



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, E POTENCIAL
ANTIMICROBIANO DE COMPLEXO DE VANÁDIO E FERRO,
TENDO COMO LIGANTES PRODUTOS NATURAIS**

Giselle Barbosa Bezerra

Recife,
Fevereiro/2016

Giselle Barbosa Bezerra*

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, E POTENCIAL
ANTIMICROBIANO DE COMPLEXO DE VANÁDIO E FERRO,
TENDO COMO LIGANTES PRODUTOS NATURAIS**

Dissertação de mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Química como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Química pela Universidade Federal
Rural de Pernambuco.

Orientador: Clécio Souza Ramos

* Bolsista CAPES

Recife,
Fevereiro/2016

Ficha catalográfica

B574s Bezerra, Giselle Barbosa

Síntese, caracterização, e potencial antimicrobiano de complexo de vanádio e ferro, tendo como ligantes produtos naturais / Giselle Barbosa Bezerra. – Recife, 2016.

97 f. : il.

Orientador: Clécio Souza Ramos.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química)
– Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Química, Recife, 2016.

Inclui referências e anexo(s).

1. Pipartina 2. Ácido trans-3,4metilenodioxicinâmico
3. Atividade antimicrobiana 4. Organometálico I. Ramos,
Clécio Souza, orientador II. Título

CDD 540

Giselle Barbosa Bezerra

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, E POTENCIAL
ANTIMICROBIANO DE COMPLEXO DE VANÁDIO E FERRO,
TENDO COMO LIGANTES PRODUTOS NATURAIS**

DISSERTAÇÃO AVALIADA E APROVADA PELA BANCA EM:

___/___/___

Prof. Dr. Clécio Souza Ramos (DQ-UFRPE)
Orientador

Profa. Dr. Lourinalda Luiza Dantas da Silva Selva de Oliveira (DQ-UFRPE)
1ª Examinadora

Prof. Dr. Wagner Eduardo da Silva (DQ-UFRPE)
2º Examinador

DEDICO

Aos meus pais Iolanda e Carlos por todo carinho, incentivo, e companheirismo ofertado ao longo da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e sempre me dá forças em inúmeros momentos de fraqueza.

Ao meu orientador Prof. Dr. Clécio Souza Ramos, por desde o primeiro instante me dá total confiança e por todos os ensinamentos que contribuíram para minha formação profissional e pessoal.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós- graduação em Química, pelo espaço concedido e a oportunidade da concretização deste trabalho.

Ao professor Wagner Silva, pela colaboração e instrução para a concretização desse trabalho.

Aos professores André Liesen, João Rufino e Mônica Belian pelos ensinamentos transmitidos dentro e fora da sala de aula.

Aos meus amigos do Laboratório de Ecoquímica e Síntese Orgânica (LEQSO), Marcílio Fontes, Mauricélia Mata, Leonardo Alexandre, Rodrigo Avelino, Aldicéia Moura, Luiz Alberto, Andreza Custodio, Jéssica Bruna, Elaine Cristina, Raphaela Souza, Drielly Oliveira, Heloiza Helena, Juliana Rodrigues, Blender Alves e Maria Rita, por todo apoio e companheirismo. Foi um prazer enorme ter conhecido todos vocês e fazer parte dessa grande família.

A Queila Patrícia, Jucleiton Freitas, Maria Eduarda e Renata Ferraz pelas palavras de incentivo e confiança ao longo da minha jornada acadêmica.

Aos colegas de sala, Susiany Lopes, Edna Bezerra, Jozivania Teles, Filipe Belarmino, Deivson Aguiar e Alex France por todos os momentos compartilhados e incentivos.

Aos meus amigos Fabiana Aquino, Marcílio Fontes, Luiz Alberto, Lidiane Macedo e Patrícia Oliveira pelo companheirismo, e auxílio na concretização deste trabalho.

Ao Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE (CENAPESQ), Laboratórios de Coleção Microbiana e Genética de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos (DANTI-UFPE) e Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF-UFPE), pelas análises fornecidas.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo financiamento da bolsa.

A todos que contribuíram de alguma forma para meu crescimento profissional e pessoal. Muito Obrigada!

**O coração do homem planeja o seu caminho, mas o SENHOR
lhe dirige os passos. (Provérbios, 16:9)**

**A grandeza de um ser humano não está no quanto ele
sabe, mas no quanto ele tem consciência que não sabe. O
destino não é freqüentemente inevitável, mas uma questão de
escolha. Quem faz escolha, escreve sua própria história,
constrói seus próprios caminhos. (Augusto Cury)**

RESUMO

Plantas há muito tempo vem sendo estudadas por conterem substâncias responsáveis por algum tipo de ação farmacológica. Esse fato deve-se em primeiro instante por serem utilizadas como terapêuticos pela população. A *Piper tuberculatum* é uma espécie da família *Piperaceae*, que acumula como metabólito secundário majoritário a amida Piplartina que possui diversas atividades biológicas descritas na literatura, assim como o ácido cinâmico que também é encontrado em plantas e exibe inúmeras atividades biológicas. Desta forma, o objetivo do trabalho foi direcionado para síntese, caracterização e potencial antimicrobiano de compostos de coordenação, tendo com ligantes produtos naturais complexados com vanádio e ferro. Com o ligante piplartina, um composto de coordenação inédito foi obtido com o vanádio. O complexo apresentou atividade antimicrobiana, principalmente frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Enterococcus faecalis* com CMI de 78, 156, 312 e 312 µg/mL, respectivamente, sendo mais ativo quando comparado com a amida piplartina frente a estas bactérias. A piplartina e seu respectivo complexo com vanádio não mostram citotoxicidade frente às células esplênicas de camundongos BALB/c até a concentração de 3,13 µg/mL. Três novos compostos foram obtidos da reação do ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico, um fenilpropanóide encontrado em espécies de *Piper*, com vanádio e ferro. O composto que apresentou maior atividade antimicrobiana foi o fenilpropanóide coordenada com o ferro, frente à bactéria *S. aureus* com CMI de 312,5 µg/mL e o fungo *Epidermophyton floccosum* com CMI de 625 µg/mL. Os complexos obtidos foram caracterizados com base nas interpretações de seus respectivos dados espectrais de IV, UV e pela análise de TGA.

Palavras-Chave: Piplartina, Ácido *trans*-3,4metilenodioxicinâmico, Atividade antimicrobiana, Organometálico.

ABSTRAT

Plants have long been under study for containing substances responsible for some kind of pharmacological action. This fact must be first time for use as therapeutic by the population. *Piper tuberculatum* is a species of the family *Piperaceae*, which accumulate as the major secondary metabolite piplartine amide having diverse biological activities described in the literature, as well as cinnamic acid is also found in plants and exhibits numerous biological activities. Thus, the aim of this work was directed to the synthesis, characterization and antimicrobial potential of organometallic compounds, and binders with natural products complexed with vanadium and iron. With piplartine binder, a novel coordination compound was obtained with the vanadium. The complex showed antimicrobial activity, especially on the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterococcus faecalis* with IGH 78, 156, 312 and 312 $\mu\text{g/mL}$, respectively, being more active when compared to the amide piplartine against these bacteria. The piplartine and its corresponding complex with vanadium show no cytotoxicity front of spleen cells from BALB/c mice up to a concentration of 3.13 $\mu\text{g/mL}$. Three new compounds have been obtained from the reaction of *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico acid, a phenylpropanoid found in Piper species, vanadium and iron. The compound showed higher antimicrobial activity was the acid with iron, opposite to *S. aureus* MIC 312.5 $\mu\text{g/mL}$ and fungal *Epidermophyton floccosum* with IGH 625 $\mu\text{g/mL}$. The obtained compounds were characterized on the basis of their respective interpretations spectral data IR, UV and by the TGA analysis.

Key-words: Piplartine, Acid *trans*-3,4-methylenedioxy cinnamic, Antimicrobian Activity, Organometallic.

SUMÁRIO

Resumo.....	vii
Abstrat.....	viii
Lista de Figuras.....	xi
Lista de Tabelas.....	xiv
Lista de Esquemas.....	xv
Lista de Símbolo e abreviatura.....	xvi
1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Química de Produtos Naturais	15
1.2 Família <i>Piperaceae</i>	16
1.2.1 Gênero <i>Piper</i>	17
1.2.2 Fitoquímica e atividades biológicas do gênero <i>Piper</i>	19
1.3 <i>Piper tuberculatum</i>	24
1.3.1 Piplartina.....	25
1.4 Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico.....	27
1.5 Vanádio	29
1.5.1 Propriedades Químicas do Vanádio.....	30
1.5.2 Propriedades Biológicas do Vanádio	31
1.5.3 Atividades Biológicas de Complexos de Vanádio.....	33
1.6 Ferro	35
1.6.1 Propriedades Químicas do Ferro.....	36
1.6.2 Propriedades Biológicas do Ferro	38
1.6.3 Complexos de Ferro	39
1.7 OBJETIVOS	43
1.7.1 Objetivo Geral	43
1.7.2 Objetivos Específicos	43
2. MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1 Lista de Material.....	44
2.2 Equipamentos	44
2.3 Obtenção da Piplartina	44
2.4 Síntese do Complexo de Piplartina	45

2.5 Síntese do Complexo do Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico com Metais	46
2.5.1 Síntese do Complexo Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico / Vanádio (A-V)	46
2.5.2 Síntese do Complexo Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico / Ferro (A-F)	46
2.5.3 Síntese do Complexo Ácido / Vanádio / Ferro (A-V-F)	46
2.6 Atividade Biológica	47
2.6.1 Atividade Antimicrobiana.....	47
2.6.2 Teste de Difusão em Disco.....	48
2.6.3 Determinação da Concentração Mínima Inibitória – CMI	49
2.6.4 Leitura da Microplaca	50
2.7 Atividade Citotóxica.....	50
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.1 Obtenção e caracterização da piplartina das raízes de <i>P. tuberculatum</i>	51
3.2 Obtenção do complexo da Piplartina.....	55
3.3.2. Análise Termogravimétrica	58
3.4 Atividade Biológica	61
3.4.1 Difusão em Disco	61
3.4.2 Concentração Mínima Inibitória- CMI.....	62
3.5 Citotoxicidade da PIP e do V-PIP.	64
3.6 Obtenção dos Complexos do Ácido <i>trans</i> -3,4-metilendioxicinâmico	65
3.8 Atividade Biológica dos Complexos do Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico.....	72
3.8.1 Concentração Mínima Inibitória – CMI.....	72
4. CONCLUSÃO.....	75
5. PERSPECTIVA.....	76
6. REFERÊNCIAS.....	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da morfina, quinina e estriquinina, respectivamente.....	15
Figura 2: Exemplos de espécies do gênero <i>Piper</i>	17
Figura 3: Exemplos de metabólitos secundários isolados do gênero <i>Piper</i>	19
Figura 4: <i>Piper nigrum</i> (folhas e fruto).....	20
Figura 5: Estruturas das quatro amidas isoladas de <i>P. reticulatum</i>	21
Figura 6: Amidas isoladas de <i>P. seutifolium</i>	22
Figura 7: Estrutura química da amida (Piperidina) isolada de <i>P. arboreum</i>	22
Figura 8: Estrutura das amidas isoladas dos frutos de <i>P. retrofractum</i>	23
Figura 9: Estruturas químicas isoladas da <i>P. amalago</i>	23
Figura 10: <i>P. tuberculatum</i>	24
Figura 11: Estrutura química da piplartina.....	25
Figura 12: Estruturas químicas dos ácidos <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico e cinâmico	27
Figura 13: Estruturas químicas do vanádio +5 e +4, respectivamente.....	30
Figura 14: Geometria de coordenação mais comuns dos compostos de vanádio (IV) e (V).....	31
Figura 15: Estruturas moleculares dos três complexos Oxidovanadio.....	34
Figura 16: Síntese dos complexos 1 e 2. R= H (complexo 1) e R= Cl (complexo 2)....	34

Figura 17: Complexo de ferro (III) com o ligante tripodal N ₃ O.....	37
Figura 18: Estrutura da hemoglobina.....	38
Figura 19: Complexo 1 (ferro-alfanaftol-HBPA).....	40
Figura 20: Complexo 2 (ferro-betanaftol - HBPA).....	40
Figura 21: Estrutura do complexo [Fe(PDC) ₂].H ₅ O ₂ ⁺	41
Figura 22: Síntese de complexos 1 e 2 com o Fe (III).....	42
Figura 23: Espectro de infravermelho do ligante PIP em pastilha KBr.....	52
Figura 24: Espectro de RMN ¹ H do ligante PIP.....	53
Figura 25: Espectro de RMN ¹³ C do ligante PIP.....	54
Figura 26: Cristais e estrutura química da piplartina.....	54
Figura 27: Complexo V-PIP.....	55
Figura 28: Espectro na região UV-Vís do ligante Piplartina e do complexo V-PIP.....	56
Figura 29: Espectro na região UV-Vís do complexo V-PIP.....	57
Figura 30: Espectro de infravermelho do complexo V-PIP (KBr).....	57
Figura 31: Curvas termogravimétricas do ligante PIP e do complexo V-PIP.....	59
Figura 32: Estrutura química do complexo V-PIP obtido da reação da piplartina com o sulfato de vanadila.....	60
Figura 33: Produtos reacionais A-V-F, A-V e A-F, respectivamente.....	65
Figura 34: Espectro de infravermelho do ácido trans-3,4-metilenodioxicinâmico em pastilha de KBr.....	66

Figura 35: Espectro de infravermelho do composto A-F em pastilha KBr.....	67
Figura 36: Espectro na região do UV-Vís do ácido trnas-3,4-metilenodioxicinâmico em solução.....	68
Figura 37: Espectro na região do UV-Vís do composto A-F.....	69
Figura 38: Espectro de infravermelho do composto A-V em pastilha KBr.....	70
Figura 39: Espectro na região do UV-Vís do composto A-V.....	71
Figura 40: Espectro de infravermelho do composto A-V-F em pastilha KBr.....	71
Figura 41: Espectro na região do UV-Vís do composto A-V-F.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atividades biológicas e metabólitos secundários isolados do óleo essencial de algumas espécies do gênero <i>Piper</i>	20
Tabela 2: Alguns derivados de ácidos cinâmico, sua propriedade biológica e sua estrutura química.....	28
Tabela 3: Micro-organismos testes utilizados na atividade antimicrobiana.....	48
Tabela 4: Resultados obtidos experimentalmente comparados com o calculado no TGA.....	60
Tabela 5: Atividade antibacteriana da PIP e do V-PIP.....	62
Tabela 6: Concentração Mínima Inibitória–CMI da PIP e do V-PIP em µg/mL.....	63
Tabela 7: Citotoxicidade dos compostos PIP e V-PIP.....	64
Tabela 8: Concentração Mínima Inibitória – CMI dos compostos A-F, A-V e A-V-F.....	73

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Hidrólise de sal de Ferro (III).....37

Esquema 2: Proposta de síntese do composto de coordenação à base de vanádio....45

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

HST	Herbário Sérgio Tavares
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFPEDA	Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
TGA	Análise Termogravimétrica
FTIR	<i>Fourier</i> Transform Infrared Spectroscopy (Espectroscopia de Infravermelho com transformada de <i>Fourier</i>)
IV	Infravermelho
UV-VIS	Ultravioleta-Visível
δ	Deslocamento Químico
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
RPMI	Roswell Park Memorial Institute (meio de cultura)
PIP	Piplartina
V-PIP	Complexo Piplartina e Sulfato de Vanadila
A-V	Composto Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico com Sulfato de Vanadila
A-V-F	Composto Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico com Sulfato de Vanadila e Ferro III
A-F	Composto Ácido <i>trans</i> -3,4-metilenodioxicinâmico com Ferro (III)

1 INTRODUÇÃO

1.1 Química dos Produtos Naturais

Há muito tempo, os produtos naturais são utilizados pela humanidade para diversos fins, em particular as fontes de origem vegetais, que tem sido usada para o tratamento de diversas enfermidades e moléstias (VIEGAS Jr. e BOLZANI, 2006).

Teofrasto em 372 a.C. escreveu diversos livros sobre estudo botânicos onde há registro do uso da planta *Papaver somniferum*, conhecida devido o seu princípio ativo, o alcalóide morfina (PINTO *et al.*, 2002). O isolamento da morfina ocorreu em 1806, enquanto, a quinina e estriquinina em 1820, sendo considerados os primeiros relatos de obtenção de produtos naturais puros.

Dentre os medicamentos disponibilizados no mercado entre o período de 1981 e 2002, cerca de 28% destes possuem princípios ativos isolados de produtos naturais ou semissintéticos, sendo que 24% são sintéticos com grupos farmacofóricos baseados em estruturas de produtos naturais

Substâncias naturais como a morfina, quinina e estriquinina (Figura 1) são metabólitos secundários que ocorrem amplamente em diversos tecidos de plantas, sendo que estes metabólitos são considerados uma fonte de substâncias candidatas ou como protótipos a fármacos.

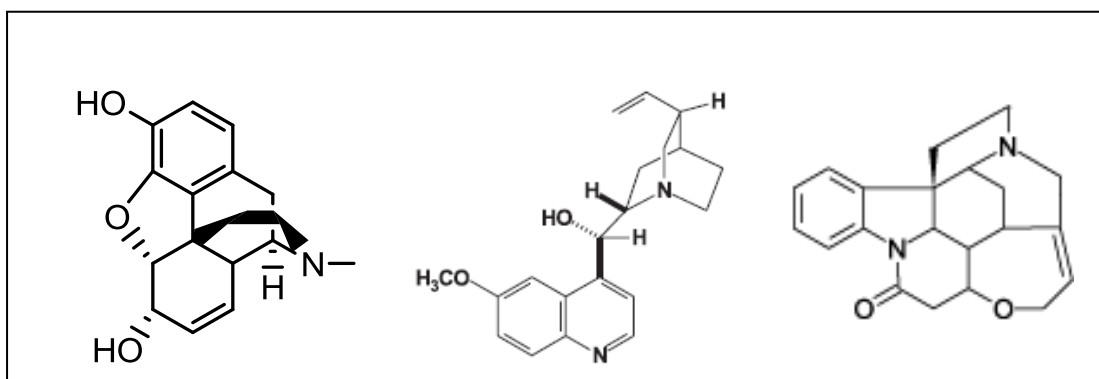


Figura 1: Estrutura química da morfina, quinina e estriquinina, respectivamente.

De acordo com Peres (2004), existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides. Os terpenos são biossintetizados via ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (nos cloroplastos). Enquanto que os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou acetilcoenzima A. Os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina e lisina). A função dos metabólitos secundários está associada à defesa química dos organismos contra predadores e microorganismos patológicos como fungos e bactérias, por isso, o estudo da caracterização química e potencial biológico dos metabólitos secundários são bastante explorados.

1.2 Família *Piperaceae*

A família *Piperaceae*, juntamente com a família *Chlorantaceae* têm sido classificadas como as mais primitivas Angiospermas, podendo ser consideradas como fósseis vegetais vivos (TAYLOR e HICKLEY, 1992). Embora não seja uma família considerada muito grande quando comparada com as demais, é uma das maiores representantes das angiospermas basais. Segundo Machado (2007), possui cerca de 3000 espécies distribuídas em oito gêneros. No Brasil ocorrem cerca de 500 espécies distribuídas em 5 gêneros: *Piper*, *Piperomia*, *Ottonia*, *Sarcohanchis* e *Manekia* que são encontradas principalmente na Mata Atlântica (SOUZA e LORENZI, 2005; KATO e FURLAN, 2007).

Espécies da família *Piperaceae* são conhecidas devido a sua importância econômica, biológica e ecológica devido à diversidade de metabólitos secundários biologicamente ativos como terpenos, pironas, lactonas, cromenos, chalconas, lignóides, amidas e alcalóides isolados de *Piperaceae* (KATO e FURLAN, 2007).

1.2.1 Gênero *Piper*

O gênero *Piper*, figura 2, pertencente à família *Piperaceae* tem mais de 2000 espécies distribuídas em ambos os hemisférios e amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (PARMAR *et al.*, 1997). Há estimativa que o número de espécies desse gênero pode ser de 3000 (WANKE *et al.*, 2007).



Figura 2: Exemplos de espécies do gênero *Piper*.

Fonte: Google imagens.

Popularmente, algumas espécies são conhecidas pelo seu uso no tratamento de algumas enfermidades, sendo o uso decorrente de conhecimentos populares que variam de região para região. Como por exemplo, segundo Chaves *et al.*, (2006) na China, as folhas de *P. futokasura* são usadas no tratamento de arritmias cardíacas e da asma. Na Jamaica dores estomacais são tratadas com uma infusão das folhas de *P. aduncum* e *P. hispidum*. No México e Brasil, as folhas de *P. amalago* são usadas para aliviar dores estomacais e no combate a diversas infecções, enquanto, as folhas e talos de *P. marginatum* e *P. tuberculatum* Jack são utilizadas na Paraíba contra mordida de cobra e como sedativos (ARAÚJO-JUNIOR *et al.*, 1999).

A composição química de espécies do gênero *Piper* tem sido amplamente investigada, o que tem levado à descoberta e a elucidação estrutural de vários metabólitos fisiologicamente ativos (Figura 3), tais como: alcalóides, chalconas, hidrochalconas (PARMAR *et al.*, 1997), propenilfenóis (BENEVIDES *et al.* 1999), lignanas, neolignanas (RAMOS *et al.* 2008; MARTINS *et al.*, 2000), ácidos benzóicos prenilados (RAMOS *et al.*, 2009; LAGO *et al.*, 2004), terpenos (ANDRADE *et al.*, 1998), piperolídeos, flavonóides e flavanonas. Entretanto, apenas 10% de todas as espécies de *Piper* (112 de 1120 espécies conhecidas) foram investigadas fitoquimicamente, das quais foi isolado, até 2004, um total de 667 metabólitos secundários: 190 alcalóides/amidas, 49 lignanas, 70 neolignanas, 97 terpenos, 39 propenilfenóis, 15 esteróides, 18 kawapironas, 17 chalconas e hidrochalconas, 16 flavonas, 6 flavanonas, 4 piperolídeos e 146 compostos de variadas estruturas (DYER *et al.*, 2004; PARMAR *et al.*, 1997).

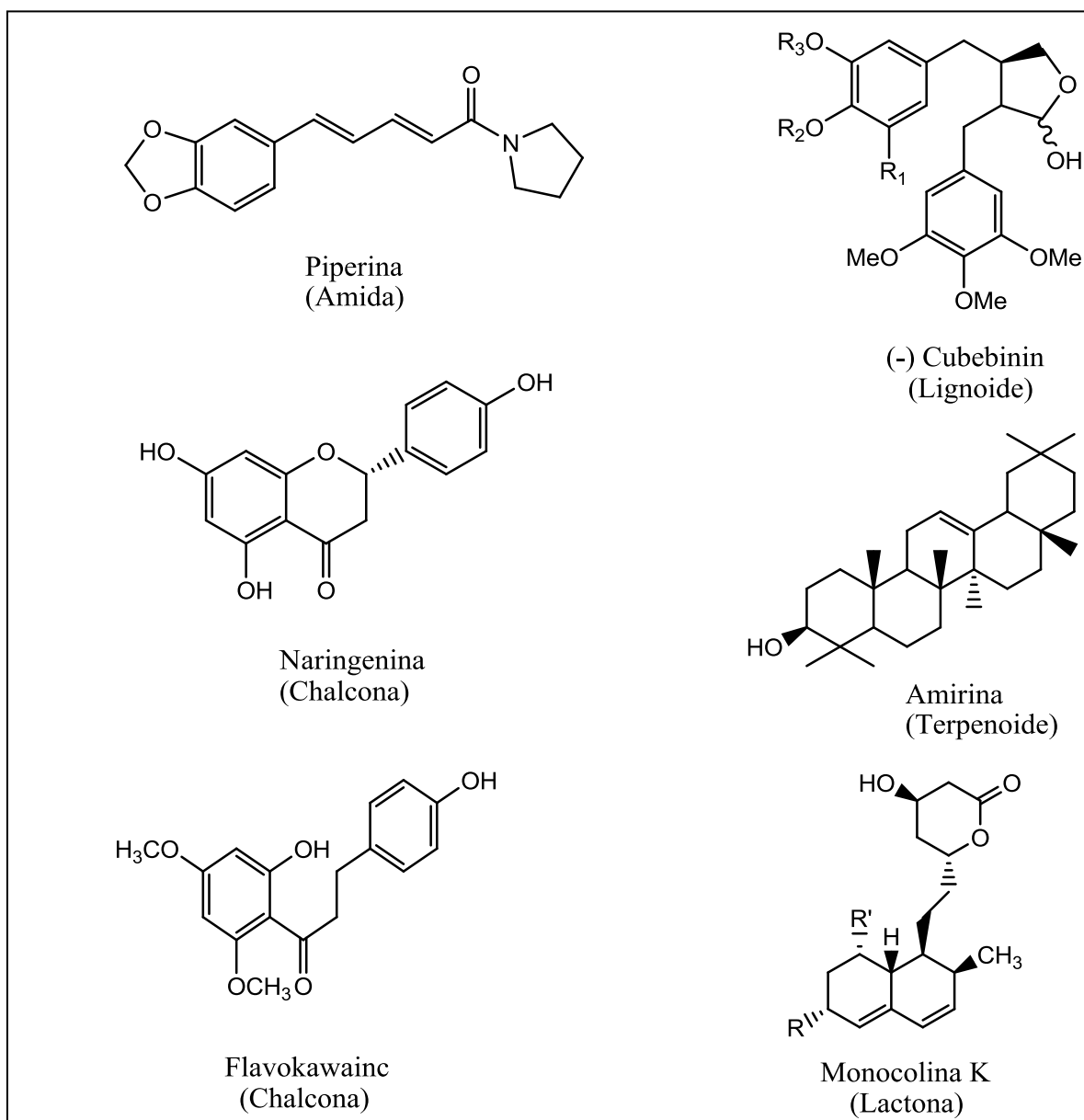


Figura 3: Exemplos de metabólitos secundários isolados do gênero *Piper*.

