

Agência Nacional de Vigilância Sanitária



**ESTUDOS NÃO CLÍNICOS NECESSÁRIOS AO  
DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS  
FITOTERÁPICOS E PRODUTOS TRADICIONAIS  
FITOTERÁPICOS**

**VIGENTE A PARTIR DE 01/07/2019**

**Início do período de contribuições: 08/07/2019**

**Fim do período de contribuições: 03/01/2020**



## ESTUDOS NÃO CLÍNICOS NECESSÁRIOS AO DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS E PRODUTOS TRADICIONAIS FITOTERÁPICOS

Este Guia expressa o entendimento da Anvisa sobre as melhores práticas com relação a procedimentos, rotinas e métodos considerados adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos exigidos pela legislação. Não confere ou cria novas obrigações, devendo ser utilizado por agentes públicos e privados como referência para cumprimento legislativo. Abordagens alternativas são possíveis, de modo que sua inobservância não caracteriza infração sanitária, nem constitui motivo para indeferimento de petições, desde que atendidos os requisitos exigidos pela legislação, ainda que por meio diverso daquele previsto nesta recomendação.

As recomendações contidas neste Guia produzem efeitos a partir da data de sua publicação no Portal da Anvisa e ficam sujeitas ao recebimento de sugestões da sociedade por meio de formulário eletrônico, disponível em <https://pesquisa.anvisa.gov.br/index.php/66391?newtest=Y&lang=pt-BR>.

As contribuições\* recebidas serão avaliadas e poderão subsidiar a revisão do Guia e a consequente publicação de uma nova versão. Independente da decisão da área, será publicada análise geral das contribuições e racional que justifique a revisão ou não do Guia.

\*A fim de garantir maior transparência ao processo de elaboração dos instrumentos regulatórios editados pela Anvisa, esclarecemos que os nomes dos responsáveis pelas contribuições (pessoas físicas e jurídicas) são considerados informações públicas e serão disponibilizados de forma irrestrita nos relatórios e outros documentos gerados a partir dos resultados deste Guia. Já o e-mail e o CPF dos participantes, considerados informações sigilosas, terão seu acesso restrito aos agentes públicos legalmente autorizados e às pessoas a que se referem tais informações, conforme preconiza o artigo 31, §1º, inciso I da Lei nº 12.527, de 18 de novembro de 2011. Outras informações que venham a ser consideradas sigilosas pelos participantes poderão ser apensadas em campo específico no formulário eletrônico.



## SUMÁRIO

<b>1. ESCOPO .....</b>	<b>4</b>
<b>2. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>4</b>
<b>3. BASE LEGAL .....</b>	<b>9</b>
<b>4. TÓPICOS ESPECÍFICOS DO GUIA .....</b>	<b>10</b>
<b>4.1 Testes de toxicologia não clínica .....</b>	<b>10</b>
<b>4.1.1 Teste de toxicidade reprodutiva .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1.2 Teste de genotoxicidade .....</b>	<b>14</b>
<b>4.2 Estudos não clínicos recomendados antes da primeira exposição em humanos .....</b>	<b>21</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>25</b>
<b>6. GLOSSÁRIO .....</b>	<b>25</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>27</b>



## 1. ESCOPO

Este Guia expressa o entendimento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) sobre as melhores práticas com relação aos testes necessários ao desenvolvimento não clínico de um medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico. Esse guia não se aplica a medicamentos que possuem em sua composição substâncias ativas isoladas ou altamente purificadas, sejam elas sintéticas, semissintéticas ou naturais e nem as associações dessas com outros extratos, sejam eles vegetais ou de outras fontes, como a animal. Os ensaios não clínicos com Medicamentos Específicos, devem seguir o guia de desenvolvimento não clínico de medicamentos sintéticos da Anvisa.

## 2. INTRODUÇÃO

A Resolução RDC nº 26/2014 prevê a utilização do Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos, no que for aplicável para fitoterápicos.

Para medicamentos fitoterápicos, o Art. 18 da referida norma prevê:

Art. 18 - Os ensaios não clínicos e clínicos de segurança e eficácia deverão seguir os parâmetros:

I - Quando não existirem ensaios não clínicos que comprovem a segurança, esses deverão ser realizados seguindo, como parâmetro mínimo, a última versão publicada pela Anvisa do Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos, no que for aplicável a medicamentos fitoterápicos;

[...]

Para produtos tradicionais fitoterápicos, está previsto no Art. 23:

Art. 23 O uso tradicional deverá ser comprovado por meio de documentações técnico-científicas, que serão avaliadas conforme os seguintes critérios:

[...]



V - Ausência de insumo farmacêutico ativo vegetal (IFAV) de risco tóxico conhecido ou grupos ou substâncias químicas tóxicas em concentração superior aos limites comprovadamente seguros.

[...]

A avaliação da ausência de matérias-primas de risco tóxico abrange a realização de estudos não clínicos de toxicidade, visando detectar efeitos que não são comumente observados no uso clínico. Testes de toxicologia não clínica já eram solicitados no registro por tradicionalidade de uso desde as Resoluções RDC nº 48/2004 e RDC nº 14/2010.

Considerando a revogação da Resolução RE nº 90/2004 pela Resolução RDC nº 26/2014 e a necessidade de orientação sobre os estudos não clínicos de fitoterápicos, esta Anvisa realizou um estudo com o objetivo de avaliar se a versão de 2013 do Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos, especificamente sintéticos e biológicos, poderia ser aplicado a essa classe de medicamentos.

O método utilizado foi a comparação dos guias nacionais e internacionais de desenvolvimento não clínico para medicamentos sintéticos, biológicos e fitoterápicos. A partir da comparação, foram analisadas as diferenças entre cada um. O quadro 1 apresenta a relação de guias utilizados.


**MEDICAMENTOS – GUIA nº 22, versão 1, de 17 de junho de 2019**
**Quadro 1: Guias utilizados no estudo de comparação dos testes necessários para avaliação da toxicologia não clínica de fitoterápicos.**

Ano	Instituição	Escopo
1981	OECD*	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. Carcinogenicity Studies (451)</i>
1981	OECD	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. Chronic Toxicity Studies (452)</i>
1983	OECD	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. One-Generation Reproduction Toxicity Study (415),</i>
1987	European Medicines Agency (EMA)	<i>Single Dose Toxicity – 3BS1a.</i>
1993	World Health Organization (WHO)	<i>Research Guidelines Evaluating the safety and Efficacy Herbal Medicines.</i>
1993	International Conference on Harmonization (ICH)	<i>Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products &amp; Toxicity to Male Fertility S5(R2).</i>
1995	International Conference on Harmonization (ICH)	<i>Guideline on the need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals – S1A.</i>
1996	Food and Drug Administration (FDA)	<i>Guidance for Industry -Single Dose Acute Toxicity for Pharmaceuticals.</i>
1997	OECD	<i>Bacterial Reverse mutation test 471</i>
1997	OECD	<i>In vitro mammalian Chromosome Aberration test 473</i>


**MEDICAMENTOS – GUIA nº 22, versão 1, de 17 de junho de 2019**

1997	OECD	<i>Mammalian Erythrocyte micronucleus test 474</i>
1997	OECD	<i>Mammalian Bone Marrow chromosome aberration test 475</i>
1997	OECD	<i>In vitro mammalian cell gene mutation test 476</i>
1998	<i>International Conference on Harmonization (ICH)</i>	<i>Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non Rodent Toxicity Testing) – S4</i>
1998	OECD	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Non-Rodents (409),</i>
1998	OECD	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents (408)</i>
2000	<i>International Conference on Harmonization (ICH)</i>	<i>Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals – S7A.</i>
2000	<i>World Health Organization (WHO)</i>	<i>General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine</i>
2001	<i>European Medicines Agency (EMA)</i>	<i>Note for Guidance on Non Clinical Local Tolerance Testing of Medicinal Products – CPMP/SWP/2145/00.</i>
2001	OECD	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method (423), 17</i>
2001	OECD	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. Prenatal Developmental Toxicity Study (414)</i>



