

Investigação da Atividade Farmacológica de Espécies de *Piper* que Ocorrem no Cerrado

Research of the Pharmacological Activity of Species of *Piper* that Occur in the Cerrado Biome

¹Mami Yano; ¹Karla R. A. Porto; ¹Antonia R. Roel; ²Jozi G. Figueiredo; ³Eric S. Rondon; ⁴Jislaine de Fátima Guilhermino e ^{4*}Ana Tereza G. Guerrero

¹Universidade Católica dom Bosco (UCDB), Avenida Tamandaré, 6.000 - Jardim Seminário. Campo Grande, MS CEP: 79117-900

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), Avenida Bandeirantes, 3900 - Cidade Universitária. Ribeirão Preto-SP

³Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Avenida Senador Filinto Muller 1480, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, CEP: 79070-900.

^{4*}Fundação Oswaldo Cruz, Unidade Mato Grosso do Sul, Avenida Senador Filinto Muller, 1480. Campo Grande, Mato Grosso do Sul, CEP: 79070-900

*Correspondência: email: anaguerrero@fiocruz.br

Palavras chave:

hipernocicepção; inflamação; analgésicos; anti-inflamatório; *Piper*; plantas do cerrado.

Keywords:

hypernociception; inflammation; analgesic; anti-inflammatory; *Piper*; Cerrado Plants.

Resumo

As espécies de *Piper* há muitos anos vem sendo estudadas por suas utilidades descobertas pelos nativos das regiões onde se encontra, sendo que pesquisas sobre essas espécies estão se intensificando pela necessidade de encontrar novos princípios ativos para o controle e tratamento de diversas patologias. Neste sentido, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade analgésica, anti-inflamatória e de prospecção fitoquímica dos extratos brutos etanólicos de folhas de espécies de *Piper*. Os extratos foram preparados pelo método de maceração estática em etanol, filtrados e secos por rotaevaporação, obtendo-se os extratos brutos etanólicos de folhas de *Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* (EBEF1), *Piper hemmendorffii* C. DC (EBEF2) e *Piper hispidum* Sw (EBEF3). Os estudos farmacológicos demonstraram que o EBEF1 apresentou redução da resposta hipernociceptiva evidenciada em dois modelos, no teste de formalina e no teste de pressão crescente na pata, porém neste último, tal redução foi evidenciada somente quando foi administrada uma dose de reforço do extrato. Para avaliar a atividade anti-inflamatória foi utilizado o método da mieloperoxidase. Os resultados demonstram a efetividade do EBEF1 em reduzir a migração neutrofílica para o tecido plantar. Já a análise fitoquímica, que nos dá uma relação qualitativa de compostos como fenóis, taninos, antocianidinas, antocianinas, flavonóides, leucociantocianinas, catequinas, flavononas, xantonas e outros. No EBF1, observou-se o aparecimento da cor amarela indicando presença de flavononas, flavonóis e xantonas nas três espécies devido a intensificação da cor pardo-amarelado, indicando a presença de catequinas, assim como, o EBEF1 apresentou maior potência em sua ação anti-inflamatória quando comparado a atividade analgésica.





Abstract

The *Piper* species for many years have been investigated for their utility discovered by the natives of the regions where they occur naturally, and research from these species are intensifying by the need to find new active ingredients for controlling the progression of many diseases. The extracts were prepared by static maceration in ethanol, filtered and dried, obtaining the ethanol crude extracts of leaves of *Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* (EBEF1), *Piper hemmendorfii* C.DC (EBEF2) and *Piper hispidum* Sw (EBEF3). The objective of this study was to evaluate the analgesic, anti-inflammatory and phytochemical prospecting of crude ethanolic extracts of leaves from *Piper* species. Pharmacological studies showed decreased of hypernociceptive response to EBEF1 evidenced in two models, the formalin test and the test of increasing pressure on the paw, but in the latter, such a reduction was evident only when it was administered a booster dose of the extract. To evaluate the anti-inflammatory activity, we used the method of myeloperoxidase. The results demonstrate the effectiveness of EBEF1 to reduce neutrophil migration into the paw tissue. The analysis phytochemical that gives us a qualitative compounds such as phenols, tannins, anthocyanidins, anthocyanins, flavonoids, leucocianocianinas, catechins, flavanones, and other xanthones. In EBF1, there was the appearance of yellow color indicating the presence of flavanones, flavonols and xanthones in the three species due to intensification of yellowish-brown color, indicating the presence of catechins, as well as the EBEF1 is more potent in its anti-inflammatory when compared to analgesic activity.

