

FLAVONAS, LIGNANAS E TERPENO DE *Piper umbellata* (PIPERACEAE)

Debora Cristina Baldoqui, Vanderlan da S. Bolzani e Maysa Furlan*

Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14800-900 Araraquara – SP, Brasil

Massuo J. Kato

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05599-970 São Paulo – SP, Brasil

Márcia O. M. Marques

Instituto Agrônomo de Campinas, 13075-630 Campinas – SP, Brasil

Recebido em 14/1/08; aceito em 10/12/08; publicado na web em 7/5/09

FLAVONES, LIGNANS AND TERPENE FROM *Piper umbellata* (PIPERACEAE). The phytochemical investigation of *Piper umbellata* leaves yielded nine compounds including one terpenoid glucoside, five flavones (vitexin 2''-O- β -glucopyranoside, apigenin 8-C- β -D-glucopyranoside, orientin 8-C- β -D-glucopyranoside, 5-hydroxy-7,3',4'-trimethoxy-flavone and velutin), two lignans (sesamin e dihydrocubebin) and 4-nerolidylcatechol. Excepting 4-nerolidylcatechol, all compounds have not been described from this species yet.

Keywords: *Piper umbellata*; *Potomorphe umbellata*; constitutive metabolites.

INTRODUÇÃO

Piperaceae, que pertence à ordem Piperales, tem sido classificada junto com Chlorantaceae entre as mais primitivas angiospermas podendo, assim, ser considerada um fóssil vegetal vivo.¹ A grande maioria de suas espécies produz frutos do tipo espigas com grande quantidade de sementes que possuem síndrome de dispersão zoocórica, sendo muito frequente a dispersão por morcegos.²

Espécies de Piperaceae têm sido utilizadas na alimentação (como condimento – *Piper nigrum*),³ como inseticidas⁴ e, também, na medicina tradicional devido ao acúmulo de diferentes classes de metabólitos biologicamente ativos, tais como fenilpropanóides,⁵ lignanas/neolignanas,⁶⁻¹⁰ pironas,¹¹ amidas alifáticas e aromáticas,¹²⁻¹⁴ alcalóides,¹⁵ policetídeos¹⁶ e cromenos,¹⁷⁻²² além de outros metabólitos de biossíntese mista.^{7,23,24}

As espécies de Piperaceae estão sendo subdivididas em quatro gêneros,²⁵ sendo que os mais abundantes são *Peperomia* Ruiz e Pavon, com aproximadamente 1700 espécies²⁶ e *Piper* L., com cerca de 2000 espécies.²⁷ Muitos gêneros foram incluídos como sinônimos dentro do gênero *Piper*, por exemplo, *Arctotonia* Trel., *Macropiper* Miq., *Pothomorphe* Miq., *Otonia* Spreng., e *Trianaeopiper* Trel.²⁸

A espécie *Piper umbellata*, anteriormente classificada como *Potomorphe umbellata*,²⁹ conhecida popularmente no Brasil como pariparoba, caapeba, capeba e malvisco é uma planta arbustiva, de ocorrência pantropical, que chega a medir aproximadamente 3 m de altura.²⁹ Esta planta é utilizada na medicina popular no tratamento de doenças do fígado, epilepsia e como antimalárico.³⁰ Estudos biológicos demonstraram que possui atividade antimalárica e antiinflamatória.³⁰⁻³²

Além disso, recentes estudos demonstraram que apresenta atividade protetora contra raios ultravioleta do tipo UVB,³³ o que provavelmente está relacionada com o 4-nerolidilcatecol, componente majoritário nas folhas e raízes desta espécie, uma vez que este possui atividade antioxidante mais potente que a do *alfa*-tocoferol (vitamina E), a qual é utilizada em formulações cosméticas para a prevenção do envelhecimento cutâneo. Estes relatos mostram a importância deste metabólito secundário do ponto de vista comercial, uma vez que formulações contendo extrato de *Piper umbellata* têm sido empregadas em produtos de uso cosmético, tais como gel, creme e filtro solar.

