

FACER – FACULDADE DE CERES
CURSO DE FARMÁCIA

ALINE CARNEIRO GOMES FIGUEIRA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS POR
MEIO DO BIOENSAIO COM *Artemia salina***

CERES – GO
2013

ALINE CARNEIRO GOMES FIGUEIRA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS POR
MEIO DO BIOENSAIO COM *Artemia salina***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Farmácia da
Faculdade de Ceres como exigência
parcial para a obtenção do título de
Bacharel em Farmácia

Orientador: Msc. Gilmar Aires da Silva
Co-orientadora: Msc. Adriane Ferreira de
Brito

FICHA CATALOGRÁFICA

Figueira, Aline Carneiro Gomes

Avaliação da toxicidade de plantas medicinais brasileiras por meio do bioensaio com *Artemia salina*. / Aline Carneiro Gomes Figueira. - Ceres - GO: Faculdade de Ceres - FACER, Ceres, GO, 2013.
35fls.

Orientador: Gilmar Aires da Silva. (Mestre)

Co-orientadora: Adriane Ferreira de Brito (Mestre)

TCC (Graduação) – Curso de Farmácia da Faculdade de Ceres - FACER.

Bibliografia

1. Toxicidade. 2. *Artemia salina*. 3. Plantas medicinais. I. Faculdade de Ceres - FACER. II. Título.

CDU 615.32

Elaborada pela Biblioteconomista Célia Romano do Amaral Mariano – CRB1/1528

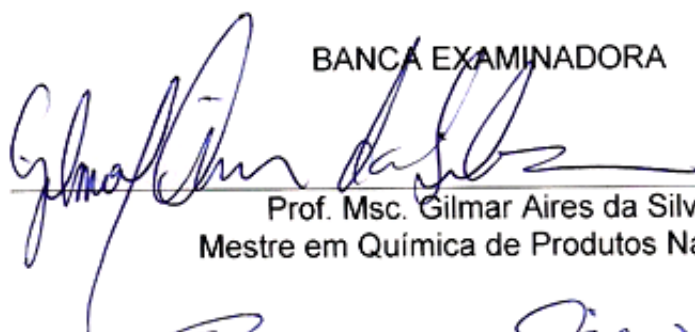
ALINE CARNEIRO GOMES FIGUEIRA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS POR
MEIO DO BIOENSAIO COM *Artemia salina***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Farmácia da
Faculdade de Ceres como exigência
parcial para a obtenção do título de
Bacharel em Farmácia

Aprovado em Ceres em 22 / 01 / 2019

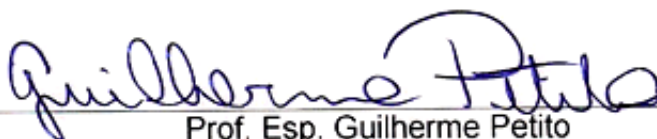
BANCA EXAMINADORA



Prof. Msc. Gilmar Aires da Silva
Mestre em Química de Produtos Naturais



Prof. Esp. Luciano Ribeiro Silva
Especialista em Citologia Clínica / Especialista em Saúde
Coletiva / Vigilância Sanitária: Medicamentos



Prof. Esp. Guilherme Petito
Especialista em Docência Universitária

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, à minha mãe que sempre me apoiou na realização do meu curso, dedico ainda a todos aqueles que contribuíram de alguma forma na realização desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço Primeiramente a Deus que sempre esteve ao meu lado na realização desta pesquisa, sempre me apoiando, me dando forças e me mostrando o caminho a ser seguido.

A minha mãe, que sempre me apoiou na realização deste estudo, sempre me incentivando, e me dando sábios conselhos.

Meus sinceros agradecimentos ao professor Gilmar Aires da Silva, orientador desta pesquisa, por ter transmitido seus conhecimentos, me guiado e acreditado no meu potencial.

A professora e co-orientadora Adriane Ferreira de Brito, pela sua grande ajuda em ter me co-orientado nesta pesquisa, pois sem seus ensinamentos, conselhos e apoio não teria chegado até aqui.

Agradeço a professora Ariana Alves Rodrigues por ceder o sal marinho e os cistos de *Artemia salina*, e por todo apoio prestado.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma maneira colaboraram na realização desta pesquisa.

Ser feliz é sentir o sabor da água, a brisa no rosto, o cheiro de terra molhada. É extrair das pequenas coisas grandes emoções. É encontrar todos os dias motivos para sorrir mesmo se não existirem grandes fatos. É rir de suas próprias tolices. É não desistir de quem se ama, mesmo se houver decepções. É ter amigos para repartir as lágrimas e dividir as alegrias. É ser um amigo do dia e um amante do sono. É agradecer a Deus pelo espetáculo da vida...

Augusto Cury

RESUMO

Desde os primórdios o ser humano já utilizava as plantas medicinais na cura e profilaxia de várias doenças. Porém mesmo com as diferenças existentes entre as formas mais simples de uso, e as mais sofisticadas que são os fitoterápicos, o homem descobriu que as plantas possuem princípios ativos, ou seja, substâncias que tem a capacidade de provocar reações benéficas no organismo. Dois dentre os diversos casos clássicos citados pela literatura são a *Papaver somniferum* da qual se extrai o ópio e a *Atropa belladonna* da qual se extrai a atropina. Apesar das plantas possuírem diversos usos medicinais, as pessoas não sabem que elas podem apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais, como exemplo pode-se citar a *Lantana Camara*, popularmente conhecido como Camará. Dados do Sistema Nacional de Informações Tóxico Farmacológicas revelam que no Brasil no ano de 2010, ocorreram 1132 casos de intoxicação em humanos pelo uso de plantas, desses 5 foram a óbito. Existe ainda a possibilidade de ocorrer o efeito placebo, pois nem sempre há comprovação da eficácia do efeito causado pelo emprego destas plantas. Uma das formas existentes de avaliar a toxicidade de extratos vegetais é utilizando-se o Bioensaio com *Artemia salina*, uma vez que ele é simples, rápido e barato. Diante disto, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a toxicidade de *Ocimum gratissimum*, *Foeniculum vulgare* e *Bauhinia forficata* nas concentrações de 1000 ppm, 500 ppm e 100 ppm. As espécies citadas foram coletadas nas cidades de Ceres e Rialma em Goiás. Logo depois, as plantas foram secas em temperatura ambiente protegidas da luz durante sete dias, elas foram então trituradas e submetidas à percolação utilizando álcool a 95 INPM durante três dias, depois os extratos etanólicos foram secos em rotaevaporador, os quais foram diluídos nas respectivas concentrações. Em seguida, um mililitro dos extratos foi adicionado em cada tubo, cada um com dez larvas, o teste foi feito em triplicata. Após vinte e quatro horas foram contadas o número de larvas mortas, posteriormente foi feito cálculo da CL50 por meio do programa GraphPad 5.0. Dos três extratos testados, os extratos de *Ocimum gratissimum* e *Foeniculum vulgare* apresentaram toxicidade leve frente à *Artemia salina*, enquanto que o extrato da *Bauhinia forficata* foi considerado atóxico. Espera-se que este estudo possa servir como fonte para outras pesquisas.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais. Bioensaio. Toxicidade. *Artemia salina*.

