

# Caracterização farmacognóstica de *Piper arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* (Piperaceae)

Rolf Junior Ferreira SILVA<sup>1\*</sup>, Ana Cristina Andrade de AGUIAR-DIAS<sup>2</sup>, Kelson do Carmo Freitas FAIAL<sup>3</sup>, Maria Sílvia de MENDONÇA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Botânica, Av. André Araujo, 2936, Aleixo, CEP: 69060-001, Manaus, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Perimetral, 2501, Montese, CEP: 66077-530, Belém, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto Evandro Chagas, Laboratório de Toxicologia, Seção de Meio Ambiente, Rod. BR 316 km 07, s/n, Levilândia, CEP: 67.030-000, Ananindeua, Brasil.

<sup>4</sup> Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, Av. Gal. Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, Setor Sul, Coroado I, CEP: 69077-000, Manaus, Brasil.

\* Autor correspondente: rolfjr@hotmail.com

## RESUMO

*Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* e *P. tuberculatum* Jacq. (Piperaceae), conhecidas como pimenta-longa, são comercializadas como produtos tradicionais fitoterápicos e, frequentemente, identificadas erroneamente, não havendo relatos sobre controle de qualidade dessas espécies. O objetivo do trabalho foi preparar e caracterizar drogas vegetais foliares e caulinares dessas espécies para estabelecer-lhes parâmetros de autenticidade botânica e grau de pureza para o controle de qualidade. Foram utilizados métodos padrões para o preparo e análises estrutural e físico-química das drogas vegetais. São caracteres diagnósticos macroscópicos para distinguir as drogas vegetais íntegras: tamanho, forma, cor, sabor, textura, características da superfície de fratura e da secção transversal e os padrões de venação foliar. São caracteres diagnósticos para distinguir as drogas vegetais pulverizadas: padrões de cutícula e cera epicuticular, tipos de tricoma e espessamento parietal dos elementos traqueais e a forma do hilo dos grãos de amido. Emergências são marcadores morfológicos chave para as drogas vegetais de *P. tuberculatum*. Os valores dos parâmetros físico-químicos foram similares nas drogas vegetais das espécies, exceto o de cinzas ácido-insolúveis que foi maior nas drogas vegetais caulinares de *P. arboreum* var. *arboreum*. As maiores concentrações de metais ocorreram nas drogas vegetais de *P. arboreum* var. *arboreum*. As concentrações mais elevadas foram de Al, Cu, Mn e V e as mais baixas de Cd, Co e Hg. Os resultados obtidos poderão ser utilizados como parâmetros de controle de qualidade para as drogas vegetais de ambas as espécies.

**PALAVRAS-CHAVE:** Pimenta-longa, Produtos tradicionais fitoterápicos, Farmacognosia, Metais tóxicos, ICP-OES.

## Pharmacognostical characterization of *Piper arboreum* var. *arboreum* and *P. tuberculatum* (Piperaceae)

### ABSTRACT

*Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* and *P. tuberculatum* Jacq. (Piperaceae), both known as “pimenta-longa”, are frequently misidentified. Despite the fact that both species are sold as traditional phytotherapeutic products, there are no reports on their quality control. The aim of this study was to prepare and characterize leaf and stem herbal drugs of both species using standard methods aiming to establish parameters for botanical authentication and purity degree for their quality control. Size, shape, color, taste, texture, fracture surface and transection characteristics, and leaf venation patterns are macroscopic diagnostic characters useful to distinguish the herbal drugs when they are not powdered. The following characters are useful for diagnostic purposes of the powdered herbal drugs: cuticular and epicuticular wax patterns, types of trichomes, and wall thickening of the tracheary elements, and shape of the hilum of the starch grains. Emergences are key morphological markers for *P. tuberculatum* herbal drugs. Physicochemical parameter values were similar in herbal drugs of both species, except acid-insoluble ash value which was higher in the *P. arboreum* var. *arboreum* stem herbal drugs. *Piper arboreum* var. *arboreum* herbal drugs had the highest metal concentrations. Al, Cu, Mn and V concentrations were the highest, whereas Cd, Co and Hg concentrations were the lowest in the herbal drugs of both species. The results obtained can be used as quality control parameters for the herbal drugs of both species.

**KEYWORDS:** Pimenta-longa, Traditional phytotherapeutic products, Pharmacognosy, Toxic metals, ICP-OES.

## INTRODUÇÃO

*Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* e *P. tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) são arbustos ou arvoretas encontradas nas Antilhas e Américas Central e do Sul (Andrade *et al.* 2009). No Brasil, ambas as espécies possuem ampla distribuição geográfica e ocorrem do Norte ao Sul do país (Guimarães *et al.* 2014).

Na medicina popular brasileira em especial na Amazônia, região onde o uso de plantas medicinais é parte da expressão cultural da população, as folhas e caule jovem de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* são tradicionalmente usados para fins medicinais diversos (Regasini *et al.* 2009; Ferreira *et al.* 2010; Paes-Gonçalves *et al.* 2012). Investigações fitoquímicas dessas espécies identificaram compostos fixos e voláteis como alcaloides, terpenos e fenólicos (Parmar *et al.* 1997; Facundo *et al.* 2008; Andrade *et al.* 2009; Regasini *et al.* 2009). Atividades antileishmaniose, trypanocida e antifúngica são citadas para *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum*, e propriedades inseticida, larvicida, citotóxica, antitumoral, sedativa, analgésica, hipotensiva, ansiolítica, anticonvulsivante e antiagregação plaquetária são mencionadas para *P. tuberculatum* (Regasini *et al.* 2009; Ferreira *et al.* 2010; Trindade *et al.* 2012).

*Piper arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum*, vernaculamente denominadas “pimenta-longa” (Andrade *et al.* 2009), compartilham similaridades morfológicas e químicas além da nomenclatura popular. As partes vegetativas aéreas dessas espécies são comercializadas como produtos tradicionais fitoterápicos em mercados, feiras livres, farmácias de produtos naturais e ervanários, sendo obtidas diretamente do extrativismo. Como no campo populações naturais das duas espécies podem coexistir, erros de identificação e, até mesmo, substituição são passíveis de ocorrerem (observação dos autores).

*Piper arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* apresentam potencial para obterem registro como medicamentos fitoterápicos devido aos usos etnofarmacológicos que possuem e às atividades biológicas reconhecidas de seus fitoconstituintes. Mesmo assim, não há na literatura relatos sobre a avaliação do controle de qualidade dessas espécies. Como a correta identificação de espécies e o estabelecimento do grau de pureza representam os primeiros passos para assegurar a qualidade de matérias-primas vegetais e são pré-requisitos para a produção e registro de fitomedicamentos (ANVISA 2010; Cortés *et al.* 2014), o presente trabalho objetivou preparar e caracterizar, estrutural e físico-quimicamente, drogas vegetais foliares e caulinares obtidas a partir de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* para estabelecer parâmetros de autenticidade botânica e de grau de pureza para o controle de qualidade dessas matérias-primas vegetais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

Amostras férteis de *Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* e *P. tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) foram coletadas de populações naturais ocorrentes em Manaus (AM) e Belém (PA). Material testemunho foi depositado no herbário João Murça Pires (MG) do Museu Paraense Emílio Goeldi com as seguintes especificações: *P. arboreum* var. *arboreum* (MG 206890) e *P. tuberculatum* (MG 206891).

### Preparação das drogas vegetais

Para o preparo das drogas vegetais, folhas do primeiro ao quarto nós e caule até o quarto entrenó das duas espécies foram higienizadas em etanol 70% (v/v) e posteriormente secas a 40 °C em estufa (Sterilifer SX 1.5 DTMS, Sterilifer Indústria e Comércio LTDA, Diadema, Brasil) até atingirem peso constante (Farmacopeia Brasileira 2010). Parte das drogas vegetais foliares e caulinares obtidas foi pulverizada em moinho de facas (Marconi MA580, Marconi Equipamentos para Laboratórios LTDA, Piracicaba, Brasil). As drogas vegetais íntegras e pulverizadas foram acondicionadas em recipientes âmbar mantidos a temperatura ambiente (WHO 1998; Farmacopeia Brasileira 2010).

### Análise macroscópica

Para a caracterização macroscópica, as drogas vegetais foram analisadas segundo protocolos descritos por WHO (1998) e Farmacopeia Brasileira (2010) e foram avaliadas quanto ao tamanho, forma, fratura, aparência da superfície de fratura, características da secção transversal, textura, cor, sabor e odor. Os elementos lignificados foram evidenciados com solução de floroglucinol 2% em ácido clorídrico 18% (Foster 1949). Para o estudo do padrão de venação foliar, drogas vegetais foliares foram reidratadas, clarificadas, coradas e montadas entre lâminas histológicas de vidro (Monteiro *et al.* 1979). As fotomicrografias foram obtidas através de câmera fotográfica digital (Nikon D 3100, Nikon Corporation, Tokyo, Japão). As fotomicrografias estereoscópicas por luz reflexiva (LR) e por contraste de interferência diferencial (DIC: Differential Interference Contrast) foram capturadas com câmera fotográfica (Motic 2.500, Motic Group Co., LTD., Hong Kong, China) acoplada ao microscópio estereoscópico (Motic SMZ-168, Motic Group Co., LTD., Hong Kong, China), utilizando-se o software Motic Images Plus 2.0.

