

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Composição química e avaliação da atividade anti-inflamatória e citotoxicidade de
óleos essenciais de espécies de *Piper* do Rio Grande do Sul

KRISSIE DAIAN SOARES

PORTO ALEGRE, 2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Composição química e avaliação da atividade anti-inflamatória e citotoxicidade de óleos essenciais de espécies de *Piper* do Rio Grande do Sul

Tese apresentada por Krissie Daian Soares para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em Ciências Farmacêuticas.

Orientador(a): Profa. Dra. Miriam Anders Apel

PORTO ALEGRE, 2022

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 18 de Fevereiro de 2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Edna Sayuri Suyenaga
Universidade FEEVALE

Profa. Dra. Gilsane Lino Von Poser
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Renata Biegelmeier da Silva Rambo
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Tiana Tasca
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Soares, Krissie Daian
Composição química e avaliação da atividade anti-inflamatória e citotoxicidade de óleos essenciais de espécies de Piper do Rio Grande do Sul / Krissie Daian Soares. -- 2022.
141 f.
Orientadora: Miriam Anders Apel.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Óleos essenciais. 2. Piper spp.. 3. Atividade antitumoral. 4. Atividade Anti-inflamatória. I. Anders Apel, Miriam, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Farmacognosia e Desenvolvimento Galênico (LDG), em parceria com a Professora Dra. Letícia Scherer Koester da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; no laboratório de Cultura de Células Animais em parceria com a Professora Dra. Alessandra Nejar Bruno do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Campus Porto Alegre (IFRS-POA).

Além disso, contou com a colaboração do Professor Sérgio Bordignon do Centro Universitário La Salle, na coleta e identificação das espécies vegetais.

Agradecemos a CAPES pelo suporte financeiro e pela bolsa recebida durante o desenvolvimento deste trabalho.

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Pelo amor e apoio recebido.
Amo vocês.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me permitiu concluir mais uma etapa da minha vida e por estar presente em todos os momentos mais importantes.

A cada conquista é necessário parar e refletir um instante e agradecer as pessoas que de alguma forma fizeram-se presentes ou que contribuíram para a realização deste momento.

À minha orientadora, Profa. Dra. Miriam Anders Apel, pela confiança e apoio que depositou em mim durante todo esse período desde o mestrado. Obrigada pela pressão, pelos empurrões e pelos conselhos que me deste, pois com eles cresci e aprendi muito.

Agradeço aos meus pais, pelo amor, carinho e compreensão que tiveram comigo todo esse tempo, fazendo com que meu sonho se tornasse realidade. Pelo exemplo que me deram, tornando-me uma pessoa batalhadora pelos meus objetivos.

Ao meu noivo Evandro, que me acompanhou nessa caminhada e me incentivou a chegar até o fim e pela compreensão nos momentos em que eu mais precisei.

Agradeço também, minha tia Solange Maria Johann, que todo esse tempo tem se sido uma segunda mãe para mim, sempre me apoiando e me dando todo o carinho do mundo para que eu pudesse concluir essa etapa da minha vida.

Meus colegas de Laboratório de Farmacognosia, pela ajuda, incentivo e amizade que construímos ao longo desta caminhada, Betina, Marí, Maria, Mari, Angélica, Juliana, Natally, Vanessa, Thamires, obrigada pela amizade de vocês.

Ao botânico Dr. Sérgio L. Bordignon pela realização das coletas e identificação das espécies estudadas.

A uma pessoa muito especial que contribuiu para a minha evolução, Letícia Jacobi Danielli, obrigada pelos conselhos e ensinamentos. Você ficará em meu coração para sempre.

E por fim, gostaria de agradecer uma pessoa que mesmo de longe, está no meu coração e me acompanhando nessa caminhada, Michele Andréia Rambo (*in memoriam*), sem você nada disso teria acontecido, minha gratidão por você será eterna.

“A persistência é o menor caminho do êxito.”

Charles Chaplin

RESUMO

A utilização de plantas medicinais para o tratamento de inúmeras doenças vem ganhando destaque, devido a uma gama de compostos bioativos que contribuem para a pesquisa e descoberta de novos fármacos para a utilização na terapêutica. O gênero *Piper*, abrange cerca de 2000 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais. Na medicina popular, são utilizadas para o tratamento de bronquite, dores intestinais, irritações e inflamação da pele e na preparação de bebidas cerimoniais. Tendo em vista a importância da identificação de novas substâncias, com estudos de atividades biológicas, a fim de proporcionar alternativas efetivas, este estudo avaliou a composição química, atividades antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante dos óleos essenciais de espécies de *Piper regnelli*, *Piper gaudichaudianum*, *Piper xylosteoides* e *Piper mikanianum*. Os óleos essenciais das espécies de *Piper* foram obtidos por hidrodestilação e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Quimicamente, ambos os óleos apresentaram os compostos β -selineno (14,2%), bicyclogermacreno (26,30%), apiol (35,11%) e espatulenol (15,83%) identificados como majoritários respectivamente para as amostras de *P. gaudichaudianum*, *P. mikanianum*, *P. regnelli* e *P. xylosteoides*. Com relação a atividade antitumoral, o óleo de *P. regnelli* demonstrou uma inibição de 87,27% e 97% na viabilidade frente as linhagens SiHa e MCF-7, respectivamente. Para *P. xylosteoides* os resultados mostraram que o tratamento induziu uma inibição de 94% e 96% na viabilidade de linhagens SiHa e MCF-7, respectivamente. Para o ensaio antiqumiotáxico as amostras de *P. gaudichaudianum* e *P. mikanianum* apresentaram inibição na migração de neutrófilos. Os resultados mostraram uma inibição significativa ($p < 0,05$) na faixa de 0-72,2% e 8,6-100% para *P. gaudichaudianum* e *P. mikanianum*, respectivamente nas concentrações testadas. Em *P. regnelli* o percentual de inibição foi de 21,3-50,6% e em *P. xylosteoides* o perfil de inibição de 68,5-100%. A aplicação tópica de *P. xylosteoides* nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg inibiu o edema de orelha induzido pelo óleo de cróton em 31, 19, 15,90 e 5,20% dos camundongos, respectivamente. As amostras testadas na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram um baixo perfil de inibição no ensaio TBARS, com 20,0% e 25,6% para *P. regnelli* e *P. xylosteoides*, respectivamente. Esses resultados mostram a variabilidade da composição química dos óleos essenciais das espécies *Piper*, bem como seu importante efeito antitumoral

e anti-inflamatório. Desta forma, uma amostra com capacidade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante poderia ser uma alternativa para o desenvolvimento de novas substâncias em terapia, diminuindo os sintomas e acelerando o processo de cura. Além disso, a atividade antitumoral do óleo essencial de *Piper regnelli* apresentou efeitos citotóxicos em células de câncer uterino humano (SiHa) e adenocarcinoma de mama (MCF7), sendo uma espécie promissora nessa busca de novas substâncias para atividade antitumoral, obtendo resultados satisfatórios quando comparado com outras amostras.

Palavras-Chave: Atividade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante, *Piper* spp., óleos essenciais.

ABSTRACT

The use of medicinal plants for the treatment of numerous diseases has been gaining prominence, due to a range of bioactive compounds that contribute to the research and discovery of new drugs for use in therapeutics. The genus *Piper* comprises about 2000 species distributed in the tropical and subtropical regions. In folk medicine, they are used to treatment bronchitis, intestinal pains, skin irritations and inflammation, and in the preparation of ceremonial drinks. Considering the importance of identifying new substances, with studies of biological activities, in order to provide effective alternatives, this study evaluated the chemical composition, cytotoxic, anti-inflammatory and antioxidant activity of essential oils from species of *Piper regnelli*, *Piper gaudichaudianum*, *Piper xylosteoides* and *Piper mikanianum*. Essential oils from *Piper* species were obtained by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Chemically, both oils showed β -selinene (14.2%), bicyclogermacrene (26.30%), apiole (35.11%) and spathulenol (15.83%) identified as majorities respectively for *P. gaudichaudianum*, *P. mikanianum*, *P. regnelli* and *P. xylosteoides*. Regarding antitumour activity, *P. regnelli* oil showed an inhibition of 87.27% and 97% in viability against SiHa and MCF-7 cells, respectively. *P. xylosteoides* the results showed that the treatment induced an inhibition of 94% and 96% in the viability of SiHa and MCF-7 cells, respectively. For the antichemotactic assay, the samples of *P. gaudichaudianum* and *P. mikanianum* showed inhibition of neutrophil migration. The results showed a significant inhibition ($p < 0.05$) in the range of 0-72.2% and 8.6-100% for *P. gaudichaudianum* and *P. mikanianum*, respectively in tested concentrations. In *P. regnelli* the inhibition percentage was 21.3-50.6% and in *P. xylosteoides* the inhibition profile of 68.5-100%. Topical application of *P. xylosteoides* at doses of 25, 50 and 100 mg/kg inhibited croton oil-induced ear edema in 31.19, 15.90 and 5.20% of mice, respectively. Samples tested at concentration of 500 $\mu\text{g/mL}$ showed a low inhibition profile in TBARS assay, with 20.0% and 25.6% for *P. regnelli* and *P. xylosteoides*, respectively. These results show the variability of the chemical composition of essential oils from *Piper* species, as well as their important antitumour and anti-inflammatory effects. In addition, a sample with antitumor, anti-inflammatory and antioxidant capacity suggest effective alternatives for the development of new substances in therapy, decreasing symptoms and accelerating the healing process. In addition, the antitumour activity of *P. regnelli* essential oil

showed cytotoxic effects on human uterine cervix (SiHa) and breast adenocarcinoma (MCF-7), being a promising species in this search for new substances for antitumor activity, obtaining satisfactory results when compared to with other samples.

Keywords: Antitumour, anti-inflammatory and antioxidant activities, *Piper* spp., essential oils.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
OBJETIVOS	23
CAPÍTULO I - Revisão Teórica	27
1. Óleos essenciais.....	29
1.2 Funções biológicas dos óleos essenciais nas plantas	31
1.3 Rota Biossintética	33
1.4 Atividades biológicas dos óleos essenciais.....	36
1.4.1 Atividade anti-inflamatória	37
1.4.1.1 Atividade anti-quimiotática	39
1.4.1.2 Atividade anti-edematogênica	40
1.4.2 Atividade antioxidante	40
1.4.2.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	42
1.4.2.2 Reação com 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH).....	42
1.4.3 Atividade antitumoral.....	43
1.5 Considerações sobre a família Piperaceae.....	45
1.5.1 Considerações sobre o gênero <i>Piper</i>	46
CAPÍTULO II - Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of <i>Piper gaudichaudianum</i> and <i>Piper mikanianum</i>	53
CAPÍTULO III – Biological activities of the essential oil of <i>Piper regnelli</i> (Miq.) C. DC. and <i>Piper xylosteoides</i> (Kunth) Steud.	75
DISCUSSÃO GERAL	105
CONCLUSÕES	113
REFERÊNCIAS.....	117
ANEXO.....	137

Apesar dos estudos na medicina moderna apresentarem um grande crescimento ao longo dos anos, a utilização de plantas para fins terapêuticos continua sendo uma prática largamente empregada. Nesse sentido, estudos entre o uso de plantas medicinais relacionados aos conhecimentos tradicionais, têm sido conduzidos em diferentes contextos. As pesquisas desenvolvidas estão direcionadas para o âmbito farmacológico de produtos naturais, devido à utilização e aceitação crescente pela população em tratamentos medicinais (Bolson et al., 2015). Segundo a Organização Mundial de Saúde, as plantas medicinais apresentam muitos benefícios e as define como a melhor e maior fonte de medicamentos para a humanidade (Neto et al., 2020).

Dentre os constituintes do metabolismo secundário das plantas estão os óleos essenciais destacando-se pelas importantes propriedades terapêuticas. Os OE são substâncias complexas, de baixo peso molecular, voláteis e geralmente líquidas a temperatura ambiente (Beltrame et al., 2010). Devido a isso, essas substâncias apresentam relevância e despertam interesse em várias aplicações, como nas indústrias alimentícia, farmacêutica, perfumaria, cosmética, entre outras (Stanojevic et al., 2015). Destacam-se, também, pelos seus efeitos biológicos, tais como: atividades anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica, antiviral, dentre outras (Carrasco et al., 2015).

Dentre os medicamentos mais empregados pela população, os anti-inflamatórios não esteroides usados com intuito de reduzir processos relacionados à inflamação, como dor e febre. Porém, estudos relatam que a administração prolongada desses medicamentos produz uma série de reações adversas relacionados ao trato gastrointestinal, com lesões da mucosa, sangramento, úlcera péptica e perfuração intestinal. De acordo com estudos citados na literatura, esses medicamentos aumentam a incidência de problemas renais, necrose tubular aguda, toxicidade cardiovascular, hipertensão arterial e síndrome nefrótica (Taofiq et al., 2015).

Alguns problemas encontrados quanto ao tratamento com anti-inflamatórios, como aumento da resistência e dos efeitos colaterais da medicação convencional justificam a contínua busca de novas substâncias mais eficazes, menos tóxicas e de baixo custo (Zuzarte et al., 2013). Ainda, estudos realizados para a descoberta de

novos compostos provenientes de produtos naturais, mostram que estes são mais seguros e apresentam menos efeitos colaterais (Mulaudzi et al., 2013).

Além da investigação da atividade anti-inflamatória, outros estudos são citados na literatura e grande importância para a descoberta de novos compostos bioativos com interesse farmacológico. Dentre eles vale destacar estudos de citotoxicidade, ensaios baseados na avaliação da interferência induzida por agentes químicos nos processos metabólicos celulares e na investigação a respeito da maneira em que esses processos podem vir a intervir no crescimento/multiplicação celular, dessa forma, diminuindo o número de células viáveis se comparado com culturas controles não-tratadas (Freshney, 1994; Vinken; Blaauboer, 2017).

Associado aos efeitos anti-inflamatórios e citotoxicidade, a massiva produção de espécies reativas de oxigênio é gerada no organismo como uma consequência relacionada à bioenergética mitocondrial, metabolismo oxidativo e função imune (Roleira et al., 2015). Dessa forma, essas espécies reativas no estado redox, têm influência direta nas fases do ciclo celular G0/G1 para S e G2 para M (Menon; Goswami, 2007). Como consequência, desequilíbrios constantes ocorrem levando ao desencadeamento da proliferação e morte celular, gerando doenças proliferativas como o câncer (Goetz; Luch, 2008). Portanto, a associação de efeito anti-inflamatório e antioxidante à atividade citotóxica para óleos essenciais, torna-os um importante alvo na investigação de novas substâncias, com a finalidade de acelerar o alívio dos sintomas, favorecer a cura e prevenir a propagação de doenças, além de evitar o desenvolvimento de cronicidade.

O gênero *Piper* L., pertence à família Piperaceae, com cerca de 2000 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais. São muito utilizadas como condimentos e no tratamento de algumas doenças (Gogosz et al., 2012; Branquinho et al., 2017). Alguns usos populares são relatados para as espécies deste gênero, como no tratamento de dores intestinais, irritações e inflamação da pele, entre outras (Brait et al., 2015).

Ainda existem poucos estudos envolvendo a pesquisa com óleos essenciais e propriedades biológicas das espécies de *Piper* L. Considerando que os óleos

essenciais são possíveis fontes naturais para o desenvolvimento de novos medicamentos, este grupo de compostos possui grande importância tanto para a população quanto comercialmente. Portanto, é importante destacar que os relatos da literatura demonstram que as espécies do gênero *Piper* L., possuem importantes atividades como antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, dentre outras (Mou et al., 2021; Silva et al., 2021; Nickavar; Malekitabar, 2022; Saikia et al., 2022).

Entretanto, poucos são os relatos científicos relacionados à composição química do óleo essencial de algumas das espécies desse gênero, e escassos os estudos de atividades biológicas relacionadas com as mesmas. Com base no exposto, este estudo objetiva a investigação da atividade anti-inflamatória, a fim de encontrar alternativas terapêuticas na medicina, baseados em relatos popularmente já conhecidos.

Tendo em vista a importância da identificação de novas substâncias com potenciais atividades biológicas, este projeto tem como objetivo a avaliação da composição química, atividade citotóxica, anti-inflamatória e antioxidante dos óleos essenciais de espécies de *Piper*, coletadas no Rio Grande do Sul.

Os objetivos específicos deste trabalho abrangem:

- Obtenção dos óleos essenciais de espécies de *Piper* L. coletadas no Rio Grande do Sul, pelo método de hidrodestilação utilizando aparelho tipo Clevenger;
- Identificação dos compostos do óleo volátil por cromatografia a gás, acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
- Quantificação dos componentes químicos dos óleos essenciais obtidos pela técnica de cromatografia à gás, acoplada a detector por ionização de chama (CG-DIC);
- Avaliação da atividade antitumoral dos óleos essenciais obtidos;
- Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* através proteção de peroxidação lipídica pelo ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS);
- Avaliação da atividade antiqumiotóxica *in vitro* pelo método da câmara de Boyden e *in vivo* através do teste de edema de orelha em camundongos induzido por óleo de cróton.

