

**Toxicidade do extrato vegetal, óleo essencial e hidrolato das plantas
*Zingiber officinale Roscoe e Allium sativum L.***

**Toxicity of plant extract, essential oil and hydrolate of *Zingiber
officinale Roscoe and Allium sativum L. Plants***

DOI:10.34117/bjdv8n2-384

Recebimento dos originais: 07/01/2022

Aceitação para publicação: 23/02/2022

Islania Pires da Paz

Iniciação Científica do curso de medicina pela Faculdade Estácio de Juazeiro
Endereço: Rodovia Br. 407, S/nº - Lote 10 a 57, Km 13, Juazeiro-BA, 48909-725
E-mail: islaniapires@gmail.com

Aline Anne Martins Coelho

Iniciação Científica do curso de medicina pela Faculdade Estácio de Juazeiro
Endereço: Rodovia Br. 407, S/nº - Lote 10 a 57, Km 13, Juazeiro-BA, 48909-725
E-mail: alineamcoelho@hotmail.com

Sidrayton Pereira do Nascimento

Iniciação Científica do curso de medicina pela Faculdade Estácio de Juazeiro
Endereço: Rodovia Br. 407, S/nº - Lote 10 a 57, Km 13, Juazeiro-BA, 48909-725
E-mail: sidraytonnascimento@hotmail.com

Samilly Aquino de Sá Oliveira

Mestre em Biociências

Instituição: Hospital Universitário da Universidade Federal do Vale do São Francisco -
Endereço: Av. José de Sá Maniçoba, s/n - Centro, Petrolina - PE, 56304-205
E-mail: samilyaquino2@gmail.com

Danillo Sales Rosa

Mestre em Biociências

Instituição: Hospital Universitário da Universidade Federal do Vale do São Francisco -
Endereço: Av. José de Sá Maniçoba, s/n - Centro, Petrolina - PE, 56304-205
E-mail: danillosrosa@gmail.com

Mateus Matiuzzi da Costa

Professor Associado 2 da Universidade Federal do Vale do São Francisco
Endereço: Rod. BR 407, Km 12 Lote 543 S/N, Projeto de Irrigação Nilo Coelho, PE,
56300-000
E-mail: mateus.costa@univasf.edu.br

Jorge Messias Leal do Nascimento

Professor da Faculdade Estácio de Juazeiro
Endereço: Rodovia Br. 407, S/nº - Lote 10 a 57, Km 13, Juazeiro-BA, 48909-725
E-mail: nascimento.jorge@estacio.br

Maria da Conceição Aquino de Sá

Professora da Faculdade Estácio de Juazeiro

Endereço: Rodovia Br. 407, S/nº - Lote 10 a 57, Km 13, Juazeiro-BA, 48909-725

E-mail: aquino.maria@estacio.br

RESUMO

O uso de plantas para fins terapêuticos ocorre desde os tempos remotos e configura um legado importante para o âmbito da ciência. As propriedades ativas nas plantas são seguras e eficientes, quando utilizadas devidamente. A utilização fitoterápica do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe e do bulbo do *Allium sativum* L. vem sendo estudada nas formas de extrato vegetal e óleo essencial, principalmente como produto antimicrobiano. Para compreender suas propriedades é necessário averiguar a toxicidade desses produtos naturais. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do rizoma e do bulbo das plantas em referência através de ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* e da atividade hemolítica em sangue ovino. O material vegetal nas concentrações finais de 0, 100, 300, 600, 1000 e 2000 µg/mL foi colocado em placas de microdiluição com 10 náuplios em cada poço, incubados por 24 e 48 h. Decorrido esse período de contato os sobreviventes foram contados. Para o ensaio de hemólise, o sangue ovino foi acrescido das concentrações de 500, 250, 100, 50, 25 e 10 µg/mL do material vegetal. A toxicidade do *Z. officinale* Roscoe foi maior que o *A. sativum* L. nos dois ensaios, observando que o extrato vegetal de ambas as plantas possui maior toxicidade que o óleo essencial e o hidrolato, respectivamente. Os testes toxicológicos pré-clínicos são importantes para avaliar as possíveis consequências que uma substância pode causar e permitem uma construção científica para subsequente escalonamento em seres humanos.