### Análise microscópica

A caracterização microscópica das drogas vegetais pulverizadas foi feita por microscopias de luz (ML) e eletrônica de varredura (MEV). Para observações em ML, as drogas vegetais pulverizadas foram coradas com safranina 1% (Bukatsch 1972) e montadas entre lâmina e lamínula

histológicas de vidro, seguindo-se recomendações da WHO (1998) e Farmacopeia Brasileira (2010). As fotomicrografias por luz transmissível e polarizada foram obtidas com câmera fotográfica digital (Motic 2.500, Motic Group Co., LTD., Hong Kong, China) acoplada ao microscópio óptico (Motic BA 310, Motic Group Co., LTD., Hong Kong, China).

Para observações em MEV, amostras das drogas vegetais pulverizadas foram montadas em suportes metálicos através de fita de carbono dupla face e metalizadas com camada de ouro de 20 nm de espessura, por 150 segundos em corrente de 25 mA. As eletromicrografias de varredura foram obtidas por captura em microscópio eletrônico (Leo 1450 VP, Leo Electron Microscopy LTD., Cambridge, Reino Unido), utilizando-se detector de elétrons secundários, aceleração eletrônica de 25 kV, distância de trabalho de 15 mm e alto vácuo (Silva *et al.* 2014).

### Análise físico-química

As análises físico-químicas foram realizadas com amostras compostas das drogas vegetais. A determinação dos teores de cinzas totais, sulfatadas e ácido-insolúveis, de umidade (método azeotrópico) e dos valores de pH e perda por dessecação (INFRATESTES) foi feita através de protocolos-padrão (WHO 1998; Farmacopeia Brasileira 2010). O método analítico para determinar os metais selecionados (Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Ti, V, Hg e As) seguiu Pratsmoya *et al.* (1997). As mensurações foram feitas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry), utilizando-se um espectrômetro Varian (Varian Vista-MPX, Varian Australia PTY. LTD., Victoria, Austrália) para Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Ti e V, e um espectrômetro Thermo (Thermo iCAP 6000, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Estados Unidos da América) para Hg e As. Para validar o método analítico aplicado, foi realizado teste de recuperação dos analitos em material de referência padrão (Standard Reference Material – SRM 1547: peach leaves) do NIST (National Institute of Standard and Technology), usando-se os mesmos procedimentos.

Os reagentes utilizados foram de grau analítico. O preparo das soluções utilizadas e as lavagens realizadas durante os protocolos foram feitos com água ultrapura (resistividade 18.2 M $\Omega$ -cm a 25 °C) obtida por sistema Milli-Q (Direct-Q<sup>3</sup> UV-R, Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). As determinações foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão (média  $\pm$  dp).

## RESULTADOS

### Caracterização macroscópica das drogas vegetais

*Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* – As drogas vegetais foliares íntegras são completas, *i.e.* apresentam lâmina

foliar, pecíolo e bainha foliar; possuem ca. 12,6-25,6 cm de comprimento e 3,7-7,4 cm de largura; amarradas; friáveis; verdes ou cinza-esverdeadas em ambas as faces. Possuem odor aromático característico e sabor predominantemente aromático característico, passando para ligeiramente amargo e finalizando levemente picante. Quando pulverizadas, apresentam cor cinza-esverdeada e o mesmo odor e sabor das drogas vegetais íntegras (Figura 1A e M).

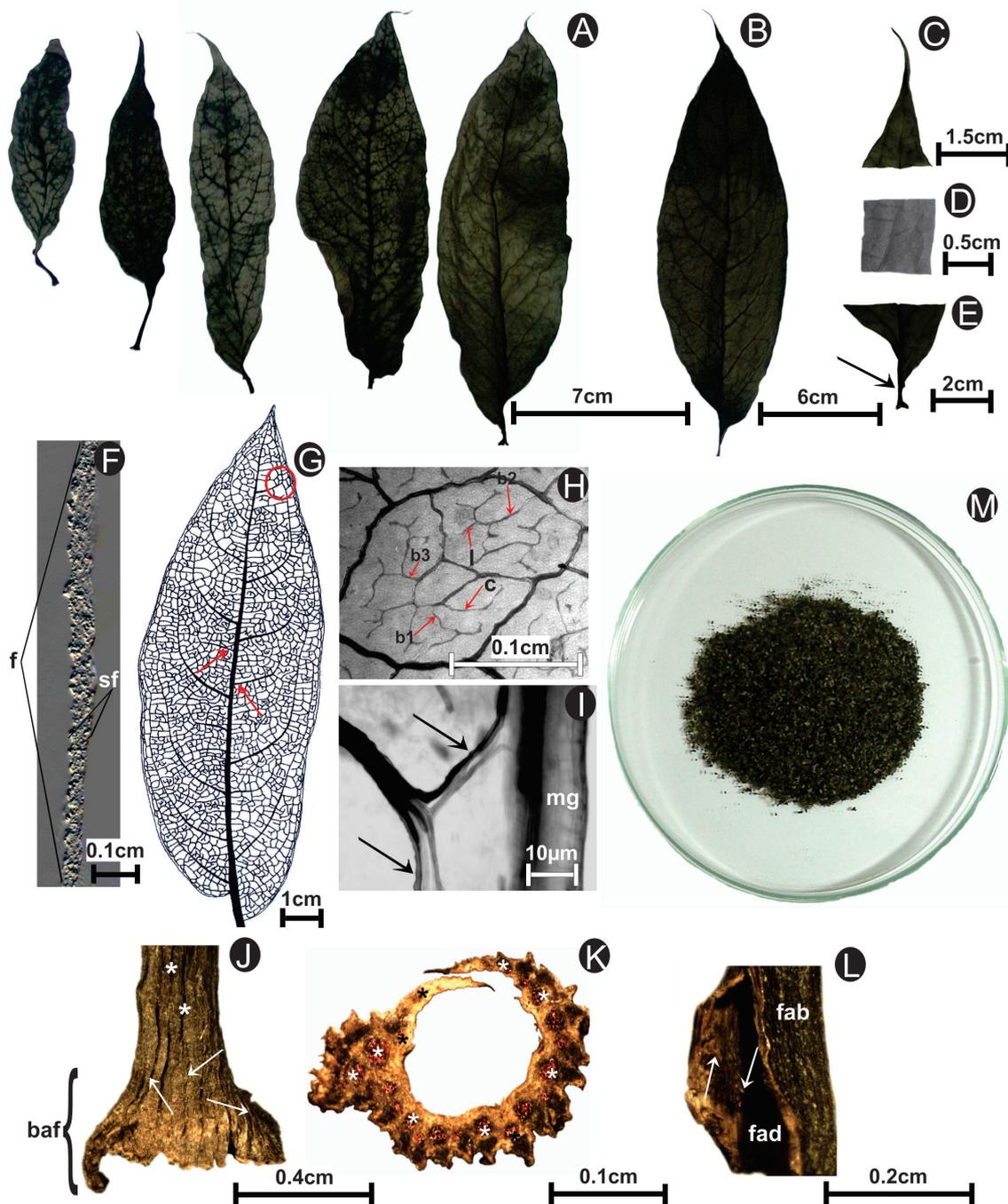
Lâmina foliar ca. 12,7-25,4 cm de comprimento e 4,4-8,1 cm de largura; assimétrica; lanceolado-elíptica; margem inteira; ápice acuminado; base inequilateralmente oblíqua; superfície áspera ao toque e glabra, ondulada e verrucosa para a visão em ambas as faces; superfície de fratura granular; nervuras proeminentes abaxialmente; padrão geral de venação camptódromo-broquidódromo, com tendência camptódroma na base e broquidódroma no ápice; nervuras ramificadas até a sexta ordem; nervuras intersecundárias presentes; venação última marginal incompleta; vênulas simples lineares ou curvas e ramificadas de uma a três vezes; aréolas de forma irregular, com desenvolvimento imperfeito e arranjo aleatório (Figura 1B-I).

Pecíolo ca. 0,5-0,9 cm de comprimento e 0,3-0,4 cm de largura; reto; inserido lateralmente; superfície longitudinalmente estriada, glabra e com fissuras para a visão em ambas as faces; secção transversal de forma irregular com tendência circular, possuindo elementos lignificados sem arranjo definido que tendem para um círculo (Figura 1E; J e K). Bainha foliar ca. 0,2-0,4 cm de comprimento e 0,4-0,9 cm de largura; côncavo-convexa; superfície verrucosa na face adaxial e longitudinalmente estriada na face abaxial para a visão (Figura 1J e L).

