

ANÁLISE DE CITOTOXICIDADE DE UMA FORMULAÇÃO FITOTERÁPICA MAGISTRAL INDICADA PARA O CONTROLE DA OBESIDADE

CYTOTOXICITY ANALYSIS OF A MAGISTRAL HERBAL FORMULATION
INDICATED FOR OBESITY CONTROL

Ciências Biológicas, Ciências da Saúde • 14/08/2026

REGISTRO DOI: [10.70773/revistatopicos/786652671](https://doi.org/10.70773/revistatopicos/786652671)

Laise Moura Orlandi¹

Thiago Soares Rocha²

Gisele Lopes de Oliveira³

RESUMO

Nos últimos anos, tem-se observado um crescimento significativo no uso de formulações fitoterápicas e magistrais como alternativas terapêuticas e/ou complementares no manejo da obesidade. Esse movimento é impulsionado pela busca por abordagens consideradas mais naturais e potencialmente menos agressivas. Contudo, destaca-se que muitas dessas formulações vêm sendo empregadas na prática clínica sem a devida avaliação experimental quanto à sua toxicidade e segurança. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e padronizar uma formulação fitoterápica magistral destinada ao manejo da obesidade e avaliar a citotoxicidade da formulação em duas linhagens celulares, HepG2 e BGM. Foi desenvolvida uma formulação composta por extratos secos padronizados de *Passiflora incarnata*, *Equisetum giganteum*, *Aloe ferox*, *Baccharis trimera*, *Fucus vesiculosus* e *Phaseolus vulgaris*. Para avaliar a citotoxicidade da formulação, as células foram cultivadas em meio RPMI-1640, semeadas em placas de 96 poços e viabilidade celular foi determinada pelo ensaio de resazurina. As concentrações de 10.000; 1.000; 100; 10; 1 e 0,1 µg/mL foram testadas nas linhagens HepG2 e BGM, e após 24 horas, uma redução significativa da viabilidade celular foi observada apenas na maior concentração (10.000 µg/mL; $p < 0,0001$). Os resultados evidenciam que a formulação fitoterápica apresenta baixa toxicidade *in vitro*.

Palavras-chave: obesidade; citotoxicidade; formulação magistral.

ABSTRACT

In recent years, a significant increase has been observed in the use of herbal and compounded formulations as therapeutic and/or complementary alternatives in the management of obesity. This trend is driven by the search for approaches considered more

natural and potentially less aggressive. However, it is noteworthy that many of these formulations have been used in clinical practice without proper experimental evaluation of their toxicity and safety. Therefore, the present study aimed to develop and standardize a compounded herbal formulation intended for the management of obesity and to evaluate its cytotoxicity in two cell lines, HepG2 and BGM. A formulation composed of standardized dry extracts of *Passiflora incarnata*, *Equisetum giganteum*, *Aloe ferox*, *Baccharis trimera*, *Fucus vesiculosus*, and *Phaseolus vulgaris* was developed. To assess the cytotoxicity of the formulation, cells were cultured in RPMI-1640 medium, seeded into 96-well plates, and cell viability was determined using the resazurin assay. Concentrations of 10,000; 1,000; 100; 10; 1; and 0.1 µg/mL were tested in HepG2 and BGM cell lines, and after 24 hours, a significant reduction in cell viability was observed only at the highest concentration (10,000 µg/mL; $p < 0.0001$). The results demonstrate that the herbal formulation presents low in vitro toxicity.

Keywords: obesity; cytotoxicity; compounded formulation.

1. INTRODUÇÃO

A obesidade configura-se como uma condição crônica multifatorial de elevada relevância em saúde pública, estando associada a alterações metabólicas, inflamatórias e hormonais complexas. Nesse cenário, observa-se um aumento expressivo no uso de formulações fitoterápicas e magistrais como alternativas terapêuticas, impulsionado pela busca por abordagens mais naturais e potencialmente menos agressivas. No entanto, muitas dessas formulações são utilizadas na prática clínica sem avaliação experimental rigorosa de sua segurança em nível celular, o que evidencia uma importante lacuna científica e regulatória [1, 2].

A avaliação da citotoxicidade de compostos bioativos é essencial e fundamental para garantir sua segurança e eficácia, especialmente diante do crescente uso dessas terapias na prática clínica e na automedicação. Historicamente, produtos de origem vegetal, por serem naturais, são vistos como inofensivos, entretanto, diversas substâncias bioativas podem exercer efeitos adversos sobre células humanas, dependendo da concentração, do tempo de exposição, da via de administração e até mesmo da sinergia entre as substâncias em formulações fitoterápicas [3-5].

Nesse contexto, os ensaios de viabilidade celular têm se consolidado como uma das principais abordagens em estudos *in vitro* voltados à farmacologia e toxicologia, por permitirem inferir o estado funcional das células a partir de sua atividade metabólica [6, 7]. O ensaio de viabilidade metabólica utilizando resazurina destaca-se e é amplamente empregado devido à sua sensibilidade, simplicidade operacional, baixo custo e aplicabilidade em diferentes linhagens celulares [8, 9].

A resazurina é um corante redox não fluorescente que, ao penetrar nas células, é reduzido a resorufina, composto fluorescente por enzimas intracelulares associadas ao metabolismo celular. Essa conversão permite a quantificação indireta da viabilidade celular com base na intensidade do sinal gerado [8, 9]. Esse tipo de teste, por sua versatilidade e caráter não destrutivo, permite inclusive análises complementares no mesmo sistema experimental, tornando-o uma ferramenta relevante na investigação de substâncias com potencial terapêutico [9-11].

Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e padronizar uma formulação fitoterápica magistral

destinada ao manejo da obesidade, composta por extratos de *Passiflora incarnata*, *Equisetum giganteum*, *Aloe ferox*, *Baccharis trimera*, *Fucus vesiculosus* e *Phaseolus vulgaris*, e avaliar a citotoxicidade da formulação em duas linhagens celulares, HepG2 (câncer hepático humano) e BGM (rim de macaco-verde-africano).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Desenvolvimento e Preparo da Formulação Fitoterápica Magistral

A formulação fitoterápica magistral avaliada neste estudo foi desenvolvida pela autora principal, farmacêutica, seguindo os princípios do desenvolvimento racional de formulações magistrais e fundamentada em evidências científicas relacionadas ao emprego de plantas medicinais no manejo complementar da obesidade. Considerando o caráter multifatorial dessa condição clínica, a formulação foi concebida com o propósito de integrar espécies vegetais cujos compostos bioativos apresentassem mecanismos de ação complementares sobre diferentes processos fisiopatológicos envolvidos na obesidade, incluindo modulação neuroendócrina, metabolismo energético, absorção de carboidratos, inflamação sistêmica, retenção hídrica e função digestiva [12,13].

A seleção das espécies vegetais foi realizada por meio de levantamento da literatura científica, contemplando estudos experimentais, ensaios clínicos, revisões de literatura, monografias oficiais, Farmacopeia Brasileira, e fichas técnicas dos fabricantes dos extratos padronizados. Para cada espécie foram considerados a identificação botânica, a parte vegetal utilizada, a composição fitoquímica, os principais compostos bioativos, as indicações

terapêuticas, os mecanismos farmacológicos descritos, as evidências de eficácia relacionadas ao manejo da obesidade e o perfil de segurança para administração oral [12–16].

A composição da formulação foi estruturada segundo o conceito de abordagem farmacológica multialvo, buscando associar extratos vegetais com mecanismos de ação complementares e potencial atuação sinérgica sobre diferentes vias fisiopatológicas relacionadas à obesidade, conforme descrito para formulações fitoterápicas complexas [13]. A associação foi planejada de forma a contemplar diferentes alvos terapêuticos sem sobreposição farmacológica significativa entre os componentes.

As dosagens individuais dos extratos foram definidas mediante análise integrada das faixas de utilização descritas na literatura científica, nas monografias técnicas e nas recomendações dos fabricantes para extratos secos padronizados. Para cada espécie vegetal foram consideradas a parte utilizada da planta, a padronização do extrato, as concentrações recomendadas para administração oral, as evidências de eficácia em estudos pré-clínicos e clínicos e os respectivos perfis de segurança [14–16]. A composição final foi estabelecida de modo que todos os componentes permanecessem dentro das faixas de utilização descritas individualmente, preservando a compatibilidade farmacológica entre os extratos e a segurança da associação.

Embora existam evidências de potenciais interações farmacodinâmicas entre compostos bioativos presentes em formulações fitoterápicas, não foram realizados cálculos específicos para estimativa dessas interações, uma vez que ainda não existem modelos farmacocinéticos ou farmacodinâmicos validados capazes

de prever o comportamento de associações compostas por múltiplos extratos vegetais [13]. Dessa forma, a formulação foi fundamentada na plausibilidade biológica da associação, na complementaridade dos mecanismos de ação e nas evidências de segurança previamente descritas para cada componente. As características dos extratos vegetais utilizados, incluindo a parte da planta empregada, as doses incorporadas à formulação, as faixas de utilização descritas na literatura e a justificativa farmacológica para inclusão de cada componente estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características dos extratos vegetais utilizados no desenvolvimento da formulação fitoterápica magistral proposta para o manejo da obesidade

Espécie vegetal	Parte utilizada	Dose utilizada (mg/cápsula)	Faixa de dose descrita na literatura	Evidência clínica	Referência
<i>Passiflora incarnata</i>	Folhas	50	600–1000 mg/dia	Modulação neuroendócrina, auxílio no controle	[14]; [12]; [19]; [20]; [16]; [38]; [31]; [32]; [23]; [24]; [33]; [45]; [46]

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em: <https://revistatopicos.com.br/artigos/analise-de-citotoxicidade-de-uma-formulacao-fitoterapica-magistral-indicada-para-o-controle-da-obesidade?noblockage>

Fonte: Elaborada pela autora (2026), embasada pelos autores: [14]; [12]; [19]; [20]; [16]; [38]; [31]; [32]; [23]; [24]; [33]; [45]; [46].

Para o preparo da formulação foram utilizados extratos secos padronizados de *Passiflora incarnata*, *Equisetum giganteum*, *Aloe ferox*, *Baccharis trimera*, *Fucus vesiculosus* e *Phaseolus vulgaris*, obtidos das respectivas partes vegetais descritas nas monografias oficiais e nas fichas técnicas dos fabricantes. A Farmacopeia Brasileira foi utilizada como referência para verificação da identidade botânica, da parte vegetal empregada e das especificações de qualidade dos insumos, quando aplicável. Os extratos foram previamente pesados em balança analítica calibrada e posteriormente homogeneizados em equipamento apropriado para assegurar distribuição uniforme dos princípios ativos. Como excipiente utilizou-se amido de milho q.s.p., empregado como veículo inerte para promover estabilidade física e padronização da formulação. A mistura foi encapsulada em cápsulas duras, incolores e isentas de corantes, manipuladas em farmácia de manipulação parceira, em conformidade com as Boas Práticas de Manipulação estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [17]. Após o preparo, as cápsulas permaneceram armazenadas em condições controladas de temperatura e umidade até sua utilização experimental.

