

## 1 INTRODUÇÃO

Na região Sul do Estado do Mato Grosso do Sul, estudos que evidenciam a ocorrência de espécies utilizadas na medicina popular ainda são escassos, sendo que muitos aspectos da flora medicinal nessa região ainda permanecem desconhecidos (Sangalli and Vieira, 2003; Sangalli et al., 2002).

Nesse contexto, a investigação da potencialidade terapêutica pode desempenhar funções de grande importância, como reunir informações acerca de todos os possíveis usos das plantas, contribuindo para o desenvolvimento de novas formas de medicamentos e princípios ativos (Caballero, 1983).

*Piper* é o maior gênero da família Piperaceae, com mais de 2000 espécies, encontra-se distribuído nas regiões tropicais e subtropicais de todo mundo, dos quais 170 crescem de forma nativa no Brasil (Anderson, 1982). Muitas espécies de *Piper* são usadas para fins curativos em diversas culturas (Bezerra et al., 2007). Além de *P. nigrum* (pimenta-do-reino), a espécie mais popular e usada largamente como condimento, muitas outras espécies possuem atividades farmacológicas, são utilizadas como inseticida, ou outros usos econômicos (Agra et al., 2007).

Esse gênero tem sido amplamente estudado, por conter uma vasta gama de compostos biologicamente ativos como, amidas, terpenos, alcalóides, chalconas, propenilfenóis, lignanas e neolignanas, sendo as amidas os constituintes mais encontrados no gênero *Piper* (Danelutte et al., 2005; Wadt et al., 2004). Além disso, a abundância em óleos essenciais gera uma marcante característica para esse gênero (Albiero et al., 2005).

Na América do Sul, principalmente em nosso país, várias espécies são usadas para fins medicinais. Dentre elas, várias estão incluídas na Farmacopéia Brasileira, como *Piper anguslifolium* (Pimenta matico), utilizado contra hemorragia, úlcera e tratamento de doenças urinárias, e *Piper cubeba* (Pimenta cubeba) usada para doença de chagas e também como antiinflamatório (Brasil, 2003).

Assim, considerando as diversas espécies nativas do gênero *Piper* existentes na região de Mato Grosso do Sul, e seus potenciais no que diz respeito ao tratamento de diversas doenças, este estudo tem por objetivo avaliar o efeito diurético, antilitiásico e a toxicidade aguda de extratos etanólicos de *Piper aduncum* e *P. amalago*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Anatomofisiologia Renal

Os rins são responsáveis pela filtração do plasma e excreção de constituintes desnecessários. Além disso, possui função endócrina, na produção de hormônios, como renina e eritropoetina (Beyenbach, 2004; Carter, 2012; Guyton and Hall, 2006; Thomson and Blantz, 2008).

Diariamente, os glomérulos filtram em média 180 litros de plasma, sendo 1 % desse volume excretado em forma de urina, o que resulta aproximadamente 1,5 L de urina por dia. Produtos resultantes do metabolismo como uréia, ácido úrico, sulfatos, ácidos em excesso, fosfatos, são eliminados em grande quantidade pela urina (Beyenbach, 2004; Carter, 2012; Guyton and Hall, 2006; Thomson and Blantz, 2008).

O rim é um órgão retroperitoneal localizado entre as vértebras L1 e L4, apresenta aproximadamente 12 cm de comprimento, um de cada lado da coluna vertebral. Seu peso médio é de 150 g. Macroscopicamente, o rim pode ser dividido em córtex e medula. O córtex se constitui de glomérulos, túbulos contorcidos proximais e distais. Já a medula, contém as alças de Henle e os túbulos coletores, os quais se abrem nas papilas dos cálices menores (Berman, 1969).

O néfron é a unidade funcional do rim. Essa estrutura é formada pelo corpúsculo renal (glomérulo + cápsula de Bowman), túbulo contorcido proximal, alça de Henle, tubo contorcido distal e ducto coletor. O glomérulo é uma estrutura formada por capilares fenestrados, membrana basal e podócitos (células epiteliais especializadas). A membrana Bowman e os podócitos formam uma barreira que permite a passagem seletiva de água e pequenos solutos. Alterações nessa estrutura acarretam em uma série de distúrbios renais (Berman, 1969; Guyton and Hall, 2006).

Primeiramente, o sangue é filtrado na cápsula de Bowman (componente do glomérulo), o que gera um ultrafiltrado, que passará pelos túbulos contorcidos e pela alça de Henle, terminando nos túbulos coletores (Strasinger, 1991). Através da artéria renal, o sangue penetra nos rins, entra no glomérulo através da arteríola aferente e subsequentemente sai do néfron pela arteríola eferente (Kentaro and Sadayoshi, 2000).

O túbulo contorcido proximal tem função de reabsorver a maioria dos pequenos solutos filtrados (sódio, potássio, cloreto, cálcio e bicarbonato, aminoácidos e glicose). Nesse local, a água é permeável, sendo sua reabsorção feita de forma passiva. A alça de Henle possui um mecanismo de contracorrente através da criação de um interstício medular hipertônico. Já nos túbulos distais, agem a aldosterona, que auxiliam na reabsorção de sódio e secreção de potássio e também o hormônio antidiurético (ADH), que regula a diurese através da reabsorção de água nos ductos coletores. Por fim, o ducto coletor, que realiza também as funções do túbulo contorcido distal, tem importância na secreção de ácido através do amônio e no mecanismo contracorrente com a ureia (Thomson and Blantz, 2008).

Nos rins, o fluxo de sangue sofre influência do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Se os níveis da pressão sanguínea diminuem, a renina induz a produção de aldosterona, que aumenta a reabsorção de sódio e água, dessa forma, induz o aumento de pressão. Quando os níveis da pressão sanguínea se elevam, o oposto acontece (Hall and Granger, 1986; Kurtz, 2012).

### 2.1.1 Fármacos diuréticos

Os diuréticos são fármacos que atuam basicamente no rim, aumentando o fluxo e o grau da excreção urinária. Diminuem a reabsorção de  $\text{Na}^+$  e o aumento da excreção de água é secundário principalmente a perda de  $\text{Na}^+$  (natriurese) (Fig. 1) (Cervoni and Chan, 2000).

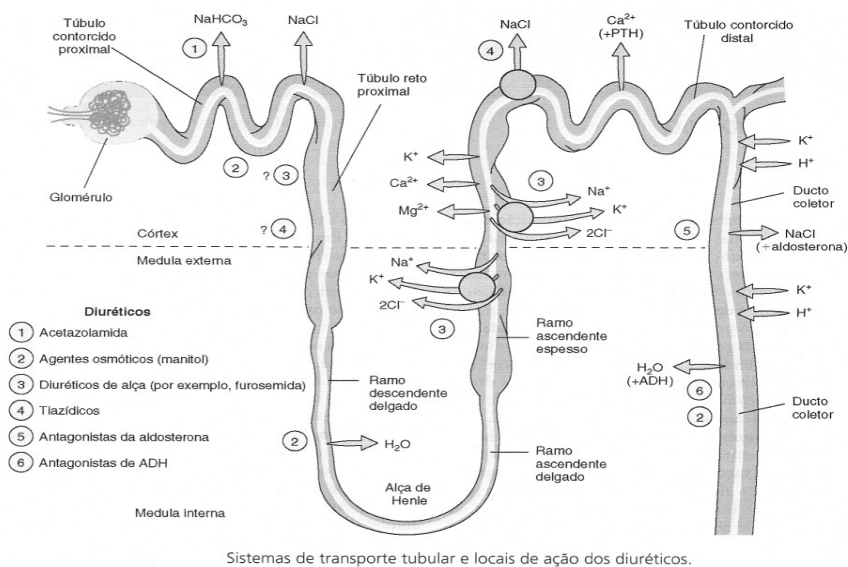


Fig.1 Sistemas de transporte tubular e locais de ação dos diuréticos (Katzung, 2003).

Os diuréticos se dividem em diferentes classes, conforme local e mecanismo de ação. Dentre os diuréticos que atuam sobre o túbulo contorcido proximal, existem os inibidores da anidrase carbônica (ex. acetazolamida), aumentam a eliminação de bicarbonato acompanhado de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e água, resultando em aumento do fluxo de urina alcalina e acidose metabólica (Rose, 1991).

