

Potencial Inseticida do Óleo Essencial de *Piper fuliginum* Kunth (Piperaceae) Contra o Besouro Vermelho da Farinha *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Insecticide Potential of the Essential Oil of Piper fuliginum Kunth (Piperaceae) Against the Red Flour Beetle Tribolium castaneum (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Taynara Ellen S. Vieira,^a Camila A. Romano,^{a,c} Anna Luiza S. Carvalho,^a Andressa T. S. Paz,^a Jerônimo R. de Oliveira Neto,^b Luiz C. da Cunha,^b Adelair H. dos Santos,^c José R. de Paula^{a,*}

^a Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN), CEP 74605-170, Goiânia-GO, Brasil

^b Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (NEPET), CEP 74605-170, Goiânia-GO, Brasil

^c Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos (LBFI), CEP 74605-050, Goiânia-GO, Brasil

*E-mail: jose_realino@ufg.br

Submissão: 8 de Abril de 2024

Aceite: 12 de Dezembro de 2024

Publicado online: 7 de Janeiro de 2025

Piper fuliginum is a species that occurs in the Cerrado biome, which has few studies in the literature, two of which are associated with ovicidal activity on agricultural pests. The objective of this research was to characterize the essential oil of the branches, leaves and fruits of *P. fuliginum* and to investigate the insecticidal potential of the essential oil of the fruits against *Tribolium castaneum*, the red flour beetle. Furthermore, a hemolytic activity assay was carried out as an indicator of toxicity towards mammalian cells. The essential oils had a very variable chemical composition and the presence of eupatoriochromene, a substance already reported as an insecticide. The highest yield oil was observed for the essential oil of the fruits and, therefore, was used in the tests with *T. castaneum*. It was possible to observe contact and deterrent toxic effects on *T. castaneum* adults. No cytotoxic effect on erythrocytic cells was observed. These results show that *P. fuliginum* essential oil is a promising product for research into new insecticides.

Keywords: Bioinsecticides; eupatoriochromene; pest control; red beetle.

1. Introdução

Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae), ou besouro vermelho da farinha como é conhecido, é uma praga secundária que afeta grãos armazenados trazendo grandes perdas para a produção de todo o mundo.¹ Os insetos podem danificar os grãos tanto por se alimentarem deles como por contaminá-los, podendo também reduzir sua viabilidade de germinação e liberar substâncias que acarretam danos à saúde humana.² Esse inseto é responsável por danos à produção agrícola e prejuízos econômicos, chegando a atingir cerca de 10% das perdas mundiais.^{1,3} Os inseticidas sintéticos vêm sendo utilizados, porém, eles possuem diversas desvantagens, como: poluição do meio ambiente, toxicidade a organismos não alvo, seleção de população resistente e ainda podem trazer riscos à saúde humana.¹ Uma alternativa menos danosa com estudos crescentes para eliminação de pragas é o uso de óleos essenciais, metabólitos secundários produzidos por plantas aromáticas. Os óleos essenciais são misturas complexas com efeitos sinérgicos entre seus compostos, capazes de atuar como inseticidas conforme demonstrado por diversos estudos, tendo potencial para exercer atividade fumigante, antialimentar, repelente e inseticida de contato.^{4,5}

O Cerrado brasileiro localiza-se, majoritariamente, no planalto central, ocupando 22% do território do país.^{6,7} Há predomínio de latossolo, com clima tropical úmido onde as estações chuvosa e de seca são bem definidas. No bioma é possível observar diferentes fitofisionomias, tais como campo limpo e sujo, cerrado *strictu sensu*, cerradão, mata de galeria e campo rupestre, além de ecótonos. A variedade ecossistêmica, especialmente relacionada a diversidade de plantas, coloca o Cerrado entre os 25 *hotspots* de biodiversidade.^{8,9} Toda essa diversidade possibilita vários achados científicos, como moléculas bioativas e produtos industrialmente aproveitáveis.¹⁰ Dada a ocupação territorial para urbanização e fins econômicos, restam apenas 54% de vegetação nativa,^{6,7} das quais aproximadamente 13% estão em áreas de proteção ambiental.¹¹ A falta de conhecimento científico associada à biodiversidade dificulta uma avaliação mais apropriada do grau de ameaça relativa à perda de espécies e seu impacto no

bioma.¹² A biodiversidade do Cerrado é provedora de muitos serviços ecossistêmicos.⁹ Da flora é possível obter matéria-prima para diversas finalidades, dentre as quais, a pesquisa de substâncias bioativas para controle de diferentes tipos de pragas. Essa pesquisa cresce anualmente por ser uma alternativa menos danosa ao meio ambiente, seres humanos e organismos não alvo.¹

Piper fuliginum é um arbusto com distribuição no bioma Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica.¹³ Em regiões de Cerrado, a espécie predomina em terrenos com solo encharcado. Suas folhas tem como característica principal a assimetria nas bases. O arbusto também apresenta abundância de inflorescências tipo espiga eretas.¹⁴ A literatura apresenta poucos estudos associados a essa espécie. Apenas dois estudos elucidaram a presença de kavalactonas,^{13,15} as quais foram responsáveis pela atividade antiviral contra o vírus da hepatite C.¹⁵ O conhecimento restrito acerca de *P. fuliginum* e os registros iniciais de substâncias bioativas, além das outras descobertas associadas às plantas do gênero, tornam *P. fuliginum* uma planta promissora para a elucidação de substâncias bioativas.

Considerando o potencial bioativo das plantas do gênero *Piper*, especialmente voltado para o controle de insetos, essa pesquisa teve por objetivo investigar a atividade inseticida de óleos essenciais provenientes de *P. fuliginum* obtidas em região de Cerrado. Espera-se com este estudo, levantar dados que sejam favoráveis para o desenvolvimento de produtos com potencial inseticida para controle de *T. castaneum*, com baixo impacto ambiental, bem como para aumentar o conhecimento científico sobre espécies vegetais úteis do bioma Cerrado, contribuindo para a preservação das mesmas.