Sendo assim, o conhecimento dos demais metabólitos presentes nesta espécie é importante, e o presente trabalho descreve o isolamento dos principais metabólitos secundários que ocorrem nas folhas de *Piper umbellata*, visto que os trabalhos descritos na literatura sobre esta espécie reportam somente o isolamento do 4-nerolidilcatecol,²⁹ incluindo o estudo de sua potencialidade biológica^{30,32,34,35} e estudos biossintéticos.^{36,37}

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

As folhas e raízes de *Piper umbellata* foram coletadas em novembro de 1999, na Universidade de São Paulo, e sua identificação foi feita pelo Dr. G. E. D. Paredes (Universid Pedro Ruiz Gallo - Peru), sendo que exsicatas (Kato-671) estão depositadas no Instituto de Biociências da USP, São Paulo.

As folhas utilizadas na extração de substâncias ácidas e na obtenção do óleo essencial foram coletadas de um espécime adulto cultivado nas dependências do Instituto de Química da UNESP de Araraquara.

Extração dos componentes não voláteis

As folhas de *Piper umbellata* (2000 g) secas e trituradas foram submetidas à extração por maceração com etanol. O extrato etanólico (225,0 g) foi dissolvido em MeOH:H₂O na proporção 4:1 e submetido a extrações líquido-líquido com hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt.

A fração AcOEt (8,0 g) foi submetida a uma partição em BuOH:H₂O (1:1). O extrato butanólico obtido foi concentrado em rotaevaporador (2,0 g) e aplicado em uma coluna de Sephadex LH 20 eluída com MeOH (100%) em um fluxo de 0,53 mL/min, resultando em 206 frações de 8 mL. As frações obtidas foram analisadas por CCDC utilizando como fase móvel BuOH:MeOH:H₂O (60:15:25) e agrupadas em 17 frações. A fração 5 (0,134 g) foi identificada como a substância **1** (*rel*-(6S, 9S)-roseosídeo). A fração 8 foi recristalizada em MeOH e resultou em um pó branco solúvel em DMSO, identificada como sendo a substância **2** (C-glicosilflavona-O-glicosídeo, vitexina 2''-O- β -D-glucopiranosídeo) (0,212 g). A fração 12 também foi recristalizada em MeOH e resultou em um pó amarelo identificado como sendo a substância **3** (C-glicosilflavonas, apigenina-8-C- β -D-glucopiranosídeo) (0,007 g). O mesmo

*e-mail: maysaf@iq.unesp.br

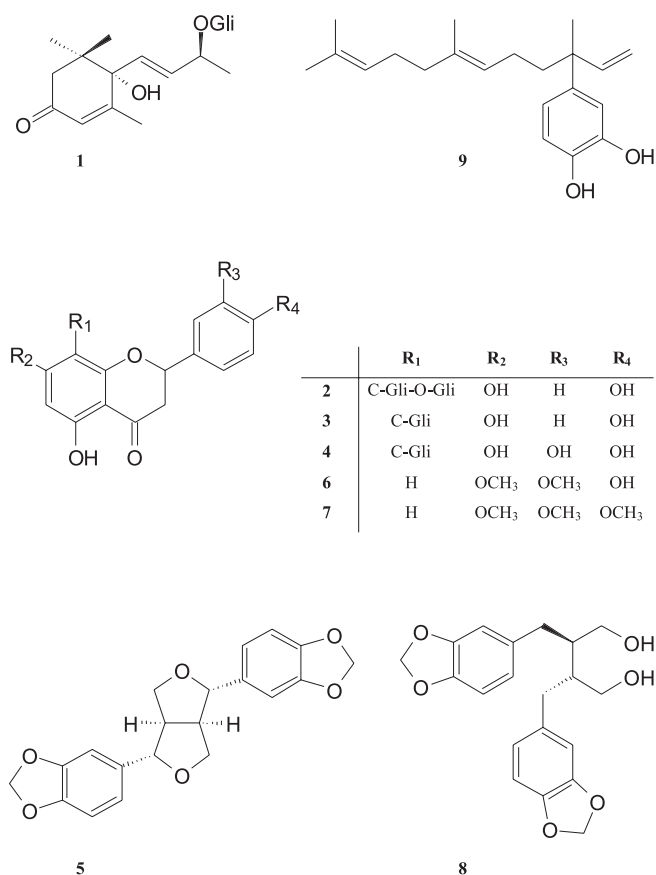


Figura 1. Estruturas químicas das substâncias isoladas das folhas de *Piper umbellata*

procedimento foi utilizado para a purificação da fração 14, que resultou em um pó amarelo, a qual foi identificada como sendo substância 4 (orientina 8-C- β -D-glucopiranosídeo) (0,006 g).