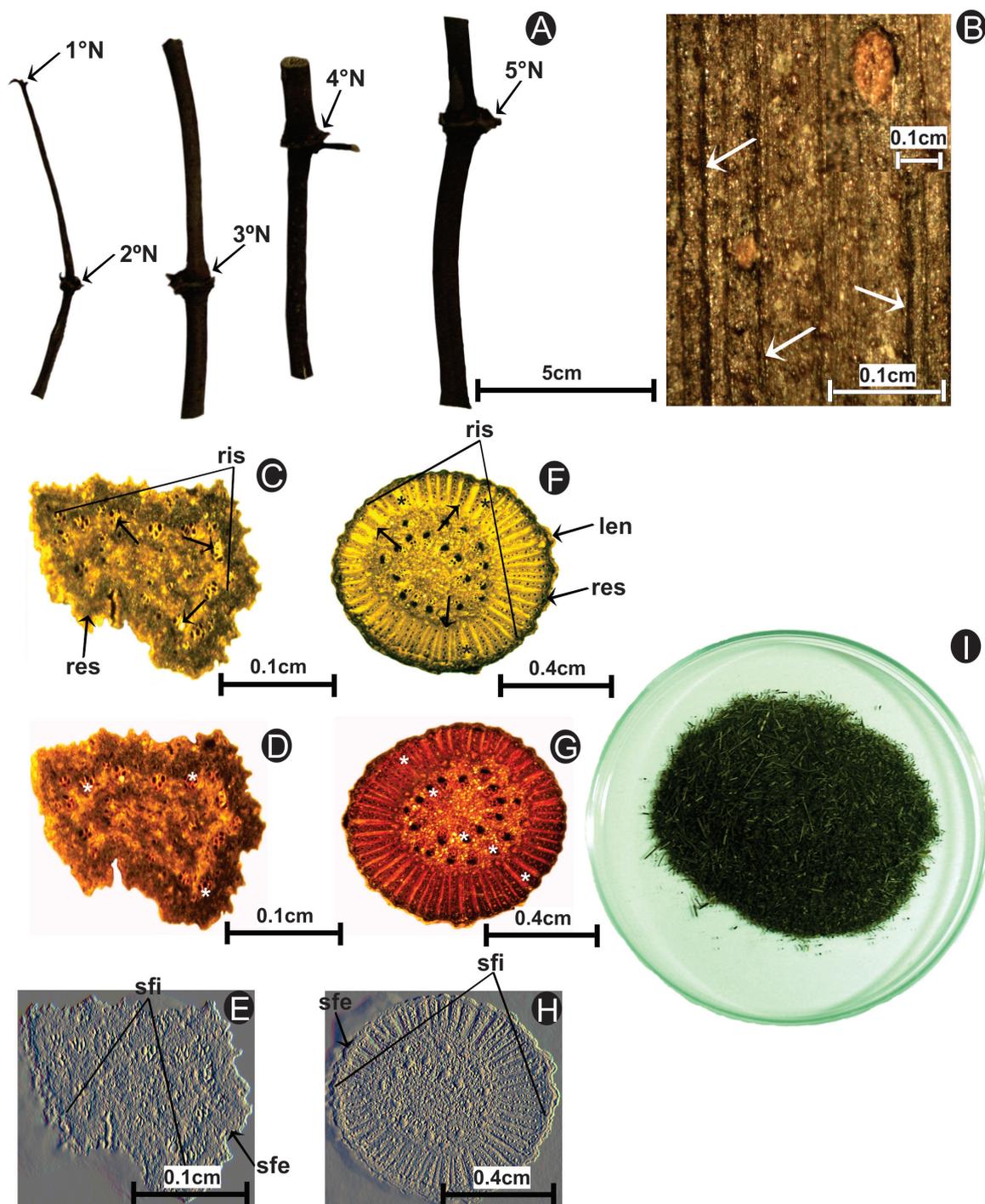
As drogas vegetais caulinares íntegras são amarradas, nodosas e com lenticelas. A superfície é lisa no primeiro e segundo entrenós e áspera no terceiro e quarto entrenós ao toque e longitudinalmente estriada do primeiro ao quarto entrenós para a visão. Possuem odor levemente aromático característico e sabor inicialmente aromático característico, tornando-se predominantemente picante. Quando pulverizadas, apresentam aspecto fibroso, cor verde e o mesmo odor e sabor das drogas vegetais íntegras (Figura 2A; B e I).

O primeiro e segundo entrenós são facilmente fraturáveis e têm superfície de fratura externa lisa-granular e interna predominantemente granular. Em secção transversal, apresentam forma irregular, desenvolvimento primário e elementos lignificados internos sem arranjo definido. A região externa da secção transversal é verde-escura e a interna esverdeada com pontos amarelados (Figura 2C-E).

O terceiro e quarto entrenós são dificilmente fraturáveis e têm superfície de fratura externa lisa e interna predominantemente granular. Em secção transversal, possuem forma circular, desenvolvimento secundário inicial e elementos



**Figura 1.** Características macroscópicas das drogas vegetais foliares de *Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* (Piperaceae). Fotomicrografias (A-E; M). Fotomicrografias estereoscópicas por contraste de interferência diferencial (F). Desenho em planta baixa (G). Fotomicrografias estereoscópicas por luz refletida (H; J-L). Fotomicrografias por luz transmitida (I). A. Aspecto morfológico geral. B-E. Drogas vegetais hidratadas. B. Visão geral da folha. C. Ápice. D. Margem. E. Base, notar inserção do pecíolo (seta). F. Superfície de fratura da lâmina foliar. G-I. Padrões de venação foliar. G. Padrão geral de venação, notar arco de nervuras secundárias (elipse) e nervuras intersecundárias (setas). H. Detalhe das aréolas e vênulas. I. Venação última marginal, notar vênulas livres (setas). J. Visão geral da face abaxial do pecíolo e bainha foliar, notar fissuras (asteriscos) e estrias longitudinais (setas). K. Secção transversal do pecíolo, notar elementos lignificados (asteriscos). L. Detalhe da bainha foliar, notar protuberâncias (setas). M. Droga vegetal pulverizada. Face adaxial (fad). Face abaxial (fab). Fratura (f). Superfície de fratura (sf). Bainha foliar (baf). Vênula simples linear (l). Vênula simples curva (c). Vênula ramificada uma vez (b1), duas vezes (b2) e três vezes (b3). Margem (mg). Esta figura é colorida na versão eletrônica.



**Figura 2.** Características macroscópicas das drogas vegetais caulinares de *Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* (Piperaceae). Fotomacrografias (A; I). Fotomicrografias estereoscópicas por luz refletida (B-D; F; G) e contraste de interferência diferencial (E; H). A. Aspecto morfológico geral. B. Detalhe da superfície, notar estrias longitudinais (setas) e lenticela (*inset*). C e D. Primeiro entrenó. C e D. Seções transversais, notar pontos amarelados (setas, figura C) e elementos lignificados (asteriscos, figura D). E. Superfície de fratura. F-H. Quarto entrenó. F e G. Seções transversais. F. Notar áreas de aspecto elíptico (setas) e faixas amareladas (asteriscos). G. Notar elementos lignificados (asteriscos). H. Superfície de fratura. I. Droga vegetal pulverizada. Primeiro nó (1°N). Segundo nó (2°N). Terceiro nó (3°N). Quarto nó (4°N). Quinto nó (5°N). Lenticela (len). Região interna da seção (ris). Região externa da seção (res). Superfície de fratura interna (sfi). Superfície de fratura externa (sfe). Esta figura é colorida na versão eletrônica.

lignificados internos dispostos em três círculos concêntricos. A região externa da secção transversal é verde-escura e a interna multicolor, com uma área central verde-amarelada e áreas periféricas elípticas verde-amarronzadas separadas por faixas amareladas (Figura 2F-H).

*Piper tuberculatum* Jacq. – As drogas vegetais foliares íntegras são também completas; possuem ca. 3,6-12,2 cm de comprimento e 0,8-8,3 cm de largura; dobradas; flexíveis; verde-claras ou verde-escuras em ambas as faces. Possuem odor aromático característico e sabor inicialmente aromático característico, passando para predominantemente amargo e finalizando levemente picante. Quando pulverizadas, apresentam cor verde e o mesmo odor e sabor das drogas vegetais íntegras (Figura 3A e O).

Lâmina foliar ca. 3,5-16,5 cm de comprimento e 2-9 cm de largura; assimétrica; elíptico-ovada; margem inteira; ápice agudo; base inequilateralmente arredondada, aproximando-se de cordada; superfície áspera ao toque e glabra, ondulada, verrucosa e luzente para a visão em ambas as faces; superfície de fratura liso-granular; presença de emergências na região basal da nervura central na face abaxial; nervuras pubescentes e proeminentes abaxialmente; padrão geral de venação broquidódromo; nervuras ramificadas até a sexta ordem; nervuras intersecundárias presentes; venação última marginal lobada; vênulas simples curvas e ramificadas de uma a três vezes; aréolas de forma irregular, com desenvolvimento imperfeito e arranjo aleatório (Figura 3B-I).

Pecíolo ca. 0,5-0,7 cm de comprimento e 0,1-0,2 cm de largura; reto ou curvo; inserido lateralmente; superfície longitudinalmente estriada, glabra ou pubescente e com emergências para a visão em ambas as faces; secção transversal de forma irregular com tendência côncavo-convexa, apresentando elementos lignificados sem arranjo definido que tendem para uma disposição em “U” (Figura 3E; J-M). Bainha foliar ca. 0,2-0,3 cm de comprimento e 0,1-0,5 cm de largura; côncavo-convexa; superfície longitudinalmente estriada em ambas as faces e com emergências na face abaxial para a visão (Figura 3J; K e N).

