

## IDENTIFICAÇÃO DAS CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Piper tuberculatum* JACQ

### IDENTIFICATION OF THE CLASSES OF SECONDARY METABOLITICS OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF *Piper tuberculatum* JACQ

Ana Paula da Silva Gonçalves<sup>1</sup> & Renato Abreu Lima<sup>2,3\*</sup>

1. Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade São Lucas, Porto Velho, Rondônia, Brasil;
2. Doutorando em Biodiversidade e Biotecnologia - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil;
3. Docente da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Instituto de Natureza e Cultura, Campus Benjamin Constant, AM, Brasil;

\*Autor correspondente: renatoabreu07@hotmail.com

Recebido: 24/02/2016; Aceito 07/04/2016

#### RESUMO

O gênero *Piper* é um arbusto encontrado em regiões tropicais e subtropicais e é conhecido por seu alto poder medicinal. Estudos mostram que a espécie *Piper tuberculatum* é eficaz contra pragas em plantações, o que evidencia a presença de metabólitos neste gênero. Os metabólitos secundários possuem atividade biológica, oferecendo benefícios também à saúde. O objetivo desta pesquisa foi identificar metabólitos secundários de *Piper tuberculatum* Jacq. utilizando folhas, talos e inflorescências da planta. A coleta foi realizada no bosque da Faculdade São Lucas em Porto Velho/RO, onde foi possível obter 443,68g de inflorescência, 1.293,09g de folhas e 1.044,66g de talos. No laboratório de fitoquímica da Faculdade São Lucas foram realizados todos os testes fitoquímicos destes, onde obteve-se a presença de alcaloides somente nas folhas e glicosídeos cardiotônicos, cumarinas, taninos hidrolisáveis e taninos condensados para todas as partes da planta, inclusive as folhas. Todos os procedimentos realizados para flavonoides foram negativos e o teste para a formação de espumas para saponinas e para triterpeno foram positivos somente para os talos e inflorescências. Diante dos resultados foi possível concluir que espécie *P. tuberculatum* Jacq. apresenta metabólitos secundários capazes de combater infecções e doenças.

**Palavras-chave:** *Piper tuberculatum*, Testes fitoquímicos, Metabólitos secundários.

#### ABSTRACT

The genus *Piper* is a shrub found in tropical and subtropical regions and is known for its high medicinal power. Studies show that the species *Piper tuberculatum* is effective against pests in crops, which evidence the presence of metabolites in this genre. The secondary metabolites have biological activity, providing benefits also health. The objective of this research was to identify secondary metabolites of *Piper tuberculatum* Jacq. using leaves, stems and flowers of the plant. The gathering was held at the Grove Luke Faculade in Porto Velho / RO, where it was possible to obtain 443,68g inflorescence, 1.293,09g leaves and stalks 1.044,66g. In phytochemical Laboratory College of St. Luke they were performed all these phytochemicals tests where the presence of alkaloids is obtained only in leaves and cardiotonic glycosides, coumarins, hydrolyzable tannins and condensed tannins for all parts of the plant, including the leaves. All procedures performed for flavonoids were negative and the test for the foaming to saponins and triterpene were positive only for the stems and flowers on the results it was concluded that species *P. tuberculatum* Jacq. It presents secondary metabolites able to fight infection and disease.

**Keywords:** *Piper tuberculatum*, phytochemicals tests, secondary metabolites.

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo dados levantados pelo IBGE em 2004, a diversidade biológica das plantas na Amazônia são importantes, pois além de ocupar uma região extensa 6,7 milhões km<sup>2</sup> abrange em sua bacia hidrográfica um território maior no Brasil e o restante distribuído na Bolívia, Colômbia, Equador, Guianas, Peru, Suriname e Venezuela. Com esse vasto bioma distribuído no território nacional são encontrados várias espécies de plantas dos gêneros *Copaifera*, *Carapa* e dentre elas a *Piper* que são utilizadas com fins medicinais, pelo povo que vive na floresta [1].

