

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO PACOVÁ (*Renealmia pycnostachys* K.Schum) FRENTE A *Artemia salina* LEACH.

Aline Viana Sérgio¹
Bruna Gomes de Souza¹
Luciano Vitor Estevão¹
Renata Aparecida Fontes²
Elizabeth Lopes de Oliveira³
Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo⁴
Viviane Gorete Silveira Mouro⁵
brunasouzafarm@hotmail.com

ÁREA DE CONHECIMENTO: Ciências da Saúde

RESUMO

O uso de plantas medicinais como fontes terapêuticas é uma prática milenar e altamente difundida. Sabe-se que essas plantas podem apresentar substâncias extremamente tóxicas, e para o conhecimento das mesmas são realizados testes toxicológicos para avaliar seus efeitos em organismos vivos, como exemplo, os bioensaios com *Artemia salina*. Estes podem ser usados na averiguação da toxicidade de compostos vegetais. O objetivo deste trabalho foi verificar a DL₅₀ do extrato aquoso da *Renealmia pycnostachys* frente à *A. salina*. Para tal, dez larvas de *A. salina* foram incubadas em placa de cultura em diferentes concentrações do extrato, todas em triplicata. A análise foi feita comparativamente ao controle positivo, com indivíduos de *A. salina* expostos a C₆₄H₁₂₄O₂₆, e ao controle negativo, com apenas solução salina, durante 24 horas. Após o período foram contadas o número de larvas mortas e a DL₅₀ calculada por regressão linear. A DL₅₀ obtida para o extrato aquoso da *R. pycnostachys* foi de 236,918 mgL⁻¹, indicando moderada toxicidade do extrato. No entanto, observou-se alta taxa de mortalidade no controle negativo, desencadeada por fatores físico-químicos ou coleta de náuplios mais sensíveis, constatando que o ensaio deve ser repetido para determinar a toxicidade do extrato e sua viabilidade de uso.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas Medicinais, Toxicidade, *Artemia salina*, *Renealmia*, *Renealmia pycnostachys*.

1 – INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma das floras mais ricas do mundo, com mais de 40.000 espécies catalogadas, além de contar com ampla diversidade cultural, que reflete em

¹Graduando do 10º período do curso de Farmácia, Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX.

²Graduação em Farmácia Bioquímica - UFOP. Mestre em Ciências Farmacêuticas - UFOP. Professora dos cursos de Farmácia, Enfermagem e Medicina Veterinária da Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX.

³Graduação em Ciências Biológicas - UFV. Mestre em Biologia Celular e Estrutural - UFV.

⁴Graduação em Ciências Biológicas - UFV. Mestre em Biologia Celular - UFMG. Doutora em Biologia Celular e Estrutural - UFV. Professora da Universidade Federal de Viçosa - UFV.

⁵Graduação em Farmácia - Univiçosa. Mestre em Biologia Celular e Estrutural - UFV. Doutora em Biologia Celular e Estrutural - UFV. Professora da Faculdade Vértice - UNIVÉRTIX.

diferentes formas de utilização terapêutica desses recursos naturais (FORZZA *et al.*, 2010, TEIXEIRA *et al.*, 2014). O uso de plantas medicinais como meio terapêutico é uma prática milenar que ainda permanece como tratamento alternativo ou até complementar à medicina convencional (FIRMO *et al.*, 2011; PESSOA *et al.*, 2013).

Com os avanços na área científica e o desenvolvimento de métodos de isolamento de substâncias ativas, aumentou-se o interesse por pesquisas que contribuam para elucidação das potencialidades dos recursos naturais (SIMÕES e SCHENKEL, 2002). Assim como, a realização de ensaios de toxicidade que garantam a segurança do seu uso pela população (ROSA *et al.*, 2016).

O bioensaio com *Artemia salina* é amplamente utilizado para avaliação de toxicidade aguda, devido sua simplicidade, rapidez e baixo custo (CAVALCANTE, OLIVEIRA, VELANDIA e ECHEVARRIA, 2000). A *A. salina* é um microcrustáceo marinho da ordem Anostraca, utilizada experimentalmente como um bioindicador (CARVALHO *et al.*, 2009). Assim é possível medir a toxicidade de uma substância através da avaliação da dose letal 50 (DL₅₀), ou seja, a dose necessária para matar 50% da população em teste (CARVALHO *et al.*, 2009; BUENO e PIOVEZAN, 2015). Ainda há muito o que se descobrir tanto sobre toxicidade quanto ao potencial terapêutico das plantas medicinais. Sendo necessária a realização de pesquisas devido a ampla utilização de espécies vegetais como recurso terapêutico alternativo pela população (FIRMO *et al.*, 2011; PESSOA *et al.*, 2013).