As drogas vegetais caulinares íntegras são esverdeadas, conspicuamente nodosas, com lenticelas e emergências. A superfície é lisa no primeiro e segundo entrenós e áspera no terceiro e quarto entrenós ao toque e longitudinalmente estriada do primeiro ao quarto entrenós para a visão. Possuem odor levemente aromático característico e sabor predominantemente aromático característico, finalizando levemente picante. Quando pulverizadas, apresentam aspecto fibroso, cor variando de verde-amarronzada para cinza e o mesmo odor e sabor das drogas vegetais íntegras (Figura 4A; B e I).

O primeiro e segundo entrenós são facilmente fraturáveis e possuem superfície de fratura externa liso-granular e interna predominantemente granular. Em secção transversal,

apresentam forma irregular, desenvolvimento primário e elementos lignificados internos sem arranjo definido. A região externa da secção transversal é bicolor, com áreas verde-escuras e amarelas, e a interna verde com pontos amarelados (Figura 4C-E).

O terceiro e quarto entrenós são dificilmente fraturáveis e possuem superfície de fratura externa granular e interna predominantemente granular. Em secção transversal, apresentam forma elíptica, desenvolvimento secundário inicial e elementos lignificados internos dispostos em dois círculos concêntricos. A região externa da secção transversal é verde-escura e a interna multicolor, com uma área central amarelo-esverdeada e áreas periféricas elípticas marrom-esverdeadas separadas por faixas amareladas (Figura 4F-H).

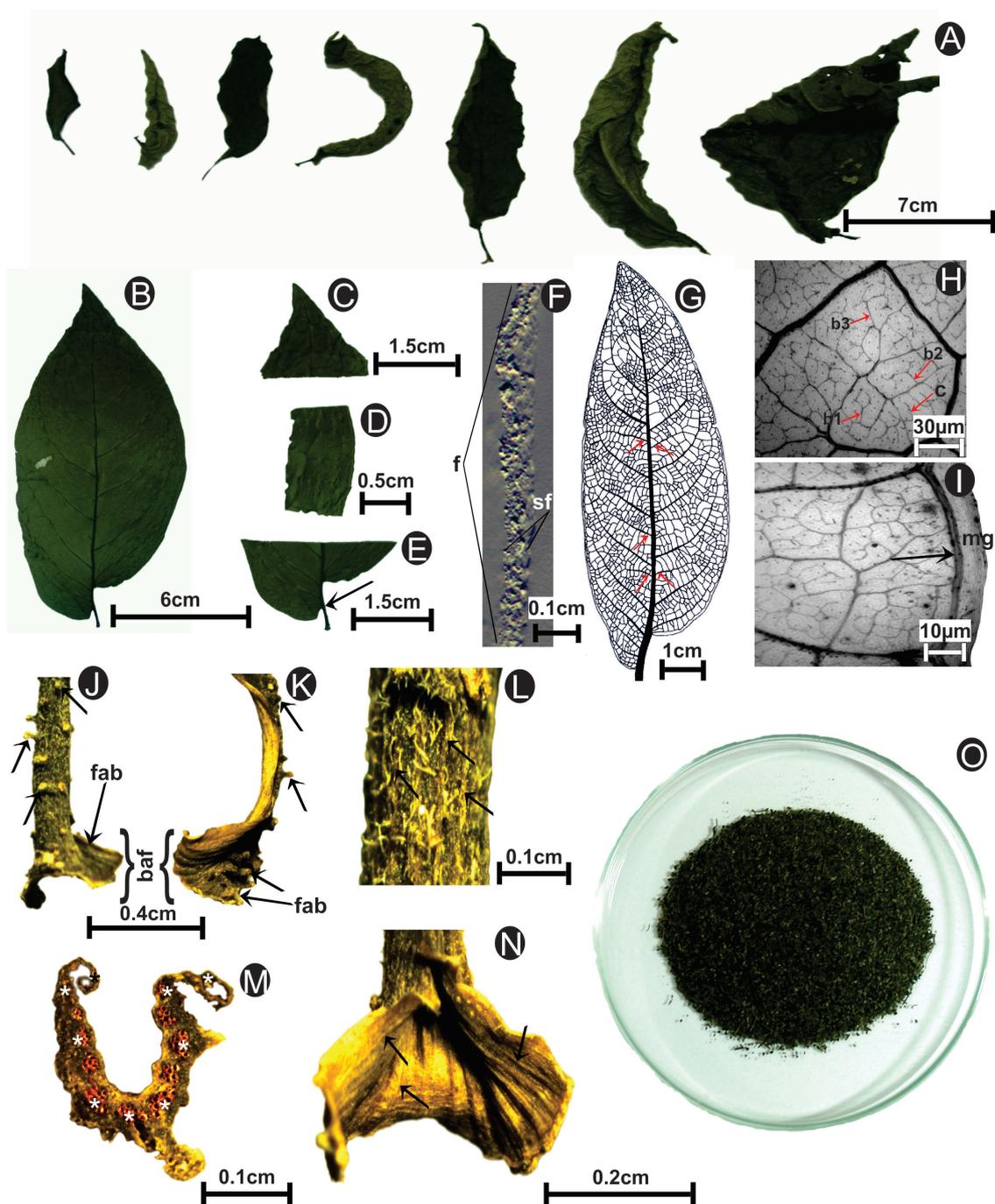
### Caracterização microscópica das drogas vegetais pulverizadas

*Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* – O pó das drogas vegetais foliares apresenta fragmentos com: paredes celulares epidérmicas anticliniais retas a onduladas na face adaxial e sinuosas na face abaxial; tricomas glandulares bicelulares em ambas as faces; estômatos anisocíticos, tetracíticos e ciclocíticos na face abaxial; cutícula lisa; placas contínuas de cera epicuticular paralelas à superfície epidérmica; idioblastos secretores de conteúdo acidófilo; drusas; estiloides e cristais prismáticos cuneiformes. Feixes de fibra e elementos traqueais com espessamento parietal anelar, helicoidal e pontuado são também observados (Figura 5A-H).

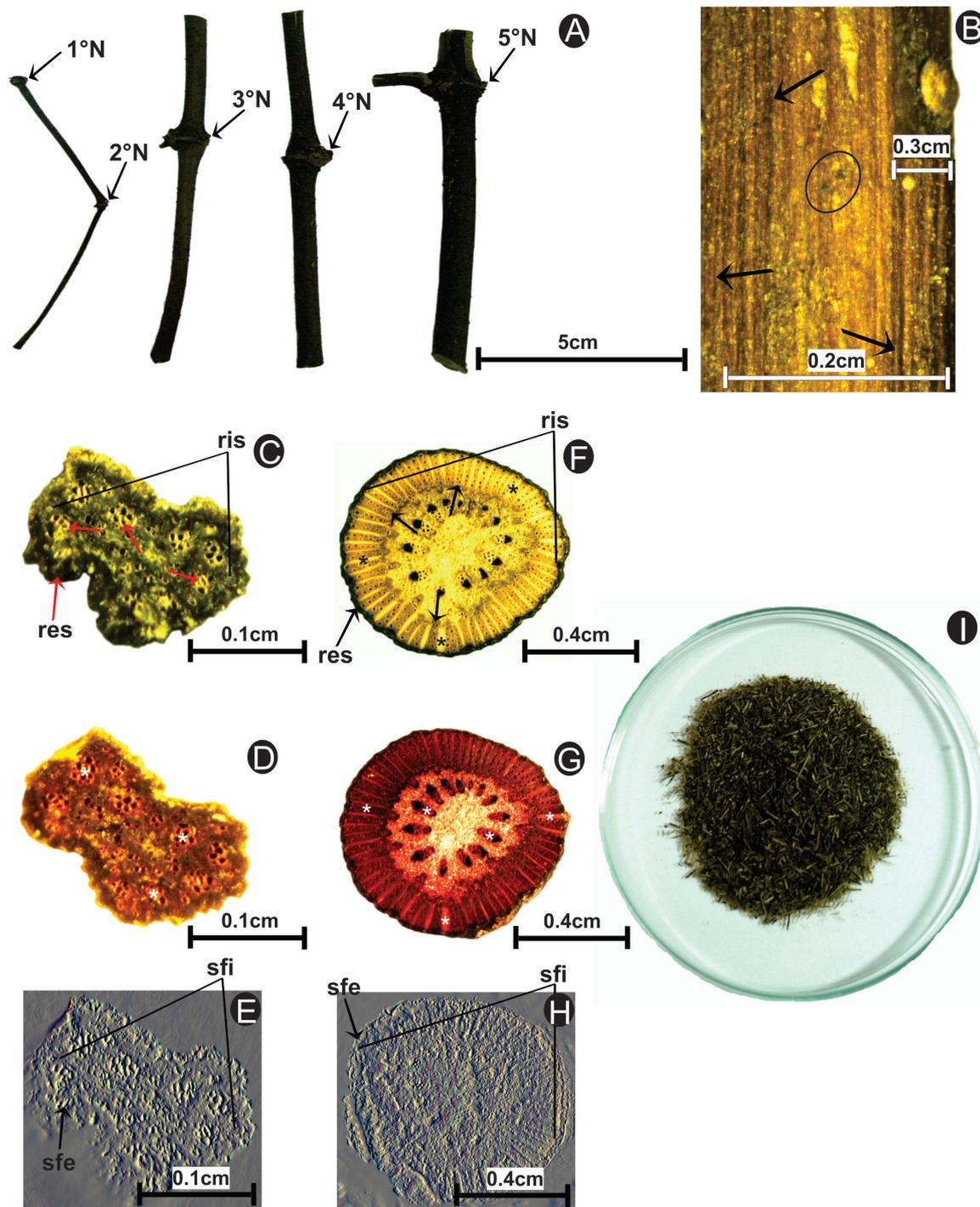
Nos pó das drogas vegetais caulinares, ocorrem fragmentos com: paredes celulares epidérmicas anticliniais espessadas, retas a onduladas; cutícula lisa; tricomas glandulares bicelulares e tectores pluricelulares unisseriados. Idioblastos com estiloides; fragmentos cristalinos não birrefringentes; partículas de conteúdo metabólico amarronzado; feixes de fibra; braquiesclereides; macrosclereides; elementos traqueais com espessamento parietal anelar e grãos de amido simples, poliédricos, com facetas plana, côncava e convexa e hilo estrelado cêntrico estão também presentes (Figura 5I-P).