ABSTRACT

Since the early humans already used the medicinal plants in the cure and prophylaxis of various diseases. But even with the differences between the simplest forms of use, and are more sophisticated than the herbal medicines the man discovered that plants have active ingredients, in other words, substances that have the ability to provoke beneficial reactions in the body. Two of the many classic cases cited by the literature are the *Papaver somniferum* from which extracts the opium and *Atropa belladonna* from which extracts the atropine. Although plants possess various medicinal uses, the people are unaware that they can show toxic both for humans and for animals, as an example one can cite the *Lantana Camara*, popularly known as Cambará. Data from the National System of Pharmacologic Toxic Information reveal that in Brazil in the year 2010 have occurred 1132 cases of poisoning in humans by the use of plants, these 5 died. Still exists possibility of the placebo effect occur, because there is not always proving of the efficacy of the effect caused by the use of these plants. One of the existing ways of evaluating the toxicity of plant extracts is using the bioassay with *Artemia salina*, since it is simple, quick and inexpensive. Given this, this study aimed to evaluate the toxicity of *Ocimum gratissimum*, *Foeniculum vulgare* and *Bauhinia forficata* at concentrations of 1000 ppm, 500 ppm and 100 ppm. These species were collected in the cities of Ceres and Rialma in Goiás Soon after, the plants were dried at room temperature protected from light during seven days, they were then crushed and subjected to percolation using alcohol to 95 INPM during three days after the ethanolic extracts were dried over rotaevaporator, which were diluted in the respective concentrations. Then one milliliter of the extract was added to each tube, each with ten larvae, the test was done in triplicate. After twenty-four hours were counted the number of dead larvae, later calculation of LC50 was done using the program GraphPad 5.0. Of the three extracts tested, the extracts of *Ocimum gratissimum* and *Foeniculum vulgare* showed mild toxicity against *Artemia salina*, while the extract of *Bauhinia forficata* was considered nontoxic. It is hoped that this study can serve as a source for further research.

KEYWORDS: Medicinal plants. Bioassay. Toxicity. *Artemia salina*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 ALFAVACA.....	16
1.2 FUNCHO.....	17
1.3 PATA- DE-VACA.....	18
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 OBJETIVO GERAL.....	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1 MATERIAIS.....	21
3.1.1 <i>Artemia salina</i>	21
3.1.2 Solução salina para eclosão dos ovos de <i>Artemia salina</i>	21
3.1.3 Material vegetal.....	21
3.2 MÉTODOS.....	21
3.2.1 Preparação dos extratos.....	21
3.2.2 Diluição dos extratos.....	22
3.2.3 Solução salina para cultivo das larvas de <i>Artemia salina</i>	22
3.2.4 Bioensaio de toxicidade para as larvas de <i>Artemia salina</i>	22
3.2.5 Contagem das larvas.....	22
3.2.6 Análise estatística dos resultados.....	22
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS POR MEIO DO BIOENSAIO COM <i>Artemia salina</i>.....	23

INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
MATERIAIS.....	24
<i>Artemia salina</i>	24
Solução salina para eclosão dos ovos de <i>Artemia salina</i>	25
Material vegetal.....	25
MÉTODOS.....	25
Preparação dos extratos.....	25
Diluição dos extratos.....	25
Solução salina para cultivo das larvas de <i>Artemia salina</i>	25
Bioensaio de toxicidade para as larvas de <i>Artemia salina</i>	26
Contagem das larvas.....	26
Análise estatística dos resultados.....	26
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
CONCLUSÃO.....	28
AGRADECIMENTOS.....	28
REFERÊNCIAS DO ARTIGO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para tratamento, cura, profilaxia das enfermidades, é uma das maneiras mais antigas na prática médica da humanidade. O conhecimento empírico sobre a ação das plantas vem sendo repassado desde os primórdios da humanidade até os dias de hoje (CARVALHO, 2011; VEIGA JR *et al.*, 2005).

Desde o início da civilização as plantas são continuamente usadas pelo homem, este uso foi motivado principalmente devido a necessidade de sobreviver, isto fez com que o ser humano desvendasse prováveis usos medicinais de algumas espécies (CASTRO, 2006).

A utilização de plantas medicinais na cura de doenças vem sofrendo evoluções, desde as formas mais simples de tratamento, possivelmente utilizadas pelo homem na antiguidade, até os processos mais sofisticados tecnologicamente, empregados na produção de medicamentos pelas indústrias (LORENZI, MATOS, 2000).

Porém, mesmo com as grandes diferenças entre a forma tradicional, como os chás, e a forma tecnológica, que são os fitoterápicos, existe algo em comum entre elas. De alguma maneira o ser humano percebeu que as plantas possuem princípios ativos. Substâncias que administradas em formas farmacêuticas, como comprimidos e pomadas, possuem a característica de causar reações benéficas no corpo humano capazes de levar à restauração da saúde (LORENZI, MATOS, 2000).

A literatura possui centenas de exemplos de plantas que apresentam usos medicinais. Dois casos clássicos são a papoula (*Papaver somniferum*) da qual se extrai o ópio, e a beladona (*Atropa belladonna*) de onde se extrai a atropina (MARTINEZ; ALMEIDA; PINTO, 2009; MARTINS *et al.*, 2012).