Plantas medicinais para o tratamento de diversas doenças têm sido amplamente utilizadas desde a antiguidade, constituindo uma gama de compostos bioativos, com grande importância para a pesquisa química e descoberta de novos fármacos para a utilização na terapêutica (Asadi-Samani et al., 2015). Como exemplos bem-sucedidos dessa abordagem pode-se citar a artemisinina, substância com ação antimalárica, obtida de *Artemisia annua*, é conhecida na medicina chinesa pelo uso no tratamento de febres, e a reserpina, alcaloide anti-hipertensivo, obtido de *Rauwolfia serpentina*, que, por sua vez, é muito utilizada na medicina tradicional indiana, para picada de cobra (Hassannia, 2020). Mesmo com a ampla utilização de produtos naturais na descoberta de novos medicamentos, muitos caminhos relacionados ao uso das plantas na medicina tradicional são ainda inexistentes, justificando dessa forma, a importância de novas pesquisas de produtos farmacêuticos na medicina tradicional.

O metabolismo das plantas é composto por uma série de reações anabólicas e catabólicas, provenientes de constituintes químicos encontrados nos vegetais que são sintetizados e degradados por essas reações. As plantas produzem substâncias chamadas metabólitos secundários, com o objetivo principal de defesa frente a agressões externas, a partir do desenvolvimento de mecanismos químicos, e são esses os metabólitos que dão origem a uma variedade de produtos comercializados pelas indústrias farmacêuticas, como medicamentos derivados de plantas medicinais. Ainda que não sejam fundamentais para o crescimento das plantas, esses metabólitos possuem diversas atividades biológicas, despertando o interesse de pesquisadores na busca de novos compostos bioativos, em prol de benefícios à saúde humana e as indústrias farmacêuticas e alimentícias (pois muitas plantas medicinais e/ou seus derivados têm sido comercializados como suplemento alimentar) têm-se dedicado a estas investigações (Perigo et al., 2016; Li et al., 2020).

1. Óleos essenciais

Dentre os produtos do metabolismo vegetal mais promissores e com maior facilidade de acesso para a pesquisa de compostos benéficos ao homem e aos animais, encontram-se os óleos essenciais, também chamados de essências ou óleos voláteis. Os OE são produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste de vapor d'água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos

de frutos cítricos (ISO 9235, 2013). Em geral, são misturas líquidas a temperatura ambiente, que possuem uma série de substâncias extraídas a partir de várias partes das plantas aromáticas (Zahran; Abou-Taleb; Abdelgaleil, 2017). De uma forma geral, os óleos apresentam diferentes colorações, dependendo da composição química, variando de incolores, azul, amarelo claro, amarelo escuro ou alaranjado. Essas substâncias geralmente são solúveis em solventes orgânicos e imiscíveis em água (Beltrame et al., 2010).

Os compostos presentes nos óleos, responsáveis pelas propriedades aromáticas e odoríferas das plantas, são pequenas moléculas que possuem baixo peso molecular e apresentam uma alta pressão de vapor ou alta volatilidade (Rehman et al., 2016; Bhavaniramy et al., 2019). Os mesmos são originados por vias biossintéticas distintas, classificados por dois tipos de rota: a terpênica, que compõe os terpenos, que basicamente são classificados de acordo com o número de unidades presentes no seu esqueleto de carbono (C_5), os quais originam-se pela via do ácido mevalônico e pela via do metileritritol fosfato; e a aromática, que compõe os fenilpropanoides, constituídos por derivados fenólicos, resultantes do metabolismo do ácido chiquímico, que possuem três carbonos ligados a um anel benzênico, representando sua estrutura básica. Esses compostos podem apresentar em sua constituição diversos grupos químicos funcionais, como aldeídos, ácidos, álcoois, cetonas, óxidos, fenóis, acetais, lactonas, éteres e ésteres. (Sangwan et al., 2001; Asbahani et al., 2015; Carrasco et al., 2015; Yousefi et al., 2019).

Diversas técnicas são empregadas para extração de óleos essenciais, como, prensagem a frio, extração por refluxo de aquecimento (HRE), extração supercrítica. Contudo, métodos de destilação à vapor e hidrodestilação, como já citados anteriormente, são as técnicas mais comumente empregadas (Chouhan et al., 2020). Métodos cromatográficos como cromatografia em fase gasosa (CG) e a cromatografia sólido-líquido (CSL) e técnicas espectroscópicas como a espectrometria de massas (EM), infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) podem ser utilizados para a análise e identificação dos constituintes. Nesse sentido, devido às propriedades de volatilidade e polaridade dos constituintes presentes nos óleos, a técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada à detector de massas (CG-EM), juntamente com a determinação do índice de Kovats, índice de retenção linear e tempo de

retenção relativo, é considerada a técnica padrão-ouro para misturas mais complexas de produtos voláteis (Rubiolo et al., 2010; Vunda, 2011).

Os óleos essenciais podem ser sintetizados em todos os órgãos vegetais (botões florais, folhas, sementes, frutos, galhos/ramos, raízes, lenho ou cascas), sendo secretados e armazenados em estruturas secretoras específicas e altamente especializadas como tricomas glandulares, cavidades e canais/dutos de resina (Bakkali et al., 2008; Donato et al., 2020; Li et al., 2020).

Alguns fatores bióticos e abióticos têm grande influência na composição química e no rendimento dos óleos essenciais, incluindo a genética das plantas bem como alguns fatores estressantes como estresse hídrico, excesso de luz, pragas e ataque de predadores. Ainda que essa diferença de fatores prevaleça, é possível que os óleos essenciais apresentem uma semelhança na composição química e análise quantitativa de uma planta pertencente a mesma família botânica (Silvestre et al., 2019).

Cerca de 60 famílias botânicas, são caracterizados pela produção de óleos essenciais, como, por exemplo, Alliaceae, Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Poaceae e Rutaceae (Carson; Hammer, 2011). Aproximadamente 3000 óleos essenciais são explorados pelas indústrias e, destes, 300 possuem um valor agregado às indústrias alimentícias, farmacêuticas, sanitárias, cosméticos, perfumes e agrônômicas (Stanojevic et al., 2015; Castro et al., 2017; Tariq et al., 2019; Yousefi et al., 2019).

1.2 Funções biológicas dos óleos essenciais nas plantas

Por um longo tempo, os óleos essenciais foram considerados como um “desperdício” fisiológico (Simões; Spitzer, 2004), e até mesmo, como um resíduo do metabolismo vegetal (Gang, 2004). A síntese desses compostos tem uma grande importância nas plantas e, nesse sentido, inúmeras hipóteses foram levantadas ao longo dos anos para explicar tais fatos. Assim, a comprovação que se tem é que os óleos essenciais exercem importantes funções na fisiologia vegetal. Embora, mesmo

não sendo requeridos para o processo do metabolismo primário, esses compostos são fundamentais para a manutenção da espécie (Gang, 2005).

Os óleos essenciais possuem um papel importante na natureza, na defesa das plantas contra seus inimigos naturais, como os herbívoros (Bakkali et al., 2008), exercendo funções nas interações entre planta-planta, e planta-inseto (Glinwood; Ninkovic; Pettersson, 2011). Estudos indicam um mecanismo de sinalização imediata desses óleos dentro da planta. Nesse sentido, devido ao ataque desses herbívoros ou patógenos, as plantas liberam substâncias químicas capazes de desempenhar papéis importantes no comportamento e nas interações das plantas. Esses compostos orgânicos voláteis liberados auxiliam as plantas a se adaptarem ao estresse abiótico, colaborando para a termotolerância e remoção de espécies reativas de oxigênio (Glinwood; Ninkovic; Pettersson, 2011).

Esses metabólitos pertencentes aos óleos exercem diferentes funções no vegetal. Além da proteção contra o ataque de herbívoros e microrganismos, destacam-se pela inibição da germinação, atração de polinizadores, proteção contra perda de água (Santos et al., 2004) e atração de disseminadores de sementes, facilitando assim a perpetuação das plantas (Gang, 2005; Bakkali et al., 2008; Rehman et al., 2016; León-Méndez et al., 2019).

O papel desses compostos voláteis entre plantas é bem discutido na literatura. Por exemplo, compostos voláteis terpênicos como linalol, farneseno e *E*-nerolidol após a alimentação de lagartas, liberados por mudas de milho, auxiliam as vespas parasitas femininas *Cotesia marginiventris* (Cresson) a localizar seus hospedeiros. Outro exemplo é da espécie *Cuscuta pentagona* Engelm, que utiliza compostos voláteis de espécimes de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e trigo (*Triticum aestivum* L.) para localizar seu hospedeiro (Huang; Osbourn, 2019).

Adicionalmente, outras atividades também são citadas para alguns compostos presentes nos óleos essenciais, como é o caso da atividade alelopática sobre a germinação de sementes e no crescimento de plântulas. Em estudos realizados com óleos essenciais de *Schinus molle* L., demonstraram que este causou a inibição da germinação da radícula de *Triticum aestivum* L. (Zahed et al., 2010). De natureza

igual, verificou-se atividade inibitória do óleo de *Eucalyptus camaldulensis* Denhnh. e *Lantana camara* L. sobre a germinação de *Amaranthus hybridus* L. (Verdeguer; Blázquez; Boira, 2009).

1.3 Rota Biossintética

A diversidade de metabólitos primários e secundários é produzida pelas plantas com importantes funções para o seu crescimento e desenvolvimento. Entre esses metabólitos, terpenos ou terpenoides constituem uma vasta classe e com uma grande variedade estrutural presente nos produtos naturais, com cerca de 80.000 entidades citadas até o momento, dentre eles, inclui organismos vivos e as plantas. São classificados em hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) (Nagegowda; Gupta, 2020).

Os terpenos são basicamente hidrocarbonetos oriundos a partir de unidades de isopreno (Figura 1) de cadeia aberta ou cíclica, classificados pelo número de unidades de cinco carbonos (C_5H_8) presentes em sua estrutura básica (Mahmoud; Croteau, 2002; Oz et al., 2015).

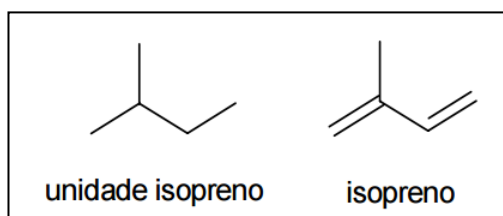


Figura 1: Unidade básica de formação dos terpenos

Em 1880, a palavra “terpenos” foi designada pela primeira vez por Kekulé para nomear compostos $C_{10}H_{16}$ encontrados na terebintina. Alguns anos depois, em 1887, entrou em vigor a “regra do isopreno” adotada por Wallace, onde sugeriu a formação dos terpenos por duas ou mais unidades de isopreno. Por conseguinte, Leopold Ruzicka no ano de 1950, propôs uma nova regra biogenética ao isopreno, que consiste em estruturas conhecidas dos isoprenoides, monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. Assim, a rota do mevalonato foi desvendada através da elucidação da biossíntese do colesterol e do ergosterol, chamada de via única da biossíntese de

terpenos. Logo, a partir de desequilíbrio encontrado na rota do mevalonato, avaliou-se a condensação de D-gliceraldeído-3-fosfato e piruvato ativado por acetaldeído, com conseqüente ligação cabeça-cabeça, pelo qual resulta na síntese de 1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato (DOXP), como o primeiro precursor desta nova via chamada de desoxixilulose fosfato/metileritritol fosfato (Zuzarte; Salgueiro, 2015).

Os terpenos formam-se através de duas importantes vias, a via do acetato/mevalonato destacando-se como via principal (Dewick, 2009). A rota do ácido mevalônico ocorre no citoplasma e, nos cloroplastos, ocorre a via deoxixilulose fosfato/metileritritol fosfato (Ma et al., 2019). Inicialmente, na rota do ácido mevalônico ocorre a reação de três moléculas de acetil-CoA, que formam o ácido mevalônico, resultando no pirofosfato de isopentenila (PIP), após sofrer reações de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação, constituindo a unidade básica na construção dos terpenos. Outra forma de ocorrência do PIP se dá através da rota do desoxixilulose fosfato/metileritritol fosfato, na qual três átomos de carbonos derivados do piruvato e gliceraldeído-3-fosfato combinam-se entre eles e é convertido em PIP, a partir do intermediário da glicose. Dessa forma, esse composto é transformado em seu isômero difosfato de dimetilalina (DDMA), o qual é sintetizado pela rota desoxixilulose fosfato/metileritritol fosfato de ocorrência nos cloroplastos, com grupamento de saída o oxigênio-pirofosfato (OPP). Após ocorre a dimerização, através da protonação do seu oxigênio e, formação do carbocátion alélico, formando o difosfato de geranila (Dewick, 2009).

Portanto, o PIP e seu isômero formam as principais unidades pentacarbonadas no desenvolvimento dos terpenos. Eles combinam-se entre si, para formar moléculas maiores. Para a formação dos monoterpenos o PIP e o DDMA se condensam para formar o difosfato de geranila, composto formado de 10 átomos de carbono. O difosfato de geranila, pode então reagir com outra molécula de PIP, e formar o difosfato de farnesila, composto formado por 15 átomos de carbono e precursor dos sesquiterpenos. E por fim, o difosfato de farnesila se liga a outra molécula de PIP, formando assim, o difosfato de geranilgeranila, composto com 20 átomos de carbono (Figura 2) (Dewick, 2009, Nagegowda; Gupta, 2020).

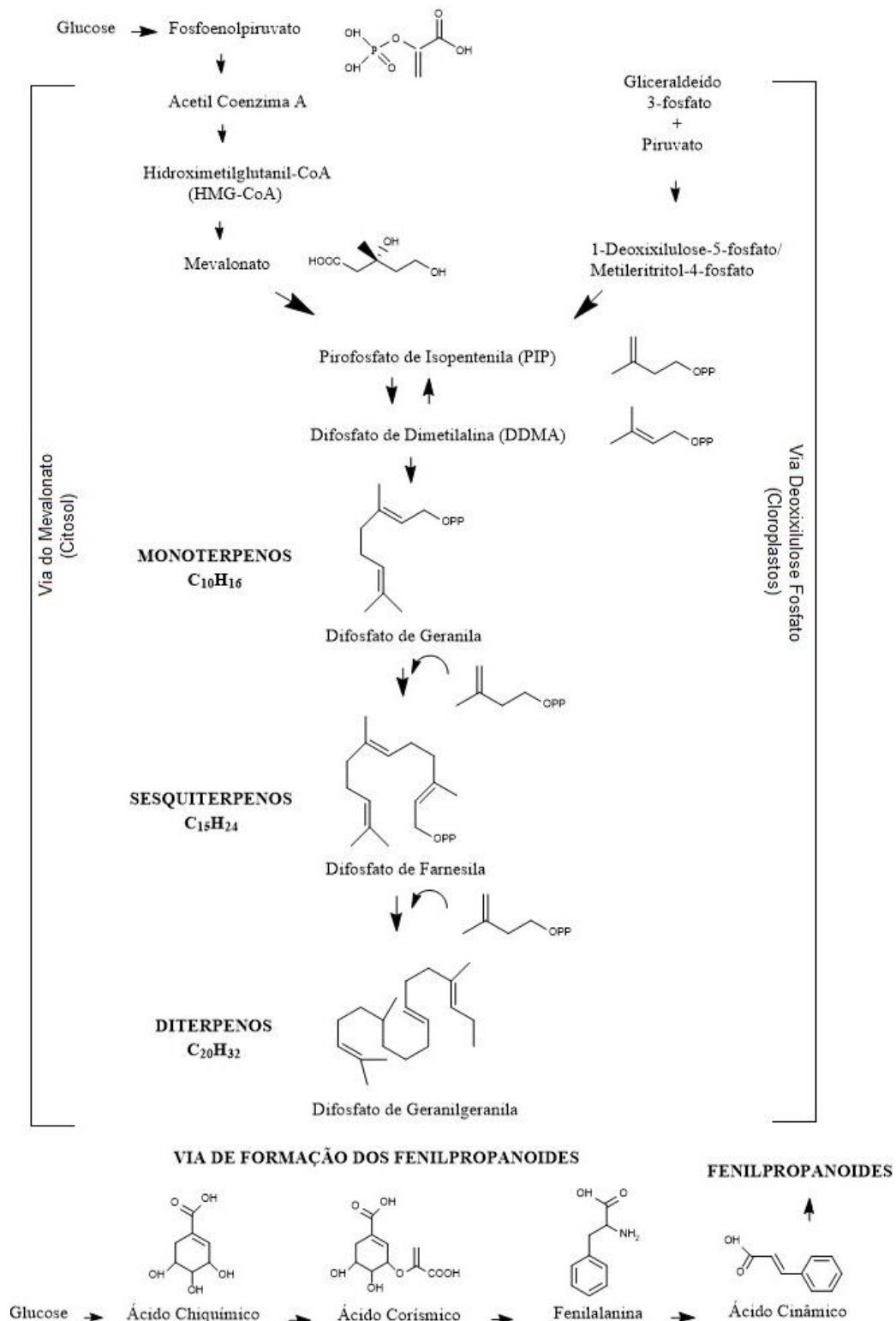


Figura 2. Representação esquemática da biossíntese de terpenos e fenilpropanoides em plantas. Adaptado de Zuzarte e Salgueiro (2015).