2. Materiais e Métodos

2.1. Obtenção do material vegetal

Amostras de *P. fuliginum* foram coletadas na zona rural de Hidrolândia, Goiás, Brasil (16°54'01,0" S e 49°15'32,5" O, 787 m) no mês de maio de 2021, durante a manhã. A exsiccata foi depositada no Herbário da Unidade de Conservação da Universidade Federal de Goiás, número 72204. No laboratório, o material vegetal foi lavado em água corrente e na sequência foi desidratado sob circulação de ar à 37 °C por 48 horas. Posteriormente, ramos, folhas e frutos foram, separadamente, triturados em moinho analítico¹⁶ e submetidos ao processo extrativo imediatamente.

2.2. Obtenção e caracterização química do óleo essencial das diferentes partes de *P. fuliginum*

Os materiais vegetais provenientes de ramos (50 g), folhas (100 g) e frutos (20 g) de *P. fuliginum* foram submetidos a hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, por duas horas, para obtenção do óleo essencial. Os óleos

obtidos foram dessecados com sulfato de sódio anidro e armazenados em frascos âmbar hermeticamente fechados a -22 °C, até a realização das análises cromatográficas e bioensaios subsequentes.¹⁶

A composição química dos óleos essenciais de *P. fuliginum* foi analisada por cromatografia em fase gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) em aparelho Shimadzu GC- MS QP2010A, com coluna de capilar DB-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 m) e rampa de programada no seguinte modo: 60-240 °C a 3 °C/min e 280 °C a 10 °C/min. Foi utilizado hélio como gás transportador ao fluxo de 1 mL/min e o modo dividido à proporção de 1:20. A porta de injeção foi ajustada a 225 °C. Parâmetros operacionais do espectrômetro de massas: temperatura da interface 240 °C; ionização por impacto de elétrons a 70 eV com faixa de varredura de 40-350 *m/z* a uma taxa de amostragem de 1 varredura/s. Os componentes químicos do óleo essencial foram identificados por comparação dos espectros de massas e índices de retenção com os relatados na literatura para os componentes mais comuns de óleos essenciais.¹⁷ Os índices de retenção foram calculados através da coinjeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C₉-C₂₈, e utilização da equação de Van Den Dool & Kratz.^{17,18} A identificação das substâncias foi realizada pela comparação dos espectros de massas obtidos com os previamente relatados na literatura.

2.3. Bioensaios com *T. castaneum*

Exemplares adultos de *T. castaneum* foram obtidos da colônia mantida no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos, onde são mantidos em câmara biológica climatizada com temperatura de 28 °C ± 1 °C, umidade relativa de 85% ± 5% e sem iluminação. Os insetos foram cultivados em mistura de farinha de trigo e milho triturado à proporção de 10:1 (p/p). Em cada teste foram utilizados adultos de 1-2 semanas de idade.¹⁹

2.3.1. Potencial aduicida

A atividade aduicida do óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum* foi avaliada por toxicidade de contato, conforme descrito por Huang e Ho¹⁹ com ligeiras adaptações. O óleo essencial foi diluído em acetona nas concentrações de 500 a 5 µg mL⁻¹. Em cada bioensaio, 25 µL de solução foram dispensados em discos de papel Whatman com 25 mm de diâmetro acondicionados em frascos de vidro. Após evaporação do solvente (10 min), dez insetos foram colocados sobre o papel e mantidos por 24 horas. Como controle foram utilizados discos umedecidos apenas com solvente. Cada ensaio foi realizado com cinco repetições por concentração. A mortalidade foi confirmada por ausência dos movimentos antenais e das patas.²⁰ As concentrações letais para 50 e 90% foram calculadas por Probit,²¹ no software Statistica 12.0.

2.3.2. Potencial deterrente

A deterrência é o efeito ou mecanismo ou substância

que afasta predadores ou parasitas e foi investigada a partir do percentual de eficiência na alimentação de *T. castaneum*, segundo procedimento estabelecido por Awadalla *et al.*²² Nessa avaliação, alíquotas do óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum* foram diluídas em acetona, para produção de soluções de 0,1% a 2%. Em cada teste foram incorporados 1 mL de solução teste em porções de 3,0 g de farelo de milho. O alimento foi colocado em frascos com capacidade para 80 mL, abertos e em condições ambiente por 20 min para evaporar o solvente. Posteriormente, dez exemplares de *T. castaneum* foram transferidos para o frasco e expostos por 72 horas. Após a exposição, os insetos foram retirados dos frascos e possíveis mortes foram contabilizadas. A massa final do alimento foi aferida e a perda em peso de grão foi estimada em relação a massa inicial.

2.4. Atividade hemolítica

Para observar possível toxicidade do óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum* sobre organismos não-alvo foi realizado teste de potencial hemolítico. Nessa avaliação foi utilizada a técnica descrita por Yoshida *et al.*²³ – com ligeiras modificações – onde eritrócitos de carneiro obtidos comercialmente (EbeFarma®, Rio de Janeiro, Brasil) foram lavados por três vezes em tampão PBS pH 7,4 e centrifugado a 2.500 rpm a 21 °C por 10 min. Uma alíquota do óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum* foi solubilizada em Tween 80 e tampão PBS pH 7,4 para produção de uma solução a 2048 µg mL⁻¹. O concentrado de hemácias foi diluído a 1% no mesmo tampão e incubado com a solução do óleo essencial em diluição seriada de 2048 a 32 µg mL⁻¹, por 60 min. Como controle negativo foi utilizada solução de tensoativo e tampão. Providenciou-se solução de Triton X-100 a 10% como controle positivo. Após o período de exposição, as amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm a 21 °C por 10 min. O sobrenadante foi coletado e avaliado por espectrofotometria, em leitor de microplacas, no comprimento de onda de 540 nm. O percentual de hemólise foi estabelecido a partir da equação: $H\% = (Aa - Ac) * 100 / (Ac - Ap)$, onde: Aa = absorvância da amostra, Ac = absorvância do controle negativo e Ap = absorvância do controle positivo. A variação entre as taxas de hemólise dos tratamentos foi avaliada por teste F ($\alpha=0,05$).