Introdução

Dados da literatura demonstram que a população faz uso de plantas medicinais regularmente para o tratamento de processos dolorosos. De acordo os com dados da OMS, cerca de 65 a 80% da população mundial, não tem acesso ao atendimento primário de saúde e recorre à medicina tradicional, especialmente ao uso de plantas medicinais, na procura do alívio para muitas doenças. A própria OMS não só reconhece como também estimula o uso das plantas medicinais, embora recomende cuidados especiais com esta prática (Simões e Schenkel, 2002).

Atualmente, tem crescido o investimento da indústria farmacêutica em estudos que avaliam a atividade farmacológica de plantas medicinais. Portanto, no Brasil, apesar de sua ampla biodiversidade poucas espécies têm sido investigadas cientificamente para comprovar sua segurança terapêutica, eficácia e benefícios (Calixto, 2003). Além disso, é importante salientar que por razões culturais, a população brasileira frequentemente recorre ao uso de plantas medicinais para o alívio ou mesmo tratamento de enfermidades.

As espécies do gênero *Piper* são um exemplo que é utilizada na medicina popular especialmente pela população da Mata Atlântica brasileira, estendendo-se do Nordeste ao Sul do Brasil e também, abrangendo a Argentina e o Paraguai (Di Stasi e Hiruma-Lima, 2002). Estas espécies tem sido extensivamente investigada como uma fonte de novos produtos na-

turais com potencial, como a atividade antitumoral, antimicrobiana, antifúngica e inseticida (Danelutte et al., 2003; Lago et al., 2004; Sunila e Kuttan, 2004; Guerrini et al., 2009).

São descritas várias utilidades das folhas de diferentes espécies de *Piper*, como *Piper carpunya*, são amplamente utilizadas na medicina popular em países tropicais e subtropicais da América do Sul como remédio para tratamento de processos inflamatório, úlceras, diarreias, doenças parasitárias e para irritações de pele (Quilez et al., 2010), as folhas de *P. ovatum* são conhecidas na medicina popular como “joão burandi” ou “anestésica” para tratar de doença inflamatória (Rodrigues Silva et al., 2008) e de *P. sarmentosum* que é uma planta medicinal tradicionalmente utilizada pelos malaios para tratar dores de cabeça, dores de dente, tosse, asma e febre (Zakaria et al., 2010).

A planta é comumente utilizada na medicina popular brasileira para o tratamento de inflamações, picadas de cobra, doenças do ducto biliar e fígado (Van Der Berg, 1982; Maxwell e Rampersad, 1988; D'angelo et al., 1997).

Estudos avançados e intensivos dessas espécies ajudaram a isolar e identificar princípios ativos para o desenvolvimento de medicamentos éticos. Dentre as substâncias isoladas e com atividade determinada pode-se citar, por exemplo, a vitexina, isovitexina e ramnopiranosilvitexina, flavonóides que possuem ação antioxidante e atividade antiradical livre obtidas a par-





tir de *P. carpunya*. Também foram isoladas sitosterol, estigmasterol e fitol, com atividade gastroprotetora e a diidrochalcona como asebogenina, com atividade antibacteriana (Quilez et al., 2010).

De maneira complementar, foram isoladas do extrato hidroalcoólico e frações de *P. ovatum*, uma mistura de amidas piperovatina e piperlonguminina as quais apresentaram atividade anti-inflamatória, evidenciada no modelo de pleurisia induzida por carragenina em ratos e edema induzida com óleo de croton em camundongos (Rodrigues Silva et al., 2008).

