

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA,  
ANTIDEPRESSIVA E ANÁLISE TOXICOLÓGICA DE ÓLEO  
ESSENCIAL E DA POLPA MICROENCAPSULADA DE  
*Campomanesia adamantium***

Danieli Zuntini Viscardi

*Doctor Scientiae*

DOURADOS

MATO GROSSO DO SUL – BRASIL

2017

**DANIELI ZUNTINI VISCARDI**

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA,  
ANTIDEPRESSIVA E ANÁLISE TOXICOLÓGICA DE ÓLEO  
ESSENCIAL E DA POLPA MICROENCAPSULADA DE  
*Campomanesia adamantium***

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade, para obtenção do Título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Dra. Eliana Janet Sanjinez Argandoña.

Co-orientadoras: Dra. Cândida Aparecida Leite Kassuya e Dra. Iriani Rodrigues Maldonado.

**Dourados**

**Mato Grosso do Sul – BRASIL**

**2017**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por terem colocado no meu caminho pessoas que fizeram diferença neste meu aprendizado para realização deste sonho.

Aos meus pais, Abilio Roberto Zuntini e Sirdelei Ap. Scoparo Zuntini e meus irmãos Roberta e Bruno, os quais amo imensamente e agradeço pelo amor, apoio e vida em família. Ajudaram-me a superar cada obstáculo.

Ao meu esposo, companheiro Arnaldo Viscardi, pelo apoio, carinho e compreensão em todos os momentos e aos meus filhos, Leonardo e Henrique, minhas fontes de inspiração.

À minha orientadora, professora Dra. Eliana Janet Sanjinez Argandoña, por confiar no meu trabalho e minha capacidade, pela sua dedicação. Ensinou-me os seus valores de ética e respeito para ser um ser humano cada dia melhor. Meu respeito e admiração pela sua serenidade e seu Dom no ensino da Ciência. Agradeço ainda pela oportunidade de trabalharmos juntas nestes anos.

À professora Dra. Cândida Kassuya que me acolheu durante o desenvolvimento da pesquisa do doutorado, muito atenciosa e dedicada com meu trabalho com muita sabedoria. Uma amizade que contribui para minha formação pessoal e profissional. Agradeço imensamente com muito carinho o seu apoio.

À minha co-orientadora Dra. Iriani Rodrigues Maldonade, pelas leituras dos manuscritos e correções da tese. Agradeço a oportunidade.

À Profa. Dra. Claudia Andrea Lima Cardoso, pela ajuda nas análises fitoquímicas.

Às minhas amigas do Doutorado Joyce, Jucicléia, Loreci, Taline pelo apoio em nossas viagens para cursar disciplinas e nos procedimentos com os animais. À minha amiga Ana Cláudia, pela sua paciência e ajuda nas traduções, indicações de leituras e por ter compartilhado comigo esses momentos de aprendizado.

Aos colegas do GEPPAC, em especial Carlos Chuba, Ariana, Camila, Vinicius Oliveira, que contribuíram diretamente na realização deste trabalho.

Às professoras da minha banca, pelas contribuições e disponibilidade em ajudar-nos neste trabalho.

Às minhas amigas Maria Aparecida Sarate Lourenção, pelas sábias palavras e motivação durante este tempo e a Suéllen Machado de Paula, minha amiga especial que me acompanhou desde o início desta etapa.

Aos técnicos da Faculdade de Ciências Humanas e aos professores Dr. João Carlos de Souza e Dr. Jones Dari Goettert, que permitiram meu afastamento para doutorado.

A Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul e a Rede de Pesquisa Pró Centro-Oeste juntamente ao Programa de Pós-Graduação Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade, em especial Prof. Dr. Nelson Luís de Campos Domingues, pelos momentos partilhados e a todos os professores que fizeram parte desse caminhar.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais, Roberto e minha querida mãe Léia, responsáveis pela minha vida e a quem devo meu caráter e disciplina ao trabalho.

Ao meu esposo Arnaldo Viscardi, pelo cuidado incondicional, que sempre esteve ao meu lado me apoiando em meus sonhos, obrigado pelo seu grande amor.

A vocês o meu eterno amor e agradecimento.

## SUMÁRIO

Resumo.....	vii
Abstract.....	viii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS E FIGURAS.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Potencialidades no desenvolvimento de produtos a partir de plantas medicinais.....	3
2.2 <i>Campomanesia adamantium</i> .....	6
2.3 Óleos essenciais.....	8
2.4 Aplicação dos Óleos essenciais.....	9
2.5 Microencapsulação.....	10
2.6 Inflamação e Dor.....	12
2.7 Estudos de Toxicidade.....	14
3. JUSTIFICATIVA.....	16
4. OBJETIVOS.....	17
5. REFERÊNCIAS.....	18
6. ARTIGOS.....	30
6.1 Artigo I.....	30
6.2 Artigo II.....	46
6.3 Artigo III.....	54
7. CONCLUSÃO GERAL .....	83
8. ANEXOS .....	84

## RESUMO

VISCARDI, Danieli Zuntini, M.S; Universidade Federal da Grande Dourados, abril de 2017. **Investigação da Atividade Anti-Inflamatória, Antidepressiva e Análise Toxicológica de Óleo Essencial e da Polpa Microencapsulada de *Campomanesia adamantium***. Orientadora: Dra. Eliana Janet Sanjinez Argandoña. Co-orientadoras: Dra. Cândida Aparecida Leite Kassuya e Dra. Iriani Rodrigues Maldonade.

*Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) é uma planta medicinal distribuída pelo Cerrado Brasileiro cujos frutos apresentam substâncias bioativas do ponto de vista nutricional e funcional, como ácido ascórbico, compostos fenólicos, terpenoides e outros. O presente trabalho avaliou os efeitos anti-inflamatórios e anti-hiperalgésicos do óleo essencial de semente e casca e da polpa microencapsulada de *C. adamantium*. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho do tipo de Clevenger. As microcápsulas consistiram da atomização de amostras preparadas usando 24% de agentes encapsulantes, sendo 8% maltodextrina, 8% goma arábica e 8% de quitosana, 16% água destilada e 60% polpa de guavira. Modelos experimentais de inflamação aguda de edema de pata e pleurisia, atividade nociceptiva, hiperalgesia aguda foram testados em camundongos, bem como a toxicidade aguda, subaguda e reprodutiva da polpa microencapsulada em modelos de animais. A administração oral de óleo essencial de *C. adamantium* nas doses de 100 e 300 mg/kg diminuíram significativamente a formação do edema de pata, enquanto na pleurisia as doses de 100 e 300 mg/kg diminuíram significativamente o número total de leucócitos no lavado pleural. Houve redução na primeira e segunda fase do teste de nocicepção induzida por formalina. Para a polpa microencapsulada de *C. adamantium* foi observada redução significativa na migração de leucócitos após 4 horas de injeção de carragenina para ambas as doses testadas de 100 e 300 mg/kg, com relação ao edema de pata, houve inibição em todos os tempos, e a inibição máxima alcançada foi com a dose de 300 mg/kg. As doses de 100 e 300 mg/kg também reduziram o tempo de lambertura nas fases inflamatórias do teste de nocicepção induzida por formalina. Em hiperalgesia induzida por CFA, houve aumento significativo no limiar de retirada da pata após o décimo dia de tratamento em comparação com o grupo controle. A toxicidade aguda foi avaliada através da administração oral de doses únicas de 175, 560, 1792 e 2000 mg/kg da polpa microencapsulada em ratos machos. Comportamento geral e sinais clínicos de toxicidade foram observados durante 14 dias. Nos testes de toxicidade subaguda, as fêmeas receberam 1000 ou 2000 mg/kg/dia (via oral) da polpa microencapsulada durante 28 dias. Desta forma, no presente estudo, demonstrou-se que o óleo essencial extraído da semente e da casca e a polpa microencapsulada de *C. adamantium* são agentes anti-inflamatórios, anti-hiperalgésicos. A polpa microencapsulada pode ser considerada segura sem causar toxicidade. A microencapsulação por atomização provou ser uma técnica eficiente na preservação dos componentes bioativos da polpa da guavira.

**Palavras-chave:** guavira; inflamação, hiperalgesia, atomização, microcápsulas.

## ABSTRACT

VISCARDI, Danieli Zuntini, M.S; Universidade Federal da Grande Dourados, april of 2017. Investigation of the Anti-Inflammatory Activity, Antidepressive and Toxicological Analysis of Essential Oil and the Microencapsulated Pulp of *Campomanesia adamantium*.. Adviser: Dr. Eliana Janet Sanjinez-Argandoña. Co-adviser: Dr. Cândida Aparecida Leite Kassuya and Dr. Iriani Rodrigues Maldonade.

*Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) is a medicinal plant distributed in the Brazilian Savannah, whose fruits present bioactive substances from a nutritional and functional point of view, such as ascorbic acid, phenolic compounds, terpenoids and others. The present work evaluated the anti-inflammatory and anti-hyperalgesic effects of the seed and peel of essential oil and the microencapsulated pulp of *C. adamantium*. The essential oil was obtained by hydrodistillation in a Clevenger type apparatus.. The microcapsules consisted of the atomization of samples prepared using encapsulating agents (24%), like maltodextrin (8%), gum Arabic (8%) and chitosan (8%), distilled water (16%) and guava pulp (60%). Experimental models of acute inflammation of paw oedema and pleurisy,, nociceptive activity, acute hyperalgesia were tested in mice as well as acute, subacute and reproductive toxicity of microencapsulated pulp in animal models. Oral administration of essential oil of *C. adamantium* at doses of 100 and 300 mg/kg significantly decreased the formation of paw oedema, while in pleurisy at doses of 100 and 300 mg/kg significantly decreased the total number of leukocytes in pleural lavage. There was a reduction in the first and second phases of the formalin-induced nociception test. For the microencapsulated pulp of *C. adamantium*, a significant reduction in the leukocyte migration was observed after 4 hours of carrageenan injection for both doses of 100 and 300 mg/kg, in relation to paw oedema, there was an inhibition at all times, and the maximum inhibition achieved was at the dose of 300 mg/kg. The doses of 100 and 300 mg/kg also reduced the licking time in the inflammatory phases of the formalin-induced nociception test. In CFA-induced hyperalgesia, there was a significant increase in the paw withdrawal threshold after the 10th day of treatment compared to the control group. Acute toxicity was assessed by oral administration of single doses at 175, 560, 1792 and 2000 mg/kg of microencapsulated pulp in male rats. General behavior and clinical signs of toxicity were observed for 14 days. In the subacute toxicity tests, females received 1000 or 2000 mg/kg/day (oral) of the microencapsulated pulp for 28 days. Thus, in the present study, it was demonstrated that the essential oil extracted from the seed and peel and the microencapsulated pulp of *C. adamantium* are anti-inflammatory, anti-hyperalgesic agents. The microencapsulated pulp can be considered safe without causing toxicity. The microencapsulation by atomization proved to be an efficient technique for the preservation of the bioactive components of guavira pulp.

