

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICA
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ANA PAULA DOS SANTOS HUMBERTO

**ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO E ANATÔMICO DE TRÊS ESPÉCIES
DE *Piper* COM OCORRÊNCIA NO OESTE DO PARANÁ**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**SANTA HELENA
2021**

ANA PAULA DOS SANTOS HUMBERTO

**ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO E ANATÔMICO DE TRÊS ESPÉCIES
DE *Piper* COM OCORRÊNCIA NO OESTE DO PARANÁ**

**Analysis of the chemical and anatomical profile of three *Piper*
species from the west of Paraná**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Rejane Barbosa de Oliveira

Coorientador: Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues

SANTA HELENA

2021

TERMO DE APROVAÇÃO

ANA PAULA DOS SANTOS HUMBERTO

ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO E ANATÔMICO DE TRÊS ESPÉCIES DE *Piper* DO OESTE DO PR

Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 07 de maio de 2021, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas, outorgado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A aluna Ana Paula dos Santos Humberto foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Angela Del Pilar Flores Granados

UNICAMP

Prof^a. Dr. Leonardo Biral

UTFPR-SH

Prof^a. Dr^a. Rejane Barbosa de Oliveira

UTFPR-SH

Dedico este trabalho à Josefa dos Santos Lima, minha mãe, uma grande mulher batalhadora que me incentivou a seguir todos os meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Dr^a. Rejane Barbosa de Oliveira pelos os conhecimentos e confiança incentivando sempre a autonomia durante as pesquisas;

Ao Dr. Leonardo Biral pela identificação botânica;

À Dr^a. Jociani Ascari por ceder o laboratório para a extração, bem como todos os conhecimentos partilhados;

Ao professor Dr. Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues por todos os aprendizados durante o estágio;

Aos Alunos de mestrado do laboratório por todos os conhecimentos compartilhados;

À Dr^a Marili Vila Nova Rodrigues pelas as análises cromatográficas;

À Andressa Danielli Pletsch e o Marcos Pereira pela parceria durante a pesquisa e ajuda;

Á Andressa Rockenbach por toda a ajuda e conhecimento compartilhado

Á Aline Chaves por toda a amizade e apoio ao ouvir minhas explicações milhões de vezes como uma forma de estudo sobre o conteúdo deste e outros trabalhos

Ao Matheus Ferreira por todo o amor, apoio e incentivo diante de todos meus projetos, fato este imprescindível para a conclusão deste trabalho;

Aos meus pais Josefa dos Santos Lima e Luiz Antônio da Silva, por todo o apoio que, mesmo não compreendo de forma detalhada meus projetos, sempre se propuseram a ouvir e mostrar interesse pelo mesmo;

Ao Murilo Silva de Oliveira, por todos os aprendizados, pela incrível parceria e apoio ao longo de toda a jornada acadêmica;

Ao Sr. Clemente por todos os cumprimentos com um grande sorriso, o que nos motiva a continuar esta jornada;

A todos os funcionários do restaurante universitário por toda a simpatia, acolhimento durante as tardes difíceis;

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná *campus* Santa Helena por ter fornecido toda a estrutura para iniciar o meu caminho em prol da educação deste país.

RESUMO

HUMBERTO, A. P. S. **Análise do perfil químico e anatômico de três espécies de *Piper* do oeste do PR. 2021. 34f.** Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2021.

Algumas espécies do gênero *Piper* são comercializadas devido ao potencial farmacológico do óleo essencial (OE). Contudo, as espécies do gênero são facilmente confundidas por suas semelhanças morfológicas. Assim, este trabalho faz uma análise anatômica comparativa das folhas e da composição química dos OE de três espécies, para dar suporte à sua diferenciação. Para as análises anatômicas foram empregadas técnicas usuais de histoquímica, enquanto a caracterização do OE foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. A partir das análises químicas realizadas podemos inferir que, existem diferenças entre os compostos predominantes em cada espécie analisada, conferindo assim perfis químicos diferentes, aumentando as possibilidades de possíveis utilidades das espécies na indústria farmacêutica. Além disso, alguns caracteres anatômicos podem ser utilizados para a sua distinção, como por exemplo: a presença e a densidade de tricomas e números de feixes vasculares da nervura central.

Palavras-Chave: Óleo essencial. Piperaceae. Cromatografia.

ABSTRACT

HUMBERTO, A. P. S. **Analysis of the chemical and anatomical profile of three piper species from the west of PR. 2021. 34f.** Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2021.

Some species of the genus *Piper* (Piperaceae) are commercialized due to the pharmacological potential their its essential oil (OE). However, species from this genus are easily confused by their morphological similarities. Thus, the objective of this work was to carry out a comparative anatomical analysis of the leaves and the chemical composition of the OE, to support species differentiation. For the anatomical analysis, usual histochemical techniques were used, while the OE characterization was performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. Based on the chemical analysis, it is possible to state that there are differences among the major compounds in each analyzed species, occasioning different chemical profiles and increasing the possibilities of their use in the pharmaceutical industry. Also, some anatomical traits can be used for species differentiation, such as the presence and density in the trichomes number of vascular bundles.

KEYWORDS: Essential oil. Piperaceae. gas chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Morfologia de <i>Piper amalago</i>	15
Figura 2: Morfologia de <i>Piper gaudichaudianum</i>	16
Figura 3 Morfologia de <i>Piper glabratum</i>	17
Figura 4: Etapas da extração de óleo essencial. 1. Processo de hidrodestilação com aparelho de Clevenger. 2. Separação da fração orgânica. 3. Processo de rotaevaporação.....	19
Figura 5: Cortes transversais das folhas na região da nervura central. A. <i>P. amalago</i> . B. <i>P. gaudichaudianum</i> . C. <i>P. glabratum</i> . Cq: colênquima. FV: feixe vascular. Pq: parênquima.....	20
Figura 6: Detalhe do colênquima. Ed: epiderme adaxial. Cq: colênquima. Tt: tricoma tector. A. <i>P. amalago</i> . B. <i>P. gaudichaudianum</i> . C. <i>P. glabratum</i>	21
Figura 7: Mesofilo. Ed: epiderme adaxial. Eb: epiderme abaxial. Pp: parênquima paliçádico. Pl: parênquima lacunoso. Et: estômato. Cs: célula secretora. A. <i>P. amalago</i> . B. <i>P. gaudichaudianum</i> . C. <i>P. glabratum</i>	22
Figura 8: Estruturas químicas dos compostos presentes em <i>P. amalago</i>	24.
Figura 9: Estruturas químicas dos compostos presentes em <i>P. amalago</i>	25
Figura 10: Estruturas químicas dos compostos presentes em <i>P. gaudichaudianum</i>	25
Figura 11: Estruturas químicas dos compostos presentes em <i>P. gaudichaudianum</i>	26
Figura 12: Representação química dos compostos presentes em <i>P. glabratum</i>	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Componentes presentes na amostra dos OE analisados.....	23
.....	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	10
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
3	REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1	Biodiversidade e Uso de Plantas Medicinais	11
3.2	Família Piperaceae	12
3.3	Gênero <i>Piper</i>	12
3.4	<i>Piper amalago</i> L.	13
3.4.1	Morfologia e distribuição	13
3.5	<i>Piper gaudichaudianum</i> Kunth	14
3.5.1	Morfologia e distribuição	14
3.6	<i>Piper glabratum</i> Kunth	15
3.6.1	Morfologia e distribuição	15
4	MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1	Coleta e preparo do material vegetal	16
4.2	Análises anatômicas	16
4.3	Extração de óleo essencial	16
4.4	Análises químicas	17
4.4.1	Cromatografia Gasosa	17
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais é uma prática terapêutica muito comum no Brasil e em outras regiões do mundo desde os primórdios da espécie humana, sendo considerada um saber popular. Devido a motivos econômicos, logísticos e culturais, o uso de plantas medicinais em algumas regiões é o único recurso disponível para a prevenção e tratamento de doenças (MELRO, 2020).

