

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA

MIDIÃ RODRIGUES DE OLIVEIRA

ATIVIDADE TRIPANOCIDA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Piper marginatum*

ITACOATIARA

2019

MIDIÃ RODRIGUES DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE TRIPANOCIDA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Piper marginatum***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado,
com o objetivo de aprovação no curso de
Bacharel em Farmácia, no Instituto de Ciências
Exatas e Tecnologia (ICET)

RENATA TAKEARA HATTORI

ITACOATIARA

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

O48a Oliveira, Midiã Rodrigues de
Atividade tripanocida, rendimento e composição química do óleo essencial de *Piper marginatum* / Midiã Rodrigues de Oliveira. 2019 29 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Renata Takeara Hattori
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) -
Universidade Federal do Amazonas

1. *Piper marginatum* (caapeba-cheirosa). 2. Piperaceae. 3. óleos essenciais. 4. composição química. I. Hattori, Renata Takeara II. Universidade Federal do Amazonas III. Atividade tripanocida, rendimento e composição química do óleo essencial de *Piper marginatum*.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força e cuidado constante;

A meu pai e minha mãe pelo auxílio financeiro, incentivo e compreensão;

À minha orientadora pelas oportunidades e constantes instruções;

À equipe do laboratório de Produtos Naturais do Instituto pelo conhecimento compartilhado, em especial Adriana Oliveira Castro, Regiane Gonçalves e Vanessa Farias dos Santos Ayres;

Aos meus colegas de curso pelo apoio e incentivo, em especial Luane Oliveira de Souza e Inayra Soares da Silva;

À minha melhor amiga Roosalyn Santos da Silva por estar sempre ao meu lado;

À Professora Rosiane Moraes de Souza por me incentivar a finalizar o curso quando quis desistir;

A todos os meus professores que muito contribuíram para a minha formação acadêmica e raciocínio profissional;

À técnica do laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto Izabel Cristina Casanova Turatti pelas análises dos óleos em CG-EM.

À Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade e concessão de bolsas de pesquisa e auxílio estudantil.

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”

Lavoisier

RESUMO

A espécie *Piper marginatum* pertence à Família Piperaceae e está entre as mais estudadas do gênero *Piper* por suas diversas aplicações na medicina popular tais como tônica, carminativa e antiespasmódica. Este trabalho tem por objetivo avaliar rendimento, composição química e atividade tripanocida do óleo essencial das folhas de *Piper marginatum*. As folhas foram coletadas no Km 18 da estrada AM-010 e os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação do material fresco em aparelho de Clevenger. Foram avaliados os óleos obtidos de seis extrações, que apresentaram variações em seu rendimento. O maior rendimento foi obtido durante o período chuvoso (0,20%) e o menor durante o período de seca (0,11%), evidenciando-se desta forma que o teor dos óleos essenciais desta planta é afetado por variações de parâmetros como a temperatura e índice pluviométrico. Os compostos majoritários identificados foram: δ -3-Careno (14,87%) e trans- β -ocimeno (10,92%) para a amostra coletada em agosto de 2018. Para a amostra coletada em dezembro de 2018 foram identificados δ -3-Careno (10,52%) e trans- β -ocimeno (9,96%) como constituintes majoritários. O óleo demonstrou atividade frente a cepas de *Trypanosoma cruzi*.

Palavras-chave: *Piper marginatum* (caapeba-cheirosa); Piperaceae; óleos essenciais; composição química.

ABSTRACT

The specie *Piper marginatum* belongs to the Piperaceae family and is among the most studied of the genus *Piper* for its various applications in folk medicine such as tonic, carminative and antispasmodic. This work aims to evaluate yield, chemical composition and trypanocidal activity of the essential oil of *Piper marginatum* leaves. The leaves were collected at Km 18 of the AM-010 road and the essential oils were obtained by hydrodistillation of the fresh material in a cleverger apparatus. The oils obtained from six extractions, which presented variations in their yield, were evaluated. The highest yield was obtained during the rainy season (0,20%) and the smallest during the dry season (0,11%), evidencing this way that the essential oils content of this plant is affected by variations in parameters such as temperature and pluviometric index. The major compounds identified were: δ -3-Carene (14,87%) and trans- β -ocimene (10,92%) for the sample collected in august 2018. For the sample collected in december 2018, δ -3-Carene (10,52%) were identified and, trans- β -ocimene (9,96%), as major constituents. The oil was effective active against strains of *Trypanosoma cruzi*.

Keywords: *Piper marginatum* (caapeba-cheirosa); Piperaceae; essential oils; chemical composition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>P. marginatum</i> em sítio de coleta.....	16
Figura 2 - Hidrodestilação em aparelho de Clevenger.....	16
Figura 3 - Equipamento CG-EM acoplado a espectrômetro de massas.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variação do rendimento do óleo essencial de <i>P. marginatum</i>	19
Tabela 2 - Substâncias presentes no óleo essencial de <i>P. marginatum</i>	20
Tabela 3 - Resultado do teste de atividade tripanocida do óleo essencial de <i>P. marginatum</i>	23

Sumário

1.0 INTRODUÇÃO.....	5
2.0 JUSTIFICATIVA	12
3.0 OBJETIVOS.....	12
3.1 Objetivo geral.....	12
3.2 Objetivos específicos.....	13
4.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
4.1 Óleos essenciais.....	13
4.2 Família Piperaceae.....	13
4.3 O Gênero <i>Piper</i>	14
4.4 A espécie <i>Piper marginatum</i>	15
5.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
5.1 Coletas do vegetal.....	16
5.2 Extração dos óleos essenciais	16
5.3 Variação sazonal	17
5.4 Análise dos constituintes	17
5.5 Teste de Atividade contra o <i>Trypanosoma cruzi</i>	17
6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
6.1 Rendimentos	18
6.2 Composição química	19
6.3 Atividade tripanocida	22
7.0 CONCLUSÃO	23
8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1.0 INTRODUÇÃO

O metabolismo secundário das plantas é responsável pela origem dos óleos essenciais, os quais tendem a sofrer alterações em sua composição e rendimento de acordo com a situação em que a planta se encontra no ambiente. Fatores como sazonalidade, índice pluviométrico, temperatura, solo e umidade relativa do ar podem ser responsáveis por essas alterações (GOBO-NETTO & LOPES, 2007).

