



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – MODALIDADE LICENCIATURA

DÉBORA DAYANE ARAÚJO MOURA

**POTENCIAL TÓXICO DO FRUTO GOJI BERRY, ASSOCIADO A EXCIPIENTES
ARTIFICIAIS E *in natura*, FRENTE A TECIDO DE INTENSA PROLIFERAÇÃO
CELULAR**

PICOS

2017

DÉBORA DAYANE ARAÚJO MOURA

**POTENCIAL TÓXICO DO FRUTO GOJI BERRY, ASSOCIADO A EXCIPIENTES
ARTIFICIAIS E *in natura*, FRENTE A TECIDO DE INTENSA PROLIFERAÇÃO
CELULAR**

Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Piauí,
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros,
como requisito parcial para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª.Dra. Ana Paula Peron.

PICOS

2017

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

M929p Moura, Débora Dayane Araújo.

Potencial tóxico do fruto Goji Berry, associado a excipientes artificiais e *in natura*, frente a tecido de intensa proliferação celular / Débora Dayane Araújo Moura.– 2017.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (34 f.)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2017.

Orientador(A): Prof^a. Dra. Ana Paula Peron

1. *Lycium Barbarum L.*
2. Produto Farmacêutico Natural.
3. Divisão Celular. I. Título.

CDD 571.6

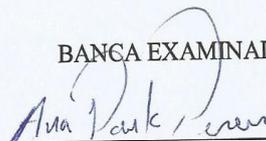
DÉBORA DAYANE ARAÚJO MOURA

**POTENCIAL TÓXICO DO FRUTO GOJI BERRY, ASSOCIADO A EXCIPIENTES
ARTIFICIAIS E *in natura*, FRENTE A TECIDO DE INTENSA PROLIFERAÇÃO
CELULAR**

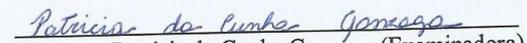
Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Piauí,
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros,
como requisito parcial para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

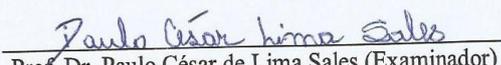
Monografia apresentada em 17 / 02 / 2017

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dra. Ana Paula Peron (Orientadora)
Curso de Ciências Biológicas - UFPI


Prof.^a. Me. Patrícia da Cunha Gonzaga (Examinadora)
Curso de Ciências Biológicas - UFPI


Prof. Dr. Paulo César de Lima Sales (Examinador)
Curso de Ciências Biológicas - UFPI

À minha família, por acreditar e investir em mim. Mãe, seu cuidado e dedicação foio que me deu esperança pra seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, base da minha vida, por ter me dado força e coragem para chegar até aqui.

Aos meus queridos pais, Demerval e Remedinha, que me trouxeram com todo o amor e carinho a este mundo, dedicaram, cuidaram e doaram incondicionalmente seu sangue e suor em forma de amor e trabalho, despertando e alimentando em minha personalidade, ainda na infância, a sede pelo conhecimento e a importância deste em minha vida.

Ao meu irmão Danyel, que sempre esteve ao meu lado me alegrando nos momentos difíceis, obrigada pelo seu carinho e amor.

Ao meu noivo, Nivaldo por me compreender, me ajudar e por estar sempre segurando a minha mão.

Aos meus avós por todo o ensinamento, em especial ao meu falecido avô Dedé, no qual me espelho em sua espiritualidade, humanismo e sabedoria e a toda minha família.

À minha querida orientadora, Prof^a. Dr^a. Ana Paula Peron, por ter me acolhido, ensinado e confiado em mim. À senhora, minha eterna gratidão e respeito. Obrigada.

Agradeço também ao pessoal do laboratório, pelos ensinamentos e a minha amiga Cleidiane, por toda ajuda e amizade durante esta caminhada.

À minha prima, Jacyara, por ter iniciado esse curso comigo, estudar juntas sempre foi nosso sonho e na universidade conseguimos realizar. Obrigada pelas risadas, pelos momentos de descontração, pelas tardes e noites de estudos, sua companhia sempre foi especial.

Às amigas que construí dentro de sala de aula, aos professores e todos aqueles que cruzaram a minha vida, durante essa jornada participando de alguma forma na construção e realização deste tão desejado sonho de carregar o canudo de minha formatura.

“Temos o destino que merecemos. O nosso destino está de acordo com nosso mérito.”

(Albert Einstein)

A presente pesquisa objetivou avaliar o potencial citotóxico e genotóxico de produtos farmacêuticos do fruto goji berry em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas. Os produtos farmacêuticos em pó foram oriundos de três laboratórios, denominados de A, B e C, onde A foi avaliado nas concentrações 0,012; 0,025 e 0,05 g/mL, e B e C nas concentrações 0,02; 0,04 e 0,08 g/mL. Avaliou-se também o chá da fruta goji Berry *in natura*, nas concentrações 0,035; 0,07 e 0,14 g/mL. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que o chá nas concentrações avaliadas, nos dois tempos de exposição estabelecidos, não ocasionou inibição da divisão celular e nem alterações celulares aos meristemas de raízes, corroborando a resultados de avaliação de toxicidade desta fruta presente na literatura científica. Diferentemente, para os goji industrializados todas as concentrações analisadas de A, B e C, causaram efeito antiproliferativo significativo aos tecidos avaliados logo no menor tempo de análise considerado. Portanto, nas condições de análises estabelecidas, os produtos farmacêuticos de goji foram citotóxicos ao bioensaio utilizado por terem acarretado relevante instabilidade genética aos meristemas de raízes. Estes resultados são importantes uma vez que não existem, até o momento, trabalhos de avaliação de toxicidade do goji berry comercializado na forma industrializada.