Dentre as plantas com potencial valor medicinal e grande lacuna no que se refere ao conhecimento científico está a *Renealmia*, um gênero de Zingiberaceae, que abrange um conjunto de espécies com inúmeros usos, entre eles ornamental, medicinal e alimentício (NEGRELLE, 2015). A *Renealmia pycnostachys* é uma espécie nativa e endêmica na Mata Atlântica e em Minas Gerais (FORZZA *et al.*, 2010). Conhecida como pacová, pouco se sabe sobre a espécie, no entanto, ela é utilizada popularmente como afrodisíaco e estimulante sexual masculino (OLIVEIRA, 2018).

À vista disso, objetiva-se determinar a DL₅₀ do extrato aquoso da *Renealmia pycnostachys* através do bioensaio com *Artemia salina* Leach.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), planta medicinal é toda planta ou partes que a constituem, que apresentem substâncias ou classes de substâncias responsáveis pela ação terapêutica (BRASIL, 2010). São muito utilizadas por adultos e idosos como um adicional ao tratamento de patologias crônicas, em geral, acreditando que não ofereçam riscos ou reações adversas (BRASIL, 2005).

No Brasil, seu consumo muitas vezes se dá por indicações de usuários e comerciantes, não sendo, portanto, acompanhado pela verificação científica de suas propriedades farmacológicas (VEIGA JUNIOR e PINTO, 2005). Assim, a toxicidade de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos por muitas vezes é banalizada, podendo ser considerado um problema de saúde pública (VEIGA JUNIOR e PINTO, 2005). Segundo dados do SINITOX (Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas), em 2016, foram registrados 958 casos de intoxicação por uso de plantas, dentre os quais um desses evoluiu para óbito (SINITOX, 2016).

O uso terapêutico das plantas, desperta o interesse nas pesquisas com a finalidade de contribuir para elucidação da atividade biológica e aspectos fitoquímicos (LEWINSOHN e PRADO, 2002; VEIGA JUNIOR e PINTO, 2005). Estas pesquisas envolvem quatro abordagens principais: 1) randômica, na qual é feita coleta de plantas ao acaso para triagens fitoquímicas e farmacológicas, considerando apenas sua disponibilidade; 2) etológica, que baseia-se nos estudos de comportamento animal, como primatas; 3) quimiotaxonômica ou filogenética, em que é feita a seleção de espécies de uma família ou gênero, para as quais se tenha algum conhecimento fitoquímico de ao menos uma espécie do grupo; e 4) etnodirigida, em que a seleção de espécies ocorre de acordo com a indicação de uso terapêutico por determinado grupo populacional (MACIEL, PINTO e VEIGA JÚNIOR, 2002; TEIXEIRA *et al.*, 2014).

Todo produto obtido a partir de plantas medicinais é denominado fitoterápico. É caracterizado pelo emprego exclusivo de matérias-primas vegetais ativas, cuja segurança e eficácia sejam baseadas em evidências clínicas e validadas pela constância de sua qualidade. É classificado como simples, quando o ativo é oriundo de apenas uma espécie vegetal, ou composto, quando o ativo provém de mais de uma espécie vegetal (BRASIL, 2014a).

No Brasil, tem-se observado crescente uso de fitoterápicos (LUCAS *et al.*, 2016). Tal fato se deve aos avanços científicos que permitiram o desenvolvimento de

fitoterápicos cada vez mais seguros e eficazes, e à crescente busca por terapias menos agressivas que se destinam aos atendimentos primários à saúde (BRUNING, MOSEGUI e VIANNA, 2012).

Os altos custos na industrialização dos medicamentos e suas patentes tecnológicas é outro fator relevante na escolha por medicamentos fitoterápicos, visto que possuem custos bem menores (BRUNING, MOSEGUI e VIANNA, 2012). Estes são produzidos com os mesmos requisitos de qualidade que os medicamentos industrializados, além de apresentar potencial para melhorar as funções fisiológicas, restaurar competências perdidas e proporcionar bem-estar (BARROS, 2007; VEIGA JUNIOR, 2008).