As espécies do gênero *Piper*, pertencente à família Piperaceae, possuem em sua composição diversas substâncias com atividades biológicas comprovadas. Estudos anteriores comprovaram que os extratos das espécies de *P. arboreum* e *P. tuberculatum* possuem atividade contra o parasita causador da Doença de Chagas (REGASINI et al., 2009) e que o fruto seco de *P. nigrum* contém grande quantidade do alcaloide piperina que, juntamente com seus derivados sintéticos, é tóxico contra as formas amastigotas e epimastigotas do *Trypanosoma cruzi* (FREIRE-DE-LIMA et al., 2008), entre outros estudos que já evidenciaram ação antimicrobiana (GASPARETTO et al., 2017) e inseticida (SOUTO et al., 2012) dos óleos essenciais de outras espécies do gênero. A espécie *P. marginatum* vem sendo cada vez mais estudada mostrando-se ativa contra larvas do mosquito *Aedes aegypti* (AUTRAN et al., 2009), formigas (SOUTO et al., 2012) e cercárias do parasita *Schistosoma mansoni* (FRISCHKORN et al., 1978).

A Doença de Chagas (DC) é uma antroponose que se manifesta em duas fases: aguda e crônica. De acordo com dados da OMS, estima-se que existam no Brasil cerca de três milhões de indivíduos infectados. Nos últimos anos, a ocorrência da doença de Chagas na fase aguda tem sido observada em diferentes Estados, principalmente na região da Amazônia Legal, especialmente por conta da transmissão oral. Uma vez que não existem vacinas que previnam a doença, é essencial que se descubram métodos alternativos para tratá-la, o que leva a busca de substâncias combatentes do protozoário na natureza (BRASIL, 2017). Várias substâncias de origem natural de diversas classes, como quinonas, alcaloides, flavonoides, neolignanas e terpenos já comprovaram atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, agente causador da Doença de Chagas (GUIMARÃES & FARIA, 2007).

2.0 JUSTIFICATIVA

O parasita *Trypanosoma cruzi* possui um ciclo de vida complexo, exibindo formas morfológicas e funcionais bastante distintas. É o agente causador da Doença de Chagas e representa um importante problema de saúde pública em regiões endêmicas (MOREL, 2000). Entre o período de 2012 a 2016, foram registrados 1.190 casos confirmados de doença de Chagas aguda na maioria dos estados brasileiros, com uma média anual de 238 casos sendo a quarta maior causa de morte no país entre as doenças infecto-parasitárias. Entretanto, a maior distribuição, cerca de 97%, concentra-se na região Norte (BRASIL, 2019).

A necessidade de se prevenir a transmissão da doença por transfusão levou à busca por drogas que eliminem o parasita no sangue, ou seja, uma abordagem quimioprofilática. Esta consiste na esterilização do sangue por substâncias que permitam transfundi-lo, com segurança, entre seres humanos. Diversos estudos realizados demonstram que substâncias de origem natural de diversas classes, como quinonas, flavonoides e terpenos mostraram-se ativas contra o *T. cruzi* (GUIMARÃES & FARIA, 2007).

Os estudos da composição química e atividades biológicas de plantas da Região Amazônica são de grande importância, visto que a Floresta Amazônica possui um grande potencial inexplorado. Muitas das espécies de *Piper* são usadas para fins curativos por diversas culturas, tendo em sua constituição amidas insaturadas, flavonoides, lignanas, aristolactamas, ésteres de cadeias longas e curtas, terpenos, esteroides, fenilpropanoides e alcaloides (PARMAR et al., 1997). O estudo da atividade tripanocida do óleo essencial das folhas de *Piper marginatum* pode contribuir fornecendo subsídios para o desenvolvimento de novos produtos com aplicação terapêutica.

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar rendimento, composição química e atividade tripanocida do óleo essencial das folhas de *Piper marginatum*.

3.2 Objetivos específicos

1. Avaliar o efeito da sazonalidade sobre o rendimento do óleo essencial da espécie;
2. Caracterizar quimicamente os óleos essenciais por CG-EM (Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas);
3. Analisar o potencial tripanocida do óleo essencial das folhas de *Piper marginatum*.

4.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são obtidos de plantas aromáticas, existindo cerca de 300 espécies com importância econômica no mundo todo, incluindo integrantes da família Piperaceae. São usados na culinária para mascarar odores desagradáveis, como repelentes de insetos, antimicrobianos e antioxidantes. Quanto à composição química, os óleos essenciais são constituídos por álcoois, terpenos, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres, éteres, sendo que esses últimos se fazem mais presentes (COOK & LANARAS, 2016). No Brasil e no mundo, os óleos essenciais recebem atenção especial do mercado de exportação e representam uma das principais matérias-primas para as indústrias de alimentos e perfumaria (BIZZO et al., 2009). Na indústria farmacêutica estão presentes como coadjuvantes de medicamentos, podendo-se destacar sua importância devido a propriedades antimicrobianas e antioxidantes (MIRANDA et al., 2016).

