



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

MICHELE VIEIRA DA SILVA LIMA

**Análise da citotoxicidade e genotoxicidade de *Hibiscus sabdariffa* L. *in natura*
e industrializado**

**PICOS-PI
2017**

MICHELE VIEIRA DA SILVA LIMA

**Análise da citotoxicidade e genotoxicidade de *Hibiscus sabdariffa* L. *in natura*
e industrializado**

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

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Peron

FICHA CATALOGRÁFICA

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

L732a Lima, Michele Vieira da Silva.

Análise da citotoxicidade e genotoxicidade de *Hibiscus sabdariffa* L. *in natura* e industrializado / Michele Viera da Silva Lima.– 2017.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (37 f.)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2018.
Orientador(A): Prof. Dra. Ana Paula Peron

1. *Hibiscus*. 2. Divisão Celular. 3. Alterações Celulares. I. Título.

CDD 571.6

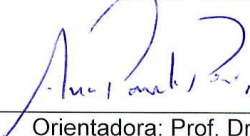
MICHELE VIEIRA DA SILVA LIMA

Análise da citotoxicidade e genotoxicidade de *Hibiscus sabdariffa* L. in natura e industrializado

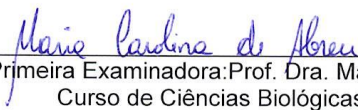
Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Monografia aprovada em 13 / 11 / 2017

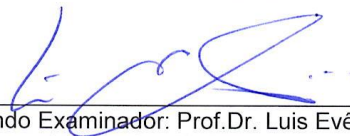
BANCA EXAMINADORA



Orientadora: Prof. Dra. Ana Paula Peron
Curso de Ciências Biológicas – UFPI/CSHNB



Primeira Examinadora: Prof. Dra. Maria Carolina de Abreu
Curso de Ciências Biológicas- UFPI/CSHNB



Segundo Examinador: Prof. Dr. Luis Evêncio da Luz
Curso de Ciências Biológicas- UFPI/CSHNB

**PICOS-PI
2017**

Dedico este trabalho a minha família, em especial aos meus pais por todo o amor e dedicação, pelo exemplo de vida que são, e por acreditarem em mim e nunca me deixar desistir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por me conceder esta oportunidade, a minha mãe Francisca Maria pelo exemplo de mulher que és e pela sua fé firme, ao meu pai José Expedito (Zé Lima), pelo apoio e investimentos em mim e por todo o cuidado de ambos, aos meus irmãos Natanael Vieira e Renan Vieira pelo carinho e palavras de apoio sempre ao longo dessa caminhada.

A minha segunda mãe minha tia querida e admirada Adélia Maria que nunca deixou de acreditar em mim e por todo o apoio e ajuda meu muito obrigado. As minhas irmãs por escolha Clarice Moura Guedes e Jessica Maria Monteiro Luz e Maria Daniella Ribeiro minha gratidão e carinho a vocês, as meninas e meninos do laboratório de pesquisa I, presentes de DEUS, nessa etapa da minha vida pela ajuda e amizade, em especial a Tamires Silva e Ana Paula Soares pelas maravilhosas conversas, gargalhadas e aprendizado, vocês são tops.

Grata a Fabelina, Karielly, João Paulo e Romário por todos os momentos juntos e apoio e a todos os demais que fizeram parte deste sonho, aprendi demais com cada um de vocês, aprendi a admirá-los e já possuem um espaço especial no meu coração. Ao meu grande amigo Henrique Pontes pela sua amizade e por toda ajuda e companheirismos.

Aos meus novos amigos de corredores Adriana Gonçalves e João Batista pela amizade e, apoio e por todas as palavras e atitudes de incentivo meu muito obrigado. A CBBN, congregação Batista Belo Norte por todas as orações direcionadas a mim.

A cada professor do curso de ciências biológicas que tive o privilégio de conviver e crescer em conhecimento, em especial a minha co-orientadora Maria Carolina por toda a ajuda e incentivo desse sonho.

A minha orientadora professora doutora Ana Paula Peron, por ter me aceitado como orientanda e por acreditar em mim, pela oportunidade da pesquisa e por toda a sua dedicação e compromisso minha gratidão à senhora. E por todos aqueles que não foram citados, mas que contribuíram diretamente para a concretização deste sonho minha gratidão a todos.

*Mas os que confiam no senhor renovarão as suas forças,
subiram com asas como águias; correrão e não se cansarão;
caminharão e não se fadigarão. Isaías 40-31*

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 - Planta <i>Hibiscus</i>	14
Figura 2 - Morfologia do fruto do <i>Hibiscus</i>	14
Figura 3 - Principais fases da divisão mitótica.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS

% – Percentagem

°C – Graus Celsius

± – Mais ou menos

A. cepa – *Allium cepa*

ANVISA – Agência nacional de Vigilância Sanitária

CFF – Conselho Federal de Farmácia

CFN – Conselho federal de Nutrição

CFO – Conselho federal de Odontologia

cm – Centímetro

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

g – Grama

h – Horas

IM – Índice mitótico

H. sabdariffa – *Hibiscus sabdariffa*

LF – Laboratórios Farmacêuticos

m – Metros

mL – Mililitro

OMS – Organização Mundial da Saúde

X² – Teste estatístico Qui-quadrado

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Índices mitóticos observados em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48h, a três concentrações de chás de flores de *Hibiscus sabdariffa* nas concentrações 0,10; 0,20 e 0,40 g/mL, e aos dois produtos industrializados desta planta, referidos como LF A e B, nas concentrações 0,15; 0,30 e 0,60 g/mL. Para cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^223
- Tabela 2** - Tipos e número de alterações celulares observados em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48h, a *Hibiscus sabdariffa* industrializado, nas concentrações 0,15; 0,30 e 0,60 g/mL, oriundo de um laboratório farmacêutico, identificado como LF A. Para cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^224

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
3 MATERIAIS E METODOS	20
3.1 Obtenções do fruto do <i>Hibisco sabdariffa</i> nas formas in natura e industrializado	20
3.2 Determinações das concentrações do <i>Hibisco sabdariffa</i> para análise.	20
3.3 Testes de citotoxicidade em células meristemáticas de raízes de <i>Allium cepa</i> ...	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERÊNCIAS	29