Com base nesse contexto, surgiu a necessidade da implantação de políticas públicas que regulamentam o uso de fitoterápicos (BRASIL, 2006a). Assim, em 2006, através do Decreto da Presidência da República nº 5.813, de 22 de junho, foi criada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, com o intuito de promover a discussão sobre a oportunidade, a importância, as dificuldades, as facilidades e as vantagens da implantação da Fitoterapia nos serviços de saúde do SUS (BRASIL, 2006b). Sendo a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos um meio que tem como objetivo garantir à população o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006b).

Dentre as espécies com potencial terapêutico, destaca-se a *Renealmia*, um gênero pertencente à família Zingiberaceae, que abrange 87 espécies, sendo 18 com indicação de uso popular (THE PLANT LIST, 2019; NEGRELLE, 2015). É uma herbácea rizomatoza de 1-3 metros de altura, podendo alcançar até 6 metros (MAAS, 1977). No Brasil, este é o único gênero nativo de Zingiberaceae, tendo registro de 21 espécies distribuídas nas distintas regiões do país (COSTA, ESPINELLI e FIGUEIREDO, 2011; NEGRELLE, 2015). No entanto, algumas espécies desta família são tidas como raras ou ameaçadas de extinção, dentre as quais a *Renealmia brasiliensis* tem sua vulnerabilidade comprovada (MARTINELLI, MORAES, ANDERSON e HIEATT, 2013; BRASIL, 2014b).

A *Renealmia pycnostachys* K. Schum. é uma espécie endêmica no Brasil, com domínio fitogeográfico na Mata Atlântica e no Sudeste de Minas Gerais, onde é conhecida como pacová (FORZZA *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2018). Na medicina

tradicional, os frutos desta planta são utilizados como afrodisíaco e estimulante sexual masculino (OLIVEIRA, 2018). Sendo comprovado pelo estudo de Oliveira (2018), que as folhas de *R. pycnostachys* apresentam ação afrodisíaca, apesar de mostrar redução da produção espermática, mas sem causar danos severos à estrutura testicular. No entanto, não há estudos que comprovem sua composição química e demais efeitos terapêuticos (NEGRELLE, 2015).

As espécies de *Renalmia* são amplamente utilizadas na medicina popular, de diversas formas de preparo e empregadas diferentes partes da planta. Estas indicações englobam efeito analgésico, antiemético, antifúngico, anti-hemorragico, anti-inflamatório, antimalarial, antiofídico, antipirético, anti-infertilidade, calmante, cardiotônico, cicatrizante, oftálmico e vermífugo (NEGRELLE, 2015). Porém, existem registros de pesquisas farmacológicas para apenas quatro espécies: *Renalmia exaltata*, *R. alpinia*, *R. nicolaioides* e *R. thyrsoides*, que evidenciaram amplo espectro de bioatividade, dentre os quais efeito antiparasitário, analgésico, anticancerígeno, antichagásico, antifúngico, antileishmaniose, antimalárico, antiofídico e antioxidante (NEGRELLE, 2015).

Sendo assim, nota-se grande lacuna no que se refere à elucidação das propriedades farmacológicas das espécies de *Renalmia* (COSTA, ESPINELLI e FIGUEIREDO, 2011). O que demonstra grande impedimento na utilização destas espécies como recurso terapêutico e econômico (NEGRELLE, 2015).

Mediante a possível toxicidade de produtos naturais, são necessários ensaios para avaliar a segurança no tratamento com fitoterápicos. Na busca por testes rápidos e simples, chegou-se aos testes com *Artemia salina* Leach. para monitoramento da resposta biológica, onde se avalia apenas um parâmetro: vida ou morte (RODRIGUEZ, *et al.*, 2009).

