

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Fernando Primitivo Romero Bordin

**AVALIAÇÃO DAS TOXICIDADES DO SUCO DO FRUTO DE *Plinia cauliflora* EM
RATOS WISTAR**

Santa Maria, RS
2020

Fernando Primitivo Romero Bordin

**AVALIAÇÃO DAS TOXICIDADES DO SUCO DO FRUTO DE *Plinia cauliflora* EM
RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Farmacologia**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Liliane de Freitas Bauermann

Santa Maria, RS
2020

Bordin, Fernando Primitivo Romero
Avaliação das toxicidades do suco do fruto de Plinia
cauliflora em ratos Wistar / Fernando Primitivo Romero
Bordin.- 2020.
70 p.; 30 cm

Orientadora: Liliane de Freitas Bauermann
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Farmacologia, RS, 2020

1. Jabuticaba 2. Nutracêutica 3. Toxicidade 4. Wistar
I. Bauermann, Liliane de Freitas II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2020

Todos os direitos autorais reservados a Fernando Primitivo Romero Bordin. A reprodução de partes ou do todo desse trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Sargento Ricardo Schultz Marques, n. 95, apartamento 201, Bairro Nossa Senhora das Dores, Santa Maria, RS. CEP: 97050-670

E-mail: f.primitivo@gmail.com

Fernando Primitivo Romero Bordin

AVALIAÇÃO DAS TOXICIDADES DO SUCO DO FRUTO DE *Plinia cauliflora* EM RATOS WISTAR

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Farmacologia**.

Aprovado em 7 de dezembro de 2020:

Liliane de Freitas Bauermann, Dr.^a (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Michel Mansur Machado, Dr. (UNIPAMPA)

Micheli Mainardi Pillat, Dr.^a (UFSM)

Santa Maria, RS
2020

DEDICATÓRIA

Esta dissertação é dedicada a todos aqueles que acreditaram em mim mesmo quando eu não acreditava e fizeram com que eu superasse obstáculos que pareciam impossíveis para chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço as duas pessoas que não só me apoiaram incondicionalmente durante estes anos de mestrado, mas sim durante toda minha vida e que fizeram o possível e o impossível para que eu chegasse até aqui: meus pais, Luciano e Maria. Absolutamente nada seria possível sem vocês.

Agradeço a minha orientadora, Liliane, por ter me aberto as portas de seu laboratório em 2013 e desde então ter me ensinado muito, não apenas sobre fisiologia, mas sobre a vida. Além disso, sua confiança em mim e a disponibilidade para muito além de uma orientadora foram essenciais para eu chegar até aqui. Muito obrigado por tudo, viu meu anjo?

Agradeço a toda equipe do LaFEx pelos anos de convivência, aprendizados, risadas e chimarrões, especialmente a Isabel, com a qual convivi muito enquanto IC e no começo do mestrado e a Amanda, que muito me ajudou com os experimentos durante o mestrado.

Agradeço a meus amigos, especialmente aqueles que fiz durante meu caminho na graduação, pois foram eles que fizeram eu me sentir acolhido em um grupo e, portanto, me sentir menos isolado, o que foi essencial durante o mestrado.

Agradeço a Andressa, que, apesar de entrado em minha vida no final deste mestrado, foi absolutamente fundamental para a conclusão desta dissertação com seu apoio e suporte incondicionais.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Maria, que me acolhe como aluno desde 2013 e proporcionou oportunidades únicas na minha vida, tanto acadêmica quanto pessoal.

Agradeço a CAPES, pelo apoio financeiro a realização da pesquisa.

E, por último, agradeço a todos aqueles que, de forma discreta ou destacada, fizeram com que a apresentação desta dissertação fosse possível. Sozinho eu não teria chegado até aqui.



RESUMO

AVALIAÇÃO DAS TOXICIDADES DO SUCO DO FRUTO DE *Plinia cauliflora* EM RATOS WISTAR

AUTOR: Fernando Primitivo Romero Bordin
ORIENTADORA: Liliane de Freitas Bauermann

Plantas sempre foram um item essencial para a vida humana, servindo como matéria-prima, alimento e medicamento. Até hoje, com todo o desenvolvimento da medicina, plantas ainda são uma fonte fundamental de soluções. Dada a conscientização sobre alimentos ultraprocessados e seus efeitos negativos para a saúde, produtos naturais capazes de oferecer valores nutricionais interessantes estão sendo bem vistos pela população e cientistas veem nesses alimentos possíveis nutracêuticos. *Plinia cauliflora* é uma planta endêmica da Mata Atlântica e produz nos seus troncos uma baga pequena e roxa conhecida como jabuticaba. Essa fruta é bastante apreciada por sua polpa doce e é bastante consumida *in natura*, devido a sua alta perecibilidade, mas também é consumida em geleias, sucos e licores. Além disso, a jabuticaba já foi comparada com mirtilos devido aos níveis de seus compostos fenólicos, especialmente antocianinas. Embora alguns poucos estudos *in vivo* tenham sido realizados, em sua maioria em roedores, pouca atenção foi direcionada para os possíveis efeitos tóxicos do alto consumo de jabuticaba. Portanto, este experimento focou em avaliar a toxicidade oral do suco concentrado de jabuticaba (CJJ) de forma aguda e em doses repetidas por 28 dias, seguindo as diretrizes 423 e 407, respectivamente, da OECD. O suco foi feito sem adição de água, triturando as frutas em um liquidificador, gerando com isso um mosto, que foi coado para então ser recolhido o suco concentrado. Considerando o teste de toxicidade aguda oral, 6 ratos machos receberam cada 5000 mg/kg de CJJ e 6 ratos receberam o veículo (água destilada) como placebo. Durante os 14 dias de observação, nenhum sinal físico de toxicidade foi encontrado e nenhuma diferença em peso foi identificada entre os grupos. Testes hematológicos e bioquímicos não mostraram nenhuma diferença significativa entre os grupos, exceto no nível de colesterol, que aumentou no grupo de tratamento, apesar do grupo controle ter um nível de colesterol consideravelmente baixo. No teste de doses repetidas de 28 dias, quatro grupos de fêmeas e quatro grupos de machos foram estabelecidos e receberam seus respectivos tratamentos via gavagem. Os grupos eram: controle, que recebeu água destilada, CJJ 500 mg/kg, CJJ 1000 mg/kg e CJJ 2000 mg/kg. Nenhum sinal de toxicidade foi visto durante o experimento e a avaliação macroscópica dos órgãos pós-eutanásia também não mostrou sinais de toxicidade. O peso médio corporal continuou o mesmo entre os grupos e o peso médio dos órgãos teve pequenas mudanças nas fêmeas. Parâmetros hematológicos e bioquímicos não mostraram diferenças significativas em machos, exceto os níveis de glicose. Nas fêmeas, os níveis de AST diminuíram em CJJ 2000 mg/kg comparado ao grupo controle e proteínas totais e níveis de glicose aumentaram em CJJ 2000 mg/kg comparados ao grupo controle. Em conclusão, CJJ não mostrou sinais de toxicidade nas doses testadas e, de acordo com tudo que foi avaliado neste experimento, pode ser considerado seguro para consumo.

Palavras-chave: jabuticaba. Myrtaceae. Toxicidade. Wistar.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE TOXICITIES OF THE JUICE FROM THE FRUIT OF *Plinia cauliflora* IN WISTAR RATS

AUTHOR: Fernando Primitivo Romero Bordin

ADVISOR: Liliane de Freitas Bauermann

Plants have always been an essential item for human life, being used as raw material, food, and medicine alike. Even today, with all the developments in medicine, plants are still a fundamental source of solutions. Given the rise on consciousness about ultra-processed foods and their negative effects on health, natural products, capable of offering interesting nutritional values, are being well valued by the population, and scientists see on these aliments possible nutraceuticals. *Plinia cauliflora* is a plant endemic of the Brazilian Atlantic Forest, and produces on its trunks a small, purple berry known as *jabuticaba*. This fruit is very appreciated for its sweet pulp and it is mostly consumed *in natura*, due to its high perishability, but it is also consumed in jams, juices, and liquors. Moreover, *jabuticaba* has been compared to blueberries due to its phenolic compound levels, especially anthocyanins. Although a few *in vivo* studies have been realized, mostly on rodents, not much attention was directed to possible toxic effects of the high consumption of this fruit. Therefore, this experiment focused on evaluating the oral toxicity of *jabuticaba*'s concentrated juice (CJJ) on an acute and a repeated dose 28-day scenario, following the OECD 423 and 407 guidelines, respectively. The juice was made with no addition of water, by blending the fruits into a must and then strain it to collect the concentrated juice. Considering the acute oral toxicity test, 6 male rats received each 5000 mg/kg of CJJ via gavage, and 6 rats received the vehicle (distilled water) as placebo. During the 14 days of observation, no physical signs of toxicity were found, and no weight difference was identified between the groups. Hematological and biochemical tests showed no statistical differences between the groups, except on total cholesterol levels, which increased on treatment group, although the control group had a remarkably low total cholesterol level. On the repeated dose 28-day test, four groups of females and four groups of males were established and received their respective treatments via gavage. The groups were: control, which received distilled water, CJJ 500 mg/kg, CJJ 1000 mg/kg, and CJJ 2000 mg/kg. No signs of toxicity were seen during the experiment, and macroscopical evaluation of organs post-euthanasia showed no signs of toxicity as well. Mean body weight stayed the same between groups, and mean organs weight had slight differences on females. Hematological and biochemical parameters showed no statistical difference on males, except glucose levels. On females, AST levels decreased on CJJ 2000 mg/kg compared to the control group and total protein and glucose levels increased on CJJ 2000 mg/kg compared to the control group. In conclusion, CJJ has showed no actual signs of toxicity on the tested doses and, according to everything that was evaluated on this experiment, can be considered safe to consume.

Keywords: *jabuticaba*. Myrtaceae. Toxicity. Wistar

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 3.1 – <i>Plinia cauliflora</i>	21
Figura 3.2 – Estrutura química base das antocianinas.....	27

MANUSCRITO

Figure 1.	58
Figure 2.	59

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 3.1	Principais compostos químicos encontrados em <i>Plinia</i> ssp., de acordo com a literatura	23
Tabela 3.2	Alguns experimentos realizados <i>in vivo</i> com partes do fruto de <i>Plinia</i> spp. e seus resultados principais.....	24
Tabela 3.3	Radicais que formam as principais antocianinas	28

MANUSCRITO

Table 1.	Initial and final body weight after acute administration of CJJ 5000 mg/kg in male rats.	49
Table 2.	Hematological parameters after acute administration of CJJ 5000 mg/kg in male rats.....	50
Table 3.	Biochemical parameters after acute administration of CJJ 5000 mg/kg in male rats.....	51
Table 4.	Body, and organ weights (g), mean food and water consumption (g and mL, respectively), and relative organ weights (%) of female rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ.	52
Table 5.	Body, and organ weights (g), mean food and water consumption (g and mL, respectively), and relative organ weights (%) of male rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ.	53
Table 6.	Hematological parameters of female rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ.....	54
Table 7.	Hematological parameters of male rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ.....	55
Table 8.	Biochemical parameters of female rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ.....	56
Table 9.	Biochemical parameters of male rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALB	Albumin
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine aminotransferase
ANOVA	Analysis of variance
AST	Aspartate aminotransferase
BUN	Blood urea nitrogen
CAT	Catalase
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
CREAT	Creatinin
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GGT	Gamma-glutamyl tranferase
GLU	Glucose
GPX	Glutathione peroxidase
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
HCT	Hematocrit
HGB	Hemoglobin
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV	Mean corpuscular volume
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PLT	Platelet
PNPMF	Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos
PP	Plasmatic protein
RBC	Red Blood Cells
Renisus	Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
SisGen	Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SOD	Superóxido dismutase
SP	Serum total protein
TC	Total cholesterol
TG	Triglycerides
UFMS	Universidade Federal de Santa Maria
UVA	Raio Ultravioleta A
UVB	Raio Ultravioleta B
WBC	White Blood Cells

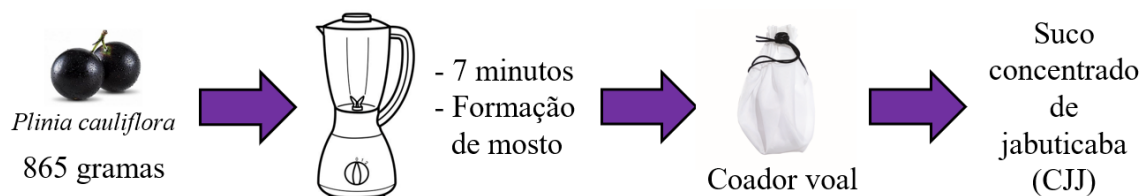
SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVOS GERAIS	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	PLANTAS MEDICINAIS	18
3.1.1	Plantas medicinais no Brasil	19
3.1.2	Família Myrtaceae	20
3.1.3	<i>Plinia cauliflora</i>	21
3.1.4	Estresse oxidativo	25
3.1.5	Antocianinas	26
3.2	TESTES DE TOXICIDADE <i>IN VIVO</i>	28
3.2.1	Toxicidade aguda	29
3.2.2	Toxicidade de doses repetidas de 28 dias	30
4	MANUSCRITO	31
4.1	MANUSCRITO	31
1	INTRODUCTION	33
2	MATERIALS AND METHODS	34
2.1	BOTANICAL MATERIAL AND PREPARATION OF THE JUICE	34
2.2	ANIMALS	35
2.3	ACUTE TOXICITY	35
2.4	REPEATED DOSE 28-DAY TOXICITY	36
2.5	HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS	37
2.6	STATISTICAL ANALYSES	37
3	RESULTS	38
3.1	ACUTE TOXICITY	38
3.2	REPEATED DOSE 28-DAY TOXICITY	38
4	DISCUSSION	40
	ACKNOWLEDGMENTS	44
	DECLARATION OF INTEREST	44
	REFERENCES	44
5	CONCLUSÃO	61
6	PERSPECTIVAS FUTURAS	62
	REFERÊNCIAS	63
	ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UFSM (CEUA/UFSM)	70
	ANEXO B – COMPROVANTE DE CADASTRO DE ACESSO NO SISGEN	71
	ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE MANUSCRITO AO PERIÓDICO DRUG AND CHEMICAL TOXICOLOGY	72

APRESENTAÇÃO

A dissertação aqui apresentada é baseada em dois experimentos que se complementam: os estudos de toxicidade oral aguda e de doses repetidas de 28 dias. Para realizar tais experimentos, foi necessário obter o suco concentrado de jabuticaba. Tais acontecimentos estão descritos a seguir.

