



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de TCC 1 e TCC 2



*Laboratório de Síntese
Orgânica Medicinal*

**Atividade repelente e sistemas nanoestruturados desenvolvidos
com Limoneno: Revisão**

JOSIELE DIAS DA ROSA

PORTO ALEGRE, JUNHO DE 2010.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de TCC 1 e TCC 2



*Laboratório de Síntese
Orgânica Medicinal*

**Atividade repelente e sistemas nanoestruturados desenvolvidos
com Limoneno: Revisão**

JOSIELE DIAS DA ROSA

**Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em
Farmácia**

**Profª Dra Vera Lucia Eifler Lima
Orientadora**

**Profª MSC Stela Regina Ferrarini
Co-orientadora**

PORTO ALEGRE, JUNHO DE 2010.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVOS.....	6
3. MATERIAIS E METODOS.....	6
4. REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	7
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
6. CONCLUSÃO	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

RESUMO

O Limoneno ocorre naturalmente em citros e outras frutas cítricas, legumes e especiarias. Esse terpeno é usado em muitos produtos alimentares, sabões e perfumes devido ao seu sabor e odor, e também faz parte de ativos em produtos com atividade repelente de insetos. Em muitos estudos, o Limoneno e seus derivados apresentaram atividades farmacológicas interessantes como: antimicrobiana, antifúngica, antitumoral e entre outras, atividade inseticida. A nanociência e a nanotecnologia são as novas fronteiras deste século, suas aplicações para a agricultura e setor de alimentos são relativamente recentes em comparação com a sua utilização no setor de fármacos e medicamentos. Este estudo buscou obter dados, a partir de trabalhos publicados na literatura, para definir possíveis estratégias objetivando o desenvolvimento de composições farmacêuticas constituídas de Limoneno que apresentem atividade repelente para o controle de insetos e/ou pragas fazendo uso de modernas técnicas de preparo, como a produção de nanopartículas. A menor agressão ao meio ambiente e à saúde humana em comparação aos pesticidas sintéticos existentes atualmente é observada nessa tecnologia.

Palavras-chave: Limoneno, repelente, nanopartículas

ABSTRACT

The Limonene occurs naturally in citrus and other citrus fruits, vegetables and spices. This terpene is used in many food products, soaps and perfumes because of its taste and odor, and is also part of assets in products with insect repellent activity. In many studies, limonene and its derivatives show interesting pharmacological activities such as antimicrobial, antifungal, and antitumor activity among others insecticide. Nanoscience and nanotechnology are the new frontiers of this century, its applications for agriculture and food sector are relatively recent compared to its use in the field of drugs and medicines. This study sought to obtain data from published studies in the literature, to define possible strategies aimed at developing pharmaceutical compositions consisting of limonene that have repellent activity to control insects and / or pests by making use of modern preparation techniques, such as production of nanoparticles. The less aggression to the environment and human health in comparison to synthetic pesticides available today is observed in this technology.

Keywords: limonene, repellent, nanoparticles

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são misturas voláteis de hidrocarbonetos que apresentam uma diversidade de grupos funcionais e sua atividade repelente está ligada à presença de monoterpenos e sesquiterpenos.

Terpenóides são encontrados nos óleos essenciais da maioria das plantas superiores. Os monoterpenóides, compostos de dez carbonos que são formados na natureza através da união de duas moléculas de isopreno, estão entre os terpenos mais importantes industrialmente. O interesse no uso de monoterpenos no controle de insetos e pragas está baseado na necessidade de pesticidas que sejam menos prejudiciais ao ambiente e que apresentem impactos negativos a saúde quando comparados aos pesticidas sintéticos¹.

Entre os compostos individuais com alta atividade repelente presentes nas misturas, encontra-se o Limoneno. O Limoneno, terpenóide monocíclico, é usado como inseticida para o controle de ectoparasitas de animais, mas apresenta atividade contra insetos, ácaros e microorganismo². Por ser um produto natural - é o principal constituinte das frações terpenóides dos óleos de limão e de laranja e com baixa toxicidade ao homem, tem apelo comercial importante e tem sido apontado como uma alternativa aos inseticidas sintéticos.

Em diversos estudos, o Limoneno e seus derivados apresentaram interessantes atividades farmacológicas, tais como: atividade antimicrobiana do óxido de Limoneno e aminas do Limoneno, bem como óleos essenciais contendo Limoneno^{3,4}, atividade antifúngica do análogo sintético, do óxido de Limoneno⁵ e do óleo essencial, atividade antitumoral do Limoneno, do óxido e de seus derivados^{6,7,8}, atividade acaricida e inseticida^{1,9,10} e atividade antiparasitária^{11,12,13}.

Esse terpeno também tem apresentado interesse na área da nanotecnologia. A nanotecnologia é um campo multidisciplinar que tem avançado rapidamente nos últimos anos, encontrando aplicações nas mais diversas áreas, desde setores de energia e eletrônica até a indústria farmacêutica. Tem o potencial de revolucionar amplamente vários campos tecnológicos e científicos¹⁴. Essa nova ciência é fundamentada em materiais na escala nanométrica que podem apresentar

propriedades químicas, físico-químicas e funcionais diferentes daquelas apresentadas em escalas superiores. Um dos setores da nanotecnologia com maior potencial de aplicação são os sistemas de carreamento e liberação de fármacos e vacinas para melhorar a sua eficácia terapêutica¹⁵.