1.2.2 Fitoquímica e atividades biológicas do gênero *Piper*

A química das espécies no gênero *Piper* é bastante investigada devido o seu grande potencial biológico (Tabela 1). Dentre as atividades biológicas apresentadas por compostos isolados no gênero destacam-se o seu potencial inseticida atribuído a presença de amidas e derivados de fenilpropanóides.

Tabela 1: Atividades biológicas e metabólitos secundários isolados do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Piper*.

Espécie	Atividade	Substância	Referência
<i>P. nigrum</i>	Inseticida	Piperina	Garcez <i>et al.</i> , (2013)
<i>P. aduncum</i>	Anti -helmíntico	1,8-cineol (eucalipto)	Oliveira <i>et al.</i> , 2014
<i>P. guineesen</i>	Efeitos Anti-depressivos	Terpenos	Oyemitan <i>et al.</i> , (2015)
<i>P. alatabaccum</i>	Larvicida	Dilapiol	Santana, H. T., (2012)
<i>P. mikanianum</i>	Acaricida	Fenilpropanóides (apiol e safrol)	Ferraz <i>et al.</i> , (2010).
<i>P. auritum</i>	Leishmanicida	Safrol	Monzote <i>et al.</i> , (2010)
<i>P. affinis hispidinervum</i>	Inseticida	Sarisan	Fazolin, M. <i>et al.</i> , (s/d)
<i>P. arboreum</i>	Antimicrobiana	Curcumeno	Nascimento, (2013)
<i>P. hostmanianum</i>	Larvicida	Arilpropanóides	Morais <i>et al.</i> , (2007)

A *P. nigrum* (Figura 4) nativa da região Indo-malaia é conhecida como pimenta preta acumula em seus tecidos, como composto majoritário a amida piperina, princípio ativo da planta. Esta planta apresenta diversas atividades biológicas como antiinflamatória, antioxidante, analgésica, antitumoral, inseticida, antimicrobiana, antiúlcera, antileishmania, tripanocida e antivítligo (SINGH e CHOUDHARY, 2015).



Figura 4: *Piper nigrum* (folhas e fruto).

Fonte: <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/piper.htm>

Um estudo fitoquímico realizado por Silva, (2011) com extratos de diversas partes da planta adulta e de plântulas de *P. reticulatum* levou ao isolamento e caracterização de quatro amidas (Figura 5).

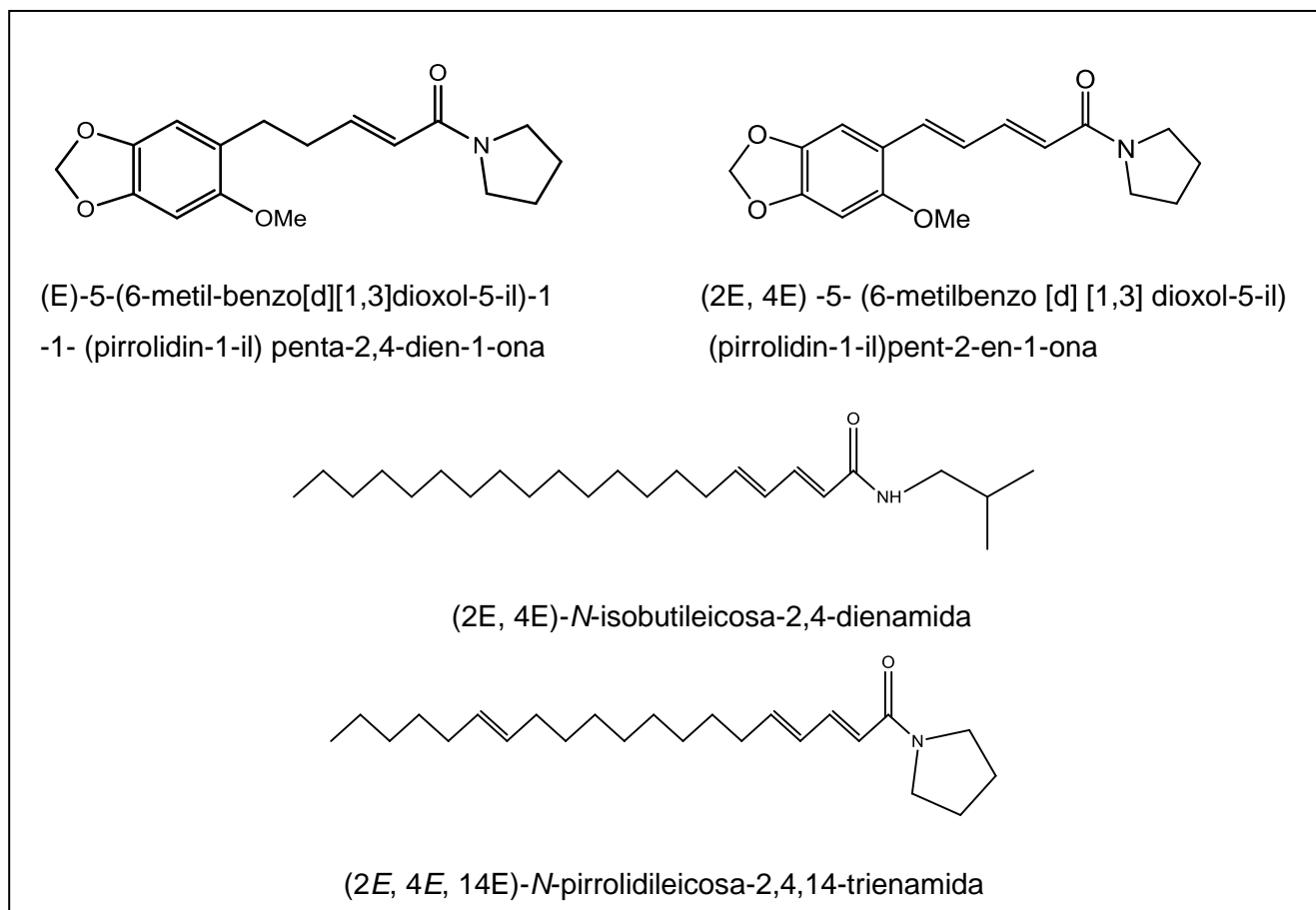


Figura 5: Estruturas das quatro amidas isoladas de *P. reticulatum*.

O extrato etanólico de *P. amalago*, um espécie usada na medicina popular como analgésico, mostrou atividade anti-hiperalgesia, antinociceptiva e anti-artrítico em roedores e atividade diurético, natriurético e efeitos antilitiásica (ARRIGO *et al.*, 2015; NOVAES, *et al.*, 2014). Já o extrato de folhas de *P. scutifolium* apresentou atividade antifúngica significativa contra *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* por meio do isolamento das amidas piperina, piperlonguminina e corcovadina (Figura 6) (MARQUES *et al.*, 2010).

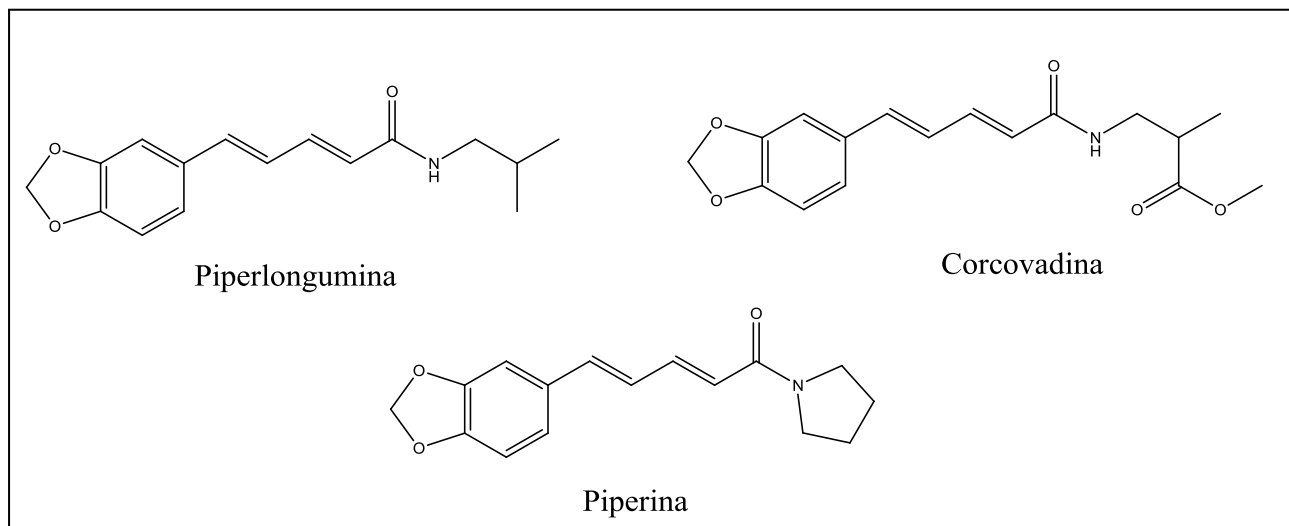


Figura 6: Amidas isoladas da *P. scutifolium*.

O óleo essencial de *P. arboreum* exibiu atividade antimicrobiana frente à bactéria *Staphylococcus aureus* e os fungos *Microsporium gypseum* e *Epidermophyton floccosum*, sendo identificados como compostos majoritários o curcumeno (45,1%), o *cis*-cadin-4-en-7-ol (12,07%) e o B-germacreno (9,73%). Os extratos etanólicos da folhas e raízes de *P. arboreum* apresentaram perfis químicos idênticos, sendo a amida piperidina (Figura 7) isolada como composto majoritário em ambos os extratos (NASCIMENTO *et al.*, 2015). Ainda o óleo essencial de *P. aduncum* considerado uma fonte natural de dilapiol, um potente inseticida natural, também apresentou atividade antimicrobiana (BRAZÃO, 2012). O extrato das folhas de *P. aduncum* causou mortalidade de 90-100% em ninfas do sugador de seivas *Diaphorina citri* (VOLPE *et al.*, 2015).

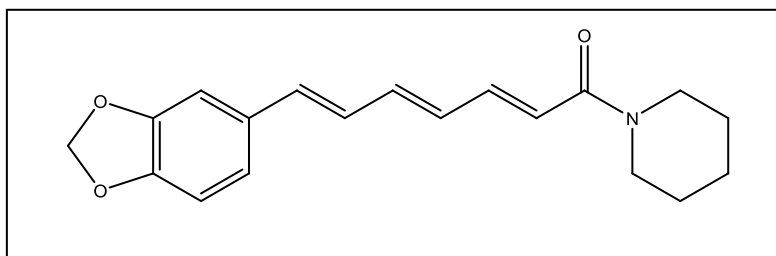


Figura 7: Estrutura química da amida (Piperidina) isolada de *P. arboreum*.

Na figura 8 estão apresentadas três novas amidas: (2*E*,14*Z*)-*N*-isobutileicosa-2,14-dienamida, dipiperamides F e G que foram isoladas a partir dos frutos de *P. retrofractum* (MUHARINI *et al.*, 2015).

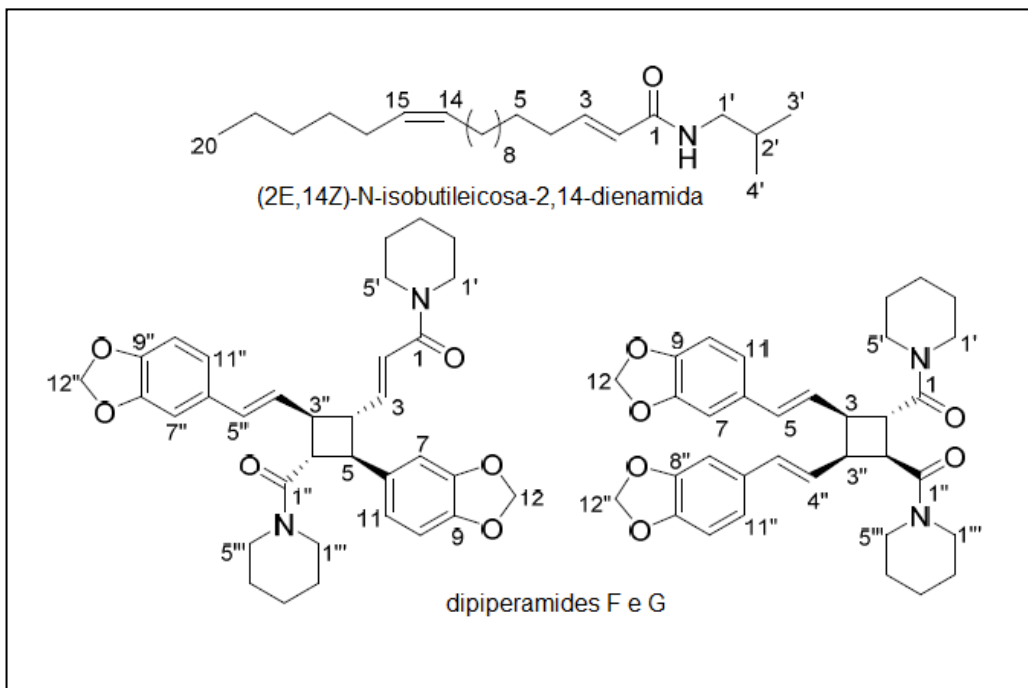


Figura 8: Estrutura das amidas isoladas dos frutos de *P. retrofractum*.

O extrato etanólico bruto das folhas de *P. amalago* apresentou atividade antioxidante e os compostos isolados desse extrato foram a flavona vitexina e o esteróide lupeol (Figura 9) (ROVANI *et al.*, 2013).

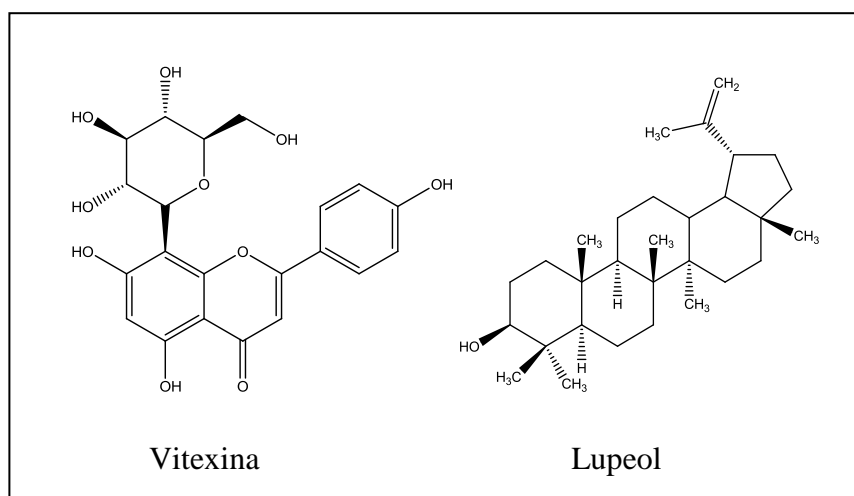


Figura 9: Estruturas químicas isoladas da *P. amalago*.

O extrato hidroetanólico das folhas de *P. umbellatum* mostrou atividade antibacteriana frente à *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, e *Enterococcus faecalis*, bem como baixa toxicidade aguda *in vitro* e *in vivo* em células epiteliais de ovário de *hamster* (DA SILVA Jr., *et al.*, 2014).

Os extratos brutos de diferentes partes de *P. reticulatum* L mostraram potente atividade antifúngica frente à *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* bem como atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (SILVA, 2011).

1.3 *Piper tuberculatum*

Segundo Guimarães e Giordano, (2004) a *P. tuberculatum* (Figura 10) está distribuída pelo Continente Americano e Antilhas. No Brasil, ocorre naturalmente nos estados do Amazonas, Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro e Mato Grosso. Cresce em altitudes próximas a 550 m, em encosta úmida, em áreas de capoeira e em locais brejosos.

O nome popular e o uso medicinal dessa planta variam de acordo com a região, onde no Nordeste é conhecida como pimenta-de-macaco. No Ceará também é conhecida como pimenta-longa, e é utilizada como estimulante e carminativa. Já no estado da Paraíba essa planta é usada como sedativo e como antídoto para picada de cobra, sendo conhecida localmente como pimenta d'arda (BRAGA, 1953; ARAÚJO-JUNIOR *et al.*, 1997).



Figura 10: *Piper tuberculatum*

Na literatura há várias pesquisas com espécies do gênero *Piper* (RODRIGUES, 2009; BALDOQUI *et al.*, 2009; SANTANA, 2012) e o estudo fitoquímico de *P. tuberculatum* revelaram a presença de algumas amidas, dentre elas dá-se destaque a amida piplartina.

1.3.1 Piplartina

Piper tuberculatum acumula como metabólito secundário majoritário a amida piplartina, 5,6-di-hidro-1-[1-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propenil]-2(1H)-piridinona, cuja estrutura é apresentada na figura 11. Isolada principalmente dos tecidos do caule e da raiz da espécie *P. tuberculatum*, a piplartina possui uma vasta gama de atividades biológicas como antileishmanicida, antifúngica e anticancerígena (ARAÚJO JUNIOR *et al.*, 1997; FELIPE *et al.*, 2007; BODIWALA *et al.*, 2007).

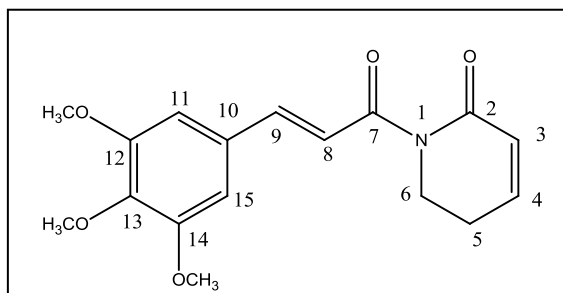


Figura 11: Estrutura química da piplartina.

Entre essas atividades a piplartina se destaca por possuir propriedades citotóxicas, com capacidade de matar células cancerosas de vários tipos, incluindo histo hematológica, cólon, pulmão, mama, sistema nervoso central, do pâncreas, da nasofaringe, ósseo, da bexiga, renal e da próstata (BEZERRA *et al.*, 2013; RAJ *et al.*, 2011). Sendo ainda eficaz na supressão do crescimento do tumor *in vivo* além de que o extrato bruto também apresenta atividade anticancerígena *in vitro* (ROH *et al.*, 2014; BEZERRA *et al.*, 2015).

Recentemente, a piplartina apresenta-se como um novo agente promissor para utilização no tratamento do câncer de mama, bem como outros cânceres que tenha o transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT-3) (BHARADWAJ *et al.*, 2015).

A genotoxicidade desse composto também é encontrada, bem como indução de apoptose em células V79 (células de mamíferos: fibroblastos), potencial mutagênico e recombinagênico em *Saccharomyces cerevisiae*. Sendo conhecida também por apresentar atividades ansiolíticas e antidepressivas significativas quando comparada ao benzodiazepínico diazepam disponível comercialmente (BEZERRA *et al.*, 2008; FELIPE *et al.*, 2007).

A piplartina apresenta um potente efeito leishmanicida quando testada no modelo *in vitro* contra promastigotos de *Leishmania denovani* na concentração de 100 µM. Esta atividade foi confirmada *in vivo* usando o modelo, em “hamster”, de leishmaniose visceral na dose de 30mg/Kg (BODIWALA *et al.*, 2007).

Em 2011 relatou-se pela primeira vez a atividade esquistossomicida dessa substância, em que a concentração de 15,8 IM reduziu a atividade motora de vermes causando mortalidade em 24 h. Posteriormente, foi retratada, a primeira descrição do efeito da piplartina em *S. mansoni* esquistossômulo. Além disso, alterações na superfície do tegumento dos esquistossômulos usando microscopia confocal de varredura a laser (MORAES *et al.*, 2011; MORAES *et al.*, 2012).

A piplartina também exibe atividade antifúngica, antiagregante plaquetário, tripanocida, antinocepitiva, e inseticida (NAVICKIENE *et al.*, 2000; FONTENELE *et al.*, 2009; CONTIGUIBA *et al.*, 2009; RODRIGUEZ *et al.*, 2009; NAVICKIENE *et al.*, 2003). Por demonstrar tantas atividades é uma molécula com um alto valor para ser candidata a fármacos, uma vez que sua modificação estrutural também apresenta algumas propriedades biológicas, como: anticancerígena (com atividade citostática), e antibacteriana (KUMAR *et al.*, 2013).

1.4 Ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico

O ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico (Figura 12) de fórmula molecular ($C_{10}H_8O_4$) é derivado do ácido cinâmico, precursor de diversos fenilpropanóides isolados de plantas.

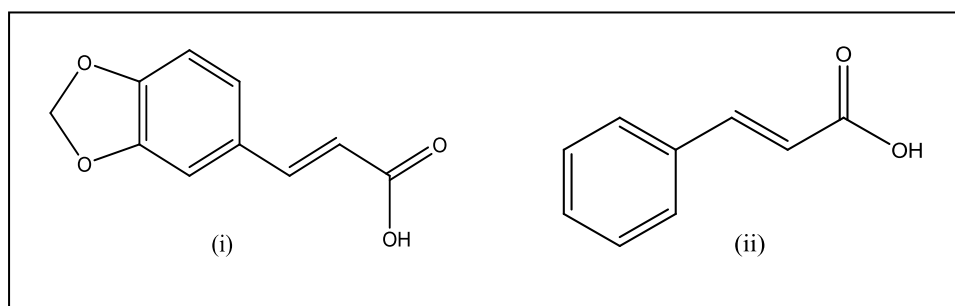
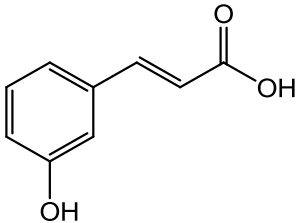
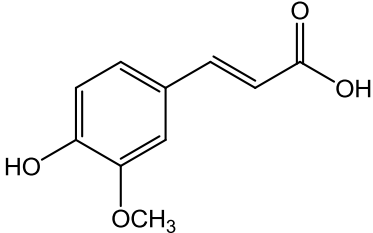
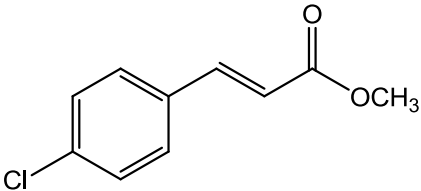
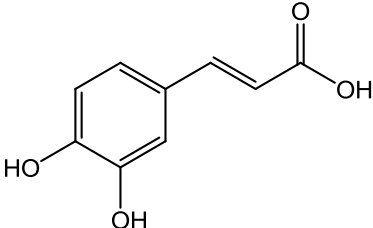
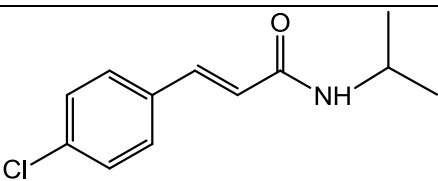
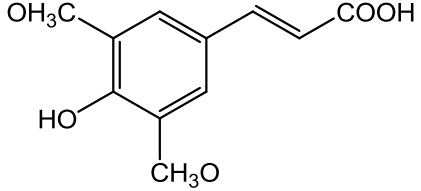
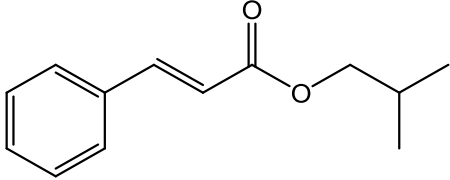


Figura 12: Estruturas químicas dos ácidos (i) *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico e (ii) cinâmico.