Preparação do suco de jabuticaba



Estudo de toxicidade aguda

OECD 423



6 ratos Wistar ♂

Veículo
(água destilada)



6 ratos Wistar ♂

Suco concentrado de jabuticaba (CJJ)
5000 mg/kg

Dose única

Análises

- Avaliação de comportamento;
- Variação de peso;
- Bioquímica e hematologia;

Estudo de toxicidade de doses repetidas de 28 dias

OECD 407



20 ratos Wistar ♂

- Controle
- CJJ 500 mg/kg
- CJJ 1000 mg/kg
- CJJ 2000 mg/kg



20 ratos Wistar ♀

N = 5

Doses ministradas via gavagem por 28 dias

Análises

- Avaliação de comportamento;
- Consumo de água e alimentos;
- Variação de peso;
- Consumo de água e alimentos;
- Peso de órgãos: baço, coração, fígado e rim;
- Bioquímica e hematologia;

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas de forma medicinal é uma prática utilizada pela humanidade há milhares de anos. E mesmo com a advento da farmacologia moderna no século XIX e o foco sendo direcionado a busca por princípios ativos e posteriormente sua síntese sintética, plantas ainda são um pilar para a medicina: cerca de 30% dos medicamentos disponíveis atualmente são derivados de fontes naturais (DUTRA et al., 2016; VASISHT, SHARMA & KARAN, 2016). A popularidade de tratamentos envolvendo produtos naturais está aumentando, sendo os motivos para isso relacionados com a visão do público de que produtos naturais são mais seguros do que medicamentos industrializados e o acesso a produtos naturais costuma ser mais fácil, tanto pela disponibilidade quanto pelo preço (VASISHT, SHARMA & KARAN, 2016; RIBEIRO et al., 2018).

O Brasil abriga em seu território mais de 45000 espécies de plantas, o que representa aproximadamente 20 % da flora do planeta e apesar do histórico de uso de plantas medicinais pela população brasileira no tratamento de diversas doenças, ainda há muito potencial intocado na flora brasileira. Esse potencial chamou a atenção de pesquisadores e indústrias, que buscam estudar plantas e seus princípios ativos, em busca de novos tratamentos e medicamentos (OLIVEIRA et al., 2012; DUTRA et al., 2016). Além do interesse científico, a população também está prestando atenção em alimentos com valores nutricionais mais elevados e estes costumam ser ricos em fitoquímicos capazes de prevenir várias doenças.

Pertencente à família Myrtaceae, a jabuticaba (*Plinia cauliflora*) é uma espécie endêmica da mata atlântica brasileira. A árvore, popularmente conhecida como jabuticabeira, produz frutos que são chamados de jabuticaba: nascendo diretamente dos galhos e troncos de árvores, são bagas globosas de até 3 cm de diâmetro e casca escura, polpa esbranquiçada mucilaginoso com casca e polpa doces, agradáveis e pouco ácidas, podendo conter de uma a quatro sementes. (LIMA et al., 2008; WU et al., 2012; WU, LONG & KENNELLY, 2013; NEVES et al., 2018). A jabuticaba é consumida principalmente *in natura* por ser bastante perecível, mas também pode ser encontrada em geleias, sucos, vinhos e licors (ALEZANDRO et al., 2013; INADA et al., 2018).

A literatura indica que a jabuticaba é rica em compostos fenólicos, como os ácidos elágico e gálico, elagitaninos e antocianinas, especialmente cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo (WU et al., 2012; ALEZANDRO et al., 2013) e alguns resultados promissores foram obtidos em experimentos *in vivo* utilizando roedores, mostrando a capacidade do fruto de melhorar marcadores lipídicos, reduzir estresse oxidativo e atenuar

hipertensão (ALEZANDRO, GRANATO E GENOVESE, 2013; BATISTA et al., 2014; DE SOUZA et al., 2017; MOURA et al., 2018). Entretanto, não há estudos que se dediquem a investigar possíveis efeitos tóxicos causados pelo alto consumo de jabuticaba. Logo, deseja-se com esta pesquisa observar possíveis efeitos tóxicos do fruto de *Plinia cauliflora* em ratos e avaliar o quão seguro é o seu consumo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a toxicidade oral aguda e de doses repetidas de 28 dias do suco do fruto de *Plinia cauliflora* em ratos Wistar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a toxicidade oral aguda *in vivo* do suco do fruto de *Plinia cauliflora* a partir do uso do guia 423 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD);
- Avaliar a toxicidade oral de doses repetidas de 28 dias *in vivo* do suco do fruto de *Plinia cauliflora* em ratos Wistar utilizando o guia 407 da OECD;
- Observar parâmetros bioquímicos e hematológicos dos animais envolvidos nos experimentos de toxicidade oral aguda e de doses repetidas de 28 dias;
- Determinar consumo de alimento, água e variação de peso dos ratos Wistar durante o experimento de toxicidade oral de doses repetidas de 28 dias.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

A extração de produtos naturais de fontes como animais, plantas e micro-organismos sempre fez parte da vida dos seres humanos (GEZICI & ŞEKEROĞLU, 2019) cumprindo diversos papéis na sobrevivência da espécie. O uso medicinal de plantas pela população é, provavelmente, o método mais antigo utilizado para o tratamento de doenças, existindo descrições de tal situação datadas de milhares de anos atrás (DUTRA et al., 2016). Além disso, foi a partir do estudo de princípios ativos de plantas que surgiram as bases da farmacologia moderna, no século XIX e ainda hoje a caracterização de compostos ativos de plantas medicinais continua gerando importantes resultados: estima-se que 30% de todas os medicamentos disponíveis atualmente sejam derivadas de fontes naturais, especialmente plantas e micro-organismos (BALUNAS & KINGHORN, 2005; WHO, 2007; CRAGG & NEWMAN, 2013; DUTRA et al., 2016).

Plantas medicinais são utilizadas no tratamento de uma ampla variedade de enfermidades, indo desde desconfortos até doenças crônicas. Tal fato se deve pela grande aceitação da população a “produtos naturais”, além do baixo custo de obtenção e menores efeitos adversos esperados (CALIXTO et al., 2000; RIBEIRO et al., 2018). Graças a esses fatores, por volta de três quartos da população mundial utiliza plantas medicinais como agente primário no tratamento de doenças (WHO, 2013).

Devido a dados como os supracitados, o interesse por produtos medicinais oriundos de plantas tem aumentado significativamente pelo mundo, especialmente em países desenvolvidos, tanto que a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado estudos baseados em plantas medicinais, com o intuito de desenvolver novos agentes farmacológicos que ofereçam menos efeitos adversos a seus usuários (CALIXTO et al., 2000; EL HAOUARI & ROSADO, 2016). Mas, além do desenvolvimento de fármaco a partir de plantas medicinais, a OMS também incentiva a integração da medicina complementar aos manuais de práticas dos sistemas de saúde mundiais, desde que tal integração ocorra de forma segura e efetiva, reconhecendo assim a medicina popular como algo importante para garantir o acesso a saúde de qualidade para toda a população (WHO, 2013).

3.1.1 Plantas medicinais no Brasil

A população brasileira tem uma longa tradição no uso de plantas medicinais para o tratamento de diversas doenças crônicas e agudas, o que é uma consequência de sua herança histórica e cultural dos períodos colonial e pré-colonial (DUTRA et al., 2016; MATTOS et al., 2018). Somando a isso relatos etnomedicinais sobre diversas plantas brasileiras, o país mostra um enorme potencial para desenvolvimento de novos tratamentos à base de plantas (RICARDO et al., 2018).

Além do histórico de uso de plantas medicinais, outro fator leva pesquisadores a estudar a flora brasileira em busca de novas soluções para o tratamento de enfermidades: a sua biodiversidade. O Brasil abriga em seu território aproximadamente 20% de todas as espécies conhecidas no planeta e entre 20% e 22% de todas as espécies de plantas (VALLI et al., 2013; DUTRA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2018).

Dado o grande potencial do país na geração de fitoterápicos e novos tratamentos à base de plantas, o governo federal fez alguns movimentos em busca de regulamentar o uso de plantas medicinais e fitoterápicos. Em 2006 foi aprovada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que tem por objetivo geral “garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2006). Já em dezembro de 2008 foi aprovado o Programa Nacional de Plantas Medicinais, objetivando estabelecer os meios pelos quais serão atingidas as metas propostas pela PNPMF (BRASIL, 2008). Em 2009, ocorreu a publicação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (Rennisus), listando 71 plantas nativas brasileiras comumente usadas pela população de forma medicinal e/ou que tiveram seus efeitos comprovados cientificamente, buscando achar tratamentos alternativos para tratar doenças (MARMITT et al., 2018). Entretanto, o Brasil possui mais de 45 mil espécies de plantas (RIBEIRO et al., 2018), o que significa que a Rennisus cobre uma ínfima parcela das plantas capazes de gerar novos produtos fitoterápicos.

Várias plantas medicinais já passaram por diversas etapas de pesquisa e hoje podem ser consideradas eficazes e seguras para uso (MATTOS et al., 2016). Entretanto, ainda existe uma enorme quantidade de plantas que possuem potenciais efeitos benéficos a serem avaliadas experimentalmente. Entre essas plantas, estão algumas representantes da família Myrtaceae.

3.1.2 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae compreende 121 gêneros e 3800 - 5800 espécies de arbustos e árvores que são encontrados especialmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo (STEFANELLO, PASCOAL & SALVADOR, 2011). No Brasil, a maioria das espécies da família se encontra na Mata Atlântica, sendo a sexta família com mais representantes no bioma (STEHMANN et al., 2009 apud AMORIM & ALVES, 2012).

As espécies pertencentes à família Myrtaceae endêmicas do Brasil não costumam ter uma madeira com grande valor econômico, mas há muitas espécies frutíferas e alguns desses frutos são explorados comercialmente, como a goiaba (*Psidium guajava* L.), pitanga (*Eugenia uniflora*) e a jabuticaba (*Plinia* spp.) (GRESSLER, PIZO & MORELLATO, 2006). Contudo, existem muitas outras mirtáceas com frutos que são subaproveitados, principalmente por serem muito perecíveis e pelo desconhecimento de seus valores nutricionais e sabor (GURAK et al., 2014). Por outro lado, com os consumidores cada vez mais atentos a produtos mais saudáveis e pouco industrializados, os frutos de mirtáceas são ótimas opções, sendo ricos em compostos funcionais com potencial antioxidante (PEREIRA et al., 2012).

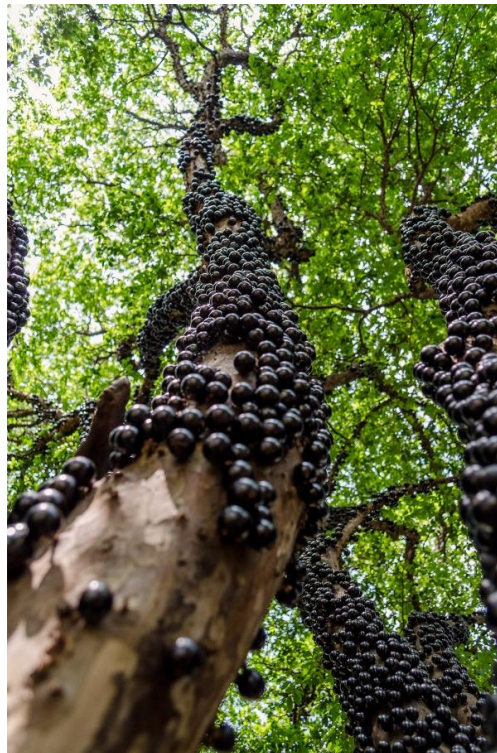
Além de seus frutos, os membros da família Myrtaceae também são valorizados por seu potencial medicinal. Stefanello, Pascoal & Salvador (2011) e Cruz & Kaplan (2004) apresentaram estudos reportando os tipos de uso medicinal feitos com plantas da família Myrtaceae no Brasil baseados na literatura disponível a época. Os resultados encontrados em ambos os levantamentos são bem similares: as mirtáceas são utilizadas para tratar, principalmente, distúrbios gastrointestinais. Também se destacam os usos para combater problemas no sistema urinário, diabetes e gripes. As espécies mais citadas foram a goiabeira (*Psidium guajava* L.), pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) e guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*). Na grande parte dos casos, são as folhas que são utilizadas para obter o efeito medicinal. Em alguns casos, também são opções utilizadas as cascas das árvores e os frutos.

Estudos já foram realizados com alguns frutos de mirtáceas, como o camu-camu (*Myrciaria dubia*), jambolão (*Syzygium cumini*), jabuticaba (*Plinia* spp.) e pitanga (*Eugenia uniflora*) e estes demonstraram resultados interessantes no que diz respeito aos possíveis efeitos benéficos à saúde, especialmente ligados a capacidade antioxidante dos frutos (COSTA et al., 2013; NERI-NUMA et al., 2018). O fruto que se destaca nesse cenário é a jabuticaba, por possuir notável efeito antioxidante e ser mais difundida pelo país do que os outros frutos estudados, especialmente a espécie *Plinia cauliflora* (LIMA et al., 2008).

3.1.3 *Plinia cauliflora*

Jaboticaba ou Jaboticaba é o nome comum dado aos frutos de várias espécies de plantas pertencentes a família Myrtaceae, especialmente àquelas do gênero *Plinia*, conhecidas popularmente como jabuticabeiras. São nove as espécies conhecidas como jabuticabeiras: uma espécie extinta, cinco em *bancos de germoplasma* e três com dispersão natural, sendo elas *Plinia cauliflora* (DC.) Berg, *Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg e *Plinia trunciflora* (Berg) Mattos. (CITADIN, DANNER & SASSO, 2010; NEVES et al., 2018). É comum na literatura o uso do gênero *Myrciaria* como sinônimo de *Plinia*; entretanto, Sobral (1985, apud DANNER, 2007) alega que, devido à presença constante de cotilédones separados em *Plinia* e a raridade desta condição em *Myrciaria*, onde os cotilédones costumam ser soldados, além de outras características, as jabuticabeiras fariam parte do gênero *Plinia*.

Figura 3.1 – *Plinia cauliflora*



Fonte: KARKLIS, 2012

As jabuticabeiras são nativas das áreas de mata atlântica da região centro-sul do Brasil; contudo, podem ser encontradas na maior parte do país, desde o Pará até o Rio Grande do Sul e até em países vizinhos, como Argentina e Paraguai (CITADIN, DANNER & SASSO, 2010).

Elas podem chegar a medir 10 metros de comprimento quando completamente desenvolvidas e dar frutos duas vezes por ano, entre setembro e outubro e entre dezembro e janeiro, sendo uma planta madura capaz de gerar até 450 kg de frutos (MARIANI et al., 2013).

Como regra, os frutos de *Plinia* spp. crescem diretamente nos troncos das árvores e são pequenos, entre 3 e 4 cm de diâmetro, do tipo baga, com casca com coloração entre verde, no começo do desenvolvimento e roxa, quase preta, quando maduros, polpa esbranquiçada mucilaginoso, tendo até 4 sementes (LIMA et al., 2008; WU et al., 2012; INADA et al., 2018). O fruto tem um agradável gosto doce e pouca acidez e costuma ser consumido na sua forma *in natura*, especialmente pelo fato de ser bastante perecível: sua vida de prateleira pós-colheita é de apenas três dias, graças a intensa perda de água, deterioração microbiológica e fermentação da polpa. Mas o fruto também é bastante utilizado para fazer geleias, sucos, vinhos e licores, logo após a sua colheita (ALEZANDRO et al., 2013; WU, LONG & KENNELLY, 2013; INADA et al., 2018).