Os fenilpropanoides, constituem um importante grupo de metabólitos, formados a partir da via do ácido chiquímico responsáveis pela reprodução e defesa das plantas

(Irani et al., 2019; Zhang et al., 2020). Deriva do aminoácido fenilalanina que, a partir de uma reação catalisada por L-fenilalanina amonialiase, é convertido em ácido cinâmico (Figura 2) (Sá et al., 2014). Estruturalmente, os fenilpropanoides são constituídos por um anel aromático unido a uma cadeia de três carbonos (Bravo, 1998). Esse grupo de metabólitos compreende uma série de estruturas que por ações de enzimas e complexos enzimáticos, por sua vez provocam condensação, ciclização, aromatização, hidroxilação, glicosilação, acilação, pré-alquilação, sulfatação e reações de metilação específicas (Noel; Austin; Bomati, 2005). Ainda, o eugenol e isoeugenol, compostos voláteis, podem ser transformados a partir de alguns intermediários formados através de acetato de coniferil catalisados por eugenol sintase e isoeugenol sintase (Koeduka et al., 2006). Por fim, alguns compostos ainda podem gerar metileugenol e isometileugenol, por sofrer metilação, e assim sucessivamente (Dudareva et al., 2006).

1.4 Atividades biológicas dos óleos essenciais

Diversas atividades biológicas de óleos essenciais têm sido estudadas ao longo dos anos. Efeito bactericida, virucida, fungicida, antiparasitário, inseticida, anti-inflamatório, anticâncer, antioxidante e em doenças cardiovasculares e diabetes foram reportados (Cabral et al., 2015; Sá et al., 2015; Boukaew; Prasertsan; Sattayasamitsathit, 2017; Tariq et al., 2019; Mou et al., 2021; Silva et al., 2021; Nickavar; Malekitabar, 2022; Saikia et al., 2022). Apesar dos óleos apresentarem uma grande variedade de atividades biológicas, o interesse pela indústria farmacêutica, cosmética e de alimentos é destacado pelas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes (Sá et al., 2015; Carvalho; Estevinho; Santos, 2016; Orhan-Yanikan et al., 2019; Zhu et al., 2020b; Císarova et al., 2020).

Um aspecto que deve ser considerado é a utilização dos óleos essenciais na indústria cosmética, desde os tempos antigos, com importância para a saúde, beleza e bem-estar. Nas últimas décadas, a preocupação com possíveis riscos para a saúde humana com a utilização de componentes sintéticos como é o caso dos parabenos, utilizados como conservantes em produtos cosméticos, se torna relevante o uso de compostos naturais (Carvalho; Estevinho; Santos, 2016; Cheng et al., 2020).

Outro fator importante destacado pela utilização dos óleos, é que são moléculas com a capacidade de atuar como quimiossensibilizantes (exemplo timol), com objetivo de potencializar o efeito quando associado a outra substância, aumentando, dessa forma, a eficácia do produto, com menor toxicidade, genotoxicidade e a redução de dosagens consideráveis quando comparado com os óleos individuais (Ahmad et al., 2013; Raut; Karuppayil, 2014).

De uma maneira geral, embora sejam uma matriz complexa, as atividades biológicas de um óleo essencial costumam ser atribuídas a dois ou três compostos majoritários. Contudo, pesquisas evidenciaram que sinergismo ocorre e pode estar relacionado à presença de compostos minoritários e majoritários, atuando assim de forma combinada, potencializando o efeito do óleo quando comparados aos compostos isolados (Ribeiro-Santos et al., 2017; Donato et al., 2020).

1.4.1 Atividade anti-inflamatória

A inflamação é uma reação dos tecidos vascularizados frente a uma lesão ou dano, que se dá pela saída de líquidos e de células do sangue para o interstício, propiciando ativação de alguns mecanismos para dar início ao processo de cura no tecido lesado (Elsayed et al., 2014). Envolve componentes celulares e moleculares, sendo uma resposta inespecífica frente a uma agressão específica. Vermelhidão, calor, inchaço e dor são algumas das características mais evidenciadas nesse processo (Elgorash; McGaw, 2019). A resposta inflamatória pode ser aguda (rápida) ou crônica (longa). Na fase aguda, há acúmulo de mediadores inflamatórios e glóbulos brancos, aumentando o fluxo sanguíneo e a permeabilidade vascular. Em seguida a resposta inflamatória crônica ocorre de forma despercebida, sem sinais e sintomas aparentes e muitas vezes é negligenciada até que a doença se torne clinicamente aparente (Liu et al., 2021). Nesse sentido, a redução ao dano tecidual através da regulação ou modulação a resposta inflamatória ou imunológica, pode ser atribuída a substâncias com a capacidade de inibir a migração celular ou até mesmo a produção de citocinas pró-inflamatórias envolvidas no processo de recrutamento celular (Melo et al., 2011).

Muitos mediadores inflamatórios resultam de eventos vasculares que estão presentes na resposta inflamatória. Estes, por sua vez, agem em apenas um ou mais receptores específicos que estão presentes na membrana de diferentes tipos de células. Enzimas específicas são as responsáveis pela degradação de grande parte dos mediadores no sítio da síntese (Ansar; Ghohs, 2016). Então, diversos mediadores químicos se fazem presentes nesse processo, com grande importância, dentre eles, histamina, bradicinina, citocinas, leucotrienos, quimiocinas, entre outros (Liu et al., 2021).

Durante a inflamação, os macrófagos ativados são capazes de produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies de nitrogênio reativo (RNS) induzindo a oxidação de ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. A oxidação de ácidos graxos poli-insaturados gera aldeídos reativos que podem difundir em toda a célula (Gupta et al., 2021).

Desta maneira, doenças inflamatórias crônicas como asma, artrite reumatoide, esclerose múltipla, doença inflamatória intestinal e psoríase, doenças cardiovasculares e metabólicas, podem ser desencadeadas se não controladas, comprometendo o manejo destas (Nguyen et al., 2020). Portanto, a redução no recrutamento dos leucócitos, com tratamentos adequados, como o uso de substâncias ou fármacos, representa uma interessante alternativa terapêutica para o tratamento dessas doenças (Kunnumakkara et al., 2018).

Sendo assim, muitas substâncias de origem sintética são utilizadas na estratégia terapêutica; contudo irritação gastrointestinal, aumento do risco de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral, são alguns dos diversos efeitos colaterais associados a essas substâncias observadas nesse âmbito (Nguyen et al., 2020). Portanto, o emprego de plantas medicinais e na medicina tradicional são uma alternativa no tratamento dessas desordens inflamatórias (Lui et al., 2016).

Relatos da literatura indicam propriedades anti-inflamatórias para óleos essenciais por diferentes mecanismos de ação (Ascari et al., 2019). Por exemplo, a atividade antiedematogênica avaliada pelo método de edema de pata de rato induzido por carragenina foi observada para o óleo essencial *Artemisia sieberi* (Pishgahzadeh;

Shafaroodi; Asgarpanah, 2019). Os óleos essenciais de *Bunium incrassatum* e *Bunium alpinum* demonstraram efeito inibitório através do método de desnaturação proteica (albumina) (Hayet; Hocine; Meriem, 2017). O óleo das folhas de *Cinnamomum glanduliferum* indicaram uma redução significativa da atividade da COX-2 e da concentração sérica de PGR2 (Azab; Jaleel; Eldahshan, 2017). Da mesma forma, o óleo essencial de *Zingiber officinale* demonstrou efeito anti-quimiotático *in vitro* e *in vivo* a partir da estimulação por caseína (Melo et al., 2011). Para compostos monoterpênicos (1,8-cineol), sesquiterpênicos (farnesol) e fenilpropanoides (eugenol) isolados também é descrito efeito anti-inflamatório (Kim et al., 2003; Sá et al., 2013; Sá et al., 2015; Arigesavan; Sudhandiran, 2015) Os óleos essenciais de *Bunium incrassatum* e *Bunium alpinum* mostraram um efeito inibitório através do método de desnaturação proteica (albumina) (Hayet; Hocine; Meriem, 2017). Nesse sentido, o óleo das folhas de *Cinnamomum glanduliferum* (Wall.) Meisn. indicaram uma redução significativa da atividade da COX-2 e da concentração sérica de PGR2 (Azab; Jaleel; Eldahshan, 2017). Da mesma forma, o óleo essencial do gênero *Zingiber officinale* demonstrou efeito anti-quimiotático *in vitro* e *in vivo* a partir da estimulação por caseína (Melo et al., 2011).

1.4.1.1 Atividade anti-quimiotática

Leucócitos polimorfonucleares predominam na fase inicial no processo inflamatório, com conseqüente migração da circulação sanguínea ou local de armazenamento até o local da injúria. Esse mecanismo pelo qual ocorre o processo migratório de células é denominado de quimiotaxia. Agentes quimiotáticos como citocinas e ativação de células endoteliais agem na regulação desse processo (Wedepohl et al., 2012). Estudos evidenciam que produtos de origem vegetal como, *Asplenium serra* Langsd. & Fisch., *Didymochlaena truncatula* (Sw.) J. Sm., *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand, apresentam mecanismos com capacidade de inibição da migração leucocitária, favorecendo múltiplas descobertas relacionadas a atividade anti-inflamatória na defesa contra microrganismos patogênicos (Andrade et al., 2011; Ramirez et al., 2011; Barros et al., 2013; Andrade et al., 2014; Dresch et al., 2014).

Uma das formas de avaliar a migração leucocitária de forma *in vitro* é pelo método da câmara de Boyden que avalia a quimiotaxia ou anti-quimiotaxia de uma determinada substância. Na quimiotaxia, ocorre a migração de inúmeras células (leucócitos) através de um filtro quando estas são adicionadas no compartimento inferior da câmara, no segundo caso, a anti-quimiotaxia, no compartimento superior, é acrescentado um composto de carácter anti-inflamatório a ser avaliado, impedindo assim o processo de migração dessas células (Entschladen et al., 2005).

1.4.1.2 Atividade antiedematogênica

Além do processo quimiotático, o ensaio de edema de orelha avalia a atividade anti-inflamatória tópica de substâncias e fármacos, sendo um método que permite verificar a atividades de compostos no edema induzido por agentes irritantes (Gàbor, 2000). Assim, estudos de óleos essenciais são descritos na literatura com potencial antiedematogênico que se dá por meio do mecanismo da avaliação pela aplicação do óleo de cróton em um processo inflamatório agudo (Boukhatem et al., 2014). O composto 12-o-tetraanoilforbol-13-acetato (TPA) está presente no óleo de cróton, como principal agente irritante. Desta forma, o TPA ativa a proteína quinase C (PKC), que, por conseguinte, ativa a fosfolipase A2 (PLA2), levando a um aumento de fator de ativação plaquetária e ácido araquidônico. Esses eventos ativam alguns processos de permeabilidade vascular, vasodilatação, migração de leucócitos polimorfonucleares, liberação de histamina e serotonina (Wang et al., 2001).

1.4.2 Atividade antioxidante

espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), assim como os radicais de superóxido, hidróxido e óxido nítrico, podem danificar o DNA levando à oxidação de lipídios e proteínas nas células. As EROS, por sua vez, estão envolvidas em diversas enfermidades, como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e doenças inflamatórias, devido a um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e o sistema antioxidante do organismo (Xu et al., 2017).

Substâncias com efeitos antioxidantes possuem a capacidade de prevenção e retardamento da oxidação de substratos oxidáveis, reduzindo a velocidade de

oxidação e prevenção da formação de radicais livres (Boukhris et al., 2015; Saeidnejad; Rajaei, 2015; Fierascu et al., 2018). Nesse sentido, essas substâncias atuam por diferentes mecanismos, dentre eles, sequestro de radicais livres, doação de hidrogênio, inibição de peroxidação lipídica e decomposição de peróxidos (Luís et al., 2016; Ud-Daula et al., 2016; Dos Santos et al., 2019). Destaca-se que o emprego de diferentes métodos *in vitro* para avaliar a propriedade antioxidante de produtos naturais são de fundamental importância, a fim de possibilitar uma alternativa para o uso em produtos como, por exemplo, na indústria alimentícia (Fierascu et al., 2018).

No decorrer dos anos, o aumento pelo interesse em novos antioxidantes naturais ganha destaque na pesquisa devido a descoberta de compostos com baixa toxicidade, quando comparados com os antioxidantes sintéticos, responsáveis por desencadear doenças (Krishnaiah; Sarbatly; Nithyanandam, 2011; Cansian et al., 2015). Nesse contexto, entre as substâncias com esse potencial farmacológico, podemos destacar os óleos essenciais e seus produtos isolados, importantes alvos nessa busca da investigação, devido ao seu potencial na indústria farmacêutica, cosmética e na alimentícia. Estudos realizados com óleos essenciais evidenciam que as espécies de *Vitex Angus-castus*, *Eucalyptus globulus* e *Muscadinia rotundifolia* apresentam potencial antioxidante (Asdadi et al 2015; Harkat-Madouri et al., 2015; Georgiev et al., 2019). Além disso, outro exemplo desse potencial foi observado para o produto isolado espatulenol, descrito no estudo de Moreira et al., 2017.

Na resposta inflamatória, as células que migram para o local da injúria sofrem uma “explosão respiratória” devido ao aumento da quantidade de oxigênio no tecido lesado, com consequência do aumento da produção e liberação de espécies reativas de oxigênio. Essas células liberam mediadores, que em associação à presença de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) estimulam cascatas de transdução de sinal e alteram os fatores de transcrição, tais como NF-KB, mediadores de reações vitais do estresse celular, levando a expressão de citocinas pró-inflamatórias COX-2 e iNOS. As ROS e RNS são indispensáveis no mecanismo de defesa do hospedeiro, pois são gerados em fagócitos, a fim de neutralizar organismos invasores. No entanto, a evolução para problemas mais graves, se dá através desses metabólitos gerados na inflamação juntamente com o estresse oxidativo por um longo período, que por sua vez, acabam prejudicando o

tecido saudável, sendo os responsáveis por danos nos locais inflamados (Miguel, 2010a; De Lavor et al., 2018). Portanto, a neutralização de mediadores, como as espécies reativas de oxigênio que desencadeiam o processo inflamatório, por antioxidantes e sequestradores de radicais livres, podem levar a uma diminuição da inflamação (Foe et al., 2016).

1.4.2.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Os óleos essenciais são importantes agentes no combate aos danos oxidativos causados por radicais livres, pois além de eliminá-los, eles também evitam processos ainda mais severos, como disfunção cerebral, câncer e doenças cardíacas que são provenientes desses danos que podem ser causados por radicais livres (Miguel, 2010a).

Um dos produtos secundários da peroxidação lipídica é o malondialdeído (MDA), formado após a exposição com reagentes de espécies reativas de oxigênio e radicais livres, sendo assim muito útil na avaliação do dano oxidativo (Yilmaz et al., 2007). Dessa forma, esse ensaio avalia produtos finais da peroxidação lipídica, inibindo, assim, a peroxidação lipídica presente em uma substância. O produto final formado nesse processo, chamado de malondialdeído, forma-se através da reação com o ácido tiobarbitúrico em pH ácido, em altas temperaturas com absorção entre 532-535 nm, formando um cromóforo de cor rósea (Silva; Borges; Ferreira, 1999; Miguel, 2010a).

No entanto, mais tarde, outros pesquisadores relataram que outros produtos oriundos da oxidação lipídica também poderiam estar envolvidos na reação com ácido tiobarbitúrico como aldeídos insaturados (por exemplo, 4-hidroxiálquenos) e vários outros precursores não identificados dessas substâncias (Fernandez et al., 1996; Fogaça; Sant'ana, 2009).

1.4.2.2 Reação com 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH)

O teste com 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) é frequentemente utilizado para determinar a capacidade antioxidante de óleos essenciais (Domingues; Santos, 2019).

É um método simples e altamente sensível. Devido a sua estabilidade, o DPPH é comercializado na forma de radical, obtendo uma absorção máxima em 517 nm. O método baseia-se na estabilização da molécula, através da doação de um átomo de hidrogênio para o DPPH, tornando uma molécula mais estável, ou seja, o DPPH possui um radical livre estável com três anéis aromáticos essenciais para estabilizar a carga eletrônica do radical DPPH, quando há presença de um antioxidante, a substância sequestra esse radical livre e doa um átomo de hidrogênio para o DPPH, deixando a molécula estável, alterando sua coloração de roxo (púrpura) a amarelo (Miguel, 2010b).