3. Resultados e Discussão

3.1. Composição química dos óleos essenciais das partes de *P. fuliginum*

A hidrodestilação de *P. fuliginum* mostrou maior rendimento para amostras de frutos (2,08%), ramos (0,55%) e folhas (0,36%), respectivamente. A literatura não apresenta informações sobre a eficiência ou o rendimento do processo de extração para essa espécie. Estudos anteriores com

diferentes espécies do gênero *Piper* mostraram rendimento de 0,14% para folhas e caules de *P. gorgonillense*,²⁴ 0,64% para folhas de *P. marginatum*,²⁵ 0,25% para *P. divaricatum*, 0,52-0,58% para *P. dilatatum*, *P. hispidum* e *P. sanctifelicis*.²⁶ Para os frutos de *P. nigrum*, o rendimento foi de 1,86%.²⁷ Para amostras de *Piper*, o processo de extração do óleo essencial parece variar significativamente no rendimento. Oliveira *et al.*²⁸ observaram rendimento de 3,03% para folhas de *P. divaricatum* por hidrodestilação convencional, e 7,15% por CO₂ supercrítico. Valores menores de rendimento foram obtidos na extração por decantação com amostras de *P. divaricatum* (0,14%).²⁴ O óleo essencial de *P. fuliginum* mostrou composição química com maior diversidade e predomínio de hidrocarbonetos sesquiterpênicos para óleo obtido dos galhos e monoterpenos para amostras de folhas e frutos (Tabela 1). Para galhos, os componentes majoritários foram himacaleno (13,9%), α -selineno (13,3%) e β -cariofileno. No óleo essencial obtido das folhas, foi possível observar predomínio de β -pineno (18,3%), *E*-nerolidol (13,7%) e eupatoriochromeno (13,5%). Já para os frutos, os componentes predominantes foram α -felandreno (38,6%), limoneno (10,4%) e eupatoriochromeno (8,0%).

Plantas do gênero *Piper* tem composição química muito variável. Os óleos essenciais provenientes de ramos, folhas e frutos de *P. fuliginum* mostram um perfil químico próximo ao encontrado para *P. sanctifelicis*, especialmente pela presença abundante do limoneno, β -pineno e nerolidol,²⁶ a exceção de δ -3-careno, não detectado em *P. fuliginum*. Isômeros de cariofileno são aparentemente comuns entre óleos essenciais de *Piper*, com proporção entre 3 e 8% para as espécies *P. dilatatum*, *P. divaricatum* e *P. betle*.^{26,29} Em *P. fuliginum* não foi constatada a presença do safrol, eugenol, apiol ou dilapiol. Essas substâncias costumam ocorrer em óleos essenciais de *Piper* em proporções predominantes.²⁷⁻³⁰ Limoneno e β -pineno presentes no óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum*, também foram observados em amostras provenientes dos frutos frescos de *P. nigrum*, porém em maiores concentrações.³¹ Aparentemente os monoterpenos aparecem em maior proporção nas amostras de *P. aduncum* extraídas a fresco, enquanto a presença de eupatoriochromeno é maior em amostras submetidas a secagem prévia.¹⁶

3.2. Potencial inseticida contra *T. castaneum*

Devido ao melhor rendimento obtido na extração, o óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum* foi testado com finalidade inseticida contra *T. castaneum*, sendo observado efeito letal promissor. As concentrações letais CL₅₀ e CL₉₀ estimadas foram 56,4 µg mL⁻¹ com intervalo de confiança (IC) de $\pm 1,7$ µg mL⁻¹, e 64,7 µg mL⁻¹ (IC: $\pm 2,9$ µg mL⁻¹), respectivamente. Foi possível verificar, através desses resultados, que a atividade de *P. fuliginum* foi bastante promissora, pois de acordo com estudo realizado por Jaramillo-Colorado *et al.*²⁴ com óleo essencial de *P. gorgonillense* sobre *T. castaneum* foi obtida CL₅₀

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais obtidos por hidrodestilação dos ramos, folhas e frutos de *Piper fuligineum*

Substância	IK ¹	IK ²	Área (%)			Substância	IK ¹	IK ²	Área (%)		
			Ramos	Folhas	Frutos				Ramos	Folhas	Frutos
α -thujeno ^a	911	930	-	-	0,54	ishwarano ^a	1453	1466	5,35	-	6,58
α -pineno ^a	919	939	1,07	7,39	3,36	β -chamigreno ^a	1468	1477	3,44	-	-
α -fencheno ^a	934	952	-	-	1,05	γ -muuroleno ^a	1473	1479	8,71	2,32	-
canfeno ^a	934	954	0,74	0,4	-	himacaleno ^a	1478	1482	13,9	-	-
6-metil-heptan-2-ol ^a	939	965	0,3	0,29	0,37	<i>trans</i> -muurola-4(14),5-dieno ^a	1473	1493	-	-	0,72
β -pineno ^a	965	979	2,67	18,38	5,69	α -selineno ^a	1487	1498	13,31	-	1,72
mirreno ^a	981	990	-	-	0,89	α -muuroleno ^a	1493	1500	2,43	0,85	0,62
α -felandreno ^a	999	1002	2,7	-	38,63	β -bisaboleno ^a	1503	1505	0,49	0,6	-
ρ -cimeneno ^a	1017	1024	-	-	2,53	δ -amorfeneno ^a	1516	1512	0,71	0,68	0,98
limoneno ^a	1021	1029	1,08	1,44	10,43	δ -cadineno ^a	1516	1523	3,64	-	-
Z, β -ocimeno ^a	1040	1037	0,63	-	0,55	Z, β -bisaboleno ^a	1526	1515	1,4	1,54	0,92
E, β -ocimeno ^a	1040	1050	2,89	-	-	E-nerolidol ^a	1559	1563	1,69	13,71	-
terpinoleno ^a	1082	1088	0,42	-	-	óxido de cariofileno ^a	1573	1583	-	5,77	-
endo-fenchol ^a	1108	1116	-	0,47	-	γ -eudesmol ^a	1645	1632	7,27	-	-
deidro-sabina-cetona ^a	1120	1120	-	-	0,38	cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol ^a	1626	1640	-	0,75	-
isoborneol ^a	1159	1160	-	0,9	0,48	epi- α -bisaboleno ^a	1676	1684	-	1,62	-
α -terpineol ^a	1184	1188	-	2,39	-	eupatoriocromeno ^a	1759	1762	5,53	13,53	8,06
acetate de terpinen-4-ol ^a	1280	1299	-	0,48	-	Monoterpenos			12,5	28,27	64,04
α -ylangeno ^a	1369	1369	0,75	-	-	Monoterpenos oxigenados			-	4,24	0,86
β -cariofileno ^a	1411	1419	11,19	10,82	3,07	Sesquiterpenos			69,85	24,58	20,18
β -copeno ^a	1421	1432	0,82	-	-	Sesquiterpenos oxigenados			8,96	21,85	-
<i>trans</i> - α -bergamoteno ^a	1430	1434	1,72	2,02	1,22	Fenilpropanoides			5,53	13,53	8,06
α -humuleno ^a	1445	1454	1,99	4,76	1,14	Não identificados			3,17	7,52	6,86
sesquisabineno ^a	1453	1459	-	0,99	-	Total			100	100	100

