



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ETNOBIOLOGIA E

CONSERVAÇÃO DA NATUREZA - PPGETNO

CÍCERA NORMA FERNANDES LIMA

**REVISÃO SISTEMÁTICA DO USO POPULAR DO GÊNERO *Piper*
PARA O TRATAMENTO DA INFLAMAÇÃO E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE *Piper tuberculatum* Jacq.**

CRATO - CE

2020

CÍCERA NORMA FERNANDES LIMA

**REVISÃO SISTEMÁTICA DO USO POPULAR DO GÊNERO *Piper*
PARA O TRATAMENTO DA INFLAMAÇÃO E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE *Piper tuberculatum* Jacq.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Etnobiologia e Conservação da Natureza (UFRPE, URCA,
UEPB e UFPE), como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutor.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Marta Regina Kerntopf
(Universidade Regional do Cariri – URCA)

Co-orientadores:

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho
(Universidade Regional do Cariri – URCA)

Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe
(Universidade Federal da Paraíba – UFPB)

CRATO - CE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas

L732r

Lima, Cícera Norma Fernandes

Revisão sistemática do uso popular do gênero *Piper* para o tratamento da inflamação e avaliação da atividade anti-inflamatória de *Piper tuberculatum* Jacq. / Cícera Norma Fernandes Lima. - 2020.
113 f.: il.

Orientadora: Marta Regina Kerntopf.
Coorientadores: Henrique Douglas Melo
Coutinho / Cícero Francisco Bezerra Felipe.
Inclui referências e anexo(s).

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Recife, 2020.

1. Etnofarmacologia. 2. Revisão sistemática. 3. Inflamação. 4. *Piper*. 5. *Piper tuberculatum*. I. Kerntopf, Marta Regina, orient. II. Coutinho, Henrique Douglas Melo, coorient. III. Felipe, Cícero Francisco Bezerra, coorient. IV. Título

CDD 304.2

Tese apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Etnobiologia e Conservação da Natureza (Área de Concentração: Biodiversidade/Linha de Pesquisa: Sistemas Cognitivos e Uso de Recursos Naturais), outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

A citação de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita em conformidade com as normas da ética científica.

Apresentada em 18 de fevereiro de 2020.

Orientadora

Prof.^a. Dr.^a. Marta Regina Kerntopf
Universidade Regional do Cariri - URCA

Examinadores

Prof.^a. Dr.^a. Maria Arlene Pessoa da Silva
Universidade Regional do Cariri - Membro Interno

Prof.^a. Dr.^a. Jacqueline Cosmo Andrade Pinheiro
Universidade Federal do Cariri - Membro Externo

Prof.^a. Dr.^a. Débora Lima Sales
Universidade Regional do Cariri - Membro Externo

Prof. Dr. Diógenes de Queiroz Dias
Faculdades de Tecnologia do Nordeste - Membro Externo

Suplentes

Prof.^a. Dr.^a. Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins
Universidade Regional do Cariri - Membro Externo

Prof. Dr. Saulo Relison Tintino
Universidade Regional do Cariri - Membro Externo

CRATO - CE

2020

*Dedico à minha filha amada, **Lavínia Ester Fernandes Lima**,
que me acompanha nesse Doutorado desde o meu ventre.*

“Não to mandei eu? Sê forte e corajoso; não temas, nem te espantes, porque o SENHOR, teu Deus, é contigo por onde quer que andares”.

Bíblia Sagrada – Livro de Josué 1:9

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, que me capacitou desde o início da realização desse sonho, e por ter me guiado por mais esta etapa da minha vida. Toda honra e glória a Ti, Senhor!

Ao meu pai, **Francisco Lima** e as minhas mães, **Nilza Fernandes** e **Valdecí Fernandes**, pelo amor incondicional, por sempre me ensinarem o valor dos estudos e nunca medirem esforços na minha educação, e aos meus irmãos, **Frank**, **Franklim**, **Frankson**, **Diane** e **Bruna** por serem exemplos pra mim.

Ao meu esposo, **Deivyd Lima**, por todo amor, companheirismo, compreensão e dedicação a mim. Sem o seu apoio, eu jamais chegaria até aqui, e a minha filha amada, **Lavínia Ester**, que desde o início foi motivo de força e coragem para a conquista deste título. Eu amo vocês!

A minha cunhada, **Maria Cristina**, que sempre esteve à disposição para cuidar da minha filha, quando muitas vezes tive que me ausentar por conta das atividades do doutorado. Sou muito grata a você!

A minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. **Marta Regina Kerntopf**, que sempre acreditou no meu potencial e que me acompanha desde os primeiros passos da minha vida acadêmica, começando pela iniciação científica, chegando até o doutorado. Gratidão por sua amizade, ensinamentos, conselhos e orientação.

Aos meus co-orientadores, Prof. Dr. **Henrique Douglas Melo Coutinho** e Prof. Dr. **Cícero Francisco Bezerra Felipe**, pelo apoio e sugestões para a construção desta tese.

As amigas **Enaide Soares**, que me auxiliou em todas as etapas deste doutorado, que é um exemplo para mim de perseverança e coragem; **Jacqueline Andrade**, pelo companheirismo e amizade e apoio durante as disciplinas do doutorado; **Luciene Lima** e a **Gerlânia Leite**, pela amizade e ajuda em todos os momentos, por me incentivar e estar na torcida sempre! Deus abençoe cada uma de vocês!

Aos meus irmãos em Cristo da **Igreja Batista da Paz** pelas orações a mim durante todo o processo do Doutorado.

A todo o grupo do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais (LFPN), em especial a **Damon Alencar**, **Denise Bezerra**, **Maria de Fátima**, **Sara Tavares**, **Jéssica Sousa**, **Ádamo Brasil**, pela amizade, auxílio nos ensaios farmacológicos, como também em outras etapas deste trabalho e por compartilhar momentos de descontração.

Ao Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (LFQM), coordenado pelo Prof. Dr. **Irwin Rose Alencar de Menezes** e aos **bolsistas** pela parceria e auxílio nos ensaios farmacológicos.

Ao **Laboratório de Produtos Naturais da Embrapa**, pela parceria na análise química do decocto de *Piper tuberculatum* e a Prof^ª. Dr^ª. **Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga**, da Universidade Regional do Cariri, por proporcionar esta parceria.

Ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima, coordenado pela Prof^ª Dr^ª **Maria Arlene Pessoa da Silva**, pela catalogação da exsicata e identificação botânica.

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN), coordenado pelo Prof. Dr. **José Galberto Martins da Costa** e aos **bolsistas** pela parceria e auxílio nos testes fitoquímicos.

Aos professores que compuseram a banca examinadora: Dr^ª. **Maria Arlene Pessoa da Silva**, Dr^ª. **Jacqueline Cosmo Andrade Pinheiro**, Dr^ª. **Débora Lima Sales** e Dr. **Diógenes de Queiroz Dias**, e aos suplentes Dr^ª. **Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins** e Dr. **Saulo Relison Tintino**, por aceitarem o convite.

Aos **coordenadores, professores, funcionários e colegas** do Programa de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza da URCA, UFRPE, UEPB e UFPB, pela dedicação conhecimentos transmitidos, auxílios prestados e companheirismo no decorrer do curso.

Aos órgãos de fomento, **Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP)**, a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, e o **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para realização deste trabalho...

meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

| | |
|--|-----|
| RESUMO | |
| ABSTRACT | |
| INTRODUÇÃO GERAL | 11 |
| CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 16 |
| 1.1 FAMÍLIA PIPERACEAE E O GÊNERO <i>Piper</i> | 16 |
| 1.2 ESPÉCIE <i>Piper tuberculatum</i> Jacq. | 18 |
| 1.3 ETNOBOTÂNICA E ETNOFARMACOLOGIA DO GÊNERO <i>Piper</i> | 20 |
| 1.4 INFLAMAÇÃO | 23 |
| 1.4.1 Processo inflamatório | 23 |
| 1.4.2 Plantas medicinais com atividade anti-inflamatória | 24 |
| REFERÊNCIAS | 27 |
| CAPÍTULO 2: SYSTEMATIC REVIEW: MEDICINAL USE AND SCIENTIFIC ELUCIDATION OF THE <i>Piper</i> GENUS FOR THE TREATMENT OF SYMPTOMS AND INFLAMMATORY DISEASES | 43 |
| CAPÍTULO 3: ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO DECOCTO DOS FRUTOS DE <i>Piper tuberculatum</i> Jacq. EM MODELOS <i>in vivo</i> | 73 |
| CAPÍTULO 4: CONSIDERAÇÕES FINAIS | 102 |
| ANEXOS | 104 |

RESUMO

FERNANDES-LIMA, CÍCERA NORMA. Dr^a. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Fevereiro/2020. REVISÃO SISTEMÁTICA DO USO POPULAR DO GÊNERO *Piper* PARA O TRATAMENTO DA INFLAMAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE *Piper tuberculatum* Jacq. Marta Regina Kerntopf; Henrique Douglas Melo Coutinho; Cícero Francisco Bezerra Felipe.

Estudos têm demonstrado confiabilidade nos efeitos biológicos de plantas em diferentes doenças, como aquelas caracterizadas pela resposta inflamatória, em que a ação de compostos vegetais biologicamente ativos tem demonstrado eficácia em estudos *in vivo* e *in vitro*. As espécies do gênero *Piper* são bastante utilizadas em várias partes do mundo por produzirem compostos com propriedades biológicas e farmacológicas diversas. E estudos etnobotânicos relatam o uso medicinal das espécies para o tratamento de distúrbios respiratórios, desordens do trato gastrointestinal, dentre outras. Dentre as espécies deste gênero destacamos a *Piper tuberculatum* Jacq., conhecida popularmente como pimenta-de-macaco ou pimenta-longa, utilizada na medicina popular como analgésica para dor de dente, sedativa, antiofídica e para o tratamento de problemas estomacais e que de acordo com a literatura, agrega diversas atividades biológicas. No entanto, há escassez de dados sobre forma de preparo dos frutos pelas comunidades, além de estudos que verifique sua possível atividade anti-inflamatória. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática do uso popular do gênero *Piper* para o tratamento da inflamação e avaliar a atividade anti-inflamatória dos frutos da espécie *Piper tuberculatum* em camundongos. Na avaliação do decocto dos frutos da espécie *Piper tuberculatum*, os ensaios farmacológicos evidenciaram uma baixa toxicidade com $DL_{50} > 5.000$ mg/Kg. O decocto dos frutos da espécie *Piper tuberculatum* (DFPT) demonstrou efeito anti-inflamatório sistêmico em modelos de triagem como edema de pata induzida por carragenina e dextrana. Os mecanismos de ação envolvida no efeito anti-inflamatório nos ensaios realizados provavelmente envolvem a inibição de citocinas com o envolvimento das vias do ácido araquidônico e histamina, bem como apresentou uma redução da migração leucocitária no modelo de peritonite e permeabilidade vascular, indicando que sua ação está vinculada a inibição da produção de eicosanoides e citocinas. A revisão sistemática demonstrou que os estudos na literatura comprovam que o gênero *Piper* abrange espécies com atividades bioativas com grande potencial para o tratamento de doenças inflamatórias. A composição química do DFPT revelou a presença de classes de metabólitos secundários como flavonoides, alcaloides, amidas e sesquiterpenos, sendo estes comumente relatados no gênero *Piper*. De forma geral, o decocto dos frutos de *Piper tuberculatum* mostrou-se como eficiente agente anti-inflamatório.

Palavras-chave: Estudo etnofarmacológico; Inflamação; *Piper tuberculatum* Jacq.; Toxicidade.

ABSTRACT

FERNANDES-LIMA, CÍCERA NORMA. Dr^a. University Federal Rural of Pernambuco. February/2020. SYSTEMATIC REVIEW OF THE POPULAR USE OF THE *Piper* GENUS FOR THE TREATMENT OF THE INFLAMMATION AND EVALUATION OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *Piper tuberculatum* Jacq. Marta Regina Kerntopf; Henrique Douglas Melo Coutinho; Cícero Francisco Bezerra Felipe.

Studies have demonstrated resources in the biological effects of plants in different diseases, such as those characterized by the inflammatory response, in which an action of biologically active plant compounds has demonstrated effectiveness in in vivo and in vitro studies. Piper species are widely used in various parts of the world for producing compounds with diverse biological and pharmacological properties. And ethnobotanical studies relate the medicinal use of species to treat respiratory disorders, disorders of the gastrointestinal tract, among others. Among the species of this genus highlighted in *Piper tuberculatum* Jacq., Popularly known as monkey pepper or long pepper, used in folk medicine as analgesic for toothache, sedative, anti-phallic and to treat stomach problems and that according to a literature , aggregates several biological activities. However, there is a lack of data on the way in which the fruit is prepared by the communities, in addition to studies that have verified its possible anti-inflammatory activity. The objective of this work was to carry out a systematic review of the popular use of the *Piper* genus to treat inflammation and to evaluate an anti-inflammatory activity of the fruits of the species *Piper tuberculatum* in mice. In the evaluation of the decoction of *Piper tuberculatum* fruits, pharmacological tests showed low toxicity with LD50 > 5,000 mg/Kg. The decoction of *Piper tuberculatum* (DFPT) fruits demonstrated systemic anti-inflammatory effect in screening models such as edema of paws induced by carrageenan and dextran. The mechanisms of action involved without anti-inflammatory effect in the experimental tests involved in the inhibition of cytokines with or in the arachidonic and histamine acid pathways, as well as changes in a reduction of leukocyte reproduction in the model of peritonitis and vascular permeability, which its action is linked to inhibition of the production of eicosanoids and cytokines. A systematic review demonstrated the studies in the literature proven on the genus *Piper* that capture species with bioactive activities with great potential for the treatment of inflammatory diseases. The chemical composition of DFPT revealed the presence of classes of secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids, amides and sesquiterpenes, which are commonly related in the *Piper* genus. In general, the decoction of *Piper tuberculatum* fruits proved to be an efficient anti-inflammatory agent.

Keywords: Ethnopharmacological study; Inflammation; *Piper tuberculatum* Jacq.; Toxicity.

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

O potencial terapêutico dos vegetais constitui um recurso medicinal alternativo para o tratamento de diversas enfermidades, visto que em muitas comunidades, representam um recurso mais acessível em relação aos medicamentos alopáticos (BEVILACQUA, 2010).

Os estudos etnobiológicos, com enfoque na etnobotânica, vêm contribuindo para o conhecimento dos recursos naturais, em especial os de origem vegetal. O saber popular do uso de plantas com fins medicinais representa uma ferramenta essencial para os estudos etnobotânicos (FONSECA-KRUEL, 2005; FONSECA, 2012).

Neste aspecto a etnofarmacologia associada aos métodos de Bioprospecção dos produtos naturais auxilia a etnobotânica a evidenciar e identificar plantas com atividades biológicas e permitir o planejamento de pesquisas de novos fármacos a partir do conhecimento empírico já existente (YUNES; CALIXTO, 2001). Uma abordagem etnodirigida, por sua vez, contribui com os estudos bioprospectivos, uma vez que levam em consideração as informações da literatura a cerca de indicações de uso popular das espécies vegetais para fins terapêuticos incluindo dentre muitos, o anti-inflamatório (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

Vários estudos têm confirmado os efeitos biológicos de plantas em diferentes doenças, como aquelas caracterizadas pela resposta inflamatória, em que a ação de compostos vegetais biologicamente ativos têm demonstrado eficácia em estudos *in vivo* e *in vitro* (ISSA; VOLATE; WARGOVICH, 2006), dentre os quais pode-se citar os gêneros *Annona* (CHAVAN et al., 2010), *Croton* (PERAZZO et al., 2007) e *Piper* (SIREERATAWONG et al., 2012).

As espécies do gênero *Piper* possuem ampla distribuição nos hemisférios tropical e subtropical, o que colabora para a grande utilização popular das mesmas que, agregam importância culinária, aromática, ornamental e medicinal (REIGADA et al., 2007; SANTOS et al., 2012). Na medicina popular são bastante utilizadas em várias partes do mundo por produzirem compostos com propriedades biológicas e farmacológicas diversas, dentre essas: atividades ansiolíticas, analgésicas, anti-inflamatórias, vasodilatadoras, citotóxica, imunomodulatória, antimicrobiana, antifúngica e promissora atividade antitumoral (BEZERRA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2009; MORAES et al., 2011; RAJ et al., 2011).

Diversos estudos etnobotânicos na literatura sobre a utilização das espécies do gênero *Piper* relatam o uso medicinal sob as formas de chás (decocto), infusões e banhos aromáticos.

(BLUMENTHAL et al., 1998; SANTHAKUMARI et al., 2003; WIROTESANGTHONG et al., 2008). Nesse contexto, a fitoquímica contribui para a verificação das atividades biológicas das espécies deste gênero referidas nas pesquisas etnobotânicas (PARRA et al., 2011).

Dentre as espécies deste gênero, *Piper tuberculatum* Jacq. Apresenta ampla distribuição. De acordo com Guimarães e Giordano (2004), no Brasil é encontrada nos estados do Amazonas, Rondônia, Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro e Mato Grosso. No Ceará é conhecida como pimenta-de-macaco ou pimenta- longa, sendo considerada uma planta medicinal, utilizada popularmente como analgésica para dor de dente, sedativa, antiofídica e para o tratamento de problemas estomacais (ARAÚJO- JÚNIOR et al., 1999; CHAVES et al., 2003).

O uso dos frutos, ou de outras partes do vegetal, e compostos isolados de *P. tuberculatum* agrega, segundo literatura, atividades antifúngica (NAVICKIENE, 2000; LAGO et al., 2004; PALACIOS et al., 2009), antitumoral (BEZERRA et al., 2006; BEZERRA et al., 2007; BEZERRA et al., 2008), antiagregante plaquetária (FONTENELE et al., 2009), inseticida (NAVICKIENE, 2003; SCOTT et al., 2004), propriedades hipotensivas (DUARTE et al., 2004), efeitos espasmolítico (OLIVEIRA, 2000), antinociceptivo (RODRIGUES et al., 2009), esquistossomicida (MORAES et al., 2011), anti-*Trypanosoma cruzi* (REGASINI et al., 2009), larvicida (LAVOR et al., 2012), gastroprotetor (BURCI et al., 2013), antibacteriana (SALES et al., 2017), antiplasmódica e antileishmania (OLIVEIRA et al., 2018).

Para tanto, considerando o uso significativo das plantas medicinais para as comunidades tradicionais e os aspectos abordados acerca do gênero *Piper*, como dados etnofarmacológicos, associados à alta prevalência de doenças inflamatórias e ao crescente interesse da indústria farmacêutica na descoberta de novas drogas, que venham remediar e mitigar os processos inflamatórios, torna-se imprescindível o desenvolvimento de pesquisas que abordem o potencial biológico de *P. tuberculatum* no aspecto anti- inflamatório.

Mediante o exposto como foi proposto avaliar a atividade anti-inflamatória dos frutos da espécie *Piper tuberculatum* em camundongos relacionando os resultados a uma revisão sistemática sobre o uso popular do gênero *Piper* para o tratamento da inflamação.

Os estudos etnodirigidos baseiam-se na seleção de espécies segundo a indicação de grupos populacionais em particular, de acordo com o uso dos recursos naturais utilizados ressaltando o conhecimento tradicional para a cura de enfermidades. Esta é uma ferramenta bastante utilizada em pesquisas etnofarmacológicas, devido ao tempo e ao baixo custo

empregadas na aquisição dessas informações (ALBUQUERQUE, HANAZAKI, 2006). Dessa forma, foi utilizada neste estudo a pesquisa etnodirigida sobre como as espécies do gênero *Piper* são empregadas para o tratamento dos sintomas da inflamação, bem como, para as doenças de caráter inflamatório. Para tanto, realizou-se uma revisão sistemática sobre o uso de tais espécies no tratamento da inflamação.

A inflamação é uma reação dos tecidos vascularizados em presença a uma lesão ou dano, ocasionando a ativação de alguns mecanismos para dar início ao processo de cura no tecido lesado, sendo caracterizada pela presença dos sinais clínicos: rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional (ENECHI; ODO; ONYEKWELU, 2013; ELSAYED et al., 2014; BUCKLEY et al., 2015).

A resposta inflamatória é acompanhada de sensação dolorosa que pode progredir para lesão tecidual, em decorrência da ativação celular exacerbada e da produção massiva de mediadores inflamatórios (DORWARD et al., 2012). Também ocorre vasodilatação local, aumento da permeabilidade e participação de mediadores inflamatórios como a histamina, prostaglandinas, bradicinina, citocinas leucotrienos, quimiocinas, dentre outros (BEG; SWAIN; HUSSAIN, 2011; LEE et al., 2016; POON et al., 2015; SOBOLEWSKI; LEGRAND; DIEDERICH, 2010). Outros mediadores inflamatórios envolvidos na inflamação são as aminas vasoativas, cininas, fator de ativação plaquetária, eicosanoides, citocinas, radicais livres, óxido nítrico (NO) e neuropeptídeos (RANG et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2011; KAWARA et al., 2015).

Os resultados desta pesquisa estão apresentados em dois capítulos, sendo cada capítulo composto por um artigo e/ou manuscrito, disponibilizado após a revisão de literatura.

O artigo da revisão sistemática sobre o estudo etnodirigido do gênero *Piper* encontra-se no segundo capítulo desta tese. Para a obtenção dos resultados desse trabalho foram realizados uma revisão sistemática, que enfatiza o estudo etnodirigido do gênero *Piper*, a análise química do decocto dos frutos e testes que avaliam a atividade anti-inflamatória de *P. tuberculatum*, o que resultou em duas produções científicas, as quais estão listadas no Quadro 1.

O terceiro capítulo trata da análise do decocto dos frutos de *P. tuberculatum* por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a sistema de quadrupolo/tempo de voo (UPLC-MS-ESI-QTOF), seguido pelos ensaios farmacológicos de inflamação aguda em modelos *in vivo*, avaliando a atividade anti-inflamatória da espécie em questão. Na realização dos testes farmacológicos envolvendo a bioprospecção foram utilizados modelos de

inflamação aguda *in vivo* que avaliassem o potencial farmacológico da *Piper tuberculatum*, contribuindo assim com informações que possam ser utilizadas na validação científica sobre o uso com eficácia e segurança da espécie na medicina popular, ressaltando a importância da sua conservação.

Quadro 1: Produções científicas originadas da tese de doutorado intitulada: Revisão sistemática do uso popular do gênero *Piper* para o tratamento da inflamação e avaliação da atividade anti-inflamatória de *Piper tuberculatum* Jacq., autoria de Cícera Norma Fernandes Lima, do Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza.

| Título | Periódico | Qualis em Biodiversidade | Fator de Impacto |
|--|--------------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| Artigo 1: Systematic review: medicinal use and scientific elucidation of the <i>Piper</i> genus for the treatment of symptoms and inflammatory diseases. (capítulo 2). | Journal of Medicinal Plants Research | B2 | 0.879 |
| Manuscrito 1: Atividade anti-inflamatória do decocto dos frutos de <i>Piper tuberculatum</i> Jacq. em modelos <i>in vivo</i> . (capítulo 3). | Food Chemistry | A2 | 5.399 |

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

CAPÍTULO 1: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 FAMÍLIA PIPERACEAE E O GÊNERO *Piper*

A família Piperaceae compreende 3.000 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, sendo a maioria de seus representantes arbustos, ervas e pequenas árvores. A família tem ganhado destaque como fonte de substâncias atribuída ao seu potencial farmacológico, e por apresentar ampla ocorrência e abundância no Brasil, várias espécies têm sido descritas por suas propriedades etnomedicinais (LÓPEZ et al., 2010; ALVES et al., 2016).

As espécies encontram-se classificadas em cinco gêneros, dos quais os mais abrangentes são: *Piper* (L.) e *Peperomia* (Ruiz e Pavon) com aproximadamente 2.000 e 1.700 espécies, respectivamente. Completando a família, os gêneros menos representativos são *Manekia* Trel. (anteriormente chamada de *Sarcorrhachis*), *Zippelia* Blume e *Verhuellia* Miq., descrito recentemente (WANKE et al., 2007; SAMAIN et al., 2010). O maior estudo de Piperaceae no Brasil foi realizado por Yunker, especialista na família, em “*The Piperaceae of Brasil*” (1972, 1973 e 1974), com o tratamento taxonômico de cerca 500 táxons, chaves de identificação e fotografias de exsicatas (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Piperaceae têm sido alvo de muitas pesquisas devido às características importantes que incluem a utilização na área da culinária, fármacos, cosméticos e perfumaria (LEMOS, 2003; SILVA; OLIVEIRA, 2000). Dentre as espécies, muitas são utilizadas como condimento (frutos), ornamentação e medicinal, sob as formas de chás, infusões e banhos aromáticos e, as partes vegetais mais empregadas são caule, frutos, folhas e raízes (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Na medicina popular são consideradas uma medida alternativa, utilizadas para o tratamento de várias patologias do trato respiratório (asma, bronquite e tosse), do aparelho digestivo (dores abdominais, diarreias, digestiva, carminativa), anti-inflamatório (reumatismo), antimicrobiana (antibacteriana, antifúngica, tratamento de feridas, vaginite e anti-helmíntica), antileucêmica e doenças venéreas (LEAL, 2000), constituindo uma fonte para a pesquisa fitoquímica e biológica.

O gênero *Piper* é o mais importante da família Piperaceae com aproximadamente 2.000 espécies e possui vasta distribuição nas regiões temperadas de ambos os hemisférios. No Brasil podem ser encontradas de Norte a Sul do país (SAMAIN et al., 2010), onde ocorrem aproximadamente 266 espécies, das quais 13 espécies e 4 variedades foram descritas

apenas no estado do Ceará, apesar de praticamente todas ocorrerem em outros estados do país (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Diversas espécies do gênero apresentam uso na medicina popular em países como China, Índia e Brasil para tratamento de distúrbios respiratórios, desordens do trato gastrointestinal, dentre outras. Na literatura, há relatos de propriedades ansiolíticas, analgésicas, anti-inflamatórias, vasodilatadoras, citotóxica, imunomodulatória, antimicrobiana, antifúngica e promissora atividade antitumoral (BEZERRA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2009; MORAES et al., 2011; RAJ et al., 2011). Também apresentam uma notável importância em fitoquímica, etnobotânica e atividade biológica (PARRA et al., 2011).

A investigação fitoquímica de espécies de *Piper* acarretou em inúmeros trabalhos científicos em diversas partes do mundo, o que levou ao isolamento de vários compostos bioativos, tais como: cavalactonas (XUAN et al., 2008; WHITTON et al., 2003), aristolactamas (CARDOSO JÚNIOR; CHAVES, 2003; CHAVES et al., 2006), fenilpropanoides (CHAVES; SANTOS, 2002; SANTOS et al., 1997), lignoides (CHEN et al., 2007; BODIWALA et al., 2007), cromonas (MORANDIM et al., 2005), terpenos (BALDOQUI et al., 2009; PÉRES et al., 2009), esteroides (PARMAR et al., 1997), ácidos benzoicos prenilados (LAGO et al., 2009; CHAVES et al., 2010), e amidas (ARAÚJO-JÚNIOR, 1997; SANTOS et al., 1998; CHAVES et al., 2003; SRINIVASAN, 2007; COTINGUIBA et al., 2009), sendo estes os metabólitos considerados mais característicos do gênero.