É sabido que esse processo ocorre por dois diferentes mecanismos, resultantes da neutralização ou redução de um radical. Uma reação de rápida transferência de elétrons da amostra para o radical DPPH e uma reação lenta, que podem levar de segundos a minutos, através da transferência de um átomo de hidrogênio (Xie; Schaich, 2014; Oliveira, 2015). Esse método também é muito utilizado para determinar a capacidade antioxidante de extratos e substâncias isoladas como, por exemplo, fenilpropanoides, fenólicos totais, flavonóis, compostos fenólicos, antocianinas, antocianidinas entre outros (Borges et al., 2001).

1.4.3 Atividade antitumoral

O câncer se caracteriza por ser uma doença causada pelo crescimento desordenado de células e propagação descontrolada no corpo, com formas anormais das próprias células que perderam sua identidade celular (Inca, 2020).

Dentre os tipos de câncer, destaca-se o câncer de mama, que se tem tornado um grande problema de saúde entre mulheres. A evolução da doença ocorre de diferentes formas, podendo ser mais lenta ou até mesmo com um desenvolvimento mais rápido (Fang; Cao; Shen, 2020). O número de mortes em 2019 para mulheres foram cerca de 18.068 e a estimativa de novos casos para 2021, são mais de 66.000 (Inca 2021).

Já o câncer do colo do útero, conhecido como câncer cervical, é causado por uma infecção persistente por alguns tipos do Papilomavírus Humano – HPV

(chamados de tipos oncogênicos) (Bedell et al., 2020). Na maioria das vezes não causa doença, embora seja um vírus muito frequente por ser uma infecção genital. Por outro lado, dependendo do caso, a evolução pode conduzir a algumas alterações celulares. O exame preventivo também chamado de Papanicolau é realizado após a ocorrência dessas alterações celulares, e são curáveis na maioria dos casos (Inca 2020). Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2020), o número de mortes em 2019 para mulheres foram cerca de 6.596 e a estimativa de novos casos, são mais de 16.710, sendo o terceiro tumor maligno mais frequente na população feminina e a quarta causa de morte por câncer no Brasil.

Durante o desenvolvimento do câncer, uma série de processos e reações estão envolvidos para o desencadeamento da proliferação celular. Estudos apontam que uma delas é o desenvolvimento de um processo inflamatório crônico, identificando a participação de leucócitos no tecido tumoral (Tarab-Ravski et al., 2022). Na via intrínseca, eventos genéticos estão associados ao desenvolvimento do câncer, ativando e desativando genes responsáveis pela promoção ou supressão tumoral. Mediadores inflamatórios, como as interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL6) e TNF- α são produzidas a partir de células modificadas que, por sua vez, formam um microambiente inflamatório. Fatores extrínsecos, infecciosos ou inflamatórios, também podem estar relacionados com o aumento do câncer, como, por exemplo, doença inflamatória intestinal (Zhu et al., 2011). A proliferação e sobrevivência celular estão envolvidas tanto no reparo tecidual quanto na carcinogênese, bem como a migração de células, que são modulados por fatores de crescimento, citocinas e sinais inflamatórios e de angiogênese (Riss et al., 2006). Assim, como células inflamatórias atuam no reparo tecidual, as células malignas geram fatores que perpetuam a inflamação, gerando as mesmas substâncias do processo inflamatório, dentre elas citocinas e prostaglandinas, favorecendo, assim, a proliferação celular (Barreto et al., 2011).

Outro fator importante a ser ponderado refere-se ao fato de que a massiva produção de espécies reativas de oxigênio (incluindo ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (HO \cdot) e per-hidroxilo radical (HOO \cdot) e não-radical de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e espécies reativas de nitrogênio (incluem óxido nítrico ($\cdot NO$) e peroxinitrito (ONOO $^-$)), são geradas no corpo como uma consequência da bioenergética

mitocondrial, metabolismo oxidativo e função imune (Roleira et al., 2015). Nesse sentido, a influência de espécies reativas no estado redox, desempenha um importante papel nas fases do ciclo celular G0/G1 para S e G2 para M (Menon; Goswami, 2007). Portanto, é evidente que essas alterações na homeostase redox endógena levam a um desequilíbrio constante, desencadeando a proliferação e morte celular, sendo um problema crítico em doenças proliferativas como o câncer (Kabeer et al., 2019).

Diversas espécies de plantas medicinais são utilizadas em terapias alternativas contra diferentes tipos de câncer (Sharma et al., 2021). Quimioterápicos conhecidos como vincristina, vimblastina, etoposídeo, tenoposídeo e taxol foram desenvolvidos a partir de produtos naturais para o tratamento do câncer (Viegas; Bolzani; Barreiro, 2006).

A segurança, qualidade e eficácia dos medicamentos à base de plantas são um dos desafios mais importantes para a pesquisa na medicina tradicional. Os ensaios de citotoxicidade estão baseados na avaliação da interferência induzida por agentes químicos (e.g. tensoativos), nos processos metabólicos celulares e na investigação a respeito da maneira com que esses processos podem vir a intervir no crescimento/multiplicação celular, ou até mesmo culminar na morte celular, reduzindo, assim o número de células viáveis se comparado com culturas controles não-tratadas (Freshney, 1994).

1.5 Considerações sobre a família Piperaceae

Piperaceae constitui uma grande família de angiospermas que abrange cerca de 3700 espécies de ervas, arbustos, pequenas árvores e trepadeiras distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Regasini et al., 2008; Christenhusz; Byng, 2016). Compreende cinco gêneros *Verhuellia*, *Peperomia*, *Piper*, *Manekia* e *Zippelia* (Schubert et al., 2012), contudo *Piper* L. e *Peperomia* Ruiz & Pav. são os gêneros mais representativos desta família (Quijano-Abril; Callejas-Posada; Miranda-Esquivel, 2006).

As espécies de Piperaceae são muito conhecidas economicamente por desempenhar um importante papel em mercados de especiarias em pimenta no mundo. Um exemplo é o fruto maduro da *Piper nigrum* que apresenta uma fonte de pimenta-branca e o seu fruto verde, pimenta-preta. Ademais, algumas espécies de *Piper* são utilizadas na medicina popular para tratar doenças, enquanto as espécies de *Peperomia* são usadas como ornamentos (Santos et al., 2014). Na China e no Sudeste Asiático principalmente, essas plantas são muito utilizadas na medicina tradicional, como temperos domésticos, aditivos e condimentos alimentares (Wang et al., 2017).

A família Piperaceae é conhecida pela produção de óleos essenciais (Tétényi et al., 1987). Nessa família, são observados monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides como apiol, dillapiol, miristicina, safrol (Parmar et al., 1997; Dos Santos et al., 2001).

Também, algumas atividades biológicas relacionadas aos óleos essenciais de espécies desta família são descritas na literatura como, antioxidantes, antifúngicas, antibacteriana, anti-colinesterase, citotoxicidade, antimicrobiano, antileishmania e antitripanosoma (Da Silva et al., 2014; Dos Santos et al., 2019; Leal et al., 2019; Li et al., 2020; Gomes et al., 2021).

Além disso, há relatos na literatura com extratos de plantas indicando possíveis atividades biológicas para algumas espécies desta família. Misra et al., 2009, observou efeitos anti-protozoário contra *Leishmania* para a espécie de *Piper betle*. Atividade antimalárica foi descrito por Bagatela et al., 2014 para a espécie de *Piper umbellata* L. E por fim, *Piper betle* foi eficaz contra *Toxoplasma gondi* em testes *in vitro* e *in vivo* (Leesombun et al., 2016).

1.5.1 Considerações sobre o gênero *Piper*

Dentre os representantes da família Piperaceae, destaca-se o gênero *Piper* L., com cerca de 2000 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, tradicionalmente conhecidas como “pimenta”, “pariparoba caapeba” e “falso-jaborandi” (Branquinho et al., 2017). São facilmente identificadas em campo por seus

rebentos nodosos, picos de fluorescência e pelo seu aroma típico “picante” ou aromático. As folhas podem apresentar-se como opostas, simples, sésseis ou pecioladas, com diferentes tamanhos e formas. Seus frutos são uma pequena baga ou drupa, com diferentes formas, pericarpo fino e endocarpo raramente endurecido (Da Silva et al., 2017).

Na medicina popular, são utilizadas para o tratamento de bronquite, dores intestinais, irritações e inflamação da pele e na preparação de bebidas cerimoniais (Brait et al., 2015).

Algumas espécies deste gênero como *Piper betle* (extrato), *Piper vicosanum* (óleo essencial) e *Piper umbellatum* (extrato) apresentam importantes atividades terapêuticas, entre elas, antifúngica (Nordin et al., 2014), analgésica, anti-inflamatória (Brait et al., 2015) e antitumoral (Iwamoto et al., 2015). Nesse contexto, este estudo visa a determinação da composição química e de atividades biológicas relacionadas aos óleos essenciais de *P. regnellii*, *P. gaudichaudianum*, *P. umbellatum*, *P. xylosteoides* e *P. mikanianum*, visto que destas espécies citadas, há poucos relatos na literatura para as atividades propostas.

Piper regnellii (Miq.) C. DC. conhecida popularmente como “pariparoba” é uma planta herbácea que se encontra em regiões tropicais e subtropicais do mundo (Dos Santos et al., 2015). Tradicionalmente ela é utilizada no tratamento de feridas, inchaços e irritações da pele. Ademais, extratos brutos, infusões ou emplastos de folhas e a raízes de *P. regnellii* são usadas para tratar feridas, reduzir inchaços e aliviar irritações da pele (Salehi et al., 2019). Escassos são os estudos de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. observados na literatura. Entretanto, foi verificada a presença de compostos como mircenol e anetol nos óleos voláteis de flores e folhas e, mircenol e apiol nos caules desta espécie (Dos Santos et al., 2015). Estudos com óleos essenciais dessa planta mostraram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (Constantin et al., 2001) e atividade analgésica (Andrade et al., 1998). Em trabalhos publicados anteriormente por Nakamura e seus colaboradores (2006), foi observada atividade antileishmania *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. Os extratos aquosos e hidroalcoólico desta mesma espécie apresentaram atividade

antifúngica (Pessini et al., 2005; Koroishi et al., 2008) e antibacteriana para compostos isolados contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (Pessini et al., 2003). Outro estudo, também descreve a atividade antileishmania do composto eupomatenoid-5, um neolignano isolado das folhas da mesma espécie descrita anteriormente (Vendrametto et al., 2010). Uma pesquisa foi realizada por Brambilla e seus colaboradores (2017), que verificaram atividade anti-biofilme dos extratos de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. contra *Staphylococcus aureus*.

Piper gaudichaudianum Kunth também chamada de “pariparoba” ou “jaborandi”, na medicina popular suas folhas são muito utilizadas para o alívio da dor de dente (Silva et al., 2019) e agente anti-inflamatório. As raízes frescas também são usadas como agente anti-inflamatório e para o tratamento de distúrbios hepáticos (Salehi et al., 2019). Da Silva e seus colaboradores (2021) em recente estudo, observaram que o óleo de *P. gaudichaudianum* têm efeito antibacteriano contra *S. aureus* e interferem na ação de antibióticos. Importantes efeitos citotóxicos (MTT, baseada na integridade da membrana celular), genotóxicos (ensaio de cometa e teste de micronúcleo) e mutagênicos foram observados em estudos com óleos essenciais da espécie *Piper gaudichaudianum* Kunth, relatados por Perez e seus colaboradores (2009). Sperotto e seus colaboradores (2013) reportaram que o óleo volátil induz efeitos citotóxicos significativos em *Saccharomyces cerevisiae* que estão relacionados à geração de ROS para esta espécie. A atividade antibacteriana foi relatada para *Piper gaudichaudianum* em combinação com os antibióticos amicacina e gentamicina sob LED azul, resultando em uma diminuição da MIC contra *S. aureus* e *E. coli* (Silva et al., 2019). Em outro estudo de atividade antibacteriana desta mesma espécie exibiu atividade inibitória contra patógenos bacterianos gram-positivos (*Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* e *Corynebacterium xerosis*) e gram-negativos (*Escherichia coli*) (Perigo et al., 2016). No entanto, o trabalho publicado por Poser e seus colaboradores (1994), referente a composição química do óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* Kunth mostrou a identificação de α -humuleno e β -cariofileno como compostos majoritários para esta espécie. Atividade antimicrobiana foi observada para metabólitos secundários como cromona e derivados pré-alquilados de isômeros de ácido benzoico a partir do extrato etanólico das folhas, que mostraram atividade antimicrobiana contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Candida tropicalis* (Puhl et al., 2011).

Piper umbellatum, conhecida popularmente como “caapeba”, “pariparoba”, “caapeba-do-norte”, entre outros (Arunachalam et al., 2020), é uma espécie neotropical com ampla distribuição na América Central, ilhas do Oceano Índico Ocidental, México e América do Sul (Roersch, 2010). No Brasil, encontra-se predominantemente em domínios fitogeográficos da Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica, distribuída em todas as regiões (Flora do Brasil, 2020). Na medicina tradicional, é muito usada nas formas de maceração, chá, decocção, para distúrbios gástricos como diarreia, disenteria, cólica, edema, inflamação e doenças gastrointestinais, entre outras (Arunachalam et al., 2020). Tradicionalmente é utilizada como anti-inflamatório no Brasil, para tratamento de feridas em Cuba, febre no Peru, oncocercose nos Camarões e no tratamento de feridas por várias tribos da África Ocidental (Salehi et al., 2019). A atividade antibacteriana dos óleos essenciais foi avaliada contra três patógenos Gram-positivos associados à pele (*S. epidermidis*, *S. aureus* e *C. xerosis*) e um patógeno Gram-negativo (*E. coli*) (Perigo et al., 2016). Outro estudo relacionado com propriedades antibacterianas também revelou uma forte atividade do extrato hidroetanólico de folhas de *P. umbellatum* contra *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* e *Enterococcus faecalis* (Da Silva et al., 2014). Efeitos anticancerígenos com linhagens de células tumorais humanas (melanoma, glioma, mama, pulmão, cólon, próstata) *in vitro* e anti-inflamatórios e *in vivo* através de edema de pata induzido por carragenina de extratos bruto de diclorometano também foram avaliados por Iwamoto e colaboradores (2015).

Outros estudos relatam que o óleo essencial dessa espécie exibe efeito antioxidante (Agbor et al., 2007; Rodríguez et al., 2013). Além disso, o extrato hidroetanólico desta mesma espécie demonstrou potente gastroproteção contra úlcera aguda e crônica induzida (Junior et al., 2016) e efeito anti-inflamatório no modelo de colite ulcerosa induzida pelo ácido 2,4,6-trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) (Arunachalam et al., 2020).

Para a espécie *Piper xylosteoides* são poucos os relatos na literatura relacionados às atividades biológicas. Dognini e colaboradores (2012) observaram uma fraca atividade contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) testadas. Um importante composto encontrado nesta espécie é o terpinoleno, um

terpeno que reduz a expressão da proteína AKT1 em células K562 e inibe a proliferação celular (Okumura et al., 2012; Da Silva et al., 2016).

Piper mikonianum também conhecida como “aguaxima”, “caapeba” e “periparoba”, é muito utilizada no tratamento de reumatismo e úlcera, com suas raízes sendo utilizadas para distúrbios do estômago, como diaforético e para febres intermitentes (Ricardo et al., 2017). O óleo essencial de *P. xylosteoides* mostrou excelente atividade antiparasitária contra as formas promastigotas de *L. infantum* e *L. brasiliensis* (Gomez et al., 2021). Atividade antibacteriana do óleo essencial foi avaliada por Carneiro e colaboradores (2020) individualmente e em combinação com medicamentos comerciais, contra as cepas padrão e resistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, bem como contra leveduras de *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Em um estudo descrito na literatura, os autores sugerem que esta espécie tem importância para o desenvolvimento de um agente acaricida contra o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Ferraz et al., 2010).

Diversas outras espécies deste gênero apresentam inúmeras propriedades biológicas, destacando-se atividade anti-inflamatória de óleos essenciais de *Piper vicosanum*, através de pleurisia de ratos induzida por carragenina e edema de pata de rato induzida por carragenina (Brait et al., 2015). Em um estudo realizado por Gasparetto e colaboradores (2017), foi verificar atividade antimicrobiana de óleos voláteis de *Piper cernuum* contra bactérias gram-positivas (*Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*) e Gram-negativa (*Escherichia coli*) e alguns fungos patogênicos como *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Epidermophyton floccosum* e levedura *Candida neoformans*, utilizando a técnica de diluição. Atividades anti-inflamatória (pleurisia induzida por carragenina e edema de pata de rato induzida por carragenina), anti-edematogênica e antinociceptiva foram observadas para óleos essenciais das folhas de *Piper glabratum* (Branquinho et al., 2017).