PALAVRAS-CHAVE: *Lycium barbarum* L., produto farmacêutico natural, divisão celular, tecido meristemático.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the cytotoxic and genotoxic potential of goji berry fruit pharmaceutical products from three pharmaceutical laboratories, known as A, in meristematic roots of *A. cepa* at exposure times of 24 and 48 hours. , B and C, where A was evaluated at concentrations of 0.012; 0.025 and 0.05 g / mL, and B and C at concentrations 0.02; 0.04 and 0.08 g / ml. Goji berry fruit tea in natura was also evaluated at concentrations of 0.035; 0.07 and 0.14 g / ml. From the obtained results, it was verified that the tea in the evaluated concentrations, in the two established exposure times, did not cause inhibition of the cellular division and nor cellular alterations to the meristems of roots, corroborating the results of evaluation of toxicity of this fruit present in the literature Scientific basis. In contrast, for the industrialized goji all analyzed concentrations of A, B and C, caused significant antiproliferative effect to the tissues evaluated at the shortest analysis time. Therefore, under the conditions of established analyzes, goji pharmaceuticals were cytotoxic to the bioassay used because they caused significant genetic instability to the root meristems. These results are important since, to date, there are no goji berry toxicity marketed commercialized in the industrialized form.

KEY WORDS: *Lycium barbarum L.*, natural pharmaceutical, cell division, meristematic tissue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Bulbus de *Allium cepa* L. em frascos com água destilada..... 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Número de células em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* exposto, por 24 e 48 horas, ao chá de Goji Berry, nas concentrações 0,035; 0,07 e 0,14g/mL, e do Goji Berry industrializado, na forma em pó, procedente de três laboratórios químicos, discriminados na tabela como A, B e C. As concentrações analisadas para A foram 0,012; 0,025 e 0,05 g/mL, e para B e C 0,02; 0,04 e 0,08 g/mL..... 24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 OBTENÇÃO DO GOJI BERRY NAS FORMAS <i>in natura</i> E INDUSTRIALIZADOS.....	21
3.2 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE GOJI BERRY PARA ANÁLISE.	21
3.3 TESTE DE CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAÍZES DE <i>ALLIUM CEPA</i>	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A *Lycium barbarum* L., popularmente conhecida como goji berry ou goji, é uma solenácea arbustiva, de dois a quatro metros de altura, amplamente cultivada na China e no Himalaia. Seus frutos, também habitualmente denominados de goji berry e goji, são exportados para todos os continentes como especiarias e, principalmente, para fins medicinais, em razão de conterem altas concentrações de flavonóides e apresentarem relevante potencial antioxidante. Também são fontes de um análogo do ácido ascórbico, o 2-O-β-D-Glucopiranosílico ou AA2βG, bem como, do carotenóide zeaxatina (SILVA e DEGÁSPARI, 2016) e de polissacarídeos, que se mostram eficientes antioxidantes, hipoglicêmicos e ansiolíticos (AMAGASE e FARNSWORTH, 2011; SILVA e DEGÁSPARI, 2016). Além disso, desde o início desta década, os frutos goji têm sido prescritos por médicos e nutricionistas, e, por conseguinte, amplamente comercializados em drogarias de todo o mundo, na forma de produto farmacêutico natural em pó industrializado, como um suplemento potente na redução e controle do peso (FERREIRA et al., 2013).

Durante a industrialização, produtos farmacêuticos de uso interno, como o goji em pó, durante a industrialização são aditivados por compostos químicos excipientes, que são microingredientes inativos destituídos de atividades terapêuticas e adicionados intencionalmente. Estes ingredientes são acrescentados com a finalidade, entre outras características, de tornar tais produtos palatáveis e protegidos da ação de microrganismos indesejáveis (ARAÚJO e BORIN, 2012; VASCONCELOS et al., 2012). Dentre os aditivos excipientes extensivamente utilizados pelos laboratórios farmacêuticos estão os conservantes, corantes, aromatizantes, edulcorantes, espessantes, emulsificantes e estabilizantes (BALBIANI ET AL., 2006; ARAÚJO e BORIN, 2012).

A Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), em seus regulamentos técnicos, declara que os aditivos de ação aromatizante, edulcorantes, antiemético e acidulantes, apesar de liberados para uso, suscitam uma série de dúvidas quanto aos seus potenciais efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos. Destaca ainda, a relevância e premência na realização de pesquisas que avaliem os efeitos citotóxicos e genotóxicos de produtos aditivados com microingredientes artificiais. (BRASIL, 1996; BRASIL, 2007). De acordo com Konishiet al. (2013), Moura et al. (2016), Carvalho et al. (2016), Bezerra et al. (2016) Sales et al. (2017), os efeitos adversos observados a partir de avaliações de toxicidade são de grande relevância, uma vez que, são importantes parâmetros na elaboração e/ou modificação de documentos que normatizam o uso de excipientes pelas indústrias.

Contudo, em uma ampla busca na literatura científica, verificou-se que não há, até o momento, estudos de avaliação de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade dos frutos Goji Berry comercializado em pó na forma industrializada. Ao contrário, para o fruto goji *in natura* encontrou-se estudos de avaliação de seu potencial tóxico em nível celular, como o trabalho de Nascimento et al. (2016) que avaliaram a toxicidade deste fruto, por meio dos testes *in vivo* de micronúcleos e cometa, utilizando células de cólon de ratos Wistar e verificaram que o extrato aquoso de goji não foi citotóxico e nem genotóxico aos sistemas testes utilizados. Ademais, Yang et al. (2015) e Potterat(2010) verificaram que o chá do fruto goji não alterou a divisão celular e foi antígeno tóxico a linhagens celulares normais.

Dessa forma, torna-se relevante avaliar, por meio de bioensaios de avaliação de toxicidade adequados, a citotoxicidade e genotoxicidade do fruto em pó aditivado por compostos excipientes, no intuito de verificar se este tem potencial tóxico significativamente diferente da sua forma *in natura*. Avaliações como estas são importantes visto que poderão contribuir para o consumo seguro e eficaz destes produtos industrializados pela população.

Os bioensaios vegetais são considerados apropriadamente sensíveis e simples no monitoramento dos efeitos tóxicos em nível celular de compostos químicos (CARITÁ e MARIN-MORALES, 2008; CAMPOS-VENTURA e MARIN-MORALES, 2016). Dentre eles, os meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola) são considerados no meio científico um eficiente bioensaio para o *screening* da toxicidade genética de compostos químicos em razão de apresentarem número cromossômico reduzido ($2n=16$), o que favorece a detecção de alterações de fuso mitótico ou aneugênicas, e de distúrbios no índice proliferação celular (NEVES et al., 2014; BIANCHI et al., 2015).