¹Índice de Kovatz calculado; ²Índice de Kovatz na literatura; ^a-Adams, 2007¹⁷.

próxima a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e no mesmo estudo o inseticida comercial Pirimifos exibiu CL_{50} próxima a 180 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em outro estudo realizado por Medrano-Ochoa *et al.*³², a CL_{50} apresentada foi de 87 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para pirimifos, 108 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o óleo essencial de *P. sanctifelicis*, e em compostos testados isoladamente a CL_{50} foi de 189 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 213 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para limoneno e α -pineno, respectivamente.

Ademais, diversos estudos mostram o potencial bioativo de *Piper* spp. sobre diferentes espécies de insetos, como atividade repelente e ovicida do óleo essencial de *P. marginatum* sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae).³³ O óleo essencial dos frutos frescos de *P. nigrum* mostrou atividade fumigante e toxicidade de contato dose dependente contra *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae).³¹ O efeito inseticida e repelente do óleo essencial de *P. gorgonillense* contra *T. castaneum* foi observado por Jaramillo-Colorado *et al.*²⁴ Em outro estudo, pó dos frutos de *P. guineense* também se mostrou inseticida e deterrente contra *T. castaneum*.³⁴ A literatura mostra alguns estudos que sugerem prováveis mecanismos envolvidos na atividade inseticida e substâncias envolvidas. Nesse sentido, Oviedo-Sarmiento *et al.*³⁵ testaram a atividade inseticida de várias plantas contra *T. castaneum*, dentre elas *P. nigrum* e

P. aduncum, as quais apresentaram atividade fumigante em concentrações relativamente baixas. Os autores observaram também a inibição de enzimas desintoxicantes glutatona S-transferase (GST) e catalase (CAT), bem como da acetilcolinesterase (AChE), efeito relacionado à presença de 1,8-cineol, limoneno e α -pineno. Rajkumar *et al.*²⁷ avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial de *P. nigrum*, sobre *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) e *T. castaneum*, e os compostos majoritários encontrados foram β -cariofileno, 3-careno e limoneno. Eles também sugerem como mecanismo de ação a inibição da AChE, assim como Oliveira *et al.*²⁸, que relacionaram essa inibição como possível responsável pelos resultados de morte exercido pelo óleo essencial de *P. divaricatum*.

Estudos *in vitro* realizados por Muñoz Acevedo *et al.*³⁶ mostraram o potencial inibidor do óleo essencial de *P. eriopodon* sobre AChE. Suzuki e Yamoto³⁷ testaram uma piperamida isolada da *P. piscatorum* sobre o cordão nervoso de *Periplaneta americana* (Blattaria: Blattidae) e sugeriu que os efeitos excitatórios ocorrem devido a interação da substância com canais de sódio controlados por voltagem. Ramos *et al.*³⁸ relacionaram a presença de cromenos, como o eupatoriocromeno, ao efeito tóxico de *Piper*, usados como

defesa contra predadores naturais. Já Medrano-Ochoa *et al.*³² concluíram que a atividade fumigante possui correlação com a presença de terpenos, e que a repelência pode estar relacionada aos mono e sesquiterpenos. Faz-se importante ressaltar que a ação dos óleos essenciais muitas vezes não é devida apenas a presença de uma substância, mas ao efeito sinérgico que várias substâncias exercem entre si. Um exemplo dessa condição é o estudo realizado por Wu *et al.*³⁹, que compararam o efeito do óleo essencial de *P. hancei* ($CL_{50}=357 \mu\text{g mL}^{-1}$) e de algumas substâncias isoladas. No estudo, o cariofileno, por exemplo, apresentou $CL_{50} = 1487 \mu\text{g mL}^{-1}$ e o humuleno $CL_{50} = 1757 \mu\text{g mL}^{-1}$.³⁹ Assim, pode-se verificar que vários dos compostos citados acima estão presentes no óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum* e podem ser os prováveis responsáveis pela ação inseticida exercida sobre o *T. castaneum*.

3.3. Potencial deterrente

Foi possível verificar que não houve índice de mortalidade, porém o óleo essencial de *P. fuliginum* apresentou efeito de deterrência, ou seja, influenciou sobre o comportamento alimentar dos insetos, pois à medida que a concentração do óleo foi aumentando a perda de peso do alimento foi diminuindo, o que caracteriza uma relação inversamente proporcional entre essas duas variáveis, demonstrando que a ingestão de comida, pelo inseto, diminuiu (Figura 1). Assim, na maior concentração de óleo essencial testada, observou-se cerca de 70% de redução da atividade alimentar.