**Keywords:** guavira; inflammation; hyperalgesy; atomization; microcapsules



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**AIES:** Anti-inflamatórios esteroidais

**ANOVA:** Análise de Variância

**ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**BDS:** Budesonida encapsulada

**CG:** Carragenina

**CEUA:** Comitê de Ética no Uso de Animais

**CFA:** Complexo Adjuvante de Freund

**CG:** Cromatografia gasosa

**COX-1:** ciclooxigenase-1

**COX-2:** ciclooxigenase-2

**DL<sub>50</sub>:** Dose Letal 50%

**EOP:** Óleo Essencial extraído da casca de *Campomanesia adamantium*

**EOS:** Óleo Essencial extraído da semente de *Campomanesia adamantium*

**EM:** Espectrometria de massas

**FAP:** Fator de ativação plaquetária

**IL-10:** Interleucina 10

**LDL:** Lipoproteína de Baixa Densidade

**NF- $\kappa$ B:** Fator Nuclear kappa B:

**NO:** Óxido nítrico

**OECD:** Organization for Economic Cooperation and Development

**OMS:** Organização Mundial da Saúde

**PGs:** Prostaglandinas

**SNC:** Sistema Nervoso Central

**WBC:** Contagem de Células Brancas

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Frutos de <i>Campomanesia adamantium</i> do Bioma Cerrado.....	6
<b>Figura 2:</b> Micrografias de amostras da polpa de guavira em pó produzidas por atomização a 180°C .....	10

## 1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é considerado o segundo maior bioma do Brasil e da América do Sul ocupando cerca de um quarto do território brasileiro. Apresenta alta biodiversidade, por reunir grande variedade de flora encontrada nos diferentes tipos fisionômicos de paisagens que incluem campos, savanas, veredas e florestas, determinadas por variações conforme topografia e disponibilidade de água (PEIXOTO et al., 2016). Entre as peculiaridades do Cerrado pode-se ressaltar sua riqueza em espécies frutíferas nativas com propriedades nutricionais e compostos bioativos importantes para a saúde humana, aliados ao bom paladar.

As fruteiras nativas no ecossistema do Cerrado ocupam lugar de destaque e têm sido alvo de diversos estudos, com grande potencial de utilização pela população local. Dentre as espécies, os frutos de *Campomanesia adamantium* destacam-se pelo aroma peculiar e sabor adocicado, sendo consumidos *in natura* ou processados na forma de sucos, licores, sorvetes, geleias e doces diversos (VIEIRA et al., 2006; CLERICI et al., 2011). As folhas e os frutos são empregados no tratamento de diarreias, inflamações, além de possuírem propriedades reestruturantes, auxiliando na digestão (RAMOS et al., 2007).

O fruto da *C. adamantium*, popularmente conhecido como guavira apresenta macronutrientes essenciais importantes para a saúde humana, porém é sazonal e altamente perecível, sendo o período de colheita de setembro a novembro. A polpa apresenta baixo valor energético devido à reduzida concentração de lipídeos, contudo é rica em compostos fenólicos, vitamina C e  $\beta$ -caroteno (MALTA et al., 2012; SANTOS et al., 2013), esses compostos são formados durante o metabolismo secundário das plantas e atuam como agente antioxidante.

O papel dos antioxidantes naturais na prevenção de doenças como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas é amplamente conhecido. Desta forma, diversos estudos têm investigado frutas, hortaliças e cereais como fonte desses compostos (MALTA et al., 2012; CHUNG, 2016).

Embora a polpa da *C. adamantium* tenha potencial para ser utilizada na indústria de alimentos e como flavorizante na indústria de bebidas, em função dos atributos relatados (CAMPOS et al., 2012), a sua alta perecibilidade dificulta sua

utilização. Uma das técnicas para prolongar a vida útil da polpa é a desidratação por atomização (OLIVEIRA et al., 2015). A atomização é uma alternativa para preservar constituintes funcionais, aumentar a estabilidade do produto, viabilizar seu consumo fora da época de coleta, bem como reduzir custos de embalagem e armazenamento.

O processo de atomização envolve a pulverização de alimento líquido em meio quente resultando na rápida evaporação da água. O diferencial deste processo é o tempo de permanência do produto no secador, o que é favorável à conservação de produto ou de substâncias termossensíveis.

Além da polpa, é possível aproveitar a casca e a semente dos frutos extraíndo óleos voláteis ou essenciais que apresentam substâncias aromáticas e princípios ativos que permitem a elaboração de novos produtos para uso medicinal, alimentício ou cosmético. Estudos realizados com folhas de *C. adamantium* comprovaram sua ação na redução do processo inflamatório em modelo animal induzido por carragenina, além das propriedades antinociceptivas relacionadas com a modulação da liberação de mediadores inflamatórios envolvidos na nocicepção, como por exemplo, o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina-10 (IL-10) (FERREIRA et al., 2013). Recentemente, estudos científicos mostraram ainda efeito na redução do nível de colesterol (KLAFKE et al., 2010; VIECILI et al., 2014), na prevenção de trombooses (KLAFKE et al., 2012), bem como na ação anti-inflamatória (SOUZA et al., 2014).

Diante de todas essas possibilidades de aplicação e do aproveitamento integral do fruto da *C. adamantium*, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade anti-inflamatória e anti-hiperalgésica do óleo essencial da casca e semente, bem como avaliar os efeitos tóxicos da polpa microencapsulada de *C. adamantium*, por parâmetros hematológicos, bioquímicos e reprodutivos em modelos de animais.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Potencialidades no desenvolvimento de produtos a partir de plantas medicinais**

O desenvolvimento de novos produtos alimentícios torna-se cada vez mais desafiador, à medida que procura atender à demanda da população por produtos naturais e saudáveis. Conseqüentemente, a alimentação dos indivíduos com estilo de vida saudável tende a ser um ato prazeroso e que ao mesmo tempo visa a saúde e o bem estar.

Os efeitos benéficos de determinados tipos de alimentos sobre a saúde já são conhecidos há muito tempo. Diante disto, os produtos naturais têm sido utilizados como fontes de componentes ativos de drogas, cujo interesse tem aumentado devido, principalmente, à alta diversidade de agentes químicos (ALVES et al., 2014; CRAGG & NEWMAN, 2013; TABASSUM et al., 2014; LALL & KISHORE, 2014). Assim, os alimentos que contribuem com a nutrição por conterem substâncias consideradas biologicamente ativas, produtoras de benefícios clínicos são denominados alimentos funcionais ou nutracêuticos (STANTON et al., 2005; ROBERFROID, 2005). Um produto nutracêutico pode ser definido como uma substância que tem benefício fisiológico ou proporciona proteção a várias patologias. Esses produtos podem ser usados para melhorar a saúde, retardar o processo de envelhecimento (SOUZA, 2008), prevenir doenças crônicas, aumentar a expectativa de vida ou apoiar a estrutura ou função do corpo, sendo considerados suplementos nutricionais utilizados para fins de saúde (CHAUHAN et al., 2013; ZEISEL, 1999).

Atualmente, os nutracêuticos têm recebido interesse considerável devido ao potencial nutricional, à segurança no consumo e aos efeitos terapêuticos. Estudos recentes demonstraram resultados promissores desses alimentos em várias complicações patológicas, tais como diabetes (BARADARAN et al., 2013), aterosclerose (NASRI 2013; MADIHI et al., 2013), doenças cardiovasculares (KHOSRAVI-BOROUJENI et al., 2012; 2013), câncer (SHIRZAD et al., 2011; 2013), inflamação (RAFIEIAN-KOPAEI et al., 2014), neurológicas (ROOHAFZA et al., 2013), além de antioxidante (PARSAEI et al., 2013; KAFASH-FARKHAD et al., 2013). Deste modo, são consideradas fontes saudáveis de promoção da saúde, especialmente para a prevenção de doenças (NASR et al., 2014). Primeiramente, por apresentarem efeitos controlados

sobre o seu alvo biológico, que podem ser alcançados pelo efeito cumulativo, cujos benefícios diários somam-se ao intervalo de tempo de resposta, sendo mais longo em doenças crônicas. Em segundo lugar, por fornecerem alternativa mais segura, pois o seu uso é desprovido de efeitos colaterais.

Esforços têm sido feitos para apresentar produtos nutracêuticos a base de partes de plantas, uma vez que os produtos naturais apresentam diversidade química e são fontes de novos compostos ativos com importância econômica (MISHRA; TIWARI, 2011; GUERRA & NODARI, 2004) como, por exemplo, os fitoterápicos que são medicamentos obtidos exclusivamente de matérias primas de vegetais (BRASIL, 2004). Os fitoterápicos são amplamente utilizados pela população humana, principalmente nos países que estão em desenvolvimento, onde a falta de recursos financeiros dificulta o acesso ao tratamento de doenças pela medicina convencional, intensificando a busca de novas substâncias ativas provenientes de produtos naturais (REYES-GARCÍA, 2010).

Espécies vegetais, do ponto de vista terapêutico, podem ser utilizadas das mais variadas formas incluindo chás, extratos, tinturas, extratos em pó, ou mesmo passar por processos de purificação para o isolamento de compostos de interesse (NEWMAN et al., 2000; BUTLER, 2004). A identificação de substâncias bioativas presentes em plantas medicinais, até o momento não elucidadas, pode contribuir para ampliar as possibilidades terapêuticas no tratamento da inflamação e da dor.

A maioria das plantas existentes é encontrada nos países tropicais, e estima-se que aproximadamente 25% das espécies ocorram originalmente no Brasil (ROGRIGUES et al., 2011). O Brasil é considerado um dos países com maiores perspectivas para a exploração econômica da biodiversidade do planeta. De acordo com o Ministério do Meio Ambiente é o país com maior número de espécies animais e vegetais, que se traduz em mais de 20% do número total de espécies da Terra (BRASIL, 2017).

O uso popular das plantas medicinais aliada aos estudos alimentícios, fitoquímicos e estudos sobre aproveitamento alimentar é apontado como um dos caminhos mais promissores para a descoberta de compostos bioativos com atividade terapêutica.