2.2. Ensaio de Citotoxicidade

2.2.1. Preparação da Amostra

Para a realização do ensaio citotóxico da formulação magistral desenvolvida, foi preparada, inicialmente, a solução inicial com 100 mg do extrato seco (da formulação) dissolvidos em 1000 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), resultando em uma solução homogênea. Esta solução inicial foi armazenada em microtubos de polipropileno estéreis e mantida sob refrigeração até o momento das diluições.

A partir da solução inicial, foram realizadas seis diluições seriadas logarítmicas decrescentes, com concentrações finais de 10000 µg, 1000 µg, 100 µg, 10 µg, 1 µg e 0,1 µg / mL, respectivamente. Cada diluição foi preparada utilizando o método de diluição sucessiva, em que 100 µL da diluição anterior foram transferidos para 900 µL de meio de cultura RPMI-1640, totalizando 1 mL de volume final por tubo. Essa sequência foi repetida sucessivamente até atingir a menor concentração prevista.

O controle negativo consistiu na exposição das células ao meio RPMI-1640, suplementado com DMSO na mesma concentração presente nas soluções, visando excluir eventuais efeitos tóxicos atribuíveis ao solvente. Essa estratégia permite assegurar que possíveis alterações na viabilidade celular fossem exclusivamente relacionadas à presença da formulação fitoterápica testada, e não ao DMSO.

2.2.2. Ensaio de Viabilidade Metabólica com Resazurina

A atividade citotóxica da formulação fitoterápica foi avaliada *in vitro* utilizando as linhagens celulares HepG2 (câncer hepático humano) e BGM (rim de macaco-verde-africano). As células foram cultivadas em meio RPMI-1640 (Sigma), suplementado com 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 10% de soro fetal bovino inativado, mantidas a 37 °C em atmosfera umidificada com 5% de CO₂.

Após semeadura em placas de 96 poços, a uma densidade de 3×10^4 células/poço e período de 24 horas para adaptação, as células foram tratadas com as diferentes concentrações da formulação (10.000;

1.000; 100; 10; 1; 0,1 µg/mL) por 24 horas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio de resazurina, baseado na capacidade das células metabolicamente ativas de reduzir esse corante em resorufina, um composto fluorescente. O ensaio baseia-se na integridade funcional do metabolismo celular, especialmente na atividade de enzimas oxidoredutoras presentes nas mitocôndrias e no citosol. Células viáveis mantêm fluxo metabólico ativo, com geração de equivalentes redutores, como NADH e FADH₂, que participam da conversão da resazurina em resorufina. Esse processo permite análises quantitativas confiáveis, desde que fatores como densidade celular, tipo de linhagem e tempo de incubação sejam rigorosamente controlados. Contudo, é importante destacar que esse método reflete predominantemente a atividade metabólica, e não necessariamente a morte celular direta [6-9].

Após a adição de 20 µg de solução de resazurina (0,30 mg/mL) e incubação por 24 horas a 37 °C, a intensidade do sinal foi quantificada a 570 nm em leitor de microplacas Varioskan LUX (Thermo Fisher Scientific, EUA) operado pelo software SkantIt (versão 7.1), refletindo a atividade metabólica das células viáveis. Os valores obtidos foram normalizados em relação ao controle veículo e a concentração citotóxica 50% (CC₅₀) foi determinada por análise de regressão não linear das curvas dose-resposta, utilizando o software GraphPad Prism (versão 8.0).

O tempo de exposição de 24 horas foi adotado por ser amplamente utilizado em ensaios de citotoxicidade *in vitro* e considerado

suficiente para detectar efeitos agudos sobre a viabilidade celular, especialmente em testes com resazurina [6, 7, 18].

2.2.3. Análise dos Dados

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, confirmando a distribuição normal das amostras ($p > 0,05$). Na sequência, aplicou-se análise de variância de uma via (one-way ANOVA), e testes de Brown-Forsythe e Bartlett que para confirmar a homogeneidade das variâncias ($p > 0,05$), utilizando software GraphPad Prism (versão 8.0). Também foi realizada uma regressão não linear das curvas dose-resposta para estimar os valores de CC_{50} (concentração citotóxica %) para cada linhagem celular com Intervalo de Confiança de 95% (IC95).

3. RESULTADOS

3.1. Desenvolvimento da Formulação Fitoterápica Magistral

O desenvolvimento da formulação fitoterápica magistral resultou na seleção de seis extratos vegetais padronizados: *Passiflora incarnata*, *Equisetum giganteum*, *Aloe ferox*, *Baccharis trimera*, *Fucus vesiculosus* e *Phaseolus vulgaris*. A composição foi definida com base em critérios técnico-científicos previamente estabelecidos, considerando a complementaridade dos mecanismos de ação, as evidências de eficácia descritas na literatura e o perfil de segurança de cada espécie para administração oral.