Embora a elaboração e o uso de medicamentos sintéticos tenham substituído em grande parte a fitoterapia nos séculos XIX e XX, estima-se que aproximadamente metade das drogas farmacêuticas utilizadas atualmente tenham sido derivadas, direta ou indiretamente, de fontes naturais (MARTÍNEZ-ALEDO, 2020). Contudo, há alguns anos é possível observar um aumento no uso de fitoterápicos, resgatando a cultura de utilização de medicamentos à base de plantas, devido à busca por parte da população de formas de tratamento de saúde menos agressivas e mais “naturais” (ANDRIANA, 2019). No Brasil, é expressivo o aumento das recomendações médicas para o uso de tratamentos fitoterápicos, principalmente no sistema público de saúde, os quais possuem um custo acessível para seus usuários (MELRO, 2020). Vale ressaltar, ainda, que desde a última década as políticas públicas nacionais vêm incentivando a retomada e o uso de plantas medicinais, como pode ser notada publicação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS), contendo 71 espécies (BRASIL, 2009).

Os potenciais bioativos das plantas são devido à presença de metabólitos secundários, tais como alcaloides, terpenóides, flavonoides e outros fenólicos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, entre outras (HOSSEN, 2020). O Brasil é um dos países com grande diversidade de plantas medicinais, sendo que 119 das espécies comercializadas para fins terapêuticos foram reportadas pelo IBAMA como ameaçadas de extinção (SILVA, 2001). Muitas dessas espécies ainda não possuem estudos significativos sobre sua composição química e potencial farmacológico.

Dentre as espécies mais utilizadas para a obtenção de compostos bioativos estão as pertencentes à família Piperaceae. Essa família possui uma distribuição pantropical e é composta por cerca de três mil espécies subarbustivas, arvoretas e herbáceas epífitas ou terrestres (GILARDONI, 2020). O maior gênero desta família é denominado de *Piper*, com aproximadamente duas mil espécies e distribuição

panropical e neotropical, em altitudes mais baixas principalmente, trata-se de um dos 10 gêneros mais ricos em espécies vegetais (QUIJANO-ABRIL, 2006).

Dentre estas espécies, podemos destacar *Piper amalago* L.; *Piper gaudichaudianum* Kunth. e *Piper glabratum* Kunth, para as quais já foram descritas uma gama de atividades biológicas.

A espécie *P. amalago* é conhecida popularmente como jaborandi-manso ou jaborandi-falso, sendo reconhecidos na literatura para essa espécie potenciais farmacológicos, anti-inflamatório, antimicrobiano, diurético, cicatrizante e leishmanicida (SANTOS et al., 2018). *P. gaudichaudianum* conhecida popularmente como jaborandi possui atividades fungicida, larvicida, anti-inflamatória e analgésica (DA SILVA, 2020). *P. glabratum* apresentou em seu perfil fitoquímico derivados do ácido benzóico, resultando em atividades tripanocida e anti-plasmodial (FLORES et al., 2008). Efeitos anti-inflamatórios e analgésicos também foram observados no óleo essencial das folhas de *P. glabratum* (BRANQUINHO, 2016). No extrato etanólico de suas folhas foram identificados triterpenos, esteroides, ácidos orgânicos e taninos com possíveis atividades antiparasitárias e antidepressivas (LEITÃO, 2020).

A amplitude de potenciais bioativos descritos para essas espécies faz com que seja interessante a realização de estudos referentes à caracterização química das mesmas, para a futura elaboração de fitoterápicos (DOS SANTOS, 2021). Além disso, é necessário caracterizar anatomicamente e morfológicamente para facilitar a distinção entre as espécies, o conhecimento dos órgãos e estruturas nos quais os óleos essenciais e outros compostos são produzidos e estocados pode auxiliar na otimização da sua produção comercial. A capacidade de produção do óleo essencial de algumas espécies, por exemplo, está restrita a estruturas específicas para o armazenamento destes, podendo ser estocados e produzido em tricomas, glândulas de óleos ou idioblastos em diferentes tecidos vegetais (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2016).

Assim, tendo em vista a amplitude dos potenciais biológicos pertencentes ao gênero *Piper*, bem como suas semelhanças morfológicas, o objetivo deste trabalho é analisar a composição química e anatômica das três espécies de *Piper* (*P. amalago*, *P. gaudichaudianum* e *P. glabratum*), com o intuito de identificar os compostos majoritários, bem como diferenciá-las anatomicamente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi analisar a composição química e anatômica de três espécies de *Piper* com ocorrência no oeste do Paraná (*P. amalago*, *P. gaudichaudianum* e *P. glabratum*).

2.2 Objetivos específicos

- Diferenciar o perfil químico das três espécies analisadas;
- Analisar comparativamente a anatomia das três espécies.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Biodiversidade e Uso de Plantas Medicinais

O Brasil é considerado um dos países mais ricos em biodiversidade no mundo, possuindo atualmente cerca de 32.086 espécies nativas de Angiospermas e 23 espécies nativas de gimnosperma (ZAPPI, et al., 2015). Muitas dessas espécies são utilizadas pela população para fins terapêuticos. Só na região amazônica são comercializadas cerca de 1.200 espécies medicinais em mercados populares (MACIEL et al., 2002). O comércio de plantas medicinais no Brasil gera cerca de 261 milhões de dólares por ano, correspondendo a 5% do total de plantas medicinais comercializadas no mundo (DUTRA et al., 2016).