As principais atividades biológicas atribuídas às substâncias isoladas citadas acima são antifúngica, inseticida, bactericida, antitumoral, tripanocida, antiparasitária, antimicrobiana, antiprotozoária, anti-inflamatória, antinociceptiva e antioxidante (POHLIT et al., 2004; NAKAMURA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2012; DESHWAL, 2013; ZAKARIA et al., 2010; AGBOR et al., 2012).

Uma característica marcante do gênero é a presença de um rico conteúdo oleífero em suas estruturas (ALBIERO et al., 2005), no qual os óleos essenciais apresentam constituintes químicos como monoterpenos, sesquiterpenos, arilpropanoides, aldeídos, cetonas e álcoois de cadeia longa (CORREA et al., 2011).

1.2 ESPÉCIE *Piper tuberculatum* Jacq.

Piper tuberculatum (Figura 1) conhecida como pimenta-de-macaco ou pimenta-longa, apresenta um grande valor econômico e medicinal. Na medicina popular é empregada como analgésica para dor de dente, sedativa, antiofídica e problemas estomacais (ARAÚJO-JÚNIOR et al., 1999; CHAVES et al., 2003). Além do uso culinário, como temperos (FELIPE et al., 2007).

Figura 1. Aspecto geral de *Piper tuberculatum* Jacq.



A espécie estende-se por todo Continente Americano e Antilhas. No Brasil, é encontrada em diversos estados, como: Amazonas, Rondônia, Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro e Mato Grosso. Cresce em altitudes aproximadas aos 550 m, em encosta úmida, em capoeira e em locais brejosos. A espécie possui como sinônimas relevantes as variações *P. tuberculatum* e *P. scandens* Trel & Yunck. (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

A espécie apresenta-se como arbusto medindo aproximadamente de 2 a 2,5 m de altura, com folhas de bainha alada; pecíolo de 0,5 a 1 cm de comprimento; lâmina oblongo-elíptica ou ovado-elíptica, base assimétrica, ápice agudo, brilhante, glabra na face adaxial; nervuras ascendentes em número de 8-10 pares, peninérvias, dispostas até o ápice da lâmina; espigas eretas, com 4 a 7 cm de comprimento; pedúnculo de 1 a 1,5 cm de comprimento; bractéolas triangular-subpeltadas, marginalmente franjadas; 4 estames; drupa tetragonal, lateralmente comprida, glabra, 3 estigmas sésseis (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Estudos fitoquímicos realizados com a espécie objetivando o isolamento dos seus metabólitos secundários relatam a presença da piplartina e o seu dímero (BRAZ-FILHO et al., 1981), piperdardina, piperetina, piperina (ARAÚJO-JÚNIOR et al., 1997), ácido 3,4-metilenodioxo-cinâmico (SIMMONDS e STEVENS, 1956), piplaróxido, demetoxipiplartina (CAPRON e WIEMER, 1996), cefaranona B (ARAÚJO-JÚNIOR et al., 1999), $\Delta\alpha$; β -dihidropiperina, dihidropiplartina, 8(Z)-N-12,13,14-trimetoxicinamoila)- Δ^3 -piridin-2-ona, 5,6-dihidropiperlonguminina, pellitorina, (NAVICKIENE et al., 2000), N-[10-(13,14-metilenodioxifenil)-7(E)-9(E)-pentadienoila]-pirrolidina, N-[10-(13,14-metilenodioxifenil)-7(E)-pentadienoila]-pirrolidina, fagaramida, trans-6,7,8-trimetóxi-dihidrocinamato de metila, 6,7,8-trimetóxi-dihidrocinamato de metila (SILVA et al., 2002), piperina (CHAVES et al., 2003).

Na composição química do óleo essencial dos talos finos e dos frutos de *Piper tuberculatum*, estudos demonstraram que os componentes mais importantes são os sesquiterpenos óxido de cariofileno e o (E)-cariofileno, enquanto que α -pineno e β -pineno foram os principais constituintes de monoterpenos (FACUNDO et al., 2008).

Diversas pesquisas demonstraram que diferentes extratos, óleos essenciais e compostos isolados a partir de *Piper tuberculatum* apresentam atividade antifúngica (NAVICKIENE, 2000; LAGO et al., 2004; PALACIOS et al., 2009), antitumoral (BEZERRA et al., 2006; BEZERRA et al., 2007; BEZERRA et al., 2008), antiagregante plaquetária (FONTENELE et al., 2009), inseticida (NAVICKIENE, 2003; SCOTT et al., 2004), propriedades hipotensivas (DUARTE et al., 2004), efeitos ansiolítico e antidepressivo (FELIPE et al., 2007), efeitos espasmolítico (OLIVEIRA, 2000), antinociceptivo (RODRIGUES et al., 2009), esquitossomicida (MORAES et al., 2011), anti-*Trypanosoma cruzi* (REGASINI et al., 2009), larvicida (LAVOR et al., 2012), gastroprotetor (BURCI et al., 2013), antibacteriana (SALES et al., 2017), antiplasmódica e antileishmania (OLIVEIRA et al., 2018).

1.3 ETNOBOTÂNICA E ETNOFARMACOLOGIA DO GÊNERO *Piper*

Pesquisas com plantas medicinais colaboram para a descoberta de princípios bioativos que podem ser validados de forma científica (OLIVEIRA; MENINI NETO, 2012), podendo ser empregados também como alternativa à medicina convencional (FAGUNDES; OLIVEIRA; SOUZA, 2017).

Os estudos etnobotânicos possuem como característica fundamental o contato direto com as populações tradicionais, no qual é resgatado o conhecimento envolvendo a relação entre o homem e as plantas de uma comunidade (RODRIGUES; CARVALHO, 2001), de maneira a possibilitar a integração do conhecimento empírico ao acadêmico, desempenhando papel importante no resgate e valorização da cultura local (VÁSQUEZ; MENDONÇA; NODA, 2014; FAGUNDES; OLIVEIRA; SOUZA, 2017).

As espécies de *Piper* são utilizadas há séculos para fins curativos em várias culturas (BEZERRA et al., 2007). Alguns levantamentos etnobotânicos evidenciando o uso destas plantas no tratamento de várias patologias, como: tratamento de gonorreia, reumatismo, bronquite, asma, dores de cabeça e de estômago e nos estados de ansiedade leve e moderada (BLUMENTHAL et al., 1998; DA CUNHA et al., 2001), gota e artrite (SUNILA; KUTTAN, 2006), carminativo, estimulante e afrodisíaco (ARAMBEWELA et al., 2005), prevenção da halitose, na redução da placa bacteriana e na cicatrização de ferimentos (SANTHAKUMARI et al., 2003; WIROTESANGTHONG et al., 2008), irritações da pele (FELIPE et al., 2006) e como antídoto para picada de cobra (SANTOS et al., 1998).

Na literatura, as espécies do gênero *Piper* sob as formas de chás (decocto), infusões e banhos aromáticos (BLUMENTHAL et al., 1998; SANTHAKUMARI et al., 2003; WIROTESANGTHONG et al., 2008), cujas partes vegetais mais empregadas são caule, frutos, folhas e raízes (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

No que diz respeito à etnofarmacologia, os representantes do gênero *Piper* têm demonstrado a eficácia de suas propriedades como veremos nos estudos adiante. Vaghasiya et al. (2007) relatam que extrato metanólico das folhas da *Piper sarmentosum*, *Piper argyrophyllum* e *Piper longum*, apresentaram efeito anti-inflamatório inibindo o edema de pata induzido por dois agentes, carragenina e dextrana. Na investigação com o extrato etanólico das hastas da *Piper interruptum* Opiz. e dos frutos da *Piper chaba* Linn., apresentou ação anti-inflamatória nos testes do edema de orelha induzido por etil-fenilpropiolato, e na indução de granulomatoma, propondo que o mecanismo seja semelhante aos fármacos anti-inflamatório não esteroidais (SIREERATAWONG et al., 2012). As amidas

piperovatina e a piperlonguiminina, isoladas das folhas da *Piper ovatum*, promoveram redução do edema de orelha induzido por óleo de cróton, sugerindo ser eficaz no tratamento da inflamação tópica (SILVA et al., 2008).

Trabalho realizado por Stohr e colaboradores (2001) demonstraram a capacidade de inibição das enzimas ciclooxigenase I e 5-lipoxigenase de alguns compostos isolados de espécies de *Piper*, com ênfase para as amidas alifáticas insaturadas. Ainda no mesmo estudo, a *Piper kadsura* destacou-se na inibição da formação de leucotrienos, ao mesmo tempo em que, a *Piper boehmeriifolium* impediu com maior eficácia a atividade da enzima ciclooxigenase.

O extrato aquoso das folhas da *Piper sarmentosum*, apresentou efeito antinociceptivo, além de apresentar efeito anti-inflamatório (ZAKARIA et al., 2010). Já extrato da raiz de *Piper longum* promoveu redução das contorções abdominais induzidas pelo mesmo agente irritante, demonstrando potente efeito antinociceptivo (VEDHANAYAKI et al., 2003).

Algumas Piperáceas mostraram-se promissoras na atividade antibacteriana, como os extratos (aquoso, etanólico e clorofórmio) das sementes da *Piper nigrum* L. que inibiu de maneira significativa o crescimento da *Salmonella typhi* (DESHWAL, 2013). Substâncias isoladas da *Piper longum*, foram ativas contra bactérias gram-negativas e em menor grau contra bactérias gram-positivas (REDDY et al., 2001). O extrato etanólico das folhas da *Piper betel* exibiu amplo espectro de ação quando testado contra quatro espécies bacterianas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris* e *Staphylococcus aureus*, semelhante à ceftriaxona (DATTA et al., 2011).

Em relação à atividade antioxidante, o extrato etanólico da *Piper cubeba* promoveu eliminação dos radicais livres, atividade que foi atribuída aos compostos presentes, principalmente os polifenóis (NAHAK; SAHU, 2011). *Piper guineense*, *Piper umbellatum* e *Piper nigrum*, também apresentaram efeito antioxidante (AGBOR et al., 2012).

Em testes utilizando ratos diabéticos, o extrato hexânico das folhas da *Piper auritum* foi capaz de diminuir o estresse oxidativo e peroxidação lipídica mitocondrial, e desencadeou melhora no metabolismo lipídico, bem como a redução das espécies reativas de oxigênio (GUTIERREZ et al., 2012).

Demais atividades farmacológicas observadas na literatura foi a capacidade de combater a leishmaniose. Um estudo com o óleo essencial das folhas de *Piper clausenianum* inibiu o crescimento das formas promastigotas da *Leishmania brasiliensis* (MARQUES et al., 2010). Da *Piper malacophyllum* foi isolado um alkenylphenol, caracterizado por 4-[(30E)-decenyl] phenol (gibbilimbol B), responsável pela ação contra a *Leishmania* spp.

promastigotas e amastigotas e contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* (OLIVEIRA et al., 2012). Nakamura e colaboradores (2006) quando investigaram o extrato e frações das folhas da *Piper regnellii* var. *pallescenses*, observaram inibição do crescimento das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* cultivada em meio de Warren a 28 °C durante 72 horas, efeito este também apresentado pela ciclopentandiona isolada das raízes da *Piper carniconnectivum* (PAES-GONÇALVES et al., 2012).

No sistema cardiovascular, o extrato das folhas da *Piper aduncum*, quando administrado por via oral reduziu os níveis pressóricos de ratos hipertensos induzidos por L-NAME (ARROYO et al., 2012). Em aorta de coelhos, o extrato aquoso da *Piper sarmentosum* reduziu as lesões ateroscleróticas induzidas por uma alimentação rica em colesterol (AMRAM et al., 2010).

Atividades hepatoprotetoras também foram verificadas com a utilização de amidas isoladas dos frutos da *Piper chaba*, dentre essas a piperina demonstrou melhores resultados em dose dependente (MATSUDA et al., 2009).

Em estudo clínicos desenvolvidos por Hewageegana e colaboradores (2011) envolvendo pacientes recentemente diagnosticados com diabetes tipo 2, mostrou que cápsulas compostas de pó pulverizado dos frutos de *Piper betel*, proporcionou redução do nível de glicose sanguínea, considerado candidato nutracêutico para o tratamento desse tipo de diabetes. Além dessa espécie, o extrato aquoso da *Piper rostratum* promoveu redução dos níveis séricos de glicose em coelhos diabéticos, do mesmo modo em pacientes portadores do diabetes *melitus* tipo 2 (RIDTITID et al., 1998).

O extrato aquoso da *Piper sarmentosum* administrado durante sete dias por via oral, reduziu o nível de glicose no plasma em ratos normais, enquanto que o mesmo extrato e nas mesmas doses não reduziu a glicose plasmática em ratos diabéticos (PEUNGVICHA et al., 1998).

Em estudos com ênfase no sistema nervoso central também foram observadas ações farmacológicas de algumas espécies do gênero *Piper*, no qual o primeiro estudo neurofarmacológico foi realizado com o uso das raízes da *Piper methysticum* G. Forster. (KLOHS et al., 1959) para o tratamento da ansiedade e insônia.

Já substâncias isoladas a partir de *Piper longum* Linn. e *Piper nigrum* Linn. demonstraram efeitos antidepressivo (MAO et al., 2011), neuroprotetor (FU et al., 2010), ansiolítico (KHOM et al., 2013) e possível agente para o tratamento da doença de Parkinson (AL-BAGHDADI et al., 2012). Também foi observado efeito ansiolítico da piperartina, amida isolada das raízes da *Piper tuberculatum* Jacq. (FELIPE et al., 2007).

1.4 INFLAMAÇÃO

1.4.1 Processo inflamatório

A inflamação é definida como uma reação dos tecidos vascularizados em presença a uma lesão ou dano, acompanhada pela saída de líquidos e de células do sangue para o interstício, ocasionando a ativação de alguns mecanismos para dar início ao processo de cura no tecido lesado (ENECHI, ODO e ONYEKWELU, 2013; ELSAYED et al., 2014). A resposta na área da lesão é definida como área inflamada que apresenta sinais clínicos como rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional (BUCKLEY et al., 2015).

O desenvolvimento da resposta inflamatória comumente é acompanhado de sensação dolorosa e quando esta não é solucionada com êxito, ocorre à progressão da lesão tecidual, em decorrência da ativação celular exacerbada e da produção massiva de mediadores inflamatórios, com consecutiva perda da atividade funcional do órgão afetado (DORWARD et al., 2012). Também ocorre vasodilatação local, aumento da permeabilidade e participação de mediadores inflamatórios como a histamina, prostaglandinas, bradicinina, citocinas leucotrienos, quimiocinas, dentre outros (BEG; SWAIN; HUSSAIN, 2011; LEE et al., 2016; POON et al., 2015; SOBOLEWSKI, LEGRAND e DIEDERICH, 2010).

A inflamação divide-se em duas fases: aguda e crônica. Na fase aguda as primeiras células a chegarem ao local inflamado são os polimorfos nucleares (neutrófilos e monócitos). Esses são recrutados para o local da lesão, para desempenharem um papel essencial no desenvolvimento do processo inflamatório (BUCKLEY et al., 2015).

Já a fase inflamatória crônica é evidenciada pelo desenvolvimento da resposta humoral específica e da resposta imune celular. Ela é caracterizada por conter histologicamente um exsudado celular de macrófagos e linfócitos ao lado das áreas de regeneração tecidual (KUMAR et al., 2013; ROGERIO et al., 2015). Além disso, durante esse processo, ocorre a proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual (CRUVINEL et al., 2010; GOMES; COSTA, 2015). Esse processo tem duração prolongada e pode levar de semanas a anos. Ele pode ser observado na fisiopatologia de algumas doenças, como artrite reumatoide, asma, bronquite crônica, esclerose múltipla, aterosclerose, infarto do miocárdio, fibrose pulmonar, glomerulonefrites, doença de Alzheimer e câncer (COMINI-FROTA et al., 2012; PYEE et al., 2014).

Há outros mediadores inflamatórios envolvidos na inflamação como: aminas vasoativas, cininas, fator de ativação plaquetária, eicosanoides, citocinas, radicais livres,

óxido nítrico (NO) e neuropeptídios (RANG et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2011; KAWARA et al., 2015).

1.4.2 Plantas medicinais com atividade anti-inflamatória

O uso de plantas medicinais como forma terapêutica tem acompanhado o homem ao longo dos anos, fazendo com que esta prática se torne parte de sua cultura (BADKE et al., 2016). No Brasil, o uso destas plantas no tratamento de enfermidades possuem influências de diversas culturas, como: indígena, africana e europeia, cujos traços foram integrados em um conjunto de princípios que objetiva à cura de doenças (SILVA; OLIVEIRA; ARAÚJO, 2008).

Todavia, a utilização de plantas medicinais não se limita apenas como ferramenta terapêutica, destaca-se também a sua importância em pesquisas farmacológicas e no desenvolvimento de drogas, como matéria-prima para a fabricação de compostos farmacologicamente ativos (CARNEIRO et al., 2014).

O *screening* de compostos com propriedades anti-inflamatórias é viável graças a uma infinidade de técnicas *in vitro* (cultura de células e dosagem de mediadores inflamatórios; inibição de enzimas) e *in vivo* (indução de inflamação por substâncias denominadas agentes flogísticos ou irritantes em modelos animais variados) com ampla utilização na pesquisa pré-clínica (BLAZSÓ, GÁBOR, 1995; GÁBOR, 2000).

Os produtos naturais são definidos como material biológico que fornece substâncias com moléculas bioativas, podendo ser únicas a um organismo ou comuns a um grupo de organismos filogeneticamente relacionados (MANN, 1987). Essas moléculas bioativas são provenientes do metabolismo primário ou secundário e pertencem a classes químicas definidas (SANTOS, 2007).

Existem numerosos agentes, obtidos de fontes naturais, de grande diversidade química, que envolvem diferentes tipos de princípios ativos. Entre eles se encontram triterpenos, esteroides, lactonas sesquiterpênicos, flavonoides, cumarinas e alcaloides que tem comprovado atividade anti-inflamatória em vários modelos de inflamação, atuando sobre distintos mediadores deste processo (WAGNER, 1989; RECIO et al., 1995; LYSS et al., 1997; PELZER et al., 1998).

Plantas que são utilizadas tradicionalmente na cicatrização, febre, infecção, edema ou doenças reumáticas são indicadores da presença de compostos com propriedades anti-inflamatórias e, assim, devem ser investigadas e a sua eficácia comprovada. Na literatura

pode-se destacar algumas espécies do gênero *Piper* que já tiveram suas propriedades anti-inflamatórias descritas, tais como: *Piper sarmentosum*, *Piper argyrophyllum* e *Piper longum* (VAGHASIYA et al., 2007), *Piper sarmentosum* (ZAKARIA et al., 2010), *Piper interruptum* Opiz. *Piper chaba* Linn. (SIREERATAWONG et al., 2012), e isolados de *Piper ovatum* (SILVA et al., 2008), *Piper kadsura* e *Piper boehmeriifolium* (STOHR et al., 2001).

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AGBOR, G.A.; VINSON, J.A.; JOHNSON, R. Antioxidant and anti-atherogenic activities of three species on atherogenic diet fed hamsters, **Experimental and Toxicologic Pathology**. v. 64, n. 4, p. 387-39, 2012.

AL-BAGHDADI, O.B. et al. Inhibition of monoamine oxidase by derivatives of piperine, an alkaloid from the pepper plant *Piper nigrum*, for possible use in Parkinson's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22 p. 7183-7188, 2012.

ALBIERO, A.L.M. et al. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* H.B. & K. (Piperaceae). **Acta Botanica Brazilica**, v. 19, p. 305-312, 2005.

ALBUQUERQUE, U.P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, p. 678-689, 2006.

ALVES, H.S.; ROCHA, W.R.V.; FERNANDES, A.F.C.; NUNES, L. E.; PINTO, D.S.; COSTA, J.I.V.; CHAVES, M.C.O.; CATÃO, R.M.R. Atividade antimicrobiana de produtos obtidos de espécies de *Piper* (Piperaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 21, n. 2, p. 168-180, 2016.

AMRAN, A.A. et al. Aqueous extract of *Piper sarmentosum* decreases atherosclerotic lesions in high cholesterolemic experimental rabbits. **Lipids in Health and Disease**, v. 9 n. 1. p. 44, 2010.

ARAÚJO-JÚNIOR, J.X. et al. Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 27, p. 325-327, 1999.

ARAÚJO-JÚNIOR, J.X. et al. Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 3, p. 559-561, 1997.

ARROYO, J. et al. Efecto antihipertensivo del extracto de *Piper aduncum* ‘matico’ sobre la hipertensión inducida por L-NAME em ratones. **Anales de la Facultad de Medicina**, v. 73, n. 4, p. 275-280, 2012.

BADKE, M.R.; SOMAVILLA, C.A.; HEISLER, E.V.; ANDRADE, A.; BUDÓ, M.L.D.; GARLET, T.M.B. Saber popular: uso de plantas medicinais como forma terapêutica no cuidado à saúde. **Revista de Enfermagem da UFSM**. v. 6, n. 2, p. 225-234, 2016.

BALDOQUI, D.C. et al. Flavones, Lignans and Terpene from *Piper umbellata* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 32, p. 1107-1109, 2009.

BEG, S.; SWAIN, S.; HUSSAIN, M. S. Systematic review of herbals as potential anti-inflammatory agents: Recent advances, current clinical status and future perspectives. **Review Pharmacognosy**, v. 5, n. 10, p. 120-137, 2011.

BEVILACQUA, H.G.C.R. **Planejamento de horta medicinal e comunitária**. Divisão Tec. Esc. Municipal de Jardinagem/Curso de Plantas medicinais – São Paulo, 2010.

BEZERRA, D.P. et al. Evaluation of the genotoxicity of piplartine, an alkaloid of *Piper tuberculatum*, in yeast and mammalian V79 cells. **Mutation Research**, v. 652, n. 2, p. 164-174, 2008.

BEZERRA, D.P. et al. In vivo growth inhibition of sarcoma 180 by piperlonguminine, an alkaloid amide from the Piper species. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, n. 5, p. 599-607, 2008.

BEZERRA, D.P. et al. *In vivo* growth-inhibition of Sarcoma 180 by piplartine and piperine, two alkaloid amides from *Piper*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 39, n. 6, p. 801-807, 2006.

BEZERRA, D.P. et al. Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. **Toxicology in Vitro**, v. 21, p.1-8, 2007.

- BLAZSÓ, G.; GÁBOR, M. Effects of prostaglandin antagonist phloretin derivatives on mouse ear edema induced with different skin irritants. **Prostaglandins**, v. 50, p. 161- 168, 1995.
- BLUMENTHAL, M. et al. The Complete German Commission E Monographs. **American Botanical Council**, Austin, p. 685, 1998.
- BODIWALA, H.S. et al. Antileishmanial amides and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. **J. Nat. Med.**, v. 61, p. 418-421, 2007.
- BRAZ-FILHO, R.; SOUZA, M.P.; MATTOS, M.E.O. Piplartine-dimer A, a new alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 2, p. 345-346, 1981.
- BURCI, L.M. et al. Antiulcer and gastric antisecretory effects of dichloromethane fraction and piplartine obtained from fruits of *Piper tuberculatum* Jacq. in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p. 165-174, 2013.
- CAPRON, M. A.; WIEMER, D. F. Piplaroxide, an ant-Repellent piperidine epoxide from *Piper tuberculatum*. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 8, p. 794-795, 1996.
- CARDOSO JÚNIOR, E.L.; CHAVES, M.C.O. Caldensin, a new N-methylaristolactam alkaloid from *Piper caldense*. **Pharmaceutical Biology**, v. 41, n. 3, p. 216-218, 2003.
- CARNEIRO, F.M.; SILVA, M.J.P.; BORGES, L.L.; ALBENAZ, L.C.; COSTA, J.D.P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais – UEG**. v.3, n. 2, p. 44-75, 2014.
- CHAVAN, M.J.; WAKTE, P.S.; SHINDE, D.B. Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. **Phytomedicine**, v. 17, p. 149-151, 2010.
- CHAVES, M.C.O.; DE OLIVEIRA, A.H.; SANTOS, B.V.O. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 75-77, 2006.

CHAVES, M.C.O.; JUNIOR, F.A.G.; SANTOS, B.V. Amides from *Piper* fruits. **Fitoterapia**, v. 74, n. 12, p. 181-3, 2003.

CHAVES, M.C.O.; SANTOS, B.V.O. Constituents from *Piper marginatum* fruits. **Fitoterapia**, v. 73, n. 6, p. 547-549, 2002.

CHEN, Y.C.; LIAO, C.H.; CHEN, I.S. Lignans, an amide and anti-platelet activities from *Piper philippinum*. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2101-2111, 2007.

COMINI-FROTA, E.R.; RODRIGUES, D.H.; MIRANDA, E.C.; BRUM, D.G.; KAIMENMACIEL, D.R.; DONADI, E.A.; TEIXEIRA, A.L. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with the number of T2 MRI lesions in multiple sclerosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 45, n. 1, p. 68-71, 2012.

CORREA, E.; STERNER, O.; ECHEVERRI, F. Prenylhydroxybenzoic acid compounds with pungent activity from *Piper arieianum*. **Phytochemistry**. v. 72, p. 238-241, 2011.

COTINGUIBA, F. et al. Piperamides and their derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Med. Chem. Res.**, v. 18, p. 703-711, 2009.

CRUVINEL, W.M. et al. Sistema imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010.

DA CUNHA, E.V.L.; CHAVES, M.C.O. Two amides from *Piper tuberculatum* fruits. **Fitoterapia**, v.72, p.197-199, 2001.

DATTA, A.; GHOSHDASTIDAR, S.; SINGH, M. Antimicrobial property of piper betel Leaf against clinical isolates of bacteria. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, v. 2, n.3, p. 104-109, 2011.

DESHWAL, V.K. Antimicrobial investigation of *Piper nigrum* L. Against *Salmonella typhi*. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**. v. 3, n. 3, p. 100-103, 2013.

DORWARD, D.A. et al. Imaging inflammation: Molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 135, p. 182-199, 2012.

DUARTE, C.D.M. et al. New optimized piperamide analogues with potent in vivo hypotensive properties. **European Journal Pharmaceutical Sciences**. v. 23, p. 363-369, 2004.

ELSAYED, E. A.; ENSHASY, H. E.; WADAAN, M. A.M.; AZIZ, R. Mushrooms: A potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications. **Mediators of Inflammation**, 2014.

ENECHI, O.C.; ODO, C.E.; ONYEKWELU, O.N. Inhibition of leucocyte migration: A mechanism of anti-inflammatory effect of the ethanol extract of the stem bark of *Alstonia boonei* in Wistar rats. **Journal of Pharmacy Research**. v. 6, p. 925-927, 2013.

FACUNDO, V.A. et al. constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *Piper hispidum* H.B.K. **Acta Amazônica**. v. 38, n. 4, p. 733-742, 2008.

FAGUNDES, N.C.A.; OLIVEIRA, G.L.; SOUZA, B.G. Etnobotânica de plantas medicinais utilizadas no distrito de Vista Alegre, Claro dos Poções – Minas Gerais. **Revista Fitos**. v. 11, n. 1, p. 1-118, 2017.

FELIPE, D.F. et al. Analysis of neolignans compounds of *Piper regnelli* (Miq.) C. CD. Var. *pallescens* (C. DC.) Yunk by HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1371-1375, 2006.

FELIPE, F.C.B. et al. Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomedicine**. v. 14, n. 9, p. 605-612, 2007.

FONSECA, M.C.M. **Epamig pesquisa, produção de Plantas Medicinais para Aplicação no SUS**. Espaço para o produtor, Viçosa, 2012.

