



ISSN 1808-9569 - ASSOCIADA À ABEC

Presidente da Fundação Oswaldo Cruz: Paulo Gadelha

Diretos de Far-Manguinhos: Hayne Felipe da Silva

Coordenador do NGBS: Glauco de Kruse Vilas-Bôas

Coordenação e Gestão do Projeto Fitos: Rosane de Albuquerque dos Santos Abreu e Preciosa de Jesus Meireles de Oliveira

Revisão Prévia: Priscila Fabiana Paulo dos Santos

Escritório e correspondência: www2.far.fiocruz.br/redesfito

e-mail: revistafitos@far.fiocruz.br

Impressão e Distribuição: Milmar Gráfica – Rio de Janeiro

Núcleo de Gestão em Biodiversidade e Saúde - NGBS

Complexo Tecnológico de Medicamentos – CTM – Farmanguinhos - Fiocruz

Av. Comandante Guarani Nº 447

CEP: 22775-610

Jacarepaguá - Rio de Janeiro - RJ

Tel.: (21) 3348-5050 (Far-Manguinhos)

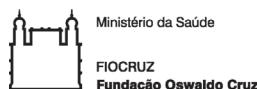
Tels.: (21) 3348 5370 / 3348 5598 (NGBS)

Objetivos:

A Revista FITOS é um periódico multidisciplinar dedicado à publicação de trabalhos científicos originais, e artigos de divulgação, revisão e atualização sobre a biodiversidade vegetal brasileira, tais como química, farmacologia, legislação, gestão, inovação, monografia, etnofarmacologia, cultivo, farmacognosia, revisão, educação, política científica, políticas públicas, biotecnologia, botânica, etc. Por 'monografia' será entendida os trabalhos escritos segundo o padrão estabelecido pela OMS para a descrição das plantas medicinais. Trabalhos resultantes da conclusão de cursos de graduação, especialização, dissertações de mestrado e teses de doutorado, serão divididos de acordo com as categorias acima.

Análises, críticas, resenhas e revisões de livros recentes de qualquer das áreas mencionadas se-

Associação Brasileira
de Editores Científicos



Editor: Lucio Ferreira Aves

Editor-Associado: Davyson de Lima Moreira

CORPO EDITORIAL

Adrian Martin Pohlit - Departamento de Produtos Naturais - INPA
Alaíde Braga de Oliveira – Faculdade de Farmácia - UFMG
Alphonse Kelecom - Instituto de Biologia - UFF
Ângelo da Cunha Pinto - Instituto de Química - UFRJ
Armando Cáceres - Departamento de Citohistologia – Universidad de San Carlos de Guatemala
Benjamin Gilbert - Far-Manguinhos - Fundação Oswaldo Cruz
Clélia Akiko Hiruma-Lima - Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu
Edeltrudes de Oliveira Lima - Departamento de Ciências Farmacêuticas - UFPB
Elfriede Marianne Bacchi - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP
Elsie Franklin Guimarães - Unidade de Botânica Sistemática - JBRJ
Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - UFPB
Glauce Socorro de Barros Viana - Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFCE
Glyn Mara Figueira - CPQBA - UNICAMP
João Batista Calixto - Departamento de Farmacologia - UFSC
João Carlos Palazzo de Mello - Departamento de Farmácia e Farmacologia - UEM
João Ernesto de Carvalho - CPQBA - UNICAMP
José Maria Barbosa-Filho - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - UFPB
Humberto Bizzo - EMBRAPA - Rio de Janeiro
Lauro Xavier Filho - Instituto de Biologia - Universidade Tiradentes
Lígia Maria Marino Valente - Instituto de Química - UFRJ
Lin Chau Ming - Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP - Botucatu
Luis Carlos Marques - Faculdade de Farmácia - UNIBAN
Luis Vitor Sacramento - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara
Luiz Claudio Di Stasi - Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu
Mahabir Gupta - Faculdade de Farmácia - Universidad de Panamá
Maria Aparecida Medeiros Maciel - Departamento de Química - UFRN
Maria Auxiliadora Coelho Kaplan - NPPN - UFRJ
Maria Cristina Marcucci Ribeiro – Faculdade de Farmácia - UNIBAN
Mary Ann Foglio - CPQBA - UNICAMP
Nídia Franca Roque – Faculdade de Farmácia - UFBA
Paulo César Vieira - Departamento de Química - UFSCar
Pedro Melillo de Magalhães – CPQBA - UNICAMP
Pedro Ros Petrovick - Faculdade de Farmácia - UFRS
Rivaldo Niero - Curso de Farmácia - UNIVALI
Rosendo Augusto Yunes - Departamento de Química UFSC
Suzana Guimarães Leitão - Faculdade de Farmácia - UFRJ
Valdir Cechinel Filho - Universidade do Vale do Itajaí
Valdir Florêncio Veiga Junior - Departamento de Química - UFAM
Vanderlan da Silva Bolzani - Instituto de Química – UNESP - Araraquara
Wagner Vilegas - Instituto de Química - UNESP - Araraquara

- 05** **LEGISLAÇÃO / LEGISLATION**
Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos
Brazilian Regulation on Medicinal Plants and Herbal Medicines
Ana Cecília B. Carvalho; Patrícia F. Branco;
Liliane A. Fernandes; Robelma F. de O. Marques; Simone C. Cunha e João Paulo S. Perfeito
- 17** **MONOGRAFIA / MONOGRAPHY**
***Cordia verbenacea* DC**
Boraginaceae
Benjamin Gilbert; Rita Favoreto
- 26** **ETNOFARMACOLOGIA / ETHNOPHARMACOLOGY**
Plantas Medicinais Cultivadas e Utilizadas na Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV), Porteirinha, MG
Medicinal Plants Used in Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida Association (ACEBEV), Porteirinha-MG
Cindy V. Leite e Gisele L. Oliveira
- 37** **FARMACOLOGIA / PHARMACOLOGY**
Avaliação da Administração Crônica de *Mucuna pruriens* sobre Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos e de seus Efeitos Neuroprotetores, em Modelo de Doença de Parkinson
Evaluation of Chronic Administration of *Mucuna pruriens* on Biochemical and Hematological Parameters and its Neuroprotective Effects on a Parkinson's Disease Model
Amanda A. Lopes; Fábio A. Pereira; Maria G. Queiroz; Márcia V. Pitombeira; Luzia K. A. M. Leal; Glauce S. B. Viana
- 44** **PESQUISA E DESENVOLVIMENTO / RESEARCH AND DEVELOPMENT**
Exploração de Bioativos: Parcerias e Patentes
Exploitation of Bioactive: Partnerships and Patents
Ingrid E.M. Gutiérrez, e Aristóteles Góes-Neto
- 50** **PESQUISA E DESENVOLVIMENTO / RESEARCH AND DEVELOPMENT**
Pesquisa e Desenvolvimento de Fitoterápicos: Relatos de Experiência em Indústria Farmacêutica Nacional
Research and Development of Phytomedicines: Report of Experience on a Brazilian Pharmaceutical Company
Luis C. Marques e Carlos M. Souza
- 67** **FITOQUÍMICA / PHYTOCHEMISTRY**
Padronização de uma Amostra de Extrato Etanólico de Própolis Verde
Standardization of an Ethanolic Sample of Green Propolis
Cristina F. Nunes; Paula F. Finger; Geferson Fischer; Clarissa C. Castro; Silvia O. Hübner;
Niraldo Paulino; Maria Cristina Marcucci;
Oseraldo Vieira; Pedro E. Martes;
Gilberto D. Vargas
- 73** **Resenha de Livro**
- 74** **Instrução para os Autores**

A Revista Fitos foi lançada em junho de 2005, tendo à frente Antonio Carlos Siani como Presidente do Conselho Editorial, que ocupou o cargo até 2010. No seu primeiro número, Eduardo Campos e Josimar Henrique, na época, respectivamente, Ministro da Ciência e Tecnologia e Presidente da ALANAC (Associação Nacional dos Laboratórios Farmacêuticos Nacionais), destacaram a importância da parceria entre ambos. Entretanto, este processo foi interrompido, dificultando a periodicidade que a revista vinha mantendo. A partir de 2010, a Fitos passou a contar com o apoio institucional e financeiro de Farmanguinhos/Fiocruz, através do Núcleo de Gestão em Biodiversidade e Saúde (NGBS). Até a presente data, foram publicados cerca de 130 artigos, compreendendo 7 volumes e quinze números, abrangendo as mais diversas áreas da pesquisa com plantas medicinais, tais como monografias, química, farmacologia, legislação, etnofarmacologia, cultivo, história, etc.

A partir do volume 6, dezembro de 2011, a Fitos passou por transformações. Depois de seis anos à frente da Revista, o Siani deixou o cargo que passou a ser exercido por mim. A Direção de Farmanguinhos assumiu formalmente sua institucionalização, promovendo a oportunidade de a Fitos ocupar seu lugar no rol das publicações científicas da Fiocruz. Uma modificação no corpo de Conselheiros foi realizada acompanhando o realinhamento do escopo. Essa modificação foi baseada não apenas na capacidade acadêmica dos novos membros, mas também no meu relacionamento pessoal com cada um deles, de maneira que o contato, quando necessário, possa se tornar mais ágil. Nesse sentido, convidei destacados pesquisadores da área de fitoquímica e plantas medicinais para colaborarem com a Revista. Foi gratificante constatar que a grande maioria aceitou o desafio. Outras modificações realizadas dizem respeito à numeração das páginas, que passa a ser seqüenciada, facilitando a consulta pelos interessados; à formatação dos artigos; bem com as instruções aos autores, publicadas no primeiro número de cada volume.

Uma revista desse porte, entretanto, só pode sobreviver se houver quatro pré-requisitos fundamentais e de igual importância: a submissão de artigos, a periodicidade constante, um sistema de distribuição eficiente e um apoio institucional e financeiro. A periodicidade só será mantida se houver a submissão de artigos e isto depende, exclusivamente, da colaboração de toda a comunidade científica, uma vez que a dificuldade em submeter artigos a um periódico nos primeiros anos de sua existência é uma praxe quase universal, instigada pelos próprios órgãos de fomento. Contudo, é fundamental acreditar na revista e romper o círculo vicioso segundo o qual o pesquisador não submete um artigo a determinado periódico científico porque o mesmo não é indexado; o periódico não é indexado porque não tem artigos.

A Revista Fitos já é uma realidade e a sua qualidade reconhecida por todos que a conhecem. Nesse sentido, com a ampliação do seu escopo, ela representa uma opção para a publicação dos trabalhos com plantas medicinais realizados nas diversas instituições de ensino e pesquisa espalhadas pelo Brasil.

