



STELLATA EDITORA

Toxicidade de *Ginkgo biloba* L., sem aditivação e associado a excipientes artificiais, em tecido meristemático

Clarice Moura Guedes
Michele Vieira da Silva Lima
Maria Daniela Ribeiro Barbosa
Jessica Maria Monteiro Luz
Adriana Josefa da Rocha
Tamires de Sousa Silva
Ana Paula Soares e Silva
Ana Paula Peron

Toxicidade de *Ginkgo biloba* L.,
sem aditivação e associado
a excipientes artificiais,
em tecido meristemático

Clarice Moura Guedes

Michele Vieira da Silva Lima

Maria Daniela Ribeiro Barbosa

Jessica Maria Monteiro Luz

Adriana Josefa da Rocha

Tamires de Sousa Silva

Ana Paula Soares e Silva

Ana Paula Peron

© 2020 – Stellata

stellata.com.br

✉ publicacao@stellata.com.br

Editor Chefe e Organizador: Vinicius de Carvalho Paes

Editoração, Arte e Capa: Stellata Editora

Revisão: Respectivos autores dos artigos

Conselho Editorial

Prof. Dr. Pedro José Papandréa

Prof. Me. Alexandre Fonseca Torres

Prof. Me. Ernany Daniel de Carvalho Gonçalves

Prof. Me. João Paulo Chaves Barbosa

Prof. Me. Vinicius de Carvalho Paes

T755

Toxicidade de *Ginkgo biloba* L., sem aditivação e associado a excipientes artificiais, em tecido meristemático/ Clarice Moura Guedes... [et al.]. Itajubá, MG: Stellata Editora, 2020.

27p. : il.

Formato: PDF

Requisito de Sistema: Adobe Acrobat Reader

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-87105-01-7

1. *Ginkgo biloba*. 2. Citotoxicidade. 3. Genotoxicidade. I. Guedes, Clarice Moura. II. Lima, Michele Vieira da Silva. III. Barbosa, Maria Daniela Ribeiro. IV. Luz, Jessica Maria Monteiro. V. Rocha, Adriana Josefa da. VI. Silva, Tamires de Sousa. VII. Silva, Ana Paula Soares e. VIII. Peron, Ana Paula.

CDD: 570

Os **conteúdos** dos artigos científicos incluídos nesta publicação são de **responsabilidade** exclusiva dos seus respectivos **autores**.

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	5
INTRODUÇÃO	6
REFERENCIAL TEÓRICO	8
MATERIAL E MÉTODOS	13
Obtenção do <i>Ginkgo biloba</i> L. nas formas de chá e industrializado	13
Determinação das concentrações de <i>Ginkgo biloba</i> para análise da toxicidade em nível celular	13
Testes de citotoxicidade em células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i>	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21
SOBRE OS AUTORES	27

As plantas medicinais são um importante recurso terapêutico para a medicina popular, bem como, para a indústria farmacêutica. Dentre estes organismos, as folhas de *Ginkgo biloba* L., amplamente comercializadas e consumidas como chá e na forma industrializada, são muito utilizadas no tratamento e prevenção de distúrbios cognitivos, cardiopulmonares e labirintopatias. Por sua ampla utilização, torna-se relevante avaliar a toxicidade em nível celular deste recurso farmacêutico, com ênfase a forma industrializada, uma vez que, os aditivos excipientes associados a produtos naturais, em geral, durante a industrialização, são escassamente estudados quanto aos seus potenciais tóxicos. Dessa forma, avaliou-se, por meio das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, nos tempos de análise 24 e 48 horas, a citotoxicidade e genotoxicidade do chá de folhas de ginkgo – nas concentrações 2,1; 4,2 e 8,4 g/L, assim como de folhas aditivadas na forma de comprimidos, provenientes de dois laboratórios farmacêuticos – nas concentrações 2,0; 4,0 e 8,0 g/L. Verificou-se que o chá nas concentrações avaliadas, nos dois tempos de exposição considerados, não ocasionaram inibição da divisão celular e nem alterações celulares aos meristemas de raízes. Diferentemente, para os ginkgo industrializados todas as concentrações causaram efeito antiproliferativo significativo aos tecidos avaliados logo no menor tempo de análise considerado. Não foram evidenciadas alterações celulares em número significativo nos tecidos expostos as concentrações de ginkgo avaliadas. Com base nesses resultados, observa-se que os *G. biloba* industrializados foram significativamente tóxicos as células de *A. cepa*. Estes resultados, apesar de preliminares, são importantes, uma vez que, não existem, até o momento, estudos de toxicidade em nível celular do ginkgo como produto farmacêutico.

Palavras-chave: Planta medicinal, *Ginkgo biloba* L., Excipientes, Citotoxicidade,

Medicinal plants are an important therapeutic resource for folk medicine as well as for the pharmaceutical industry. Among these organisms, *Ginkgo biloba* L. leaves, widely marketed and consumed as tea and in the industrialized form, are widely used in the treatment and prevention of cognitive, cardiopulmonary and labyrinth disorders. Because of its wide use, it is relevant to evaluate the cellular toxicity of this pharmaceutical resource, with emphasis on the industrialized form, since the excipients additives associated with natural products, in general, during industrialization, are scarcely studied as to their Toxic potential. In this way, the cytotoxicity and genotoxicity of the ginkgo leaf tea - at concentrations of 2.1, - were evaluated by the meristematic cells of *Allium cepa* roots at the 24 and 48 hour analysis times; 4.2 and 8.4 g / L, as well as sheets added in the form of tablets, from two pharmaceutical laboratories - at concentrations 2.0; 4.0 and 8.0 g / L. It was found that tea at the concentrations evaluated at the two exposure times considered did not cause inhibition of cell division and no cellular alterations to root meristems. In contrast, for industrialized ginkgo, all concentrations caused a significant antiproliferative effect on the tissues evaluated in the shortest analysis time. No significant cellular changes were observed in tissues exposed to ginkgo concentrations evaluated. Based on these results, it is observed that industrialized *G. biloba* were significantly toxic to *A. cepa* cells. These results, although preliminary, are important, since, at present, there are no toxicity studies at the cellular level Of ginkgo as a pharmaceutical.

Keywords: Medicinal plant, *Ginkgo biloba* L., Excipients, Cytotoxicity, Genotoxicity.

É de longa data que as folhas de *Ginkgo biloba* L. (Família Ginkgoaceae), espécie nativa de países orientais, como China e Japão, são utilizadas em todo o mundo, na forma de chá e em formulações industrializadas, para o tratamento e prevenção de disfunções cardiopulmonares, labirintopatias e patologias desencadeadas pelo envelhecimento. Esta planta, popularmente denominada de ginkgo ou noqueira-do-japão, possui altas concentrações de flavonóides e lactonas terpênicas em suas folhas, e configura-se entre os fitoterápicos mais consumidos no Brasil (SILVA, 2013; DAMASCENO, 2013, POLANSKI et al., 2016).

Formulações de uso interno, como as do extrato seco de folhas de ginkgo comercializadas em comprimidos, durante a industrialização, são aditivadas por compostos químicos excipientes de ações corante, aromatizante, edulcorante, conservante e estabilizante, que são ingredientes inativos destituídos de propriedades terapêuticas e adicionados intencionalmente, a fim de tornar medicamentos palatáveis e protegidos da ação de microrganismos (VASCONCELOS et al., 2012). Estes ingredientes, por muitas décadas foram considerados inócuos ao ser humano por comporem formulações medicamentosas em baixas concentrações. Porém, pesquisas, como a de Vasconcelos et al. (2012) e Anastácio et al. (2015), mostraram que tais substâncias têm potencial em promover reações adversas ao organismo. Ademais, o Ministério da Saúde (MS) declara que em razão da escassez de estudos toxicológicos, até o momento, os compostos excipientes suscitam muitas dúvidas quanto aos seus potenciais efeitos tóxicos em nível celular (BRASIL, 2007, SALES et al., 2017). Este órgão regulamentador ainda destaca a relevância e premência na realização de pesquisas, que por meio de bioensaios adequados, avaliem os efeitos citotóxicos e genotóxicos de produtos aditivados por tais ingredientes.