O gênero *Piper* pertence à família Piperaceae, distribuído nas regiões tropicais e subtropicais de todo mundo. Muitas espécies de *Piper* são usadas para fins curativos em diversas culturas e para alguns agricultores como pesticidas contra pragas [2]. A história do gênero *Piper*, relatos que o uso dessas espécies serve para o tratamento de algumas enfermidades em diferentes povos. Algumas prescrições recomendadas na China, é o uso das folhas de *P. futokasura* no tratamento de arritmias cardíacas e da asma. Dores estomacais são tratadas com uma infusão das folhas de *P. aduncum* e *P. hispidumna* Jamaica. No México e no Brasil, usa-se as folhas de *P. amalago* para aliviar dores estomacais e no combate a diversas infecções de *P. tuberculatum* e como pesticida [3].

A espécie *Piper tuberculatum* Jacq. tem aproximadamente 2 a 2,5 m de altura é um arbusto, com folhas de bainha alada, nervuras ascendentes em número de 8 – 10 pares, penínervias, dispostas até o ápice da lâmina. Espigas eretas, com 4 a 7 cm

de comprimento; pedúnculo de 1 a 1,5 cm comprimento, esta espécie pode ser encontrada tanto em florestas como em áreas urbanas, seu crescimento é rápido pois nascem em lugares com umidade e com facilidade, conhecida popularmente como pimenta longa. Estudos com essa espécie mostram uma grande quantidade de metabolismo importantes que contém atividades biológicas [4].

A fitoquímica é a área responsável pelo estudo dos princípios ativos de drogas vegetais. Esses princípios ativos são chamados de metabólitos secundários ou metabólitos especiais, os quais fazem parte do metabolismo dos vegetais, conferindo proteção para as plantas (proteção contra ataques de insetos e herbívoros, contra a radiação ultravioleta, proteção contra doenças, etc.) [5].

Além disso, os metabólitos secundários possuem atividade biológica, oferecendo benefícios também à saúde humana. É uma área de atuação de biólogos, botânicos, farmacêuticos e químicos, e tem como objetivo a extração, isolamento, purificação e determinação da estrutura química dos constituintes presentes em extratos de plantas com atividade biológica. Entre as classes de princípios ativos vegetais podemos citar: alcaloides, cumarinas, esteroides, flavonoides, glicosídeos cardioativos, lignanas, óleos essenciais, saponinas, triterpenos, entre outras pesquisas que envolvam a fitoquímica [6].

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas da planta *P. tuberculatum* mais conhecido popularmente por pimenta longa, 443,68 g de inflorescência, 1.293,09 g de folhas e

1.044,66 g de talos. Em seguida, colocadas para secar na estufa a 50° C por 72 horas, depois de secas as amostras foram trituradas e em seguida pesadas, sendo que as inflorescências ficaram com 126,48 g; as folhas com 305,13 g e os talos 261,53 g. Em paralelo a isso, as amostras foram colocadas em álcool 96° onde a quantidade necessária foi de 400 mL para inflorescências, 2.700 mL para as folhas e 1.750 mL para os talos. O teste fitoquímico foi baseado na coloração e precipitação do extrato das estruturas vegetais, as quais seguem:

### 2.1. ALCALOIDES

Para realizar o ensaio utilizou-se 2,0 mL da solução etanólica, sendo adicionado 2,0 mL de ácido clorídrico (10 %), onde aqueceu mistura por 10 minutos. Após o resfriamento, o extrato foi dividido em três tubos de ensaios e colocaram-se oito gotas, utilizando pipeta de Pasteur, dos seguintes reativos de reconhecimento:

**Tubo 1** - Reativo de Mayer: observando formação de precipitado branco ou leve turvação branca;

**Tubo 2** - Reativo de Dragendorff: observando formação de precipitado de coloração laranja a vermelho;

**Tubo 3** - Reativo de Wagner: observando formação de precipitado de coloração alaranjado.

### 2.2. GLICOSÍDEOS CARDIOTÔNICOS

A 2,0 mL de solução do extrato foi adicionado 3,0 mL de solução de acetato de chumbo a 10 % e 2,0 mL de água destilada. Aqueceu a mistura em banho-maria durante 10 minutos. Em

seguida, o extrato foi filtrado e agitado com 10,0 mL de clorofórmio, separando a fase clorofórmica em 4 tubos de ensaio. Após a evaporação do clorofórmio, obteve-se a formação de resíduos nos tubos, os quais foram acrescidos dos seguintes reagentes:

**Tubo 1:** Realizou-se a reação de Salkowski para a determinação de núcleo esteroidal. Coloração indo do amarelo para o roxo é um resultado positivo.