Desde o seu primeiro número, a Fitos se posicionou como um novo veículo para publicação de artigos nas áreas de inovação e gestão de fitomedicamentos, assim como as Ciências Agrícolas, Econômicas, Sociais e Políticas, normalmente ausentes em outras publicações do gênero. Com o apoio do NGBS e da REDEFITO (Sistema Nacional de Redes Fito) esperamos que este projeto se consolide cada vez mais. A Revista convida todos os pesquisadores envolvidos nesses processos a submeterem seus artigos nas suas páginas.

Lucio Ferreira Alves

Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos

Brazilian Regulation on Medicinal Plants and Herbal Medicines

¹Ana Cecília B. Carvalho; ²Patrícia F. Branco; ³Liliane A. Fernandes; ¹Robelma F. de O. Marques; ¹Simone C. Cunha e ¹João Paulo S. Perfeito

¹Coordenação de Medicamentos Fitoterápicos, Dinamizados e Notificados (COFID/GGMED/ANVISA). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Setor de Indústria e Abastecimento, Área especial 57. Brasília – DF. CEP: 71205-050

²Gerência de Inspeção e Certificação de Medicamentos e Insumos farmacêuticos (GIMED/GGIMP/ANVISA). Setor de Indústria e Abastecimento, Área especial 57. Brasília – DF. CEP: 71205-050

³Gerência Geral de Alimentos (GGALI/ANVISA). Setor de Indústria e Abastecimento, Área especial 57. Brasília – DF. CEP: 71205-050

*Correspondência: e-mail: anacecijp@yahoo.com.br

Palavras chave:

plantas medicinais; fitoterápicos; regulação; ANVISA.

Keywords:

medicinal plants; herbal medicines; regulation; ANVISA.

Resumo

O uso de plantas medicinais para a manutenção ou recuperação da saúde é difundido em todo o mundo, sendo largamente realizado no Brasil. O uso de produtos obtidos de plantas medicinais, denominados fitoterápicos, é regulamentado nacionalmente pelo Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), coordenado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Existem diversas formas possíveis de regulamentação para os fitoterápicos: plantas medicinais, drogas vegetais notificadas, medicamento fitoterápico manipulado e industrializado, e, fora da área farmacêutica, as plantas medicinais possuem possibilidade de uso como cosmético ou alimento. O controle sanitário desses produtos pela ANVISA difere de acordo com a forma que é preparado o produto obtido de plantas medicinais ou com o grau exigido de segurança, eficácia e qualidade para o produto. As diferentes categorias regulatórias e as normas específicas para cada uma destas são discutidas nesse artigo.

Abstract

Medicinal plants are worldly spread deal to keep or to recover the health, including in Brazil where they are widely used. Products obtained from medicinal plants are regulated by the National System of Health Surveillance, which is coordinated by Nacional Health Surveillance Agency (ANVISA). As a pharmaceutical product, there are many ways to classify phytotherapeutics: medicinal plants, notificated vegetal drugs, industrialized or manipulated herbal medicines. In the other hand, medicinal plants could be used in manufacturing of cosmetics and foods. The health control for these products by ANVISA is different and depend on how they are produced or their exigency degree related to safety, efficacy or quality defined in law. The different categories and the specific regulation for this products are discussed in this article.



Introdução

Desde os tempos remotos o homem tem empregado uma variedade de produtos, inicialmente naturais e posteriormente também sintéticos, para aliviar dores e outros sintomas, curar ou prevenir enfermidades. Entretanto, foi só a partir de meados do século XX que começou de fato a se instituir um controle do Estado sobre a qualidade, segurança e eficácia de medicamentos (Simões, 2002).

A exemplo do que ocorreu nos Estados Unidos, onde compete ao *Food and Drug Administration* (FDA) tomar as providências necessárias para que apenas medicamentos seguros e eficazes tenham acesso ao mercado, no Brasil este papel cabe, desde 1999, a ANVISA, o órgão regulatório que sucedeu a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Esta agência, criada pela publicação da Lei 9782/1999, tem como missão “*Promover e proteger a saúde da população e intervir nos riscos decorrentes da produção e do uso de produtos e serviços sujeitos à vigilância sanitária, em ação coordenada com os estados, os municípios e o Distrito Federal, de acordo com os princípios do Sistema Único de Saúde, para a melhoria da qualidade de vida da população brasileira*”. Possui, dentre diversos papéis, o controle de medicamentos, autorizando o funcionamento de empresas e concedendo os certificados de Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC) necessários à concessão dos registros sanitários de insumos, medicamentos biológicos, sintéticos e fitoterápicos. Cosméticos e alimentos também são produtos sob controle sanitário da ANVISA (Brasil, 1999a).

O Brasil possui normas específicas para o registro dos medicamentos fitoterápicos desde 1967 (Brasil, 1967). Essas normas foram sendo ajustadas ao desenvolvimento científico tecnológico ao longo dos anos e foram recentemente republicadas, considerando as modificações implementadas no país pela Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMP) e a Política de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), ambas publicadas em 2006 (Brasil, 2006a,b). Essas duas políticas promoveram modificações na regulação de plantas medicinais e fitoterápicos. Várias normas já foram publicadas, ou atualizadas, para adequarem-se as mesmas, abrangendo um arcabouço legislativo para regulamentação das classes: plantas medicinais, drogas vegetais notificadas, medicamentos fitoterápicos manipulados e industrializados. Há ainda plantas medicinais que podem ser regulamen-

tadas na ANVISA em áreas diversas da farmacêutica, como na de alimentos e cosméticos.

Discussão

Comércio de plantas medicinais

A lei 5991/1973, que estabelece o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, em todo o território nacional, prevê a comercialização de plantas medicinais em farmácias e ervanárias. Assim, plantas medicinais podem ser secas, embaladas e dispensadas nesses estabelecimentos (Brasil, 1973).

Como não há regulamentação para essa categoria, não há restrição sobre quem produz e a que controle as plantas medicinais estão submetidas. Porém, tais produtos não são considerados medicamentos, e portanto, não podem ter indicação terapêutica na embalagem, nem mesmo em folhetos anexos, ou ainda informações que possam dar a entender que as mesmas sejam utilizadas como medicamentos, como posologia e restrições de uso (Brasil, 1973).

A mesma Lei 5991/73 também definiu as Ervanárias, que são estabelecimentos que realizam a dispensação de plantas medicinais (Brasil, 1973). Além das ervanárias as plantas medicinais podem ser comercializadas em farmácias, mas não em drogarias (Brasil, 2009g).

Drogas vegetais notificadas

As plantas medicinais são conceituadas como toda e qualquer planta, cultivada ou não, utilizada pelo homem com propósitos terapêuticos (Brasil, 2010a).

As drogas vegetais notificadas têm origem nas plantas medicinais e, de acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 10/2010, são definidas como sendo plantas medicinais ou suas partes, que contenham substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta ou colheita, estabilização e secagem, quer sejam íntegras, rasuradas, trituradas ou pulverizadas (Brasil, 2010a).

Por intermédio da RDC 10/2010, a ANVISA passou a regular a produção, o comércio e o uso de drogas vegetais, liberando-as para utilização pela população na forma de produtos industrializados, para os quais são estabelecidos e controlados requisitos de qualidade, segurança e tradicionalidade de uso.





Soares e Mendonça (2010) referem que essa norma é um importante marco legal na diferenciação do uso da droga vegetal com finalidade alimentícia ou medicinal, tomada como base as informações obtidas pelo uso tradicional e referendadas por estudos científicos.

As drogas vegetais notificadas somente podem ser utilizadas durante curto período de tempo, por via oral ou tópica, devendo ainda ser disponibilizadas exclusivamente na forma de plantas secas para o preparo de infusões, decocções ou macerações. Saliente-se ainda que produtos disponibilizados sob formas farmacêuticas, como cápsulas, tinturas, etc, não se enquadram sob esta categoria, devendo ser submetidos a registro como medicamentos fitoterápicos, conforme determina a RDC 14/2010 (Brasil, 2010b).

Assim, as drogas vegetais não são enquadradas como medicamentos e, portanto, não podem indicar cura de doenças, mas, podem ter em suas embalagens alegações para tratamento sintomático de doenças de baixa gravidade, padronizadas para cada uma das espécies selecionadas. Dessa forma, todas as drogas vegetais são isentas de prescrição médica (Brasil, 2010a).

Um total de 66 plantas medicinais foram reconhecidas pela ANVISA como de utilização medicinal tradicional no Brasil na forma de drogas vegetais, podendo ser notificadas para comercialização, conforme RDC 10/2010.

As drogas vegetais notificadas só podem ser produzidas por empresas farmacêuticas com certificado de BPFC para medicamentos, válido para a linha de sólidos, ou com certificação de BPFC específica para produção de drogas vegetais, conforme norma ainda a ser publicada pela ANVISA. As drogas vegetais notificadas só podem ser comercializadas em farmácias e drogarias (Brasil, 2009c,g, 2010a).

A regularização das drogas vegetais, principalmente no que se refere à padronização das plantas medicinais e dos seus critérios de segurança, eficácia e qualidade deve trazer relevante impacto para a indústria farmacêutica e de drogas vegetais, para os profissionais da saúde, bem como para a população geral.

Medicamentos fitoterápicos industrializados

São considerados medicamentos fitoterápicos industrializados aqueles produtos tecnicamente elaborados a partir de matérias-primas ativas vegetais, que apre-

sentam reprodutibilidade e constância de sua qualidade e cuja eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações técnico-científicas ou evidências clínicas (Brasil, 2010b).

Devido à sua finalidade e importância para a saúde pública, os medicamentos fitoterápicos são alvo de extensa regulamentação. No Brasil, a Lei 6360/1976 enfatiza que nenhum produto, inclusive os importados, poderá ser industrializado, exposto à venda ou entregue ao consumo antes de ser registrado na ANVISA (Brasil, 1976). O registro sanitário de medicamentos é a ferramenta que a vigilância sanitária dispõe para controlar, acompanhar e avaliar produtos sob seu regime.

Apenas indústrias farmacêuticas certificadas pela ANVISA, através do disposto na RDC 17/2010 (Brasil, 2010d), podem registrar e produzir medicamentos fitoterápicos. A certificação é a comprovação de que a empresa cumpre com normas internacionalmente estabelecidas referente a BPFC, e que possui condições técnicas e operacionais para a produção de medicamentos, além de responsável técnico, farmacêutico, habilitado.