A preocupação global no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o tratamento de diversas patologias impacta na necessidade de identificação de novos fármacos. Atualmente, tem sido crescente a preocupação da área médica em estratégias para o alívio e tratamento da dor, pois cerca de 30% da população brasileira é acometida por tal sintoma (Bergamo, 2011). O uso de plantas medicinais está sendo seriamente considerada como uma abordagem alternativa e complementar para o tratamento de doenças que necessitam de tratamento crônico (Singh et al., 2009).

Portanto, o estudo de compostos naturais ou sintéticos, com possíveis efeitos analgésicos em patologias que apresentam respostas dolorosas é de considerável importância em saúde pública. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade analgésica, anti-inflamatória e de prospecção fitoquímica dos extratos brutos etanólicos de folhas das espécies de *Piper*.

Material e Métodos

Material botânico. Foram utilizadas folhas coletadas no município de Campo Grande/MS no mês de outubro de 2010. Após a coleta, foram feitas as exsiccatas e depositadas no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro para as identificações e registros: *Piper arboreum* Aubl. var *arboreum* (RB 512651), *Piper hemmendorffii* C.DC. (RB 512652) e *Piper hispidum* Sw (RB 512653).

Preparação dos extratos. Os extratos foram preparados no Laboratório da Biosaúde A-101, da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB). As folhas foram secas em estufa de circulação de ar a uma temperatura constante de 40°C. Em seguida, foram triturados em moinho de facas e colocados separadamente em maceração estática em etanol. Prosseguiu-se com a

filtração, concentrando em evaporador rotativo, resultando nos extratos brutos etanólicos de folhas de *P. arboreum* (EBEF1), *P. hemmendorffii* (EBEF2) e *P. hispidum* (EBEF3).

Estudo da atividade farmacológica dos extratos. Para a investigação da atividade farmacológica dos extratos foram utilizados camundongos machos Swiss adultos (pesando aproximadamente 25 a 30g), mantidos em condições controladas de luminosidade (12 horas de luz/12 horas de escuro) e temperatura (média de 23°C) recebendo água e ração comercial à vontade. O protocolo para uso de animais em experimentação foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da UFMS.

Prospecção fitoquímica das folhas de *Piper*. As alíquotas dos extratos etanólicos filtrados previamente foram submetidos ao método de prospecção fitoquímica, conforme a adaptação da metodologia descrita por Matos (1997). Os métodos utilizados são apenas qualitativos e esta metodologia teve como objetivo detectar a presença das principais classes químicas: fenóis, taninos, antocianidinas, antocianinas, flavonóides, leucoantocianidinas, catequinas, flavanonas, flavanóis, flavanonas, flavanonóis, xantonas, saponinas, quinonas, triterpenóides e esteróides.

Teste de formalina. Os animais receberam administração subplantar de 25 µL de uma solução de formalina 1% na pata direita traseira (Parada et al., 2001). Uma hora antes da administração da formalina, o extrato foi administrado por via oral na dose de 600 mg/kg diluídos em água. Foi observado durante 30 minutos o comportamento nociceptivo do animal o qual se manifesta através do ato de lambem ou *flinch* da pata.

Teste de pressão crescente na pata. Os experimentos foram realizados com um anestesiómetro eletrônico (Modelo 1601C, Life Sciences Instruments, Califórnia, EUA), que consiste em um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas (g), a precisão do aparelho é de 0,1 g. O aparelho é calibrado para registrar uma força máxima de 150 g, mantendo a precisão de 0,1g até a força de 80g. O contato do transdutor de pressão à pata dos animais, foi realizado por meio de uma ponteira descartável de polipropileno com 0,5 mm² de diâmetro adaptada a este. Os animais foram colocados em caixas de acrílico, cujo assoalho consiste de uma rede de malha igual a 5 mm², constituída de arame não maleável de 1 mm de espessura, durante 15 minutos antes do experimento para adaptação ao ambiente.