Outros ensaios como atividade antioxidante pelo ensaio de eliminação de radicais de DPPH, atividade antifúngica contra os microrganismos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* e acetilcolinesterase também foram avaliados para os óleos essenciais, obtendo resultados favoráveis para estas espécies (Da Silva

et al., 2014). Lima e seus colaboradores (2012) evidenciaram atividade anti-inflamatória através do ensaio de pleurisia induzida por carragenina para o óleo volátil na espécie de *Piper aleyreanum* C. DC.

CAPÍTULO II - Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Piper gaudichaudianum* and *Piper mikanianum*

Nota: Artigo aceito para publicação no periódico Journal of Ethnopharmacology (2022)

O texto do capítulo II, que na versão completa da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 55 – 73, foi suprimido por tratar-se de um artigo aceito para publicação. Trata-se da composição química e atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais, através do método da câmara de Boyden.

CAPÍTULO III – Biological activities of the essential oil of *Piper regnelli* (Miq.) C. DC. and *Piper xylosteoides* (Kunth) Steud.

Nota: Manuscrito a ser submetido no periódico Industrial Crops and Products (2022).

O texto do capítulo III, que na versão completa a tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 77 – 104, foi suprimido por tratar-se de um manuscrito que será submetido ao periódico *Industrial Crops and Products*. Trata-se da composição química dos óleos essenciais bem como a avaliação da atividade anti-inflamatória pelos métodos da câmara de Boyden e Edema de orelha de camundongo induzida por óleo de cróton e a citotoxicidade através do ensaio de viabilidade celular.

Dentro da literatura, muitos estudos são direcionados aos óleos essenciais pela sua grande importância na identificação de substâncias como fonte de moléculas bioativas, com importantes atividades biológicas e farmacológicas, principalmente anti-inflamatória e antioxidante, pois são considerados como potenciais fontes de produtos nas áreas alimentícias, cosmética e farmacêutica. Essas substâncias destacam-se agindo na defesa contra o ataque de herbívoros e microrganismos, além de agentes defensores contra bactérias, fungos e infestante (Ferraz et al., 2022). Nesse sentido, a família Piperaceae é uma família botânica que apresenta estudos com grande importância no reino vegetal e espécies com ocorrência no Rio Grande do Sul.

Nesse contexto, os capítulos II e III deste trabalho abordaram a análise química, bem como suas atividades biológicas como antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante de quatro espécies da família Piperaceae, a fim de contribuir para o desenvolvimento de novas alternativas eficazes na terapêutica.

As coletas das espécies foram realizadas nas cidades de Três Cachoeiras-RS e Riozinho-RS, extraídas por hidrodestilação, com rendimentos realizados em triplicata variando entre 0,1% a 0,6%. Nesse estudo, grande parte dos óleos obtidos, a sua composição química foi caracterizada pela presença de sesquiterpenos. No entanto, fenilpropanoides foram predominantes em *P. regnelli*. Compostos monoterpênicos oxigenados foram observados apenas em *P. regnelli* (Figura 3).

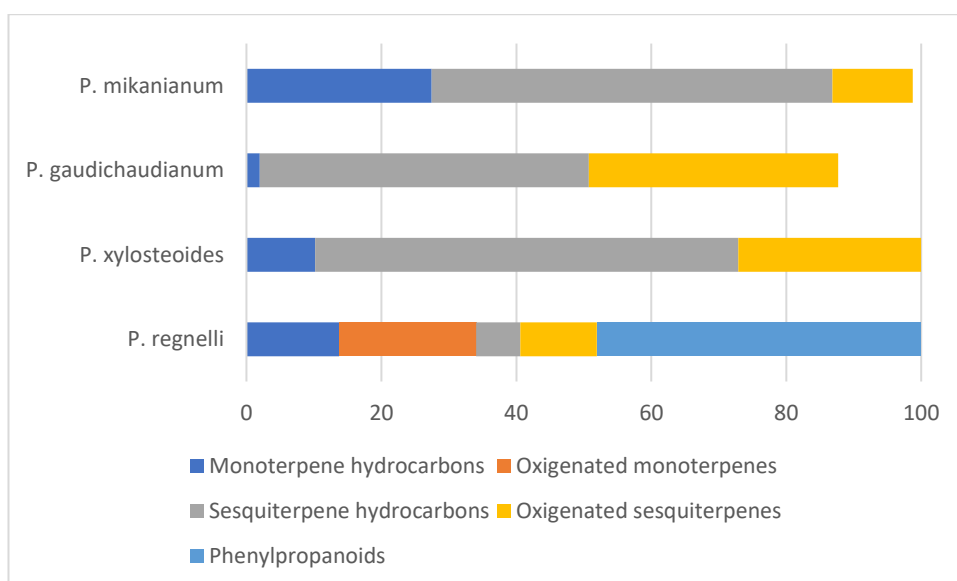


Figura 3. Porcentagem de terpenoides e compostos fenilpropanoides encontrados nas espécies de *Piper* avaliadas nesse estudo.

O óleo obtido de *Piper regnelli* mostrou predominância de fenilpropanoides, sendo apiol (35,11%) e dilapiol (12,09%) como principais constituintes (Figura 4). O composto monoterpeneo oxigenado (E)-anetol (20,30%) também foi identificado como um dos principais constituintes. Resultado similar foi verificado por Dos Santos e colaboradores (2015), os quais obtiveram dilapiol como um dos compostos majoritários nesse estudo. Na coleta de *P. xylosteoides*, os compostos spathulenol (15,83) e biciclogermacreno (8,69%) foram identificados. Resultados similares foram encontrados no estado de São Paulo, no estudo de Perigo et al. (2016) no qual o spathulenol (12,30%) foi um dos constituintes majoritários.

Com relação aos terpenos encontrados no óleo obtido de *P. gaudichaudianum* pode-se observar a presença de 26 constituintes, representando 95,49% do óleo. Contudo, compostos monoterpeneos oxigenados não foram observados nessa amostra. Os compostos β -selineno (14,02%) e viridifloreno (10,52%) foram identificados como principais componentes (Figura 4). Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de Andrade et al. (1998) e De Moraes et al. (2007), em que o β -selineno foi o sesquiterpeneo apresentado entre seus principais constituintes. O composto viridifloreno coletado em São Paulo/SP, também foi identificado na composição química no estudo de Morandim-giannetti et al. (2010).

O composto majoritário de *P. mikanianum* revelou como principal composto, o biciclogermacreno (26,30%) (Figura 4), da fração sesquiterpênica, composto pelo qual foi o principal analisado por von Poser e seus colaboradores (1994).

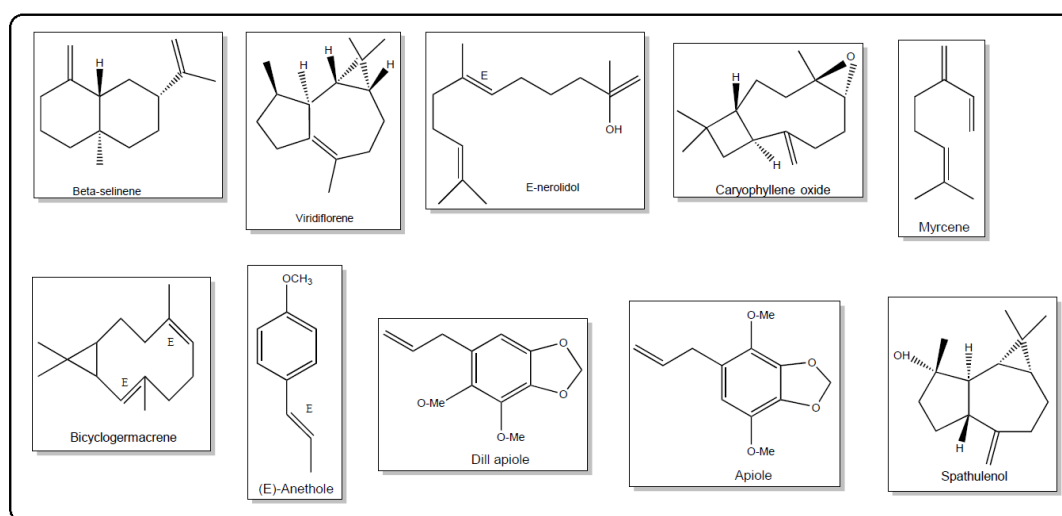


Figura 4. Componentes majoritários identificados no óleo essencial das espécies de *Piper*.

Em resumo, os principais compostos encontrados nos óleos essenciais das espécies de *Piper* foram: β -selineno, viridifloreno, E-nerolidol, óxido de cariofileno, mirceno, biciclogermacreno, E-anetol, dilapiol, apiol e espatulenol (Figura 4).

De uma forma geral, os óleos essenciais apresentam um amplo espectro de atividades biológicas (Raut; Karuppayil, 2014). Essa característica pode ser atribuída a variabilidade química entre as coletas e espécies da família Piperaceae. *Piper gaudichaudianum* foi coletado em Três Cachoeiras/RS, enquanto *P. mikanianum* foi coletado em Riozinho/RS. É sabido que inúmeros fatores influenciam na composição química e rendimento de óleos essenciais, dentre eles, variedade das plantas, condições ambientais, solo, condições de armazenamento, métodos de extração, podendo ter alterações inclusive nas atividades biológicas (Baptista et al., 2019).

Nesse sentido, uma série de processos e reações estão envolvidos na proliferação celular, fatores pelo qual desencadeiam o câncer. Dentre eles, o desenvolvimento de processos inflamatórios crônicos com a participação de leucócitos no tecido tumoral e a produção de espécies reativas de oxigênio. As células inflamatórias atuam no reparo tecidual, enquanto as malignas perpetuam na inflamação, no qual desencadeia células como citocinas e prostaglandinas, favorecendo assim a proliferação celular (Menon; Goswami, 2007). A produção de espécies reativas de oxigênio como o ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (HO \cdot), per-hidroxilo radical (HOO \cdot), não-radical de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), óxido nítrico ($\cdot NO$) e peroxinitrito (ONOO $^-$) são geradas no corpo como uma consequência da bioenergética mitocondrial, metabolismo oxidativo e função imune. Essas alterações na homeostase redox endógena levam a um desequilíbrio, podendo desencadear a proliferação e morte celular (Goetz; Luch, 2008; Roleira et al., 2015).

Nesse contexto, podemos destacar a atividade antitumoral observada na espécie de *P. regnelli*, no qual observou-se uma redução da inibição da viabilidade celular de 87,27% e 97% em linhagens celulares de SiHa e MCF-7, respectivamente, com IC_{50} de 0,20 $\mu g/mL$ para a cepa SiHa e 0,02 $\mu g/mL$ para a linhagem MCF-7. O índice de seletividade foi 3,75 em SiHa e 37,5 em MCF-7. Em *P. xylosteoides* os resultados mostraram que o tratamento induziu uma inibição de 56% e 96% na viabilidade das células SiHa e MCF-7, respectivamente, com um IC_{50} de 0,28 $\mu g/mL$ para SiHa e 0,19 $\mu g/mL$ para a linhagem MCF-7, sendo o índice de seletividade em 0,71 e 1,05 para as linhagens SiHa e MCF-7, respectivamente. Portanto, o óleo *P. regnelli* obteve efeitos citotóxicos em células de câncer uterino humano (SiHa) e

adenocarcinoma de mama (MCF7) quando comparado a células não tumorais imortalizadas de queratinócitos humanos (HaCaT), indicando um bom efeito citotóxico para esta amostra, devido ao baixo IC₅₀ de SiHa e MCF7 em relação à linhagem celular não tumoral. No estudo de Parise-Filho et al. (2012), avaliou-se a atividade citotóxica do composto dilapiol em células de fibroblastos 3T3. O composto apresentou baixos efeitos tóxicos nessas células em concentrações mais baixas, entretanto nas concentrações mais altas induziu efeitos citotóxicos significativos. De acordo com esses achados, a atividade citotóxica pode estar atribuída a presença do composto dilapiol nessa amostra.

Na inflamação, a via intrínseca ocorre por meio da ativação e desativação de genes responsáveis pela promoção ou supressão tumoral, através de eventos genéticos. Interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL6) e TNF- α são produzidos e formam um microambiente inflamatório a partir de células modificadas (Zhu et al., 2011).

A atividade anti-inflamatória foi avaliada através do método da câmara de Boyden, que determina o potencial antiquimiotáxico *in vitro* de uma substância. Quase todas as amostras apresentaram inibição significativa da migração leucocitária em relação ao controle negativo nas concentrações testadas ($p < 0,05$), exceto para *P. mikanianum* nas concentrações de 0,1 e 0,01 $\mu\text{g/mL}$ e em *P. regnelli* e *P. gaudichaudianum*, apenas na concentração de 0,1 e 0,01 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Para *P. xylosteoides* em todas as amostras inibiram significativamente a migração de neutrófilos polimorfonucleares. O mecanismo de inibição da migração de leucócitos, são um dos mecanismos anti-inflamatórios relatados relacionados aos óleos essenciais na literatura (Danielli et al., 2016). O mecanismo da inflamação aguda, como migração de leucócitos para o local da lesão, é caracterizado por vasodilatação local e aumento da permeabilidade, considerado um dos principais estágios iniciais desse evento (Estevão-Silva et al., 2014). Portanto, os óleos de *Piper* apresentam efeitos contra a migração de neutrófilos, sugerindo uma resposta a processos inflamatórios agudos. No processo antiedematogênico avaliado pelo edema de orelha induzido pelo óleo de cróton, observou-se uma leve inibição do edema de orelha até a concentração de 100 mg/kg, mas estatisticamente nenhuma diferença em relação à acetona. Já as concentrações 200 e 300 mg/kg não apresentaram redução do edema, obtendo valores estatisticamente semelhantes. Os óleos essenciais são caracterizados por serem lipofílicos ao passarem pela membrana citoplasmática como consequência afetam a permeabilidade, causando perturbações na estrutura das

camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios (Raut e Karuppaiyil, 2014). De acordo com Sinha et al. (2014), os óleos essenciais podem ser seguros em baixas concentrações, mas em altas concentrações podem ser tóxicos.

O aumento da quantidade de oxigênio no tecido lesado, se dá pela migração de células ao local da injúria, ocorrendo uma explosão respiratória durante a inflamação, aumentando a produção e liberação de espécies reativas de oxigênio. Como consequência, mediadores químicos e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio são liberados estimulando cascatas de transdução de sinal e alterando os fatores de transcrição (Miguel, 2010a; De Lavor et al., 2018). Portanto, a neutralização dessas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que desencadeiam o processo inflamatório, por antioxidantes e sequestradores de radicais livres, podem levar a uma diminuição da inflamação (Foe et al., 2016).

A avaliação da atividade antioxidante realizada através de ensaios que determinam a peroxidação lipídica e sequestro de radicais livres, apresentaram baixa atividade, nas concentrações testadas.

A inibição da peroxidação lipídica, mostrou uma inibição significativa de *P. regnelli* em relação ao controle ($p < 0,05$), exceto nas concentrações de 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados de *P. xylosteoides* mostraram que o óleo essencial inibiu significativamente em todas as concentrações testadas. Alguns trabalhos reportam que apiol e dilapiol podem ser responsáveis pelas atividades biológicas atribuídas às espécies de *Piper* (De Almeida et al., 2009; Araújo et al., 2012) por apresentarem efeitos sinérgicos com pesticidas naturais, apresentando atividade inseticida, bactericida e fungicida (Maia et al., 1998; Silva et al., 2007; Rafael et al., 2008). A atividade observada em *P. xylosteoides* pode estar atribuída ao efeito sinérgico com outros componentes presentes na amostra, como o espatulenol (15,83%) que apresenta atividade antioxidante por meio de diferentes mecanismos (Nascimento et al., 2017), juntamente com um dos principais compostos presente na amostra, o biciclogermacreno.

Em suma, diversas são as atividades biológicas relatadas para óleos essenciais, destacando-se antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. Nesse sentido, substâncias à base de produtos naturais estão sendo investigadas para, assim, diminuir riscos e obter uma maior segurança e eficácia do produto. A associação dos efeitos antitumorais, anti-inflamatórios e antioxidantes, torna-os importantes alvos na investigação de novas substâncias, com a finalidade de acelerar o alívio dos sintomas,

favorecer a cura e prevenir a propagação de doenças, além de evitar o desenvolvimento de cronicidade. Além disso, a atividade antitumoral do óleo essencial de *Piper regnelli* foi caracterizada por apresentar efeitos citotóxicos em células de câncer uterino humano (SiHa) e adenocarcinoma de mama (MCF-7), se destacando como uma espécie promissora nessa busca de novas substâncias para atividade anticâncer, obtendo resultados satisfatórios quando comparado com outras amostras.