No Cerrado Brasileiro encontram-se diversas espécies com alto valor alimentício e medicinal (PEREIRA et al., 2012; DRESCH et al., 2013; SCALON et al.,

2013). Dentre as diversas plantas utilizadas para fins terapêuticos, temos as da família Myrtaceae, que são encontradas em áreas do Cerrado, da Mata Atlântica no Sudeste e Sul do Brasil (LORENZI, 2000; SOBRAL 2003; DURIGAN, 2004).

Têm sido descritas as potencialidades do uso alimentício e terapêutico dos frutos das Myrtaceae, tais como anti-inflamatória (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002; LORENZI & ABREU MATOS, 2002), cicatrizante (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002; LORENZI & ABREU MATOS, 2002), antisséptica (GONÇALVEZ et al., 2005), antidiarreica (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002; LORENZI & ABREU MATOS, 2002), antiulcerogênica (DONATINI et al., 2009), antioxidante (DONATINI et al., 2009) e antimutagênica (NERI-NUMA et al., 2013).

Estudos científicos têm demonstrado que plantas de *Campomanesia*, são utilizadas como antimicrobianas (COUTINHO et al, 2008; CARDOSO et al., 2010; CHANG et al., 2011), antioxidantes (RAMOS et al., 2007; COUTINHO et al., 2009, 2010; RUFINO et al., 2010; PALOZZA et al., 2012), antirreumáticas (ALICE et al., 1995), anti-inflamatórias e antinociceptivas (MICHEL, 2011; VIECILI et al., 2014), gastroprotetivas (MADALOSSO et al., 2012, MARKMAN et al., 2004), antidiarréicas (SOUZA-MOREIRA et al., 2011), antiobesogênicas (BIAVATTI et al., 2004; DICKEL et al., 2007), redutoras dos níveis de glicose no sangue (VINAGRE et al., 2010; TROJAN-RODRIGUES et al.,2012), entre outros.

Infusões obtidas de folhas de *C. xantocarpa* são usadas para o tratamento de disenteria e perturbações hepáticas (ALICE et al., 1995; (MARKMAN et al., 2004), bem como agentes anti-inflamatórios e antirreumáticos (SANTOS et al., 2006). Além disso, a planta é popularmente usada para perda de peso e no controle de uma série de condições associadas à obesidade (DICKEL et al., 2007). Ainda de acordo com KLAFKE et al. (2010), o tratamento com extrato de *C. xanthocarpa* reduziu o colesterol total do sangue e os níveis de lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) em pacientes hipercolesterolêmicos. Todavia, os frutos de *Campomanesia*, em geral, apresentam grande potencial econômico seja na alimentação pelo consumo do fruto fresco, ou na preparação de doces, gelados e licores caseiros (PEREIRA et al., 2012).

## 2.2 *Campomanesia adamantium*

É um arbusto nativo frutífero abundante em campos de Cerrado no Mato Grosso do Sul, estendendo-se até o Sudoeste do Brasil e em outros países do hemisfério Sul, como o Paraguai, Uruguai e Argentina (LORENZI, 2002, SOBRAL et al., 2014). A espécie é caracterizada por apresentar pequenas flores branco-creme e frutos constituídos de polpa amarelo-esverdeada de aroma cítrico e com várias sementes.

O fruto é comumente conhecido como guavira (Fig. 1), gabioba ou guabioba, cuja colheita ocorre entre os meses de setembro e dezembro (AVIDOS & FERREIRA, 2003). A polpa possui sabor agradável ao paladar, é fonte de vitamina C (VALLILO et al., 2006; BREDA et al., 2012), importante nutriente envolvido em diversas funções biológicas no organismo humano.



**Figura1:** Frutos de *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) do Bioma Cerrado. **Fonte:** Danieli Z. Viscardi, 2015.

Frutos e infusões de folhas de *C. adamantium* são amplamente consumidos na forma de bebidas frescas, principalmente pelos indígenas (DUARTE et al., 2009; BRANDELLI et al., 2009). Os frutos apresentam compostos fenólicos, chalconas, carotenóides e vitaminas (MARTELLO et al., 2016). Os polifenóis são muito estudados e relacionados às várias propriedades biológicas, entre elas cardioprotetora,



anticarcinogênica, podendo estar associados a efeitos preventivos do estresse oxidativo em diversas patologias pela ação antioxidante que exercem alguns compostos (DAI & MUMPER, 2010)

Os frutos de *C. adamantium* apresentam efeito antimicrobiano (VALLILO et al., 2006, CARDOSO et al., 2010; PAVAN et al., 2014), atividade antioxidante (ALÍA et al., 2006) efeitos quimiopreventivos (RAHMAN, 2011), atividade antiproliferativa (PASCOAL, 2012), atividade apoptótica em células PC-3 de carcinoma da próstata humana (PASCOAL et al., 2015) associado à presença de chalconas, bem como ação anti-inflamatória, anti-hiperalgésica e antidepressiva (FERREIRA et al., 2013; SOUZA et al., 2014). Estudos recentes de *C. adamantium* têm apontado pesquisas de análises morfológicas e moleculares (DE ASSIS et al., 2013), atividade antidiarréica (LESCANO et al., 2016), efeitos antioxidantes e anti-hiperlipidêmicos (ESPINOLA et al., 2016).

PASCOAL et al. (2014) isolaram e identificaram a chalcona 2',4'-di-hidroxi-6'-metoxichalcona da *Campomanesia*???, que mostrou atividade antiproliferativa promissora contra algumas das linhas celulares tumorais humanas estudadas. Compostos e substâncias da classe das chalconas foram descritos como agentes analgésicos naturais (RAYGUDE et al., 2012) e apresentaram efeitos quimiopreventivos e antitumorais (RAHMAN, 2012).

De acordo com Dewick (2005), o aumento do teor de chalcona pode estar corroborando a uma estratégia biossintética para a formação de flavononas que poderiam interferir na produção de metabólitos secundários de plantas, como estratégia de defesa (HARBONE, 1994). Além disso, segundo Coutinho et al. (2010), esse aumento de flavonoides na superfície da folha, pode ser uma forma de proteção contra a luz solar ou como mecanismo de defesa da planta contra insetos.

Sabe-se que os flavonoides apresentam propriedades analgésicas e anti-inflamatórias pela inibição de enzimas envolvidas na inflamação e dor em diversas partes do sistema nervoso (COUTINHO et al., 2010). Os flavonoides são compostos fenólicos de ampla ocorrência na natureza, sendo-lhes atribuídas diversas atividades farmacológicas, como antitumoral, antialérgica, antioxidante, antiulcerogênica e antiviral (NESTEL, 2003; SILVA et al., 2010; ROCHA, 2011). Nos frutos estão presentes diferentes compostos antioxidantes, como Vitamina C, Vitamina E,

carotenoides e polifenóis que apresentam potencial efeito de proteção na prevenção de processos degenerativos como câncer e doenças cardiovasculares (RAMIREZ- PRADO et al., 2015).

A função anti-inflamatória desempenhada pelos flavonóides presentes em alimentos é de notável importância, uma vez que esses compostos poderiam ser uma opção de escolha no tratamento dos processos inflamatórios, reação fisiológica a uma variedade de estímulos como infecção e danos teciduais (REGINATO et al., 2015).

### **2.3 Óleos Essenciais**

Os óleos essenciais ou voláteis são metabólitos secundários produzidos e armazenados nos órgãos secretores das plantas aromáticas. (CHRISTAKI et al., 2012, CUNHA et al., 2012) formados por misturas complexas de diversas moléculas orgânicas como os hidrocarbonetos terpênicos, ácidos carboxílicos, acetatos, álcoois simples, ésteres, aldeídos, cetonas, fenóis, furanos, lactonas e cumarinas (COUTINHO et al., 2009), constituídos por frações voláteis naturais (SANTOS et al., 2004). Na natureza, os óleos essenciais têm a função de proteção da planta, garantindo o seu crescimento saudável e a propagação da espécie.

As estruturas secretoras podem estar localizadas em diversos órgãos do vegetal, como flores, folhas, cascas, rizomas e frutos (LANE et al., 2010). Assim, a composição do óleo pode variar em função da parte específica da planta de onde é extraído, dos fatores genéticos, ambientais e de métodos de extração. Os constituintes pertencem principalmente a dois grupos químicos: terpenóides (monoterpenos e sesquiterpenos de baixo peso molecular) e, em menor grau, fenilpropanóides (REGNAULT-ROGER et al., 2012).

As técnicas de extração de óleos essenciais empregadas são arraste de vapor, hidrodestilação e prensagem ou extração com solventes orgânicos (SANTOS, 2004; CASSEL et al., 2009). O aparelho de Clevenger é o mais utilizado em função da praticidade e do baixo custo (PRINS et al., 2006). Na hidrodestilação, o material vegetal é imerso em água e, sob ebulição, a formação de vapores arrasta os compostos voláteis, promovendo a separação do óleo essencial.

## 2.4 Aplicação dos Óleos Essenciais

O uso dos óleos essenciais como agente medicinal é conhecido desde o início da vida primitiva, tanto para a alimentação, quanto para práticas religiosas e busca do bem estar físico. As substâncias aromáticas presentes nos óleos essenciais promovem no organismo sensação de bem estar. Nos alimentos, o aroma é um dos atributos sensoriais.

Nos óleos essenciais se destacam alguns compostos majoritários, mas sua atividade biológica na maioria das vezes está relacionada ao conjunto de substâncias em sua composição. Os metabólitos secundários ativos são produzidos de acordo com os estímulos do ambiente em que a planta se encontra. Além disso, esses metabólitos apresentam várias bioatividades de importância vital para a saúde humana, como antioxidante e anti-inflamatória (LV et al., 2015).

A casca dos frutos cítricos possui diversos metabólitos secundários, responsáveis por sua proteção contra fatores bióticos e abióticos, como terpenoides, carotenoides, e flavonoides, principalmente flavononas (AHMAD et al., 2006). Esses compostos presentes têm despertado interesse em diversas áreas em virtude da bioatividade, como a antioxidante (CHOI et al., 2000).

Estudos científicos relatam atividade antioxidante dos óleos essenciais dos frutos (COUTINHO et al., 2009) e de folhas de *C. adamantium* (OLIVEIRA et al., 2016). Já, em estudo realizado por Valillo et al. (2006), identificaram-se as seguintes substâncias presentes no óleo extraído dos frutos da *C. adamantium*, os sesquiterpenos cariofileno e seu isômero  $\alpha$ -cariofileno, os monoterpenos ocimeno, 3-careno e do D-limoneno.