Espelhos são posicionados 25 cm abaixo das caixas de experimentação para facilitar a visualização da superfície plantar dos animais. O experimentador aplica, por entre as malhas da rede, uma pressão linearmente crescente no centro da pata traseira direita do animal até que o mesmo produza uma resposta caracterizada como sacudida (“flinch”) da pata que recebeu o estímulo inflamatório. Os estímulos são repetidos até o animal apresentar três medidas similares com uma clara resposta de “flinch” após a retirada da pata. A intensidade de hipernocicepção foi quantificada como a variação na pressão (reação em gramas) obtida, subtraindo-se a média de três valores expressos em gramas (força) observada antes do procedimento experimental (0 hora) da média de três valores em gramas (força), após a administração dos estímulos que variam de acordo com o experimento.

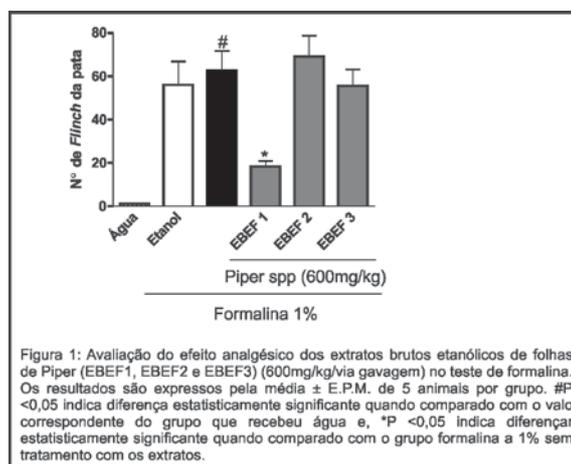
Teste do rota-rod. Este método permite avaliar a toxicidade de fármacos, verificando se estas promovem incoordenação motora dos animais, seja por sedação e/ou por relaxamento muscular (Rosland; Hunskaar e Hole, 1990). Grupos de cinco camundongos foram colocados no *rota-rod* 60 minutos após os tratamentos com: extratos (600 mg/kg) e diazepam (5 mg/kg), foram avaliados o número de quedas e o tempo de permanência dos animais na barra giratória. O número máximo de quedas permitidas, foi de 3 sendo que, após a terceira, o animal não mais era reconduzido no *rota-rod*. O tempo máximo de permanência permitido no *rota-rod* foi de 1 minuto.

Teste de atividade da migração celular. Para avaliação da migração neutrofílica para o tecido plantar, foi realizada o método da mieloperoxidase, o qual permite inferir indiretamente o número de neutrófilos totais por tecido. As amostras do tecido foram coletadas 5 h após a administração do estímulo inflamatório. As amostras foram coletadas em tampão fosfato de potássio e posteriormente, foram homogeneizadas com auxílio de homogeneizador seguida de centrifugação. A quantificação foi realizada através de reação colorimétrica cinética. Para a determinação do número de neutrófilos foi utilizada curva padrão de neutrófilos.

Análise Estatística. As análises estatísticas dos dados serão realizadas pelos métodos de variância multivariada (MANOVA), variância a um critério (ANOVA ONE-WAY), teste de comparações múltiplas de Bonferroni (teste t) de acordo com as variáveis e grupos comparados.

Resultados e Discussão

A atividade antinociceptiva dos EBEF1, EBEF2 e EBEF3 foi avaliada utilizando-se o teste de formalina. Este teste comumente é utilizado para *screening* de substâncias analgésicas, pois é possível sugerir o mecanismo de ação das substâncias em estudo. O teste de formalina é dividido em duas fases: a primeira (5 minutos iniciais) é chamada de fase neurogênica, a qual é sensível a agentes opióides e a segunda fase ou a inflamatória, a qual responde ao tratamento com anti-inflamatórios esteroidais (Hunskaar e Hole, 1987). O EBEF1 na concentração de 600 mg/kg foi capaz de reduzir a segunda fase do teste de formalina, enquanto os EBEF2 e EBEF3 não apresentaram redução da resposta comportamental do animal em nenhuma das fases analisadas (Figura 1). Estes resultados sugerem efeito antiinflamatório do extrato de EBEF1.