Palavras chaves: *Artemia salina*, fitoterapia, hemólise, medicina natural.

ABSTRACT

The use of plants for therapeutic purposes has occurred since ancient times and configures an important legacy for the scope of science. The active properties in plants are safe and efficient when used properly. The phytotherapeutic use of the rhizome of *Zingiber officinale* Roscoe and the bulb of *Allium sativum* L. has been studied in the forms of plant extract and essential oil, mainly as an antimicrobial product. To understand their properties, it is necessary to investigate the toxicity of these natural products. Thus, the objective of this work was to evaluate the toxicity of the rhizome and bulb of the reference plants through a lethality assay with the microcrustacean *Artemia salina* and the hemolytic activity in sheep blood. The plant material at final concentrations of 0, 100, 300, 600, 1000 and 2000 µg/mL was placed in microdilution plates with 10 nauplii in each well, incubated for 24 and 48 h. After this contact period the survivors were counted. For the hemolysis assay, sheep blood was added at concentrations of 500, 250, 100, 50, 25 and 10 µg/mL of plant material. The toxicity of *Z. officinale* Roscoe was higher than *A. sativum* L. in both assays, noting that the plant extract of both plants has greater toxicity than the essential oil and the hydrolate, respectively. Preclinical toxicological tests are important to assess the possible consequences that a substance can cause and allow a scientific construction for subsequent escalation in humans.

Keywords: *Artemia salina*, hemolysis, natural medicine, phytotherapy.

1 INTRODUÇÃO

As plantas são utilizadas na medicina popular desde a antiguidade de forma empírica de geração em geração (LEITE *et al*, 2015). Uma prática habitual e comum em quase todas as culturas. Várias plantas já possuem efeitos antimicrobianos, entre outras funções, principalmente no ocidente. No Brasil há uma das maiores biodiversidades do planeta, e o desenvolvimento de fármacos à base de plantas já tem algumas propriedades e efeitos terapêuticos conhecidos, porém muitos efeitos ainda desconhecidos, sendo necessários estudos (SANTOS *et al*, 2014).

O uso de plantas para fins terapêuticos e sua finalidade na prevenção e intervenção para tratamento de doenças vem sendo estudado no Brasil, através da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, criada em 2006 e do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, em 2008, preserva-se o acesso e o uso dessas plantas. As propriedades ativas nas plantas são seguras e eficientes quando utilizadas devidamente (BRASIL, 2006; FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014).

Nesse contexto várias plantas são usadas na medicina natural em todo mundo há milhares de anos, com grande valor terapêutico para o alívio de várias doenças, entre elas pode-se citar *Zingiber officinale Roscoe* (LUCKY; IGBINOSA; JONAHAN, 2017). O uso dos rizomas para obtenção de óleos essenciais, extratos e concentrados de gengibre vem despertando interesse tanto das indústrias farmacêuticas como alimentícias (CUTRIM *et al*, 2019) e *Allium sativum* L. é muito usado como alternativa antimicrobiana (FONSECA *et al*, 2014). Seu óleo essencial é um composto que, embora possua atividade antimicrobiana comprovada (EL-SAYED *et al*, 2017), merece maior atenção com relação a estudos nessa área, principalmente relacionado a seus componentes e sua toxicidade (ZHANG *et al*, 2019). A utilização fitoterápica de *Z. officinale* e *A. sativum* é de grande valia dentro da fitoterapia, devido a suas múltiplas ações.