O primeiro estudo que reportou a composição química de *Plinia* spp. foi realizado por Trevisan, Bobbio & Bobbio (1972), que, utilizando frutos de *Plinia jaboticaba* maduros, identificou uma antocianina, peonidina-3-glicosídeo. Apenas em 2006, Reynertson e colaboradores voltaram a explorar a composição química da jaboticaba; utilizando *Plinia cauliflora*, encontraram inúmeros compostos nunca identificados na fruta, como quercetina, ácido gálico, ácido elágico e um composto visto pela primeira vez, que recebeu o nome de jaboticabina ([3,5-dihydroxy-2-(2-methoxy-2-oxoethyl)phenyl] 3,4-dihydroxybenzoate).

Em 2012, Abe, Lajolo e Genovese demonstraram que frutos da família Myrtaceae são especialmente ricos em ácido elágico, e *P. jaboticaba* possui grandes quantidades de flavonoides, especialmente antocianinas, é uma fonte promissora de derivados do ácido elágico e, assim como no morango, os níveis de ácido elágico decaem com o decorrer do processo de maturação do fruto. Também em 2012, Wu e colaboradores realizaram um perfil de metabólitos de *M. cauliflora*, sendo este o mais extensivo estudo da composição química do fruto. Foram identificados pela primeira vez em *Plinia* spp. casuariina, casuarictina, pedunculagina, dilactona do ácido valoneico, telimagrandina I e II e siringina. Além disso, foram encontrados compostos já vistos anteriormente em *Plinia* spp., como os ácidos gálico e elágico, Cianidina-3-glicosídeo, delfinidina-3-glicosídeo, quercetina e jaboticabina. A tabela 3.1 mostra os principais experimentos que buscaram desvendar a composição química de *Plinia* spp. e seus achados.

Alezandro e colaboradores (2013) fizeram um estudo comparativo da composição química e fenólica dos frutos de *Plinia cauliflora* e *Plinia jaboticaba*, as duas espécies mais

comuns de jaboticaba. Ambas se destacam pela quantidade de Cobre, Manganês e Potássio: uma porção de 100 g de jaboticabas resultaria no consumo de 10 a 15 % da dose recomendada diária de ingestão destes minerais. Quanto a composição fenólica, *P. cauliflora* é mais rica em derivados de quercetina (42 % mais) e antocianinas (25 % mais), mas *P. jaboticaba* possui mais derivados do ácido elágico e maior capacidade antioxidante (cerca de 20 % maior, em testes feitos *in vitro*). A semente é a parte dos frutos com maior capacidade antioxidante, enquanto a polpa é a parte com a menor. Além disso, a capacidade antioxidante é menor em frutos maduros do que frutos em desenvolvimento (até 77 % de diferença). Por fim, há mais polifenóis na casca do que na polpa dos frutos e não há nas sementes. Como conclusão, ambas são indicadas como ótimas fontes de polifenóis, mas desde que também haja o consumo de casca e semente e não só a polpa.

Tabela 3.1 – Principais compostos químicos encontrados em *Plinia* spp., de acordo com a literatura

(continua)			
Autores	Espécie utilizada	Parte do fruto avaliada	Compostos químicos achados
Trevisan, Bobbio & Bobbio, 1972	<i>P. cauliflora</i>	Todo fruto	Peonidina-3-glicosídeo
Reyterson et al., 2006	<i>P. jaboticaba</i>	Fruto sem semente	Jaboticabina, rutina, miricetrina, quercetina, ácido cumárico, ácido gálico, ácido elágico
Lima et al., 2011	<i>Plinia</i> spp.	Todo fruto	Cianidina-3-glicosídeo Delfinidina-3-glicosídeo
Leite-Legatti et al., 2012	<i>P. jaboticaba</i>	Casca	Cianidina-3-glicosídeo Delfinidina-3-glicosídeo
Wu et al., 2012	<i>P. cauliflora</i>	Todo fruto	Ácido gálico, ácido elágico, Cianidina-3-glicosídeo, Delfinidina-3-glicosídeo, Casuariina Pedunculagina, siringina

Tabela 3.1 – Principais compostos químicos encontrados em *Plinia* spp., de acordo com a literatura

(conclusão)			
Autores	Espécie utilizada	Parte do fruto avaliada	Compostos químicos achados
Hacke et al., 2016	<i>P. cauliflora</i>	Semente	Ácido elágico, ácido quínico, punicalina, castalagina

Fonte: elaborado pelo autor.

O primeiro experimento *in vivo* utilizando *Plinia* spp. foi publicado em 2011, por Leite e colaboradores; a casca de *Plinia jaboticaba* foi liofilizada, diluída em água e administrada via gavagem à ratos Wistar, buscando avaliar os efeitos antioxidantes no plasma dos animais. Como resultado, o potencial antioxidante do plasma aumentou significativamente, o que sugere que o consumo de antocianinas deve ser bem estabelecido para indivíduos adultos. A tabela 3.2 mostra outros experimentos *in vivo* que foram realizados desde 2011.

Tabela 3.2 – Alguns experimentos realizados *in vivo* com partes do fruto de *Plinia* spp. e seus resultados principais

(continua)				
Autores	Espécie utilizada	Modo de uso	Modelo experimental	Efeitos vistos
Leite et al., 2011	<i>Plinia jaboticaba</i>	Pó da casca Liofilizado	Ratos Wistar	Maior potencial antioxidante do sangue
Lenquiste et al., 2012	<i>Plinia jaboticaba</i>	Pó da casca Liofilizado	Ratos Sprague-Dawley obesos	Redução hiperinsulinemia, efeito cardioprotetor
Alezandro, Granato e Genovese, 2013	<i>Plinia jaboticaba</i>	Pó do fruto Liofilizado	Ratos Wistar Diabetes induzido	Melhora no perfil lipídico, redução de estresse oxidativo

Tabela 3.2 – Alguns experimentos realizados *in vivo* com partes do fruto de *Plinia* spp. e seus resultados principais

(conclusão)

Autores	Espécie utilizada	Modo de uso	Modelo experimental	Efeitos vistos
Batista et al., 2014	<i>Plinia jaboticaba</i>	Pó da casca Liofilizado	Ratos Sprague-Dawley obesos	Redução de estresse oxidativo
De Andrade et al., 2015	<i>Plinia cauliflora</i>	Pó da casca Extrato hidroalcoólico	Ratos Wistar	Vasorrelaxante e hipotensivo
De Souza et al., 2017	<i>Plinia cauliflora</i>	Pó do fruto sem semente Extrato hidroalcoólico	Ratos Wistar hipertensão induzida	Atenuação de hipertensão
Moura et al., 2018	<i>Plinia jaboticaba</i>	Pó do fruto Extrato hidroalcoólico	Camundongos C57BL/6 obesos	Efeitos antiobesogênicos

Fonte: elaborado pelo autor.

Alguns parâmetros se destacam na análise dos experimentos *in vivo* citados na tabela 3.2 e outros encontrados na literatura: é muito comum o uso de modelo experimentais induzidos a obesidade ou diabetes, independentemente de esses serem ratos ou camundongos. Além disso, os efeitos relatados nos experimentos geralmente são atribuídos a alta presença de polifenóis no fruto, especialmente antocianinas e ácido elágico, o que sugere que a capacidade antioxidante de *Plinia* spp. seja a principal responsável pelos resultados observados.

3.1.4 Estresse oxidativo

São classificados como radicais livres as moléculas orgânicas ou inorgânicas e os átomos que contém um ou mais elétrons não pareados e existem independentemente de outras moléculas (HALLIWELL, 1994 apud BIANCHI & ANTUNES, 1999). Um importante

exemplo de radicais livres são as espécies reativas de oxigênio (EROs): exemplificadas pelo radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e o radical hidroxila ($\bullet OH$), as EROs são geradas naturalmente pelo organismo e, a níveis fisiológicos, são importantes para sinalização intracelular essencial para sobrevivência da célula. Entretanto, um desbalanço entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante da célula pode gerar estresse oxidativo, que nada mais é do que a indução de danos celulares pelos radicais livres (BIANCHI & ANTUNES, 1999; LANDRISCINA et al., 2009; TRAVERSO et al., 2013).

Para combater os efeitos nocivos das EROs atua a defesa antioxidante, que possui componentes de origem endógena e exógena. A defesa antioxidante enzimática é a primeira linha de defesa endógena do organismo contra os radicais livres e possui três componentes principais: a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a transformação de $O_2^{\bullet-}$ em O_2 e H_2O_2 ; catalase (CAT), que reduz H_2O_2 em água e oxigênio molecular e; glutatona peroxidase (GPX), que reduz H_2O_2 , lipoperóxidos e outros hidroperóxidos em seus compostos hidroxilados correspondentes (LANDRISCINA et al., 2009). Aqui vale destacar que o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), substância sob a qual CAT atua, não é um radical livre, mas é capaz de gerar radicais dependendo de sua interação com outras substâncias. Mas, além de enzimas, outras substâncias endógenas também atuam de forma antioxidante, como a albumina, ceruloplasmina, ferritina e transferrina (MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA, WITKOWSKA & ZUJKO, 2018). Já os componentes exógenos da defesa oxidante geralmente advêm da alimentação, especialmente de frutas e verduras e incluem pigmentos como carotenoides e antocianinas e algumas vitaminas (PALAFOX-CARLOS, AYALA-ZAVALA & GONZÁLEZ-AGUILAR, 2011; VILLA-RODRIGUEZ et al., 2014).

3.1.5 Antocianinas

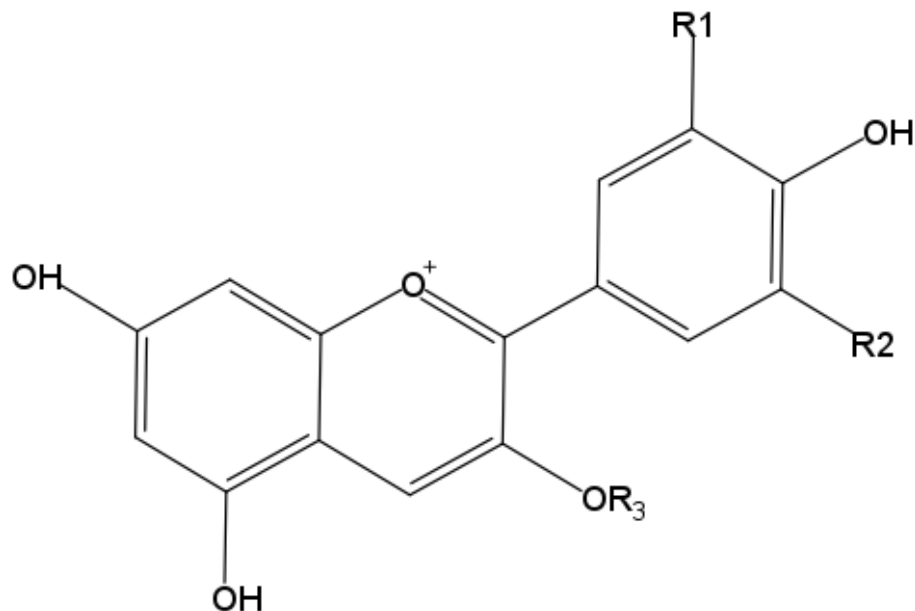
Antocianinas são pigmentos pertencentes a classe de compostos fenólicos chamada de flavonoides. Solúveis em água, as antocianinas estão presentes especialmente em flores, frutos e tubérculos; geralmente é o pigmento responsável pelas cores azul, laranja, rosa, roxo e vermelho em plantas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; KONG et al., 2013; KHOO et al., 2017). Elas são comumente extraídas de flores e frutos para serem utilizadas como corantes de uso geral, além de estarem presentes em muitas partes de plantas que são consumidas como alimento ou de forma medicinal (KHOO et al., 2017).

Devido à presença de antocianinas em muitas plantas que consumimos, vários estudos dirigiram-se a entender as suas atividades biológicas. Foram identificadas atividades

antioxidante (LEE et al., 2015), antimicrobial (SILVA et al., 2016; YOON et al., 2018), cardiovascular (CASSIDY, 2018), antiobesidade (LEE et al., 2017) e anticancerígena (LIN et al., 2017; MAZZONNI et al., 2019).

Como mostrado nos estudos *in vitro*, *Plinia* spp. são ricas em dois tipos de antocianinas: cianidina e delphinidina, especialmente encontradas atreladas à glicosídeos (cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo). Estudos com estas antocianinas isoladas mostram que a cianidina-3-glicosídeo pode: inibir lesões em fibroblastos da derme causadas por luz violeta do tipo A (UVA) por aumentar a autofagia (WU et al., 2019); proteger células HaCaT *in vitro* contra raios UVB por, principalmente, ter ação antioxidante e diminuído a expressão da enzima ciclo-oxigenase 2 (COX 2) (HE et al., 2017) e ; atenua a angiogênese de câncer de mama *in vitro* (linhagem MDA-MB-231) por inibir a expressão da proteína STAT3 e, por consequência, inibir a citocina VEGF (MA & NING, 2019). Já a delphinidina-3-glicosídeo isolada foi relacionada a inibição da acumulação de lipídios, sugerindo potencial terapêutico contra a obesidade (PARK, SHARMA & LEE, 2019) e suprimiu a carcinogênese de câncer de mama (linhagem MCF10A) induzida por químicos (YANG et al., 2016).

Figura 3.2 – Estrutura química base das antocianinas



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 3.3 – Radicais que formam as principais antocianinas

	R1	R2
Cianidina	OH	H
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Pelargonidina	H	H
Petunidina	OCH ₃	OH

Fonte: elaborado pelo autor.

Considerando a riqueza do fruto de *Plinia cauliflora* em antocianinas, especialmente cianidina-3-glicosídeo e delfinidina-3-glicosídeo e os possíveis efeitos sinérgicos com outros componentes da jabuticaba, faz-se necessário estudar melhor os efeitos *in vivo* do consumo do fruto. Ainda mais quando é possível que o consumo excessivo de antocianinas possa trazer efeito negativo para o corpo.

3.2 TESTES DE TOXICIDADE *IN VIVO*

Considerável parte das plantas medicinais nativas brasileiras não passaram por nenhum tipo de estudo que avalie atividades farmacológicas e dados toxicológicos, ou seja, há poucos dados científicos no que diz respeito a segurança de consumo dessas plantas pela população (BEDNARCZUK et al., 2010). Logo, avaliações capazes de esclarecer características farmacológicas e toxicológicas se fazem necessárias não necessariamente para comprovar possíveis efeitos benéficos e sim demonstrar possíveis efeitos deletérios.