FONSECA-KRUEL, V.S.; SILVA, I.M.; PINHEIRO, C.U. O Ensino acadêmico da etnobotânica no Brasil. **Rodriguésia**, v. 56, n. 87, p. 97-106, 2005.

FONTENELE, J.B. et al. Antiplatelet effects of piperartine, an alkaloid isolated from *Piper tuberculatum*: possible involvement of cyclooxygenase blockade and antioxidant activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, p.511-515, 2009.

FU, M.; SUN, Z.; ZUO, H. Neuroprotective Effect of Piperine on Primarily Cultured Hippocampal Neurons. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 4, p. 598-603, 2010.

GÁBOR, M. Mouse ear inflammation models and their pharmacological applications. **Budapest: Akadémiai Kiadó**, 2000.

GOMES, E.L.F.D.; COSTA, D.A. Evaluation of functional, autonomic and inflammatory outcomes in children with asthma. **World Journal of Clinical Cases**. v. 3, n. 3, p. 301-309, 2015.

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

GUTIERREZ, R. M. P.; COTERA, L. B. F.; GONZALEZ, A. M. N. Evaluation of the Antioxidant and Anti-glycation Effects of the Hexane Extract from *Piper auritum* Leaves in vitro and Beneficial Activity on Oxidative Stress and Advanced Glycation End-Product-Mediated Renal Injury in Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. **Molecules**. v. 17, n. 10, p. 11897-11919, 2012.

HEWAGEEGANA, H.G.S.P. et al. *Piper betle* Linn: As a remedy for diabetes mellitus. **International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy**, v. 2, n. 5, 1601-1603, 2011.

ISSA, A.Y.; VOLTATE, S.R.; WARGOVICH, M.J. The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 405-419, 2006.

- KAWAHARA, K.; HOHJOH, H.; INAZUMI, T.; TSUCHIYA, S.; SUGIMOTO, Y. Prostaglandin E₂-induced inflammation: Relevance of prostaglandin E receptors. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**. v.1851, n. 4, p. 414-421, 2015.
- KHOM, S. et al. GABA-A receptor modulation by piperine and a non-TRPV1 activating derivative. **Biochemical Pharmacology**, v. 85, p. 1827-1836, 2013.
- KLOHS, M.W. et al. A Chemical and Pharmacological Investigation of *Piper Methysticum* Forst. **Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 95-103, 1959.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; ASTER, J.C. **Robbins – Basic Pathology**. 9^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, p. 29-73, 2013.
- LAGO, J.H.G. et al. Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1783-1788, 2004.
- LAGO, J.H.G. et al. Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* L. and *P. hostmannianum* C.D.C. (Piperaceae). **Phytochemistry Letters**. v. 2, p. 96-98, 2009.
- LAVOR, P.L. et al. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from northeast Brazil. **Natural product communications**. v. 7, n.10, p. 1391-1392, 2012.
- LEAL, L.F. **Estudo Químico e Avaliação da Atividade Farmacológica e Microbiológica de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel**. Florianópolis, 2000. 158f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Pós-Graduação em Química.
- LEE, Y. C.; KUNG, H. F.; WU, C. H.; HSU, H. M.; CHEN, H. C.; HUANG, T. C.; TSAI, Y. H. Determination of histamine in milkfish stick implicated in food-borne poisoning. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, p. 63-71, 2016.

LEMOS, O.F. **Mutagênese e tecnologia *in vitro* no melhoramento genético da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.)**. 2003. 159 p. Tese (Génética e Melhoramento de Plantas)-Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LÓPEZ, S.N. et al. Geranylation of benzoic acid derivatives by enzymatic extracts from *Piper crassinervium* (Piperaceae). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 12, p. 4251-4260, 2010.

LYSS, G. et al. Helenalin, an anti-inflammatory sesquiterpene lactone from Arnica, selectively inhibits transcription factor NF- κ B. **Biological Chemistry**, v. 378, p. 951-961, 1997.

MACRAE, W.D.; TOWERS, G.H.N. Biological activities of lignans. **Phytochemistry**, v. 23, n. 6, p. 1207-1220, 1984.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2 ed. Oxford: Clarendon Press, 1987.

MAO, Q.Q. et al. Involvement of serotonergic system in the antidepressant-like effect of piperine. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 35, n. 4, p. 1144-1147, 2011.

MARQUES, A.M. et al. Chemistry and biological activity of essential oils from *Piper clausenianum* (Piperaceae). **Natural product communications**, vol. 5, n. 11, p. 1837-1840, 2010.

MATSUDA, H. et al. Hepatoprotective amide constituents from the fruit of *Piper chaba*: Structural requirements, mode of action, and new amides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 20, p. 7313-7323, 2009.

MORAES, J.D. et al. *Schistosoma mansoni*: In vitro schistosomicidal activity of pipartine. **Experimental Parasitology**. v. 127, n. 2, p. 357-364, 2011.

MORANDIM, A.A. et al. Circadian rhythm of anti-fungal prenylated chromene in leaves of *Piper aduncum*. **Phytochemical Analysis**, v. 16, p. 282-286, 2005.

NAHAK, G.; SAHU, R.K. Phytochemical Evaluation and Antioxidant activity of Piper cubeba and *Piper nigrum*). **Journal of Applied Sciences**, v. 1, n. 8, p. 153-157, 2011.

NAKAMURA, C.V. et al. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. 1, p. 61-66, 2006.

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

NAVICKIENE, H.M.D. et al. Quantitative determination of anti-fungal and insecticide amides in adult plants, plantlets and callus from *Piper tuberculatum* by reverse-phase high-performance liquid chromatography. **Phytochemical Analysis**, v. 14, n. 5, p. 281-284, 2003.

OLIVEIRA, A.O. et al. Leishmanicidal activity of an alkenylphenol from *Piper malacophyllum* is related to plasma membrane disruption. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 2012, p. 383-387, 2012.

OLIVEIRA, C.M.B.; SAKATA, R.K.T.S.A.; ISSY, A.M.; GEROLA, L.R.; SALOMÃO, R. Citocinas e Dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 61, n. 2, 2011.

OLIVEIRA, E.R.; MENINI NETO, L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte – MG. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 14, n. 2, p. 311-320, 2012.

OLIVEIRA, F.A.S.; PASSARINI, G.M.; MEDEIROS, D.S.S.; SANTOS, A.P.A.; FIALHO, S.N.; GOUVEIA, A.J.; LATORRE, M.; FREITAG, E.M.; MEDEIROS, P.S.M.; TELES, C.B.G.; FACUNDO, V.A. Antiplasmodial and antileishmanial activities of compounds from *Piper tuberculatum* Jacq fruits. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 51, n. 3, p. 382-386, 2018.

PAES-GONÇALVES, H. et al. The leishmanicidal activity of acyclopentenedione derivative isolated from the roots of a native Amazonian pepper (*Pipercarnicconnectivum*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 5, p. 1018-1023, 2012.

PALACIO, Z.G.F. et al. In vitro antifungal activity of crude extracts of *Piper tuberculatum*. **Revista Peruana de biologia**, v. 16, n. 2, p. 209-214, 2009.

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

PARRA, J.E., DELGADO, W.A., CUCA, L.E., Cumanensic acid, a new chromene isolated from *Piper* cf. *cumanense* Kunth (Piperaceae). **Phytochemistry Letters** v. 4, p. 280-282, 2011.

PELZER, E.I. et al. Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. **II Farmaco**, v. 53, p. 421-424, 1998.

PERAZZO, F.F. et al. Comparative anti-inflammatory and antinociceptive effects of terpenoids and an aqueous extract obtained from *Croton cajucara* Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 4, p. 521-528, 2007.

PÉRES, V.F. et al. Chemical composition and cytotoxic, mutagenic and genotoxic activities of the essential oil from *Piper gaudichaudianum* Kunth leaves. **Food Chem. Toxicol.**, v. 47, p. 2389-2395, 2009.

PEUNGVICHA, P. et al. Hypoglycemic effect of the water extract of *Piper sarmentosum* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, n. 1, p.27-32, 1998.

POHLIT, A.M. et al. Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for activity against *Aedes aegypti* larvae. **Acta Amazônica**. v. 34, n. 1, p. 97-105, 2004.

POON, D.C.H. et al. Sickness: From the focus on cytokines, prostaglandins, and complement factors to the perspectives of neurons. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. v. 57, p. 30-45, 2015.

PYEE, Y.; CHUNG, H.J.; CHOI, T.J.; PARK, H.J.; HONG, J.Y; KIM, J.S. KANG, S.S.; LEE, S.K. Suppression of inflammatory responses by handelin, a guaianolide dimer from

Chrysanthemum boreale, via downregulation of NF- κ B signaling and pro-inflammatory cytokine production. **Rev. Journal of Natural Products**, v. 77, n. 4, p. 917-924, 2014.

RAJ, L. et al. Selective killing of cancer cells by a small molecule targeting the stress response to ROS. **Nature**, Massachusetts, v. 475, n. 7355, p. 231-233, 2011.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J; HENDERSON, G. **Rang e Dale – Farmacologia**. 7ª ed. Elsevier: Rio de Janeiro, p. 768, 2012.

RECIO, M.C. et al. Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural terpenoids. **Planta Med.**, v. 61, p. 182-185, 1995.

REDDY, S.P. et al. Antibacterial activity of isolates from *Piper longum* and *Taxus baccata*. **Pharmaceutical Biology**, v. 39, n. 3, p. 236-238, 2001.

REGASINI, L.O. et al. Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, 2009.

REIGADA, J.B. et al. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) – antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). **Tetrahedron: Asymmetry**, v.18, p.1054-1058, 2007.

RIDTITID, W. et al. Neuromuscular blocking activity of methanolic extract of *Piper sarmentosum* leaves in the rat phrenic nervehemidiaphragm preparation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 2, p.135-142, 1998.

RODRIGUES, R.V. et al. Antinociceptive effect of crude extract, fractions and three alkaloids obtained from fruits of *Piper tuberculatum*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. v. 32, n. 10, p. 1809-1812, 2009.

RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 25, n. 1, p. 102-123, 2001.

ROGERIO, A.P.; SORGI, C.A. SADIKOT, R.; CARLO, T. The role of Lipids mediators in inflammation and resolution. **BioMed Research International**. v. 2015, p. 2-4, 2015.

SALES, V.S.; NASCIMENTO, E.P.; MONTEIRO, Á.B.; COSTA, M.H.N.; DELMONDES, G.A.; SOARES, T.R.C.; TINTINO, S.R.; FELIPE, C.F.B.; MENEZES, I.R.A.; KERNTOPF, M.R. Modulação *in vitro* da atividade antibiótica pelo óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 22, n. 2, p. 1-10, 2017.

SAMAIN, M.S. et al. *Verhuellia* is a segregate lineage in Piperaceae: more evidence from flower, fruit and pollen morphology, anatomy and development. **Annals of Botany**. v. 105, n. 5, p. 677-688, 2010.

SANTHAKUMARI, P.; PRAKASAM, A.; PUGALENDI, K.V. Modulation of oxidative stress parameters by treatment with *Piper betle* leaf in streptozotocin induced diabetic rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 35, p. 373-378, 2003.

SANTOS, B.V.O. et al. Croweacin from *Piper marginatum*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25, n. 5, p. 471-472, 1997.

SANTOS, B.V.O. et al. Fenilalcanóides de *Piper marginatum*. **Phytochemistry**, v. 49, p. 1381-1384, 1988.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 403-434, 2007.

SANTOS, T.G. et al. Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. PRESL.) C. DC. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 477-481, 2012.

SCOTT, I. M. et al. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. **Journal of economic entomology**, v. 97, n. 4, p. 1390-1403, 2004.

SILVA, A.C.P.R.; OLIVEIRA, M.N. **Caracterização botânica e química de três espécies do gênero *Piper* no Acre**. Rio Branco: Embrapa Acre, p. 13 (Boletim de Pesquisa, 23), 2000.

SILVA, D. et al. Anti-inflammatory activity of the extract, fractions and amides from the leaves of *Piper ovatum* Vahl. (Piperaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, n. 3, p. 569–573, 2008.

SILVA, F.L.A.; OLIVEIRA, R.A.G.; ARAÚJO, E.C. Use of medicinal plants by the elders at a Family health strategy. **Revista de Enfermagem da UFPE on-line**. v. 2, n. 1, p. 9-16, 2008.

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

SIMMONDS, N.W..R.; STEVENS. R. Occurrence of the methylene-dioxy bridge in the phenolic components of plants. London: **Nature**, v. 178, p. 752-753, 1956.

SIREERATAWONG, S. et al. Anti-Inflammatory, Analgesic, and Antipyretic Activities of the Ethanol Extract of *Piper interruptum* Opiz. and *Piper chaba* Linn. **International Scholarly Research Notices**, v. 2012, p. 1-6, 2012.

SRINIVASAN, K. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 735-748, 2007.

STOHR, J. R.; XIAO, P. G.; BAUER, R. Constituents of Chinese *Piper* species and their inhibitory activity on prostaglandin and leukotriene biosynthesis *in vitro*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, n. 2-3, p.133-139, 2001.

SUNILA, E.S.; KUTTAN, G. *Piper longum* inhibits VEGF and proinflammatory cytokines and tumor-induced angiogenesis in C57BL/6 mice. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 733-741, 2006.

VAGHASIYA, Y.; NAIR, R.; CHANDA, S. Investigation of Some *Piper* Species for Anti-Bacterial and Anti-Inflammatory Property. **International journal of Pharmacology**, v. 3, n. 5, p. 400-405, 2007.

VÁSQUEZ, S.P.F.; MENDONÇA, M.S.; NODA, S.N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. SciELO. **Acta Amazonica**. v. 44, n. 4, p. 457-472, 2014.

VEDHANAYAKI, G.; SHASTRI, G, V.; KURUVILLA, A. Analgesic activity of *Piper longum* Linn. Root. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 41, n. 6, p. 649-651, 2003.

WAGNER, H. Search for new plant constituents with potential antiphlogistic and antiallergic activity. **Planta Med.**, v. 55, p. 235-241 1989.

WANKE, S. et al. Evolution of Piperrales-matK gene and trnK intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42, p. 477-497, 2007.

WHITTON, P.A. et al. Kava lactones and the kava-kava controversy. **Phytochemistry**, v. 64, p. 673-679, 2003.

WIROTESANGTHONG, M. et al. Inhibitory effects of *Piper betle* on production of allergic mediators by bone marrow-derived mast cells and lung epithelial cells. **Int Immunopharmacol**. v. 8, p. 453- 457, 2008.

XUAN, T.D. et al. Efficacy of extracting solvents to chemical components of kava (*Piper methysticum*) roots. **Journal of Natural Medicines**, v. 62, p. 188-194, 2008.

YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. 1ª edição, Chapecó-SC, Argos – Editora Universitária. Cap. 7, p. 297-315. 2001.

ZAKARIA, Z.A. et al. In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the leaves of *Piper sarmentosum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 1, p. 42-48, 2010.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2: SYSTEMATIC REVIEW: MEDICINAL USE AND SCIENTIFIC ELUCIDATION OF THE *Piper* GENUS FOR THE TREATMENT OF SYMPTOMS AND INFLAMMATORY DISEASES (ARTIGO 1).

Cícera Norma Fernandes Lima^{1*}, Luciene Ferreira de Lima¹, Denise Bezerra Correia¹, Sara Tavares de Sousa Machado¹, Jéssica Pereira de Sousa¹, Enaide Soares Santos¹, Gyllyandeson de Araújo Delmondes¹, Irwin Rose Alencar de Menezes¹, Cícero Francisco Bezerra Felipe², Henrique Douglas Melo Coutinho¹ and Marta Regina Kerntopf¹

Artigo publicado no periódico: Journal of Medicinal Plants Research (Anexo 1)

Qualis em Biodiversidade: B2

Fator de impacto: 0.879



Systematic review: Medicinal use and scientific elucidation of the *Piper* genus for the treatment of symptoms and inflammatory diseases

Cícera Norma Fernandes Lima^{1*}, Luciene Ferreira de Lima¹, Denise Bezerra Correia¹, Sara Tavares de Sousa Machado¹, Jéssica Pereira de Sousa¹, Enaide Soares Santos¹, Gyllyandeson de Araújo Delmondes¹, Irwin Rose Alencar de Menezes¹, Cícero Francisco Bezerra Felipe², Henrique Douglas Melo Coutinho¹ and Marta Regina Kerntopf¹

¹Departamento de Química Biológica (DQB), Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, CE, Brazil.

²Departamento de Biologia Molecular (DBM), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brazil.

*Corresponding author. E-mail: norminhaf@yahoo.com.br.

ABSTRACT

The aim of this study was to conduct a systematic review that reported the medicinal use of the genus *Piper*, and pharmacological elucidations for the treatment of symptoms and processes of inflammation and inflammatory diseases. The systematic review was prepared in accordance with PRISMA guidelines. The databases used for this research were the Web of Science and Scopus, where associations with the terms were applied in both databases: "*Piper*" and "*Ethnobotanical*" and "*Piper*" and "*Anti-inflammatory effect*". Initially, the research identified 153 articles, of which 24 articles were selected for final analysis following the inclusion criteria. The results indicate that the medicinal use of species of the *Piper* genus entails mainly using of leaves, roots, and fruits, and decoct, maceration and powder for the treatment of inflammatory and respiratory diseases such as asthma and bronchitis. Regarding the evaluation of the anti-inflammatory effect of the genus, only seven species presented studies with their scientifically proven anti-inflammatory effect. Biases in the methodology applied in the studies were observed. In this systematic review, it was noticed that both studies addressed have gaps that can cause damage to future research and that pharmacological studies for inflammation with the use of the species themselves are still limited, with a more job for the isolated compounds of these plants.

Key words: *Piper*, medicinal, ethnobotanic, anti-inflammatory effect.

INTRODUCTION

Piper genus is the most representative of Piperaceae family, composed of about 1,000 species (Durant- Archibold et al., 2018), and has wide distribution on temperate regions from both hemispheres (tropical and sub-tropical). It is used for cooking, and has aromatic,

ornamental and medicinal purposes (Reigada et al., 2007; Santos et al., 2012). In Brazil, it can be found from North to South, where 292 species occur, of which 44 are variety and 184 are endemic (Flora do Brasil, 2018).

Concerning the botanical aspects, these genus specimens appear as sub-shrubs, shrubs or trees, measuring from 1 to 5 meters; they are able to reach up 10 meters in height. The stems are usually lignified, knotty and have many branches. Leaves have a long petiole and alternate with the stem. The limbo is simple, having its entire margin, with different shapes and sizes. The flowers are sessile, arranged in spikes opposite to leaves, varying in length and thickness, upright, sub-curved or curved; they are accompanied by thin or thick peduncles, of 2 to 5 stamens and 3 to 4 stigmas, filiform, curved, styled or sessile. The ovary is ovoid or sub-ovoid. Fruits are globular drupe with little thickened pericarp (Reitz, 2003; Guimarães and Giordano, 2004).

Ethnobotanical studies in the literature exhibit the genus *Piper* related to medicinal use in tea forms (decoction), infusion and aromatic baths (Blumenthal, 1998; Santhakumari et al., 2003; Wirotasangthong et al., 2008). It is mostly species used in traditional medicine for treating gastrointestinal diseases, hypertension, anti-hemorrhagic, diuretic, pain and inflammation (Gupta et al., 2015; Reigada et al., 2007; Roersch, 2010).

Species of this genus produce compounds with diverse biological and pharmacological properties, such as anxiolytic, analgesic, anti-inflammatory, vasodilatory, cytotoxic, immunomodulatory, antimicrobial, antifungal and promising antitumor activities (Bezerra et al., 2008; Rodrigues et al., 2009; Moraes et al., 2011; Raj et al., 2011). In this sense, phytochemistry contributes to verifying *Piper* genus biological activities cited in the ethnobotanical researches (Parra et al., 2011).

Phytochemical research brings about numerous scientific studies in many parts of the world, which has led to isolation of several bioactive compounds such as kavalactones (Xuan et al., 2008; Whitton et al., 2003), aristolactams (Cardoso Júnior and Chaves, 2003; Chaves et al., 2006), phenylpropanoids (Chaves and Santos, 2002), lignoids (Chen et al., 2007; Bodiwala et al., 2007), chromones (Morandim et al., 2005), terpenes (Baldoqui et al., 2009; Péres et al., 2009), steroids (Parmar et al., 1997), prenylated benzoic acids (Lago et al., 2009; Chaves et al., 2010) and amides (Araújo-Júnior et al., 1997; Chaves et al., 2003; Srinivasan, 2007; Cotinguiba et al., 2009). These characterize the metabolites of this genus. The first isolated amide of the *Piper* genus was piperine (Lee et al., 1984).

The main biological activities attributed to isolated substances are antifungal, insecticidal, bactericidal, antitumor, trypanocidal, antiparasitic, antimicrobial, antiprotozoal,

anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant (Pohlit et al., 2004; Nakamura et al., 2006; Deshwal, 2013; Zakaria et al., 2010; Agbor et al., 2012).

A striking feature of the genus is presence of rich oil content in its structures, especially in leaves and fruits (Albiero et al., 2005). It has essential oils with chemical constituents such as monoterpenes, sesquiterpenes, arylpropanoids, aldehydes, ketones, and long-chain alcohols. This shows its commercial and industrial potential, as well as use in traditional medicine (Correa et al., 2011).

Some studies of scientific reviews on species and isolates from *Piper* genus have already been published (Roersch, 2010; Gutierrez et al., 2013; Monzote et al., 2017, Durant-Archibold et al., 2018); however, there is no systematic review of the genus *Piper* focusing on inflammatory processes. Hence, this review aims to report the medicinal use of *Piper* genus, including pharmacological elucidation for the treatment of symptoms of inflammation and inflammatory diseases.

MATERIALS AND METHODS

Research strategy

The systematic review was performed according to PRISMA guidelines (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). It consists of a 27 items checklist and a flow diagram that instructs articles search and selection in four steps - identification, selection, eligibility and inclusion - for authors to contribute to the quality and reliability of the review in question (Moher et al., 2009).

The study was guided by two questions. First: “Which species of *Piper* genus are used empirically by population for symptoms of inflammation and inflammatory diseases treatment”? The second: “Which species of the genus *Piper* have scientifically elucidated anti-inflammatory effects?”.

The articles mentioned in the review were publications available from January 2003 to July 2017. For this research, the Web of Science and Scopus databases were used, where the following association of terms was applied in both bases: “*Piper*” and “Ethnobotanical”, “*Piper*” and Anti-inflammatory effect. The constancy of the terms aims to guarantee greater trustworthiness in search application forms and later comparison of the publication date.

The inclusion and exclusion criteria were applied to both consulted databases. Inclusion criteria: articles published in full text, in English language and that portray the

subject by means of the association of the above-mentioned terms. Exclusion criteria: duplicate articles, comparative, inconclusive, or dubious studies. After the use of research criteria, certification of selected productions was carried out, using a meta-synthesis type qualitative approach.

Studies selection

Two independent researchers (C.N.F.L. and L.F.L) made studies research and selection. The choice of articles was made by reading title and abstract, with the application of an evaluation formulary with eligibility criteria. Later, publications were evaluated by complete reading. This step is indispensable to ratify the inclusion criteria. Any divergences were agreed on between the two researchers.

Methodological quality analysis/studies' bias risk

The studies were evaluated using SYRCLE's RoB (Hooijmans et al., 2014) tool, for pre-clinical *in vivo* studies, with non-human animals. Related to ethnobotanical and pre-clinical studies *in vitro* it was not possible to carry out this analysis, once there is no validated tool for such finality.

SYRCLE's RoB tool was elaborated based on Cochrane Collaboration's (Higgins and Green, 2011) criteria, being adapted to evaluate the methodological quality and bias risks of experimental studies with non-human animals. This tool is composed of 10 entries that are related to 6 bias types: selection bias, performance bias, detection bias, friction bias, bias notification and other bias (Hooijmans et al., 2014). Based on the aforementioned tool, the studies were classified as "low bias risk", "high bias risk" and "not clear bias risk".

Extraction and data analysis

Data were obtained by one of the researchers (C.N.F.L.) using a list of selection criteria, which were accurately verified by the second researcher (L.F.L.). Regarding the articles that deal with ethnobotanical studies, the extracted items were information related to the species, the structure used, the form of use, traditional use, and the country. Regarding ethnopharmacological studies, the information obtained was: species, the structure used, type of extract/essential oil, type of test and effect, according to the

literature. Grouping statistics (meta-analysis) were not possible due to methodological heterogeneity between studies.

RESULTS

In this systematic review, were found 153 articles in consulted databases. In the Scopus database, there were 113 articles and in Web of Science, 40 articles. After abstracts and titles screening were excluded 18 duplicated articles, remaining 135, and from full-text analysis, 111 texts were excluded. Finally, after inclusion and exclusion criteria application, 24 articles were selected for this study, in which 15 articles addressed ethnobotanical studies that demonstrated *Piper* species use in traditional medicine for inflammation and 9 articles with pharmacological studies of the species demonstrating elucidation for this activity (Figure 1).

Medicinal use of *Piper* genus species

Studies have demonstrated *Piper* genus use in traditional medicine. Here we highlight some ethnobotanical surveys that exhibit *Piper* species use for the treatment of inflammatory diseases.

These species are widely used as a medicinal plant mainly in countries like Indonesia and India, in which a greater number of works were observed. The medicinal genus use occurs by the usage of all parts of the plant; leaves, roots, and fruits were the most used; and the forms of predominant uses in the studies were decoction, maceration, and powder use. However, some studies did not report both. About traditional species used for the treatment of symptoms caused by inflammation, inflammatory processes and inflammatory diseases, the prevalence of the treatment of respiratory diseases such as asthma and bronchitis was evidenced. Other medicinal uses are for rheumatism and gout, diseases considered inflammatory, and for the treatment of inflammatory processes such as wound healing, skin allergies and gastrointestinal ulcers. The symptoms of inflammation are fever and cough (Table 1).

Scientific elucidation of anti-inflammatory activity of *Piper* genus species

Related to the evaluation of the anti-inflammatory effect of the *Piper* genus, this systematic review showed that many species that already have medical use by population have not yet had their effects scientifically validated. According to research, only seven species have worked with their scientifically proven anti-inflammatory effect. The most commonly used plant part was leaves, the extract being the most predominant preparation form. Only two works are related to essential oil use. Related to the pharmacological test type used to evaluate the anti-inflammatory activity, paw edema, and pleurisy models were the most used (Table 2).

Methodological quality/bias risk

In Figures 2 and 3, all pre-clinical studies with non-humans animals were evaluated and classified as low bias risk (100%) based on the questions, if the evaluator did not have previous knowledge of results, if identification of incomplete results was adequate, if studies were free of selective results and if they were free of other problems that would cause bias.

DISCUSSION

Since primitive civilizations, man has been intimately related to plants in order to grow his own food and medicine. The popular medicinal use of plants is an ancient art based on the accumulation of information passed through successive generations (Zardo et al., 2016). Thus, ethnobotanical knowledge provides the pharmacological and industrial applications. From popular wisdom about this type of plant that several research centers seek to prove the effectiveness of certain medicinal plants (Albuquerque, 2005).

In the present study, among the ethnobotanical studies reported for medicinal *Piper* genus use for inflammatory diseases, thirteen species were cited. In view of the analyzed studies, it can be seen that *Piper* species are used for different medicinal purposes and that often the vegetal part used, the form of use and medicinal application of a species can vary according to the cultural scene.