As famílias Lamiaceae e Asteraceae estão entre as famílias mais utilizadas na medicina popular no Brasil e vários pesquisadores têm se empenhado em verificar a eficácia dessas espécies, bem como identificar os princípios ativos responsáveis pelas atividades. A família Lamiaceae destaca-se pela bioatividade dos óleos essenciais produzidos pelas espécies dessa família. Recentemente Ghorbani (2017) descreveu uma expressiva atividade antitumoral de *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae), conhecida popularmente como sálvia. Metabólitos presentes em seu extrato potencializam a liberação de substâncias imunomodulatórias, aumentando a atividade dos macrófagos. Vale ressaltar também que, o chá de sálvia reduziu a frequência de mutações induzidas em *Drosophila melanogaster* (mosca da fruta). O efeito

antimutagênico de *S. officinalis* é dado principalmente por compostos monoterpênicos, como tujona, cânfora, limoneno e 1,8-cineol presentes no óleo essencial da espécie (PEDRO, 2016).

Com o surgimento da medicina moderna, desenvolvimento de grandes metrópoles, aliada a mudanças de hábitos, o conhecimento empírico sobre plantas medicinais e outros saberes naturais perderam sua posição no cotidiano da sociedade, mas que nas últimas décadas vem-se percebendo uma atuação por parte de políticas públicas com ações que incentivam o uso e ensino de plantas medicinais. Em 2008, por exemplo, publicou-se A Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS), contendo 71 plantas (BRASIL, 2009). Vale ressaltar também que anteriormente a esta ação, a partir de 2006 foram implantadas as diretrizes da Política Nacional de plantas medicinais e Fitoterápicos, a qual diz que é obrigatório o ensino sobre plantas medicinais em todos os níveis do ensino básico, com o intuito de restituir a prática de consumo com segurança de plantas medicinais.

3.2 Família Piperaceae

A família Piperaceae é composta por aproximadamente três mil espécies, sendo elas, subarborescentes e arvoretas, eretas ou encandentes e herbáceas epífitas ou terrestres, com folhas alternadas e inteiras, e flores pequenas, pontiagudas e unissexuais e caule nodoso, esta família está distribuída em 10 gêneros, encontrados principalmente em regiões tropicais e subtropicais (GILARDONI, 2020; GUIMARÃES, 2010).

3.3 Gênero *Piper*

O maior gênero da família Piperaceae é denominado *Piper*, composto por duas mil espécies, ocorrendo principalmente em regiões tropicais da África, Ásia e América do Sul. Existem no Brasil aproximadamente 290 espécies catalogadas deste gênero (FLORA DO BRASIL, 2020), para muitas das quais já foram reconhecidas atividades antioxidante, leishmanicida, antifúngica, inseticida e antimicrobiana. Além disso, o gênero também é muito conhecido pela importância econômica na produção de condimentos e indústria farmacêutica e inseticida (DE SOUZA, 2020; OLIVEIRA, 2015).

Neste trabalho, iremos focar nas espécies *Piper amalago* L., *Piper gaudichaudianum* Kunth e *Piper Piper glabratum* Kunth, que são abundantes no subsbosque de remanescentes de Mata Atlântica do Oeste do Paraná.

3.4 *Piper amalago* L.

Conhecida popularmente como jaborandi-manso, esta espécie é muito utilizada com fins terapêuticos para tratar problemas digestivos, queimaduras, bem como doenças renais (SANTOS, 2016). Alguns estudos evidenciaram atividades diuréticas e antilitiásica (NOVAES et al., 2014), leishmanicida e acaricida (CARRARA et al., 2013), ansiolítica (MULLALLY et al., 2016), anti-hiperalgésica. O extrato aquoso das folhas de *P. amalago* apresentou atividade cicatrizante em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (SANTOS, 2020).

3.4.1 Morfologia e distribuição

Arbusto glabro facilmente reconhecido devido às suas folhas com padrão de nervação acródroma. A espécie está distribuída do México até o Brasil (QUEIROZ et al., 2020).



Figura 1 - Morfologia de *P. amalago*
Fonte: Autoria própria, 2019.

3.5 *Piper gaudichaudianum* Kunth.

P. gaudichaudianum, conhecida como pariparoba, *jaborandi* ou erva de São Manuel, esta espécie é muito utilizada na medicina popular devido ao seu potencial antimicrobianos. Estudos conduzidos com o extrato das folhas demonstraram atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Candida tropicalis*. Além disso, o óleo essencial possui componentes com atividade larvicida contra *Aedes aegypti* L. e uma expressiva atividade inseticida contra a oviposição de *D. suzukii*, uma espécie de mosca de frutas (GAIA; 2014; SCHINDLER, 2017; SOUZA 2020).

3.5.1 Morfologia e distribuição

Trata-se de um arbusto com folhas de inervação camptódroma e moderadamente pubescentes. A espécie possui com ampla distribuição no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai, sendo encontrada principalmente nos Biomas do Cerrado, Amazônia e Mata Atlântica (SCHINDLER, 2018).



Figura 2 - Morfologia de *P. gaudichaudianum*
Fonte: Autoria própria, 2019.

3.6 *Piper glabratum* Kunth

Popularmente conhecida como pariparoba ou falso jaborandi, *P. glabratum* é muito utilizada na medicina popular como um potente analgésico e antiinflamatório (BRANQUINHO et al., 2017). Além disso, segundo Leitão (2020) seus estudos em modelos de inflamação aguda com o extrato etanólico da espécie apresentaram uma expressiva inibição de mediadores inflamatórios por fitol, estigmasterol e β -sitosterol, resultando em atividades anti-hiperalgésicas, antinociceptiva e antiinflamatória em modelos.

3.6.1 Morfologia e distribuição

Esta espécie é caracterizada como um arbusto glabro com nervação camptódroma. (BERGO, 2012), podendo ser encontrada em todas as regiões todo o território brasileiro, ocupando áreas de floresta ciliar, semidecidual, cerrado e restinga.



Figura 3 - Morfologia de *P. glabratum*
Fonte: Autoria própria, 2019.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta e preparo do material vegetal

As espécies foram coletadas na Área de Proteção Permanente do Lago da Hidroelétrica Itaipu no Município de Santa Helena- PR sob as coordenadas 24°51'30.4"S 54°20'11.2"W. As Exsiccatas foram preparadas e o material testemunho depositado no Herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Santa Helena (Herbário UTFPR-SH) sob identificação do Prof. Dr. Leonardo Biral. Partes aéreas das três espécies foram coletadas para a realização dos estudos anatômicos e extração do óleo essencial.

4.2 Análises anatômicas

Foram realizados cortes transversais à mão livre do material fresco na região mediana dos caules e na região das nervuras das folhas. Os cortes foram submetidos a técnicas usuais em histoquímica. Para uma melhor visualização e identificação de possíveis compostos e estruturas e diferenciar as paredes celulares, os cortes foram corados com azul de toluidina. Para a identificação de compostos celulares foram utilizados lugol 10% para a presença de amido, cloreto férrico para substâncias fenólicas e Sudan IV para compostos lipídicos. As imagens foram obtidas por meio de microscopia a luz.