A ação benéfica dos óleos essenciais da *C. adamantium* é atribuída principalmente ao limoneno, substância majoritária presente nos óleos essenciais de frutos cítricos (HIROTA et al., 2010). O limoneno é usado pelas indústrias farmacêutica e alimentícia como componente aromático, principalmente para dar aroma e sabor (flavorizantes), podendo ser empregado também na composição de novos compostos, nas comidas, bebidas, na obtenção de sabores artificiais de menta, fabricação de doces e chicletes e na produção de perfumes. No caso do limoneno, tem sido utilizado também, como solvente biodegradável (BERGER et al., 2002) e inseticida (JUNIOR et al., 2013).

A atividade anti-inflamatória do limoneno tem sido amplamente estudada (REHMAN et al., 2014; RUFINO et al., 2015), seu principal mecanismo envolve a

inibição do NFkB (D'ALESSIO et al., 2013). Em ensaios inflamatórios, o D-limoneno (CHI et al., 2013; MARTIN, et al., 2003) exibiu potencial anti-inflamatório. O limoneno constitui aproximadamente 10% do óleo de *S. terebinthifolius*, que também demonstrou atividade anti-inflamatória em ensaios *in vivo* (PICCINELLI et al., 2015), corroborando com os resultados apresentados com o óleo essencial de *Ocimum kilimandscharicum* (LIMA et al., 2012). Outras evidências sugerem ainda que o limoneno possui atividade antinociceptiva (Do AMARAL et al., 2007).

A ação benéfica do limoneno também foi evidenciada no tratamento de tumores malignos, câncer de mama, pâncreas e próstata, quando administrado isoladamente na dieta alimentar de roedores (CROWELL, et al., 1996) e do  $\beta$ -cariofileno que apresenta atividade espasmolítica (CABO, et al., 1986) e anestésica local (GHELARDINI, et al., 2001).

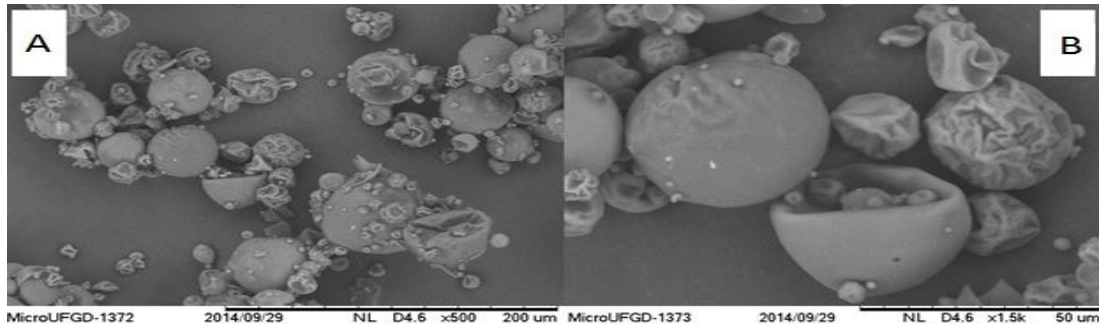
Entre as outras substâncias voláteis presentes nos óleos essenciais estão o thujopseno e  $\beta$ -pineno, aos quais foram atribuídos ação anti-inflamatória. Esteves et al. (2005), observaram que o thujopseno do óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* também apresentou atividade anti-inflamatória. Afoulous et al. (2013), demonstraram que o  $\beta$ -pineno está presente no óleo essencial de folhas de *Cedrelopsis* e nos óleos essenciais de flores de *Citrus unshiu* que apresentam atividade anti-inflamatória.

## 2.5 Microencapsulação

A microencapsulação é o processo de empacotamento com finas coberturas poliméricas aplicáveis em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso, formando pequenas partículas denominadas microcápsulas (Fig. 2) ou micropartículas, que podem liberar seu conteúdo de forma controlada e sob condições específicas (SANTOS et al., 2001).

Segundo Favaro-Trindade (2008), as microcápsulas são consideradas embalagens extremamente pequenas, compostas por um polímero como material de parede e um material ativo chamado de núcleo. Enquanto as embalagens convencionais normalmente são empregadas para facilitar transporte, armazenagem, manipulação e apresentação do produto, as microcápsulas são geralmente empregadas para melhorar a liberação do agente bioativo ou criar novas aplicações. Assim, trata-se de uma

tecnologia inovadora que tem sido empregada com êxito nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia.



**Figura 2:** Micrografias de polpa de guavira em pó produzidas por atomização a 180°C com 8% de maltodextrina, 8% de goma arábica e 8% de quitosana. Imagens com aumento de (A) 500x e (B) 1500x. Fonte: Vinicius Soares de Oliveira (2015).

Nos últimos anos, há uma tendência mundial que aponta para a necessidade de que os alimentos não sejam mais somente vistos como uma fonte de nutrientes com apelo sensorial, mas também como fonte de bem-estar e de saúde para os indivíduos. Esta mudança de perspectiva requer mudanças de paradigma no desenvolvimento de novos produtos, aplicando-se os métodos tradicionais, mas também observando a necessidade do controle da bioacessibilidade de determinados componentes dos alimentos. Essa abordagem torna-se cada vez mais relevante conforme se estabelecem as relações entre genética, alimentação e saúde (SANGUANSRI e AUGUSTIN, 2006), e a microencapsulação é um meio efetivo de se alcançar tais objetivos.

Existem várias técnicas que podem ser utilizadas na microencapsulação, sendo que a seleção do método dependerá da aplicação que será dada à microcápsula, do tamanho desejado, do mecanismo de liberação e das propriedades físico-químicas, tanto do material ativo, quanto do agente encapsulante (JACKSON e LEE, 1991). Os agentes encapsulantes ou carreadores mais empregados são a maltodextrina, goma arábica e quitosana. A maltodextrina é altamente solúvel em água, pouco higroscópica, relativamente barata, facilmente disponível e tem boa relação entre custo e eficácia na produção de micropartículas (CANO-HIGUITAET et al., 2015).

Vários estudos de secagem por atomização têm sido realizados para obter frutas e vegetais em pó visando conservar algum componente bioativo (CHEN et al., 2014). A secagem por *spray drying* ou atomização é um processo amplamente utilizado em

alimentos sensíveis ao calor, principalmente porque produz partículas com baixa atividade de água em temperaturas relativamente baixas e curtos períodos de tempo (RODRIGUES et al., 2011). Durante o processo, ocorre a evaporação do líquido da solução do agente encapsulante com a formação da membrana ao redor das gotas do material ativo o que favorece a retenção dos constituintes nutricionais, vitaminas, minerais, pigmentos e aromas.

Na área de alimentos, a microencapsulação teve importantes aplicações, como, por exemplo, a encapsulação de vitaminas, aminoácidos, aromas, proteínas, óleos essenciais, com a finalidade de liberar gradualmente o aroma, evitar perdas nutricionais, e lipoperoxidação ou volatilização de óleos. Na agricultura é empregada para a encapsulação de pesticidas e fertilizantes, com a finalidade aplicação do produto mais eficaz, minimizando a perda do produto por degradação, evaporação ou dissolução e escoamento para fontes de água, prevenindo a contaminação ambiental.

A microencapsulação tem sido adequada para promover o aumento da biodisponibilidade oral de fármacos peptídicos (SILVA et al., 2003) e auxiliar no mascaramento do odor e sabor de medicamentos pela liberação controlada do princípio ativo. A eficácia da microencapsulação na liberação controlada de drogas foi verificada por Rodriguez et al. (2001) utilizando agente encapsulado e Varshosaz et al. (2011) empregando budesonide encapsulada, no tratamento de colite ulcerativa induzida em ratos.

## **2.6 Inflamação e Dor**

A inflamação é um processo de reposta do organismo a um agente nocivo, com envolvimento dos tecidos vascularizados, visando eliminar os agentes patogênicos que podem causar danos celulares (COLLINS, 1999; TRACEY, 2002; MOILANEN, 2014). Os sinais cardinais da inflamação são rubor (eritema), tumor (edema), calor (aumento temperatura na região) e dor, os quais estão associados intrinsicamente com a vasodilatação, edema e a migração de leucócitos para o local. Se não for controlada, a inflamação em si, pode levar a danos teciduais adicionais e dar origem a doenças inflamatórias crônicas e/ou auto-imune com eventual perda de função (CHEN et al., 2007; ALESSANDRI et al., 2013).

O processo inflamatório pode ser diferenciado em agudo e crônico. A inflamação aguda tem início logo após o dano e resulta na cura, mantendo-se por um curto período de tempo. A reação inflamatória aguda é geralmente mais rápida e apresenta alterações como o fluxo da microcirculação e o aumento da permeabilidade vascular. Ocorre também a migração dos leucócitos para o local da lesão. A inflamação crônica ocorre por tempo indeterminado e pode estar relacionada a algumas doenças, como artrite, aterosclerose, entre outras (MASKREY et al., 2011; TABAS E GLASS, 2013).

No processo inflamatório são produzidas substâncias provenientes do plasma que controlam a evolução da inflamação como as aminas, a bradicinina, os produtos da cascata do ácido araquidônico, as proteases plasmáticas, fator de ativação plaquetária, óxido nítrico, radicais livres de oxigênio. (CARVALHO E LEMÔNICA, 1998; FERREIRA, 2002).

Para combater a inflamação diversas classes de medicamentos são utilizadas, sendo anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) mais prescritos, pela eficiência no controle da dor, febre, edema e sinais envolvidos na inflamação (Marnett, 2009). O mecanismo de ação anti-inflamatório está relacionado com a inibição da liberação das enzimas ciclooxigenase-1 constitutiva (COX-1) e da ciclooxigenase-2 (COX-2), e conseqüentemente, a síntese e liberação das prostaglandinas (PGs), que são responsáveis pela formação do edema, vasodilatação e sensibilização nociceptiva.

Os anti-inflamatórios esteroidais (AIES), também chamados de glicocorticoides, possuem eficácia em diversas doenças inflamatórias e imunológicas, como artrite reumatóide, asma e dermatites. Seu mecanismo de ação relaciona-se à sua capacidade de interferir em múltiplas vias de transdução de sinal. Além disso, são capazes de ativar genes anti-inflamatórios (IL-10 e a lipocortina-1) e reprimir genes inflamatórios (citocinas e COX-2).