RESUMO

As flores de *Hibiscus sabdariffa* são utilizadas na prevenção e tratamento de doenças. Suas flores são encontradas *in natura*, utilizadas para consumo em chá; e industrializada, ingeridas como produto farmacêutico acrescidos de aditivos excipientes. A utilização de excipientes é polêmica em razão de serem poucos os estudos de avaliação de toxicidade sobre esses aditivos. Assim, torna-se relevante a avaliação do potencial tóxico de produtos aditivados por tais compostos. Dessa forma, objetivou-se avaliar, em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, nos tempos de exposição 24 e 48 horas, o potencial citotóxico e genotóxico de flores de hibiscus em chá nas concentrações 0,10; 0,20 e 0,40 g/mL; e industrializadas, oriundas de laboratórios farmacêuticos, identificados como A e B, nas concentrações 0,15; 0,30 e 0,60 g/mL. Também se comparou a toxicidade obtida entre as formas de hibiscus analisados. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que as três concentrações de chá da planta não foram citotóxicas e nem genotóxicas as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. No entanto, as três concentrações de hibiscus referentes a LF B, bem como as três de LF A, foram citotóxicas e genotóxicas aos meristemas de raízes, respectivamente. Verificou-se diferença de toxicidade celular entre o hibiscus *in natura* e os aditivados.

Palavras-chave: *Hibiscus*, excipientes, divisão celular, alterações celulares, tecido meristemático.

ABSTRACT

The flowers of *Hibiscus sabdariffa* are used in the prevention and treatment of diseases. Its flowers are found *in natura*, used for consumption in tea; and industrialized, ingested as a pharmaceutical product plus excipient additives. The use of excipients is controversial because of the few toxicity evaluation studies on these additives. Thus, it is relevant to evaluate the toxic potential of products added by such compounds. The aim was to evaluate the cytotoxic and genotoxic potential of hibiscus flowers in tea at concentrations of 0.10, in meristematic cells of *Allium cepa* roots at 24- and 48-hour exposure times; 0.20 and 0.40 g/ml; and industrialized, from two different pharmaceutical laboratories, identified as A and B, at concentrations of 0.15; 0.30 and 0.60 g/ml. The toxicity between the hibiscus forms analyzed was also compared. From the results obtained, it was verified that the three tea concentrations of the plant were neither cytotoxic nor genotoxic the meristematic cells of roots of *A. cepa*. However, the three concentrations of hibiscus for LF B, as well as the three of LF A, were cytotoxic and genotoxic to the root meristems, respectively. There was a difference in cellular toxicity between hibiscus *in natura* and the supplemented.

Keywords: *Hibiscus*, excipients, cell division, cellular alterations, meristematic tissue.

1 INTRODUÇÃO

A *Hibiscus sabdariffa* L. (Família Malvaceae), planta originária da Índia, Sudão e Malásia, é conhecida popularmente no Brasil como hibiscus, azedinha, azeda-da-guiné, caruru-azedo e vinagreira. É classificada como um arbusto perene, em média com 3 m de altura, usada como fonte alimentar para ruminantes e também como matéria-prima para a produção de papel e tecido na indústria. Na medicina, suas flores são amplamente utilizadas como diurético antimicrobiano e antioxidante, e no tratamento de distúrbios gastrointestinais e infecções hepáticas (MACEDO et al., 2017).

As flores de hibiscus são constituídas por altas concentrações de compostos fenólicos, ácidos orgânicos, esteroides, terpenóides, polissacarídeos e minerais. Dentre os compostos fenólicos reportados na literatura, as antocianinas glicosiladas são as mais abundantes, e consideradas os principais constituintes biologicamente ativos desta planta (JABEUR et al., 2015). Tais flores configuram-se entre os fitoterápicos mais consumidos no Brasil, sendo utilizadas na forma *in natura*, encontrados em ervanários e hortos medicinais; e na forma industrializada, como produto farmacêutico, comercializado em drogarias e provenientes de diferentes laboratórios farmacêuticos (BARROS et al., 2015)

Como procedimento padrão, produtos farmacêuticos naturais, como as flores de hibiscus, durante a industrialização são aditivados por compostos químicos excipientes, que são microingredientes inativos destituídos de atividades terapêuticas e adicionados intencionalmente. Estes ingredientes têm a finalidade de tornar, entre outras características, estes produtos palatáveis e protegidos da ação de microrganismos indesejáveis (VASCONCELOS et al., 2012;). Dentre os aditivos excipientes extensivamente utilizados pelos laboratórios farmacêuticos estão os conservantes, corantes, aromatizantes, edulcorantes, espessantes, emulsificantes e estabilizantes (ARAÚJO; BORIN, 2012). De acordo com Barros et al. (2015), a escolha de um excipiente, bem como sua concentração, para um mesmo produto farmacêutico, natural ou sintético, varia conforme o laboratório farmacêutico que o fabrica.

No entanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em seus regulamentos técnicos, declara que os excipientes 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 tais microingredientes artificiais (BRASIL, 1996; BRASIL, 2007).

De acordo com Konishi et al. (2012), Moura et al. (2016), Carvalho et al. (2016), Bezerra et al. (2016) e Sales et al. (2017), os efeitos adversos observados a partir destas avaliações 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.

Os bioensaios vegetais são considerados apropriadamente sensíveis e simples no monitoramento dos efeitos tóxicos em nível celular de compostos químicos (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; CAMPOS-VENTURA; MARIN-MORALES, 2016). Dentre eles, os meristemas de raízes de *Allium cepa* L. (cebola) são considerados no meio científico um eficiente ensaio para o *scrennig* inicial 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). Ademais, é um sistema 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., 2012; LACERDA et al., 2014; CAMPOS-VENTURA; MARIN-MORALES, 2016; MOURA et al., 2016, SANTANA et al., 2016).

Assim, com base no contexto abordado, foram objetivos do presente estudo avaliar, por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa*, o potencial citotóxico e genotóxico de flores de *H. sabdariffa* nas formas *in natura* e industrializadas, e verificar se possuem toxicidade diferente entre si.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O uso de plantas medicinais tem sido um costume na nossa sociedade sendo utilizada para prevenção de doenças, desde os primórdios da civilização, e os países em desenvolvimento têm usado estas plantas durante séculos como um tratamento alternativo para problemas de saúde (FACCIN et al., 2016). Para a Organização Mundial de Saúde - OMS planta medicinal é: “qualquer planta que possui, em um dos órgãos ou em toda planta, substâncias com propriedades terapêuticas ou que sejam ponto de partida na síntese de produtos químicos ou farmacêuticos” (OMS, 2017). Outra forma de utilização das plantas se dá por meio dos seus extratos, denominados de fitoterápicos, obtidos dos princípios ativos da droga vegetal e se apresentam no mercado na forma de comprimidos ou cápsulas que podem ser manipulados ou industrializados (PERREIRA, 2013).