De fato, os dados da literatura demonstram que os frutos de *Piper* possuem atividade anti-inflamatória (Choi e Hwang, 2003), além disso, Silva (2002) demonstrou que a cubebina e outras lignanas isoladas de *P. cubeba*, bem como seus derivados semi-sintéticos, apresentam atividade anti-inflamatória e analgésica significativas. De maneira complementar foi demonstrado que o extrato aquoso de *P. sarmentosum* apresenta atividade anti-nociceptiva mediada por opióides nos níveis periférico e central, bem como atividade anti-inflamatória dose-dependente, que confirmou os usos tradicionais da planta no tratamento da dor inflamatória e doenças relacionadas (Zakaria et al., 2010). Portanto, os dados da literatura e do presente trabalho, reforçam e sugerem o potencial anti-inflamatório e analgésico de um dos exemplares investigados de *Piper*.

A análise fitoquímica mostrou que de 18 testes realizados, 4 foram positivos nas três espécies estudadas.





No EBF1, o teste para antocianidinas, antocianinas e flavonóides, apresentou alteração e surgimento de coloração amarela visível, no tubo alcalinizado a pH 11, o que é indicativo da presença de flavononas, flavonóis e xantonas. Com isso, são descritos que os efeitos farmacológicos dos flavonóides são amplos, dentre eles, destacam-se as ações antioxidantes, anti-inflamatória e antiplaquetária, além dos efeitos antialérgicos (Miean e Mohamed, 2001), indicando o direcionamento do estudo de isolamento dessas substâncias. Portanto, tais resultados reforçam a hipótese da atividade anti-inflamatória para o extrato de EBEF1.

Já no teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas, o resultado foi interpretado com a intensificação da cor comparado com o teste anterior (teste para antocianidinas, antocianinas e flavonóides), verificando que, em pH ácido, a cor pardo-amarelada foi intensificada, sugerindo que há presença de catequinas nas três espécies de *Piper* testadas.

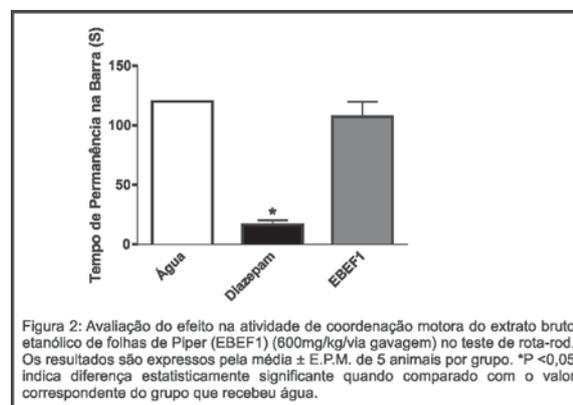
Nos demais testes, fenóis e taninos, saponinas, quinonas, cumarina, esteróides e triperpenóides, não apresentou mudança de cores significativas ou qualquer outro tipo de modificação.

Dados da literatura demonstram uma gama de substâncias isoladas do gênero *Piper*. Do caule de *P. philippinum* foram isoladas lignanas (piperphilippininas I-VI), amidas (philippinamida) e um arilpropanóide (Chen, Liao e Chen, 2007). Além disso, do fracionamento guiado por bioatividade do extrato em acetato de etila das folhas de *P. crassinervium*, foram isoladas hidroquinonas prenilados e duas flavanonas (naringenina e sakuranetina) (Danelutte et al., 2003). Já dos frutos de *P. nigrum*, foi isolada o Isopiperolein B (Srinivas e Madhusudana Rao, 1999).

Além disso, do extrato hexânico de folhas de *P. lhotzkyanum* foram identificadas substâncias apolares, como lhotzchromeno (ácido 2-metil-2-[4'-metil-3'-pentenil]-2H-1-benzopiran-6-carboxílico), isômeros (*Z*) e (*E*) do ácido 4-hidroxi-3-(3',7'-dimetil-1'-oxo)-2',6'-octadienilbenzóico e misturas de sesquiterpenos hidroxilados juntamente com fitol (Moreira, Guimarães e Kaplan, 1998), da fração diclorometano do extrato metanólico de folhas de *P. lhotzkyanum* foi obtida um C-glicosil flavona (kaplanina), juntamente com sakuranetina, metil-4 metoxidiidroferulato e uma mistura de derivados de ferulato de metila e diidroferulato (Moreira, Guimarães e Kaplan, 2000). Portanto, os dados da literatura confirmam a presença de diferen-

tes grupos químicos nos diversos representantes do gênero *Piper*. Importante salientar que os respectivos constituintes químicos na sua grande maioria já apresentam a comprovação da atividade anti-inflamatória.