4.3 Extração de óleo essencial

Para a extração do óleo essencial, as folhas foram separadas dos caules e secas em estufa a 40°C durante 24 horas, posteriormente estas foram trituradas em moinho de facas e mantidas sob refrigeração até a extração dos óleos essenciais. Os óleos essenciais foram obtidos a partir de 100g de material vegetal coletado, e a extração foi realizada por três horas pelo método de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger modificado conforme Stahl e Schild (1981). A extração foi feita no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR

câmpus Santa Helena sob a supervisão da Profa. Dra. Jociani Ascari e auxílio do aluno de iniciação científica Marcos Felipe Maciel Pereira. A partir desta técnica foi obtido o hidrolato, o qual foi submetido à extração líquido-líquido com éter etílico. A fração orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e posteriormente submetida à rotaevaporação, conforme mostra a Figura 7. O rendimento do óleo essencial foi calculado em relação à massa seca do material.

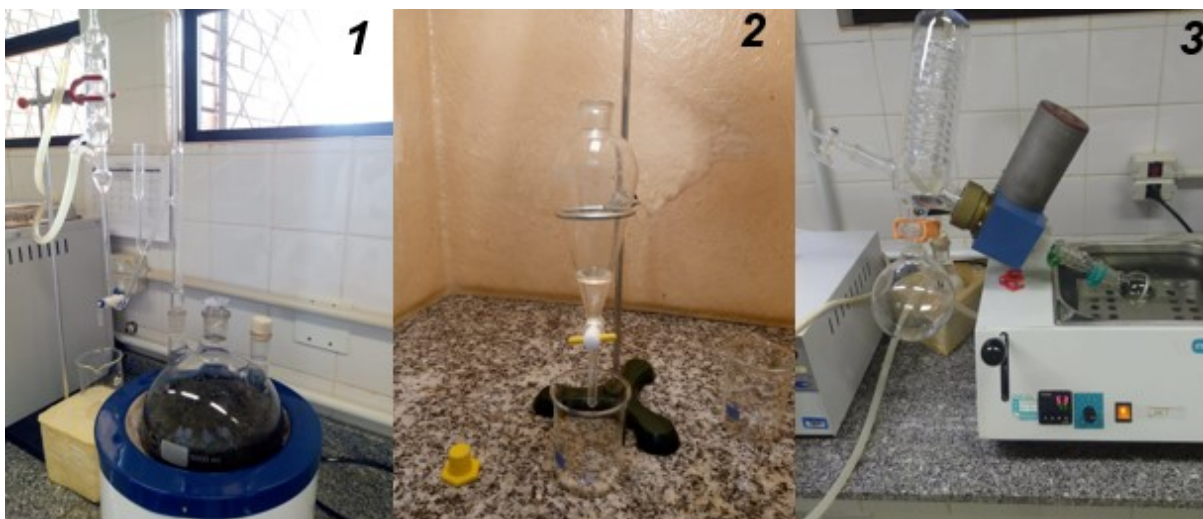


Figura 4 - Etapas da extração de óleo essencial. 1. Processo de hidrodestilação com aparelho de Clevenger. 2. Separação da fração orgânica. 3. Processo de rotaevaporação
FONTE: Autoria própria, 2021.

4.4 Análises químicas

4.4.1 Cromatografia Gasosa

A análise do perfil químico dos óleos essenciais foi realizada em um cromatógrafo a gás Agilent, modelo HP-6890 equipado com um detector seletivo de massas Agilent, modelo HP-5975 utilizando uma coluna capilar HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 μ m) nas seguintes condições: temperatura do injetor = 220°C, coluna = 60°C, taxa de aquecimento de 3°C·min⁻¹ até 240°C e detector = 250°C. Hélio foi utilizado como gás de arraste numa vazão de 1mL·min⁻¹. Detetor seletivo de massas operando a 70 eV, m/z = 30 a 500 u.m.a.

Para a injeção no cromatógrafo, amostras dos óleos foram solubilizadas em acetato de etila na concentração de 20 mg·ml⁻¹ e a identificação foi realizada através do cálculo dos índices de retenção dos analitos, utilizando-se a co-injeção de uma

mistura de padrões de hidrocarbonetos (C8 a C24), comparação com a biblioteca eletrônica do equipamento (NIST-11) e com dados da literatura (ADAMS, 2007).

Ambos procedimentos foram realizados no Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrárias- CPQBA do departamento de Química de Produtos Naturais da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, e foram supervisionados pelo Prof. Dr Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises anatômicas evidenciaram características úteis na distinção das três espécies estudadas. Os cortes transversais das folhas na região das nervuras centrais demonstraram que as três espécies possuem nervuras proeminentes na face adaxial, mas estas nervuras diferem significativamente quanto ao número de feixes vasculares entre as espécies analisadas. *P. amalago* possui apenas um feixe vascular na nervura central, *P. gaudichaudianum* apresenta dois feixes e *P. glabratum* apresentou três feixes vasculares (Figura 8). Nas três espécies os feixes foram colaterais, com xilema voltado para a face adaxial e o floema voltado para a face abaxial (Figura 8). Resultados semelhantes foram observados por Santos et al. (2015) para *P. amalago* e por Gogoz et al. (2012) para *P. gaudichaudianum*. Contudo, o autor cita que o número de feixes vasculares desta espécie varia de três a sete dependendo da altura do corte da nervura central.

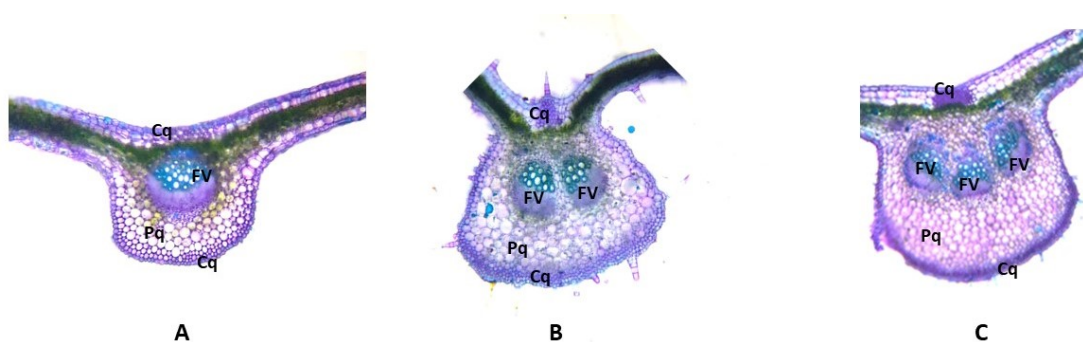


Figura 5. Cortes transversais das folhas na região da nervura central. A. *P. amalago*. B. *P. gaudichaudianum*. C. *P. glabratum*. Cq: colênquima. FV: feixe vascular. Pq: parênquima. FONTE: Autoria própria, 2021.

As nervuras centrais das três espécies possuem colênquima angular no córtex, tanto na face abaxial, quanto na face adaxial, que diferem no número de camadas de células (Figura 9). Em *P. amalago*, as o colênquima na face adaxial é fino, com apenas três camadas de células (Figura 9A), enquanto em *P. gaudichaudianum* (Figura 9B) e *P. glabratum* (Figura 9-C) o número de camadas de células do colênquima variam de cinco a sete.