- O óleo essencial das cinco espécies de *Piper* estudadas apresentou médias de teores variando de 0,1% a 0,6%;
- Todos os óleos em estudo apresentaram uma variabilidade química caracterizada principalmente pela presença de sesquiterpenos. Em *P. regnelli* houve predominância de fenilpropanoides e compostos monoterpênicos oxigenados foram observados nessa amostra;
- O óleo *Piper regnelli* apresentou efeitos citotóxicos em células de câncer uterino humano (SiHa) e adenocarcinoma de mama (MCF7) quando comparado a células não tumorais imortalizadas de queratinócitos humanos (HaCaT), devido ao baixo IC₅₀ da linha celular SiHa e MCF7 em relação à linha celular não tumoral;
- Todas as amostras apresentaram efeito anti-quimiotático significativo, inibindo a migração leucocitária em direção ao fator quimioatrativo;
- O ensaio anti-edematoso revelou que o óleo essencial de *P. xylosteoides* demonstrou uma leve inibição do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton até a concentração de 100 mg/kg; entretanto, estatisticamente nenhuma diferença em relação à acetona;
- No ensaio da peroxidação lipídica, realizado através do método de TBARS, as amostras testadas de *P. regnelli* e *P. xylosteoides* revelaram um baixo perfil de inibição na concentração de 500 µg/mL com 20% e 25,6%, respectivamente.

AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; OBEN, J. E.; NGOGANG, J. Y. *In vitro* antioxidant activity of three *Piper* species. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, v. 7, n. 2, p. 49-64, 2007.

AHMAD, A.; KHAN, A.; MANZOOR, N. Reversal of efflux mediated antifungal resistance underlies synergistic activity of two monoterpenes with fluconazol. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 48, p. 80-86, 2013.

ANDRADE, E. H. A.; Zoghbi, M. G. B.; SANTOS, A. S.; MAIA, J. G. S. Essential oils of *Piper gaudichaudianum* Kunth and *P. regnellii* (Miq.) C. DC. *Journal of Essential Oil Research*, v. 10, n. 4, p. 465-467, 1998.

ANDRADE, J. M. M.; ABOY, A. L.; APEL, M. A.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, J. F. M.; HENRIQUES, A. T. Phenolic composition in different genotypes of *Guabiju* fruits (*Myrcianthes pungens*) and their potential as antioxidant and antichemotactic agents. *Journal of Food Science*, v. 76, n. 8, p. 1181-1187, 2011.

ANDRADE, J. M. M.; PASSOS, C. dos S.; DRESCH, R. R.; KIELING-RUBIO, M. A.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. Chemical analysis, antioxidant, antichemotactic and monoamine oxidase inhibition effects of some pteridophytes from Brazil. *Pharmacognosy Magazine*, v. 10, p. S100–S109, 2014.

ANSAR, W.; GHOSH, S. Inflamação e Doenças Inflamatórias, Marcadores e Mediadores: Papel do PCR em algumas doenças inflamatórias. *Biology of C Reactive Protein in Health and Disease*, p. 67-107, 2016.

ARAUJO, M. J. C., CAMARA, C. A. G., BORN, F. S., MORAES, M. M., BADJI, C. A. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Experimental and Applied Acarology*, v. 57, p. 139–155, 2012.

ARIGESAVAN, K.; SUDHANDIRAN, S. Carvacrol exhibits antioxidant and anti-inflammatory effects against 1,2-dimethyl hydrazine plus dextran sodium sulfate induced inflammation associated carcinogenicity in the colon of Fischer 344 rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 461, p. 314-320, 2015.

ARUNACHALAM, K.; DAMAZO, A. S.; MACHO, A.; LIMA, J. C. S.; PAVAN, E.; FIGUEIREDO, F. F.; OLIVEIRA, D. M.; CECHINEL-FILHO, V.; WAGNER, T. M.; MARTINS, D. T. O. *Piper umbellatum* L. (Piperaceae): Phytochemical profiles of the hydroethanolic leaf extract and intestinal anti-inflammatory mechanisms on 2,4,6 trinitrobenzene sulfonic acid induced ulcerative colitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 254, p. 112707, 2020.

ASADI-SAMANI, M.; KAFASH-FARKHAD, N.; AZIMI, N.; FASIHI, A.; ALINIA-AHANDANI, E.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Medicinal plants with hepatoprotective activity in Iranian folk medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 5, n. 2, p. 146-157, 2015.

ASBAHANI, A. E.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. E.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI,

A. Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 483, p. 220-243, 2015.

ASCARI, J.; DE OLIVEIRA, M. S.; NUNES, D. S.; GRANATO, D.; SCHARF, D. R.; SIMIONATTO, E.; OTUKI, M.; SOLEY, B.; HEIDEN, G. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of *Baccharis punctulate* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 234, p. 1–7, 2019.

ASDADI, A.; HAMDOUCH, A.; OUKACHA, A.; MOUTAJ, R.; GHARBY, S.; HARHAR, H.; EL HADEK, M.; CHEBLI, B.; HASSANI, L. M. I. Study on chemical analysis, antioxidant and *in vitro* antifungal activities of essential oil from wild *Vitex agnus-castus* L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of *Candida* responsible for nosocomial infections. *Journal de Mycologie Médicale*, v. 25, p. e118-e127, 2015.

AZAB, S. S.; JALEEL, G. A. A.; ELDAHSHAN, O. A. Anti-inflammatory and gastroprotective potential of leaf essential oil of *Cinnamomum glanduliferum* in ethanol-induced rat experimental gastritis. *Pharmaceutical Biology*, v. 1, p. 1654-1661, 2017.

BAGATELA, B. S.; LOPES, A. P.; FONSECA, F. L. A.; Andreo, M. A.; NANAYAKKARA, D. N. P.; BASTOS, J. K.; PERAZZO, F. F. Evaluation of antimicrobial and antimalarial activities of crude extract, fractions and 4-nerolidylcathecol from the aerial parts of *Piper umbellata* L. (Piperaceae). *Natural Product Research*, v. 27, n. 23, p. 2202–2209, 2013.

BAKKALI, F.; AVERBECK S.; AVERBECK D.; IDAOMAR M. Biological effects of essential oils – A review. v. 46, p. 446-475, 2008.

BAPTISTA, L. M. A., RIVAS, M. E. R., TENEMPAGUAY, R. C., CHÁVEZ, J. D. G., CÓRDOVA, C. A. V., ZARAGOCIN, S. V. M., SOTOMAYOR, X. C. Antimicrobial activity of the essential oil of *Piper amalago* L. (Piperaceae) collected in coastal Ecuador. *Archives*, p. 15-27, 2019.

BARRETO, R.C.; PEREIRA, G.A.S.; COSTA, L.J. O duplo papel da Inflamação no surgimento das Lesões Cancerígenas. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v. 14, n. 4, p.107-114, 2011.

BARROS, F. M. C.; PIPPI, B.; DRESCH, R. R.; DAUBER, B.; LUCIANO, S. C.; APEL, M. A.; FUENTEFRIA, A. M.; VON POSER, G. L. Antifungal and antichemotactic activities and quantification of phenolic compounds in lipophilic extracts of *Hypericum* spp. native to South Brazil. *Industrial Crops and Products*, v. 44, p. 294-299, 2013.

BEDELL, S. L.; GOLDSTEIN, L. S.; GOLDSTEIN, A.; GOLDSTEIN, A. T. Cervical cancer screening: past, present, and future. *Sexual Medicine Reviews*, v.8, p. 28-37, 2020.

BELTRAME, J. M.; LOBO, V. S.; DOTTO, F.; MARQUES, K. B.; ANGNES, R. A. Estudo de obtenção de óleos essenciais de fatores em sua composição. Anais do II ENDICT– Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica. p. 2176-3046, 2010.

BHAVANIRAMYA, S.; VISHNUPRIYA, S.; AL-ABOODY, M. S.; VIJAYAKUMAR, R.; BASKARAN, D. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. Grain & Oil Science and Technology, v. 2, p. 49–55, 2019.

BRAIT, D. R. H.; VAZ, M. S. M.; ARRIGO, J. S.; CARVALHO, L. N. B. Toxicological analysis and anti-inflammatory effects of essential oil from *Piper vicosanum* leaves. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 73, p. 699-705, 2015.

BRAMBILLA, L. Z. S.; ENDO, E. H.; CORTEZ, D. A. G.; FILHO, B. P. D. Anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus* MRSA and MSSA of neolignans and extract of *Piper regnellii*. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 27, p. 112–117, 2017.

BRANQUINHO, L. S.; SANTOS, J. A.; CARDOSO, C. A. L.; MOTA, J. S.; JUNIOR, U. L.; KASSUYA, C. A. L.; ARENA, A. C. Anti-inflammatory and toxicological evaluation of essential oil from *Piper glabratum* leaves. Journal of Ethnopharmacology, v. 198, p. 372–378, 2017.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BOLSON, M.; HEFLER, S. R.; CHAVES, E. I. D.; JUNIOR, A. G.; JUNIOR, E. L. C. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. Journal of Ethnopharmacology, v. 161, p. 1–10, 2015.

BORGES, L. L.; LUCIO, T. C.; GIL, E. S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. Enciclopédia biosfera, v. 7, n. 12, p. 1-20, 2011.

BOUKAEW, S.; PRASERTSAN, P.; SATTAYASAMITSATHIT, S. Evaluation of antifungal activity of essential oils against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and their allelopathic activity from fumigation to protect maize seeds during storage. Industrial Crops and Products, v. 97, p. 558–566, 2017.

BOUKHATEM, M. N.; FERHAT, M. A.; KAMELI, A.; SAIDI, F.; KEBIR, H. T. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. Journal of Medicinal Chemistry, v. 9, p. 25431, 2014.

BOUKHRIS, M.; HADRICH, F.; CHTOUROU, H.; DHOUIB, A.; BOUAZIZ, M.; SAYADI, S. Chemical composition, biological activities and DNA damage protective effect of *Pelargonium graveolens* L'Hér. essential oils at different phenological stages. Industrial Crops and Products, v. 74, p. 600–606, 2015.

CABRAL, C.; POÇAS, J.; GONÇALVES, M. J.; CAVALEIRO, C.; CRUZ, M. T.; SALGUEIRO, L. *Ridolfia segetum* (L.) Moris (Apiaceae) from Portugal: A source of

safe antioxidant and anti-inflammatory essential oil. *Industrial Crops and Products*, v. 65, p. 56-61, 2015.

CANSIAN, R. L.; KUBIAK, G. B.; BORSATTI, L.; MIELNICZKI, P. A. A.; ROMAN, S. S.; PAROUL, N.; SCHWANZ, M.; MANFREDINI, V.; MOSSI, A. J. Antioxidant and genotoxic properties of *Maytenus dasyclada*: a comparative study in relation to *Maytenus* reference species. *Brazilian Journal of Biology*, v. 75, n. 2, p. 471-476, 2015.

CARRASCO, A.; RUIZ-O. V.; GUTIERREZ, R. M.; TOMAS, V.; TUDELA, J. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Industrial Crops and Products*, v. 73, p. 16–27, 2015.

CARNEIRO, J. N. P.; DA CRUZ, R. P.; CAMPINA, F. F.; COSTA, M. S.; DOS SANTOS, A. T. L.; SALES, D. L. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the *Piper mikanianum* (Kunth) Steud. essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, v. 135, p. 110987, 2020.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A. Chemistry and bioactivity of essential oils. In: Thormar, H. (Ed.), *lipids and essential oils as antimicrobial agents*. John Wiley & Sons, p. 203-238, 2011.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products – a review. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 38, p. 109–119, 2009.

CASTRO, J. C.; ENDO, E. H.; DE SOUZA, M. R.; ZANQUETA, E. B.; POLONIO, J. C.; PAMPHILE, J. A.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D.; FILHO, B. A. de A. Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). *Industrial Crops and Products*, v. 97, p. 101–109, 2017.

CHOUHAN, K. B. S.; TANDEY, R.; SEN, K. K.; MEHTA, R.; MANDAL, V. Critical analysis of microwave hydrodiffusion and gravity as a green tool for extraction of essential oils: Time to replace traditional distillation. *Trends in Food Science & Technology*, v. 92, p. 12–21, 2019.

CÍSAROVÁ, M.; HLEBA, L.; MEDO, J.; TANČINOVÁ, D.; MAŠKOVÁ, Z.; ČUBOŇ, J.; KOVÁČIK, A.; FOLTINOVÁ, D.; BOŽIKE, M.; KLOUČEKE, P. The *in vitro* and *in situ* effect of selected essential oils in vapour phase against bread spoilage toxicogenic aspergilli. *Food Control*, v. 110, p. 107007, 2020.

CHENG, L.; HUANG, K.; CUI, H.; WANG, X.; ZHANG, H.; ZENG, L.; ZHANG, X.; WANG, B.; ZHOU, Y.; JING, T. Coiled molecularly imprinted polymer layer open-tubular capillary tube for detection of parabens in personal care and cosmetic products. *Science of the Total Environment*, v. 706, p. 135961, 2020.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, v. 261, n. 3, p. 21–217.

COSTANTIN, M. B.; SARTORELLI, P.; LIMBERGER, R.; HENRIQUES, A. T.; STEPPE, M.; FERREIRA, M. J. P.; OHARA, M. T.; EMERENCIANO, V. P.; KATO, M. J. Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: antimicrobial activities and analysis by GC/MS and ¹³C-NMR. *Planta Medica*, v. 67, p. 771-773, 2001.

DANIELLI, L. J., DOS REIS, M., ROMAN, R., BORDIGNON, S. A. L., APEL, M. A. Essential oil composition and antichemotactic activity of *Stenachaenium* Benth. species native to South Brazil. *Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, v. 15, p. 164–174, 2016.

DA SILVA, J. K. R.; PINTO, L. C.; BURBANO, R. M. R.; MONTENEGRO, R. C.; GUIMARÃES, E. F.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Essential oils of Amazon *Piper* species and their cytotoxic, antifungal, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, v. 58, p. 55–60, 2014.

DA SILVA, M. F. R.; BEZERRA-SILVA, P. C.; LIRA, C. S.; ALBUQUERQUE, B. N. L. Composition and biological activities of the essential oil of *Piper corcovadensis* (Miq.) C. DC (Piperaceae). *Experimental Parasitology*, v. 165, p. 64-70, 2016.

DA SILVA, J. K.; DA TRINDADE, R.; ALVES, N. S.; FIGUEIREDO, P. L.; MAIA, J. G. S.; SETZER, W. N. Essential oils from neotropical *Piper* species and their biological activities. *Journal International of Molecular Sciences*, v. 18, p. 1-42, 2017.

DA SILVA, A. C. A.; MATIAS, E. F. F.; ROCHA, J. E.; ARAÚJO, A. C. J.; FREITAS, T. S. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) characterization and evaluation of antibacterial bioactivities of the essential oils from *Piper arboreum* Aubl., *Piper aduncum* L. e *Piper gaudichaudianum* Kunth. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, v. 76, p. 35-42, 2021.

DE ALMEIDA, R. R. P., SOUTO, R. N. P., BASTOS, C. N., DA SILVA, M. H. L., MAIA, J. G. S. Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of Its Dillapiol-Rich essential oil. *Chemistry & Biodiversity*, v. 6, p. 1427-1434, 2009.

DE LAVOR, É. M.; FERNANDES, A. W. C.; TELES, R. B. A.; LEAL, A. E. B. P.; JÚNIOR, R. G. O.; SILVA, M. G.; OLIVEIRA, A. P.; SILVA, J. C.; ARAÚJO, M. T. M. F.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; PICOT, L.; ALMEIDA, J. R. G. S. Essential oils and their major compounds in the treatment of chronic inflammation: A review of antioxidant potential in preclinical studies and molecular mechanisms. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, Article ID 6468593, <https://doi.org/10.1155/2018/6468593>.

DE MORAIS, S. M., FACUNDO, V. A., BERTINI, L. M., CAVALCANTI, E. S. B., JÚNIOR, J. F. A., FERREIRA, S. A., BRITO, E. S., NETO, M. A. S. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 35, p. 670-675, 2007

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach*. England: John Wiley and Sons, 3rd ed. 2009.

DOGNINI, J.; MENEGHETTI, E. K.; TESKE, M. N.; BEGNINI, I. M.; REBELO, R. A.; DALMARCO, E. M.; VERDI, M.; GASPER, A. L. Antibacterial activity of high safrole contain essential oils from *Piper xylosteoides* (Kunth) Steudel. *The Journal of Essential Oil Research*, v. 24, n. 3, p. 241–244, 2012.

DOMINGUES, P. M.; SANTOS, L. Essential oil of pennyroyal (*Mentha pulegium*): Composition and applications as alternatives to pesticides - New tendencies. *Industrial Crops & Products*, v. 139, p. 111534, 2019.

DONATO, R.; SACCO, C.; PINI, G.; BILIA, A. R. Antifungal activity of different essential oils against *Malassezia* pathogenic species. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 249, p. 112376, 2020.

DOS SANTOS, P. R. D.; MOREIRA, D. de L.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. Essential oil analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest. *Phytochemistry*, v. 58, p. 547–551, 2001.

DOS SANTOS, A. L.; POLIDORO, A. dos S.; SCHNEIDER, J. K.; DA CUNHA, M. E.; SAUCIER, C.; JACQUES, R. A.; CARDOSO, C. A. L.; MOTA, J. S.; CARAMÃO, E. B. Comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GC × GC/TOFMS) for the analysis of volatile compounds in *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. essential oils. *Microchemical Journal*, v. 118, p. 242–251, 2015.