2. OBJETIVOS

Em vista dos resultados obtidos em nosso laboratório com as aminas do Limoneno nos testes antiparasitários e carrapaticidas, objetiva-se nesta monografia fazer uma revisão bibliográfica sobre a ação repelente exercida pelo Limoneno e sua aplicação junto à nanotecnologia.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A revisão da literatura nacional e internacional foi realizada utilizando os bancos de dados MEDLINE, SCIENCE DIRECT, SCINFINDER, LILACS e COCHRANE; sendo selecionados artigos publicados nos últimos 20 anos, abordando o tema. Os seguintes termos de pesquisa (palavras-chaves e delimitadores) foram utilizados em várias combinações:

- 1) Limonene;
- 2) Terpenes;
- 3) Essential oil;
- 4) Repellent;
- 5) Nano.

A pesquisa bibliográfica incluiu artigos originais, artigos de revisão e editoriais escritos nas línguas inglesa e portuguesa.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Introdução

O uso de produtos químicos sintéticos para o controle de pragas traz preocupações relacionadas ao meio ambiente e a saúde humana. Atualmente, uma alternativa é usar produtos naturais que apresentem boa eficácia e sejam ambientalmente seguros. Entre os produtos químicos, os óleos essenciais extraídos de plantas pertencentes a várias espécies têm sido amplamente testados para avaliar suas propriedades repelentes como um valioso recurso natural¹⁶.

Plantas com óleos essenciais são coletadas desde a época pré-cristã devido ao seu sabor e suas propriedades de perfumaria. Sua volatilidade, o que tornava mais fácil descobrir plantas aromáticas e ao mesmo tempo sua facilidade de obtenção por destilação simples a partir de partes de plantas, emprestou-lhes o termo de óleo essencial¹.

4.1.1. Limoneno

O Limoneno é um hidrocarboneto, classificado como terpeno monocíclico, que constitui a maior parte na composição do óleo essencial de plantas cítricas e apresenta interessantes atividades. Geralmente, é extraído por uso de pressão ou vapor a partir das cascas de algumas espécies de citros, como por exemplo, laranja, limão e tangerina, e está presente em uma série de outros óleos essenciais¹⁷.

É uma molécula quiral, estando disponível na natureza em ambas as formas enantioméricas *R*(+)-Limoneno e *S*(-)-Limoneno¹⁷ (Fig. 1) e são os mais abundantes monoterpenos monocíclicos na natureza, L-Limoneno é encontrado principalmente em uma variedade de árvores e ervas como *Mentha spp.*, enquanto o D-Limoneno é o principal componente do óleo da casca das laranjas e limões¹⁸.

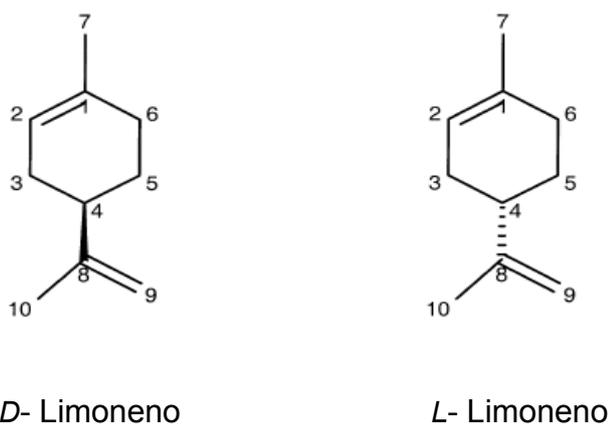


Figura 1: Estruturas químicas e numeração dos isômeros do Limoneno.

O uso deste terpeno na síntese orgânica como bloco de construção ou como auxiliar quiral em síntese assimétrica é bem estabelecido. Este composto versátil apresenta uma grande variedade de usos, como produtos alimentares, agente de limpeza doméstica, cosméticos (perfumes), devido ao seu sabor e odor e devido às suas propriedades químicas e biológicas pode ser empregado em química medicinal como alicerce para a concepção de novos fármacos¹⁷. O Limoneno é também um ingrediente ativo registrado em 15 produtos usados como pesticidas e repelentes de insetos. Foi registrado pela primeira vez como inseticida nos EUA em 1985 e como agente antimicrobiano em 1971¹⁹.

Tor McPartland, em patente de 2004, desenvolveu produtos inseticidas no controle a determinados insetos como formigas, moscas entre outros, que são normalmente vistos em residências. O enfoque se deu a produtos que contenham *D*-Limoneno para dispersão em óleo e não em água e tensoativo, o que o torna menos tóxico para o ser humano e animais domésticos, bem como menos agressivo ao ambiente³⁹.

4.1.2. Trabalhos anteriores do LaSOM

O potencial terapêutico do Limoneno com atividades como repelente, antiparasitário, antimicrobiano entre outras, atraiu muitos estudos a fim de relatar as diversas atividades e/ou utilizações desse terpeno. Dentre tais investigações, encontram-se os realizados pelo LaSOM objetivando desenvolver novas substâncias

que apresentem atividades farmacológicas importantes sintetizadas a partir de fontes disponíveis e abundantes como é o exemplo do Limoneno.