**Tubo 2:** 1,0 mL de Reativo de Kedde.

Coloração rosa ou azul-violeta ao visível indica cardenólidos, os bufadienólidos não reagem. A cor se atenua em poucos minutos.

**Tubo 3:** Realizou-se a reação de Keller-Kiliani (ácido acético glacial, numa gota de cloreto férrico III a 5% em metanol e ácido sulfúrico concentrado). Colorações intensas é resultado positivo.

**Tubo 4:** Realizou-se a reação de Liebermann-Burchard (1,0 mL da amostra/algumas gotas de ácido acético + 3,0 mL anidrido acético/ácido sulfúrico (50:1, v/v). Resultado positivo: coloração verde, azul esverdeado, roxo a azul.

**Tubo 5:** Realizou-se a reação de Baljet (1,0 mL da amostra/oito gotas de ácido acético + 3,0 mL de clorofórmio). Resultado positivo: coloração laranja, roxo ou vermelho.

**Tubo 6:** Realizou-se a reação de Raymond (Filtraram-se o extrato e adicionaram-se 2 gotas de solução de cloreto férrico a 10% + duas gotas de acetato de chumbo a 10%). Resultado positivo: coloração indo do amarelo ao roxo.

### 2.3. CUMARINAS

Em um tubo de ensaio colocou-se 2,00 mL da solução etanólica, tampou-se com papel de filtro impregnado em solução 10% de NaOH e levou-se a banho de água a 100°C por alguns 10 minutos. Removeu-se o papel-filtro e examinou-se sob luz ultravioleta. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

#### 2.4. FLAVONOIDES

Esta pesquisa baseia-se na modificação da estrutura do flavonoide em presença de ácido. Colocou-se em um tubo, 2,0 mL do extrato etanólico, sendo adicionado duas gotas de acetato de chumbo a 10%. A presença de um precipitado corado indica positividade da reação.

#### 2.5. TANINOS

A 2,00mL do extrato etanólico, adicionou-se 10 mL de água destilada. Filtraram-se e adicionaram-se duas gotas, utilizando a pipeta de pasteur, da solução de cloreto férrico a 10%. Coloração azul indica possível presença de taninos hidrolisáveis, e coloração verde de taninos condensados.

#### 2.6. SAPONINAS

Neste ensaio, com 2,0 mL da solução etanólica, foi adicionado 5,0 mL de água destilada

fervido. Após resfriamento, agitou-se vigorosamente, deixando em repouso por 20 minutos. Classifica-se a presença de saponinas pela formação de espumas.

#### 2.7. TRITERPENOS

Neste ensaio, com 2,0 mL da solução etanólica, foi adicionado 5,0 mL de clorofórmio. Após filtração, o extrato foi dividido em duas porções. Em cada um dos tubos realizaram-se as reações de Liebermann-Burchard e Salkowski. Os triterpenos desenvolvem coloração estável e os esteroides desenvolvem coloração mutável com o tempo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como resultado da identificação de classes de metabólitos secundários das inflorescências de *P. tuberculatum*, sendo positivo para alcaloides em dois reagentes (Wagner, Dragendorff), glicosídeo cardiotônico nos reagentes (Keller-Killiani, Lieberman, Salkowski, Baljet, Raymond-Marthoud), triterpenos nos reagentes (Liebermann-Burchard, Salkowski), cumarinas, taninos condensados. Sendo negativos para alcaloides no reagente de Mayer, glicosídeos cardiotônicos no reagente Kedde, flavonoides, taninos hidrolisáveis e para saponinas, conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Reconhecimento de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico das inflorescências de *P. tuberculatum*