2004	<i>Food and Drug Administration (FDA)</i>	<i>Guidance for Industry (Botanical Drugs Products)</i>
2004	<i>World Health Organization (WHO)</i>	<i>Handbook – Non Clinical Safety Testing</i>
2006	<i>European Medicines Agency (EMA)</i>	<i>Guideline on non-clinical documentation for Herbal Medicinal Products in applications for marketing authorization and in applications for simplified registration</i>
2008	<i>Ministério da Saúde do Brasil e Organização Mundial da Saúde</i>	<i>Instruções Operacionais: Informações necessárias para realização de ensaios clínicos com fitoterápicos</i>
2008	<i>OECD</i>	<i>Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents (407),</i>
2008	<i>European Medicines Agency (EMA)</i>	<i>Guideline on the assessment of genotoxicity of Herbal substances/Preparations</i>
2009	<i>International Conference on Harmonization (ICH)</i>	<i>M3 (R2): Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals.</i>
2011	<i>European Medicines Agency (EMA)</i>	<i>Guideline on repeated dose toxicity CPMP/SWP/1042/99 REV 1 CORR..</i>

\* *Organization for Economic Co-operation and Development.*





O levantamento identificou que para produtos com tradicionalidade comprovada por tempo de uso, os guias da Organização Mundial da Saúde (*General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine – 2000*) e da Agência Europeia (*Guideline on non clinical documentation for Herbal medicinal products*) sugerem que uma atenção especial deve ser dada aos efeitos que são difíceis ou até mesmo impossíveis de serem detectados clinicamente durante o uso de longo prazo. Esses efeitos incluem toxicidade reprodutiva, genotoxicidade e carcinogenicidade. Sendo assim, para estes produtos, poderão ser solicitados testes adicionais para avaliação de risco destes aspectos quando forem detectadas suspeitas de risco na utilização de determinadas plantas, conforme publicações de novos estudos técnico-científicos, ou ainda, quando incluída esta necessidade em monografias reconhecidas pela Anvisa.

Esse estudo realizado pela Anvisa concluiu que não existem diferenças substanciais no modo de realização dos testes solicitados nos guias (sintéticos x biológicos x fitoterápicos). Entretanto, nem todos os testes não clínicos exigidos na versão de 2013 do Guia de sintéticos e biológicos da Anvisa seriam necessários ao desenvolvimento de fitoterápicos. Portanto, a versão de 2013 do guia de estudos não clínicos pode ser utilizada para fitoterápicos, nos testes que forem aplicáveis a essa categoria de medicamentos.

Após esse estudo comparativo, duas reuniões foram feitas com professores especialistas em toxicologia não clínica de fitoterápicos, em que foram discutidas a necessidade e viabilidade de realização de cada um dos testes propostos pela Anvisa. Ademais, aspectos específicos como a necessidade de testes de genotoxicidade, vias de administração, imunotoxicidade, dentre outros assuntos, foram discutidos com a Agência Reguladora Alemã (BfArM).

### **3. BASE LEGAL**

Resolução RDC nº 26 de 13 de maio de 2014, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos.



## 4. TÓPICOS ESPECÍFICOS DO GUIA

### 4.1 Testes de toxicologia não clínica

Como resultado desse trabalho, a área técnica desta Agência propõe o esquema para avaliação da toxicologia não clínica de fitoterápicos, descrito no Quadro 2.

**Quadro 2: Testes de toxicologia não clínica de fitoterápicos**

<b>Tipos de produto</b>	<b>Testes recomendados</b>	<b>Testes adicionais que poderão ser recomendados de acordo com os dados da literatura*</b>
Produto tradicional fitoterápico	Genotoxicidade e Toxicidade reprodutiva <sup>3</sup>	Carcinogenicidade
Medicamento fitoterápico	Toxicidade aguda <sup>1</sup> , doses repetidas <sup>5</sup> , tolerância local <sup>4</sup> , genotoxicidade e toxicidade reprodutiva <sup>3</sup>	Carcinogenicidade e segurança farmacológica <sup>2</sup> (Sistema cardiovascular, respiratório e nervoso central)

\* Caso existam motivos para se esperar um risco específico.

<sup>1</sup> No estudo de toxicidade aguda, sugere-se a utilização de duas espécies diferentes de mamíferos e pelo menos uma espécie roedora. Todos os guias pesquisados recomendam a utilização de duas espécies diferentes de mamíferos, sendo que pelo menos uma delas seja roedora. Este estudo ocorre com a administração de uma ou mais doses durante um período não superior a 24 horas, seguido de observação dos animais por 14 dias após a administração. Uma dose limite de 2.000 mg/kg/dia em roedores e 1.000 mg/kg/dia em não roedores é considerada apropriada. É recomendável a utilização do guia da Organização



Mundial da Saúde (*General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine – 2000*).

<sup>2</sup> Os estudos de segurança farmacológica poderão ser necessários quando houver indicativo de toxicidade alvo nos testes de toxicidade de doses repetidas ou suspeita de eventos adversos em publicação técnico-científica. É recomendável a utilização do guia da *FDA (S7A Safety Pharmacology Studies For Human Pharmaceuticals. Center for Drug Evaluation and Research - CDER and Center for biologics Evaluation and Research - CBER. 2001)*.

<sup>3</sup> O teste de toxicidade reprodutiva poderá ser substituído pela inserção na bula da proibição de uso por mulheres grávidas e lactantes. Nesses casos, a seguinte informação precisa constar: “Não foram realizados estudos em animais (machos ou fêmeas) relativos à toxicidade reprodutiva. Portanto, mulheres grávidas ou amamentando não devem utilizar este produto, já que não há estudos que possam garantir a segurança nessas situações”. Essa informação já é prevista na Resolução RDC 26/2014 para constar no folheto informativo de todos os produtos tradicionais fitoterápicos.

<sup>4</sup> Para produtos de uso tópico é recomendável a utilização do guia da *EMA (Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products. EMA/CHMP/SWP/2145/2000 Rev.1. October 2015)*.

<sup>5</sup> A duração mínima dos estudos de toxicidade de doses repetidas está informada no quadro 3 abaixo. A condução dos testes com no mínimo duas espécies de mamíferos, incluindo uma espécie não roedora, é o recomendado pelo guia da *EMA (Guideline on repeated dose toxicity. CPMP/SWP/1042/99 Ver 1. 18 March 2010)*.

**Quadro 3: Duração mínima dos estudos de toxicidade de doses repetidas com base no período de intervenção no ensaio clínico.**

Período de Intervenção no Ensaio Clínico	Duração Mínima dos estudos de toxicidade de doses repetidas	
	Roedores	Não Roedores
Até 2 semanas	2 semanas	2 semanas
Entre 2 semanas e 6 meses	Mesma duração do ensaio clínico	Mesma duração do ensaio clínico
Acima de 6 meses	6 meses	9 meses



No caso do desenvolvimento de um medicamento fitoterápico a partir de uma espécie vegetal não previamente estudada, ou seja, que não tenha dados prévios publicados de estudos não clínicos, clínicos, fitoquímicos e documentação de uso no ser humano, é recomendável que sejam feitos todos os testes citados no Quadro 2. Para os produtos já registrados, somente é recomendável a realização de testes não clínicos caso haja um risco esperado a ser investigado.