Neste sentido os conjuntos de dados do presente trabalho corroboram com os dados da literatura, pois demonstram o potencial anti-inflamatório e analgésico das folhas de *Piper arboreum*. Além disso, foi avaliado o potencial do referido extrato em induzir sedação e incoordenação motora. O resultado demonstra que o extrato, na dose de 600mg/kg não apresentou alteração na coordenação motora dos animais tratados e não induziu quadro de sedação (Figura 2).



Para confirmar o potencial analgésico e investigar os parâmetros farmacocinéticos mais especificamente a meia-vida do EBEF1, foi utilizado o teste de pressão crescente na pata (Cunha et al., 2005). Como estímulo inflamatório, foi utilizado o zimosan que é um glicano derivado da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, que por várias décadas vêm sendo utilizado para o estudo dos componentes da resposta imune inata, incluindo a ativação da via alternativa do complemento, estimulação de citocinas inflamatórias, produção de quimiocinas e mecanismos de fagocitose (Di Carlo e Fiore, 1958; Aderem e Underhill, 1999).

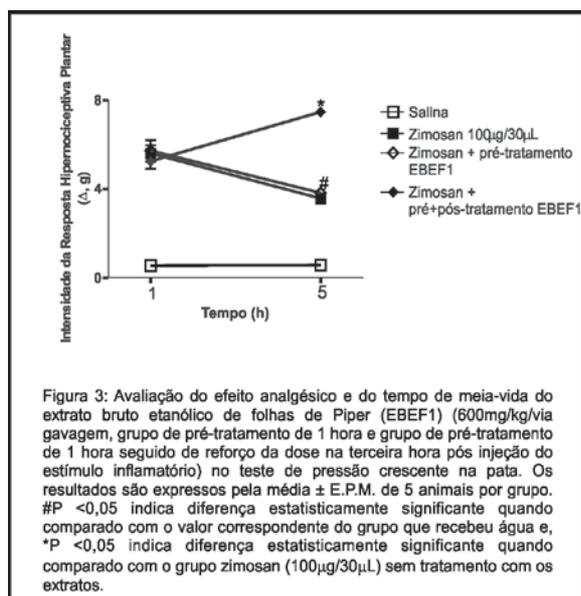
O EBEF1 apresentou redução da resposta hipernociceptiva plantar no teste de pressão crescente na pata, porém, tal redução, foi evidenciada somente quando foi administrada uma dose de reforço do extrato. Este resultado demonstra a atividade analgésica do EBEF1, porém sugere que para este efeito, é necessária a administração de uma dose superior do extrato, quando comparado ao resultado obtido no teste de formalina (Figura 1) e na atividade de migração celular (Figura 4). É importante salientar que no teste de formalina, o tempo de avaliação foi de apenas





30 minutos, sendo que no teste de pressão crescente na pata, o tempo avaliado foi de 5 horas. Sugerindo, portanto, um tempo de meia-vida curto para o referido extrato (Figura 3).

Para avaliação da migração neutrofílica para o tecido plantar, foi realizada o método de atividade da mieloperoxidase, o qual permite inferir indiretamente o número de neutrófilos totais por tecido. Os resultados demonstram a efetividade do EBEF1 em reduzir a migração neutrofílica para o tecido plantar. A redução