Assim, com a finalidade de averiguar a toxicidade de novos produtos naturais, muitos ensaios podem ser realizados, em busca de um produto, como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para observar compostos bioativos em extratos vegetais (HIROTA, 2012). Bem como a atividade de hemólise nesse processo, com o objetivo de conhecer melhor sobre os rizomas e bulbo desses vegetais (MAZZARINO *et al*, 2015). Os testes de toxicidade foram realizados para avaliar e quantificar os efeitos de *A. sativum* e *Z. officinale* no organismo e estimar sua letalidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no Laboratório Multiusuário da Faculdade Estácio de Juazeiro-BA.

2.2 TESTE DE TOXICIDADE EM *Artemia salina* Leach

A avaliação da toxicidade do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *A. sativum* L, bem como do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *Z. officinale Roscoe* foi avaliada através da verificação da dose letal mediana (DL_{50}) do material extraído das plantas sobre espécimes de *Artemia salina* Leach, seguindo metodologia adaptada de Meyer *et al*, (1982). Para isso, inicialmente foi preparado um recipiente retangular, contendo dois compartimentos intercomunicantes, em que um lado foi protegido de luz e o outro não. O recipiente foi preenchido com água destilada estéril acrescida de sal artificial, simulando a água marinha (Figura 1). Os ovos foram incubados inicialmente no lado escuro e após 48 h, ao eclodirem, os náuplios migraram para o lado claro através de fototropismo positivo, de onde foram retirados os espécimes para a avaliação da toxicidade.

O óleo essencial e o extrato vegetal foi diluído com diluente apropriado e água marinha artificial até completar 2 mL por poço em uma microplaca de 24 poços, perfazendo as concentrações finais de 0, 100, 300, 600 e 1000 e 2000 $\mu\text{g/mL}$. Os controles negativos foram realizados com o diluente do óleo e extrato vegetal e a água marinha artificial. Para os extratos vegetais foi utilizado o dimetilsulfóxido (DMSO) como controle do diluente nas concentrações: 0,24%, 0,12% e para os óleos essenciais foi utilizado o metanol nas concentrações: 0,31%, 0,16%, 0,09%, 0,05% e 0,02%, sendo que para cada concentração foram utilizados dez náuplios. Todos os ensaios foram realizados em triplicata técnica. Os náuplios foram incubados por 24 e 48 h, decorrido este período de contato os sobreviventes foram contados. Os dados foram proferidos como percentual de letalidade. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Figura 1 – Montagem do equipamento para eclosão e crescimento dos náuplios de *Artemia salina* Leach

A: estrutura do aquário para incubação dos cistos



B: imagem das placas de 24 poços contendo os náuplios e as substâncias teste.

Os testes de toxicidade são importantes para avaliar os efeitos que uma substância pode causar em um organismo. *Artemia salina* é um microcrustáceo que vive em ambientes aquáticos de alta salinidade, alimentam-se de algas e reproduzem-se abundantemente. Pertence à ordem Anostraca, possui dimorfismo sexual e produz cistos e náuplios. Várias pesquisas têm usado como metodologia a letalidade frente a *Artemia salina*, servindo na linha de pesquisa de fitoterápicos para avaliar o potencial tóxico de extratos vegetais e óleos essenciais, por seu baixo custo e fácil acessibilidade (HIROTA, 2012).

2.3 TOXICIDADE ATRAVÉS DE ATIVIDADE HEMOLÍTICA

A toxicidade do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *A. sativum* L., bem como do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *Z. officinale* Roscoe também foi avaliado através da atividade hemolítica, seguindo protocolo adaptado de Kalegari *et al*, (2011).

Esse teste tem por objetivo verificar a ação hemolítica *in vitro* dos compostos em estudo, e desta forma, avaliar a viabilidade preliminar da toxicidade observando o rompimento das hemácias do sangue ovino. Assim, foram utilizadas solução fisiológica a 0,9% e volumes de aproximadamente 15 mL de sangue ovino em tubo contendo citrato de sódio de 4 mL cada, para uma quantidade de eritrócitos por 3x, utilizando um tubo controle. As concentrações usadas foram de 500, 250, 100, 50, 25 e 10 µg/mL, sendo ajustada a quantidade em cada amostra de acordo com a concentração de cada microtubo.