*Piper tuberculatum* Jacq. – O pó das drogas vegetais foliares possui fragmentos com: paredes celulares epidérmicas anticliniais retas a onduladas na face adaxial e sinuosas na face abaxial; tricomas glandulares bicelulares em ambas as faces e tectores pluricelulares unisseriados na face abaxial; estômatos tetracíticos e ciclocíticos na face abaxial; cutícula estriada; cera epicuticular em crostas; emergências; idioblastos secretores de conteúdo acidófilo e elementos traqueais com espessamento parietal helicoidal. Ocorrem, ainda, feixes de fibra, drusas e cristais prismáticos cuneiformes (Figura 6A-I).

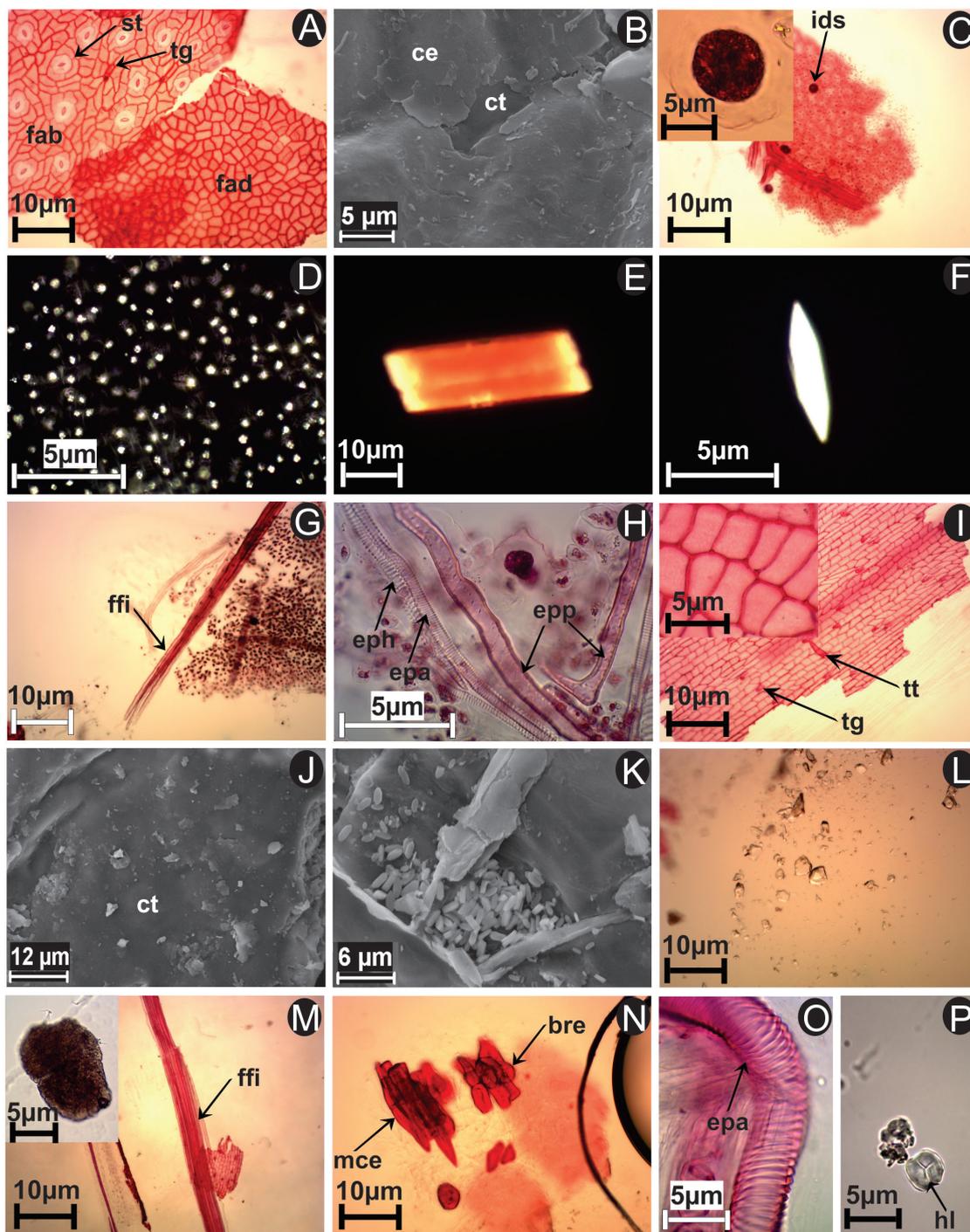
Nos pó das drogas vegetais caulinares, são observados fragmentos com: paredes celulares epidérmicas anticliniais delgadas, retas a onduladas; cutícula lisa; emergências e



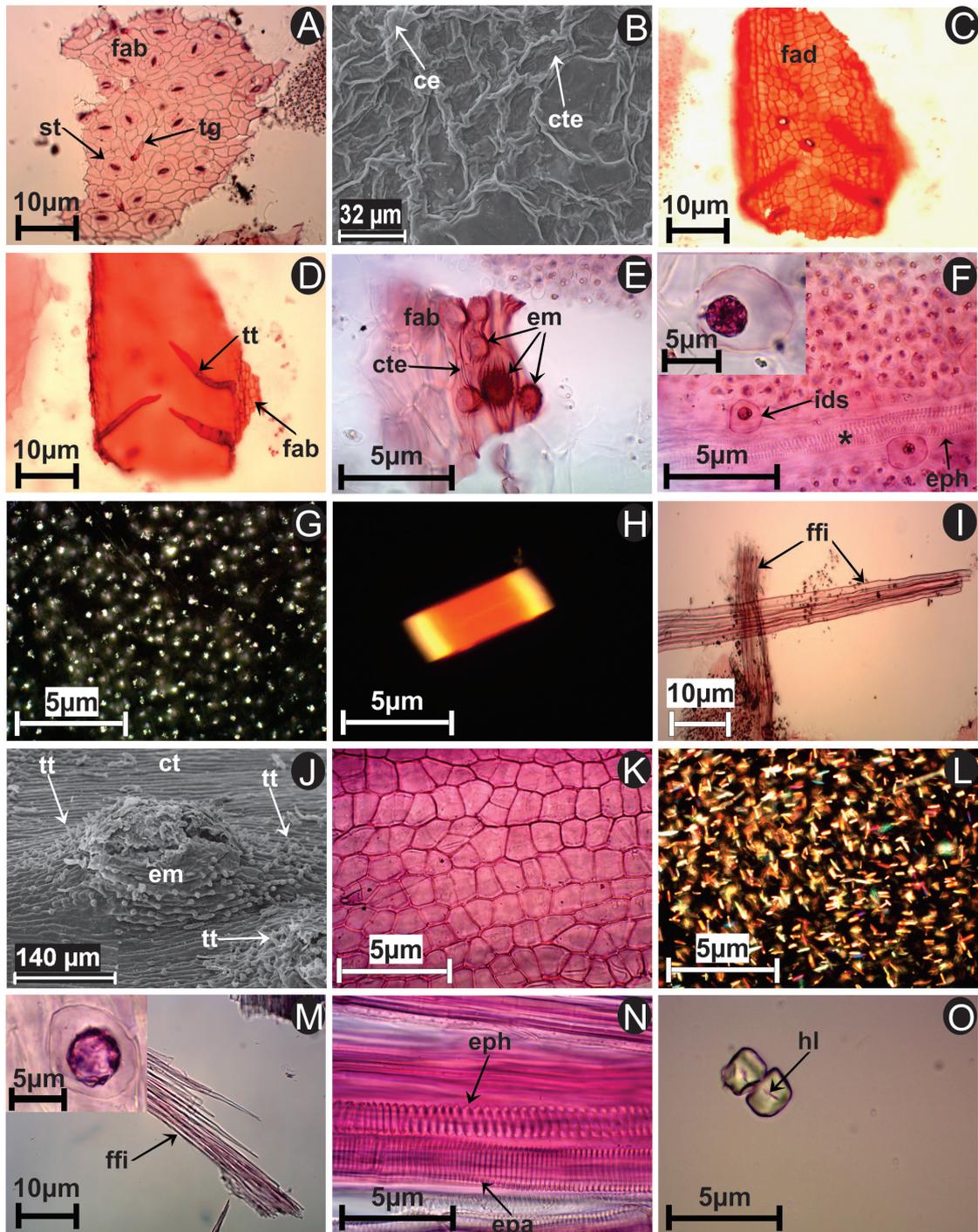
**Figura 3.** Características macroscópicas das drogas vegetais foliares de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae). Fotomacrografias (A-E; O). Fotomicrografias estereoscópicas por contraste de interferência diferencial (F). Desenho em planta baixa (G). Fotomicrografias por luz transmitida (H; I). Fotomicrografias estereoscópicas por luz refletida (J-N). A. Aspecto morfológico geral. B-E. Drogas vegetais hidratadas. B. Visão geral da folha. C. Ápice. D. Margem. E. Base, notar inserção do pecíolo (seta). F. Superfície de fratura da lâmina foliar. G-I. Padrões de venação foliar. G. Padrão geral de venação, notar nervuras intersecundárias (setas). H. Detalhe das aréolas e vênulas. I. Venação última marginal, notar lóbulo (seta). J e K. Visão geral do pecíolo e bainha foliar, notar emergências (setas). Pecíolos reto (J) e curvo (K). L e M. Detalhes do pecíolo. L. Superfície da face abaxial, notar estrias longitudinais (setas). M. Secção transversal, notar elementos lignificados (asteriscos). N. Detalhe da face adaxial da bainha foliar, notar estrias longitudinais (setas). O. Droga vegetal pulverizada. Face abaxial (fab). Fratura (f). Superfície de fratura (sf). Bainha foliar (baf). Vênula simples curva (c). Vênula ramificada uma vez (b1), duas vezes (b2) e três vezes (b3). Margem (mg). Esta figura é colorida na versão eletrônica.