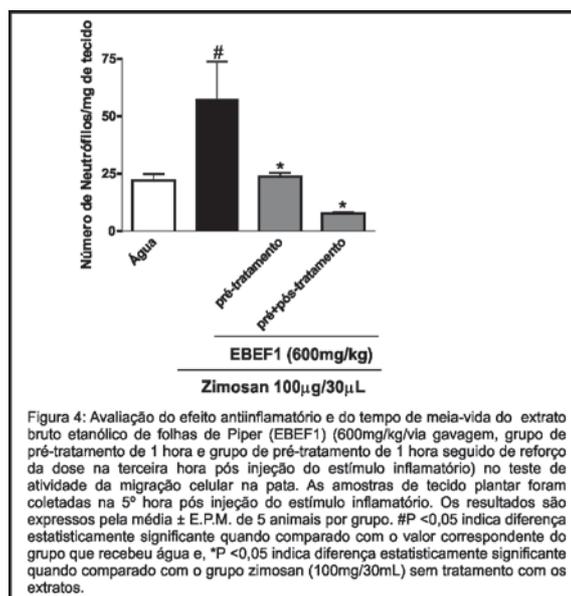
Conclusão

As espécies do gênero *Piper* são exemplos de plantas medicinais utilizadas na medicina popular especialmente para o tratamento de inflamações, picadas de cobra, doenças do ducto biliar e fígado. Os resultados do presente estudo demonstram o potencial farmacológico de *Piper arboreum* em processos anti-inflamatórios e dolorosos, porém, a potência anti-inflamatória é maior quando comparada a atividade analgésica. Assim como nos testes de prospecção fitoquímica, onde foi maior a presença de classes químicas, nos testes realizados, como a presença das xantonas, antocianinas, antocianinas e flavonóides como, por exemplo, flavononas e flavonóis, enquanto apenas a catequina foi positiva para as três espécies de *Piper* estudadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do

da migração celular foi evidenciada nos dois protocolos experimentais utilizados, tanto no pré-tratamento como no pré-tratamento seguido de reforço na 3ª hora pós injeção do estímulo inflamatório (Figura 4). Estes resultados confirmam o potencial anti-inflamatório do EBEF1. Além de sugerir que para a atividade anti-inflamatória é possível utilizar uma dose menor quando comparada a dose que possui eficácia analgésica. Portanto, o referido extrato apresenta maior potência em sua ação anti-inflamatória quando comparado a atividade analgésica (Figura 3 e Figura 4).



Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), PIBIC/Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) e ao Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Referências

- Aderem, A e Underhill, D.M. 1999 - Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annual Review of Immunology*, v. 17, p. 593-623.
- Bergamo, G. 2011 – *Dor, a luta contra inimiga ancestral*. Revista VEJA, edição 2231, ano44/número 34, p. 92 - 99.
- Calixto, J.B. 2003 - Biodiversidade como fonte de medicamentos. *Ciência e Cultura*, v. 55, n. 3, p. 37-39.
- Chen, Y.C.; Liao, C.H. e Chen, I.S. 2007 - Lignans, an amide and anti-platelet activities from *Piper philippinum*. *Phytochemistry*, v. 68, n. 15, p. 2101-2111.