Esses resultados estão de acordo com a literatura que mostra o efeito antialimentar de *Piper* spp., como o do extrato de *P. nigrum*, o qual 610 μL de extrato aspergido para cada grama de alimento causou redução de 55% de atividade antialimentar das larvas de *Corcyra phalonica* (Lepidoptera: Pyralidae).⁴⁰ O efeito do óleo essencial de *P. sarmentosum* em uma concentração de 100 mg L^{-1} resultou em cerca de 50% de taxa antialimentar sobre larvas de

Brontispa longissima (Coleoptera: Chrysomelidae).⁴¹ O óleo de *P. aducum* e *P. divariatum* também exerceram atividade antialimentar sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae),⁴² e em outro trabalho, o extrato de *P. nigrum* apresentou potencial antialimentar sobre larvas de *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae).⁴³ Há também, na literatura, resultados de atividade antialimentar de outras plantas sobre insetos. O extrato bruto das cascas de *Genipa americana* (Rubiaceae) causou quase 20% de dissuasão alimentar em uma concentração de 10 mg g^{-1} sobre *T. castaneum*.⁴⁴ Já monoterpenos isolados, citronellol e geraniol, obtidos comercialmente apresentaram índice de dissuasão alimentar de 73% para a menor concentração (10 μL de solução para cada grama de alimento), sobre *T. castaneum*.⁴⁵ Pode-se concluir, dessa maneira, que o óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum* mostrou potencial bioativo interessante para a pesquisa de novos ativos para controlar pragas de grãos armazenados e subprodutos (grãos processados).

3.4. Atividade hemolítica

O teste hemolítico é uma forma de verificar a toxicidade das substâncias frente às células animais. A taxa de hemólise de uma amostra é avaliada em comparação com a observada para o controle negativo. No ensaio realizado com óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum*, o percentual de hemólise foi similar ao controle negativo ($F=4,762$ e $p=0,081$), independente da concentração testada. Amostras com percentual de hemólise superior a 49% em relação ao percentual do controle negativo são sugestivas de toxicidade (Figura 2).⁴⁶

Os óleos essenciais, ao entrarem em contato com os eritrócitos, podem alterar a fluidez na membrana celular, podendo ou não a deixar mais suscetível a saída ou entrada de líquidos. Essa condição determinará se ocorrerá ou não a lise celular. Dessa forma, a alteração da membrana celular pode gerar tanto proteção como rompimento da célula.⁴⁷⁻⁴⁹ O potencial de hemólise foi investigado com óleos essenciais

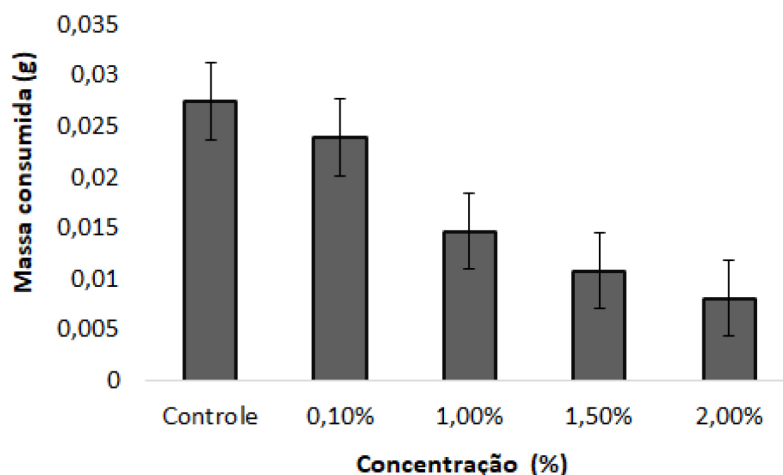


Figura 1. Percentual de redução na alimentação de *Tribolium castaneum* expresso pela relação entre a massa de alimento inicial e massa de alimento restante após 72 horas de exposição a diferentes concentrações do óleo essencial dos frutos de *Piper fuliginum*

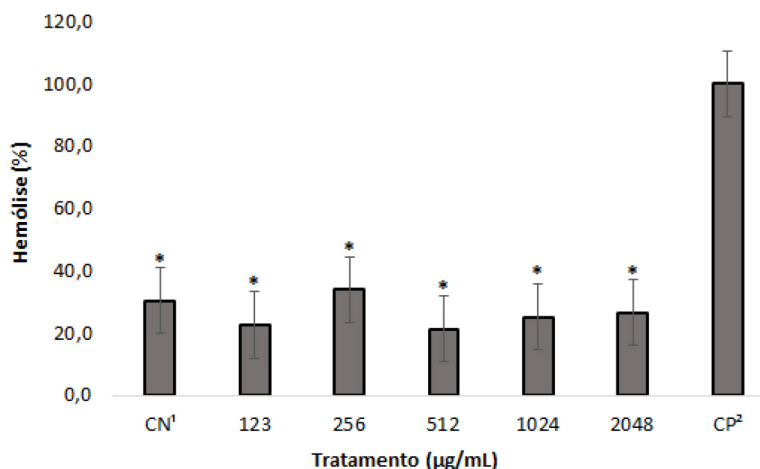


Figura 2. Potencial de hemólise do óleo essencial dos frutos de *Piper fuliginum* sobre eritrócitos de carneiro ¹ - Controle negativo; ² - Controle positivo; * - taxas estatisticamente semelhantes

de outras espécies de *Piper* spp.^{50,51}, neles foram relatados baixos percentuais, sendo consideradas não tóxicas. O mesmo foi observado para o óleo essencial dos frutos de *P. fuliginum*, investigado nesse estudo.