No que se refere à dor, a Associação Internacional para o Estudo da Dor define como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada com o dano tecidual real ou potencial ou descrita em termos de tais lesões” (LUMLEY et al., 2011). A expressão da dor varia de um indivíduo para outro. Os receptores da dor ou nociceptores são terminações nervosas livres presentes na pele, específicos para estímulo mecânico, térmico ou químico são mediados por canais iônicos. Os

nociceptores são os responsáveis por transmitir ao SNC a percepção de que houve uma lesão tecidual e que esta precisa ser restaurada (GEFFENEY e GOODMAN, 2012).

A dor também pode ser diferenciada em aguda ou crônica. A dor aguda é considerada fisiológica, como um sinal de alerta, com duração limitada no tempo e espaço, cessando com a resolução do processo nocivo. Já, a dor crônica, não tem a finalidade biológica de alerta e sobrevivência, sendo considerada doença, podendo persistir após a cura da lesão inicial, e se estender por meses ou anos.

## **2.7 Toxicidade**

Toxicidade é a capacidade inerente de uma substância em produzir efeitos nocivos num organismo vivo. Os estudos toxicológicos têm como principal objetivo avaliar a utilização segura, respeitando os possíveis riscos com doses ou concentrações determinadas, sendo regulamentados pela OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) e pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) classificados de acordo com o tempo de exposição em: toxicidade aguda, subaguda e crônica (OECD, 2008a; OECD, 2008b; ANVISA, 2013). O guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos estabelece parâmetros para os testes toxicológicos de produtos naturais, padronizando os estudos de toxicidade aguda, toxicidade de doses repetidas, toxicidade reprodutiva, dentre outros (ANVISA, 2013).

Testes de toxicidade aguda são utilizados para analisar os efeitos provocados após a administração de uma substância em uma única dose ou várias doses, administradas durante 24 horas (SIMÕES et al., 2004). No teste de toxicidade sub aguda os animais são observados diariamente e os parâmetros avaliados são o consumo de alimento e água, alterações na massa corporal, anormalidades motoras, comportamentais, morbidade e mortalidade, modificações bioquímicas, hematológicas, análises macroscópica e microscópica dos órgãos (OECD, 2008b).

Além disto, os estudos de toxicidade reprodutiva completam a avaliação toxicológica sistêmica, uma atenção especial tem sido dada a químicos ambientais que podem desregular a função endócrina, atuando como disruptores endócrinos (SHARPE, 1994; TOPPARI et al., 1996).



Os fitoestrógenos são substâncias presentes nas plantas que podem mimetizar a ação de hormônios naturais do organismo, interferindo com o sistema endócrino e acarretando diversos prejuízos para o trato reprodutor. Várias plantas já foram identificadas contendo compostos que atuam como fitoestrógenos, como, por exemplo, a isoflavona encontrada no grão de soja, brotos de alfafa, sementes de linhaça e trevo vermelho (U.S. EPA, 1997; CLAPAUCH et al., 2002). Diante do exposto, a lavagem vaginal é um método importante para avaliar as alterações ocorridas durante o ciclo estral relacionadas as mudanças nos níveis de estradiol durante as 4 fases do ciclo: Proestro, Estro, Metaestro e Diestro. Essas fases podem ser definidas a partir de uma análise celular: o proestro é uma fase rápida, caracterizada pela presença de células epiteliais nucleadas pequenas, redondas. O estro é fase onde há presença de células epiteliais queratinizadas predominantemente anucleadas, nesta fase a fêmea está no cio, as duas primeiras fases são estrogênicas, as seguintes (metaestro e diestro) são consideradas luteínicas. O metaestro é caracterizado por uma combinação de células epiteliais queratinizadas anucleadas e neutrófilos e o diestro apresenta predominância de leucócitos (CORA et al., 2015).

Considerando o exposto acima, em virtude das poucas informações de atividades biológicas do óleo essencial e da polpa microencapsulada de *C. adamantium*, há necessidade de analisar seu potencial terapêutico e possíveis efeitos tóxicos.

### **3. JUSTIFICATIVA**

É crescente o interesse da busca por espécies de plantas com potencial alimentício e terapêutico. Isso ocorre devido ao surgimento de novas doenças e ao aumento da resistência de pacientes ao efeito das drogas que estão disponíveis atualmente no mercado. Componentes químicos potencialmente ativos e com menores efeitos colaterais tem sido um dos focos das pesquisas nessa área.

Como o Brasil abriga uma flora rica e diversa, pesquisas com produtos de origem natural encontram vasto material para ser investigado, o que coloca em destaque os estudos que direcionam as investigações ao conhecimento de novas substâncias e ao melhor aproveitamento dos recursos naturais.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Avaliar a atividade anti-inflamatória e anti-hiperalgésica do óleo essencial da casca e semente e da polpa microencapsulada dos frutos de *Campomanesia adamantium* em roedores.

### **4.2 Objetivos Específicos**

1. Determinar a composição química do óleo essencial da semente e casca da *C. adamantium*.
2. Avaliar o efeito anti-inflamatório do óleo essencial da semente e casca e polpa microencapsulada da *C. adamantium* em roedores.
3. Avaliar a atividade anti-inflamatória, anti-hiperalgésica e antidepressiva da polpa microencapsulada da *C. adamantium*.
4. Investigar a toxicidade aguda, subaguda e reprodutiva da polpa microencapsulada dos frutos de *C. adamantium*.

## 5. REFERÊNCIAS

- Afoulous S, Ferhout H, Raelison EG, Valentin A, Moukarzel B, Couderc F, Bouajila J (2013) Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei*. *Food Chem Toxicol* 56: 352-362.
- Ahmad MM, Rehman S, Iqbal Z, Anjum FM, Sultan JI (2006) Genetic variability to essential oil composition in four citrus fruit species. *Pakistan J Bot* 38:319-324.
- Alía M, Ramos S, Mateos R, Granado-Serrano AB, Bravo L, Goya L (2006) Quercetin protects human hepatoma HepG2 against oxidative stress induced by tert-butyl hydroperoxide. *Toxicol Appl Pharmacol* 212: 110-118.
- Alice CB, Saraiva de S NC, Mentz LA, Silva GAB, José KFD (1995) Plantas medicinais uso popular (Atlas farmacognóstico). Editora da ULBRA, Canoas.
- Alves ACS, Moraes DC, de Freitas GBL, Almeida DJ (2014) Botanical, chemical, pharmacological and therapeutic aspects of *Hypericum perforatum* L. *Rev Bras Plantas Med* 16: 593-606.
- ANVISA (2013) Guia para condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Brasília.
- Alessandri AL, Sousa LP, Lucas CD, Rossi AG, Pinho V, Teixeira MM (2013) Resolução de inflamação : mecanismos e oportunidade para o desenvolvimento de fármacos. *Pharmacol Ther* 139: 189-212
- Auberval N, Dal S, Bietiger W, Seyfritz E, Peluso J, Muller C, Zhao M, Marchioni E, Pinget M, Jeandidier N, Maillard E, Schini-Kerth V, Sigrist S (2015) Oxidative Stress Type Influences the Properties of Antioxidants Containing Polyphenols RINm5F Beta Cells. *J Evid Based Complementary Altern Med* 5: 1-11.
- Avidos MFD, Ferreira LT (2003) Frutos do Cerrado: preservação gera muitos frutos. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/bio15/frutos.pdf>. Acesso em: 02 março 2017.
- Baradaran A, Madihi Y, Merrikhi A, Rafieian-Kopaei M, Nasri H (2013) Serum lipoprotein (a) in diabetic patients with various renal function not yet on dialysis. *Pak J Med Sci* 9(Suppl): 354-357.
- Berger RG, Krings U & Zorn H (2002) Biotechnological flavours generation. In: Taylor AJ (ed). *Food Flavour Technology*. Sheffield Academica Press, Sheffield, 60-104.
- Biavatti MW, Farias SN, Prado SRT (2004) Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenesis* (Jacq.) J. F. Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. *J Ethnopharmacol* 393: 385-389.

Brandelli CLC, Giordani RB, Carli GA, Tasca T (2009) Indigenous traditional medicine: in vitro anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea. *Parasitol Res* 104: 1345-1349.

BRASIL (2017) Ministério Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>. Acesso em: 15 março 2017.

BRASIL (2004) Resolução - RDC nº. 48, de 16 de março de 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/registro/legis.htm>. Acesso: 02 fevereiro 2017.

Breda CA, Sanjinez-Argandoña EJ, Correia CAC (2012) Shelf life of powdered *Campomanesia adamantium* pulp in controlled environments. *Food Chem* 135: 2960-2964.

Butler MS (2004) The role of natural product chemistry in drug discovery. *J Nat Prod* 67: 2141-2153.

Cabo J, Crespo ME, Jimenez J, Zarzuelo A (1986) The spasmolytic activity of various aromatic plants from the province of Granada. The activity of major components of their essential oils. *Planta Med* 20: 213-218.

Campos RP, Hiane PA, Ramos MIL, Ramos Filho MM, Macedo MLR (2012) Conservação pós-colheita de guavira (*Campomanesia sp.*). *Rev Bras Frutic* 34: 41-49.

Cano-Higueta DM, Villa-Vélez HA, Telis-Romero J, Váqui-ro HA, Telis VRN (2015) Influence of alternative drying aids on water sorption of spray dried mango mix powders: a thermodynamic approach. *Food and Bioproducts Processing* 93: 19-28.

Cardoso CA, Salmazzo GR, Honda NK, Prates CB, Vieira MC, Coelho RG (2010) Antimicrobial activity of the extracts and fractions of hexanic fruits of *Campomanesia* species (Myrtaceae). *J Med Food* 13: 1273-1276.

Carvalho WA, Lemônica L (1998) Mecanismos celulares e moleculares da dor inflamatória. Modulação periférica e avanços terapêuticos. *Rev Bras Anest* 48: 137-158.

Cassel E, Vargas RMF, Martinez N, Lorenzo D, Dellacassa E (2009) Steam distillation modeling for essential oil extraction process. *Ind Crops Prod* 29: 171-176.

Chang R, SAL, Morais EA, Nascimento LCS, Cunha EO, Rocha FJT, Aquino MGM, Souza WR, Cunha CHG (2011) Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of *Campomanesia pubescens* O. Berg, native of Brazilian Cerrado. *Acta Farm Bonaerense* 30: 1843-1848.

Chauhan B, Kumar G, Kalam N, Ansari SH (2013) Current Concepts and Prospects of Herbal Nutraceutical: A Review. *J Adv Pharm Tech Res* 4: 4-8.

Chen K, Huang J, Gong W, Iribarren P, Dunlop NM, Wang JM (2007) Toll-like receptors in inflammation, infection and cancer. *Int Immunopharmacol* 7: 1271-1285.