Após a coleta do sangue ovino os tubos foram centrifugados a $1.800 \times g$ por 7 minutos para separação dos eritrócitos. Depois da centrifugação, o sobrenadante foi

removido, e os eritrócitos foram lavados 3x com solução fisiológica a 0,9% (adaptado de WANG *et al*, 2009);

Posteriormente, foram adicionados 75 µL dos eritrócitos em 1425 µL de solução fisiológica em microtubos contendo diferentes concentrações (ajustada para a concentração final ser: 500, 250, 100, 50, 25 e 10 µg/mL) do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *A. sativum* L., e do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *Z. officinale* Roscoe; depois os microtubos foram incubados em estufa incubadora shaker a 150 rpm por 1h a 37 °C. Após esse período, os microtubos foram centrifugados a 9.200 x g por 5 min, para separação dos eritrócitos não hemolisados.

Em seguida, foi retirado o sobrenadante, e realizado leitura na absorvância a 540 nm em espectrofotômetro. Como controle negativo foi utilizada a solução fisiológica com eritrócitos (0% lise) e como controle positivo foi utilizada água destilada com eritrócitos (100% lise), (adaptado de MAZZARINO *et al*, 2015); os experimentos foram realizados em triplicata técnica. A taxa de hemólise foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Taxa de hemólise (\%)} = \frac{\text{AT} - \text{ACN}}{\text{ACP} - \text{ACN}} \times 100$$

onde AT é a absorvância da amostra teste, ACN é a absorvância da amostra do controle negativo e ACP é a absorvância da amostra do controle positivo (Zhang *et al*, 2007). O resultado é considerado tóxico na concentração que causa pelo menos 10% de hemólise (HC₁₀) (Zhang *et al*, 2019).

3 RESULTADOS

A avaliação da toxicidade do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *A. sativum* L., do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *Z. officinale* Roscoe, foi realizada em 24 h e 48 h e encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1- Letalidade de *Artemia salina* por tempo de exposição em extrato vegetal, óleo essencial e hidrolato de *Allium sativum* L. e *Zingiber officinale* Roscoe

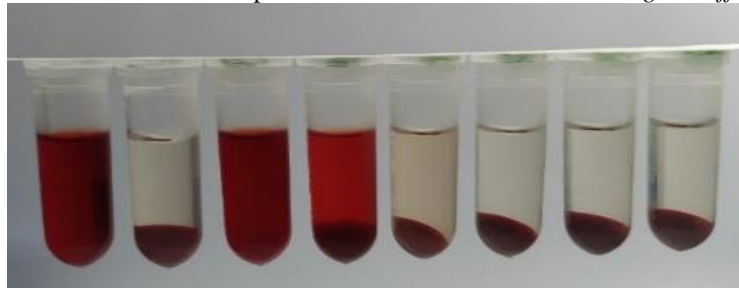
Substâncias	CL ₅₀ 24 h	CL ₅₀ 48 h
Extrato de <i>Allium sativum</i>	= 600 µg/mL	= 600 µg/mL
Extrato de <i>Zingiber officinale</i>	≤ 100 µg/mL	≤ 100 µg/mL
Óleo essencial de <i>A. sativum</i>	> 2000 µg/mL	> 2000 µg/mL
Óleo essencial de <i>Z. officinale</i>	> 2000 µg/mL	= 2000 µg/mL
Hidrolato de <i>A. sativum</i>	> 2000 µg/mL	> 2000 µg/mL
Hidrolato de <i>Z. officinale</i>	> 2000 µg/mL	> 2000 µg/mL

CL₅₀: Concentração Letal 50%

Observando que a toxicidade para o extrato vegetal é maior que na extração do óleo essencial e do hidrolato das plantas estudadas. Em 24 horas houve uma letalidade de 100% para todas as concentrações do extrato do *Z. officinale*, mas na sua formulação em óleo essencial houve uma baixa letalidade a partir da concentração de 1000 µg/mL mesmo depois de 48 horas de exposição. Em relação a *A. sativum*, a letalidade dos microcrustáceos foi menor que *Z. officinale*, o que preconiza uma baixa toxicidade.