A fração CH₂Cl₂ (18,0 g) foi submetida à CC de sílica gel 60, eluída com Hex:AcOEt, em proporções crescentes de polaridade, resultando em 13 frações. A fração 4 (0,235 g) foi recristalizada em hexano e resultou em um precipitado em forma de agulhas, o qual foi identificado como sendo a substância 5 (sesamina) (0,183 g). A fração 8 (0,488 g) foi submetida a uma coluna de sílica gel eluída com CHCl₃:MeOH em proporções crescentes de polaridade, resultando em 21 frações. A fração 8-2 (0,020 g) foi submetida à CCDP, eluída com CHCl₃:MeOH (95:5), fornecendo 2 frações. A fração 8-2-1 resultou em um pó amarelo, o qual foi identificado como sendo a substância 6 (5-hidroxi-7,3',4'-trimetoxi-flavona) (0,006 g). A fração 8-5 (0,052 g) foi submetida à CCDP, eluída com CHCl₃:MeOH (95:5), fornecendo 3 frações. A fração 8-5-1, um pó amarelo, foi identificada como sendo a substância 7 (velutina) (0,008 g). A fração 10 (0,931 g) foi submetida a uma coluna de sílica eluída com CHCl₃:MeOH em proporções crescentes de polaridade, resultando em 20 frações. A fração 10-13 (0,102 g) foi submetida a uma coluna de sílica eluída com CHCl₃:MeOH em proporções crescentes de polaridade, fornecendo 15 frações. A fração 10-13-6 foi identificada como sendo a substância 8 (diidrocubebina) (0,024 g).

O último extrato estudado foi o extrato hexânico (166 g) e levou ao isolamento das substâncias 5 e 6, além do isolamento de 4-nerolidilcatecol (9) já isolado previamente de folhas de *Piper umbellata*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico das folhas de *Piper umbellata* levou ao isolamento de 9 substâncias, as quais foram identificadas pela análise de

dados espectrométricos, tais como RMN de ¹H e ¹³C, HMQC, HMBC e EM. Excetuando-se o 4-nerolidilcatecol, todas as substâncias isoladas neste trabalho são descritas pela primeira vez nesta espécie vegetal.

A substância 1 foi identificada como sendo um roseosídeo, um terpeno glicosilado primeiramente isolado de folhas de *Vinca rosea*.³⁸ Comparando os dados de RMN de ¹³C com os publicados na literatura^{39,40} foi possível propor a estereoquímica relativa da substância 1 como sendo *rel*-(6*S*, 9*S*)-roseosídeo, devido aos deslocamentos químicos dos carbonos C-6, C-7, C-8 e C-9 em δ 78,0, 131,7, 131,7 e 72,0, respectivamente, os quais são significativamente diferentes dos deslocamentos químicos na estrutura do (6*S*, 9*R*)-roseosídeo^{39,40} em δ 80,0, 134,8, 131,4 e 76,2, respectivamente. O estereoisômero (6*S*, 9*R*) já foi isolado de *Piper elongatum* VAHL,⁴¹ entretanto, o estereoisômero (6*S*, 9*S*) está sendo descrito pela primeira vez em espécies de *Piper*.