Em meados do século XVIII, Lineu foi o primeiro a classificar a espécie botânica *Papaver somniferum*, papoula. Naquela época, a extração do ópio era feita através do látex, retirado por meio de pequenas incisões realizadas nas cápsulas ainda verdes, de onde sai um líquido leitoso. A morfina assim como a codeína, é um dos alcalóides encontrados na papoula, ela foi descoberta na Alemanha, por Friederich Setuner, em 1803, que, após dissolver o látex em ácido e logo em seguida neutralizá-lo com amônia, obteve como resultado a morfina. Atualmente, este alcaloide ainda é usado no tratamento da dor, ela é muito importante para os

pacientes terminais diagnosticados com diversos tipos de câncer, pois reduz as fortes dores características desta patologia (MARTINS *et al.*, 2012; NOVO, M. C. D'A, 2010; RODRIGUES; ALMEIDA; PIRES, 2010).

O nome *belladonna*, que em italiano significa belas mulheres, tem origem no costume que as mulheres da idade média tinham de pingar nos olhos o sumo espremido das bagas pretas da planta para causar a dilatação das pupilas. Naquela época as mulheres que apresentavam as pupilas maiores e mais brilhantes eram consideradas as mais bonitas. A atropina é o agente midriático, responsável pelo emprego de extratos de *Atropa belladonna* como colírio (MARTINEZ; ALMEIDA; PINTO, 2009).

O químico alemão Mein foi o primeiro a isolar a atropina em 1831, porém os romanos, egípcios e gregos já sabiam a respeito das suas propriedades terapêuticas. A atropina é uma droga parassimpaticolítica, que bloqueia competitivamente os receptores muscarínicos (MARTINEZ; ALMEIDA; PINTO, 2009).

A atropina também é encontrada nas folhas, flores, caule e sementes, das plantas da família Solanácea, especialmente na *Atropa belladonna*. A atropina é um alcaloide constituído de uma mistura racêmica, de D-hiosciamina e L-hiosciamina. Entretanto, apenas a forma L-hiosciamina possui atividade terapêutica enquanto que a forma D-hiosciamina quase não possui atividade antimuscarínica (SOARES, 2007).

A atropina é indicada como pré-medicação antes da anestesia geral, antiespasmódica (desordens intestinais e prevenção de broncoespasmos), adjunto de analgésicos, no tratamento da bradicardia, em alguns casos de envenenamento, midriático e cicloplégico (SOARES, 2007).

Foi divulgado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) no início da década de 1990 que 65-80% da população dos países em desenvolvimento acreditam no uso de fitoterápicos no tratamento de suas enfermidades (SILVEIRA; BANDEIRA; ARRAIS, 2008).

O conhecimento sobre plantas medicinais na maioria das vezes representa o único recurso terapêutico. As observações populares a respeito da utilização e eficácia de plantas medicinais mantêm o costume do uso de fitoterápicos, tornando adequadas as informações terapêuticas que vem sendo repassadas durante séculos. Com relação à medicina caseira, se de um lado a utilização de plantas é

difundida em nosso meio, por outro é limitado o conhecimento sobre os princípios ativos de tais plantas (MACEDO; OSHIWA; GUARIDO, 2007).

O uso de plantas com finalidade terapêutica é devido a presença de princípios ativos. Dessa forma, as plantas medicinais são empregadas como matéria prima na extração destas substâncias, como por exemplo a morfina que é extraída a partir do ópio (*Papaver somniferum*), a quinina isolada a partir de espécies de *Cinchona* sp, a atropina e a escopolamina isoladas a partir da *Atropa belladonna*, a reserpina isolada a partir da *Rauwolfia serpentina*, entre outras (CARVALHO, 2011).

De acordo com a OMS (1978), a definição de planta medicinal é:

Planta Medicinal é a planta selecionada, silvestre ou cultivada, utilizada popularmente como remédio no tratamento de doenças. Segundo a OMS (1978), é toda e qualquer planta contendo substâncias que possam ser usadas para prevenir, aliviar, curar ou modificar um processo fisiológico normal ou patológico e que possa servir como fonte de fitofármacos e de seus precursores para síntese químico-farmacêutica (FERRO, 2008, p. 11; WHO, 1978).

Por outro lado, de acordo com a ANVISA (2004) fitoterápico é definido como:

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada nº 48 de 16 de março de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, fitoterápico é medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança é validada através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase 3. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais (BRASIL, ANVISA, 2004).

Mesmo que as plantas medicinais apresentem benefícios, há uma crença de que os medicamentos provenientes delas não têm substâncias tóxicas ou não fazem mal, o que não é verdade. Há a possibilidade de que substâncias químicas, como os metabólitos secundários, possivelmente produzidos pelas plantas para proteção contra microrganismos e animais predadores possam apresentar toxicidade tanto para o ser humano quanto para os animais. Como exemplo de metabólitos especiais pode-se citar os alcaloides, que quando administrados em animais podem apresentar efeitos terapêuticos ou tóxicos. Além disso, essas substâncias podem ter potencial carcinogênico, hepatotóxico, neurotóxico e nefrotóxico (CARVALHO, 2011).

Ao se analisar a flora brasileira, muitas das plantas medicinais ainda continuam sem estudos. Assim, seus princípios ativos, suas atividades farmacológicas e os dados toxicológicos continuam a sendo desconhecidos. Isto provoca muita preocupação, já que as intoxicações por plantas são casos de saúde pública. De acordo com informações do Sistema Nacional de Informações Toxicológicas (SINITOX) no ano de 2010, no Brasil foram registrados 1132 casos de intoxicação humana por uso de plantas sendo que desses, 5 foram a óbito (BEDNARCZUK *et al.*, 2010; SINITOX, 2010).

Geralmente as intoxicações acontecem devido à utilização exagerada de certas plantas, do modo de preparo e usos impróprios e, principalmente devido ao emprego de plantas com efeitos tóxicos. São muitos os casos em que não se fazem o uso de apenas uma ou mais partes da planta com finalidade terapêutica, sendo que diferentes partes podem ser consideradas tóxicas, por exemplo, as folhas do cambará (*Lantana camara* L.), tem sido indicado para tratamento de várias doenças, ele possui alguns usos medicinais como emenagogo, diurético, expectorante, febrífugo, antirreumático, além disso, o cambará também apresenta propriedades anticonvulsivantes, entretanto seus frutos são tóxicos (COSTA *et al.*, 2009; MAIWORM, 2007; MARTINS *et al.*, 2000).

Um estudo feito no município de Quatis – RJ, descreveu o acontecimento de um surto de intoxicação pela cambará em bovinos. Segundo a literatura mesmo que os surtos sejam graves, eles são raros, uma vez que acontecem apenas quando os animais estão famintos e quando há a transferência de pasto. De acordo com o estudo, o cambará apresentou letalidade quando administrado nas doses de 40 g/Kg, enquanto que nas doses de 20 g/Kg, 10g/Kg e 5g/Kg, provocaram respectivamente, intoxicação grave, intoxicação leve e ausência de sintomas (TOKARNIA *et al.*, 1999).