A Resolução RDC nº 26/2014, em seu Art. 18, prevê que, para medicamentos fitoterápicos, os testes não clínicos e clínicos devem ser realizados quando não existam dados previamente publicados em documentação técnico-científica. No momento do registro, caso os estudos estejam disponíveis, é necessário que estes sejam apresentados à Anvisa, para que seja avaliada a necessidade de realização de estudos complementares.

Para medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos desenvolvidos a partir de espécies vegetais com registro simplificado, não haverá necessidade de apresentação de estudos não clínicos, conforme Instrução Normativa (IN) nº 4/2014.

Os fitoterápicos com registro válido, que não possuam dados de segurança e eficácia para permanecer na classe de medicamento fitoterápico, e atualmente se enquadrem na classe de produtos tradicionais fitoterápicos, devem migrar para essa categoria, sem a necessidade de apresentar testes de toxicologia não clínica, desde que atendam ao Art. 63 da Resolução RDC nº 26/2014. Portanto, entende-se que foram avaliados quanto a sua segurança e eficácia.

O Art. 63 da Resolução RDC nº 26/2014 dispõe:

*Art. 63 - Os produtos que, até a vigência da presente norma, eram classificados como medicamentos fitoterápicos, que não possuam comprovação de segurança e eficácia por meio de estudos não clínicos e clínicos, e que passarem a se enquadrar na categoria de produtos tradicionais fitoterápicos, nos termos do art. 2º desta Resolução, deverão ser reclassificados como produtos tradicionais fitoterápicos no momento da primeira renovação após a publicação desta Resolução.*

*Parágrafo único. A adequação prevista no caput deste artigo será obrigatória, devendo a empresa, para tanto, adequar a embalagem e o folheto informativo conforme disposto nesta Resolução, e disponibilizá-los no período máximo de seis meses após a aprovação da adequação, não sendo exigidas informações adicionais de segurança e eficácia/efetividade.*



Em todos os testes não clínicos com fitoterápicos, não é necessária a realização de testes pela via parenteral, considerando as características do fitocomplexo. Todos os testes de toxicologia não clínica de fitoterápicos precisam ser realizados com a formulação final ou com IFAV utilizado na elaboração deste produto, com exceção dos produtos pretendidos para uso tópico, para os quais pode ser utilizada a formulação final do produto. Em caso de comprovação de absorção sistêmica em uso tópico, a realização do teste de toxicidade dérmica de dose repetida é recomendável. Ainda, é preciso apresentar justificativa para a concentração do IFAV utilizada nos ensaios não clínicos.

Todos os novos produtos a serem desenvolvidos precisam ser formulados com excipientes (incluindo aromas e corantes) reconhecidos como seguros, sejam pelo histórico de uso tradicional em fitoterápicos ou presença em referências internacionais. A proposição de registro de produtos com excipientes não reconhecidos como seguros na literatura técnica científica obrigará a realização dos testes não clínicos do produto com a formulação final pretendida para registro. Para situações específicas em que for comprovada a impossibilidade de realização dos testes com a formulação final, poderá ser proposta a apresentação de estudos que comprovem a segurança do excipiente isoladamente, sendo que a Anvisa irá avaliar caso a caso a justificativa, o racional e a proposta de estudo apresentados pelo interessado.

#### 4.1.1 Teste de toxicidade reprodutiva

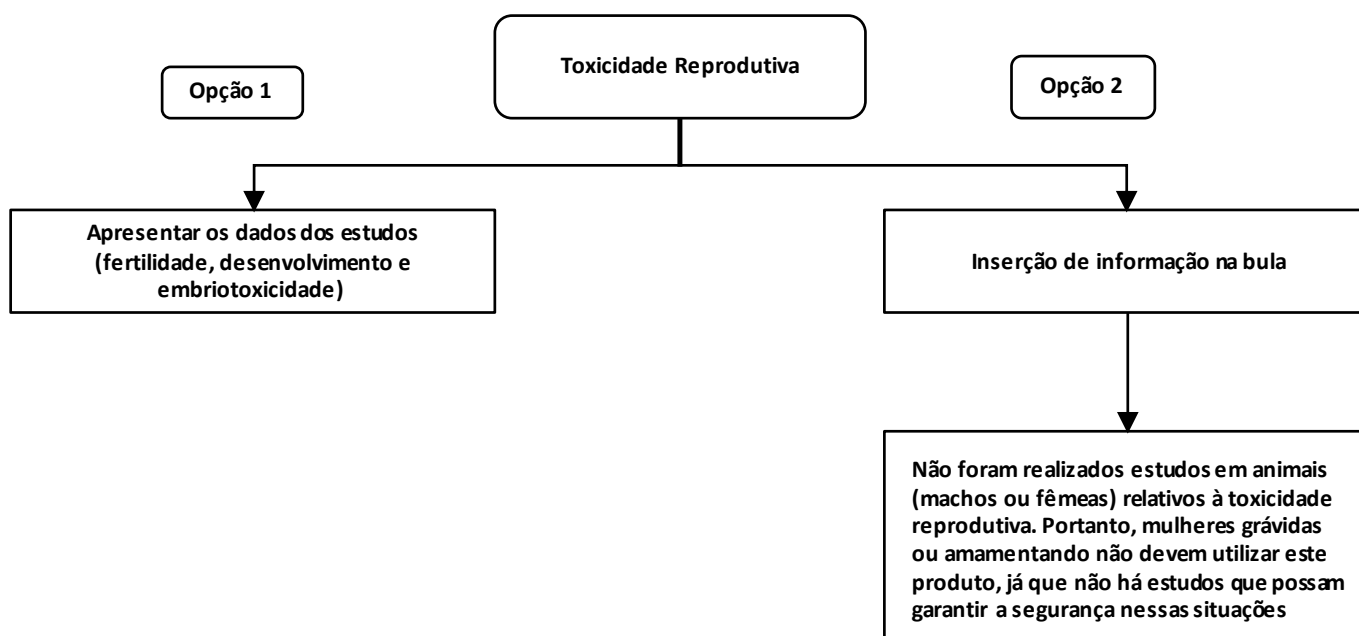
É recomendável que o teste de toxicidade reprodutiva inclua: fertilidade e desenvolvimento embrionário inicial; desenvolvimento pré e pós-natal, incluindo função materna e desenvolvimento embrio-fetal, conforme Fluxograma 1. Os testes de toxicidade reprodutiva precisam seguir o guia para detecção de toxicidade de reprodução para medicamentos de uso humano da EMA (*Guideline on Risk Assessment of Medicinal Products on Human Reproduction and Lactation: From data to labelling. EMA/CHMP/203927/2005. London, July 2008*). O referido guia descreve o processo de integração entre dados de estudos não clínicos e clínicos para avaliação do risco toxicológico nas funções reprodutivas e na amamentação. Ainda, esse guia recomenda que os procedimentos dos testes não clínicos de toxicidade reprodutiva sejam conduzidos de acordo com o guia *da ICH Detection of Toxicity to Reproduction For Human Pharmaceuticals S5(R2), 1993*. No teste de fertilidade, desenvolvimento embrionário inicial e desenvolvimento pré e pós-natal, é recomendável a utilização de no mínimo uma espécie roedora, preferencialmente ratos. É recomendável que o teste de desenvolvimento embrio-fetal utilize duas espécies: uma roedora, preferencialmente ratos, e uma não roedora, preferencialmente coelhos.