Além dos diuréticos que atuam diretamente nos túbulos do néfron, existem também os diuréticos que atuam indiretamente por modificação do conteúdo do filtrado. Essa classe pertence aos diuréticos osmóticos. Trata-se de substâncias inertes (ex. manitol) filtradas no glomérulo, não são reabsorvidas pelo néfron. O principal efeito dos diuréticos osmóticos é aumentar a quantidade de água eliminada, com menor aumento da eliminação de  $\text{Na}^+$ . A indicação dessa classe é limitada. Inclui o tratamento de emergência de hipertensão intracraniana aguda ou de elevação aguda da pressão intra-ocular (Briggs et al., 1980; Pingle et al., 2004; Rang and Dale, 2007; Rose, 1991).

Já os diuréticos de alça são mais potentes, capazes de causar a eliminação de 15%-25% do  $\text{Na}^+$  do filtrado. São exemplos dessa classe o furosemina e bumetanida. Esses fármacos atuam no ramo ascendente espesso, inibindo o transportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  na membrana luminal, combinando-se com seu sítio de ligação para  $\text{Cl}^-$ . São comuns os efeitos indesejáveis relacionados à ação dos diuréticos de alça, como perda excessiva de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , hipomagnesemia, hiperuricemia e até perda da audição (doses altas) (Brater, 1991; Saier and Boyden, 1984).

Adicionalmente, sobre os diuréticos que atuam sobre o túbulo distal, incluem-se os tiazídicos (hidroclorotiazida, bendrofluazida). Apesar de ser menos potentes do que os diuréticos de alça, é comum o uso dessa classe, principalmente para tratar hipertensão (Cervoni and Chan, 2000). Os tiazídicos ligam-se ao sítio do  $\text{Cl}^-$  do sistema de co-transporte tubular distal de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ , inibindo sua ação e causando natriurese com perda de íons cloreto. Efeitos indesejáveis como hipocalciúria, hiponatremia, hipocalemia são comuns. Além disso, também ocorre com frequência a disfunção erétil. Reações idiossincráticas, discrasias sanguíneas, pancreatite e edema pulmonar agudo, são raros, porém graves (Salveti and Ghiadoni, 2006; Shah et al., 1978; Zillich et al., 2006).

Outra classe dos diuréticos são os poupadores de potássio, dentre eles, os antagonistas de aldosterona, (ex. espironalactona), os quais competem com a aldosterona, inibindo a retenção de  $\text{Na}^+$  e a secreção de  $\text{K}^+$  nos túbulos distais. Possuem ação diurética limitada quando usado isoladamente, por que a troca distal de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (local de ação) é responsável pela reabsorção de apenas 2% do  $\text{Na}^+$  filtrado. As reações adversas dos antagonistas de aldosterona predispõem a

hipercalcemia, que pode ser fatal. Existem também outros poupadores de potássio, no qual o mecanismo de ação é diferente dos antagonistas de aldosterona. O triantereno e amilorida são substâncias que atuam nos túbulos e ductos coletores, inibindo a reabsorção de  $\text{Na}^+$  por bloqueio dos canais de sódio luminais e diminuição da eliminação de  $\text{K}^+$ . O principal efeito colateral é a hipercalcemia, principalmente em pacientes com comprometimento renal ou que estejam recebendo a administração de fármacos que possam aumentar o  $\text{K}^+$  plasmático (Dyckner and Wester, 1986; Rose, 1991).

Baseado nos efeitos adversos indesejáveis que os diuréticos disponíveis no mercado apresentam, se faz necessária a busca por novas substâncias, sobretudo para o uso clínico. Uma das possibilidades para o desenvolvimento de novas alternativas e minimização de efeitos colaterais é o estudo das plantas medicinais, incluindo a síntese farmacológica destas mesmas substâncias (Wright et al., 2007).

## 2.2 Urolitíase

A urolitíase, também conhecida com pedra nos rins, cálculo renal, calculose, nefrolitíase, é uma doença que, na maioria das vezes causa muita dor. É uma doença que não possui um alto índice de mortalidade, porém é a que causa mais morbidade dentre as afecções urinárias, levando a internações e dias de trabalho perdidos (Gambaro *et al.*, 2004; Stoller, 2004).

A incidência da urolitíase em adultos e crianças tem aumentado globalmente nas últimas décadas. A prevalência possui variações regionais, em que condições climáticas locais são possuem um papel importante na patogênese da urolitíase. A ocorrência aumenta em regiões quentes e ensolaradas. O risco individual é modificado pela predisposição familiar e a suscetibilidade genética (Sharma and Filler, 2010; Xu et al., 2011).

A composição da pedra é constituída por uma parte inorgânica e uma matriz orgânica. Na parte inorgânica (cristalina) geralmente é composta por sais de cálcio (fosfato de cálcio, oxalato de cálcio), ácido úrico, carbonato de apatita e amônio magnésiano e também podem ser compostos por estruvita, cistina, dentre outros (Sakhaee et al., 2012). A matriz orgânica é formada basicamente por proteínas, dentre elas: nefrocalcina, hemoglobina, osteopontina, proteína de Tamm Horsfall, entre outras (Moe, 2006).

Dentre os cálculos renais acometidos na população 80% são formados por oxalato de cálcio. Esse sal pode se encontrado em três diferentes formas: monoidratado, diidratado (COD) e triidratado (Dyer and Nordin, 1967; Elliot and Rabinowitz, 1980; Scott et al.). Predominam-se os cristais mono e diidratado em cálculos renais. Já o triidratado é termodinamicamente menos estável, portanto, possui alta solubilidade e menor presença nos cálculos (Nancollas *et al.*, 1991)

O processo de litogênese é um complexo processo que ocorre em diversas partes do trato urinário, e é composto por várias sequências: supersaturação da urina, nucleação, crescimento do cristal, agregação e retenção do cristal (Hamamoto et al., 2011).

O nível de saturação é um estado em que, sob determinada temperatura e pH, a concentração de sais atinge o limite de solubilidade. Se o nível de solutos aumenta além do nível de saturação, o sistema ficará em estado de supersaturação, de maneira termodinamicamente instável. Essa condição é essencial para a formação de cálculos renais, pois a formação de cristais na urina tem início a partir de uma supersaturação (Coe et al., 2011; Hamamoto et al., 2011).

Após essa fase, ocorre a nucleação, o qual consiste em atingir um estado termodinâmico menos instável. Durante esse processo, íons e moléculas se ligam, e formam cristais, que dessa forma, reduz o excesso de energia livre. A nucleação ocorre usualmente em superfícies pré-existentes, como hemácias ou células epiteliais, e nesse caso, ocorre uma nucleação heterogênea. No entanto, a nucleação também pode acontecer a partir da precipitação de cristais devido a supersaturação, o que ocorre na nucleação homogênea (Coe et al., 2011; Hamamoto et al., 2011).

Devido as altas interações entre as partículas no trato urinário, cristais formados e outros componentes, que podem se ligar a estrutura do cristal, acarretam a um aumento do cristal. Os cristais formados se aproximam e se unem uns aos outros. Esse processo é chamado de agregação (Hamamoto et al., 2011; Sakhaee et al., 2012).

Na fase de retenção dos cristais, é necessário que eles estejam ancorados em células epiteliais, para que dessa forma, possam crescer e tornarem-se cálculos. Esse crescimento pode ocorrer quando a urina está supersaturada, ou quando existem novas partículas que se agregam ao cálculo (Hamamoto et al., 2011; Sakhaee et al., 2012).

Contudo, a formação da pedra é influenciada por uma série de fatores, dentre eles: sexo, idade, raça, herança genética, fatores metabólicos, fatores climáticos, atividade física, alimentação, anormalidades do pH e do volume urinário, desequilíbrio entre os fatores promotores e inibidores da cristalização (Sharma and Filler, 2010).

A formação de vários tipos de pedras renais é fortemente influenciada pelo pH urinário. Um pH alcalino favorece a cristalização de cristais de cálcio e fosfato, enquanto a urina ácida promove a formação de pedras de ácido úrico ou de cistina. Defeitos na acidificação urinária contribui para a formação de pedras renais. A baixa excreção de amônio em pacientes com síndrome metabólica possui relação com urina ácida e uma maior incidência para pedras de ácido úrico (Wagner and Mohebbi, 2010).

Na urina presente no trato urinário de indivíduos normais, cristais podem ser formados. No entanto, o tamanho desses cristais é tão pequeno, que são eliminados pela urina. A isso dá-se o nome de cristalúria assintomática, que é comum à todos. Uma vez que as condições no trato urinário são alteradas (diminuição de fluido, entre outros), as taxas de nucleação e agregação dos cristais se elevam, o que geram um crescimento do cristal, e conseqüentemente, sua eliminação fica comprometida (Sakhaee et al., 2012).