As substâncias 2–4, 6 e 7 foram identificadas como sendo flavonas, através da análise dos dados de EM, RMN de ¹H e de ¹³C e espectros bidimensionais COSY ¹H-¹H, HMQC e HMBC, além de comparação com dados publicados anteriormente. Nos espectros de RMN de ¹H as flavonas mostram um singlete entre δ 6,0 e δ 8,0 característico do hidrogênio ligado ao C-3, sendo que no espectro de RMN de ¹³C o sinal correspondente a este carbono mostra sinal entre δ 90,0 e δ 135,0.⁴² A substância 2 foi identificada como uma C-glicosilflavona-O-glicosídeo, vitexina 2''-O- β -D-glucopiranosídeo,^{43,44} e as substâncias 3 e 4 foram identificadas como C-glicosilflavonas, apigenina-8-C- β -D-glucopiranosídeo e orientina 8-C- β -D-glucopiranosídeo, respectivamente.^{45,46}

Os estudos fitoquímicos de espécies de Piperaceae têm mostrado o acúmulo de uma grande variedade de flavonóides, especialmente com o anel B não substituído.⁴⁷ Entretanto, a presença de flavonóides C-glicosilados é rara.⁴⁷ A substância 4, orientina 8-C- β -D-glucopiranosídeo, já foi previamente isolada de *Piper solmsianum* e *P. lhotzianum*.^{47,48} Derivados C-glicosilados da vitexina, tais como a vitexina-C- α -L-raminose-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosídeo, vitexina-C- α -L-arabinosídeo e vitexina-C- β -glucopiranosídeo, foram descritos em *Piper methysticum*.⁴⁹ Entretanto, a vitexina 2''-O- β -D-glucopiranosídeo (2) está sendo descrita pela primeira vez neste gênero. Até o momento, derivados da apigenina não foram também descritos em espécies de Piperaceae.

A substância 6 foi identificada como sendo a 5-hidroxi-7,3',4'-trimetoxi-flavona, isolada previamente em Piperaceae do extrato de sementes de *Piper sylvaticum*.^{42,50} A substância 7 foi identificada como sendo a velutina, previamente isolada dos caules e das folhas de *Piper clarkii*.^{42,51}

As substâncias 5 e 8 foram identificadas como sendo as lignanas sesamina e diidrocubebina, as quais já foram isoladas de várias espécies de *Piper*, incluindo *Piper brachystachyum* Wall, *P. retrofractum*, *P. peepuloides*, *P. guineense* e *P. cubeba*.^{7,52,53}

MATERIAL SUPLEMENTAR

Os espectros de RMN de ¹H e RMN de ¹³C das substâncias isoladas de *Piper umbellata* encontram-se disponíveis em <http://quimica-nova.sbq.org.br>, na forma de arquivo pdf, com acesso gratuito.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES e à FAPESP, incluindo o Programa BIOTA (Instituto Virtual da Biodiversidade – www.biota.org.br) pelos auxílios e bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