A síntese por Graebin de uma família de 20 aminas derivadas desse terpeno apresentou uma interessante atividade leishmanicida *in vitro* (Figura 2). Foram testados oito derivados, dos quais dois reproduziram excelente atividade com LD₅₀ (μM) igual a $11,5 \pm 0,8$ e $17,2 \pm 0,9$ enquanto que a pentamidina apresentou LD₅₀ (μM) de $48 \pm 28,7$ ³¹. Em outro estudo empregando hibridação molecular, realizado com a colaboração do Prof. Hugo Cerecetto (Universidad de La Republica, Uruguai), foi possível detectar atividade contra *T. cruzi*. Os seis novos produtos sintetizados mostraram moderada atividade tripanossomicida *in vitro*³⁴.

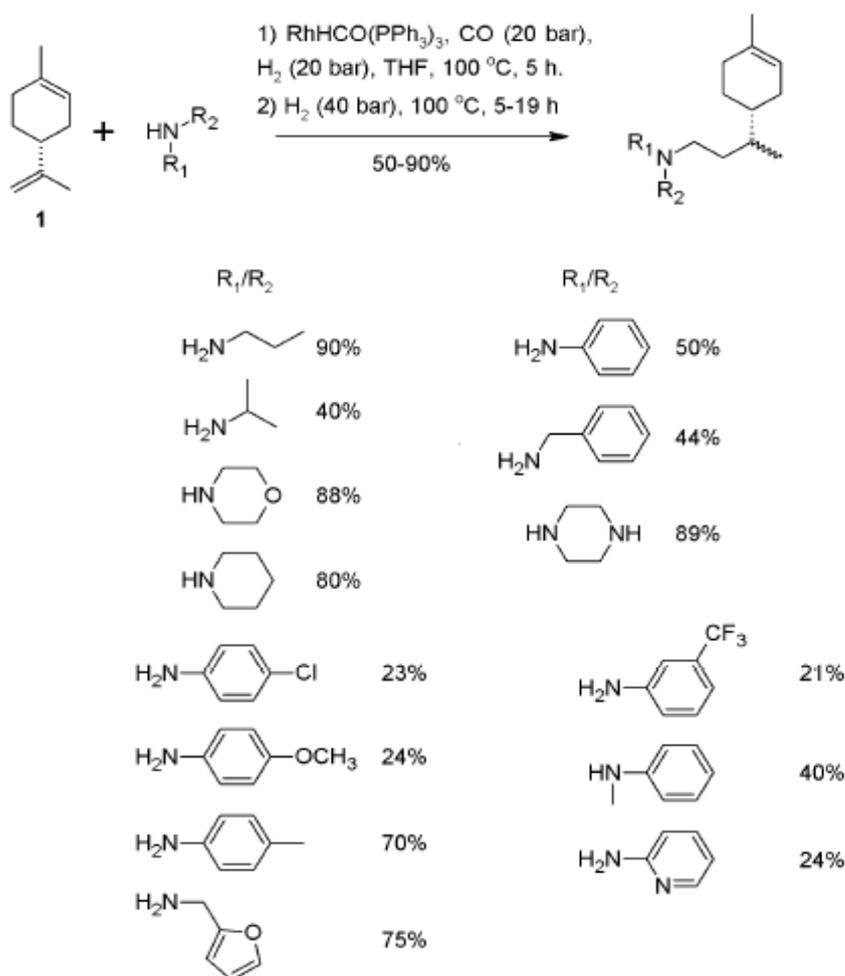


Figura 2: Aminas sintetizadas por Graebin.

Ferrarini *et al* em recente estudo, verificou a atividade *in vitro* contra Leishmaniose de vários outros derivados aminados do Limoneno, demonstrando que

a ação inibitória contra os parasitas foi cerca de 100 vezes superior ao fármaco de referência (pentamidina). A síntese de derivados β -aminoálcool do Limoneno (Figura 3) mostrou importantes resultados contra promastigotas de *Leishmania* (Vianna), sendo que dois derivados (LD_{50} (μM) igual a $0,71 \pm 0,095$ e $0,408 \pm 0,01$), de um total de sete produtos testados, apresentaram-se como fortes *hits* para modulação química visando o desenvolvimento de candidatos a protótipos de fármacos para o combate a essa desordem parasitaria, uma vez que apresentaram baixos valores de toxicidade³².