Os óleos essenciais possuem em sua composição substâncias tais como o mentol e a mentona que inibem o crescimento das larvas de insetos (CARDOSO et al., 2016). As espécies amazônicas destacam-se também pelas atividades larvicida frente ao mosquito *Aedes aegypti* (SANTANA et al., 2015), leishmanicida (DO CARMO et al., 2012) e bactericida (SILVA et al., 2018).

4.2 Família Piperaceae

A família Piperaceae abrange 5 gêneros e aproximadamente 3.700 espécies (CHRISTENHUSZ & BYNG, 2016), existindo cerca de 284-458 espécies no Brasil

(GUIMARÃES, 2015) e só na Amazônia, 140-300 espécies podem ser encontradas (ANDRADE et al., 2009).

As espécies da família Piperaceae podem ser classificadas quanto ao porte e ambiente como ervas terrestres, epífitas, subarbustos, arbustos ou árvores pequenas. Seus caules apresentam-se nodosos e articulados enquanto que as folhas podem ser alternas, opostas ou verticiladas. As espécies dessa família são caracterizadas por possuir inflorescências no formato de espigas ou cachos, axilares, terminais ou opostas às folhas da planta (CARVALHO-SILVA et al., 2013). No Brasil, três gêneros são os dominantes, sendo eles *Manekia*, *Peperomia* e *Piper* distribuídas em maior quantidade na Mata Atlântica e Amazônia (SAMAIN, 2010). Os óleos essenciais extraídos de espécies da família são predominantemente compostos de sesquiterpenos seguido dos monoterpenos e em menor quantidade os fenilpropanoides (BENITÉZ et al., 2009; SANTOS et al., 2001) e possuem propriedades inseticida (ANDRÉS et al., 2017), antimicrobiana (OKOH et al., 2017) e anti-acetilcolinesterase (KARAK et al., 2018) entre outras.

4.3 Gênero *Piper*.

O gênero *Piper* é um dos mais importantes da família Piperaceae com aproximadamente 290 espécies ocorrendo em todo o país, com uma maior representatividade na região norte com 136 espécies registradas no estado do Amazonas das quais 80% não possuem estudos quanto a sua composição química (GUIMARÃES, 2015).

Os estudos com espécies desse gênero têm revelado a presença de alcaloides, amidas, lignanas, neolignanas, fenilpropanoides, terpenos, esteroides, flavonoides, e derivados de ácidos benzoicos. Dentre essas espécies existem muitas que são biologicamente ativas com propriedades antimicrobiana, anti-helmíntica (CORRAL et al, 2018), inseticida (KANIS et al, 2018) antitumoral (VANDRESEN et al, 2017) e tripanocida (MORAIS et al., 2019). Estas atividades podem estar relacionadas com a presença das substâncias majoritárias tais como γ -eudesmol, (*E*)-nerolidol e D-germacreno (ARAÚJO et al., 2018).

Silva et al., (2014) demonstrou através de seu estudo que substâncias presentes no óleo essencial das espécies de *Piper hispidum*, *Piper anonifolium* e *Piper aleyreanum* são capazes de inibir o crescimento de fungos, sequestrar radicais

livres, inibir enzimas e matar células cancerígenas e uma vez que muitas dessas substâncias são marcadores taxonômicos, podem ser encontradas em outras espécies do gênero.

4.4 A Espécie *Piper marginatum*

Popularmente conhecida como “caapeba cheirosa”, “pimenta do mato” ou “malvaíscó”, é um arbusto amplamente distribuído em países como a Guatemala, Equador, Caribe e Brasil. A espécie possui como características marcantes folhas em formato de coração e inflorescências em forma de espigas alongadas (SEQUEDA-CASTAÑEDA et al., 2015).

Na Amazônia, informações etnobotânicas mostram que as folhas de *P. marginatum* são usadas sob a forma de chá para tratar doenças do fígado e vesícula, além de ser tônica, carminativa, ter ação antiespasmódica e cercaricida (ANDRADE, 2009). Dentre as atividades biológicas desta espécie estão atividade antioxidante (BAY-HURTADO et al, 2016), inseticida (SEQUEDA-CASTAÑEDA et al, 2015), ovicida (KRINSKI et al., 2018), acaricida (RIBEIRO et al., 2016) e antimicrobiana (GAMBOA et al., 2018; ALMEIDA et al., 2018). Em folhas de *Piper marginatum* coletadas de um fragmento da floresta Atlântica localizada no campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), os fenilpropanoides (*Z*)-asarona e (*E*)-asarona são encontrados em maior quantidade e β -pineno, linalol, isoeugenol, α -humuleno, α -terpineol, elemol e safrol são compostos minoritários (MORAES, 2014). Entretanto, Costa et al., (2010) identificou isoelemicina, apiol, δ -guaieno, valeneno e (*E*)-cariofileno como constituintes majoritários do óleo essencial extraído de espécime coletado em João Pessoa, no Estado da Paraíba.

Por ser constituído majoritariamente de substâncias oxigenadas, outras atividades frente a micro-organismos são atribuídas ao óleo essencial da *P. marginatum* tais como a atividade antimicrobiana devido à presença de safrol (SANCHÉZ et al 2011) e à presença de D-germacreno e limoneno (DUARTE, 2006).

5.0 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Coleta do vegetal

Folhas de *P. marginatum* foram coletadas por volta de 7h:30min na Estrada AM 010, Km 18, para extração de óleos essenciais.