1. Taylor, D. W.; Hickey, L. J.; *Plant Systematics and Evolution* **1992**, *180*, 137.

2. Vázquez-Yánes, C.; Segovia, A. O.; *Physiological ecology of plants of the wet tropics*, Dr. W. Publishers: The Hage, 1984, p. 37.
3. Simpson, B. B.; Ogorzaly, M. O.; *Economic Botany: plants in our world*, 2nd ed., McGraw-Hill Inc.: New York, 1995.
4. Debonis, H. M.; Miranda, J. E.; Bortoli, S. A.; Kato, M. J.; Furlan, M.; *Pest Manag. Sci.* **2007**, *63*, 399.
5. Orjala, J.; Erdelmeier, C. A. J.; Wright, A. D.; Rali, T.; Sticher, O.; *Phytochemistry* **1993**, *34*, 813.
6. Monache, F. D.; Compagnone, R. S.; *Phytochemistry* **1996**, *43*, 1097.
7. Parmar, V. S.; Jain, S. C.; Bisht, K. S.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O. D.; Prasad, A. K.; Wengel, J.; Olsen, C. E.; Boll, P. M.; *Phytochemistry* **1997**, *46*, 597.
8. Benevides, P. J. C.; Sartorelli, P.; Kato, M. J.; *Phytochemistry* **1999**, *52*, 339.
9. Martins, R. C., Lago, J. H. G.; Kato, M. J.; *Phytochemistry* **2003**, *64*, 667.
10. Felipe, L. G.; Baldoqui, D. C.; Bolzani, V. S.; Kato, M. J.; Guimarães, E. F.; Ciccarelli, R. M. B.; Furlan, M.; *Phytochemistry* **2008**, *69*, 445.
11. Singh, Y. N.; *J. Ethnopharmacol.* **1992**, *37*, 13.
12. Alcício, A. C.; Bolzani, V. S.; Young, M. C. M.; Kato, M. J.; Furlan, M.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 637.
13. Navickiene, H. M. D.; Alcício, A. C.; Kato, M. J.; Bolzani, V. S.; Young, M. C. M.; Cavalheiro, A. J.; Furlan, M.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 621.
14. Silva, R. V.; Navickiene, H. M. D.; Kato, M. J.; Bolzani, V. S.; Meda, C. I.; Young, M. C. M.; Furlan, M.; *Phytochemistry* **2002**, *59*, 521.
15. Dodson, C. D.; Dyer, L. A.; Searcy, J.; Wright, Z.; Letourneau, D. K.; *Phytochemistry* **2000**, *53*, 51.
16. Cheng, M.; Lee, S.; Chang, Y.; Wu, S.; Tsai, I.; *Phytochemistry* **2003**, *63*, 603.
17. Moreira, D. L.; Guimarães, E. F.; Kaplan, M. A. C.; *Phytochemistry* **1998**, *48*, 1075.
18. Baldoqui, D. C.; Kato, M. J.; Cavalheiro, A. J.; Bolzani, V. S.; Young, M. C. M.; Furlan, M.; *Phytochemistry* **1999**, *51*, 899.
19. Lago, J. G. L.; Ramos, C. S.; Casanova, D. C. C.; Morandim, A. A.; Bergamo, D. C.; Cavalheiro, A. J.; Bolzani, V. S.; Furlan, M.; Guimarães, E. F.; Young, M. C. M.; Kato, M. J.; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1783.
20. Morandim, A. A.; Bergamo, D. C. B.; Kato, M. J.; Cavalheiro, A. J.; Bolzani, V. S.; Furlan, M.; *Phytochem. Anal.* **2005**, *16*, 282.
21. Salazar, K. J. M.; Paredes, G. E. D.; Lluncor, L. R.; Young, M. C. M.; Kato, M.; *Phytochemistry* **2005**, *66*, 573.
22. Lago, J. H. G.; Young, M. C. M.; Reigada, J. B.; Soares, M. G.; Roesler, B. P.; Kato, M. J.; *Quim. Nova.* **2007**, *30*, 1222.
23. Danelutte, A. P.; Lago, J. H. G.; Young, M. C. M.; *Phytochemistry* **2003**, *64*, 555.
24. Kato, M. J.; Furlan, M.; *Pure Appl. Chem.* **2007**, *79*, 529.
25. Jaramillo, M. A.; Manos, P. S.; Zimmer, E. A.; *Int. J. Plant Sci.* **2004**, *165*, 403.
26. Wanke, S.; Samain, M. S.; Vanderschaeve, L.; Mathieu, G.; Goetghebeur, P.; Neinhuis, C.; *Plant Biol.* **2006**, *8*, 93.
27. Quijano-Abril, M. A.; Callejas-Posada, R.; Miranda-Esquivel, D. R.; *J. Biogeografic.* **2006**, *33*, 1266.