Os sistemas testes vegetais são considerados bastantes sensíveis para o monitoramento dos efeitos citotóxicos de compostos químicos (CAMPOS-VENTURA; MARIN-MORALES, 2016), e a *Allium cepa* L. (cebola), por meio da região meristemática de suas raízes, é tida no meio científico como um eficiente organismo teste para a avaliação de toxicidade aguda em nível celular, bem como da ação de substâncias de interesse frente a diferentes exposições das raízes a droga sabidamente indutora de danos nesse bioensaio (NEVES et al., 2014; BIANCHI et al., 2015). Este organismo de prova possui excelentes propriedades cinéticas de proliferação, cromossomos grandes e em número reduzido ($2n=16$) o que facilita a detecção de aberrações celulares e de fuso mitótico (LACERDA et al., 2014; TABREZ et al., 2011). Também permite a verificação de alterações no índice de divisão celular ou mitótico quando exposto a compostos químicos com potencial ação citotóxica (GOMES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013).

Portanto, como base no que foi abordado, objetivou-se na presente pesquisa avaliar em nível celular, por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, a citotoxicidade e

genotoxicidade do medicamento fitoterápico *G. biloba*, na forma de comprimidos, procedentes de dois laboratórios farmacêuticos de renome no mercado de medicamentos, assim como a avaliação do chá do ginkgo na sua forma *in natura*, por meio das folhas secas, obtido em ervaário reconhecido pelo MS.

Desde o início da história da humanidade o uso de espécies vegetais para fins medicinais era utilizado no tratamento e cura de várias patologias e passou a ser uma prática empregada por grande parte da população mundial como alternativa nas medicinas tradicionais (ROSSATO et al., 2012; OLIVEIRA & LEHN, 2015), estas plantas assim como suas formulações de preparados caseiros podem ser encontradas em mercados e feiras livres (LIMA, 2016). Entretanto as informações sobre os efeitos nocivos, as ações tóxicas e o consumo concomitante (automedicação) dessas plantas na maioria das vezes sem prescrição médica, demonstram um fator preocupante a saúde pública (BEZERRA et al., 2012)

A maioria das plantas usadas com esse fim apresenta em sua composição flavonóides, alcaloides, terpenos, taninos e esteróis, dentre outras substâncias químicas, que podem ser potencialmente tóxicas (MALAQUIAS et al., 2014). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 11% das drogas essenciais dos medicamentos são originados das plantas, uma boa parte destas são arranjos de precursores naturais e apresentam metabólitos secundários que agem de forma direta e indireta no organismo do indivíduo, podendo dificultar ou intensificar importantes alvos moleculares e celulares (BRASIL, 2016).

Segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) o uso das plantas pra fins terapêuticos é regulamentado nacionalmente pela Ministério da Saúde (MS), (ANVISA) (BRASIL, 2010). Com a evolução, estas passaram a ser algo bastante explorado no país, no entanto muitas vezes por falta de conhecimento das diferentes interações entre as mesmas, o medicamento não apresenta informações essenciais que garantem a segurança de tais compostos (BRASIL, 2010; ALMEIDA & SCHEFFER, 2012).

No decorrer dos tempos pesquisas científicas e tecnológicas foram sendo realizadas em relação às plantas medicinais utilizadas na sua forma bruta ou através de extrato. Com isso, estas passaram a ser objeto de estudo biológico, químico contribuindo para a ampliação de uma terapêutica moderna (PEREIRA, 2013).

As plantas utilizadas na forma *in natura* se dão por meio de preparações caseiras que não apresentam nenhum tipo de reação adversa, pois não são exibidas técnicas de manipulação nem administração de outras substâncias, o consumo destas se dá através de chás, xaropes, garrafadas, banhos. A outra maneira de utilização das plantas por meio extrato dá-se o nome de medicamentos fitoterápicos, que são obtidos dos princípios ativos da droga vegetal e se apresentam no mercado na forma de comprimidos ou cápsulas que podem ser manipulados ou industrializados (PEREIRA, 2013).

Segundo Ibiapina (2014) a terapêutica (fitoterapia) passou a tornar algo muito eficaz nos programas de saúde primária, devido os medicamentos obtidos de plantas medicinais

apresentarem baixo custo e serem menos nocivos a saúde. De acordo com Pereira (2013) os medicamentos naturais diferem de acordo com processo tecnológico empregado na sua preparação, podem ser medicamentos fitoterápicos que são aqueles que não apresentam substâncias isoladas, ou contendo fitofármacos que são substâncias isoladas que exibem atividade farmacológica e que interagem com o vegetal na preparação do medicamento. Entretanto os medicamentos naturais são constituídos de vários compostos químicos a base de excipientes, que tem por finalidades prevenir as alterações, retificar e/ou melhorar as características organolépticas, biofarmacotécnicas e tecnológicas do medicamento, além de garantir a permanência e a eficácia do produto por determinado tempo (BALBANI, 2006).

Os excipientes ou aditivos são definidos como sendo substâncias inativas que não apresentavam ação farmacológica ou toxicológica e portanto não são visto como causador de reações adversas ao ser humano, estes, porém são utilizados em concentrações muito baixas que não demonstram tais efeitos com o seu uso (BALBANI, 2006). No entanto são os principais responsáveis pelos efeitos que podem afetar o perfil de segurança dos medicamentos, que mesmo sendo de origem natural não estão isentos de causar algum tipo de reação (BRASIL, 2010 a; ARAUJO & BORIN, 2012; SENA et al., 2014). Devido o uso indiscriminado e na maioria das vezes a automedicação desses produtos, ou até mesmo o uso da própria planta de maneira incorreta, os profissionais em saúde encontram sérias dificuldades em obter informações de qualidade destes, assim como também boa precisão de resultados de determinada doença (ALEXANDRE, 2005; DAMASCENO, 2013).

Todavia, segundo dados da OMS mostra que cerca de 25% dos remédios prescritos pelos médicos tem indícios vegetal e que uma boa parte deste fármacos são considerados básicos e essenciais no tratamento ou cura de várias enfermidades (DAMASCENO, 2013). O medicamento extraído da planta *Ginkgo biloba* é um dos mais vendidos e consumidos no mundo (OSHIO, 2014), esta planta é popularmente conhecida como ginkgo e noqueira- do- japão (DAMASCENO, 2013), sendo uma espécie nativa da Ásia e considerada um “fóssil vivo” devido ser o mais antigo vegetal encontrado na Terra tanto na China como na Ásia a cerca de 200 milhões de anos, esta denominação é devido ser um fóssil similar aos encontrados no período do Jurássico; a mesma pertence à família Ginkgoaceae e é a única representante do filo Ginkgophyta, que se enquadra ao grupo das gimnospermas (BANOV et al., 2006; LEITE, 2010; PEREIRA, 2013; SANTOS, 2015).

O termo ginkgo vem da palavra sankyo, que na literatura chinesa tem significado de “*damasco de campo*”, já o termo “biloba” é devido o formato das suas folhas apresentar-se na forma bilobuladas (SILVA, 2013); suas cores variam desde acinzentada, verdes- amarelada e amarelo-dourada e chegam a medir cerca de até 7 cm de comprimento e 10 cm de largura, suas margens podem ser inteiras (folhas mais jovens) ou lobadas (folhas mais antigas) (SANTOS, 2015).