No Brasil é notável a difusão do uso de plantas medicinais, onde grande parte da população utiliza-se desse conhecimento, muitas vezes de forma indiscriminada, mostrando-se resistentes em acreditar que até mesmo tais vegetais podem apresentar perigo potencial de reações adversas e efeitos tóxicos ao organismo. (MENDIETA et al., 2014). A maioria das plantas usadas com esse fim apresenta em sua composição flavonoides, alcaloides, terpenos, taninos e esteróis, dentre outras substâncias químicas, que podem ser potencialmente tóxicas (MALAQUIAS et al., 2014).

Em razão desse pensamento, muitos indivíduos acabam recebendo atendimento médico decorrente do uso abusivo de chás ou de misturas contendo variadas espécies de plantas (MENDIETA et al., 2014). O uso desses recursos naturais é uma prática milenar, da qual o homem é o protagonista, ultrapassando todos os obstáculos do processo evolutivo e chegando até os dias atuais, sendo aplicada a toda população mundial (SALVI; HEUSER, 2008). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população de países em desenvolvimento utilizam-se de práticas tradicionais na atenção primária à saúde e, desse total, 85% fazem uso de plantas medicinais (Rosa et al., 2011).

É incontestável que produtos naturais com ações terapêuticas, como frutos, folhas, caules e raízes, são de grande importância na amenização e/ou cura de doenças para as mais diferentes populações em todo o mundo (FEITOSA et al., 2016). 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).

Entretanto Indicações terapêuticas só podem estar vinculadas aos produtos registrados como fitoterápicos, quando estes forem denominados novos alimentos ou drogas vegetais, levando em conta a segurança da eficácia que garante a qualidade e constância da sua reprodução (BRASIL, 2014). Fitoterápicos são produtos obtidos de matéria-prima ativa vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, podendo ser simples, quando o ativo é proveniente de uma única espécie vegetal medicinal, ou composto (BRASIL, 2014). Sendo assim o tratamento com medicamentos deve ser feito sob orientações específicas e com muitos cuidados, devido aos inúmeros riscos à saúde gerados pelos efeitos adversos dos fármacos, disponíveis no mercado (Bernardes, et al 2014).

O processo de comercialização, produção e vinculações de propriedades funcionais e indicações terapêuticas para produtos de origem vegetal em território nacional devem estar de acordo com a legislação vigente e as normas de segurança qualidade e eficácia estabelecidos pela (ANVISA) (BRASIL, 2014).

Na medicina, a fitoterapia não é considerada uma especialidade, entretanto, dentre os profissionais habilitados a prescrever fitoterápicos estão somente cirurgiões dentistas, farmacêuticos e nutricionistas que possuem a legislação específica para reconhecer e regulamentar a prescrição de fitoterápicos (CFO, 2008; CFF, 2011; CFN, 2013). Nacionalmente destaca-se a variedade *sabdariffa* L., com cálice vermelho que possui várias funcionalidades, pode ser consumido tanto na alimentação humana como ingrediente nas preparações culinárias, bem como medicamento na medicina funcional e oriental (ROCHA et al.,2014).

A *Hibiscus sabdariffa* é uma planta medicinal pertencente à família Malvaceae podendo ser encontrada principalmente na Índia ou na Arábia Saudita (Figura1). Conhecida popularmente, como azedinha, azeda-da-guiné, caruru da-guiné, chá-da-Jamaica, pampolha, Pampulha, quiabeiro-azedo, quiabo-azedo, quiabo-de Angola, quiabo-róseo, quiabo-roxo, rosélia e vinagreira (RAMOS, 2011). Seu cultivo é observado tanto no clima tropical quanto em subtropicais (ROCHA et al, 2014). Esta planta é um arbusto perene de ciclo anual que possui cerca de 2 a 3 m de altura (RAMOS, 2011). Existem catalogadas cerca de 300 espécies desta família, variadas

de ervas anuais ou perenes, arbustos ou árvores (ROCHA et al., 2014; ESTEVES et al., 2014).

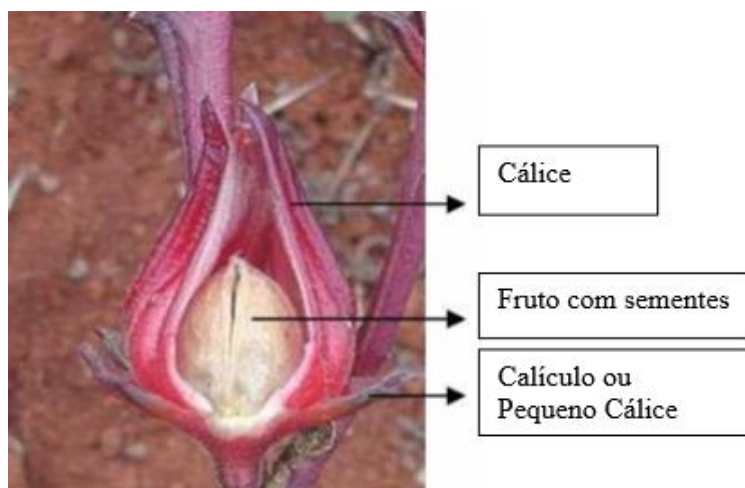
Figura 1 - Planta *Hibiscus*



Fonte: ROSA, 2013.

Seus cálices possuem um formato de taça vermelha, de caule arroxeadado, com folhas alternando de verde a roxo, e flores solitárias, axilares que duram cerca de um dia (SOBOTA et al, 2016). O fruto (Figura 2) possui cerca de 2 cm de comprimento e abriga sementes (ROSA, 2013).

Figura 2 - Morfologia do fruto do *Hibiscus*



Fonte: Rosa, 2013

Estudos apontam que a *H. sabdariffa* possui alto teor de ácido ascórbico, vitamina A e licopeno (ROSA, 2013), íons de sódio e de Ferro (IYARE et al., 2010); polissacarídeos, pectinas mucilaginosas (LINARES et al., 2015); polifénóis como: ácidos orgânicos, ácidos protocateicos, taninos e compostos fenólicos. A pectina é um oligossacarídeo e polissacarídeo, destacando-se na fitoquímica por apresentar em sua constituição o ácido galacturônico, assim sendo seu alto índice de pectina total confere a planta um alto nível de conservação do fruto pós-colheita, além de também atuar na textura material da planta (Souza et al., 2014). Na medicina antiga seu extrato é efetivo em vários tratamentos (IYARE et al, 2010).