4. Conclusões

A composição química dos óleos essenciais de *P. fuliginum* foi investigada. Observou-se maior rendimento na extração realizada a partir dos frutos. As substâncias químicas majoritárias e comuns aos ramos, folhas e frutos foram β-cariofileno e eupatoriocromeno. O óleo dos frutos foi utilizado em testes para avaliação da atividade inseticida e deterrente sobre *T. castaneum*. Nesses ensaios, foi possível observar atividade inseticida promissora por contato e redução de 55% na atividade alimentar dos insetos. Na triagem toxicológica foi possível observar que o potencial hemolítico estatisticamente similar ao controle negativo, sugerindo que o material é atóxico. Entretanto, mais estudos devem ser realizados para investigar possíveis eventos de toxicidade sobre organismos não alvo. Este foi o primeiro estudo elucidativo da composição química das diferentes partes de *P. fuliginum*, contribuindo para ampliação do conhecimento químico e biopotencial da espécie, bem como para a pesquisa e desenvolvimento de inseticidas biodegradáveis e com menor impacto ambiental.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo apoio financeiro a essa pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Contribuições dos Autores

Taynara Ellen S. Vieira: Conceituação, Redação do rascunho original; **Camila A. Romano:** Conceituação, Pesquisa; **Anna Luiza S. Carvalho:** Pesquisa; **Andressa Tuane S. Paz:** Análise formal; **Jerônimo R. de Oliveira Neto:** Pesquisa; **Luiz C. da Cunha:** Recursos; **Adelair H. dos Santos:** Recursos; **José R. de Paula:** Administração do Projeto, Redação - revisão e edição.

Referências Bibliográficas

- Baccari, W.; Znati, M.; Zardi-Bergaoui, A.; Chaieb, I.; Flamini, G.; Ascrizzi, R.; Ben Jannet, H.; Composition and insecticide potential against *Tribolium castaneum* of the fractionated essential oil from the flowers of the Tunisian endemic plant *Ferula tunetana* Pomel ex Batt. *Industrial Crops and Products*. **2020**, *143*, 111888. [Crossref]
- Mokhtar, M. M.; L, J.; Du, Z.; Cheng, F.; Insecticidal efficacy and chemical composition of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile seed oils against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Chilean Journal of Agricultural Research* **2021**, *81*, 102. [Crossref]
- Soomro, F.; Latif, S. A.; Ahmed, W.; Study on the life cycle of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) on different cereals. *Research Square* **2023**, *1*. [Crossref]
- Boukraa, N.; Ladjel, S.; Benlamoudi, W.; Goudjil, M. B.; Berrekbia, M.; Eddoud, A.; Insecticidal and repellent activities of *Artemisia herba alba* Asso, *Juniperus phoenicea* L and *Rosmarinus officinalis* L essential oils in synergized combinations against adults of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **2022**, *45*, 102513. [Crossref]
- Naimi, I.; Zefzoufi, M.; Bouamama, H.; M'hamed, T. B.; Chemical composition and repellent effects of powders and essential oils of *Artemisia absinthium*, *Melia azedarach*,