A noqueira- do- japão pode ser encontrada em feiras livres ou drogarias, tanto na forma natural

através das folhas secas como na forma industrializada por meio de comprimidos ou cápsulas preparados do extrato da folha, mais precisamente denominado EGb 761 (SILVA, 2013). O EGb 761 dispõe de propriedades biológicas ou fisiológicas a qual contém mais substâncias ativas e constituintes químicos, tais como flavonóides, biflavonóides, terpenóides lactônicos, dipertenos, bilobalídeos entre outras (BANOV, et al. 2006; LEITE, 2010).

Os medicamentos naturais obtidos através do EGb 761 devem apresentar no seu conteúdo cerca de 22-27% de ginkgoflavonóides e 5-7% de terpelactonas; entretanto os ginkgolídeos A, B, C e J bilobalídeos só devem aparecer em tais medicamentos em uma concentração que não ultrapasse 5 ppm (partes por milhão), pois estes compostos apresentam um alto teor de toxicidade (BANOV, et al. 2006; LEITE, 2010).

Os ginkgolídeos, mas especificamente o ginkgolídeos B age inibindo a ativação plaquetária o que resulta na vasodilatação endotelial; já os flavonoides liberaram e recapturam a serotonina (neurotransmissor), age impedindo os radicais livres e a formação do óxido nítrico, dentre mais funções. Os efeitos causados pelos medicamentos à base de ginkgo estão relacionados a tais compostos que podem atuar individualmente ou em conjunto (SILVA, 2013).

Além das substâncias biológicas e fisiológicas do ginkgo, no seu processo de industrialização, assim como nos diferentes fármacos, são adicionados compostos químicos denominadas excipientes que são inativos de poder terapêutico e que garantem ao produto o efeito esperado e características farmacológicas significativas (BALBANI, 2006). De acordo com Araujo, Borin (2012) os excipientes em geral são compostos heterogêneos, dos quais agem separadamente como moléculas simples ou em conjunto de misturas de complexos naturais, sintéticos e semissintéticos, que na sua maioria apresentam certa probabilidade de ocasionar efeitos adversos as suas propriedades (ARAUJO & BORIN, 2012).

Segundo Ramos, Morais (2013); Balbani (2006) os aditivos excipientes de uso interno mais utilizado na fabricação de produtos farmacêuticos naturais são os conservantes, edulcorantes, corantes, antioxidantes, aromatizantes, entre outros que tornam os medicamentos mais resistentes à presença de microrganismos, promovem uma maior durabilidade, favorecem a adesão ao tratamento de enfermidades, além de tornar tais compostos palatáveis.

Os conservantes são compostos químicos que são adicionados aos medicamentos durante a sua fabricação com o objetivo de impedir o crescimento de microrganismos, evitando assim a sua deterioração provocada por fungos (fungistática) e bactérias (bacteriostática), estes são selecionados para o uso por meio de caráter eliminatório de acordo com o regulamento de uso de substâncias conservantes permitidas (HAYWOOD E GLASS, 2011). Neste grupo destaca-se os parabenos (metilparabeno e propilparabeno) que são os mais utilizados na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (BALBANI, 2006), são incolores, inodoros, hidrossolúveis e têm amplo espectro de ação, usados geralmente em concentrações de 1% que não ultrapassem composição do medicamento (ARAUJO & BORIN, 2012).

Outra substância usada na produção de alimentos, bebidas e formulações farmacêuticas são os edulcorantes ou adoçantes, estas proporcionam um sabor doce ao produto. Na indústria farmacêutica os edulcorantes são empregados em medicamentos líquidos e mastigáveis devido apresentarem sabor normalmente desagradável, os principais adoçantes utilizados com esse fim são a sacarose e os seus substitutos artificiais, tais como sorbitol, sacarina, ciclamato, aspartame e lactose (GONÇALVES, 2016). A sacarose além de conservante é antioxidante que melhora a viscosidade dos medicamentos líquidos, no entanto este composto apresenta algumas desvantagens como a cristalização durante a estocagem do medicamento e não podem ser usados por pessoas com intolerância à lactose, devido o sabor adocicado.

Na indústria farmacêutica a coloração é um dos atributos essenciais de consonância com o princípio ativo do medicamento, estes têm por função melhorar o aspeto visual dos medicamentos. Os corantes podem ser classificados como orgânicos sintéticos obtidos por síntese orgânica, podendo citar os corantes azo - amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo, eritrosina, indigocarmim, dentre outros; orgânicos naturais que são derivados de animais ou plantas, tal como o corante vermelho carmim; e inorgânicos obtidos através de substâncias minerais (BALBANI, 2006; GONÇALVES, 2016).

O corante mais encontrado em medicamentos, cosméticos e alimentos, é o amarelo tartrazina que possui estrutura química similar à dos benzoatos, salicilatos e indometacina, além do mais, este corante pode desencadear hipercinesia em pacientes hiperativos e eosinofilia, o que é visto como desvantagem (BALBANI, 2006).

Os antioxidantes como excipientes farmacêuticos são usados na proteção da formulação de qualquer processo oxidativo, sua principal função é impedir ou retardar processos oxidativos do fármaco, no entanto alteram a função dos demais excipientes presentes na formulação (GONÇALVES, 2016). Segundo Araujo, Borin (2012) os antioxidantes mais usados frequentemente na indústria farmacêutica e de alimentos são os sulfitos (sulfito de sódio, metabissulfito de potássio, metabissulfito de sódio, bissulfito de potássio e bissulfito de sódio, o BHA e o BHT), estes são os principais responsáveis por inúmeras reações adversas ligadas a medicamentos.

Quanto aos aromatizantes, tais são substância que apresentam propriedades odoríferas que são capazes de verificar ou intensificar o aroma e/ou sabor dos alimentos (SALES et al., 2017). Estes podem ser naturais ou artificiais, os naturais são extraídos de plantas (óleos essenciais) e sabores naturais de frutas, já os artificiais são aqueles que apresentam álcoois aromáticos, aldeídos, bálsamos, fenóis, terpenos, etc. Estes compostos raramente provocam reações, pois são empregados em concentrações mínimas nos medicamentos (BALBANI, 2006).

Em vista das diferentes funções dos excipientes nos medicamentos, Gonçalves (2016) mostra que as seguranças destes estão relacionadas com as interações físicas e químicas e com a toxicidade dos mesmos, pois mesmo em concentrações baixas eles apresentam a capacidade de

iniciar, propagar ou participar das interações físicas ou reações químicas da fórmula farmacêutica, o que pode desestabilizar ou degradar a forma do fármaco.

Para avaliação da toxicidade, genotoxicidade de determinados produtos, devem ser realizados testes antes que estes sejam introduzidos no mercado. Os bioensaios com plantas são testes indicados pra tal finalidade; o sistema teste *Allium cepa* (cebola comum) é utilizado como bioindicador neste âmbito devido às características de intensa proliferação celular, à região meristemática de suas raízes apresentarem um rápido crescimento e proliferação celular, além de um grande número de cromossomos reduzido ($2n= 16$) o que permite a observação de alterações cromossômicas diante da exposição dessas raízes a determinado produtos com concentrações pré- estabelecidas, além disso, este é um teste facilmente manipulado e apresenta vantagens em relação a outros testes de curto prazo (BAGATINI et al., 2007; LEME & MARIN-MORALES, 2009; LACERDA, 2014; FIGUEREDO, 2014).