A RDC 14/2010 é a legislação em vigor que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Ela estabelece parâmetros de controle de cada etapa da cadeia de produção, das matérias-primas ativas (droga e derivado vegetais) até o produto acabado (o medicamento fitoterápico). O dossiê de registro é composto primordialmente do relatório de produção, de controle da qualidade e de eficácia e segurança (Brasil, 2010b).

O relatório de produção contém informações detalhadas relativas à forma farmacêutica e formulação do medicamento, à descrição das etapas de produção e ao controle em processo.

A qualidade é a garantia da identidade do medicamento e de que ele produzirá o efeito pretendido. Neste sentido, o relatório de controle da qualidade fornece informações quanto às características das matérias-primas e do produto acabado. Compreende exigências mínimas de ensaios que devem ser realizados em cada etapa do processo de produção. Para estes ensaios, devem ser utilizados como referência compêndios oficiais, como a Farmacopeia Brasileira, ou qualquer uma das farmacopeias reconhecidas pela ANVISA por meio da RDC 37/2009 (Brasil, 2009d).



Sempre que não forem utilizadas referências oficiais, ou quando a empresa desenvolve método analítico próprio, deve ser apresentada descrição detalhada de todas as metodologias utilizadas no controle da qualidade, com métodos analíticos validados de acordo com a Resolução Específica (RE) 899/2003 (Brasil, 2003). O processo de validação de metodologias analíticas tem o objetivo de demonstrar a qualidade das medições químicas, confirmando que determinado método é apropriado para as análises pretendidas.

É fundamental também que seja comprovada a estabilidade do medicamento na embalagem em que ele está contido durante todo o período de validade proposto. As condições e os testes a que os medicamentos devem ser submetidos a fim de definir seu prazo de validade estão contemplados na RE 1/2005 que traz o “Guia para a realização de estudos de estabilidade de medicamentos” (Brasil, 2005a).

Quanto à comprovação da segurança e eficácia, a norma brasileira prevê quatro possibilidades, devendo a empresa solicitante de registro optar por uma das seguintes alternativas:

- a) pontuação em literatura técnico-científica - apresentação de, no mínimo, seis pontos em estudos referenciados na “Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de medicamentos fitoterápicos”, publicada como Instrução Normativa (IN) 5/2010 (Brasil, 2010c);
- b) levantamentos etnofarmacológicos ou de utilização – através de estudos etno-orientados de utilização, documentações técnico-científicas, ou outras publicações, relacionadas a segurança e eficácia do produto por um período igual ou superior a 20 anos;
- c) evidências, a partir de ensaios toxicológicos e farmacológicos pré-clínicos e clínicos, conforme RE 90/2004 (Brasil, 2004a) que contem o “Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos”, e Resoluções 196/1996 (Brasil, 1996) e 251/1997 (Brasil, 1997b), ambas do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e RDC 39/2008 (Brasil, 2008a), que aprova o regulamento para realização de pesquisa clínica, e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica; ou
- d) presença na “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado”, publicada como IN 5/2008 (Brasil, 2008b), lista esta que contempla 36 espécies vegetais para as quais é dispensada a comprovação de segurança e eficácia, desde que o solicitante do registro siga todos os parâmetros especificados no anexo da norma.

Bulas, rotulagens e embalagens de medicamentos fitoterápicos devem atender ao disposto em normas específicas. A RDC 47/2009 (Brasil, 2009e) estabelece regras para o formato e conteúdo dos textos de bula de medicamentos para pacientes e profissionais de saúde. Complementarmente a esta norma e de forma a padronizar as informações disponíveis a pacientes e profissionais, há atualmente 18 bulas padronizadas de medicamentos fitoterápicos publicadas no bulário eletrônico da ANVISA. Assim, todo medicamento fitoterápico produzido a base de espécies com bula padronizada deverá adotar, obrigatoriamente e integralmente, o disposto em sua bula padrão.

Quanto a embalagens e rotulagens, a RDC 71/2009 (Brasil, 2009f) estabelece, dentre outras diretrizes, a necessidade da identificação do medicamento através do sistema Braille e a existência de mecanismos de segurança que garantam a rastreabilidade do medicamento desde sua produção até a sua dispensação. As alterações pós-registro de medicamentos fitoterápicos, tais como inclusões, notificações e cancelamentos, devem seguir os procedimentos especificados na RE 91/2004 (Brasil, 2004b), que contempla o “Guia para realização de alterações e inclusões pós-registro de fitoterápicos”, e somente poderão ser implementadas após manifestação favorável da ANVISA.

O registro tem prazo de validade pré-determinado de cinco anos. Assim, no primeiro semestre do último ano do quinquênio de validade do registro, a empresa detentora do mesmo deverá manifestar o desejo de sua renovação, apresentando à ANVISA toda a documentação que comprove a segurança e eficácia do medicamento, caso não tenha sido previamente apresentada (Brasil, 1976). Adicionalmente, deve-se comprovar a existência de um sistema de farmacovigilância para monitoramento de falhas terapêuticas e efeitos colaterais indesejáveis de acordo com a RDC 4/2009 (Brasil, 2009a).

A RDC 14/2010 é uma atualização da norma anteriormente em vigor que versava sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Entre as principais diferenças em relação à sua antecessora destacam-se: alternativas ao controle da qualidade de cada etapa de produção; possibilidade de registro de medicamento fitoterápico contendo drogas vegetais como ativo, desde que apresentada comprovação de segurança e eficácia através de ensaios pré-clínicos e clínicos; exigência da avaliação de aflatoxinas, para os casos em que monografias oficiais ou a literatura apontem ne-





cessidade; e, possibilidade de registro de fungos multicelulares e algas conforme a norma (Brasil, 2010b).

Medicamentos fitoterápicos manipulados e Farmácias Vivas Regidas pela Lei 5991/1973, as farmácias são definidas como estabelecimentos de manipulação de fórmulas magistrais e oficinais, de comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, compreendendo a dispensação dos mesmos (Brasil, 1973).

O medicamento manipulado é conveniente do ponto de vista da sua finalidade, que pode ser projetado, via prescrição, para ser um medicamento personalizado, que atende à necessidade específica do paciente, manipulado na dose exata do tratamento prescrito, evitando desperdícios e exposição a dosagens desnecessárias.

A diversidade da manipulação de medicamentos também possibilitava a associação de matérias-primas variadas, em qualquer forma farmacêutica, uma vez que a legislação não definia, até então, critérios de qualidade para que fossem manipulados por meio de regras específicas.

Para fabricação de medicamentos industrializados foram estabelecidos critérios de qualidade específicos às indústrias farmacêuticas e que foram incorporados com as chamadas BPFC. Com o avanço tecnológico, tais critérios, traduzidos em formato de normas, foram sendo atualizados, e incrementados a cada versão, alavancando a necessidade cada vez mais premente de aplicar a mesma filosofia aos medicamentos manipulados.

Foi então que, no ano de 2007, a ANVISA publicou a RDC 67/2007, fixando o “Regulamento técnico sobre Boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias”. A partir de então, a manipulação de medicamentos em farmácias deve seguir esta norma específica, onde os estabelecimentos devem atender a critérios de qualidade que perpassam desde a aquisição de matérias-primas utilizadas, todo o sistema de qualidade da Farmácia, até a dispensação e transporte (Brasil, 2007).

A Resolução RDC 67/2007 classifica as farmácias em seis grupos de atividades, de acordo com a complexidade do processo de manipulação e das características dos insumos utilizados, para fins do atendimento aos critérios de Boas Práticas de Manipulação em

Farmácias (BPMF). São elas: manipulação de medicamentos a partir de insumos/matérias-primas, inclusive de origem vegetal; manipulação de antibióticos, hormônios, citostáticos e substâncias sujeitas a controle especial; manipulação de substâncias de baixo índice terapêutico; manipulação de medicamentos estéreis; manipulação de medicamentos homeopáticos; e manipulação de doses unitárias e unitarização de dose de medicamentos em serviços de saúde (Brasil, 2007).

Fixando os requisitos mínimos, a RDC 67/2007 instrui que as farmácias devem observar as condições desde suas instalações, equipamentos e recursos humanos, aquisição e controle da qualidade da matéria-prima, passando pelo armazenamento, avaliação farmacêutica da prescrição, manipulação, fracionamento, conservação, transporte, dispensação das preparações, além da atenção farmacêutica aos usuários ou seus responsáveis, visando à garantia de sua qualidade, segurança, efetividade e promoção do seu uso seguro e racional (Brasil, 2007).

A fim de nortear a observação dos requisitos necessários ao cumprimento das BPMF, a norma também traz, em seu anexo VII, o roteiro de inspeção em farmácia que se inicia com a caracterização da empresa com a comprovação de documentação legal.

Esta norma enfatiza a responsabilização em caso de danos causados aos consumidores, uma vez comprovados os desvios da qualidade na manipulação de preparações magistrais e oficinais, onde as farmácias estarão sujeitas às penalidades previstas na legislação sanitária vigente, sem prejuízo das responsabilidades civil e criminal cabíveis aos responsáveis.

Com a publicação da PNPIC e PNPMF, tornou-se imprescindível a regulamentação dos produtos de origem vegetal, objetivando a regulamentação de toda cadeia produtiva destes: produção, distribuição, manipulação e uso de plantas medicinais e fitoterápicos. Tomando o rumo da construção do marco regulatório para produção, distribuição, manipulação e uso de plantas medicinais, a partir de modelos e experiências existentes no Brasil, a ANVISA publicou a Consulta Pública (CP) 85/2010, que dispõe sobre “Boas práticas de armazenamento de plantas medicinais, manipulação e dispensação de preparações magistrais e oficinais de plantas medicinais e fitoterápicos em Farmácias Vivas”. Esta CP foi publicada baseada na necessidade de regulamentação das intituladas Farmácias Vivas, criadas pela Portaria MS 886/2010, que as definiu



como aquelas instituídas no âmbito do SUS, que realizam as etapas de cultivo, coleta, armazenamento de plantas medicinais, manipulação e dispensação de preparações magistrais e oficinais de plantas medicinais e fitoterápicos (Brasil, 2010f,g).

Este Regulamento Técnico enfatiza que as disposições descritas nesta CP aplicam-se somente aos estabelecimentos que realizam as atividades de preparação e manipulação de plantas medicinais e fitoterápicos oriundos de horta/horto oficial ou comunitário a serem dispensados no âmbito do SUS, não sendo permitida sua comercialização e que, caso necessário, as matérias-primas de origem vegetal poderão ser adquiridas de fornecedores qualificados (Brasil, 2010f).