When comparing Tables 1 and 2 that demonstrate medicinal use and pharmacological elucidation, respectively, of this genus species, it can be verified that despite the report in the ethnobotanical studies few of these species had scientific elucidation confirmed in the area of the inflammation. The species that were scientifically elucidated and at the same time have reports of medicinal use by the population according to this systematic review were: *Piper umbellatum*, *Piper nigrum* and *Piper sarmentosum*.

People use *P. umbellatum* to treat fever and tissue cicatrization (Akendengue et al., 2005; Silalahi et al., 2015). Iwamoto et al. (2015), in their study, evaluated the anti-inflammatory activity of dichloromethane extract, from leaves of this species, on paw edema and carrageenan-induced peritonitis models; they observed decreased inflammation, and leukocyte migration.

P. nigrum is traditionally used to treat sore throat, fever, asthma, and cough (Albuquerque et al., 2007; Silalahi et al., 2015; Sureshkumar et al., 2017; Suroowan and Mahomoodally, 2016). Tasleem et al. (2014) elucidated the anti-inflammatory effect of this species in carrageenan-induced paw edema models that exhibited a significant decrease in edema at different concentrations of hexane and ethanolic extracts. Ahmed et al. (2013) demonstrated that the methanolic extract of this species significantly improves the cholinergic and characteristic neurodegeneration-induced dysfunction of Alzheimer's disease.

Ethnobotanical studies with *P. sarmentosum* reported the popular use for rheumatism and gout (Li et al., 2016) and its action for inflammation was elucidated by Lee et al. (2011) who demonstrated that the methanolic extract of this species reduced the production of nitric oxide (NO), which is one of the markers in one of the inflammation pathways (Gonçalves et al., 2000).

Kim et al. (2017) by means of tests aimed the inflammation ways of nitric oxide (NO) and prostaglandins (PGE₂) and the measurement of genes that trigger inflammatory processes; the methanolic extract of *P. attenuatum* exerted anti-inflammatory effects in *in vitro* tests with macrophage cells.

The other ten *Piper* species cited in Table 1 do not have a scientific elucidation approach to inflammation yet, according to databases used. The species are the following: *P. betle*, *P. marginatum*, *P. acutifolium*, *P. haucei*, *P. tuerckheimii*, *P. peltatum*, *P. longum*, *P. cubeba* e *P. guineense*. This shows the scarcity of studies that evaluate the anti-inflammatory activity of these species, but there are reports of genus use for inflammation treatment (Moreira et al., 1998; Felipe et al., 2006). In relation to the species *P. vicosanum*, *P. aleyreanum* and *P. crocatum* the opposite occurred; these have scientific elucidation and,

nevertheless, were not found articles demonstrating the traditional use through ethnobotanical studies in the databases of Web of Science and Scopus.

Brait et al. (2015) studied *P. vicosanum* through models of paw edema and pleurisy induced by carrageenan; they obtained significant results for the edema reduction and for leukocyte migration in pleurisy. Also, *P. aleyreanum*, its anti-inflammatory effect also was evaluated by the carrageenan-induced pleurisy model and the acute gastric lesion test. Both tests were performed by Lima et al. (2012) and they obtained significant results regarding inflammatory processes reduction.

The studies cited above report the traditional use of this species, *P. aleyreanum*, as immunomodulatory, analgesic and antidepressant (Brait et al., 2015); people use it empirically in a more general way for bronchitis, intestinal pain, skin irritations and inflammation treatment (Lima et al., 2012).

Wahjuni et al. (2016) and Laksmiawati et al. (2017) performed tests with *P. crocatum*. Both evidenced the reduction of serum levels of TNF- α , IL-1, IL-6, and NO in Wistar rats and in LPS-induced macrophage cells, respectively. In these articles, authors do not describe empirical medicinal use; only bioactive components were present in these plants, correlating with its anti-inflammatory activity.

During the research were found several works that investigate the pharmacological activity of isolated compounds from the *Piper* genus for inflammation. Sheik et al. (1993) isolated triterpenes and β -sitosterol from *P. betle* to plaquetary aggregation study and anti-inflammatory effect; the last one were used the model of paw edema induced by carrageenan to evaluate its potential.

In the species *P. nigrum* and *P. longum* the major component is piperine that has biological activities: anti-inflammatory, antioxidant, analgesic, healing, antifungal, antibacterial and facilitates blood circulation activity (Bae et al., 2011; Carnevallia and Araújo, 2015). Liang et al. (2016) evaluated piperine for pyroptosis in murine macrophages using pyroptosis assay. Cruz et al. (2013) studied its application in convulsion by checking deaths number and survivors through pilocarpine-induced seizure tests by the GABAergic system in an animal model. Kim et al. (2012) verified piperine inhibitory action on COX-1 with the COX-2 induction test by 13-acetate 12-myristate-frobol (PMA).

In Web of Science database were found five articles using isolated piperine compound and one with the compound allylpyrocatechol (APC) extracted from *P. betle* species. This component was evaluated by induced production of NO and PGE₂ of lipopolysaccharide

(LPS) in murine macrophages cells to verify their anti-inflammatory capacity (Sarkar et al., 2008).

The remaining articles, using piperine, investigate: The apoptosis in neuronal cells and the anti-inflammatory activity in Parkinson's disease induced by 6-OHDA (Shrivastava et al., 2013), the neuro-inflammation on BV₂ microglia induced by inflammatory responses to LPS (Wang-Sheng et al., 2017), the ulcerative colitis by determining TLR4 receptor cholesterol in the pathway of cellular inflammation (Gupt et al., 2015) and the acute pancreatitis induced by cerulein by activation inhibition of mitogenic protein kinase (Bae et al., 2011).

Besides these works, other components such as: N- isobutylamine, (E) - β -caryophyllene (BCP) and other alkaloids were used, respectively, for anti-inflammatory effect of edema in formation in acute analgesia, in a murine model of nephropathy to verify anti-inflammatory properties and in neuroinflammatory processes in Parkinson's disease in the dopaminergic neuronal system (Reynoso-Moreno et al., 2017; Horváth et al., 2012; He et al., 2016).

Other works that approach isolated compounds, were by De León et al. (2002) who studied *P. fimbriulatum* through its furofan lignan (+)-diayangambin isolated component *in vivo* assays such as carrageenan-induced paw edema to verify its immunomodulatory and anti-inflammatory efficacy, and by Chiou et al. (2003) which used piperlactam S isolated from *P. kadsura* for chemotaxis treatment by means of chemotactic migration, adhesion, measurement of phagocytic activity and cytokine production assays.

The analysis of the quality of methodology and the risk of bias of the studies inserted in a systematic review is of fundamental importance (Hooijmans et al., 2014). This is because this evaluation demonstrates that the research developed was well planned and carried out efficiently and that the results presented were interpreted correctly and comprehensible (Festing and Altman, 2002). In the articles addressed in this review, biases in the methodology were observed in preclinical studies with non-human animals, mainly in the allocation and blinding of the groups. This data require some special attention since studies that present a risk of methodological bias do not guarantee reliable results.

CONCLUSION

Studies covered in this systematic review prove that the *Piper* genus includes species with bioactive activities, with great potential for inflammatory disease treatment.

In traditional medicine, ethnobotanical studies showed that leaves, roots, and fruits were most used parts under decoction, maceration and powder form for inflammatory diseases of respiratory tract treatment, such as asthma, bronchitis, and cough. Already in the studies that scientifically validated *Piper* genus anti-inflammatory activity, only seven species presented works with their anti-inflammatory effect scientifically proven.

This review also showed that several ethnobotanical studies still present gaps in relation to detailed information regarding the plant part used and how they are used, as well as other data. The lack of such reports may lead to a loss for future pharmacological research. Thus, it is considered that interviews of this size should be very explanatory, aiming to collect as much information as possible about plant use in traditional medicine.

In the ethnopharmacological studies (*in vivo* or *in vitro*), there was also lack of information, mainly in relation to the plant part used to obtain the extract, implying that the lack of this data may be a reflection of the scarcity of ethnobotanical studies well structured. Another factor to be observed is that the pharmacological studies for inflammation with species use itself are still limited, with a larger number of works for isolated compounds from these plants. The research also did not present any study that reported genus use for clinical trials. In view of this, it can be seen that research with the *Piper* genus as a therapeutic agent in modern medicine is still very scarce, related to anti-inflammatory activity.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors have not declared any conflict of interests.

REFERENCES

Agbor GA, Vinson JA, Johnson R (2012). Antioxidant and anti- atherogenic activities of three species on atherogenic diet fed hamsters. *Experimental and Toxicological Pathology* 64(4):387-339.

Ahmed HH, Salem AM, Sabry GM, Husein AA, Kotob SE (2013). Possible Therapeutic Uses of *Salvia triloba* and *Piper nigrum* in Alzheimer's Disease-Induced Rats. *Journal of Medicinal Food* 16(5):437-446.

Akendengue B, Lemamy GJ, Bourobou HB, Laurens A (2005). Bioactive Natural Compounds from Medico-Magic Plants of Bantu Area. *Studies in Natural Products Chemistry* 32:803-820.

Albiero ALM, Paoli AAS, Souza LA, Mourão KSM (2005). Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* H.B. & K. (Piperaceae). *Acta Botanica Brazilica* 19(2):305-312.

Albuquerque UP (2005). Introduction to Ethnobotany. Rio de Janeiro: Interciencia. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010233062009000200031

Albuquerque UP, Monteiro JM, Ramosa MA, Amorim ELC (2007). Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 110:76-91.

Araújo-Júnior JX, Da-Cunha EVL, Chaves MCO, Gray AI (1997). Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 44(3):559-561.

Bae Gi-S, Kim Min-S, Jeong J, Lee Hye-Y, Park K-C, Koo BS, Kim B-J, Kim T-H, Lee SH, Hwang S-Y, Shun YK, Song Ho-J, Park S-J (2011). Piperine ameliorates the severity of cerulein-induced acute pancreatitis by inhibiting the activation of mitogen activated protein kinases. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 410:382-388.

Baldoqui DC, Bolzani VS, Furlan M, Kato MJ, Marques MOM (2009). Flavones, Lignans and Terpene from *Piper umbellata* (Piperaceae). *Química Nova* 32:1107-1109.

Bezerra DP, Pessoa C, Moraes MO, Alencar NM, Mesquita RO, Lima MA, Alves APNN, Pessoa OD, Chaves JH, Silveira ER, Costa-Lotufo LV (2008). *In vivo* growth inhibition of sarcoma 180 by piperlonguminine, an alkaloid amide from the *Piper* species. *Journal of Applied Toxicology* 28(5):599-607.

Blumenthal M (1998). The Complete German Commission E Monographs. American Botanical Council: Austin. 685p.

Bodiwala HS, Singh G, Singh R, Dey CS, Sharma SS, Bhutani KK, Singh IP (2007). Antileishmanial amides and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. *Journal Nature Medicine* 61:418-421.

Brait DRH, Vaz MSM, Arrigo JS, De Carvalho LNB, De Araújo FHS, Vani JM, Mota JS, Cardoso CAL, Oliveira RJ, Negrão FJ, Kassuya CAL, Arena AC (2015). Toxicological analysis and anti-inflammatory effects of essential oil from *Piper vicosanum* leaves. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73:699-705.

Cardoso Júnior EL, Chaves MCO (2003). Caldensin, a new N- methylaristolactam alkaloid from *Piper caldense*. *Pharmaceutical Biology* 41(3):216-218.

Carnevallia DB, Araújo APS (2015). Black Pepper Biological activity (*Piper nigrum* L.): Literature Review. *UNICIÊNCIAS* 17(1):41-46.

Chaves MCO, Santos BVO (2002). Constituents from *Piper marginatum* fruits. *Fitoterapia*, 73(6):547-549.

- Chaves OMC, Junior FAG, Santos BV (2003). Amides from *Piper* fruits. *Fitoterapia* 74(12):181-183.
- Chaves MCO, De Oliveira AH, Santos BVO (2006). Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 34:75-77.
- Chen YC, Liao CH, Chen IS (2007). Lignans, an amide and anti-platelet activities from *Piper philippinum*. *Phytochemistry* 68:2101-2111.
- Chiou W-F, Peng C-H, Chen C-F, Chou (2003). Anti-inflammatory properties of Piperlactam S: modulation of complemente 5^a-induced chemotaxis and inflammatory cytokines production in macrophages. *Planta Medica* 68:9-14.
- Correa E, Sterner O, Echeverri F (2011). Prenylhydroxybenzoic acid compounds with pungent activity from *Piper arieianum*. *Phytochemistry* 72:238-241.
- Cotinguiba F, Regasini LO, Bolzani VS, Deboni HM, Passerini GD, Cicarelli RMB, Kato MJ, Furlan M (2009). Piperamides and their derivatives as potential anti-trypanosomal agents. *Medicinal Chemistry Research* 18:703-711.
- Cruz GMP, Felipe CFB, Scorza FA, Costa MAC, Tavares AFT, Menezes MLF, Andrade GM, Leal LKAM, Brito GAC, Naffah- Mazzacoratti MG, Cavalheiro EA, Viana GSB (2013). Piperine decreases pilocarpine-induced convulsions by GABAergic mechanisms. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 104:144- 153.
- De Feo V (2003). Ethnomedical field study in northern Peruvian Andes with particular reference to divination practices. *Journal of Ethnopharmacology* 85:243-256.
- De León EJ, Olmedo DA, Solís PN, Gupta MP, Terencio MC (2002). Diayangambin Exerts Immunosuppressive and Anti-inflammatory Effects *in vitro* and *in vivo*. *Planta Medicinal* 68:1128-1131.
- Deshwal VK (2013). Antimicrobial investigation of *Piper nigrum* L. Against *Salmonella typhi*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 3(3):100-103.
- Durant-Archibold AA, Santanab AI, Gupta MP (2018). Ethnomedical uses and pharmacological activities of most prevalent species of genus *Piper* in Panama: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 217:63-82.
- Festing MF, Altman DG (2002). Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR Journal*. 43:244-258.
- Flora do Brasil (2018). Piperaceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12735>.
- Gbekley HE, Katawa G, Karou SD, Anani K, Tchadjobo T, Ameyapoh Y, Batawila K, Simporte J (2017). Ethnobotanical Study of Plants used to Treat Asthma in the Maritime Region in Togo. *African Journal Traditional Complementary and Alternative Medicines* 14(1):196-212.

- Gonçalves PA, Da Mata PL, Neuparth N, Rendas AB (2000). Role of nitric oxide as a marker of inflammation in respiratory diseases. *Revista Portuguesa de Pneumologia* 6(4):309-318.
- Guimarães EF, Giordano LCS (2004). Piperaceae do nordeste brasileiro I: estado do Ceará. *Rodriguésia* 55:21-46.
- Gupta RA, Motiwala MN, Dumore NG, Danao KR, Ganjare AB (2015). Effect of piperine on inhibition of FFA induced TLR₄ mediated inflammation and amelioration of acetic acid induced ulcerative colitis in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 164:239-246.
- Gutierrez RM, Gonzalez AM, Hoyo-Vadillo C (2013). Alkaloids from *Piper*: a review of its phytochemistry and pharmacology. *Mini- Reviews in Medicinal Chemistry* 13(2):163-193.
- He H, Guo W-W, Xu R-R, Chen X-Q, Zhang N, Wu, X, Wang X-M (2016). Alkaloids from piper longum protect dopaminergic neurons against inflammation-mediated damage induced by intranigral injection of lipopolysaccharide. *Complementary and Alternative Medicine* 16:412.
- Higgins J, Green S (2011). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 [updated March 2011]: The Cochrane Collaboration. <https://training.cochrane.org/handbook>
- Hitziger M, Heinrich M, Edwards P, Pöll E, Lopez M, Krütli P (2016). Maya phytomedicine in Guatemala – Can cooperative research change ethnopharmacological paradigms? *Journal of Ethnopharmacology* 186:61-72.
- Hooijmans CR, Rovers MM, De Vries RBM, Leenaars M, Hoitinga MR, Langendam MW (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *Medical Research Methodology* 14:43.
- Horváth B, Mukhopadhyay P, Kechrid M, Patel V, Tanchian G, Wink DA, Gertsch J, Pacher P (2012). β -Caryophyllene ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity in a cannabinoid 2 receptor- dependent manner. *Free Radical Biology and Medicine* 52:1325- 1333.
- Iwamoto LH, Vendramini-Costa DB, Monteiro PA, Ruiz ALTG, Sousa IMO, Foglio MA, Carvalho JE, Rodrigues RAF (2015). Anticancer and Anti-Inflammatory Activities of a Standardized Dichloromethane Extract from *Piper umbellatum* L. Leaves. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015:8.
- Kim HG, Han EH, Jang Woo-S, Choi JH, Khanal T, Park BH, Tran TP, Chung YC, Jeong HG (2012). Piperine inhibits PMA-induced cyclooxygenase-2 expression through downregulating NF- κ B, C/EBP and AP-1 signaling pathways in murine macrophages. *Food and Chemical Toxicology* 50:2342-2348.
- Kim YJ, Deok J, Kim S, Yoon DH, Sung G-H, Aravinthan A, Lee S, Lee M-N, Hong S, Kim J-H, Son Y-J, Cho JY (2017). Anti-Inflammatory Effect of *Piper attenuatum* Methanol

Extract in LPS-Stimulated Inflammatory Responses. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2017:10.

Lago JHG, Chen A, Young MCM, Guimarães EF, Oliveira A, Kato, MJ (2009). Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* L. and *P. hostmannianum* C.D.C. (Piperaceae). Phytochemistry Letters 2:96-98.

Laksmitawati DR, Widyastuti A, Karami N, Afifah E, Rihibiha DD, Nufus H, Widowati W (2017). Anti-inflammatory effects of *Anredera cordifolia* and *Piper crocatum* extracts on lipopolysaccharide- stimulated macrophage cell line. Bangladesh Journal Pharmacological 12:35-40.

Lee EB, Shin KH, Woo WS (1984). Pharmacological study on piperine. Archives of Pharmacal Research 7(2):127-132.

Lee KH, Padzil AM, Syahida A, Abdullah N, Zuhainis SW, Maziah M, Sulaiman MR, Israf DA, Shaari K, Lajis NH (2011). Evaluation of anti- inflammatory, antioxidant and antinociceptive activities of six Malaysian medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research 5(23):5555-5563.

Li DL, Xing FW (2016). Ethnobotanical study on medicinal plants used by local Hoklos people on Hainan Island, China. Journal of Ethnopharmacology 194:358-368.

Liang Yi-D, Bai Wen-J, Li Chen-G, Xu Li-H, Wei H-X, Pan H, He X-H, Ouyang D-Y (2016). Piperine Suppresses Pyroptosis and Interleukin- 1b Release upon ATP Triggering and Bacterial Infection. Frontiers in Pharmacology 7:1-12.

Lima DKS, Ballico LJ, Lapa FR, Gonçalves HP, De Souza LM, Iacomini M, Werner MFP, Baggio CH, Pereira IT, Silva LM, Facundo VA, Santos ARSS (2012). Evaluation of the antinociceptive, anti- inflammatory and gastric antiulcer activities of the essential oil from *Piper aleyreanum* C.DC in rodents. Journal of Ethnopharmacology 142:274-282.

Michel JL, Caceres A, Mahady GB (2016). Ethnomedical research and review of Q'eqchi Maya women's reproductive health in the Lake Izabal region of Guatemala: Past, presente and future prospects. Journal of Ethnopharmacology 178:307-322.

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. Annals of Internal Medicine 151(4):264-269.

Monzote L, Scull R, Cos P, Setzer WN (2017). Essential oil from *Piper aduncum*: chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. Medicines 4(3):1-14.

Moraes JD, Nascimento C, Lopes PO, Nakano E, Yamaguchi LF, Kato MJ, Kawano T (2011). *Schistosoma mansoni*: In vitro schistosomicidal activity of pipartine. Experimental Parasitology 127(2):357-364.

Morandim AA, Bergamo DC, Kato MJ, Cavalheiro AJ, Bolzani VS, Furlan M (2005). Circadian rhythm of anti-fungal prenylated chromene in leaves of *Piper aduncum*. *Phytochemical Analysis* 16:282-286.

Nakamura CV, Santos AO, Vendrametto MC, Luize PS, Dias Filho BP, Cortez DAG, Ueda-Nakamura T (2006). Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16(1):61-66.

Parmar VS, Jain SC, Bisht KS, Jain R, Taneja P, Jha A, Tyagi OD, Prasad AK, Wengel J, Olsen CE, Boll PM (1997). Phytochemistry of genus *Piper*. *Phytochemistry* 46(4):597-673.

Parra JE, Delgado WA, Cuca LE (2011). Cumanensic acid, a new chromene isolated from *Piper* cf. *cumanense* Kunth (Piperaceae). *Phytochemistry Letters* 4:280-282.

Péres VF, Moura DJ, Sperotto AR, Damasceno FC, Caramão EB, Zini CA, Saffi J (2009). Chemical composition and cytotoxic, mutagenic and genotoxic activities of the essential oil from *Piper gaudichaudianum* Kunth leaves. *Food and Chemical Toxicology* 47:2389-2395.

Pohlit AM, Quinard ELJ, Nunomura SM, Tadei WP, Hidalgo AF, Pinto ACS, Santos EVM, Morais SKR, Saraiva RCG, Ming LC, Alecrim AM, Ferraz AB, Pedrozo CS, Diniz EV, Finney EK, Gomes EO, Dias HB, Souza KS, Oliveira LCP, Don LC, Queiroz MMA, Henrique MC, Santos MC, Lacerda Júnior OS, Pinto PS, Silva SG, Graça YR (2004). Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for activity against *Aedes aegypti* larvae. *Acta amazônica* 34(1):97-105.

Raj L, Ide T, Gurkar AU, Foley M, Schenone M, Li X, Tolliday NJ, Golub TR, Carr SA, Shamji AF, Stern AM, Mandinova A, Schreiber SL, Lee SW (2011). Selective killing of cancer cells by a small molecule targeting the stress response to ROS. *Nature* 475(7355):231-233.

Reigada JB (2007). Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) - antifungal activities and kinetic resolution of (RS)- marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). *Tetrahedron: Asymmetry* 18:1054-1058.

Reitz R (2003). Piperaceae. In: *Flora Ilustrada Catarinense*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues. pp.4-7.

Reynoso-Moreno I, Najar-Guerrero I, Escareo N, Flores-Soto ME, Gertsch J, Viveros-Paredes JM (2017). An Endocannabinoid Uptake Inhibitor from Black Pepper Exerts Pronounced Anti-Inflammatory Effects in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65:9435- 9442.

Rodrigues RV, Lanznaster D, Longhi Balbinot DT, Gadotti VM, Facundo VA, Santos AR (2009). Antinociceptive effect of crude extract, fractions and three alkaloids obtained from fruits of *Piper tuberculatum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 32(10):1809- 1812.

- Roersch CMFB (2010). *Piper umbellatum* L.: a comparative cross- cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(3):522-537.
- Santhakumari P, Prakasam A, Pugalendi KV (2003). Modulation of oxidative stress parameters by treatment with *Piper betle* leaf in streptozotocin induced diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology* 35:373-378.
- Santos TG, Santos TG, Rebelo RA, Dalmarco EM, Guedes A, De Gasper AL, Schmit AP, Cruz RCB, Steindel M, Nunes RK (2012). Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. PRESL.) C. DC. *Química Nova* 35(3):477-481.
- Sarkar D, Saha P, Gamre S, Bhattacharjee S, Hariharan C, Ganguly S, Sem R, Mandal G, Chattopadhyay S, Majumdar S, Chatterjee M (2008). Anti-inflammatory effect of allylpyrocatechol in LPS-induced macrophages is mediated by suppression of iNOS and COX-2 via the NF- κ B pathway. *International Immunopharmacology* 8:1264-1271.
- Savithamma N, Sulochana Ch, Rao KN (2007). Ethnobotanical survey of plants used to treat asthma in Andhra Pradesh, India. *Journal of Ethnopharmacology* 113:54-61.
- Sheikh AS, Samina F, Rukhsana US, Abdul M (1993). Triterpenes and B-sitosterol from *Piper betle*: isolation, antiplatelet and anti-inflammatory effects. *Biochemical Society Transactions* 21:462.
- Shrivastava P, Vaibhava K, Tabassuma R, Khana A, Ishrata T, Khana MM, Ahmada A, Islama F, Safhib MM, Islam F (2013). Anti-apoptotic and Anti-inflammatory effect of Piperine on 6-OHDA induced Parkinson's Rat model. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24:680- 687.
- Srinivasan K (2007). Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47:735-748.
- Sujarwo W, Keim AP, Savo V, Guarrera PM, Caneva G (2015). Ethnobotanical study of *Loloh*: Traditional herbal drinks from Bali (Indonesia). *Journal of Ethnopharmacology* 169:34-48.
- Sureshkumar J, Silambarasan R, Ayyanar M (2017). An ethnopharmacological analysis of medicinal plants used by the Adiyar community in Wayanad district of Kerala, India. *European Journal of Integrative Medicine* 12:60-73.
- Suroowan S, Mahomoodally MF (2016). A comparative ethnopharmacological analysis of traditional medicine used against respiratory tract diseases in Mauritius. *Journal of Ethnopharmacology* 177:61-80.
- Tasleem F, Azhar I, Ali SN, Perveen S, Mahmood ZA (2014). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7(1):461-468.

- Wahjuni S, Wita IW, Mantik Astawa IN (2016). Anti-inflammatory effect of red *Piper crocatum* leaves extract decrease TNF- α and IL-6 levels in wistar rat with atherosclerosis. *Bali Medical Journal* 5(2):240-244.
- Wang-Sheng C, Jie A, Jian-jun L, Lan H, Zeng-bao X, Chang-qing L (2017). Piperine attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory responses in BV₂ microglia. *International Immunopharmacology* 42:44-48.
- Whitton PA, Lau A, Salisbury A, Whitehouse J, Evans CS (2003). Kava lactones and the kava-kava controversy. *Phytochemistry* 64:673-679.
- Wirotsangthong M, Inagaki N, Tanaka H, Thanakijcharoenpath W, Nagai H (2008). Inhibitory effects of *Piper betle* on production of allergic mediators by bone marrow-derived mast cells and lung, epithelial cells. *International Immunopharmacology* 8(3):453-457.
- Xuan TD, Fukuta M, Wei AC, Elzaawely AA, Khanh TD, Tawata S (2008). Efficacy of Extracting Solvents to Chemical Components of Kava (*Piper Methysticum*) Roots. *Journal of Natural Medicines* 62:188-194.
- Zardo A, Otenio JK, Lourenço ELB, Gasparotto Junior A, Jacomassi E (2016). Levantamento de informações etnobotânicas, etnofarmacológicas e farmacológicas registradas na literatura sobre *Tropaeolum majus* L. (Chaguinha). *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR* 20(3):195-198.
- Zakaria ZA, Patahuddin H, Mohamad AS, Israf DA, Sulaiman MR (2010). In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the leaves of *Piper sarmentosum*. *Journal of Ethnopharmacology* 128(1):42-48.