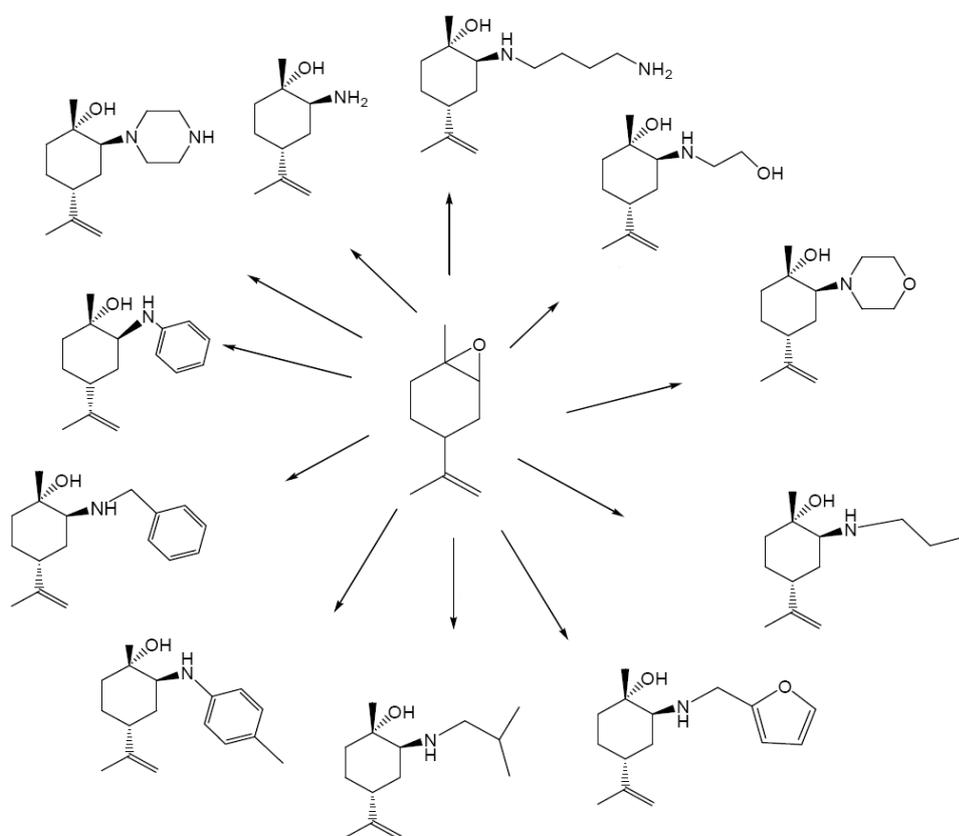


Figura 3: Exemplos de derivados obtidos em estudo de Ferrarini e colaboradores.

Seguindo a mesma linha do estudo anterior, Ferrarini e colaboradores, verificaram a boa atividade destes derivados aminoálcoois contra as larvas e ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, inibindo o desenvolvimento desse parasita em 100%. Este carrapato é responsável por graves danos à vida do animal, confirmando a possibilidade desses derivados aminados do Limoneno serem excelentes *hits* para o desenvolvimento de novos agentes carrapaticidas¹⁷.

4.1.3. Nanotecnologia

A nanotecnologia é um campo multidisciplinar que tem avançado rapidamente nos últimos anos, encontrando aplicações nas mais diversas áreas, desde setores de energia e eletrônica até a indústria farmacêutica. Tem o potencial de revolucionar amplamente vários campos tecnológicos e científicos¹⁴.

A nanotecnologia consiste na habilidade de manipular a matéria em escala nanométrica, ou seja, uma escala que corresponde a 1 bilionésimo do metro, com o objetivo de criar estruturas com uma organização molecular diferenciada. Diversas pesquisas vêm demonstrando o grande potencial da nanotecnologia farmacêutica no tratamento, prevenção e diagnóstico de inúmeras patologias^{20,21,22}.

Nas últimas décadas, diferentes sistemas carreadores têm sido extensivamente estudados visando a liberação controlada do fármaco e o possível aumento da eficácia e seletividade das formulações²⁰. Para isso diferentes estratégias têm sido propostas, visto que, sistemas nanométricos têm uma grande área superficial. Tornando-os uma ótima estratégia para a aplicação de substâncias lipofílicas, para promover liberação homogênea do ativo.

Carreadores coloidais de fármacos, incluindo as nanoemulsões, nanoesferas, nanocápsulas, lipossomas e complexos lipídicos, têm atraído um crescente interesse nos últimos 20 anos. Sendo utilizados como veículos para administração tópica de fármacos lipofílicos por permitirem a otimização da velocidade de cedência e do regime de dosagem das substâncias^{20, 23, 24,25}.

As nanopartículas possuem algumas características vantajosas que fazem delas carreadores promissores para aplicações tópicas,²⁹ como a capacidade de proteção a compostos lábeis contra degradação química, possibilidade de controle da liberação da substância ativa e podem atuar como agentes oclusivos. No caso de repelente para aplicação tópica, a liberação imediata pode ser útil para melhorar a penetração de uma substância e a liberação sustentada é importante para substâncias ativas potencialmente irritantes em concentrações elevadas ou que devam suprir a pele por um período prolongado de tempo²⁷.

Recentemente, nanoemulsões têm atraído considerável atenção no campo industrial, incluindo cosméticos, produtos farmacêuticos e agroquímicos. Estas emulsões são produzidas principalmente pelos sistemas modernos de emulsificação, como microfluidização e submicron resultando em emulsões que podem ter um alto potencial de aplicação em encapsulamento de ingredientes. Visto que a estabilidade e outras características da emulsão, tais como tamanho e distribuição das gotas desempenham um papel fundamental na retenção e teor de óleo na superfície do produto²⁶.