Figura 1. *P. marginatum* em sítio de coleta.
Fonte: Autor, 2019.

5.2 Extração dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação do material fresco em aparelho de Clevenger por aproximadamente seis horas. Em seguida, foram centrifugados por 10 minutos a 3500 rpm para separação e retirada da água. Os óleos essenciais obtidos foram mantidos em tubos falcon tampados sob refrigeração até o momento de serem analisados. Os rendimentos obtidos dos óleos essenciais foram calculados baseados no peso das folhas (v/m) de acordo com a fórmula a seguir:

$$R (\%) = \frac{\text{Volume (mL)}}{\text{massa (g)}} \times 100$$



Figura 2. Hidrodestilação em aparelho de Clevenger.
Fonte: Autor, 2019.

5.3 Variação sazonal

As coletas foram realizadas a cada dois meses para análise da variação sazonal do rendimento dos óleos essenciais no período de agosto de 2018 a junho de 2019, tomando-se nota dos dados climáticos no momento da coleta e do índice de precipitação do dia anterior, sendo este último fornecido pelo Instituto Nacional de Meteorologia – INMET.

5.4 Análise dos constituintes químicos do óleo essencial

Os óleos extraídos foram submetidos à análise em CG-EM em equipamento SHIMADZU acoplado a um espectrômetro de massas SHIMADZU QP2010. Para cromatografia dos componentes foi empregada coluna DB-5MS, com 30 m x 0,25 mm, espessura do filme interno de 0,25 μ m. A identificação dos constituintes foi feita por interpretação de seus respectivos espectros de massas, cálculo do Índice de Kovat's e por comparação com dados da literatura. Esta análise foi realizada utilizando-se o equipamento da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP pela técnica Izabel Cristina Casanova Turatti.



Figura 3. Equipamento CG-EM.
Fonte: Gonçalves, 2013.

5.5 Teste de Atividade contra *Trypanosoma cruzi*

O óleo essencial foi submetido ao ensaio colorimétrico (BUCKNER et al., 1996), com algumas modificações (OLIVEIRA et al., 2006) para verificar a atividade

tripanocida. Para este ensaio utilizou-se cepas de *T. cruzi* (*Tulahuen*) transformada para expressar β -galactosidase, enzima que é capaz de catalisar uma reação colorimétrica quando o vermelho de cloro-fenol- β -D-galactopiranosídeo (CPRG) é utilizado como substrato.

No ensaio com formas tripomastigotas e amastigotas de *T. cruzi* provenientes de cultura de tecido, cerca de 4.000 células L929 por poço foram semeadas em placas de 96 poços, seguindo incubação durante a noite em estufa, a 37 °C, para a adesão da célula à superfície. Após incubação, a infecção foi feita com 10 tripomastigotas provenientes de cultura de tecidos/célula, durante 2 h. Após esse período, o meio contendo os parasitas extracelulares foi substituído por meio novo e a placa foi novamente incubada a 37 °C durante 48 h. As amostras diluídas nas concentrações de 20 e 10 μ g/mL foram incubadas, e após incubação a 37 °C por 96 h foi adicionado o substrato CPRG aos poços. Incubou-se novamente a placa a 37 °C e a leitura foi realizada após 16-20 h em espectrofotômetro utilizando um filtro de 570 nm. Simultaneamente, os seguintes controles foram utilizados: células não infectadas, células infectadas não tratadas, benzonidazol a 1 μ g/mL (controle positivo) e DMSO diluído em meio a uma concentração final de 1% (controle negativo). Os resultados foram expressos por porcentagem de redução da absorbância dos poços experimentais em comparação com a absorbância dos poços contendo células infectadas não tratadas. Este ensaio foi realizado em parceria com o Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ-MG.

6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Rendimentos

O óleo essencial extraído apresentou coloração amarelada e aroma intenso. Os resultados dos rendimentos obtidos estão descritos na tabela 1.

O rendimento do óleo essencial extraído das folhas de *Piper marginatum* sofreu variações de acordo com a época de coleta, sendo observado o mais alto rendimento no mês de outubro/2018 (0,24%), enquanto que o mais baixo rendimento foi obtido no mês de fevereiro/2019 (0,10%). O maior rendimento obtido corresponde ao período de seca intensa, e o menor rendimento foi obtido durante o período de chuvas na região.

O menor rendimento de óleo essencial durante o período de chuva pode ter sido devido à lixiviação, pois de acordo com Gobbo-Neto & Lopes (2007) a chuva contínua pode resultar na perda de substâncias hidrossolúveis das folhas e raízes por lixiviação e isto se aplica a algumas plantas produtoras de alcaloides, glicosídeos e até mesmo óleos voláteis.

Estudos anteriores com as folhas frescas da espécie mostraram que para amostras coletadas na cidade de Manaus-AM o rendimento alcançado foi de 1,4% (ANDRADE, et al 2008). Ramos et al (1986) obteve 0,7% do óleo essencial de folhas coletadas na mesma região de Itacoatiara, no período de seca.

Tabela 1. Rendimento do óleo essencial das folhas de *P. marginatum*.

Mês/Ano	Temperatura (°C)	Índice Pluviométrico ¹ (mm)	Código da amostra	Massa do vegetal (g)	Volume OE (µL)	Rendimento (%)
Agosto/18	26,5	0,0	PM-1	890,20	1524	0,17
Outubro/18	29,9	0,0	PM-2	985,36	2425	0,24
Dezembro/18	26,5	0,4	PM-3	946,88	1480	0,16
Fevereiro/19	27,0	25,2	PM-4	974,20	1010	0,10
Abril/19	31,5	11,4	PM-5	658,93	1515	0,23
Junho/19	32,0	2,0	PM-6	1041,19	1780	0,17

1: fornecido pelo Instituto Nacional de Meteorologia referente ao dia anterior à coleta.