Os testes de toxicidade fazem exatamente isso: servem não só para definir o quão segura é uma substância, mas também para caracterizar seus possíveis efeitos tóxicos (AROME & CHINEDU, 2013). Existem dois tipos básicos de testes de toxicidade: *in vivo* e *in vitro*. Os testes *in vivo* têm um problema de caráter ético: o sofrimento causado aos animais durante a experimentação (WHITE, 2001 apud CAZARIN, CORRÊA & ZAMBRONE, 2004). Isto gerou uma reavaliação de todo o processo de experimentação com animais, fazendo com que instituições ajustassem seus protocolos para reduzir ou até mesmo evitar o uso de animais. É nesse âmbito que surge o programa dos três Rs: redução, refinamento e substituição (traduzido do inglês *reduction, refinement and replacement*), objetivando diminuir o número de animais

usados em pesquisa, minimizar o sofrimento dos animais utilizados em pesquisa e substituir o uso de modelos animais sempre que possível (CAZARIN, CORRÊA & ZAMBRONE, 2004).

Já testes *in vitro* se destacam por não utilizar animais para experimentação: são utilizadas, geralmente, culturas de células. As vantagens desse tipo de teste são: poder melhor limitar as variáveis do experimento; obter mais dados e; ter um período de testes, no geral, mais curto (ROGERO et al., 2003). Entretanto, avaliar a toxicidade de uma substância *in vitro* possui claras limitações: como são utilizadas células e não organismos nos experimentos, não é possível avaliar os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Sendo assim, é muito difícil prever com alguma exatidão o comportamento que a substância testada terá em um organismo (USUI et al., 2016). Portanto, sendo o objetivo do experimento avaliar alguma planta que já é usada de forma medicinal, faz mais sentido optar por testes *in vivo* do que *in vitro*.

Uma instituição internacional que trabalha para estabelecer políticas e padrões mundiais para verificar a segurança de substâncias é a Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, traduzido do inglês *Organisation for Economic Co-operation and Development*). O objetivo dessa padronização é “comparar experiências de protocolos, procurar respostas a problemas comuns, identificar boas práticas e coordenar políticas domésticas e internacionais” (OECD, 2008). A instituição foi pivotal em desenvolver guias internacionais para testes de toxicidade, o que permite que menos testes similares ocorram em diferentes lugares para determinar a toxicidade de alguma substância (KREWSKI et al., 2010). Por possuir protocolos reconhecidos internacionalmente e trabalhar para que estes limitem ao máximo o número de animais em cada experimento (OECD, 2001), foram seguidos os guias da instituição para escolher os testes mais adequados para os objetivos desta dissertação.

3.2.1 Toxicidade aguda

O teste de toxicidade oral aguda é descrito pelo guia 423 da OECD para testes de químicos (2001). Este guia surgiu em 1996, sendo uma alternativa ao guia 401 e passou por revisões para sua versão atual, publicada em 2001. O objetivo do teste é determinar uma faixa de exposição a substância a ser testada na qual se espera encontrar mortalidade utilizando o menor número de animais possível. Preferencialmente deve se utilizar ratos para esse protocolo, mas outros roedores podem ser utilizados, caso necessário.

Para o teste de toxicidade é estabelecido um grupo experimental de três animais, os quais vão receber a substância a ser testada de forma oral em uma das doses fixas estabelecidas

para administração: 5, 50, 300 e 2000 mg/kg de peso corporal. A dose escolhida para administração será a mais provável de gerar mortalidade no grupo. Caso ocorram mortalidades, um novo grupo experimental de três animais é estabelecido e uma dose menor da substância é administrada. O fim do experimento se dá quando é encontrada a dose fixa mais alta que não leva a fatalidades no grupo experimental.

3.2.2 Toxicidade de doses repetidas de 28 dias

O teste de toxicidade oral de doses repetidas de 28 dias é descrito pelo guia 407 da OECD para testes de químicos (2008). Este guia foi adotado pela OECD em 1981, passou por processo de revisão em 1995 e sua versão atual foi publicada em 2008. O objetivo deste teste é determinar possíveis riscos para a saúde com a exposição a substância a ser testada por um tempo limitado. Assim como no teste de toxicidade aguda, ratos são os modelos animais preferenciais, mas outros roedores podem ser utilizados.

Para a realização do protocolo, os mesmos experimentos devem ser conduzidos tanto em fêmeas quanto em machos. Ou seja, cada grupo experimental acaba por ser composto de 10 animais, sendo 5 fêmeas e 5 machos. São estabelecidos três grupos experimentais de teste e um de controle e ocorre a administração oral da substância a ser testada por 28 dias. As doses escolhidas para serem administradas são escolhidas baseadas em literatura ou testes anteriores a realização do protocolo. A dose mais alta deve se encontrar próxima do limite para causar mortalidade nos animais, podendo até incluir leves efeitos tóxicos; as doses subsequentes devem possuir uma concentração da substância em teste entre duas e quatro vezes menor do que a dosagem mais alta mais próxima. Não é esperada mortalidade nesse protocolo, portanto, o fim se dá com a eutanásia dos animais após os 28 dias de administração, onde ocorre a necropsia do animal e se recolhe material biológico para realização de testes hematológicos e bioquímicos. Objetiva-se com essas análises caracterizar a toxicidade da substância testada e verificar a existência de relação dose/resposta.

4 MANUSCRITO

Os itens “metodologia”, “resultados” e “discussão” pertencentes a esta dissertação estão dispostos na forma de manuscrito. Tal manuscrito foi estruturado segundo as normas da revista para a qual foi submetido, *Drug and Chemical Toxicology*.

4.1 MANUSCRITO

Evaluation of Acute and Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity of the Juice from *Plinia cauliflora* Fruits in Wistar Rats

Fernando Primitivo Romero Bordin^{a*}, Amanda Szymansky Heck^a, Gabriela Buzatti Cassanego^b, Ana Martiele Engelmann^c, Cinthia Melazzo de Andrade^c, Liliane de Freitas Bauermann^{a,b}

^aPrograma de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil

^bPrograma de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil

^cPrograma de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil

*Corresponding author: Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, n° 1000, prédio 21, sala 5229, Bairro Camobi, Santa Maria, CEP 97105-900, Rio Grande do Sul, Brasil

E-mail adress: f.primitivo@gmail.com

Evaluation of Acute and Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity of the Juice from *Plinia cauliflora* Fruits in Wistar Rats

Abstract

Given the rise on consciousness about ultra-processed foods and their negative effects on health, natural products offering interesting nutritional values are being well valued by the population, and scientists see on these aliments possible nutraceuticals. *Plinia cauliflora* is a plant endemic of the Brazilian Atlantic Forest, and produces on its trunks a small, purple berry known as *jabuticaba*, rich on phenolic compounds, especially anthocyanins. On previous studies, little attention was directed to possible toxic effects of the high consumption of *jabuticaba*, therefore, this experiment focused on evaluating the oral toxicity of *jabuticaba*'s concentrated juice (CJJ) on an acute and a repeated dose 28-day scenario. Considering the acute oral toxicity test, 6 male rats received each 5000 mg/kg of CJJ via gavage, and 6 rats received distilled water as placebo. No physical signs of toxicity were found, and hematological and biochemical tests showed no statistical differences between groups, except on total cholesterol levels. On the repeated dose 28-day test, 20 female, and 20 male rats were divided in four groups: control, CJJ 500 mg/kg, CJJ 1000 mg/kg, and CJJ 2000 mg/kg. No signs of toxicity were seen during the experiment. Mean organs` weight had slight statistical differences on females, and hematological and biochemical parameters showed no statistical difference on males, except glucose levels. On females, AST, glucose, and total protein levels presented slight statistical differences. In conclusion, CJJ has showed no signs of toxicity on the tested doses and can be considered safe to consume.

Keywords: *jabuticaba*; Myrtaceae; nutraceutical; toxicity; Wistar.

1 Introduction

The medicinal usage of plants has been a common practice for thousands of years, most likely since the dawn of humanity. And even with the advent of modern pharmacology on the nineteenth century, and the research shifting its focus to active principles and posteriorly its synthetic synthesis, plants are still a pillar for medicine: about 30 % of all the medicaments currently available are derived from natural sources (Dutra *et al.* 2016, Vasisht, *et al.* 2016). The popularity of treatments based on natural products is on the rise, mostly because the public believes that natural products are safer than industrialized options, and the access to natural products is usually easier, due to both its availability and its price (Vasisht, *et al.* 2016, Ribeiro *et al.* 2018).

Brazil has on its territory more than 45 000 species of plants, which represents approximately 20 % of the world's flora and, although the historical usage of medicinal plants by the Brazilian population on the treatment of various diseases, there is still a lot of untouched potential on Brazilian's flora. Aware of this potential, scientists and industries started studying some of these plants and their active principles looking to find novel treatments and medicaments (Oliveira *et al.* 2012, Dutra *et al.* 2016). Besides the scientific interest, the population in general has become more mindful to foods with higher nutritional values and these foods are usually rich on phytochemicals capable of preventing many diseases (Oliveira *et al.* 2006, Nile & Park 2014).

Belonging to the Myrtaceae family, *Plinia cauliflora* is an endemic species of the Brazilian Atlantic Forest. The tree, popularly known as *jabuticabeira*, generates fruits called *jabuticabas*: growing directly from the trunk and branches of the trees, they are berries with up to 3 cm of diameter, whitish mucilaginous pulp with a sweet flavor, pleasant and not very acidic when matured, having from one to four seeds (Lima *et al.* 2008, Wu *et al.* 2012, Wu *et al.* 2013,

Neves *et al.* 2018). *Jabuticabas* are mostly consumed *in natura*, since they are very perishable, but they can also be found in jams, juices, wines, and liquors (Alejandro *et al.* 2013a, Inada *et al.* 2018).

Literature indicates that jabuticaba is rich in phenolic compounds, like ellagic and gallic acid, ellagitannins and anthocyanins, specially cyanidin-3-glucose and delphinidin-3-glucoside (Wu *et al.* 2012, Alejandro *et al.* 2013a) and some promising results were obtained in *in vivo* experiments utilizing rodents, showing the capacity of this fruit to improve lipidic markers, reduce oxidative stress and attenuate hypertension (Alejandro *et al.* 2013b, Batista *et al.* 2014, de Souza *et al.* 2017, Moura *et al.* 2018). However, there are no studies dedicated to investigating possible toxic effects induced by the high consumption of jabuticaba. Therefore, this experiment's focus is to observe possible toxic effects related to the consumption of *jabuticaba* on Wistar rats.

2 Materials and Methods

2.1 Botanical Material and Preparation of the Juice

This study is registered in the *Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado* (SisGen) under the number A52EFAB. *Jabuticaba* fruit was bought from a local farmer in the Public Market of Porto Alegre (Rio Grande do Sul state, Brazil) in early September 2019. Fruits were immediately stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and kept this way until usage. Afterward, 865 grams of *jabuticaba* fruit was unfrozen, washed, and put on a blender (Philips, Amsterdam, Netherlands) for seven minutes, to make sure that all the peels and seeds were well grinded. A thick must was formed as result, which in turn was put through a voile strainer, to separate the liquid phase from the solid phase. From this process was

obtained 559 g (581 mL) of concentrated *jabuticaba* juice (CJJ). The option for a juice made solely with *jabuticaba* instead of adding the fruit directly on the diet of the rats was made to guarantee the animals would consume the intended dose for the experiments proposed.

2.2 *Animals*

Male and female *Wistar* rats, weighting 70 – 150 g and aged 4 – 7 weeks were obtained from the Central Animal House of the Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) The rats were housed in polypropylene cages with environmental enrichment and maintained under a 12:12 h light/dark cycle, controlled temperature of 22 ± 3 °C and controlled air humidity of 50 – 60 %, with access to food and water *ad libitum*, being acclimatized for two weeks before the beginning of the experiment. The experiment was conducted following all the guidelines from the *Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal* (CONCEA), and the protocol was approved by the Ethics and Animal Welfare Committee of UFSM (CEUA No. 6214030519).

2.3 *Acute Toxicity*

The acute oral toxicity test was performed in compliance to the OECD guideline 423 (OECD, 2001), with some adaptations. Twelve male rats were divided in 2 groups ($n = 6$), control and test. The animals were fasted overnight for 4 hours and weighted before the procedure started. Via gavage, the test group received a single dose of 5000 mg/kg of CJJ diluted in water to reach a total dose of 2 mL per animal, and the control group received 2 mL of the vehicle, distilled water. Three hours after the administration, food was provided again for all groups. All the animals were closely observed for the first half hour after the administration and then checked upon every few hours on the first 24 hours, and then daily for 14 days. Weight and food

consumption of all animals were evaluated daily. Other observations made included but were not limited to mortality, changes in skin or fur, eyes and mucous membranes, respiratory, circulatory, autonomic and central nervous system, somatomotor activity and behavior pattern. Attention was given to the observation of tremors, convulsions, salivation, diarrhea, lethargy, sleep, and coma. If any animal demonstrated any of those signs or others that indicated possible pain or suffering from its part, its euthanasia would be anticipated due to animal welfare.

By the end of the experiment, animals were fasted overnight and then euthanized by administration of isoflurane followed by cardiac puncture to collect blood for hematologic and biochemical analyses. All organs were evaluated through macroscopic examination.

2.4 Repeated Dose 28-Day Toxicity

This experiment was conducted in accordance with the OECD guideline 407 (2008), with small adaptations when needed. Twenty male and twenty female *Wistar* rats were divided in four groups each ($n = 5$), defined as follows:

- Group I: control, received the vehicle (distilled water, 2 mL);
- Group II: test, received 500 mg/kg of CJJ diluted in water (2 mL total);
- Group III: test, received 1000 mg/kg of CJJ diluted in water (2 mL total);
- Group IV: test: received 2000 mg/kg of CJJ diluted in water (2 mL total).

For 28 days, every group was administered its specific treatment via gavage. Body weight and food consumption were recorded daily. The animals were observed to the same parameters described on the item 2.3.

By the end of the 28 days of administration, animals were fasted overnight and were euthanized by administration of isoflurane followed by cardiac puncture to collect blood for hematologic and biochemical analyses. Heart, kidney, liver, and spleen were macroscopically

evaluated and weighted, and the relative organ weights were calculated as [(organ weight/body weight) x 100].

2.5 Hematological and Biochemical Parameters

Hematological analyses were performed with EDTA-coated tubes. Were determined total red blood cells (RBC), total white cells (WBC), platelet (PLT), hematocrit (HCT), total hemoglobin concentration (HGB), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), mean corpuscular volume (MCV), and plasmatic protein (PP) using an electronic counter (BC-VET 2800, Mindray, Shenzhen, China). The differential leucocyte count was performed from blood smears stained with Rapid Panoptic (Diff-Quick®) and analyzed in immersion microscopy (1000x magnification).