Chen QBIJ, Zhou Y, Liu X, Wu X, Chen R (2014) Multi-objective Optimization of Spray Drying of Jujube (*Zizyphus jujuba* Miller) Powder Using Response Surface Methodology. *Food Bioproc Tech* 7: 1807-1818.

Chen YF, Jobanputra P, Barton P, Bryan S, Fry-Smith A, Harris G, Taylor RS (2008) Cyclooxygenase-2 selective non-steroidal antiinflammatory drugs (etodolac, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, etoricoxib, valdecoxib and lumiracoxib) for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 12: 1-178.

Chi G, Wei M, Xie X, Soromou LW, Liu F, Zhao S (2013) Suppression of MAPK and NF- $\kappa$ B pathways by limonene contributes to attenuation of lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in acute lung injury. *Inflammat* 36:501-511.

Choi HS, Song HS, Ukeda H, Sawamura M (2000) Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J Agric Food Chem* 48: 4156-416.

Christaki E, Bonos E, Giannenas I, Florou- Paneri P (2012) Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds. *Agricult* 2: 228-243.

Chung, MMS (2016) Polpa de guavira (*Campomanesia cambessedeana* Berg) desidratada em spray dryer: efeitos das condições de processo e composição da alimentação nas propriedades físico químicas e atividade antioxidante. Pirassununga, Brasil, 94p. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP).

Clapauch R, Athayde A, Meirelles RM, Weiss RV, Pardini DP, Leão LM, Marinheiro LP (2002) Fitoestrogênios: posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia Arq Bras Endocrino. *Metab* 46: 679-695.

Clerici MTPS, Carvalho-Silva LB (2011) Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Res Int* 44: 1658-1670.

Collins, T (1999) Acute and chronic inflammation. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T (Eds.). *Robbins pathologic basis of disease*. Philadelphia: Saunders, 50-88.

Cora MC, Kooistra L, Travlos G (2015) S. Environmental Protection Agency (EPA). Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effect Assessment and Analysis. *Toxicol Pathol* 43:776-93.

Coutinho ID, Cardoso CAL, Ré-Poppi N, Melo AM, Vieira MC, Honda NK, Coelho RG (2009) Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Guavira). *J Pharm Sci* 45: 767-776.

Coutinho ID, Coelho RG, Kataoka VMF, Hondal NK, Silva JRM (2008) Determinação de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium*. *Eclet. Quím* 33: 53-60.

- Coutinho ID, Kataoka VMG, Honda NK, Coelho RG, Vieira MC, Cardoso CAL (2010) Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. Rev Bras Farmacognosia 20: 322-327.
- Cragg GM, Newman DJ (2013) Natural products: a continuing source of novel drug leads. Biochim Biophys Acta 1830: 3670-3695.
- Crowell PL, Siar Ayoubi A, Burke YD (1996) Antitumorigenic effects of limonene and perillyl alcohol against pancreatic and breast cancer. Adv Exp Med Biol 401: 131-136.
- Cunha AP, Nogueira MT, Roque OR (2012) Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
- Dai J, Mumper R.J (2010) Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. Molec 15: 7313-7352.
- D'Alessio PA, Ostan R, Bisson JF, Schulzke JD, Ursini MV, Béné MC (2013) Oral administration of d-limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti-inflammatory properties as diet supplementation in humans. Life Sci 10: 24-26.
- De Assis ES, Dos Reis EF, Pinto JFN, Contim LAS, Dias LAS (2013). Genetic diversity of gabirola based on random amplified polymorphic DNA markers and morphological characteristics. Genet Mol Res 12: 3500-3509.
- D, Vieira MC, Kassuya CA, Cardoso CA, Alves JM, Foglio MA, de Carvalho JE, Formagio AS (2014) Chemical composition and free radical-scavenging, anticancer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Ocimum kilimandscharicu*. Phytomedic 21:1298-12302.
- Dewick PM (2009) Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. 3rd ed. University of Nottingham, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA (2002) Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. São Paulo: Editora UNESP.
- Dickel ML, Rates SMK, Ritter MR (2007) Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. J Ethnopharmacol 109: 60-71.
- Do Amaral JF, Silva MI, Neto MR, Neto PF, Moura BA, de Melo CT, de Araújo FL, de Sousa DP, de Vasconcelos PF, de Vasconcelos SM, de Sousa FC (2007) Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. Biol Pharm Bull 30:1217-20.
- Donatini RS, Ishikawa T, Barros SBM, Bacchi EM (2009) Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). Rev Bras Farmacogn 19: 89-94.
- Dresch DM, Scalon SDPQ, Masetto TE, Vieira MC (2013) Germinação e vigor de sementes de gabirola em função do tamanho do fruto e semente. Pesqui Agropec Trop 43: 262-271.

Duarte WF, Dias DR, Pereira GVM, Gervásio IM, Schwan RF(2009) Indigenous and inoculated yeast fermentation of gabioba (*Campomanesia pubescens*) pulp for fruit wine production. J Ind Microbiol & Biotech 36:557-569.

Durigan G (2004) Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada. 2004, São Paulo

Espindola PP, da Rocha P dos S, Carollo CA, Schmitz WO, Pereira ZV, Vieira M do C, Dos Santos EL, de Picoli Souza K (2016) Antioxidant and Antihyperlipidemic Effects of *Campomanesia adamantium* O. Berg Root. Oxid Med Cell Longev 1: 1-8.

Esteves I, Souza IR, Rodrigues M, Cardoso LG, Santos LS, Sertie JA, Perazzo FF, Lima LM, Schneedorf JM, Bastos JK, Carvalho JC (2005) Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris*. J Ethnopharmacol 101:191-6.

Favaro-Trindade CS, Pinho SC, Rocha GA (2008) Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. Braz J of Food Technol 11: 103-112.

Ferreira LC, Grabe-Guimarães A, de Paula CA, Michel MCP, Guimarães RG, Rezende SA, Filho JDS, Saúde-Guimarães DA (2013) Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Campomanesia adamantium*. J Ethnopharmacol 45: 100-108.

Ferreira SH (2002) Peripheral analgesics sites of action of anti-inflammatory drugs. Int J Clin Pract Suppl 128: 2-10.

Geffeney SL, Goodman MB (2012) How we feel: ion channel partnerships that detect mechanical inputs and give rise to touch and pain perception 74: 609-619.

Ghelardini C, Galeotti N, Di Cesare Mannelli L, Mazzanti G, Bartolini AL (2001) Local anaesthetic activity of  $\beta$ -caryophyllene. Farmaco 56: 387-389.

Giarratana F, Muscolino D, Panebianco F, Patania A, Benianti C, Ziino G, Giuffrida A (2015) Activity of (R)-(+)-limonene against anisakis larvae. Ital J Food Saf 4: 767-71.

Gonçalves AL, Filho AA, Menezes H (2005) Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. Arq Inst Biol 3:353-358.

Guerra MP, Nodari RO, (2004) Biodiversidade: Aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (eds). Farmacognosia – da planta ao medicamento. Editora da UFSC, Florianópolis, 13-28.

Harbone JB (1994) The Flavonoids-advances in Research Since 1986. Chapman &Hall, London.

Hirota R, Roger NN, Nakamura H, Song HS, Sawamura M, Suganuma N (2010) Anti-inflammatory effects of limonene from yuzu (*Citrus junos* Tanaka) essential oil on eosinophils. J Food Sci 75:87-92.

Jackson LS, Lee K (1991) Microencapsulation and Food Industry. Food Sci and Technol 24: 289-297.



Júnior CV (2003) Terpenes with insecticidal activity: an alternative to chemical control of insects. *Quim nova* 26: 390-400.

Kafash-Farkhad N, Asadi-Samani M, Rafieian-Kopaei M (2013) A review on phytochemistry and pharmacological effects of *Prangos ferulacea* *Life Sci J* 10: 360-367.

Khosravi-Boroujeni H, Mohammadifard N, Sarrafzadegan N, Sajjadi F, Maghroun M, Khosravi A, Alikhasi H, Rafieian M, Azadbakht L (2012) Potato consumption and cardiovascular disease risk factors among Iranian population. *Int J Food Sci Nutr* 63: 913-920.

Khosravi-Boroujeni H, Sarrafzadegan N, Mohammadifard N, Sajjadi F, Maghroun M, Asgari S, Azadbakht L (2013) White rice consumption and CVD risk factors among Iranian population. *J Health Popul Nutr* 31: 252-261.

Klafke JZ, Da Silva MA, Panigas TF, Belli KC, De Oliveira MF, Barichello MM, Rigo FK, Rossato MF, Dos Santos ARS, Pizzolatti MG, Ferreira J, Viecili PR (2010) Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. *J Ethnopharmacol* 127: 299-305.

Klafke JZ, Da Silva MA, Rossato MF, Trevisan G, Walker CIB, Leal CAM, Borges DO, Schetinger MRC, Moresco RN, Duarte MMMF, Dos Santos ARS, Viecili PRN, Ferreira J (2012) Antiplatelet, Antithrombotic, and Fibrinolytic Activities of *Campomanesia xanthocarpa*. *Evid Based Complement Alternat Med* 7:1-9.

Lall N, Kishore NJ (2014) Are plants used for skin care in South Africa fully explored? *J Ethnopharmacol* 153: 61-84.

Lane A, Boeckleemann A, Woronuk GN, Sarker L, Mahmoud SS (2010) A genomics resource for investigating regulation of essential oil production in *Lavandula angustifolia*. *Plant*. 231: 835-845.

Lescano CH, De Oliveira IP, Zaminelli T, Baldivia DDS, Da Silva LR, Napolitano M, Silvério CBM, Lincopan N, Sanjinez-Argandoña EJ (2016) *Campomanesia adamantium* Peel Extract in Antidiarrheal Activity: The Ability of Inhibition of Heat-Stable Enterotoxin by Polyphenols. *Plos One* 11: 1-15.

Lima DF, Brandão MS, Moura JB, Leitão JM, Carvalho FA, Miúra LM, Leite JR, Sousa DP, Almeida FR (2012) Antinociceptive activity of the monoterpene  $\alpha$ -phellandrene in rodents: possible mechanisms of action. *J Pharm Pharmacol* 64:283-292.

Lorenzi H (2000) *Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil*. Instituto Plantarum, Nova Odessa.

Lorenzi H, Matos FJA (2002) *Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas*. Instituto Plantarum, Nova Odessa.

Lua PL, Zakaria NS (2012) A brief review of current scientific evidence involving aromatherapy use for nausea and vomiting. *J Altern Complement Med* 18:534-540.