<b>Alcaloides</b>	<b>Presença ou Ausência</b>	<b>Coloração</b>
Reagente de Mayer	Negativo	
Reagente de Wagner	Positivo	Laranja claro
Reagente de Dragendorff	Positivo	Laranja forte
<b>Glicosídeos Cardiotônicos</b>		
Reagente de Kedde	Negativo	Amarelo
Reagente de Keller-killiani	Positivo	Vermelho
Reagente de Lieberman	Positivo	Vermelho
Reagente de Salkowski	Positivo	Laranja
Reagente de Baljet	Positivo	Amarelo
Reagente de Raymond-Marthoud	Positivo	Amarelo
<b>Cumarinas</b>	Positivo	Inflorescência
<b>Flavonoides</b>	Negativo	Verde
<b>Taninos</b>		
Hidrolisáveis	Negativo	Verde
Condensados	Positivo	Verde
<b>Saponinas</b>	Negativo	Verde
<b>Triterpenos e/ou Esteroides</b>		
Liebermann Buchard	Positivo	Verde
Salkowski	Positivo	Laranja

Para as folhas de *P. tuberculatum*, foram positivos: glicosídeo cardiotônico nos reagentes (Keller-Killiani, Lieberman, Salkowski, Baljet, Raymond-Marthoud), triterpenos no reagente Liebermann-Buchard, Salkowski, cumarinas e para taninos condensados. Sendo negativos para todos os

alcaloides nos três reagentes (Mayer, Wagner, Dragendorff), glicosídeo cardiotônico no reagente Kedde, triterpenos no reagente Salkowski, flavonoides, taninos hidrolisáveis e para saponinas, conforme Tabela 2.

**Tabela 2.** Reconhecimento de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico das folhas de *P. tuberculatum*

<b>Alcaloides</b>	<b>Presença ou Ausência</b>	<b>Coloração</b>
Reagente de Mayer	Negativo	Verde
Reagente de Wagner	Negativo	Verde
Reagente de Dragendorff	Negativo	Laranja
<b>Glicosídeos Cardiotônicos</b>		
Reagente de Kedde	Negativo	Verde
Reagente de Keller-Killiani	Positivo	Marrom
Reagente de Lieberman	Positivo	Verde
Reagente Salkowski	Positivo	Amarelo
Reagente de Baljet	Positivo	Vermelho
Reagente de Raymond-Marthoud	Positivo	Laranja
<b>Cumarinas</b>	Positivo	Inflorescência
<b>Flavonoides</b>	Negativo	Verde
<b>Taninos</b>		
Hidrolisáveis	Negativo	Verde
Condensados	Positivo	Verde
<b>Saponinas</b>	Negativo	Verde
<b>Triterpenos e/ou Esteroides</b>		
Liebermann-Buchard	Positivo	Verde
Salkowski	Negativo	Verde

Enquanto que para os talos de *P. tuberculatum* os resultados foram positivos para alcaloides no reagente de Dragendorff, glicosídeos cardiotônicos nos reagentes (Keller-Killiani, Lieberman, Salkowski, Baljet, Raymond-Marthoud), triterpenos nos reagentes (Liebermann-Buchard, Salkowski), cumarinas e para taninos

condensados. Sendo negativos para alcaloides nos reagentes (Mayer, Wagner), glicosídeos cardiotônicos no reagente Kedde, flavonoides, taninos hidrolisáveis e para saponinas, conforme Tabela 3.

**Tabela 3.** Reconhecimento de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico dos talos de *P. tuberculatum* Jacq.