Alguns dentre os vários sintomas apresentados devido à intoxicação pelo cambará foram diminuição do apetite, focinho seco, fezes ressequidas, icterícia, coloração da urina variando de amarelo-ouro a amarelo-escura, grande inquietação, lesões de fotossensibilização como por exemplo vermelhidão e inchaço, andar lerdo e apatia, alguns deles apresentavam intensa salivação e desorientação (TOKARNIA *et al.*, 1999).

A utilização milenar de plantas medicinais revelou, com o passar dos anos, que certas plantas possuem substâncias com potencial perigoso. Do ponto de vista

científico, pesquisas revelaram que muitas delas têm substâncias potencialmente agressivas e, por este motivo, devem ser usadas com cautela, respeitando seus riscos toxicológicos. Como exemplos de efeitos tóxicos de substâncias presentes em plantas podem ser citados os efeitos hepatotóxicos de apiol, safrol, lignanas e alcalóides pirrolizidínicos (VEIGA JR *et al.*, 2005).

A cautela com o uso é indispensável e de extrema importância no controle dos prováveis efeitos adversos e colaterais que o uso crônico e/ou agudo pode trazer ao organismo, devido à existência de plantas que, embora sejam designadas medicinais, são capazes de apresentar toxicidade dependendo de como são usadas, tempo de tratamento, com a maneira de preparo, além de outros fatores (AMARAL; SILVA, 2008).

Portanto, atualmente a toxicidade de plantas medicinais é um grave problema de saúde pública, sendo um agente de preocupação crescente nos meios científicos que envolvem estudos fitoterápicos. Dessa forma, a investigação da toxicidade de plantas medicinais pode esclarecer importantes características farmacológicas de seus princípios naturais, possibilitando um uso seguro, respeitando seus prováveis riscos toxicológicos (AMARAL; SILVA, 2007).

Uma das formas de se avaliar a toxicidade de uma planta é por meio do bioensaio com *Artemia salina*, que tem como características ser de baixo custo, simples, rápido, não requer técnicas assépticas (SIQUEIRA *et al.*, 1998).

Artemia salina é um microcústáceo da ordem Anostraca utilizado na alimentação de peixes e camarões por seu alto valor nutritivo. Dependendo da alimentação ingerida esse microcústáceo pode adquirir diversas colorações, suas características é de nadarem com a parte ventral do corpo voltada para cima, ou seja, para a luz e de estarem sempre em locomoção, por serem animais filtradores e dependem disso para alimentar-se e respirar (BEDNARCZUK *et al.*, 2010, p. 45).

Segundo MEYER *et al.*, 1982, a relação existente entre o grau de toxicidade e a concentração letal mediana (CL50), é a de que extratos de plantas administrados sobre *Artemia salina*, com valores acima de 1000 µg/mL e não existindo morte de mais de 50% dos microcústáceos, estes, são atóxicos.

1.1 ALFAVACA

O *Ocimum gratissimum* conhecida popularmente como alfavaca, pertence à família Lamiaceae, é originária da Ásia tropical e é subespontânea em todo o Brasil, é facilmente reconhecida pelo seu cheiro que lembra o Cravo-da-Índia (FRANCO *et al.*, 2007).



Figura 1 – *Ocimum gratissimum*

Fonte: (LORENZI; MATOS, 2000, p. 253).

Na medicina popular suas folhas são usadas na preparação de banhos antigripais, principalmente em crianças, também são usadas para tratar situações de nervosismo e paralisia, é usada também como carminativo, sudorífico, e diurético. Também é empregada como larvicida, repelente de insetos de longa duração, estomáquico, antipirética, antifúngica, hipoglicemiante, antidiarréica, antiviral contra os vírus HIV-1 e HIV-2. Além disso, possui ações antisséptica pulmonar e expectorante, sendo usada na odontologia. O eugenol, presente na alfavaca, possui ação bactericida e analgésica, além disso, este composto apresenta ainda atividade antiinflamatória, cicatrizante, inseticida, bactericida, antifúngica, antiúlcera, antidiabética, afrodisíaco, antioxidante, antitumoral (AFFONSO, R. S. *et al.*, 2012; FRANCO *et al.*, 2007; LORENZI; MATOS, 2000; SILVA; OLIVEIRA; SOUZA, 2011).

Os óleos essenciais encontrados nas folhas nesta planta são compostos de: 77,3% de eugenol, 12,1% de 1,8-cineol, 2,3% de β -cariofileno e 2,1% de (Z)-ocimeno o que justifica seu uso na confecção de licores e como sucedâneo do óleo de cravo-da-índia (LORENZI; MATOS, 2000).

1.2 FUNCHO

O *Foeniculum vulgare* conhecido popularmente como funcho, pertence à família Apiaceae, é nativo da bacia do Mediterrâneo Oriental e do Cáucaso, hoje em dia tem sido cultivado em todo o mundo e em diversas variedades, o seu fruto foi empregado na medicina popular na Europa e na China por centenas de anos (AZEVEDO; QUIRINO; BRUNO, 2010; CARILHO, 2009).



Figura 2 – *Foeniculum vulgare*

Fonte: (LORENZI; MATOS, 2000, p. 480).

Desde o início da civilização seus frutos tem sido utilizados como chás como estimulante da digestão, combate à cólicas, e para estimular a lactação, o funcho também possui atividade inseticida e antifúngica, além de estimulante das funções digestivas, o funcho atua como carminativo e espasmolítico. É utilizado também como edulcorante e aromatizante nos medicamentos, substâncias que dão sabor e cheiro agradáveis às formulações, e em confeitaria é empregado na fabricação de licores e guloseimas (LORENZI; MATOS, 2000).

As sementes do funcho possuem substâncias que tem capacidade de regular a menstruação, diminuir os sintomas do climatério nas mulheres, e aumentar a libido. Elas também ajudam na melhora da indigestão, bronquite, tosse e dor de garganta, as sementes também podem ser empregadas nas cólicas de recém-nascidos e em alguns distúrbios respiratórios. Há relatos de que elas possuem efeitos antioxidantes, diminui a concentração de colesterol no plasma, atividade contra o HIV e capacidade de sequestro de radicais livres (CARILHO, 2009).