Caso o desenvolvedor opte por não realizar os testes de toxicidade reprodutiva, pode inserir na bula a informação de que não foram realizados estudos em animais (machos ou fêmeas) e que mulheres grávidas ou amamentando não podem utilizar este produto (fluxograma 1).

Quando forem identificados achados anormais relativos aos aspectos reprodutivos nos testes de toxicidade de doses repetidas para os medicamentos fitoterápicos, a opção 2 do fluxograma 1 não é aplicável.

### Fluxograma 1: Teste de toxicidade reprodutiva



#### 4.1.2 Teste de genotoxicidade

Os estudos de genotoxicidade são testes in vitro e in vivo desenhados para detectar o potencial das substâncias em investigação causarem mutações gênicas e alterações cromossômicas. Os testes de genotoxicidade precisam ser capazes de avaliar os potenciais danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA), observados na forma de mutações gênicas e alterações cromossômicas, que podem ser numéricas ou estruturais. Estas podem estar fortemente relacionadas à produção de alterações hereditárias e em diferentes etapas do desenvolvimento de malignidades.



É recomendável que o teste de Ames seja o primeiro a ser realizado e tenha como objetivo avaliar o potencial de desenvolvimento de mutação gênica em bactéria. Nesse teste, utiliza-se um conjunto de diferentes estirpes de *Salmonella typhimurium* com várias mutações presentes em um determinado gene responsável pela síntese de aminoácidos. A substância teste é incubada na presença das bactérias com as mutações. Dessa forma, avalia-se se a substância é capaz de reverter as mutações e restaurar a capacidade funcional das bactérias de sintetizar os aminoácidos. É importante considerar que a concentração do IFAV ou do medicamento a ser utilizada neste teste precisa ser suficientemente alta para possibilitar observar um efeito mutagênico.

Para avaliação de potencial dano nos cromossomos, é recomendável a realização do ensaio de linfoma de camundongo. As células são expostas à substância teste e então são avaliadas as mutações no gene da timidina quinase.

As substâncias que apresentam resultados “positivos” nos testes são potencialmente agentes carcinogênicos e/ou mutagênicos para seres humanos. Apesar da relação entre exposição a agentes químicos e carcinogênese estar estabelecida em humanos, tem sido difícil a avaliação da transmissão hereditária de alterações provocadas por tais agentes. Portanto, os testes de genotoxicidade têm sido utilizados, principalmente para a previsão de potencial carcinogênico.

Os testes de genotoxicidade podem ser realizados conforme o fluxograma 2, que foi desenhado de acordo com as orientações do Guia de avaliação de genotoxicidade de substâncias ou preparações herbais da EMA (*Guideline on the assessment of genotoxicity of Herbal substances/preparations, 2008*).

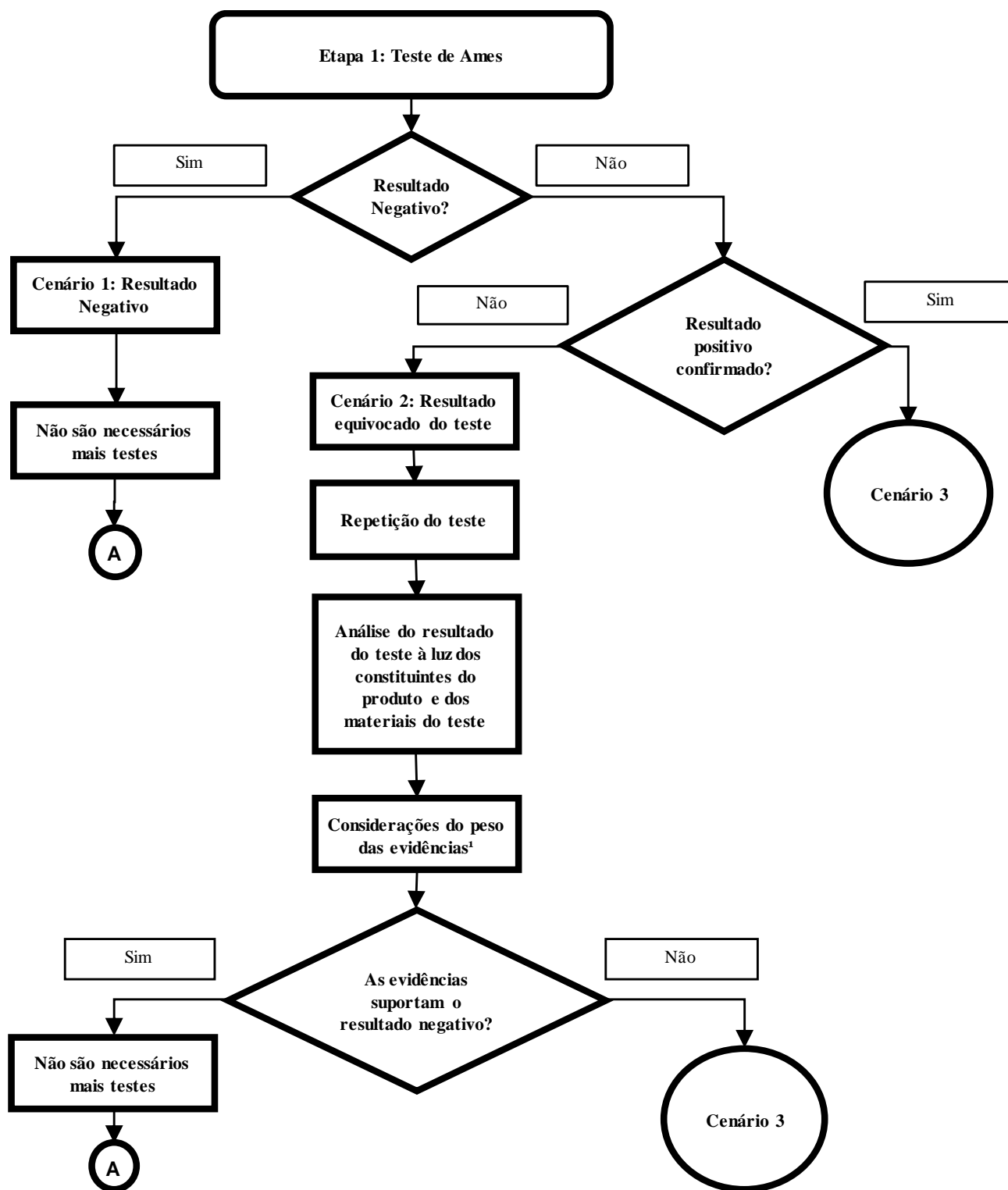
O teste de Ames possui limitação quando são avaliados produtos contendo alguns compostos naturais como a quercetina, pois os resultados podem ser positivos, devido a essa substância e não ao efeito genotóxico. Nesses casos, é necessária a discussão sobre testes alternativos para investigar a genotoxicidade.

Os estudos de carcinogenicidade poderão ser necessários caso não seja possível a identificação da substância com potencial carcinogênico na formulação.

