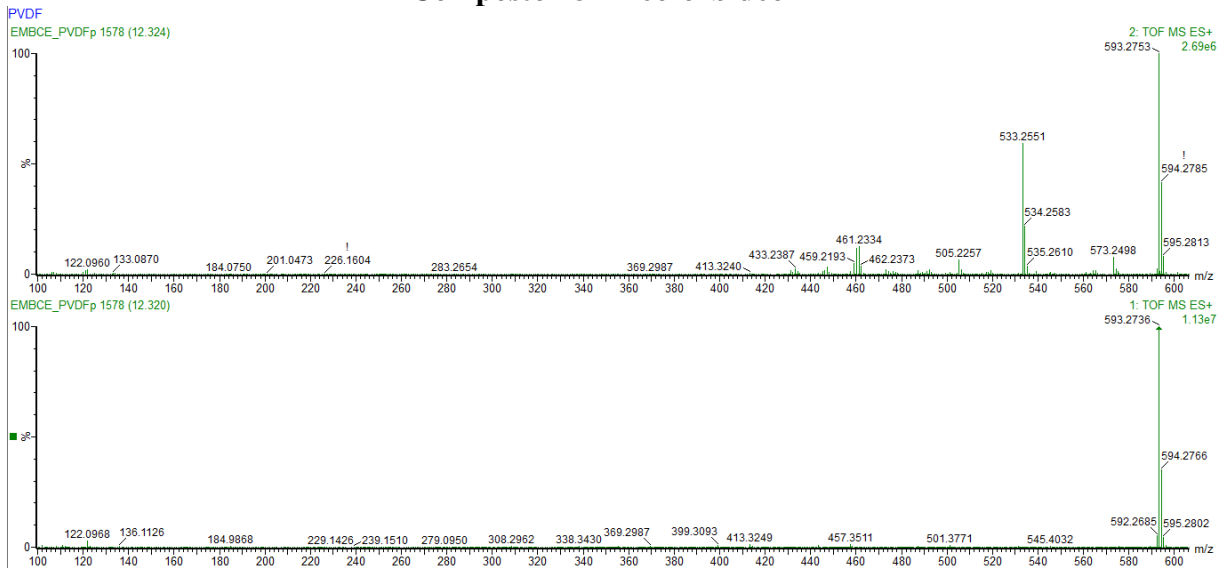
Composto 16 – Desconhecido



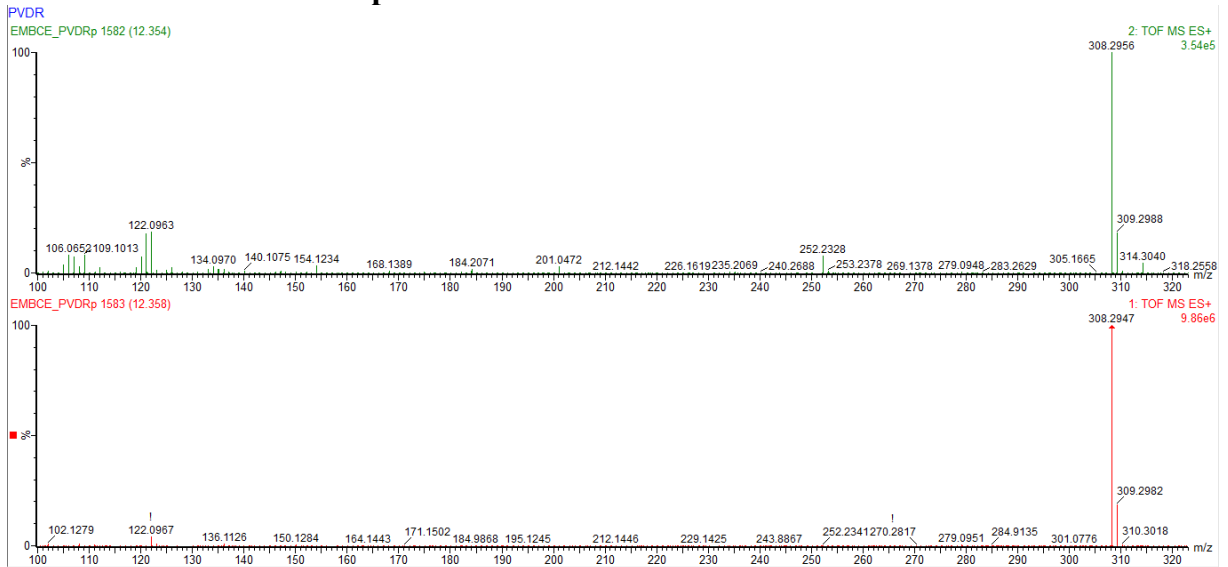
Composto 17 – Braquistamida B



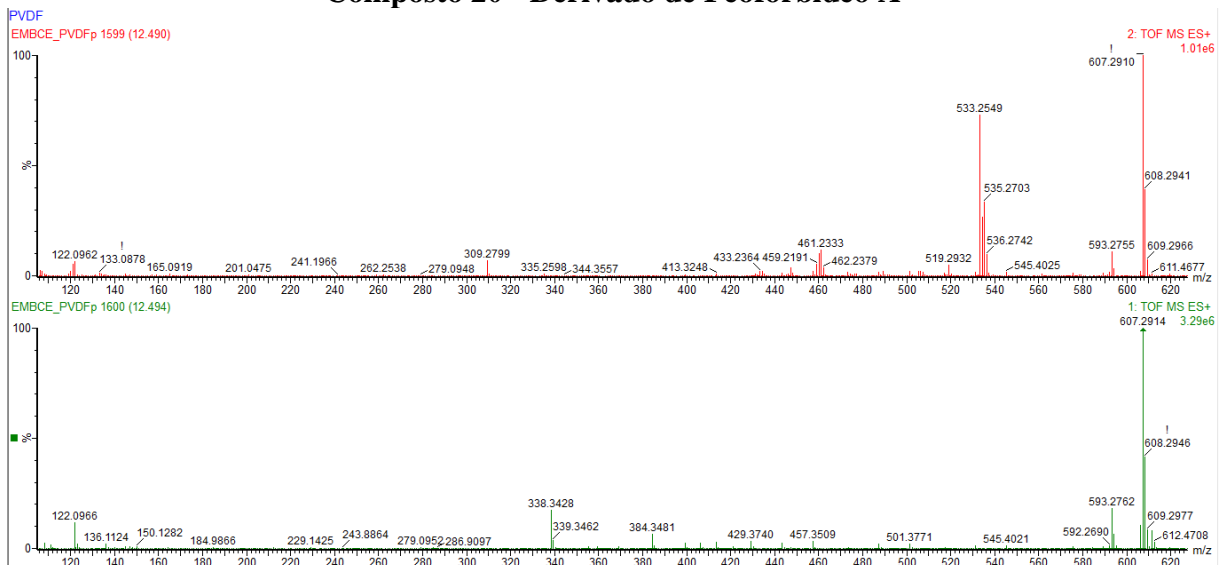