É um bioensaio aceito internacionalmente por agências de pesquisa como um instrumento de avaliação de acurada sensibilidade para análise da citotoxicidade e genotoxicidade de substância de interesse, uma vez que, os resultados obtidos por intermédio dele demonstram, em grande parte das vezes, similaridade satisfatória a aqueles obtidos via sistemas testes animal e em culturas de células (HERRERO ET al., 2011; LACERDA et al., 2014; TABREZ et al., 2011; BIANCHI et al., 2015; CAMPOS-VENTURA; MARIN-MORALES, 2016; MOURA et al., 2016, SANTANA et al., 2016). Como exemplo pode-se citar os trabalhos realizados por Gomes et al. (2013) e Oliveira et al. (2013) que avaliaram em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* o potencial tóxico de microingredientes corantes sintéticos utilizados na indústria de alimentos e farmacêutica e obtiveram resultados semelhantes aos obtidos em sistemas testes animais e com culturas de células.

Nesse contexto, objetivou-se no presente estudo avaliar, em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, a citotoxicidade e genotoxicidade de produtos farmacêuticos naturais do fruto goji berry em pó, procedentes de três diferentes laboratórios farmacêuticos de relevante atuação no comércio de medicamentos brasileiro e internacional. Também realizou-se a avaliação do chá de goji *in natura* com o propósito de comparar os resultados obtidos com os dados observados para forma industrializada considerando o mesmo sistema teste.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Diversas espécies vegetais possuem propriedades terapêuticas, sendo que estas representam a principal matéria utilizada pelas chamadas medicinas tradicionais. Sendo assim, o uso de plantas medicinais representa um importante fator para a conservação das condições de saúde das pessoas (IBIAPINA, 2014). Partes da planta como raiz, caule, folha e frutos podem prover substâncias ativas que serão utilizadas na obtenção de um medicamento (ROSA et al. 2012).

O uso de produtos naturais, particularmente da flora, com fins medicinais, surgiu praticamente com a humanidade. Há indicativos do uso de plantas medicinais e tóxicas nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo assim, como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007).

O aumento do consumo de produtos naturais, ricos em nutrientes e compostos bioativos, aumentou nas últimas décadas, em virtude dos efeitos positivos para a saúde humana, sendo que os vegetais são considerados fontes ricas de alguns micronutrientes essenciais e fibras dietéticas e mais recentemente foram reconhecidos como importantes fontes de uma grande variedade de fitoquímicos que individualmente ou em combinação podem promover benefícios à saúde (HERVERT-HERNÁNDEZ et al., 2011).

O interesse por produtos naturais surgiu principalmente devido às populações acreditarem que estes medicamentos são isentos ou possuem poucos efeitos colaterais, e que são visivelmente eficazes nos casos onde a medicina tradicional não alcançou resultados esperados, o que nem sempre é confirmado pelas pesquisas científicas que avaliam a eficácia e a segurança assim também como a garantia de qualidade na produção (CALIXTO, 2000).

Um tipo de vegetal que está sendo muito utilizado nos dias de hoje na forma de medicamento, é o goji berry (*Lycium barbarum* L.), uma planta da família Solanácea encontrada na China e em regiões do Himalaia, disposta no topo da tabela dos 8000 alimentos medicinais (ZHANG et al., 2013). São conhecidas cerca de 90 espécies do gênero *Lycium* (SEEL; MURRIEL, 2009), porém cerca de 90% de todo fruto comercializado é de *Lycium barbarum*, seguido da espécie do fruto da espécie *Lycium chinense* (ZHONG; SHAHIDI; NACZK, 2012).

A *L. barbarum* L. possui muitos nomes populares, contudo os mais utilizados são “wolfberry”, “gouqizi”, “fructuslycii” e “goji berry”. Seu nome botânico surgiu em 1753 pelo botânico sueco Carolus Linnaeu. Esta planta pode chegar até 3 metros de altura, suas folhas

são verdes e cinzas (AMAGASE & FARNSWORTH, 2011) e seus frutos possuem de 1 a 2 cm de comprimento, de coloração vermelho-alaranjado, são brilhantes e com formato elipsoide (DONNO et al., 2014). O goji berry apresenta a importante propriedade de conter compostos do tipo flavonóides em sua constituição, que são caracterizados por serem pigmentos encontrados em frutas e vegetais, que protegem o organismo humano contra danos oxidativos. As fontes mais significativas de flavonóides, que representa cerca de 30%, estão disponíveis e com maior concentração na polpa das frutas (FLORÉZ-MARTÍNEZ et al., 2002).

Este fruto tem a capacidade de absorver radicais livres e possui um excelente conteúdo nutritivo. Proveitosamente vem sendo usada na prevenção de diversas doenças e como medicina alternativa nos tratamentos médicos. Estudos antigos da China mostram suas várias vantagens para a saúde, citando desde a sua renovação da vitalidade e longevidade até o fortalecimento e restauração de órgãos importantes como o fígado e rins. Seus polissacarídeos podem ainda bloquear o ciclo celular de tumores hepáticos devido a sua propriedade antioxidante e aumentar o cálcio intracelular nos seus sistemas apoptóticos, combate também a infertilidade masculina, diminuição das taxas de glicose e colesterol intracelular, seus efeitos protetores parecem depender principalmente da sua ação antioxidante (ZHANG et al., 2013).

O goji berry é um vegetal rico em vitaminas e minerais que protegem o sistema nervoso central, diminui o risco de glaucoma e tem atividade antitumoral, previne várias doenças crônicas como hipercolesterolemia, hepatite entre outras, também ajuda na redução da fadiga e maior resistência no exercício físico, sendo um forte aliado na prevenção do envelhecimento (AMAGASE, 2008; MAGALHÃES, 2013).

Outra enorme descoberta do amplo potencial medicinal da fruta de goji foram as aplicações terapêuticas no tratamento da obesidade e diabetes. Extratos de polissacarídeos brutos e frações dos mesmos quando purificados reduziram drasticamente o nível de colesterol total e triglicérido, aumentando o nível de HDL em diabéticos. Com isso as bagas, que são os frutos do Goji, possuem claramente efeito hipoglicemiante, além de diminuir o peso corporal e diminuir níveis de insulina plasmática. Estudos mostram que este efeito pode ser mediado pelo aumento do nível da superfície da célula de GLU-4 (é um transportador insulino-sensível e promove a captação de glicose nos tecidos adiposo e muscular esquelético) (DEVALARAJA, 2011).