6.2 Composição química

A amostra PM-1, coletada no mês de agosto (período de seca), apresentou em sua composição 59 substâncias que foram detectadas por CG-EM e observadas no cromatograma, das quais 48 foram identificadas. As substâncias majoritárias identificadas foram o δ -3-Careno (14,87%) e trans- β -ocimeno (10,92%). A amostra PM-3, coletada no mês de dezembro (período de chuvas na Região Amazônica) apresentou 57 constituintes, dos quais 52 foram identificados, apresentando os mesmos compostos majoritários que a amostra anterior, sendo δ -3-careno (10,52%) e trans- β -ocimeno (9,96%). Observando-se, portanto, que houve variação tanto do

número de metabólitos produzidos quanto no percentual e classe de substância em função da época de coleta.

Cinco substâncias presentes no óleo essencial da amostra PM-3, coletada durante o período de cheia, estão ausentes no óleo essencial coletado durante o período de seca, sendo elas: allo-aromadendreno, di-epi-4,5-aristolocheno, viridiflorol, eudesm-7(11)-em-4-ol e 3,4-metilenodioxipropiofenona. Para a amostra PM-1, coletada no período de seca, verificou-se a presença de quatro substâncias diferentes em relação a PM-3, a saber: bulnesol, estragol, globulol e α -cadinol sendo estas três últimas encontradas também por Andrade et al., (2008) para a mesma espécie vegetal (tabela 2).

Autran et al., (2009) afirma que o óleo essencial da *P. marginatum* contém o fenilpropanoide (*Z*)-Asarona (30,4%) e o sesquiterpeno oxigenado álcool pathouli (16,0%), substâncias estas que não foram identificadas durante as análises realizadas neste trabalho. Moraes et al., (2014) também encontrou (*Z*)-Asarona (33,80%) e álcool pathouli (17,43%), além de (*E*)-Asarona (16,72%) como compostos majoritários. No entanto, Costa et al., (2010) encontrou composição química majoritária diferente dos autores acima mencionados, com isoelemicina (21,7%), apiol (20,1%) e δ -guaieno (16,7%).

A composição química majoritária das duas amostras analisadas neste trabalho não apresentou diferenças entre si, somente com a literatura, variando quali e quantitativamente em função da época e lugar de coleta. Gobo Netto & Lopes (2007), afirma que, além dos parâmetros citados anteriormente, a temperatura, índice pluviométrico, radiação ultravioleta e altitude também podem influenciar na produção e constituição química dos óleos essenciais.

Tabela 2. Substâncias presentes no óleo essencial de *Piper marginatum*

Substância	RI* Adams (2017)	RI* PM-1 ^a	RI* PM-3 ^b	Área (%) PM-1	Área (%) PM-3
α -pineno	939	932	921	2,93	2,30
canfeno	954	947	947	0,09	0,11
sabineno	975	972	972	0,10	0,08
β -pineno	979	976	977	1,94	1,50
β -mirceno	990	988	990	1,52	1,28
α -felandreno	1002	1006	1006	0,25	0,21
δ-3-Careno	1011	1011	1011	14,87	10,52
ρ -cimeno	1024	1024	1024	0,27	0,19

Substância	RI* Adams (2017)	RI*PM-1 ^a	RI* PM-3 ^b	Área (%) PM-1	Área (%) PM-3
limoneno	1029	1028	1028	0,91	0,70
cis- β -ocimeno	1037	1036	1036	6,97	6,23
trans-β-ocimeno	1050	1046	1046	10,92	9,96
terpinoleno	1088	1089	1089	0,20	0,16
Linalol	1096	1101	1101	3,63	4,91
estragol	1196	1200	-	0,17	-
safrol	1287	1289	1289	0,47	0,91
δ -elemeno	1338	1337	1337	0,83	1,33
ciclosativeno	1371	1364	1364	0,25	0,18
α -copaeno	1376	1375	1375	3,44	3,10
β -bourboneno	1388	1384	1384	0,52	0,36
β -cubebeno	1388	1384	1429	0,20	0,35
β -elemeno	1390	1392	1392	0,71	0,89
Metil-eugenol	1403	1407	1407	1,29	1,21
α -ionona	1412	1386	1386	0,31	0,42
trans-cariofileno	1419	1418	1419	6,74	9,00
aromadendreno	1441	1438	1640	0,20	1,30
α -humuleno	1454	1452	1453	0,68	0,81
allo- aromadendreno	1460	-	1456	-	0,24
di-epi-4,5- aristolocheno	1473	-	1469	-	0,15
3,4-metilenodioxo propiofenona	1473	-	1535	-	7,15
D-germacreno	1481	1480	1481	4,25	5,96
α -amorfenol	1484	1476	1477	0,38	0,50
β -selineno	1490	1485	1486	1,93	3,10
Biciclogermacre- no	1500	1496	1496	2,88	3,93
α -muroleno	1500	1500	1500	0,46	0,58
A-germacreno	1509	1504	1504	0,32	0,45
γ -cadineno	1513	1514	1514	0,19	0,30
miristicina	1518	1511	1512	2,05	1,40
δ -cadineno	1523	1523	1524	1,02	1,28
elemol	1549	1550	1550	1,65	2,21
elemicina	1557	1560	1560	1,66	1,84
trans-nerolidol	1563	1564	1565	1,00	1,31
espatulenol	1578	1577	1578	2,51	1,87
óxido de cariofileno	1583	1582	1582	0,89	0,57
globulol	1590	1584	-	0,26	-
viridiflorol	1592	-	1594	-	0,16
γ -eudesmol	1632	1632	1632	0,34	0,42
α -muurolol	1646	1647	1643	0,14	0,53
β -eudesmol	1650	-	1650	-	1,47
α -cadinol	1654	1643	-	0,42	-