Na Figura 2 está ilustrado o resultado da hemólise para o extrato bruto do *Z. officinale Roscoe* e a taxa de toxicidade observada na hemólise está descrita nas Tabelas 2 e 3.

Figura 2 – Mecanismo de toxicidade por hémolise do extrato bruto de *Zingiber officinale Roscoe*.



Da esquerda para direita: Controle positivo; controle negativo; 500; 250; 100; 50; 25 e 10 µg/mL.

Tabela 2- Hemólise em extrato vegetal, óleo essencial e hidrolato de *Allium sativum L.*

Concentrações (µg/mL)	Hemólise (%)		
	Hidrolato de <i>A. sativum</i>	Extrato <i>A. sativum</i>	Óleo <i>A. sativum</i>
500	65,51	90,29	54,48
250	0,88	93,18	0,8
100	0,08	40,56	-0,2
50	0,24	5,56	-0,07
25	0,07	3,07	-0,08
10	0,04	0,29	-0,04

Na avaliação da taxa de hemólise do óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *A. sativum L.*, o hidrolato mostrou alta toxicidade para a concentração de 500 µg/mL, com 65,5% de hemólise, nas demais concentrações a hemólise foi menor, o que demonstra ausência de toxicidade. Já para o extrato as concentrações de 500 e 250 µg/mL mostrou uma hemólise de 90,3% e 93,2% respectivamente, sendo que na concentração de 50 µg/mL houve baixa toxicidade. Para o óleo essencial a hemólise na concentração de 500 µg/mL foi de 54,4%, já nas outras concentrações foi menor, chegando a taxas negativas, o que demonstra nenhuma toxicidade.

Quando foi analisado o óleo essencial, do extrato e do hidrolato de *Z. officinale Roscoe*, a formulação em extrato foi aquela que obteve a maior hemólise e nas

concentrações menores que 100 µg/mL não houve toxicidade, já o óleo essencial em concentrações menores que 250 µg/mL a taxa de hemólise foi negativa, indicando ausência de hemólise.

Tabela 3- Hemólise em extrato vegetal, óleo essencial e hidrolato de *Zingiber officinale Roscoe*

Concentrações (µg/mL)	Hemólise (%)		
	Hidrolato de <i>Z. officinale</i>	Extrato de <i>Z. officinale</i>	Óleo de <i>Z. officinale</i>
500	94,86	106,97	19,64
250	1,58	28,53	-0,27
100	-0,03	0,65	-0,45
50	-0,02	-0,42	-0,41
25	-0,18	-0,47	-0,33
10	0,25	-0,30	-0,19

4 DISCUSSÃO

Os testes toxicológicos pré-clínicos são importantes para avaliar os efeitos prejudiciais que uma substância pode causar ao organismo vivo nos processos bioquímicos, celular e molecular (KLAASSEN e WATKINS, 2012).

A. salina é um microcrustáceo já utilizado como indicador de toxicidade em bioensaio, além de permitir uma construção científica para subsequente escalonamento em seres humanos. Este teste possui correlação com a toxicidade *in vivo*, que vai auxiliar em testes de extratos vegetais como alternativa antimicrobiana e outros ensaios para atividade biológica (ROSA *et al*, 2016).

Segundo Meyer *et al*, (1982), a letalidade de organismos simples como *A. salina* é prática, o acompanhamento e resposta biológica é rápida e envolve o aspecto morte e vida. As substâncias de concentração de 100µg/mL mostram haver resultados significativos de eficácia de baixa toxicidade (NUNES *et al*, 2020).