As doses incorporadas à formulação foram estabelecidas dentro das faixas de utilização descritas na literatura científica, em monografias técnicas e nas fichas técnicas dos fabricantes dos extratos padronizados, respeitando os limites de segurança para uso oral e a

compatibilidade farmacológica entre os componentes. As características dos extratos vegetais utilizados e a composição da formulação desenvolvida estão apresentadas na Tabela 1.

3.2. Ensaio de Citotoxicidade

As concentrações de 10.000; 1.000; 100; 10; 1 e 0,1 µg/mL da formulação fitoterápica magistral desenvolvida foram testadas nas linhagens HepG2 e BGM, e após 24 horas, uma redução significativa da viabilidade celular foi observada apenas na maior concentração (10.000 µg/mL; $p < 0,0001$). Nas demais concentrações, a viabilidade manteve-se superior a 90%, sem diferenças estatísticas em relação ao controle ($p > 0,05$).

Os resultados apresentaram diferença significativa entre as linhagens (HepG2: $F = 20,80$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,77$; BGM: $F = 65,36$; $p < 0,0001$; $R^2 = 0,84$), e os testes de Brown-Forsythe e Bartlett confirmaram homogeneidade das variâncias ($p > 0,05$).

A CC_{50} estimada por regressão não linear foi de 28.046 µg/mL (IC95%: 23.831–33.473) para HepG2 e 57.684 µg/mL (IC95%: 47.825–71.612) para BGM, valores que extrapolaram a maior concentração testada (10.000 µg/mL). Esses resultados indicam baixa citotoxicidade *in vitro*, com efeito tóxico apenas em doses extremas.

As Figuras 1 e 2 mostram o comportamento da viabilidade celular nas duas linhagens, evidenciando estabilidade das curvas dose-resposta até 1.000 µg/mL e declínio acentuado somente em 10.000 µg/mL. O ajuste das curvas dose-resposta apresentou coeficientes de determinação $R^2 = 0,77$ para HepG2 e $R^2 = 0,84$ para BGM, demonstrando consistência estatística e reforçando a confiabilidade

dos valores estimados de CC_{50} , que extrapolam a maior concentração testada.

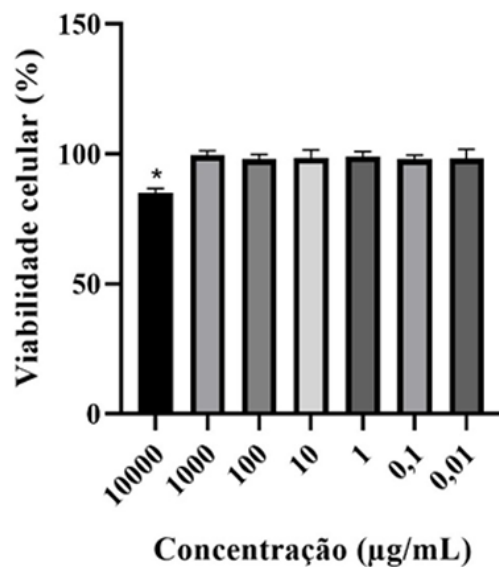


Figura 1. Viabilidade celular (%) de HepG2 após 24 hs de exposição à formulação fitoterápica. Fonte: GraphPad Prism.

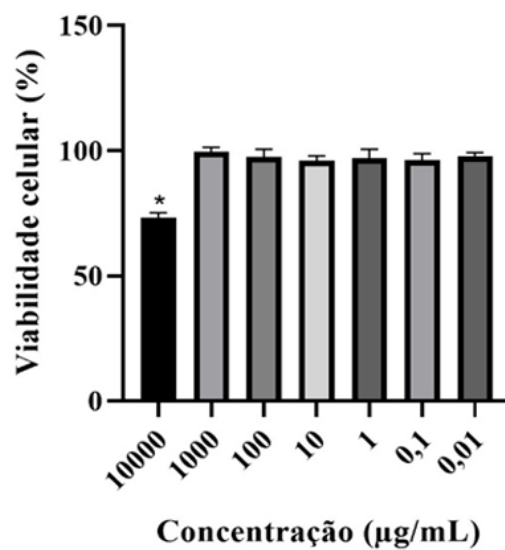


Figura 2. Viabilidade celular (%) de BGM após 24 hs de exposição à formulação fitoterápica. Fonte: GraphPad Prism.

De forma geral, os resultados obtidos evidenciam que a formulação fitoterápica apresenta baixa toxicidade *in vitro*, uma vez que os

valores de CC_{50} foram elevados e apenas a concentração máxima testada ocasionou redução significativa da viabilidade celular.

4. DISCUSSÃO

Diante da baixa citotoxicidade da formulação fitoterápica desenvolvida frente às linhagens celulares HepG2 e BGM, com viabilidade celular superior a 90% em todas as concentrações testadas, exceto na mais elevada (10.000 $\mu\text{g/mL}$), é sugerido uma segurança preliminar para o uso, embora ainda haja necessidade de investigações complementares de toxicidade para validar a segurança e a aplicabilidade dessa formulação no manejo da obesidade e das disfunções metabólicas associadas. Esse perfil de baixa toxicidade é compatível com estudos recentes envolvendo compostos naturais utilizados em distúrbios metabólicos, os quais tendem a apresentar boa tolerabilidade celular quando empregados em concentrações fisiologicamente relevantes [13].