Substância	RI* Adams (2017)	RI* PM-1 ^a	RI* PM-3 ^b	Área (%) PM-1	Área (%) PM-3
intermedeol	1666	1655	1655	1,97	2,27
bulnesol	1671	1668	-	0,16	-
eudesm-7(11)-en- 4-ol	1700	-	1659	-	0,70

*: índice de retenção; a: óleo essencial de *Piper marginatum*, coletado em agosto/2018; b: óleo essencial de *Piper marginatum*, coletado em dezembro/2018.

6.3 Atividade tripanocida

Os resultados do teste de atividade tripanocida para o óleo essencial de *Piper marginatum* coletado em fevereiro de 2014 encontram-se na Tabela 3.

O óleo foi aplicado em quatro concentrações, sendo mais eficaz na concentração de 80 µg/mL, matando 60% dos parasitas. O valor de IC₅₀ do óleo essencial de *P. marginatum* sobre o parasita foi de 69,5 µg/mL, enquanto o valor de IC₅₀ sobre as células hospedeiras foi quase o dobro. Isto significa que é possível reduzir em 50% o crescimento do *T. cruzi* causando danos em 25% das células hospedeiras. Analisando-se o índice de seletividade, percebe-se que o óleo essencial extraído das folhas de *P. marginatum* é quase duas vezes mais tóxico para o parasita causador da Doença de Chagas em relação ao hospedeiro.

No trabalho realizado por Monzote (2017) com o óleo essencial da espécie *Piper aduncum*, o mesmo descobriu que este possui atividade leishmanicida (IC₅₀ = 7,7 µg/mL) e tripanocida (IC₅₀ = 2,0 µg/mL). Villamizar et al (2017) encontrou para a mesma espécie, nerolidol (25,22%) e linalol (13,42%) como constituintes majoritários do óleo essencial e ao testar esses compostos isoladamente contra formas amastigotas e tripomastigotas do *T. cruzi*, *L. amazonensis* e *L. donovani*, verificou que a atividade tripanocida e leishmanicida do óleo essencial era conferida pela presença dos dois compostos, que são encontrados também neste trabalho no óleo essencial de *P. marginatum*. Sugere-se que, assim como a citotoxicidade atribuída ao óleo de *P. aduncum* devia-se a presença de nerolidol na planta, a mesma atividade observada para o óleo essencial de *Piper marginatum* (Tabelas 2 e 3), pode estar relacionada com a presença desta substância, da mesma forma que a atividade antiparasitária de *P. marginatum* pode ter ligação com a presença do linalol (Tabelas 2 e 3). No entanto, são necessários estudos mais aprofundados para determinar

quais as substâncias envolvidas no efeito tripanocida do óleo essencial de *P. marginatum*.

Tabela 3. Resultado do teste de atividade tripanocida do óleo essencial de *P. marginatum*.

Amostra	Concentração (µg/mL)	Atividade ¹ (%)	IC ₅₀ sobre o parasita ² (µg/mL)	IC ₅₀ sobre células ³ (µg/mL)	Índice de Seletividade ⁴
Óleo essencial de <i>P. marginatum</i>	80	60	69,5	115,6	1,7
	40	22			
	20	25			
	10	0			
Benzonidazol	1	-	1	625	625

¹ Porcentagem de redução das formas amastigotas e tripomastigotas sob ação do composto;

² Concentração do composto que reduz em 50% o crescimento parasitário;

³ Concentração do composto que induz 50% de morte celular (L929 – Fibroblasto de Pulmão de Camundongo);

⁴ IC₅₀ do composto sobre as células dividido pelo IC₅₀ do composto sobre o parasita.

7.0 CONCLUSÃO

O rendimento do óleo essencial extraído das folhas de *Piper marginatum* varia em função da época de coleta, sendo produzido em maior quantidade durante o período de seca, revelando a presença de δ-3-Careno e trans-β-ocimeno como compostos majoritários. Além disso o óleo essencial obtido das folhas de *Piper marginatum* essencial foi ativo contra *T. cruzi*, sendo necessários outros estudos para comprovar quais são as substâncias responsáveis pela atividade.

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. – 4. ed. - Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 804 p., 2007.

ALMEIDA, C. A., AZEVEDO, M. M. B., CHAVES, F. C. M., ROSEO DE OLIVEIRA, M., RODRIGUES, I. A., BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S. *Piper* Essential Oils Inhibit *Rhizopus oryzae* Growth, Biofilm Formation, and Rhizopuspepsin Activity. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 1, p. 1-7, 2018.

ANDRADE, E. H. A.; ELSIN, E. F.; MAIA, J. G. S. **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper na Amazônia**. – Belém: FEQ/UFPA, 2009; pg 15-18 e 25.

ANDRADE, E. H. A.; CARREIRA, L. M. M. SILVA, M. H. L.; SILVA J. D.; BASTOS, C. N.; SOUSA P. J. C.; GUIMARÃES E. F.; MAIA J. G. S. Variability in Essential Oil Composition of *Piper marginatum* sensu lato. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, p. 199, 2008.