Foi tomado como base as diretrizes para farmácias de manipulação descritas na RDC 67/2007, acoplando-se itens específicos ao correto manejo deste tipo de estabelecimento, como requisitos mínimos exigidos para instalações, equipamentos e recursos humanos, aquisição e controle da qualidade da matéria-prima, armazenamento, conservação, transporte e dispensação das preparações. A prescrição da planta medicinal e do fitoterápico deve ser feita exclusivamente por profissional do SUS em receituário, contemplando a nomenclatura botânica do produto, forma farmacêutica seguida da denominação popular da planta medicinal, composição, posologia, modo de usar e a duração do tratamento (Brasil, 2010f).

A CP informa que a licença de funcionamento, expedida pelo órgão de vigilância sanitária local, deve explicitar as atividades para as quais a Farmácia Viva está habilitada e que as atividades de cultivo e coleta devem atender à legislação do órgão competente.

Há expectativa que tão logo publicada e sendo elevada ao status de Resolução, esta CP possa atingir seu objetivo que visa à garantia da qualidade, segurança, efetividade e promoção do uso seguro e racional das plantas medicinais e fitoterápicos oriundos de horta/horto oficial ou comunitário a serem dispensados no âmbito do SUS.

Regulação e fiscalização de Insumos Farmacêuticos Ativos (IFA) e medicamentos fitoterápicos - Contexto das Boas Práticas de Fabricação e Certificação das plantas produtoras

A autorização concedida pelos órgãos sanitários para uma indústria farmacêutica fabricar medicamentos, ou uma indústria farmoquímica fabricar IFA's resulta

da avaliação criteriosa do cumprimento de uma série de diretrizes que orientam todas as operações envolvidas no processo produtivo, e que se traduz no cumprimento das BPFC dos produtos fabricados, avaliada mediante a aplicação do instrumento de regulação (Brasil, 2010d).

No Brasil, a ANVISA publicou recentemente a RDC 17/2010, o marco regulatório atualizado das BPFC de medicamentos, trazendo, em seu Título VIII, as BPFC de medicamentos fitoterápicos.

A ausência de uma legislação específica para o tema deixava a ANVISA em situação que destoava do cenário internacional e nacional, uma vez que após a publicação da PNPMF, o governo federal incentiva a utilização de medicamentos fitoterápicos que devem ser fabricados com padrões de segurança, eficácia e qualidade comprovados (Brasil, 2006b).

Por meio da publicação da RDC 249/2005, os IFA's também devem ser coletados, processados, extraídos e embalados seguindo as diretrizes estabelecidas nesta norma. Itens a respeito de todo o sistema de qualidade da empresa, incluindo o recebimento, processamento, controle da qualidade e a garantia da qualidade, incluindo ainda as utilidades, como sistema de ar adequado e a qualidade da água utilizada, são objetos de averiguação minuciosa durante as inspeções nas empresas produtoras tanto de IFA's quanto nas fabricantes de medicamentos (Brasil, 2005c).

As BPFC contêm um conjunto de medidas, padrões e requisitos da saúde pública que as empresas devem seguir a fim de produzir medicamentos seguros, eficazes e de qualidade, e como citado anteriormente. São averiguados por meio da execução de uma inspeção sanitária que não se trata apenas de uma ação isolada e estanque, mas sim, uma prática de observação sistemática, norteadas por conhecimentos técnico-científicos. A constatação do cumprimento das BPFC compõe um elo de ligação dentre os critérios avaliados pelos órgãos reguladores com o fim de concessão de autorização para indústria farmacêutica fabricar medicamentos.

As ações de inspeção/fiscalização nos estabelecimentos fabricantes visam ainda apurar possíveis falsificações, fraudes e adulterações contando com a cooperação técnica dos Estados, do Distrito Federal e dos Municípios, e também harmonizar e aprimorar as ações, nas áreas de competência, como por exemplo





os IFA's e os medicamentos, sejam eles de origem biológica, fitoterápica ou sintética.

No Brasil, desde antes da criação da ANVISA, a então SNVS vinha ao longo dos anos tentando regulamentar as diretrizes para fabricação de medicamentos, todavia, nunca havia sido publicada nenhuma norma específica para a fabricação de medicamentos fitoterápicos. Somente após a criação da ANVISA esta classe de medicamentos passou a ser observada com mais atenção, criticidade e especificidade (Brasil, 2010d).

As novas tecnologias e o desenvolvimento contínuo do tema BPF no âmbito internacional, caracterizam um desafio para as autoridades sanitárias aprimorarem os processos de trabalho na área de inspeções com enfoque de risco, e que esteja em consonância com uma política de inspeções no âmbito nacional, no Mercosul e em outros países.

Esta necessidade de atualização das normas, como consequência do desenvolvimento de novas tecnologias, fez com que o grupo de experts da OMS publicassem, no ano de 2003, o Relatório 37 sobre BPF "*WHO Expert Committee for specifications for Pharmaceutical Preparations*", que compila diversos requisitos e guias, sobre os temas específicos de BPF, sendo um marco referencial para os organismos reguladores de todo o mundo, incluindo os países pertencentes ao Grupo do Mercosul, e, conseqüentemente o Brasil (OMS, 2003).

Como objeto concreto dessas atualizações da OMS, no ano de 2005, a ANVISA publicou a RDC 249/2005 que norteia a fabricação dos IFA's, com questões relacionadas às condições de armazenamento, embalagem, produção, além dos cuidados de reutilização de solventes (Brasil, 2005c).

A Resolução RDC 17/2010 traz itens constantes do Relatório 37, como validação de limpeza, validação de processos produtivos e de metodologias analíticas, controle de mudanças e revisões periódicas da qualidades de produtos, comuns a todas as classes de medicamentos, incluindo os fitoterápicos, além de confirmar a cadência de ações da agência brasileira com o plano internacional (Brasil, 2010d).

Estando os medicamentos fitoterápicos em franco incentivo de sua produção e utilização, foram utilizados os documentos base da OMS, Relatório 37/2003 e principalmente o "*WHO guidelines on good manufacturing practices (GMP) for herbal medicines*", pu-

blicado em 2007 (OMS, 2007), na atualização das BPF brasileiras, sendo incorporados ao ordenamento jurídico nacional, por força de acordo Mercosul, publicado por meio da Resolução GMC 15/2009 (MERCOSUL, 2009), regulamentando as "Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos", no âmbito do MERCOSUL, do tema inspeção sanitária em medicamentos fitoterápicos. O fruto desta internalização é a Resolução RDC 17/2010.

As indústrias produtoras de medicamentos e insumos fitoterápicos precisam seguir critérios específicos. Tais critérios da norma advém da necessidade de cuidados especiais devido à natureza complexa dos fitoterápicos, uma vez que uma planta produz uma grande diversidade de compostos químicos que necessitam ser extraídos (Simões, 2002) e, ainda levando em consideração que, para a formulação de um fitoterápico, devem ser considerados, por exemplo, além da solubilidade e a estabilidade dos princípios ativos, outras características dos componentes secundários do extrato, como a higroscopicidade nas formas farmacêuticas sólidas, ou a baixa solubilidade nas formulações líquidas (Sharapin, 2000).

Os extratos são matérias-primas variáveis uma vez que sua composição fica à mercê da composição do solo, clima, fatores ambientais, sazonalidade, forma de cultivo, sensíveis à luz e calor. Mediante essas constatações, torna-se necessária a padronização dos mesmos, uma vez que são utilizados como matéria-prima na fabricação dos medicamentos fitoterápicos.

A problemática da fabricação dos medicamentos fitoterápicos, remete a requerimentos de produção e controle de qualidade distintos, que podem traduzir em necessidades até de estrutura física da planta fabril, também distintos das demais categorias de medicamentos entre outros requerimentos, como a qualidade da água, sistemas de garantia de qualidade, cuidados com padrões de referência das matérias-primas e produto acabado, bem como a correta aplicação das técnicas analíticas (Simões, 2002).

Mediante a identificação dos requisitos específicos, torna-se necessária a aplicação de instrumento de trabalho específico para o tema, como descrito na RDC 17/2010 (Brasil, 2010d), com o efetivo controle de toda a cadeia de produção, iniciando-se com a fabricação do insumo, cujas diretrizes são descritas pela já mencionada RDC 249/2005 (Brasil, 2005c), pelo mercado produtor, bem como a capacitação e desenvolvimento de recursos humanos e coopera-



ção técnico-científica entre os atores que executarão a ação de fiscalização, cabendo à ANVISA a coordenação dessas ações.

De acordo com o Regimento Interno da ANVISA, publicado pela Portaria 354/2006 (Brasil, 2006c), cabe à Gerência Geral de Inspeção de Medicamentos e Produtos (GGIMP) articular-se com os níveis estadual, distrital e municipal, na execução das atividades de inspeção sanitária para verificação do cumprimento das BPFC, sendo este processo de trabalho impactante na concessão do certificado de BPFC, instituído por meio da Resolução RDC 460/99 (Brasil, 1999b).

O CBPF tem validade de 2 anos, conforme determinado pela Lei 11.972/2009 e poderá ser suspenso caso a empresa deixe de cumprir com as BPFC e caso sejam identificados desvios de qualidade nas linhas de fabricação ou em produtos específicos, problemas esses que podem expor a população à risco (Brasil, 2009b).

Regulamentação de plantas como alimentos

Alimentos são produtos que podem ser consumidos *in natura* ou processados com o objetivo de fornecer energia e nutrientes para o desenvolvimento e manutenção do corpo humano, de acordo com o marco legal brasileiro (Brasil, 1969). No entanto, desde a década de 90, consumidores em todo mundo buscam por alimentos que possuam benefícios adicionais em virtude do crescente desenvolvimento de alimentos com diversos apelos de saúde. FOSHU (*Food for Specified Health Uses*) no Japão, nutracêuticos na Europa, e suplementos nos Estados Unidos da América são alguns exemplos de produtos que foram introduzidos rapidamente no mercado global. Nesse contexto, em 1999, a ANVISA publicou a Resolução 16/1999, que define como novos alimentos aqueles sem histórico de consumo no país, ou aqueles com substâncias adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos utilizados na dieta regular. Esses produtos somente podem ser comercializados se forem avaliados e aprovados pela ANVISA quanto à segurança de uso conforme as diretrizes definidas na Resolução 17/1999 (Brasil, 1999c,d).