A hiperuricosúria é caracterizada por aumento da excreção urinária superior a 800 mg/dia de ácido úrico. Em pH baixo (ácido), a forma não dissociada de ácido úrico predomina e é quase insolúvel, o que pode gerar cristalúria e formação de cálculo renal, mesmo em condições de excreção normais (Tseng and Preminger, 2011).

Infecções também são fatores de risco para desenvolvimento da litíase urinária. A litogênese está relacionada a infecções por bactérias produtoras de urease (*Proteus* ou *Klebsiella*, quase nunca *E. coli*). Essas bactérias desdobram a uréia em amônia, deixando o pH urinário alcalino, e conseqüentemente, favorece a cristalização com fosfato e magnésio, na formação de estruvita (Tseng and Preminger, 2011).

Medicações como sulfato de indinavir, usado em indivíduos portadores de HIV, também está associado à formação da litíase urinária em 3% dos usuários. A ingestão excessiva de vitaminas A e D, uso de acetazolamida, triantereno e sulfadiazina podem causar cristalúria, e em decorrência, nefrolitíase (Brenner et al., 2011).

Além desses fatores, também é válido destacar que a morfoanatomia do aparelho urinário também contribui para o surgimento e desenvolvimento de cálculos renais. Presença de cavidades (aumentam o tempo de permanência da urina no rim) ou presença de um uroepitélio lesionado que age como núcleo para agregação dos cristais, também propiciam na formação da litíase urinária (Moe, 2006).

O risco de recorrência para urolitíase é individual para o paciente, e também o tratamento médico é específico. Dessa forma, uma breve avaliação do risco após a passagem da doença, é necessário para definir o alto risco de recorrência. 25% de todos os pacientes urolitiásicos são de

alto risco ou sofrem severas desordens metabólicas, e ambas necessitam de terapia médica. No entanto, os outros 75% se beneficiam o suficiente de medidas preventivas, como alta ingestão de fluidos, dieta mista balanceada e mudanças no estilo de vida (Straub, 2011).

A prevalência e a incidência de nefrolitíase tem aumentado em todo o mundo. No Estados Unidos, pedras nos rins afetam cerca de 1 em 11 pessoas. Esses dados representam um aumento marcante na urolitíase comparado com indivíduos negros, não-hispânicos e hispânicos (Maloney et al., 2005).

A formação de pedra nos rins geralmente é devido a fatores genéticos e ambientais. Embora os fatores genéticos possam influenciar o risco de pedra, as mudanças no conjunto de genes ocorrem a uma velocidade lenta. Os fatores ambientais também são variados e complexos, mas sua influência é mais evidente como as mudanças nesses fatores ocorrem em intervalos muito curtos. Dieta e clima estão entre os fatores ambientais mais importantes e tem o impacto mais significativo sobre essas tendências (Romero et al., 2010).

Já no Brasil, não há estudos epidemiológicos referidos a litíase urinária, no entanto estima-se que deva variar entre 3-8% à semelhança de outros países ocidentais (Robertson *et al.*, 1980). Segundo dados oficiais do departamento de Informação e Informática do SUS/DATASUS (Brasil, 2012), em 2011 ocorreram 66,254 internações por urolitíase, o que representa um o custo de mais 30 milhões de reais em internações, um crescimento de 3,1% em relação a 2009 e 7,6% a 2008. Além disso, os pacientes atendidos pelos serviços de pronto-atendimento do país não estão contabilizados, assim o valor gasto por urolitíase pode ser mais elevado.

Um dado interessante obtido em um estudo realizado em Minnesota entre os anos de 1984 a 2003 é que existe associação entre cálculos renais e o aumento de risco para infarto agudo no miocárdio, comprovando que os cálculos renais aumentam em 38% o risco de infarto agudo no miocárdio e esse risco é independente de doença crônica renal e outros fatores de risco (Rule *et al.*, 2010).

O tratamento da urolitíase é realizado durante a crise renal, para remoção e para prevenção, o que varia de acordo com a composição da pedra (Brenner et al., 2011). Para as pessoas que manifestam cólicas renais é realizado tratamento através de antiespasmódicos e antiinflamatórios não esteroidais (Brenner et al., 2011; Sakhaee et al., 2012). O procedimento para eliminação do cálculo é por meio de litotripsia extracorpórea ou cirurgia, que propicia riscos e efeitos indesejados (Brenner et al., 2011). Na terapêutica e prevenção da doença litíásica, é feito o tratamento dietético (nos casos hiperexcreções) e o tratamento farmacológico, no qual são usado tiazídicos, citratos, alopurinol e outras medicações, que possuem significantes efeitos colaterais e



não são específicos na degradação do cálculo renal (Allie-Hamdulay and Rodgers, 2005; Carter, 2012; Fernández-Rodríguez et al., 2006 ; Moe et al., 2011). Com base na alta frequência da recorrência dos cálculos, a profilaxia clínica pode ser fundamental na economia para os sistemas de saúde, e melhoria nas condições de saúde dos pacientes (Moe et al., 2011).

### 2.3 Plantas Medicinais

Para a OMS (Organização Mundial da Saúde), **plantas medicinais** são todas aquelas silvestres ou cultivadas, utilizadas como recurso para prevenir, aliviar, curar ou modificar um processo fisiológico normal ou patológico, ou utilizado como fonte de fármacos e de seus precursores, enquanto **fitoterápicos** são produtos medicinais acabados e etiquetados, cujos componentes ativos são formados por partes aéreas ou subterrâneas de plantas, ou outro material vegetal, ou combinações destes, em estado bruto ou em formas de preparações vegetais. Inegavelmente, as plantas medicinais e os fitoterápicos apresentam papel importante na terapêutica: cerca de 25% dos medicamentos prescritos mundialmente são de origem vegetal (Rates, 2001; WHO, 2003).

O Brasil destaca-se por ser o país com maior biodiversidade mundial neste aspecto, possuindo 22 % e todas as espécies biológicas do mundo (Marques, 2000). Nosso país possui um imenso potencial genético a ser explorado e estima-se que esse patrimônio vegetal represente cerca de 16,5 bilhões de genes (Ramos, 2005). Em sua complexa biodiversidade, existe um grande número de plantas que são utilizadas pelas populações para o tratamento de diversas enfermidades, tanto para seres humanos quanto para animais domésticos (Ming, 1995). A coleta de informações dessas populações também é fundamental para obter e resgatar o conteúdo de aspectos culturais, muitas vezes específicos de cada local e importantes para o uso coerente das plantas (Elisabetsky, 2003; Elisabetsky and Setzer, 1987).

Tendo em vista a importância de sanar, ou pelo menos de amenizar os problemas socioeconômicos da população brasileira, é crescente a preocupação em se estabelecer espécies de plantas medicinais para pesquisas, suas potencialidades, usos e meios de conservação desses recursos genéticos (Rodrigues, 1998).

A utilização de produtos naturais como recurso terapêutico é tão antiga quanto a civilização humana, e por muito tempo, produtos minerais, vegetais e animais constituíram o

arsenal terapêutico. Com o advento da Revolução Industrial e o desenvolvimento da química orgânica, os produtos sintéticos adquiriram primazia no tratamento farmacológico. Isto ocorreu, entre outros fatores, pela maior facilidade de obtenção de compostos puros, com o desenvolvimento de processos de modificações estruturais (com vistas a fármacos mais ativos e mais seguros) e pelo crescente poder econômico das grandes companhias farmacêuticas. Mesmo assim, os produtos naturais não perderam seu lugar na terapêutica, sendo considerados equivocadamente pela população como medicamentos seguros, garantindo um crescimento em sua utilização (Eisenberg *et al.*, 1998).

A partir do século XVII com a introdução do método científico, a contribuição da natureza para a melhoria da qualidade de vida da humanidade passou a ser cada vez maior, a partir da análise criteriosa dos efeitos terapêuticos e das propriedades das plantas sobre os seres vivos, e não mais apenas pela exploração dos recursos naturais como fontes energéticas ou alimentares (Paulino, 1996). Além disso, a utilização de produtos naturais, pelo seu paralelo com o desenvolvimento da cultura humana, foi e muitas vezes ainda é, acompanhada por significados mágico-religiosos e visões peculiares do processo saúde e doença (Rates, 2001).