O sistema teste *A. cepa* é amplamente utilizado na detecção dos efeitos citotóxicos presentes em plantas medicinais e seu derivados, as alterações cromossômicas observáveis nas plantas por meio deste teste muitas vezes está relacionado à presença de agentes mutagênicos na sua composição ou ao próprio metabolismo da planta. (BAGATINI et al., 2007). Anicia e Romão (2016) em seus estudos de avaliação citotóxica e mutagênica da espécie *Uncaria tomentosa* retrata que o sistema teste *A. cepa* é bem aceito para estudo de efeitos citotóxicos de plantas medicinais, uma vez que as raízes meristemáticas ficam em contato com a substância testada, permitindo assim análises de divisão celular e de índice mitótico em várias concentrações.

Diante do exposto sobre os riscos toxicológicos do EGb 761, ressalta-se a importância de avaliar por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* medicamentos fitoterápicos industrializados de *Ginkgo biloba* de dois laboratórios diferentes em concentrações pré- estabelecidas de g/L, além da forma *in natura* através das folhas secas de ginkgo em concentrações do chá em g/L. Os fármacos assim como o ginkgo *in natura* foram escolhidos para teste devido serem atualmente muito vendáveis em farmácias, herbanários e feiras livres, muitas das vezes sem prescrição médica, o que chamamos de automedicação, e por serem quase inexistentes na literatura científica trabalhos de avaliação toxicológica e genotóxica de tais produtos.

Obtenção do *Ginkgo biloba* L. nas formas de chá e industrializado

As folhas secas do *Ginkgo biloba*, sem aditivação de excipientes artificiais, foram adquiridas em ervanário, localizado na cidade de Teresina, Piauí, Brasil, especializado na comercialização de produtos naturais. Na forma industrializada, o extrato das folhas de ginkgo comercializado na forma de comprimidos, foi adquirido em uma farmácia do município de Picos, Piauí, Brasil, representante de uma rede nacional de drogarias. Os produtos industrializados, oriundos de dois laboratórios farmacêuticos (LF), foram discriminados na presente pesquisa pelas letras A e B.

Determinação das concentrações de *Ginkgo biloba* para análise da toxicidade em nível celular

Para determinação das concentrações de ginkgo a serem analisadas quanto à toxicidade, utilizou-se como parâmetro de definição a forma de preparo e ingestão indicada nos rótulos de cada produto, sem aditivação e industrializado. Para o preparo do chá, sugeria-se misturar 4,2 gramas de folhas secas e moídas (Figura 1) a um litro de água fervente. Assim, definiu-se três concentrações do chá para análise, que foram 2,1; 4,2 e 8,4 g/L. Em relação ao ginkgo industrializado referente aos laboratórios A e B, indicava-se ingerir um comprimido da planta por dia. Assim, macerou-se um comprimido e o produto foi misturado a 1 litro de água, estabelecendo-se a concentração de 4,0 g/L. A partir desta recomendação estabeleceu duas outras concentrações, 2,0 e 8,0 g/L. Todas as concentrações avaliadas forma preparadas em água destilada.



Figura 1– Folhas de *Ginkgo biloba* L. desidratadas, sem aditivação.

Fonte: Autoria própria (2017)



Figura 2 – Medicamento industrializado à base de folha de ginkgo.

Fonte: A autoria própria (2017)

Testes de citotoxicidade em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*

Para a realização das análises de toxicidade, inicialmente bulbos de cebolas foram colocados em frascos aerados com água destilada à temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento (Figura 3). Para análise de cada amostra (concentração ou tratamento) de ginkgo estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas amostras de ginkgo algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram expostas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.



Figura 3 – Bulbos de *Allium cepa* colocados em copos aerados com água destilada para obtenção de raízes com cerca de 2,0 cm.

Fonte: A autoria própria (2017)

Após 24 horas foram retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas a seus respectivos tratamentos onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição 48 horas. Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os tempos de exposição 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de avaliar a ação dos ginkgo em mais de um ciclo celular. A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em cada coleta, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

As lâminas em média 03 por bulbo foram feitas seguindo o protocolo proposto Guerra e Sousa (2002) e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 400x. Para cada bulbo de cebola analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle, tempo de exposição 24 horas e tempo de exposição 48 horas de cada grupo de tratamento em análise. Assim, para cada concentração de ginkgo analisou um total de 15.000 células. Foram observadas células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. A partir desta análise determinou-se o índice mitótico (IM) por meio da seguinte equação (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100. O valor do IM foi parâmetro para a determinação do potencial citotóxico de *G. biloba* nas formas analisadas.

Ainda avaliou-se a genotoxicidade da planta por meio da frequência de alterações celulares ou aberrações de fuso mitótico, como Metáfases C, Anáfase multipolares, Pontes anáfasicas e telofásicas, Amplificações gênicas, Células com aderências, Brotos nucleares e Micronúcleos. Para a análise estatística da citotoxicidade e genotoxicidade das amostras utilizou-se o teste do Qui-quadrado (χ^2), com nível de probabilidade <0.05 .

Conforme descrito na Figura 4, os meristemas de raízes expostos as três concentrações do chá de *G. biloba*, nos tempos de exposição 24 e 48 horas, quando comparados a divisão celular observada para seus respectivos controles, não tiveram seus índices mitóticos alterados. Também não houve diferença estatisticamente significativa entre os índices mitóticos obtidos para os dois tempos de exposição de cada concentração avaliada do chá. Desse modo, pode-se sugerir que os chás de ginkgo aqui avaliados não causaram citotoxicidade as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Também não se verificou alterações celulares nos tecidos vegetais expostos a tais concentrações.

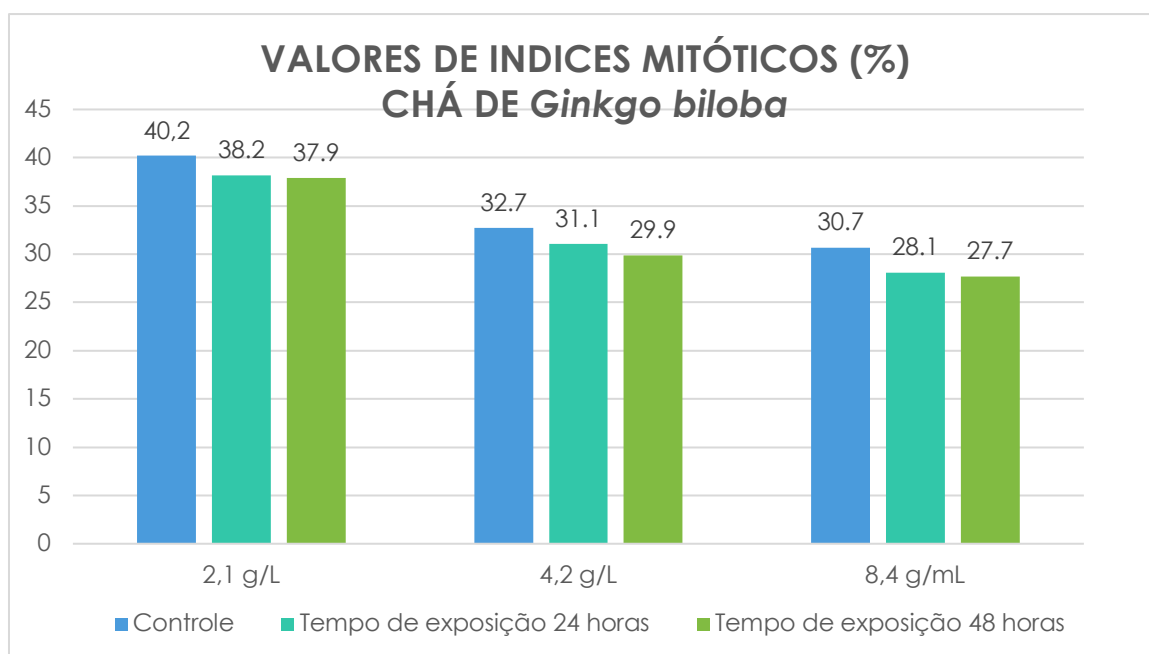


Figura 4 – Valores de índices mitóticos em porcentagem obtidos, por meio de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, para o chá de *Ginkgo biloba* nas concentrações 2,1; 4,2 e 8,4 g/L.