Tricomas tectores longos, com três a cinco células foram detectados em *gaudichaudianum* (Figura 9B) e tricomas tectores curtos foram, com uma a três células foram detectados em *P. glabratum* (Figura 9C), enquanto em *P. amalago* (Figura 9C) não foram detectados tricomas. Neste estudo, tricomas glandulares não foram detectados em nenhuma das espécies. Contudo, estudo realizado por Santos et al. (2015) utilizando microscopia eletrônica de varredura detectou tricomas glandulares em *P. amalago*.

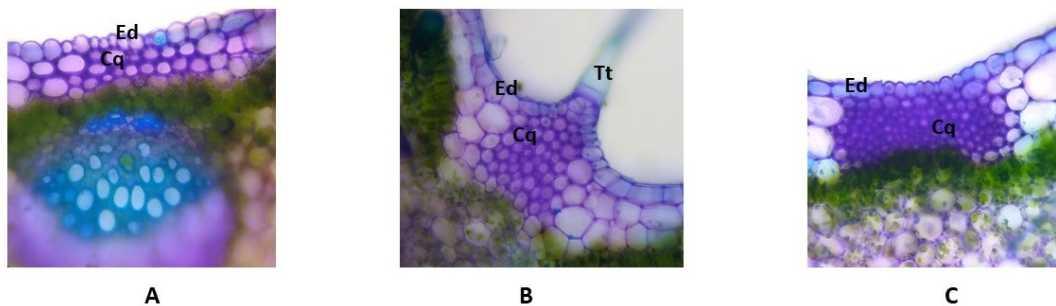


Figura 6 – Detalhe do colênquima. Ed: epiderme adaxial. Cq: colênquima. Tt: tricoma tector. A. *P. amalago*. B. *P. gaudichaudianum*. C. *P. glabratum*. FONTE: Autoria própria, 2021.

As três espécies analisadas possuem estômatos tetracíticos na face abaxial, sendo consideradas hipoestomáticas (Figura 10). O mesofilo é dorsiventral, com parênquima clorofiliano paliçádico uniestratificado nas três espécies. O número de camadas de células do parênquima clorofiliano lacunar foi variável, apresentado duas a cinco camadas (Figura 10). Contudo, Gogoz et al. (2012), cita que o número de células dos parênquimas clorofilianos paliçádico e lacunar não deve ser utilizado como característica distintiva em Piperaceae, visto que o número de camadas destes tecidos varia de acordo com a intensidade luminosa a que as plantas estão submetidas. Foram observadas células secretoras de óleo com diferentes tamanhos nos parênquimas clorofilianos das três espécies (Figura 10), sendo estas células

responsáveis por armazenar e secretar o óleo essencial, desta forma esta característica pode estar relacionada ao rendimento do óleo essencial.

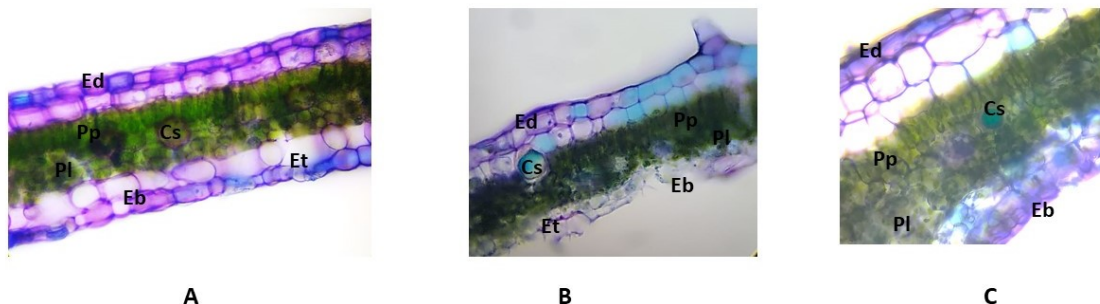


Figura 7. Mesofilo. Ed: epiderme adaxial. Eb: epiderme abaxial. Pp: parênquima paliçádico. Pl: parênquima lacunoso. Et: estômato. Cs: célula secretora. A. *P. amalago*. B. *P. gaudichaudianum*. C. *P. glabratum*. FONTE: Aatoria própria, 2021.

Os óleos essenciais das espécies *P. amalago*, *P. gaudichaudianum* e *P. glabratum* apresentaram um rendimento respectivamente de 1,18%, 0,81% e 1,25%. Todos os dez principais compostos dos óleos essenciais foram identificados através dos espectros de massa da biblioteca (NIST-11) com semelhança maior que 95% em comparação com os dados espectrais de massa de ADAMS (1995).

Dentre os dez principais compostos de *P. amalago*, observou-se que 80% destes são sesquiterpenos e 20% monoterpenos, em *P. gaudichaudianum* 70% dos compostos elucidados são sesquiterpenos e 30% monoterpenos e por fim em *P. glabratum* 80% de seus principais compostos analisados são sesquiterpenos e 20% são monoterpenos (TEIXEIRA, 2013; VELOSO, 2014; CHEIRA, 2015). Na maioria dos óleos essenciais há a predominância de terpenos, especialmente monoterpenos e sesquiterpenos. Estes tipos auxiliam na defesa das plantas contra possíveis patógenos, conferindo assim propriedades antifúngicas e antivirais, inseticidas e antibióticas que refletem diretamente nas capacidades bioativas de seus óleos essenciais (ALBIERO, 2020). Além disso, os monoterpenos e sesquiterpenos, com menor massa molecular apresentam volatilidade acentuada, conferindo aromas característicos à espécie (FELIPE, 2017).

Estudos feitos por Lima (2018) com o terpeno linalol, também presente em *P. glabratum*, evidenciou uma atividade antibiótica contra as cepas de *Klebsiella pneumoniae*, um patógeno causador de diversas infecções urogenitais. Segundo

Junior (2010) espécies produtoras de limonóides dificilmente sofriam com herbivoria, havendo assim uma seleção natural por parte por insetos herbívoros no estudo.

A tabelaa abaixo apresenta os dez componentes mais concentrados presentes nas amostras dos óleos essenciais das espécies analisadas ordenados de forma decrescente. Dentre eles estão compostos presentes somente em uma das espécies, compostos presentes em apenas duas das espécies, bem como compostos que se fazem presentes nas três espécies analisadas.