Salamanca-Buentello em 2005 descreveu as dez maiores aplicações da nanotecnologia em países subdesenvolvidos. Dentre os assuntos citados tem-se nanopartículas desenvolvidas como novos inseticidas, pesticidas e repelentes de insetos⁴⁰.

5. RESULTADOS E DISCUSSAO

O desenvolvimento de resistência pelos insetos devido à utilização repetida de produtos químicos sintéticos iniciou uma investigação importante para a descoberta de alternativas com uso de produtos naturais. Em uma formulação desenvolvida para repelir e matar insetos, em especial abelhas e vespas, utilizou água, ácido acético e Limoneno, e um extrato de hortelã visando fornecer um material barato de ser fabricado, facilmente pulverizado e não prejudicial à vida vegetal e animal. Sua ação inseticida está no fato de que alguns ingredientes presentes na composição apresentarem a capacidade de alterar o comportamento fisiológico do inseto³⁷. Em outro trabalho, desenvolveu-se um spray aerossol emulsificando *D*-Limoneno com polietilenoglicol. A formulação mostrou-se ser altamente eficaz, perdurando por até 24 horas no local de aplicação³⁶.

Propriedades inseticidas foram reconhecidas nos óleos de muitas frutas cítricas e nos últimos anos, diversos produtos contendo Limoneno ou extrato bruto dessas plantas têm sido trabalhados no mercado para determinar sua possível atividade repelente. De acordo com revisão realizada em 2001, estas substâncias podem apresentar atividade por penetração *via* cutícula do inseto (efeito de contato),

através do sistema respiratório (efeito repelente) e/ou através do aparelho digestivo (efeito de ingestão). O uso de inseticida contendo Limoneno tem sido aplicado com sucesso para o controle de insetos parasitoides de animais domésticos¹.

Em 2002, uma patente foi desenvolvida visando produtos de ação repelente e inseticida formados de vários óleos naturais, inclusive Limoneno. Um exemplo da formulação está descrita abaixo.

Os óleos utilizados foram: óleo de Hinoki (30%), D-Limoneno (40 %), óleo de menta (6%), óleo da citronela (5%), óleo de soja (5%), óleo de alecrim (3%), óleo de cravo (2%), óleo de gerânio (2%), vanilina (5%) e óleo mineral (2%). A combinação desses compostos foi diluída numa solução aquosa (conc. final 10%), e testado utilizando larvas de *Aedes aegypti* com idade variando de cerca de 7-14 dias.

Produtos químicos orgânicos sintéticos, tais como os organofosforados, carbamatos e piretróides, foram eliminados no controle de pragas devido aos seus efeitos nocivos na saúde humana e às funções ambientais. O mais usado como repelente, o brometo de metila, foi proibido no Brasil desde 2000 por causa de seus efeitos sobre a destruição da camada de ozônio, e isso levou à necessidade urgente de encontrar e desenvolver alternativas naturais, como o caso de repelentes que contém DEET (*N,N*-dimetil-*m*-metilbenzamida), os quais podem apresentar reações alérgicas. Uma das alternativas para minimizar esse problema foi desenvolvida preparando um potente repelente natural constituído de óleos essenciais⁴¹. Recentemente relatou-se que alguns óleos essenciais dentre eles, o Limoneno, estão sendo usados como repelente de insetos, essa aplicação tem sido considerada como uma tecnologia alternativa com risco reduzido³⁰.

Sabe-se que quando se utiliza extrato da planta para avaliar atividade repelente, há possibilidade de ter atividade sinérgica entre os componentes. Frente a isso, um estudo analisou individualmente a atividade repelente de terpenos, como Limoneno, eucaliptol, linalool e menta, dentre esses compostos o menos ativo foi o eucaliptol apresentando 3,5 vezes menor atividade comparada a do Limoneno³¹.

Um dos trabalhos publicados relaciona à impregnação do Limoneno como inseticida com vista à produção de tecidos de algodão impregnados. A impregnação foi efetuada de maneira convencional (tecidos embebidos em soluções contendo

diferentes doses de Limoneno), por revestimento de superfície (usando-se uma solução contendo uma dispersão de Limoneno) e de maneira inovadora fez-se ciclodextrinas compostas de Limoneno (Figura 4). Com os tecidos impregnados, bioensaios de repelência foram realizados para verificar a atividade dessa metodologia. As amostras de tecidos impregnadas com ciclodextrinas apresentaram índices de repelência superiores aos da amostra sem Limoneno e também maior toxicidade aos insetos quando comparadas as amostras impregnadas pelos outros métodos. Em relação ao tempo de permanência no tecido, tanto as amostras de tecidos tratadas por método de revestimento de superfície, como por uso de ciclodextrinas mostraram manter suas propriedades inseticidas após lavagem e armazenamento¹⁹.