<b>Alcaloides</b>	<b>Presença ou Ausência</b>	<b>Coloração</b>
Reagente de Mayer	Negativo	Verde
Reagente de Wagner	Negativo	Verde
Reagente de Dragendorff	Positivo	Laranja
<b>Glicosídeos Cardiotônicos</b>		
Reagente de Kedde	Negativo	Verde
Reagente de Keller-killiani	Positivo	Vermelho
Reagente de Lieberman	Positivo	Azul
Reagente de salkowski	Positivo	Amarelo
Reagente de Baljet	Positivo	Laranja
Reagente de Raymond-Marthoud	Positivo	Laranja
<b>Cumarinas</b>	Positivo	Inflorescência
<b>Flavonoides</b>	Negativo	Verde
<b>Taninos</b>		
Hidrolisáveis	Negativo	Amarelo
Condensados	Positivo	Amarelo
<b>Saponinas</b>	Negativo	Verde
<b>Triterpenos e /ou Esteroides</b>		
Liebermann-Buchard	Positivo	Verde
Salkowski	Positivo	Laranja

Os metabólitos encontrados como alcaloides que são compostos orgânicos heterocíclicos, que possuem um ou mais nitrogênios em seu esqueleto carbônico, possuem origem vegetal e são aplicados principalmente na produção de fármacos naturais. Cientistas acreditam que a presença dos alcaloides nas plantas e na pele de alguns anfíbios funciona como mecanismo de defesa contra seus predadores, sistema de

armazenamento de energia, proteção contra a intensidade dos raios UV, agente de desintoxicação e biosíntese de biomoléculas vitais, tais como aminoácidos e proteínas. Os alcaloides estão presentes nas seguintes famílias Apocynaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Solanaceae, Berberidácea, porém as pesquisas se dirigiram para a família Rutaceae, em virtude desta família de vegetais apresentar características

importantes como a variedade de alcaloides de interesse[7].

Os glicosídeos cardiotônicos compreende uma classe de substâncias químicas formadas pela união de moléculas e os glicosídeos também são conhecidos por "heterosídeos" e podem desempenhar funções importantes nos organismos vivos, são importantes na terapêutica e estão presentes em plantas medicinais, tais como os cardiotônicos, destacando-se a digitoxina isolada de espécies do gênero *Digitalis*, no caso a *D. purpurea*, conhecida como dedaleira, e a digoxina, isolada de *D. lanata* [8].

As cumarinas são lactonas do ácido o-hidroxi-cinâmico além de serem utilizadas como fixadores de perfumes apresentam atividade antibiótica, broncodilatadora, fungicida, anticoagulante, vasodilatadora, espasmolítica e antitrombótica [9].

O flavonoide é a designação dada a um grande grupo de metabólitos secundários da classe dos polifenóis, componentes de baixo peso molecular encontrados em diversas espécies vegetais, e diferentes tipos de flavonóides são encontrados em frutas, flores e vegetais em geral, assim como no mel e em alimentos processados como chá e vinho. Os flavonóides são uma das classes de metabólitos secundários mais abundantes no reino vegetal e são muito importante pois seu efeito biológico tem ação anti-inflamatória, hormonal, anti-hemorrágica, anti-alérgica e anti-câncer. São ainda responsáveis pelo aumento da resistência capilar e também denominados de fator P ou substância P, auxiliando na absorção da

vitamina C. Entretanto, o efeito mais importante é a propriedade antioxidante [8].

Os taninos são polifenóis de origem vegetal, com pesos moleculares geralmente entre 500 e 3000. Eles inibem o ataque às plantas por herbívoros vertebrados ou invertebrados (diminuição da palatabilidade, dificuldades na digestão, produção de compostos tóxicos a partir da hidrólise dos taninos) e também por microorganismos patogênicos é muito importante pois é usado para antídotos em intoxicações por metais pesados e alcalóides, adstringentes via externa: cicatrizantes, hemostáticos, protetores e reepitelizantes, via interna: antidiarreicos, anti-sépticos, antioxidantes, antinutritivos devido ao seu efeito complexante, diminuem a capacidade de absorção de ferro [10].

A saponinas são glicosídeos do metabolismo secundário vegetal, caracterizados pela formação de espuma, tendo propriedades de detergentes e surfactantes, que são compostos formados por uma parte hidrofílica e uma parte lipofílica. Na identificação laboratorial de presença saponinas podem ser realizados os testes de hemólise sanguínea (*in vitro*), as saponinas são componentes importantes para a ação de muitas drogas vegetais, destacando-se aquelas tradicionalmente utilizadas como expectorantes e laxantes [11].