No Brasil, a grande maioria das descobertas do potencial terapêutico das plantas se deu com base no conhecimento empírico transmitido pelas gerações ao longo dos anos. Além disso, a utilização de plantas para tratar diversas patologias teve origem junto aos povos indígenas, habitantes desse país, e que delas faziam uso, como a ipecacuanha (*Cephaelis ipecacuanha*), o jaborandi (*Pilocarpus jaborandi*), o guaraná (*Paullinia cupana*), a erva de bugre (*Casearia silvestris*), entre outras. Plantas de origem europeia, trazidas pelos colonizadores, também tiveram rápida difusão entre o povo brasileiro, como é o caso do funcho (*Foeniculum vulgare*), da camomila (*Matricaria chamomilla*), da melissa (*Melissa officinalis*), e da malva (*Malva sylvestris*). A utilização de outras plantas nativas das Américas difundiu-se devido à grande importância terapêutica a elas atribuída pela população, como é o caso do boldo (*Peumus boldus*), a marcela (*Acchyroclines satureioides*), e a quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* e *Phyllanthus urinaria*) (Paulino, 1996).

Popularmente é consagrado o uso de uma série de plantas que teriam efeitos terapêuticos nas afecções urinárias (Mello, 1980). Mello realizou trabalho em 1980, onde utilizou as primeiras plantas na medicina tradicional no Brasil no trato urinário (Paulino, 1996). Neste trabalho o autor cita como diurético uma planta conhecida popularmente como “quebra-pedra” cujo nome científico é *Phyllanthus niruri* (Mello, 1980). Historicamente as plantas do gênero *Phyllanthus* têm sido utilizadas pela medicina popular, no tratamento de várias doenças, em

especial aquelas relacionadas a problemas hepáticos e renais (Barros *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2003; Paulino, 1996).

Em estudo realizado na região do Mato Grosso do Sul, das espécies analisadas, dentre elas: *Eugenia uniflora* L., *Psidium guajava* L., *Passiflora* sp., *Peperomia* sp., *Piper aduncum* L., *Piper amalago*, *Pothomorphe umbellata*, as partes utilizadas para o preparo de remédios são as folhas e cascas e também o emprego de raízes, caules, sementes, frutos e seiva. As folhas são tradicionalmente as partes mais utilizadas para tratamento medicinal popular, provavelmente por causa da facilidade de coleta e por estar presente na planta, durante a maior parte do ano (Alves *et al.*, 2008). Neste estudo, de acordo com as indicações medicinais populares nos diversos gêneros de plantas, as enfermidades para as quais foram citadas um número maior de plantas, foram as seguintes: doenças reumatológicas, diurético, dores na coluna, problemas renais, calmante, depurativo do sangue, disenteria, dores no fígado, febre, anti-séptico, cicatrizante, diabetes, doenças do baço, doenças venéreas, gripe, má-digestão, malária, observou-se, também, que uma mesma planta é usada para debelar diferentes patologias (Alves *et al.*, 2008). Muitas das espécies coletadas neste estudo foram citadas em trabalhos realizados em outras localidades ou Estados, como por exemplo, no estudo realizado das plantas medicinais usadas pelas populações indígenas Kaiowá e Guarani na Reserva de Caarapó no Mato Grosso do Sul no qual *Eugenia uniflora* L., *Maclura tinctoria* (L.) D. Don ex Steud., *Psidium guajava* L., *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. e *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl foram citadas (Alves *et al.*, 2008; Bueno *et al.*, 2005). Fonseca-Kruel & Peixoto em levantamento etnobotânico realizado na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, no Estado do Rio de Janeiro, relataram as espécies *Eugenia uniflora* L., *Piper amalago* L., *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., *Trema micrantha* (L.) Blume e *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl (Fonseca-Kruel and Peixoto, 2004).

Especificamente para o tratamento de afecções urinárias várias plantas medicinais são utilizadas na cultura popular mundial, incluindo a *Alisma orientale* (Yasui *et al.*, 1999), a *Vigna unguiculata* (Schwartz *et al.*, 2000), a *Aerva lanata* (Selvam *et al.*, 2001), a *Vediuppu chunnam* (Selvam *et al.*, 2001), a *Agropyron repens* (Grases *et al.*, 1995) e a *Herniaria hirsuta* (Atmani and Khan, 2000).

O uso da cana-do-brejo ou cana-de-macaco (*Costus spiralis*)(Viel *et al.*, 1999) e do quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*) (Barros *et al.*, 2003; Campos and Schor, 1999; Freitas *et al.*, 2002; Nishiura *et al.*, 2004), tem sido preconizado para o tratamento de cálculos renais, de acordo com a medicina popular brasileira. Alguns estudos demonstram efeito de algumas plantas

sobre a diurese como a língua-de-vaca (*Elephantopus scaber*), a colônia (*Alpinia speciosa*) (Laranja *et al.*, 1991, 1992), trapoeraba (*Tradescantia diuretica*) (Laranja *et al.*, 1992) e a pimenta-de-macaco (*Piper aduncum*) (Van den Berg, 1993). Vários estudos tem sido feitos para averiguar o efeito antimicrobiano das plantas. Exemplos de plantas que possuem atividade antimicrobiana são: *Lithospermum erythrorhizon*, *Rheum palmatum*, *Thymus vulgaris*, *Lippia citriodora*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia lavandulifolia* e *Thymus mastichina* (Narayanan *et al.*, 2011).

Dentre outras famílias e gêneros, na região de Mato Grosso do Sul, o uso de plantas da espécie *Piper* é utilizado em diferentes afecções urinárias. Em estudo de levantamento etnobotânico realizado na cidade de Dourados (MS), das famílias identificadas, 10,8% eram de espécies de Piperaceae, mostrando uma grande quantidade do gênero na região (Alves *et al.*, 2008).

O conhecimento científico dos potenciais terapêuticos das espécies do gênero *Piper* são poucos explorados, assim como algumas espécies são citadas, tanto pela “medicina popular”, como por alguns estudos científicos no tratamento de afecções urinárias, torna-se importante a verificação e comprovação de suas potencialidades terapêuticas.

Assim como em outros países, alguns centros de pesquisa no Brasil dedicam-se a avaliar cientificamente a efetividade de produtos naturais, utilizados pela população no tratamento de doenças.

Nesse sentido, através do discurso popular, a ciência tem muito a contribuir pois, a utilização de plantas medicinais expõe, em muitos casos, com uso tradicional nas populações, o que permitiria justificar sua eficácia, sem por isso prescindir dos estudos farmacológicos e toxicológicos indispensáveis para confirmar esta eficácia, garantindo a segurança do uso (Bittencourt *et al.*, 2002).

### **2.3.1 Família Piperaceae e o gênero *Piper***

A família Piperaceae, pertence à divisão Magnoliophyta Cronquist Takhtajan, Zimmermann; classe Magnoliopsida Cronquist, Takhtajan, Zimmermann; subclasse I. Magnoliidae Takhtajan; ordem 3. Piperales Linley, segundo o sistema de classificação de

Cronquist, Takhtaja & Zimmermann. Essa família é citada como uma das primitivas dentre as dicotiledôneas (Anderson, 1982).

Possui 10 gêneros e um número de aproximadamente 2000 espécies, sendo que a maioria pertence ao gênero *Piper* L e *Peperomia* Ruiz et Pavon, o qual estão distribuídos mundialmente em regiões tropicais (Anderson, 1982).

No Brasil ocorrem 5 gêneros e aproximadamente 500 espécies, amplamente distribuídas na Mata Atlântica, desde o Nordeste brasileiro até o Sul do país. *Ottonia* Spreng., *Peperomia* Ruiz & Pav., *Piper* Lineu. e *Pothomorphe* Miq., são frequentes no Nordeste, já o gênero *Sarchorhachis* Trel., é exclusivo das Regiões Sudeste e Sul do Brasil (Gibbs, 1974; Yuncker, 1973, 1974).

Essas plantas, em maior parte, variam de herbáceas a arbustivas, podendo ser escandentes, ou seja, crescem emitindo novos brotos para pico, de modo ascendente pelas árvores em direção à luz, e raramente encontram-se espécies arbóreas. Os caules de muitas espécies são tortuosos, com folhas pecioladas (possuem uma parte estreita que liga uma folha ao caule), simples, alternas, raramente opostas, as vezes carnosas e sem estípulas (Scott *et al.*, 2008).

Na América do Sul, principalmente em nosso País, várias espécies são usadas medicinalmente. Dentre elas, várias estão incluídas na Farmacopéia Brasileira, dentre elas *P. angustifolium* (Pimenta matico), utilizado contra hemorragia, úlcera e tratamento de doenças urinárias, e *P. cubeba* (Pimenta cubeba) usada para doença de chagas e também como antiinflamatório (Brasil, 2003).