Porém, as três concentrações de ginkgo referente aos LF A e B (Figuras 5 e 6), nos dois tempos de análises considerados, reduziram expressivamente a divisão celular do tecido meristemático quando confrontado aos índices mitóticos obtidos para os seus respectivos controles. Assim, verifica-se diferença de ação do ginkgo *in natura* frente as suas formas industrializadas quanto a toxicidade causada, visto que, os acréscimos de excipientes foram citotóxicos aos meristemas avaliados logo nas menores concentrações e no menor tempo de análise estabelecido.

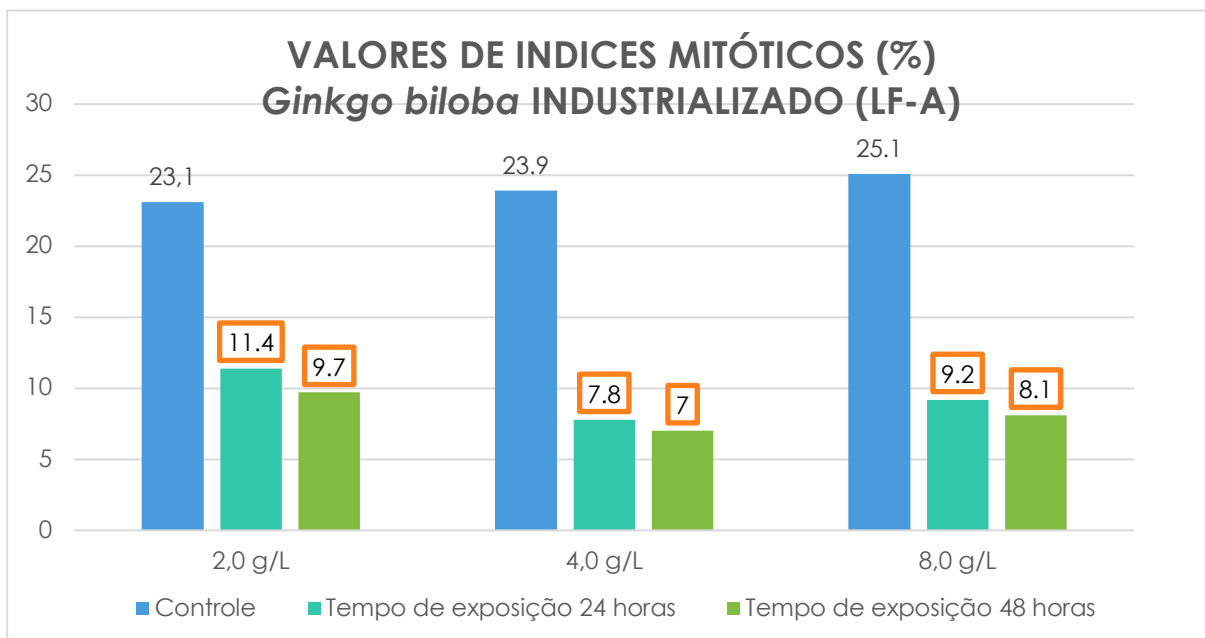


Figura 5 – Valores de índices mitóticos (IM) em porcentagem obtidos, por meio de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, para o *Ginkgo biloba* industrializado, referente ao laboratório farmacêutico A (LF-A), nas concentrações 2,0; 4,0 e 8,0 g/L. Os valores de IM contornados diferiram estatisticamente dos seus respectivos controles.

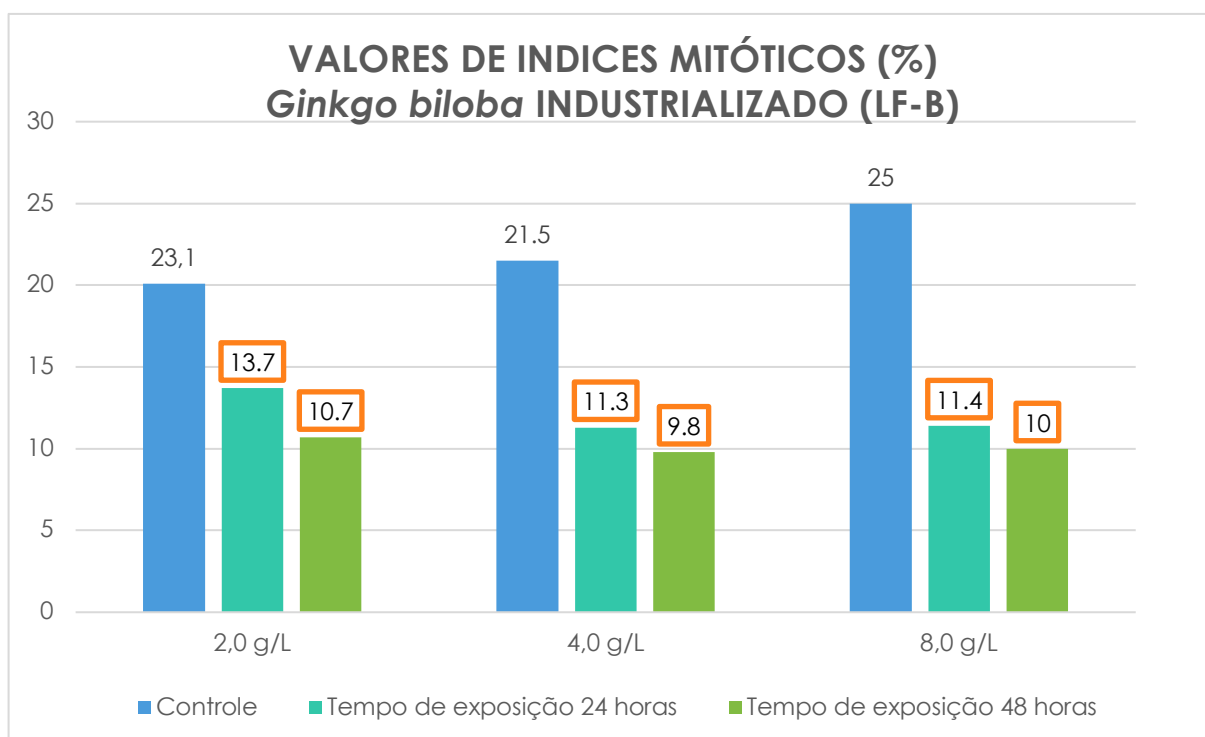


Figura 6 – Valores de índices mitóticos em porcentagem obtidos, por meio de células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, para o *Ginkgo biloba* industrializado, referente ao laboratório farmacêutico B (LF-B), nas concentrações 2,0; 4,0 e 8,0 g/L. Os valores de IM contornados diferiram estatisticamente dos seus respectivos controles.