FIGURES

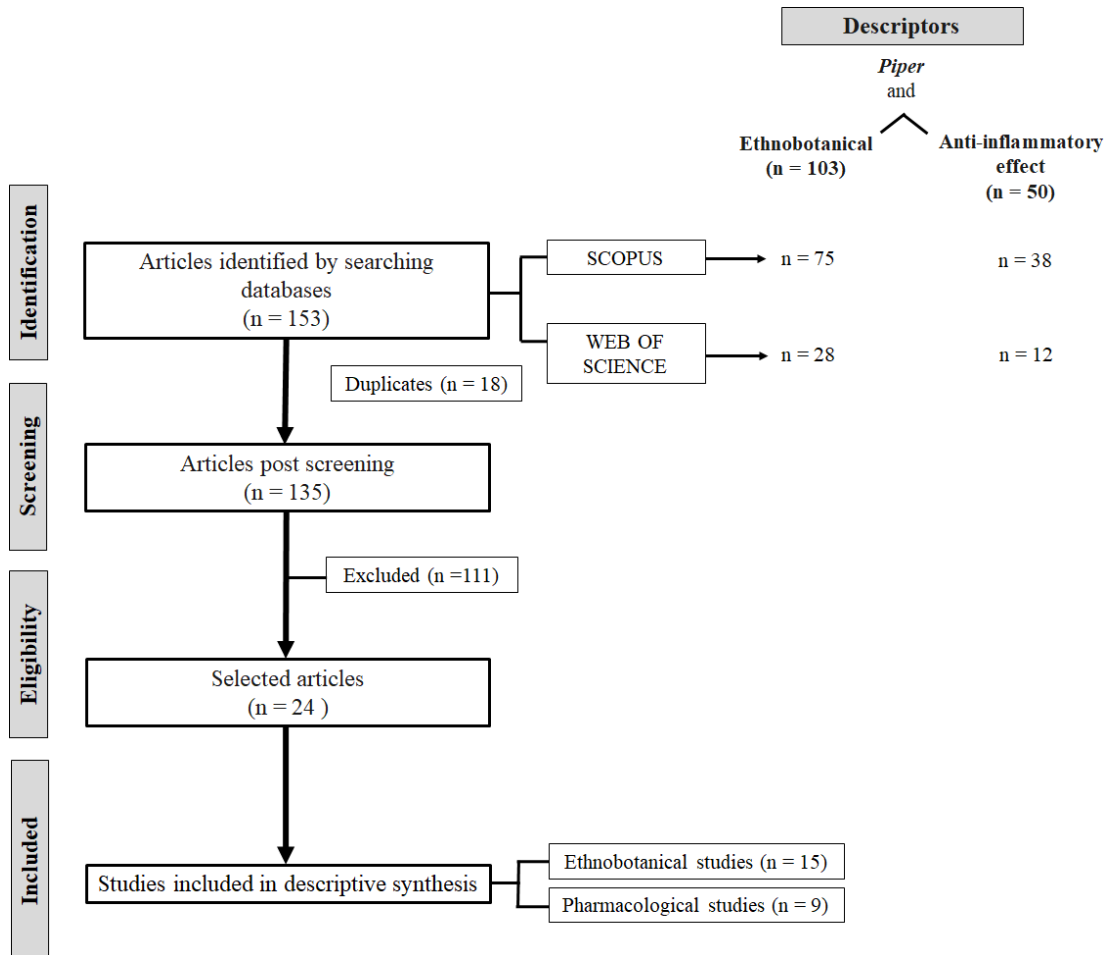


Figure 1. Selected research and results.

| Reference | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | P10 |
|------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Kim et al. (2017). | + | + | ? | + | ? | - | + | + | + | + |
| Iwamoto et al. (2017). | ? | + | - | - | - | - | + | + | + | + |
| Wahjune et al. (2016). | + | + | ? | + | ? | - | + | + | + | + |
| Brait et al. (2015). | ? | + | ? | ? | - | - | + | + | + | + |
| Tasleem et al. (2014). | ? | ? | ? | + | ? | ? | + | + | + | + |
| Ahmed et al. (2013). | + | + | ? | + | - | - | + | + | + | + |
| Lima et al. (2012). | + | + | ? | + | ? | - | + | + | + | + |
| Lee et al. (2011). | + | + | ? | + | ? | - | + | + | + | + |

LEGEND:

| | |
|---|----------------------|
| + | Low risk of bias |
| - | High risk of bias |
| ? | Unclear risk of bias |

Figure 2. Methodological quality summary for preclinical trials: review of authors judgments about each methodological quality item for each study included: **P1**, Was the allocation sequence adequately generated and applied?; **P2**, Were the groups similar at baseline or were they adjusted for confounders in the analysis?; **P3**, Was the allocation to the different groups adequately concealed during?; **P4**, Were the animals randomly housed during the experiment?; **P5**, Were the caregivers and/or investigators blinded from knowledge which intervention each animal received during the experiment?; **P6**, Were animals selected at random for outcome assessment?; **P7**, Was the outcome assessor blinded?; **P8**, Were incomplete outcome data adequately addressed?; **P9**, Are reports of the study free of selective outcome reporting?; **P10**, Was the study apparently free of other problems that could result in high risk of bias?).

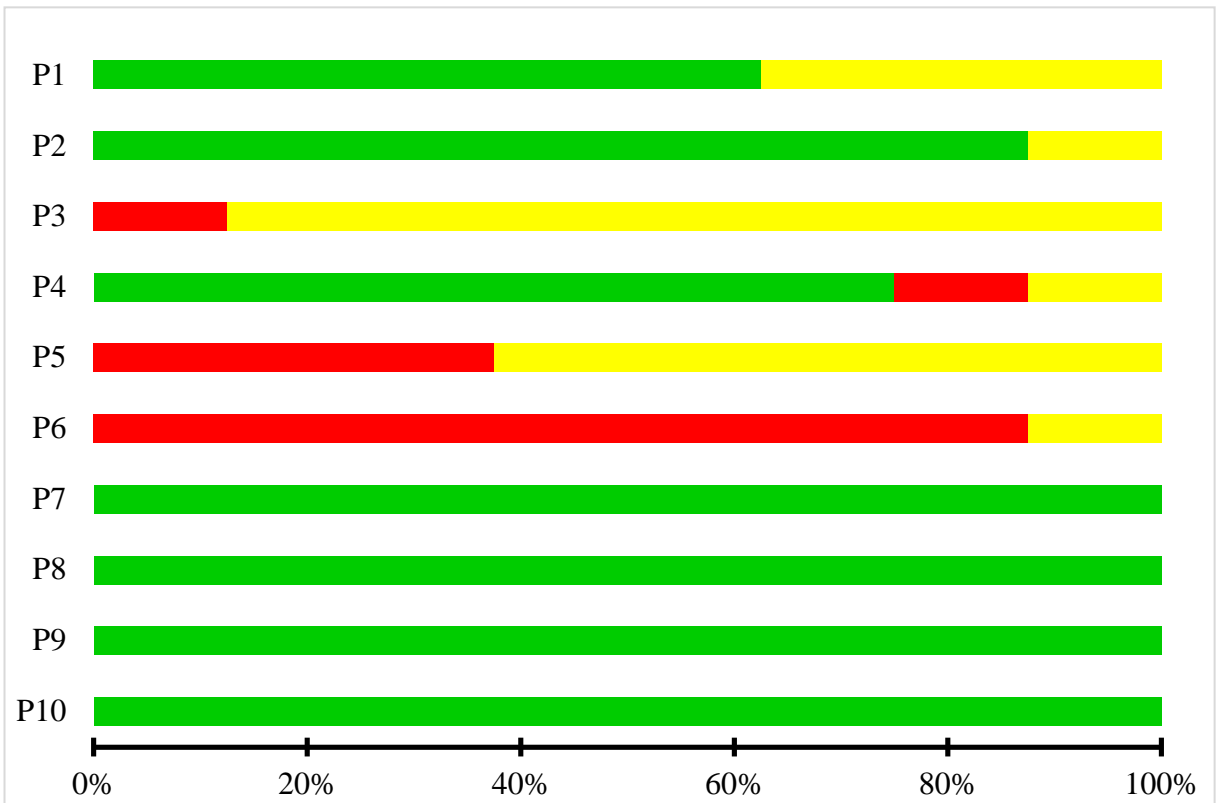


Figure 3. Methodological quality of included studies. Green bars indicate the proportion of articles that present low bias risk; red bars indicate the proportion of studies with high bias risk and yellow bars indicate the proportion of studies with unclear bias risk.

Table 1. Medicinal use of *Piper* species to treat symptoms of inflammation and inflammatory diseases.

| Scientific name | Parts use | Method of preparation | Medicinal use | Country | Reference |
|---|---------------------------|---|--|-----------|----------------------------------|
| <i>Piper acutifolium</i> Ruiz & Pav. | Leaves | Decoction | Gastritis | Peru | De Feo (2003) |
| <i>Piper betle</i> L. | Leaves | Decoction and maceration | Ulcer | China | Li and Xing (2016) |
| | Leaves | Liquid extract | Asthma | India | Savithramma et al. (2007) |
| | Leaves | NR | Febrifuge | Indonesia | Silalahi et al. (2015) |
| | Whole plant | Powder (taken orally) | Bronchitis and cough | India | Sureshkumar et al. (2017) |
| | Leaves | Decoction | Sore throat Skinallergies | Indonesia | Sujarwo et al. (2015) |
| | Leaves | Juice (taken orally) Maceration (Used over the chest) Maceration (taken orally) Chewed | Cough Asthma Respiratory disorders Bronchitis | Africa | Suroowan and Mahomoodally (2016) |
| <i>Piper cubeba</i> Vahl. | Fruit | NR | Rheumatism | Indonesia | Silalahi et al. (2015) |
| <i>Piper guineense</i> Schumach. & Thonn. | Fruits | Decoction | Asthma | Africa | Gbekley et al. (2017) |
| | Whole plant | Powder Balsam | | | |
| <i>Piper hancei</i> Maxim. | Roots | Decoction | Gastritis, osteitis | China | Li and Xing (2016) |
| <i>Piper longum</i> L. | Immature fruits and roots | Powder of roots mixed with honey (taken orally) Decoction Immature fruits and roots (taken orally) | Asthma | India | Savithramma et al. (2007) |
| | Fruit | NR | Rheumatism | Indonesia | Silalahi et al. (2015) |

| Table 1. Contd. | | Powder (taken orally) | Cough | India | Sureshkumar et al. (2017) |
|---------------------------------|---------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------|----------------------------------|
| <i>Piper marginatum</i> Jacq. | Roots, leaves, stem | NR | Asthma | Brazil | Albuquerque et al. (2007) |
| <i>Piper nigrum</i> L. | Seeds | NR | Sore throat | Brazil | Albuquerque et al. (2007) |
| | Seeds | NR | Febrifuge | Indonesia | Silalahi et al. (2015) |
| | Roots | Powder (taken orally) | Asthma | India | Sureshkumar et al. (2017) |
| | Fruits | Powder (taken orally) | Cough | Africa | Suroowan and Mahomoodally (2016) |
| <i>Piper peltatum</i> L. | NR | NR | Skin problems, processes "granos" | Guatemala | Hitziger et al. (2016) |
| <i>Piper sarmentosum</i> Roxb. | Leaves and roots | Decoction and maceration | Rheumatism, gout | China | Li and Xing (2016) |
| <i>Piper tuerckheimii</i> C.DC. | NR | NR | Fever and woundhealing | Guatemala | Hitziger et al. (2016) |
| <i>Piper umbellatum</i> L. | Leaves | NR | Inflammation, "loss of senses" | Guatemala | Michel et al. (2016) |
| | NR | Used on the skin | Febrifuge, Cicatrizant | Africa | Akendengue et al. (2005) |
| | Leaves | NR | Febrifuge | Indonesia | Silalahi et al. (2015) |

Subtitle: NR – Not reported.

Source: Research data (2017).

Table 2. Scientific elucidation of anti-inflammatory effect of species of the *Piper* genus.

| Scientific name | Parts use | Type of extract/oil | Type of test | Effect | Reference |
|--|-----------|---------------------|--|--|--------------------|
| <i>Piper aleyreanum</i> C.DC. | Leaves | Essential oil | Pleurisy induced by carrageenan | The treatment with essential oil de <i>P. aleyreanum</i> reduced the main features of acute inflammation, including exudation and leukocyte number, mainly by a reduction in neutrophil differential cell count in the pleural cavity. | Lima et al. (2012) |
| | Stem | | Acute gastric lesions | Oil essential treatment (1-30 mg/kg, p.o.) caused a dose dependent reduction mainly in ethanol-induced gastric lesions, decreasing the ulcer area mainly at doses of 10 and 30 mg/kg, with a mean ID50 value of 1.7 (0,9-3,1) mg/kg and an inhibition of 8774% at 10 mg/kg. Similarly, the essential oil via i.p. (10 mg/kg) reduced by 44,8712,8% gastric lesions induced by ethanol. | |
| <i>Piper attenuatum</i> Buch.-Ham. Ex Miq. | NR | Methanolic extract | NO and PGE ₂ Production Assay; Measurement of mRNA Expression Levels by Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). | The methanolic extract <i>P. attenuatum</i> Pa-ME Suppressed the Production of NO in macrophage stimulated with lipopolysaccharides, pam 3CSK4-and poly (I: C). The expression levels of mRNA and NO inducible synthetase (iNOS) and cyclooxygenase 2 (COX-2) were decreased. It reduced the translocation of p50 / NF-κB and AP-1, as well as the activity of its enzymes Src, Syk and TAK1. An immunoprecipitation analysis was turned to the binding between its substrates which were induced by Src, Syk and TAK1 overexpression were also reduced. The methanolic extract of <i>P. attenuatum</i> exerts anti-inflammatory effect by directing Src and Syk on the signaling path NF-κB and TAK1 on the | Kim et al. (2017) |

Table 2. Contd.

| | | | | signaling path AP-1. | | |
|-----------------------------------|--------|----------------------------|---|---|---------------------------|--|
| <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav. | Leaves | N-butanol | Decrease of TNF- α level and decrease of IL-6 levels pre and post-test | The extract at the dose of 150 mg/kg decreases the TNF-a serum levels in Wistar rat with atherosclerosis by around 45,63%. | Wahjuni et al. (2016) | |
| <i>P. nigrum</i> L. | Leaves | Ethanol extract | Pro-inflammatory activation of cells; Measurement of TNF- α , IL- β e IL-6; Concentration and inhibitory activity assay; Measurement of nitrite associated with NO concentration and inhibitory activity assay. | Inhibition of inflammatory mediators including TNF- α , IL-1, IL-6, and NO on LPS-induced macrophage cells. | Laksmiawati et al. (2017) | |
| | Fruits | Ethanol extract and hexane | Carrageenan-Induced paw edema | The hexane extract showed anti-inflammatory activity at a dose of 5 and 10 mg/kg compared to control, but less than the standard. The hexane extract exhibited maximum anti-inflammatory effect at a dose of 10 mg/kg after 60 min. The ethanol extract showed good anti-inflammatory activity at dose of 10 mg/kg as compared to control but less activity at all doses as compared to standard drug. The ethanol extract exhibited maximum activity at a dose of 10 mg/kg after 60 min. | Tasleem et al. (2014) | |

Table 2. Contd.

| | | | | | |
|--------------------------------|--------|-------------------------|---|--|-----------------------|
| <i>Piper sarmentosum</i> Roxb. | Seeds | Methanolic extract | Experimental model of Alzheimer's disease induced by $AlCl_3$ | The treatment with methanolic extract of <i>P. nigrum</i> L., only dose of 187,5 mg / kg reduced the serum AchE activity in the brain by 22.9%. However, both doses tested (187,5 mg/kg and 93,75 mg/kg) presented significance in CRP levels (-28,41%, -25,90% 187,5 mg/kg b.w./-27,16%, -23,12% 93,75 mg/kg b.w.), NF- κ B ₆₅ (-37,86%, -17,52% 187,5 mg/kg b.w./-36,22%, -16,92% 93,75 mg/kg b.w.) e MCP-1, (-40,8%, -19,47% 187,5 mg/kg b.w./-35,57%, -17,27% 93,75 mg/kg b.w.). Thus, extract significantly improves the cholinergic dysfunction and neurodegeneration induced by AD inflammation. | Ahmed et al. (2013) |
| | NR | Methanolic extract | Nitrite determination | The methanolic extract of <i>P. sarmentosum</i> (100, 50 and 25 μ g / mL) reduced the production of nitric oxide in 62.82 ± 1.53 , 46.53 ± 1.15 and 26.83 ± 1.73 respectively. | Lee et al. (2011) |
| <i>Piper umbellatum</i> L. | Leaves | Dichloromethane extract | Paw edema and pleurisy induced by carrageenan | <i>P. umbellatum</i> SDE treatment significantly inhibited the first phase of inflammation, in an independent way, as well as indomethacin 10 mg/kg. SDE was able to inhibit inflammation up to 4,5 hours, period coincident with prostaglandin release, which could suggest an action on prostaglandins production. In the second phase, all SDE doses inhibited inflammation at 48 hours while 400 mg/kg dose also inhibited the second inflammatory peak (72 h). This result suggests an effect on neutrophil mobilization, quite similar to the corticosteroids effects that efficiently inhibit the cellular phase of inflammation. In the carrageenan-induced peritonitis model, leukocytes migration in the negative control group was 14160 ± 1705 cells/mL and cell | Iwamoto et al. (2015) |

Table 2. Contd.

| | | | | | |
|------------------------------|--------|---------------|---|---|---------------------|
| <i>Piper vicosanum</i> C.DC. | Leaves | Essential oil | Paw edema and pleurisy induced by carrageenan | <p>migration was inhibited both by dexamethasone (60,5%, 5mg/kg) and by <i>P. umbellatum</i> SDE (52,0%, 200mg/kg).</p> <p>The groups treated with oil essential of <i>Piper vicosanum</i> (OPV) doses of 100 and 300 mg/kg showed a significant decrease in edema at the four hours of observation. The inhibitions were 78±2% and 75±3% after 2 h and 80±2% and 86±3% after 4 h, respectively. Additionally, the oral administration of OPV significantly inhibited the leukocyte migration at all doses tested (100 and 300 mg/kg), with inhibitions of 70±3% and 85±2%, respectively, and higher inhibition at a dose of 300 mg/kg.</p> | Brait et al. (2016) |
|------------------------------|--------|---------------|---|---|---------------------|

Subtitle: NR – Not reported.
 Source: Research data (2017).

CAPÍTULO 3

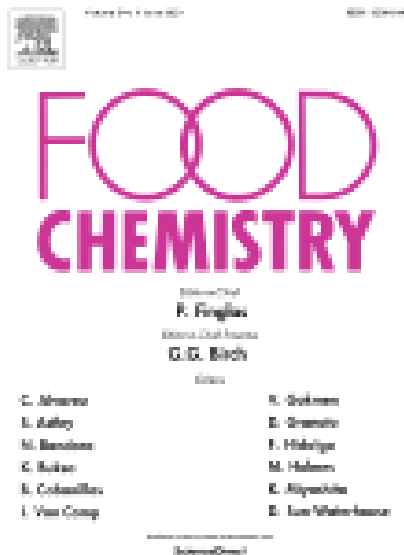
CAPÍTULO 3: ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO DECOCTO DOS FRUTOS DE *Piper tuberculatum* Jacq. EM MODELOS *in vivo* (MANUSCRITO 1).

Cícera Norma Fernandes-Lima^{a*}, Enaide S. Santos^a, Jacqueline C. Andrade^a, Cícero Damon Carvalho de Alencar^a, Maria de Fátima Sousa^a, Maria Rayane Correia de Oliveira^a, José G. Martins da Costa^a, Irwin R. Alencar de Menezes^a, Paulo R. Vasconcelos Ribeiro^c, Edy Sousa de Brito^c, Cícero F. Bezerra Felipe^b, Henrique Douglas Melo Coutinho^{a*}, Marta Regina Kerntopf^a.

Artigo submetido ao periódico: Food Chemistry (Anexo 2)

Qualis em Biodiversidade: A2

Fator de impacto: 5.399



Atividade anti-inflamatória do decocto dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. em modelos *in vivo*

Cícera Norma Fernandes-Lima^{a*}, Enaide S. Santos^a, Jacqueline C. Andrade^a, Cícero Damon Carvalho de Alencar^a, Maria de Fátima Sousa^a, Maria Rayane Correia de Oliveira^a, José G. Martins da Costa^a, Irwin R. Alencar de Menezes^a, Paulo R. Vasconcelos Ribeiro^c, Edy Sousa de Brito^c, Cícero F. Bezerra Felipe^b, Henrique Douglas Melo Coutinho^{a*}, Marta Regina Kerntopf^a

^a Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brazil

^b Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^c Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará, Brazil

*Autor correspondente: Universidade Regional do Cariri, URCA, Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta 63105-000, Brasil. E-mail: norminhaf@yahoo.com.br (C.N. Fernandes-Lima).

Resumo

A resposta inflamatória caracteriza-se como uma reação dos tecidos vascularizados em presença a uma lesão ou dano, ocasionando a ativação de alguns mecanismos para dar início ao processo de cura no tecido lesado. A espécie *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) conhecida popularmente como pimenta-de-macaco, é utilizada na medicina tradicional como analgésica para dor de dente (frutos), sedativa, antiofídica e para o tratamento de problemas estomacais, porém há ainda uma escassez de estudos que abordem o potencial anti-inflamatório da espécie. Dessa forma, o presente estudo avaliou a atividade antiedematogênica e anti-inflamatória, e os possíveis mecanismos de ação dos frutos da espécie *Piper tuberculatum* Jacq. em modelos *in vivo*. A composição química revelou a presença de classes de metabólitos secundários como flavonoides, alcaloides, amidas e sesquiterpenos. O decocto (500 mg/kg) demonstrou resultados significativos, mostrando-se como agente anti-inflamatório nos modelos de edema de pata por diferentes agentes flogísticos (carragenina, dextrana, histamina e ácido araquidônico) e permeabilidade e peritonite.

Palavras-chave: *Piper tuberculatum*. Decocto. Inflamação. Camundongos.

1. Introdução

A inflamação é definida como uma reação dos tecidos vascularizados em presença a uma lesão ou dano, acompanhada pela saída de líquidos e de células do sangue para o interstício, ocasionando a ativação de alguns mecanismos para dar início ao processo de cura ao tecido lesado (Enechi et al., 2013; Elsayed et al., 2014).

No processo inflamatório ocorre a participação de vários tipos celulares como neutrófilos, linfócitos, monócitos, macrófagos, células endoteliais vasculares e células do músculo liso (Lima et al., 2007; Ramos et al., 2012; Michel et al., 2013). Também ocorre vasodilatação local, aumento da permeabilidade e participação de mediadores inflamatórios como a histamina, prostaglandinas, bradicinina, citocinas leucotrienos, quimiocinas, dentre outros (Beg et al. 2011; Lee et al., 2016; Poon et al., 2015; Sobolewski et al., 2010).

Na atualidade, os métodos terapêuticos utilizados no tratamento da inflamação são restritos a medicamentos que quando utilizados cronicamente, paralelamente acarretam em efeitos adversos que muitas vezes se sobrepõem os seus efeitos farmacológicos ou benéficos. Desta forma, as plantas medicinais, por não apresentarem efeitos adversos, vêm se destacando nas pesquisas farmacológicas e no desenvolvimento de drogas como matéria-prima para a fabricação de compostos farmacologicamente ativos (Ely et al., 2015; Carneiro et al., 2014).

Neste sentido, plantas do gênero *Piper*, pertencente à família Piperaceae, possui aproximadamente 2.000 espécies e vasta distribuição nas regiões temperadas de ambos os hemisférios. No Brasil podem ser encontradas de Norte a Sul do país (Samain et al., 2010), onde ocorrem aproximadamente 266 espécies, das quais 13 espécies e 4 variedades foram descritas apenas no estado do Ceará, apesar de praticamente todas também ocorram em outros estados do país (Guimarães & Giordano, 2004).

A espécie *Piper tuberculatum* Jacq. conhecida popularmente como “pimenta-de-macaco” ou “pimenta-longa”, apresenta valor econômico e medicinal. Na medicina tradicional é utilizada como analgésica para dor de dente (frutos), sedativa, antiofídica e para o tratamento de problemas estomacais (Araújo-Júnior et al., 1999; Chaves et al., 2003).

Estudos mostram que diferentes extratos, óleos essenciais e compostos isolados a partir de *Piper tuberculatum* apresentam atividade antifúngica (Navickiene, 2000; Lago et al., 2004; Palacios et al., 2009), antitumoral (Bezerra et al., 2006; Bezerra et al., 2007; Bezerra et al., 2008), antiagregante plaquetária (Fontenele et al., 2009), inseticida (Navickiene, 2003; Scott et al., 2004), propriedades hipotensivas (Duarte et al., 2004), efeitos ansiolítico e antidepressivo (Felipe et al., 2007), efeitos espasmolítico (Oliveira, 2000), antinociceptivo (Rodrigues et al., 2009), esquistossomicida (Moraes et al., 2011), anti-*Trypanosoma cruzi* (Regasini et al., 2009), larvicida (Lavor et al., 2012), gastroprotetor (Burci et al., 2013), antibacteriana (Sales et al., 2017), antiplasmódica e antileishmania (Oliveira et al., 2018).

Diante dos estudos correlacionados a *Piper tuberculatum*, percebe-se a relevância dessa espécie como planta medicinal. Entretanto, há ainda uma escassez de estudos que abordem o potencial anti-inflamatório da espécie em questão. Dessa forma, o presente estudo

avaliou a atividade anti-inflamatória e os possíveis mecanismos de ação dos frutos da espécie *Piper tuberculatum* Jacq. em modelos *in vivo*.

2. Materiais e métodos

2.1 Exigências legais

Para realização desta pesquisa, foi realizado o cadastro na plataforma do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) para obtenção da licença para coleta do material botânico, com obtenção do registro de número 54852-1. Para realização dos ensaios *in vivo*, os protocolos experimentais foram submetidos a Comissão de Experimentação e Uso de Animais (CEUA) da Universidade Regional do Cariri (URCA), sendo aprovado sob o número de protocolo 165/2017.1. Devido a exigências legais no Brasil, foi também indispensável à aprovação do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), com número de cadastro nº A40F0EC.

2.2 Material botânico e preparação do decocto de *Piper tuberculatum*

Os frutos de *Piper tuberculatum* foram coletados no período matutino no sítio Arajara situado no município de Barbalha-CE, sob as coordenadas 7°20'14.22''S e 39°24'04.47''O. Uma amostra do material botânico foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL), sob número 12.926.

O decocto de *Piper tuberculatum* (DFPT) foi preparado utilizando os frutos frescos (2.638,13 g) que foram submetidos à triagem qualitativa e limpeza antes de serem pesados. Os mesmos foram cortados em fragmentos de 2 cm e misturados em água fria (6 L de água – com base em uma proporção de 10 g/150 mL, equivalente a uma xícara de chá) e, em seguida, fervido por 15 minutos (Matos, 2002). Logo após, o chá foi deixado em repouso até completo resfriamento, filtrado e posteriormente passou pelo processo de secagem (49.892 g de pó seco – livre de umidade), com rendimento de 18,91%.

A secagem foi realizada através da técnica de *spray drying* (secagem por atomização) com o uso do equipamento *Mini-spray dryer* MSDi 1.0 (Labmaq do Brasil), utilizando bico aspersor de 1,2 mm, nas seguintes condições operacionais: a) controle de fluxo: 400 mL/h; b) temperatura de entrada: 120±2° C; c) temperatura de saída: 75±2° C; d) vazão de ar de atomização: 45 L/min; e) vazão do soprador: 1,2 m³/min. O processo de secagem por

atomização baseia-se na mudança de um produto que se encontra no estado fluido para o estado sólido em forma de pó, através de sua passagem em um meio aquecido, numa operação contínua (Masters, 1991).