Lumley MA, Cohen JL, Borszcz GS, Cano A, Radcliffe AML, Porter LS, Schubiner H, Keefe FJ (2011) Pain and emotion: a biopsychosocial review of recent research. *J Clin Psychol* 67: 942-968.

Lv X, Zhao S, Ning Z, Zeng H, Shu Y, Tao O, Xiao C, Lu C, Liu Y (2015) Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health. *Chem Cent J* 9:2-14.

Madalosso RC, Oliveira GC, Martins MT, Vieira AED, Barbosa J, Caliari MV, Castilho RO, Tagliati CA (2012) *Campomanesia lineatifolia* as a gastroprotective agent. *J Ethnopharmacol* 139: 772-779.

Madihi Y, Merrikhi A, Baradaran A, Rafieian-kopaei M, Shahinfard N, Ansari R, Shirzad H, Mesripour A (2013) Impact of sumac on postprandial high-fat oxidative stress. *Pak J Med Sci* 29: 340-345.

Malta LG, Ghiraldini FG, Reis R, Oliveira MdV, Silva LB, Pastore GM (2012) In vivo analysis of antigenotoxic and antimutagenic properties of two Brazilian Cerrado fruits and the identification of phenolic phytochemicals. *Food Research International* 49: 604-611.

Markman BE, Bacchi EM, Kato ET (2004) Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. *J Ethnopharmacol* 94:55-7.

Markman BEO, Bacchi EM, Kato ETM (2004) Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. *J Ethnopharmacol* 94: 55-57.

Martello MD, David N, Matuo R, Carvalho PC, Navarro SD, Monreal AC, Cunha-Laura AL, Cardoso CA, Kassuya CA, Oliveira RJ (2016) *Campomanesia adamantium* extract induces DNA damage, apoptosis, and affects cyclophosphamide metabolism. *Genet Mol Res* 15: 1-11.

Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias, JE (2003) *Plantas medicinais*. Editora UFV, Viçosa.

Maskrey BH, Megson IL, Whitfield PD, Rossi AG (2011) Mechanisms of resolution of inflammation: a focus on cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31:1001-1006.

Michel MC De P (2011) Estudo fitoquímico da fração metanólica do extrato etanólico das folhas e avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva de *Campomanesia velutina* (Cambess.) Ouro Preto, São Paulo, 118p. Dissertação (Mestrado), Escola de Farmácia – UFOP).

Mishra BB, Tiwari VK (2011) Natural products: an evolving role in future drug discovery. *Eur J Med Chem* 46: 4769-4807.

Moilanen E (2014) Two faces of inflammation: an immunopharmacological view. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 114: 2-6.

Nasri H, Baradaran A, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M (2014) New Concepts in Nutraceuticals as Alternative for Pharmaceuticals. *Int J Prev Med* 5: 1487–1499.

Nasri H (2013) Impact of diabetes mellitus on parathyroid hormone in hemodialysis patients. *J Parathyr Dis* 1: 9–11.

Neri-Numa I, Silva AC, Morales LB, Malta JP, Muramoto LG, Ferreira MT, Carvalho JEM, RuizJE, Junior ALTGM, Pastore MR, Maria G (2013). Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. *Food Res Intern* 50: 70- 76.

Nestel P (2003) Isoflavones: their effects on cardiovascular risk and functions. *Curr Opin Lipidol* 14: 3-8.

Newman DJ, Cragg GM, Snader KM (2000) The influence of natural products upon drug discovery. *Nat Prod Rep* 17: 215-34.

OECD (2008) Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. OECD Publishing.

OECD (2008) Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. OECD Publishing.

Oliveira JD, Alves CCF, Miranda MLD, Martins CHG, Silva TS, Ambrosio MALV, Alves JM, Silva JP (2016) Rendimento, composição química e atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de folhas de *Campomanesia adamantium* submetidas a diferentes métodos de secagem. *Rev Bras Pl Med* 18: 502-510.

Oliveira SV, Sanjinez-Argandoña EJ, Oshiro MA, Carnevali TO, Honorato CA (2015) Desidratação da Polpa de *Campomanesia adamantium* Cambess. O. Berg por Liofilização. *Interbio* 9: 22-27.

Palozza P, Catalano A, Simone RE, Mele MC, Cittadini A (2012) Effect of lycopene and tomato products on cholesterol metabolism. *Ann Nutr Metab* 61: 126-134.

Park HM, Lee JH, Yaoyao J, Lee SJ (2011) Limonene, a natural cyclic terpene, is an agonistic ligand for adenosine A (2A) receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 404:345-348.

Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-Kopaei M (2013) Bioactive components and preventive effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on post-laparotomy intra-abdominal adhesion in rats. *Int J Surg* 11: 811-815.

Pascoal AC, Ehrenfried C, Lopez B, Araujo, TM, Pascoal V DB, Gilioli R, Anhe GF, Ruiz ALTG, Carvalho JE, Stefanello ME, Salvador MJ (2014) Antiproliferative activity and induction of apoptosis in PC-3 cells by the chalcone cardamonin from *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) in a bioactivity-guided study. *Molecul* 19: 1843-1855.

Pascoal ACRF (2012) Prospecção de antioxidantes e de substâncias com atividade antiproliferativa em *Campomanesia adamantium*, Myrtaceae. Campinas, São Paulo, 119p. Dissertação (Mestrado), Instituto de Biologia, UNICAMP).

Pascoal ACRF (2015) *Campomanesia adamantium* e *Campomanesia guaviroba*: fitoquímica e estudo in vitro e in vivo visando a determinação da atividade biológica e toxicidade. Campinas, São Paulo (Tese de Doutorado) Instituto de Biologia, UNICAMP).

Pavan FR, Leite CQF, Coelho RG, Coutinho ID, Honda NK, Cardoso CAL, Vilegas W, Leite AS (2014) Evaluation of anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae). *Quím Nova* 32: 1222-1226.

Pereira MC, Steffens RS, Jablonski A, Hertz PF, Rios AO, Vizzotto M, Flores SH (2012) Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. *J Agric Food Chem* 60: 3061-3067.

Peixoto AL; Luz JRP; Brito MA (2016) *Conhecendo a biodiversidade*. Brasília, 196p.

Piccinelli AC, Santos JA, Konkiewitz EC, Oesterreich SA, Formagio ASN, Croda J, Ziff EB, Kassuya CAL (2015) Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)-(+)-limonene,  $\alpha$ -phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in neuropathic pain models. *Nutr Neurosci* 18:217-224.

Prins CL, Lemos CSL, Freitas SP (2006) Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). *Rev Bras Plant Med* 8: 92-96.

Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H (2013) Efficacy of co-administration of garlic extract and metformin for prevention of gentamicin-renal toxicity in wistar rats: A Biochemical Study *Int J Prev Med* 4: 258-264.

Rafieian-Kopaei M, Baradaran (2013) A Plants antioxidants: From laboratory to clinic *J Nephrothol* 2: 152-153.

Rahman MA (2011) Chalcone: A Valuable Insight into the Recent Advances and Potential Pharmacological Activities. *Chem Sci J* 29: 1-16.

Ramírez-Prado D, Palazón-Bru A, Folgado-de-la Rosa DM, Carbonell-Torregrosa MA, Martínez-Díaz AM, Gil-Guillén VF (2015) Predictive models for all-cause and cardiovascular mortality in type 2 diabetic inpatients. A cohort study. *Int J Clin Pract* 69: 474-484.

Ramos DD, Cardoso CAL, Yamamoto NT (2007) Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae). *Ver Bras Bioc* 5: 774-776.

Ramos DD, Cardoso CAL, Yanomoto NT (2007) Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae). *R bras Bioc* 5: 774-776.

Raygude KS, Kandhare AD, Ghosh P, Ghule AE, Bodhankar SL (2012) Evaluation of ameliorative effect of quercetin in experimental model of alcoholic neuropathy in rats. *Inflammopharmacol* 20: 331-341.

- Reginato Z, Silva AH, Freitas AR, Bauermann L (2015) Evaluation of the flavonoid use in the treatment of the inflammation. *Rev Cuba Farm* 49: 569-582.
- Regnault-Roger C, Vincent C, Arnason JT (2012) Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu Rev Entomol* 57: 405-424.
- Rehman MU, Tahir M, Khan AQ, Khan R, Oday-o-Hamiza Lateef A, Hassan SK, Rashid S, Ali N, Zeeshan M, Sultana S (2014) D-limonene suppresses doxorubicin-induced oxidative stress and inflammation via repression of COX-2, iNOS, and NFκB in kidneys of Wistar rats. *Exp Biol Med* 239: 465-476.
- Reyes-García V (2010) The relevance of traditional knowledge systems for ethnopharmacological research: theoretical and methodological contributions. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine* 6: 1-12.
- Roberfroid MB (2005) Introducing inulin-type fructans. *Br J Nutr* 93: S13-S25.
- Rocha EO (2011) Avaliação dos constituintes fenólicos e voláteis, atividade antioxidante e antimicrobiana de *Campomanesia pubescens*. Uberlândia, Brasil, 82p. Dissertação (Mestrado), Instituto de Química. UFU).
- Rodrigues RAF, Rodrigues MVN, Oliveira TIV, Bueno CZ, Souza O, Sartoratto A, Foglio MA (2011) Docosahexaenoic acid ethyl ester (DHAEE) microcapsule production by spray-drying: optimization by experimental design. *Food Sci and Technol* 31: 589-596.
- Roohafza H, Sarrafzadegan N, Sadeghi M, Rafieian-Kopaei M, Sajjadi F, Khosravi-Boroujeni H (2013) The association between stress levels and food consumption among Iranian population. *Arch Iran Med* 16: 145-148.
- Rufino AT, Ribeiro M, Sousa C, Judas F, Salgueiro L, Cavaleiro C, Mendes AF (2015) Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. *Eur J Pharmacol* 750:141-150.
- Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J (2010) Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem* 121: 996-1002.
- Sanguansri P, Augustin MA (2006) Nanoscale materials development – a food industry perspective. *Trends Food Sci Technol* 17: 547-556.
- Santos AB, Ferreira VP, Grosso CRF (2001) Microcápsulas: uma alternativa viável. *Biotec Ciên e Desenv* 16: 26-30.
- Santos AS, Alves SM, Figueiredo FJC, Neto OGR (2004) Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. *Comunicado Técnico Embrapa* 99: 1-6.
- Santos MD dos, Almedia MC, Lopes NP, Souza GE (2006) Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biol Pharm Bull* 29: 2236-2240.