De acordo com Caritá & Marin-Morales (2008), alterações expressivas são desencadeadas quando há efeito antiproliferativo acentuado em tecidos de intensa proliferação com

desempenho metabólico normal - tais como os meristemáticas de raízes utilizados no presente estudo - expostos a compostos químicos com potencial em causar instabilidade genética, comprometendo significativamente o crescimento e o funcionamento dos órgãos nos quais estão agindo. Ainda, Gomes et al. (2013); Sales et al. (2016); Moura et al. (2016) e Carvalho et al. (2016) declaram que a inibição da proliferação celular desencadeada por compostos citotóxicos, em tecidos de intensa proliferação celular e de funcionamento normal e/ou sem alterações celular – podendo-se citar mais uma vez os meristemas de raízes utilizados como bioensaios na presente pesquisa - é prejudicial ao organismo por inibir ou limitar a reposição de células, alterar a produção de proteínas e, conseqüentemente, resultar no mal funcionamento do órgão ou tecido onde está localizada.

Não foram observadas alterações celulares em número significativo nas células meristemáticas expostas as concentrações dos medicamentos oriundos de LF A e B. Porém, Sales et al. (2016) sugerem que a inibição da divisão em tecidos normais ocorrem pela ação de agentes que afetam a integridade do fuso nuclear durante a mitose promovendo significativo desarranjo cromossômico. Ao considerar que o princípio do ciclo celular é a formação de células idênticas, a produção de células com alteração na estrutura e/ou no número cromossômico tornam o funcionamento celular inviável e tendem a ser eliminadas de tecidos com desempenho normal. Tal condição pode ser sugerida para explicar o resultado de efeito antiproliferativo frente a frequência não significativa de alterações celulares observada no presente estudo.

Segundo o MS (2007), dentre os excipientes amplamente utilizados em medicamento em geral, estão o álcool benzóico, diluente responsável por manter a uniformidade e facilitar a incorporação e dispersão de aromas concentrados nos fármacos. Demir *et al.*, (2010) verificaram que este álcool em altas concentrações promoveu danos significativos ao fuso mitótico, e, conseqüentemente, a divisão celular de sangue periférico humano. Outro diluente comumente utilizado na indústria farmacêutica é o diacetil (2,3-butadiona). Whittaker *et al.* (2008) citam que este composto em ensaio de mutação gênica em linfoma de ratos, causou danos significativos ao loci do cromossomo 11 destas células, causando perda de expressão dos genes para enzima timidina-quinase nesses animais. Ainda, More *et al.*, (2012) verificaram que o diluente diacetil teve o potencial de substituir bases de timina por guaninas em regiões de eucromatina e de ocasionar o rompimento de pontes de hidrogênio e de dissulfeto em estrutura terciária de enzimas envolvidas no processo de divisão celular.

Entre os conservantes presentes em medicamentos estão o benzoato de potássio, benzoato de sódio e nitrato de potásio (Brasil, 1999), compostos que, segundo Mpountoukas *et al.*, (2010) e Zequin *et al.*, (2011), foram clastogênicos, mutagênicos e citotóxicos as células normais de sangue periférico humano. Também estão presentes o ácido bórico, ácido cítrico, citrato de potássio e citrato de sódio (Brasil, 1999) que, de acordo Tükoğlu (2007), acarretaram redução significativa ao índice de divisão celular das células de meristemas de raízes de *A. cepa*,

mostrando-se citotóxicos a este sistema teste.

Para os corantes, os únicos autorizados para uso em produtos farmacêuticos em geral são o Amarelo Crepúsculo, a Tartrazina e Vermelho 40, aditivos azoicos por conterem o grupamento azo, um derivado nitroso com a propriedade de produzir amina aromática e ácido sulfanílico, bem como, o Ponceau 4R, Eritrosina e o Azul brilhante (Colorcon, 2010). Estes seis corantes demonstraram potencial em alterar o *turner-over* das células durante a intérfase, inibindo expressivamente a divisão celular, e no processo de hiperplasia regenerativa, o que contribuiu de forma significativa para o desenvolvimento de cânceres no trato digestório de roedores (Sardi et al., 2010).

Os três corantes azoicos também demonstraram significativo efeito citotóxico e genotóxico as células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, uma vez que, causaram inibição da divisão celular e induziram alterações celulares as células deste sistema teste (Pan et al., 2011; Gomes et al., 2013). Ainda, Morrison et al. (2011) constataram que a Tartrazina, o Ponceau 4R e a Eritrosina tiveram potencial de promover alterações na divisão celular em células da tireóide de roedores, em função de liberar uma grande quantidade de iodo no organismo destes animais. Sasaki et al. (2002) verificaram que o corante eritrosina, em doses baixas e em tratamento agudo, foi altamente tóxico as células do estômago, cólon e bexiga de ratos Wistar.

Quanto aos edulcorantes permitidos como excipientes encontra-se o aspartame, o ciclamato de sódio, o acesulfame de potássio e a sacarina sódica (Balbiani et al., 2006; Vasconcelos et al., 2012; Colorcon, 2010). Van Eyk et al. (2015), verificaram, por meio das linhagens celulares Caco-2 (células de colón), HT-29 (células de cólon) e HEK-293 (células de rim), que estes edulcorantes foram citotóxicos e genotóxicos as células estudadas. Corroborando aos resultados destes pesquisadores, Sasaki et al. (2002), através do teste do cometa, observaram que o sacarina sódica e o ciclamato de sódio foram genotóxicos e mutagênicos as células de cólon de roedores, reduzindo significativamente a divisão celular do tecido analisado.

Assim, os resultados de toxicidade em nível celular observados excipientes utilizados em medicamentos em geral obtidos pelo autores citados corroboram ao resultados de citotoxicidade observado no presente estudo.

Os dados obtidos no presente estudo por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* mostraram que os *G. biloba* industrializados avaliados tiveram significativo potencial em ocasionar toxicidade as células meristemáticas de raízes de *A. cepa* em todas as concentrações avaliadas, inclusive àquelas indicadas para uso pelos laboratórios farmacêuticos.

Tais resultados sinalizam a necessidade de se avaliar os produtos farmacêuticos de ginkgo em sistemas testes animais, a partir de tratamentos com maiores tempos de exposição, para verificação e aprofundamento dos resultados aqui obtidos.

É importante ressaltar que os resultados obtidos aqui de instabilidade genética causada pela ação dos ginkgo industrializados são de grande relevância uma vez que não existem, até a presente data, estudos de toxicidade publicados envolvendo tais produtos farmacêuticos.

- ALEXANDRE, R. F; GARCIA, F. N. & SIMÕES, C. M. O. Fitoterapia Baseada em Evidências. Parte 1. Medicamentos Fitoterápicos Elaborados com Ginkgo, Hipérico, Kava e Valeriana. *Rev. acta farmacéutica bonaerense*, Santa Catarina, vol. 24, n. 2, p. 300-309, dez. 2005.
- ARAUJO A. C. F. & BORIN M. F. Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos. *Rev. Brasília Med*, Brasília, v. 49, n. 4, p. 267-278, dez. 2012.
- ANCIA, J. P; ROMÃO, N. F. Análise da atividade citotóxica e mutagênica do extrato aquoso das partes aéreas de *Uncaria tomentosa* em teste de *Allium cepa*. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*. Paraná/RO, v. 3, n. 2, jan., 2016.
- ALMEIDA, B., SCHEFFER, T. P. Estudo sobre a utilização de recursos vegetais com potencial terapêutico. *Rev. Saúde Públ. Santa Cat.*, Florianópolis, v. 5, n. 1, p. 50-71. jan./abr. 2012.
- ANASTÁCIO, L. B.; OLIVEIRA, D. A., DELMASCHIO, C. R., ANTUNES, L. M. G., CHEQUER, F. M. D. Corantes Alimentícios Amaranço, Eritrosina B e Tartrazina, e seus possíveis Efeitos Maléficos à Saúde Humana. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences – JAPHAC*, v.2, n. 3, p. 16-30, dez. 2015.
- BALBANI, A. P. S; STELZER, L. B. & MONTOVANI, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. *RevBrasOtorrinolaringol*, São Paulo, vol. 72, n. 3, p. 400-406, jun.2006.
- BANOV, D. et al. Caracterização do Extrato Seco de *Ginkgo biloba* L. em Formulações de Uso Tópico. *Revista acta farmacéutica bonaerense*, São Paulo, vol. 25, n. 2, p. 219-24, set. 2006.
- BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Básica. Módulo 11: Alimentação saudável e sustentável. Brasília: Universidade de Brasília, 2007.
- BAGATINI, M. D; SILVA, A. C. F; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Rev.Bras Farmacognosia*, v.17, n.3, p. 444-447, 2007.
- BIANCHI J. MANTOVANI M. S. MARIN-MORALES M. A. *Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the Allium cepa cells and rat hepatoma tissue culture*. *Journal of Environmental*. Bela Vista, Rio Claro ,v.36 , p. 102-111, out. de 2015, <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.03.034>.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. DOU. Diário Oficial da União. Poder Executivo, de 5 abril 2010 a.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância

Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. DOU. Diário Oficial da União. Poder Executivo, de 9 de março de 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução – RDC n. 104*, de 14 de maio de 1999. Aprova o Regulamento Técnico sobre aspectos gerais de Aditivos Aromatizantes/Aroma.

BRASIL. Ministério da Saúde .Agência Nacional de Vigilância Sanitária RESOLUÇÃO - RDC . n. 87, de 21 de novembro de 2008. Altera o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação em Farmácias.

BEZERRA, A. M. F. et al. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade de mimoso no município de Paulista. *Revista Verde (Mossoró – RN), Paraíba – Brasil*, v. 7, n. 5, p. 06-11, dez, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política e Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Secretaria de Ciências, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. *Textos Básicos de Saúde*, Brasília 2016.

COLORCON. Excipient Functionality. Disponível em: Acesso em: 30 mar. 2010.

CARVALHO, F. R., MOURA, A. G., RODRIGUES, G. F., NUNES, N. M., LIMA, D. J., PESSOA, C., & PERON, A. P. Are salty liquid food flavorings in vitro antitumor substances?. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. Rio de Janeiro, v.88, n.3, p. 1419-1430, set.de 2016.

CAMPOS-VENTURA, B.; MARIN-MORALES, M. A.; DESK S. Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of Atrazine herbicide in *Allium cepa* meristematic cells. *SDRP Journal of Earth Sciences Environmental Studies*, v.1, n. 1, p. s/n, 2016. <http://dx.doi.org/>.

CARITÁ, R; MARIN-MORALES, M. A. *Induction of chromosome aberrations in the Allium cepa test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes*. *Chemosphere*, v. 72, p. 722 - 725, 2008.

DAMASCENO. L. M. Perfil dos Medicamentos Fitoterápicos Mais Comercializados em Farmácia Magistral do Município de João Pessoa-PB. 2013, 68 f, Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba- PB, João Pessoa 2013.

DEMIR, E.; KOCAOGLU, S.; KAYA, R. Assessment genotoxic effects of benzyl derivatives by comet assay. *Food Chemical and Toxicology*, v. 48, n. 5, p. 1239-1242, 2010. DOI:10.1016/j.fct.2010.02.016

FIGUEREDO, D. R. de. *Avaliação da citotoxicidade do extrato hídrico da erva doce (Pimpinella anisum L.) através do teste em Allium cepa L.* 2014. 20 f. Trabalho de conclusão de curso (Ciências Biológicas). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande- PB, 2014.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002. p. 1-132.

GOMES, K. M. S.; OLIVEIRA, M. V. G. A.; CARVALHO, F. R. S.; MENEZES, C. C.; PERON, A. P. Cytotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tetracycline yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas v. 33, n. 1, p. 218-223, 2013. DOI:10.1590/S0101-20612013005000012.

GONÇALVES L.A. A. 2016. Alergias a alimentos ou a derivados usados como excipientes em medicamentos. 64 f. Tese (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2016.

HAYWOOD, A. e GLASS, B. D. Pharmaceutical excipientes – where do we begin?. *Australian Prescriber*, v. 34, n. 4, p. 112-114., 2011.

IBIAPINA, W. V. et al. Inserção da fitoterapia na atenção primária aos usuários do sus. *Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança- FAMENE*. João Pessoa-PB, v. 2, n.1, p. 58-68, jun. 2014.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19577002.

LEITE, T. C. C; BRANCO, A. Análise das bulas de medicamentos à base de *Ginkgo biloba* L. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. Feira de Santana- BA, v. 31, n.1, p.83-87, mar. 2010.

LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaeastigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3 p.1147-1150, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420130163>.

LIMA, I.E.O.1; NASCIMENTO, L.A.M.1; SILVA, M.S.1.Comercialização de Plantas Medicinais no Município de Arapiraca-AL. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.18, n.2, p.462-472, abr.2016.

MALAQUIAS, G; et al. Utilização na medicina popular, potencial terapêutico e toxicidade em nível celular das plantas *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L. e *Mentha piperita* L. (Família Lamiaceae). *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 7, n. 3, p. 50-68, 2014.

MOURA, A. G.; SANTANA, G. M.; FERREIRA, P. M. P.; SOUSA, J. M. C.; PERON, A. P. Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on *Allium cepa* L root meristems. *Brazilian Journal of Biology*. São Carlos, v. 76, n. 2, p. 439-443, agos. de 2016. DOI: 10.1590/1519-6984.20514.

MORE, S. S.; RAZA, A.; VINCE, R. The butter flavorant, diacetyl, forms a covalent adduct with 2-deoxyguanosine, uncoils DNA, and leads to cell death. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 12, p. 3311-3317, 2012. DOI: 10.1021/jf300180e

MPOUNTOUKAS, P., PANTAZAKI, A., KOSTARELI, E., CHRISTODOULOU, P., KARELI, D., POLILIOU, S., MOURELATOS, C., LAMBROPOULOU, V. E LIALIARIS, T. (2010).Avaliação citogenética e estudos de interação de DNA dos corantes alimentares