O ácido cinâmico é um fenilpropanóide biologicamente ativo e comumente encontrado em plantas, principalmente nos óleos essenciais da canela e folhas de coca (NIERO, 2010; LIU *et al.* 1995). Este ácido e seus derivados possuem diversas atividades biológicas como antimicrobiana, efeito hipolipidêmico, antioxidante, antidiabética, antiviral e anti-inflamatória (TABELA 2) (Sharma, 2011; JUNG *et al.*, 2007; LIU, *et al.*, 1995; EKMEKCIOGLU *et al.*, 1998).

Em particular, o ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico exibiu atividade antimicrobiana frente à bactéria *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv com Concentrações Mínimas Inibitórias - CMI de 312 μ M e outro superior a CMI de 520 μ M (GUZMAN *et al.*, 2014; CHENG *et al.*, 2012).

Tabela 2: Alguns derivados de ácidos cinâmico, sua propriedade biológica e sua estrutura química.

Derivado do Ácido Cinâmico	Ação Farmacológica	Estrutura Química
Ácido <i>m</i> -hidroxi cinâmico	Atividade antidiabética	
Ácido ferúlico	Atividade antidiabética e antioxidante	
Metil-4-clorocinamato	Atividade antifúngica	
Ácido caféico	Atividade antioxidante	
Isopropil-4-cloro cinamamida	Atividade antifúngica	
Ácido sinápico	Atividade ansiolítica e antioxidante	
Isobutil cinamato	Atividade antimicrobiana	

O ácido 3,4-metilenodioxicinâmico também tem sido usado como ligante em complexos de cério e neodímio na síntese de filmes poliméricos de poli (fluoreto de vinilideno) com potencial para aplicações ópticas (Aguiar *et al.*, 2013).

O primeiro relato de caracterização espectroscópica térmica do ácido 3,4-metilenodioxicinâmico foi realizado por Andrade e colaboradores, (2014) o qual também envolveu uma síntese de compostos bivalentes de manganês, ferro, cobalto, níquel, zinco e cobre, sugerindo que os mesmos apresentam-se como quelantes. Já Oliveira *et al.*, (2012) produziram um complexo com o ácido e o manganês juntamente com eletrodos de carbono modificados visando sua aplicação antioxidante no Propil Galato. Ainda no mesmo ano Oliveira *et al.*, (2012) estudaram o complexo do ácido 3,4 metilenodioxicinâmico com níquel como modificador de eletrodos de pasta de carbono objetivando sua utilização na determinação do antioxidante difenilamina.

1.5 Vanádio

O vanádio, um metal de transição pertencente ao grupo 5 e 4º período da tabela periódica, de número atômico 23 e com peso molecular de 50,94 foi descrito pela primeira vez pelo mineralogista Andrés Manuel del Rio em 1801. Ele referiu-se a esse novo elemento como pancrômio, devido o vanádio apresentar várias cores nos diferentes estados de oxidação. Trinta anos mais tarde, em 1831, o químico Nils Sefstrom isolou o vanádio na sua forma de óxido e o nomeou com esse nome devido a uma homenagem a uma deusa da beleza e da juventude chamada Vanadis, também em alusão as diversas cores dos seus compostos.

Sendo considerado o décimo quinto metal de transição mais abundante, o vanádio apresenta-se no estado sólido à temperatura ambiente, de cor clara e brilhante. Mas, é encontrado em baixas concentrações na crosta terrestre, cerca de 0.015%. Está associado à cerca de 70 minerais diferentes na natureza (dos quais se destacam aqueles em que se encontra associado a urânio, cobre, chumbo, zinco, fosfato e titânio ferroso), especialmente na forma de vanadatos ou pentóxidos de vanádio, de onde é, normalmente, extraído (GREENWOOD e EARNSHAW, 1997).

1.5.1 Propriedades Químicas do Vanádio

A coordenação e geometria dos compostos e minerais de vanádio são dependentes do seu estado de oxidação e do tipo de ligante coordenado. Este elemento forma estados de oxidação -1, 0, +2, +3, +4 e +5, sendo os três últimos os mais comuns (GREENWOOD e EARNSHAW, 1997; WHO, 1988). Essa variabilidade e as propriedades do vanádio podem ser associadas a sua configuração eletrônica, mais precisamente a sua camada de valência $[Ar] 4s^2 3d^3$ a qual permite a formação dos estados de oxidação.

A maior parte dos compostos de coordenação formados pelo vanádio contém oxigênio, devido a estarem em estados de oxidação mais elevados, tornando-o muito oxofílico. No estado +5, o vanádio existe como uma forma aniônica; VO_3^- , metavanadato ou VO_4^{3-} , ortovanadato. No estado +4, ele existe em uma forma catiônica; VO^{2+} , vanadil (Figura 13). O íon vanadila é uma espécie estável a pH ácidos, sendo a majoritária a pH 3. Apresenta-se na cor azulada e forma complexos penta e hexa coordenados. O vanádio V (V) é a forma mais estável num intervalo amplo de pH (CRANS, 2005; NRIAGU, 1998; SHECHTER *et al.*, 2003; CHASTEEN, 1983).

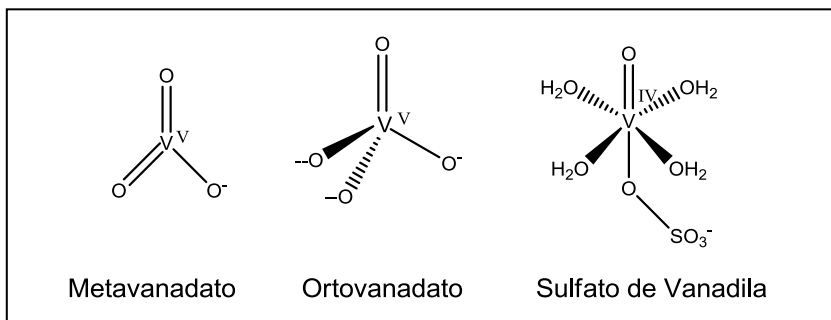


Figura 13: Estruturas químicas do vanádio +5 e +4, respectivamente.

O íon metavanadato, $[VO_3]_n^{n-}$, existe somente em estado sólido, e quando o composto é dissolvido em água, ele forma uma mistura de mono e oligovanadatos, dependendo do pH, da concentração total de vanádio e a força iônica do meio. Já o monômero VO_4^{3-} (ortovanadato; V1) está associado a uma grande parte da importância biológica do vanádio, uma vez que se trata de um análogo eletrônico e estrutural do

ortofosfato (PO_4^{3-}). A coordenação do ortovanadato pode ser tetraédrica ou bipiramidal trigonal (REHDER, 1995; CRANS *et al.*, 2004).

De acordo com Kepert, (1973) íons monoméricos de vanádio, geralmente abreviados com V1, são encontrados somente em soluções muito diluídas e o aumento nas concentrações, particularmente se a solução é ácida, leva à polimerização. Corroborando, Ferreira, (2009) afirma que “as espécies poliméricas são aniônicas, contendo mais de um átomo de vanádio ligados por átomos de oxigênio em pontes, formando espécies lineares ou cíclicas. Essas espécies poliméricas são conhecidas como isopoliânions”.

Geralmente, os compostos de coordenação de vanádio se apresentam nas seguintes geometrias: octaédrica, pirâmide de base quadrada e bipirâmide trigonal, em que há presença de um átomo de oxigênio na sua estrutura formando ligação dupla com o cátion V(V) ou V(IV), como mostra a figura 14.

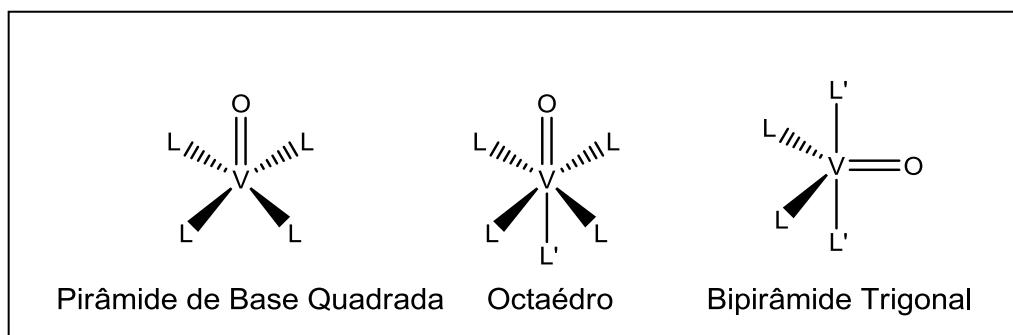


Figura 14: Geometria de coordenação mais comuns dos compostos de vanádio (IV) e (V). **OBS:** L e L' são ligantes diferentes.

1.5.2 Propriedades Biológicas do Vanádio

O vanádio desempenha papéis importantes no sistema biológico. No passado, os compostos de vanádio eram amplamente usados como agentes terapêuticos (para anemia, tuberculose, cáries dentárias e diabetes), como anti-séptico e como tônico (NRIAGU, 1998; SHECHTER *et al.*, 2003). Os usos farmacológicos do vanádio

aumentaram em grande escala, tendo maior destaque no seu uso contra diabetes, imitando o efeito da insulina no sangue. Como nos afirma Leichter e McNeill, (1993) e Nriagu, (1998) que os usos farmacológicos do vanádio incluem a redução dos níveis de colesterol, triglicerídeos e glicose, efeitos diuréticos e natriuréticos, contração dos vasos sanguíneos, aumento da afinidade por oxigênio da hemoglobina e mioglobina, e efeito anticarcinogênico.

Normalmente, a entrada do vanádio no organismo ocorre por inalação de poeiras e fumo ou, em menores quantidades, por absorção ao nível do trato gastrointestinal (<1-2 %). Sendo que a absorção e distribuição dos compostos de vanádio dependem da rota de entrada e da solubilidade dos mesmos nos fluidos corporais (ROSHCHIN *et al.*, 1980; WHO,1988).

No organismo, possui um papel bem diversificado, relatado por Etcheverry e Cortizo, (1998) em que é utilizado: no metabolismo do cálcio, ajudando na formação dos dentes e ossos, induzindo a sua mineralização; na reprodução e desenvolvimento, mimetizando e potenciando fatores de crescimento; na biossíntese de lípidos, inibindo, posteriormente, a sua acumulação nos vasos sanguíneos e no sistema nervoso central (SNC); no metabolismo da glicose, estimulando o consumo desta, bem como a síntese de glicogênio, pelo que possui capacidade para mimetizar e potenciar os efeitos celulares da insulina; na transdução de sinais celulares, regulando a atividade do RNA mensageiro; entre outras funções.

Entretanto, o vanádio também possui efeito tóxico no organismo, dependendo da via de administração utilizada. Segundo Mukherjee e Cortizo, (2004) a toxicidade dos compostos de vanádio aumenta com o aumento da valência, sendo o vanádio pentavalente a forma mais tóxica.

Pode-se assim concluir, que no caso particular dos seres humanos, o vanádio pode ser considerado um elemento essencial benéfico a baixas concentrações (1-10 nmol.L⁻¹) mas tóxico para concentrações mais elevadas (NECHAY, 1984).

1.5.3 Atividades Biológicas de Complexos de Vanádio.

O vanádio possui comportamento semelhante à insulina, e essa descoberta *in vitro*, e depois disponível como via oral da glicose e a capacidade de redução de lípidos deste mesmo composto *in vivo*, tem estimulado um interesse renovado na química de coordenação de vanádio. Segundo Thompson *et al.*, (2006) estudos realizados nas últimas décadas estabeleceram a capacidade de vanádio (V) e (IV) de exercerem diferentes efeitos insulino-miméticos e anti-diabéticos, *in vitro* ou *in vivo*. Além dos efeitos anti-diabéticos, o vanádio, também exhibe uma série de outros efeitos terapêuticos, incluindo anti-tumoral e anti-inflamatório (THOMPSON e ORVIG, 2001).

Das atividades de vanádio mencionadas e testadas na literatura, podemos citar o trabalho de Maurya *et al.*, (2001) em que a coordenação de salicilideno-S-benzilditiocarbazato para VO_2^+ foi mostrada afim de melhorar significativamente a atividade antiamebílica dos compostos orgânicos frente a *Entamoeba histolytica*, salientando a importância no potencial na medicação de amebíase. Segundo Kopf - Maier *et al.*, (1981) compostos orgânicos de vanádio, de modo particularmente vanadocenediclorida [Cp_2VCl_2] são ativos contra tumores em animais, tais como o tumor ascítico de Ehrlich (forma líquida desenvolvida no peritônio de animais inoculados com células tumorais) e determinados tipos de leucemia, com uma atividade comparável à cisplatina.

Mas, devido a alguns compostos apresentarem um elevado efeito tóxico no organismo, como por exemplo, o Vanadato que é consideravelmente tóxico, outros compostos estão sendo testados, uma vez que compostos de coordenação de vanádio são mais promissores para algumas atividades farmacológicas, principalmente da diabetes.

Como observado no trabalho de Léon *et al.*, (2013) o uso de alguns complexos com vanádio são eficientes em alguns tratamentos de câncer. Onde relataram ações anti-tumorais de três complexos oxidovanádio (IV) na linha celular MG-63 osteosarcoma humano (células com características de osteoblastos imaturos). Os três

complexos: VO (oda), VO (oda) bipi e VO (oda) fen (oda = oxodiacetato) (Figura 15), provocaram uma inibição na viabilidade celular dependente da concentração utilizada.

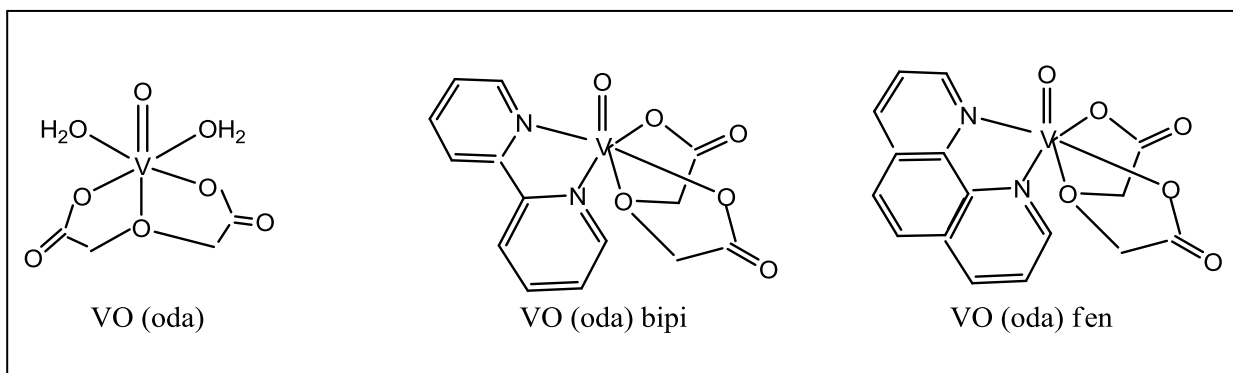


Figura 15: Estruturas moleculares dos três complexos Oxidovanádio.

Xie *et al.*, (2010) sugeriram uma substituição de cloro ao vanádio (V) dinuclear e avaliaram os complexos sob a redução hiperglicemia diabética. A priori, foram sintetizados os dois complexos de vanádio que envolvia novos grupos funcionais o salicilaldeído 2-hidroxi-etilendiamina (Figura 16). Onde os testes *in vivo* para a atividade insulínemimética mostraram que o complexo 1 tem um efeito de redução da glicose no sangue, enquanto complexo 2 a uma dose de 10,0 e 20,0 mg.kg⁻¹, poderiam reduzir significativamente o nível de glicose no sangue.

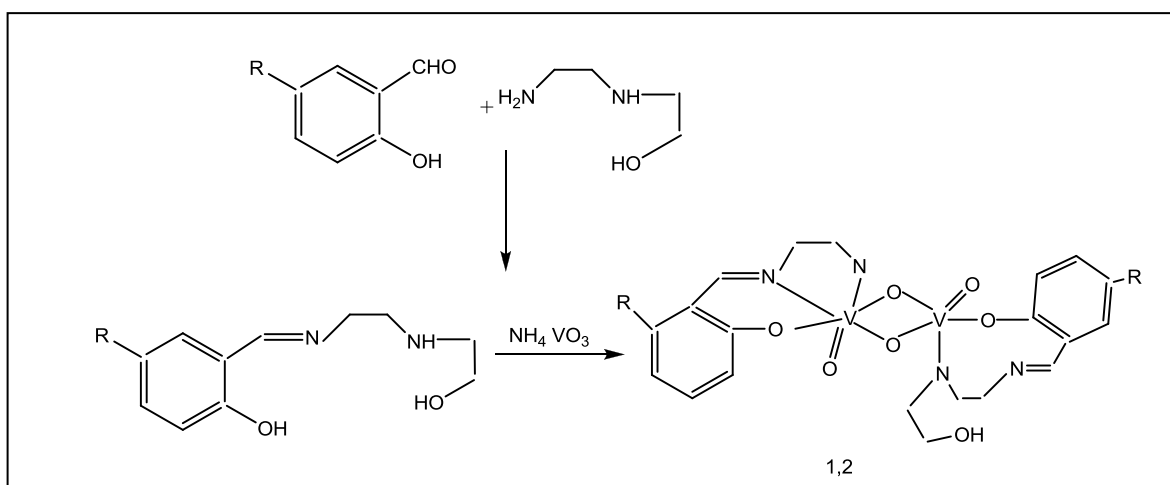


Figura 16: Sínteses dos complexos 1 e 2. R = H (complexo 1) e R= Cl (complexo 2).

Ramos, (2011) em seu trabalho sobre o efeito de diferentes espécies de vanádio na estrutura e função da actina, isolada de músculo esquelético de coelho, verificou que o decavanadato diminuiu a capacidade de F-actina de estimular a atividade fisiológica de subfragmento-1 de miosina em 70% (IC50 = $8,04 \pm 1,49 \mu\text{M}$ decavanadato), enquanto o metavanadato e o VOSO_4 produziram uma inibição de apenas 15 %, aproximadamente do efeito do vanádio na função da actina com o método de enzimas acoplados.

Já Cazarolli, (2004) estudou os compostos isolados (glicosilados e não glicosilados) da *Bauhinia forficata* bem como do flavonóide isolado da *Cyathea phalerata* na atividade hipoglicemiante em ratos diabéticos e ainda a ação dos complexos dos flavonóides canferol 3,7-O-(α)-L-diramnosídeo e canferol 3-O-(α)-L-ramnopiranosil β -D-glicopiranosídeo com vanádio (IV) na glicemia de animais diabéticos, comparando a biopotência destes compostos (por diferentes vias de administração) com a insulina e o vanádio. Concluindo que para o primeiro complexo a atividade hipoglicêmica é confirmada, mas é considerada menos eficácia que o vanádio (IV) livre que apresentou cerca de 26% de potência comparado à insulina. Já o segundo reduziu significativamente a glicemia, apresentando 83% de biopotência comparado à insulina e sendo mais potente que o vanádio livre.

1.6 Ferro

O ferro é um metal de transição de coloração cinza prateado que apresenta maleabilidade, tenacidade e propriedades magnéticas. Pertencente ao grupo 8 e 4º período da tabela periódica, de número atômico 26 e com peso molecular de 56u, é o quarto elemento mais abundante da crosta terrestre, apesar de ser insolúvel no meio ambiente. De acordo com Espósito, (2011) isso ocorre porque, em nosso planeta, onde os oceanos têm uma grande quantidade de sais dissolvidos e a atmosfera é composta de 20% de oxigênio, todo o ferro está na sua forma mais oxidada, mais “enferrujada”, que é o íon férrico (Fe^{3+}). Essa forma de ferro é caracterizada pela formação de minerais como óxidos ou hidróxidos muito pouco solúveis. Já o íon ferroso (Fe^{2+}) tende

a formar compostos mais solúveis. Entretanto, em um ambiente oxigenado ele não é estável, e se converte para a forma férrica.

O ferro já é usado desde os tempos mais remotos, cerca de 4000 a 3500 a.C. Nessa época, o ferro era obtido por meio de meteoros e foi considerado extremamente raro, onde era trabalhado a marteladas, a partir das quais se conseguiam modelar os objetos desejados, tais como facas feitas pelos astecas e pelos esquimós da Groenlândia. Já a siderurgia (maneira de obter o metal a partir de seus minérios) só surgiu entre 3000 a 2000 a.C., possivelmente de maneira acidental, quando esses minérios foram aquecidos a altas temperaturas na presença de carvão vegetal (RICKARD, 1974; 1884; MEDEIROS, 2010).

1.6.1 Propriedades Químicas do Ferro

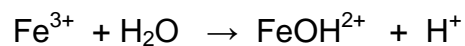
Pode-se obter o ferro a partir dos óxidos com maior ou menor teor de impurezas. Na natureza, o ferro ocorre principalmente nos estados de oxidação +2 e +3 como: hematita (Fe_2O_3), magnetita (Fe_3O_4), siderita (FeCO_3), limonita ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e pirita (FeS_2), sendo a hematita o seu principal mineral. Também são conhecidos compostos de ferro com estados de oxidação +4, +5 e +6, porém são pouco comuns (RINALDI *et al.*, 2007).

A maior parte dos compostos de coordenação formados pelo ferro se encontra nos estados de oxidação +2 e +3, devido a sua química de coordenação ser muito versátil e a sua capacidade de aceitar ou doar elétrons interconvertendo-se entre a forma férrica (Fe^{3+}) e ferrosa (Fe^{2+}), dependendo dos ligantes que se incorporam na sua coordenação (SATAKE e MIDO, 2006). Formando estruturas químicas octaédricas e tetraédricas, com coloração azul-esverdeada.

Existem também os elementos chamados de “tríade do ferro” (ferro, cobalto, níquel) que possuem propriedades muito semelhantes e seus compostos comportam-se como típicos elementos de transição, sendo muitas vezes coloridos e contendo íons

complexos. Como por exemplo, o óxido de ferro III e seu sal cloreto férrico (SIENKO e PLANE, 1997).

Como relatado anteriormente, no estado +3 o ferro se apresenta como um íon incolor Fe^{3+} e como suas soluções de sal são ácidas ocorre uma hidrólise:



Esquema 1: Hidrólise de sal de ferro (III).

Segundo Sienko e Plane, (1997) a cor castanha característica de soluções de ferro (III) é devida principalmente ao FeOH^{2+} . Com a adição de HNO_3 possa ser que a cor desapareça e com a adição de HCl forma-se o precipitado amarelo FeCl_3 .

A partir dos ligantes contendo resíduos imidazólicos, fenólicos, amínicos e piridinícos, foi sintetizado um complexo binuclear com ferro (II) o qual pode ser considerado de grande relevância bioinorgânica (SCARPELLINI, 2001). Análises realizadas por Gomes *et al.*, 2013 indicaram a coordenação do ferro (III), a partir da reação entre $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e o ligante N_3O doador 3-[2-hidroxibenzil(2-piridilmetil) amino] propanoamida (Figura 17).

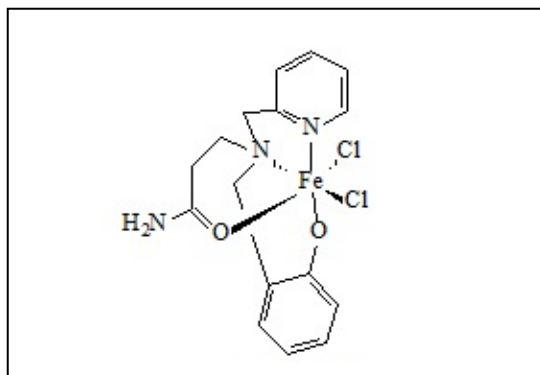


Figura 17: Complexo de ferro (III) com o ligante tripodal N_3O .

1.6.2 Propriedades Biológicas do Ferro

O ferro é um elemento abundante e de grande importância biológica. Sendo a hemoglobina (Figura 18) uma das proteínas mais importante que contém o ferro e é responsável pelo transporte de oxigênio nos glóbulos vermelhos do sangue juntamente a mioglobina.

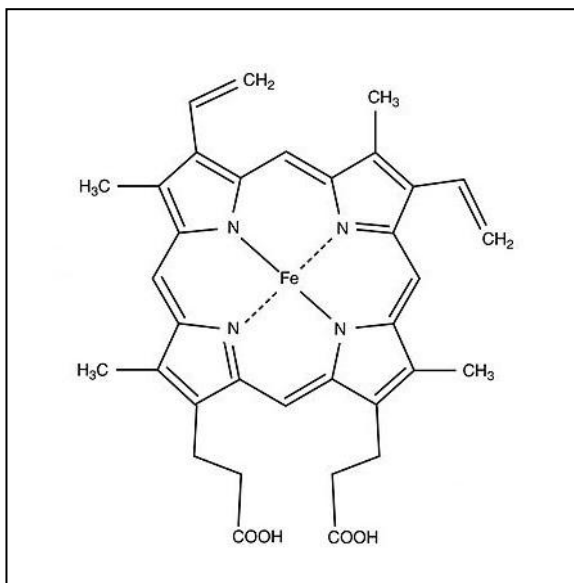


Figura 18: Estrutura da hemoglobina.