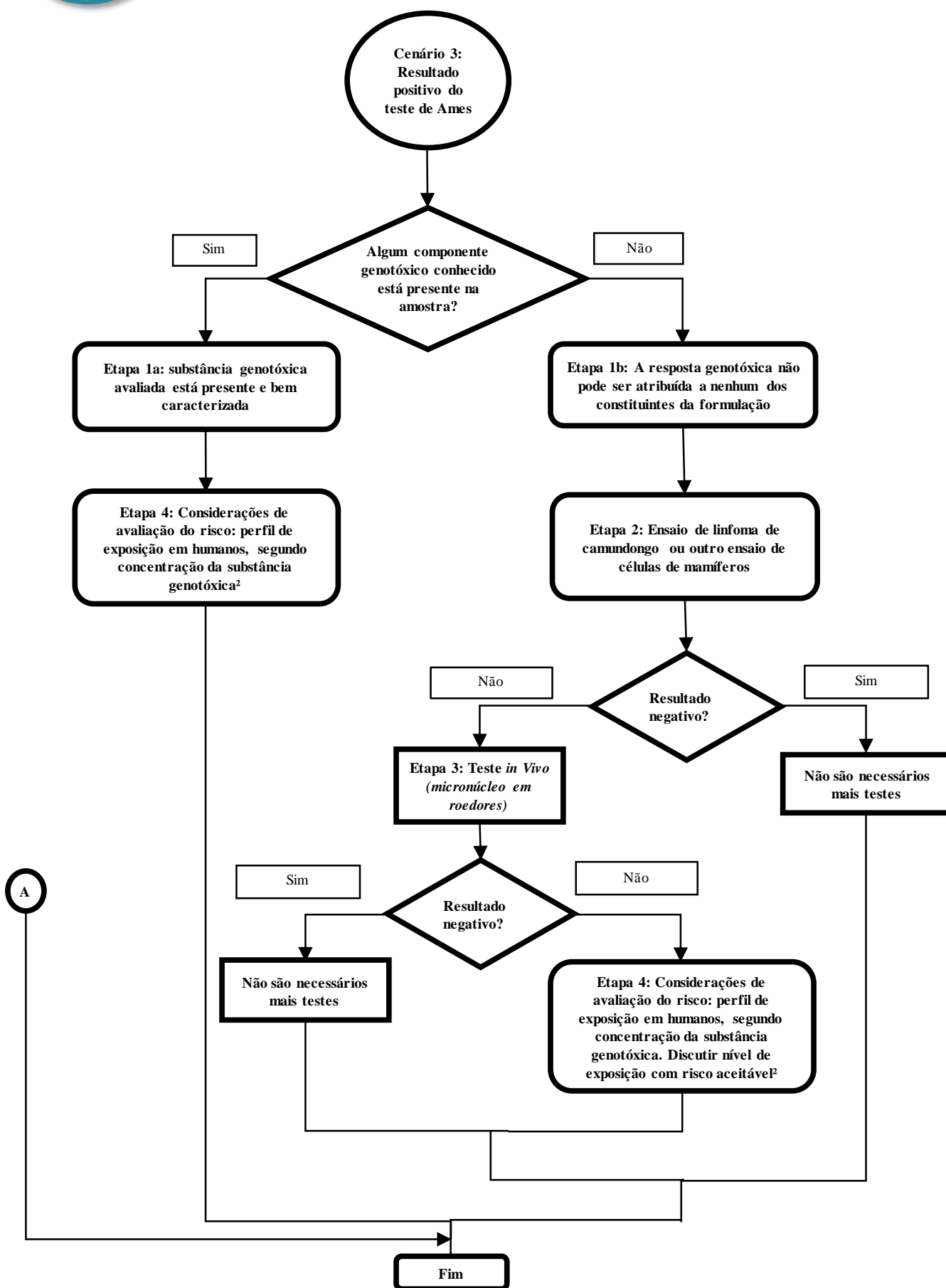
Os resultados satisfatórios de testes de genotoxicidade de cada uma das espécies vegetais individuais podem ser utilizados para avaliação da associação dessas espécies vegetais.



Fluxograma 2: Árvore decisória sobre os testes de genotoxicidade









<sup>1</sup> Considerações do peso das evidências: As seguintes perguntas podem ser realizadas:

- A resposta é dose-dependente?
- Existem características incomuns em relação à concentração?
- Há indícios de que o extrato afete o crescimento de organismos no teste?

<sup>2</sup> Caracterização fitoquímica do extrato para identificação dos constituintes com potencial carcinogênico.

#### **Etapa 4: Considerações sobre avaliação de risco**

É recomendável que essa etapa seja realizada quando for identificada alguma substância genotóxica no teste de Ames, ou quando o resultado do teste de micronúcleo em roedores for positivo, mesmo se não for identificada substância genotóxica (Cenário 3 - fluxo).

A abordagem da avaliação do risco é feita com base em dados de estudos de carcinogenicidade, estudos que de modo geral, não foram realizados para medicamentos derivados de plantas. Os dados de farmacovigilância e o uso de longa data não podem ser usados como evidência para dizer que há ausência de riscos genotóxicos, pois a análise retrospectiva para identificação desses riscos constitui um baixo nível de evidência.

A atual prática regulatória relativa aos produtos farmacêuticos pressupõe que os compostos genotóxicos tem potencial para danificar o DNA em qualquer nível de exposição e, portanto, não há limiar discernível e qualquer nível de exposição acarreta um risco. No entanto, tem sido cada vez mais reconhecido que podem haver limiares práticos e que a extrapolação linear das altas concentrações *in vitro* ou em animais para a exposição humana é cientificamente questionável. É igualmente difícil provar experimentalmente tanto a existência de limiar para a genotoxicidade e a linearidade da resposta genotóxica a níveis extremamente baixos de exposição. Por estas razões, pode ser prudente adotar abordagens que envolvam um conceito de nível de exposição que acarreta um risco aceitável.

Não é possível recomendar uma única abordagem específica para realizar a avaliação de risco. Abaixo seguem algumas abordagens que podem ser utilizadas conjuntamente.



### **Avaliação de risco pelo Limiar de Preocupação Toxicológica (TTC)**

O limiar de preocupação toxicológica é a quantidade de ingestão diária máxima de determinada substância genotóxica associada a um risco aceitável para utilização ao longo da vida da pessoa. Os esquemas de avaliação de risco foram originalmente desenvolvidos para substâncias químicas únicas identificadas ou misturas bem caracterizadas de produtos químicos. Se uma preparação à base de plantas contém um composto genotóxico identificável, a abordagem TTC poderia ser aplicada. Embora constituintes genotóxicos em preparações de plantas não sejam impurezas, esta diretriz oferece um exemplo de uma abordagem que pode ser útil para a avaliação de preparações à base de plantas. Na ausência de dados normalmente necessários para a aplicação de um dos métodos de avaliação de riscos estabelecidos, a implementação de uma abordagem geralmente definida pelo TTC é proposta. Um valor de TTC de 1,5 µg / dia de ingestão de uma substância genotóxica é considerado associado a um risco aceitável (excesso de risco de câncer de <1 em 100.000 ao longo de tempo de vida) para a maioria dos produtos farmacêuticos. A partir deste limiar, um nível permitido para a substância ativa pode ser calculado com base na dose diária esperada. Limites mais altos podem ser justificados sob certas condições, tais como períodos de exposição de curto prazo. A mesma abordagem pode ser considerada para substâncias genotóxicas em medicamentos fitoterápicos, produto tradicional fitoterápico ou IFAV, se suficientemente justificado pelo requerente. Além disso, limites maiores podem ser aplicados quando o requerente apresentar dados adicionais e argumentação toxicologicamente plausível para a justificativa exigida.