As for biochemical parameters, were analyzed albumin (ALB), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), creatinine (CREAT), blood urea nitrogen (BUN), gamma-glutamyl tranferase (GGT), serum total protein (TP), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), and glucose (GLU), using commercial kits (Diagnostic Kits Laboratory Bioclin/Quibasa, Minas Gerais, Brazil) and an automatic biochemical analyzer (BS-120, Mindray, Shenzhen, China).

2.6 Statistical Analyses

Differences between groups were determined by Student`s *t* and test one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey`s *post hoc* test or Mann-Whitney and Kruskal-Wallis followed by Dunn`s *post hoc* test if the requirements for parametric tests were not satisfied. Results are expressed as mean \pm standard error mean, and differences were considered

statistically significant when $p \leq 0,05$. All statistical analyzes were carried out on the software GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

3 Results

3.1 *Acute Toxicity*

No animals showed any sign of toxicity at any time during the experiment. After euthanasia, macroscopical analyses of all the animals' organs did not reveal any morphological differences between the control and test groups. No statistical differences were found related to the mean weight of the animals both at the beginning and at the end of the experiment (Table 1). Considering the hematological analyses, significative difference was only found in the white blood cell count ($p = 0,0377$), but no statistical difference was seen between the leukocytes identified by the differential count (Table 2). As for the biochemical analyses, were identified statistical differences in albumin levels ($p = 0,0442$), total cholesterol ($p = 0,006$) and glucose levels ($p = 0,0424$) (Table 3).

[Tables 1, 2, and 3 here]

3.2 *Repeated Dose 28-Day Toxicity*

As well as on the acute toxicity test, no animal showed any sign of toxicity during the experiment. However, during the acclimatation, one male rat showed severe weight loss and breathing difficulties, which led to the decision of removing it from the experiment. The macroscopical verification of organs post-euthanasia showed no signs of toxicity in any organ.

Food and water consumption were measured every four days. Considering all the female groups (Figure 1/Table 4), mean food consumption of CJJ 500 mg/kg and CJJ 2000 mg/kg were statistically different from control ($p = 0,0128$ and $0,003$, respectively) and mean water consumption saw the CJJ 2000 mg/kg statistically differ from CJJ 500 mg/kg and 1000 mg/kg ($p = 0,0027$ and $0,0035$, respectively). Taking in consideration all the male groups (Figure 2/Table 5), CJJ 2000 mg/kg was statistically different from all other groups ($p < 0,0001$ in all cases) when it comes to mean food consumption. Regarding mean water consumption, CJJ 2000 mg/kg was also statistically different from all other groups ($p < 0,0001$ when compared to control and CJJ 500m mg/kg, $p = 0,0110$ when compared to CJJ 1000 mg/kg), but CJJ 500 mg/kg was also statistically different from CJJ 1000 mg/kg ($p = 0,0025$).

[Figures 1, and 2 here]

Mean body weight both at the beginning and the end of the experiment did not show any statistical difference both for female (Table 4) and male rats (Table 5). Considering the female organs' mean weight (Table 4), the heart of the group treated with CJJ 2000 mg/kg showed significant difference compared to the CJJ 500 mg/kg group ($p = 0,0356$) and CJJ 1000 mg/kg group ($p = 0,0498$), but no statistical difference was found between the groups when comparing the relative weight of the heart. Besides the heart, kidney and liver showed statistical differences between groups, this time both in mean organ weight and relative organ weights: the kidney on the CCJ 2000 mg/kg was statistically different from the control ($p = 0,0264$ and $0,0155$, considering mean and relative organ weight, respectively), and the liver on the CJJ 500 mg/kg showed significant difference from the control ($p = 0,0298$ and $0,0091$, considering mean and relative organ weight, respectively). About the male organs' mean and relative weight (Table 5), no significant differences were identified.

[Tables 4, and 5 here]

Regarding hematological parameters (Tables 6 and 7), the only significant difference was from the mean corpuscular hemoglobin concentration on female rats (Table 6), where the groups CJJ 1000 mg/kg and CJJ 2000 mg/kg were significantly different than groups control and 500 mg/kg ($p = 0,0313$ and $0,0235$ between CJJ 1000 mg/kg and control and CJJ 500 mg/kg, respectively and: $p = 0,0012$ and $0,0009$ between CJJ 1000 mg/kg and control and CJJ 500 mg/kg, respectively).

[Tables 6, and 7 here]

At last, considering biochemical parameters, firstly on the female groups (Table 8), statistical differences were identified on AST levels, total protein and glucose levels between the control group and CJJ 2000 mg/kg ($p = 0,0233$, $0,0095$ and $0,0135$, respectively). In relation to the male groups (Table 9), ALP levels were statistically different between CJJ 500 mg/kg and CJJ 2000 mg/kg, although barely ($p = 0,0499$). Besides that, only protein levels saw some significant difference between CJJ 500 mg/kg and CJJ 2000 mg/kg ($p = 0,0481$).

[Tables 8, and 9 here]

4 Discussion

There is a consensus that a high consumption of fruits and vegetables offers protection against some common diseases (de Andrade *et al.* 2015). This fact leads to researchers seeking novel, underexplored options of aliments which may be capable of enrichening the nutritional value of our everyday meals and may also help to unravel novel treatments for a myriad of diseases. That said, there are not many *in vivo* studies involving *jabuticaba*; the few studies mostly focus on obesity and diabetes models involving rodents, and, although such experiments showed interesting results, like reduction on hyperinsulinemia, and cardioprotective effects (Lenquiste *et al.* 2012), attenuated hyperglycemia, hyperlipidemia, and hepatic protection in mice (Moura

et al. 2018) and rats (Quatrin *et al.* 2018), these types of experiments are not ideal to detect subtle signs of toxicity. Given the fact that *jabuticaba* is consumed by South American populations for centuries, little concern is given to possible toxic effects, however small they might be. These factors were the motivation for this study, which evaluated the oral toxicity of *jabuticaba* in acute and 28-day repeated dose scenarios following the OECD protocols 407 and 423 for the testing of chemicals.

Following the OECD protocol 423, after treatment with a single dose of 5000 mg/kg of CJJ, no signs of mortality nor toxicity were seen. Mean body weight stayed statistically the same between the control and group tests and no biochemical or hematological parameters showed dramatical differences, except for one: total cholesterol levels. However, the cholesterol levels measured for the control group of the acute toxicity experiment were notably low compared to all other groups of animals used in this experiment, no matter sex or treatment used. Thus, is believed that the considerable statistical difference found between control and test groups is only circumstantial, and not related to the treatment itself. Therefore, the *jabuticaba*'s juice toxicity can be classified as category 5, for its lethal acute dose is greater than 5000 mg/kg.

In the repeated dose 28-day oral toxicity study, no mortality nor signs of toxicity were identified during the experiment, and the macroscopical analyses of the organs after euthanasia showed no signs of toxicity as well. When analyzing food and water consumption in the female groups, mean food consumption was statistically higher for the CJJ 500 mg/kg and 2000 mg/kg groups in comparison to the control, and water consumption was statistically higher for the 2000 mg/kg than for the CJJ 500 mg/kg and 1000 mg/kg groups. It is possible to relate these statistical differences to natural variation among the experimental groups, since no difference was found on their mean initial, and final weights. Moreover, other experiments that utilized *jabuticaba* also did not identify any differences on weight gain (Leite *et al.* 2011, de Souza *et*

al. 2017). Regarding the male rats, CJJ 2000 mg/kg group had smaller mean food and water consumption than the other groups, and CJJ 500 mg/kg had a bigger mean water consumption than CJJ 1000 mg/kg. However, the CJJ 2000 mg/kg group only had a *n* of 4 due to health issues with a rat during the acclimatation period; considering the mean food and water consumption per rat per group, all the groups consumed an equivalent amount of food and water.

About the organs' total and relative weights, only on females were found statistical differences: hearts on the CJJ 2000 mg/kg were statistically bigger than those of CJJ 500 mg/kg and 1000 mg/kg, but only in total weight; when comparing their weights relative to the rats' mean weight, no statistical difference was found. Also, kidney was statistically bigger in CJJ 2000 mg/kg than control, and liver was bigger in 500 mg/kg than control, in both cases considering total and relative weight. De Souza *et al.* (2017) tested the effects of a hydroalcoholic extract of *P. cauliflora* on male hypertensive rats and identified an increase in weight of hearts and kidneys on all hypertensive animals. However, groups treated with the extract had a smaller increase in the weight of these organs compared to the control group. Therefore, it is believed that the CJJ had no influence on the weight increase of organs during this experiment.

Considering the hematological parameters, only one thing stands out: on females, the mean corpuscular hemoglobin concentration was higher in CJJ 1000 mg/kg and CJJ 2000 mg/kg groups than control and 500 mg/kg, although no statistical difference was found on hematocrit and hemoglobin levels. Therefore, no actual effect can be attributed to the treatment given to the rats. Analyzing the biochemical parameters, on the female groups, AST levels statistically decreased on CJJ 2000 mg/kg in relation to the control group, and total protein and glucose levels increased on CJJ 2000 mg/kg in relation to the control group. On males, only the total protein levels decreased in CJJ 2000 mg/kg compared to the CJJ 500 mg/kg group. The

decrease in AST levels is not a common occurrence: earlier studies utilizing *jabuticaba* in an *in vivo* scenario from other researchers did not identify any statistical difference on AST levels between groups on their experiments, including an experiment using diabetic rats (Quatrin *et al.* 2018, Palozi *et al.* 2020), which led us to believe that a natural variation of the rats themselves might be the reason of this statistical difference. Moreover, it is possible to identify a reverse trend related to the total protein levels on females and males: while on the female groups the values increased as the *jabuticaba*'s dosage increased, on the male groups the value increased on CJJ 500 mg/kg in comparison to control and then fell on CJJ 1000 mg/kg and 2000 mg/kg. No other study that used healthy rats as subjects has identified any statistical difference in total protein levels, and given that the tendencies are quite different among female and male groups, it is not believed that the treatment had much influence on these results. The increase on glucose levels, on the other hand, might actually be related to the CJJ, since there is a steady growth on glucose levels both on females and males following the increase on the dosage of *jabuticaba*, although statistical differences are quite limited.

Palozi *et al.* (2020) also tested the acute oral toxicity and repeated dose 28-day oral toxicity of *P. cauliflora*; using a dose of 2000 mg/kg of an infusion of *P. cauliflora* peels on the acute test and a maximum dose of 1000 mg/kg of the same infusion on the repeated dose 28-day toxicity. Palozi and collaborators did not find any signs of toxicity, neither found any statistical difference involving any of the tests executed, including biochemical and hematological parameters. Even though the maximum dosages of *jabuticaba* used on that experiment are smaller than the ones used on the hereby related experiment, results are quite similar, which would allow us to theorize that, in a worst-case scenario, the dose of 2000 mg/kg of *jabuticaba* in a repeated dose 28-day situation is the first dose volume to show negative effects on rats. However, Alezandro *et al.* (2013b) gave to streptozotocin-induced diabetic rats

2 g/kg of *jaboticaba* powder for 40 days and no toxic effects were identified. In fact, jaboticaba helped improve the rats' lipid profile and reduced their oxidative stress.

In conclusion, the present studies showed that *jaboticaba*, administered as a concentrated juice, in considerably large volumes, does not show any signs of toxicity on an acute oral toxicity model nor on a 28-day repeated dose model. No physical, hematological, or biochemical signs of toxicity were found, which attests for the safety of consumption the fruit of *Plinia cauliflora* and corroborates its use as a novel source of bioactive components, both as an aliment and as a possible nutraceutical.

Acknowledgments

This study was financially supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Declaration of Interest

The authors report no conflicts of interest.

References

Alezandro, M.R. *et al.*, 2013a. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International*, 54 (1), 468 – 477. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.018.

Alezandro, M.R. *et al.*, 2013b. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. *Food Research International*, 54 (1), 650 – 659. DOI:

10.1016/j.foodres.2013.07.041.

Batista, A.G. *et al.*, 2014. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. *Journal of Functional Foods*, 6, 450 – 461. DOI: 10.1016/j.jff.2013.11.011.

De Andrade, D.M.L. *et al.*, 2015. Vasorelaxant and hypotensive effects of jaboticaba fruit (*Myrciaria cauliflora*) extract in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. DOI: 10.1155/2015/696135.

De Souza, C.G. *et al.*, 2017. Radical scavenger capacity of jaboticaba fruit (*Myrciaria cauliflora*) and its biological effects in hypertensive rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. DOI: 10.1155/2017/2383157.

Dutra, R.C. *et al.*, 2016. Medicinal plants in Brazil: pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological Research*, 112, 4 – 29. DOI:

10.1016/j.phrs.2016.01.021.

Inada, K.O.P. *et al.*, 2018. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) juice obtained by steam-extraction: phenolic compound profile, antioxidant capacity, microbiological stability, and sensory acceptability. *Journal of Food Science and Technology*, 55 (1), 52 – 61. DOI:

10.1007/s13197-017-2769-3.

- Leite, A.V. *et al.* 2011. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (6), 2277 – 2283. DOI: 10.1021/jf103181x.
- Lenquiste, S.A. *et al.*, 2012. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. *Food Research International*, 49 (1), 153 – 160. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.07.052.
- Lima, A.J.B. *et al.*, 2008. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58 (4), 416 – 421.
- Moura, M.H.C. *et al.*, 2018. Phenolic-rich jaboticaba *Plinia cauliflora* (Vell.) Berg) extract prevents high-fat-sucrose diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Food Research International*, 107, 48 – 60. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.01.071.
- Neves, N.A. *et al.*, 2018. Flavonols and ellagic acid derivatives in peels of different species of jaboticaba (*Plinia* spp.) identified by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ. *Food Chemistry*, 252, 61 – 71. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.078.
- Nile, S.H., Park, S.W., 2014. Edible berries: bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30 (2), 134 – 144. DOI: 10.1016/j.nut.2013.04.007.
- Oliveira, A.L. *et al.*, 2006. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). *Food Chemistry*, 99 (1), 1 – 5. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.07.012.

Oliveira, V.B. *et al.*, 2012. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. *Food Research International*, 48 (1), 170 – 179. DOI:

10.1016/j.foodres.2012.03.011.

OECD, 2001. OECD guidelines for testing of chemicals 423: acute oral toxicity – acute toxic class method. Adopted: December 17, 2001.

OECD, 2008. OECD guidelines for the testing of chemicals 407: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. Adopted: October 3, 2008

Palozi, R.A.C. *et al.*, 2020. From general toxicology to DNA disruption: a safety assessment of *P. cauliflora* (Mart.) Kausel. *Journal of Ethnopharmacology*, 258. DOI:

10.1016/j.jep.2020.112916.

Quatrin, A. *et al.*, 2018. The hepatoprotective effect of jaboticaba peel powder in a rat model of type 2 Diabetes Mellitus involves the modulation of thiol/disulfide redox state through the upregulation of glutathione synthesis. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2018. DOI:

10.1155/2018/9794629.