Uma pessoa adulta apresenta 1,7g (mulheres) a 2,4g (homens) de ferro estocado em diversos compartimentos biológicos. Uma pessoa normal controla o balanço de ferro no momento da absorção: se seu organismo precisa desse elemento, ele é absorvido. Se não necessita, ele não chega a ser assimilado. A quantidade de ferro absorvida pelo organismo equivale às perdas e varia de 3 a 6% do total ingerido (ESPÓSITO, 2011; GANONG, 1993).

A maior quantidade do ferro é absorvida na parte superior do intestino delgado (duodeno e jejuno), e somente alguns traços são absorvidos no estômago. Porém, no estômago, as secreções gástricas dissolvem o ferro e permitem que ele forme

complexos solúveis com o ácido ascórbico e outras substâncias que auxiliam sua redução à forma Fe^{2+} (GANONG, 1993; HILLMAN, 1995).

O ferro que absorvemos mais facilmente vem de alimentos que são ricos desse metal, sendo: as carnes vermelhas, o peixe, a lentilha, o feijão, o espinafre e o frango. Mas vale salientar que tanto o excesso do ferro quanto a deficiência pode causar conseqüências prejudiciais ao organismo humano.

Algumas das implicações da deficiência do ferro são: a anemia hipocrômica microcítica e a alteração do metabolismo celular (HILLMAN, 1995; GANONG, 1993). Onde damos destaque à anemia falciforme, que segundo Brasil, (2007) é um tipo de anemia mais grave que ocorrem em pessoa que não possuem a hemoglobina A e produzem a hemoglobina S, que por sua vez não exerce a função de oxigenar o corpo de forma satisfatória. Assim as células adquirem a forma de meia lua ou de foice, acarretando em muita dificuldade de passar pelas veias, o que ocasiona seu entupimento e muitas dores, principalmente nos ossos.

Já o excesso de ferro pode resultar em má formação de hemoglobina e de glóbulos vermelhos, que são reprocessados pelo corpo muito mais rapidamente do que deveriam, e o ferro que sai desse processo não é prontamente reabsorvido em outros compartimentos do corpo. Como também disfunção nos mecanismos que controlam a absorção de ferro pelas células. Onde, o organismo não consegue parar de absorver o ferro da dieta, fazendo com que o elemento seja depositado no fígado, no pâncreas e no coração. Podendo causar cirrose, câncer de fígado, insuficiência cardíaca e diabetes (ESPÓSITO, 2011).

1.6.3 Complexos de Ferro

Tanto as propriedades eletrônicas, quanto a ativação e transformação de substratos estão relacionadas ao número e tipos de ligantes coordenados ao metal, bem como o seu arranjo geométrico ao redor do centro metálico, uma vez que a

modificação de tais características altera propriedades cinéticas e termodinâmicas, como por exemplo, o potencial redox (Börzel *et al.*, 2002).

No trabalho de Azeredo, (2013) que sintetizou e caracterizou dois complexos de ferro III ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) com ligantes derivados do naftol, sendo o complexo 1: o ferro-alfanaftol-HBPA (Figura 19) e o complexo 2: ferro-beta-naftol-HBPA (Figura 20) podemos verificar como os compostos com ferro (III) são hábeis em formar complexos com ligantes que tenham átomos doadores de elétrons N/O.

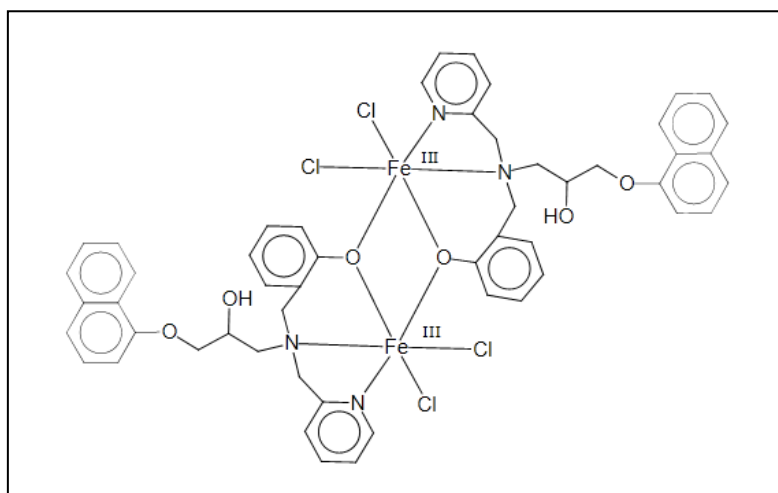


Figura 19: Complexo 1 (ferro-alfanaftol-HBPA)

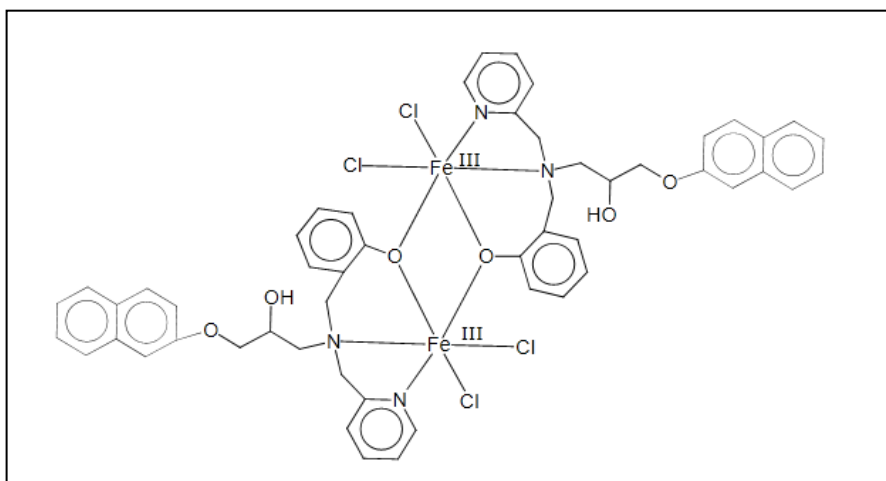


Figura 20: Complexo 2 (ferro-beta-naftol-HBPA)

Ramos, (2011) realizou a síntese de complexos com Ni, Co, e Fe com o ligante ácido dipicolínico (PDC) e verificou a utilização desses complexos como catalisador homogêneo para a degradação de compostos orgânicos. Sendo que o complexo de ferro (Figura 21) mostrou-se mais eficiente quando comparado com os demais e também foi empregado na oxidação da quinolina e desetilatrastina.

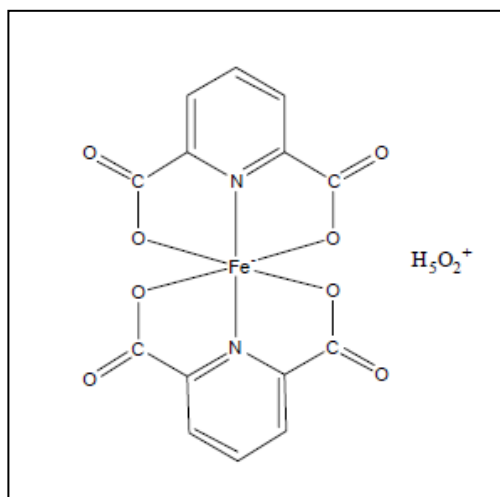


Figura 21: Estrutura do complexo $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{PDC})_2] \cdot \text{H}_5\text{O}_2^+$

Complexos de ferro têm sido avaliados como catalisadores em reações de oxidação de hidrocarbonetos, uma vez que o ferro é um metal que atrai interesse especial, pois é o mais abundante do organismo humano e está presente em uma série de processos e funções do sistema biológico (GOMES *et al.*, 2013).

Diante disso, a síntese e caracterização de complexos de ferro tem se tornado de grande interesse em estudos, pois há possibilidade de aplicação e desenvolvimento da química medicinal como nucleases artificiais e agentes quimioterápicos, bem como agentes antifúngicos, antitumorais e antimicrobianos. (GHOSH *et al.*, 2012; FERNANDES *et al.*, 2006).

Morcelli *et al.*, (2016) sintetizaram dois complexos de ferro (III) com unidades α e β -naftaleno (Figura 22) e avaliaram a atividade anti-tumoral, verificando que os

complexos apresentaram uma moderada atividade comparada com compostos similares que contém cobre e cobalto.

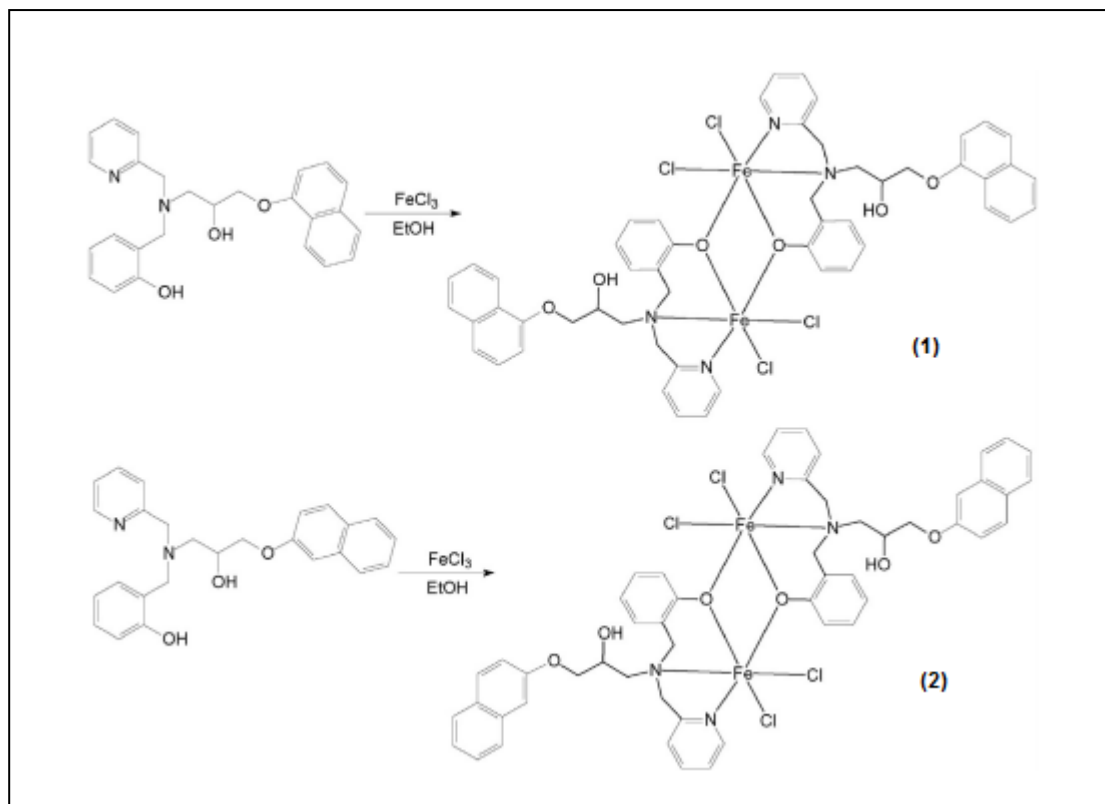


Figura 22: Síntese dos complexos 1 e 2 com o Fe (III).

Desta forma, a descoberta de novos compostos coordenados com ferro é de suma importância em estudos, pois pode ser empregado em diferentes meios da química medicinal.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivo Geral

Sintetizar compostos de coordenação com potencial antimicrobiano, tendo como ligantes compostos de origem vegetal.

1.7.2 Objetivos Específicos

- Isolar o composto piplartina das raízes de *P. tuberculatum*.
- Sintetizar o composto de coordenação usando sulfato de vanadila e a piplartina como ligante.
- Sintetizar compostos de coordenação usando o ácido *trans*-3,4-metileodioxicinâmico com o ferro e sulfato de vanadila.
- Caracterizar todos os compostos obtidos pelas técnicas espectroscópicas (IFTR, UV, RMN de ^1H e de ^{13}C) e Análise Termogravimétrica - TGA.
- Avaliar a atividade antimicrobiana do ligante e dos compostos de coordenação frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e a dois fungos filamentosos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Lista de Material

Os seguintes solventes foram obtidos comercialmente com pureza P.A.: Acetato de etila (Dinâmica[®]), éter dietílico (Anidrol[®]), álcool metílico (Isofar[®]), álcool etílico (Dinâmica[®]), hexano (Fmaia[®]), diclorometano (Neon[®]), dimetil sulfóxido (Dinâmica[®]), e clorofórmio (Dinâmica[®]), zinco (Vetec[®]) e Cloreto de Ferro III (hexahidratado) P.A. (Vetec[®]). Os reagentes: Sulfato de Vanadila (VOSO₄. 5H₂O) (99%) e Ácido 3,4 - metilenodioxicinâmico, predominantemente *trans* (99%) foram adquiridos da Aldrich[®].

2.2 Equipamentos

Para a análise termogravimétrica (TGA) foi usado equipamento de TGA 50/50 da Shimadzu, com cadinho de platina, usando como gás de arraste o nitrogênio, com taxa de aquecimento de 10°C/min e uma faixa de temperatura de 30 à 800°C. Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro modelo 640 – IR, com faixa do espectro de 400 à 4000 cm⁻¹ sendo as amostras foram preparadas em pastilhas de KBr. As análises de RMN de ¹H e ¹³C foram obtidas em um aparelho Varian Mercury – 300 e 75 MHz, respectivamente, usando clorofórmio deuterado como solvente. As análises de UV-Vis foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis, modelo 8453 da Agilent[®], com cubeta de quartzo de 1cm, e uma faixa do espectro de 200 a 800nm.

2.3 Obtenção da Piplartina

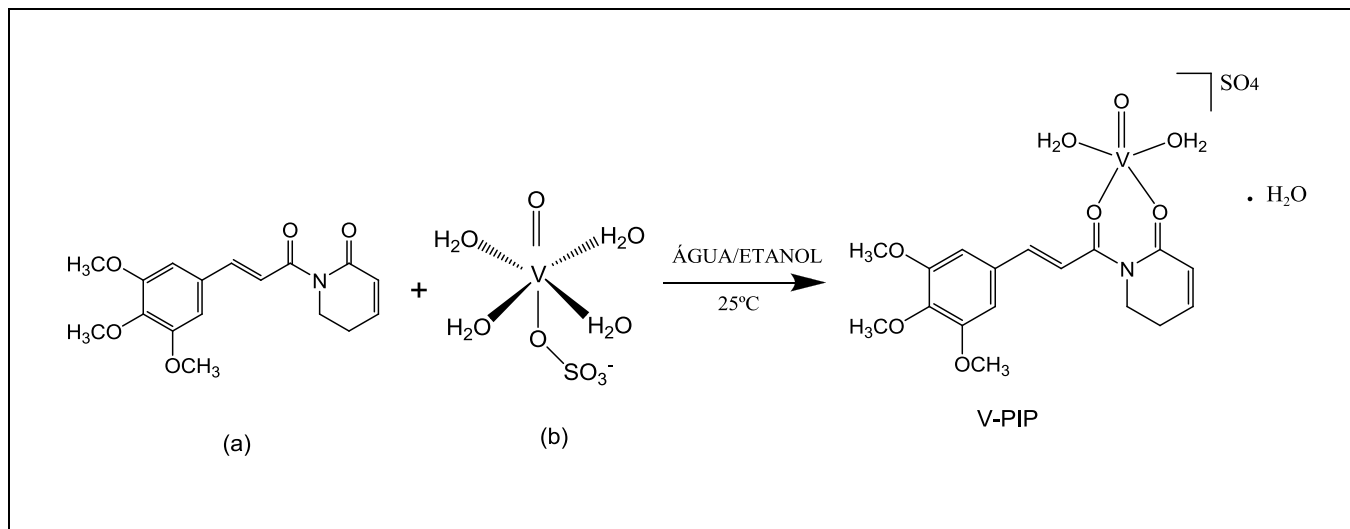
A pipartina foi obtida das raízes *Piper tuberculatum* coletadas no Campus da UFRPE em Dois Irmãos em 09/04/2014 às 09h:30min. A espécie foi identificada pela Dra. Ângela Maria de Miranda Freitas, curadora do herbário Sérgio Tavares – UFRPE do Departamento de Ciência Florestal local onde a exsicata foi preparada e depositada

sob o número: HST 18179. As raízes foram secas em estufa a 50°C por 48h e posteriormente trituradas em moinho de facas.

165g das raízes secas trituradas foram submetidas à extração por três vezes com uma mistura de 300 mL de éter dietílico: acetato de etila (2:1). Após a filtração o solvente foi removido em evaporador rotatório a 40°C sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato bruto com presença de cristais. O extrato foi ressuspensionado em metanol, novamente filtrado e obtido um sólido branco cristalino caracterizado como a piplartina.

2.4 Síntese do Complexo de Piplartina

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 1mmol do ligante piplartina (a) dissolvido em 10 mL de etanol PA e 1mmol de sulfato de vanadila (b) penta hidratado dissolvido em cerca de 20 mL de água destilada. A reação ocorreu em agitação por 2 horas (ESQUEMA 2). A mistura reacional foi rotaevaporado e posteriormente liofilizado, obtendo um sólido cristalino esverdeado.



Esquema 2: Proposta de síntese do composto de coordenação à base de vanádio (V-PIP).

2.5 Síntese do Complexo do Ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico com Metais

2.5.1 Síntese do Complexo Ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico / Vanádio (A-V)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 0,1g (1mmol) do ligante ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico dissolvido em 10 mL de MeOH (à quente) e 0,1g (1mmol) de sulfato de vanadila. Utilizou-se uma quantidade mínima de água destilada capaz de dissolver completamente o VOSO_4 . A reação procedeu-se sob agitação contínua na temperatura de 40°C por um tempo reacional de 2 horas. Em seguida a mistura reacional foi seca em rotaevaporador e submetida à purificação em coluna de sílica de fase reversa C_{18} , eluída com metanol e monitorada por CCD. Foi obtido um sólido de cor esverdeado codificado como A-V e posteriormente submetido a análises espectroscópicas.

2.5.2 Síntese do Complexo Ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico / Ferro (A-F)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 0,1g (1mmol) do ligante ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico dissolvido em 10mL de MeOH (à quente) e 0,1g (1mmol) de cloreto de ferro III solubilizado em água destilada. A reação procedeu-se sob agitação contínua na temperatura de 40°C por um tempo reacional de 2 horas. Em seguida a mistura reacional foi seca em rotaevaporador e purificada em coluna de reversa de C_{18} , eluído com metanol, obtendo-se um sólido de cor verde-amarelado codificado como A-F e posteriormente submetido a análises espectroscópicas.

2.5.3 Síntese do Complexo Ácido / Vanádio / Ferro (A-V-F)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 0,1g (1mmol) do ligante ácido 3,4 *trans* metilenodioxicinâmico dissolvido em cerca de 10mL de MeOH (à quente), 0,1g (1mmol) de cloreto de ferro III e 0,1g (1mmol) de sulfato de vanadila. Utilizou-se uma quantidade mínima de água destilada capaz de dissolver completamente o cloreto

férrico e o VOSO_4 . A reação procedeu-se contínua na temperatura de 40°C por um tempo reacional de 2 horas. Em seguida a mistura reacional foi seca em rotaevaporador e purificada em uma coluna de reversa de C_{18} , eluído com metanol, obtendo-se um sólido de cor esverdeado codificado como A-V-F e posteriormente submetido a análises espectroscópicas.

2.6 Atividade Biológica

2.6.1 Atividade Antimicrobiana

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Agroindustrial da Universidade Federal Rural de Pernambuco – Lotado no Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) – Dois Irmãos/ Recife-PE.

Para avaliação qualitativa e quantitativa da atividade antimicrobiana da piplartina e do complexo V-PIP foram utilizados 08 (oito) micro-organismos provenientes da Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (Tabela 3). A suspensão dos microrganismos foi padronizada pela turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland em água destilada, correspondente a uma concentração de aproximadamente 10^8 UFC/mL para bactérias e 10^7 UFC/mL para fungos.

Tabela 3. Micro-organismos testes utilizados na atividade antimicrobiana.

Bactérias Gram-positivas	Bactérias Gram-negativas	Fungos Filamentosos
<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA 02	<i>Escherichia coli</i> UFPEDA 224	<i>Microsporium gypseum</i> UFPEDA 2565
<i>Bacillus subtilis</i> UFPEDA 86	<i>Klebsiella pneumoniae</i> UFPEDA 396	<i>Epidermophyton floccosum</i> UFPEDA 2563
<i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA 138	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA 416	

2.6.2 Teste de Difusão em Disco

Para a avaliação qualitativa da atividade antimicrobiana da Piplartina isolada das raízes de *P. tuberculatum* e do complexo de Vanádio com Piplartina (V-PIP) foi utilizado o teste de difusão em ágar, popularmente conhecido como difusão de disco.

As bactérias foram cultivadas em meio sólido, Ágar Mueller – Hinton, em estufa à 37°C por 24 horas. Foram utilizados soluções de 20 mg/mL em álcool etílico para cada amostras testada. Em placas de petri de plástico 140 x 15mm (descartáveis), adicionou-se 10mL de Ágar Mueller – Hinton fundidos e homogeneizados em movimentos circulares. Após a solidificação do meio, e com o auxílio de um SWAB, a suspensão contendo os micro-organismos padronizados foram semeados sobre o meio de cultura. Foram utilizados discos de papel de filtro estéreis (8mm), impregnados com 50µL da solução teste, de modo que não houvesse sobreposição dos halos na placa após o crescimento dos micro-organismos. Um disco contendo apenas solvente (50µL)

foi utilizado como controle negativo, e como controle positivo foi usado 5µL de Estreptomicina. As concentrações utilizadas tanto para as amostras a serem testadas como para o controle positivo foi de 5.000µg/mL. Em seguida, as placas foram incubadas por 24h à 37°C, para a verificação da formação dos halos de inibição. Os testes foram realizados em triplicata, e os diâmetros dos halos de inibição foram medidos em mm.

2.6.3 Determinação da Concentração Mínima Inibitória – CMI

A CMI foi realizada através da técnica de microdiluição em multiplacas com 96 poços, conforme o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008; CLSI, 2010). Foram distribuídos 150µL de meio de cultura líquido de Mueller – Hinton (para bactérias) e Sabouraud (para fungos) nos poços que correspondem às amostras testadas (Linha A – Coluna 6, 7, 8 e 10, 11, 12). Em seguida, adicionou-se mais 50µL da solução teste*. Na coluna do solvente foi distribuído 50µL do meio Mueller-Hinton e adicionado 50µL do solvente. Na coluna do padrão foi distribuído 95µL do meio e 5µL da solução padrão. Na coluna do meio de cultura, foi distribuídos 100µL de Mueller-Hinton e por final, na coluna dos micro-organismos, além dos 100µL do meio distribuído, foi acrescentado 10µL da suspensão dos micro-organismos padronizados.

Após toda distribuição anteriormente relatada, foi realizado o processo de microdiluição seriada, da primeira linha das amostras descendo pelas colunas dos poços sucessivamente até a última, onde foi retirado 100µL no total da diluição. Concluída a microdiluição, 10µL dos inóculos microbianos padronizados foram adicionados nas colunas das amostras. A análise foi realizada em triplicata para todas as amostras. As microplacas foram cultivadas à 37°C por 18-24 horas para bactérias e 30°C por 48-72 horas para os fungos.

*Solução teste: (piplartina / álcool etílico – 20mg/mL; V-PIP / álcool etílico – 20mg/mL; A-V / metanol – 20mg/mL; A-F / metanol – 20mg/mL; A-V-F / metanol – 20mg /mL).

2.6.4 Leitura da Microplaca

Após o período de cultivo, as microplacas foram reveladas com a adição de 10µL da solução de risazurina a 0,01% e incubadas por 1-3 horas para que ocorresse a mudança de coloração nos poços. Segundo Lima, (2013) a resazurina é um corante azul indicador de óxido-redução, onde a manutenção da cor azul nos poços é interpretada como inibição de crescimento, enquanto o desenvolvimento da cor rosa, ocorrência de crescimento. A CMI foi definida como a menor concentração da amostra que inibiu o crescimento do micro-organismo.