- Trigonella foenum-graecum, and Peganum harmala on Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Industrial Crops and Products* **2022**, 182, 114817. [\[Crossref\]](#)
6. Cima, I. S.; Amaral, S.; Massi, K. G.; Mapping Cerrado remnants in an anthropized landscape in southeast Brazil. *Remote Sensing Applications: Society and Environment* **2023**, 32, 101032. [\[Crossref\]](#)
7. Moreira, R. M. P.; Aires, C. G.; Alves-Sobrinho, A. V.; Moraes, I. de S.; Moreira, C. N.; Amaral, A. V. C. do; Saturnino, K. C.; Braga, Í. A.; Pacheco, R. de C.; Ramos, D. G. de S.; Gastrointestinal parasites of wild carnivores from conservation institutions in the Cerrado of Goiás, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia. Veterinária* **2023**, 32, 1. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; da Fonseca, G. A. B.; Kent, J.; Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **2000**, 403, 853. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Schwaida, S. F.; Cicerelli, R. E.; de Almeida, T.; Sano, E. E.; Pires, C. H.; Ramos, A. P. M.; Defining priorities areas for biodiversity conservation and trading forest certificates in the Cerrado biome in Brazil. *Biodiversity and Conservation* **2023**, 32, 1807. [\[Crossref\]](#)
10. Lewis, K.; de V. Barros, F.; Cure, M. B.; Davies, C. A.; Furtado, M. N.; Hill, T. C.; Hirota, M.; Martins, D. L.; Mazzochini, G. G.; Mitchard, E. T. A.; Munhoz, C. B. R.; Oliveira, R. S.; Sampaio, A. B.; Saraiva, N. A.; Schmidt, I. B.; Rowland, L.; Mapping native and non-native vegetation in the Brazilian Cerrado using freely available satellite products. *Scientific Reports* **2022**, 12, 1588. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. De Marco, P. J.; de Souza, R. A.; F A Andrade, A.; Villén-Pérez, S.; Nóbrega, C. C.; Campello, L. M.; Caldas, M.; The value of private properties for the conservation of biodiversity in the Brazilian Cerrado. *Science* **2023**, 380, 298. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Colli, G. R.; Vieira, C. R.; Dianese, J. C.; Biodiversity and conservation of the Cerrado: recent advances and old challenges. *Biodiversity and Conservation* **2020**, 29, 1465. [\[Crossref\]](#)
13. Mazzeu, B. F.; Felipe, L. G.; Cotinguiba, F.; Kato, M. J.; Furlan, M.; Kavalactones and Benzoic Acid Derivatives from Leaves of Piper fuliginum Kunth (Piperaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2018**, 29, 1286. [\[Crossref\]](#)
14. Lourenço, J. L. M.; Carvalho-Silva, M.; Piperaceae do Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, Goiás, Brasil. *Heringeriana* **2014**, 5, 11. [\[Crossref\]](#)
15. Jardim, A. C. G.; Igloi, Z.; Shimizu, J. F.; Santos, V. A. F. F. M.; Felipe, L. G.; Mazzeu, B. F.; Amako, Y.; Furlan, M.; Harris, M.; Rahal, P.; Natural compounds isolated from Brazilian plants are potent inhibitors of hepatitis C virus replication in vitro. *Antiviral Research* **2015**, 115, 39. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Santos, T. S.; Vieira, T. E. S.; Paula, J. R. de; Oliveira Neto, J. R. de; Cunha, L. C. da; Santos, A. H. dos; Romano, C. A.; Influence of drying on the chemical composition and bioactivity of Piper aduncum (Piperaceae) essential oil against Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). *Research Society and Development* **2021**, 10, e46810817397. [\[Crossref\]](#)
17. Adams, R. P.; *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. 4a ed., Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 2007.
18. van Den Dool, H.; Dec. Kratz, P.; A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A* **1963**, 11, 463. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Huang, Y.; Ho, S. H.; Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects, Tribolium castaneum (Herbst) and Sitophilus zeamais Motsch. *Journal of Stored Products Research* **1998**, 34, 11. [\[Crossref\]](#)
20. Ben Mustapha, M.; Algethami, F. K.; Elamin, M. R.; Abdulkhair, B. Y.; Chaieb, I.; Ben Jannet, H.; Chemical Composition, Toxicity and Repellency of Inula graveolens Essential Oils from Roots and Aerial Parts against Stored-Product Beetle Tribolium castaneum (Herbst). *Chemistry & Biodiversity* **2023**, 20, e202200978. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Stefanazzi, N.; Stadler, T.; Ferrero, A.; Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored-grain pests Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae) and Sitophilus oryzae (Coleoptera: Curculionidae). *Pest Management Science* **2011**, 67, 639. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Awadalla, S.; Zayed, G.; Hashem, A.; Chemical Composition and Bioactivity of Three Plant Essential Oils against Tribolium castaneum (Herbst) and Sitophilus oryzae (L.). *Journal of Plant Protection Pathology* **2017**, 8, 535. [\[Crossref\]](#)
23. Yoshida, Y.; Miyata, T.; Matsumoto, M.; Shirotani-Ikejima, H.; Uchida, Y.; Ohyama, Y.; Kokubo, T.; Fujimura, Y.; A novel quantitative hemolytic assay coupled with restriction fragment length polymorphisms analysis enabled early diagnosis of atypical hemolytic uremic syndrome and identified unique predisposing mutations in Japan. *PLoS One* **2015**, 10, e0124655. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Jaramillo-Colorado, B. E.; Palacio-Herrera, F. M.; Pino-Benitez, C. N.; Volatile chemical composition of Colombian Piper gorgonillense Trel. & Yunck. essential oil and its repellent and fumigant activity against Tribolium castaneum Herbst. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* **2020**, 14, 424. [\[Crossref\]](#)
25. Ayres, V. F. S.; Oliveira, M. R.; Baldin, E. L. L.; Corrêa, G. M.; Guimarães, A. C.; Takeara, R.; Chemical composition and insecticidal activity of the essential oils of Piper marginatum, Piper callosum and Vitex agnus-castus. *Anais da Academia Brasileira de Ciência* **2021**, 93, e20200616. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Jaramillo-Colorado, B. E.; Pino-Benitez, N.; González-Coloma, A.; Volatile composition and biocidal (antifeedant and phytotoxic) activity of the essential oils of four Piperaceae species from Choco-Colombia. *Industrial Crops and Products* **2019**, 138, 111463. [\[Crossref\]](#)
27. Rajkumar, V.; Gunasekaran, C.; Dharmaraj, J.; Chinnaraj, P.; Paul, C. A.; Kanithachristy, I.; Structural characterization of chitosan nanoparticle loaded with Piper nigrum essential oil for biological efficacy against the stored grain pest control. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **2020**, 166, 104566. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. de Oliveira, M. S.; da Cruz, J. N.; Gomes Silva, S.; da Costa, W. A.; de Sousa, S. H. B.; Bezerra, F. W. F.; Teixeira, E.; da Silva, N. J. N.; de Aguiar Andrade, E. H.; de Jesus Chaves Neto, A. M.; de Carvalho, R. N.; Phytochemical profile, antioxidant activity,