A hemólise pode suceder em decorrência de substâncias químicas presentes em plantas. Ela ocorre devido à ruptura da membrana das hemácias, com isso há a liberação da hemoglobina dessas células. Quando a hemoglobina está liberada no plasma pode causar danos em órgãos vitais como fígado, rins e coração. O teste de hemólise *in vitro* já foi adotado por vários autores para determinar a ação toxicológica de diversos extratos de plantas (FLOOD; BURKHOLDER, 2018; MAZZARINO *et al*, 2015; ZHANG *et al*, 2019).

Segundo Zhang *et al*, (2019) é contabilizado como HC₁₀ a concentração que causa 10% de hemólise, no presente experimento notou-se que no hidrolato de *A. sativum* a maioria das concentrações não chegou a 1% de hemólise, seguido pelo óleo essencial do

mesmo vegetal, que para a sua maioria o resultado se mostrou bastante promissor, e por fim, o extrato vegetal do bulbo que nas concentrações de 50, 25 e 10 ficaram abaixo de 10%.

A atividade farmacológica do *A. sativum* L. envolve uma variedade de compostos de organo enxofre, dos quais o mais notável é a alicina, que é responsável pelo odor característico, e que possui ação antiviral, antifúngica e antibiótica. Foram identificados cerca de 30 componentes que apresentam efeito terapêutico (BURIAN et al, 2017; CASELLA et al, 2012).

Já o uso do *Z. officinale* Roscoe, possui uma vasta utilização medicinal devido a seus princípios ativos, o gingerol e o shagaol. Esses compostos integram propriedade farmacológica que são responsáveis por ação antimicrobiana, anti-inflamatória, entre outras (DE SOUZA et al, 2019; NICÁCIO et al, 2018; PALMEIRA et al, 2019).

Nesse contexto, é válido ressaltar que a literatura científica mostra que *A. sativum* L. e *Z. officinale* Roscoe são plantas com potencial para o estudo de microdiluição *in vitro* com diversos microrganismos. E o resultado apresentado mostra que elas possuem baixa toxicidade, um efeito promissor para vários estudos que serão realizados de forma isolada ou sinérgica entre o produto natural e antibióticos de uso na medicina.

5 CONCLUSÃO

No trabalho desenvolvido, foi possível concluir que *A. sativum* L. e *Z. officinale* Roscoe nas formulações de extrato vegetal, óleo essencial e hidrolato apresentou toxicidade através do estudo com a hemólise e ensaio com *A. salina* Leach, porém em baixas concentrações, mostrando viabilidade de uso, o que favorece o estudo dessas plantas como potencial antimicrobiano e de baixa toxicidade. Esse resultado favorece uma conduta terapêutica complementar para o combate de infecções microbianas.