O óleo essencial do funcho é composto principalmente de 90-95% de anetol, isto lhe confere sabor e odor típicos do anis, apresenta quantidades menores de metilchavicol, anisaldeído, linalol e outros derivados terpênicos oxigenados, possui ainda óleo fixo, proteínas, carboidratos, ácido málico, caféico e clorogênico, além de cumarinas, flavonóides, e esteróides (LORENZI; MATOS, 2000).

1.3 PATA-DE-VACA

A *Bauhinia forficata* conhecida popularmente como pata-de-vaca, pertence à família Leguminosae, é originária da Ásia (MARTINS, *et al.*, 2000). “No sul do país ocorre a espécie *Bauhinia candicans* Benth., muito semelhante e com as mesmas propriedades que esta e considerada por alguns como a mesma espécie.” (LORENZI; MATOS, 2000, p. 274-275).



Figura 3 – *Bauhinia forficata*

FONTE: (LORENZI; MATOS, 2000, p. 274)



Figura 4 – *Bauhinia candicans*

FONTE: (LORENZI; MATOS, 2000 p. 275).

Na medicina popular suas folhas são empregadas como antidiabéticas, hipocolesterolemiantes, diuréticas, tônico, depurativo e hipoglicemiantes. É usada também contra cistites, diarreias, parasitoses intestinais, elefantíase, e como auxiliar no tratamento da diabetes e na eliminação de cálculos renais (LORENZI; MATOS, 2000; MANOEL, *et al.*, 2009).

Ultimamente, esta planta vem despertando os estudos químicos, farmacológicos e clínicos que possuem objetivos de validá-la como fármaco eficaz e seguro, pois além de ser muito utilizada na medicina tradicional, alguns pesquisadores conseguiram detectar a presença de insulina na pata-de-vaca (LORENZI; MATOS, 2000).

As análises da composição química das folhas e flores de pata-de-vaca, demonstraram a presença de esteróis, flavonoides, pinitol, colina e trigonelina, além de glicosídeos, ácidos orgânicos, sais minerais, taninos, e mucilagens (LORENZI; MATOS, 2000).

O uso de plantas medicinais baseadas no conhecimento popular é repassado através das gerações, estas plantas podem ser utilizadas com a finalidade de amenizar os sintomas das enfermidades das pessoas, cura das doenças, empregos em formulações farmacêuticas, adjuvantes nos tratamentos farmacológicos e não farmacológicos, isolamento de princípios ativos e na culinária como, por exemplo, o funcho, entre outros.

O costume de utilizar plantas medicinais com pouca ou nenhuma comprovação científica de seus efeitos sobre o corpo humano é perigoso, pois mesmo sendo úteis às pessoas, certas plantas possuem constituintes químicos que podem causar efeitos diferentes daqueles esperados (CASTRO, 2006).

O estudo foi realizado a partir do conhecimento popular quanto ao uso de plantas medicinais. Nem sempre há comprovação da eficácia do efeito produzido pelo seu uso, há casos que as preparações têm apenas efeito placebo. Para avaliar a toxicidade de plantas medicinais, foi utilizado o bioensaio com *Artemia salina*, pois é um teste simples, de baixo custo, e de resposta rápida. O estudo de toxicidade das plantas medicinais faz-se necessário pois mesmo que inúmeras pessoas saibam as indicações terapêuticas de muitas plantas, na maioria das vezes elas não sabem que estas podem apresentar toxicidade, isto se relaciona diretamente com a forma de uso, dosagem utilizada, duração do tratamento, e as partes das plantas empregadas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a toxicidade de três espécies de plantas medicinais encontradas no cerrado por meio do bioensaio com *Artemia salina*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a toxicidade de *Ocimum gratissimu* (Alfavaca), *Foeniculum vulgare* (Funcho), e *Bauhinia forficata* (Pata de vaca), por meio do bioensaio com *Artemia salina* nas concentrações de 1000 ppm, 500 ppm e 100 ppm.
- Discutir a viabilidade do bioensaio com *Artemia salina* como forma de avaliar a toxicidade de extratos vegetais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

3.1.1 *Artemia salina*

Foram utilizados ovos de *Artemia salina*, cultivados no Laboratório de Química Multiuso II da FACER – Faculdade de Ceres - GO.

3.1.2 Solução salina para eclosão dos ovos de *Artemia salina*

Foram utilizados sal marinho e água destilada, originando uma solução de saturada de sal marinho.

3.1.3 Material vegetal

As espécies, *Bauhinia forficata*, *Ocimum gratissimum* e *Foeniculum vulgare* foram coletadas nos municípios de Ceres e Rialma, estado de Goiás, em Agosto de 2012. A identificação do material botânico foi feita a partir de comparação com dados existentes na literatura.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Preparação dos extratos

O material vegetal foi seco à temperatura ambiente protegido da luz e da umidade por 7 dias. Após a secagem, foi submetido à trituração com o auxílio de almofariz e pistilo, obtendo-se 1,61 g de *Bauhinia forficata*, 1,40 g de *Ocimum gratissimum* e 1,45 g de *Foeniculum vulgare*. Em seguida o material foi submetido à percolação com etanol (EtOH) a 95 INPM (Instituto Nacional de Pesos e Medidas) durante 3 dias. Em seguida o extrato foi filtrado e evaporado com o auxílio do rotaevaporador sob temperatura inferior a 40 °C até *secura total* dos extratos.

3.2.2 Diluição dos extratos

Para cada uma das três plantas, foram feitas diluições dos extratos brutos etanólicos em água, obtendo-se as seguintes concentrações: 1000 ppm; 500 ppm e 100 ppm.

3.2.3 Solução salina para cultivo das larvas de *Artemia salina*

Em um béquer de 500 mL, foi preparada uma solução salina contendo 17,98 g de sal marinho e 500 mL de água destilada. Após ser homogeneizada com um bastão de vidro, a solução foi aerada com a ajuda de uma bomba de vácuo durante 30 minutos. Foram incubados 50 mg de cistos de *Artemia salina* durante 48 horas.

3.2.4 Bioensaio de toxicidade para as larvas de *Artemia salina*

Utilizou-se a metodologia descrita por Meyer *et al.*, (1982) com adaptações. Com o auxílio de duas pipetas automáticas, uma de 200 µL, e outra de 1000 µL (1 mL), foram transferidas 10 larvas para cada tubo de ensaio, o volume foi então completado para 9 mL de solução salina, e logo após foi adicionado 1 mL dos extratos em cada tubo de ensaio. O teste foi feito em triplicata para cada extrato bruto e suas diluições. Além disso, foi realizado o controle negativo (branco), neste tubo de ensaio foi adicionado apenas 10 larvas em 10 mL de solução salina, sem adicionar o extrato.