Tabela 1 - Componentes presentes na amostra dos OE analisados

Composto	<i>P. amalago</i>	<i>P. gaudichaudianum</i>	<i>P. glabratum</i>
	Área de pico (%)		
α -Zingibereno	19,314	*	11,709
δ -Cadineno	8,656	*	2,726
β -Cariofileno	8,057	21,9	5,412
Biciclogermacreno (lit)	7,556	15,4	*
Germacreno D-4-ol	6,413	*	*
β -felandreno	6,143	*	*
β -Bisaboleno	5,816	*	*
Nerolidol	4,168	4,208	38,292
D- Germacreno	3,677	4,843	2,478
β -Selineno	*	5,173	*
Limoneno	*	4,869	*
Aromadendreno	*	3,437	2,576
α -Copaeno	*	3,42	*
β -Ocimeno	*	2,738	*
Oxido cariofileno	*	2,612	*
α - cariofileno	*	*	7,845
Linalol	*	*	3,557
α -Muurolol	*	*	1,335
Globulol	*	*	1,333

A partir dos resultados obtidos, foi possível observar que em *P. amalago*, o α -zingibereno (**1**) é o composto em maior concentração, representado aproximadamente 19,31% da amostra. É importante ressaltar que este sesquiterpeno possui capacidades bactericidas contra *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas aeruginosa* (MAHBOUBI, 2019). Este mesmo composto aparece em *P. glabratum*, mas com uma concentração menor, sendo o segundo composto mais abundante. O sesquiterpeno δ -cadineno (**2**) é mais abundante no óleo essencial de *P. amalago*, quando comparado a *P. glabratum*. O composto biciclogermacreno (**3**) está

presente tanto em *P. amalago*, quanto em *P. gaudichaudianum*, sendo o segundo composto mais abundante nesta última espécie. A Figura 11 ilustra as estruturas químicas dos compostos discutidos.

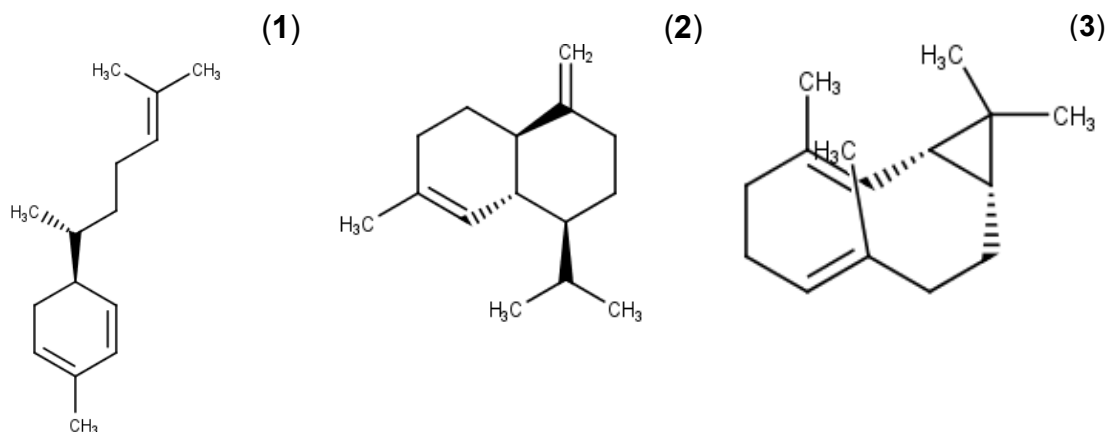


Figura 8- Estruturas químicas dos compostos presentes em *P. amalago*
 FONTE: Autoria própria, 2021.

Alguns compostos se mostraram únicos dentre as concentrações analisadas, como por exemplo, germacreno D-4-ol (4), δ -elemeno (5), β -felandreno (6), β -bisaboleno (7) (Figura 12). Vale ressaltar que, um estudo feito com algumas espécies cujo o óleo é composto principalmente de Germacreno D-4-ol apresentou uma efetiva atividade inseticida devido a sua alta toxicidade e rápida ação contra *D. hyalinata* (SEIXAS, 2018).

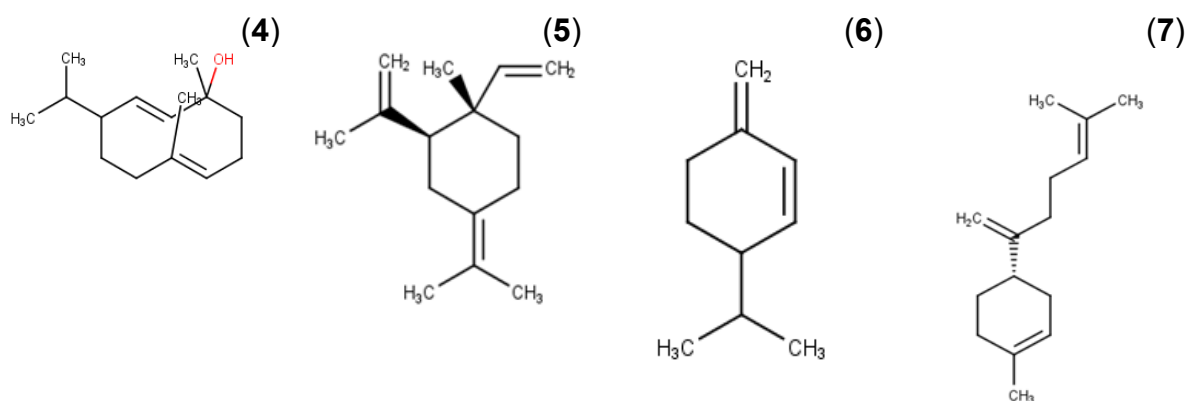


Figura 9 - Estruturas químicas dos compostos presentes em *P. amalago*.
 FONTE: Autoria própria, 2021.

Em *P. gaudichaudianum*, o composto aromadendreno (**8**) apresentou concentração similar quando comparado a *P. glabratum*, sendo o sexto composto mais abundante na amostra analisada. Segundo Mossi (2011), o aromadendreno apresentou atividades biológicas inseticidas e repelente contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). O β -cariofileno (**9**) também é um composto com concentrações semelhante entre as espécies (Figura 13), mas em *P. gaudichaudianum* este composto representa mais de 20% da amostragem. Dahham, (2015) evidenciou fortes propriedades citotóxicas seletivas contra células de câncer colorretal humano pra este composto.

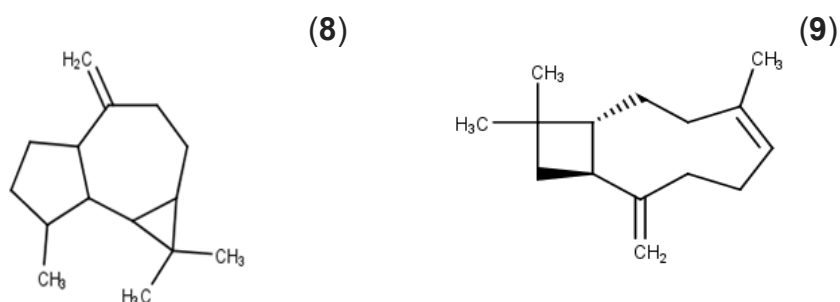


Figura 10 - Estruturas químicas dos compostos presentes em *P. gaudichaudianum*.
FONTE: Autoria própria, 2021.