Do ponto de vista químico, a família Piperaceae possui a presença de diversos compostos fitoquímicos. Dentre eles: ésteres, éteres fenólicos, óleos essenciais voláteis e lignanas, alcalóides pirrolidínicos (Gibbs, 1974).

O gênero mais pesquisado é o *Piper* L, o qual tem sido isoladas várias substâncias de diversos grupos fitoquímicos: lignanas, flavonóides, lactonas, alcalóides (pirrolidínicos e piperidínicos), butenólidos e ciclohexano-epóxido (Calle-Alvarez, 1983; Nair and Burke, 1990; Sengupta and Ray, 1987).

Esse gênero é o maior da família Piperaceae, com mais de 700 espécies, encontra-se distribuído nas regiões tropicais e subtropicais de todo mundo, dos quais 170 crescem de forma nativa no Brasil (Yuncker, 1972). *P. nigrum* (pimenta-do-reino) é a espécie mais popular e usada largamente como condimento, muitas outras espécies possuem atividades farmacológica, são usadas como inseticidas, ou outros usos econômicos (Agra *et al.*, 2007). Na China, algumas

prescrições recomendam o uso das folhas de *P. futokasura* no tratamento de arritmias cardíacas e da asma. Na Jamaica, dores estomacais são tratadas com uma infusão das folhas de *P. aduncum* e *P. hispidum*. No México e no Brasil, usam-se as folhas de *P. amalago* para aliviar dores estomacais e no combate a diversas infecções. Destacam-se as espécies *P. amalago*, *P. glabratum*, *P. aduncum*, *P. vicosanum*, por serem usadas para fins curativos em diversas culturas (Bezerra *et al.*, 2007). Algumas plantas do gênero *Piper*, como *P. aduncum* L. (falso jaborandi), *P. amalago* L (jaborandi), *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. (pariparoba), *Peperomia* sp. (jaborandi anestesiol), são utilizadas na região de Dourados como analgésicos, anestésicos, também para tratamento de queimaduras e má digestão (Alves *et al.*, 2008).

As espécies de plantas de *Piper* estudadas no presente trabalho foram escolhidas por serem as mais facilmente encontradas na região da Grande Dourados e comumente utilizadas pela população em diversas doenças, algumas inclusive com indicações populares para o trato urinário.

#### 2.3.1.1 *P. aduncum*



Fig. 2 *P. aduncum* Fonte: Pedro Joel Filho Flora - RS

*P. Aduncum* (Fig. 2) é um arbusto exótico de porte pequeno, sendo o mais popular do gênero no Hemisfério Ocidental (Burger, 1971).

*P. aduncum* ajuda no reflorestamento de áreas alteradas e contribui para a biodiversidade e biomassa das florestas. É também uma fonte de alimento e cobertura para vida selvagem. Em Papua Nova Guiné, essa planta ajuda a prevenir a erosão do solo. A madeira é útil para o combustível, estacas de cercas e construção (Maia *et al.*, 1998). Mas também, é comumente utilizada como antiinflamatório, tendo uso em feridas por populares em algumas partes deste país (Nick *et al.*, 1995). No Peru, usa-se para tratamento de diarreia, e na Jamaica para resfriado e dores estomacais (Macedo and Oviedo, 1987).

*P. aduncum*, conhecida popularmente como “pimenta-de-macaco” tem o uso sido relatado: em doenças ginecológicas e desordens intestinais (Van den Berg, 1993), como diurético, antiblenorrágico, carminativo, excitante digestivo, para males do fígado, no combate a erisipela e tratamento de úlceras crônicas (Coimbra, 1994). No Brasil, a infusão ou o chá são usados também como tônico, carminativo, antiespasmódico, antiemorrágico e para afecções do fígado, vesícula e baço. Ação eficaz para picada de cobra, estimulante e colagoga. São ainda indicações populares: reumatismos, artrite, diabete e inflamações pulmonares, dores estomacais e fortalecedor de cabelo (Lorenzi and Matos, 2002). Essa espécie possui compostos antifúngicos e antibacterianos. Em um estudo antimicrobiano, *P. aduncum* apresentou atividade inibitória contra *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Mycobacterium intracellulare* (Nair and Burke, 1990; Okunade *et al.*, 1997).

O produto químico 2', 6'-diidroxí-4'-metoxichalcone isoladas de *P. Aduncum* inibiu 98% do crescimento do parasita *Leishmania amazonensis*, *in vitro*, com baixa toxicidade das células do hospedeiro (Torres-Santos *et al.*, 1999). Outro estudo avaliou o efeito antiviral, contra o Poliovírus, o qual o extrato de *P. aduncum* apresentou eficácia. Além disso, os óleos essenciais têm demonstrado um forte efeito molusticida e bactericida, segundo Orjala (Orjala *et al.*, 1993; Orjala *et al.*, 1992).

A *P. aduncum* é muita rica em óleos essenciais, sendo estes, compostos basicamente por dilapiol, um éter fenílico com elevado padrão de oxigenação (Maia *et al.*, 1998). O óleo essencial de *P. aduncum* pertence a classe dos agente xenobióticos, de baixa toxicidade (Macedo and Oviedo, 1987). Os efeitos tóxicos desse óleo essencial são mínimos, e possui uma elevada margem de segurança (Sousa *et al.*, 2008).

A composição do óleo essencial de *P. aduncum* varia de acordo com a parte do vegetal (Navickiene *et al.*, 2006). Nas folhas são encontrados:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, *cis*-ocimeno, *trans*-ocimeno, linalool. Nos frutos existem  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, mirceno,  $\alpha$ -terpineno, *p*-cimeno, limoneno, *cis*-ocimeno, *trans*-ocimeno,  $\gamma$ -terpineno, linalool. O caule possui  $\alpha$ -pineno,

$\beta$ -pineno, mirceno,  $\alpha$ -terpineno, *p*-cimeno, limoneno, *cis*-ocimeno, *trans*-ocimeno,  $\gamma$ -terpineno e linalool.

Dos monoterpenos existentes na planta, encontram-se nas folhas:  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -elemeno,  $\alpha$ -gurjuneno,  $\beta$ -caryophylleno, aromadendreno,  $\alpha$ -humuleno, seicheleno, germacreno D, biciclogermacreno,  $\alpha$ -muroleno,  $\beta$ -cadineno,  $\gamma$ -cadineno, germacreno B, nerolidol, spathulenol, globulol, undecanone. Nos frutos:  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno, germacreno D, nerolidol. E, no caule:  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno, germacreno D e nerolidol (Navickiene et al., 2006).

Em função de minimizar o uso de fungicidas convencionais, e preservar o meio ambiente, Bastos (2004) comprovou o que o óleo essencial de *P. aduncum* apresenta potencial uso para controle de apodrecimento em frutos de banana causada por *C. musae* em pós-colheita (Bastos and Albuquerque, 2004). Os óleos essenciais extraídos de frutas possuem atividade antifúngica contra *P. tuberculatum*, *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum* (Navickiene et al., 2006).

Em um estudo foi avaliado o efeito inseticida para *Cerotoma tingomarianus* (inseto desfolhador das plantas) (Fazolin et al., 2005) também frente a *Sitophilus zeamais* (caruncho, inseto que perfura sobretudo madeira, cereais e feijão armazenado) e sua eficácia é dependente da via de intoxicação e da concentração do óleo essencial aplicado (Estrela et al., 2006).

A espécie de *P. aduncum* apresentou ação eficaz no controle de fitopatógenos, em estudos desenvolvidos *in vitro* (Nair and Burke, 1990). Além disso, o óleo essencial de *P. aduncum* possui ação inibitória frente a *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, agente causal da vassoura-de-bruxa do cacauero (*Theobroma cacao* L.) e a inibição *in vitro* do crescimento micelial de vários fitopatógenos (Bastos and Albuquerque, 2004).

Em estudo desenvolvido por Guerrini (2009), mostrou que o óleo essencial de *P. aduncum* apresenta atividade antimicrobiana contra os seguintes microrganismos: *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Magnaporthe grisea*, *Pythium ultimum*, *Botrytis cinerea*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Nanizzia cajetani* (Guerrini et al., 2009).