No campo científico a planta apresenta vários efeitos terapêuticos, como hepatoprotetor, mostrando alterações bioquímicas e histológicas em ratos que possuíam diabetes mellitus (ADEYEMI et al, 2014); melhora a diminuição da acumulação lipídica induzida pelo fígado, na obesidade (HUANG et al, 2015); atividade antioxidante, anticolesterol (RAMOS, 2011); anti-hipertensivo agindo como vaso dilatador no musculo liso vascular (MICUCCI et al, 2015); antibacteriano (ROCHA et al, 2014); Sendo Droga promissora para o combate do vírus influenza (BAATARTSOGT et al, 2016); além de possuir grande potencial em células antitumorais (FORMAGIO et al., 2015). Culturalmente é utilizado como diurético, para o tratamento de desordem intestinal e antipirético (ROSA, 2013).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da portaria nº- 519 de 1998 (BRASIL, 1998) consideram que as flores do hibisco podem ser consumidas em formas de chás, preparadas por infusão e decocções. Chá é a segunda bebida mais consumida no mundo, e o chá feito das flores do hibisco (*H. sabdariffa*) é apreciado pelas suas flores e suas supostas qualidades medicinal. Estudos comprovaram que o preparado feito em água quente favorece a extração de compostos fenólicos e dos flavonoides, conseqüentemente influenciando na atividade antioxidante dos extratos (PRENESTI et. al., 2007; SINDI; MARSHAL; MORGAN, 2014). Suas preparações comerciais de concentrados são comumente encontradas como fluido ou pó para produção de bebidas instantâneas tisanas. (ROCHA, 2014).

O chá a partir do cálice da flor contém polissacarídeos em boas quantidades, açúcares como glicose e frutose, além de ser rico em cálcio, magnésio, ácidos como tartárico, succínico, málico, oxálico, cítrico além de ferro e vitaminas A e C e quantidade significativa de fibras alimentares (EMBRAPA, 2011). Uma boa

alternativa terapêutica para o tratamento de obesidade são os fitoterápicos, e dentre os quais, a população tem procurado infusos compostos de 7e 30 ervas, que apesar de serem naturais não são isentos de riscos, sendo importante avaliar a toxicidade dessas preparações (SILVA, 2013). 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).

De acordo com Araújo; 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.

Dentre as classes de excipientes sintéticos extensivamente utilizados para estes fins estão os conservantes, corantes, aromatizantes, edulcorantes, estabilizantes e antieméticos (MOURA et al., 2016). Os conservantes são complexos 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 designados para o uso por meio de caráter eliminatório juntamente com base no regulamento do uso de substâncias com conservantes permitidos (HAYWOOD; GLASS, 2011). Além de serem incolores, inodoros, hidrossolúveis e terem amplo espectro de ação, usados geralmente em concentrações de 1% que não ultrapassem composição do medicamento (ARAÚJO; BORIN, 2012).

De acordo com Barros; Barros (2010), a classificação dos corantes artificiais, também chamados de sintéticos, leva em consideração a estrutura química de suas moléculas. A maioria destes corantes vem da anilina, nome genérico daquele corante líquido que se encontra facilmente no supermercado nos tons azuis, laranja, amarelo ou vermelho, e que ainda é muito utilizada para dar cor ao açúcar cristal e aos doces em geral.

No Brasil, conforme explicam Barros; Barros (2010), os corantes artificiais autorizados são classificados nas seguintes categorias: corante azo; corantes

trifenilmetanos; corantes indigóides; e, corantes xanteno. Os corantes naturais são derivados de plantas ou animais e os corantes artificiais são sintetizados em laboratório (BALBANI, 2006).

Na indústria farmacêutica a coloração é um dos atributos essenciais de consonância com o princípio ativo do medicamento, estes têm por função melhorar o aspecto 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).

Os antioxidantes como excipientes farmacêuticos são usados na proteção da formulação de qualquer processo oxidativo, sua principal função é impedir ou prolongar processos oxidativos dos fármacos, contudo alteram a função dos demais excipientes presentes nas formulações (GONÇALVES, 2016).

Segundo Araújo e 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. Outra substância utilizada na produção de alimentos, bebidas e formulações farmacêuticas são os edulcorantes ou adoçantes, estes proporcionam um sabor doce aos produtos.

Na indústria farmacêutica os edulcorantes são empregados em medicamentos líquidos e mastigáveis devidos apresentarem sabor normalmente desagradável, os principais adoçantes utilizados com esse fim, 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.

Os aromatizantes 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 (BALBANI, 2006).

A toxicidade causada pelos excipientes pode ocorrer em toda a população ou em grupos específicos. Na população em geral, a toxicidade é devida ao excesso da dose desses compostos, o que pode causar imunotoxicidade, alergia e intolerância. Já em grupos específicos, a toxicidade pode ser devida à presença de doenças crônicas, à predisposição genética ou à idade dos pacientes (Tonazio et al,2011).

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.

Na atualidade, há um grande debate com relação à segurança dos conservantes químicos, devido seu consumo serem associados a processos carcinogênicos e tetra gênico e toxicidade residual (ORTEGA-RAMIREZ et al., 2014). Posto isto 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 citotóxica é basicamente medida pela taxa de crescimento celular e pode ser observada microscopicamente (FIGUEREDO, 2014).

Sendo assim o sistema teste *A. cepa* é amplamente utilizado na detecção dos efeitos citotóxicos presentes em plantas medicinais e seus derivados, as alterações cromossômicas observáveis nas plantas por meio deste teste, muitas vezes estão relacionados à presença de agentes mutagênicos na sua composição ou ao próprio metabolismo da planta (BAGATINI et al., 2007).

Ancia e Romão, (2016) diante de 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.

Assim observado, dentre os testes, o teste de *Allium cepa* é considerado uma ferramenta prática para a pesquisa básica do potencial genotóxico e citotóxico de produtos químicos, tais como substâncias complexas como extratos de plantas, dejetos industriais e águas contaminadas, particularmente graças a sua elevada sensibilidade, baixo custo, rapidez, facilidade de manipulação e da utilização de amostras sem tratamento prévio (CUCHIARA et al., 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenções do fruto do *Hibisco sabdariffa* nas formas *in natura* e industrializado.