### **Substâncias genotóxicas com limiar**

Se uma substância genotóxica for um composto com um mecanismo de limiar demonstrado, podem ser estabelecidos níveis de exposição admissíveis sem risco apreciável de genotoxicidade, de acordo com o procedimento habitual utilizando o *NOEL* (*No Observable Effects Level* – Níveis de efeitos não observáveis) do estudo mais relevante (animal), aplicando fatores de incerteza, se disponíveis. Exemplo: Em um processo de fabricação de um medicamento, onde o solvente foi a acetonitrila, que foi utilizada na etapa de purificação pela cromatografia, havia traços de acetamida, que é uma substância que pode ser considerada uma impureza genotóxica dependendo dos níveis. Nesse caso, o fabricante controlou os níveis de acetonitrila e estabeleceu um critério de aceitação. Para garantir a consistência do processo de manufatura, os níveis de acetamida foram monitorados e o limite dessa substância foi estabelecido muito abaixo do limiar de preocupação toxicológica, considerando a posologia diária. Conseqüentemente, o fabricante reavaliou a especificação do insumo farmacêutico ativo com base nos dados gerados.



### **A identificação e quantificação do constituinte genotóxico**

Nas preparações à base de plantas é bem possível que o (s) composto (s) responsável (s) pela genotoxicidade ainda não seja (m) identificado (s) no final do teste, por serem misturas complexas com componentes parcialmente não identificados. Não existem formas estabelecidas para realizar a avaliação de risco de genotoxicidade devido à presença de substâncias não identificadas em preparações à base de plantas. O procedimento usual para testes de toxicidade e avaliação de risco de misturas consiste no isolamento e identificação de vários constituintes principais e testes dos compostos isolados individualmente. Esta é uma opção recomendada para os fitoterápicos genotóxicos, porque essa abordagem forneceria informações relevantes e confiáveis para a avaliação de riscos. No entanto, como o isolamento e a identificação podem exigir tempos longos e esforços extensos, a avaliação de risco inicial precisa ser realizada com base na estratégia de testes acima. Com base nestes resultados e numa análise cuidadosa dos benefícios e riscos pode ser considerada a concessão de autorização para introdução no mercado, com a obrigatoriedade de completar alguns testes adicionais. Um risco de administração de um medicamento fitoterápico ou produto tradicional fitoterápico pode ser aceitável se a sua contribuição para a exposição global pela ingestão de alimentos for considerada pequena.

### **Considerações de exposição**

É importante considerar na exposição a ingestão de derivados de plantas como alimentos. Para a avaliação de risco, as exposições dietéticas podem ser avaliadas e quantificadas, quando possível, e a avaliação comparativa entre as exposições dos medicamentos fitoterápicos ou produtos tradicionais fitoterápicos como alimentos e como medicamentos podem ser realizadas.



## 4.2 Estudos não clínicos recomendados antes da primeira exposição em humanos

De acordo com a figura 1, é recomendável que os estudos abaixo estejam finalizados antes da exposição do medicamento experimental em humanos:

- Toxicidade de dose única<sup>1</sup> que não tenha objetivo de investigar superdosagem em humanos;
- Toxicidade de doses repetidas<sup>2</sup> incluindo avaliação dos órgãos reprodutores masculinos e femininos;
- Estudos de farmacologia de segurança;
- Ensaio de mutação bacteriana e dano cromossômico *in vitro* para avaliar a genotoxicidade<sup>3</sup>; e
- Estudo de tolerância local<sup>4</sup>.

Conforme estabelecido pela Resolução RDC nº 9 de 2015, os resultados finais dos ensaios não clínicos exigidos antes do ensaio clínico fase I precisam ser submetidos junto ao dossiê de desenvolvimento clínico de medicamento (DDCM).

<sup>1</sup>A informação de toxicidade aguda é obtida a partir de estudos de toxicidade de dose única em duas espécies de mamíferos e pelo menos uma espécie roedora, utilizando a via de administração pela qual se pretende administrar o produto. No entanto, tal informação pode também ser obtida a partir de estudos de escalonamento de dose apropriadamente conduzidos ou estudos de variação de dose de curta duração que definem uma dose máxima tolerada nas espécies de teste de toxicidade geral. (É recomendável que os estudos de dose única em modelos animais para predição de super dosagem em humanos estejam finalizados antes de iniciar o ensaio clínico fase III).

<sup>2</sup>Antes do primeiro estudo em humanos, a duração do estudo de toxicidade de doses repetidas pode variar de acordo com o período de tratamento do ensaio clínico.



<sup>3</sup>Um ensaio para mutação bacteriana (exemplo: teste de Ames) é geralmente considerado suficiente para suportar todos os ensaios clínicos de dose única. É recomendável que para os ensaios clínicos de múltiplas doses, uma avaliação adicional capaz de detectar danos cromossômicos em sistemas de mamíferos (exemplo: teste de linfoma em ratos) esteja concluída. Antes do ensaio clínico fase II, é recomendável que a bateria completa de testes para genotoxicidade esteja concluída.

<sup>4</sup>A tolerância local precisa ser avaliada pela via terapêutica pretendida como parte dos estudos gerais de toxicidade.

Os estudos de toxicidade reprodutiva precisam ser realizados antes da primeira exposição em humanos, caso os estudos relevantes de toxicidade de doses repetidas (que incluem uma avaliação dos órgãos reprodutores femininos) não tenham sido realizados. As mulheres que não têm potencial para engravidar (isto é, permanentemente esterilizadas, na pós-menopausa) podem ser incluídas nos ensaios clínicos se essas avaliações desses órgãos tenham sido realizadas.

Os homens e as mulheres com potencial para engravidar, que utilizam métodos contraceptivos altamente eficazes, podem ser incluídos em ensaios clínicos fase I e II anteriormente à condução de estudos de fertilidade em machos e fêmeas, desde que uma avaliação dos órgãos reprodutores já tenha sido realizada nos estudos de toxicidade de doses repetidas.

As mulheres com potencial para engravidar, utilizando métodos contraceptivos, podem ser incluídas nos ensaios clínicos fase I e II sem os estudos de toxicidade de desenvolvimento (por exemplo, embriotoxicidade), desde que se configure uma das seguintes circunstâncias abaixo:

- Controle intensivo do risco de gravidez em ensaios clínicos de curta duração (por exemplo, 2 semanas), ou
- Quando há uma predominância da doença em mulheres, os objetivos do ensaio clínico não podem ser efetivamente atendidos sem a inclusão de mulheres com potencial para engravidar e há precauções suficientes para evitar a gravidez (métodos contraceptivos), ou



- Se dados preliminares de toxicidade de reprodução estão disponíveis em duas espécies, e onde precauções para prevenir gravidez em ensaios clínicos são usadas, a inclusão de mulheres com potencial para engravidar (até 150) recebendo o medicamento experimental por um período relativamente curto (até 3 meses) pode ocorrer antes da realização de testes de toxicidade reprodutiva definitiva.

Para as demais situações, os estudos de embriotoxicidade necessitam estar concluídos antes da inclusão dessa população em ensaios clínicos.

Todos os estudos de toxicidade reprodutiva feminina e a bateria completa de testes de genotoxicidade precisam estar concluídos antes da inclusão de participantes em qualquer fase de ensaio clínico, caso grávidas ou mulheres com potencial para engravidar não façam uso de controle de natalidade altamente eficaz no ensaio clínico ou cujo estado de gravidez é desconhecido.

Os estudos de desenvolvimento pré e pós-natal precisam ser finalizados e apresentados à autoridade reguladora no dossiê do processo de registro do medicamento.

Para a avaliação do potencial efeito carcinogênico é recomendável a utilização do guia da EMA (*Guideline on non-clinical documentation for Herbal Medicinal Products in applications for marketing authorization and in applications for simplified registration. Committee on Herbal Medicinal Products. 2006*).