O extrato etanólico de *P. aduncum* possui atividade antimicrobiana contra *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*; *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *E. coli*; *Staphylococcus aureus*; *Mycobacterium intracellulare*, *Cryptococcus neoformans*, *C. albicans*, *Aspergillus flavus*; *Aspergillus fumigatus*; *Trichophyton mentagrophytes*, *Saccharomyces cerevisiae* (Lentz et al., 1998) (Cáceres et al., 1995; Kloucek et al., 2005).



### 2.3.1.2 *P. amalago*



Fig. 3. *P. amalago* Fonte: Jonas da Silva Mota - MS

*P. amalago* (Fig. 3), também conhecida como Jaborandi, é distribuída desde o México até o Brasil. Também encontrada comumente no oeste da Índia e Argentina, é usado para aliviar dores, agindo como antiinflamatório, hipotensor e na diminuição do suor (Achenbach et al., 1986; Parmar et al., 1997).

Os resultados de um estudo realizado em ratos sugerem que *P. amalago* age no sistema nervoso e é capaz de causar um efeito ansiogênico nas doses de 250 e 420 mg/kg (Lopes et al., 2012).

Metabólitos como amidas piperina e sesquiterpenos foram identificados nas raízes da planta (Achenbach et al., 1986; Domínguez et al., 1985). Sendo relativamente compostos apolares, a sua presença também no extrato clorofórmico das folhas e um possível papel na sua atividade antiinflamatória. Em extrato metanólico das raízes de *P. amalago*, através de cromatografia gasosa e espectroscopia de massa, foi detectado a presença de 36 amidas, com predominância de pirrolididas e isobutilamidas. O constituinte majoritário encontrado foi 5-

metilenodioxi-trans-xinamol ácido cinâmico pirrolidida e sua correspondente isobutilamida (Achenbach *et al.*, 1986).

Estudo realizado no cerrado de Brasília caracterizou diversos compostos do gênero *Piper*, no qual no *P. amalago*, foi extraído o composto  $\alpha$ -pinene, um constituinte comum em óleos essenciais, utilizado em inseticidas, solventes e bases de perfumes, e também borneol, usado na indústria de perfumes e fabricação de incenso (Potzernheim *et al.*, 2006; Windholz, 1983). Além desse compostos identificados, existem relatos de isolamento de amidas de ácidos arilalquenóicos insaturados das raízes de *P. amalago* var. *nigrinodum* C. DC (Achenbach *et al.*, 1986; Domínguez *et al.*, 1985). Também, foi isolado e caracterizado duas amidas piperidínicas ou pirrolidínicas e a atividade antibacteriana de extratos das folhas de *P. amalago* (Bonfim *et al.*, 2008).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito diurético, potencial antilitiásico e toxicidade aguda das espécies de *P. aduncum* e *P. amalago*.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Identificar qualitativamente a composição fitoquímica da espécie de *P. amalago*
- Avaliar a toxicidade aguda do extrato etanólico das espécies de *P. aduncum* e *P. amalago* através da administração de uma dose oral única de 2000 mg/kg em ratas Wistar.
- Avaliar o efeito diurético agudo do extrato etanólico das espécies de *P. aduncum* e *P. amalago* em ratos Wistar.
- Avaliar o efeito natriurético do extrato etanólico das espécies de *P. aduncum* e *P. amalago* em ratos Wistar.
- Avaliar o efeito antilitiásico do extrato etanólico das espécies de *P. aduncum* e *P. amalago* em cristalização *in vitro*.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achenbach, H., Fietz, W., Worth, J., Waibel, R., Portecop, J., 1986. Constituents of Tropical Medicinal Plants, IXX1 GC/MS-Investigations of the constituents of *Piper amalago* - 30 new amides of the niperine-type. *Planta Medica* 52, 12-18.
- Agra, M.F., Freitas, P.F., Barbosa-Filho, J.M., 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17, 114-140.
- Albiero, A.L.M., Paoli, A.A.S., Souza, L.A., Mourão, K.S.M., 2005. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* H.B. & K. (Piperaceae). *Acta Botanica Brazilica* 19, 305-312.
- Allie-Hamdulay, S., Rodgers, A.L., 2005. Prophylactic and therapeutic properties of a sodium citrate preparation in the management of calcium oxalate urolithiasis: randomized, placebo-controlled trial. *Urological Research* 33, 116-124.
- Alves, E.O., Mota, J.H., Soares, T.S., Vieira, M.C., Silva, C.B., 2008. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. *Ciência e Agrotecnologia* 32, 651-658.
- Anderson, W., 1982. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. *Brittonia* 34, 268-270.
- Atmani, F., Khan, S.R., 2000. Effects of an extract from *Herniaria hirsuta* on calcium oxalate crystallization *in vitro*. *BJU International* 85, 621-625.
- Barros, M.E., Lima, R., Mercuri, L.P., Matos, J.R., Schor, N., Boim, M.A., 2006. Effect of extract of *Phyllanthus niruri* on crystal deposition in experimental urolithiasis. *Urological Research* 34, 351-357.
- Barros, M.E., Schor, N., Boim, M.A., 2003. Effects of an aqueous extract from *Phyllanthus niruri* on calcium oxalate crystallization *in vitro*. *Urological Research* 30, 374-379.
- Bastos, C.N., Albuquerque, P.S.B., 2004. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira* 29, 555-557.
- Berman, L.B., 1969. Physiology of the Kidney and Body Fluids. *Arch Intern Med* 123, 104-b-105.

- Beyenbach, K.W., 2004. Kidneys sans glomeruli. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 286, F811-F827.
- Bezerra, D.P., Militão, G.C.G., de Castro, F.O., Pessoa, C., de Moraes, M.O., Silveira, E.R., Lima, M.A.S., Elmiro, F.J.M., Costa-Lotufo, L.V., 2007. Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. *Toxicology in Vitro* 21, 1-8.
- Bittencourt, S.C., Caponi, S., Falkenberg, M.d.B., 2002. O uso das plantas medicinais sob prescrição médica: pontos de diálogo e controvérsias com o uso popular. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 12, 89-91.
- Bonfim, N.M., Coelho, R.M., Mortati, M.G.G., Brito, L.P., Macedo, C.M., Sarragiotto, M.H., 2008. Atividade antibacteriana e amidas piperídínicas isoladas das folhas de *Piper amalago*, XVI Encontro de química da região Sul (16-SBQSul). , Blumenau. Brasil, 2003. Farmacopéia brasileira: parte II; quarto fascículo. Atheneu, São Paulo.
- Brasil, 2012. Informações da Saúde, in: SUS, S.d.I.H.d. (Ed.). Ministério da Saúde, Brasília.
- Brater, D.C., 1991. Clinical pharmacology of loop diuretics. *Drugs* 41 Suppl 3, 14-22.
- Brener, Z.Z., Winchester, J.F., Salman, H., Bergman, M., 2011. Nephrolithiasis: Evaluation and Management. *Southern Medical Journal* 104, 133-139  
110.1097/SMJ.1090b1013e318206f318206bd.
- Briggs, J.P., Schnermann, J., Wright, F.S., 1980. Failure of tubule fluid osmolarity to affect feedback regulation of glomerular filtration. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 239, F427-F432.
- Bueno, N.R., Castilho, R.O., Costa, R.B., Pott, A., Pott, V.J., Scheidt, G.N., Batista, M.S., 2005. Medicinal plants used by the Kaiowá and Guarani indigenous populations in the Caarapó Reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 19, 39-44.
- Burger, W.C., 1971. Piperaceae. *Fieldiana: Botany* 35, 79–96.
- Caballero, N.J., 1983. Perspectivas para el que hacer etnobotánico en México, in: Barrera, A. (Ed.), *La etnobotánica: tres puntos de vista y una perspectiva*. INIREB, Xalapa.
- Cáceres, A., Menéndez, H., Méndez, E., Cohobón, E., Samayoa, B.E., Jauregui, E., Peralta, E., Carrillo, G., 1995. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 48, 85-88.