2.7 Atividade Citotóxica

Células esplênicas (6×10^5 células/poço) de camundongos BALB/c foram cultivadas em placas de 96 poços de fundo plano, contendo meio de cultura Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640. As células foram incubadas com os compostos em diferentes concentrações (100 até 1,56 mg/ml) e com timidina tritiada (1 µM/poço) durante 24 h em estufa de CO₂ à 37°C. Para o controle foram utilizadas células tratadas com saponina (0,05%) e sem tratamento, todos com timidina tritiada (1 µM/poço) associada em paralelo. Cada amostra (PIP e V-PIP) foi testada em triplicata. Após 24 h de incubação, as células foram coletadas em papel de fibra de vidro e, posteriormente, a captação de timidina tritiada determinada através do contador beta de cintilação. O percentual de citotoxicidade foi determinado comparando-se a percentagem de incorporação de timidina tritiada nos poços com as amostras em relação aos poços não tratados. As concentrações atóxicas foram definidas como aquelas que causaram uma redução na incorporação com timidina tritiada abaixo de 30% em relação ao controle sem tratamento (células esplênicas sem as substâncias testadas).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção e caracterização da piplartina das raízes de *P. tuberculatum*

A partir da extração de 165 g das raízes de *P. tuberculatum* foram obtidos 2,79 g de extrato bruto seco e após processo de purificação, 0,86 g de um sólido cristalino branco com ponto de fusão de 122,2°C, valor similar ao da amida piplartina (BRAZ-FILHO, SOUZA e MATTOS, 1981). O sólido exibiu rendimento de 30,82% em relação à massa extrato bruto e 1,7% em relação à massa das raízes secas. E foi submetido a análises espectroscópicas de IV, RMN de ^1H e ^{13}C , sendo que o espectro de IV apresentou bandas de vibrações de deformação axial de carbonilas em 1682 e 1700 cm^{-1} referente à carbonilas cetônicas, vibrações de deformação angular fora do plano em 801 e 988 cm^{-1} atribuídas à presença de aromático, uma banda em 1129 cm^{-1} referente a vibrações de deformação axial de éter e uma banda de 2957 cm^{-1} de estiramento axial C-H de um carbono sp^3 (Figura 23).

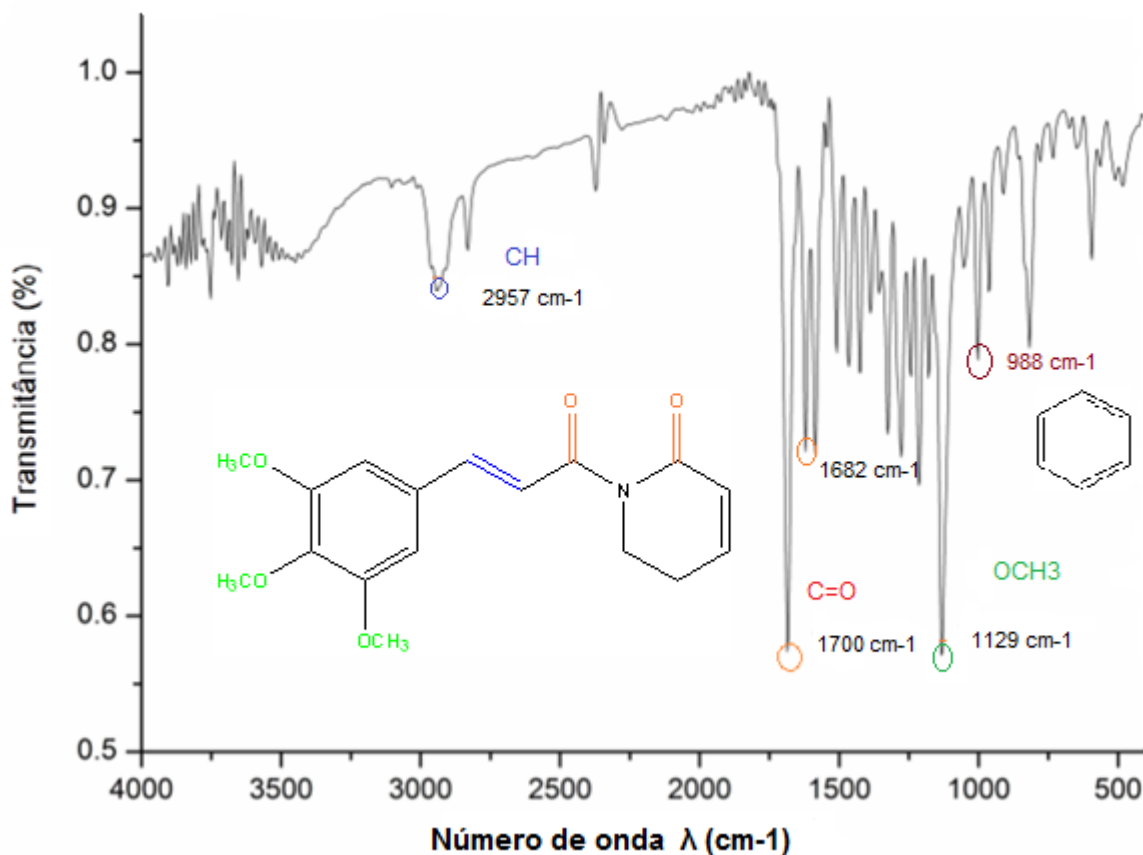


Figura 23: Espectro de infravermelho do ligante piplartina em pastilha de KBr.

O espectro de RMN ^1H , (CDCl_3 , 300 MHz, figura 24) indicou a presença de cinco sinais entre 8 e 6 ppm, associados a um simpleto de hidrogênio aromático em H-11 6,81ppm hidrogênio, dois dupletos na região de δ 7,68 H-9 ($J = 15$ Hz) e 7,43 ppm H-8 ($J = 15,5$ Hz) atribuídos a hidrogênios da cadeia alquílica α,β -insaturada à carbonila com configuração *trans*, dupletos de tripleto em δ 6,05 H-3 (dt, $J_{3,4}$ e $J_{4,3} = 9,6$ e 1,5 Hz) e δ 6,96 H-4 (dt, $J_{4,3}$ e $J_{4,5} = 9,6$ e 4,1Hz) referentes hidrogênios α,β -insaturado em configuração *cis* do anel heterolítico dihidropiridona, os hidrogênios do carbono ligado ao nitrogênio apresentou sinal na região de δ 4,05 ppm H-6 e H-5 como um tripleto.

O espectro de RMN ^{13}C , (CDCl_3 , 75 MHz, figura 25) exibiu dois sinais em δ 166,1 (C2) e δ 169,1ppm (C7) confirmando a presença dos grupos carbonílicos. Dois sinais em δ 126,4 (C3) e δ 147,5 (C4) referentes à insaturação do anel dihidropiridona, e os sinais δ 24,6 (C5) e δ 41,7 (C6) pertencentes aos carbonos próximos da insaturação e do nitrogênio do anel. A presença dos sinais em δ 130,6 (C10); δ 105,5 (C11, C15); δ

145,5 (C13) e δ 153,5 (C14, C12) são atribuídos aos carbonos das insaturações do anel benzênico. Dois sinais em δ 56,2 (MeOH C12, C14) e δ 61,2 (MeOH C13) são atribuídos aos carbonos metoxilados ligados ao anel benzênico e os sinais em δ 121,2 (C8) e δ 143,9 (C9) referentes a dois carbonos com configuração trans. A interpretação dos dados espectrais do sólido cristalino e comparação com os dados da literatura (NAVICKIENE et al., 2000) permitiu a sua caracterização como sendo a amida piplartina (Figura 26), com rendimento de 1,7 %, peso seco.

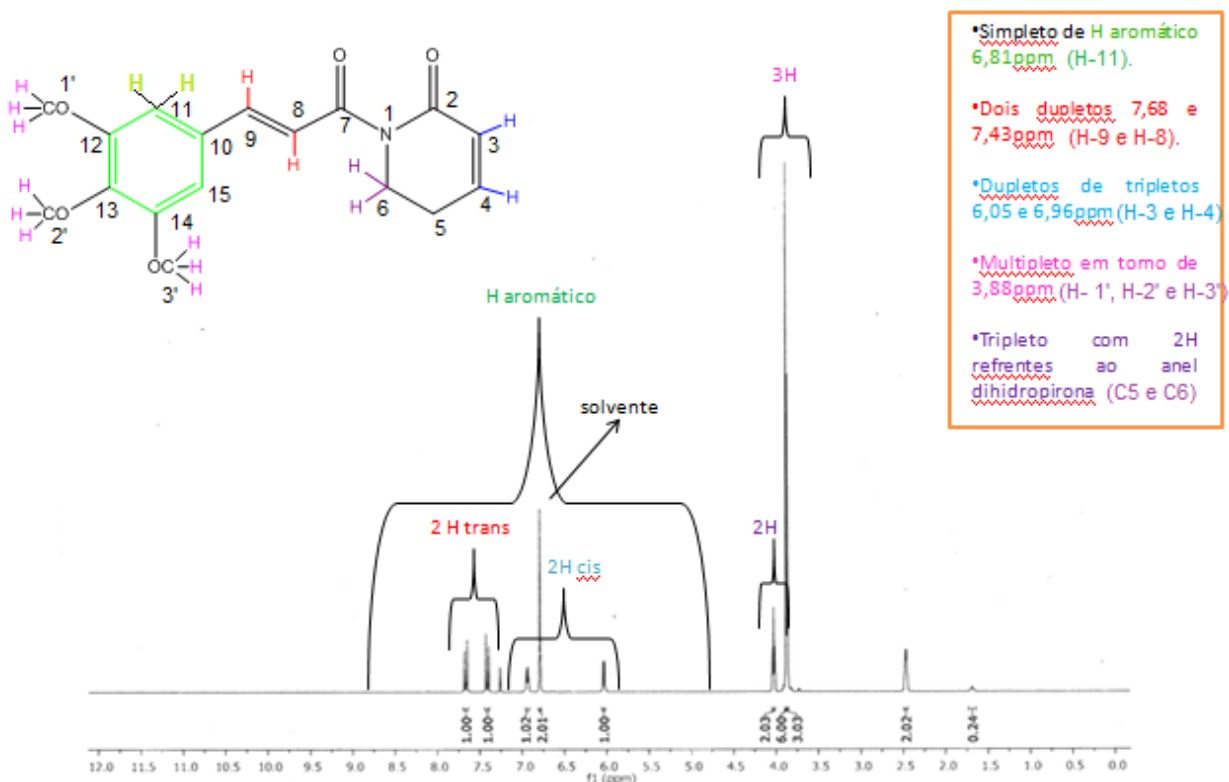


Figura 24: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do ligante piplartina.

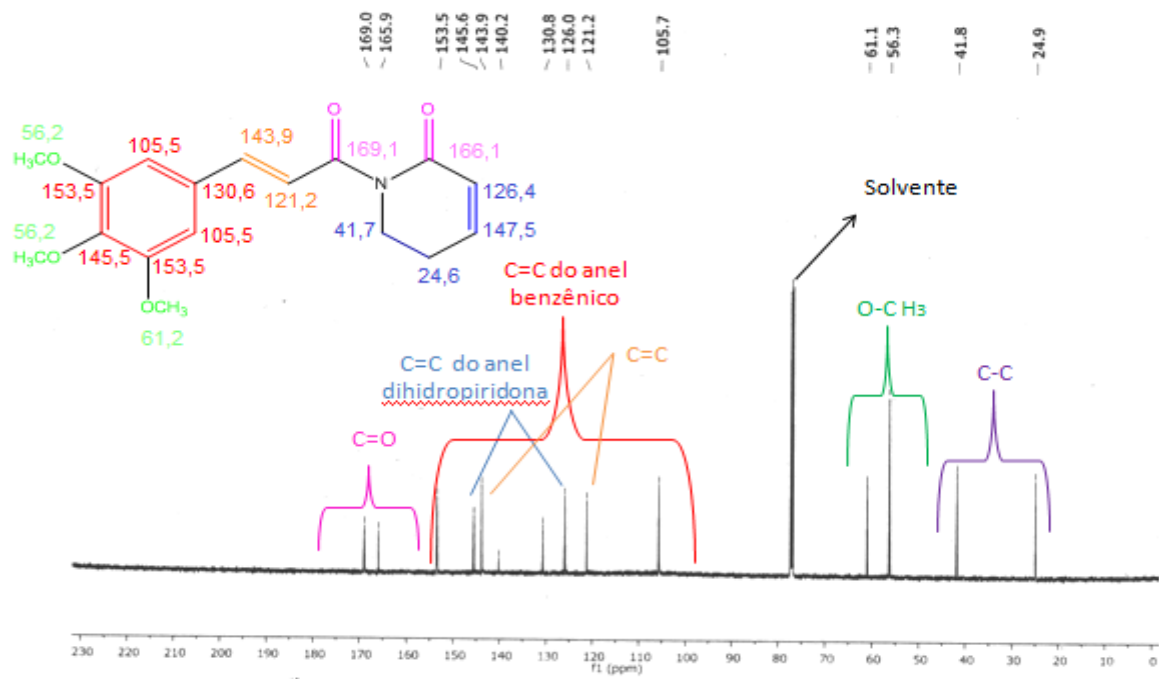


Figura 25: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do ligante piplartina.

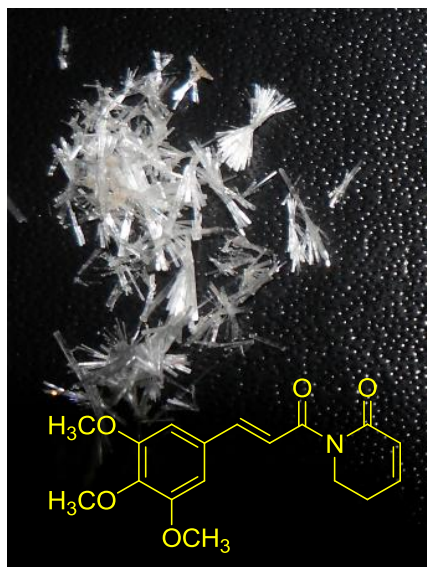


Figura 26: Cristais e estrutura química da piplartina (Foto; CSR).

3.2 Obtenção do complexo da Piplartina

Um sólido cristalino esverdeado com rendimento reacional de 20% (figura 27), solúvel em água, etanol e metanol foi obtido a partir da reação do sulfato de vanadila com a piplartina.

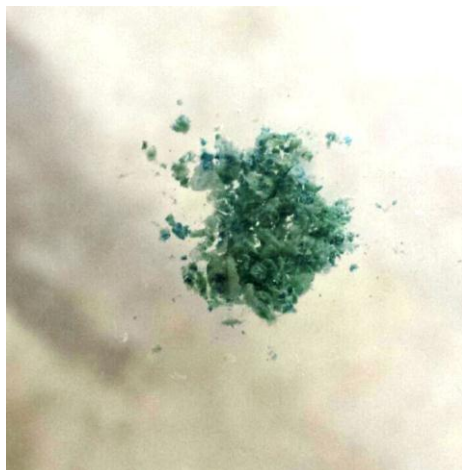


Figura 27: Complexo V-PIP.

O espectro de UV do sólido apresentou uma absorção máxima em 299nm associada aos cromóforos dos dois grupos α,β -insaturados, enquanto o espectro de UV da piplartina pura apresentou uma absorção máxima em 310nm (Figura 28). O deslocamento hipsocrômico e o efeito hipocrômico observado no espectro do sólido, quando comparado ao espectro da piplartina, podem estar associados à diminuição do efeito da conjugação nos grupos α,β -insaturados indicando a coordenação do vanádio com as duas carbonilas da piplartina.

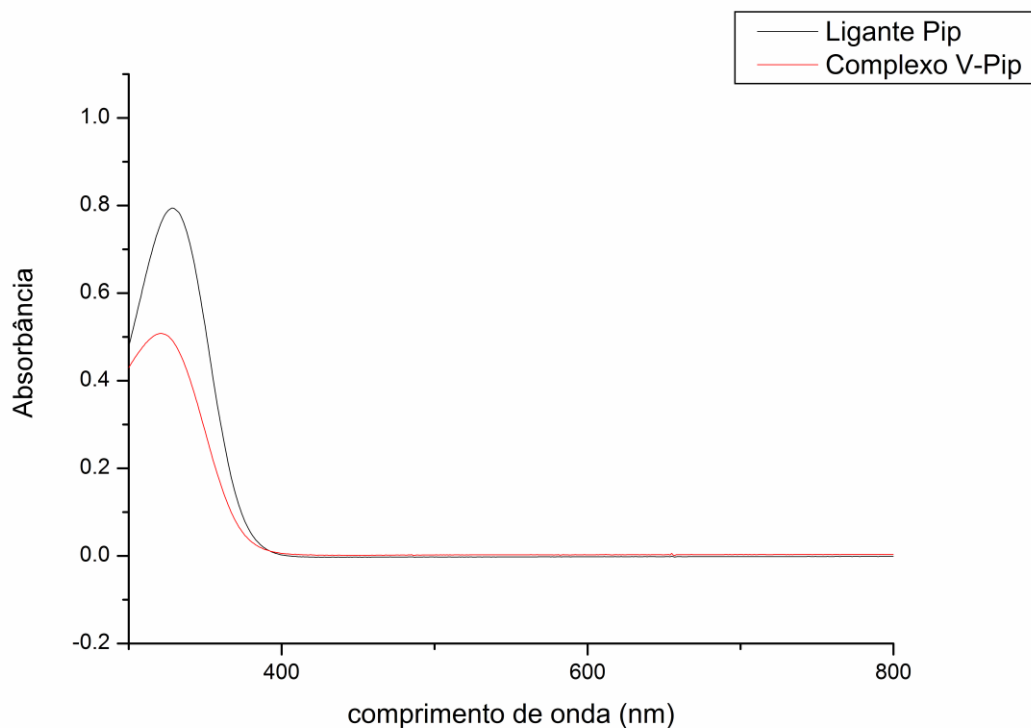


Figura 28: Espectro na região UV-Vís do ligante piplartina e do composto V-PIP.

O espectro de UV na região do visível do sólido V-PIP em alta concentração (5mg/ml) (figura 29) apresentou adicionalmente, uma absorção alargada em 794nm, quando comparado ao espectro da piplartina. A absorção em 794 nm está na faixa da região do vermelho que compreende a faixa entre 620 nm – 800 nm, tendo como complementar e perceptível aos olhos a cor verde. Sendo possível comprovar a cor característica do composto obtido (V-PIP) que se apresentou numa coloração esverdeada.

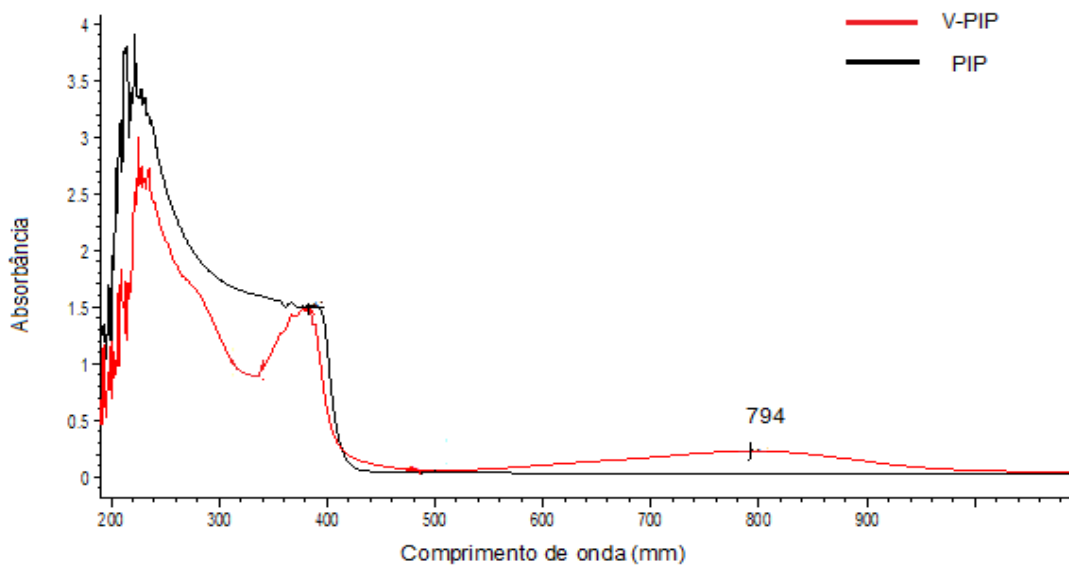


Figura 29: Espectro na região UV-vís do composto V-PIP.

O espectro de infravermelho para o sólido V-PIP (Figura 30) apresentou bandas alargadas e absorções adicionais quando comparado com o espectro da piplartina (Figura 23).

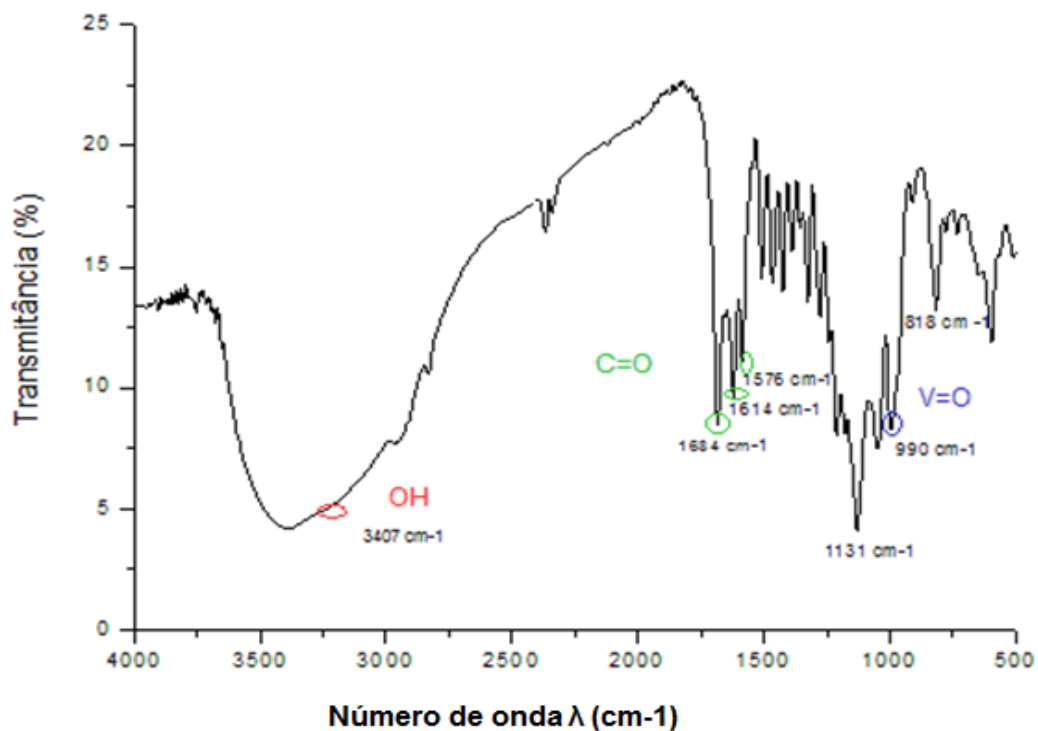


Figura 30: Espectro de infravermelho do composto V-PIP (KBr).

Segundo Barbosa, (2005) mesmo que poucas informações sobre as estruturas químicas de complexos com vanádio sejam obtidas por análises de IV, espectro destes complexos apresenta banda de deformação da ligação V=O na faixa de 900 a 1000 cm^{-1} , que é considerada a impressão digital desses tipos de espectros. No caso específico para sólido obtido da reação do sulfato de vanadila e piplartina, o seu espectro de IV apresentou uma banda em 990 cm^{-1} da deformação da ligação V=O, uma banda intensa em 3407 cm^{-1} de deformação axial de O-H adicional quando comparado com o espectro da piplartina. Essa deformação pode ser atribuída à presença de águas que estão ligadas ao sulfato de vanadila. No espectro de IV do sólido foi observado à diminuição da intensidade da banda de deformação da C=O do ligante, nas bandas 1684, 1614 e 1576 cm^{-1} , quando comparado ao espectro da piplartina.

3.3.2. Análise Termogravimétrica

Nos termogramas do ligante piplartina e do sólido foi observado uma mudança significativa entre as curvas termogravimétricas (Figura 31). A curva TG da piplartina possui dois eventos térmicos, tendo seu início a partir da temperatura de 231,8°C, havendo uma perda de massa total de 93%. Quando comparada com a curva TG do sólido exibiu três eventos térmicos, sendo observada uma diminuição na temperatura de início de degradação da amostra para aproximadamente 68,78°C com perda de massa total de 76%. O primeiro evento térmico na faixa de temperatura de (68,78 – 100 °C) com perda de massa de 4,30% pode ser atribuído à evaporação de H₂O que ainda estava presente no complexo. Já o segundo evento térmico na temperatura de 210°C com perda de massa de 8,60% (4,30% = 2H₂O), pode ser referente às duas moléculas de águas ligadas ao sulfato de vanadila, uma vez que a desidratação de compostos de coordenação ocorre geralmente em temperaturas superiores à temperatura de evaporação da água. E o terceiro evento térmico na temperatura de 451,79°C com perda de massa de 3,81% (1,90% = 2H₂O) pode se referir ao início da decomposição do sólido.