**Figura 4.** Características macroscópicas das drogas vegetais caulinares de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae). Fotomacrografias (A; I). Fotomicrografias estereoscópicas por luz refletida (B-D; F; G) e contraste de interferência diferencial (E; H). A. Aspecto morfológico geral. B. Detalhe da superfície, notar estrias longitudinais (setas), lenticelas (elipse) e emergência (*inset*). C-E. Primeiro entrenó. C e D. Secções transversais, notar pontos amarelados (setas, figura C) e elementos lignificados (asteriscos, figura D). E. Superfície de fratura. F-H. Quarto entrenó. F e G. Secções transversais. F. Notar áreas de aspecto elíptico (setas) e faixas amareladas (asteriscos). G. Notar elementos lignificados (asteriscos). H. Superfície de fratura. I. Droga vegetal pulverizada. Primeiro nó (1°N). Secundo nó (2°N). Terceiro nó (3°N). Quarto nó (4°N). Quinto nó (5°N). Região interna da secção (ris). Região externa da secção (res). Superfície de fratura interna (sfi). Superfície de fratura externa (sfe). Esta figura é colorida na versão eletrônica.



**Figura 5.** Características microscópicas das drogas vegetais pulverizadas de *Piper arboreum* Aubl. var. *arboreum* (Piperaceae). Fotomicrografias por luz transmitida (A; C; G-I; L-P) e luz polarizada (D-F). Eletromicrografias de varredura (B; J; K). A-H. Drogas vegetais foliares. A-D. Fragmentos de lâmina foliar, notar idioblastos secretores (*inset*, figura C). D-F. Drusas (D), cristal prismático cuneiforme (E) e estiloide (F) birrefringentes. G. Feixe de fibras. H. Elementos traqueais. I-P. Drogas vegetais caulinares. I-K. Fragmentos caulinares, notar células epidérmicas (*inset*, figura I). K. Idioblastos com estiloides. L. Fragmentos cristalinos não birrefringentes. M. Feixe de fibras e partícula de conteúdo metabólico amarronzado (*inset*). N. Esclereides. O. Elementos traqueais. P. Grão de amido. Face adaxial (fad). Face abaxial (fab). Estômato (st). Tricoma glandular (tg). Tricoma tector (tt). Cutícula (ct). Cera epicuticular (ce). Feixe de fibras (ffi). Idioblasto secretor (ids). Espessamento parietal anelar (epa). Espessamento parietal helicoidal (eph). Espessamento parietal pontuado (epp). Hilo (hl). Braquiesclereides (bre). Macroscleireides (mce). Esta figura é colorida na versão eletrônica.



**Figura 6.** Características microscópicas das drogas vegetais pulverizadas de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae). Fotomicrografias por luz transmitida (A; C-F; I; K; M-O) e luz polarizada (G; H; L). Eletromicrografias de varredura (B; J). A-I. Drogas vegetais foliares. A-G. Fragmentos de lâmina foliar. F. Notar elemento traqueal (asterisco) e idioblasto secretor (*inset*). G e H. Drusas (G) e cristal prismático cuneiforme (H) birrefringentes. I. Feixes de fibra. J-O. Drogas vegetais caulinares. J-L. Fragmentos caulinares, notar emergência (J) e células epidérmicas (K). L. Cristais prismáticos birrefringentes. M. Feixe de fibras, notar idioblasto secretor (*inset*). N. Elementos traqueais. O. Grãos de amido. Face adaxial (fad). Face abaxial (fab). Estômato (st). Tricoma glandular (tg). Tricoma tector (tt). Cutícula (ct). Cutícula estriada (cte). Cera epicuticular (ce). Feixe de fibras (ffi). Idioblasto secretor (ids). Emergência (em). Espessamento parietal anelar (epa). Espessamento parietal helicoidal (eph). Hilo (hl). Esta figura é colorida na versão eletrônica.

tricomas tectores pluricelulares unisseriados. Há também a presença de: idioblastos com cristais prismáticos; idioblastos secretores de conteúdo acidófilo; feixes de fibra; elementos traqueais com espessamento parietal anelar e helicoidal e grãos de amido simples, poliédricos, com facetas plana, côncava e convexa e hilo fissurado cêntrico (Figura 6J-O).

### Caracterização físico-química

Os teores de voláteis e umidade e o valor de pH das drogas vegetais de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* foram similares. O conteúdo de cinzas totais e, principalmente, de cinzas sulfatadas foi elevado nas drogas dessas duas espécies, sendo comparativamente maior nas drogas vegetais de *P. tuberculatum* de que nas drogas vegetais de *P. arboreum* var. *arboreum*. O conteúdo de cinzas ácido-insolúveis das drogas

vegetais de ambas as espécies apresentaram valores próximos, exceto para as drogas vegetais caulinares de *P. arboreum* var. *arboreum* para as quais foram registrados os maiores valores. As drogas vegetais das espécies de *Piper* estudadas ocasionaram a redução do valor inicial de  $7,01 \pm 0,03$  do pH da água destilada (Tabela 1).

As maiores concentrações da maioria dos metais analisados foram observadas nas drogas vegetais de *P. arboreum* var. *arboreum*. Nas drogas vegetais de ambas as espécies, as concentrações de Al, Cu, Mn e V foram as mais elevadas, enquanto que as concentrações de Cd, Co e Hg foram as mais baixas. As drogas vegetais das espécies de *Piper* analisadas continham Mo, Pb, Ti e As abaixo do limite de detecção. As recuperações dos analitos na amostra certificada (SRM 1547) ficaram entre 76,48-117,20% (Tabela 2).

**Tabela 1.** Resultados dos parâmetros físico-químicos determinados nas drogas vegetais de *Piper* L. (Piperaceae). *n* é o número de determinações independentes. Desvio padrão (dp).

Espécies	Droga vegetal	Parâmetros (média % ± dp; <i>n</i> = 3)*			Parâmetros (média % ± dp; <i>n</i> = 3)		
		Perda por dessecação (INFRAEST)	Umidade	pH	Cinzas totais	Cinzas sulfatadas	Cinzas ácido-insolúveis
<i>P. arboreum</i> Aubl. var. <i>arboreum</i>	Folha	8,22 ± 0,00	6,80 ± 0,14	4,54 ± 0,01	11,23 ± 0,02	64,93 ± 0,69	1,24 ± 0,87
	Caule	8,03 ± 0,00	5,40 ± 0,10	4,42 ± 0,32	8,93 ± 0,00	16,53 ± 0,82	4,35 ± 0,32
<i>P. tuberculatum</i> Jacq.	Folha	8,89 ± 0,00	6,60 ± 0,26	4,13 ± 0,23	14,20 ± 0,01	77,46 ± 0,72	1,36 ± 0,22
	Caule	8,36 ± 0,00	5,30 ± 0,63	4,67 ± 0,04	12,32 ± 0,00	21,76 ± 0,30	1,28 ± 0,32

\*A média do pH é expressa em valores absolutos.

**Tabela 2.** Resultados da determinação de metais nas drogas vegetais de *Piper* L. (Piperaceae). *n* é o número de determinações independentes. Desvio padrão (dp). <sup>a</sup>Material de Referência Padrão. <sup>b</sup>LOD (Limite de detecção): Mo = 0.001 mg kg<sup>-1</sup>; Pd = 0.005 mg kg<sup>-1</sup>; Ti = 0.002 mg kg<sup>-1</sup>; Hg = 0.00004 mg kg<sup>-1</sup>; As = 0.00012 mg kg<sup>-1</sup>. \*\*Recuperação não satisfatória. \*\*\*Valor não certificado.