- Calle-Alvarez, J., 1983. Contribución al estudio de algunas especies de la familia Piperaceae. *Revista Colombiana de Química e Farmácia* 4, 47-57.
- Campos, A.H., Schor, N., 1999. *Phyllanthus niruri* inhibits calcium oxalate endocytosis by renal tubular cells: its role in urolithiasis. *Nephron* 81, 393-397.
- Carter, B.L., 2012. Guidelines for Use of Diuretics: A View From a Member of JNC 7. *The Journal of Clinical Hypertension* 14, 273-276.
- Cervoni, P., Chan, P.S., 2000. Diuretic Agents, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons, Inc.
- Coe, F., Evan, A., Worcester, E., 2011. Pathophysiology-based treatment of idiopathic calcium kidney stones. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN* 6, 2083-2092.
- Coimbra, R., 1994. *Manual de fitoterapia*, 2 ed. CEJUP, Belém.
- Danelutte, A.P., Constantin, M.B., Delgado, G.E., Braz-Filho, R., Kato, M.J.I., 2005. Divergence of Secondary Metabolism Cultures and Differentiated Plants of *Piper cernuum* and *P. crassinervium*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16, 1425-1430.
- Domínguez, X.A., Verde, J.S., Sucar, S., Treviño, R., 1985. Two amides from *Piper amalago*. *Phytochemistry* 25, 239-240.
- Dyckner, T., Wester, P.-O., 1986. POTASSIUM-SPARING DIURETICS. *Acta Medica Scandinavica* 219, 79-83.
- Dyer, R., Nordin, B.E.C., 1967. Urinary Crystals and their Relation to Stone Formation. *Nature* 215, 751-752.
- Eisenberg, D.M., Davis, R.B., Ettner, S.L., Appel, S., Wilkey, S., Van Rompay, M., Kessler, R.C., 1998. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. *Jama* 280, 1569-1575.
- Elisabetsky, E., 2003. Etnofarmacologia. *Ciência e Cultura* 55, 35-36.
- Elisabetsky, E., Setzer, R., 1987. Caboclo concepts of disease, diagnosis, and therapy: implications for ethnofarmacology and health systems in Amazonia., in: Parker, E.P. (Ed.), *The amazon caboclo: historical and contemporary perspectives*. Williamsborg: *Studies on Third World Societies*, pp. 243-278.
- Elliot, J.S., Rabinowitz, I.N., 1980. Calcium oxalate crystalluria: crystal size in urine. *The Journal of Urology* 123, 324-327.

- Estrela, J.L.V., Fazolin, M., Catani, V., Alécio, M.R., Lima, M.S., 2006. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 41, 217-222.
- Fazolin, M., Estrela, J.L.V., Catani, V., Lima, M.C., Alécio, M.R., 2005. Toxicidade do Óleo de *Piper aduncum* L. a Adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). Neotropical Entomology 34, 485-489.
- Fernández-Rodríguez, A., Arrabal-Martín, M., García-Ruiz, M.J., Arrabal-Polo, M.A., Pichardo-Pichardo, S., Zuluaga-Gómez, A., 2006 The role of thiazides in the prophylaxis of recurrent calcium lithiasis. Actas Urológicas Españolas 30, 305-309.
- Fonseca-Kruel, V.S., Peixoto, A.L., 2004. Etnobotânica na reserva extrativista marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. , Porto Alegre, v. 18, n. 1, p. 177-190, 2004. Acta Botanica Brasílica 18, 177-190.
- Freitas, A.M., Schor, N., Boim, M.A., 2002. The effect of *Phyllanthus niruri* on urinary inhibitors of calcium oxalate crystallization and other factors associated with renal stone formation. British Journal of Urology International 89, 829-834.
- Gambaro, G., Reis-Santos, J.M., Rao, N., 2004. Nephrolithiasis: why doesn't our "learning" progress? European Urology 45, 547-556; discussion 556.
- Gibbs, R.D., 1974. Chemotaxonomy of flowering plants, 4th ed. McGill-Queen's University Press, Montreal.
- Grases, F., Ramis, M., Costa-Bauza, A., March, J.G., 1995. Effect of *Herniaria hirsuta* and *Agropyron repens* on calcium oxalate urolithiasis risk in rats. Journal of Ethnopharmacology 45, 211-214.
- Guerrini, A., Sacchetti, G., Rossi, D., Paganetto, G., Muzzoli, M., Andreotti, E., Tognolini, M., Maldonado, M.E., Bruni, R., 2009. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz; Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. Environmental Toxicology and Pharmacology 27, 39-48.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2006. Tratado de Fisiologia Médica. Elsevier, Rio de Janeiro.
- Hall, J.E., Granger, J.P., 1986. Adenosine alters glomerular filtration control by angiotensin II. American Journal of Physiology - Renal Physiology 250, F917-F923.
- Hamamoto, S., Taguchi, K., Fujii, Y., 2011. Molecular mechanism of renal stone formation. Clinical Calcium 21, 1481-1487.
- Kentaro, K., Sadayoshi, I., 2000. Renal Circulation. Regulation of glomerular hemodynamics. Cardioangiology 47, 35-40.

- Kloucek, P., Polesny, Z., Svobodova, B., Vlkova, E., Kokoska, L., 2005. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 309-312.
- Kurtz, A., 2012. Control of Renin Synthesis and Secretion. *Am J Hypertens*.
- Laranja, S.M., Bergamaschi, C.M., Schor, N., 1991. Evaluation of acute administration of natural products with potential diuretic effects, in humans. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 86, 237-240.
- Laranja, S.M., Bergamaschi, C.M., Schor, N., 1992. Evaluation of three plants with potential diuretic effect. *Revista da Associação Médica Brasileira* 38, 13-16.
- Lentz, D.L., Clark, A.M., Hufford, C.D., Meurer-Grimes, B., Passreiter, C.M., Cordero, J., Ibrahimi, O., Okunade, A.L., 1998. Antimicrobial properties of Honduran medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 63, 253-263.
- Lopes, J.J., Marx, C., Ingrassia, R., Picada, J.N., Pereira, P., Ferraz, A.B.F., 2012. Neurobehavioral and toxicological activities of two potentially CNS-acting medicinal plants of *Piper genus*. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64, 9-14.
- Lorenzi, H., Matos, F.J.A., 2002. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, São Paulo.
- Macedo, J.C.B., Oviedo, S.G., 1987. El aceite esencial de *Piper aduncum* L. . *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* 53, 228-233.
- Maia, J.G.S., Zohhbi, M.D.G.B., Andrade, E.H.A., Santos, A.S., da Silva, M.H.L., Luz, A.I.R., Bastos, C.N., 1998. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour and Fragrance Journal* 13, 269-272.
- Maloney, M.E., Springhart, W.P., Ekeruo, W.O., Young, M.D., Enemchukwu, C.U., Preminger, G.M., 2005. ETHNIC BACKGROUND HAS MINIMAL IMPACT ON THE ETIOLOGY OF NEPHROLITHIASIS. *The Journal of urology* 173, 2001-2004.
- Marques, M.B., 2000. Patentes farmacêuticas e acessibilidade aos medicamentos no Brasil. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos* 7, 07-21.
- Mello, J.F., 1980. Plants in traditional medicine in Brazil. *J Ethnopharmacol* 2, 49.
- Ming, L.C., 1995. Levantamento de plantas medicinais na reserva extrativista "Chico Mendes" - Acre. Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, p. 180.
- Moe, O.W., 2006. Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet* 367, 333-344.



- Moe, O.W., Pearle, M.S., Sakhaee, K., 2011. Pharmacotherapy of urolithiasis: evidence from clinical trials. *Kidney Int* 79, 385-392.
- Nair, M.G., Burke, B.A., 1990. Antimicrobial Piper metabolite and related compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 38, 1093-1096.
- Nancollas, G.H., Smesko, S.A., Campbell, A.A., Richardoson, C.F., Johnsson, M., Iadicco, R.A., Binette, J.P., Binette, M., 1991. Physical chemical studies of calcium oxalate crystallization. *America Journal of Kidney Diseases* 17, 392-395.
- Narayanan, A.S., Raja, S.S.S., Ponmurugan, K., Kandekar, S.C., Natarajaseenivasan, K., Maripandi, A., Mandeel, Q.A., 2011. Antibacterial activity of selected medicinal plants against multiple antibiotic resistant uropathogens: a study from Kolli Hills, Tamil Nadu, India *Beneficial Microbes* 2, 235-243.
- Navickiene, H.M.D., Morandim, A.A., Alécio, A.C., Regasini, L.O., Bergamo, D.C.B., Telascrea, M., Cavalheiro, A.J., Lopes, M.N., Bolzani, V.S., Furlan, M., 2006. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Quim. Nova* 29, 467-470.
- Nick, A., Rali, T., Sticher, O., 1995. Biological screening of traditional medicinal plants from Papua New Guinea. *Journal of Ethnopharmacology* 49, 147-156.
- Nishiura, J.L., Campos, A.H., Boim, M.A., Heilberg, I.P., Schor, N., 2004. *Phyllanthus niruri* normalizes elevated urinary calcium levels in calcium stone forming (CSF) patients. *Urological Research* 32, 362-366.
- Okunade, A.L., Hufford, C.D., Clark, A.M., Lentz, D., 1997. Antimicrobial Properties of the Constituents of *Piper aduncum*. *Phytotherapy Research* 11, 142-144.
- Orjala, J., Erdelmeier, C.A., Wright, A.D., Rali, T., Sticher, O., 1993. Five new prenylated p-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. *Planta Medica* 59, 546-551.
- Orjala, J., Wright, A.D., Rali, T., Sticher, O., 1992. Three new prenylated benzoic acid derivatives and molluscicidal sesquiterpenoids from *Piper aduncum* leaves. *Planta Medica*, Trieste.
- Parmar, V.S., Jain, S.C., Bisht, K.S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O.D., Prasad, A.K., Wengel, J., Olsen, C.E., Boll, P.M., 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* 46, 597-673.