A *A. salina* é um microcrustáceo cosmopolita marinho, da ordem Anostraca, que se reproduz facilmente e é de manipulação simples, o que torna favorável seu uso em ensaio preliminar de toxicidade (ROSA *et al.*, 2016). É tido como um bioindicador por seu reduzido e específico grau de tolerância frente a um fator ambiental, apresentando uma resposta evidente à mínimas alterações (BAROSA *et al.*, 2003). Tem capacidade de formar cistos adormecidos, disponíveis em lojas de animais como alimento para peixes tropicais, oferecendo, assim, material biológico que pode ser conservado por longos períodos sem perder sua viabilidade e tornando

desnecessário manter culturas de organismos-teste (MEYER *et al.*, 1982; BAROSA *et al.*, 2003).

Os ensaios de letalidade usando *A. salina* permitem avaliar a toxicidade de produtos de origem natural, que apresentem algum potencial biológico ativo, a fim de evitar possíveis danos à saúde humana (AMARAL e SILVA, 2008; CAVALCANTE, OLIVEIRA, VELANDIA e ECHEVARRIA, 2001). Estes ensaios são válidos, devido a semelhança dos limites dos efeitos tóxicos produzidos em *A. salina* com aqueles produzidos no homem (AMARAL e SILVA, 2008).

Assim, os ensaios de toxicidade com *A. salina* são amplamente empregados devido sua simplicidade, rapidez, sensibilidade e baixo custo (CAVALCANTE, OLIVEIRA, VELANDIA e ECHEVARRIA, 2001). Baseiam-se na estimativa da dose média letal (DL₅₀) de uma substância sobre o microcrustáceo, que é considerada tóxica quando verificado valores abaixo de 1000 mgL⁻¹ ou ppm, e morte de 50% da população em teste (BUENO e PIOVEZAN, 2015; BEDNARCZUK, VERDAM, MIGUEL e MIGUEL, 2010).

3 – METODOLOGIA

3.1. Material vegetal

As amostras das folhas de *R. pycnostachys* K. Schum. (Pacová) foram coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Vale das Arapongas (42°02'51" W; 20°29'01" S), com altitudes que variam de 1.236 – 1.479 metros, no município de Alto Jequitibá no Estado de Minas Gerais, situada no entorno do Parque Nacional do Caparaó conhecida localmente como “Grumarim”. O exemplar utilizado para validar a espécie, encontra-se depositado no Jardim Botânico do Rio de Janeiro e o novo exemplar da espécie redescoberta foi depositado no Herbário da Universidade do Estado de Minas Gerais (HUEMG).

3.2. Obtenção do extrato vegetal

As folhas do vegetal foram selecionadas, limpas e secas em estufa a 37°C e trituradas em moinho de facas (Marconi® - Modelo 340). O extrato foi preparado em água destilada à 10% (m/v) e submetido à extração por infusão. Posteriormente foi filtrado e submetido às análises.

3.3. Ensaio de toxicidade – *Artemia salina* Leach

Foi utilizada a metodologia de Meyer *et al.* (1982) adaptada por Ruiz *et al.* (2007). Foi preparada a solução salina a 3,5%, (com sal marinho), sendo o pH ajustado entre 8,0 – 9,0 adicionando-se gotas de uma solução 0,1 M NaOH (Merck®). A solução obtida foi utilizada para eclosão dos ovos de *A. salina* L. e no preparo das diluições. A solução salina foi colocada em aquário e os ovos foram eclodidos nesta solução, por 48 horas, com aeração constante e temperatura controlada a 25°C.

Após o período de 48 horas, 10 larvas do crustáceo foram transferidas para placas de cultura contendo a solução salina e os extratos a serem testados, nas seguintes concentrações 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 mgL⁻¹. A contagem dos animais mortos e vivos foi realizada após 24 horas. Por se tratar de um crustáceo ativo em água salina, a falta de movimento e sedimentação são os indicadores de morte do mesmo.

O teste foi acompanhado de controle negativo, somente com água salina, e positivo com uma solução de C₆₄H₁₂₄O₂₆ (Tween 80 - polissorbato). O teste foi realizado em triplicata de amostras e os resultados calculados a partir da média final de cada amostra obtida. A DL₅₀ foi estimada a partir da regressão linear simples, por meio da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração do extrato.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados do ensaio de toxicidade frente a *A. salina* podem ser observados na Tabela 1. As larvas de *A. salina* foram consideradas sensíveis, visto que no controle positivo a taxa de mortalidade foi de 100%. Entretanto, no controle negativo, em que as larvas foram expostas somente à solução salina, houve uma taxa de morte de 23,33%, o que compromete a confiabilidade dos resultados apresentados.