O resultado observado com as curvas de dose-resposta (Figuras 1 e 2) evidenciam estabilidade da viabilidade celular até concentrações intermediárias, com redução significativa apenas em dose extrema, indicando baixo potencial citotóxico nas condições avaliadas [6, 9]. Embora tenha sido observada diferença nos valores estimados de CC_{50} entre as linhagens ($\text{HepG2} < \text{BGM}$), essa variação deve ser interpretada com cautela, uma vez que ambas apresentaram comportamento semelhante ao longo de toda a faixa experimental. A redução da viabilidade ocorreu de forma coincidente apenas na maior concentração testada, não sendo observadas diferenças relevantes em concentrações mais baixas, o que sugere que a resposta celular é globalmente semelhante entre os dois modelos [7, 25].

A maior sensibilidade aparente das células HepG2 pode estar relacionada à sua origem hepática e maior capacidade metabólica, uma vez que essa linhagem apresenta atividade enzimática envolvida na biotransformação de xenobióticos, podendo gerar metabólitos mais reativos [26, 27]. Entretanto, os dados não indicam uma diferença funcional expressiva entre as linhagens dentro da faixa de concentrações biologicamente relevantes, sugerindo que o efeito citotóxico da formulação é limitado e ocorre apenas em condições de exposição elevada.

Além disso, os elevados valores de CC_{50} , superiores à maior concentração testada, reforçam a baixa citotoxicidade da formulação, mas também indicam uma limitação experimental, uma vez que não foi possível determinar com precisão o ponto de inflexão da curva dose-resposta. Esse tipo de comportamento é descrito na literatura em estudos exploratórios de citotoxicidade, nos quais a ausência de efeito em concentrações intermediárias dificulta a caracterização completa do perfil toxicológico [18, 28].

Dessa forma, os resultados devem ser interpretados como evidência preliminar de baixa toxicidade *in vitro*, sendo coerentes com achados prévios envolvendo os compostos da formulação, que apresentam perfil de segurança em modelos celulares [2, 9]. No entanto, é importante ressaltar que ensaios baseados em resazurina refletem predominantemente a atividade metabólica celular e não necessariamente a morte celular direta [6, 8].

Em adição, escolha as linhagens celulares utilizadas no presente estudo representa um fator determinante para a confiabilidade dos resultados. A linhagem HepG2, derivada de carcinoma hepatocelular humano, é amplamente utilizada em estudos de metabolismo de

xenobióticos, devido à sua relevante atividade enzimática, constituindo um modelo adequado para simular a biotransformação de compostos bioativos [26, 27, 29]. Por sua vez, a linhagem BGM, de origem renal, é empregada como modelo não tumoral em estudos de toxicidade geral, permitindo a avaliação de efeitos citotóxicos em células epiteliais não especializadas [7, 25, 30]. A utilização conjunta dessas linhagens possibilita uma análise mais abrangente da citotoxicidade, comparando respostas celulares em diferentes contextos biológicos e aumentando a robustez dos achados experimentais.

A baixa citotoxicidade observada pode ser parcialmente explicada pelo perfil farmacológico dos componentes da formulação. Estudos evidenciam que extratos de *F. vesiculosus* demonstram o caráter dose-dependente e seletivo da atividade biológica dos seus principais compostos. Os florotaninos, classe exclusiva de polifenóis presente em algas pardas, têm demonstrado citotoxicidade preferencial sobre linhagens tumorais, sem comprometer significativamente células normais [31]. Somente extratos e frações ricas em florotaninos de *F. vesiculosus* testados em linhagens tumorais gastrointestinais induziram morte celular de forma expressiva, e mesmo assim em concentrações superiores às utilizadas no presente estudo.

Adicionalmente, estudos sobre fucoïdanas – polissacarídeos sulfatados abundantes em *F. vesiculosus* – indicam que essa fração bioativa possui citotoxicidade seletiva para células malignas, com efeitos muito menores sobre células normais [32]. A fucoïdana bruta não fracionada de *F. vesiculosus* apresentou maior toxicidade sobre células HepG2 em comparação às suas frações purificadas, sugerindo que a ação sinérgica entre fucoïdanas, florotaninos e

outros componentes da matriz algal pode modular a resposta citotóxica de forma complexa [32]. No contexto da formulação avaliada no presente estudo, onde o extrato seco total é utilizado, a presença simultânea desses compostos pode ter contribuído para a manutenção de viabilidade celular elevada nas concentrações fisiologicamente relevantes.

O extrato de *P. vulgaris*, conhecido como inibidor de alfa-amilase ou ‘bloqueador de amido’, possui robusto histórico de segurança em modelos *in vitro* e *in vivo*, além de evidências que os inibidores de alfa-amilase de *P. vulgaris* apresentam perfil de segurança favorável quando empregados nas concentrações utilizadas clinicamente, com ausência de genotoxicidade e baixo potencial de interferência sobre células não-alvo em modelos celulares padronizados [24]. Esses dados reforçam os resultados observados no presente estudo, nos quais a viabilidade celular das linhagens HepG2 e BGM foi mantida acima de 90% nas concentrações terapeuticamente relevantes.

A segurança do extrato de *P. vulgaris* em doses equivalentes às utilizadas clinicamente (de 200 a 1500 mg/dia) também foi corroborada por estudos clínicos com o produto comercial Phase 2®, que não relataram efeitos adversos significativos [33]. No âmbito celular, o mecanismo de ação dos inibidores de alfa-amilase se baseia em interação proteína-proteína no lúmen intestinal, sem envolvimento direto com rotas citotóxicas intracelulares, o que justifica a ausência de efeitos sobre a viabilidade metabólica detectada pelo ensaio de resazurina em modelos celulares isolados.