Triterpeno é formado por uma diversificada classe de substâncias naturais, ou metabólitos secundários de origem vegetal, especialmente das coníferas, a utilização da então chamada regra do isopreno permitiu classificá-los e

estudá-los num primeiro momento, quando inúmeros terpenos foram isolados a partir de plantas superiores, muitos deles com valor comercial. Atualmente sabe-se que terpenos com aroma agradável são extraídos de essências de plantas, outros são a base de medicamentos convencionais ou as plantas que os contêm são fitoterápicos, alguns são precursores de vitaminas e outros inseticidas [12].

Por tanto, Facundo et al., ao realizar um estudo fitoquímico visam reconhecer os constituintes químicos fixos e voláteis, verificaram a presença 92,7% dos constituintes químicos detectados do óleo essencial dos talos finos da *P. tuberculatum* Jacq. dos quais 15,2% são monoterpenos e 77,5% são sesquiterpenos [13].

Testados em ensaios realizados com outras espécies da família das Piperaceae, utilizando frações de *P. gaudichaudianum* que possuem na composição a cromona, mostraram resultados que revelam ação antifúngica e antibacteriana, contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *C. tropicalis*, quando empregados em sinergismo com antibióticos utilizados na rotina clínica [14]

#### 4. CONCLUSÃO

Conclui-se que os estudos fitoquímicos desenvolvidos com as folhas, talos e inflorescências da espécie *P. tuberculatum* revelaram por meio de testes fitoquímicos à ausência ou presença de metabólitos secundários utilizando reagentes específicos. E que na literatura científica, alguns destes metabólitos secundários são utilizados no

que combate infecções e doenças, podendo assim beneficiar as plantas e o homem.

#### 5. REFERÊNCIAS

[1] INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 2004. **Mapa de Biomas do Brasil** (1: 5.000.000). Ministério do Meio Ambiente e Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasília, DF.

[2] BEZERRA, D.P., MILITÃO, G.C.G., CASTRO, F.O., PESSOA, C., MORAES, M.O., SILVEIRA, E.R., LIMA, M.A.S., ELMIRO, M.J.F., COSTA-LOTUFO, L.V. Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. **Toxicology in vitro**, v.21, p.1-8, 2007.

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

[4] GUIMARÃES, E. F.; GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do nordeste brasileiro I: estado do Ceará. **Rodriguésia**, v. 55, n. 84, p. 21-46, 2004.

[5] KAWA, L. **Química, Meio Ambiente e Edificações** (2015). Fitoquímica. Disponível em: <http://www.professoralucianekawa.blogspot.com/2015/01/fitoquimica.html>. [Acesso em 12 fev 2016].

[6] BARBOSA, W. L. R. et al. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista científica da UFPA**, v. 4, 2004. Disponível <http://www.ufpa.br/rcientifica> [Acesso em 12 fev 2016].

[7] SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. **Química Orgânica**. Rio de Janeiro: LTC Editora. 7.ed., 2001.

[8] DEWIK, P.M. **Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach**. 2nd ed., Chichester, John Wiley & Sons, 2002.

[9] SOUZA, S. M. **Atividade Antibacteriana de Cumarinas Naturais e Derivados**. 2005. 94f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 2005.

[10] GULBENKIAN, 2001. v.3. 992 p. Il. [2]. SIMÕES, CLÁUDIA MARIA OLIVEIRA et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

[11] WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The Impact of Saponins or Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant Production - A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.21, p.8093–8105, 2005.

[12] SIMÕES, C.M.O. et al. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis, Ed. Universidade UFRGS/Ed. da UFSC, 1999.

[13] FACUNDO, V.D.; POLLLI, A.R.; RODRIGUES, R.V.; MILITÃO, J.S.L.T.; STABELLI, R.G.; CARDOSO, C.T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H.B.K. **Acta Amazônica**, v.38, n.4, p.733-742, 2008.

[14] PUHL, M.C.M.N.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, T.U.; NAKAMURA, C.V.; FILHO, B.P.D. Antimicrobial Activity of *Piper audichaudianum* Kuntze and Its Synergism with Different Antibiotics. **Molecules**, v.16, n.1, p. 9925-9938, 2011.