Ribeiro, V.P. *et al.*, 2018. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. *Pharmaceutical Biology*, 56 (1), 253 – 268. DOI:

10.1080/13880209.2018.1454480.

Vasisht, K. *et al.*, 2016. Current perspective in the international trade of medicinal plants material: an update. *Current Pharmaceutical Design*, 22 (27), 4288 – 4336. DOI: 10.2174/1381612822666160607070736.

Wu, S.B. *et al.*, 2012. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, (30), 7513 – 7525. DOI: 10.1021/jf301888y.

Wu, S.B. *et al.*, 2013. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 148 – 159, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.06.021.

Table 1. Initial and final body weight after acute administration of CJJ 5000 mg/kg in male rats. Results are expressed as mean \pm S.E.M. Student's *t* test/Mann-Whitney test ($n = 6$), $p < 0,05$. No significant differences were found. IBW: initial body weight; FBW: final body weight.

	Experimental Groups	
	Control	Test
IBW (g)	262,5 \pm 6,951	273,2 \pm 5,504
FBW (g)	333,8 \pm 10,290	353,0 \pm 8,450

Table 2. Hematological parameters after acute administration of CJJ 5000 mg/kg in male rats. Results are expressed as mean \pm S.E.M. Student's *t* test/Mann-Whitney test ($n = 6$), $p < 0,05$. ^a Statistically different than control. RBC: Total red blood cells; HGB: total hemoglobin concentration; HCT: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT: platelet; PP: plasmatic protein; WBC: total white cells.

	Experimental groups	
	Control	Test
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	8530 \pm 0,235	8,395 \pm 0,280
HGB (g/dL)	16,97 \pm 0,456	16,95 \pm 0,701
HCT (%)	49,18 \pm 1,842	49,33 \pm 2,017
MCV (fL)	57,68 \pm 1,075	58,73 \pm 0,552
MCHC (g/dL)	34,52 \pm 0,430	34,32 \pm 0,138
PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	915,7 \pm 25,5	787,5 \pm 121,4
PP (mg/dL)	6,933 \pm 0,067	6,667 \pm 0,150
WBC ($10^6/\mu\text{L}$)	7800 \pm 279,3	5783 \pm 794,7 ^a
Neutrophils (%)	15,00 \pm 1,633	16,33 \pm 2,275
Lymphocytes (%)	83,50 \pm 2,012	81,33 \pm 2,917
Monocytes (%)	0,833 \pm 0,543	0,833 \pm 0,307
Eosinophils (%)	0,667 \pm 0,333	1,500 \pm 0,619
Basophils (%)	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000

Table 3. Biochemical parameters after acute administration of CJJ 5000 mg/kg in male rats. Results are expressed as mean \pm S.E.M. Student's *t* test/Mann-Whitney test ($n = 6$), $p < 0,05$.^a Statistically different than control. ALB: albumin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; ALP: alkaline phosphatase; CREAT: creatinine; TC: total cholesterol; GLU: glucose.

	Experimental Groups	
	Control	Test
ALB (g/dL)	2,717 \pm 0,031	2,817 \pm 0,031 ^a
ALT (UI/L)	41,33 \pm 2,305	38,67 \pm 2,836
AST (UI/L)	88,50 \pm 6,913	85,00 \pm 5,837
CREAT (mg/dL)	0,733 \pm 0,033	0,750 \pm 0,022
TC (mg/dL)	59,83 \pm 2,386	79,17 \pm 3,146 ^a
GLU (mg/dL)	245,8 \pm 28,40	318,2 \pm 12,71 ^a

Table 4. Body, and organ weights (g), mean food and water consumption (g and mL, respectively), and relative organ weights (%) of female rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ. Results are expressed as mean \pm S.E.M. One-way ANOVA/Kruskal-Wallis followed by Tukey's/Dunn's test ($n = 5$), $p < 0,05$. ^a Statistically different than control; ^b Statistically different than 500 mg/kg; ^c Statistically different than 1000 mg/kg. IBW: initial body weight; FBW: final body weight; MFC: mean food consumption; MWC: mean water consumption.

	Experimental Groups			
	Control	CJJ 500 mg/kg	CJJ 1000 mg/kg	CJJ 2000 mg/kg
IBW (g)	260,6 \pm 10,390	258,8 \pm 5,380	238,0 \pm 2,775	250,4 \pm 4,273
FBW (g)	277,6 \pm 9,048	278,4 \pm 5,075	261,0 \pm 6,738	274,6 \pm 3,696
MFC (g)	306,4 \pm 4,608	326,3 \pm 6,625 ^a	321,7 \pm 7,180	336,7 \pm 5,911 ^a
MWC (mL)	538,1 \pm 17,92	484,4 \pm 19,11	487,4 \pm 21,15	582,9 \pm 20,56 ^{bc}
Heart (g)	0,962 \pm 0,031	0,912 \pm 0,015	0,920 \pm 0,033	1,052 \pm 0,044 ^{bc}
Kidney (g)	0,917 \pm 0,049	1,010 \pm 0,023	0,978 \pm 0,030	1,104 \pm 0,055 ^a
Liver (g)	9,316 \pm 0,658	11,620 \pm 0,323 ^a	9,962 \pm 0,563	10,400 \pm 0,486
Spleen (g)	0,752 \pm 0,042	0,784 \pm 0,023	0,724 \pm 0,063	0,764 \pm 0,083
Relative organ weight (%)				
Heart	0,3472 \pm 0,111	0,328 \pm 0,011	0,356 \pm 0,017	0,383 \pm 0,014
Kidney	0,329 \pm 0,008	0,364 \pm 0,015	0,376 \pm 0,017	0,402 \pm 0,017 ^a
Liver	3,347 \pm 0,164	4,184 \pm 0,159 ^a	3,812 \pm 0,161	3,787 \pm 0,152
Spleen	0,270 \pm 0,007	0,282 \pm 0,010	0,277 \pm 0,022	0,278 \pm 0,030

Table 5. Body, and organ weights (g), mean food and water consumption (g and mL, respectively), and relative organ weights (%) of male rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ. Results are expressed as mean \pm S.E.M. One-way ANOVA/Kruskal-Wallis followed by Tukey's/Dunn's test ($n = 5$, except in CJJ 2000 mg/kg, where $n = 4$), $p < 0,05$. ^a Statistically different than control; ^b Statistically different than 500 mg/kg; ^c Statistically different than 1000 mg/kg. IBW: initial body weight; FBW: final body weight; MFC: mean food consumption; MWC: mean water consumption.

	Experimental Groups			
	Control	CJJ 500 mg/kg	CJJ 1000 mg/kg	CJJ 2000 mg/kg
IBW (g)	377,6 \pm 9,867	390,0 \pm 12,520	384,2 \pm 4,510	379,8 \pm 6,277
FBW (g)	442,2 \pm 15,790	457,8 \pm 11,910	442,2 \pm 9,568	449,5 \pm 8,312
MFC (g)	499,1 \pm 10,030	503,0 \pm 8,171	504,3 \pm 10,310	414,7 \pm 10,74 ^{abc}
MWC (mL)	837,0 \pm 30,91	891,9 \pm 18,80	767,0 \pm 44,32 ^b	662,6 \pm 19,15 ^{abc}
Heart (g)	1,354 \pm 0,077	1,344 \pm 0,042	1,322 \pm 0,045	1,388 \pm 0,059
Kidney (g)	1,470 \pm 0,063	1,492 \pm 0,036	1,412 \pm 0,025	1,460 \pm 0,015
Liver (g)	15,66 \pm 0,653	16,27 \pm 0,799	15,75 \pm 0,759	15,87 \pm 0,523
Spleen (g)	1,010 \pm 0,035	1,132 \pm 0,054	0,960 \pm 0,042	1,023 \pm 0,017
Relative organ weight (%)				
Heart	0,308 \pm 0,019	0,294 \pm 0,008	0,299 \pm 0,010	0,309 \pm 0,016
Kidney	0,335 \pm 0,022	0,326 \pm 0,006	0,319 \pm 0,002	0,325 \pm 0,006
Liver	3,564 \pm 0,210	3,550 \pm 0,115	3,558 \pm 0,117	3,533 \pm 0,127
Spleen	0,229 \pm 0,009	0,247 \pm 0,009	0,217 \pm 0,005	0,228 \pm 0,005

Table 6. Hematological parameters of female rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ. Results are expressed as mean \pm S.E.M. One-way ANOVA/Kruskal-Wallis followed by Tukey's/Dunn's test ($n = 5$), $p < 0,05$. ^a Statistically different than control; ^b Statistically different than 500 mg/kg. RBC: Total red blood cells; HGB: total hemoglobin concentration; HCT: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT: platelet; PP: plasmatic protein; WBC: total white cells.

	Experimental Groups			
	Control	CJJ 500 mg/kg	CJJ 1000 mg/kg	CJJ 2000 mg/kg
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	7,166 \pm 0,244	7,556 \pm 0,047	6,855 \pm 0,227	7,095 \pm 0,260
HGB (g/dL)	14,68 \pm 0,463	15,54 \pm 0,160	14,30 \pm 0,490	14,90 \pm 0,510
HCT (%)	42,96 \pm 1,380	45,52 \pm 0,517	40,85 \pm 1,210	40,03 \pm 1,302
MCV (fL)	60,04 \pm 0,627	60,28 \pm 0,380	59,68 \pm 0,728	59,35 \pm 0684
MCHC (g/dL)	34,12 \pm 0,193	34,08 \pm 0,080	34,95 \pm 0,185 ^{ab}	35,4 \pm 0,268 ^{ab}
PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	925,4 \pm 64,3	938,6 \pm 27,8	981,2 \pm 37,1	771,7 \pm 107,4
PP (mg/dL)	7,80 \pm 0,210	7,92 \pm 0,163	7,25 \pm 0,263	7,55 \pm 0,206
WBC ($10^6/\mu\text{L}$)	5680 \pm 465,2	6140 \pm 777,6	7075 \pm 1151,0	5325 \pm 796,2
Neutrophils (%)	14,40 \pm 1,327	11,80 \pm 1,655	13,25 \pm 3,065	14,50 \pm 2,217
Lymphocytes (%)	80,40 \pm 1,435	83,00 \pm 2,025	84,25 \pm 3,198	83,75 \pm 2,287
Monocytes (%)	3,60 \pm 0,400	3,80 \pm 1,241	2,250 \pm 0,250	1 \pm 0,577
Eosinophils (%)	1,60 \pm 0,400	1,40 \pm 0,245	0,250 \pm 0,250	0,750 \pm 0,479
Basophils (%)	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000

Table 7. Hematological parameters of male rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ. Results are expressed as mean \pm S.E.M. One-way ANOVA/Kruskal-Wallis followed by Tukey's/Dunn's test ($n = 5$, except in CJJ 2000 mg/kg, where $n = 4$), $p < 0,05$. No significant differences were found. RBC: Total red blood cells; HGB: total hemoglobin concentration; HCT: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT: platelet; PP: plasmatic protein; WBC: total white cells.

	Experimental Groups			
	Control	CJJ 500 mg/kg	CJJ 1000 mg/kg	CJJ 2000 mg/kg
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	8,152 \pm 0,171	8,194 \pm 0,090	8,152 \pm 0,284	7,770 \pm 0,324
HGB (g/dL)	16,54 \pm 0,403	16,72 \pm 0,169	16,54 \pm 0,520	15,30 \pm 0,751
HCT (%)	47,54 \pm 0,661	47,28 \pm 0,356	46,98 \pm 1,089	43,93 \pm 1,707
MCV (fL)	58,42 \pm 0,651	57,78 \pm 0,407	57,78 \pm 0,985	56,57 \pm 0,291
MCHC (g/dL)	34,74 \pm 0,493	35,32 \pm 0,156	35,14 \pm 0,386	34,77 \pm 0,393
PLT ($10^3/\mu\text{L}$)	731,8 \pm 32,8	695,8 \pm 34,3	750,4 \pm 34,9	783,3 \pm 60,1
PP (mg/dL)	7,20 \pm 0,210	7,12 \pm 0,136	6,88 \pm 0,080	6,80 \pm 0,231
WBC ($10^6/\mu\text{L}$)	10040 \pm 1462,0	7900 \pm 388,6	9000 \pm 850,3	7667 \pm 1067,0
Neutrophils (%)	14,200 \pm 2,354	12,00 \pm 1,844	10,800 \pm 1,068	9,667 \pm 1,764
Lymphocytes (%)	84,4 \pm 2,159	84,4 \pm 1,806	84,4 \pm 0,872	86,0 \pm 2,082
Monocytes (%)	1,200 \pm 0,583	2,600 \pm 0,600	2,800 \pm 0,583	3,333 \pm 0,333
Eosinophils (%)	0,2 \pm 0,2	1,0 \pm 0,316	2,0 \pm 0,837	1,0 \pm 0,577
Basophils (%)	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000

Table 8. Biochemical parameters of female rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ. Results are expressed as mean \pm S.E.M. One-way ANOVA/Kruskal-Wallis followed by Tukey's/Dunn's test ($n = 5$), $p < 0,05$. ^a Statistically different than control. ALB: albumin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; ALP: alkaline phosphatase; CREAT: creatinine; BUN: blood urea nitrogen; GGT: gamma-glutamyl tranferase; TP: serum total protein; TG: triglycerides; TC: total cholesterol; GLU: glucose.

	Experimental Groups			
	Control	CJJ 500 mg/kg	CJJ 1000 mg/kg	CJJ 2000 mg/kg
ALB (g/dL)	2,84 \pm 0,112	2,92 \pm 0,037	2,68 \pm 0,132	2,84 \pm 0,068
ALT (UI/L)	34,4 \pm 2,400	36,4 \pm 5,967	42,6 \pm 3,669	38,2 \pm 2,922
AST (UI/L)	89,0 \pm 9,309	71,5 \pm 3,948	78,0 \pm 4,970	63,0 \pm 3,098 ^a
ALP (UI/L)	74,0 \pm 16,040	78,8 \pm 19,380	56,6 \pm 7,096	70,2 \pm 8,576
CREAT (mg/dL)	0,72 \pm 0,020	0,72 \pm 0,020	0,68 \pm 0,020	0,70 \pm 0,032
BUN (mg/dL)	48,8 \pm 2,311	49,4 \pm 2,088	47,4 \pm 2,482	53,4 \pm 2,205
GGT (UI/L)	1,00 \pm 0,577	0,75 \pm 0,479	2,80 \pm 0,583	0,80 \pm 0,374
TP (g/dL)	5,525 \pm 0,180	5,900 \pm 0,100	6,920 \pm 0,479	7,800 \pm 0,055 ^a
TG (mg/dL)	140,0 \pm 16,96	140,0 \pm 14,81	146,8 \pm 26,29	195,6 \pm 18,16
TC (mg/dL)	68,5 \pm 4,252	79,4 \pm 16,010	79,8 \pm 8,709	74,2 \pm 5,696
GLU (mg/dL)	131,8 \pm 4,974	154,4 \pm 11,250	199,2 \pm 21,210	216,4 \pm 23,490 ^a

Table 9. Biochemical parameters of male rats after 28-day repeated doses of 500 mg/kg, 1000 mg/kg, and 2000 mg/kg of CJJ. Results are expressed as mean \pm S.E.M. One-way ANOVA/Kruskal-Wallis followed by Tukey's/Dunn's test ($n = 5$, except in CJJ 2000 mg/kg, where $n = 4$), $p < 0,05$. ^b Statistically different than 500 mg/kg. ALB: albumin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; ALP: alkaline phosphatase; CREAT: creatinine; BUN: blood urea nitrogen; GGT: gamma-glutamyl tranferase; TP: serum total protein; TG: triglycerides; TC: total cholesterol; GLU: glucose.