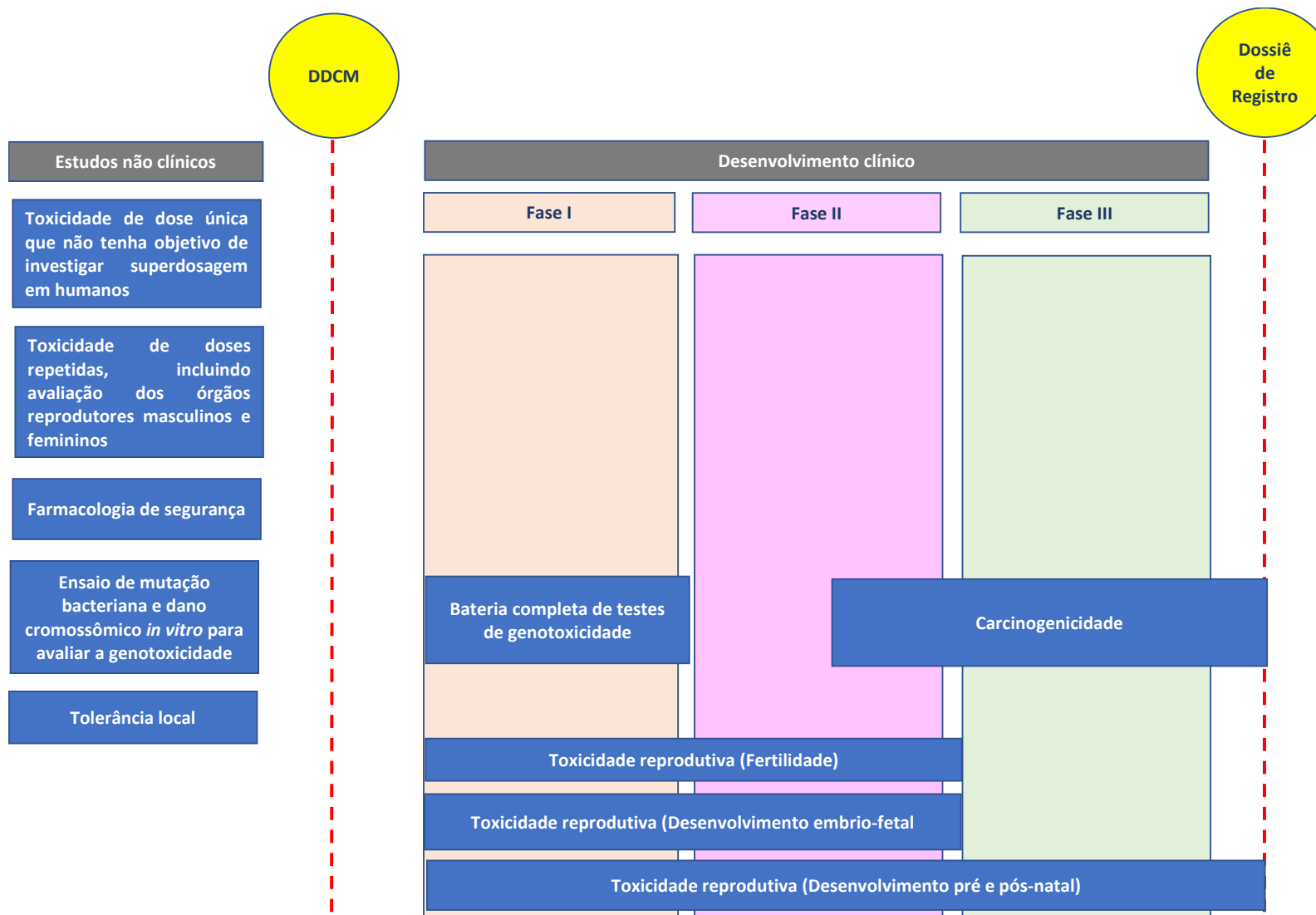


Figura 1: Estudos não clínicos necessários para a primeira exposição do medicamento experimental em humanos. Adaptado de Andrade et al (2016).



## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos confirmatórios precisam ser conduzidos de acordo com as Boas Práticas de Laboratório (BPL) - *OECD Principles of Good Laboratory Practice; HANDBOOK: GOOD LABORATORY PRACTICE (Good Laboratory Practice) /World Health Organization (Quality practices for regulated non-clinical research and development)*.

Em substituição aos testes tradicionais, o uso de métodos alternativos ao uso de animais é recomendado, desde que reconhecidos e validados.

## 6. GLOSSÁRIO

**Derivado vegetal:** produto da extração da planta medicinal fresca ou da droga vegetal, que contenha as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, podendo ocorrer na forma de extrato, óleo fixo e volátil, cera, exsudato e outros.

**Droga vegetal:** planta medicinal, ou suas partes, que contenham as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta/colheita, estabilização, quando aplicável, e secagem, podendo estar na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada.

**Insumo farmacêutico ativo vegetal:** matéria-prima ativa vegetal, ou seja, droga ou derivado vegetal, utilizada no processo de fabricação de um fitoterápico.

**Boas Práticas de Laboratório:** sistema de qualidade que abrange o processo organizacional e as condições nas quais estudos não clínicos relacionados à saúde e à segurança ao meio ambiente são planejados, desenvolvidos, monitorados, registrados, arquivados e relatados.

**Ensaio clínico:** pesquisa conduzida em seres humanos com o objetivo de descobrir ou confirmar os efeitos clínicos e/ou farmacológicos e/ou qualquer outro efeito farmacodinâmico do medicamento experimental e/ou identificar qualquer reação adversa ao medicamento experimental e/ou estudar a absorção, distribuição, metabolismo e excreção do medicamento experimental para verificar sua segurança e/ou eficácia.

**Ensaio não clínico:** estudos biomédicos que não envolvem sujeitos humanos.



**Fitocomplexo:** conjunto de todas as substâncias, originadas do metabolismo primário ou secundário, responsáveis, em conjunto, pelos efeitos biológicos de uma planta medicinal ou de seus derivados.

**Medicamento específico:** produto farmacêutico tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa ou paliativa não enquadrado nas categorias de medicamento novo, genérico, similar, biológico, fitoterápico ou notificado e cuja (s) substância (s) ativa (s), independente da natureza ou origem, não é(são) passível(is) de ensaio de bioequivalência, frente a um produto comparador

**Medicamento fitoterápico:** são aqueles obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e eficácia seja baseada em evidências clínicas e que sejam caracterizados pela constância de sua qualidade. Não se considera medicamento fitoterápico ou produto tradicional fitoterápico aquele que inclua na sua composição substâncias ativas isoladas ou altamente purificadas, sejam elas sintéticas, semissintéticas ou naturais e nem as associações dessas com outros extratos, sejam eles vegetais ou de outras fontes, como a animal

**Método alternativo:** qualquer método que possa ser utilizado para substituir, reduzir ou refinar o uso de animais em atividades de pesquisa

**Produto tradicional fitoterápico:** são aqueles obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e efetividade seja baseada em dados de uso seguro e efetivo publicado na literatura técnico-científica e que sejam concebidos para serem utilizados sem a vigilância de um médico para fins de diagnóstico, de prescrição ou de monitorização. Esses produtos não podem ser indicados para tratar doenças, distúrbios, condições ou ações consideradas graves, não podem conter matérias-primas em concentração de risco tóxico conhecido e não devem ser administrados pelas vias injetável e oftálmica.