Percebe-se que não houve linearidade dos dados, ou seja, o efeito tóxico do extrato não causou mortalidade dose-dependente. Na concentração de 31,25 mgL⁻¹ houve uma queda no número de mortes, com posterior aumento. Este dado é evidenciado pelo alto valor do desvio padrão.

Tabela 1. Relação de organismos vivos e mortos no final do ensaio.

Concentração do extrato mg/L	Nº de organismos expostos	Média (%) de organismos mortos em 24 horas	Desvio padrão (\pm)
500	30	13,33	1,52753
250	30	40,00	0
125	30	66,66	1,1547
62,5	30	83,33	1,52753
31,25	30	76,66	2,51661
15,62	30	86,66	0,57735
Controle (+)	30	100,00	0
Controle (-)	30	23,33	0,57735

Quanto a mortalidade observada no controle negativo, resultado semelhante foi observado por de Silva *et al.* (2013), no estudo em que os autores avaliaram a toxicidade dos extratos etanólicos das folhas, casca e lenho do Araribá (*Centrolobium tomentosum*) em *A. salina*. Na curva de sobrevivência das *A. salina* expostas somente a solução salina o percentual de morte foi de 80%, enquanto que das folhas essa taxa foi de 70%. No entanto, os autores não discutem sobre quais fatores podem ter levado a alta taxa de mortalidade no controle negativo.

De acordo com Bueno e Piovezan (2015) o êxito no teste de toxicidade com *A. salina* depende vários fatores como luz, temperatura, pH, alimentação dos náuplios, tempo de eclosão dos ovos, água utilizada no teste, contaminação das vidrarias e substância. Assim em seu estudo os autores relatam que a DL₅₀ da cafeína, do dicromato de potássio e do extrato aquoso de açafreão-da-terra encontraram-se distantes do esperado, podendo o resultado ter sido influenciado por alguns dos fatores citados. Além disso, Sorgeloos, Remiche-Van Der Wielen e Persoone (1978) relatam que as diferentes condições geográficas na aplicação do teste de toxicidade podem influenciar no teste. Os autores relatam que a eclosão dos ovos é diferenciada e influenciada pela temperatura e salinidade, pois geram náuplios em diferentes fases de desenvolvimento, no qual àqueles em estado mais avançado são mais susceptíveis à morte que os recém eclodidos. Dessa forma, no presente estudo, a mortalidade encontrada no controle negativo, pode ter ocorrido devido a coleta dos náuplios mais sensíveis, além das condições físico-químicas da solução salina como pH e salinidade e da temperatura.

Utilizando o método de regressão linear foi possível estimar a toxicidade do extrato aquoso da *R. pycnostachys*, que revelou uma DL_{50} de $236,918 \text{ mgL}^{-1}$. Este valor indica moderada toxicidade do extrato. Segundo Nguta *et al.* (2011), extratos brutos com valores de CL_{50} inferiores a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados altamente tóxicos, valores entre $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ moderadamente tóxicos, valores de entre $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ levemente tóxicos, e aqueles com valores de CL_{50} acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados atóxicos (FERRAZ FILHA, LOMBARDI, GUZZO e SAÚDE-GUIMARÃES, 2012). O valor de R^2 foi de 0,9633, apontando confiabilidade da curva (Figura 1).

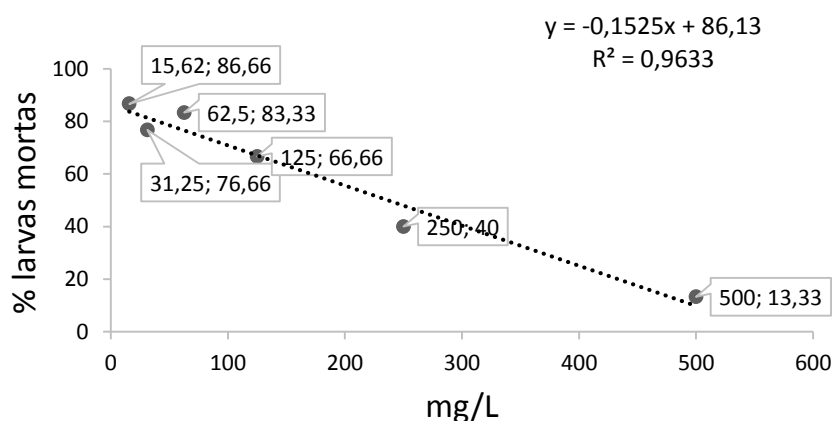


Figura 1. Curva de morte de *Artemia salina* L. em relação às concentrações do extrato aquoso de *Renealmia pycnostachys*.