	Experimental Groups			
	Control	CJJ 500 mg/kg	CJJ 1000 mg/kg	CJJ 2000 mg/kg
ALB (g/dL)	2,56 \pm 0,040	2,58 \pm 0,037	2,56 \pm 0,024	2,45 \pm 0,050
ALT (UI/L)	42,20 \pm 2,746	43,20 \pm 2,267	49,20 \pm 3,625	39,75 \pm 2,810
AST (UI/L)	71,2 \pm 3,089	90,0 \pm 2,387	83,2 \pm 9,216	70,5 \pm 5,560
ALP (UI/L)	98,6 \pm 6,623	105,8 \pm 8,576	120,2 \pm 8,440	136,0 \pm 12,380 ^b
CREAT (mg/dL)	0,660 \pm 0,024	0,700 \pm 0,000	0,680 \pm 0,020	0,675 \pm 0,025
BUN (mg/dL)	54,40 \pm 2,657	54,60 \pm 1,208	52,60 \pm 2,542	49,25 \pm 2,323
GGT (UI/L)	1,8 \pm 0,663	2,4 \pm 0,748	1,8 \pm 0,663	3,5 \pm 1,658
TP (g/dL)	7,24 \pm 0,150	7,48 \pm 0,340	6,50 \pm 0,045	6,35 \pm 0,433 ^b
TG (mg/dL)	215,6 \pm 28,70	219,2 \pm 25,29	190,2 \pm 17,68	239,5 \pm 40,81
TC (mg/dL)	72,0 \pm 3,194	74,4 \pm 2,694	68,6 \pm 1,99,	67,5 \pm 4,500
GLU (mg/dL)	196,6 \pm 33,54	204,8 \pm 18,76	219,6 \pm 16,30	236,5 \pm 13,25

Figure 1.

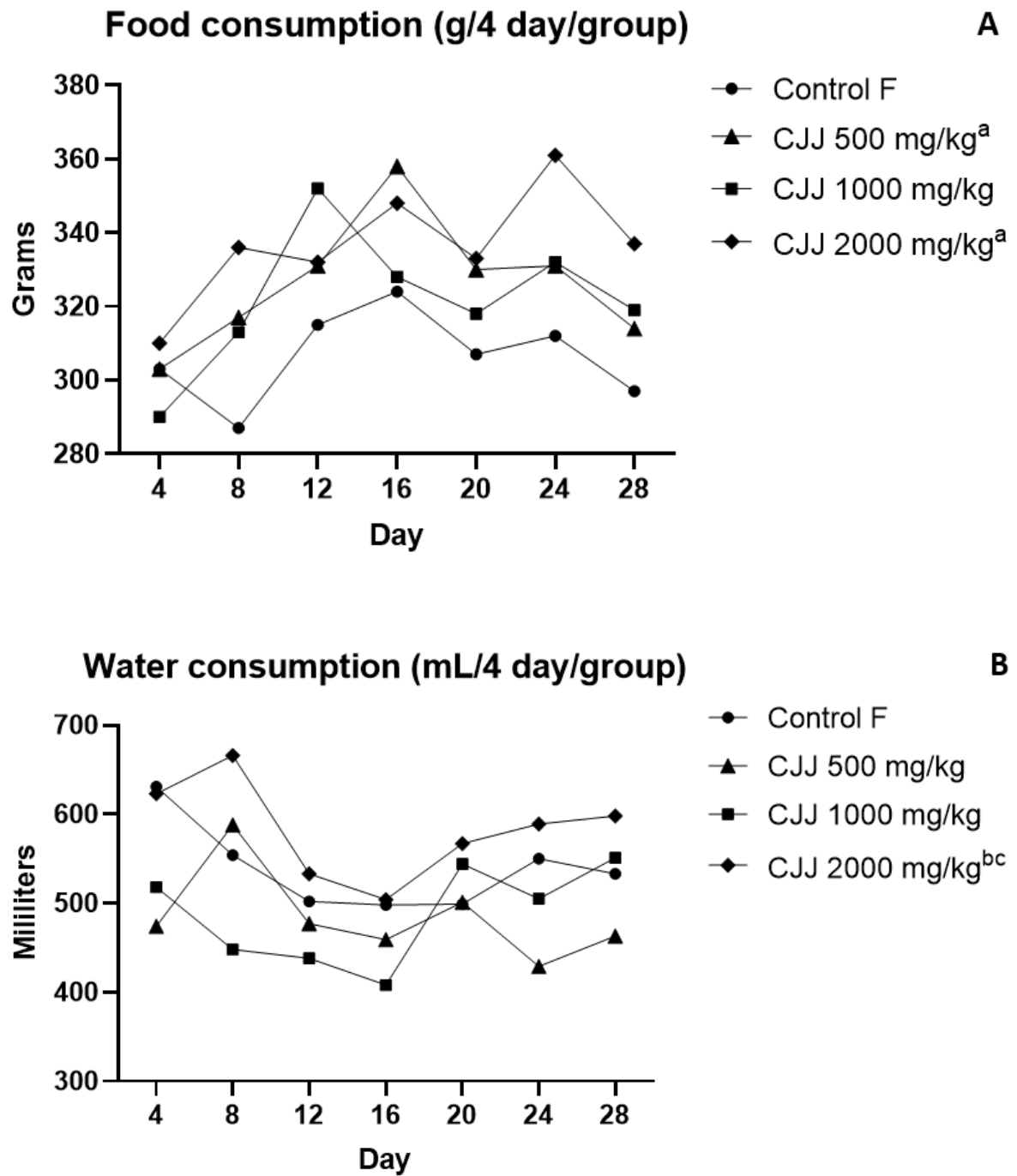


Figure 2.

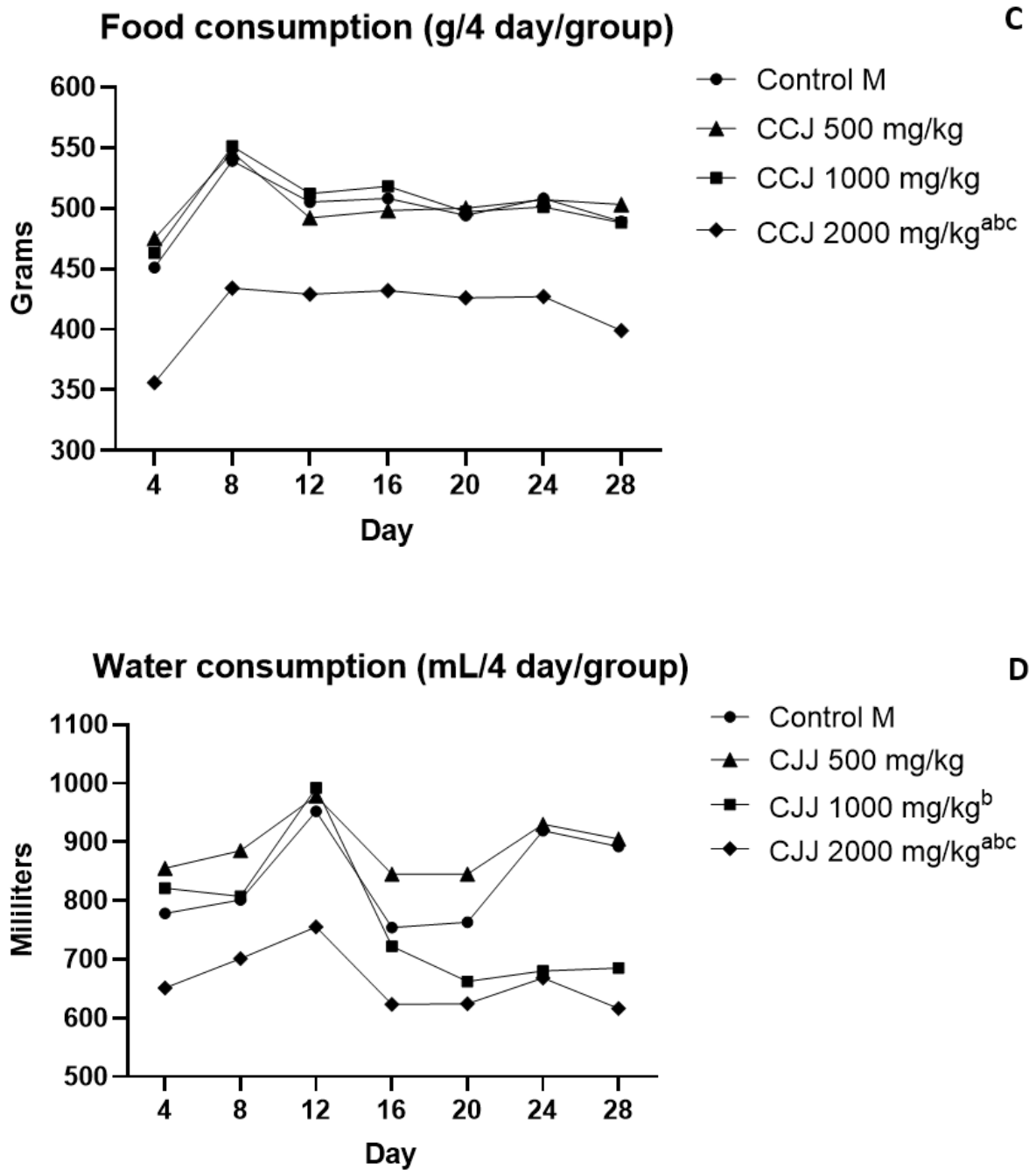


Figure 1. Mean food (A) and water consumption (B) of all female groups involved in the 28-day repeated dose experiments, measured every 4 days. ^b Statistically different than 500 mg/kg; ^c Statistically different than 1000 mg/kg.

Figure 2. Mean food (C) and water consumption (D) of all male groups involved in the 28-day repeated dose experiments, measured every 4 days. ^a Statistically different than control; ^b Statistically different than 500 mg/kg; ^c Statistically different than 1000 mg/kg.

5 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, podemos concluir que a jabuticaba, oriunda de *Plinia cauliflora*, utilizada durante os experimentos na forma de suco concentrado, não demonstrou toxicidade tanto quando administrada de forma aguda, com dose de 5000 mg/kg, seguindo o estabelecido pelo guia 423 da OECD, quanto administrada em doses repetidas por 28 dias, com doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg, seguindo o estabelecido pelo guia 407 da OECD. As variações significativas no consumo de água e de alimentos dos animais envolvidos com o experimento de toxicidade oral aguda de doses repetidas de 28 dias estão relacionadas a características próprias dos grupos de animais testados e não ao tratamento em si, o que mostra que a jabuticaba não afetou significativamente o peso dos animais, nem o consumo de água e alimentos. Não houve diferenças importantes envolvendo os testes hematológicos realizados, e nos testes bioquímicos, as poucas diferenças estatísticas encontradas demonstraram estar relacionadas aos grupos de animais em si, exceto o aumento no nível de glicose, que, pela tendência identificada, parece estar sim ligado a dose de jabuticaba consumida.

Sendo estes os resultados, podemos dizer que a jabuticaba, administrada na forma de suco concentrado a ratos Wistar e em volumes consideravelmente altos, não mostra nenhum sinal de toxicidade em modelo de toxicidade aguda oral nem em modelo de toxicidade de doses repetidas de 28 dias. Tais resultados atestam a segurança do consumo do fruto de *Plinia cauliflora* e corrobora seu uso como uma nova fonte de componentes bioativos, tanto como um alimento quanto um possível nutracêutico.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Devido a várias dificuldades durante o mestrado, dentre elas a impossibilidade de realizar o projeto idealizado inicialmente e depois a chegada da pandemia ao Brasil e a subsequente mudança em nossas rotinas, alguns dos estudos planejados para acontecer não puderam ser realizados. Entretanto, estes experimentos deverão ser realizados no futuro, buscando aprofundar os resultados já encontrados e abrir novas perspectivas para futuros projetos.

Os experimentos que imaginamos realizar num futuro próximo são:

- Avaliação de perfil fitoquímico da jabuticaba;
- Avaliação de capacidade antioxidante da jabuticaba;
- Análise de marcadores de estresse oxidativo e defesas antioxidantes;
- Histologia dos órgãos: baço, coração, fígado e rins.

Projetos futuros possivelmente irão explorar modelos de obesidade e/ou diabetes mellitus, dado os relatos bastante positivos de experimentos envolvendo o uso da casca da jabuticaba combatendo efeitos negativos de doenças cardiometabólicas.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 8, p. 1679 – 1687, June 2012. DOI: 10.1002/jsfa.5531.
- ALEZANDRO, M. R. et al. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468 – 477, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.018.
- ALEZANDRO, M. R.; GRANATO, D.; GENOVESE, M. I. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 650 – 659, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.041.
- AMORIM, B. S.; ALVES, M. Myrtaceae from lowland atlantic forest areas in state of Pernambuco, northeastern Brasil. **Phytotaxa**, v. 40, n. 1, p. 33 – 54, 2012. DOI: 10.11646/phytotaxa.40.1.6.
- AROME, D.; CHINEDU, E. The importance of toxicity testing. **Journal of Pharmaceutical and BioSciences**, v. 4, p. 146 – 148, Dec. 2013.
- BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, n. 5, p. 431 – 441, Dec. 2005. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.09.012.
- BATISTA, A. G. et al. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 450 – 461, Jan. 2014. DOI:
- BEDNARCZUK, V.O. et al. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 2, jul./dez. 2010.
- BOSCOLO, O. H.; VALLE, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia Série Botânica**, v. 63, n. 2, p. 263 – 277, jul./dez. 2008.
- BRASIL. Decreto n. 5813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 de junho de 2006, p. 2.
- BRASIL. Portaria interministerial n. 2960, de 9 de dezembro de 2008. Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 de dezembro de 2008.
- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179 – 189, Feb. 2000. DOI: 10.1590/S0100-879X2000000200004.