Ademais, foram publicadas as Resoluções 18/1999 e 19/1999 que estabelecem as diretrizes básicas para comprovação da eficácia de alegação de propriedade funcional e ou de saúde para alimentos. Alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel me-

tabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. Enquanto a alegação de propriedade de saúde está relacionada com auxílio na redução do risco de doença ou condição relacionada à saúde. Ressalta¹⁷ se que a alegação de saúde não pode fazer menção à cura, prevenção ou tratamento de doenças. A eficácia da alegação de propriedade funcional e ou de saúde pode ser demonstrada para qualquer tipo de alimento, tanto para alimentos tradicionais, por exemplo, produto a base de proteína de soja, quanto para novos alimentos, como os fitoesteróis extraídos de óleos vegetais (Brasil, 1999e,f).

Apesar do grande número de estudos científicos sobre os efeitos relacionados ao consumo de extratos de plantas, a documentação científica submetida para avaliação da ANVISA não tem sido suficiente para demonstrar a eficácia de muitas alegações funcionais pleiteadas pelas indústrias de alimentos. Contudo, o modelo regulatório brasileiro de novos alimentos não exige que seja comprovada a eficácia da finalidade a que o novo alimento se destina, sendo necessária apenas a comprovação da segurança de uso. Nesse caso, nenhuma alegação é aprovada para o produto classificado como novo alimento e, de acordo com o Decreto-Lei 986/1969, a publicidade de alimentos não pode ser diferente dos dizeres aprovados para sua rotulagem (Brasil, 1969). Portanto, os alimentos que apresentam alegação funcional devem ser registrados na categoria de alimentos com alegação de propriedade funcional e ou de saúde.

Por outro lado, algumas substâncias farmacológicas estão presentes em plantas que são tradicionalmente consumidas como alimentos, tais como isoflavonas extraídas da soja, cafeína do guaraná e das sementes de cacau e antioxidantes das folhas de plantas utilizadas para o preparo de chás. Assim, produtos a base dessas plantas também podem ser comercializadas como novos alimentos nas formas de cápsula, tabletes ou comprimidos, podendo causar engano aos consumidores devido à similaridade desses produtos com medicamentos (Brasil, 1999c).

O mesmo problema pode ocorrer com plantas utilizadas para o preparo de chás. Em virtude da rica biodiversidade brasileira, um grande número de espécies vegetais é ofertado no mercado para infusão. No entanto, as partes e espécies vegetais que estão permitidas para o preparo de chá como alimento estão descritas na RDC 267/2005 e RDC 219/2006





(Brasil, 2005d; 2006d). Algumas dessas espécies, como a camomila (*Matricaria recutita*), erva-cidreira (*Melissa officinalis*), ervadoce (*Pimpinella anisium*), hortelã (*Mentha piperita*), são largamente conhecidas pelas suas propriedades farmacológicas e estão previstas também como drogas vegetais pela RDC 10/2010 (Brasil, 2010a). No entanto, se o produto for intencionalmente comercializado como alimento, o mesmo não pode veicular qualquer alegação terapêutica em sua rotulagem ou publicidade (Brasil, 1969; 2005d; 2010a).

Todo estabelecimento que exerce atividade na área de alimentos deve ser previamente licenciado pela autoridade sanitária competente estadual, distrital ou municipal, mediante a expedição de licença ou alvará (Brasil, 2000b). A ANVISA ainda não regulamentou “Autorização de Funcionamento” para empresas na área de alimentos e o documento equivalente é a licença ou alvará sanitário expedido pela autoridade sanitária competente estadual, distrital ou municipal.

Os procedimentos para licenciamento sanitário das indústrias de alimentos não são uniformes no Brasil, visto que os Órgãos de Vigilância Sanitária possuem diferentes formas de condução desse trabalho. No entanto, toda pessoa física ou jurídica que possua estabelecimento no qual sejam realizadas atividades na área de alimentos deve apresentar as condições higiênicosanitárias e de BPFC definidas para os estabelecimentos produtores ou que realizam o processo de industrialização de alimentos de acordo com a Portaria 326/1997 (Brasil, 1997a).

Os alimentos de competência da ANVISA estão divididos entre produtos com registro obrigatório prévio à comercialização e produtos isentos de registro conforme anexos II e I, respectivamente, da Resolução RDC 27/2010. Atualmente os produtos com obrigatoriedade de registro são: alimentos com alegações de propriedade funcional e ou de saúde; alimentos infantis; alimentos para nutrição enteral; embalagens com novas tecnologias (recicladas); novos alimentos e novos ingredientes; e substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde (Brasil, 2010e).

As demais categorias de alimentos são isentas de registro. Para estes, deve ser realizado o comunicado de início de fabricação/importação no órgão de vigilância sanitária da região onde está localizada a empresa, conforme procedimentos descritos nas Resoluções 22 e 23/2000 (Brasil, 2000a,b).

Regulação de plantas como cosméticos

A utilização de cosméticos é quase tão antiga quanto a civilização. Desde os tempos mais remotos, o homem se preocupou com o tratamento de seu corpo. Isso é demonstrado através do registro do uso de bálsamos, óleos fragrâncias, sabões e até mesmo pinturas corporais e faciais, que faziam parte dos hábitos dos povos mais antigos (Guirro e Guirro, 2002).

No Egito antigo, há relatos de rituais, como banhos e massagens, utilizando ervas aromáticas, óleos vegetais, resina, argilas, etc, que precediam a maquiagem do corpo e rosto. A preparação dos cosméticos, sempre perfumados, que originalmente era monopólio dos sacerdotes e estava ligada aos ritos mortuários, tornou-se tarefa de uma corporação leiga, que guardava ciosamente suas fórmulas e vendia muito caro seus inúmeros produtos (Jazdzewski et al., 2000).

Muitos extratos de origem vegetal, utilizados antigamente de forma tradicional, estão sendo redescobertos pela indústria cosmética (Elsner e Maibach, 2005).

Segundo a ANVISA, “produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado” (Brasil, 2005b).

Tais produtos encontram-se também divididos por categorias de grau de risco: Grau 1, que se caracterizam por possuírem propriedades básicas ou elementares, cuja comprovação não seja inicialmente necessária e não requeiram informações detalhadas quanto ao seu modo de usar e suas restrições de uso; e Grau 2, que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e/ou eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso. Essas categorias estão relacionadas nas “listas de tipos de produtos”, anexas a RDC 211/2005 (Brasil, 2005b). Os critérios para esta classificação foram definidos em função da probabilidade de ocorrência de efeitos não desejados devido ao uso inadequado do produto, sua formulação, finalidade de uso, áreas do corpo a que se destinam e cuidados a serem observados quando de sua utilização.



A RDC 16/2011, posteriormente alterada pela RDC 38/2011, apresenta a “Lista de substâncias que os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes não devem conter, exceto nas condições e com as restrições estabelecidas”, no entanto, não especifica a proibição de planta alguma (Brasil, 2011a,b).

Embora o uso de ativos vegetais seja largamente utilizado pela indústria cosmética, e a comprovação científica esteja referendada para diversas espécies, no Brasil, ainda não está definida uma legislação específica para produtos fitocosméticos, devendo estes estar adequados ao arcabouço legal vigente para os produtos cosméticos.

Conclusão

A legislação evoluiu desde a publicação das duas políticas (PNPIC e PNPMF) em 2006, porém, ainda há muito a fazer, considerando que as categorias regulamentadas ainda não são suficientes para englobar as diversas formas de produção de fitoterápicos, principalmente as de uso tradicional.

Também é necessário divulgar as modificações implementadas na legislação, considerando todas as categorias possíveis atualmente, as quais são de grande interesse dos produtores, fiscais e população. A disseminação de tal conhecimento auxilia na correta classificação do produto como droga vegetal notificada, fitoterápico, medicamento fitoterápico, alimento ou cosmético.

Verifica-se, ainda, que há necessidade de que os pesquisadores e a indústria brasileira entendam a legislação nacional para desenvolverem estudos voltados à comprovação da segurança e eficácia de espécies brasileiras, de modo que realmente se desenvolva a cadeia de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil.

Referências

BRASIL 1967 – Portaria no 22 de 30 de outubro de 1967. Estabelece normas para o emprego de preparações fitoterápicas, de 30 de outubro de 1967.

Brasil 1969 - Decreto-Lei no 986 de 21 de outubro de 1969. Sobre a defesa e a proteção da saúde individual ou coletiva, no tocante a alimentos, desde a sua obtenção até o seu consumo, de 21 de outubro de 1969.

Brasil 1973 - Lei no 5991 de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de dro-

gas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos e dá outras providências, de 19 de dezembro de 1973.

Brasil 1976 - Lei no 6360 de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências, de 24 de setembro de 1976.

Brasil, 1996 - Resolução no 196 de 10 de outubro de 1996. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, de 16 de outubro de 1996.

Brasil 1997a - Portaria nº 326 de 30 de julho de 1997. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênicas-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtor/industrializadores de alimentos, de 01 de agosto de 1997.

Brasil 1997b - Resolução no 251 de 07 de agosto de 1997. Aprova normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos, de 23 de setembro de 1997.

Brasil 1999a - Lei nº 9782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências, de 27 de janeiro de 1999.

Brasil 1999b - RDC no 460, de 14 de setembro de 1999. Institui e aprova o Certificado de Boas Práticas de Fabricação, de 11 de novembro de 1999.

Brasil 1999c - Resolução no 16 de 30 de março de 2009. Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes, republicada em 03 de dezembro de 1999.

Brasil 1999d - Resolução no 17 de 30 de março de 2009. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos, republicada em 03 de dezembro de 1999.

Brasil 1999e - Resolução no 18 de 30 de março de 2009. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, republicada em 03 de dezembro de 1999.





Brasil 1999f - Resolução no 19 de 30 de março de 2009. Regulamento técnico para procedimentos para registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem, republicada em 10 de dezembro de 1999.

Brasil 2000a - Resolução nº 22 de 15 de março de 2000. Dispõe sobre os procedimentos básicos de registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos importados pertinentes à área de alimentos, 16 de março de 2000.

Brasil 2000b - Resolução nº 23 de 15 de março de 2000. Dispõe sobre o manual de procedimentos básicos para registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos pertinentes à área de alimentos, 16 de março de 2000.

Brasil 2003 - RE no 899 de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”, de 02 de junho de 2003.

Brasil 2004a - RE no 90 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o “Guia para os estudos de toxicidade de medicamentos fitoterápicos”, de 18 de março de 2004.

Brasil 2004b - RE no 91 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o “Guia para realização de alterações, inclusões, notificações e cancelamento pós-registro de fitoterápicos”, de 18 de março de 2004.