2.3 Ensaio químicos

2.3.1 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica do decocto foi realizada segundo a metodologia de Matos (2009), sendo avaliada a existência das principais classes de metabólitos secundários: taninos, flavonoides e alcaloides. Os ensaios de análise química consistiram na observação visual de alteração de cor e a formação de precipitados após a adição de reagentes específicos.

2.3.2 Cromatografia líquida ultra-eficiente acoplada ao sistema de quadrupolo/tempo de voo (UPLC – ESI - QTOF-MS/MS)

A análise foi realizada em um sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo/Tempo de Voo (QToF, Waters) pertencente a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150 x 2,1 milímetros, 1,7 µm), temperatura fixa de 40 °C, fases móveis água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% B (15 min), fluxo de 0,4 mL / min e volume de injeção de 5 µL.

O modo ESI⁻ foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa a 120 °C, temperatura de dessolvatação 350 °C, fluxo do gás dessolvatação de 500 L/h, cone de extração de 0,5 V, voltagem capilar de 2,6 kV. O modo ESI⁺ foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa de 120 °C, temperatura de dessolvatação 350 °C, fluxo do gás dessolvatação de 500 L/h e voltagem do capilar de 3,2 kV. Leucina encefalina foi utilizada como lock mass. O modo de aquisição foi MS^E. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

2.4 Drogas

Para os controles positivos foram usadas às drogas indometacina, prometazina e dexametasona. Como agentes flogísticos foram usados a carragenina, dextrana, histamina e

ácido araquidônico. Para o controle negativo foi utilizada salina 0,9% e como veículo água injetável. Todas as drogas e reagentes foram adquiridas pelas *Sigma-Aldrich Corporation* (EUA). As administrações de pré-tratamento foram realizadas de acordo com a massa corpórea do animal (0,1 mL/10 g).

2.5 Animais

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*), albinos, da linhagem *Swiss*, adultos, fêmeas, com massa corpórea entre 20-30 g. Todos os animais foram acondicionados em caixa de polipropileno, específicas para biotério, a uma temperatura de 24 ± 1 °C, com ração específica para roedores (Labina, Purina®) e água *ad libitum*, mantidos em ciclo claro/escuro de 12 h no Biotério de criação da URCA. Todos os testes foram realizados com n=6 camundongos por grupo (exceto teste de toxicidade oral aguda). Antes da realização dos testes os animais foram aclimatizados no local do experimento por 24 h.

2.6 Ensaio farmacológicos

2.6.1 Teste de toxicidade oral aguda

Os camundongos (n=4/dose) foram tratados por via oral com o DFPT, nas doses de 19, 61, 195, 625, 2.000 e 5.000 mg/kg. Em seguida foram observados os primeiros 30, 60, 120, 240 e 360 minutos e a cada 24 horas por um período de 14 dias após o tratamento, observando-se o número de mortes e ocorrência de parâmetros presentes na tabela de Malone (Malone & Robichaud, 1962).

2.7 Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de carragenina 1% e dextrana 1%

Os animais tiveram uma mensuração basal do volume das patas traseiras, medidas por pletismometria. Em seguida, os animais foram pré-tratados, por via oral, com Salina (0,9%), Indometacina 10 mg/kg (controle positivo no edema induzido por carragenina), Prometazina 6 mg/kg (controle positivo do edema de pata induzido por dextrana) e 250, 500 e 1.000 mg/kg do DFPT. Após 1 h, os animais receberam carragenina 1% ou dextrana 1% (20 µL/pata) na pata posterior direita e veículo na pata esquerda. O volume das patas traseiras de cada animal foi registrado após 1, 2, 3 e 4 horas da injeção do agente flogístico (Lapa, 2007).

2.8 Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de histamina 1% e ácido araquidônico 1%

Foi realizada a mensuração do volume basal das patas traseiras de cada animal, por pletismometria. Logo em seguida, os animais foram pré-tratados, por via oral, Salina (0,9%), Prometazina 6 mg/kg (controle positivo para histamina), Indometacina 10 mg/kg (controle positivo para o ácido araquidônico) e 500 mg/kg do DFPT. Após 1 h, os camundongos receberam histamina 1% ou ácido araquidônico 1% (20 µL/pata) na pata posterior direita e veículo na pata esquerda. O volume das patas traseiras de cada animal foi registrado após 30, 60, 90 e 120 minutos da injeção da histamina (Maling et al., 1974). No ensaio com ácido araquidônico, o volume das patas traseiras foi mensurado 25, 30, 45 e 60 minutos, após a injeção do agente flogístico (Dimartino et al., 1987). O volume das patas traseiras de cada animal foi registrado após 1, 2, 3 e 4 horas da injeção do agente flogístico (Lapa, 2007).

2.9 Permeabilidade vascular por extravasamento de Azul de Evans

Os camundongos foram tratados, por via oral, com Salina (0,9%), Dexametasona 5 mg/kg e 500 mg/kg do DFPT. O grupo *naive* não recebeu nenhum tratamento, nem indução. Após 1 h do tratamento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de carragenina 1%. Concomitantemente à carragenina, foi administrado 200 µL de Azul de Evans por via intraocular. Após 4 h, os camundongos foram eutanasiados sendo injetada na cavidade peritoneal 3 mL de PBS. Centrifugou-se as amostras por 2 min. a 6.000 rpm, e fez-se a leitura do sobrenadante por espectroscopia com filtro de 520 nm (Lapa, 2008).

2.10 Peritonite

Os animais receberam o mesmo tratamento citado acima. Após 1 h do tratamento, os camundongos receberam uma injeção intraperitoneal de carragenina 1%. Após 4 h, os animais foram eutanasiados, sendo injetada na cavidade peritoneal 3 mL de PBS heparinizado. A amostra do lavado peritoneal foi lida no ABX Micros 60 e contabilizada a porcentagem de leucócitos (Lapa, 2008).

2.11 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise pelo programa *GraphPad Prism 5.0*. O procedimento de comparação utilizado foi ANOVA de uma via (*One-way*) ou ANOVA de duas vias (*Two-way*), aplicando-se como *post hoc* o teste de *Tukey* para ambos os casos.

3. Resultados e discussão

3.1 Prospecção fitoquímica

Na análise fitoquímica do decocto foram identificadas a presença das seguintes classes de metabólitos secundários: Flavonas, Xantonas, Chalconas, Auronas, Flavononóis, Leucoantocianidinas, Catequinas, Flavononas, Flavonoides e Alcaloides (Tabela 1).

As classes de metabólitos identificadas assemelham-se com o estudo realizado por Lima et al., (2018) que realizou a prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas, inflorescências e talos da espécie *P. tuberculatum*, os quais foram encontrados a presença de flavonoides e alcaloides em sua composição.

Os flavonoides podem ser encontrados em frutos, sementes, caules e flores dos vegetais e constituem um dos principais grupos dos compostos fenólicos encontrados, conferindo várias ações biológicas, dentre elas ação antitumoral, anti-úlceras, antioxidante, antiviral, sendo a atividade anti-inflamatória como uma de suas principais propriedades relatadas na literatura (Coutinho et al., 2009; Simões et al., 2017). Os alcaloides também apresentam potente atividade anti-inflamatória, onde alguns estudos têm confirmado este efeito via modulação de moléculas e células inflamatórias (Agnihotri et al., 2010; Chung 2011; Wang et al., 2011; Silva et al, 2012).

Neste contexto, o resultado obtido fornece base farmacológica para utilização da *P. tuberculatum* validando seu uso popular e indicando seu potencial terapêutico para o desenvolvimento de novos fitofármacos com propriedades anti-inflamatórias.

3.2 Identificação de compostos através de cromatografia líquida ultra-eficiente acoplada ao sistema de quadrupolo/tempo de voo (UPLC – QTOF-MS/MS)

A composição química do DFPT foi analisada pelo método em cromatograma de espectrometria de massa de alto desempenho (UPLC-ESI-QTFO-MS, modo positivo), sendo

este estudo o primeiro a realizar a caracterização dos componentes do decocto de *Piper tuberculatum* (Fig. 1).

A identificação dos compostos foi realizada com base na massa de íons moleculares, tempo de retenção, padrão de fragmentação e dados disponíveis na literatura que resultou em 14 compostos identificados: Éter dimetílico da Apigenina, 8-Formil-7-metoxi-6-metilflavanona, Amidas Tipo B, 2',6'-Di-hidroxi-4'-metoxi-3'-prenildihidrochalcona, Nerolidol, Chavicol, Piperanina, Piperina, 6,8-Dimetilpinocembrina, 2',4'-di-hidroxi-3'-metilchalcona, 8-hidroxi-5,7-dimetoxiflavanona, Piperdardina, Amidas Tipo D e Pellitorina (Tabela 2).

Os compostos **2**, **3**, **5**, **11**, **12** e **14** pertencem à classe dos flavonoides, o que caracteriza a composição do gênero *Piper*, pois são encontrados nas espécies *Piper auritum* Kunth (Estrada-Reyes et al., 2019), *Piper hostmannianum* var. *berbicense* (Portet et al., 2008) e *Piper betle* L. (Pandey et al., 2014).

Chithra et al (2014) e o Khan et al (2017) isolaram o composto **10** conhecido quimicamente como 5-(3,4-metilenodioxifenil)-1-piperidinopent-2,4-dien-1-ona utilizando a LC-MS seguida por LC-MS/MS e a HPLC, respectivamente. Esse alcaloide é comumente encontrado na família Piperaceae nas espécies *P. nigrum* L. e *P. longum* L. (Kamal et al, 2016).

Liu et al. (2015) utilizou a HPLC–ESI-MSⁿ e UFLC–ESI-MS/MS e identificou os compostos alcaloides **9**, **10** e **17** e Wang et al, (2019) usou de cromatografia em coluna em gel Sephadex LH-20, coluna de sílica gel e os espectros de RMN foram medidos em espectrômetros BRUKER AM-400. Ambas as espécies *P. nigrum* e *P. longum* foram testadas em estudos farmacológicos no qual demonstram ação anti-inflamatória. A partir de um extrato de etanol a 70% dos frutos de pimenta preta e pimenta longa, foram obtidos vinte e um compostos, dentre essas estruturas foram caracterizados dois alcaloides, os compostos **9** e **10**, assim como no decocto de *P. tuberculatum* em análise de UPLC.

Os compostos, sesquiterpeno e fenilpropeno, respectivamente, **7** e **8** foram identificados em extratos de folhas de *P. betle* no estudo de Pandey et al. (2014) através do mesmo método UPLC-ESI-MS/MS. Entre os vinte e nove fitoconstituíntes detectados, dezenove foram identificados e caracterizados com base em seu padrão de fragmentação obtido via MS/MS por meio de dissociação induzida por colisão (CID).

Sun et al. (2007) utilizou o método de cromatografia líquida em fase reversa/espectrometria de massas em múltiplos estágios (MS/MS) para a caracterização de amidas dos extratos de *P. longum* associada a cromatografia iônica extraída (EIC) para

encontrar amidas. Quarenta e duas amidas foram rapidamente identificadas, das quais vinte e dois foram encontradas nesta planta pela primeira vez e nove foram novos compostos. Dentre as amidas identificadas dez são do tipo amidas D e oito amidas B. Em *P. tuberculatum* foram identificadas duas amidas, compostos **4** e **16**, sendo uma amida tipo B e a outra amida tipo D, respectivamente.

3.3 Toxicidade oral aguda

A administração do decocto dos frutos de *Piper tuberculatum* (DFPT) não apresentou efeitos tóxicos analisados pelos parâmetros comportamentais da tabela de Malone e Robichaud (1962), nem houve mortalidade nas doses administradas, sendo a $DL_{50} > 5.000$ mg/kg em camundongos por via oral. Para a realização dos testes de triagem farmacológica, as doses foram determinadas respeitando o limite de 10% da DL_{50} . Desse modo, as doses determinadas foram de 250, 500 e 1.000 mg/kg do DFPT.

No estudo realizado por Burci et al. (2013), a administração oral da fração diclorometano dos frutos de *Piper tuberculatum* em ratos na dose de 5 g/kg produziu alterações respiratórias, piloereção, redução na locomoção, tremores e convulsões iniciadas a partir de 10 min. após a administração da fração com duração até 4 h e logo após os animais vieram a óbito. Porém apenas um animal morreu após 24 h do tratamento. Em doses mais baixas (0.005, 0.05 e 0.5 g/kg) o extrato não produziu sinais visíveis de toxicidade. Outras espécies do gênero *Piper*, como *P. cubeba* L. e *P. umbellatum* L. demonstraram não apresentar alterações bioquímicas e nem toxicidade oral, quando analisados no modelo avaliado, sendo $DL_{50} > 2.000$ mg/kg (Perazzo et al. 2013; Iwamoto et al., 2015), confirmando a baixa toxicidade do gênero.

3.4 Edema de pata induzido por carragenina 1%

No gráfico da Fig. 2, observa-se uma redução do percentual no edema de pata nos grupos: indometacina, DFPT 250, 500 e 1.000 mg/kg em relação ao grupo Salina, sendo que no tempo 3, considerado o pico da inflamação, essa redução foi de 45,37%, 6,17%, 34,69% e 26,72% respectivamente.

A inflamação induzida por carragenina é considerado um modelo inflamatório agudo bastante utilizado na avaliação da atividade anti-inflamatória de novos compostos (Bahamonde et al., 2013). O edema inflamatório produzido pela indução desse agente

flogístico é decorrente da ação de vários mediadores químicos, em que no período de tempo de 0-2,5 h, ocorre principalmente à liberação de histamina, serotonina e bradicinina, e posteriormente no tempo de 3-6h, há um excesso de produção de prostaglandinas nos tecidos (Carey et al., 2010; Wang et al., 2014).

Neste estudo, apenas a dose de 500 mg/kg do DFPT apresentou-se mais efetiva em ambas as fases da inflamação, no período de tempo analisado, sugerindo que o mesmo pode atuar tanto sobre a inibição da liberação de aminas vasoativas (histamina e serotonina), quanto na inibição da liberação de prostaglandinas. Zakaria et al. (2010) demonstraram que o extrato aquoso das folhas de *Piper sarmentosum* Roxb. exibiu efeito anti-inflamatório significativo ($p \leq 0,05$) de maneira dose-dependente, confirmando o uso tradicional desta espécie no tratamento da inflamação.

Vaghasiya et al. (2007) evidenciaram o efeito anti-inflamatório de três espécies de *Piper*, com os extratos metanólicos das folhas destas demonstrando efeito anti- inflamatório inibindo o edema de pata induzido por carragenina com uma redução do edema em 24,78% (*Piper sarmentosum*), 42,56% (*Piper argyrophyllum*) e 31,61% (*Piper longum*) em relação ao grupo controle, na terceira hora avaliada. Os resultados desse estudo vão de encontro com os dados encontrados neste trabalho, no qual ocorreu redução significativa do edema no mesmo tempo observado.

A presença de flavonoides no DFPT pode justificar o efeito antiedematogênico encontrado no presente estudo, visto que essa classe de metabólitos possui um amplo espectro de atividades biológicas (Rathee et al., 2009), sendo bem conhecidos seus efeitos anti-inflamatórios (Kim et al., 2004; García-Lafuente et al., 2009; Wang et al., 2014), os quais são atribuídos principalmente pela capacidade destas substâncias de atuar sobre a inibição da liberação de importantes mediadores inflamatórios, tais como as histaminas e prostaglandinas (Kim et al., 2004; Rathee et al., 2009).

3.5 Edema de pata induzido por Dextrana 1%

No tempo 3, terceira hora de avaliação, as doses do DFPT 250, 500 e 1.000 mg/kg apresentaram redução no percentual de edema de 5,62%, 43,74% e 31,25% respectivamente (Fig. 3). A prometazina (6 mg/kg), usada como droga padrão foi capaz de inibir o edema a partir da primeira hora de avaliação até a terceira, apresentando um percentual de redução de edema no tempo 3 em 65,94% quando comparado ao grupo controle.

A dextrana, é um polissacarídeo utilizado em testes de inflamação por promover a liberação de histamina e serotonina dos mastócitos durante a formação do edema. Essas substâncias agem modificando o tônus e a permeabilidade vascular do vaso, contribuindo para o extravasamento de fluidos (Andrade et al., 2007).

O DFPT (500 mg/kg) diminuiu o edema de pata causado por dextrana a partir da terceira hora de avaliação do ensaio. Dessa forma é possível sugerir, que a atividade anti-edematogênica do decocto se encontra associada a modulação na síntese/liberação ou bloqueio das ações da histamina ou serotonina.

Vaghasiya et al. (2007) também avaliou o efeito anti-inflamatório frente ao agente flogístico dextrana, utilizando quatro espécies de *Piper*, relatando que os extratos metanólicos das folhas destas demonstraram uma redução do edema em 44,59% (*Piper hymenophyllum*), 44,56% (*Piper sarmentosum*), 45,69% (*Piper argyrophyllum*) e 43,18% (*Piper chaba*) em relação ao grupo controle, logo na primeira hora de avaliação. Estes resultados sugerem que a atividade anti-inflamatória das espécies estudadas está possivelmente associada a sua atividade ant-histamínica ou anti-serotoninérgica.

Os testes posteriores para avaliar o mecanismo de ação do decocto foi analisada com a dose que apresentou-se mais efetiva frente aos agentes flogísticos carragenina e dextrana, a dose de 500 mg/kg.

3.6 Edema de pata induzido por histamina 1%

Para a realização dos ensaios de mecanismo, a dose efetiva do DFPT escolhida foi representada pela dose mais baixa que apresentou melhor efeito nos testes triagem, sendo esta a dose de 500 mg/kg. Na terceira hora de avaliação, os grupos Prometazina e DFPT 500 mg/kg apresentaram uma redução do edema, significativa em relação ao controle, apresentando esses grupos um valor respectivo de 39,03% e 31,27% (Fig. 4).

A histamina é um dos principais mediadores de fase inicial do teste de edema de pata induzido por carragenina, sendo este considerado um polissacarídeo sulfatado, bastante utilizado como agente flogístico que promove uma inflamação aguda, induzindo resposta pró-inflamatória (Kumar et al., 2015). Esse mediador tem sua função exercida no início da inflamação, o que justifica sua rápida ação e curta duração, onde o processo inflamatório ocorre em pouco tempo após sua indução (Gutierrez et al., 2015).

As aminas vasoativas estão disponíveis em reservas pré-formadas para serem liberadas no momento do processo inflamatório. A histamina é considerada o principal mediador na

fase inicial após a lesão, aumentando a permeabilidade vascular e atuando sobre a microcirculação (Rang et al., 2007). A serotonina, outra substância envolvida nesse processo, induz o edema e extravasamento do plasma durante uma inflamação aguda, sendo liberada principalmente pelos mastócitos e plaquetas (Ting et al., 2007).

A literatura relata que os flavonóides encontram-se envolvidos tanto na inibição da liberação de histamina pelos mastócitos e em suas atividades anti-histamínicos, inibindo dessa forma os efeitos causados pela administração direta desta amina vasoativa, o que corrobora com os resultados do nosso estudo, já que a dose de 500 mg/kg do DFPT reduziu o edema na pata no animal de forma significativa, provavelmente por estar agindo de forma direta na inibição da histamina sobre os vasos (Wilson et al., 1951; Bhatia & Paliwal, 2014; Singh et al., 2015).

3.7 Edema de pata induzido por ácido araquidônico 1%

Neste ensaio, os grupos Indometacina e DFPT 500 mg/kg apresentaram resultados significativos na terceira hora de avaliação, sendo os valores de 47,15% e 31,24%, respectivamente, quando comparados ao grupo Salina (Fig. 5).

O ácido araquidônico (AA) é um ácido graxo que desempenha uma importante função na fisiologia celular. Ele é liberado quando há lesão a partir de fosfolipídios de membrana através da enzima fosfolipase A₂, que pode ser ativada por diversos estímulos químicos, inflamatórios ou traumáticos, além de ativarem citocinas pró-inflamatórias (Hilário et al., 2006). Em resposta a algum estímulo, a fosfolipase hidrolisa os fosfolipídeos de membrana, liberando ácido araquidônico. O ácido araquidônico dará origem a mediadores inflamatórios pela via das cicloxigenases (COX), produzindo prostaglandinas (PG's), prostaciclina (PI's) e tromboxanos (TX's), e pela via das lipoxigenases (LOX), levando a formação de leucotrienos (LT's). O conjunto dessas células é denominado prostanóides e possuem um papel fundamental no processo inflamatório (Castro, 2011).

Logo após 60 min. da aplicação do AA a 1% na pata dos camundongos, foi realizado uma análise para identificar o possível efeito antiedematogênico do decocto. Os resultados mostram que o DFPT apresentou uma redução significativa do edema na dose analisada (500 mg/kg) em todos os tempos, com exceção do último. O efeito anti-inflamatório demonstrado pelo DFPT neste ensaio deve-se possivelmente a sua propriedade inibidora das enzimas cicloxigenases, inibindo, dentre outras, a produção de prostaglandinas e, por conseguinte

inibindo o edema (Wise et al., 2008). Já a Indometacina (10 mg/kg), utilizada como droga padrão inibiu o edema de forma significativa em todos os tempos analisados.

3.8 Permeabilidade vascular

Conforme pode ser observado na Figura 6, os resultados mostram que o DFPT inibiu o aumento da permeabilidade vascular induzida por carragenina em um percentual de 48,57%, em relação ao grupo Salina. O grupo Naive é representado pelo grupo de animais que não receberam tratamento, nem mesmo foi induzido uma injúria tecidual. A Dexametasona reduziu o processo de permeabilidade vascular com um percentual de inibição de 33,33% em relação ao Salina.

Já é confirmado pela literatura que o Azul de Evans liga-se fortemente a proteína plasmática albumina e que a sua quantificação pode ser utilizada para definir os aumentos da permeabilidade da barreira à albumina (Nagaraja et al., 2008). Como consequência o exsudato que se concentra na região inflamada é rico em mediadores, células e proteínas plasmáticas como a albumina (Silva et al., 2011; Pinheiro et al., 2013).

Este modelo permite avaliar quantitativamente a permeabilidade vascular durante um processo inflamatório. Essa avaliação é feita através da administração intravenosa do corante azul de evans (Jancar et al., 1988). Nesse processo ocorre a liberação de histamina e serotonina, liberação de prostaglandina e mobilização dos leucócitos, liberação de TNF- α , IL-1 β e óxido nítrico (NO) (Codarri et al., 2010; Feldmann et al., 2008).

Os resultados demonstram que o DFPT reduziu a permeabilidade vascular, consequentemente por inibir a liberação de mediadores pró-inflamatórios, estimulados pela indução de carragenina (Peters et al., 2015). Desse modo, diminuindo o extravasamento de proteínas para o local inflamado, sendo possivelmente esta atividade atribuída aos flavonoides presentes na composição química do extrato.

3.9 Peritonite

Os grupos Dexametasona (5 mg/kg) e DFPT 500 mg/kg reduziram a porcentagem de granulócitos em relação ao controle em 13,93% e 27,67% respectivamente (Figura 7A). Esses mesmos grupos causaram redução significativa de monócitos, em relação ao controle, sendo esta redução de 27,98% e 22,56% respectivamente (Figura 7B).

A peritonite é um modelo de inflamação que permite avaliar a migração de leucócitos para a cavidade peritoneal durante um processo inflamatório (Gonçalves et al., 2011). Os neutrófilos denominados de polimorfonucleares (PMN), bem como os macrófagos são as principais células fagocíticas do sistema imune. Durante o processo inflamatório os neutrófilos são recrutados para o foco inflamatório desempenhando uma função de defesa para o organismo (Lima et al., 2014).

A inflamação foi induzida neste ensaio pela administração intraperitoneal de carragenina no peritônio do camundongo. Após quatro horas da administração de carragenina foram feitas as análises do lavado peritoneal. Este modelo avalia uma inflamação aguda, permitindo a quantificação de leucócitos que migram para a cavidade peritoneal. Essa migração ocorre sob ação de agentes quimiotáticos, principalmente leucotrienos e interleucinas (Bitencourt et al., 2014).

Iwamoto et al., (2015), em seu estudo, avaliou a ação anti-inflamatória do extrato bruto diclorometano das folhas de *Piper umbellatum* em modelo de peritonite induzido por carragenina. A migração dos leucócitos foi inibida tanto pela Dexametasona (5 mg/kg) em 60,5%, e pelo extrato de *P. umbellatum* (200 mg/kg) em 52,0%.

Em nosso estudo, o DFPT atuou de forma semelhante à dexametasona (fármaco imunossupressor), inibindo a migração de leucócitos induzida pela injeção de carragenina na dose de 500 mg/kg. Isso sugere que a ação do DFPT na redução da migração celular esteja associada com a inibição da biossíntese do mediador inflamatório.

Carvalho et al. (2005) descreve que a atividade biológica dos flavonoides está relacionada principalmente, com a inibição de mediadores inflamatórios. Isso justifica os resultados deste estudo que mostra em vários modelos de inflamação que o DFPT possivelmente atua de modo sistêmico diminuindo a expressão das aminas vasoativas, na inibição da enzima cicloxigenase, além disso, reduzindo a quimiotaxia dos polimorfonucleares para o local da inflamação.

4. Conclusões

A composição química do DFPT revelou a presença de classes de metabólitos secundários como flavonoides, alcaloides, amidas e sesquiterpenos, sendo estes comumente relatados no gênero *Piper*. O decocto dos frutos da espécie *Piper tuberculatum* Jacq. demonstrou efeito antiedematogênico nos modelos de triagem de edema de pata induzida por carragenina e dextrana, envolvendo provavelmente a inibição de citocinas com o

envolvimento das vias do ácido araquidônico e histamina, bem como apresentou efeito anti-inflamatório por apresentar redução da migração leucocitária no modelo de peritonite e permeabilidade vascular, indicando que sua ação pode estar vinculada a inibição da produção de eicosanoides e citocinas, desta forma é importante ressaltar que o decocto dos frutos de *Piper tuberculatum* mostrou-se eficiente no processo inflamatório.

Conflito de interesse

Os autores declaram que não possuem conflito de interesses.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio e cooperação recebidos da FUNCAP (Fundação de Amparo à Pesquisa Cearense) e da URCA (Universidade Regional do Cariri).

Referências

- Agnihotri, S., Wakrode, S., & Agnihotri, A. (2010). An overview on anti-inflammatory properties and chemo-profiles of plants used in traditional medicine. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1, 150-167.
- Andrade, S.F., Cardoso, L.G., Carvalho, J.C., & Bastos, J.K. (2007). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 464-471.
- Araújo-Júnior, J.X., Chaves, M.C.O., Cunha, E.V.L., & Gray, A.I. (1999). Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. *Biochemical Systematics Ecology*, 27, 325-327.
- Bahamonde, S.M.A., Flores, M.L., Córdoba, O.L., Taira, C.A., & Gorzalczy, S. (2013). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of an aqueous extract of *Chiliodendron diffusum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23, 699-705.
- Bhatia, D., & Paliwal, S.K. (2014). Membrane stabilization, inhibition of 'histamine and prostaglandin synthesis' mediated anti-inflammatory response of some indigenous plants. *International Journal of Pharmacognosy*, 1, 660-667.
- Beg, S., Swain, S., & Hussain, M.S. (2011). Systematic review of herbals as potential anti-inflammatory agents: Recent advances, current clinical status and future perspectives. *Pharmacognosy Review*, 5, 120-137.
- Bezerra, D.P., Castro, F.O., Alves, A.P.N.N., Pessoa, C., Moraes, M.O., Silveira, E.R., Lima, M.A.S., Elmiro, F.J.M., & Costa-Lotufo, L.V. (2006). *In vivo* growth-inhibition of Sarcoma 180 by pipartine and piperine, two alkaloid amides from *Piper*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39, 801-807.