Espécies	Droga vegetal	Conteúdo metálico (média ± dp mg kg <sup>-1</sup> ; <i>n</i> = 3)					
		Al	Cd	Co	Cr	Cu	Mn
<i>P. arboreum</i> Aubl. var. <i>arboreum</i>	Folha	40,07 ± 2,31	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,02	0,97 ± 0,18	15,48 ± 0,06	195,32 ± 2,84
	Caule	27,545 ± 5,50	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,88 ± 0,06	19,37 ± 0,12	70,14 ± 1,20
<i>P. tuberculatum</i> Jacq.	Folha	52,75 ± 2,61	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,02	0,88 ± 0,06	10,18 ± 0,21	29,71 ± 1,75
	Caule	18,82 ± 1,90	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,01	1,05 ± 0,28	10,13 ± 0,59	13,98 ± 0,74
	MRP <sup>a</sup> 1547	233,67 ± 4,98	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,01	1,17 ± 0,02	3,10 ± 0,35	74,90 ± 3,47
	Recuperação (%)	93,84	102,96	83,85	117,20	82,86	76,48

Espécies	Droga vegetal	Conteúdo metálico (média ± dp mg kg <sup>-1</sup> ; <i>n</i> = 3)						
		Mo	Ni	Pb	Ti	V	Hg	As
<i>P. arboreum</i> Aubl. var. <i>arboreum</i>	Folha	<LOD <sup>b</sup>	5,25 ± 0,12	<LOD <sup>b</sup>	<LOD <sup>b</sup>	14,97 ± 0,41	0,01 ± 0,00	<LOD <sup>b</sup>
	Caule	<LOD <sup>b</sup>	0,94 ± 0,27	<LOD <sup>b</sup>	<LOD <sup>b</sup>	9,27 ± 0,33	0,02 ± 0,01	<LOD <sup>b</sup>
<i>P. tuberculatum</i> Jacq.	Folha	<LOD <sup>b</sup>	0,30 ± 0,28	<LOD <sup>b</sup>	<LOD <sup>b</sup>	8,96 ± 0,60	0,01 ± 0,00	<LOD <sup>b</sup>
	Caule	<LOD <sup>b</sup>	0,30 ± 0,18	<LOD <sup>b</sup>	<LOD <sup>b</sup>	9,34 ± 0,57	0,01 ± 0,00	<LOD <sup>b</sup>
	MRP <sup>a</sup> 1547	<LOD <sup>b</sup>	0,62 ± 0,10	<LOD <sup>b</sup>	1,10 ± 0,28	0,40 ± 0,29	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,02
	Recuperação (%)	**	89,07	**	***	113,55	93,84	102,96

## DISCUSSÃO

As características macromorfológicas gerais observadas nas drogas vegetais foliares e caulinares íntegras de *Piper arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* estão em acordo com as descrições morfológicas feitas aos *taxa* (Yuncker 1973). Embora as duas espécies recebam a mesma denominação vernácula “pimenta-longa” (Andrade *et al.* 2009) e sejam comumente identificadas erroneamente sendo, muitas das vezes, substituídas uma pela outra, as drogas vegetais íntegras dessas espécies exibem características macroscópicas bem distintas.

Para as drogas vegetais foliares, a distinção dá-se quanto à forma geral; dimensões; textura; forma da lâmina foliar e do pecíolo; ornamentação da superfície da lâmina foliar, do pecíolo e da bainha foliar; tipos de ápice, base, superfície de fratura e de vênulas simples; padrões de venação geral e última marginal e características da secção transversal do pecíolo. Para as drogas vegetais caulinares, as diferenças dão-se em relação à forma geral; características da secção transversal como forma, cor e padrão de arranjo dos elementos lignificados internos e ao tipo de superfície de fratura.

Propriedades organolépticas como cor e sabor podem auxiliar na diagnose macroscópica das drogas vegetais caulinares e foliares das espécies de *Piper* em questão, principalmente quando as drogas vegetais estão no estado pulverizado.

Estudos farmacognósticos de espécies de *Piper* são raros (Pessini *et al.* 2003; Periyanyagam *et al.* 2012; Santos *et al.* 2015), não havendo na literatura dados sobre representantes da região amazônica. Como a avaliação macromorfológica e organoléptica são os primeiros passos para estabelecer a autenticidade botânica e o grau de pureza de matérias-primas vegetais medicinais, importante fatores para garantir segurança e eficácia (WHO 1998; Cheng *et al.* 2014), as características macroscópicas e sensoriais reportadas aqui para as drogas vegetais de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* são parâmetros farmacognósticos relevantes para o controle de qualidade de ambas.

As drogas vegetais pulverizadas de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum*, apesar de similares micromorfológicamente, apresentam marcadores anatômicos que as autenticam. Para as drogas vegetais foliares, os marcadores anatômicos são as características da cutícula, da cera epicuticular e os tipos de tricoma e espessamento parietal dos elementos traqueais. Para as drogas vegetais caulinares, os marcadores anatômicos são os tipos de tricoma e espessamento parietal da epiderme anticlinal e dos elementos traqueais; a ocorrência de fragmentos cristalinos não birrefringentes, partículas de conteúdo metabólico amarronzado, idioblastos secretores e de esclereides e a forma do hilo dos grãos de amido.

Cristais e estômatos devem ser avaliados de forma criteriosa para a morfodiagnose microscópica dos pós das drogas vegetais

das espécies de *Piper* analisadas. Para os cristais, deverão ser considerados como marcadores anatômicos os morfotipos cristalinos citados como específicos para as duas espécies (Silva *et al.* 2014). Os estômatos, por sua vez, não têm valor na delimitação taxonômica de Piperaceae devido à complexidade e variação morfológica que apresentam no grupo (Gogosz *et al.* 2012; Machado *et al.* 2015).

As emergências observadas nas drogas vegetais foliares e caulinares de *P. tuberculatum*, nas formas íntegra e pulverizada, são marcadores anatômicos chave para diferenciá-las das drogas vegetais de *P. arboreum* var. *arboreum*. Estruturas secretoras de Piperaceae constituem caracteres relevantes na distinção de espécies de *Piper* semelhantes morfológicamente, principalmente para a delimitação de grupos (Yuncker 1972; 1973).

Os valores de umidade e cinzas totais e ácido-insolúveis encontrados para as drogas vegetais das espécies de *Piper* estudadas estão dentro dos limites oficiais permitidos. Para umidade, o limite máximo recomendado é 14% (Fonseca *et al.* 2010). Para cinzas totais e ácido-insolúveis, a Farmacopeia Vegetal Britânica – British Herbal Pharmacopeia (1990) recomenda limites máximos de 15% e 5% respectivamente. A Farmacopeia Brasileira (2010) não estabelece valores-limite para cinzas. Os valores elevados de cinzas ácido-insolúveis das drogas vegetais caulinares de *P. arboreum* var. *arboreum* não foram ocasionados por contaminação externa de material silicoso, mas sim pela ocorrência natural no caule dessa espécie de inclusões minerais silicificadas denominadas concreções cristalinas (Silva *et al.* 2014).

Os teores elevados de cinzas totais e sulfatadas das drogas vegetais das espécies de *Piper* analisadas foram provavelmente causados pela riqueza em conteúdo cristalino das folhas e caule dessas espécies (Silva *et al.* 2014). Nos vegetais, as inclusões minerais cristalinas contribuem para o aumento das cinzas, influenciando principalmente os valores de cinzas sulfatadas (Mohamad *et al.* 2013). Ademais, os maiores valores de cinzas sulfatadas em comparação aos de cinzas totais das drogas vegetais de ambas as espécies foram devidos à adição de uma massa de ácido sulfúrico nas amostras, resultando no aumento em peso e na formação de cinzas mais firmes que são mais estáveis a altas temperaturas (Evans 2009).

A redução observada no valor de pH da água destilada indica a presença de compostos ácidos nas drogas vegetais das espécies de *Piper* em questão, o que está em conformidade com os constituintes fitoquímicos de cada espécie (Parmar *et al.* 1997; Facundo *et al.* 2008; Andrade *et al.* 2009; Regasini *et al.* 2009).

As concentrações de metais presentes nas drogas vegetais das espécies de *Piper* analisadas estão dentro dos limites para o consumo humano sem ocasionar danos à saúde (WHO 1996; 1998; WHO e FAO 2006; Farmacopeia Brasileira 2010). O conteúdo metálico aqui determinado para as drogas vegetais de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* pode ser usado

como um critério de qualidade, pois as autoridades reguladoras oficiais não estabelecem níveis-limite para metais em matérias-primas vegetais, exceto para arsênio, cádmio e chumbo (WHO 1998), e o incremento de conteúdo metálico nos vegetais, principalmente dos metais potencialmente tóxicos chamados “metais pesados”, pode indicar contaminação externa por fatores ambientais e/ou métodos de processamento (Başgel e Erdemoğlu 2006).

Os resultados da concentração dos metais determinados nas drogas vegetais das duas espécies de *Piper* estudadas são satisfatórios, pois as recuperações desses analitos na amostra certificada (SRM 1547) foram superiores a 50%, validando o método analítico aplicado.