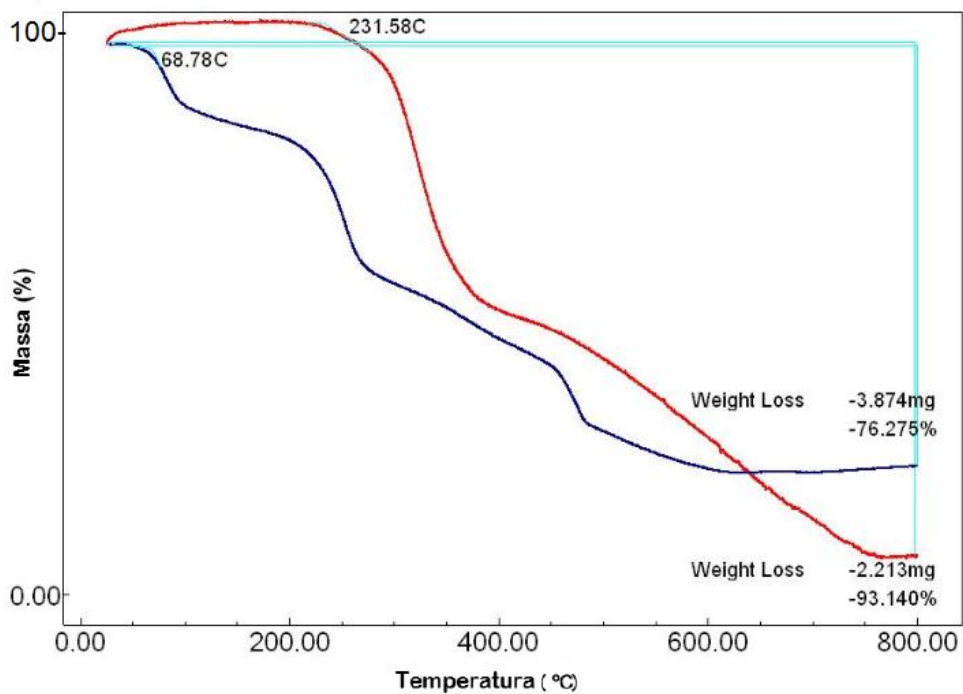


Figura 31: Curvas termogravimétricas do ligante piplartina e do composto V-PIP.

A partir da massa molar do composto obtido $C_{17}H_{23}NO_8 \cdot VSO_4 \cdot 3H_2O$ (515 g/mol) foram analisados as percentagens de perda de massa obtidas experimentalmente, assim como as temperaturas envolvidas em cada etapa como mostra a tabela 4. Confirmando assim que os dados obtidos experimentalmente estão bem próximos dos teoricamente calculados.

Tabela 4: Resultados obtidos experimentalmente comparados com o calculado no TGA.

Evento	Temperatura °C	% perda de massa*	
		Calculada	Experimental
1	68,78	4,30	4,97
2	210,39	4,30	4,12
3	451,79	1,90	2,09

*considerando moléculas de H₂O.

Desta forma, com base na interpretação dos dados espectrais de UV, IV e das curvas de TG, o sólido esverdeado obtido da reação da piplartina com o sulfato de vanadila foi caracterizado como sendo o complexo esperado V-PIP (Figura 32).

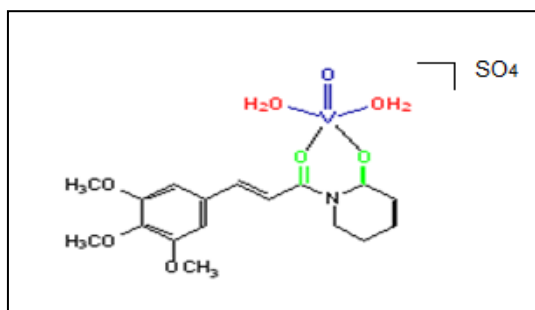


Figura 32: Estrutura química do complexo V-PIP obtido da reação da piplartina com o sulfato de vanadila.

3.4 Atividade Biológica

3.4.1 Difusão em Disco

Foram realizados testes de atividade antimicrobiana por difusão em disco com o ligante piplartina e o complexo V-PIP frente às bactérias: *S. aureus* (UFPEDA 02), *B. subtilis* (UFPEDA 86), *E. faecalis* (UFPEDA 138), *E. coli* (UFPEDA 224), *K. pneumoniae* (UFPEDA 396) e *P. aeruginosa* (UFPEDA 416). As atividades antimicrobianas da piplartina e do complexo V-PIP foram avaliadas em função dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento, que variaram de 11 a 35 mm, sendo o maior apresentado para o complexo V-PIP frente à bactéria *S. aureus* (Tabela 5), uma vez que amostras que apresentam halo de inibição ≥ 8 mm são consideradas ativas (Wong-leung,1988).

Os dados da tabela 5 ainda mostram que os valores dos halos de inibição para o complexo foram maiores, quando comparados com a piplartina livre. Tais resultados já eram esperados, uma vez que a associação de metais de transição á produtos que já apresentam atividade microbiológica conhecida, em geral potencializam as atividades, podendo também desencadear novos tipos de atividades biológicas.

Tabela 5: Atividade antibacteriana da piplartina e do complexo V-PIP.

Halo de Inibição de Crescimento (mm)

Bactérias	Piplartina	Complexo
<i>E. faecalis</i> (138) Gram (+)	18	22
<i>S. aureus</i> (02) Gram (+)	18	35
<i>E. coli</i> (224) Gram (-)	18	30
<i>K. pneumoniae</i> (396) Gram (-)	11	18
<i>P. aeruginosa</i> (416) Gram (-)	12	20

3.4.2 Concentração Mínima Inibitória- CMI

No teste de CMI, que se trata de um teste quantitativo, os micro-organismos utilizados permaneceram os mesmos realizados no Teste de Difusão de Disco, com o acréscimo do fungo filamentoso *M. gypseum* e seus respectivos valores estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6: Concentração Mínima Inibitória –CMI da piplartina e do complexo V-PIP em µg/mL

Concentração Mínima Inibitória em µg/mL		
Micro-organismos	PIP	V-PIP
<i>B.subtilis</i> (86)	1250	625
<i>E. faecalis</i> (138)	625	312,5
<i>S. aureus</i> (02)	312,5	78,1
<i>K. pneumoniae</i> (396)	1250	625
<i>P.aeruginosa</i> (416)	625	312,5
<i>E. coli</i> (224)	625	156,2
<i>M. gypseum</i> (2565)	625	312,5

A partir da tabela, pode-se inferir que o complexo V-PIP apresentou, na maioria dos testes, menores concentrações capazes de inibir o crescimento das bactérias. Em consonância com os resultados da difusão de disco para todos os microrganismos testados, a piplartina apresentou CMI que variou de 625 a 1250 µg/mL. Segundo trabalho realizado por Aligiannis *et al.*, (2001) com material vegetal, valores de concentrações ≤ 500 µg/mL são considerados ativos para inibição de microrganismos; e valores de 600 a 1500µg/mL são considerados moderados. O mesmo pôde-se observar para o complexo da piplartina com vanádio, em que os valores do CMI variaram de 78,1 a 625 µg/mL, sendo bem significativo para o micro-organismo *S. aureus* (02) – 78,1 µg/mL, bem como para o *E. coli* (224) – 156,2 µg/mL. Para o fungo *M. gypseum* apresentou uma menor CMI (312,5 µg/mL) para o complexo V-PIP quando comparado com a CMI (625 µg/mL) do ligante livre piplartina.

Em geral, o complexo apresentou melhor atividade antimicrobiana do que o ligante, sugerindo que a presença do metal vanádio potencializa a atividade do produto natural piplartina.

Em levantamento bibliográfico, não foi encontrado pesquisas que pudessem colaborar com o estudo desenvolvido, mostrando assim sua grande importância, na utilização de metais de transição, como o vanádio, para potencializar atividades biológicas associados a produtos naturais com ou sem atividades já pré-estabelecidas.

3.5 Citotoxicidade da PIP e do V-PIP.

A partir da avaliação da citotoxicidade dos compostos PIP e V-PIP envolvendo a utilização de células esplênicas de camundongos BALB/c obtiveram-se os resultados em $\mu\text{g/mL}$ que representa a maior concentração atóxica frente às células testadas, e são mostrados na tabela 7.

Tabela 7: Citotoxicidade dos compostos PIP e V-PIP.

Composto	Citotoxicidade ($\mu\text{g/mL}$)*
PIP	3,13
V-PIP	3,13

* corresponde à maior concentração atóxica em células esplênicas de camundongos BALB/c, em microgramas/ml.

Os compostos PIP e V-PIP apresentaram citotoxicidade considerável em concentrações acima de $3,13 \mu\text{g/mL}$. Se considerarmos a quantidade de saponina (controle positivo) utilizada, veremos que foram utilizados apenas 0,05% para uma inibição de 82,25% de incorporação de timidina pelas células. Assim uma quantidade insignificante de saponina (substância citotóxica) é suficiente para uma toxicidade alta, portanto altamente nociva.

Os resultados obtidos também nos mostram que a toxicidade celular apresentada por estes compostos está de acordo com os encontrados na literatura, uma vez que esses compostos apresentam a carbonila α - β -insaturada que é reconhecida como grupo químico responsável pela atividade citotóxica de compostos

orgânicos. (NAKAYACHI, *et al.*, 2004; AHN e SOK, 1996). Os valores menores que 3,13 para os compostos são considerados atóxicos e podem também estar relacionados à região celular e a atividade imunossupressora da proliferação de células esplênicas (LÓPEZ-POSADAS *et al.*, 2008). Neste caso tanto a PIP quanto o V-PIP podem ser administrados até a concentração de 3,13 $\mu\text{g/mL}$ em células normais, concentrações superiores podem torná-la tóxica. O que se torna válido para pesquisas futuras, pois a busca por moléculas de baixa toxicidade para células normais e com toxicidade efetiva para células tumorais é de grande interesse no tratamento de células cancerígenas (LUGLI, *et al.*, 2009).

3.6 Obtenção dos Complexos do Ácido *trans*-3,4-metilendioxicinâmico

Os produtos A-V-F, A-F e A-V foram obtidos a partir da reação do sulfato de vanadila e ferro com o ligante ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico diluídos em uma mistura de metanol e água a quente, como sólidos com coloração esverdeados (Figura 33).

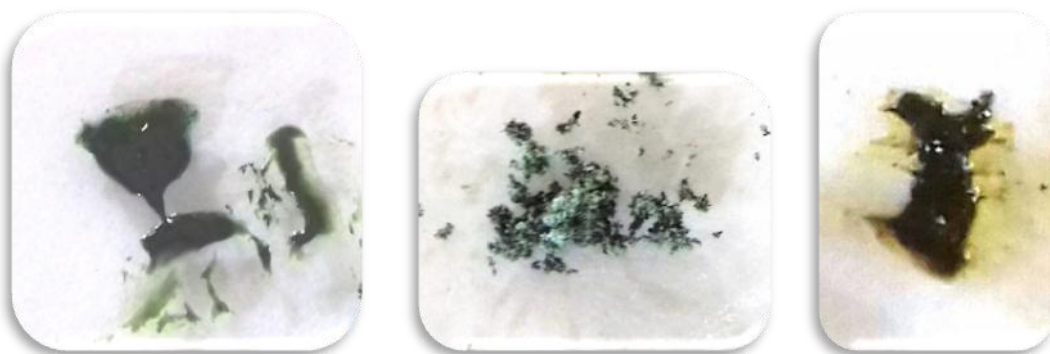


Figura 33: Produtos reacionais A-V-F, A-V e A-F, respectivamente.

O ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico foi obtido comercialmente e seu espectro de IV apresentou uma banda larga em 3389 cm^{-1} de estiramento OH do ácido carboxílico, uma deformação axial em 1632 cm^{-1} característica da carbonila de ácido conjugado, vibrações de deformação angular fora do plano em 970 e 860 cm^{-1} atribuídas à presença de anel aromático. Uma banda em 1248 cm^{-1} referente a

presença do grupo metilenodioxí, duas bandas em 1439 e 1499 cm^{-1} referentes às vibrações do esqueleto aromático (dobramento 1H isolado e 2H vizinhos) e uma banda de 2950 cm^{-1} de um estiramento axial C-H de um carbono sp^3 (Figura 34).

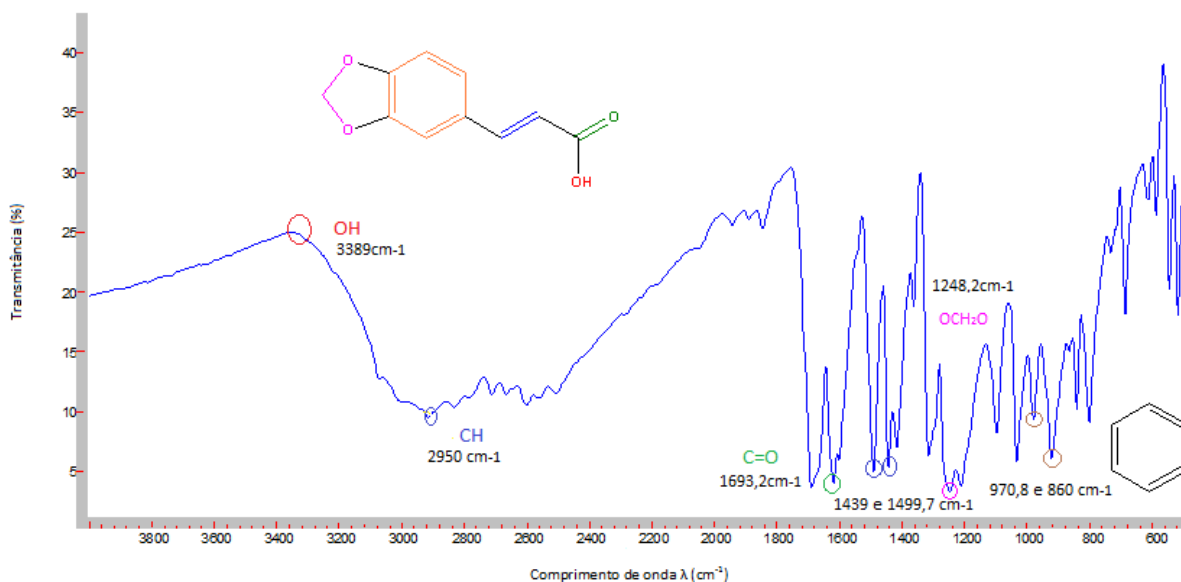


Figura 34: Espectro de infravermelho do ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico em pastilha KBr.

O espectro de IV do produto da reação do ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico com o ferro mostrou sinais alargados, com dois intensos em 3402 cm^{-1} correspondente a banda de deformação axial de OH e outro em 1626 cm^{-1} do referente ao grupo carbonílico (Figura 35). Uma forte diminuição nas intensidades das bandas entre 800 e 1800 cm^{-1} , quando comparado ao espectro de IV do ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico. E uma banda característica em 520 cm^{-1} referente à presença de ferro III (RAHNI e LEGUBE, 1996).

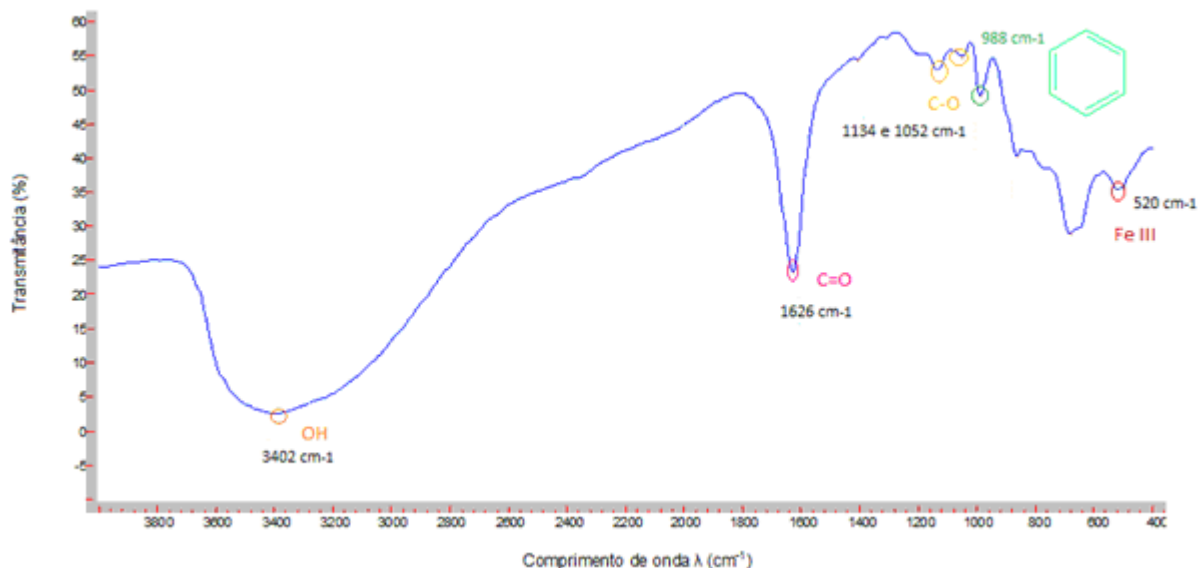


Figura 35: Espectro de infravermelho do composto A-F em pastilha KBr.

O espectro de composto A-F (Figura 35) mostrou mudança significativa quando comparado ao espectro do ligante livre (Figura 34). O espectro de UV do ligante ácido trans-3,4-metilenodioxicinâmico em metanol (Figura 36) apresentou bandas de absorção máxima em 240, 285 e 314 nm, atribuídas a transições do anel aromático substituído e da carbonila.

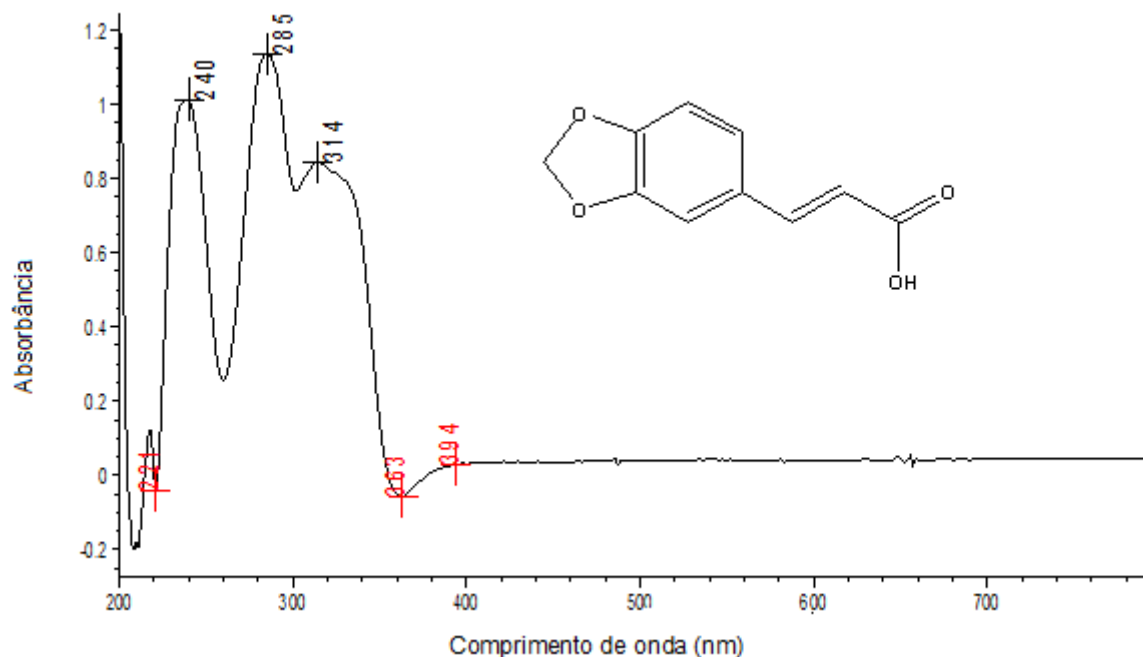


Figura 36: Espectro na região do UV-Vis do ácido trans-3,4-metilenodioxicinâmico em solução.

O espectro de UV-vís do composto A-F (Figura 37) apresentou um efeito hipocrômico de 1,1 para 0,4 e um deslocamento batocrômico de 285 para 294 nm. Essa alteração no espectro pode ser referente ao deslocamento do comprimento de onda associado aos cromóforos da carbonila presente na estrutura do ligante, o que indica a formação do composto de coordenação entre o ferro e ácido.

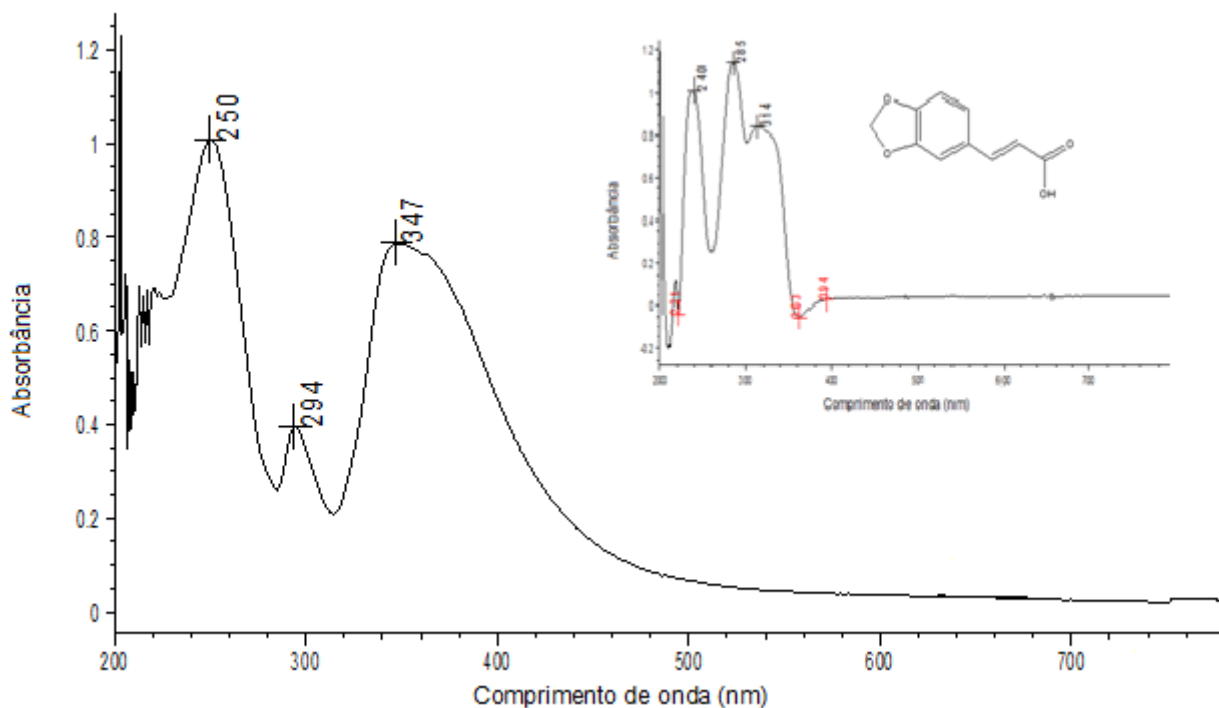


Figura 37: Espectro na região do UV-Vís do composto A-F.

O espectro de infravermelho do composto A-V (Figura 38) apresentou uma banda em 3410 cm^{-1} característico do estiramento OH de H_2O do sulfato de vanadila hidratado. Uma banda em 984 cm^{-1} referente à deformação V=O, característica desse grupo que está em acordo com a literatura, uma vez que, a presença de bandas nas regiões entre $995\text{-}940\text{ cm}^{-1}$ indica a formação da ligação vanadila V=O (FARZANFAR *et al.*, 2015). Quando comparado ao espectro do ligante (Figura 34) observa-se ainda uma grande diminuição e um largo afastamento do número de bandas, o que indica a formação do composto A-V.