O *Hibiscus sabdariffa* L. (Família Malvaceae) desidratado foi obtido na forma *in natura* e, portanto, sem aditivação de excipientes artificiais, em um ervanário localizado na cidade de Teresina, Piauí Brasil, especializado na comercialização de produtos naturais. Na forma industrializada, o fruto do hibisco em pó, foi adquirido em uma farmácia na cidade de Teresina, Piauí, Brasil, representante de uma rede nacional de drogarias. Os produtos industrializados, oriundos de dois laboratórios farmacêuticos (LF), foram discriminados na presente pesquisa de A e B.

3.2 Determinações das concentrações do *Hibisco sabdariffa* para análise.

Para a determinação das concentrações de hibiscus a serem analisadas quanto à toxicidade em nível celular, utilizou-se como parâmetro de definição a forma de preparo e ingestão indicada nos rótulos de cada produto, *in natura* e industrializada. Para o produto *in natura* recomendava-se o preparo de chá a partir de 200 g de flores para um litro de água fervente. Assim, as concentrações definidas para análise do chá foram: 0,10; 0,20 e 0,40 g/mL. Para os dois produtos industrializados, recomendava-se ingerir 60 g de flores em pó diluídas em 200 mL de água, definindo-se para análises as concentrações 0,15; 0,30 e 0,60 g/mL. Para o preparo de todas as concentrações utilizou-se água destilada.

3.3 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. Para análise de cada amostra de hibiscus estabeleceu-se um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas amostras de hibisco (tratamentos), algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de

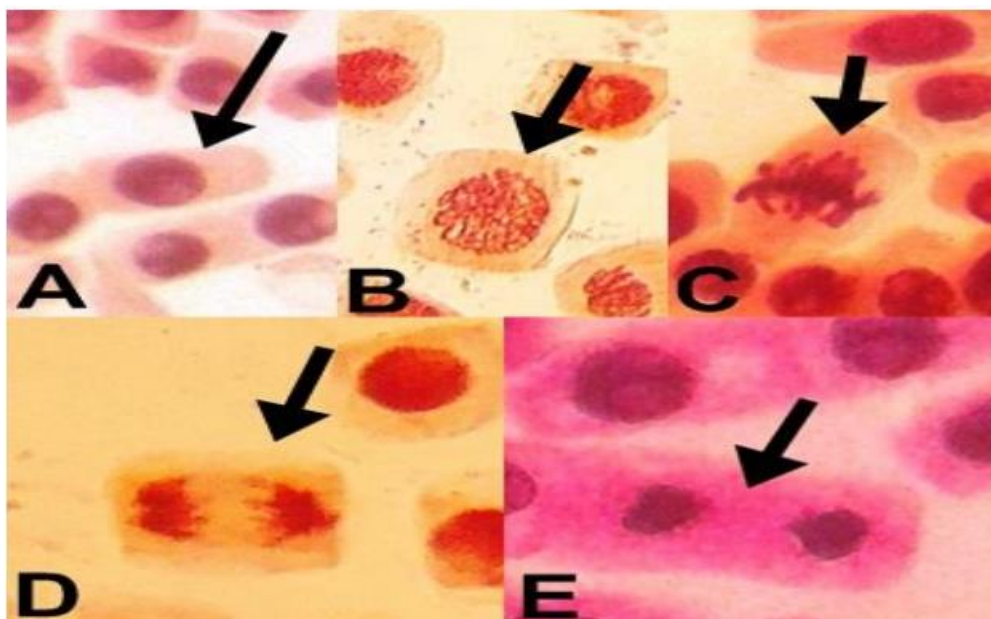
controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram postas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.

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 Hibiscos 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, retiraram-se, em média, três raízes por bulbo.

As lâminas, em média 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra; Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x. 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 hibisco 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 do hibisco sabdariffa nas formas analisadas

Foram contabilizadas células em interfase e em divisão celular (Figura 3) e estabelecido o índice mitótico, que serviu como parâmetro para a determinação da citotoxicidade. Ainda, avaliou-se a genotoxicidade através da frequência de micronúcleos, e de alterações aneugênicas ou de fuso mitótico, como metáfases colchícinicas, pontes anáfasicas e telofásicas, ampliações gênicas, células com aderências, brotos nucleares e anáfases multipolares. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste estatístico Qui-quadrado (χ^2) a 5% (AYRES et al., 2007).

Figura 3: Principais fases da divisão mitótica
A. Célula em interfase. **B.** Célula em prófase. **C.** Célula em metáfase. **D.** Célula em anáfase. **E.** Célula em telófase.



Fonte: Sales, 2016.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados apresentados na Tabela 01, verifica-se que as três concentrações analisadas dos chás de hibiscus, bem como as três concentrações analisadas do produto LF A, nos tempos de análises considerados, não causaram redução estatisticamente significativa da divisão celular nos meristemas de raízes de *A. cepa* quando comparados aos índices mitóticos obtidos para os seus respectivos controles. Assim, o chá e o medicamento LF A, nas condições de estudos estabelecidas, não foram citotóxicos ao bioensaio utilizado. Diferentemente, as três concentrações analisadas do produto LF B, causaram, nas 24 e 48 horas de exposição, expressiva redução da divisão celular dos meristemas de raízes, quando confrontados aos seus específicos tempo de análise 0h, mostrando-se potencialmente citotóxica (Tabela 1). A citotoxicidade observada para LF B foi estatisticamente significativa quando comparada a citotoxicidade obtida para a planta *in natura* e para LF A, considerando os respectivos tempos de exposição entre os produtos analisados.

Tabela 1 – Índices mitóticos observados em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48h, a três concentrações de chás de flores de *Hibiscus sabdariffa* nas concentrações 0,10; 0,20 e 0,40 g/mL, e aos dois produtos industrializados desta planta, referidos como LF A e B, nas concentrações 0,15; 0,30 e 0,60 g/mL. Para cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

<i>Hibiscus sabdariffa</i>	TR (g/mL)	TE/IM		
		0 h	24 h	48 h
Chá	0,10	17,1 ^a	18,4 ^a	15,9 ^a
	0,20	16,1 ^a	17,1 ^a	15,7 ^a
	0,40	15,5 ^a	16,2 ^a	15,8 ^a
LF A	0,15	19,9 ^a	17,1 ^a	16,2 ^a
	0,30	16,3 ^a	18,3 ^a	14,3 ^a
	0,60	19,0 ^a	20,4 ^a	15,3 ^a
LF B	0,15	20,0 ^a	4,0 ^{b*}	12,4 ^{a*}
	0,30	19,3 ^a	8,5 ^{b*}	4,5 ^{b*}
	0,60	19,7 ^a	7,3 ^{b*}	4,3 ^{b*}

TE: tempo de exposição; IM: índice mitótico; LF: laboratório farmacêutico; TR: tratamento. Valores seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si

pelo teste χ^2 , ao nível de 5%. Valores seguidos de asteriscos diferem significativamente pelo teste χ^2 dos valores obtidos para o chá e para LF A, considerando os mesmos tempos de exposição.