O processamento adequado das folhas e caule de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum* tais como higienização, tempo e temperatura de secagem e condições ótimas de estocagem e conservação permitiram obter drogas vegetais de excelente qualidade farmacognóstica. A preservação nas drogas vegetais das características morfológicas gerais de cada espécie, a presença de idioblastos secretores com retenção de conteúdo metabólico e os valores dos parâmetros físico-químicos determinados abaixo dos limites máximos aceitáveis asseguram essa qualidade. Temperaturas elevadas e secagem excessiva causam danos morfológicos teciduais e degradação do conteúdo químico celular (Fontes e Fontes 2005; Hubinger *et al.* 2009). Adicionalmente, a água residual favorece o crescimento de micro-organismos, a deterioração, o ataque de insetos e a hidrólise enzimática de compostos químicos (Alves *et al.* 2010).

## CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo poderão ser utilizados como parâmetros seguros para o controle de qualidade das drogas vegetais foliares e caulinares obtidas a partir de *P. arboreum* var. *arboreum* e *P. tuberculatum*. As drogas vegetais produzidas poderão servir como padrões de referência. Os dados estruturais contribuirão para a autenticidade botânica. Os dados físico-químicos permitirão a avaliação do grau de pureza. As características organolépticas poderão ser úteis tanto para a autenticidade botânica como para a avaliação do grau de pureza.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor. À Dra. Elsie Franklin Guimarães do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação botânica das espécies estudadas. Aos editores e revisores da Revista Acta Amazonica, pelas contribuições dadas ao artigo.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

- Alves, M.S.M.; Mendes, P.C.; Vieira, J.G.P.; Ozela, E.F.; Barbosa, W.L.R.; Júnior, J.O.C.S. 2010. Análise farmacognóstica das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20: 215-221.
- Andrade, H.E.A.; Guimarães, E.F.; Maia, J.G.S. 2009. *Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia*. FEC/UFPA, Belém, 448p.
- ANVISA. 2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada nº 14 de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. *Diário Oficial da União*. Brasília em 5 de abril de 2010.
- Başgel, S.; Erdemoğlu, S.B. 2006. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consume in Turkey. *Science of the Total Environment*, 359: 82-89.
- British Herbal Pharmacopeia*. 1990. 1ra ed. British Herbal Medicine Association, Bournemouth, 107p.
- Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos*, 61: 255.
- Cheng, D.; Zhang, Y.; Xin, X.; Gao, D. 2014. Comparative pharmacognosy of *Pyrrosia petiolosa* and *Pyrrosia davidii*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24: 368-380.
- Cortés, N.; Mora, C.; Muñoz, K.; Díaz, J.; Serna, R.; Castro, D.; Osorio, E. 2014. Microscopical descriptions and chemical analysis by HPTLC of *Taraxacum officinale* in comparison to *Hypochoeris radicata*: a solution for mis-identification. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24: 381-388.
- Evans, W.C. 2009. *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 15ta ed. WB Saunders Company, London, 616p.
- Facundo, V.A.; Polli, A.R.; Rodrigues, R.V.; Militão, J.S.L.T.; Stábéli, R.G.; Cardoso, C.T. 2008. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta Amazonica*, 38: 733-742.
- Farmacopeia Brasileira*. 2010. Ministério da Saúde. 5ta ed. vol. I. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 546p.
- Ferreira, M.G.P.R.; Kayano, A.M.; Silva-Jardim, I.; Da Silva, T.O.; Zuliani, J.P.; Facundo, V.A.; Calderon, L.A.; Almeida-e-Silva, A.; Ciancaglini, P.; Stábéli, R.G. 2010. Antileishmanial activity of 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian *Piper tuberculatum* Jacq., Piperaceae, fruits. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20: 1003-1006.
- Fonseca, F.N.; Silva, A.H.; Leal, L.K.A.M. 2010. *Justicia pectoralis* Jacq., Acanthaceae: preparation and characterisation of the plant drug including chromatographic analysis by HPLC-PDA. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20: 871-877.
- Fontes, E.A.F.; Fontes, P.R. 2005. *Microscopia de alimentos: fundamentos teóricos*. UFV, Viçosa, 151p.
- Foster, A.S. 1949. *Practical plant anatomy*. D. van Nostrand Company Inc., Princeton, 228p.
- Gogosz, A.M.; Boeger, M.R.T.; Negrelle, R.R.B.; Bergo, C. 2012. Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero *Piper* (Piperaceae). *Rodriguésia*, 63: 405-417.

- Guimarães, E.F.; Carvalho-Silva, M.; Monteiro, D.; Medeiros, E.S.; Queiroz, G.A. 2014. Piperaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB24217>). Acesso em 08/08/2014.
- Hubinger, S.Z.; Salgado, H.R.N.; Moreira, R.R.D. 2009. Controles físico, físico-químico, químico e microbiológico dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19: 690-696.
- Machado, N.S.O.; Pereira, F.G.; Santos, P.R.D.; Costa, C.G.; Guimarães, E.F. 2015. Comparative anatomy of the leaves of *Piper lepturum* (Kunth) C.DC. var. *lepturum* and *Piper lepturum* var. *angustifolium* (C.DC.) Yunck. *Hoehnea*, 42: 1-8.
- Mohamad, T.A.S.T.; Naz, H.; Jalal, R.S.; Hussin, K.; Rahman, M.R.A.; Adam, A.; Weber, J-F.F. 2013. Chemical and pharmacognostical characterization of two Malaysian plants both known as Ajisamat. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23: 724-730.
- Monteiro, W.R.; Giulietti, A.M.; Mazzoni, S.C.; Castro, M.M. 1979. Hairs on reproductive organs of some Eriocaulaceae and their taxonomic significance. *Boletim de Botânica (USP)*, 7: 43-59.
- Paes-Gonçalves, H.; Facundo, V.A.; Santos, D.M.F.; Silva, A.G.C.; Ballico, L.J.; Lima, D.K.S.; Stábeli, R.G.; Silva-Jardim, I. 2012. The leishmanicidal activity of a cyclopentenone derivative isolated from the roots of a native Amazonian pepper (*Piper carniconnectivum*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22: 1018-1023.
- Parmar, V.S.; Jain, S.C.; Risht, K.S.; Jain, R.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O.M.; Prasad, A.K.; Wengel, J.; Olsen, C.E.; Boll, P.M. 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, 46: 597-673.
- Periyannayagam, K.; Jagadeesan, M.; Kavimani, S.; Vetrivelan, T. 2012. Pharmacognostical and Phyto-physicochemical profile of the leaves of *Piper betle* L. var. *Pachaikodi* (Piperaceae)- Valuable assessment of its quality. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S506-S510.
- Pessini, G.L.; Albiero, A.L.M.; Mourão, K.S.M.; Nakamura, C.V.; Dias Filho, B.P.; Cortez, D.A.G. 2003. Análise farmacognóstica de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallascens* (C. DC.) Yunck: aspectos botânicos e enfoque físico-químico preliminar. *Latin American Journal of Pharmacy*, 22: 209-216.
- Pratsmoya, S.; Graneteruel, N.; Berenguernavarró, V.; Martincarratala, M.L. 1997. Inductively coupled plasma application for the classification of 19 almond cultivars using inorganic element composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2093-2097.
- Regasini, L.O.; Cotinguiba, F.; Passerini, G.D.; Bolzani, V.S.; Cicarelli, R.M.B.; Kato, M.J.; Furlan, M. 2009. Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19: 199-203.
- Santos, V.L.P.; Franco, C.R.C.; Amano, E.; Messias-Reason, I.J.; Budel, J.M. 2015. Anatomical investigations of *Piper amalago* (jaborandi-manso) for the quality control. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25: 85-91.
- Silva, R.J.F.; Aguiar-Dias, A.C.A.; Mendonça, M.S. 2014. Rosetas e concreções cristalinas silicificadas em *Piper* (Piperaceae): registros inéditos de macropadrões. *Acta Amazonica*, 44: 435-446.
- Trindade, F.T.T.; Stábeli, R.G.; Facundo, V.A.; Cardoso, C.T.; Da Silva, M.A.; Gil, L.H.S.; Silva-Jardim, I.; Almeida e Silva, A. 2012. Evaluation of larvicidal activity of the methanolic extracts of *Piper alatabaccum* branches and *P. tuberculatum* leaves and compounds isolated against *Anopheles darlingi*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22: 979-984.
- WHO. 1996. World Health Organization. *Trace elements in human nutrition and health*. WHO, Geneva, 360p.
- WHO. 1998. World Health Organization. *Quality control methods for medicinal plant materials*. WHO, Geneva, 112p.
- WHO; FAO. 2006. World Health Organization and Food and Agriculture Organization. *Guideline on food fortification with micronutrients*. WHO, Geneva, 376p.
- Yuncker, T.G. 1972. The Piperaceae of Brazil. I-Piper-Group I, II, III, IV. *Hoehnea*, 2: 19-366.
- Yuncker, T.G. 1973. The Piperaceae of Brazil II: *Piper*-Group V; *Otonia*; *Pothomorphe*; *Sarcobachis*. *Hoehnea*, 3: 20-284.

Recebido em 30/09/2015

Aceito em 23/12/2015