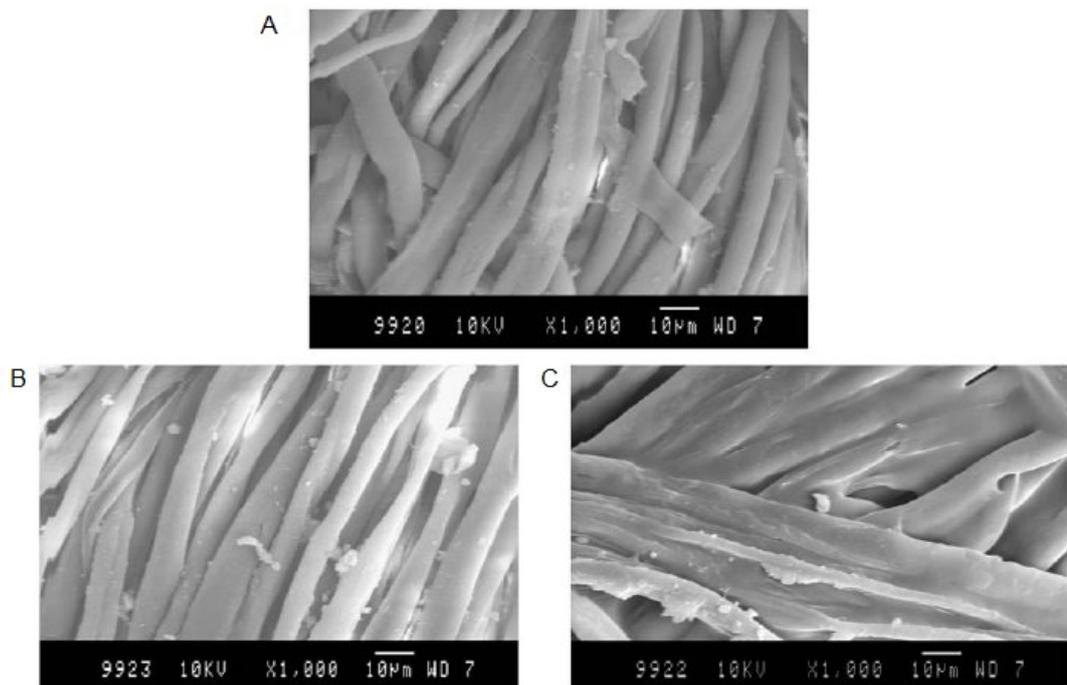


Figura 4: microscopia eletrônica de varredura dos tecidos tratados (a) amostra não tratada (b) amostra impregnada (c) amostra superfície revestida.

O tempo de permanência da atividade repelente apresentada pelos óleos essenciais é dependente da composição do produto a ser fabricado. Conforme revisão recente, formulações à base de cremes, misturas de polímeros ou microcápsulas de liberação controlada resultou em um aumento da duração de

repelência, uma vez que os óleos essenciais são voláteis. Alguns materiais fixadores, como parafina líquida, ácido salicílico e óleo de coco tem sido utilizados a fim de se obter maior tempo de atuação como repelente desses óleos¹⁶.

Em outro estudo, considerado uma inovação tecnológica, foram desenvolvidas nanopartículas inseticidas, utilizadas no combate de pragas agrícolas obtidas por nanoemulsão e microemulsão. Nesse trabalho, têm-se vários exemplos envolvendo métodos de preparo das nanopartículas como utilização do homogeneizador a alta pressão, *spray drier*, método de evaporação do solvente, entre outros. O agente ativo utilizado foi o novaluron (*N*-[[[3-chloro-4-[1,1,2-trifluoro-2-(trifluoromethoxy)ethoxy]phenyl]amino]carbonyl]-2,6-difluorobenzamide (Figura 5), esse composto age inibindo a síntese da quitina³⁸.

Em artrópodes, a quitina é considerada o principal constituinte da cutícula (ou exoesqueleto). A quitina Sintase é uma enzima-chave na biossíntese desta molécula, e os compostos benzoil-fenil-uréias possuem atividade inibidora da síntese de quitina, interferindo na formação da cutícula em diversas espécies de insetos. Novaluron foi recentemente recomendado para uso em água potável, o que o qualifica como uma alternativa viável para o controle de larvas do vetor da dengue, por exemplo.

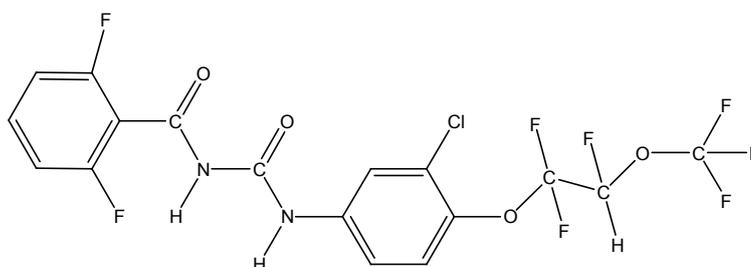


Figura 5: Estrutura química do inseticida Novaluron comercialmente chamado de Rimon®.

6. CONCLUSÕES

Plantas, como organismos que co-evoluem com insetos e outros microorganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico. As plantas sintetizam e emitem inúmeros compostos voláteis (ácidos, aldeídos e terpenos) para atrair polinizadores e se defender de herbívoros.