A toxicidade dose-dependente observada em concentrações mais elevadas da formulação alinha-se ao perfil farmacológico

documentado para *Aloe ferox*, indicando que antraquinonas como a aloína, aloe-emodina e emodina são os principais responsáveis por efeitos tóxicos, sendo esses efeitos fortemente dependentes da dose e do grau de purificação do extrato [16]. O extrato aquoso de *A. ferox* mostrou-se bem tolerado em doses terapêuticas de curto prazo, enquanto a administração prolongada ou em altas concentrações pode associar-se a toxicidade orgânica [16].

Esse comportamento é mecanisticamente explicado pelo fato de que, em altas concentrações, a aloe-emodina pode desestabilizar o equilíbrio redox subcelular e induzir citotoxicidade mediada por espécies reativas de oxigênio (EROs) [34]. Em contrapartida, nas concentrações fisiologicamente relevantes, os componentes antioxidantes do extrato – incluindo polissacarídeos como acemanana e compostos fenólicos – exercem efeito protetor celular [34], o que pode explicar a preservação de viabilidade acima de 90% nas concentrações intermediárias observada no presente estudo. A utilização de extrato seco padronizado de *A. ferox*, como no estudo em questão, reduz a variabilidade na concentração de antraquinonas e contribui para a previsibilidade do perfil de segurança.

A contribuição de *E. giganteum* para a manutenção da viabilidade celular nas concentrações intermediárias pode ser atribuída ao seu perfil fitoquímico rico em compostos fenólicos com reconhecida atividade antioxidante e citoprotetora [35]. Extratos de *Equisetum* são ricos em flavonoides, ácidos hidroxicinâmicos e ácidos hidroxibenzóicos, com capacidade de neutralizar radicais livres e reduzir o estresse oxidativo em modelos celulares. Especificamente para *E. giganteum*, a presença de kaempferol-glucosídeos e

derivados do ácido cafeico foi descrita como determinante para a atividade antioxidante [35].

Em alinhamento com esses dados, em uma análise fitoquímica comparativa de cinco espécies de *Equisetum*, a presença de ácidos hidroxicinâmicos, flavonoides e outros polifenóis com elevada capacidade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e Folin-Ciocalteu e foi sugerido que os compostos antioxidantes de *E. giganteum* podem ter exercido efeito citoprotetor nas linhagens HepG2 e BGM, atenuando possíveis danos oxidativos induzidos por outros constituintes da formulação em concentrações intermediárias [20]. Esse mecanismo é consistente com o comportamento observado nas curvas dose-resposta do presente estudo.

No que concerne à *B. trimeria*, os estudos citotoxicológicos demonstram resultados variáveis conforme o tipo de extrato, a linhagem celular avaliada e a metodologia empregada. Santos *et al.* [38] verificaram que o extrato aquoso de *B. trimeria* não foi citotóxico para células de medula óssea nas concentrações testadas (500–2.000 µg/mL), e que o potencial mutagênico foi observado apenas em concentrações muito elevadas e por metodologias específicas (micronúcleo em medula óssea). Adicionalmente, Nogueira *et al.* [39] relataram que extratos etanólicos apresentaram inibição do crescimento de células HEK (embrionárias renais humanas) com IC₅₀ acima de 78 µg/mL e menor efeito sobre células hepáticas (HTC, IC₅₀ > 168 µg/mL), evidenciando especificidade celular e concentração-dependência.

Mais recentemente, foi demonstrado que o extrato foliar de *B. trimeria* não exibiu citotoxicidade em células 3T3 (fibroblastos

murinos) em nenhuma das concentrações avaliadas, apresentando ainda expressiva atividade antioxidante e potencial de redução de lipídios em modelo de *C. elegans* [2]. Esses dados são particularmente relevantes para o contexto do presente estudo, pois indicam que o extrato de *B. trimera*, especialmente quando utilizado em formulações combinadas e em doses controladas, tende a apresentar baixa toxicidade celular, o que é consistente com a viabilidade acima de 90% observada nas linhagens HepG2 e BGM nas concentrações intermediárias.

O perfil de baixa toxicidade observado para *P. incarnata* também está bem documentado na literatura. A toxicidade aguda e subaguda de extratos etanólicos e nanoformulações de *P. incarnata* testados em modelos *in vitro* e *in vivo* (embriões de zebrafish e camundongos Swiss albino) confirmam a tolerabilidade sistêmica e ausência de efeitos adversos relevantes nas doses terapêuticas [1]. Também, a administração crônica de extrato de *P. incarnata* em camundongos não alterou parâmetros metabólicos ou comportamentais, exceto indução de sedação [36], o que reforça a ausência de toxicidade celular inespecífica.

Do ponto de vista farmacológico, os principais compostos de *P. incarnata* – incluindo vitexina, isovitexina, orientina e outros flavonóides C-glicosídeos exercem atividade antioxidante e moduladora, contribuindo potencialmente para a preservação da função mitocondrial nas células expostas à formulação. Essa classe de compostos não apresenta mecanismos de ação diretamente citotóxicos em concentrações fisiologicamente relevantes, o que é coerente com a alta viabilidade celular observada nas linhagens HepG2 e BGM nas concentrações de 0,1 a 1.000 µg/mL no presente estudo [37].