Como metodologia padrão, durante à industrialização de fármacos, são adicionados compostos químicos excipientes ou ingredientes inativos que são substâncias destituídas de

poder terapêutico, usadas para assegurar a estabilidade e as propriedades físico-químicas e organolépticas dos produtos farmacêuticos (BALBANI, 2006). Tais produtos raras vezes são administrados isoladamente e geralmente fazem parte de uma formulação combinada com um ou mais agentes não farmacológicos com finalidades de solubilizar, emulsificar, conservar, colorir, suspender, espessar, diluir, flavorizar, enfim, facilitar a obtenção de formas farmacêuticas estáveis, eficazes e atraentes, sendo que o uso seletivo desses excipientes farmacêuticos, resultam em formas farmacêuticas distintas. Os excipientes são adicionados às formulações também, com a finalidade de melhorar e possibilitar sua ação terapêutica, podendo atuar permitindo a mudança físico-química dos fármacos, como por exemplo, aumentando a solubilidade (ANSEL et al., 2000).

Os excipientes são materiais quimicamente heterogêneos, podendo ser moléculas muito simples ou misturas de complexos naturais, sintéticos ou semi-sintéticos (BALDRICK, 2000; PIFFERI, 2003). Segundo Balbani (2006), os excipientes para uso interno podem ser de vários tipos como: conservantes, corantes, aromatizantes, edulcorantes, espessantes, emulsificantes, estabilizante, antioxidantes, entre outros.

Os conservantes são substâncias químicas a qual tem como principal função inibir o crescimento de microrganismos, aumentando assim a conservação de um determinado produto, evitando deteriorações causadas por bactérias, fungos e leveduras, estes podem ter atividade fungistática e/ou bacteriostática. O processo de escolha do conservante é muito importante, sendo que o primeiro aspecto a ser considerado é a regulamentação do uso de substâncias de ação conservantes permitidas, uma vez que é de caráter eliminatório. (HAYWOOD e GLASS, 2011). Dentre os conservantes, têm-se os parabenos (metilparabeno e propilparabeno, por exemplo), que são utilizados tanto pela indústria farmacêutica, como alimentícia e de cosméticos desde a década de 1920. Os parabenos são antimicrobianos de largo espectros, inodoros, incolores, hidrossolúveis e insípidos, que diante destas características são amplamente aplicados na formulação de fármacos com concentrações variáveis, porém dificilmente excedem 1% (SONI, 2001).

A coloração é uma das características essenciais para o consumo de produtos, uma vez que é através da visão que se estimulam todos os outros órgãos sensoriais. Produtos coloridos e atrativos estimulam a sua ingestão e os corantes são fundamentais para a promoção desse consumo. A segurança, aparência e características sensoriais dos produtos, independentemente da sua origem, são todas afetadas pela cor. Dentre as táticas das indústrias para o enriquecimento e favorecimento do produto processado, o corante exerce um efeito estimulante no desejo de consumo (HAYWOOD e GLASS, 2011). Sendo assim, os corantes

têm como principal função, melhorar a aparência dos medicamentos e estes podem ser inorgânicos ou orgânicos, naturais ou artificiais. São exemplos de corantes inorgânicos, o dióxido de titânio e óxidos de ferro. Os corantes naturais são derivados de plantas ou animais e os corantes artificiais são sintetizados em laboratório (LUCAS, 2001). A partir das características de solubilidade, os corantes podem ser classificados em solúveis e insolúveis, que por sua vez, se subdividem em dois grupos: os pigmentos, que são por si só insolúveis na água, e as lacas, que resultam de moléculas hidrossolúveis tornadas insolúveis após adição de compostos de alumínio ou cálcio (PRISTA, 2002). Os corantes podem ser ainda inorgânicos ou orgânicos, naturais ou artificiais, como exemplos de corantes inorgânicos é possível citar o dióxido de titânio e óxidos de ferro. Os corantes naturais são derivados de plantas ou animais e os corantes artificiais são sintetizados em laboratório (BALBANI, 2006).

Os edulcorantes ou adoçantes são substâncias empregadas para ajustar o gosto de um preparado, citando-se, entre elas, diversos açúcares mais ou menos energético. Como exemplo de edulcorantes não energéticos tem-se a sacarina ou o sacarinato de sódio, o aspartamo, os ciclamatos de sódio e de cálcio, etc. (PRISTA, 2002). Os edulcorantes mais usados pela indústria farmacêutica são a sacarose (açúcar), seus substitutos artificiais (sacarina sódica, ciclamato de sódio e aspartame) e o sorbitol. A sacarose pode agir como conservante e antioxidante, tem baixo custo, não deixa gosto residual, além de melhorar a viscosidade dos medicamentos líquidos. Porém existem algumas desvantagens em relação ao seu uso, como a cristalização durante a estocagem do medicamento e a restrição ao uso por pacientes diabéticos. (BALBANI, 2006).

Aromatizantes ou flavorizantes, são elementos usados para melhorar o sabor dos medicamentos, tem-se como exemplo de aromatizante o acetato de benzila. A sua utilização é geralmente complementar da dos edulcorantes, empregando-se diversas essências, como as de laranja, limão, cereja, hortelã, etc. A aplicação destas essências, é feita sob a forma líquida, absorvendo-se em substâncias adequadas, mas podendo, também, utilizar-se sob uma forma puerulenta conseguida por atomização (PRISTA, 2002). Os flavorizantes podem ser naturais, como os óleos essenciais extraídos de plantas e sabores naturais de frutas ou artificiais como os álcoois aromáticos, aldeídos, bálsamos, fenóis, terpenos, etc. As reações adversas aos flavorizantes são muito raras, uma vez que esses compostos químicos são empregados em concentrações mínimas nos medicamentos (BALBANI, 2006).

Antioxidantes são substâncias empregadas na indústria farmacêutica e de alimentos para impedir que os produtos sofram processos oxidativos e, assim, impedem que percam sua função. Nos medicamentos, esses compostos impedem ou retardam a oxidação do fármaco e

até de outros excipientes (KALÁSZ; ANTAL, 2006; TEUBER, 2006). Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com o mecanismo de ação, em primários, sinergistas (que se ligam ao oxigênio), agentes quelantes e antioxidantes mistos. Polifenóis, butil-hidroxianisol (BHA) e butil-hidroxitolueno (BHT) são exemplos de antioxidantes primários e os sinergistas são compostos que aumentam a atividade dos antioxidantes primários. Alguns ácidos orgânicos, como o ácido ascórbico, atuam sequestrando o oxigênio presente do meio, por meio de reações químicas estáveis e, assim, tornando-o indisponível para as reações de autoxidação. As substâncias quelantes, que formam complexos com metais, como o ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA), agem como antioxidantes por retirarem do meio os metais, como o ferro, que catalisam reações de oxidação lipídica (RAMALHO; JORGE, 2006).