- Choi, E.M. e Hwang, J. K. J. 2003 - Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 89, n. 1, p. 171-175.
- Cunha, T.M.; Verri, W.A. Jr; Silva, J.S.; Poole, S.; Cunha, F.Q. e Ferreira, S.H. 2005 - A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United of America*, v. 102, n. 5, p. 1755-1760.
- D'angelo, L.C.A.; Xavier, H.S.; Torres, L.M.B.; Lapa, A.J. e Souccar, C. 1997 - Pharmacology of *Piper marginatum* Jacq. a folk medicinal plant used as an analgesic, antiinflammatory and hemostatic. *Phytomedicine*, v. 4, p. 33 – 40.
- Danelutte, A.P.; Lago, J.H.G.; Young, M.C.M. e Kato, M.J. 2003 - Antifungal flavanones and prenylated hydroquinones from *Piper crassinervium* Kunth. *Phytochemistry*, v. 64, n. 2, p. 555–559.
- Di Carlo, F. J. e Fiore, J.V. 1958 - On the composition of zymosan. *Science*, v. 127, n. 3301, p. 756-757.
- Di Stasi, L.C. e Hiruma-Lima, C.A. 2002 - *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. p. 120–143. Editora da UNESP, São Paulo.
- Guerrini, A.; Sacchetti, G.; Rossi, D.; Paganetto, G.; Muzzoli, M.; Andreotti, E.; Tognolini, M.; Maldonado, M.E. e Bruni, R. 2009 - Bioactivities of *Piper obliquum* Ruiz and Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 27, n. 1, p. 39–48.
- Hunnskaar, S. e Hole, K. 1987 - The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and noninflammatory pain. *Pain*, v. 30, n. 1, p. 103-114.
- Lago, J.H.; 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. e Kato, M.J. 2004 - Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. shaerospermum*. *Journal of Natural Products*, v. 67, n. 11, p. 1783–1788.
- Matos, F.J. 1997 - *Introdução à fitoquímica experimental*. 2ª edição. UFC, Fortaleza.
- Maxwell, A. e Rampersad, D. 1988 - Prenylated 4-hydroxybenzoic acid derivatives from *Piper marginatum*. *Journal of Natural Products*, v. 51, n. 2, p. 370–373.
- Miean, K.H. e Mohamed, S. 2001 – Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 6, p. 3106-3112.
- Moreira, D.L.; Guimaraes, E.F. e Kaplan, M.A.C. 1998 - Non polar constituents from leaves of *Piper Ihotzkyanum*. *Phytochemistry*, v. 49, n. 5, p. 1339-1342.
- Moreira, D.L.; Guimaraes, E.F. e Kaplan, M.A.C. 2000 – A C-glucosylflavone from leaves of *Piper Ihotzkyanum*. *Phytochemistry*, v. 55, n. 7, p.783-786.
- Parada, C.A.; Tambeli, C.H.; Cunha, F.Q. e Ferreira, S.H. 2001 - The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalin-induced nociception. *Neuroscience*, v. 102, n. 4, p. 937-944.
- Quilez, A.; Berenguer, B.; Gilardoni, G.; Souccar, C.; de Mendonça, S.; Oliveira, L.F.S.; Martín-Calero, M.J. e Vidari, G. 2010 - Anti-secretory, anti-inflammatory and anti-*Helicobacter pylori* activities of several fractions isolated from *Piper carpunya* Ruiz & Pav. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 128, n. 3, p.583–589.
- Rosland, J.H.; Hunnskaar, S. e Hole, K. 1990 - Diazepam attenuates morphine antinociception test-dependently in mice. *Pharmacology & Toxicology*, v. 66, n. 5, p. 382-386.
- Rodrigues Silva, D.; Baroni, S.; Svidzinski, A.E.; Bersani-Amado, C.A. e Cortez, D.A. 2008 - 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.
- Silva, M.L.A. 2002 -Atividade antichagásica (quimioprolifática e terapêutica) de cubebina e outras lignanas isoladas de *Zanthoxylum naranjillo*, *Piper cubeba*, bem como seus derivados semi-sintéticos. Disponível em: <<http://watson.fapesp.br/nuplitec/resumos/mlas.htm>>. Acesso em: 11 mar. 2011.
- Simões, C.M.O. e Schenkel, E.P. 2002 - A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 12, n. 1, p. 35-40.





Singh, M.; Shakya, S.; Soni, V.K.; Dangi, A.; Kumar, N. e Bhattacharya, S. 2009 - The n-hexane and chloroform fractions of *Piper betle* L. trigger different arms of immune responses in BALB/c mice and exhibit antifilarial activity against human lymphatic filarid *Brugia malayi*. *International Immunopharmacology*, v. 9, n. 6, p. 716-728.

Srinivas, P.V. e Madhusudana Rao, J. 1999 - Isopiperolein B: an alkaloid from *Piper nigrum*. *Phytochemistry*, v. 52, n. 5, p.957-958.

Sunila, E.S. e Kuttan, G. 2004 - Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and

piperine. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 90, n. 2-3, p. 339-346.

Van Der Berg, M.E. 1982 - *Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém.

Zakaria, Z.A.; Patahuddin, H.; Mohamad, A.S.; Israfi, D.A. e 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*, v. 128, n. 1, p. 42-48.

Recebido em Dezembro de 2011. Aceito em Fevereiro de 2012