Os óleos essenciais e/ou seus componentes têm demonstrado uma grande utilidade como produtos farmacêuticos (aromatizantes de alimentos e bebidas, de cosméticos) e como agentes de manejo de pragas/insetos. Há uma crescente evidência de que certos óleos essenciais são eficazes agentes antibacterianos e antifúngicos. Alguns desses óleos tem sido uma alternativa potencial a ser usada no lugar dos atuais agentes de controle de insetos e praga, pois se constituem de uma rica fonte de substâncias bioativas e que agem de maneira seletiva às pragas não apresentando efeito nocivo sobre os organismos não-alvo. Somando-se a isso, o fato de preocupações devido ao impacto gerado pelo uso de pesticidas sintéticos despertou a busca por novos produtos químicos para o controle de pragas a partir de recursos naturais e menos agressivos ao meio ambiente.

Formulações diferenciadas, como por exemplo, a microencapsulação, nanoemulsão estão sendo desenvolvidas para reduzir a quantidade a ser aplicada, aumentar a duração da sua eficácia, reduzindo a sua volatilização, simplificar o manuseio de material e diminuir a taxa de degradação no meio ambiente.

A análise da literatura até o momento revela que ainda são poucos os estudos encontrados que envolvem a nanotecnologia com aplicação na repelência usando óleos essenciais, em especial que contenham Limoneno. Um terpeno barato, facilmente encontrado e com importantes atividades biológicas.

7. REFERÊNCIAS

1. IBRAHIM, M. A., PIRJO, K., AFLATUNI A., TIILIKKALA K., HOLOPAINEN J.K., Insectidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science in Finland*, v. 10, p. 243 – 259, **2001**
2. HOLLINGSWORTH, R.G., Limonene, a Citrus Extract, for control of Mealybugs and Scale insects. *Journal of Economic Entomology*, v.98, nº.3, p. 772-779, **2005**
3. KIM, J.; MARSHALL, M.R.; WEI, C.I. Antibacterial activity of some essential oils components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. v. 43, p. 2839-2845, **1995**.
4. ARRUDA, T.A.; ANTUNES, R.M.P.; CATÃO, R.M.R.; LIMA, E.O.; SOUZA,D.P.; NUNES, X.P.; PEREIRA, M.S.V.; BARBOSA-FILHO, J.M.; da CUNHA, E.V.L. Preliminary study of the antimicrobial activity of *Mentha x villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and its analogues. *Brazilian journal of pharmacognosy*. v16, p 307-313, **2006**.
5. BELETTI, N.; NDAGIJIMANA, M.; SISTO, C.; GUERZONI, M. E.; LANCIOTTI, R.; GARDINI, F. Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 6932-6938, **2004**.
6. AGGARWAL, B. B.; SHISHODIA, S. Inflammation and cancer: How hot is the link? *Biochemical Pharmacology*, v. 72, p. 1605-1621, **2006**.
7. UEDO, N.; TATSUTA, M.; LISHI, H.; BABA, M.; SAKAI, N.; YANO, H.; OTANI,T. Inhibition by d-limonene of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N0-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats. *Cancer Letters*, v. 137, p. 131-136, **1999**.
8. CROWEL, P. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *American Society for Nutritional Sciences*, v. 129, p. 775S-778S, **1999**.
9. PRATES, H.T.; SANTOS, JP.. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. p. 443-461. IN: LORINI, I.; MIIKE, L.H.; SENSSEL, V.M. (eds.), *Armazenagem de grãos*. Campinas: Instituto Bio Geneziz, 1000p, **2002**.

10. JAENSON, T.G.T.; PÅLSSON K.; BORG-KARLSON A.K. Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants from Sweden. *Medical and Veterinary Entomology*, v.19: p. 345-352, **2005**.
11. RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, p.603-613, **2001**.
12. ROSA, M.S.S.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; BIZZO, H. R.; SOARES, R. M. A.; SOUTO-PADRÓN, T.; ALVIANO, C.S.; LOPES, A.CH.C.L. Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.47, p.1895–1901, **2003**.
13. ANTHONY, J.P.; FYFE, L.; SMITH, H. Plant active components-a resource for antiparasitic agents? *TRENDS in Parasitology*, v.21, p.462-468, **2005**.
14. POLETO, F.S., GUTERRES, S.S.POHLMANN, A.R., Uma pequena grande revolução: os impactos da nanotecnologia na saúde humana. *Ciência hoje*, v.43, p.27-31, **2008**.
15. CONWAY, M.A., MADRIGAL-ESTEBAS, L., MCCLEAN, S., BRAYDEN, D.J., MILLS, K.H. Protection against *Bordetella pertussis* infection following parenteral or oral immunization with antigens entrapped in biodegradable particles: effect of formulation and route of immunization on induction of Th1 and Th2 cells. *Vaccine*, v. 19, p.1940–1950, **2001**.
16. NERIO, L.S., VERBEL, J.O., STASHENKO, E., Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, v.101, p. 372-378, **2010**
17. FERRARINI, S.R., DUARTE, M.O., ROSA, R.G., ROLIM, V., EIFLER-LIMA, V.L., VON POSER, G., RIBEIRO, V.L. Acaricidal activity of limonene, limonene oxide and β -amino alcohol derivatives on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology*, v.157, p.149-153, **2008**.
18. DUETZ, W.A., BOUWMEESTER, H., VAN BEILEN, J.B., WITHOLT, B.. Biotransformation of limonene by bacteria, fungi, yeasts, and plants. *Microbiol Biotechnol*, v.61, p. 269-277, **2003**
19. HEBEISH, A., FOUDA, M.M.G., HAMDY, I.A., EL-SAWY, S.M., ABDEL-MOHDY, F.A.. Preparation of durable insect repellent cotton fabric: Limonene as insecticide. *Carbohydrate Polymeres*, v.74, p.268-273, **2008**.
20. SCHAFFAZICK, S.R., FREITAS, L.L., POHLMANN, A.R., GUTERRES, S.S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, v.26, p.726-737, **2003**.