As substâncias que são utilizadas como excipientes devem oferecer as características exigidas pela sua função, mas como acontece com qualquer substância administrada, devem corresponder também aos requisitos de segurança que são exigidos. Antigamente a importância de se avaliar os possíveis efeitos adversos dos excipientes foi subestimada, pois somente sua inocuidade e inércia eram consideradas como garantidas. A toxicidade dos excipientes farmacêuticos não é simples por várias razões, dentre as quais, o grande número de substâncias existentes no mercado e a diversidade dos seus perfis químicos, das suas funções técnicas, das suas fontes e da presença de produtos secundários ou de impurezas, que podem ser as causas verdadeiras de efeitos adversos (VILLANOVA e SÁ, 2010; GARCÍA-ARIETA, 2014). Existe atualmente, um forte debate em relação à segurança dos conservantes químicos, quanto ao seu consumo, uma vez que são associados com processos carcinogênicos e teratogênicos, além da toxicidade residual (MOREIRA et al., 2005; ORTEGA-RAMIREZ et al., 2014).

Sendo assim, é necessário que estas substâncias sintéticas farmacológicas antes de chegarem ao comércio, passem por um processo de investigação quanto ao nível de riscos que possam vir a apresentar. Ao longo dos anos vários modelos de testes vêm sendo desenvolvidos, como métodos de avaliação, estes podem detectar o potencial risco citotóxico / genotóxico no organismo, onde a citotoxicidade é basicamente medida pela taxa de crescimento celular e pode ser observada microscopicamente (FIGUEREDO, 2014), como por exemplo, o sistema teste vegetal de *Allium cepa*, que é um ótimo bioindicador de genotoxicidade de plantas medicinais, devido seu baixo custo, a sua confiabilidade, e concordância com outros testes de genotoxicidade, ajudando assim os estudos de prevenção de agravos à saúde humana (BAGATINI, et al. 2007).

Segundo Longhin (2008), os testes com *Allium cepa* são muito usados, uma vez que são considerados também eficientes e rápidos, além disso, o *Allium cepa* é acatado como um vegetal superior sendo muito utilizada por pesquisadores em ensaios toxicológicos por meio de avaliação de parâmetros macroscópicos com alterações de formato, deformidade da raiz e cor. Outro motivo deste sistema teste ser bem aceito para o estudo de efeitos de citotoxicidade de plantas medicinais é o fato de suas raízes ficarem em contato direto com a substância testada, admitindo a avaliação de concentrações diferentes (Vicentini et al., 2001).

Com isso, a fim de se determinarem os possíveis efeitos nocivos de um aditivo químico ou dos seus derivados, o aditivo deve ser submetido a ensaios e a uma avaliação de toxicidade adequada. Todos os tipos de aditivos devem ser mantidos sob observação permanente e serem novamente avaliados sempre que for necessário, tendo em vista as variações das condições de utilização e de quaisquer novos dados científicos (BAPTISTA, 2003).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção do goji berry nas formas *in natura* e industrializado

A fruta Goji Berry desidratada, *in natura* e, portanto, sem aditivação de excipientes artificiais, foi adquirida em ervanário, localizado na cidade de Teresina, Piauí, Brasil, especializado na comercialização de produtos naturais. Na forma industrializada, a fruta goji comercializada em pó, foi adquirida em uma farmácia do município de Picos, Piauí, Brasil, representante de uma rede nacional de drogarias. Os produtos industrializados, oriundos de três laboratórios farmacêuticos (LF), foram discriminados na presente pesquisa de A, B e C.

3.2 Determinação das concentrações de goji berry para análise da toxicidade em nível celular

Para determinação das concentrações de goji a serem analisadas quanto a toxicidade, utilizou-se como parâmetro de definição a forma de preparo e ingestão indicada nos rótulos de cada produto, *in natura* e industrializado. Para o preparo do chá, sugeria-se misturar 70 gramas da fruta seca a um litro de água fervente. Assim, definiu-se três concentrações do chá para análise, que foram 0,035; 0,07 e 0,14 g/mL. Em relação ao goji industrializado referente ao laboratório A, a concentração sugerida era 70 gramas de pó da fruta em 200 mL de água. Desta forma, as concentrações de análise para A foram 0,012; 0,025 e 0,05 g/mL. Para os laboratórios B e C, a concentração ideal sugerida para consumo era 5g do pó de goji em 200 mL de água, definindo-se para análise de toxicidade as concentrações 0,012; 0,025 e 0,05g/mL. Para a obtenção de todas as concentrações avaliadas na presente pesquisa utilizou-se água destilada.

3.3 Teste 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 (Figura 01), à temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}\text{C}$), até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento. Para análise de cada amostra de goji estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com as suas respectivas amostras de goji (tratamentos), algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes

restantes foram postas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.

Figura 1 – Bulbos de *Allium cepa* em copos plástico com água destilada para crescimento das raízes.



Fonte: 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 goji 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 por Guerra e Souza (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 tratamento em análise. Assim, para cada concentração de goji analisou-se 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 de IM foi parâmetro para a determinação do potencial citotóxico de Goji Berry nas formas analisadas.

Ainda, avaliou-se a genotoxicidade de goji 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.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Os meristemas de raízes expostos as três concentrações do chá de goji berry 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 de chá. Desse modo, pode-se afirmar que os chás de goji avaliados, nas condições de estudos aqui estabelecidas, não causaram citotoxicidade as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Além disso, não se verificou alterações celulares nos tecidos vegetais expostos a tais solução. Estes resultados corroboram aos dados de não citotoxicidade e genotoxicidade do fruto goji já publicados na literatura científica, e previamente mencionados neste trabalho.