- Santos MS, Lima JJ, Petkowicz CLO, Candido LMB (2013) Chemical characterization and evaluation of the antioxidant potential of gabioba jam (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) Acta Sci Agron 35: 73-82.
- Scalon SPQ, Oshiro AM, Masetto TE, Dresch DM (2013) Conservation of *Campomanesia adamantium* seeds in different packaging and at varied temperatures. Rev Bras de Frutic, Jaboticabal 35: 262-269.
- Shirzad H, Burton RC, Smart YC, Rafieian-kopaei M, Shirzad M (2011) Natural cytotoxicity of NC-2+cells against the growth and metastasis of WEHI-164 fibrosarcoma. Scand J Immunol 73: 85-90.
- Shirzad M, Kordyazdi R, Shahinfard N, Nikokar M (2013) Does Royal Jelly affect tumor cells? J Herb Med Pharmacol 2: 45-48.
- Silva C, Ribeiro A, Ferreira D, Veiga F (2003) Administração oral de peptídios e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. Rev Bras Cienc Farm 39: 1-20.
- Silva GBS, Formaggio AR, Shimabukuro YE (2010) áreas alteradas em função de atividades antrópicas no bioma Cerrado localizado no estado do Mato Grosso (MT), até o ano de 2001: uma abordagem espaço-temporal. Rev Bras Cart 62: 363-371.
- Silva MLC, Costa RS, Santana AS, Koblitiz MGB (2010) Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products Semin Cien Agrar 31: 669-682.
- Simoies CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (2004) Farmacognosia: da planta ao medicamento Porto Alegre, Editora UFRGS: Porto Alegre.
- Sobral MA (2003) Família Myrtaceae no Rio Grande do Sul, Unisinos.
- Souza JC, Piccinelli AC, Aquino DFS, Souza VV, Schmitz WO, Traesel GK, Cardoso CAL, Kassuya CAL, Arena AC (2014) Toxicological analysis and antihyperalgesic, antidepressant, and anti-inflammatory effects of *Campomanesia adamantium* fruit barks. Nutr Neurosci 20: 23-31.
- Souza MAF (2008) Dos laboratórios aos pontos de venda: uma análise da trajetória dos alimentos funcionais e nutracêuticos e da sua repercussão sobre a questão agroalimentar. Rio de Janeiro, Brasil, 289p. (Tese de Doutorado. Pós-Graduação de Ciências Sociais em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade. UFRJ).
- Souza-Moreira TM, Salvagnini LE, Santos E, Silva VY, Moreira RR, Salgado HR, Pietro RC (2011) Antidiarrheal activity of *Campomanesia xanthocarpa* fruit. J Med Food 14: 528-31.
- Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF, Van Sinderen D (2005) Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. Curr Opin Biotechnol 6: 196-203.
- Tabas I, Glass CK (2013) Anti-Inflammatory Therapy in Chronic Disease: Challenges and Opportunities. Sci 339:166-172.

- Tabassum N, Hamdani M (2014) Plants used to treat skin diseases. *Pharmacog Reviews* 8: 52-60.
- Tracey KJ (2002) The inflammatory reflex. *Nature* 420: 853–859.
- Trojan-Rodrigues M, Alves TLS, Soares GLG, Ritter (2012) Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *J Ethnopharmacol* 139:155-63.
- Vallilo MI, Lamardo LCA, Gaberlotti ML, Oliveira ED, Moreno PRH (2006) Chemical composition of *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg. *Fruits. Ciên e Tecnol de Alim* 26: 805–810.
- Varshosaz J, Emami J, Tavakoli N, Minaiyan M, Rahmani N, Dorkoosh F, Mahzouni P (2011) Development of novel budesonide pellets based on Codestm technology: In vitro/in vivo evaluation in induced colitis in rats. *Daru* 2: 107-171.
- Viecili PR, Borges DO, Kirsten K, Malheiros J, Viecili E, Melo RD, Trevisan G, Da Silva MA, Bochi GV, Moresco RN, Klafke JZ (2014) Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals. *Atheroscler* 234: 85-92.
- Vieira RF, Costa TSA, Silva DB, Ferreira FR, Sano SM (2006) Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, Brasília.
- Violante IM, Hamerski L, Garcez WS, Batista AL, Chang MR, Pott VJ, Garcez FR (2012) Antimicrobial activity of some medicinal plants from the cerrado of the centralwestern region of Brazil. *Braz J Microbiol* 43: 1-7.
- Vinagre AS, Rönnau ADRO, Pereira SF, Da Silveira LU, Wiilland EF, Suyenaga EF (2010) Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. *Braz J of Pharma Sci* 46: 169-77.
- Zeisel SH (1999) Regulation of nutraceuticals. *Sci*, 285: 1853-1855.

## 6. ARTIGOS

### 6.1 Artigo I

**Artigo 1 publicado na revista Plos One**

**Classificação de periódicos 2015: A1 Biodiversidade e A1 Biotecnologia**

**(Fator de impacto 2017: 3,0570)**

SEED AND PEEL ESSENTIAL OILS OBTAINED FROM *Campomanesia adamantium* FRUIT INHIBIT INFLAMMATORY AND PAIN PARAMETERS IN RODENTS

Danieli Zuntini Viscardi , Jucicléia da Silva Arrigo, Camila de Azevedo Chaves Correia, Cândida Aparecida Leite Kassuya, Claudia Andrea Lima Cardoso, Iriani Rodrigues Maldonade, Eliana Janet Sanjinez Argandoña

Plos One, v.12, p.1-15, 2017.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157107>



## 6.2 Artigo II

**Artigo 2 publicado na Revista: Brazilian Journal of Pharmacognosy**  
**Classificação de periódicos 2015: B3 Biodiversidade e B3 Biotecnologia.**  
**(Fator de impacto 2016: 0,956)**

ANTI- ARTHRITIC, ANTI-INFLAMMATORY, AND ANTINOCICEPTIVE  
EFFECTS OF *Campomanesia adamantium* MICROENCAPSULATED PULP

Danieli Zuntini Viscardi , Jucicléia da Silva Arrigo, Vinicius Oliveira, Cândida Aparecida Leite Kassuya,  
Claudia Andrea Lima Cardoso, Iriani Rodrigues Maldonade,  
Eliana Janet Sanjinez Argandoña

Revista Brasileira de Farmacognosia (Impresso), v. 3221, p. 8, 2016.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.09.007>

## **6.3 Artigo III**

**Artigo 3 aceito na Revista: Regulatory Toxicology and Pharmacology**

**Classificação de periódicos 2015: B2 Biodiversidade e B1 Biotecnologia**

**(Fator de impacto 2017: 2.227)**

**SUBACUTE AND REPRODUCTIVE ORAL TOXICITY ASSESSMENT OF  
MICROENCAPSULATED *Campomanesia adamantium***

Danieli Zuntini Viscardi, Joyce Alencar Santos, Maicon Matos Leitão, Claudia Andrea Lima Cardoso,  
Cândida Aparecida Leite Kassuya , Eliana Janet Sanjinez Argandoña

## View Letter

Close

**Date:** Mar 23, 2017  
**To:** "Danieli Zuntini Viscardi" danieliviscardi@ufgd.edu.br  
**From:** "RTP (ELS)" eesserver@eesmail.elsevier.com  
**Reply To:** "RTP (ELS)" rtp@elsevier.com  
**Subject:** RTP-17-26: Interim Decision

Ms. No.: RTP-17-26  
Title: SUBACUTE AND REPRODUCTIVE ORAL TOXICITY ASSESSMENT OF MICROENCAPSULATED Campomanesia adamantium  
Corresponding Author: Mrs. Danieli Zuntini Viscardi  
Authors: Joyce A Santos; Maicon Leitão; Claudia Andrea L Cardoso; Cândida L Kassuya; Eliana Argandoña

Dear Mrs. Zuntini Viscardi,

I am pleased to inform you that your paper, referenced above, is acceptable for publication in Regulatory Toxicology and Pharmacology provided minor revisions are made.

Please submit your revision online within 45 days by logging onto the Elsevier Editorial System for Regulatory Toxicology and Pharmacology:

<https://ees.elsevier.com/rtp/>

Your username is: \*\*\*\*\*

If you need to retrieve password details, please go to: [http://ees.elsevier.com/RTP/automail\\_query.asp](http://ees.elsevier.com/RTP/automail_query.asp)

NOTE: Upon submitting your revised manuscript, please upload the source files for your article. For additional details regarding acceptable file formats, please refer to the Guide for Authors at: <http://www.elsevier.com/journals/regulatory-toxicology-and-pharmacology/0273-2300/guide-for-authors>

When submitting your revised paper, we ask that you include the following items:

Manuscript and Figure Source Files (mandatory)

We cannot accommodate PDF manuscript files for production purposes. We also ask that when submitting your revision you follow the journal formatting guidelines. Figures and tables may be embedded within the source file for the submission as long as they are of sufficient resolution for Production. For any figure that cannot be embedded within the source file (such as \*.PSD Photoshop files), the original figure needs to be uploaded separately. Refer to the Guide for Authors for additional information.

<http://www.elsevier.com/journals/regulatory-toxicology-and-pharmacology/0273-2300/guide-for-authors>

Highlights (mandatory)

## 7. CONCLUSÃO GERAL

1) O presente estudo identificou o Limoneno, Thujopseno e  $\beta$ -pineno como compostos majoritários do óleo essencial da semente e da casca de *Campomanesia adamantium* e demonstrou o efeito anti-inflamatório e hiperalgésico de ambos os óleos, em roedores.

2) A polpa microencapsulada de *C. adamantium* demonstrou atividade anti-inflamatória, anti-hiperalgésica e antidepressiva, atribuídas à presença de compostos bioativos flavononas e chalconas 3,5,7,3',4',5'-hexaidróxi-flavonol e 2',4'-diidróxi-5'-metil-6'-metóxicalcona, respectivamente. Não se observou efeito tóxico agudo, subagudo e reprodutivo da polpa microencapsulada, sendo considerada segura para o consumo.

## 8. ANEXO

Carta de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA / UFGD



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

---

### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS, 23 de setembro de 2014.

Senhor Pesquisador:

**Eliana Janet Sanjinez Argandona**

O Projeto de sua responsabilidade – Protocolo nº. **023/2014 – CEUA/UFGD** - intitulado "**Potencial Alimentar de Plantas do Cerrado.**" foi integralmente **APROVADO** e poderá ser conduzido.

Ressaltamos que é de responsabilidade do (a) pesquisador (a) envio de notificação à CEUA sobre o término do projeto.

A handwritten signature in black ink that reads 'Melissa Negrão Sepulveda'.

---

Melissa Negrão Sepulveda

Coordenadora CEUA