DOS SANTOS, A. L.; POLIDORO, A. S.; CARDOSO, C. A. L.; MOTA, J. S.; JACQUES, R. A.; CARAMÃO, E. B. Analysis of the seasonal variation in chemical profile of *Piper glabratum* Kunth essential oils using GC×GC/qMS and their antioxidant and antifungal activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 30, n. 12, p. 2691-2701, 2019.

DRESCH, R. R.; DRESCH, M. K.; GUERREIRO, A. F.; BIEGELMEYER, R.; HOLZSCHUH, M. H.; RAMBO, D. F.; HENRIQUES, A. T. Phenolic compounds from the leaves of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* L. as a source of waste byproducts: development and validation of LC method and antichemotactic activity. *Food Analytical Methods*, v. 7, p. 527–539, 2014.

DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D. A.; ORLOVA, I. Plant volatiles: Recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 25, p. 417-440, 2006.

ELGORASHI, E. E.; MCGAW, L. J. African plants with *in vitro* anti-inflammatory activities: A review. *South African Journal of Botany*, v. 126, p. 142–169, 2019.

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.

ENTSCHLADEN, F.; DRELL, T. L.; LANG, K.; MASUR, K.; PALM, D.; BASTIAN, P.; NIGGEMANN, B.; ZAENKER, K. S. Analysis methods of human cell migration. *Experimental Cell Research*, v. 307, p. 418 – 426, 2005.

FANG, X.; CAO, J.; SHEN, A. Advances in anti-breast cancer drugs and the application of nano-drug delivery systems in breast cancer therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 57, p. 101662, 2020.

FERNANDEZ, J.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A.; FERNANDEZ-LÓPEZ, J. A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, v. 59, n. 3, p. 345-353, 1996.

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

FERRAZ, C. A.; PASTORINHO, M. R.; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, A.; SOUSA, A. C. A. Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. *Environmental Pollution*, v. 292, p. 118319, 2022.

FIERASCU, R. C.; ORTAN, A.; FIERASCU, I. C.; FIERASCU, I. *In vitro* and *in vivo* evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review. *Current Opinion in Food Science*, v. 24, p. 1–8, 2018.

FLORA DO BRASIL 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> > acesso em: 16 Abr. 2020.

FOE, F. M. C. N.; TCHINANG, T. F. K.; NYEGUE, A. M.; ABDU, J. P.; YAYA, A. J. G.; TCHINDA, A. T.; ESSAME, J. L. O.; ETOA, F. X. Chemical composition, *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 16, p. 117, 2016.

FOGAÇA, F. H. S.; SANT'ANA, L. S. Oxidação lipídica em peixes: mecanismo de ação e prevenção. *Archives of Veterinary Science*, v. 14, n. 2, p. 117-127, 2009.

FRESHNEY, R.I. Culture of animal cells. A Manual of Basic Technic 3 th edition. New York: Wiley-Liss, Inc; 1994.

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

GANG, D. R. Evolution of flavors and scents. *Annual Reviews of Plant Biology*, v. 56, p. 301-325, 2005.

GASPARETTO, A.; CRUZ, A. B.; WAGNER, T. M.; BONOMINI, T. J.; CORREA, R.; MALHEIROS, A. Seasonal variation in the chemical composition, antimicrobial and mutagenic potential of essential oils from *Piper cernuum*. *Industrial Crops and Products*, v. 95, p. 256–263, 2017.

GEORGIEV, V.; ANANGA, A.; DINCHEVA, I.; BADJAKOV, I.; GOCHEV, V.; TSOLOVA, V. Chemical Composition, *in vitro* antioxidant potential, and antimicrobial activities of essential oils and hydrosols from native American muscadine grapes. *Molecules*, v. 24, p. 1-12, 2019.

GLINWOOD, R; NINKOVIC, V; PETTERSSON, J. Chemical interaction between undamaged plants – Effects on herbivores and natural enemies. *Phytochemistry*, v. 72, p. 1683-1689, 2011.

GOETZ, M. E.; LUCH, A. Reactive species: A cell damaging route assisting to chemical carcinogens. *Cancer Letters*, v. 266, p. 73–83, 2008.

GOMEZ, M. C. V.; ROLÓN, M.; CORONEL, C.; CARNEIRO, J. N. P.; SANTOS, A. T. L. Antiparasitic effect of essential oils obtained from two species of *Piper* L. native to the Atlantic forest. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 32, p. 101958, 2021.

GUPTA, M.; SINGH, N.; GULATI, M.; GUPTA, R.; SUDHAKAR, K.; KAPOOR, B.. Herbal bioactives in treatment of inflammation: An overview. *South African Journal of Botany*, v. 143, p. 205-225, 2021.

HARKAT-MADOURI, L.; ASMA, B.; MADANI, K.; SAID, Z. B. O. Si.; RIGOU, P.; GRENIER, D.; ALLALOU, H.; REMINI, H.; ADJAOUD, A.; BOULEKBACHE-MAKHLLOUF, L. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Industrial Crops and Products*, v. 78, p. 148–153, 2015.

HASSANNIA, B.; LOGIE, E.; VANDENABEELE, P.; BERGHE, T. V.; BERGHE, W. V. Withaferin A: From ayurvedic folk medicine to preclinical anti-cancer drug. *Biochemical Pharmacology*, v. 173, 113602, 2020.

HAYET, E. K.; HOCINE, L.; MERIEM, E. K. Chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* and *Bunium alpinum* from Algeria. *Journal of the Chilean Chemical Society*, v. 62, p. 3335-3341, 2017.

HUANG, A. C; OSBOURN. A. Plant terpenes that mediate below-ground interactions: prospects for bioengineering terpenoids for plant protection. *Pest Management Science*, v. 75, p. 2368–2377, 2019.

HUONG, L. T., HUNG, N. H., DAI, D. N., TAI, T. A., HIEN, V. T., SATYAL, P., SETZER, W. N. Chemical compositions and mosquito larvicidal activities of essential oils from *Piper* species growing wild in central Vietnam. *Molecules*, v. 24, p. 3871, 2019.

INCA, Instituto Nacional do Câncer. Estimativas do câncer para 2020. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso em: 14/04/2022.

IRANI, S.; TODD, C. D.; WEI, Y.; BONHAM-SMITH, P. C. Changes in phenylpropanoid pathway gene expression in roots and leaves of susceptible and resistant *Brassica napus* lines in response to *Plasmodiophora brassicae* inoculation. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 106, p. 196–203, 2019.

IWAMOTO, L. H.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; MONTEIRO, P. A. Anticancer and Anti-Inflammatory Activities of a standardized dichloromethane extract from *Piper*

umbellatum L. leaves. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 948737, 2015.

JUNIOR, I. F. da S.; BALOGUN, S. O.; DE OLIVEIRA, R. G.; DAMAZO, A. S.; MARTINS, D. T. de O. *Piper umbellatum* L.: a medicinal plant with gastric-ulcer protective and ulcer healing effects in experimental rodent models. Journal of Ethnopharmacology, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.07.011>, 2016.

KIM, S. S.; OH, O. J.; MIN, H. Y.; PARK, E. J.; KIM, Y.; PARK H. J. & LEE, S. K. Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264. 7 cells. Life sciences, v. 73, n. 3, p. 337-348, 2003.

KABEER, F. A.; RAJALEKSHMI, D. S.; NAIR, M. S.; PRATHAPAN, R. *In vitro* and *in vivo* antitumor activity of deoxyelephantopin from a potential medicinal plant *Elephantopus scaber* against Ehrlich ascites carcinoma. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 19, 101106, 2019

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. Food and bioproducts processing, v. 89, p. 217–233, 2011.

KOEDUKA, T.; FRIDMAN, E.; GANG, D. R.; VASSÃO, D. G.; JACKSON, B. L.; KISH, C. M.; ORLOVA, I.; SPASSOVA, S. M.; LEWIS, N. G.; NOEL, J. P.; BAIGA, T. J.; DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E. Eugenol and isoeugenol, characteristic aromatic constituents of spices, are biosynthesized via reduction of a coniferyl alcohol ester. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 103, p. 10126-10133, 2006.

KOROISHI, A. M.; FOSS, S. R.; CORTEZ, D. A. G.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. *In vitro* antifungal activity of extracts and neolignans from *Piper regnellii* against dermatophytes. Journal of Ethnopharmacology, v. 117, p. 270–277, 2008.

KUNNUMAKKARA, A. B.; SAILO, B. L.; BANIK, K.; HARSHA, C.; PRASAD, Sahdeo.; GUPTA, S. C.; BHARTI, A. C.; AGGARWAL, B. B. Chronic diseases, infammation, and spices: how are they linked? v. 16, p. 1-25, 2018.

LEAL, A. L. A. B.; BEZERRA, C. F.; ROCHA, J. E.; DOS SANTOS, A. T. L. *Piper cernuum* Vell.: Chemical profile and antimicrobial potential evaluation. Industrial Crops & Products, v. 140, p. 111577, 2019.

LEÓN-MÉNDEZ, G.; PÁJARO-CASTRO, N.; PÁJARO-CASTRO, E.; TORRENEGRA-ALARCÓN, M.; HERRERA-BARROS, A. Essential oils as a source of bioactive molecules. Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas, v. 48, n. 1, p. 80-93, 2019.

LEESOMBUN, A.; BOONMASAWAI, S.; SHIMODA, N.; NISHIKAWA, Y. Effects of extracts from Thai Piperaceae plants against infection with *Toxoplasma gondii*. PLoS ONE, v. 11, n. 5, e0156116. doi:10.1371/journal.pone.0156116, 2016.

LI, Y.; KONG, D.; FU, Y.; SUSSMAN, M. R.; WU, H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>, 2020.

LI, Y.; ZHANG, C.; PAN, S.; CHEN, L.; LIU, M.; YANG, K.; ZENG, X.; TIAN, J. Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (*Piper nigrum* L.) in five provinces of southern China. *LWT - Food Science and Technology*, v. 117, p. 108644, 2020.

LIU, Xi.; YIN, L.; SHEN, S.; HOU, Y. Inflammation and cancer: paradoxical roles in tumorigenesis and implications in immunotherapies. *Genes & Diseases*, 2021.

LIMA, D. K. S.; BALLICO, L. J.; LAPA, F. R.; GONÇALVES, H. P.; DE SOUZA, L. M. Evaluation of the antinociceptive, anti-inflammatory and gastric antiulcer activities of the essential oil from *Piper aleyreanum* C.DC in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 142, p. 274–282, 2012.

LUÍS, A.; DUARTE, A.; GOMINHO, J.; DOMINGUES, F.; DUARTE, A. P. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 79, p. 274-282, 2016.

MA, Y. R.; WANG, K. F.; WANG, W. J.; DING, Y.; SHI, T. Q.; HUANG, H.; JI, X. J. Advances in the metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for the production of terpenoids. *Bioresource Technology*, 281, p. 449-456, 2019.

MAIA, J. G. S., ZOGHBI, M. G. B., ANDRADE, E. H. A., SANTOS, A. S., SILVA, M. H. L., DA LUZ, A. I. R., BASTOS, C. N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 13, p. 269–272, 1998.

MAHMOUD, S. S.; CROTEAU, R. B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends Plants Sciences*, n. 7, p. 366-373, 2002.

MCRAE, J.; YANG, Q.; CRAWFORD, R.; PALOMBO, E. Review of the methods used for isolating pharmaceutical lead compounds from traditional medicinal plants. *Environmentalist*, v. 27, p. 165-174, 2007.

MELO, G. A. N.; GRESPAN, R.; FONSECA, J. P.; FARINHA, T. O.; SILVA, E. L.; ROMERO, A. L.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. Inhibitory effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) essential oil on leukocyte migration *in vivo* and *in vitro*. *Journal of Natural Medicines*, v. 65, p. 241-246, 2011.

MENON, S. G.; GOSWAMI, P. C. A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene*, v. 26, p. 1101–1109, 2007.

MIGUEL, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*, v. 15, p. 9252-9287, 2010a.

MIGUEL, M. G. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 25, p. 291–312, 2010b.

MISRA, P.; KUMAR, A.; KHARE, P.; GUPTA, S.; KUMAR, N.; DUBE, A. Pro-apoptotic effect of the landrace Bangla Mahoba of *Piper betle* on *Leishmania donovani* may be due to the high content of eugenol. *Journal of Medical Microbiology*, v. 58, p. 1058–1066, 2009.

MOU, L.; DU, X.; LU, X.; Y. LU.; LI, G.; LI, J. Component analysis and antifungal activity of three Chinese herbal essential oils and their application of postharvest preservation of peach fruit. *LWT - Food Science and Technology*, v. 151, p. 112089, 2021.

MULAUDZI, R. B.; NDHLALA, A. R.; KULKARNI, M. G.; FINNIE, J. F.; STADEN, J. V. Anti-inflammatory and mutagenic evaluation of medicinal plants used by Venda people against venereal and related diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 146, p. 173–179, 2013.

NAGEGOWDA, D. A.; GUPTA, P. Advances in biosynthesis, regulation, and metabolic engineering of plant specialized terpenoides. *Plant Science*, v. 294, p. 110457, 2020.

NASCIMENTO, K. F., MOREIRA, F., SANTOS, J. A., KASSUYA, C. A. L., CRODA, J. H. R., CARDOSO, C. A. L., VIEIRA, M. C., RUIZ, A. L. T. G., FOGLIO, M. A., CARVALHO, J. E., FORMAGIO, A. S. N. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. *Journal Ethnopharmacology*, v. 210, 351-358, 2017.

NETO, J. A. R.; TARÔCO, B. R. P.; DOS SANTOS, H. B.; THOMÉ, R. G.; WOLFRAM, E.; RIBEIRO, R. I. M. de A. Using the plants of Brazilian cerrado for wound healing: From traditional use to scientific approach. *Journal of Ethnopharmacology*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112547>. 2020.

NGUYEN. T. H.; NACHTERGAEL, A.; NGUYEN, T. M.; CORNET, V.; DUEZ, P.; MULLER, M.; HUONG, D. T. L.; KESTEMONT, P. Anti-inflammatory properties of the ethanol extract from *Clerodendrum cyrtophyllum* Turcz based on *in vitro* and *in vivo* studies. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 254, p. 112739, 2020.

NICKAVAR, B.; MALEKITABAR, E. Compositional Analysis and Antioxidant Activities of *Thymus pubescens* Essential Oil from Iran. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, v. 25, p. 252-258, 2022.

NOEL, J. P.; AUSTIN, M. B.; BOMATI, E. K. Structure–function relationships in plant phenylpropanoid biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 8, p. 249–253, 2005.

NORDIN, M. F.; HARUN, W. H. A. W.; RAZAK, F. A.; MUSA, M. Y. Growth inhibitory response and ultrastructural modification of oral-associated candidal reference strains (ATCC) by *Piper betle* L. extract. *International Journal of Oral Science*, v. 6, p. 15–21, 2014.

OKUMURA, N.; YOSHIDA, H.; NISHIMURA, Y.; KITAGISHI, Y.; MATSUDA, S. Terpinolene, a component of herbal sage, downregulates AKT1 expression in K562 cells. *Oncology letters*, v. 3, p. 321-324, 2012.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira Plantas Médicas*, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

ORHAN-YANIKAN, E.; SILVA-JANEIRO, S. da; RUIZ-RICO, M.; JIMÉNEZ-BELENQUER, A. I.; AYHAN, K.; BARAT, J. M. Essential oils compounds as antimicrobial and antibiofilm agents against strains present in the meat industry. *Food Control*, v. 101, p. 29–38, 2019.

OZ, M.; LOZON, Y.; SULTAN, A.; YANG, K. H. S.; GALADARI, S. Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 152, p. 83–97, 2015.

PARISE-FILHO, R., PASQUALOTO, K. F. M., MAGRI, F. M. M., FERREIRA, A. K., DA SILVA, B. A. V. G. Dillapiole as antileishmanial agent: discovery, cytotoxic activity and preliminary SAR studies of dillapiole analogues. *Arch Pharm Chemistry in Life Sciences*, v. 345, p. 934–944, 2012.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O. D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, v. 46, N. 4, p. 591-673, 1997.

PERIGO, C. V.; TORRES, R. B.; BERNACCI, L. C.; GUIMARÃES, E. F.; HABER, L. L.; FACANALI, R.; VIEIRA, M. A.R.; QUECINI, V.; MARQUES, M. O. M. The chemical composition and antibacterial activity of eleven *Piper* species from distinct rainforest areas in Southeastern Brazil. *Industrial Crops and Products*, v. 94, p. 528–539, 2016.

PESSINI, G. L.; FILHO, B. P. D.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 8, p. 1115-1120, 2003.

PESSINI, G. L.; FILHO, B. P. D.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Antifungal activity of the extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16, n. 6A, p. 1130-1133, 2005.