ANDRÉS, M. F.; ROSSA, G. E.; CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; SANTANA, O.; DÍAZ, C. E.; GONZÁLEZ-COLOMA, A. Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 1086-1092, 2017.

ARAÚJO, C. A.; CAMARA, C. A. G.; MORAES, M. M.; MORAES, M. M.; VASCONCELOS, G. J. N.; PEREIRA, M. R. S.; ZARTMAN, C. E. First record of the chemical composition of essential oil of *Piper bellidifolium*, *Piper durilignum*, *Piper acutilimum* and *Piper consanguineum* from the Brazilian Amazon forest. **Acta Amazonica**, v. 48, p. 330-337, 2018.

AUTRAN, E. S.; NEVES, I. A.; SILVA, C. S. B.; SANTOS, G. K. N.; CÂMARA, C. A. G.; NAVARRO D. M. A. F. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2284–2288, 2009.

BAY-HURTADO, F.; LIMA, R. A.; TEIXEIRA, L. F.; SILVA, I, C, F, S.; BAY, M.; AZEVEDO, M. S.; FACUNDO, V. A. Atividade antioxidante e caracterização do óleo essencial das raízes de *Piper marginatum* Jacq. **Ciência e Natura, Santa Maria**, v. 38, p. 1504 – 1511, 2016.

BENITÉZ, N. P.; LEÓN, E. M. M.; STASHENKO, E. E. Essential Oil Composition from Two Species of Piperaceae Family Grown in Colombia. **Journal of Chromatographic Science**, v. 47, p. 804-807, 2009.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE - PORTAL DA SAÚDE, 2017. **Doença de Chagas**. Disponível em: <http://portalmms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas>. Acesso em: 09 de junho de 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE – SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2019. Doença de Chagas Aguda e distribuição espacial dos triatomíneos de importância epidemiológica, Brasil 2012 a 2016. **Boletim Epidemiológico**, v. 50, p. 1-10, 2019.

CARDOSO, M. G.; GAVILANES, M. L.; MARQUES, M. C. S.; SHAN, A. Y. K. V.; SANTOS, B. R.; OLIVEIRA, A. C. B. O.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, A. P. S. Óleos essenciais. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 1, p.8, 2016.

CARVALHO-SILVA, M.; GUIMARÃES, E. F.; MEDEIROS E. V. S. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Piperaceae. **Boletim Botânico Universitário de São Paulo**, v. 31, p. 27-40, 2013.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG, J. W. The number of known plant species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, p. 201-207, 2016.

COOK, C. M.; LANARAS, T. **The Encyclopedia of Food and Health. Chapter: Essentials Oils: Isolation, Production and Uses**. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P.; TOLDRA, F.; editors. Academic Press, v. 7, p. 552-557, 2016.

CORRAL, A. C. T.; QUEIROZ, M. N.; ANDRADE-PORTO, S. M.; MOREY, G. A. M.; CHAVES, F. C. M.; FERNANDES, V. L. A.; ONO, K. E. A.; AFFONSO, E. G. Control of *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Anisakidae) in juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) by the oral application of essential oil of *Piper aduncun*. **Aquaculture**, v. 494, p. 37– 44, 2018.

COSTA, J. G. M.; SANTOS, P. F.; BRITO, S. A.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M.; BOTELHO, M. A.; LIMA, S. G. Composição Química e Toxicidade de Óleos essenciais de Espécies de *Piper* Frente a Larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, p. 463-467, 2010.

DO CARMO, D. F. M. FERNANDES, A. C. F.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L.; SILVA, J. R. A. Chemical and Biological Analyses of the Essential Oils and Main Constituents of *Piper* Species. **Molecules**, v. 17, p. 1819-1829, 2012.

DUARTE, M. C. T. **Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil**. Multiciência: Construindo a História dos Produtos Naturais #7, 2006.

FREIRE-DE-LIMA, L.; RIBEIRO, T. S.; ROCHA, G. M.; BRANDÃO, B. A.; ROMEIRO, A.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; PREVIATO, J. O. LIMA, M. E. F.; CARVALHO, T. M. U.; HEISE, N. The toxic effects of piperine against *Trypanosoma cruzi*: ultrastructural alterations and reversible blockage of cytokinesis in epimastigote forms. **Parasitology Resources**, v. 102, p. 1059–1067, 2008.

FRISCHKORN, C. G. B; FRISCHKORN, H. E.; CARRAZZONI, E. Cercaricidal Activity of Some Essential Oils of Plants from Brazil. **Naturwissenschaften**, v. 65, p. 480-483, 1978.

GAMBOA, F., MUÑOZ, C.-C., NUMPAQUE, G., SEQUEDA-CASTAÑEDA, L. G., GUTIERREZ, S. J., & TELLEZ, N. Antimicrobial Activity of *Piper marginatum* Jacq and *Ilex guayusa* Loes on Microorganisms Associated with Periodontal Disease. **International Journal of Microbiology**, v. 2018, p. 1–9, 2018.

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

GOBBO-NETO L.; LOPES. N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374 – 381, 2007.

GUIMARÃES, E. F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E. 2015. **Piperaceae**. In: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12609>>. Acesso em 02 junho 2019.

GUIMARÃES, D. A. S.; FARIA, A. R. Substâncias da natureza com atividade anti *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p.456-459, 2007.

KANIS, L. A.; RABELO, B. D.; MOTERLE, D.; CUSTÓDIO, K. M; OLIVEIRA, J. G.; LEMOS, A. B.; SILVA, O. S.; ZEPON, K. M.; MAGNANO, R. F.; PROPHIRO, J. S.