Porém, apesar de não citotóxicas aos sistemas teste *A. cepa*, todas as concentrações referentes aos hibiscos LF A promoveram, em número significativo, alterações celulares aos tecidos analisados, mostrando-se potencialmente genotóxicas (Tabela 02). Diferentemente, o produto LF B, que causou efeito inibidor acentuado na proliferação celular, não induziu alterações celulares aos meristemas de raízes.

Tabela 2 - Tipos e número de alterações celulares observados em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos, por 24 e 48h, a *Hibiscus sabdariffa* industrializado, nas concentrações 0,15; 0,30 e 0,60 g/mL, oriundo de um laboratório farmacêutico, identificado como LF A. Para cada tratamento foram apresentados os valores significativos de χ^2 .

<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Concentração (g/mL)	TE	MC	PAT	MCN	TAC
LF A	0,15	CO	00	00	01	01 ^a
		24h	14	17	14	45 ^a
		48h	10	13	13	36 ^a
	0,30	CO	00	00	01	01 ^a
		24h	27	21	11	59 ^b
		48h	14	13	09	36 ^b
	0,60	CO	00	00	01	01 ^a
		24h	19	07	23	49 ^b
		48h	13	13	04	30 ^b

LF: laboratório farmacêutico; CO – Controle; TE – Tempo de Exposição; MC – metáfase C; PAT: ponte anafásica/telofásica; MCN: micronúcleo; TCA: Total de alterações celulares. Valores seguidos da mesma letra dentro de um mesmo tratamento não diferem significativamente entre si pelo teste χ^2 , ao nível de 5%.

De acordo com Herrero et al. (2012), índices mitóticos significativamente inferiores aos índices dos seus respectivos controles, como os obtidos para LF B (Tabela 1), podem indicar a presença de agentes cuja ação tóxica compromete o crescimento e o desenvolvimento dos organismos expostos. Ainda, tais autores declaram que a inibição da proliferação celular desencadeada por compostos citotóxicos em tecidos de intensa proliferação celular e com desempenho normal, como os utilizados nesta pesquisa, é bastante prejudicial ao organismo por inibir ou

limitar a reposição de células, alterar a produção de proteínas e resultar no mau funcionamento do órgão onde está localizada.

Ainda, Sales et al. (2016) sugerem que a inibição drástica da divisão em tecidos normais, como a observada na presente pesquisa para este produto, pode ocorrer 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 novas células com alteração significativa na estrutura e/ou no número cromossômico tornam o funcionamento celular inviável e tendem a ser eliminadas de tecidos com desempenho normal, o que pode acarretar efeito antiproliferativo significativo. Tal condição pode ser sugerida para explicar o resultado de citotoxicidade frente a não indução de alterações celulares observada no presente estudo para os produtos LF B.

Ademais, de acordo com Leme; Marin-Morales (2008), a presença expressiva de alterações de fuso mitótico, como as observadas aqui pela ação das concentrações dos hibiscos industrializados LF A (Tabela 02), são consideradas como um importante parâmetro de genotoxicidade de compostos ou substâncias de interesse. É importante mencionar que, de acordo com Queiroz et al. (2015), há sempre correlação positiva entre a frequência de alterações celulares e o desenvolvimento de câncer em mamíferos.

Conforme citado anteriormente, produtos farmacêuticos naturais, como os *H. sabdariffa* industrializados avaliados nesta pesquisa, contém em sua formulação aditivos excipientes artificiais. No entanto, não há discriminado nos rótulos desses produtos, e nem na literatura científica, quais excipientes haviam sido utilizados em suas confecções. A partir dos resultados obtidos, apesar de preliminares para esta planta quanto a temática abordada, mostram que a composição e/ou concentração de aditivos excipientes utilizadas são diferentes nos dois medicamentos industrializados analisados. Também houve diferença de toxicidade, nas condições de estudo estabelecidas, entre o hibiscus nas formas industrializadas e sua forma *in natura*.

A seguir serão relatados resultados de estudos de toxicidade em nível celular de alguns dos compostos excipientes mais comumente utilizados na formulação de produtos farmacêuticos e de alimentos, segundo Moura et al. (2016), 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 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 às células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, uma vez que, causaram inibição da divisão celular e induziram alterações celulares a este sistema teste (GOMES et al., 2013). Ainda, Morrison et al. (2011) constataram que a Tartrazina, o Ponceau 4R e a Eritrosina tiveram potencial em 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 (2002) verificou 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 (VASCONCELOS et al., 2012; COLORCON, 2010).

Van; Amorel (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 a 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.

Em relação aos aromatizantes, os ingredientes de aroma e sabor utilizados em medicamentos são somente os de fruta (BALBANI 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 Zequin et al. (2011), foram citotóxicos e genotóxicos a células normais de sangue periférico humano.

Os resultados de toxicidade em nível celulares mencionados frente a alguns excipientes corroboram aos resultados observados para os Hibiscus industrializados. Assim, os resultados de citotoxicidade para o Hibiscus LF B, e os resultados de genotoxicidade para esta planta referente LF A sinalizam a necessidade de se avaliar os produtos farmacêuticos de Hibiscus quanto à toxicidade, assim como os excipientes presentes nestes produtos, em sistemas testes mais complexos, como em animais, a partir de tratamentos com maiores tempos de exposição, para verificação e aprofundamento dos resultados aqui obtidos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As três concentrações de chá de Hibiscos *in natura* analisadas não foram citotóxicas e nem genotóxicas as células meristemáticas de raízes de *A. cepa*. Porém, as três concentrações de Hibiscus de LF B, bem como as três de LF A, foram citotóxicas e genotóxicas, respectivamente, aos meristemas de raízes.

Sendo assim com os resultados obtidos observamos a necessidade de se testar às concentrações analisadas em outros testes como o com animais, para um maior aprofundamento dos resultados obtidos neste estudo. Visto que os resultados da ação do hibisco industrializado sobre as células de *A. cepa*, são de grande importância uma vez que os estudos sobre a toxicidade desses produtos farmacêuticos, não sejam tão frequentes ou quase não existe.