- inhibition of acetylcholinesterase and interaction mechanism of the major components of the *Piper divaricatum* essential oil obtained by supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids* **2019**, *145*, 74. [\[Crossref\]](#)
29. Subaharan, K.; Senthoooraja, R.; Manjunath, S.; Thimmegowda, G. G.; Pragadheesh, V. S.; Bakthavatsalam, N.; Mohan, M. G.; Senthil-Nathan, S.; David, K. J.; Basavarajappa, S.; Ballal, C.; Toxicity, behavioural and biochemical effect of *Piper betle* L. essential oil and its constituents against housefly, *Musca domestica* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **2021**, *174*, 104804. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 30. Francis Carballo-Arce, A.; Raina, V.; Liu, S.; Liu, R.; Jackiewicz, V.; Carranza, D.; Arnason, J. T.; Durst, T.; Potent CYP3A4 Inhibitors Derived from Dillapiol and Sesamol. *ACS Omega* **2019**, *4*, 10915. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 31. Weluwanarak, T.; Changbunjong, T.; Leesombun, A.; Boonmasawai, S.; Sungpradit, S.; Effects of *Piper nigrum* L. Fruit Essential Oil Toxicity against Stable Fly (Diptera: Muscidae). *Plants (Basel, Switzerland)* **2023**, *12*, 1043 [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 32. Medrano-Ochoa, J. L.; Palacio-Herrera, F. M.; Torralbo-Cabrera, Y.; Arroyo-Salgado, B.; Jaramillo-Colorado, B. E.; Pino-Benítez, N.; Volatile chemical composition of *Piper sancti-felicii* Trel essential oil and its biocidal action against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Acta Scientiarum Biological Sciences* **2021**, *43*, e53534. [\[Crossref\]](#)
 33. Santana, A. da S.; Baldin, E. L. L.; Lima, A. P. S.; Santos, T. L. B. dos; Santos, M. C.; Vieira, T. M.; Crotti, A. E. M.; Takeara, R.; New challenges demand new solutions: Selected essential oils as an alternative to control *Bemisia tabaci* MED in Brazil. *Crop Protection* **2022**, *155*, 105909. [\[Crossref\]](#)
 34. Babarinde, S.; Kemabonta, K.; Aderanti, I.; Kolawole, F.; Adeleye, A.; Synergistic effect of spinosad with selected botanical powders as biorational insecticides against adults of *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agricultural Sciences* **2018**, *63*, 39. [\[Crossref\]](#)
 35. Oviedo-Sarmiento, J. S.; Bustos Cortes, J. J.; Delgado Ávila, W. A.; Cuca Suárez, L. E.; Herrera Daza, E.; Patiño-Ladino, O. J.; Prieto-Rodríguez, J. A.; Fumigant toxicity and biochemical effects of selected essential oils toward the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* **2021**, *179*, 104941. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 36. Muñoz-Acevedo, A.; González, M. C.; De Moya, Y. S.; Rodríguez, J. D.; Volatile Metabolites of *Piper eriopodon* (Miq.) C.DC. from Northern Region of Colombia and Assessment of In Vitro Bioactivities of the Leaf Essential Oil. *Molecules* **2023**, *28*, 2594. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 37. Suzuki, T.; Yamato, S.; Mode of action of piperovatine, an insecticidal piperamide isolated from *Piper piscatorum* (Piperaceae), against voltage-gated sodium channels. *Neurotoxicology* **2018**, *69*, 288. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 38. Ramos, Y. J.; Machado, D. de B.; Queiroz, G. A. de; Guimarães, E. F.; Defaveri, A. C. A. e; Moreira, D. de L.; Chemical composition of the essential oils of circadian rhythm and of different vegetative parts from *Piper mollicomum* Kunth - A medicinal plant from Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology* **2020**, *92*, 104116. [\[Crossref\]](#)
 39. Wu, X.; Chen, M.; Wang, Y.; Yu, S.; Xia, Y.; Dong, C.; Hou, Z.; Cao, Y.; Chemical Composition and Fumigant Activities of Essential Oils from *Piper hancei* Maxim against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal Essential Oil Bearing Plants* **2021**, *24*, 86. [\[Crossref\]](#)
 40. Khani, M.; Awang, R. M.; Omar, D.; Rahmani, M.; Toxicity, antifeedant, egg hatchability and adult emergence effect of *Piper nigrum* L. and *Jatropha curcas* L. extracts against rice moth, *Corcyra cephalonica* (Stainton). *Journal of Medicinal Plants Research* **2013**, *7*, 1255. [\[Crossref\]](#)
 41. Qin, W.; Huang, S.; Li, C.; Chen, S.; Peng, Z.; Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* **2010**, *96*, 132. [\[Crossref\]](#)
 42. Gomes da Camara, C. A.; do Nascimento, A. F.; Monteiro, V. B.; Moraes, M. M. de; Larvicidal, ovicidal and antifeedant activities of essential oils and constituents against *Spodoptera frugiperda*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* **2022**, *55*, 851. [\[Crossref\]](#)
 43. Mehboob, A.; Zaka, S. M.; Sarmad, M.; Bajwa, M. Feeding and oviposition deterrence of *Murraya paniculata*, *Piper nigrum* and *Moringa oleifera* extracts against *Spodoptera litura* (F). *Pakistan Journal of Zoology* **2019**, *51*, 567. [\[Crossref\]](#)
 44. Lima, J. K. A.; Chicuta, C. P. D. L.; Costa, M. de M.; Costa, M. L. A. da; Grillo, L. A. M.; Santos, A. F. dos; Gomes, F. S.; Biototoxicity of aqueous extract of *Genipa americana* L. bark on red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). *Industrial Crops and Products* **2020**, *156*, 112874. [\[Crossref\]](#)
 45. Brari, J.; Kumar, V.; Insecticidal Potential of Two Monoterpenes against *Tribolium Castaneum* (Herbst.) and *Sitophilus Oryzae* (L.) Major Stored Product Insect Pests. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive* **2020**, *11*, 175. [\[Link\]](#)
 46. Pagano, M.; Faggio, C.; The use of erythrocyte fragility to assess xenobiotic cytotoxicity. *Cell Biochemistry & Function* **2015**, *33*, 351. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 47. Barros, F. J.; Costa, R. J. O.; Cesário, F. R. A. S.; Rodrigues, L. B.; da Costa, J. G. M.; Coutinho, H. D. M.; Galvao, H. B. F.; de Menezes, I. R. A.; Activity of essential oils of *Piper aduncum* and *Cinnamomum zeylanicum* by evaluating osmotic and morphologic fragility of erythrocytes. *European Journal of Integrative Medicine* **2016**, *8*, 505. [\[Crossref\]](#)
 48. Silva, N. B. da; Rangel, M. de L.; Castro, R. D. de; Lima, J. M. de; Castellano, L. R. C.; Valença, A. M. G.; Cavalcanti, A. L.; Anti-Biofilm and Hemolytic Effects of *Cymbopogon citratus* (De) Stapf Essential Oil. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* **2019**, *19*, 1. [\[Crossref\]](#)
 49. Gao, X.; Liu, J.; Li, B.; Xie, J.; Antibacterial Activity and Antibacterial Mechanism of Lemon Verbena Essential Oil. *Molecules* **2023**, *28*, 3102. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
 50. Wolff, F. R.; Broering, M. F.; Jurcevic, J. D.; Zermiani, T.; Bramorski, A.; de Carvalho Vitorino, J.; Malheiros, A.; Santin, J. R.; Safety assessment of *Piper cernuum* Vell. (Piperaceae) leaves extract: Acute, sub-acute toxicity and genotoxicity studies.

Journal of Ethnopharmacology **2019**, 230, 109. [[Crossref](#)]
[[PubMed](#)]

51. Garcia, A. R.; Amaral, A. C. F.; Maria, A. C. B.; Paz, M. M.; Amorim, M. M. B.; Chaves, F. C. M.; Vermelho, A. B.; Nico,

D.; Rodrigues, I. A.; Antileishmanial Screening, Cytotoxicity, and Chemical Composition of Essential Oils: A Special Focus on *Piper callosum* Essential Oil. *Chemistry & Biodiversity* **2023**, 20, e202200689. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]