- Bezerra, D.P., Militão, G.C., Castro, F.O., Pessoa, C. Moraes, M.O., Silveira, E.R., Lima, M.A.S., Elmiro, F.J.M., & Costa-Lotufo, L.V. (2007). Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. *Toxicology In Vitro*, 21, 1-8.
- Bezerra, D.P., Pessoa, C., Moraes, M.O, Alencar, N.M., Mesquita, R.O., Lima, M.W., Alves, A.P., Pessoa, O.D., Chaves, J.H., Silveira, E.R., & Costa-Lotufo, L.V. (2008). *In vivo* growth inhibition of sarcoma 180 by piperlonguminine, an alkaloid amide from the *Piper* species. *Journal of Applied Toxicology*, 28, 599-607.
- Bitencourt, M.A.O., Lima, M.C.J.S., Torres-Rêgo, M., Fernandes, J.M., Silva-Júnior, A.A., Tambourgi, D.V., Zucolotto, S.M., & Fernandes-Pedrosa, M. (2014). Neutralizing effects of *Mimosa tenuiflora* extracts against inflammation caused by *Tityus serrulatus* scorpion venom. *BioMed Research International*, 153, 890-895.
- Burci, L.M., Pereira, I.T., Silva, L.M., Rodrigues, R.V., Facundo, V.A., Militão, J.S., Santos, A.R., Marques, M.C., Baggio, C.H., & Werner, M.F. (2013). Antiulcer and gastric antisecretory effects of dichloromethane fraction and pipartine obtained from fruits of *Piper tuberculatum* Jacq. in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 165-174.
- Carneiro, F.M., Silva, M.J.P., Borges, L.L., Albenaz, L.C., & Costa, J.D.P. (2014). Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. *Revista Sapiência*, 3, 44-75.
- Carvalho, M.G., Cândido, L.F., Da Costa, P.M., & Rumjanek, V.M. (2005). Chromones from *Licania arianae* (Chrysobalanaceae). *Natural Product Research*, 19, 7-12.
- Castro, R.A. (2011). Avaliação do potencial analgésico e anti-inflamatório do composto pirazólico 1,5- difenil-3-hidrazinopirazol (a) – DHP. *Dissertação (Mestrado)* – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Chaves, O.M.C., Junior, F.A.G., & Santos, B.V. (2003). Amides from *Piper* fruits. *Fitoterapia*, 74, 181-183.
- Chithra, S., Jasim, B., Anisha, C., Mathew, J., & Radhakrishnan, E.K. (2014). LC-MS/MS Based Identification of Piperine Production by Endophytic *Mycosphaerella* sp. PF13 from *Piper nigrum*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173, 30-35.
- Chung, Y.M., Chang, F.R., Tseng, T.F., Hwang, T.L., Chen, L.C., Wu, S.F., Lee, C.L., Lin, Z.Y., Chuang, L.Y., Su, J.H., & Wu, Y.C. (2011). A novel alkaloid, aristopyridinone A and anti-inflammatory phenanthrenes isolated from *Aristolochia manshuriensis*. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 21, 1792-1794.
- Codarri, L., Fontana, A., & Becher, B. (2010). Cytokine networks in multiple sclerosis: lost in translation. *Current Opinion in Neurology*, 23, 205-211.
- Coutinho, M.A.S., Muzitano, M.F., & Costa, S.S. (2009). Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. *Revista Virtual de Química*, 1, 241-256.
- Dimartino, M., Campbell Jr., G.K., Wolff, C.E., & Hanna, N. (1987). The pharmacology of arachidonic acid-induced rat paw edema. *Agents Actions*, 21, 303-305.

- Duarte, C.M., Verli, H., Araújo-Júnior, J.X., Medeiros, I.A., Barreiro, E.J., & Fraga, C.A.M. (2004). New optimized piperamide analogues with potent in vivo hypotensive properties. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23, 363-369.
- Elsayed, E.A., El Enshasy, H., Wadaan, M.A., & Aziz, R. (2014). Mushrooms: A potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications. *Mediators of Inflammation*, 2014, 805-841.
- Ely, L.S., Engroff, P., Guiselli, S.R., Cardoso, G.C., Morrone, F.B., & Carli, G.A. (2015). Uso de anti-inflamatórios e analgésicos por uma população de idosos atendida na Estratégia Saúde da Família. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 18, 475-485.
- Enechi, O.C., Odo, C.E., & Onyekwelu, O.N. (2013). Inhibition of leucocyte migration: A mechanism of anti-inflammatory effect of the ethanol extract of the stem bark of *Alstonia boonei* in Wistar rats. *Journal of Pharmacy Research*, 6, 925-927.
- Estrada-Reyes, R., Dorantes-Barrón, A.M., Arrieta-Báez, D., Gómez-Patiño, M.B., Bernal-Trujillo, A., Castro-García, M., Carro-Juárez, M., & Martínez-Mota, L. (2019). *Piper auritum* Kunth (Piperaceae) improves the sexual performance of sluggish male rats through enhancing ejaculation. *Journal of Ethnopharmacology*, 231, 453-463.
- Feldmann, M., & Maini, S.R. (2008). Role of cytokines in rheumatoid arthritis: an education in pathophysiology and therapeutics. *Immunological Reviews*, 223, 7-19.
- Felipe, F.C.B., Sousa 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. (2007). Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. *Phytomedicine*, 14, 605-612.
- Fontenele, J.B., Leal, L.K., Silveira, E.R., Felix, F.H., Bezerra Felipe, C.F., & Viana, G.S. (2009). Antiplatelet effects of piplartine, an alkamide isolated from *Piper tuberculatum*: possible involvement of cyclooxygenase blockade and antioxidant activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacological*, 61, 511-515.
- Gonçalves, D.O., Calou, I.B., Siqueira, R.P., Lopes, A.A., Leal, L.K., Brito, G.A., Tomé, A.R., & Viana, G.S. (2011). In vivo and in vitro anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of lovastatin in rodents. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*, 44, 173-181.
- Guimarães, E.F., & Giordano, L.C.S. (2004). Piperaceae do nordeste brasileiro I: estado do Ceará. *Rodriguésia*, 55, 21-46.
- Gutierrez, R.M.P. (2015). Evaluation of anti-inflammatory activity of the bark of *Eysenhardtia polystachya*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 9, 230-236.
- Hilário, M.O.E., Terreri, M.T., & Len, C.A. (2006). Anti-inflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. *Jornal de Pediatria*, 82, 206-212.
- Iwamoto, L.H., Vendramini-Costa, D.B., Monteiro, P.A., Ruiz, A.L.T.G., Sousa, I.M.O., Foglio, M.A., Carvalho, J.E., & Rodrigues, R.A.F. (2015). Anticancer and Anti-Inflammatory

Activities of a Standardized Dichloromethane Extract from *Piper umbellatum* L. Leaves. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 8.

Jancar, S., De Giaccobi, G., Mariano, M., Mencia-Huerta, J.M., Sirois, P., & Braquet, P. (1988). Immune complex induced pancreatitis: effect of BN 52021, a selective antagonist of platelet-activating factor. *Prostaglandins*, 35, 757-770.

Kamal, Y.T., Singh, M., Salam, S., & Ahmad, S. (2016). Simultaneous Quantification of Piperlongumine and Piperine in Traditional Polyherbal Formulation Using Validated HPLC Method. *Acta Chromatographica*, 28, 489-500.

Khan, Z.R., Moni, F., Sharmin, S., Al-Mansur, M.A., Gafur, A., Rahman, O., & Afroz, F. (2017). Isolation of Bulk Amount of Piperine as Active Pharmaceutical Ingredient (API) from Black Pepper and White Pepper (*Piper nigrum* L.). *Pharmacology & Pharmacy*, 8, 253-262.

Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., Robbins & Cotran (2005). *Patologia – Bases Patológicas das Doenças*. Rio de Janeiro: Elsevier, pp. 49-79.

Lago, J.H.G., Ramos, C.S., Casanova, D.C., Morandim, A.A., Bergamo, D.C., Cavalheiro, A.J., Bolzani, V.S., Furlan, M., Guimarães, E.F., Young, M.C. & Kato, M.J. (2004). Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. *Journal of Natural Products*, 67, 1783-1788.

Lapa, A.J. (2007). *Métodos de Avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Medicinais*. São Paulo: UNIFESP/EPM, p. 119.

Lapa, A.J., Souccar, C.; Lima-Landman, M.T.R., Castro, M.S.A., & De Lima, T.C.M. (2008). *Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais*. SBPC: Campinas.

Lavor, P.L., Santiago, G.M., Gois, R.W., Sousa, L.M., Bezerra, G.P., Romero, N.R., Arriaga, A.M. Lemos, T.L. Alves, P.B., Gomes, P.C. (2012). Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from northeast Brazil. *Natural Product Communications*, 7, 1391-1392.

Lee, Y.C., Kung, H.F., Wu, C.H., Hsu, H.M., Chen, H.C., Huang, T.C., & Tsai, Y.H. (2016). Determination of histamine in milkfish stick implicated in food-borne poisoning. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, 63-71.

Lima, R.R., Costa, A.M.R., De Souza, R.D., & Gomes-Leal, W. (2007). Inflamação em doenças neurodegenerativas. *Revista Paraense de Medicina*, 21, 29-34.

Lima, M.C.J.S., Bitencourt, M.A.O., Furtado, A.A., Oliveira-Rocha, H.A., Oliveira, R.M., Silva-Júnior, A.A., Tabosa, E.E.S., Tambourgi, D.V., Zucolotto, S.M., & Fernandes-Pedrosa, M.F. (2014). *Ipomoea asarifolia* neutralizes inflammation induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Journal of Ethnopharmacology*, 153, 890-895.

Lima, R.A., Barros, A.C.V., Almeida, K.P.C., & Pantoja, T.M.A. (2018). Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. *C&D-Revista Eletrônica FAINOR*, 11, 316-334.

- Liu, H.L., Luo, R., Chen, X.Q., Ba, Y.Y., Zheng, L., Guo, W.W., & Wu, X. (2015). Identification and simultaneous quantification of five alkaloids in *Piper longum* L. by HPLC–ESI-MSn and UFLC–ESI-MS/MS and their application to *Piper nigrum* L. *Food Chemistry*, *177*, 191-196.
- Malone, M.H., & Robichaud, R.C.A., 1962. Hippocratic screen for pure or crude drug materials. *Lloydia*, *25*, 320-331.
- Masters, K. (1991). *Spray drying handbook*. (5th ed.). New York: Longman Scientific & Technical.
- Matos, F.J.A. (2002). *Farmácias vivas*. (4th ed.). Fortaleza: Editora UFC.
- Matos, F.J.A. (2009). *Introdução à fitoquímica experimental*. (3th ed.). Fortaleza: Editora UFC.
- Michel, M.C.P., Guimarães, A.G., Paula, C.A., Rezende, S.A., Sobral, M.E.G., & Guimarães, D.A.S. (2013). Extracts from the leaves of *Campomanesia velutina* inhibits production of LPS/INF- γ induced inflammatory mediators in J774A.1 cells and exerts anti-inflammatory and antinociceptive effects *in vivo*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, *23*, 927-936.
- Moraes, J.D., Nascimento, C., Lopes, P.O., Nakano, E., Yamaguchi, L.F., Kato, M.J., & Kawano, T. (2011). *Schistosoma mansoni*: In vitro schistosomicidal activity of pipartine. *Experimental Parasitology*, *127*, 357-364.
- Nagaraja, T.N., Keenan, K.A., Fenstermacher, J.D., & Knight, R.A. (2008). Acute leakage patterns of fluorescent plasma flow markers after transient focal cerebral ischemia suggest large openings in blood-brain barrier. *Microcirculation*, *15*, 1-14.
- Navickiene, H.M.D., Alécio, A.C., Kato, M.J., Bolzani, V. S., Young, M.C.M., Cavalheiro, A.J., & Furlan, M. (2000). Antifungal amides from de *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, *55*, 621-626.
- Navickiene, H.M.D., Bolzani, V.S., Kato, M.J., Pereira, A.M., Bertoni, B.W., França, S.C., & Furlan, M. (2003). Quantitative determination of anti-fungal and insecticide amides in adult plants, plantlets and callus from *Piper tuberculatum* by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Phytochemical Analysis*, *14*, 281-284.
- Oliveira, E.D. (2000). Mecanismo de ação vasorrelaxante da pipartina, uma alcalóide isolada das raízes e do caule de *Piper tuberculatum* Jacq. (piperaceae), em aorta de rato. *Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)* - Universidade Federal da Paraíba.
- Oliveira, F.A.S., Passarini, G.M., Medeiros, D.S., Santos, A.P.A., Fialho, S.N., Gouveia, A.J., Latorre, M., Freitag, E.M., Medeiros, P.S.M., Teles, C.B.G., & Facundo, V.A. (2018). Antiplasmodial and antileishmanial activities of compounds from *Piper tuberculatum* Jacq fruits. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *51*, 382-386.
- Palacios, Z.G.F., Delgado, G.E., Moreno, M.C., & Consuelo Rojas, M.J.K. (2009). In vitro antifungal activity of crude extracts of *Piper tuberculatum*. *Revista Peruana de Biología*, *16*, 209-214.

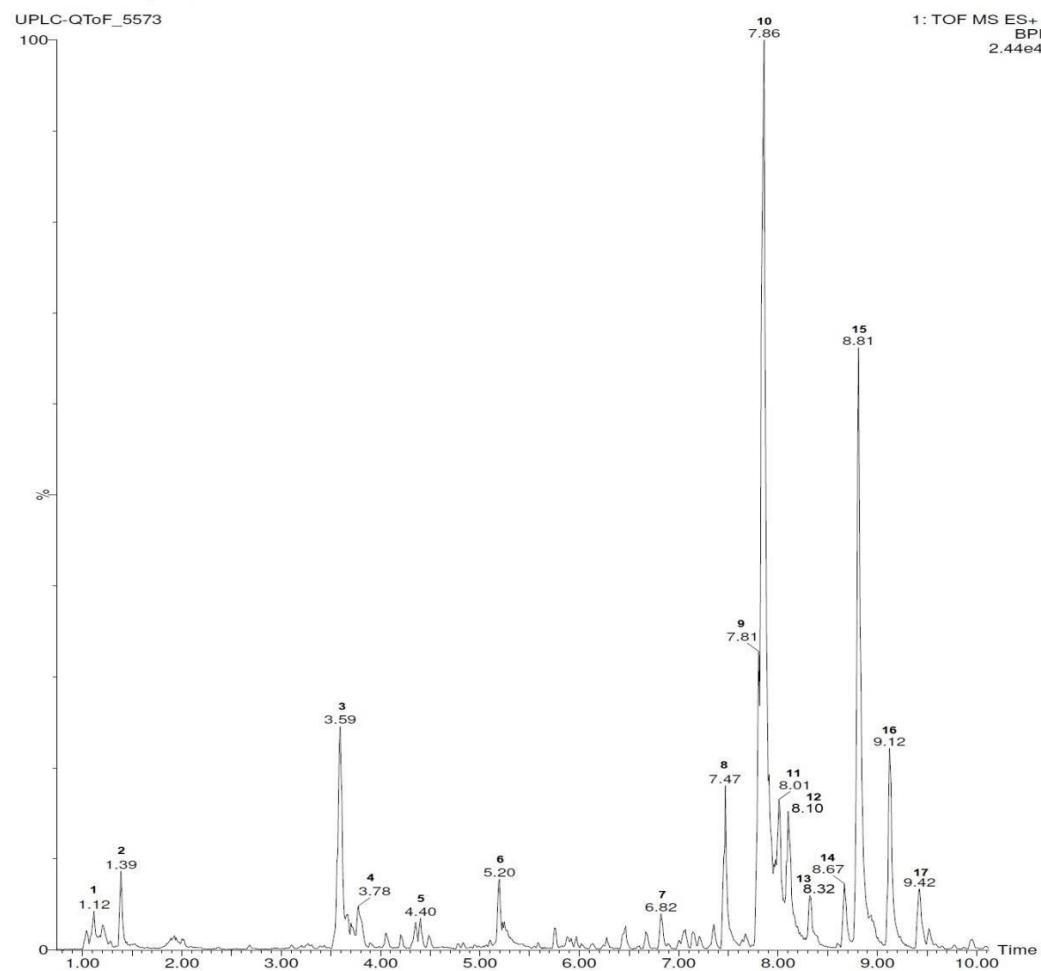
- Pandey, A.B.R., Chandra, A.B.P., Srivastva, B.C.K.R.M., Arya, B.D., Praveen, K.S., & Kumar, B. (2014). A rapid analytical method for characterization and simultaneous quantitative determination of phytoconstituents in *Piper betle* landraces using UPLC-ESI-MS/MS. *Analytical Methods*, 6, 7349-7360.
- Perazzo, F.F., Rodrigues, I.V., Maistro, E.L. Souza, S.M. Nanaykkara, N.P.D., Bastos, J.K., Carvalho, J.C.T., & De Souza, G.H.B. (2013). Anti-inflammatory and analgesic evaluation of hydroalcoholic extract and fractions from seeds of *Piper cubeba* L. (Piperaceae). *Pharmacognosy Journal*, 5, 13-16.
- Peters, C.A., Sgrott, R.A.G., Peters, R.R., Moterle, D., Madeir, F., Emer, A.A., Piovezan, A.A., & Kanis, L.A. (2015). Production of *Wilbrandia ebracteata* extract standardised in flavonoids and dihydrocurcubitacin and assessment of its topical anti-inflammatory activity. *Industrial Crops and Products*, 69, 123-128.
- Pinheiro, M.M., Fernandes, S.B., Fingolo, C.E., Boylan, F., & Fernandes, P.D. (2013). Anti-inflammatory activity of ethanol extract and fractions from *Couroupita guianensis* Aublet leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 324-330.
- Poon, D.C.H., Ho, Y.S., Chiu, K., Wong, H.L., & Chang, R.C.C. (2015). Sickness: From the focus on cytokines, prostaglandins, and complement factors to the perspectives of neurons. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 57, 30-45.
- Portet, B., Fabrea, F., Rozenberg, R., Habib-Jiwanb, J.L., Moulisa, C., & Quetin-Leclercq, J. (2008). Analysis of minor flavonoids in *Piper hostmannianum* var. *berbicense* using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1210, 45-54.
- Ramos, G.P., Apel, M.A., De Moraes, C.B., Ceolato, P.C., Schapoval, E.E.S., Dall'Agnol, M., & Zuanazzi, J.A.S. (2012). *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity of red clover *Trifolium pratense* extract. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22, 176-180.
- Rang, H.P., Dale, M.M., & Ritter J.M. (2007). *Farmacologia*. (6th ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Kogman.
- Regasini, L.O., Cotinguiba, F., Passerini, G.D., Bolzani, V.S., Cicarelli, R.M.B., Kato, M.J., & Furlan, M. (2009). Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19, 199-203.
- Rodrigues, R.V., Lanznaster, D., Longhi Balbinot, D.T., Gadotti, V.M., Facundo, V.A., & Santos, A.R. (2009). Antinociceptive effect of crude extract, fractions and three alkaloids obtained from fruits of *Piper tuberculatum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32, 1809-1812.
- Sales, V.S., Nascimento, E.P., Monteiro, Á.B., Costa, M.H.N., Delmondes, G.A., Soares, T.R.C., Tintino, S.R., Felipe, C.F.B., Menezes, I.R.A., & Kerntopf, M.R. (2017). Modulação *in vitro* da atividade antibiótica pelo óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22, 1-10.

- Samain, M.S., Vridaghs, A., Hesse, M., Goetghebeur, P., Rodríguez, F.J., Stoll, A., Neinhuis, C., & Wanke, S. (2010). *Verhuellia* is a segregate lineage in Piperaceae: more evidence from flower, fruit and pollen morphology, anatomy and development. *Annals of Botany*, *105*, 677-688.
- Scott, I.M., Jensen, H., Nicol, R., Lesage, L., Bradbury, R., Sánchez-Vindas, P., Poveda, L., Arnason, J.T., & Philogéne, B.J. (2004). Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. *Journal of Economic Entomology*, *97*, 1390-1403.
- Silva, M.D., Guginski, G., Werner, M.F., Baggio, C.H., Marcon, R., & Santos, A.R.S. (2011). Involvement of Interleukin-10 in the anti-inflammatory effect of Sanyinjiao (SP6) acupuncture in a mouse modelo of peritonitis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2011*, 1-9.
- Silva, K.A.B.S., Manjavachi, M.N., Paszcuk, A.F., Pivatto, M., Viegas, C.Jr., Bolzani, V.S., & Calixto, J.B. (2012). Plant derived alkaloid (-)-cassine induces anti-inflammatory and anti-hyperalgesics effects in both acute and chronic inflammatory and neuropathic pain models. *Neuropharmacology*, *62*, 967-977.
- Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., & Petrovick, P.R. (2017). *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. (7th ed.). Porto Alegre: Artmed, pp. 486.
- Singh, P., Singh, I., Sudhan, Z.A., & Yadav, P. (2015). Bioflavonoids and natural health: an overview. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, *14*, 84-87.
- Sobolewski, C., Legrand, N., & Diederich, M.F. (2010). Inflammation: Novel arrows for an ancient target. *Biochemical Pharmacology*, *80*, 1769-1770.
- Sun, C., Saifeng, P., Yuanjiang, P., & Zhiquan, S. (2007). Rapid structural determination of amides in *Piper longum* by high-performance liquid chromatography combined with ion trap mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *21*, 1497-1503.
- Vaghasiya, Y., Nair, R., & Chanda, S. (2007). Investigation of Some Piper Species for Anti-Bacterial and Anti-Inflammatory Property. *International Journal of Pharmacology*, *3*, 400-405.
- Wang, D., Zhu, J., Wang, S., Wang, X., Ou, Y., Wei, D., & Li, X. (2011). Antitussive, expectorante and anti-inflammatory alkaloids from Bulbus Fritillariae Cirrhosae. *Fitoterapia*, *82*, 1290-1294.
- Wang, Y.-H., Morris-Natschke, S.-L., Yang, J., Niu, H.-M., Long, C.-L., & Lee, K.-H. (2014). Anticancer principles from medicinal piper (hú jiāo) plants. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, *4*, 8-16.
- Wilson, R.H., Booth, A.N., & DeEds, F. (1951). Protection by flavonoids against histamine shock. *Experimental Biology and Medicine*, *76*, 540-542.

Wise, L.E., Cannavaciulo, R., Cravatt, B.F., Martin, B.F., & Litchman, A.H. (2008). Evaluation of fatty amides in the carrageenan-induced paw edema model. *Neuropharmacology*, 54, 181.

Zakaria, Z.A., Patahuddin, H., Mohamad, A.S., Israf, D.A., Sulaiman, M.R., 2010. *In vivo* anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the leaves of *Piper sarmentosum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 128, 42-48.

Figura 1. Cromatograma de espectrometria de massa de alta definição (UPLC-ESI-QTOF-MS/MS) do decocto dos frutos de *Piper tuberculatum* no modo iônico positivo.



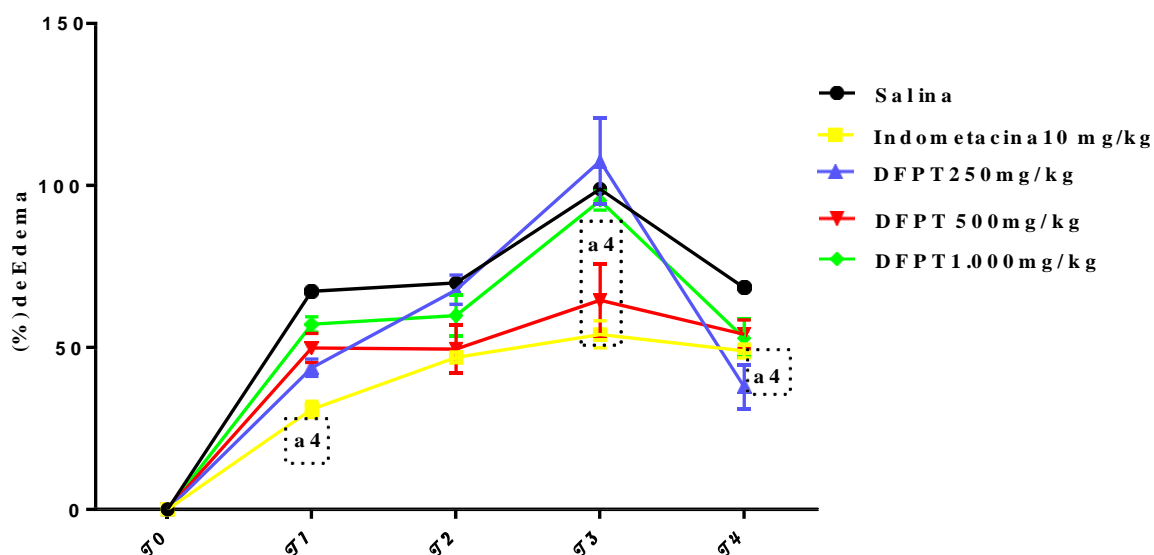


Figura 2. Efeito do DFPT sobre o edema de pata induzido por Carragenina 1%. Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de *Tukey*. ^{a4} $p < 0,0001$ vs Salina.

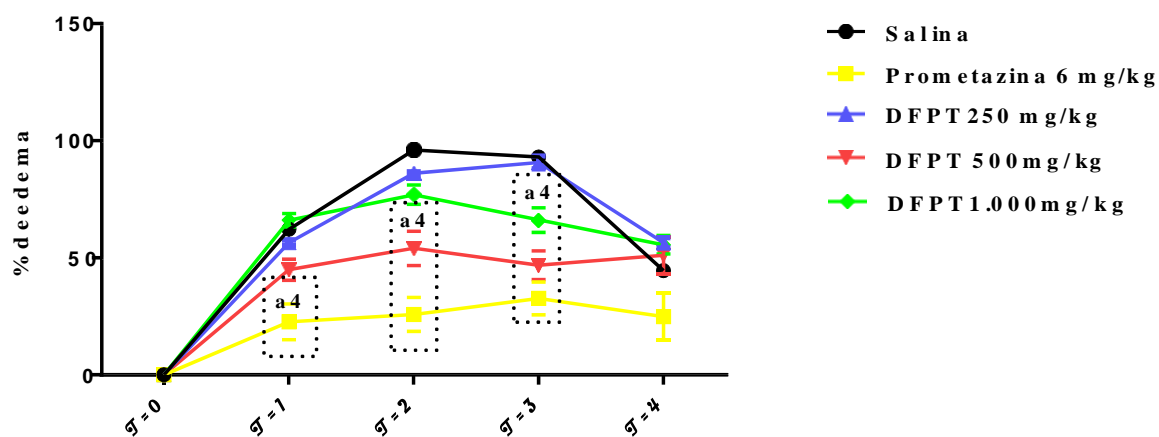


Figura 3. Efeito do DFPT sobre o edema de pata induzido por Dextrana 1%. Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de *Tukey*. ^{a4} $p < 0,0001$ vs Salina.