REFERÊNCIAS

- ADEYEMI.O. D.; UKWENYA, V. O.; OBUOTOR, E. M.; ADEWOLE, S. O. Anti-hepatotoxic activities of Hibiscus sabdariffa L. in animal model of streptozotocin diabetes-induced liver damage. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 14, p. 277, 2014.
- 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, v. 3, n. 2, jan. 2016.
- ARAUJO, A. C. F.; BORIN, M. F. Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos. **Revista. Brasília Med**, Brasília, v. 49, n. 4, p. 267-278, dez. 2012.
- AYRES, M.; AYRES, J. R. M.; AYRES. D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat 5.0 - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Brasília: CNPq, 2007.
- BAATARTSOG, T.; BUI, V. N.; TRINH, D. Q.; YAMAGUCHI, E.; GRONSANG, D.; THAMPAISARN, R.; OGAWA, H.; IMAI, K. High antiviral effects of hibiscus tea extract on the H5 subtypes of low and highly pathogenic avian influenza viruses. **J. Vet. Med. Sci**. v. 78, n. 9, p. 1405–1411, 2016.
- BALBANI, A. P. S.; STELZER, L. B.; MONTOVONI, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. **Rev. Bras. Otorrinolaringol**, v. 72, n. 3, p. 400-406, 2006.
- BARROS, A. L.; OLIVEIRA, D. A.; DELMASCHI, C. R.; ANTUNES, L. M. G.; CHEQUER, F. M. D. Corantes Alimentícios Amarantho, Eritrosina B e Tartrazina, e seus possíveis Efeitos Maléficos à Saúde Humana. **Journal of Applied Pharmaceutical Sciences**. V. 2, n. 3, p. 16-30, 2015.
- BARROS, A. A.; BARROS, E. B. P. **A química dos alimentos: produtos fermentados e corantes**. Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2010.
- 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.
- BERNARDES, Q. C. B.; BORGES, C. C. O crescente uso de medicamento e produtos emagrecedores: Base científicas X dados empíricos. **Interdisciplinaridade, Saberes e Práticas**, Itumbiara, v. 1, n. 1, out. 2014. Disponível em: <<http://www.anais.ueg.br/index.php/cepe/artic le/viewFile/5976/3777>>. Acesso em: 06 out. de 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gerência de Medicamento. Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998. **Aprova o Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e**

Qualidade de “Chás –Plantas Destinadas à Preparações de Infusões ou Decocções”. Diário oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2007 **Resolução da diretoria colegiada RDC nº. 05, de 15 de Janeiro de 2007**. Brasília: ANVISA. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02_170107rdc.pdf>. Acesso em: 25 out. de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Proposta de protocolo mínimo para estudo da toxicidade de produtos fitoterápicos**. Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC Nº 26, de 13 de Maio de 2014- **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Brasília, 2014.**

CAMPOS-VENTURA, B.; MORALES, M. A. D. Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of *Atrazine herbicide* in *Allium cepa* meristematic cells. **SDRPJ journal of Earth Sciences Environmental Studies**, v. 1, n. 1, p. s/n, 2016.

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

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.

CUCHIARA, C. C.; BORGES, C. S.; BOBROWSKI, V. L. Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água. **Revista de Tecnologia & Ciência Agropecuária**, Paraíba, v. 6, n. 1, p. 33-38, mar. 2012.

CFN. Conselho Federal de Nutricionista. **Resolução nº 525 de 25 de junho de 2013**. Disponível em: <<http://www.eficiente/repositório/legislação/resoluções583.pdf>>. Acesso em: 10 jun. de 2017

CFF. Conselho Federal de Farmácia. **Resoluções nº546 de 21 de julho de 2011**. Disponível em: <<http://CFF.org.br/userfiles/file/resoluções/546.pdf>>. Acesso em: 11 jun. de 2017.

CFO. Conselho Federal de odontológico. **Resoluções nº82 de 25 de setembro de 2008**. Disponível em: <<http://CFO.org.br/todas-asnoticias/noticias/normativo/?id=1282>>. Acesso em: 12 jun. de 2017.

EMBRAPA. **Hibisco**: do uso ornamental ao medicinal. Avaliação Fitoquímica e Determinação de Minerais. Disponível em: <<http://www.embrapa.com.br>>. Acesso em: 09 ago. de 2017.

FACCIN, A.; SCHUCH, L. F. D.; SCHIAVON, D. B. A.; GONÇALVES, A. L.; MOTA, F. V.; LESSA, L. F. Utilização do Raddi na antissepsia do teto pré e pós-ordenha em bovinos de leite. **Cienc. anim. bras.** Goiânia, v.17, n.1, p. 90-97 jan./mar., 2016.

FEITOSA, M. H. A.; SOARES, L. L.; BORGES, G. A.; ANDRADE, M. M.; COSTA, S. M. Inserção do Conteúdo Fitoterapia em Cursos da Área de Saúde. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 40, n. 2, p. 197-203, 2016.

FIGUEREDO, C. A. V.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, p. 381-400, 2014.

FORMAGIO, A. S.; RAMOS, D. D.; VIEIRA, M. C.; RAMALHO, S. R.; SILVA, M. M.; ZÁRATE, N. A.; FOGGIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. **Braz. J. Biol.**, v. 75, n. 1, p. 69-76, 2015.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: Um guia de técnicas em cito genética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 191 p.

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, p. 218-223, 2013.

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

HERRERO, O.; MARTÍN, J. P.; FREIRE, P. F.; LÓPEZ, L. C.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M. J. Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 743, p. 24-34, 2012.

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

IYARE, E.; OLUFEYI, A. A.; UCHENNA, I. N. Mechanism of the decreased food consumption and weight gain in rats following consumption of aqueous extract of the calyx of *Hibiscus sabdariffa* during pregnancy. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine** v. 3, n. 3, p. 185–188, 2010.

JABEUR, I.; PEREIRA, E., BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; SOKOVIĆ, M.; OLIVEIRA, M. B. P.; FERREIRA, I. C. *Hibiscus sabdariffa* L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. **Food Research International**, 100, 717-723. 2017.

KONISHI, Y.; SHIM-MO H.; FUKUSHIMA, S. Regulatory forum opinion piece: supporting the need for international harmonization of safety assessments for food flavoring substance. **Toxicologic Pathology**, v. 42, n. 6, p. 949-953, 2014.

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.

LINARES, I. B.; ARROYO, S. F.; ROMAN, D. A.; SUÁREZ, P. A. P.; DÍAZ, R. D. V.; GONZÁLES, I. A.; GUTIÉRREZ, A. F.; LEYVA, J. F. G.; CARRETERO, A. S. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*), **Elsevier. Industrial Crops and Products**, USA. v. 69, p. 385-394. 2015.