Fonte: Elaborada pelos autores

Ferreira *et al.* (2017) avaliou a atividade citotóxica do extrato etanólico dos frutos de *Buchenavia* sp. frente à *A. salina*. Foi verificado morte de 10,88% no controle negativo, além de ação tóxica do extrato na concentração $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, onde causou a morte de 49,63% das larvas. A CL_{50} determinada foi de $37,29 \mu\text{g mL}^{-1}$, caracterizando o extrato como altamente tóxico.

Parra, Yhebra, Sardiñas e Buela (2001) consideraram o teste da *A. salina* útil para prever a toxicidade aguda em extratos vegetais, ao relacionar os dados toxicológicos de testes *in vivo* (camundongos Swiss) e *in vitro* (*Artemia salina*). Os autores encontraram boa correlação entre os testes de 20 extratos de plantas cubanas e os valores de DL_{50} relatados em camundongos, sugerindo que o bioensaio com *A.*

salina é um método alternativo útil ao uso de animais de laboratório em testes toxicológicos.

Na avaliação da toxicidade da canela verdadeira (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), Gomes *et. al.* (2019) encontrou moderada toxicidade para o óleo essencial, com uma CL_{50} de $162,1 \text{ mgL}^{-1} \pm 2,80$.

No estudo feito por Ferrão *et. al.* (2012) o extrato aquoso das folhas de Macaé (*Leonurus sibiricus* L.) revelou uma DL_{50} de 1.318 mgL^{-1} . Este valor indica não toxicidade do extrato segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), que considera tóxica substâncias que apresentam valor de DL_{50} inferior a 10^3 mgL^{-1} . No entanto, segundo os autores, mesmo os extratos testados indicando baixa toxicidade frente à *A. salina* não se pode afirmar que há ausência de substância tóxicas.

A avaliação da atividade citotóxica da infusão das folhas de seriguela (*Spondias purpurea* L.) feita por Santos, Santos e Marisco (2017) revelou uma toxicidade frente aos náuplios de *A. salina* a partir da dose $10 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Este valor indica alta toxicidade do extrato e promissor potencial de atividade antitumoral associado a presença de terpenos e flavonoides.

Diante do exposto, percebe-se a eficácia, bem como a sensibilidade do teste com *A. salina* a diferentes fatores que podem interferir na determinação da DL_{50} . O consumo popular disseminado de plantas medicinais e fitoterápicos, associado ao potencial tóxico que podem apresentar, evidencia a importância de os estudos de toxicidade serem bem conduzidos e controlados para garantir a segurança na utilização destes fármacos.

4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do estudo realizado observa-se que o extrato aquoso da *Renalmia pycnostachys* se mostrou ativo frente ao microcrustáceo *A. salina* Leach, uma vez que apresentou DL_{50} inferior a 1000 mgL^{-1} . Entretanto, a alta taxa de mortalidade observada no controle negativo compromete a confiabilidade dos dados apresentados, constatando que o teste deve ser repetido, uma vez que estes são dados preliminares. Tais resultados evidenciam a importância de se enfatizar e buscar informações acerca dos fatores que podem alterar os resultados dos testes de

toxicidade aguda utilizando *Artemia salina*, visto que este é um ensaio considerado válido e seguro para verificação da atividade biológica de extratos vegetais.

REFERÊNCIAS

AMARAL, E. A. do; SILVA, R. M. G. Avaliação da toxicidade aguda de angico (*Anadenantherafalcata*), pau-santo (*Kilmeyeracoreacea*), aroeira (*Myracrodruonurundeuva*) e cipó-de-são-joão (*Pyrostegiavenusta*), por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **Perquirêre - Revista Eletrônica da Pesquisa** - Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão (NIPE) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). v. 5, n. 5, jun. 2008.

ARAÚJO, J. V. **Diagnóstico de helmintoses**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. p. 9-46 (Caderno Didático, 113).