PISHGAHZADEH, E.; SHAFAROODI, H.; ASGARPAHAH, J. Analgesic and antiinflammatory activities of the essential oil from *Artemisia sieberi* Besser. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 55, p. e17011, 2019.

POSER, G. L. V.; HENRIQUES, A. T.; LAMATY, G.; MENUT, C.; BESSERIE, J. M.; RORIG, L. R. Aromatic plants from Brazil. III. The chemical composition of *Piper gaudichaudianum* Kunth and *P. mikanianum* Kunth Steudel essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, v. 6, p. 337-340, 1994.

PUHL, M. C. M. N.; CORTEZ, D. A. G.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. Antimicrobial activity of *Piper gaudichaudianum* Kuntze and its synergism with different antibiotics. *Molecules*, v. 16, p. 9925-9938, 2011.

QUIJANO-ABRIL, M. A.; CALLEJAS-POSADA, R.; MIRANDA-ESQUIVEL, D. R. Areas of endemism and distribution patterns for Neotropical *Piper* species (Piperaceae). *Journal of Biogeography*, v. 33, p. 1266-1278, 2006.

RAFAEL, M. S., HEREIRA-ROJAS, W. J., ROPER, J. J., NUNOMURA, S. M., TADEI, W. P. Potential control of *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) with *Piper aduncum* L. (Piperaceae) extracts demonstrated by chromosomal biomarkers and toxic effects on interphase nuclei. *Genetics and Molecular Research*, v. 7, p. 772-781, 2008.

RAMIREZ, M. R.; APEL, M. A.; RASEIRA, M. C. B.; ZUANAZZI, J. Â. S.; HENRIQUES, A. T. Polyphenol content and evaluation of antichemotactic, antiedematogenic and antioxidant activities of *Rubus* sp. Cultivars. *Journal of Food Biochemistry*, v. 35, p. 1389-1397, 2011.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 62, p. 250-264, 2014.

REGASINI, L. O.; COTINGUIBA, F.; SIQUEIRA, J. R.; BOLZANI, V. S.; SILVA, D. H. S.; FURLAN, M.; KATO, M. J. Radical scavenging capacity of *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 27, n. 6, p. 900-3, 2008.

REHMAN, R.; HANIF, M. A.; MUSHTAQ, Z.; AL-SADI, A. M. Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. *Food Reviews International*, v. 32, p. 117-160, 2016.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; DE MELO, N. R.; DOS SANTOS, F. R.; NEVES, I. de A.; DE CARVALHO, M. G.; SANCHES-SILVA, A. Biological activities and major components determination in essential oils intended for a biodegradable food packaging. *Industrial Crops and Products*, v. 97, p. 201-210, 2017.

RICARDO, L. M.; PAULA-SOUZA, J.; ANDRADE, A.; BRANDÃO, M. G. L. Plants from the Brazilian Traditional Medicine: species from the books of the Polish physician Piotr Czerniewicz (Pedro Luiz Napoleão Chernoviz, 1812-1881). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 27, p. 388-400, 2017.

RISS, J.; KHANNA, C.; KOO, S.; CHANDRAMOULI, G. V. R. Cancers as wounds that do not heal: differences and similarities between renal regeneration/repair and renal cell carcinoma. *Cancer Research*, v. 66, n. 7216-7224, p. 1916-1930, 2006.

RODRÍGUEZ, E. J.; SAUCEDO-HERNÁNDEZ, Y.; HEYDEN, Y. V.; SIMÓ-ALFONSO, E. F.; RAMIS-RAMOS, G.; LERMA-GARCÍA, M. J.; MONTEAGUDO, U.; BRAVO, L.; MEDINILLA, M.; ARMAS, Y.; HERRERO-MARTÍNEZ, J. M. Chemical analysis and antioxidant activity of the essential oils of three Piperaceae species growing in the central region of Cuba. *Natural Product Communications*, v. 8 n. 9, p. 1325-1328, 2013.

ROERSCH, C. M. F. B. *Piper umbellatum* L.: A comparative cross-cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 131, p. 522–537, 2010.

ROLEIRA, F. M. F.; SILVA, E. J. T.; VARELA, C. L.; COSTA, S. C.; SILVA, T.; GARRIDO, J.; BORGES, F. Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. *Food Chemistry*, v. 183, p. 235–258, 2015.

RUBIOLO, P.; SGORBINI, B.; LIBERTO, E.; CORDERO, C.; BICCHI, C. Essential oils and volatiles: Sample preparation and analysis. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 25, p. 282-290, 2010.

SÁ, R. C. S.; ANDRADE, L. N.; SOUZA, D. P. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules*, v. 18, p. 1227-1254, 2013.

SÁ, R. C. S.; ANDRADE, L. N.; SOUZA, D. P. Sesquiterpenes from essential oils and anti-inflammatory activity. *Natural Products Communications*, v. 10, p. 1767-1774, 2015.

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; DE CASTRO, E. M.; CARDOSO, M. G.; REZENDE, R. K. S.; PAIVA, P. D. O. Aspectos da anatomia e do óleo essencial em folhas de pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Spreng.). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 28, n. 2, p. 345-349, 2004.

SANTOS, T. G.; FUKUDA, K.; KATO, M. J.; SARTORATO, A.; DUARTE, M. C. T.; RUIZ, A. L. T. G.; DE CARVALHO, J. E.; AUGUSTO, F.; MARQUES, F. A.; MAIA, B. H. L. N. S. Characterization of the essential oils of two species of Piperaceae by one- and two-dimensional chromatographic techniques with quadrupole mass spectrometric detection. *Microchemical Journal*, v. 115, p. 113–120, 2014.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, v. 34, p. 3–21, 2001.

SAEIDNEJAD, A. H.; RAJAEI, P. Chemical composition, antimicrobial activity and biological properties of essential oils. *International Journal of Life Sciences*, v. 9, n. 2, p. 9-13, 2015.

SAIKIA, S.; TAMULI, J.; NARZARY, B.; BORDOLOI, M.; BANIK, D. Chemical composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of *Murraya paniculata* (L.) Jack leaf essential oil from Assam, India: the effect of oil on cellular morphology of micro-organisms. *Archives of Microbiology*, v. 204, p. 99, 2022.

SCHUBERT, H. K.; TAYLOR, M. S.; SMITH, J. F.; BORNSTEIN, A. J. A Systematic revision of the Genus *Manekia* (Piperaceae). *Systematic Botany*, v. 37, n. 3, p. 587–598, 2012.

Akanksha Sharma, Amit Kumar, Vikas Jaitak. Pharmacological and chemical potential of *Cassia fistula* L- a critical review. *Journal of Herbal Medicine*, v. 26, p. 100407, 2021.
SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, W. C., RIBEIRO, J. D., SOUZA, H. E. M., CORRÊA, R. S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. *Acta Amaz.* v. 37, p. 293–298, 2008.

SILVA, A. C. A.; DIODATO, J. S.; CASTRO, J. W.; MATIAS, E. F. F.; SILVA, L. E.; AMARAL, W.; MAIA, B. H. L. N. S.; FERRIANI, A. P.; SOUZA, A. K.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; COUTINHO, H. D. M. Effect of the essential oils from *Piper* sp. and blue led lights in the enhancement of the antibiotic activity of drugs against *mdr* bacterial strains. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, v. 199, p. 111604, 2019.

SILVA, A. F.; SANTOS, M. F. C., MAIOLINI, T. S. C.; SALEM, P. P. O.; MURGU, M.; PAULA, A. C. C.; SILVA, E. O.; NICÁCIO, K. J.; FERREIRA, A. G.; DIAS, D. F.; SOARES, M. G.; CHAGAS-PAULA, D. A. Chemistry of leaves, bark, and essential oils from *Ocotea diospyrifolia* and anti-inflammatory activity – Dual inhibition of edema and neutrophil recruitment. *Phytochemistry Letters*, v. 42, p. 52–60, 2021.

SILVESTRE, W. P.; LIVINALLI, N. F.; BALDASSO, C.; TESSARO, I. C. Pervaporation in the separation of essential oil components: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 93, p. 42–52, 2019.

SIMÕES, C. M. O; SPITZER, V. Óleos essenciais. In SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Ed 5. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 467-495.

SINHA, S., JOTHIRAMAJAYAM, M., GHOSH, M., MUKHERJEE, A. Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes. *Food Chemistry Toxicology*, v. 68, p. 71–77, 2014.

SOBOLEWSKI, C.; LEGRAND, N.; DIEDERICH, M. F. Inflammation: Novel arrows for an ancient target. *Biochemical Pharmacology*, v. 80, p. 1769–1770, 2010.

SPEROTTO, A. R. M.; MOURA, D. J.; PÉRES, V. F.; DAMASCENO, F. C.; CARAMÃO, E. B.; HENRIQUES, J. A. P.; SAFFI, J. Cytotoxic mechanism of *Piper gaudichaudianum* Kunth essential oil and its major compound nerolidol. *Food and Chemical Toxicology*, v. 57, p. 57–68, 2013.

STANOJEVIC, L. P.; RADULOVIC, N. S.; DJOKIC, T. M.; STANKOVIC, B. M.; ILIC, D. P.; CAKIC, M. D.; NIKOLIC, V. D. The yield, composition and hydrodistillation kinetics of the essential oil of dill seeds (*Anethi fructus*) obtained by different hydrodistillation techniques. *Industrial Crops and Products*, v. 65, p. 429–436, 2015.

TAOFIQ, O.; CALHELHA, R. C.; HELENO, S.; BARROS, L.; MARTINS, A.; BUELGA, C. S.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. The contribution of phenolic acids to the anti-inflammatory activity of mushrooms: Screening in phenolic extracts, individual parente molecules and synthesized glucuronated and methylated derivatives. *Food Research International*, v. 76, p. 821–827, 2015.

TARAB-RAVSKI, D.; STOTSKY-OTERIN, L.; PEER, D. Delivery strategies of RNA therapeutics to leukocytes. *Journal of Controlled Release*, v. 342, p. 362-371, 2022.

TARIQ, S.; WANI, S.; RASOOL, W.; SHAFI, K.; BHAT, M. A.; PRABHAKAR, A.; SHALLA, A. H.; RATHER, M. A. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, v. 134, p. 103580, 2019.

TÉTÉNYI, P. in: CRAKER, L. E.; SIMON, J. E. Herbs, spices, and medicinal plants: recent advances in botany. *Horticulture and Pharmacology*, v. 1, The Oryx Press, New York, 1987.

UD-DAULA, A. F. M. S.; DEMIRCI, F.; SALIM, K. A.; DEMIRCI, B.; LIM, L. B. L.; BASER, K. H. C.; AHMAD, N. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from leaves, aerial stems, basal stems, and rhizomes of *Etlingera fimbriobracteata* (K.Schum.) R.M.Sm. *Industrial Crops and Products*, v. 84, p. 189-198, 2016.

VENDRAMETTO, M. C.; DOS SANTOS, A. O.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A. G.; UEDA-NAKAMURA, T. Evaluation of antileishmanial activity of eupomatenoid-5, a compound isolated from leaves of *Piper regnellii* var. *pallescens*. *Parasitology International*, v. 59, p. 154–158, 2010.

VERDEGUER, M.; BLAZQUEZ, M. A.; BOIRA, H. Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriocephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 37, p. 362–369, 2009.

VIEGAS, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VINKEN, M.; BLAAUBOER, B. J. *In vitro* testing of basal cytotoxicity: Establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. *Toxicology in Vitro*, v. 39, p. 104-110, 2017.

VON POSER, G. L., RÖRIG, L. R., HENRIQUES, A. T., LAMATY, G., MENUT, C., BESSIÈRE, J. M., 1994. Aromatic Plants from Brazil. III. The chemical composition of *Piper gaudichaudianum* Kunth and *P. mikanianum* (Kunth) Steudel essential oils. *Journal essential oil research*, v. 6, p. 337-340, 1994.

VUNDA, S. L. L. Estudo químico e biológico de espécies de croton (euphorbiaceae) nativas do rio grande do sul. *Dissertação de Mestrado*. Porto Alegre, 2011.

WANG, H. Q.; KIM, M. P.; TIANO, H. F.; LANGENBACH, R., SMART, R. C. Protein kinase c-alpha coordinality regulates cytosolic phospholipase A2 activity and the expression of cicloxygenase-2 through different mechanism in mouse keratinocytes. *Molecular Pharmacology*, v. 59, p. 860 – 866, 2001.

WANG, B.; ZHANG, Y.; HUANG, J.; Lin Dong.; LI, T.; FU, X. Anti-inflammatory activity and chemical composition of dichloromethane extract from *Piper nigrum* and *P. longum* on permanent focal cerebral ischemia injury in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 27, p. 369–374, 2017.

WEDEPOHL, S.; BECEREN-BRAUN, F.; RIESE, S.; BUSCHER, K.; ENDERS, S.; BERNHARD, G.; KILIAN, K.; BLANCHARD, V.; DERNEDDE, J.; TAUBER, R. I-Selectin – A dynamic regulator of leukocyte migration. *European Journal of Cell Biology*, v. 91, p. 257–264, 2012.

XIE, J.; SCHAICH, K. M. Re-evaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, p. 4251-4260, 2014.

XU, D.; LI, Y.; MENG, X.; ZHOU, T.; ZHOU, Y.; ZHENG, J.; ZHANG, J.; LI, H. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 1, p. 1-32, 2017.

YILMAZ, G.; YILMAZ, F. M.; ARAL, Y.; YUCEL, D. Levels of serum sialic acid and thiobarbituric acid reactive substances in subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, v. 21, p. 260–264, 2007.

YOUSEFI, M.; RAHIMI-NASRABADI, M.; POURMORTAZAVI, S. M.; WYSOKOWSKI, M.; JESIONOWSKI, T.; EHRlich, H.; MIRSADEGHI, S. Supercritical fluid extraction of essential oils. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 118, p. 182-193, 2019.

ZAHED, N.; HOSNI, K.; BRAHIM, N. B.; KALLEL, M.; SEBEI, H. Allelopathic effect of *Schinus molle* essential oils on wheat germination. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 32, p. 1221-1227, 2010.

ZAHARAN, H. EI-D. M.; ABOU-TALEB, H. K.; ABDELGALEIL, S. A. M. Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 20, p. 133–139, 2017.

ZHANG, M.; WANG, D.; GAO, X.; YUE, Z.; ZHOU, H. Exogenous caffeic acid and epicatechin enhance resistance against *Botrytis cinerea* through activation of the phenylpropanoid pathway in apples. *Scientia Horticulturae*, v. 268, p. 109348, 2020.

ZHU, J. J.; YANG, J. J.; WU, G. J.; JIANG, J. G. Comparative antioxidant, anticancer and antimicrobial activities of essential oils from *Semen Platycladi* by different extraction Methods. *Industrial Crops & Products*, v. 146, p. 112206, 2020a.

ZHU, Y.; MA, Y.; ZHANG, J.; LI, M.; YAN, L.; ZHAO, G.; LIU, Y.; ZHANG, Y. The inhibitory effects of spice essential oils and rapidly prediction on the growth of *Clostridium perfringens* in cooked chicken breast. *Food Control*, v. 113, p. 106978, 2020.

ZHU, Z.; ZHONG, S.; SHEN, Z. Targeting the inflammatory pathways to enhance chemotherapy of cancer. *Cancer Biology & Therapy*, v. 12, n.2, p. 95- 105, 2011.

ZUZARTE, M.; GONÇALVES, M. J.; CAVALEIRO, C.; CRUZ, M. T.; BENZARTI, A.; MARONGIU, B.; MAXIA, A.; PIRAS, A.; SALGUEIRO, L. Antifungal and anti-

inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 44, p. 97–103, 2013.

ZUZARTE, M.; SALGUEIRO, Z. Essential oils chemistry. In: Souza, D. P. (Ed.), *Bioactive Essential Oils and Cancer*. Springer, p.19-62, 2015.

**UFRGS**UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais

**CARTA DE APROVAÇÃO****Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:****Número:** 36301**Título:** AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTI-INFLAMATORIA E CITOTOXICIDADE DE OLEOS VOLÁTEIS DE PIPER REGNELLII (MIQ.) C. DC. E PIPER GAUDICHAUDIANUM KUNTH DO RIO GRANDE DO SUL**Vigência:** 07/12/2018 à 06/12/2022**Pesquisadores:****Equipe UFRGS:**MIRIAM ANDERS APEL - coordenador desde 07/12/2018
Krisie Daian Soares - Aluno de Doutorado desde 07/12/2018**Equipe Externa:**

Sérgio Augusto de Loreto Bordignon - pesquisador desde 07/12/2018

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 14/01/2019 - Sala 330 do anexo I do prédio da Reitoria, Campus Centro. , em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 6 ratos Wistar machos, adultos, com peso entre 220-250 g, procedentes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório da UFRGS (CREAL) e 55 camundongos Swiss machos (25-35 g) provenientes da colônia do CREAL/UFRGS ou da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS/RS), de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Sexta-Feira, 8 de Fevereiro de 2019

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Vice Coordenador da comissão de ética