Os β -Selineno (**10**), α -copaeno (**11**), β -ocimeno (**12**) e Óxido cariofileno (**13**) foram identificados apenas em *P. gaudichaudianum* (Figura 14). Estudos feitos com óleos essenciais ricos em β -selineno, o segundo composto mais abundante em *P. gaudichaudianum*, demonstraram atividades antioxidantes, antiinflamatória, analgésica e antipirética (CHANDRA, 2017).

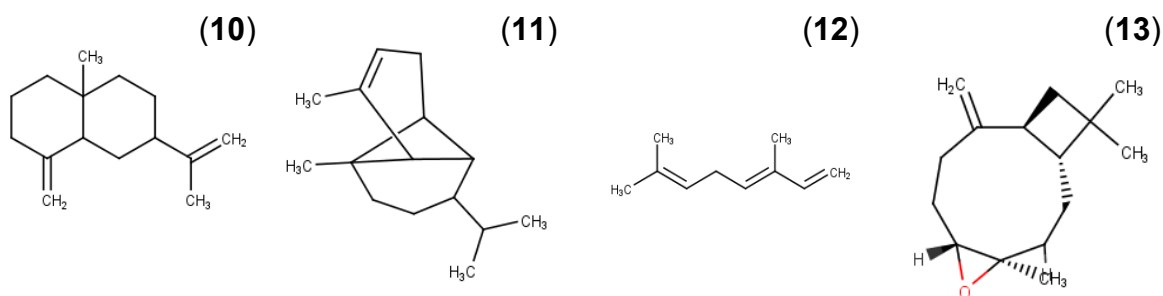


Figura 11 - Estruturas químicas dos compostos presentes em *P. gaudichaudianum*
FONTE: Autoria própria, 2021.

No óleo essencial *P. glabratum*, o nerolidol (**14**) foi o composto majoritário. Este sesquiterpeno está presente em todas as amostras, porém em menores concentrações. A literatura descreve para este composto atividades leishmanicida, inibindo o crescimento de promastigotas de *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. chagasi* e amastigotas de *L. amazonensis* (ARRUDA, 2005), bem como atividade antimalárica (SAITO, 2016). Os compostos α -cariofileno (**15**) α -muurolol (**16**) e globulol (**17**) também foram detectados apenas em *P. glabratum* (Figura 15).

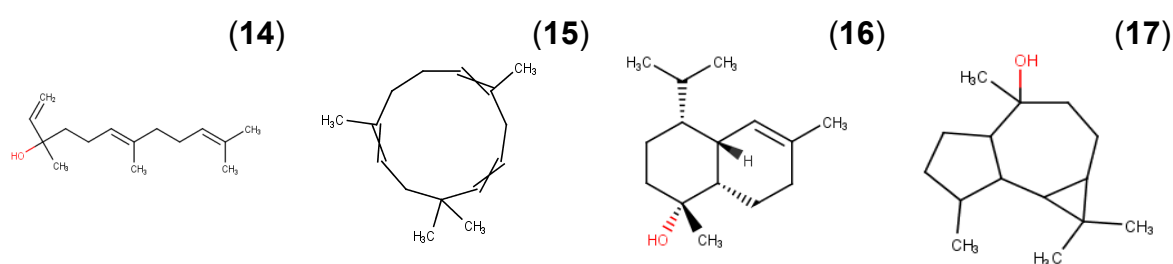


Figura 12 - Representação química dos compostos presentes em *P. glabratum*

FONTE: Autoria própria, 2021.

Com as análises foi constatado que nerolidol (**14**), β -cariofileno (**9**) e D germmacreno (**4**) são compostos presentes em todas as amostras em diferentes concentrações conforme já apresentado. Além disso, pode-se perceber também que os óleos essenciais de *P. amalago* e *P. glabratum* são mais semelhantes entre si, quando comparadas a *P. gaudichaudianum* e que esta é a espécie que mais possui compostos únicos dentre as três espécies analisadas, sendo necessário assim uma pesquisa mais profunda acerca das capacidades bioativas deste óleo essencial. Vale ressaltar também que os resultados discutidos neste trabalho foram baseados a partir de análises dos dez principais componentes em maior concentração.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises anatômicas mostraram que, apesar da semelhança morfológica entre as espécies, alguns caracteres anatômicos podem ser utilizados para a sua distinção, especialmente o número de feixes vasculares na nervura central, o número de camadas de células do colênquima angular e o tipo e a densidade de tricomas

encontrados. Embora a morfologia das células secretoras de óleo seja similar nas três espécies, o seu conteúdo varia significativa, conforme evidenciado nas análises químicas dos óleos essenciais. Os óleos variam em compostos presentes, bem como na concentração dos compostos comuns, conferindo assim perfis químicos distintos. Estas distinções podem aumentar a amplitude de possíveis utilidades das espécies na indústria farmacêutica.

É de fundamental importância que sejam realizados estudos adicionais com objetivo de elucidar as atividades biológicas dos óleos essenciais das espécies em questão, para verificar se as espécies possuem potenciais bioativos similares ou distintos.

REFERÊNCIAS

ALBIERO, B.; FREIBERGER, G.; VANIN, A. B. Atividade inseticida e repelente de extrato e pó de sementes de *Anethum graveolens* e *Azadirachta indica* frente ao *Sitophilus zeamais*. **Scientia Plena**, v. 16, n. 4, 2020.

ANDRIANA, Y.; XUAN, T. D.; QUY, T. N.; TRAN, H. D.; LE, Q. T. Biological Activities and Chemical Constituents of Essential Oils from *Piper cubeba* Bojer and *Piper nigrum* L. **Molecules**, v. 24, n. 10, p. 1876, 2019.

ARRUDA, D. C; D'ALEXANDRI, F. L; KATZIN, A. M; ULIANA, S. R. Antileishmanial activity of the terpene nerolidol. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 49, n. 5, p. 1679-1687, 2005.

BERGO, C. L. Identificação e potencialidade de uso de *Piper* sp. no município de Morretes Paraná. CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2012, Belém, PA. **Anais**. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012.

BRANQUINHO, L. S. **Avaliação da toxicidade e da atividade antiinflamatória do óleo essencial das folhas de *Piper glabratum* em camundongos**. Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências da Saúde, Dourados-MS, 2016.

BRASIL. **Departamento de assistência farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos/Ministério da Saúde**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de assistência farmacêutica – Brasília: Ministério da Saúde, p.136, 2009.

CARRARA, V. S. et al. Antileishmanial activity of amides from *Piper amalago* and synthetic analogs. **Braz Journ of Pharmacy**, v. 23, p. 3-7, 2013.

CHANDRA, M. et al. β -Selinene-rich essential oils from the parts of *Callicarpa macrophylla* and their antioxidant and pharmacological activities. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 52, 2017.

CHEIRAN, K. P. **Atividade anti *Listeria monocytogenes* dos monoterpenos e dos sesquiterpenos de óleo essencial de *Heterothalamus psiadioides***. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia. Curso de Farmácia. 2015.