- Paulino, N., 1996. Análise farmacológica de extrato hidroalcoólico do *Phyllanthus niruri* e de alguns de seus constituintes sobre traquéia isolada de cobaia, Departamento de Medicina - Nefrologia. Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, p. 114.
- Pingle, S.C., Mishra, S., Marcuzzi, A., Bhat, S.G., Sekino, Y., Rybak, L.P., Ramkumar, V., 2004. Osmotic Diuretics Induce Adenosine A1 Receptor Expression and Protect Renal Proximal Tubular Epithelial Cells against Cisplatin-mediated Apoptosis. *Journal of Biological Chemistry* 279, 43157-43167.
- Potzernehim, M.C.L., Bizzo, H.R., Vieira, R.F., 2006. Análise dos óleos essenciais de três espécies de Piper coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16.
- Ramos, J.B., 2005. Plantas medicinais brasileiras e biopirataria: nossas riquezas em risco, 35th ed. Boletim Aqualung, São Paulo.
- Rang, H.P., Dale, M.M., 2007. Farmacologia. Elsevier, Rio de Janeiro.
- Rates, S.M.K., 2001. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 11, 57-69.
- Robertson, W.G., Peacock, M., Heybum, P.J., Hanes, F.A., 1980. Epidemiological risk factors in calcium stone disease. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology* 53, 15-30.
- Rodrigues, V.E.G., 1998. Levantamento florístico e etnobotânico de plantas medicinais dos cerrados na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais., Engenharia Florestal. Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 235.
- Romero, V., Akpınar, H., Assimos, D.G., 2010. Kidney Stones: A global picture of prevalence, incidence, and associated risk factors. *Reviews in urology* 12, 86-96.
- Rose, B.D., 1991. Diuretics. *Kidney Int* 39, 336-352.
- Rule, A.D., Roger, V.L., Melton, L.J., Bergstralh, E.J., Li, X., Peyser, P.A., Krambeck, A.E., Lieske, J.C., 2010. Kidney Stones Associate with Increased Risk for Myocardial Infarction. *Journal of the American Society of Nephrology* 21, 1641-1644.
- Saier, M.H., Boyden, D.A., 1984. Mechanism, regulation and physiological significance of the loop diuretic-sensitive NaCl/KCl symport system in animal cells. *Molecular and Cellular Biochemistry* 59, 11-32.

- Sakhaee, K., Maalouf, N.M., Sinnott, B., 2012. Kidney Stones 2012: Pathogenesis, Diagnosis, and Management. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97, 1847-1860.
- Salvetti, A., Ghiadoni, L., 2006. Thiazide Diuretics in the Treatment of Hypertension: An Update. *Journal of the American Society of Nephrology* 17, S25-S29.
- Sangalli, A., Vieira, M.C., 2003. Plantas medicinais utilizadas por parte da população de Dourados-MS. *Cerrados* 1, 17-20.
- Sangalli, A., Vieira, M.C., Heredia, N.A.Z., 2002. Levantamento e caracterização de plantas medicinais nativas com propriedades medicinais em fragmentos florestais e de cerrado, em Dourados-MS, numa visão etnobotânica. *Acta Horticulturae* 569, 173-184.
- Schwartz, B.F., Schenkman, N., Nguyen, R., Stoller, M.L., 2000. Gahat: a Napalese cure for urolithiasis? *Urology* 56, 912-914.
- Scott, I., Jensen, H., Philogène, B., Arnason, J., 2008. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Reviews* 7, 65-75.
- Selvam, R., Kalaiselvi, P., Govindaraj, A., Bala Murugan, V., Sathish Kumar, A.S., 2001. Effect of *A. lanata* leaf extract and Vediuppu chunnam on the urinary risk factors of calcium oxalate urolithiasis during experimental hyperoxaluria. *Pharmacol Res* 43, 89-93.
- Sengupta, S., Ray, A.B., 1987. The chemistry of *Piper* species: a review. *Fitoterapia* 58, 147-166.
- Shah, S., Khatri, I., Freis, E.D., 1978. Mechanism of antihypertensive effect of thiazide diuretics. *American Heart Journal* 95, 611-618.
- Sharma, A.P., Filler, G., 2010. Epidemiology of pediatric urolithiasis. *Indian Journal of Urology* 26, 516-522.
- Sousa, P.J.C., Barros, C.A.L., Rocha, J.C.S., Lira, D.S., Monteiro, G.M., Maia, J.G.S., 2008. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18, 217-221.
- Stoller, M.L., 2004. Urinary stone disease, in: *Urology*, S.s.G. (Ed.), In: Tanagho EA, McAninch JW, Lange Medical Books/McGraw-Hill 16th ed, San Francisco., pp. p.197-221.
- Strasinger, S.K., 1991. *Uroanálise e Fluidos Biológicos*, 2a ed, São Paulo, SP

- Straub, M., 2011. Recurrence prevention of kidney stone disease. *Der Urologe. Ausg. A.* 50, 1323-1332.
- Thomson, S.C., Blantz, R.C., 2008. Glomerulotubular Balance, Tubuloglomerular Feedback, and Salt Homeostasis. *Journal of the American Society of Nephrology* 19, 2272-2275.
- Torres-Santos, E.C., Moreira, D.L., Kaplan, M.A., Meirelles, M.N., Rossi-Bergmann, B., 1999. Selective effect of 2',6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* on *Leishmania amazonensis*. *Antimicrobial Agents Chemother* 43, 1234-1241.
- Tseng, T.Y., Preminger, G.M., 2011. Kidney stones. *Clinical Evidence* 10, 2003.
- Van den Berg, M.E., 1993. Plantas medicinais na Amazônia: Contribuição ao seu conhecimento sistemático, 2 ed. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém.
- Viel, T.A., Domingos, C.D., Monteiro, A.P.S., Lima-Landman, M.T.R., Lapa, A.J., Souccar, C., 1999. Evaluation of the antiurolithiatic of the extract of *Costus spiralis* Roscoe in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 66, 193-198.
- Wadt, L.H.O., Ehringhaus, C., Kageyama, P.Y., 2004. Genetic diversity of "Pimenta Longa" genotypes (*Piper* ssp., Piperaceae) of the Embrapa Acre germplasm collection. *Genetics and Molecular Biology* 27, 74-82.
- Wagner, C., Mohebbi, N., 2010. Urinary pH and stone formation. *Journal of Nephrology Suppl* 16, 165-169.
- WHO, 2003. World Health Organization guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants, Geneva.
- Windholz, M., 1983. The Merck Index. Merck & Co, New Jersey.
- Wright, C.I., Van-Buren, L., Kroner, C.I., Koning, M.M.G., 2007. Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. *Journal of Ethnopharmacology* 114, 1-31.
- Xu, G., Iyasere, O., Al-Jayyousi, R., 2011. Medical management of renal stone disease. *British Journal of Hospital Medicine (London, England: 2005)* 72, 504-509.
- Yasui, T., Fujita, K., Sato, M., Sugimoto, M., Iguchi, M., Nomura, S., Kohri, K., 1999. The effect of takusha, a kampo medicine, on renal stone formation and osteopontin expression in a rat urolithiasis model. *Urol Res* 27, 194-199.
- 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, *Ottonia*; *Pothomorphe*; *Sacorhachis*. *Hoehnea* 3, 71-413.

Yuncker, T.G., 1974. The Piperaceae of Brazil, III: Peperomia - taxa of uncertain status. *Hoehnea* 4, 71-413.

Zillich, A.J., Garg, J., Basu, S., Bakris, G.L., Carter, B.L., 2006. Thiazide Diuretics, Potassium, and the Development of Diabetes. *Hypertension* 48, 219-224.