- amaranto, eritrosina e tartrazina. *Toxicologia alimentar e química*, 48 (10), 2934-2944, 2010. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.030](http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.030)
- MORRISON, J. M.; WRIGHT, C. M.; JOHN, G. H. Identification, isolation and characterization of a novel azoreductase from *Clostridium perfringens*. *Anaerobe*, v. 18, n. 2, p. 229-34, 2011.
- NEVES, E. S; et al.(2014). Action of Aqueous Extracts of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves on Meristematic Root Cells of *Allium cepa* L. IN: Anais... da Academia Brasileira de Ciências, (AHEAD), 00-00, 2014.
- OSHIO, T. L.; et al. Efeito do Extrato de *Ginkgobiloba* (EGb) sobre a toxicidade sistêmica e órgãos do sistema reprodutor masculino de ratos Wistar adultos. *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais*, Juiz de Fora, v. 6, n. único, p. 7-14, jan. 2014.
- OLIVEIRA, MVA, ALVES, DDL, LIMA, LHGM, CASTRO, JMC E PERON, AP (2013). Citotoxicidade do sistema erytrosina (E-127), azul brilhante (E-133) e vermelho 40 (E-129). *Acta Scientiarum Biolpical Sciences*, Maringá, v. 35, n. 4, p. 557-562, out./ dez., 2013. [Http://dx.doi.org/10.4025/actascibiolsci.v35i4.18419](http://dx.doi.org/10.4025/actascibiolsci.v35i4.18419)
- OLIVEIRA F. G. S.; LEHN C. R. Riscos e Perspectivas na Utilização de Fitoterápicos no Brasil. *Opará: Etnicidades, Movimentos Sociais e Educação*, Paulo Afonso, v. 3, n. 4, p. 35-44, jan./dez. 2015.
- PEREIRA, J. R. P. L. *Ginkgo biloba* : Aplicações Terapêuticas e Produtos no Mercado. 2013. 33 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2013.
- PEREIRA, S. S. T. C. Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais industrializados e oficializados pelo Ministério da Saúde no Brasil: regulamentação sanitária, abrangência e qualidade dos estudos pré-clínicos e clínicos. 2013. 344 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública) FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ- FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2013.
- PAN, H.; FENG, J.; CERNIGLIA, C. E.; CHEN, K. Effects of Orange II and Sudan III azo dyes and then metabolites on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v. 38, n. 10, p. 1729-1738, 2011.
- POLANSKI J. F.; ALEXANDRA D. S.; OSWALDO L. M. C. Antioxidant therapy in the elderly with tinnitus. *Rev. Braz. j. otorhinolaryngol.* São Paulo, v. 82, n.3, mai/jun 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.04.016>.
- ROSSATO, A.E. (org.) et al. *Fitoterapia racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos*. 1ª. ed, Florianópolis-SC: DIOESC, 2012. 211 p.
- RAMOS, G; MORAIS, D. C. M. de. Revisão de literatura sobre excipientes em farmácia de manipulação. *Rev.Foco*, São Paulo, Ano 4 , n. 5 , p. 11-16, dez. 2013
- SILVA, D. T. *Análise comparativa de embalagens contendo Ginkgo biloba L.* 2013. 60 f. Monografia (Pós- Graduação em Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas).

Farmanguinhos, Ministério da saúde e Fundação Oswaldo Cruz- FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2013.

SARDI, M., HALDEMANN, Y., NORDMANN, H., BOTTEX, B., SAFFORD, B., SMITH, B., TENNANT, D., HOWLETT, J. & JASTI, PR (2010). Uso de esquemas de cartões de fidelidade de varejista na avaliação da ingestão de aditivos alimentares: amarelo do por do sol estudo de caso. *Aditivos alimentares e contaminantes*, v. 27, n. 11, p. 1507-1515, jul., 2010. [Http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2010.495728](http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2010.495728)

SASAKI, YF, KAWAGUCHI, S., KAMAYA, A., OHSHITA, M., KABASAWA, K., IWAMA, K., TANIGUCHI, K. E TSUDA, S. (2002). O teste de cometas com 8 órgãos de ratos: resultados com 39 aditivos alimentares atualmente utilizados. *Pesquisa de Mutação / Toxicologia Genética e Mutagênese Ambiental*, v.519, n.1-2, p.103-119. [Http://dx.doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00128-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00128-6)

SENA, L. C. S; et al. Excipientes farmacêuticos e seus riscos à saúde: uma revisão da literatura. *Rev. Bras. Farm. Hosp. Serv. Saúde*, São Paulo, v. 5, n.4, p. 25-34, dez. 2014.

SALES, I. M. S.; SOUSA, J. B.; SOUSA, F. K. S.; CAVALCANTI CARNEIRO DA SILVA, F. C. C.; FERREIRA, P. M. P.; SOUSA, J. M. C.; PERON, A. P. Acute Toxicity of Grape, Plum and Orange Synthetic Food Flavourings Evaluated in vivo Test Systems. *Food Technology and Biotechnology, Zagreb*, v. 55. n. 551, 2017.

SALES, I. M. S.; SANTOS, F. K. S.; SILVA, F. C. C.; SOUSA, J. M. C.; PERON, A. P. Microingredientes aromatizantes sintéticos artificiais em associação: triagem para a atividade citotóxica e genotóxica. *R. bras. Bioci.*, Porto Alegre, v. 14, n.4, p. 233-237, out./dez. 2016.

SANTOS, F. C. V; et al. Contribuição à qualidade do chá de *ginkgo biloba* l. (ginkgoaceae) comercializado no estado do rio de janeiro. *Perspectivas da Ciência e Tecnologia*, Rio de Janeiro, v.7, n. 1, 2015.

SILVA, A. E. P.; MOURA, J. W. M.; NETO, M. P. L. Evaluation toxicity, cytotoxic, genotoxic and mutagenic of *turnera ulmifolia* l. (chanana) in eukaryotic cells. *Rev. Saúde em foco*, Teresina, v. 2, n. 1, p. 25-48, jul. 2015

TABREZ, S.; SAHKIL, S.; UROOJ, M.; DAMANHORI, G.A.; ABUZENADAH, A.M.; AHMAD D. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an over view of the techniques and their efficacies. *Journal of Environmental Science and Health*, v. 29, n. 3, p. 250-275, 2011. <http://dx.doi.org/10.1080/10590501.2011.601849>.

TÜRKOĞLU, Ş. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutation Research*, v. 626, n. 1, p. 4-14, 2007. DOI:10.1016/j.mrgentox.2006.07.006

WHITTAKER, P.; CLARKE, J. J.; SAN, R. H.; BEGLEY, T. H.; DUNKEL, V. C. Evaluation of the butter flavoring chemical diacetyl and a fluorochemical paper additive for mutagenicity and toxicity using the mammalian cell gene mutation assay in L5178Y mouse lymphoma cells. *Food Chemical and Toxicology*, v. 46, n. 8, p. 2928-2933, 2008.

DOI:10.1016/J.FCT.2008.06.001

VASCONCELOS Pessanha, A. F., Rolim, L. A., & Peixoto, M. S. (2012). Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas. *Rev. Bras. Farm*, 93(2), 136-145.

ZEQUIN, N.; YÜZBAŞIOĞLU, D.; UNAL, F.; YILMAZ, S.; AKSOY, H. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food Chemical and Toxicology*, v. 49, n. 4, p. 763-769, 2011. DOI:10.1016/j.fct.2010.11.040

VAN EYK, AD (2015). O efeito de cinco edulcorantes artificiais nas células Caco-2, HT-29 e HEK-293. *Toxicologia de drogas e substâncias químicas*, v.38, n.3, p.318-327, 2015. [Http://dx.doi.org/10.3109/01480545.2014.966381](http://dx.doi.org/10.3109/01480545.2014.966381)

Clarice Moura Guedes

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí (2017).

Michele Vieira da Silva Lima

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí (2017).

Maria Daniela Ribeiro Barbosa

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí (2017).

Jessica Maria Monteiro Luz

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí (2017).

Adriana Josefa da Rocha

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí (2018).

Tamires de Sousa Silva

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Piauí (2016). Mestre em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal do Piauí (2018). Doutoranda em Ciência Animal pela Universidade Federal do Piauí. Sua principal linha de pesquisa é voltada para a área da genotoxicidade e mutagenicidade.

Ana Paula Soares e Silva

Graduação em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (2016). Mestre em Genética e Melhoramento pela Universidade Federal do Piauí (2018). Doutoranda em Ciência Animal pela Universidade Federal do Piauí. Sua principal linha de pesquisa é voltada para a área da genotoxicidade e mutagenicidade.

Ana Paula Peron

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá (2000). Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual de Maringá (2004). Doutora em Genética e Melhoramento pela Universidade Estadual de Maringá (2011). Sua principal linha de pesquisa é voltada para a área da genotoxicidade e mutagenicidade. Professora Associada da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

STELLATA EDITORA