BAROSA, J., FERREIRA, A., FONSECA, B. SOUSA, I. Teste de toxicidade do ião cobre para *Artemia salina*. **Manual de Biologia Marinha e Pescas da Faculdade de Ciências do Mar e de Ambiente**, nov. 2003.

BARROS, F. M. C. Plantas de Uso Medicinal no Município de São Luiz Gonzaga, RS, Brasil. Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, 2007.

BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D; MIGUEL, O. G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 2, jul./dez. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 10, de 9 de março de 2010**. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **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, 2014a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília : Ministério da Saúde, 148 p., 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Editora MS, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Política Nacional de Medicina e Práticas Complementares**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 116, de 8 de agosto de 1996**. Estabelece as normas para estudo da toxicidade de produtos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 12 ago. 1996.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 443, de 17 de dezembro de 2014. Reconhece como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção". **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 110-121, 18 dez. 2014b.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. de M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Revista Ciência e Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.

BUENO, A. C.; PIOVEZAN, M. Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia. **Instituto Federal de Santa Catarina**, 2015.

CARVALHO, C. A. de; MATTA, S. L. P.; MELO, F. C. S. A.; ANDRADE, D. C. F.; CARVALHO, L. M. de; NASCIMENTO, P. C. do; SILVA, M. B. da; ROSA, M. B. da. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* MIERS – Bignoniaceae): estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, p. 51-58, 2009.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA, M. C. C. de; VELANDIA, J. R.; ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente *Artemia salina*. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 20-22, 2000.

COSTA, F. R. C.; ESPINELLI, F. P.; FIGUEIREDO, F. O. G. **Guia de Zingiberales dos sítios PPBio na Amazônia Ocidental Brasileira**. Manaus: Áttema Design Editorial, 2011.

FENALTI, J. M.; BACCEGA, B.; MATA-SANTOS, T.; SANTOS, P. C.; SCAINI, C. J. Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico. **Vittale – Revista de Ciências da Saúde**, v. 28, p. 39-48, 2016.

FERRÃO, B. H.; MOLINARI, R. de F.; TEIXEIRA, M. B.; MARTINS, C. M.; REIS, K. R. P.; CARVALHO, G. D.; CARVALHO, C. A. de. Prospecção fitoquímica, potencial anti-helmíntico e análise toxicológica de Macaé (*L. sibiricus* L.). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 3, p. 353-358, 2012.

FERRAZ FILHA, Z. S.; LOMBARDI, J. A.; GUZZO, L. S.; GUIMARÃES, D. A. S. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) bioassay of extracts from *Lychnophoriopsis candelabrum* and different *Lychnophora* species. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, São Paulo (Botucatu), v. 14, n. 2, p. 358-361, 2012.

FERREIRA, M. D. de S., BATISTA, E. K. F., FARIAS, I. dos S., SANTOS, L. F., OLIVEIRA, J. M. G. de, SILVA, S. M. M. de S. Avaliação fitoquímica e toxicológica dos extratos do fruto de *Buchenavia* sp. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 2, p. 17-22, 2017.

FIRMO, W. da C. A.; MENEZES, V. de J. M. de; PASSOS, C. E. de C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; SANTOS NETO, M.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de pesquisa**, São Luís, v. 18, n. especial, dez. 2011.

FORZZA, R. C. *et al.* **Catálogo de plantas e fungos do Brasil - Volume 1**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

GOMES, P. R. B., REIS, J. B., SILVA, J. C. da, OLIVEIRA, R. W. S. de, PAULA, M. D. L. de, LOUZEIRO, H. C., MOUCHEREC FILHO, V. E., FONTENELE, M. A. Avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume contra o caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 48, n. 1, p. 122-127, 2019.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Síntese do conhecimento atual da biodiversidade brasileira. **Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira**, v. 1, p. 21-109, 2006.

LUCAS, R. R.; PEREIRA, F. F.; SANTOS JÚNIOR, A. de F.; CAVALCANTI, B. C.; NOBRE-JÚNIOR, H. V.; SILVA, G. R. da; MAGALHÃES, H. I. F. Fitoterápicos aplicados à obesidade. **Demetra – Alimentação, Nutrição e Saúde**. Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 473-492, 2016.