3.2.5 Contagem das larvas

Após 24 horas em contato com a solução dos extratos, foi feita a contagem do número de larvas vivas e os dados foram tabulados.

3.2.6 Análise estatística dos resultados

A concentração letal mediana (CL50) dos extratos das folhas das três espécies foi determinadas utilizando o programa GraphPad Prism 5.0.

AValiação DA TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS POR MEIO DO BIOENSAIO COM *Artemia salina*

FIGUEIRA, A. C. G¹; BRITO, A. F²; SILVA, G. A^{2a}

¹Acadêmica do curso de Farmácia da Faculdade de Ceres;

e-mail: aline_carneiro.gomes@hotmail.com

²Docente do curso de Farmácia da Faculdade de Ceres

^{2a}Docente do curso de Farmácia da Faculdade de Ceres

e-mail: gilmaraires@hotmail.com

RESUMO: Uma das formas de avaliar a toxicidade de extratos vegetais é por meio do Bioensaio com *Artemia salina*, pois ele é simples, rápido e barato. Diante disto, este estudo teve por objetivo avaliar a toxicidade de *Ocimum gratissimum*, *Foeniculum vulgare* e *Bauhinia forficata* nas concentrações de 100 ppm, 500 ppm e 100 ppm. As espécies citadas foram coletadas nas cidades de Ceres e Rialma em Goiás. Logo a seguir, foram feitos os extratos etanólicos, os quais foram diluídos nas respectivas concentrações. Logo depois, um mililitro dos extratos foi adicionado em cada tubo, cada um com dez larvas, o teste foi feito em triplicata. Após vinte e quatro horas foram contadas o número de larvas mortas, posteriormente foi feito o cálculo da CL50 por meio do programa GraphPad 5.0. Dos três extratos testados, os extratos de *Ocimum gratissimum* e *Foeniculum vulgare* apresentaram toxicidade leve frente à *Artemia salina*, enquanto que o extrato da *Bauhinia forficata* foi considerado atóxico. Espera-se que este estudo possa servir como fonte para outras pesquisas.

PALAVRAS-CHAVE: Bioensaio. Toxicidade. *Artemia salina*.

INTRODUÇÃO

A utilização das plantas medicinais com finalidades terapêuticas e profiláticas para várias doenças é uma das práticas médicas mais antigas existentes. O conhecimento a respeito de seus usos vem sendo transmitido desde o início da civilização até os dias de hoje (CARVALHO, 2011; VEIGA JR *et al.*, 2005).

Apesar das plantas possuírem muitos usos terapêuticos que são conhecidos popularmente pelas pessoas, o ser humano desconhece o fato de que elas podem

apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais (MARTINS *et al.*, 2012; RODRIGUES; ALMEIDA; PIRES, 2010).

Como exemplo pode-se citar o cambará (*Lantana camara*), que na medicina popular é utilizado como emenagogo, diurético, expectorante, febrífugo, antirreumático. Além disso, o cambará também apresenta propriedades anticonvulsivantes. No entanto, seus frutos são considerados tóxicos. Um estudo feito no município de Quatis - RJ demonstrou surtos de intoxicação em bovinos causados pela ingestão de *Lantana camara*, estes animais apresentaram diminuição do apetite, focinho seco, fezes ressequidas, icterícia, coloração da urina variando de amarelo-ouro a amarelo-escura, grande inquietação, lesões de fotossensibilização, como por exemplo, vermelhidão e inchaço, andar lerdo e apatia, alguns deles apresentavam, também, intensa salivação e desorientação (COSTA *et al.*, 2009; TOKARNIA *et al.*, 1999).

De acordo com dados do Sistema Nacional de Informações Toxicológicas (SINITOX), no ano de 2010, no Brasil foram registrados 1132 casos de intoxicação humana por uso de plantas sendo que desses, 5 foram a óbito (SINITOX, 2010).

Perante este fato, o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade de três espécies de plantas medicinais brasileiras por meio do bioensaio com *Artemia salina* nas concentrações de 1000 ppm, 500 ppm e 100 ppm. As espécies utilizadas foram *Ocimum gratissimum* (alfavaca), *Foeniculum vulgare* (funcho) e *Bauhinia forficata* (pata de vaca). Este trabalho também se propôs a discutir a viabilidade deste bioensaio como forma de avaliar a toxicidade de extratos vegetais.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

Artemia salina

Foram utilizados ovos de *Artemia salina*, cultivados no Laboratório de Química Multiuso II da FACER – Faculdade de Ceres - GO.

Solução Salina para Eclosão dos ovos de *Artemia salina*

Foram utilizados sal marinho e água destilada, originando uma solução saturada de sal marinho.

Material Vegetal

As espécies, *Bauhinia forficata*, *Ocimum gratissimum* e *Foeniculum vulgare* foram coletadas nos municípios de Ceres e Rialma, estado de Goiás, em Agosto de 2012. A identificação do material botânico foi feita a partir de comparação com dados existentes na literatura.

MÉTODOS

Preparação dos extratos

O material vegetal foi seco à temperatura ambiente protegido da luz e da umidade por 7 dias. Após a secagem, foi submetido à trituração com o auxílio de almofariz e pistilo, obtendo-se 1,61 g de *Bauhinia forficata*, 1,40 g de *Ocimum gratissimum* e 1,45 g de *Foeniculum vulgare*. Em seguida o material foi submetido à percolação com etanol (EtOH) a 95 INPM (Instituto Nacional de Pesos e Medidas) durante 3 dias. Em seguida o extrato foi filtrado e evaporado com o auxílio do rotaevaporador sob temperatura inferior a 40 °C até secura total dos extratos.

Diluição dos extratos

Para cada uma das três plantas, foram feitas diluições dos extratos brutos etanólicos em água, obtendo-se as seguintes concentrações: 1000 ppm; 500 ppm e 100 ppm.

Solução salina pra cultivo das larvas de *Artemia salina*

Em um béquer de 500 mL, foi preparada uma solução salina contendo 17,98 g de sal marinho e 500 mL de água destilada. Após ser homogeneizada com um

bastão de vidro, a solução foi aerada durante 30 minutos. Foram incubados 50 mg de cistos de *Artemia salina* por 48 horas.