Dessa forma, os resultados do presente estudo devem ser interpretados como evidência preliminar de baixa toxicidade in vitro, sendo coerentes com achados prévios envolvendo os compostos da formulação, que apresentam perfil de segurança em modelos celulares [2, 9].

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que a formulação fitoterápica magistral desenvolvida, composta por extratos padronizados de *Passiflora incarnata*, *Equisetum giganteum*, *Aloe ferox*, *Baccharis trimera*, *Fucus vesiculosus* e *Phaseolus vulgaris*, apresenta um perfil de segurança preliminar favorável quando avaliada por ensaio de viabilidade metabólica com resazurina em linhagens celulares HepG2 e BGM. A ausência de citotoxicidade significativa em concentrações clinicamente relevantes e a extrapolação dos valores de CC₅₀ para além do intervalo testado (28.046 µg/mL para HepG2 e 57.684 µg/mL para BGM) constituem indicadores robustos de que a formulação não exerce efeitos tóxicos diretos sobre células hepáticas e renais em condições de exposição aguda controlada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodrigues LS *et al.* Association between the FTO gene polymorphism and obesity in Brazilian adolescents from the Northeast region. J Pediatr. 2020;96(5):608-615.
2. Brusamarello MN *et al.* Biological and phytochemical potential of *Baccharis trimera* (Less.) DC leaf extract on swine clinical isolates. Nat Prod Res. 2024;38(10):1799-1805, doi:10.1080/14786419.2023.2222217.

3. Pinto TJA *et al.* Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 4th ed. Barueri (SP): Manole Saúde; 2015.
4. Tedesco M *et al.* Chromatographic analysis, antiproliferative effect and genotoxicity of aqueous extracts of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck on the *Allium cepa* test system. *Biosci J.* 2015;31(4):1213-1221, doi:10.14393/BJ-v31n4a2015-23245.
5. Fagotti RLV, Ribeiro JC. Uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos em insônia: uma revisão bibliográfica. *Braz J Health Pharm.* 2021;3(2):35-48.
6. Riss TL *et al.* Cell viability assays. In: Markossian S *et al.*, editors. *Assay Guidance Manual*. Bethesda (US): National Center for Advancing Translational Sciences; 2011.
7. Aslantürk ÖS. In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages and disadvantages. In: Larramendy ML, Soloneski S, editors. *Genotoxicity: a predictable risk to our actual world*. London (UK): IntechOpen; 2018, doi:10.5772/intechopen.71923.
8. Rampersad SN. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors (Basel).* 2012;12(9):12347-12360, doi:10.3390/s120912347.
9. Vieira-da-Silva B, Castanho MARB. Resazurin reduction-based assays revisited: guidelines for accurate reporting of relative differences on metabolic status. *Molecules.* 2023;28(5):2283, doi:10.3390/molecules28052283.

10. O'Brien J *et al.* Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur J Biochem.* 2000;267(17):5421-5426, doi:10.1046/j.1432-1327.2000.x.
11. Sarker SD *et al.* Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods.* 2007;42(4):321-324, doi:10.1016/j.ymeth.2007.01.006.
12. Deepika B *et al.* Harmony in nature's elixir: a comprehensive exploration of ethanol and nano-formulated extracts from *Passiflora incarnata* leaves: unveiling in vitro cytotoxicity, acute and sub-acute toxicity profiles in Swiss albino mice. *J Mol Histol.* 2024;55(5):977-994, doi:10.1007/s10735-024-10245-x.
13. Lee M *et al.* Systems pharmacology approaches in herbal medicine research: a brief review. *BMB Rep.* 2022;55(9):417-428, doi:10.5483/BMBRep.2022.55.9.102.
14. Miroddi M *et al.* *Passiflora incarnata* L.: ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials. *J Ethnopharmacol.* 2013;150(3):791-804, doi:10.1016/j.jep.2013.09.047.
15. Guo X, Mei N. Aloe vera: a review of toxicity and adverse clinical effects. *J Environ Sci Health.* 2016;34(2):77-96, doi:10.1080/10590501.2016.1166826.
16. Nalimu F *et al.* Review on the phytochemistry and toxicological profiles of Aloe vera and Aloe ferox. *Future J*

17. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para boas práticas de fabricação de medicamentos. [Internet]. Brasília (DF): ANVISA; 2018. [citado em 15 mar 2026]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/arquivos-noticias-anvisa/2217json-file-1>. Acesso em: 15 mar. 2026.
18. Larsson P *et al.* Optimization of cell viability assays to improve replicability and reproducibility of cancer drug sensitivity screens. *Sci Rep.* 2020;10:5798, doi:10.1038/s41598-020-62848-5.
19. Boeing T *et al.* Phytochemistry and pharmacology of the genus *Equisetum* (Equisetaceae): a narrative review of the species with therapeutic potential for kidney diseases. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021;2021:6658434, doi:10.1155/2021/6658434.
20. Gazafroudi KN *et al.* From stem to spectrum: phytochemical characterization of five *Equisetum* species and evaluation of their antioxidant potential. *Molecules.* 2024;29(12):2821, doi:10.3390/molecules29122821.
21. Rabelo ACS, Costa DC. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. *Chem Biol Interact.* 2018;296:65-75, doi:10.1016/j.cbi.2018.09.002.
22. Souza FRM *et al.* Antioxidant *Baccharis trimera* leaf extract suppresses lipid accumulation in *C. elegans* dependent on transcription factor NHR-49. *Antioxidants.* 2022;11(10):1913, doi:10.3390/antiox11101913.