MAAS, P. J. M. *Renealmia* (Zingiberaceae- Zingiberoideae). Costoideae (Additions) (Zingiberaceae). **Flora Neotropica Monograph**, v. 18, p. 1-218, 1977.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. (org.); ANDERSON, F.; HEATT, C. **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., McLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n. 1, p. 31-34, 1982.

NEGRELLE, R. R. B. *Renealmia* L.f.: aspectos botânicos, ecológicos, farmacológicos e agrônômicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, São Paulo (Campinas), v. 17, n. 2, p. 274-290, 2015.

NGUTA, J. M., MBARIA, J. M., GAKUYA, D. W., GATHUMBI, P. K., KABASA, J. D., KIAMA, S. G. Biological screening of Kenyan medicinal plants using *Artemia salina* (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v. 2, p. 458-478, 2011.

OLIVEIRA, E. L. de. **Extrato hidroalcoólico da folha de *Renealmia pycnostachys* promove vasodilatação peniana associada à redução de parâmetros espermáticos em camundongos Swiss**. Orientador: Sérgio Luis Pinto da Matta. 2018. 51f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2018.

PARRA, A. L., YHEBRA, R. S., SARDIÑAS, I. G., BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001.

PESSOA, J. G.; SANTOS, M. L. O.; COSTA, M. C. A.; SIQUEIRA, W. N.; SILVA, L. R. S.; CABRAL, D. L. V.; AMÂNCIO, F. F.; MELO, A. M. M. A. Avaliação da toxicidade do extrato metanólico de *Caesalpinia pyramidalis*, submetido à radiação gama, frente à *Artemias salinas*. **International Nuclear Atlantic Conference – INAC**, Pernambuco (Recife), nov. 24-29, 2013.

ROSA, C. S.; VERAS, K. S.; SILVA, P. R.; LOPES NETO, J. J.; CARDOSO, H. L. M. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrciasylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, São Paulo (Campinas), v. 18, n. 1, p. 19-26, 2016.

RUIZ, P.A.; BRAUNE, A.; HOLZLWIMMER, G.; QUINTANILLA-FEND, L.; HALLER, D. Quercetin inhibits TNF-induced NF-kappaB transcription factor recruitment to proinflammatory gene promoters in murine intestinal epithelial cells. **The Journal of Nutrition**. Inglaterra, v. 137, n. 5, p. 1208-1215, 2007.

SANTOS, R.; SANTOS, R.; MARISCO, G. Avaliação da atividade genotóxica, citotóxica e antimicrobiana da infusão das folhas de *Spondias purpurea* L. **Scientia Plena**. Sergipe, v. 13, n. 3, 2017.

SILVA, R. C. de S.; ALMEIDA, J. C. R. de; ALMEIDA, A. A. da S.; AKISUE, G.; COELHO, M. D. G.; PEREIRA, J. R. Avaliação da toxicidade dos extratos do Araribá (*Centrolobium tomentosum*) com utilização do bioensaio com *Artemia salina*. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, São Paulo (Taubaté), v. 8, p. 158-167, 2013.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 35-40, 2002.

Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas - SINITOX. **Casos de intoxicação por plantas por unidade federada, segundo evolução registrado em 2016**. 22 fev. 2018. Disponível em: https://sinitox.iciict.fiocruz.br/sites/sinitox.iciict.fiocruz.br/files//11-Plantas-5_0.pdf. Acesso em: 12 maio 2019.

SORGELOOS, P.; REMICHE-VAN DER WIELEN, C.; PERSOONE, G. The use of *Artemia nauplii* for toxicity tests - a critical analysis. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 2, n. 3-4, p. 249-255, 1978.b.

TEIXEIRA, A. H.; BEZERRA, M. M.; CHAVES, H. V.; VAL, D. R. do; PEREIRA FILHO, S. M.; RODRIGUES E SILVA, A. A. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais no município de Sobral-Ceará, Brasil. **SANARE – Revista de Políticas Públicas**, Ceará (Sobral), v. 13, n. 1, p. 23-28, jan./jun. 2014.

THE PLANT LIST. *Renealmia*. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Zingiberaceae/Renealmia/>. Acesso em 17 jun. 2019.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, abr./jun. 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas Medicinais: Cura segura? **Revista Química Nova**. Rio de Janeiro, vol. 28, n. 3, p. 519-528, fev. 2005.