**Registro simplificado:** Forma de registro em que não é necessário que a empresa apresente dados adicionais de segurança e eficácia, pois a mesma é previamente definida pela Anvisa. Ao escolher seguir o registro simplificado, a empresa deve respeitar todas as especificações determinadas nas normas de registro simplificado, atualmente para fitoterápicos, a Instrução Normativa nº 2/2014.

**Uso tradicional:** aquele alicerçado no longo histórico de utilização no ser humano demonstrado em documentação técnico científica sem evidências conhecidas ou informadas de risco à saúde do usuário.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Versão 2 de 31 de janeiro de 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2492465/Guia+para+a+Condu%C3%A7%C3%A3o+de+Estudos+N%C3%A3o+Cl%C3%ADnicos+de+Toxicologia+e+Seguran%C3%A7a+Farmacol%C3%B3gica+Necess%C3%A1rios+ao+Desenvolvimento+de+Medicamentos+-+Vers%C3%A3o+2/a8cad67c-14c8-4722-bf0f-058a3a284f75>

Andrade EL, Bento AF, Cavalli J, Oliveira SK, Schwanke RC, Siqueira JM et al. Non-clinical studies in the process of new drug development - Part II: Good laboratory practice, metabolism, pharmacokinetics, safety and dose translation to clinical studies. Braz J Med Biol Res. 2016 Dec 12;49(12):e5646.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 24, de 14 de junho de 2011, que dispõe sobre o registro de medicamentos específicos.

BRASIL. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. Resolução Normativa nº 17/2014 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Dispõe sobre o reconhecimento de métodos alternativos ao uso de animais em atividades de pesquisa no Brasil e dá outras providências. DOU de 04/07/2014 (nº 126, Seção 1, pág. 51).

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 9 de 20 de fevereiro de 2015, que dispõe sobre o Regulamento para a realização de ensaios clínicos com medicamentos no Brasil.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 26 de 13 de maio de 2014, que sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY -EMA. Note for Guidance on Non Clinical Local Tolerance Testing of Medicinal Products – CPMP/SWP/2145/2000. Rev.1 London: 2015. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-local-tolerance-testing-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-local-tolerance-testing-medicinal-products_en.pdf)



EUROPEAN MEDICINES AGENCY - EMEA. Single Dose Toxicity – 3BS1a. London:1987. Disponível em: <<http://www.emea.europa.eu/htms/human/humanguidelines/nonclinical.htm>>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY -EMEA. Guideline on non-clinical documentation for Herbal Medicinal Products in applications for marketing authorization and in applications for simplified registration. 2006. Disponível em: <[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003576.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003576.pdf)>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY - EMEA. Guideline on the assessment of genotoxicity of Herbal substances/preparations. 2008. Disponível em: <[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003569.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003569.pdf)>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY – EMA. Guideline on repeated dose toxicity - CPMP/SWP/1042/99 REV 1 CORR. Disponível em: <[http://www.emea.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2010/03/WC500079536.pdf](http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/03/WC500079536.pdf)>.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY – EMA. Guideline on Risk Assessment of Medicinal Products on Human Reproduction and Lactation: From data to labelling. EMA/CHMP/203927/2005. London, July 2008. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-risk-assessment-medicinal-products-human-reproduction-lactation-data-labelling\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-risk-assessment-medicinal-products-human-reproduction-lactation-data-labelling_en.pdf)

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Guidance for Industry -Single Dose Acute Toxicity for Pharmaceuticals. Maryland: 1996. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM079270.pdf>>.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. S7A Safety Pharmacology Studies For Human Pharmaceuticals. Center for Drug Evaluation and Research - CDER and Center for biologics Evaluation and Research - CBER. 2001). Disponível em: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm074959.pdf>



FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Guidance for Industry (Botanical Drugs Products). 2004. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070491.pdf>>.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION – ICH. Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility S5(R2). Geneva: 1993. Disponível em: <[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Safety/S5\\_R2/Step4/S5\\_R2\\_\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S5_R2/Step4/S5_R2__Guideline.pdf)>.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION – ICH. Guideline on the need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals – S1A. Geneva: 1995. Disponível em:<[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Safety/S1A/Step4/S1A\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S1A/Step4/S1A_Guideline.pdf)>.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION – ICH. Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non Rodent Toxicity Testing) – S4. Geneva: 1998. Disponível em: <[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Safety/S4/Step4/S4\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S4/Step4/S4_Guideline.pdf)>

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION – ICH. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals – S7A. Geneva: 2000. Disponível em:<[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A_Guideline.pdf)>.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION – ICH. M3 (R2): Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals. Geneva: 2009. Disponível em: <[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M3\\_R2/Step4/M3\\_R2\\_\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M3_R2/Step4/M3_R2__Guideline.pdf)>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL E ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Instruções Operacionais: Informações necessárias para realização de ensaios clínicos com fitoterápicos. 2008. Disponível em: <<http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapicos.pdf>>.



OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Carcinogenicity Studies (451), 12 May 1981. Disponível em: <<http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/fulltext/9745101e.pdf?expires=1318537762&id=id&accname=freeContent&checksum=F1EA4C94AED7D2F8244A8A3EE70CC004>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Chronic Toxicity Studies (452), 12 May 1981. Disponível em: <<http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/fulltext/9745201e.pdf?expires=1318537832&id=id&accname=freeContent&checksum=048DE0AED9D2F7D0420E1B8D6751BA61>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. One-Generation Reproduction Toxicity Study (415), 26 May 1983. Disponível em: <<http://www.oecd.org/dataoecd/18/12/1948458.pdf>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Bacterial Reverse mutation test 471. Disponível em: <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948418.pdf>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. In vitro mammalian Chromosome Aberration test 473. Disponível em: <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948434.pdf>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Mammalian Erythrocyte micronucleus test 474. Disponível em: <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948442.pdf>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Mammalian Bone Marrow chromosome aberration test 475. Disponível em: <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948450.pdf>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. In vitro mammalian cell gene mutation test 476. Disponível em: <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948426.pdf>>

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Non-Rodents (409). Disponível em: <<http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/9740901e.pdf?expires=1408552459&id=id&accname=guest&checksum=94FD115AFD916D318A27B9E00242EA4E>>.



OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents (408). Disponível em: <<http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/9740801e.pdf?expires=1408552643&id=id&accname=guest&checksum=60853AE98ACAA4B5565641B89A89254B>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method (423), 17 Dec 2001. Disponível em: <<http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/fulltext/9742301e.pdf?expires=1318537624&id=id&accname=freeContent&checksum=5DAE79EBCEF850C85122E0CA6D22A6C1>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Prenatal Developmental Toxicity Study (414), 22 Jan 2001. Disponível em: <<http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/fulltext/9741501e.pdf?expires=1318538019&id=id&accname=freeContent&checksum=35DD35D9B6402221E4D619490710EED2>>.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents (407), 3 Oct 2008. Disponível em: <<http://www.oecdilibrary.org/docserver/download/fulltext/9740701e.pdf?expires=1318538104&id=id&accname=freeContent&checksum=ADD9F533ED0642E7C11CC934908F4A91>>.

Organização Panamericana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. Rede Panamericana para Harmonização da Regulamentação Farmacêutica Boas Práticas Clínicas: Documento das Américas. 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Research Guidelines Evaluating the safety and Efficacy Herbal Medicines. 1993. Disponível em: <<http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh2946e/>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Handbook – Non Clinical Safety Testing. Geneva: TDR/WHO, 2004. 117p. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/publications/publications/safety-handbook.htm>>.