Tabela 1 - Número de células em cada fase do ciclo celular de tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* exposto, por 24 e 48 horas, ao chá de Goji Berry, nas concentrações 0,035; 0,07 e 0,14g/mL, e do Goji Berry industrializado, na forma em pó, procedente de três laboratórios químicos, discriminados na tabela como A, B e C. As concentrações analisadas para A foram 0,012; 0,025 e 0,05 g/mL, e para B e C 0,02; 0,04 e 0,08 g/mL.

<i>Goji Berry in natura</i>									
TR	Conc	TE	TCH	P	M	A	T	TCD	IM (%)
Chá	0,03 g/mL	CO	3029	599	479	492	401	1971	39,4 ^a
		24h	3465	433	333	398	371	1535	30,7 ^b
		48h	3534	429	341	355	355	1466	29,3 ^b
	0,07 g/mL	CO	2952	587	581	479	401	1971	41,0 ^a
		24h	3107	499	494	487	371	1535	37,9 ^b
		48h	3141	504	483	475	355	1466	29,3 ^b
	0,13 g/mL	CO	2780	603	591	594	432	2220	44,4 ^a
		24h	2899	613	559	532	397	2101	42,0 ^b
		48h	2942	594	507	539	418	2058	41,2 ^b
<i>Goji Berry acrescido de excipientes</i>									
LF	Conc.	TE	TCH	P	M	A	T	TCD	IM (%)
A	0,035 g/mL	CO	2827	689	671	581	232	2173	43,5 ^a
		24h	4644	103	93	77	53	326	6,5 ^b
		48h	4792	82	67	59	00	208	4,2 ^b
	0,07g/mL	CO	3200	321	351	224	191	1087	21,7 ^a
		24h	4883	19	12	03	03	37	0,7 ^b
		48h	4976	07	09	07	05	28	0,5 ^b
	0,14 g/mL	CO	3209	500	705	362	224	1791	36,0 ^a
		24h	4965	27	07	01	00	35	0,7 ^b

		48h	4958	39	39	00	00	42	0,8 ^b
<i>Goji Berry acrescido de excipientes</i>									
LF	Conc.	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
B	0,02 g/mL	CO	4192	333	258	107	110	808	16,2 ^a
		24h	4738	71	14	08	99	262	2,3 ^b
		48h	4901	73	12	09	05	99	0,5 ^b
	0,04 g/mL	CO	3200	675	542	349	234	1800	21,7 ^a
		24h	4883	53	44	17	03	117	0,7 ^b
		48h	4976	17	07	00	00	24	0,5 ^b
	0,08 g/mL	CO	3581	522	439	324	134	1419	28,4 ^a
		24h	4729	92	84	71	24	271	5,4 ^b
		48h	4875	99	19	07	00	125	2,5 ^b
<i>Goji Berry acrescido de excipientes</i>									
LF	Conc.	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
C	0,02 g/mL	CO	2306	701	713	609	671	2694	53,9
		24h	4767	55	76	65	37	233	4,7
		48h	4948	32	11	01	08	52	1,0
	0,04 g/mL	CO	3208	590	427	427	348	1792	35,9
		24h	4872	94	03	07	07	128	2,6
		48h	4950	31	15	01	03	50	1,0
	0,08 g/mL	CO	2634	709	821	514	322	2366	47,3
		24h	4948	30	17	00	05	52	1,0
		48h	4964	25	07	02	02	36	0,7

TR – Tratamento; LF – Laboratório Farmacêutico; Conc – Concentração; TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão; TCA – Total de Alterações Celulares; Valores de IM seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si pelo teste χ^2 , ao nível de 5%.

No entanto, as três concentrações de goji referente a LF A (Tabela 01), nas 24 e 48 horas de exposição, reduziram expressivamente a divisão celular do tecido meristemático quando confrontado aos índice mitóticos obtidos para os seus respectivos controles. Ademais, para a concentração 0,035 g/mL de LF A verificou-se que índices mitóticos obtidos para os dois tempos de exposição avaliados diferiram entre si, uma vez que, no tempo de análise 48 horas a divisão celular foi notadamente menor que a observada para o tempo de exposição 24 horas. Contudo, para LF A nas concentrações 0,07 e 0,14 g/mL, observou-se que a inibição da divisão celular ocorreu logo no tempo de exposição 24 horas. Para as três concentrações referentes aos produtos de goji berry de LF B e C (Tabela 1), os índices mitóticos descritos para o tempo de exposição de 24 horas foram considerados iguais aos obtidos para os seus respectivos tempo de exposição 48 horas.

Em vista disso, com base nos dados descritos na Tabela 1, verifica-se diferença de ação do goji *in natura* em relação aos goji industrializados quanto a toxicidade causada, visto que, os acrescidos de excipientes foram citotóxicos aos meristemas avaliados por ocasionar efeito antiproliferativo acentuado logo nas menores concentrações e no menor tempo de análise estabelecido. Destaca-se também que todas as concentrações de goji tidas como ideias para consumo pelos laboratórios farmacêutico aos quais foram fabricados causaram inibição significativa da proliferação celular demonstrando relevante potencial citotóxico.

De acordo com Caritá e Marin-Morales (2008), alterações expressivas são desencadeadas quando há efeito antiproliferativo acentuado em tecidos de intensa proliferação com desempenho metabólico normal - tal como os meristemas 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 de goji oriundos de LF A, B e C. Porém, Sales et al. (2016) explicam 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. Considerando 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, condição sugerida para explicar o resultado de efeito antiproliferativo acentuado frente a frequência não significativa de alterações celulares observada no presente estudo.

Conforme citado anteriormente, produtos farmacêuticos naturais, como os goji berry industrializados avaliados nesta pesquisa, contém em sua formulação aditivos excipientes artificiais. A seguir serão relatados resultados de estudos de toxicidade em nível celular de alguns compostos excipientes utilizados na formulação de produtos farmacêuticos e de alimentos, segundo Brasil (1999), durante a industrialização. Porém, é importante relatar que,

com exceção dos corantes e conservantes, todos os microingredientes a serem relatados foram insuficientemente avaliados, até a presente data, quanto aos seus potenciais tóxicos em nível sistêmico e celular.

Para 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 ácidosulfanílico, 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 azóicos 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 (BALBIANIET 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.