REFERÊNCIAS

- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília: MS; 2006. 148p. (Série B. Textos Básicos de Saúde). Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia_no_sus.pdf. Acesso em: 03 jan 2022.
- BURIAN, J. P.; SACRAMENTO, L. V. S.; CARLOS, I. Z.; Fungal infection control by garlic extracts (*Allium sativum* L.) and modulation of peritoneal macrophages activity in murine model of sporotrichosis. *Brazilian Journal of Biology*. v.77 n. 4, p. 848-855, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/7zLKb7yF8qTq75J6NQvmQkD/?format=pdf&lang=en>. Acesso em 05 jan 2022.
- CASELLA, S.; LEONARDI M.; MELAI, B.; FRATINI, F.; PISTELLI, L.; **The role of diallyl sulfides and dipropyl sulfides in the *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of garlic, *Allium sativum* L., and leek, *Allium porrum* L.** *Phytotherapy Research*, v. 27, n. 5, p. 637-646, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22610968/>. Acesso em: 04 jan 2022.
- CUTRIM, E. S. M.; TELES, A. M.; MOUCHREK, A. N.; MOUCHREK FILHO, V. E.; EVERTON, G. O.; **Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcóolicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim)**. *Revista Virtual de Química*. v.11 n.1, p. 60-81, 2019. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v11n1a06.pdf>. Acesso em 05 jan 2022.
- DE SOUZA, J. P.; SARTURI, L.; DE ABREU, A. R.; SOUSA, T. A.; GERON, V. L. M. G.; **Breve relato sobre os efeitos terapêuticos do gengibre (*Zingiber officinale* roscoe)**. *Revista Científica Da Faculdade De Educação E Meio Ambiente*. v. 10, n. 1, p. 44–53, 2019. Disponível em: <https://revista.faema.edu.br/index.php/Revista-FAEMA/article/view/785#:~:text=Os%20compostos%20farmacol%C3%B3gicos%20principais%20do,inflamat%C3%B3rias%2C%20antimicrobianas%20e%20entre%20outras>. Acesso em 04 jan 2022.
- EL-SAYED, H. S.; CHIZZOLA, R.; RAMADAN, A.; EDRIS, E.; Chemical composition and antimicrobial activity of garlic essential oils evaluated in organic solvent, emulsifying, and self-microemulsifying water based delivery systems. *Food chemistry*. v. 221, p. 196-204, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814616316697>. Acesso em 06 jan 2022.
- FIGUEREDO, C. A.; 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. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/physis/a/fzMtXMF6QwLVHLk8nzxdFdm/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 03 jan 2022.
- FLOOD, S. L.; BURKHOLDERA, J. M.; **Chattonella subsalsa (Raphidophyceae) growth and hemolytic activity in response to agriculturally-derived estuarine contaminants**. *Harmful Algae*. v. 76, p.66-79, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568988318300787>. Acesso em: 05 jan 2022.
- FONSECA, G. M.; PASSOS, T. C.; NINAHUAMAN, M. F. M. L.; CAROCI, A. S.; COSTA, S.; **Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (*Allium sativum* Liliaceae) e de seu**

extrato aquoso. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 16, n. 3, p. 679-684, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/sBLXSDvnn5p9NXCS9jqQ4Yj/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 05 jan 2022.

HIROTA, B. C. K.; PAULA, C. S.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; Avaliação de toxicidade *in vitro*: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à *Artemia salina*. Visão Acadêmica. v.13, n.2, 2012. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/27834/19433>. Acesso em: 04 jan 2022.

KALEGARI, M.; MIGUEL, M. D.; DIAS, J. F. G.; LORDELLO, A. L. L.; LIMA, C. P.; MIYAZAK, C. M. S.; ZANIN, S. M. W.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, O. G.; **Phytochemical Constituents And Preliminary Toxicity Evaluation Of Leaves From *Rourea Induta* Planch. (Connaraceae).** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 47, n. 3, p. 635-642, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjps/a/NJGq3XX8jz4SNTWxDyT7sVF/?lang=en>. Acesso em 06 jan 2022.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. B.; **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doul.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 472p.

LEITE, I. A.; MORAIS, A. M.; DO Ó, K. D. S.; CARNEIRO, R. G.; LEITE, C. A.; **A etnobotânica de plantas medicinais no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil.** Biodiversidade. v. 14, n. 1, p.22- 30, 2015. Disponível em: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/2249>. Acesso em: 04 jan 2022.

LUCKY, E.; IGBINOSA, O. E.; JONAHAN, I. **Antimicrobial activity of Zingiber officinale against multidrug resistant microbial isolates.** Health Sciences Research, v. 4, n. 6, p. 76-81, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/321320613_Antimicrobial_Activity_of_Zingiber_officinale_Against_Multidrug_Resistant_Microbial_Isolates. Acesso em. 03 jan 2022.