Piper ovatum (Piperaceae) extract/starch-cellulose films to control *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Industrial Crops & Products**, v. 122, p. 148-155, 2018.

KARAK, S., ACHARYA, J., BEGUM, S., MAZUMDAR, I., KUNDU, R., & DE, B. Essential oil of *Piper betle* L. leaves: Chemical composition, anti-acetylcholinesterase, anti- β -glucuronidase and cytotoxic properties. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 10, p. 85-92, 2018.

KRINSKI, D.; FOERSTER, L. A.; DESCHAMPS, C. Ovicidal effect of the essential oils from 18 Brazilian *Piper* species controlling *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Erebidae) at the initial stage of development. **Acta Scientiarum**, v. 40, p. 2-10, 2018.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; MILANI, L.; RODRIGUES, A.; FIGUEIREDO, A. C. S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, p. 213-220, 2016.

MONZOTE, L. SCULL, R. COS, P. SETZER, N. Essential Oil from *Piper aduncum*: Chemical Analysis, Antimicrobial Assessment, and Literature Review. **Medicines**, v. 4, p. 49, 2017.

MORAES, M. M.; SILVA, T. M. G.; SILVA, R. R.; RAMOS, C. S.; CÂMARA, C. A. G. Circadian variation of essential oil from *Piper marginatum* Jacq. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, p. 270-277, 2014.

MORAIS, T. R., COSTA-SILVA, T. A., FERREIRA, D. D., NOVAIS, B. J., TORRECILHAS, A. C. T., TEMPONE, A. G., & LAGO, J. H. G. Antitrypanosomal activity and effect in plasma membrane permeability of (-)-bornyl p-coumarate isolated from *Piper cernuum* (Piperaceae). **Bioorganic Chemistry**, v. 89, p. 1-7, 2019.

MOREL, C. M. Reaching maturity – 25 years of the TDR. **Parasitology Today**, v.16, p.522– 528, 2000.

OKOH, S. O.; IWERIEBOR, B. C.; OKOH, O. O.; OKOH, A. I. Bioactive constituents, radical scavenging, and antibacterial properties of the leaves and stem essential oils from *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, p. 392-400, 2017.

PARMAR, V. S.; JAIN S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI O. D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v.46, p. 597-673, 1997.

RAMOS, L. S.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; MAIA, J. G. S. Essential Oil Of *Piper marginatum*. **Journal of Natural Products**, v. 49, p. 712-741, 1986.

REGASINI, L. O.; COTINGUIBA, F.; PASSERINI, G. D.; BOLZANI, V. S.; CICARELLI, R. M. B.; KATO, M. J.; FURLAN, M. Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 199-203, 2009.

RIBEIRO, N.; CAMARA, C.; RAMOS, C. Toxicity of essential oils *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). **Chilean Journal Of Agricultural Research**, v. 76, p. 71-76, 2016.

SAMAIN, M.S.; VRIJDAGHS, A.; HESSE, M.; GOETGHEBEUR, M.H.; RODRIGUES, F.J.R; STOLL, A.; NEINHUIS, C.; WANKE, S. ***Verhuellia* is a segregate lineage in Piperaceae: more evidence from flower fruit and pollen morphology, anatomy and development**. *Annals of Botany*, v. 105, p. 88-677. 2010.

SÁNCHEZ, Y.; CORREA, T. M.; MARTÍNEZ, B.; ABREU, Y.; DUARTE, Y.; PINO, O. Caracterización Química y Actividad Antimicrobiana Del Aceite Essencial de *Piper marginatum* Jacq. **Revista de Protección Vegetal**, v. 26, 170-176, 2011.

SANTANA, H. T.; TRINDADE, F. T. T.; STABELI, R. G.; SILVA, A. A. E.; MILITÃO, J. S. L. T.; FACUNDO, V. A. Essential oils of leaves of *Piper* species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 17, p. 105-111, 2015.

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

SEQUEDA-CASTAÑEDA, L. G.; CÉLIS, C.; GUTIÉRREZ, S.; GAMBOA, F. *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae): Phytochemical, therapeutic, botanical insecticidal and phytosanitary uses. **Pharmacology Online**, v.138, p. 136-145, 2015.

SILVA, J. I. M.; SOUZA, M. C. S.; SOARES, M. L. C.; COSTA, R. C.; NUNEZ, C. V. Óleos essenciais das raízes das espécies de *P. solimoesense* e *P. goeldii* (Araceae). **Revista Fitos**, v. 10, p. 77-86, 2018.

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

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER VOLKER. **Óleos voláteis**. In: SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; V. MENTS, L. A.; PETROVICK, P. R.; SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. - 6. ed.- Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 467-495, 2007.

SOUTO, R. N. P.; HARADA, A. Y.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Insecticidal Activity of Piper Essential Oils from the Amazon Against the Fire Ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, p. 510–517, 2012.

VANDRESEN, F. SOUZA, M. R. P.; BRITTA, E.; SILVA, E. L.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; NAKAMURA, C. V.; SILVA, C. C. Avaliação das Atividades Antiproliferativa e Antileishmania de 2-amino-5-aryl-1,3,4-tiadiazóis Derivados do R-(+)-limoneno. **Revista Virtual Química**, v. 9, p. 1285-1302, 2017.

VILLAMIZAR, L. H.; CARDOSO, M. G.; ANDRADE, J.; TEIXEIRA, M. L.; SOARES, M. J. Linalool, a *Piper aduncum* essential oil component, has selective activity against *Trypanosoma cruzi* trypomastigote forms at 4°C. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, p. 131-139, 2017.