Os antiumectantes utilizados em produtos farmacêuticos são o fosfato de cálcio, o dióxido de silício, o carbonato de cálcio e o carbonato de magnésio (COLORCON, 2010). Não foram encontrados na literatura científica estudos de avaliação de citotoxicidade e genotoxicidade para os microingredientes fosfato tricálcio e carbonato de cálcio. Já para o antiumectante dióxido de silício, Rajivet et al. (2016) verificaram que esse composto teve a

propriedade de diminuir expressivamente a viabilidade celular de linfócitos humanos em cultura de células normais, bem como, de promover alterações celulares em número significativo, demonstrando amplo potencial genotóxico. Em relação ao aditivo carbonato de magnésio, Ahamed et al. (2015) verificaram que este agente químico teve a capacidade de reduzir o metabolismo celular, em cultura celular de fígado humano de linhagem normal, mostrando-se significativamente citotóxico.

Em relação aos aromatizantes, os ingredientes de aroma e sabor utilizados em medicamentos são somente os de fruta (BALBIANI et al., 2006). Sales et al. (2017), Sales et al., 2016 e Moura et al. (2016) avaliaram alguns destes aromatizantes e observaram que tais aditivos tiveram a propriedade de induzir danos significativos ao fuso mitótico, e, conseqüentemente, a divisão celular de células de sangue periférico humano, e foram genotóxicos a eritrócitos de tecido sanguíneo de camundongos, induzindo de forma expressiva a formação de células micronucleadas na medula óssea dos animais tratados. Já entre os constituintes químicos responsáveis em retardar a ação de microrganismos, enzimas, assim como, de agentes físicos nos produtos farmacêuticos, estão o benzoato de potássio, benzoato de sódio e nitrato de potássio (COLORCON, 2010), agentes conservantes que, segundo Mpountoukaset al. (2010) e Zequin et al. (2011), foram citotóxicos e genotóxicos a células normais de sangue periférico humano.

Os resultados de toxicidade dos excipientes mencionados corroboram aos obtidos no presente estudo para os goji industrializados avaliados, em razão de também terem causado instabilidade genética, principalmente no ciclo celular dos bioensaios com os quais foram avaliados. Não foram encontrados na literatura pesquisa de avaliação de toxicidade em nível celular de aditivos de ação espessante, emulsificante e estabilizante.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* mostram que os goji berry avaliados tiveram significativo potencial em ocasionar toxicidade à 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 goji em pó em sistemas testes animais, a partir de tratamentos com maiores tempos de exposição, para verificação e aprofundamento dos resultados aqui obtidos.

Os resultados de instabilidade genética causada pela ação dos goji industrializados são de grande relevância uma vez que não existem, até a presente data, estudos de toxicidade publicados envolvendo tais produtos farmacêuticos.

REFERÊNCIAS

- AMAGASE, H., Farnsworth, N. R. (2011). A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). *Food Research International*, 44(7), 1702-1717.
- AMAGASE, H.; NANCE, D. M. A.; Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Clinical Study of the General Effects of a Standardized *Lycium barbarum* (Goji) Juice, Go Chi TM. *The Journal Of Alternative and Complementary Medicine*. 2008; 14:403-12.
- ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoi cacid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. *Journal of Ethno pharmacoly*, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JUNIOR, L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos**. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000. 568p
- ARAUJO, A. C. F., & Borin, M. F. (2012). **Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos**. *Brasília Med*, 49(4), 267-78.
- 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.
- BALBANI, A. P. S., Stelzer, L. B., & Montovani, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. *RevBrasOtorrinolaringol*, 2006 72(3), 400-6.
- BALDRICK, P. **Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance**. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2000;32(2):210-8.
- BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. **Os perigos para a segurança alimentar o processamento de alimentos**. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada. 1ed. 2003.
- BEZERRA, M. D. S.; MALAQUIAS, G. D. S.; CASTRO E SOUSA, J. M. D.; PERON, A. P. Cytotoxic and genotoxic potential of powdered juices. *Food Science and Technology*, Campinas, v. 36, n. 1, p. 49-55, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.006>.
- BIANCHI, J.; MANTOVANI, M.S. Y 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 Science*, Pequim, v. 36, p. 102-111, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2015.03.034>.
- BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Básica. Módulo 11: **Alimentação saudável e sustentável**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007.
- CALIXTO, J. B.; 2000. **Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytoterapeutic agents)**. *Braz J Med Biol Res* 33: 179-189.

- 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**, Oxford, v.72, n.5, p.722-725, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.056>.
- CARVALHO, F. R., Moura, A. G., Rodrigues, G. F., Nunes, N. M., Lima, D. J., Pessoa, C., ... & Peron, A. P. (2016). **Are salty liquid food flavorings in vitro antitumor substances?**. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88(3), 1419-1430.
- DEVALARAJA S, Jain S, Yadav H. **Exotic fruits as the therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome**. *Food Research International*. 2011; 44(7):1856-65.
- DONNO, D.; BECCARO, G. L.; MELLANO, M. G.; CERUTTI, A. K.; BOUNOUS, G. Gojiberry fruit (*Lycium* spp.): antioxidant compound fingerprint and bioactivity evaluation, **Journal of Functional Foods**, 2014.
- FIGUEREDO, D. R. de. **Avaliação da citotoxicidade do extrato hídrico da erva doce (*Pimpinella anisum* L.)** através do teste em *Allium cepa* L. 2014.
- FLORÉZ-MARTÍNEZ, S. et al. **Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes**. *Nutrición Hospitalaria*. Espanha: v.17, n. 6, p.271-278, 2002.
- GARCIA-ARIETA, A. (2014). Interactions between active pharmaceutical ingredients and excipients affecting bioavailability: Impact on bioequivalence. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 65(18), pp. 89-97.
- GOMES, K.M.S.; OLIVEIRA, M.V.G.A.; CARVALHO, F.R.S.; MENEZES, C.C.; PERON, A.P. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tartrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, n. 1, p.218-223, 2013. . <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013005000012>.
- HAYWOOD, A. e GLASS, B. D. (2011). **Pharmaceutical excipients – where do we begin?**. *Australian Prescriber*, 34(4), pp. 112-114.
- HERRERO, O.; MARTÍN, J. P.; FREIRE, P. F.; LÓPEZ, L. C.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M. J. **Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of *Allium cepa* test**. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 743, p. 24-34, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.12.028>.
- HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; GARCÍA, O. P.; ROSADO, J. L.; GOÑI, I. **The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety**. *Food Research International*, v. 44, n. 5, p. 1182–1189, 2011.