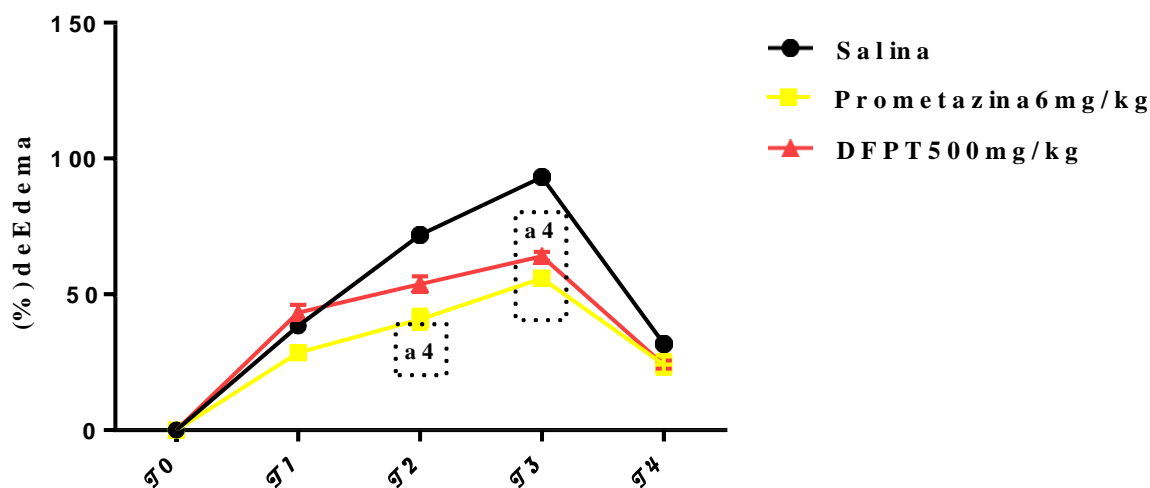


Figura 4. Efeito do DFPT sobre o edema de pata induzido por Histamina 1%. Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de *Tukey*. ^{a4} $p < 0,0001$ vs Salina.

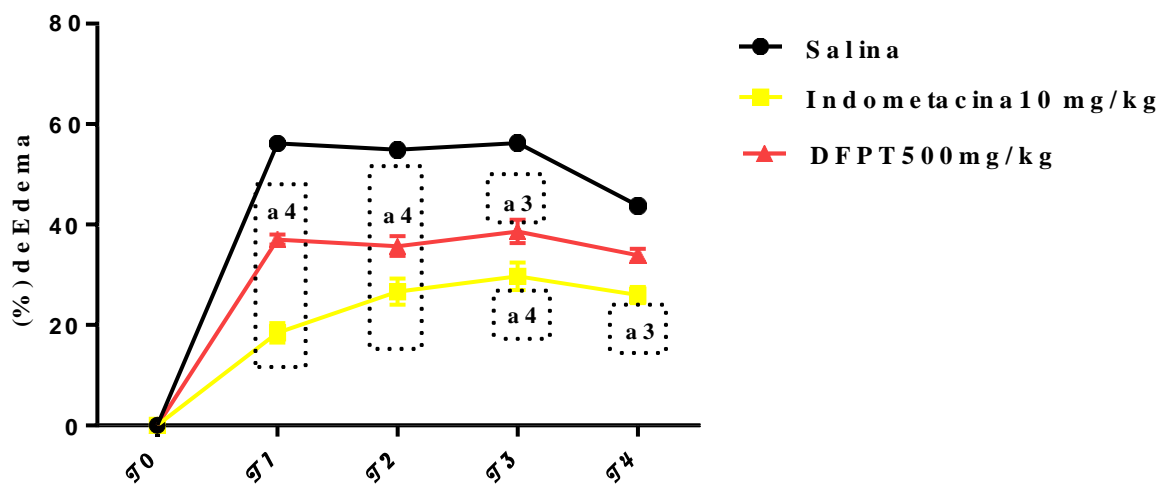


Figura 5. Efeito do DFPT sobre o edema de pata induzido por Histamina 1%. Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). Two-way ANOVA seguida do teste de *Tukey*. ^{a4} $p < 0,0001$; ^{a3} $p < 0,001$ vs Salina.

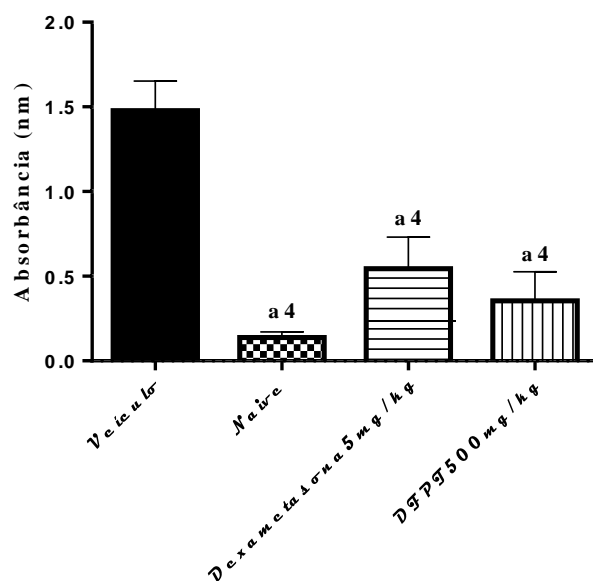


Figura 6. Efeito do DFPT sobre a permeabilidade vascular. Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4} $p < 0,0001$ vs Salina.

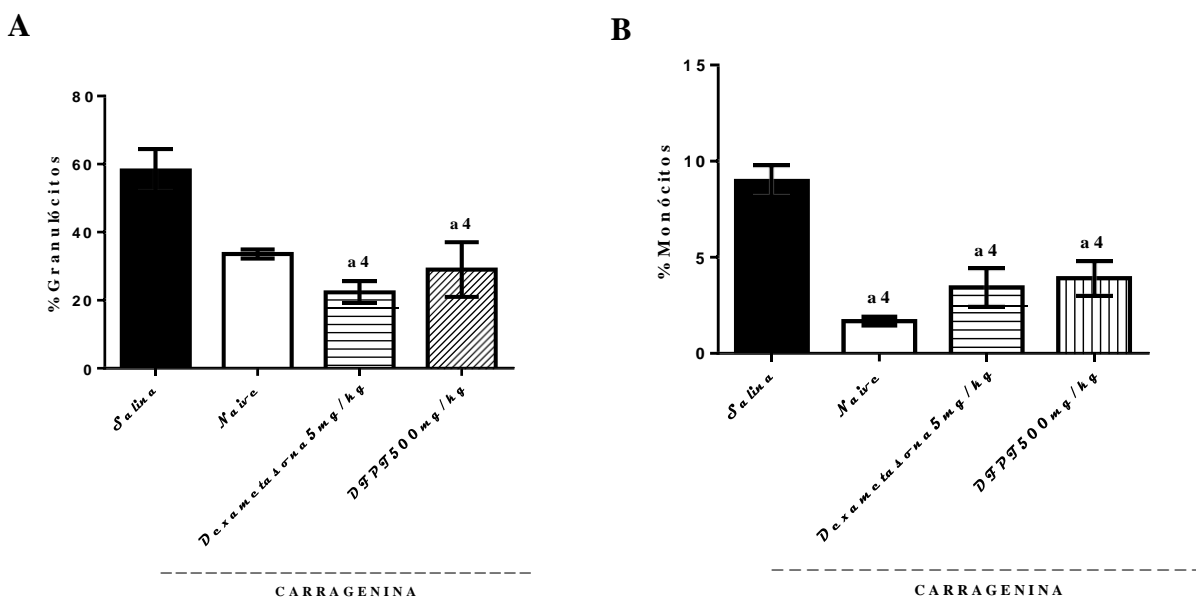


Figura 7. Efeito do DFPT sobre o percentual de leucócitos. Os valores representam a média aritmética \pm E.P.M. (Erro Padrão da Média). (A) Percentual de Linfócitos. (B) Percentual de monócitos. One-way ANOVA seguida do teste de Tukey. ^{a4} $p < 0,0001$ vs Salina.

Tabela 1. Prospecção fitoquímica do decocto dos frutos de *Piper tuberculatum* (DFPT).

| Grupos de metabólitos secundários | DFPT |
|--|-------------|
| Fenóis | – |
| Taninos pirogálicos | – |
| Taninos condensados | – |
| Antocianinas | – |
| Antocianidinas | – |
| Flavonas | + |
| Flavonóis | – |
| Xantonas | + |
| Chalconas | + |
| Auronas | + |
| Flavononóis | + |
| Leucoantocianidinas | + |
| Catequinas | + |
| Flavononas | + |
| Flavonoides | + |
| Alcaloides | + |

DFPT = Decocto dos frutos de *Piper tuberculatum*; + Presente; – Ausente.

Tabela 2. UPLC–ESI-QTOF-MSE identificação dos componentes do decocto dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq.

| Nº do Pico | Rt Min | [M-H] ⁻ Observado | [M-H] ⁻ Calculado | Produtos Íons (MS/MS) | Fórmula Empírica | Ppm (erro) | Nome Putativo | Referências |
|------------|--------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---|------------|---|------------------------------|
| 1 | 1.12 | 381.0743 | 381.0763 | 381.0752, 365.1010, 171.0191 | C ₂₄ H ₁₃ O ₅ | -5.2 | Não identificado | - |
| 2 | 1.39 | 298.1259 | 298.1264 | 316.1369, 298.1258, 137.0592 | C ₁₇ H ₁₄ O ₅ | -1.7 | Éter dimetílico da Apigenina | Estrada-Reyesa et al. (2019) |
| 3 | 3.59 | 311.0572 | 311.0556 | 296.6226, 283.8304, 192.0806 | C ₁₇ H ₁₁ O ₆ | 5.1 | 8-Formil-7-metoxi-6-metilflavanona | Portet et al. (2008) |
| 4 | 3.78 | 329.0633 | 329.0621 | 161.1448, 135.1267 | C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₉ | 3.6 | Amidas Tipo B | Sun et al. (2007) |
| 5 | 4.40 | 341.1104 | 341.1084 | 309.0438, 283.0993, 271.0742 | C ₁₂ H ₂₁ O ₁₁ | 5.9 | 2',6'-Di-hidroxi-4'-metoxi-3'-prenildihidrochalcona | Portet et al. (2008) |
| 6 | 5.20 | 181.0849 | 181.0865 | 201.0538, 181.0840, 148.0534 | C ₁₀ H ₁₃ O ₃ | -8.8 | Não identificado | - |
| 7 | 6.82 | 223.0873 | 223.0871 | 195.2270, 191.0627, 163.0422 | C ₁₅ H ₂₆ O | 0.9 | Nerolidol | Pandey et al. (2014) |
| 8 | 7.47 | 135.0468 | 135.0446 | 120.0138, 107.0572, 57.0745 | C ₉ H ₁₀ O | 16.3 | Chavicol | Pandey et al. (2014) |
| 9 | 7.81 | 288.1613 | 288.1600 | 161.0622, 135.0454 | C ₁₇ H ₂₂ NO ₃ | 4.5 | Piperanina | Liu et al. (2015) |
| 10 | 7.86 | 286.1446 | 286.1446 | 201.0529, 171.0435, 135.0423 | C ₁₇ H ₁₉ NO ₃ | 1.0 | Piperina | Chithra et al. (2014) |
| 11 | 8.01 | 283.0306 | 283.0301 | 268.1666, 255.8973, 241.9310 | C ₈ H ₁₁ O ₁₁ | 1.8 | 6,8-Dimetilpinoembrina | Portet et al. (2008) |
| 12 | 8.10 | 283.1053 | 283.1029 | 268.1666, 241.9310, 136.0456 | C ₁₀ H ₁₉ O ₉ | 8.5 | 2',4'-di-hidroxi-3'-metilchalcona | Portet et al. (2008) |
| 13 | 8.32 | 302.1700 | 302.1689 | 345.1555, 302.1727, 135.0439 | C ₉ H ₂₀ N ₉ O ₃ | 3.6 | Não identificado | - |
| 14 | 8.67 | 301.0917 | 301.0923 | 283.0776, 255.5943, 167.7668 | C ₁₇ H ₁₄ O ₅ | -2.0 | 8-hidroxi-5,7-dimetoxiflavanona | Pandey et al. (2014) |

| | | | | | | | | |
|-----------|------|----------|----------|-----------------------------|----------------------|-------|---------------|----------------------|
| 15 | 8.81 | 314.1755 | 314.175 | 161.0602, 135.0496 | $C_{19}H_{23}NO_3$ | -0.3 | Piperdardina | Li et al. (2014) |
| 16 | 9.12 | 317.1852 | 317.1865 | 112.0792, 86.0995 | $C_{18}H_{25}N_2O_3$ | -4.1 | Amidas Tipo D | Sun et al. (2007) |
| 17 | 9.42 | 224.1982 | 224.2014 | 203.0352, 133.0974, 81.0371 | $C_{14}H_{25}NO$ | -14.3 | Pellitorina | Liu et al. (2015) |

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CAPÍTULO 4: CONSIDERAÇÕES FINAIS

O gênero *Piper* é considerado o mais representativo da família Piperaceae, sendo descrito na literatura sua utilização medicinal para o tratamento de diversas enfermidades, cujo destaque neste trabalho é a sua ação anti-inflamatória.

A revisão sistemática realizada neste estudo comprovou que o gênero *Piper* abrange espécies com atividades bioativas com grande potencial para o tratamento de sintomas da inflamação e doenças consideradas inflamatórias.

Dentre as várias espécies do gênero, abordamos em nosso estudo a espécie *Piper tuberculatum* conhecida popularmente como pimenta-de-macaco que agrega valor econômico e medicinal. Na medicina tradicional a mesma é utilizada como analgésica, sedativa, antiofídica e para o tratamento de problemas estomacais. Entretanto, não havia estudos que relatassem o uso da espécie para inflamação, nos levando assim para a investigação do seu potencial biológico nesta área.

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram que o decocto dos frutos da espécie apresentou efeito anti-inflamatório frente a vários agentes flogísticos reduzindo o edema na inflamação. Ressalta-se também que este estudo é o primeiro a relatar a análise dos frutos da *Piper tuberculatum* por cromatografia líquida de ultra-performance (UPLC-ESI-QTOF-MS/MS).

Em relação a custos financeiros este estudo foi custeado pela Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) por meio do Programa de Bolsa de Formação Acadêmica. Despesas com material de consumo, reagentes e drogas para realização dos ensaios farmacológicos foram financiadas de forma parcial pelo Programa de Bolsa de Produtividade em Pesquisa e Estímulo à Interiorização (BPI/ FUNCAP), coordenado pela Prof. Dra. Marta Regina Kerntopf, e aprovado com nº de processo: BP2-0107-000570100/15.

ANEXOS

Vol. 14(2), pp. 62-72, February, 2020
 DOI: 10.5897/JMPR2019.6855
 Article Number: 77F7BAD62839
 ISSN 1996-0875
 Copyright © 2020
 Author(s) retain the copyright of this article
<http://www.academicjournals.org/JMPR>



Journal of Medicinal Plants Research

Full Length Research Paper

Systematic review: Medicinal use and scientific elucidation of the *Piper* genus for the treatment of symptoms and inflammatory diseases

Cícera Norma Fernandes Lima^{1*}, Luciene Ferreira de Lima¹, Denise Bezerra Correia¹, Sara Tavares de Sousa Machado¹, Jéssica Pereira de Sousa¹, Enaide Soares Santos¹, Gyllyandeson de Araújo Delmondes¹, Irwin Rose Alencar de Menezes¹, Cícero Francisco Bezerra Felipe², Henrique Douglas Melo Coutinho¹ and Marta Regina Kerntopf¹

¹Departamento de Química Biológica (DQB), Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato, CE, Brazil.

²Departamento de Biologia Molecular (DBM), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brazil.

Received 30 September, 2019; Accepted 21 November, 2019

The aim of this study was to conduct a systematic review that reported the medicinal use of the genus *Piper*, and pharmacological elucidations for the treatment of symptoms and processes of inflammation and inflammatory diseases. The systematic review was prepared in accordance with PRISMA guidelines. The databases used for this research were the Web of Science and Scopus, where associations with the terms were applied in both databases: "*Piper*" and "*Ethnobotanical*" and "*Piper*" and "*Anti-inflammatory effect*". Initially, the research identified 153 articles, of which 24 articles were selected for final analysis following the inclusion criteria. The results indicate that the medicinal use of species of the *Piper* genus entails mainly using of leaves, roots, and fruits, and decoct, maceration and powder for the treatment of inflammatory and respiratory diseases such as asthma and bronchitis. Regarding the evaluation of the anti-inflammatory effect of the genus, only seven species presented studies with their scientifically proven anti-inflammatory effect. Biases in the methodology applied in the studies were observed. In this systematic review, it was noticed that both studies addressed have gaps that can cause damage to future research and that pharmacological studies for inflammation with the use of the species themselves are still limited, with a more job for the isolated compounds of these plants.

Key words: *Piper*, medicinal, ethnobotanic, anti-inflammatory effect.

INTRODUCTION

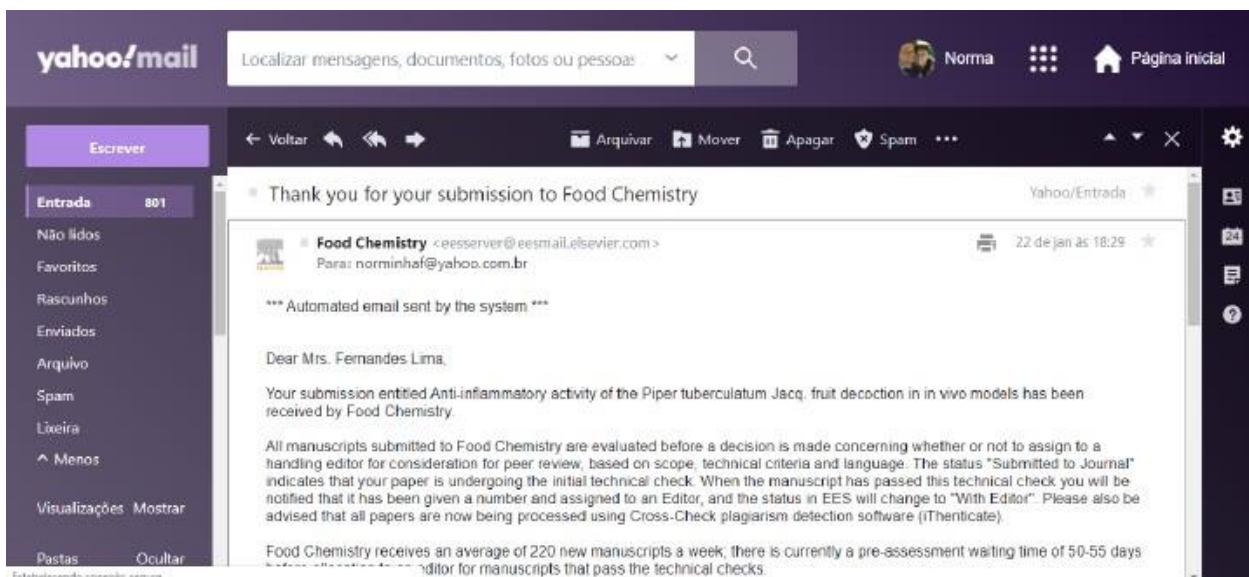
Piper genus is the most representative of Piperaceae family, composed of about 1,000 species (Durant-Archibald et al., 2018), and has wide distribution on temperate regions from both hemispheres (tropical and

sub-tropical). It is used for cooking, and has aromatic, ornamental and medicinal purposes (Reigada et al., 2007; Santos et al., 2012). In Brazil, it can be found from North to South, where 292 species occur, of which 44 are

*Corresponding author. E-mail: norminhaf@yahoo.com.br.

Author(s) agree that this article remain permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

ANEXO 2 – Comprovante de submissão do manuscrito no periódico *Food Chemistry*.



*** Automated email sent by the system ***

Dear Mrs. Fernandes Lima,

Your submission entitled Anti-inflammatory activity of the Piper tuberculatum Jacq. fruit decoction in in vivo models has been received by Food Chemistry.

All manuscripts submitted to Food Chemistry are evaluated before a decision is made concerning whether or not to assign to a handling editor for consideration for peer review, based on scope, technical criteria and language. The status "Submitted to Journal" indicates that your paper is undergoing the initial technical check. When the manuscript has passed this technical check you will be notified that it has been given a number and assigned to an Editor, and the status in EES will change to "With Editor". Please also be advised that all papers are now being processed using Cross-Check plagiarism detection software (iThenticate).

Food Chemistry receives an average of 220 new manuscripts a week; there is currently a pre-assessment waiting time of 50-55 days before allocation to an editor for manuscripts that pass the technical checks.

For a more detailed description of the editorial process, please see Paper Lifecycle from Submission to Publication: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/180/p/8045/

How can I track the progress of my submission?

You can track the status of your submission at any time at <http://ees.elsevier.com/FOODCHEM>

Once there, simply:

1. Enter your username: Your username is: norminhaf@yahoo.com.br

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/FOODCHEM/automail_query.asp

2. Click on [Author Login]. This will take you to the Author Main Menu

3. Click on [Submissions Being Processed]

Many thanks again for your interest in Food Chemistry.

Kind regards,

ANEXO 3 – Parecer com autorização da pesquisa pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO).



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

| | | |
|--|-----------------------------------|------------------------------------|
| Número: 54852-1 | Data da Emissão: 12/07/2016 10:39 | Data para Revalidação*: 11/08/2017 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. | | |

Dados do titular

| | |
|---|--------------------------|
| Nome: Cioera Norma Fernandes Lima | CPF: 013.415.363-43 |
| Título do Projeto: Estudo etnorigido do uso popular do gênero Piper para o tratamento de inflamação com a avaliação da atividade anti-inflamatória dos frutos da espécie Piper tuberculatum Jacq. (pimenta-de-macaco) em roedores | |
| Nome da Instituição : Universidade Regional do Cariri | CNPJ: 06.740.864/0001-26 |

Cronograma de atividades

| # | Descrição da atividade | Início (mês/ano) | Fim (mês/ano) |
|---|--------------------------------------|------------------|---------------|
| 1 | Coletar frutos de Piper tuberculatum | 08/2016 | 02/2017 |

Observações e ressalvas

| | |
|---|---|
| 1 | As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia. |
| 2 | Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso. |
| 3 | Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio n° 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior. |
| 4 | A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.Ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). |
| 5 | O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ. |
| 6 | O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor. |
| 7 | Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/ogen. |
| 8 | Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade. |

Outras ressalvas

| | |
|---|---|
| 1 | Portar a autorização nas atividades de coleta e transporte do material biológico. Comunicar à APÁ Chapada do Araripe o início das atividades de coleta. A coleta em propriedades privadas necessita de autorização dos proprietários. |
|---|---|

Locais onde as atividades de campo serão executadas

| # | Município | UF | Descrição do local | Tipo |
|---|-----------|----|---|------------|
| 1 | | CE | ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL CHAPADA DO ARARIPE | UC Federal |

Atividades X Táxons

| # | Atividade | Táxons |
|---|---|--------------------|
| 1 | Coleta/transporte de material botânico, fungico ou microbiológico | Piper tuberculatum |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa n° 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 53857415



Página 1/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

| | | |
|--|--|---|
| Número: 54852-1 | Data da Emissão: 12/07/2016 10:39 | Data para Revalidação*: 11/08/2017 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. | | |

Dados do titular

| | |
|---|--------------------------|
| Nome: Cicera Norma Fernandes Lima | CPF: 013.415.363-43 |
| Título do Projeto: Estudo etnodirigido do uso popular do gênero Piper para o tratamento de inflamação com a avaliação da atividade anti-inflamatória dos frutos da espécie Piper tuberculatum Jacq. (pimenta-de-macaco) em roedores | |
| Nome da Instituição : Universidade Regional do Cariri | CNPJ: 06.740.864/0001-26 |

Material e métodos

| | | |
|---|------------------------------------|-------------------|
| 1 | Amostras biológicas (Plantas) | Frutos/estróbilos |
| 2 | Método de captura/coleta (Plantas) | Coleta manual |

Destino do material biológico coletado

| # | Nome local destino | Tipo Destino |
|---|---------------------------------|--------------|
| 1 | Universidade Regional do Cariri | |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 53857415



Página 2/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

| | | |
|--|--|---|
| Número: 54852-1 | Data da Emissão: 12/07/2016 10:39 | Data para Revalidação*: 11/08/2017 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. | | |

Dados do titular

| | |
|---|--------------------------|
| Nome: Cicera Norma Fernandes Lima | CPF: 013.415.363-43 |
| Título do Projeto: Estudo etnorientado do uso popular do gênero Piper para o tratamento de inflamação com a avaliação da atividade anti-inflamatória dos frutos da espécie Piper tuberculatum Jacq. (pimenta-de-macaco) em roedores | |
| Nome da Instituição : Universidade Regional do Cariri | CNPJ: 06.740.864/0001-26 |

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 53857415



Página 4/4

ANEXO 4 – Parecer da Comissão de Experimentação e Uso de Animais (CEUA-URCA).

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS
Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
propg@urca.br - www.urca.br/ceua

**DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado “ESTUDO ETNODIRIGIDO DO USO POPULAR DO GÊNERO *Piper* PARA O TRATAMENTO DE INFLAMAÇÃO COM A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DOS FRUTOS DA ESPÉCIE *Piper tuberculatum* JACQ. (PIMENTA-DE-MACACO) EM ROEDORES”, Processo Nº 00165/2017.1, foi **APROVADO** pela Comissão de experimentação e Uso de Animais – CEUA/URCA.

Roseli Barbosa
Presidente do CEUA/URCA

CRATO-CE
2017

ANEXO 5 – Número de Herbário da exsicata depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL/URCA).



Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

Número de Herbário

Remetente:

Nº 17.2017

HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA)

Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br)

Universidade Regional do Cariri - URCA

Departamento de Ciências Biológicas

Rua: Cel. Antonio Luiz, 1161

Campus Pimenta

Crato – Ceará - Brasil

CEP: 63.105-100

Destinatário:

Data: 04.08.2017

Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais - LFPN


Contato: Cícera Norma Fernandes Lima

Universidade Regional do Cariri

Nº Amostras: 01

Tipo de Operação: Número de Herbário

| | | | | | |
|----|--------|-------------------|------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 01 | 12.926 | Pimenta-de-macaco | Piperaceae | <i>Piper cf. tuberculatum</i> Jacq. | Karina Vieiralves Linhares |
|----|--------|-------------------|------------|-------------------------------------|----------------------------|


Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Curadora do HCDAL

ANEXO 6 – Parecer com autorização da pesquisa pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) do Ministério do Meio Ambiente.



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
Cadastro nº A40F0EC

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **A40F0EC**
 Usuário: **Cícera Norma Fernandes Lima**
 CPF/CNPJ: **013.415.363-43**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Piper tuberculatum

Título da Atividade: **ESTUDO ETNODIRIGIDO DO USO POPULAR DO GÊNERO PIPER PARA O TRATAMENTO DE INFLAMAÇÃO COM A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DOS FRUTOS DA ESPÉCIE Piper tuberculatum Jacq. (PIMENTADE- MACACO) EM ROEDORES**

Equipe

Cícera Norma Fernandes Lima **URCA**

Parceiras Nacionais

06.740.864/0001-26 / Universidade Regional do Cariri

Resultados Obtidos

Divulgação de resultados em meios científicos ou de comunicação

Identificação do meio onde foi divulgado: **Periódico Científico**

Data do Cadastro: **11/06/2018 11:30:28**

Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **18:25 de 08/06/2019**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**