21. PEREIRA, N., CARNEIRO, S., SILVESTRE, M., TELES, N., FIGUEREIDO DA SILVA, J., MACHADO, C.M., PEREIRA, E.C., da SILVA, N.H., HONDA, N.K., SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Nanoencapsulation of usnic acid: an attempt to improve antitumor activity and reduce hepatotoxicity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 64, 154–160, **2006**.
22. NASSAR, T., ROM, A., Nyska, A., BENITA, S. Novel double coated nanocapsules for intestinal delivery and enhanced oral bioavailability of tacrolimus a substrate drug. *J. Control. Release* 133, 77–84, **2009**.
23. VERMA, D. D.; VERMA, S.; BLUME, G.; FAHR, A. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 258, p. 141-151, **2003**.
24. SHIM, J.; KANG, H. S.; PARK, W-S.; HAN, S-H.; KIM, J.; CHANG, I-S. Transdermal delivery of mixnoxidil with block copolymer nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, v. 97, p. 477-484, **2004**.
25. CEVC, G. Lipid vesicles and other colloids as drug carriers on the skin. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p. 671-675, **2004**.
26. JAFARI, S.M., HE, Y., BHANDARI, B.. Encapsulation of nanoparticles of d-limonene by β spray drying: role of emulsifiers and emulsifying techniques. *Drying Technology*, v.25, p. 1079-1089, **2007**
27. JENNING, V.; SCHÄFER-KORTING, M.; GOHLA, S. Vitamin A-loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. *Journal of Controlled Release*, v.66, p.115-126, **2000**.
28. GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. *Drug Target Insights*, v.2, p. 1-11, **2007**.
29. WISSING, S. A.; MÜLLER, R. H. Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, v. 254, p.65-68, **2003**
30. THONGDON-A, J., INPRAKHON, P.. Composition and biological activities of essential oils from *Limnophila geoffrayi* Bonati. *World J Microbiol Biotechnol*, v.25, p.1313–1320, **2009**.
31. SFARA, V., ZERBA, E.N., ALZOGARAY, R.A., Fumigant insecticidal activity and repellent effect of five essential oils and seven monoterpenes on first-instar nymphs of *Rhodnius prolixus*. *Journal of Medical Entomology*, v.46, n^o.3, p. 511-515, **2009**.

32. FERRARINI, S.R.; GRAEBIN, C.S.; LIMBERGER, J.; CANTO, R.F.S., DIAS, D.O.; ROSA, R.G., MADEIRA, M.F.; EIFLER-LIMA, V.L. Synthesis of limonene β -amino alcohol derivatives in support of new antileishmanial therapies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 103(8), p. 773-777, **2008**.
33. GRAEBIN, C.S.; MADEIRA, R.G.; YOKOYAMA-YASUNAKA, J.K.U.; MIGUEL, D.C.; ULIANA, S.R.B; BENITEZ, D.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.; da ROSA, R.G.; EIFLER-LIMA, V.L. Synthesis and *in vitro* activity of limonene derivatives against *Leishmania* and *Trypanosoma*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 1524-1528, **2010**.
34. ÁLVAREZ, G., GERPE, A.; BENITEZ, D.; GARIBOTTO, F.; ZACCHINO, S.; GRAEBIN, C.S.; da ROSA, R.G.; EIFLER-LIMA, V.L.; GONZÁLEZ, M.; CERETTO, H. New Limonene-Hybrid derivatives with Anti- *T. cruzi* activity. *Letters in Drug Design & Discovery*, **2010**
35. DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O. Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.17, p. 4022-4034, **2009**.
36. DENNIS SAMPSON MAPLEWOOD; ROBERT M. SMITH BALLWIN, 04/02/1992, D-limonene containing space or room aerosol deodorant, 5.085.849
37. MARGARET R. GRAHN MARISI, 17/09/1996, Insect Repellent, 5.556.81.
38. SHLOMO MAGDASSI, BENNY DAYAN, GANIT LEVI-RUSO, 21/01/2010, Pesticide nanoparticles obtained from microemulsions and nanoemulsions, 2010/0015236 A1.
39. TOR McPARTLAND, 31/08/2004, Ant spray containing *D*-limonene and methods of making and using the same, US 6,784,211 B1.
40. SALAMANCA-BUENTELLO F, PERSAD DL, COURT EB, MARTIN DK, DAAR AS, SINGER, PA. Nanotechnology and the Developing World. *PLoS Medicine*, v. 2(5), p. 97, **2005**.
41. GILLIJ, Y.G., GLEISER, R.M., ZYGADLO, J.A.. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology*, v. 99, pg. 2507–2515, **2008**.