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

KALÁSZ H., ANTAL I. **Drugexcipients.** *CurrMedChem.* 2006;13(21):2535-63.

KONISHI, Y.; HAYASHI, S. M.; FUKUSHIMA, S. Regulatoryforumopinionpiece*: supportingtheneed for internationalharmonizationofsafetyassessments for foodflavoringsubstance. **ToxicologicPathology**, v. 42, n. 6, p. 949-953, 2014. <http://dx.doi.org/10.1177/0192623313495603>.

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>.

LUCAS, C.D., HALLAGAN, J.B., TAYLOR, S.L. **The role of natural color additives in foodallergy.** *AdvFoodNutr Res* 2001; 43:195-216.

LONGHIN, S. R. **Estudo da degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos.** Tese de Doutorado submetida ao Programa de Doutorado em Química, do Instituto de Química da Universidade de Brasília. 2008.

MAGALHÃES BH, Camargo MF, Higuchi CT. Indicação de uso de espécies vegetais para o tratamento da celulite com fins cosméticos. **Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade.** 2013;8:61-82.

MOREIRA, M.R.; PONCE, A.G.; DEL VALLE, C.E.; ROURA, S.I. Inhibitoryparametersofessentialoilstoreduce a foodbornepathogen. *LWT- Food Science and Technology*, v.38, n.5, p.565-570, 2005.

NASCIMENTO, W. M., SOUZA, L. M. S., COSTA, D. D. A. F., OLIVEIRA, R., MONTE, S. M., SILVA, G. C. E., ... &MAIA FILHO, A. L. M. **GenotoxicityofGoji Berry (Lyciumbarbarum) In Vivo MammalianCells.**

ORTEGA-RAMIREZ, L.A. et al. Potentialof medicinal plants as antimicrobialandantioxidantagents in foodindustry: a hypothesis. **Journal Food Sci.** 2014 feb; 79(2): p129-37. doi: 10.1111/1750-3841.12341. Epub 2014 jan 21.

PIFFERI G.;RESTANI P.,**The safetyofpharmaceuticalexcipients.** *Farmaco.* 2003;58(8):541-50.

POTTERAT, O. (2010). **Goji (Lyciumbarbarumand L. chinense): phytochemistry, pharmacologyandsafety in the perspective oftraditional uses andrecentpopularity.** *Planta medica*, 76(01), 7-19.

PRISTA, L. V. N.; ALVES, A. C.; MORGADO.R; LOBO. J.S. **Técniologia Farmacêutica.** 6. ed.v.1. Lisboa: Fundação CalousteGulbenkian, 2002.

RAMALHO V. C., JORGE N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos.** *Química Nova.* 2006;29(4):755.

ROSA, R.L.; BARCELOS, A.L.V. and BAMPI, G. Investigação do uso de plantas medicinais no tratamento de indivíduos com diabetes melito na cidade de Herval D' Oeste - SC. **Rev. bras. plantas medicinais.** 2012, vol.14, n.2, pp. 306-310.

RUSSELL A. D. **Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and food and pharmaceutical preservatives.** *J Appl Microbiol.* 1991;71(3):191-201.

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.

SANTANA, G.M.; DEUS, M.S.M.; SOUSA, J.M.C.; FERREIRA, P.M.P.; FERNANDES, H.B.; PERON, A.P. (2016). **Antimitotic and antimutagenic action of the *Hymenaea stigonocarpa* bark on dividing cells.** *Brazilian Journal of Biology,* v. 76, n. 2, p. 520 – 525, 2016.

SEEL, P.; MURRIEL, G. **Flora of Britain and Ireland.** Cambridge, p.325-326, 2009.

SILVA, Juno Ceniz Fernandes, and Cláudia Helena DEGÁSPARI. **"PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E EFEITOS ADVERSOS DA “GOJI BERRY” (*Lycium barbarum* L.)."** *Anais do EVINCI-UniBrasil* 1.4 (2016): 186-200.

SONI, M. G.; BURDOCK G. A., TAYLOR S.L., GREENBERG N.A. **Safety assessment of propylparaben: a review of the published literature.** *Food Chem Toxicol* 2001; 39:513-32.

TABREZ, S.; SAHKIL, S.; UROOJ, M.; DAMANHORI, G.A.; ABUZENADAH, A.M.; AHMAD D. Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an overview 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>.

TEUBER S. S. **How can foods, additives and drugs affect the patient with asthma?** In: Gershwin ME, Albertson TE, eds. *Bronchial asthma: a guide for practical understanding and treatment.* 5th ed. New Jersey: Humana PrInc; 2006. p. 251-78.

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.

VICENTINI V. E. P., CAMPAROTO M. L., TEIXEIRA R.O., MANTOVANI M, S. 2001. ***Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissampelos* L.:** medicinal herbal tea effect on vegetal and test systems. *Acta Scientiarum* 23: 593-598.

VILLANOVA, JCO e SÁ, VR. (2010). **Aplicações farmacêuticas de polímeros.** *Ciência e Tecnologia,* 20(1), pp. 51-64.

YANG, R. F., ZHAO, C., CHEN, X., CHAN, S. W., & WU, J. Y. (2015). Chemical properties and bioactivities of Goji (*Lycium barbarum*) polysaccharides extracted by different methods. **Journal of Functional Foods**, 17, 903-909.

ZHANG Z., LIU X., WU T., LIU J., ZHANG X., YANG X., et al. **Selective suppression of cervical Helicobacter cells by 2-O- β -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L.** Springer Science + Business Media Res 2010; 27:107-21.

ZHONG, Y.; SHAHIDI, F.; NACZK, M. HUI : **Food Science And Technology : Dried Fruits : Phytochemicals and health effects.** Somerset, USA: John Wiley & Sons, P.133-141, 2012.



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
"JOSÉ ALBANO DE MACEDO"**

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
 () Dissertação
 (X) Monografia
 () Artigo

Eu, Wibora Wayane Araújo Moura,
 autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de
 02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
 gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
Potencial tóxico do fruto goji berry, associado a excipim
 dos artificiais e in natura frente a tecido de intima proliferação celular.
 de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
 de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 26 de abril de 2017.

Wibora Wayane Araújo Moura
Assinatura

Wibora Wayane Araújo Moura
Assinatura