Brasil 2005a - RE no 1 de 29 de julho de 2005. Autoriza *ad referendum*, a publicação do Guia para a realização de estudos de estabilidade, de 01 de agosto de 2005.

Brasil 2005b - RDC 211 de 14 de julho de 2005. Estabelece a definição e a classificação de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, conforme Anexos I e II desta Resolução, de 18 de julho de 2005.

Brasil 2005c - RDC no 249 de 13 de setembro de 2005. Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de produtos intermediários e de insumos farmacêuticos ativos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento técnico das Boas Práticas de Fabricação de produtos intermediários e insumos farmacêuticos ativos, de 26 de setembro de 2005.

Brasil 2005d - RDC no 267 de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico de espécies vegetais para o preparo de chás, de 22 de setembro de 2005.

Brasil 2006a - Portaria no 971 de 03 de maio de 2006. Aprova a Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS, de 04 de maio de 2006.

Brasil 2006b - Decreto no 5813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos e dá outras providências, de 23 de junho de 2006.

Brasil 2006c - Portaria nº 354 de 11 de agosto de 2006. Aprova e promulga o Regimento interno da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências, de 21 de agosto de 2006.

Brasil 2006d - RDC no 219 de 22 de dezembro de 2006. Aprovar a inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás constante da Tabela 1 do Anexo desta Resolução, de 26 de dezembro de 2006.

Brasil 2007 - RDC no 67 de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficiais para uso humano em farmácias, de 09 de outubro de 2007.

Brasil 2008a - RDC no 39 de 05 de junho de 2008. Aprova o regulamento para a realização de pesquisa clínica e dá outras providências, de 01 de agosto de 2008.

Brasil 2008b - IN no 05 de 11 dezembro 2008. Determina a publicação da “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado”, de 11 de dezembro de 2008.

Brasil 2009a - RDC no 04 de 10 de fevereiro de 2009. Dispõe sobre as normas de farmacovigilância para os detentores de registro de medicamentos de uso humano, de 11 de fevereiro de 2009.

Brasil 2009b - Lei no 11.972, de 6 de julho de 2009. Altera a Lei no 9.782, de 26 de janeiro de 1999, para dispor sobre as Certificações de Boas Práticas para os produtos sujeitos ao regime de vigilância sanitária, de 06 de julho de 2009.

Brasil 2009c - Consulta pública no 36 de 23 de junho de 2009. Proposta de Resolução-RDC que dispõe sobre boas práticas de fabricação de drogas vegetais sujeitas a notificação, de 23 de junho de 2009.

Brasil 2009d - RDC no 37 de 06 de julho de 2009. Trata da admissibilidade de Farmacopeias internacionais, de 8 de julho de 2009.



Brasil 2009e - RDC no 47 de 8 de setembro de 2009. Estabelece regras para elaboração, harmonização, atualização, publicação e disponibilização de bulas de medicamentos para pacientes e para profissionais de saúde, de 08 de setembro de 2009.

Brasil 2009f - RDC no 71 de 22 de setembro de 2009. Estabelece regras para a rotulagem de medicamentos, de 23 de dezembro de 2009.

Brasil 2009g - IN no 9 de 17 de agosto de 2009. Dispõe sobre a relação de produtos permitidos para dispensação e comercialização em farmácias e drogarias, de 18 de agosto de 2009.

Brasil 2010a - RDC no 10 de 10 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 10 de março de 2010.

Brasil 2010b - RDC no 14 de 30 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos, de 30 de março de 2010.

Brasil 2010c - IN no 05 de 31 de março de 2010. Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de medicamentos fitoterápicos, de 05 de abril de 2010.

Brasil 2010d - RDC no 17 de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos, de 10 de abril de 2010.

Brasil 2010e - Resolução RDC nº 27 de 5 de agosto de 2010. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário, de 6 de agosto de 2010.

Brasil 2010f - CP no 85 de 10 de agosto de 2010. Boas práticas de processamento e manipulação de plantas medicinais e fitoterápicos em Farmácias Vivas, de 12 de agosto de 2010.

Brasil 2010g - Portaria no 886 de 20 de abril 2010. Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), de 22 de abril de 2010.

Brasil 2011a - RDC no 16 de 12 de abril de 2011. Aprova o Regulamento técnico MERCOSUL sobre "lista de substâncias que os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes não devem conter exceto nas condições e com as restrições estabelecidas" e dá outras providências, de 25 de abril de 2011.

Brasil 2011b - RDC no 38 de 4 de agosto de 2011. Altera a RDC 16 de 12 de abril de 2011, de 5 de agosto de 2011.

Elsner, P. e Maibach, H.I. (eds.) 2005 - *Cosmeceuticals and active cosmetics: drugs versus cosmetics*. 2ª edição. Editora Taylor & Francis, Nova York.

Guirro, E. e Guirro, R. 2002 - *Fisioterapia dermatofuncional*. 3ª edição. Editora Manole, São Paulo.

Jazdzewski, C.; Rousso, F.; Vormese, F.; Mohrt, F.; Lannelongue, M.-P.; Chahine, N. 2000 - *Beleza do século*. 400 p. Cosaf Naify Edições, São Paulo.

MERCOSUL, 2009 - Resolução – GMC nº 15 de 02 de julho de 2009. Dispõe sobre Adotar como regulamento sobre "Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos" no âmbito do MERCOSUL o Relatório nº 37 da OMS (WHO Technical Report Series 908), publicado em 2003. Grupo Mercado Comum do Sul. Disponível em: <<http://www.mercosul.gov.br/normativa/resolucao/2009/mercosulgmc-res-nb0-15-09?searchterm=gmc+15%2F09>>. Acesso em: 14 nov. 2011.

OMS 2003 - WHO *Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirtyseventh Report*. World Health Organization WHO Technical Report Series, no. 908, 2003. Annex 4 - Good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles WHO, 2003. Organização Mundial da Saúde, Genebra.

OMS 2007 - WHO *Guidelines on good manufacturing practices (GMP) for herbal medicines*. 93 p. Organização Mundial da Saúde, Genebra.

Sharapin, N. 2000 - *Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos*. Publicação do convênio Andrés Bello e Programa Iberoamericano de Ciência e Tecnologia para o desenvolvimento. Rio de Janeiro.

Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A. e Petrovick, P.R. (org.) 2002 - *Farmacognosia - Da planta ao medicamento*. 4ª edição. Editora da UFRS e UFSC, Porto Alegre/Florianópolis.

Soares, E.I. e Mendonça, L.G. 2010 - Chá ou fitoterápico? Um resgate histórico de como a legislação sanitária encara a planta medicinal desde o Brasil colônia. *Perspectivas da Ciência e Tecnologia*, v.2, n.1/2, p. 20-31.

Recebido em Outubro de 2011. Aceito em Janeiro de 2012



***Cordia verbenacea* DC**

Boraginaceae

***Benjamin Gilbert; Rita Favoreto**

Laboratório de Química de Produtos Naturais, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos/FIOCRUZ. Rua Sizenando Nabuco, 100 - Manguinhos - CEP. 21041-250 - Rio de Janeiro, RJ – Brasil

***Correspondência:** e-mail: gilbert@far.fiocruz.br

Palavras chave:

Cordia verbenacea, erva-baleeira, planta medicinal, farmacologia, -humuleno, trans-cariofileno.

Keywords:

Cordia verbenacea. erva-baleeira, medicinal plant, pharmacology, -humulene, trans-caryophyllene.

Resumo

As partes aéreas de *Cordia verbenacea* são usadas tradicionalmente como um antiinflamatório. A base científica deste uso é descrita em termos de botânica, farmacognosia, farmacologia e toxicologia visando o desenvolvimento de um medicamento fitoterápico.

Abstract

The green parts of *Cordia verbenaceae* are traditionally used as an antiinflammatory drug. The scientific basis for this use are described in terms of botany, pharmacognosy, pharmacology and toxicology with a view to the development of a phytotherapy drug.

Definição da droga vegetal

Há três derivados da planta em uso medicinal: folhas, hastes e raízes. O óleo essencial das folhas é o preferido para produção industrial.

Sinonímia

Cordia salicina DC, *Cordia curassavica* Jacq. (veja abaixo), *Cordia cylindristachya* (Ruiz & Pav.) Roem.&Schult., *Lithocardium fresenii* Kuntze, *Lithocardium salicinum* Kuntze, *Lithocardium verbenaceum* Kuntze (Lorenzi e Matos, 2002).

Nomes comuns

Baleeira, erva-baleeira, camarinha, catinga-de-barão, cordia, erva-balieira, balieiracambará, erva-preta, maria-milagrosa, maria-preta, salicinia, catinga-preta, mariarezadeira, camaramoneira-do-brejo (Lorenzi e Matos, 2002).



Variedades e espécies correlatas

Cordia superba Cham., *Cordia rufescens* A. DC., *Cordia sellowiana* Cham., *Cordia myxa* L. (Barroso et al., 2009; Costa et al., 2008). *Cordia monosperma* Jacq. tem sido utilizada em substituição a *C. verbenacea*, em doenças da bexiga e como antiinflamatória (Souza et al., 2004).



História

Os indígenas utilizavam o extrato bruto das partes aéreas da *Cordia verbenacea* em processos antiinflamatórios por aplicação tópica.

Em 1819 foi identificada a espécie *Cordia curassavica*, algumas classificações consideram esta planta como sinonímia a *Cordia verbenacea*, mas ainda existem controvérsias porque há diferenças morfológicas entre elas (Carvalho, 2010).

O gênero *Cordia* é mencionado por Pio Corrêa (1952) por ser produtor de substâncias empregadas como medicamentos e por inúmeras espécies apresentarem usos medicinais. Existem várias publicações científicas na área de ensaios farmacológicos e toxicológicos para *Cordia verbenacea* DC. (Basile et al., 1989; Rapisarda et al., 1997; Sertié et al. 1988, 1990 e 1991). O desenvolvimento industrial, a partir desta planta foi desenvolvido o antiinflamatório de uso tópico Acheflan® pelo Laboratório Ache que causou um impacto importante no cenário da indústria farmacêutica brasileira (Queiroz et al., 2009).

Distribuição geográfica

O gênero *Cordia* é distribuído nas regiões tropical e subtropical do mundo, ocorrendo na Austrália, Nova Caledônia, América Central, Guiana e no Brasil (Rapisarda et al., 1997).

A espécie *Cordia verbenacea* é nativa do Brasil, encontrando-se do Ceará ao Rio Grande do Sul, preferencialmente na faixa de 500 a 1000m do litoral sempre acompanhando as áreas abertas da orla do Atlântico, onde é considerada planta daninha.