28. Wanke, S.; Jaramillo, M. A.; Borsch, T.; Samain, M.; Quandt, D.; Neinhuis, C.; *Mol. Phylogenet. Evol.* **2007**, *42*, 477.
29. Kijjoa, A.; Giesbrecht, A. M.; Akiesue, M. K.; Gottlieb, O. R.; Gottlieb, H. E.; *Planta Med.* **1980**, *39*, 85.
30. Amorim, C. Z.; Flores, C. A.; Gomes, B. E.; Marques, A. D.; Cordeiro, R. S. B.; *J. Ethnopharmacol.* **1988**, *24*, 101.
31. Ferreira-da-cruz, M. F.; Adami, Y. L.; Espínola-mendes, E. C.; Figueiredo, M. R.; Daniel-ribeiro, C. T.; *Exp. Parasitol.* **2000**, *94*, 243.
32. Desmachelier, C.; Slowing, K.; Ciccica, G.; *Fitoterapia* **2000**, *71*, 556.
33. Ropke, C. D.; Kaneko, T. M.; Rodrigues, R. M.; Silva, V. V.; Barros, S.; Sawada, T. C. H.; Kato, M. J.; Barros, S. B. M.; *Int. J. Pharm.* **2002**, *249*, 109.
34. Felzenszwalb, I.; Valsa, J. O.; Araujo, A. C.; Alcántara, R. G.; *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1987**, *20*, 403.
35. Desmachelier, C.; Barros, S.; Repetto, M.; Latorre, L. R.; Kato, M. J.; Coussio, J.; Ciccica, G.; *Planta Med.* **1997**, *63*, 567.
36. Bergamo, D. C. B.; Kato, M. J.; Bolzani, V. S.; Furlan, M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1406.
37. Bergamo, D. C.; Kato, M. J.; Bolzani, V. S.; Furlan, M.; *Br PI 070.0238-6*, **2007**.
38. Bhakuni, D. S.; Joshi, P. P.; Uprety, H.; Kapil, R. S.; *Phytochemistry* **1974**, *13*, 2541.
39. Otsuka, H.; Yao, M.; Kamada, K.; Takeda, Y.; *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 754.
40. Çaliş, I.; Kuruuzum-Uz, A.; Lorenzetto, P. A.; Ruedi, P.; *Phytochemistry* **2002**, *594*, 451.
41. Masuoka, C.; Ono, M.; Ito, Y.; Nohara, T.; *Food Sci. Technol. Res.* **2003**, *9*, 197.
42. Agrawal, P. K.; Bansal, M. C.; *Carbon-13 NMR of flavonoids*, Elsevier: New York, **1989**.
43. Markham, K. R.; Webby, R. F.; Vilain, C.; *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2049.
44. Pauli, G. F.; Junior, P.; *Phytochemistry* **1995**, *38*, 1245.
45. Nawwar, M. A. M.; El-mousallamy, A. M. D.; Barakat, H. H.; Buddrus, J.; Linscheid, M.; *Phytochemistry* **1989**, *28*, 3201.
46. Hörhammer, L.; Wagner, H.; Gloggengiesser, G.; *Arch. Pharm.* **1958**, *291*, 126.
47. Moreira, D. L.; Guimarães, E. F.; Kaplan, M. A. C.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 783.
48. Campos, M. P.; Cechinel Filho, V.; Silva, R. Z.; Yunes, R. A.; Zacchino, S.; Juarez, S.; Bella-Cruz, R. C.; Bella-Cruz, A.; *Biol. Pharm. Bull.* **2005**, *28*, 1527.
49. Jhoo, J. W.; Ang, C. Y. W.; Heinze, T. M.; Deck, J.; Schnackenberg, L. K.; Beger, R. D.; Dragull, K.; Tang, C. S.; *Food Chem. Toxicol.* **2007**, *72*, 120.
50. Banerji, A.; Das, R.; *Indian J. Chem. Sect. B* **1977**, *15*, 495.
51. Jensen, S.; Olsem, C. E.; Tyagi, O. D.; Boll, P. M.; Hussaini, f. A.; Gupta, S.; Bisht, K. S.; Parmar, V. S.; *Phytochemistry* **1994**, *36*, 789.
52. Parmar, V. S.; Jain, S. C.; Gupta, S.; Talwar, S.; Raiwanshi, V. K.; Kumar, R.; Azim, A.; Malhortra, S.; Kumar, N.; Jain, R.; Sharma, N. K.; Tyagi, O. D.; Lawrie, S. J.; Errington, W.; Howarth, O. W.; Olsen, G. E.; Singh, S. K.; Wengel, J.; *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1069.
53. Elfahmi; Ruslan, K.; Batterman, S.; Rein, B.; Kayser, O.; Woerdenbag, H. J.; Quax, W. J.; *Biochem. System. Ecol.* **2007**, *35*, 397.