Bioensaio de toxicidade para as larvas de *Artemia salina*

Utilizou-se a metodologia descrita por Meyer *et al.*, (1982) com adaptações. Com o auxílio de duas pipetas automáticas, uma de 200 µL, e outra de 1000 µL (1 mL), foram transferidas 10 larvas para cada tubo de ensaio, o volume foi então completado para 9 mL de solução salina, e logo após foi adicionado 1 mL dos extratos em cada tubo de ensaio. O teste foi feito em triplicata para cada concentração dos extratos. Além disso, foi realizado o controle negativo (branco), neste tubo de ensaio foi adicionado apenas 10 larvas em 10 mL de solução salina, sem adicionar o extrato.

Contagem das Larvas

Após 24 horas em contato com a solução dos extratos, foi feita a contagem do número de larvas vivas e os dados foram tabulados.

Análise estatística dos resultados

A concentração letal mediana (CL50) dos extratos das folhas das três espécies foi determinada utilizando o programa GraphPad Prism 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Valores de CL50 calculados para os extratos de *Ocimum gratissimum*, *Foeniculum vulgare* e *Bauhinia forficata*

Plantas medicinais	Concentração letal mediana (ppm)
<i>Ocimum gratissimum</i>	755,5
<i>Foeniculum vulgare</i>	644,2
<i>Bauhinia forficata</i>	1780

Dos extratos testados o que apresentou a menor concentração letal mediana (CL50) foi o *Foeniculum vulgare*, enquanto que o extrato que apresentou a maior concentração letal mediana (CL50) foi a *Bauhinia forficata*.

O *Ocimum gratissimum*, popularmente conhecido como alfavaca, apresentou CL50 igual a 755,5 ppm.

De acordo com NGUTA *et al.*, (2011), tanto extratos orgânicos, quanto extratos aquosos com valores de CL50 menores que 100 µg/ml apresentam alta toxicidade, CL50 entre 100 e 500 µg/ml apresentam toxicidade moderada, CL50 entre de 500 e 1000 µg/mL apresentam fraca toxicidade e CL50 acima de 1000 µg/mL são considerados atóxicos (não tóxicos).

Dessa forma, os extratos orgânicos das folhas *Ocimum gratissimum* apresentam leve toxicidade frente à *Artemia salina*.

O *Foeniculum vulgare*, popularmente conhecido como funcho, apresentou CL50 igual a 644,2 ppm.

Segundo BUSSMANN *et al.*, (2011), tanto para extratos etanólicos, quanto aquosos com valores de CL50 menores que 249 µg/mL apresentam alta toxicidade, CL50 entre 250 e 499 µg/mL apresentam toxicidade moderada, CL50 entre 500 e 1000 µg/mL apresentam leve toxicidade, e CL50 acima de 1000 µg/mL são considerados atóxicos.

Logo, os extratos orgânicos das folhas de *Foeniculum vulgare*, apresentam leve toxicidade frente à *Artemia salina*.

A *Bauhinia forficata*, popularmente conhecida como pata-de-vaca, apresentou CL50 igual a 1780 ppm.

MARTÍNEZ *et al.*, 2011, realizou um estudo com três valores de concentrações do extrato etanólico de uma planta do gênero *Bauhinia* frente à *Artemia salina*, a planta testada em seu estudo foi a *Bauhinia variegata*. Segundo MARTÍNEZ *et al.*, 2011, das três concentrações testadas, o extrato que apresentou maior CL50 foi o de 1000 µg/mL sendo considerado o menos tóxico, enquanto que o extrato que apresentou CL50 menor que 500 µg/mL foi considerado altamente tóxico. Além disso, extratos com CL50 menor que 1000 µg/mL são considerados ativos (SANTOS, R. A. F.; DAVI, J. P.; DAVI, J. M., 2011).

Logo, os extratos orgânicos das folhas de *Bauhinia forficata*, não foram ativos.

A *Artemia salina* é um microcrustáceo muito utilizado na alimentação de peixes. Ela é bastante empregada em ensaios toxicológicos pois é de fácil

manuseio, além disso, possui baixo custo, fácil cultivo e obtenção. Os ensaios de letalidade são largamente empregados em testes toxicológicos podendo-se obter a concentração letal mediana (CL50), que é a dose necessária para causar a morte de 50% de uma amostra em estudo (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

De acordo com MEYER, *et al.*, (1982), existe uma relação entre a toxicidade e a concentração letal mediana (CL50) de extratos vegetais sobre a *Artemia salina*, sendo que, quando são encontrados valores de CL50 maiores que 1000 µg/mL e não é observada a morte de mais de 50% de uma população, estes extratos não considerados tóxicos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que os extratos de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) e funcho (*Foeniculum vulgare*) apresentam leve toxicidade contra a *Artemia salina*, enquanto que o extrato de pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) foi considerado atóxico. O emprego deste bioensaio para avaliar a toxicidade de extratos vegetais foi simples, eficaz, rápido e de baixo custo, mostrando resultados relevantes, que podem servir como fonte para outros estudos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FACER – Faculdade de Ceres, pelo empréstimo do Laboratório de Química Multiuso II, e a professora Ariana Alves Rodrigues, por ceder o sal marinho e os cistos de *Artemia salina*.

ABSTRACT: One way to assess the toxicity of plant extracts is through bioassay with *Artemia salina*, because it is simple, fast and cheap. Given this, this study aimed to evaluate the toxicity of *Ocimum gratissimum*, *Foeniculum vulgare* and *Bauhinia forficata* at concentrations of 100 ppm, 500 ppm and 100 ppm. These species were collected in the cities of Ceres and Rialma in Goiás Soon after, the ethanol extracts were made, which were diluted in their respective concentrations. Soon after, one milliliter of extracts was added in each tube, each with ten larvae, the test was done in triplicate. After twenty-four hours were counted the number of dead larvae subsequently was made the calculation of LC50 using the program GraphPad 5.0. Of

the three extracts tested, the extracts of *Ocimum gratissimum* and *Foeniculum vulgare* showed mild toxicity against *Artemia salina*, while the extract of *Bauhinia forficata* was considered nontoxic. It is hoped that this study can serve as a source for further research.

KEYWORDS: Bioassay. Toxicity. *Artemia salina*.

REFERÊNCIAS DO ARTIGO

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, p.44, jul/dez. 2010.

BUSSMANN, R. W. et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. **Journal of ethnopharmacology**, [s.l.], v. 137, p. 121-140, 2011.