Cultivo e propagação

Propagada usualmente por sementes, pode sofrer alterações no teor do princípio ativo em função da variação genética existente (Lameira, et al., 1997) e provavelmente por outros fatores.

Descrição da planta

Arbusto muito ramificado, ereto e aromático, com hastes cobertas por casca fibrosa e com altura de 1,5-2,5m. Folhas simples, alternas, coriáceas, aromáticas, de 5-9cm de comprimento. As flores são pequenas, brancas e dispostas em inflorescências racemosas de 10-15cm de comprimento (Lorenzi e Matos, 2002). Os frutos quando maduros apresentam a coloração vermelha.

Ventrella e colaboradores (2008) desenvolveram um estudo morfológico e histoquímico dos tricomas glandulares das folhas de *Cordia verbenacea*, reconhecendo duas classes, globular e reniforme. Os tricomas globulares caracterizam-se pela secreção de um óleo essencial terpenóide, enquanto que nos reniformes ela contém principalmente compostos fenólicos, como os flavonóides.

Material vegetal usado

Folhas

Souza et al. (2009), trabalhando com material de Montes Claros - MG, mostraram que o melhor horário para coleta das folhas para extrair o óleo essencial da planta é das 09 às 12 h e por volta das 18:00 h, pois nesses horários obteve-se maior produção.

Componentes químicos principais

Nas análises fitoquímicas foram identificados monoterpênicos, sesquiterpenos, triterpenos, flavonóides e ácidos graxos.

trans-cariofileno

Uma análise das folhas frescas de *C. verbenacea* mostrou a presença de 0,23% (v/w) de óleo essencial, apresentando como maiores constituintes o α -pineno (29,7%), transcariofileno (25%), alo-aromadendreno (10%) e α -humuleno (4,6%). Também foram obser-



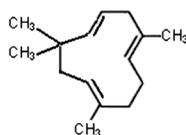


vados β -felandreno, citrionelol acetato, β -elemeno, β -gurjuneno, biciclogermacreno, δ -cadineno, espautenol e epoxicariofileno (Carvalho Jr. et al., 2004). Em outro trabalho Santos et al. (2006) encontraram no óleo essencial das folhas: monoterpênicos (47,3%) e sesquiterpênicos (43,9%), entre os quais α -pineno (20,5%), β -pineno (13,1%), (-)-*trans*-cariofileno (12,4%) e biciclogermacreno (13,8%) como compostos predominantes.

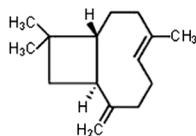
O α -humuleno é um importante constituinte do óleo da *Cordia verbenacea* e foi designado como principal marcador químico do mesmo. Vaz et al. (2006) avaliaram o teor mínimo 2,3% de α -humuleno encontrado em *Cordia verbenacea*, planta fresca, em quatro municípios paulistas. Além do *trans*-cariofileno foram identificados triterpênicos do grupo damarano como a cordialina A e B (Velde et al. 1982).

Flavonóides

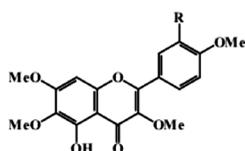
Artemetina foi identificada por Sertié et al. (1990) e por Bayeux et al. (2002) em *Cordia verbenacea*. Também há outros flavonóides presentes descritos por (Ameira et al. 2009).



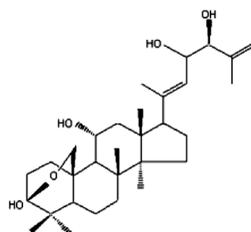
-humuleno



trans-cáobfileno



artemetina



cordialina

Ácidos e ésteres

O ácido rosmarínico foi encontrado no extrato hidroalcoólico das folhas da espécie descrita (Hage-Melim, 2009). O ácido caféico e ácidos graxos são encontrados no óleo das sementes (Seigler et al., 1970). Dos ácidos graxos 43% são de C-20, incomum entre tais óleos (Miller et al., 1968). O mesmo óleo contém o ácido gama-linolênico, com valores de 0,63 a 2,54% (Arrebola et al., 2004).

Notável também neste óleo é a presença de um lipídeo cianogenético, que é um diéster graxo de hidróxi-

metilacrolein-cianidrina em que as duas hidroxilas são esterificadas com ácidos graxos predominantemente C-20 (Seigler et al., 1970).

Usos medicinais

Usos apoiados em dados clínicos

Conhecida como erva-baleeira, esta espécie é utilizada na medicina tradicional como antiinflamatório, analgésico e antiúlcera (Ventrella et al., 2008).

Usos descritos em farmacopéias e sistemas tradicionais de medicina que têm apoio experimental

A *Cordia verbenacea* é administrada internamente na forma de chá para artrite, reumatismo e problemas de coluna (Silva Jr. et al., 1995). Lorenzi e Matos (2002) descrevem seu emprego em doenças osteoarticulares (artrite, gota, dores musculares e da coluna).

O Formulário Nacional Fitoterápico da Farmacopéia Brasileira (ANVISA, 2011) descreve o uso tópico das folhas de *Cordia verbenacea* como antiinflamatório em forma de infuso, como compressa ou em forma de pomada.

Usos descritos na medicina popular não apoiados em evidência experimental ou clínica

Diversos autores citam o uso tradicional em prostatites, nevralgias e contusões, como tônico e cicatrizante, inclusive em ferimentos provocados por peixes, talvez esta a origem do nome comum; o chá de suas folhas é empregado na cicatrização de feridas externas e úlceras (Lorenzi e Matos, 2002; Panizza, 1998; Ventrella et al., 2008). Akisue et al., (1983) mencionam o chá das folhas como hemostático e no tratamento de tumores.

Atividade antiinflamatória

Dois maneiras de administração são descritas - tópica e oral.

Foram investigados o efeito antiinflamatório e toxicidade dos extratos em vários modelos experimentais em ratos Wistar. No modelo do edema induzido por carragenina foi administrado por via oral o extrato hidroalcoólico a 70% das folhas de *Cordia verbenacea* nas dosagens de 0,59 a 2,98 mg/kg, o qual inibiu significativamente o edema. Em ensaios sobre o granuloma induzido por chamuscos de algodão onde foram utilizadas as dosagens diárias de 1,24mg/kg do extrato liofilizado a partir do primeiro dia de implantação até o sexto dia. O extrato inibiu a formação de granulomas nos animais tratados. Em testes de medição de aumento da permeabilidade vascular osanimais rece-





beram o extrato (1,24mg/kg) na dose de 0,5ml (25mg/kg), tendo como resultado redução da permeabilidade vascular e resposta para histamina. Foi observada baixa toxicidade do extrato (Sertié et al., 1988).

Na suposição que o principal componente anti-inflamatório das folhas de *C. verbenacea* fosse o flavonóide artemetina Sertié e colaboradores (1990) avaliaram o efeito anti-inflamatório e a toxicidade sub-aguda da artemetina. No ensaio do edema induzido por carragenina em ratos Wistar foram administradas as doses de 30,4; 45,6; 68,4; 102,6 e 153,9mg/kg⁻¹ de artemetina, via oral, onde os níveis de dosagem maiores inibiram o edema num grau comparável com o controle (fenilbutazona de cálcio a 50mg/kg). Um efeito semelhante foi observado no ensaio do granuloma induzido por chamuscos de algodão a uma dose diária de artemetina de 67,07mg/kg⁻¹. Os resultados dos experimentos com artemetina na dose de 153,9mg.kg⁻¹ e DL50 67,07mg/kg⁻¹ não demonstraram sinais farmacotóxicos.

Sertié e equipe (1991) avaliaram a inibição da inflamação pelo extrato etanólico a 70% das folhas de *C. verbenacea* em ratos. Em ensaio de edema induzido por nistatina nas patas os animais receberam a dose de 1,24mg/kg do extrato por via oral. Os resultados apontaram uma significativa redução em relação ao grupo controle. A ausência de inflamação gástrica distingue o extrato da maioria dos anti-inflamatórios sintéticos em uso. Passando à administração tópica foi examinado o efeito do extrato sobre edema induzido por óleo de croton em orelha de camundongos. O efeito de 0,09mg/orelha superou aquele do controle naproxeno um inibidor de ciclooxigenase. Outras observações da inibição de edema de pata com o extrato hidroalcoólico em ratos, tanto oral e tópico, confirmaram estes resultados (Sertié et al., 2005).

Resultados de alta discrepância são registrados por Bayeux et al. (2002) que avaliaram a atividade anti-edematogênica do extrato bruto da parte aérea de *C. curassavica*, espécie que os autores afirmam ser sinônimo de *C. verbenacea*, e de uma fração enriquecida de artemetina. No modelo de edema de pata induzido por carragenina em camundongos o extrato diclorometânico nas doses de 300 a 1000mg/kg, via oral, mostrou atividade anti-edematogênica reduzindo os edemas 42, 57 e 45%, enquanto a fração enriquecida por artemetina não mostrou atividade. Assim a presença de um outro componente com atividade anti-inflamatória na planta ficou evidenciada.

Além da artemetina, ativa segundo as observações do grupo de Sertié, Tigli et al. (2005) demonstraram a ação anti-inflamatória do fenilpropanóide e do ácido rosmarínico, e os pesquisadores do grupo de Calixto mostrou a importância do óleo essencial e especialmente o trans-cariofileno e humuleno. Trabalhos subsequentes concentraram atenção nestes sesquiterpenos (Fernandes et al. 2007; Medeiros et al, 2007; Passos et al. 2007).

Passos e colaboradores (2007) avaliaram a atividade anti-inflamatória e as propriedades antialérgicas do óleo essencial das folhas e de alguns constituintes ativos presentes no óleo. O tratamento sistêmico com o óleo essencial (300-600mg/kg, via oral em ratos e camundongos) reduziu o edema de pata e outros efeitos associados com a inflamação induzida por carragenina e, em camundongos inibiu a atividade de mieloperoxidase, bradiquinina, substância P – um neuropeptídeo associado com estresse psicológico, a histamina e o fator de ativação de plaquetas. Estudos com os componentes sesquiterpênicos, α -humuleno e trans-cariofileno (50mg/kg, via oral) demonstraram que, na inflamação induzida na pata por carragenina, o α -humuleno ocasionava uma redução da produção do fator de necrose de tumor TNF α , da interleucina IL-1 β , da prostaglandina PGE₂, do óxido nítrico sintase iNOS, da ciclooxigenase COX-2. O trans-cariofileno também exercia efeitos semelhantes embora não inibisse interleucina IL-1 β , e os dois sesquiterpenos se equivaleram a dexametasona usada como controle (Fernandes et al., 2007). Os sesquiterpenos não inibem a migração de neutrófilos para a cavidade pleural, induzido por ovalbumina, um efeito positivo com a dexametasona.