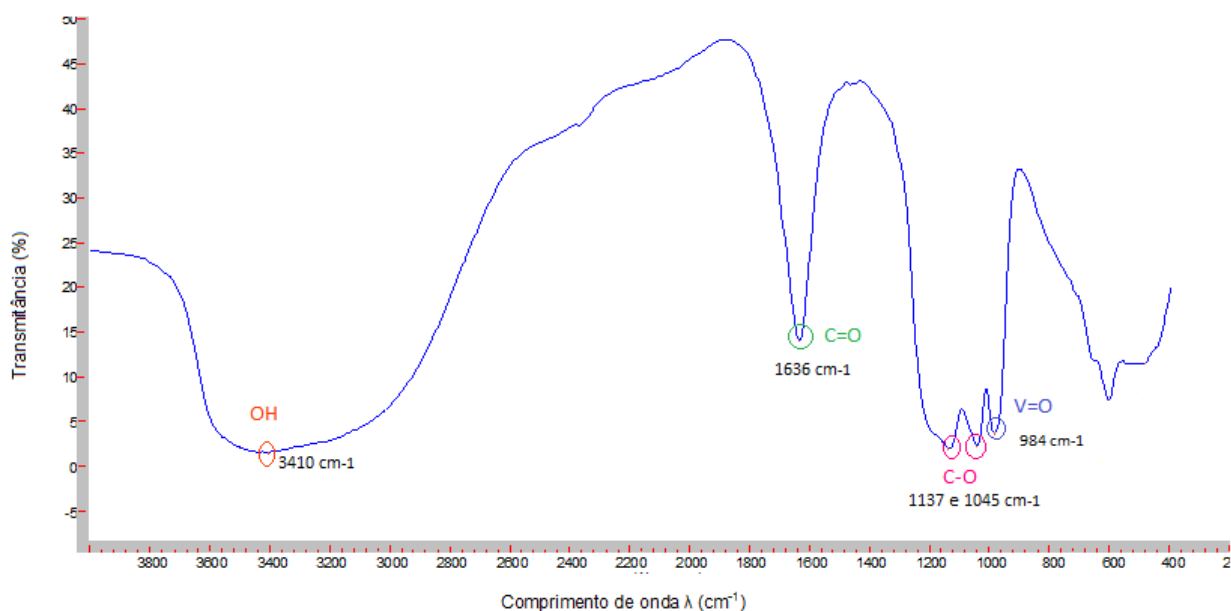


Figura 38: Espectro de infravermelho do composto A-V em pastilha KBr.

O espectro de UV (Figura 39) do composto A-V mostrou mudança significativa quando comparado ao ligante livre. Observa-se um forte efeito com comprimento de onda de 291nm característica da carbonila do ácido e o surgimento de uma nova banda com absorção máxima em 260nm referente ao grupo V=O do sulfato de vanadila. Dessa forma, tanto a diminuição na absorbância da banda característica da carbonila quanto o aparecimento de uma nova banda, indica uma possível formação de um novo composto a partir do ácido e do sulfato de vanadila.

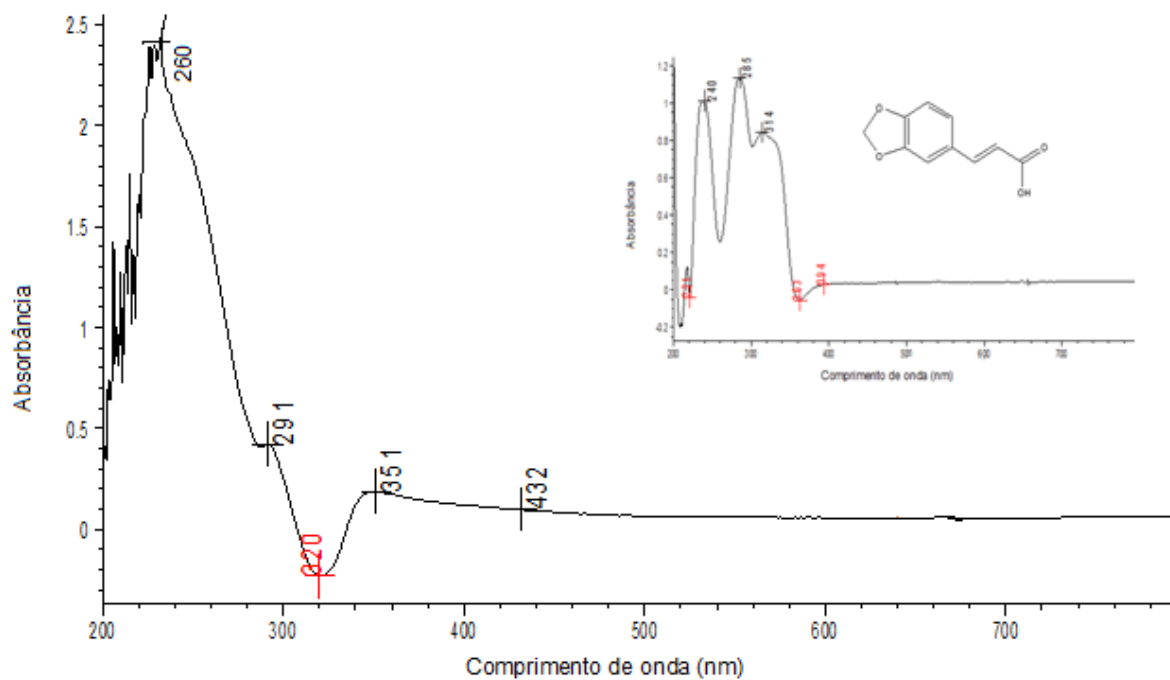


Figura 39: Espectro na região do UV-Vís do composto A-V.

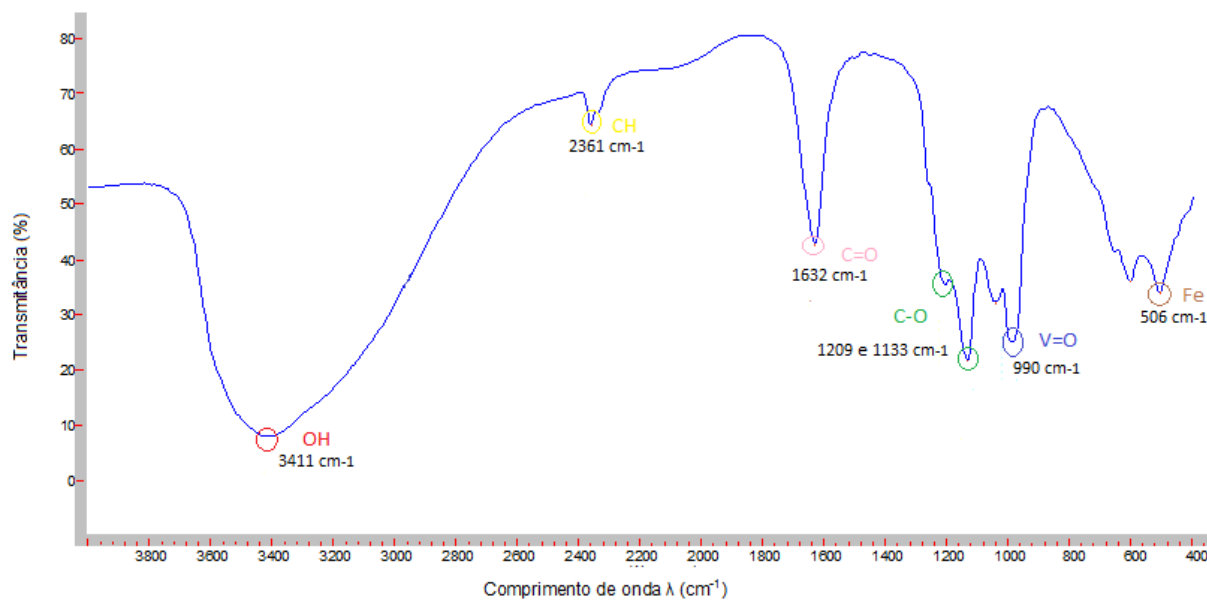


Figura 40: Espectro de infravermelho do composto A-V-F em pastilha KBr.

Os espectros de IV e UV do composto A-V-F (Figura 40 e 41) foram idênticos aos espectros do composto A-V, indicando que houve formação favorável de coordenação do ligante com o sulfato de vanadila em relação ferro.

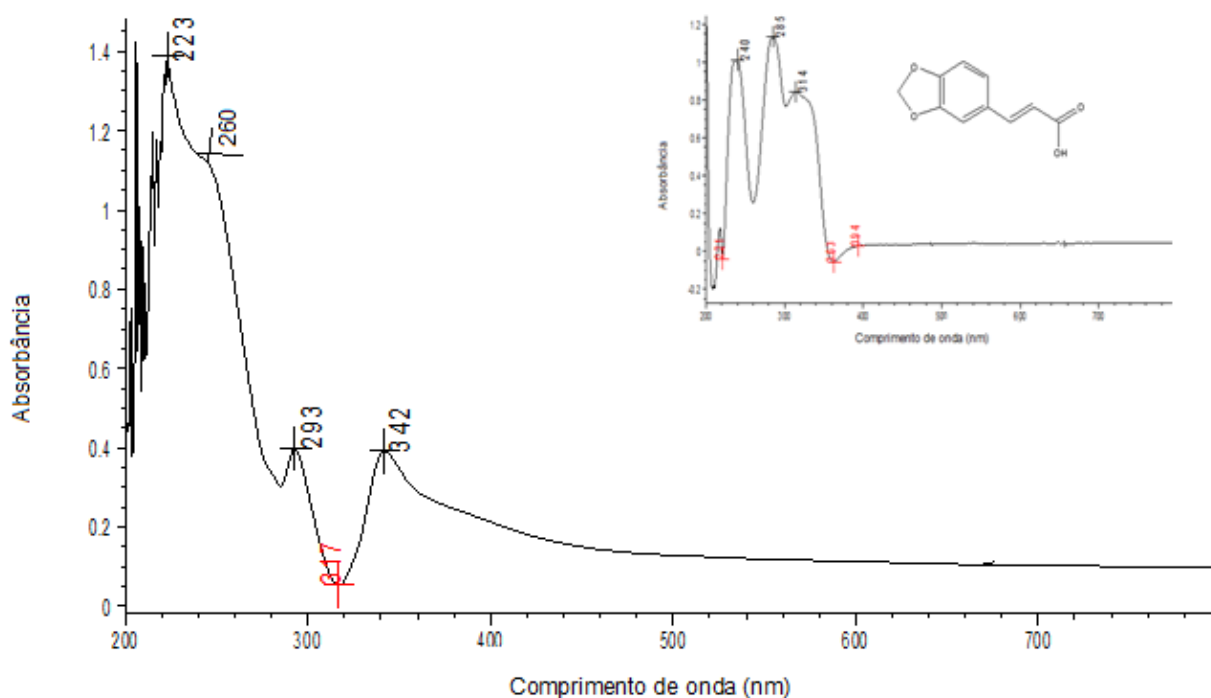


Figura 41: Espectro na região do UV-Vís do composto A-V-F.

3.8 Atividade Biológica dos Complexos do Ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico

3.8.1 Concentração Mínima Inibitória – CMI

Foi avaliado o potencial antimicrobiano determinando a CMI para os compostos de coordenação A-F, A-V e A-V-F, frente à bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02) e a Gram-negativa *Escherichia coli* (UFPEDA 224) e para os fungos *Microsporium gypseum* e *Epidermophyton floccosum* A-F, A-V e A-V-F (Tabela 8).

Tabela 8: Concentração Mínima Inibitória – CMI dos compostos A-F, A-V e A-V-F.

Concentração Mínima Inibitória em $\mu\text{g/mL}$

Micro-organismos	A-F	A-V	A-V-F
<i>S. aureus</i> (02)	312,5	1250	625
<i>E. coli</i> (224)	-----*	-----*	2500
<i>M. gypseum</i> (2565)	625	2500	312,5
<i>E. floccosum</i> (2563)	1250	625	2500

*Inativo

A menor CMI capaz de inibir o crescimento da bactéria *S. aureus* foi encontrada para o composto A-F (312,50 $\mu\text{g/mL}$). O mesmo ocorreu para o composto A-V-F frente à bactéria *E. coli*, sendo encontrada uma CMI em 2500 $\mu\text{g/mL}$, e a menor CMI de 625 $\mu\text{g/mL}$ frente à bactéria *S. aureus*. É notável que para as outras amostras (A-F e A-V) não foram observados valores de CMI capazes de inibir o crescimento da bactéria *E. coli*. Esse fato, pode ser atribuído a essa bactéria ser gram-negativa, em que segundo Pool-Zobel *et al.*, (1993), a menor sensibilidade das bactérias gram-negativas aos antimicrobianos pode ser justificada pelo fato destes micro-organismos apresentarem uma membrana mais externa, que pode impedir a entrada de moléculas estranhas introduzidas no meio, inclusive de antibióticos.

Em relação aos fungos a menor CMI (625 $\mu\text{g/mL}$) foi apresentada pelo composto A-V-F frente ao fungo *E. floccosum* quando comparado com os outros compostos que tiveram uma CMI de 1250 e 2500 para os compostos A-F e A-V-F, respectivamente. Igualmente, para o fungo *M. gypseum* a menor concentração (312,50 $\mu\text{g/mL}$) foi encontrada para o composto A-V-F. Percebe-se assim que o dermatófito *M. gypseum* foi mais sensível apresentando as menores concentrações nos compostos testados quando comparado com o *E. floccosum*.

Em geral, os compostos A-F e A-V-F apresentaram melhor atividade antimicrobiana do que o A-V, sugerindo que a presença do ferro⁺³ e o sulfato de vanadila juntos potencializam a atividade do composto formado quando comparado com o A-V isolado.

4. CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a amida piplartina (PIP) isolada das raízes de *P. tuberculatum* e seu respectivo complexo com sulfato de vanadila (V-PIP) apresentaram uma promissora atividade frente à bactéria *S. aureus*, que apresentou um halo de inibição maior para o V-PIP (35 mm) e CMI de 78,1 µg/mL e para a *E. coli* uma CMI de 156,2 µg/mL. Para a PIP também foi encontrado a menor CMI (312,5 µg/mL) em *S. aureus*, e uma das menores concentrações em *P. aeruginosa* (625 µg/mL) corroborando com os resultados obtidos por Naika *et al.*, (2010).

A atividade antimicrobiana (CMI) da PIP foi relatada pela primeira vez em relação a sua ação frente às bactérias *S. aureus*, *B. subtilis* e *E. coli*, apresentando halos de inibição consideráveis e a menor CMI de 312,5 µg/mL frente a *S. aureus*.

A elucidação estrutural para o complexo V-PIP foi possível por análises de IV, UV-Vis e curvas TGA, que confirmou da formação da ligação coordenativa entre o ligante e o metal vanádio.

Os compostos de coordenação com o ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico apresentaram atividades antimicrobianas. O composto de coordenação com o ferro mostrou promissora atividade frente à bactéria *S. aureus* e ao fungo *M. gypseum* com CMI de 312,50 µg/mL para a bactéria e 625 µg/mL para o fungo. O mesmo ocorreu para o composto codificado como A-V-F frente a esses micro-organismos com CMI de 625 µg/mL (*S. aureus*) e 312,50 µg/mL (*M. gypseum*), respectivamente. Para o fungo *E. floccosum* o composto codificado como A-V apresentou uma CMI de 625 µg/mL.

A obtenção dos compostos de coordenação com potencial antimicrobiano aqui descrito é relevante, principalmente dos compostos com o ligante piplartina, pois a piplartina uma amida conhecida por suas potentes atividades biológicas, após a coordenação potencializou a atividade frente algumas bactérias, e apresentou solubilidade em água; propriedade física desejável para um candidato a fármaco.

5. PERSPECTIVA

- Propor e confirmar as estruturas dos compostos de coordenação com o ácido *trans*-3,4-metilenodioxicinâmico .

6. REFERÊNCIAS

AGUIAR, L. W. **Síntese e Caracterização do Poli (Fluoreto de Vinilideno) Dopado com Complexo de Cério e Complexo de Neodímio**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul.

ALÉCIO, A. C.; Bolzani, V. S.; Young, M. C. M., Kato, M. J., Furlan, M. Antifungal Amide from Leaves of *Piper hispidum*. **Journal of Natural Products**, Vol. 61, Pág.637-639, 1998.

ALIGIANNIS, N.; KALPOTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal Agricola Food Chemistry**, v.40, n. 9, p.4168-4170, 2001.

ANDRADE, R. C.; ALMEIDA, C. F.; SIQUEIRA, A. B.; TREU-FILHO, O.; CAIRES, F. J.; CARVALHO, C. T. Thermal and spectroscopic study of the 3,4-(methylenedioxy) cinnamate compounds of transition metals in the solid state. **Thermochimica Acta**, n. 596 p. 56–62; 2014.

ARRIGO, J. S.; BALEN, E.; LANZA JUNIOR, U.; MOTA, J. S.; IWAMOTO, R. D.; BARISON, A.; SUGIZAKI, M. M.; KASSUYA, C. A. L. Antinociceptive, antihyperalgesic and antiarthritic activity of amides and extract obtained from *Piper amalago* in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, 2015.

ARAÚJO-JÚNIOR, J.X.; CHAVES, M.C.O.; CUNHA, E.V.L., GRAY, A.I. Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. **Biochemical Systematics and Ecology**. 27: 325-327; 1999.

BALDOQUI, D. C.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.; KATO, M. J.; MARQUES, M. O. M. Flavonas, Lignanas e Terpeno de Piper umbellata (PIPERACEAE). **Química Nova**, vol. 32, nº 5, 1107-1109, 2009.

BARBOSA, A. C. **Quelatos complexos de oxovanádio (IV): potenciais mimetizadores de insulina**. 2005. 86.f. Dissertação (Mestrado). UFSCar, São Carlos, 2005.

BEZERRA, D. P.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SAKER-NETO, N.; SILVEIRA, E. R.; LOTUFO, L. V. C. Overview of the therapeutic potential of piplartine (piperlongumine), **European Journal of Pharmaceutical Sciences**; 48; 453–463; 2013.

BEZERRA, D. P.; MOURA, D. J.; ROSA, R. M.; VASCONCELLOS, M. C.; SILVA, A. C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A.; HENRIQUES, J. A.; LOTUFO, L. V. C.; SAFFI, J. Evaluation of the genotoxicity of piplartine, an alkamide of Piper tuberculatum, in yeast and mammalian V79 cells. **Mutation Res.**; 652: 164–174; 2008.

BEZERRA, D. P.; FERREIRA, P. M. P.; MACHADO, C. M. L.; AQUINO, N. C.; SILVEIRA, E. R.; CHAMMAS, R.; PESSOA, C. Antitumour Efficacy of Piper tuberculatum and Piplartine Based on the Hollow Fiber Assay. **Planta Medicines**; 81: 15–19; 2015.

BODIWALA, H. S.; SINGH, G.; SINGH, R.; DEY, C. S.; SHARMA, S. S.; BHUTANI, K. K.; SINGH, I. P. Antileishmanial amides and lignans from Piper cubeba and Piper retrofractum. **Journal of Natural Medicines**, vol. 61, p. 418 - 421; 2007.

BHARADWAJ, U.; ECKOLS, T. K.; KOLOSOV, M.; KASEMBELI, M. M.; ADAM, A.; TORRES, D.; ZHANG, X.; DOBROLECKI, L. E.; WEI, W.; LEWIS, M. T.; DAVE, B.; CHANG, J. C.; LANDIS, M. D.; CREIGHTON, C. J.; MANCINI, M. A.; TWEARDY, D. J. Drug-repositioning screening identified piperlongumine as a direct STAT3 inhibitor with potent activity against breast cancer. **Oncogene**, vol. 34; p. 1341-1353; 2015.

BRAZÃO, M.A.B. **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Piper aduncum* L. e seu componente, dilapiol, frente à *Staphylococcus spp.* Multirresistentes**. 2012. 82.f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2012.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. Centro de Divulgação Universitária - Estudos e Ensaios Biblioteca de Divulgação e Cultura Publicação nº 2, ser. 1ª, p. 523; 1953.

BRAZ-FILHO, R., SOUZA, M.P. & MATTOS, M.E.O. Piplartine-dimer A, a new alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, 20, 345 - 346, 1981.

CHASTEEN, N. D. “*The biochemistry of vanadium*”, **Structure and Bonding** 53:105-138; 1983.

CHENG, M.-J.; WU, M.-D.; YANAI, H.; SU, Y.-S.; CHEN, I.-S.; YUAN, G.-F.; HSIEH, S.-Y.; CHEN, J.-J. Secondary metabolites from the endophytic fungus *Biscogniauxia formosana* and their antimycobacterial activity. **Phytochemistry**. 5, 467–472; 2012.

CRANS, D. C. **Pure and Applied Chemistry**, 77, 1497; 2005.

CONTIGUIBA, F.; REGASINI, L. O.; BOLZANI, V. S.; DEBONSI, H. M.; PASSARINI, G. D.; CICARELLI, R. M. B.; KATO, M. J.; FURLAN, M. Piperamides and their derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Medicinal Chemistry Research**; 18, 703 – 711; 2009.

CAZAROLLI, L. H. **Estudo da Atividade de Flavonóides e de Complexos de Vanádio na Glicemia de Ratos Diabéticos Induzidos com Aloxana**. 2004. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

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

CLSI – **Clinical and Laboratory Standards Institute**. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twentieth Informational Supplement: M100-S20 e M100-S20-U. Wayne (PA): CLSI, 2010.

CLSI – **Clinical and Laboratory Standards Institute**. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts and Filamentous Fungi. Approved standard: M27-A3 e M38-A2. Wayne (PA): CLSI, 2008.

CRANS, D. C., J. J. SMEE, E. GAIDAMAUSKAS, L. Yang “*The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds*”, **Chemistry Reviews**, 104:849-902; 2004.

DA SILVA Jr., I. F.; OLIVEIRA, R. G.; SOARES, I. M.; ALVIM, T. C.; ASCÊNCIO, S. D.; OLIVEIRA, D. T. Evaluation of acute toxicity, antibacterial activity, and mode of action of the hydroethanolic extract of *Piper umbellatum* L. **Journal of Ethnopharmacology**, 151; 137–143; 2014.

DYER, L. A.; PALMER, A. D. N. ***Piper: A model genus for studies of phytochemistry ecology and evolution***. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2004.

EKMEKCIOGLU, C.; FEYERTAG, J.; MARKTL, W. Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. **Cancer Lett.** v. 128, p. 137-144, 1998.

ESPÓSITO, B. P. **Ferro: Um metal que vale ouro.** Instituto de Química. Universidade de São Paulo. 2011.

ETCHEVERRY, S. B.; CORTIZO, A. M. “*Bioactivity of vanadium compounds on cells in culture*” In: **Vanadium in the environment. Part 1: Chemistry and Biochemistry**, J. O. Nriagu Ed., John Wiley & Sons, New York, 1998.

FAZOLIN, M; ESTRELA, J. L. V.; ALBUQUERQUE, E. S.; COSTA, C. R.; CATANI, V.; CAVALCANTE, A. S. S.; DAMACENO, J. E. O. **Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper affinis hispidinervum* para insetos pragas das culturas do milho e feijão.** EMBRAPA- ACRE, s/d.

FARZANFAR, J.; GHASEMI, K.; REZVANI, A. R.; DELARAMI, H. S.; EBRAHIMI, A.; HOSSEINPOOR, H.; ESKANDARI, A.; RUDBARI, H. A..BRUNO, G. Synthesis, characterization, X-ray crystal structure, DFT calculation and antibacterial activities of new vanadium(IV, V) complexes containing chelidamic acid and novel thiourea derivatives. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 147, p. 54-64, 2015.

FERRAZ, A. B. F.; BALBINO, J. M.; ZINI, C. A.; RIBEIRO, V. L. S.; BORDIGNON, S. A. L.; VON POSER G. Acaricidal activity and chemical composition of the essential oil from three *Piper* species. **Parasitol Research**. 107:243–248; 2010.

FELIPE, F. C. B.; SOUZA FILHO, J. T.; SOUZA, L. E. O.; SILVEIRA, J. A.; UCHOA, D. E. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.; VIANA, G. S. B. Piplartine, na amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomedicine**, 14, 605-612; 2007.

FONTENELE, J. B.; LEAL, L. K.; SILVEIRA, E. R.; FELIX, F. H.; BEZERRA, F. C. F.; VIANA, G. S. Antiplatelet effects of piplartine, na alkamide isolated of *P. tuberculatum*: possible involvement in cyclooxygenase blockade and antioxidant activity. **Journal Pharmacy and Pharmacology**, 2009, 61, 511 – 515.

FERNANDES, C.; PARRILHA, G. L.; LESSA, J. A.; SANTIAGO, L. J. M.; KANASHIRO, M. M.; BONIOLO, F. S.; BORTOLUZZI, A. J.; VUGMAN, N. V.; HERBST, M. H.; HORN Jr, A. Synthesis, crystal structure, nuclease and in vitro antitumor activities of a new mononuclear copper(II) complex containing atripodal N3O ligand. **Inorganic Chimica Acta**, v. 359, p. 3167–3176, 2006.