MAZZARINO, L.; LOCH-NECKEL, G.; DOS SANTOS BUBNIAK, L.; OURIQUE, F.; OTSUKA, I.; HALILA, S.; PEDROSA, R. C.; SANTOS-SILVA, M. C.; LEMOS-SENNA, E.; MUNIZ, E. C.; BORSALI, R.; **Nanoparticles made from Xyloglucan-Block-Polycaprolactone copolymers: Safety Assessment for Drug Delivery.** Toxicol. Sci. v. 147, n. 1, p. 104–115, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26048652/>. Acesso em 06 jan 2022.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, 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. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2007-971236>. Acesso em 02 fev 2021.

NICÁCIO, G. L. S.; MOURA, S.; COSTA, J. V. J.; SENA, C. R.; CRUZ, T. B. F.; LOPES, G. N. M.; CECILIO, A. B.; **Breve revisão sobre as propriedades fitoterápicas do Zingiber officinale Roscoe – o gengibre.** Sinapse Múltipla. v.7, n. 2, p. 74-80, 2018. Disponível em: <http://periodicos.pucminas.br/index.php/sinapsemultipla/article/view/15612/13986>. Acesso em: 06 jan 2022

NUNES, J. M. F. F.; FARIAS, I. A. P.; VIEIRA, C. A.; RIBEIRO, T. M.; SAMPAIO, F. C.; MENEZES, V.A.; Antimicrobial activity and toxicity of glass ionomer cement containing an

essential oil. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. v. 53, n. 12, p. 1-7, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjmbr/a/qSWcgMZvBW5kgkCrBJt4SJG/?format=pdf&lang=en>. Acesso em 04 jan 2022.

PALMEIRA, P. T. S. S.; LEAL, P. M.; FERNANDES NETO, J. A.; SIMÕES, T. M. S.; BATISTA, A. L. A.; CATÃO, M. H. C.; **O uso do gengibre (*Zingiber officinale*) em odontologia: propriedades e aplicações terapêuticas**. Brazilian Journal of Surgery Clinical Research. v. 27, n. 2, p. 110-115, 2019. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190704_103803.pdf. Acesso em: 06 jan 2022.

ROSA, C. S.; VERAS, K. S.; SILVA, P. R.; LOPES NETO, J. J.; CARDOSO, H. L. M.; ALVES, L. P. L.; BRITO, M. C.A.; AMARAL, F. M. M.; MAIA, J. G. S.; MONTEIRO, O. S.; MORAES, D. F. C.; **Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. v.18, n. 1, p.19-26, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/ZtcC58BRHwyrWCMpxKVB5gQ/?format=pdf&lang=p>t. Acesso 22 dez 2021

SANTOS, L. A.; MENEZES, J. S.; RUFINO, L. R. A.; OLIVEIRA, N. M. S.; FIORINI, J. E. **Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta *Plectranthus ornatus* Codd (boldo chinês)**. Revista Médica de Minas Gerais. v. 24, n. 4, p. 464-469, 2014. Disponível em: <http://www.rmmg.org/artigo/detalhes/1705>. Acesso em: 04 jan 2022.

WANG, J.-J.; LIU, K.-S.; SUNG, K. C.; TSAI, C.-Y.; FANG, J.-Y.; **Lipid nanoparticles with different oil/fatty ester ratios as carriers of buprenorphine and its prodrugs for injection**. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 38, n. 2, p. 138-146, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19591929/>. Acesso em: 21 dez 2021.

ZHANG, J.; CHEN, X. G.; LI, Y. Y.; LIU, C. S.; **Self-assembled nanoparticles based on hydrophobically modified chitosan as carriers for doxorubicin**. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. v. 3, n. 4, p. 258-265, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S15499634070011>. Acesso em 21 dez 2021.

ZHANG, K.; DU, Y.; SI, Z.; LIU, Y.; TURVEY, M. E.; RAJU, C.; et. al.; **Enantiomeric glycosylated cationic block co-peptides eradicate *Staphylococcus aureus* biofilms and antibiotic-tolerant persisters**. Nature Communications. v. 10, 4792, 2019. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6803644/pdf/41467_2019_Article_12702.pdf. Acesso em 03 jan 2022.