23. Obiro WC *et al.* The nutraceutical role of the Phaseolus vulgaris alpha-amylase inhibitor. Br J Nutr. 2008;100(1):1-12, doi:10.1017/S0007114508879135.
24. Peddio S *et al.* Common bean (Phaseolus vulgaris L.) α -amylase inhibitors as safe nutraceutical strategy against diabetes and obesity: an update review. Phytother Res. 2022;36(7):2803-2823, doi:10.1002/ptr.7480.
25. Fang Y, Eglen RM. Three-dimensional cell cultures in drug discovery and development. SLAS Discov. 2017;22(5):456-472, doi:10.1177/1087057117696795.
26. Elshafie HS *et al.* Cytotoxic activity of Origanum vulgare L. on Hepatocellular Carcinoma cell Line HepG2 and evaluation of its biological activity. Molecules. 2017;22(9):1435, doi:10.3390/molecules22091435.
27. Bilici E, Akkoc S. Impact of a benzimidazole salt on gene expression, cytotoxicity, and apoptotic processes in HepG2 cell line. JKSUS. 2025;37(1):1-7, doi:10.25259/JKSUS_392_2024.
28. Petiti J *et al.* Standard Operating Procedure to Optimize Resazurin-Based Viability Assays. Biosensors. 2024;14(4):156, doi:10.3390/bios14040156.
29. Bilici E, Akkoc S. In vitro cytotoxicity in A549, HepG2, MCF-7, and DLD-1 cancer cell lines and ADME/toxin analysis of a benzimidazole derivative. JKSUS. 2025;37(2):4242024.
30. Sahranavard S *et al.* Cytotoxic activities of selected medicinal plants from Iran and phytochemical evaluation of the most

potent extract. Res Pharm Sci. 2009;4(2):133-137.

31. Catarino MD *et al.* Antitumor activity of Fucus vesiculosus-derived phlorotannins through activation of apoptotic signals in gastric and colorectal tumor cell lines. Int J Mol Sci. 2021;22(14):7604, doi:10.3390/ijms22147604.
32. Zhurishkina EV *et al.* Effect of fucoidans from Fucus vesiculosus. Bioact Carbohydr Diet Fibre. 2020;21:100209.
33. Jäger R *et al.* Proprietary alpha-amylase inhibitor formulation from white kidney bean (Phaseolus vulgaris L.) promotes weight and fat loss: a 12-week, double-blind, placebo-controlled, randomized trial. Sci Rep. 2024;14:12685, doi:10.1038/s41598-024-63443-8.
34. Cui Y *et al.* The pharmacology, toxicology and therapeutic potential of anthraquinone derivative emodin. Chin J Nat Med. 2020;18(6):425-435, doi:10.1016/S1875-5364(20)30050-9.
35. Zia-ur-Rehman *et al.* UHPLC-MS/MS-GNPS based phytochemical investigation of Equisetum arvense L. and evaluation of cytotoxicity against human melanoma and ovarian cancer cells. Saudi J Biol Sci. 2022;29(6):103271, doi:10.1016/j.sjbs.2022.03.021.
36. Kim GH, Yi SS. Chronic oral administration of Passiflora incarnata extract has no abnormal effects on metabolic and behavioral parameters in mice, except to induce sleep. Lab Anim Res. 2019;35:31, doi:10.1186/s42826-019-0034-9.

37. Park SH *et al.* C-glycosidic flavone-rich *Passiflora incarnata* L. leaf extracts decrease body weight and fatty liver in obese mice. *Food Biosci.* 2023;55:103028, doi:10.1016/j.fbio.2023.103028.
38. Santos MS *et al.* Biotoxicological analyses of trimeroside from *Baccharis trimera* using a battery of in vitro test systems. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:7804135, doi:10.1155/2018/7804135.
39. Nogueira NPA *et al.* In vitro and in vivo toxicological evaluation of extract and fractions from *Baccharis trimera* with anti-inflammatory activity. *J Ethnopharmacol.* 2011;138(2):513-524, doi:10.1016/j.jep.2011.09.051.
40. Florian. Ficha Técnica: Maracujá. Piracicaba-SP, 2025 [acesso em: 20 set. 2025]. Disponível em: www.florien.com.br
41. Viafarma. Ficha Técnica: Cavalinha extrato seco. Ipiranga-SP, 2025.
42. Literatura Viafarma. Ficha Técnica: Aloína. 2025 [acesso em: 20 set. 2025]. Disponível em: www.viafarmanet.com.br
43. Florian. Ficha Técnica: Carqueja. Piracicaba-SP, 2025 [acesso em: 20 set. 2025]. Disponível em: www.florien.com.br
44. Purifarma. Ficha Técnica: Fucus Vesiculosus Pó. São Paulo, 2025 [acesso em: 20 set. 2025]. Disponível em: www.purifarma.com.br
45. Florian. Ficha Técnica: Faseolamina. Piracicaba-SP, 2025 [acesso em: 20 set. 2025]. Disponível em: www.florien.com.br

46. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).
Farmacopeia Brasileira. 6. ed. Brasília, DF: Anvisa; 2019.

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde, Ambiente e
Biodiversidade, Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), 44036
900, Teixeira de Freitas, BA, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical,
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 31270-901, Belo
Horizonte, MG, Brasil

³ Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), 45988-058, Teixeira
de Freitas, BA, Brasil