FERREIRA, I. P. **Estudo da interação do vanádio (V) com os ácidos β -alaninoidroxâmico, glicinoidroxâmico e α -alaninoidroxâmico em solução aquosa – Uma abordagem a partir da DFT**, 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Físico- Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

FERREIRA, W. S. **Utilização da piperina como protótipo na síntese de novos anti-chagásicos da classe das 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminas**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química)- Química Orgânica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 197f. 2006.

FREITAS, A. M. P. **Estudo do efeito do ácido cinâmico e cinamato de metila no metabolismo glicolípídico em camundongos**. 2014. Dissertação (Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

GANONG, W. F. **Fisiologia médica**. 14. Ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil, 1993, p. 342-343.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, Vol 5, No. 3, p. 363-393. 2013.

GUIMARÃES, E.F.; GIORDANO, L.C.S. Piperaceae do nordeste brasileiro I: estado do Ceará. **Rodriguésia**, 55(84): 21-46; 2004.

GUZMAN, J.D.; MORTAZAVI, P.N.; MUNSHI, T.; EVANGELOPOULOS, D.; MCHUGH, T.D.; GIBBONS, S.; MALKINSON, J.; BHAKTA, S. 2-Hydroxy-substituted

cinnamic acids and acetanilides are selective growth inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. **Medicinal Chemical Communications**. 5, 47–50; 2014.

GREENWOOD, N. N.; EARNESHAW, A. Chemistry of the Elements, **Pergamon Press**, Cap. 22, 1997.

GOMES, C. A.; LUBE, L. M.; HORN JUNIOR, A.; FERNADES, C. Complexos de ferro(III) com ligantes n,o doadores miméticos a metano monooxigenase - uma proposta de síntese, caracterização e avaliação catalítica. **CONFICT: a ciência pela água**, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2013.

GOMES, C. A.; HORN JUNIOR, A.; FERNANDES, C.; LUBE, L. M. **Síntese e caracterização de um complexo de ferro(III) com um ligante tripodal N3O doador**. 53º Congresso Brasileiro de Química. Rio de Janeiro, 2013.

GHOSH, K.; TYAGI, N.; KUMAR, P.; RATHI, S.; SINGH, U. P. Efficient nuclease activity of dinuclear iron(III) complex with ligand having carboxamido nitrogen donors. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 20, p. 167–171, 2012.

JUNG, E. H.; KIM, S. R.; HWANG, I. K. HA, T. Y. Hypoglycemic effects of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in C57BL/KsJ-db/db mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, n.24, p. 9800- 4, 2007.

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

KEPERT, D. L. Isoployanions and heteropolyanions; *Comprehensive Inorganic Chemistry*, **Pergamon Press**, Oxford, Vol. 4; 3; 1973.

LAGO, J. H. G.; RAMOS, C. S.; CASANOVA, D. C. C.; MORANDIM, A. D.; BERGAMO, D. C. B.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.; GUIMARAES, E. F.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Benzoic acid derivatives from Piper species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. **Journal of Natural Products**, vol 67: 1783–1788; 2004.

LAFAY S; GIL-IZQUIERDO. A Bioavailability of phenolic acids. **Phytochemistry Reviews.**, v.7, p. 301-11, 2008.

LIMA, S. M. A. **Avaliação das Atividades Antimicrobiana e Citotóxica de Metabólitos Secundários Produzida pela Actinobactéria ACTMS-9H Isolada da Rizosfera de *Paullinia cupana Kunth*. 2013.** Dissertação (mestrado em Biotecnologia Industrial) – Biotecnologia Industrial, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

LIU, L.; HUDQINS, W. R.; SHACK, S.; YIN, M. Q.; SAMID, D. Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention, **International Journal of Cancer**, v.62, n. 3, p. 345-350, 1995.

LÉON, I. E. et al. Vanadium and cancer treatment: Antitumoral mechanisms of three oxidovanadium (IV) complexes on a human osteosarcoma cell line. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 2013.

MACHADO, N. S. O. **Estudo da anatomia foliar de espécies do gênero *Piper* L. (Piperaceae) no estado do Rio de Janeiro.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 103p. 2007.

MAIER, K. P.; WAGNER, W.; HESSE, B.; KOPF, H. **European Journal of Cancer**, 17, 665; 1981.

MAURYA, M. R.; KHURANA, S.; SCHULZKE, C.; REHDER, D. **European Journal Inorganic Chemistry**, 779; 2001.

MARTINS, R. C. C.; LATORRE, L. R.; KATO, M. J. Phenylpropanoids and tetrahydrofuran lignans from *Piper solmsianum*. **Phytochemistry**, vol. 55: 843–846. 2000.

MARQUES, J. V.; OLIVEIRA, A.; RAGGI, L.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Antifungal Activity of Natural and Synthetic Amides from *Piper* species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, vol. 21, nº10, 1807-1813, 2010.

- MEDEIROS, M. A. Ferro. **Química Nova na Escola**, vol. 32, n° 3, Agosto, 2010.
- MONZOTE, L.; GARCÍA, M.; MONTALVO, A. M.; SCULL, R.; MIRANDA, M. Chemistry, cytotoxicity and antileishmanial activity of the essential oil from *Piper auritum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 105(2): 168-173, 2010.
- MORCELLI, S. R.; KANASHIRO, M. M.; CANDELA, D. R. S.; ALZAMORA, M.; HORN Jr., A.; FERNANDES, C. Synthesis, characterization and antitumoral activity of new di-iron(III) complexes containing naphthyl groups: Effect of the isomerism on the biological activity. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 67; p. 22–24; 2016.
- MUHARINI, R.; LIU, Z.; LIN, W.; PROKSCH, P. **New amides from the fruits of *Piper retrofractum***. *Tetrahedron Letters*, v. 56, p. 2521–2525, 2015).
- MUKHERJEE, B.; PATRA, B.; MAHAPATRA, S.; BANERJEE, P.; TIWARI, A.; CHATTERJEE, M. **Vanadium: an element of atypical biological significance**. *Toxicology Letters*, v. 150, p. 135-143, 2004.
- MORAIS, S. M.; FACUNDO, V. A.; BERTINI, L. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; ANJOS JÚNIOR, J. F.; FERREIRA, S. A.; BRITO, E. S.; NETO, M. A. S. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, 35, 670 – 675, 2007.
- MORAES, J.; NASCIMENTO, C.; LOPES, P. O. M. V.; NAKANO, E.; YAMAGUCHI, L. F.; KATO, M. J.; KAWANO, T. *Shistosoma mansoni*: in vitro schistosomicida activity of pipartine. **Experimental Parasitology**, 127, 357 – 364; 2011.
- MORAES, J.; NASCIMENTO, C.; YAMAGUCHI, L. F.; KATO, M. J.; NAKANO, E. ***Schistosoma mansoni*: In vitro schistosomicidal activity and tegumental alterations induced by pipartine on schistosomula**. *Experimental Parasitology*, vol. 132; p. 22-227; 2012.

NASCIMENTO, S. A.; ARAÚJO, E. A.; SILVA, J. M.; RAMOS, C. S. Chemical study and antimicrobial activities of *piper arboreum* (piperaceae). **Journal of the Chilean Chemical Society**, 60, Nº 1; 2015.

NAIKA, R.; PRASANNA, K. P.; GANAPATHY, P. S. S. Antibacterial activity of piperlongumine an alkaloid isolated from methanolic root extract of *Piper longum* L. **Pharmacophore**, vol. 1 (2), 141-148; 2010.

NRIAGU, J.O. (Ed). Vanadium in the Environment: part two health effects. 1 ed. New York: John Wiley & Sons, 403p. V. 31; 1998.

NOVAES, A. S.; MOTA, J. S.; BARISON, A.; VEBER, C. L.; NEGRÃO, F. J.; KASSUYA, C. A. L.; BARROS, M. E. Diuretic and antilithiasic activities of ethanolic extract from Piperamalago (Piperaceae). **Phytomedicine**, vol. 21, 523–528, 2014.

NAVICKIENE, H. M. D.; ALÉCIO, A. C.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. DA S.; YOUNG, M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, 55, 621 – 626; 2000.

NAVICKIENE, H. M. D.; BOLZANI, V. DA S.; KATO, M. J.; PEREIRA, A. M. S.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; FURLAN, M. Quantitative determination of anti-fungal and insecticide amides in adult plants and callus from *Piper tuberculatum* by reverse-phase high-performance liquid chromatography. **Phytochemical Analysis**, 14, 281 – 284; 2003.

NECHAY, B. R. “Mechanisms of action of vanadium”, **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, 24:501-524; 1984.

NIERO, E. L. O. **Efeitos de ácido cinâmico sobre melanócitos e células derivadas de melanoma humano: Avaliação do seu potencial antitumoral e de proteção contra danos celulares causados por radiação ultravioleta**. 2010. Tese (Biologia celular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, G. L.; VIEIRA, T. M.; NUNES, V. F.; RUAS, M. O.; DUARTE, E. R.; MOREIRA, D. L.; KAPLAN, M. A. C.; MARTINS, E. R. Chemical composition and efficacy in the egg-hatching inhibition of essential oil of *Piper aduncum* against *Haemonchus contortus* from sheep. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 24; 288-292; 2014.

OLIVEIRA, L. H.; CAMARGO, E.; RIBEIRO, K.; ARRUDA, E.; CARVALHO, A.; CARVALHO, C.; SOUZA, V. S.; TRINDADE, M. A. G. **Eletroanálise do Antioxidante Propil Galato sobre Eletrodo de Pasta de Carbono Modificada com 3,4metilenodioxicinamato de Manganês**. 52º Congresso Brasileiro de Química - Química e Inovação: Caminho para a Sustentabilidade. Recife, Pernambuco, 2012.

OLIVEIRA, L. H.; CAMARGO, E.; RIBEIRO, K.; ARRUDA, E.; CARVALHO, A.; CARVALHO, C.; SOUZA, V. S.; TRINDADE, M. A. G. **Uso do complexo 3,4metilenodioxicinamato de níquel para modificação de eletrodo de pasta de carbono**. 52º Congresso Brasileiro de Química - Química e Inovação: Caminho para a Sustentabilidade. Recife, Pernambuco, 2012.

OYEMITAN, I. A.; OLAYERA, O. A.; ALABI, A.; ABASS, L. A.; ELUSIYAN, C. A.; Oyedeji, A. O.; Akanmu, M. A. Psychoneuropharmacological activities and chemical composition of essential oil of fresh fruits of *Piper guineense* (Piperaceae) in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 166; 240–249; 2015.

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

PERES, L. E. P. In: **Metabolismo Secundário**. São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2004.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. **Química Nova**, vol. 25, Supl. 1, 45-61, 2002.

POOL-ZOBEL, B. L.; MUNZNER, R.; HOLZAPFEL, W. H. Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in the *S. Typhimurium* mutagenicity assay. **Nutrition and Cancer**, v.20, n.3, p.261-270, 1993.

RAJ, L.; IDE, T.; GURKAR, A. U.; FOLEY, M.; SCHENONE, M.; LI, X.; TOLLIDAY, N. J.; GOLUB, T. R.; CARR, S. A.; SHAMJI, A. F.; STERN, A. M.; MANDINOVA, A.; SCHREIBER, S. L.; LEE, S. W. Selective killing of cancer cells by a small molecule targeting the stress response to ROS, **Nature**, 475; 231–234; 2011.

RAHNI, M., LEGUBE, B. Mécanisme de la précipitation de l'acide salicylique par coagulation par le fer ferrique, **Water Research**, v. 30, n. 5, p. 1149 – 1160, 1996.

RAMOS, C. S.; VANIN, S. A.; KATO, M. J. Metabolism of (-)-grandisin from *Piper solmsianum* in Coleoptera and Lepidoptera species. **Phytochemistry**, vol. 69: 2157–2161; 2008.

RAMOS, C. S.; VANIN, S. A.; KATO, M. J. Sequestration of prenylated benzoic acid and chromenes by *Naupactus bipes* (Coleoptera: Curculionidae) feeding on *Piper gaudichaudianum* (Piperaceae). **Chemoecology**, vol. 19: 73–80; 2009.

RAMOS, S. J. G. **Efeito de Vanádio na Função Fisiológica e na Estrutura de Actina**. 2011. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Bioquímica, Universidade de Nova Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Lisboa, 2011.

RINALDI, R., GARCIA, C., MARCINIUK, L.L., ROSSI, A.V. e SCHUCHARDT, U. Síntese de biodiesel: uma proposta contextualizada de experimento para laboratório de química geral. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1374-1380, 2007.

RICHARD, A. **Die metalle bei den naturvorkern**. Leipzig: Kessinger, 1884.

RICKARD, T.A. **Man and metals**, v. I. New York: Arno Press, 1974.

ROVANI, G.T.; dos SANTOS, V.L.P.; MIGUEL, O. G.; BUDEL, J. M.; CAMPOS, R. **Investigação fitoquímica e antioxidante de partes vegetativas aéreas de *Piper amalago* L.** Cadernos da Escola de Saúde, Curitiba, v 2: 164-177 ISSN 1984-7041. 2013.

ROH, J.L., KIM, E.H., PARK, J.Y., KIM, J.W., KWON, M., LEE, B.H., Piperlongumine selectively kills cancer cells and increases cisplatin antitumor activity in head and neck cancer. **Oncotarget**, 5, 9227–9238; 2014.

RODRIGUES, R. V. **Estudo Fitoquímico dos Frutos de *Piper tuberculatum* (JACQ.) e Avaliação da Atividade Antinociceptiva dos Extratos e Constituintes Isolados.** Tese (Doutorado em Biologia Experimental). Universidade Federal Rural de Rodônia, Porto Velho, 2009.

RODRIGUEZ, R. V.; LANZMASTER, D.; LONGHI, B. D. T.; GADOTTI, V. de M.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, A. R. Antinociceptive effect of crude extract, fractions and three alkaloids obtained from fruits of *P. tuberculatum*, **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 2009, 32, 1809 – 1812.

ROSHCHIN, A. V.; ORDZHONIKIDZE, E. K.; SHALGANOVA, I. V. “*Vanadium - toxicity, metabolism, carrier state*”, **Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology**, 24:377-383; 1980.

REHDER, D. Biological and medicinal aspects of vanadium. **Inorganic Chemistry Communications**, vol. 6; 604–617; 2003.

SANTANA, H. T. **Estudo Fitoquímico de *Piper alatabaccum* trel & yunck , 1950 e Avaliação da Atividade Larvicida sobre *Aedes aegypti* linnaus, 1762 (diptera: culicidae) em condições de campo simulado.** (Dissertação). Fundação Universidade Federal de Rodônia, Porto Velho, p.91; 2012.

SATAKE, M.; MIDO, Y. **Bioinorganic Chemistry**, Discovery Publishing House, New Dheli, 2006.

SCARPELLINI, M. **Síntese, caracterização e reatividade de novos complexos de ferro e de cobre com ligantes imidazólicos de relevância bioinorgânica**. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

SHECHTER, Y.; GOLDWASER, I.; MIRONCHILK, M.; FRIDKIN, M.; GEFEL, D. Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 237, p. 3-11, 2003

SILVA, R. A. **Análise metabolômica e atividades biológicas de Piper reticulatum L.** Dissertação. Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 150; 2011.

SILVA, F. C. **Complexos de zinco(II), de európio(III) e heterobimetálico com os ácidos tiofeno 2 e 3-carboxílico. Síntese, caracterização e propriedades luminescentes**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 125 f. 2010.

SIENKO, M. J.; PLANE, R. A. **Elementos de Transição II**. Química 5 ed. São Paulo: Nacional, 1997. Cap. 21, p. 436-454.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias da Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII. **Instituto Plantarum**, Nova Odessa. 640p. 2005.

SILVA, R. V.; NAVICKIENE, H. M. D.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. DA S.; MEDA, C. I.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, 59, 521 – 527; 2002.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C.; MORRIL, T.C., Spectrometric Identification of Organic Compounds, 5 th ed., chapter 3 and 7, N.Y., Wiley, 1991.

SINGH, I. P.; CHOUDHARY, A. Piperine and Derivatives: Trends in Structure. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, Vol. 15, Nº. 17, 2015.

SHARMA, P.: Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. **Journal of Chemistry Pharmaceutical Research**, v. 3, n.2, p. 403-423, 2011.

TAYLOR, D. W. e HICKEY, L. J. Phylogenetic evidence for the herbaceous origin of angiosperms. **Plant Systematics and Evolution**, 180, 137; 1992.

THOMPSON, K. H. e ORVIG, C. Coordination chemistry of vanadium in metallopharmaceutical candidate compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, 219–221; 1033–1053; 2011.

THIMANN, K. V. **The auxins. IN: WILKINS, M. B. Physiology of plant growth and development.** McGraw-Hill, London, 2-45 p. 1969.

VIEGAS JR, C. e BOLZANI, V. S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, Vol. 29, No. 2, 326-337, 2006.

WANKE, S. M. A.; JARAMILLO, T.; BORSCH, M. S.; SAMAIN, D. S.; NEINHUIS, C. Evolution of piperales- matk gene and trnk intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast, **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 42, 477-497; 2007.

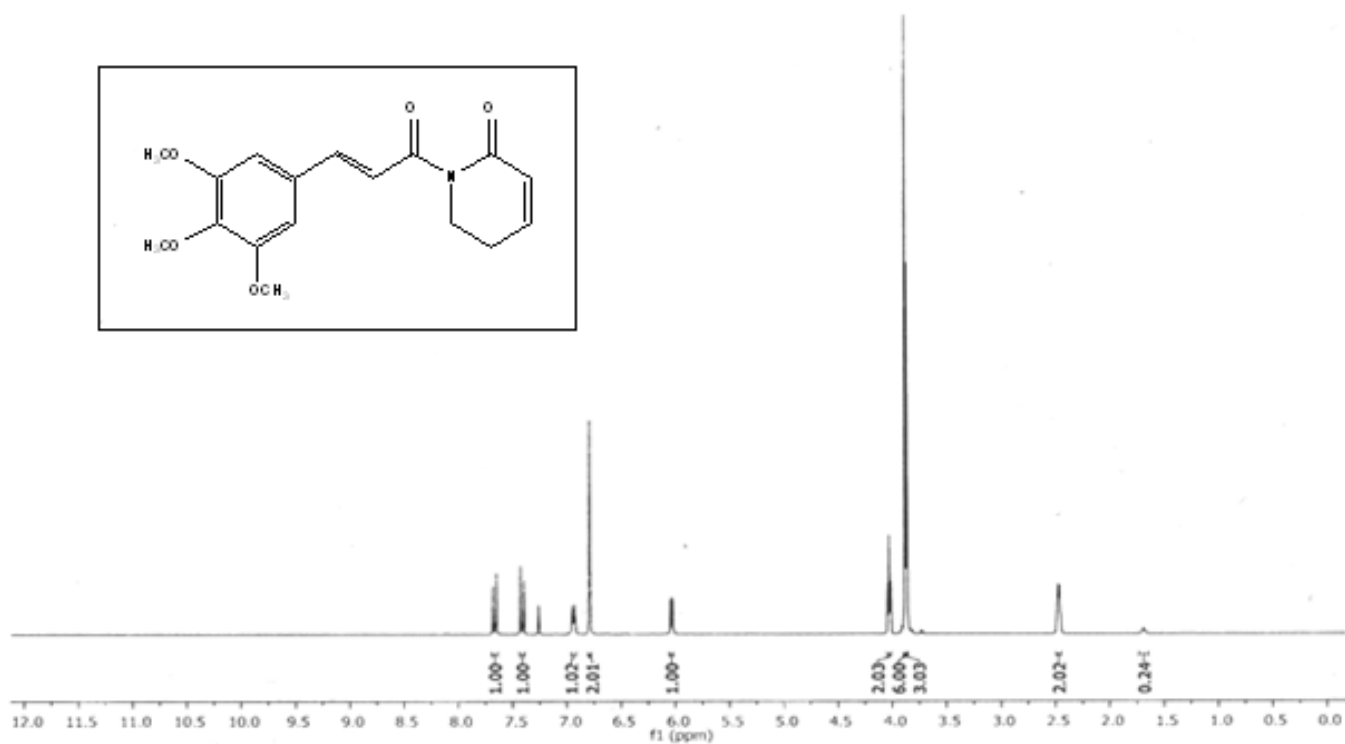
WETLER, E. B. **Síntese, Caracterização e Atividade Antifúngica contra Botrytis cinérea de Complexos de Zinco e Níquel com N-naftilsulfonilditiocarbimatos e N- naftilsulfoniltritiocarbimatos.** (Diseertação). Viçosa, Minas Gerais, 139f, 2013.

WONG-LEUNG, Y. L. **Antimicrobial activites of some Hong-Kong plants used in chinese medicine.** Fitoterapia, São Paulo, v.69, n.1, p.11-16, 1988.

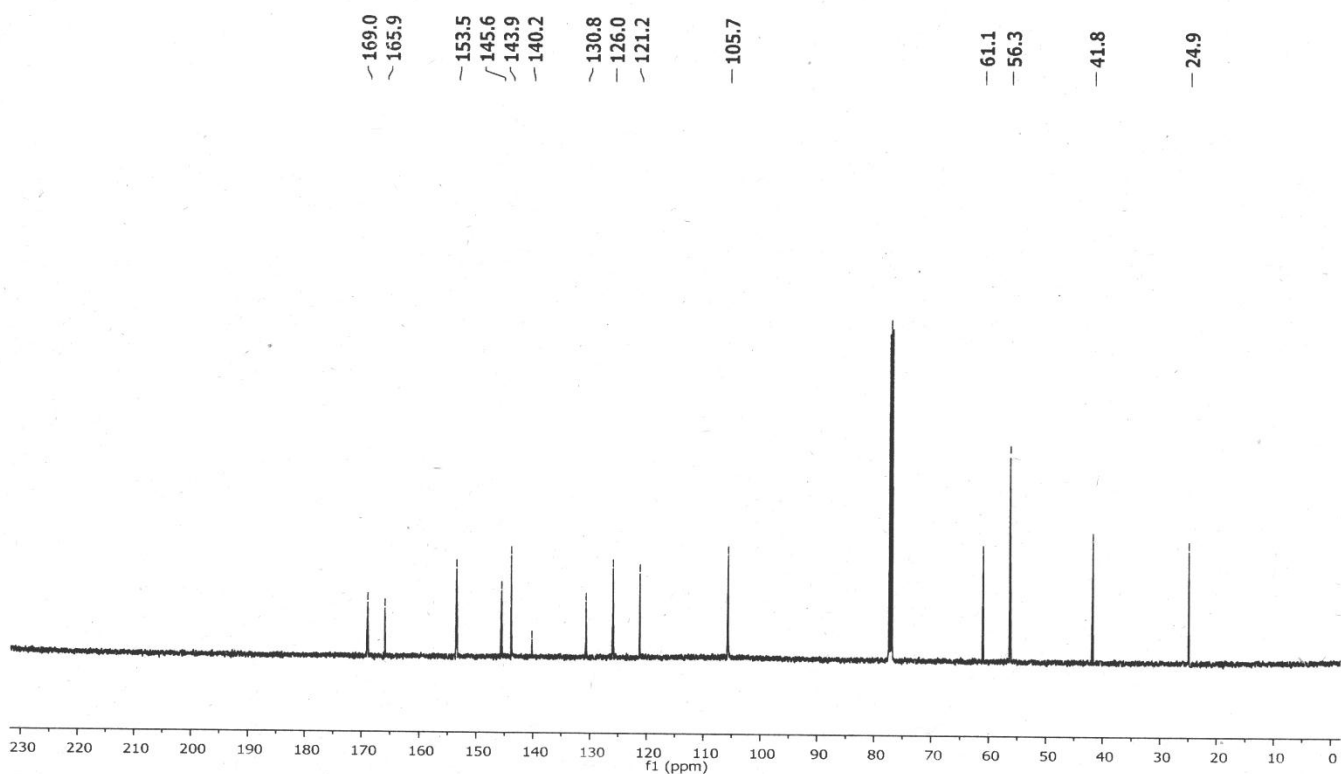
WHO. **Environmental Health Criteria** Vol. 81. Vanadium. WHO, Geneva, 1988.

XIE, M. J.; NIU, Y. F.; YANG, X.; LIU, W. P.; LI, L.; GAO, L. H.; YAN, S. P.; MENG, Z. H. Effect of the chloro-substitution on lowering diabetic hyperglycemia of vanadium complexes with their permeability and cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 45; 6077 e 6084; 2010.

ANEXOS



Espectro 1: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do ligante piplartina livre.



Espectro 2: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do ligante piplartina livre.