DAHAM, S. S. et al. The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 11808-11829, 2015.

DA SILVA, A. C. A et al. 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 für Naturforschung C**, v. 1, n. ahead-of-print, 2020.

DE OLIVEIRA, M. D. L. B. et al. O gênero *Piper* no Brasil: o estado da arte da pesquisa. **Biodiversidade**, v. 19, n. 3, 2020.

DE SOUZA, M. T. et al. Chemical composition of essential oils of selected species of *Piper* and their insecticidal activity against *Drosophila suzukii* and *Trichopria anastrephae*. **Environmental Science and Pollution Research**, 2020.

DOS SANTOS, V. L. P. et al. Review of *Piper* species growing in the Brazilian State of Paraná with emphasize on the vegetative anatomy and biological activities. **The Botanical Review**, p. 1-32, 2021.

Dutra, R. C., Campos, M. M., Santos, A. R., & Calixto, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, 112, 4-29, 2016.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

GAIA, A. M. et al. Age-dependent changes from allylphenol to prenylated benzoic acid production in *Piper gaudichaudianum* Kunth. **Phytochemistry**, v. 106, p. 86-93, 2014.

GILARDONI, G.; MATUTE, Y.; RAMÍREZ, J. Chemical and Enantioselective Analysis of the Leaf Essential Oil from *Piper coruscans* Kunth (Piperaceae), a Coastal and Amazonian Native Species of Ecuador. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 791, 2020.

GHORBANI, A.; ESMAEILIZADEH, M. Propriedades farmacológicas da *Salvia officinalis* e seus componentes. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 4, p. 433-440, 2017.

GOGOSZ, A. M. BOEGER, M. R. T. NEGRELLE, R. R. B. BERGO, C. **Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero Piper (Piperaceae)**. *Rodriguésia*, 63(2), 405-417, 2012.

HOSSEN, I; HUA, W; TING, L; MEHMOOD, A; JINGYI, S; DUOXIA, X; JUNSONG, X. Phytochemicals and inflammatory bowel disease: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 8, p. 1321-1345, 2020.

LEITÃO, M. M.; et al. Effects of an ethanolic extract and fractions from *Piper glabratum* (Piperaceae) leaves on pain and inflammation. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 117, p. 1-10, 2020.

LIMA, R. X. **Atividade antimicrobiana de terpenos e antibióticos convencionais e suas associações frente *Klebsiella pneumoniae* produtoras de carbapenemase**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

Maciel, M. A. M., Pinto, A. C., Veiga Jr, V. F., Grynberg, N. F., & Echevarria, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, 25(3), 429-438, 2002.

MAHBOUBI, M.; ZINGIBER O. R. Essential Oil, a Review on its Composition and Bioactivity. **Clinical Phytoscience**, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2019.

MARTÍNEZ-ALEDO, N.; NAVAS-CARRILLO, D.; ORENES-PIÑERO, E. Medicinal plants: active compounds, properties and antiproliferative effects in colorectal cancer. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, n. 1, p. 123-137, 2020.

MELRO, J. C.; et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the population assisted by the "Programa de saúde da família" (family health program) in Marechal Deodoro-AL, Brazil. **Brazilian journal of biology**, v. 80, n. 2, p. 410-423, 2020.

MOSSI, A. J.; et al. Insecticidal and repellency activity of essential oil of *Eucalyptus* sp. against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 2, p. 273-277, 2011.

MULLALLY, M; et al. Anxiolytic activity and active principles of *Piper amalago* (Piperaceae), a medicinal plant used by the Q'eqchi' Maya to treat susto, a culture-bound illness. **Journ Ethnopharm**, v. 185, p. 147- 154, 2016.

NOVAES, A. S.; et al. Diuretic and antilithiasic activities of ethanolic extract from *Piper amalago* (Piperaceae). **Phytomed**, v. 21, p. 523-528, 2014.

PEDRO, D. F.; et al. Quimioterapia do câncer de cólon por ingestão de chá de sálvia: diminuição dos danos ao DNA e proliferação celular. **Pesquisa em fitoterapia**, v. 30, n. 2, p. 298-305, 2016.

QUEIROZ, G. A.; BARROS, A. A. M.; GUIMARÃES, E. F. *Piper* (Piperaceae) from Serra da Tiririca State Park, Niterói/Maricá, RJ, Brazil. **Rodriguésia**, v. 71, 2020.

RICARDO, L. M.; et al. 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, n. 3, p. 388-400, 2017.

SAITO, A. Y. et al. Antimalarial activity of the terpene nerolidol. **International journal of antimicrobial agents**, v. 48, n. 6, p. 641-646, 2016.

Santos, V. L., Franco, C. R., Amano, E., Messias-Reason, I. J., & Budel, J. M. Anatomical investigations of *Piper amalago* (jaborandi-manso) for the quality control. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(2), 85-91, 2015.

SANTOS, A. L. et al. Chemical characterisation of *Piper amalago* (Piperaceae) essential oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with rapid-scanning quadrupole mass spectrometry (GC×GC/qMS) and their antilithiasic activity and acute toxicity. **Phytochemical analysis**, v 29, n 5. p 232-455, 2018.

SANTOS, V. L. P. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of *Piper amalago* L. **J. Pharm**, v. 35, n. 8, p. 1883-9, 2016.

SANTOS, V. L. P. et al. The wound healing effect of aqueous extract from *Piper amalago* L. in diabetic patient. **EXPLORE**, v. 16, n. 6, p. 368-371, 2020.

SCHINDLER, B.; HEINZMANN, B. M. Efeito da sazonalidade sobre o rendimento do óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* Kunth. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 263-273, 2018.

SCHINDLER, B; HEINZMANN, B. M. *Piper gaudichaudianum* Kunth: seasonal characterization of the essential oil chemical composition of leaves and reproductive organs. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 60, 2017.

SILVA, S. R.; BUITRÓN, X; OLIVEIRA, L. D; MARTINS, M. V. M. Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio. Quito, Equador: TRAFFIC América do Sul, 2001.

SEIXAS, P. T. L. et al. Bioactivity of essential oils from *Artemisia* against *Diaphania hyalinata* and its selectivity to beneficial insects. **Scientia Agricola**, v.75, n. 6, p. 519-525, 2018.

STAHL, E.; SCHILD, W. Drogenanalyse II, Inhaltsstoffe und Isolierungen. New York: G. Fischer, 461p., 1981.

TAVARES, S. A. **Plantas medicinais**. EMATER-DF, 50 p. Brasília, DF 2015.

TEIXEIRA, B. et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587-595, 2013.

VELOSO, R. A. et al. Teor e composição do óleo essencial de quatro acessos e duas cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, n. 2, p. 364-371, 2014.

ZAPPI, DANIELA C. ET AL. **Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in brazil**. Rodriguésia, V. 66, N. 4, P. 1085-1113, 2015.