CARVALHO, L. S. **Alterações clínicas e histológicas decorrentes de neurointoxicação por plantas medicinais**. 2011. In: SEMINÁRIOS APLICADOS, Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2011.

COSTA, J. G. M. et al. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 710-714, jul/set. 2009.

MARTÍNEZ, M. M. et al. Actividad antibacteriana y citotoxicidad *in vivo* de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, [s.l.], v. 16, n. 4, p. 313-323, 2011.

MARTINS, R. T. et al. Receptores opioides até o contexto atual. **Revista Dor**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 75-9, jan/mar. 2012.

NGUTA, J. M. et al. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, [s.l.], v. 2, [s.n.] p. 458-78, 2011.

MEYER, N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v. 45, [s.n.], p.31, 1982.

RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 20, n. 6, p. 981-991, dez. 2010.

SANTOS, R. A. F.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Atividade citotóxica de extratos polares de seis espécies de Leguminosae. In: 34^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Florianópolis, 2011.

SINITOX, Casos, Óbitos e Letalidade de Intoxicação Humana por Agente e por Região. Brasil, 2009. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/media/b3.pdf>. Acesso em: 24 out. 2012.

TOKARNIA, C. H. Estudos complementares sobre a toxidez de *Lantana camara* (Verbenaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 19, n. 3/4, p. 128-132, jul/dez. 1999.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 519-528, fev. 2005.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, R. S. et al. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 4, n. 2, p. 146-161, mar/abr. 2012.

AMARAL, E. A.; SILVA, R. M. G. Avaliação da toxicidade aguda de angico (*Anadenanthera falcata*), pau-santo (*Kilmeyera coreacea*), aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e cipó-de-são-joão (*Pyrostegia venusta*), por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **Revista Eletrônica da Pesquisa**, Patos de Minas, jun. 2008.

AZEVEDO, C. F.; QUIRINO, Z. G. M.; BRUNO, R. L. A. Morfologia das plântulas de *Foeniculum vulgare* MILL. em desenvolvimento. **Caderno de Pesquisa série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 22, n. 1, p. 13-18, 2010.

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, p.44, jul/dez. 2010.

BUSSMANN, R. W. et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. **Journal of ethnopharmacology**, [s.l.], v. 137, p. 121-140, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução nº 48, de 16 de março de 2004**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 18 de março de 2004. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/rdc_48_16_03_04_registro_fitoterapicos%20.pdf>. Acesso em 12 set. 2012.

CARILHO, R. B. D. **Estudos de metabolismo, in vitro, de extractos aquosos de funcho, *Foeniculum vulgare*. Aplicações terapêuticas na Doença de Alzheimer**. 2009. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Médica) – Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Departamento de Química e Bioquímica, Lisboa, 2009.

CARVALHO, L. S. **Alterações clínicas e histológicas decorrentes de neurointoxicação por plantas medicinais**. 2011. In: SEMINÁRIOS APLICADOS, Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2011.

CASTRO, D. L. L. **Aspectos toxicológicos das plantas medicinais utilizadas no Brasil: um enfoque qualitativo no distrito federal**. 2010. Trabalho apresentado em cumprimento às exigências acadêmicas parciais do curso de pós-graduação Lato Sensu em Qualidade em Alimentos para a obtenção do grau de Especialista, Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília-DF: CET, 2006.

COSTA, J. G. M. et al. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 710-714, jul/set. 2009.

FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FRANCO, A. L. P. et al. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) Tronc. (alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (alfava-cravo) e *Curcuma longa* L. (açafrão). **Revista eletrônica de Farmácia**, [s.l.], v. 4, n. 2, p. 208-220, 2007.

LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACEDO, A. F.; OSHIWA, M.; GUARIDO, C.F. Ocorrência do uso de plantas medicinais por moradores de um bairro do município de Marília-SP. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [s.l.], v. 28, n.1, p.123-128, 2007.

MANOEL, D. D. et al. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e pata-devaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 63-70, jan/mar. 2009.

MAIWORM, A. I. **Efeitos de um extrato aquoso de *Lantana Camara* (Camabará de Espinho) na marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m e na morfologia de hemácias de ratos wistar**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

MARTINEZ, S. T.; ALMEIDA, M. R., PINTO, A .C.; Alucinógenos naturais: um vôo da Europa medieval ao Brasil. **Revista Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 9, p. 2501-2507, out. 2009.

MARTÍNEZ, M. M. et al. Actividad antibacteriana y citotoxicidad *in vivo* de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, [s.l.], v. 16, n. 4, p. 313-323, 2011.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 2000.

MARTINS, R. T. et al. Receptores opioides até o contexto atual. **Revista Dor**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 75-9, jan/mar. 2012.

MEYER, N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v. 45, [s.n.], p. 31, 1982.

NGUTA, J. M. et al. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, [s.l.], v. 2, [s.n.] p. 458-78, 2011.

NOVO, M. C. D'A. Drogas – fora da lei e dentro do usuário. **Vox Forensis**, Espírito Santo do Pinhal, v. 3, n. 1, fev/abr. 2010.

RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 20, n. 6, p. 981-991, dez. 2010.

SANTOS, R. A. F.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Atividade citotóxica de extratos polares de seis espécies de Leguminosae. In: 34^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Florianópolis, 2011.

SILVA, T. C; SOUZA, S. J. O; OLIVEIRA, J. R. Extração de eugenol a partir do cravo-da-índia e produção de sabonetes aromatizados. **Revista Crase.edu**, [s.l.], v. 01, n. 01, 2011.

SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A. ; DOURADO, P. S. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 18, n. 4, p. 618-626, out/dez. 2008.

SINITOX, Casos, Óbitos e Letalidade de Intoxicação Humana por Agente e por Região. Brasil, 2009. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/media/b3.pdf>. Acesso em: 24 out. 2012.

SIQUEIRA, J. M. et al. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *artemia salina* leach. **Química Nova**, [s.l.], v. 21, n. 5, p. 557-559, 1998.

SOARES, R. **Determinação dos enantiômeros da atropina em soluções oftálmicas empregando a cromatografia líquida de alta eficiência com fase**

estacionária quiral. 2007. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia, São Paulo, 2007.

TOKARNIA, C. H. Estudos complementares sobre a toxidez de *Lantana camara* (Verbenaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 19, n. 3/4, p. 128-132, jul/dez. 1999.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 519-528, fev. 2005.

World Health Organization – WHO (1978) - Basic document for the selection and characterization of medicinal plants (vegetable drugs).