- CASSIDY, A. C. Berry anthocyanin intake and cardiovascular health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 61, p. 76 – 82, June 2018. DOI: 10.1016/j.mam.2017.05.002.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859 – 871, Apr. 2009. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001.
- CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, jul./set. 2004. DOI: 10.1590/S1516-93322004000300004.
- CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 346 – 656, jun. 2010. DOI: 10.1590/S0100-29452010000200001.
- COSTA, A. G. V. et al. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red- - black berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 539 – 549, Apr. 2013. DOI: 10.1016/j.jff.2013.01.029.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670 – 3695, June 2013. DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.02.008.
- CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n. 1, p. 47 – 52, ago./dez. 2004.
- DANNER, M. A. et al. Formação de mudas jaboticabeira (*Plinia* sp.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 179 – 182, abr. 2007. DOI: 10.1590/S0100-29452007000100038.
- DE ANDRADE, D. M. L. et al. Vasorelaxant and hypotensive effects of jaboticaba fruit (*Myrciaria cauliflora*) extract in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 8 p., Apr. 2015. DOI: 10.1155/2015/696135.
- DE SOUZA, C. G. et al. Radical scavenger capacity of jaboticaba fruit (*Myrciaria cauliflora*) and its biological effects in hypertensive rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 10 p., Dec. 2017. DOI: 10.1155/2017/2383157.
- DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4 – 29, Oct. 2016. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.01.021.
- EL HAOUARI, M.; ROSADO, J. A. Medicinal plants with antiplatelet activity. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 7, p. 1059 – 1071, July 2016. DOI: 10.1002/ptr.5619.
- GEZICI, S.; ŞEKEROĞLU, N. Current perspectives in the application of medicinal plants against cancer: novel therapeutic agents. **Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 101 – 111, 2019. DOI: 10.2174/1871520619666181224121004.

- GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 395 – 406, 2010. DOI: 10.1590/S0102-33062010000200010.
- GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, n. 4, p. 509 – 530, Oct./Dec. 2006. DOI: 10.1590/S0100-84042006000400002.
- GURAK, P. D. et al. Jaboticaba pomace powder obtained as a coproduct of juice extraction: a comparative study of powder obtained from peel and whole fruit. **Food Research International**, v. 62, p. 786 – 792, Aug. 2014. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.04.042.
- HACKE, A. C. M. et al. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) seeds: chemical characterization and extraction of antioxidant and antimicrobial compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. C2206 – C2217, Aug. 2016. DOI: 10.1111/1750-3841.13405.
- HALLIWELL, B. Free Radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 52, n. 8, p. 253 – 265, Aug. 1994. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1994.tb01453.x.
- HE, W. et al. Cyanidin-3-O-glucoside inhibits the UVB-induced ROS/COX-2 pathway in HaCaT cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 177, p. 24 – 31, Dec. 2017. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2017.10.006.
- INADA, K. O. P. et al. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) juice obtained by steam-extraction: phenolic compound profile, antioxidant capacity, microbiological stability, and sensory acceptability. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 52 – 61, Jan. 2018. DOI: 10.1007/s13197-017-2769-3.
- KARKLIS, B. **Fruta Jaboticaba *Plinia cauliflora* (syn. *Myrciaria cauliflora*), em Nova Odessa – SP, Brasil**. 2012. 1 fotografia, color. Foto em artigo intitulado “Jaboticaba”, do site Wikipedia. Disponível em: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Jaboticaba#/media/Ficheiro:Plinia_cauliflora.jpg>. Acesso em: 15 ago. 2020.
- KHOO, H. E. et al. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food & Nutrition Research**, v. 61, Aug. 2017. DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779.
- KONG, J. M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, n. 5, p. 923 – 933, Nov. 2003. DOI: 10.1016/S0031-9422(03)00438-2.
- KREWSKI, D. et al. Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 13, p. 51 – 138, Feb. 2010. DOI: 10.1080/10937404.2010.483176.
- LANDRISCINA, M. et al. Adaptation to oxidative stress, chemoresistance, and cell survival. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 11, n. 11, p. 2701 – 2716, Nov. 2009. DOI: 10.1089/ars.2009.2692.

LEE, S. G. et al. Contribution of anthocyanin composition to total antioxidant capacity of berries. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 70, p. 427 – 432, 2015. DOI: 10.1007/s11130-015-0514-5.

LEE, Y. M. et al. Dietary anthocyanins against obesity and inflammation. **Nutrients**, v. 9, n. 10, 2017. DOI: 10.3390/nu9101089.

LEITE, A. V. et al. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2277 – 2283, Feb. 2011. DOI: 10.1021/jf103181x.

LEITE-LEGATTI, A. V. et al. Jaboticaba peel: antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, n.1, p. 596 – 603, Nov. 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.07.044

LENQUISTE, S. A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n.1, p. 153 – 160, Nov. 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.07.052.

LIMA, A. J. B. et al. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n. 3, p. 877 – 887, Sept. 2011. DOI: 10.1590/S0100-29452011000300023.

LIMA, A. J. B. et al. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, n. 4, p. 416 – 421, dez. 2008.

LIN, B. W. et al. Effects of anthocyanins on the prevention and treatment of cancer. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 11 p. 1226 – 1243, June 2017. DOI: 10.1111/bph.13627.

MA, X.; NING, S. Cyanidin-3-glucoside attenuates the angiogenesis of breast cancer via inhibiting STAT3/VEGF pathway. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 1, p. 81 – 89, Jan. 2019. DOI: 10.1002/ptr.6201.

MARMITT, D. J. et al. The healing properties of medicinal plants used in the Brazilian public health system: a systematic review. **Journal of Wound Care**, v. 27, n. 6, p. S4 – S13, June 2018. DOI: 10.12968/jowc.2018.27.Sup6.S4.

MATTOS, G. et al. Plantas medicinais e fitoterápicos na atenção primária em saúde: a percepção dos profissionais. **Ciências & Saúde Coletiva**, v. 23, n. 11, p. 3735 – 3744, 2018. DOI: 10.1590/1413-812320182311.23572016.

MAZZONI, L. et al. Isolation of strawberry anthocyanin-rich fractions and their mechanisms of action against murine breast cancer cell lines. **Food and Function**, v. 10, n. 11, p. 7103 – 7120, Nov. 2019. DOI: 10.1039/c9fo01721f.

MIRONCZUK-CHODAKOWSKA, I.; WITKOWSKA, A. M.; ZUJKO, M. E. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body, **Advances in Medical Sciences**, v. 63, n. 1, p. 68 – 78, Mar. 2018. DOI: 10.1016/j.advms.2017.05.005.

MOURA, M. H. C. et al. Phenolic-rich jaboticaba *Plinia cauliflora* (Vell.) Berg) extract prevents high-fat-sucrose diet-induced obesity in C57BL/6 mice. **Food Research International**, v. 107, p. 48 – 60, May 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.01.071.

NERI-NUMA, I. A. et al. Small Brazilian wild fruits: nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345 – 360, Jan. 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.10.053.

NEVES, N. A. et al. Flavonols and ellagic acid derivatives in peels of different species of jaboticaba (*plinia* spp.) identified by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ. **Food Chemistry**, v. 252, p. 61 – 71, June 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.078.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v. 30, n. 2, p. 134 – 144, Feb. 2014. DOI: 10.1016/j.nut.2013.04.007.

OLIVEIRA, A. L. et al. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, 2006, p. 1 – 5. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.07.012.

OLIVEIRA, V. B. et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 170 – 179, Aug. 2012. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.03.011.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **OECD guidelines for testing of chemicals 423**: acute oral toxicity – acute toxic class method. 17th Dec. 2001. 14 p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **OECD guidelines for the testing of chemicals 407**: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. 3rd Oct. 2008. 13 p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **The OECD**: Organisation for Economic Co-operation and Development. 2008. 17 p.

PALAFIX-CARLOS, H.; AYALA-ZAVALA, J. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. R6 – R15, Jan 2011. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x.

PARK, M.; SHARMA, A.; LEE, H. J. Anti-adipogenic effects of delphinidin-3-glucoside in 3T3-L1 preadipocytes and primary white adipocytes. **Molecules**, v. 24, n. 10, 2019. DOI: 10.3390/molecules24101848.

PEREIRA, M. C. et al. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3061 – 3067, Mar. 2012. DOI: 10.1021/jf205263f:

REYNERTSON, K. A. et al. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 8, p. 1228 – 1230, Aug. 2006. DOI: 10.1021/np0600999.

RIBEIRO, V. P. et al. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253 – 268, 2018. DOI: 10.1080/13880209.2018.1454480.

RICARDO, L. M. et al. Evidence of traditionality of Brazilian medicinal plants: The case studies of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão) barks and *Copaifera* spp. (copaíba) oleoresin in wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 219, p. 319 – 336, June 2018. DOI: 10.1016/j.jep.2018.02.042.

ROGERO, S. O. et al. Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317 – 320, abr./jun. 2003. DOI: 10.1590/S1516-14392003000300003.

SILVA, S. et al. Antimicrobial, antiadhesive and antibiofilm activity of an ethanolic, anthocyanin-rich blueberry extract purified by solid phase extraction. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 3, p. 693 – 703, Sept. 2016. DOI: 10.1111/jam.13215.

SOBRAL, M. Alterações nomenclaturais em *Plinia* (Myrtaceae). **Boletim do Museu Botânico de Curitiba**, n. 63, p. 1 – 4, 1985.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essencial oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, p. 73 – 94, Jan. 2011. DOI: 10.1002/cbdv.201000098.

STEHMANN, J. R. et al. Gimnospermas e angiospermas. In: STEHMANN, J. R. et al. **Plantas da Floresta Atlântica**. 1. Ed. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2009. p. 27 – 37.

TRAVERSO, N. et al. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, May 2013. DOI: 10.1155/2013/972913.

TREVISAN, L. M.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Carbohydrates, organic acids and anthocyanins of *Myrciaria jaboticaba*, Berg. **Journal of Food Science**, v. 37, n. 6, p. 818 – 819, 1972. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1972.tb03677.x.

USUI, K. et al. Acute oral toxicity test of chemical compounds in silkworms. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 10, n. 1, p. 57 – 61, 2016. DOI: 10.5582/ddt.2016.01025.

VALLI, M. et al. Development of a Natural Products Database from the Biodiversity of Brazil. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 3, p. 439 – 444, Jan. 2013. DOI: 10.1021/np3006875.

VASISHT, K.; SHARMA, N.; KARAN, M. Current perspective in the international trade of medicinal plants material: an update. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 27, p. 4288 – 4336, 2016. DOI: 10.2174/1381612822666160607070736.

VILLA-RODRIGUEZ, J. A. et al. Maintaining antioxidant potential of fresh fruits and vegetables after harvest. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 6, p. 806 – 822, Nov. 2014. DOI: 10.1080/10408398.2012.685631.

WHITE, W. J. The use of laboratory animals in toxicologic research. In: HAYES, A. W. **Principles and methods of toxicology**. 4. ed. Londres: Taylor & Francis, 2001. Cap. 16, p. 773 – 818.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO guidelines for the assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues**. Geneva: World Health Organization, 2007. 105 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO traditional medicine strategy: 2014 – 2023**. Geneva: World Health Organization, Dec. 2013. 78 p.

WU, S. et al. Cyanidin-3-o-glucoside inhibits UVA-induced human dermal fibroblast injury by upregulating autophagy. **Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine**, v. 35, n. 5, p. 360 – 368, Sept. 2019. DOI: 10.1111/phpp.12493.

WU, S. B. et al. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 30, p. 7513 – 7525, 2012. DOI: 10.1021/jf301888y.

WU, S. B.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 148 – 159, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.06.021.

YANG, X et al. Delphinidin-3-glucoside suppresses breast carcinogenesis by inactivating the Akt/HOTAIR signaling pathway. **BMC Cancer**, v. 16, 2016. DOI: 10.1186/s12885-016-2465-0.

YOON, B. I. et al. Anti-inflammatory and antimicrobial effects of anthocyanin extracted from black soybean on chronic bacterial prostatitis rat model. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 24, n. 8, p. 621 – 626, Aug. 2018. DOI: 10.1007/s11655-013-1547-y.

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UFSM (CEUA/UFSM)



Comissão de Ética no Uso de Animais

da
Universidade Federal de Santa Maria

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Toxicidade aguda e de doses repetidas do suco de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) em ratos Wistar", protocolada sob o CEUA nº 6214030519 (ID 002593), sob a responsabilidade de **Liliane de Freitas Bauermann** e equipe; *Fernando Primitivo Romero Bordin; Isabel Cristina da Costa Araldi; James Ramires Penteado Graiczik; Lauren Pappis* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM) na reunião de 16/07/2019.

We certify that the proposal "Acute toxicity and repeated doses' toxicity of jaboticaba's juice (*Myrciaria jaboticaba*) in Wistar rats", utilizing 52 Heterogenics rats (32 males and 20 females), protocol number CEUA 6214030519 (ID 002593), under the responsibility of **Liliane de Freitas Bauermann** and team; *Fernando Primitivo Romero Bordin; Isabel Cristina da Costa Araldi; James Ramires Penteado Graiczik; Lauren Pappis* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) in the meeting of 07/16/2019.


Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)


Vigência da Proposta: de [07/2019](#) a [03/2020](#) Área: [Farmacologia](#)

Origem:	Biotério Central UFSM	sexo:	Machos	idade:	4 a 6 semanas	N:	12
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	70 a 150 g		
Linhagem:	Wistar						
Origem:	Biotério Central UFSM	sexo:	Machos	idade:	4 a 6 semanas	N:	20
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	70 a 150 g		
Linhagem:	Wistar						
Origem:	Biotério Central UFSM	sexo:	Fêmeas	idade:	4 a 6 semanas	N:	20
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	70 a 150 g		
Linhagem:	Wistar						

Local do experimento: Laboratório de Fisiologia Experimental, prédio 21, sala 5229, Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria, 18 de novembro de 2019


 Profa. Dra. Patrícia Severo do Nascimento
 Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal de Santa Maria


 Prof. Dr. Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho
 Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal de Santa Maria

ANEXO B – COMPROVANTE DE CADASTRO DE ACESSO NO SISGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
 Cadastro nº A52EFAB

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A52EFAB**
 Usuário: **UFSM**
 CPF/CNPJ: **95.591.764/0001-05**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Plinia cauliflora
Plinia cauliflora
Plinia cauliflora e seu fruto

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável
CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **Avaliação das toxicidades do suco do fruto de Plinia cauliflora em ratos Wistar**

Equipe

Liliane de Freitas Bauermann **UFSM**
Fernando Primitivo Romero Bordin **UFSM**


Data do Cadastro: **27/08/2020 18:11:22**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **15:44** de **29/08/2020**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE MANUSCRITO AO PERIÓDICO DRUG AND CHEMICAL TOXICOLOGY

 Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Fernando Primitivo Romero Bordin ▾

My Work [Submit New Manuscript](#)

Submission	Title	Journal	Status	Updated	
203239795	Evaluation of Acute and Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity of the Juice...	Drug and Chemical Toxicology	Manuscript submitted	29 Oct 2020	Contact