MACEDO, A. B.; SILVA, G. C. L.; ALVES, D. C.; CARNEVALLI, L. C.; HOEFEL, A. L. Redução de edema pela administração de castanha-da-índia e hibiscuss em pacientes que fazem tratamento com corticoides. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**. v. 11, n. 65, p. 290-296, 2017.

MALAQUIAS, G.; CERQUEIRA, G. S.; FERREIRA, P. M. P.; PACHECO, A. C. L.; SOUZA, J. M. C.; DEUS, M. S. M.; PERON, A. P. 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.

MENDIETA, M. C.; SOUZA, A. D. Z.; CEOLIN, S.; VARGAS, N. R. C.; CEOLIN, T.; HECK, R. M. Plantas tóxicas: importância do conhecimento para realização da educação em saúde. **Rev enferm UFPE on line**. Recife, v. 8, n. 3, p. 680-686, mar. 2014.

MICUCCI, M. MALAGUTI, M.; TOSCHI, T. G.; LECCE, G.; ALDINI, R.; ANGELETTI, A.; CHIARINI, A.; BUDRIESI, R.; HRELIA, S. Cardiac and Vascular Synergic Protective Effect of *Olea europea* L. Leaves and *Hibiscus sabdariffa* L. Flower Extracts Oxidative. **Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015, p. 1-14, 2015.

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**, v. 76, n. 2, p. 439-443, 2016.

NEVES, E. S.; FERREIRA, P. M. P.; LIMA, L. H.; PERON, A. P. Action of aqueous extracts of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves on meristematic root cells of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 86, p. 1131-1137, 2014.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAUDE. **Publicações da OMS**. Disponível em: <<http://www.who.int/eportuguese>>. Acesso em: 15 out. de 2017.

ORTEGA-RAMIREZ, L. A. RODRIGUEZ-GARCIA, I.; LEYVA, J. M.; CRUZ-VALENZUELA, M. R.; SILVA-ESPINOZA, B. A.; GONZALEZ-AGUILAR, G. A.;

PRENESTI, E.; BERTO, S.; DANIELE, P. G.; TOSO, S. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 433-438, 2007.

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

RAMOS, D. D. Atividade antioxidante de *Hibiscus sabdariffa* L. em função do espaçamento entre plantas. **Ciência Rural**, v. 41, n. 8, p. 1331-1336, ago. 2011..

ROCHA, D. C. I. BONNLAENDERB, B.; SIEVERSC, H.; PISCHELAC, I.; HEINRICHA, M. *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. **Food Chemistry**, v. 165, p. 424-443, 2014.

ROSA, S. E. **Características nutricionais e fitoquímicas em diferentes preparações e apresentações de Hibiscus sabdariffa L. (hibisco, vinagreira, rosela, quiabo-de-angola, caruru-da-guiné) – Malvaceae**. 57 f. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e tecnologia de alimentos, Rio Grande do Sul, 2013.

SALES, I. M. S.; SANTOS, F. K. S.; FEITOZA, L. L.; SOUSA, J. M. C.; PERON, A. P. Toxicity at the cellular level of artificial synthetic flavorings. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 38, p. 297-303, 2016.

SALES, I. M. S.; BARBOSA, J. S.; SANTOS, F. K. S.; SILVA, F. C. C.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Acute Toxicity of Grape, Plum and Orange Synthetic Food Flavours Evaluated in in vivo Test Systems. **Food Technology and Biotechnology**, v. 55, n.1, p. 131-137, 2017.

SALES, I. M.S. Análise citogenética da toxicidade de aditivos aromatizantes sintéticos artificiais. 2016. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Manografia)- Universidade Federal do Piauí, Piauí, 2016.

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

SASAKI, Y. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research**. v. 519, p. 103-119, 2002.

SARDI, M.; HALDEMANN, H.; NORDMANN, B.; BOTTEX, B.; SAFFORD, B.; SMITH, B.; TENNANT, D.; HOWLETT, J.; JASTI, P. R. Use of retailer fidelity card schemes in the assessment of food additive intake: sunset yellow a case study. **Food Additives and Contaminants Part A**, v. 27, n. 11, p. 1507-1515, 2010.

SIDDIQUI, W.; AYALA-ZAVALA, J. F. Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in Food industry: a hypothesis. **Journal Food Sci.** v. 79, n. 2, p. 129-37, fev. 2014.

SILVA, M. E. M. **Estudo de plantas medicinais utilizadas popularmente no tratamento da obesidade em Araranguá.** 2013. 95 f. Dissertação (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 2013.

SINDI, A. H.; MARSHAL, L. J.; MORGAN, M. R. A. Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of Hibiscus sabdariffa. **Elsevier. Food Chemistry, USA.** v.164, n.1, p. 23-29. 2014.

SOUZA, D. C.; SILVA, L. F. L.; NASSUR, R. C. M. R.; COSTA, G. M.; RESENDE, L. V. Avaliação do total de Pectina Contido em Flores de Vinagreira Verde Introduzida no Sul de Minas Gerais. In: XXIII Congresso de Pós-graduação da UFLA, Lavras. **Anais...** 2014.

SOBOTA, J. F.; PINHO, M. G.; OLIVEIRA, V. B. Perfil físico-químico e atividade antioxidante do cálice da espécie Hibiscus sabdariffa L. a partir do extrato aquoso e alcoólico obtidos por infusão e decocto. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 1-93, jan./mar. 2016.

TONAZIO, L.; VILELA, M. M. P.; JESUS, R. R. Reações adversas dos adjuvantes farmacêuticos presentes em medicamentos para uso pediátrico. **HU Revista-UFJF**, v. 37, n. 1, p. 63-68, 2011.

VAN, E.; AMOREL, D. The effect of five artificial sweeteners on Caco-2, HT-29 and HEK-293 cells. **Drug Chemical and Toxicology.** v. 38, p. 318-327, 2015.

VASCONCELOS P. A. F.; ROLIM, L. A.; PEIXOTO, M. S. Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas. **Rev. Bras. Farm**, v. 93, n. 2, p. 136-145, 2012.

ZEQUIN, N. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. **Food Chemical and Toxicology.** v. 49, p. 763-69, 2011.



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

Identificação do Tipo de Documento

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

Eu, **MICHELE VIEIRA DA SILVA LIMA**, 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 “**ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE *HIBISCUS SABDARIFFA* L. IN NATURA E INDUSTRIALIZADO**” 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 13 de Novembro de 2017.

Michele Vieira da Silva Lima
Assinatura