Composto 18 – Feoforbídeo A



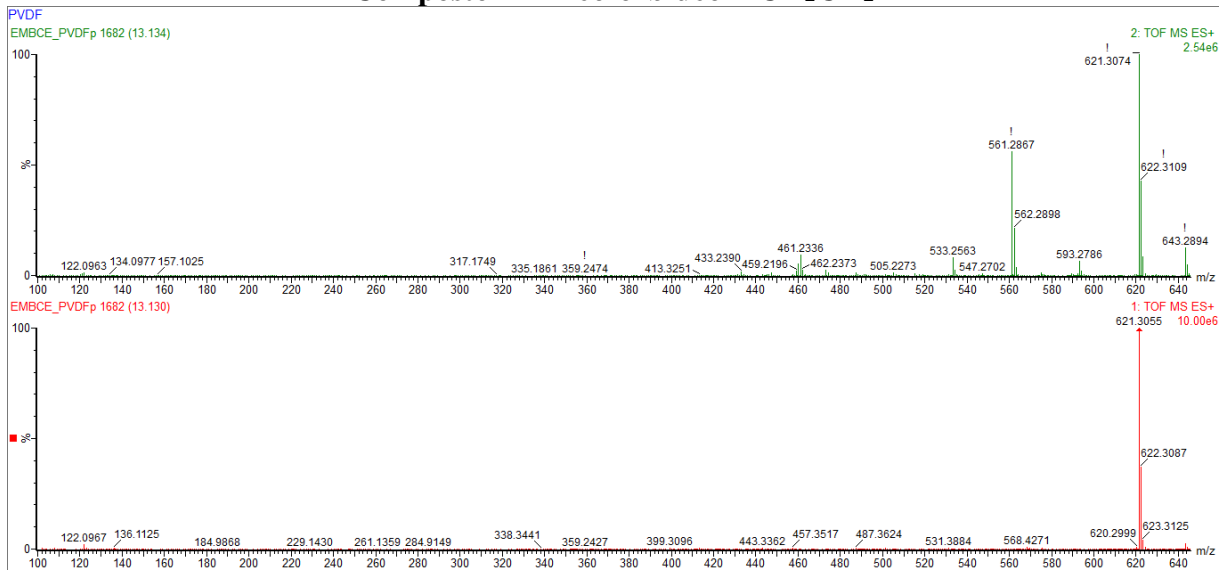
Composto 19 - N-Isobutilhexadecadienamida



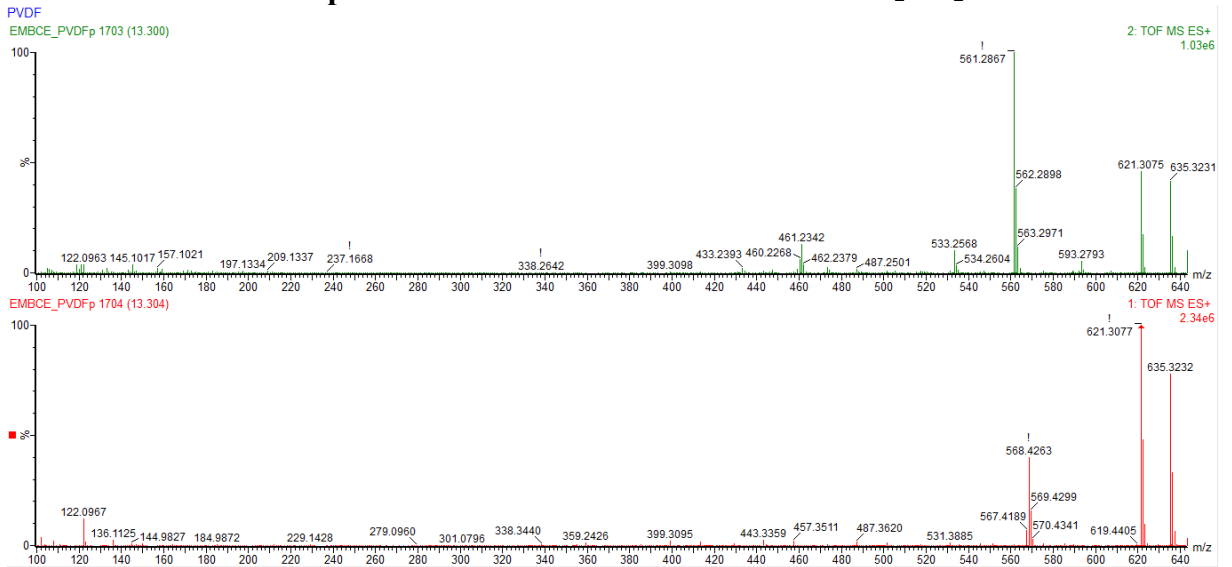
Composto 20 - Derivado de Feoforbídeo A



Composto 21 - Feoforbídeo + CH₂CH₂



Composto 22 – Derivado de Feoforbídeo + CH₂CH₂



Composto 23 – 13-Docosenamida