Extendendo os estudos destes dois sesquiterpenos na inflamação induzida por lipopolissacarídeo – LPS em pata do rato, foram observados a redução da migração de neutrófilos e da ativação de NF κ B. Entretanto somente -humuleno reduzia as citocinas pro-inflamatórias TNF e IL-1 β , o edema na pata e o aumento da expressão de receptores B1 induzidos por LPS e nenhum dos dois interferiram com as quinases das classes proteína mitógeno ativada - MAP, extracelular ativada - ERK, p38, e cJun Nterminal – JNK (Medeiros et al., 2007).

Continuando o estudo dos sesquiterpenos, Rogério et al. (2009) avaliaram a atividade anti-inflamatória em alergias respiratórias e o efeito de mediador da via de redução da inflamação. Nos experimentos foram utilizados camundongos BALB-C, os quais receberam





doses diárias de α -humuleno e trans-cariofileno na dosagem de $50\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (de cada dos terpenos), via oral ou α -humuleno ($1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ via aerosol) como dose preventiva por 22 dias. O α -humuleno se revelou como o produto eficaz neste modelo de alergia respiratória murina exibindo uma ação antiinflamatória marcada, nas vias respiratórias e reduzindo o recrutamento de eosinófilos. Observou-se a redução de mediadores da inflamação, da expressão de moléculas de adesão e da ativação de fatores de transcrição [INF γ -, IL-5, CCL11, (LT)B $_4$ e NF- κ B].

Atividade antiúlcero-gênica

Sertié et al. (1991) mostraram que o extrato etanólico 70% das folhas de *Cordia verbenacea*, liofilizado ao nível de $1,24\text{mg}/\text{kg}$ via oral em ratos, possuía um importante efeito de proteção à mucosa gástrica, reduzindo em 34% o número de lesões gástricas produzidas por estresse. Roldão e colaboradores (2008) mostraram que o extrato também protegia o estômago de camundongos contra lesões induzidas por etanol e etanol-ácido clorídrico. O grau de proteção alcançado era o dobro do registrado por Sertié e equipe quando as doses utilizadas foram de 200 a 800 vezes maiores (250 a $1000\text{mg}/\text{kg}$). Os autores atribuem o efeito como possivelmente associado à ação antioxidante do extrato.

Atividade analgésica

Em ensaio com o objetivo de avaliar a atividade analgésica do extrato etanólico a 70% das folhas de *C. verbenacea*, liofilizado, ratos foram tratados com a dosagem de $1,24$ ou $2,48\text{mg}/\text{kg}$ (peso corpo, via oral). Um discreto efeito analgésico foi observado com a dose de $2,48\text{mg}/\text{kg}$ (Sertié et al., 2005). Roldão et al. (2008) não acharam efeitos analgésicos significantes em camundongos na dosagem de $250\text{mg}/\text{kg}$ via oral nos modelos de placa quente (56°C), ácido acético ($0,6\%$ a $10\text{mg}/\text{kg}$ i.p.) e teste de retirada da cauda de água a 51°C .

Atividade antiofídica

Seguindo um uso tradicional de *C. verbenacea* contra veneno de cobra, foi examinado o efeito do extrato hidroalcoólico das folhas contra o veneno de jararacussu, *Bothrops jararacussu*. O extrato inibiu a ação hemorrágica do veneno bruto. O ácido rosmarínico, isolado do extrato metanólico das folhas também inibiu a hemorragia como também a citotoxicidade e a miotoxicidade do componente fosfolipásico do veneno BthTX-I, e em menor grau da outra fosfolipase BthTX-II, mas não teve ação sobre o efeito edematogênica destas fosfolipases. Simulações da interação de ácido

rosmarínico com as fosfolipases mostraram o encaixe da molécula do ácido nelas (Hage-Melim, 2009; Ticli et al. 2005).

Atividade antimicrobiana

Carvalho Jr. e equipe (2004) avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial das partes aéreas e folhas da espécie *Cordia verbenacea* frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas pelo método de difusão em ágar. Foram observadas atividades positivas contra bactérias Gram-positivas (duas espécies de *Staphylococcus*, uma delas *S. aureus* – ATCC 5051; duas de *Bacillus*) e contra fungos (oito espécies de *Candida*, uma delas *C. albicans*, várias cepas, e uma de *Cryptococcus*), mas contra apenas um gênero de Gram-negativas (*Protium mirabilis* e *P. vulgaris*), enquanto os demais gram-negativos (duas espécies de *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, e duas espécies de *Salmonella*) foram resistentes.

Atividade esquistossomicida

A atividade de uma fração etanólica de *C. verbenacea* (parte não especificada da planta) contra *Schistosoma mansoni* foi avaliada *in vitro* (vermes acasalados em meio de cultura) e *in vivo* (camundongos). Os resultados indicam atividade sobre os vermes adultos *in vitro* e possivelmente alguma ação *in vivo* (Frezza et al., 2010).

Farmacocinética

Visto que a atividade antiinflamatória de *C. verbenacea* foi associada principalmente com α -humuleno, Chaves et al. (2008) realizaram um estudo quantitativo avaliando a velocidade de absorção e excreção após administração oral, endovenosa e tópica. A absorção do humuleno é rápida alcançando a concentração máxima no plasma após 15min por via oral ($150\text{mg}/\text{kg}$) e após 30min quando administrado como óleo essencial total da planta ($1\text{g}/\text{kg}$ oral). O acúmulo nos órgãos como o fígado foi observado e demonstrou-se que ultrapassa a barreira sangue-cérebro. A aplicação tópica de fórmulas como o creme ou o spray também resultou em rápida absorção. Após 4h a redução da concentração de humuleno é significativa sendo em grande parte oxidado a vários epóxidos pelos citocromos. A biodisponibilidade por via oral é de 18%.

Toxicologia

In vivo

Na série de trabalhos sobre a farmacologia de *Cordia verbenacea* em animais de laboratório não foram ob-





servadas níveis significantes de toxicidade aguda nos extratos ou nas substâncias isoladas nem por via oral nem tópica (Sertié et al., 1988, 1990, 1991 e 2005; Bayeux et al., 2002; Basile et al., 1989; Carvalho et al., 2004; Oliveira et al., 1998; Passos et al., 2007; Roldão et al., 2008). Sertié et al. (2005) mostraram que o extrato hidroalcoólico liofilizado administrado por via oral a ratos fêmeas ou machos antes do acasalamento ou nas fêmeas durante gravidez não afetou o ciclo das fêmeas nem o desenvolvimento normal dos fetos, nem a estrutura óssea, maturação sexual ou fertilidade deles.

Nos estudos de fase I (Calixto e Vergnanini 2000-2001) foram comprovadas que as concentrações de 0,5% até 2,5% do óleo essencial de folhas de *Cordia verbenacea* por aplicação tópica são seguras e não apresentaram qualquer reação alérgica ou irritativa nos voluntários sadios que participaram do estudo.

Ensaio Clínico

Em estudos clínicos de fase I realizados por (Calixto et al. 2000 e 2001), fase II e fase III (Refsio et al., 2005) que demonstraram ação antiinflamatória e excelente tolerabilidade da *Cordia verbenacea* na forma de creme contendo 0,5% de óleo essencial padronizado em 2,3-2,9% de α -humuleno, conforme citação na Enciclopédia Médica descrita nas referências bibliográficas.

Nos estudos de fase II para avaliar o uso da *Cordia verbenacea* de aplicação tópica no tratamento da dor miofascial e da tendinite crônica, realizado com 81 pacientes, observou-se que mais de 60% dos casos tratados com *Cordia* apresentaram eficácia considerada ótima ou muito boa, enquanto o mesmo foi observado em apenas 40% dos casos tratados com diclofenaco dietilamônio (emulgel). Já nos estudos de fase III com 268 pacientes, os resultados indicaram que o creme de *Cordia verbenacea* foi eficaz no tratamento de tendinite e dor miofascial quando aplicado no local da lesão a cada 8 horas. A avaliação comparativa do creme de *Cordia verbenacea* 0,5% com diclofenaco dietilamônio 1%, sob forma de emulgel, demonstrou que *Cordia* apresentava eficácia semelhante ao do diclofenaco para os casos de tendinite crônica, dor miofascial e mesmo quando consideradas as afecções associadas (Refsio et al., 2005).

Em estudo clínico fase III, aleatório, duplo-cego e comparativo, com os mesmos produtos nas mesmas condições (aplicação tópica de 8/8 horas durante dez dias, em pacientes portadores de contusões e lesões

traumáticas). Os pacientes foram divididos em 2 grupos de 55 e 59 pacientes recebendo respectivamente o creme de *Cordia* e diclofenaco-dietilamônio (emulgel). A eficácia do tratamento com o creme de *Cordia verbenacea* (0,5%) em traumas foi demonstrada, pois 72,7% dos pacientes apresentaram uma melhora acentuada após os 10 dias de tratamento e 18,2% tiveram melhora moderada, apenas 7,3% tiveram melhora discreta e, em apenas 1,8% dos casos o medicamento foi ineficaz, pois o quadro permaneceu inalterado. O tratamento com o diclofenaco dietilamônio (emulgel 1%), também demonstrou a eficácia do mesmo, porém, em menor proporção quando comparado a *Cordia verbenacea* (0,5%), sendo que 62,7% dos casos a melhora foi acentuada, 18,6% a melhora foi moderada, 10,2% o quadro clínico apresentou uma discreta melhora e em 8,5% o quadro permaneceu inalterado. O estudo detectou apenas um caso de evento adverso (prurido no local de aplicação), possivelmente relacionado ao medicamento. Ambos os tratamentos apresentaram excelente segurança, não havendo diferença estatística significativa de tolerabilidade entre os dois medicamentos (Brandão et al, 2006).

Efeitos adversos

Em geral não foram encontrados relatos de efeitos adversos com exceção do caso isolado acima citado.

Precauções

Gerais

O tratamento deve ser suspenso em caso de alergia (ANVISA, 2011).

Genotoxicidade

Não foram encontrados relatos de efeitos adversos.

Carcinogenese, mutagenese

Não foram encontrados relatos de efeitos.

Efeitos sobre a fertilidade

Conforme relatado acima, o extrato etanólico a 70%, administrado por 45 dias consecutivos, via oral, em dosagem de até 7,44mg/kg não apresentou qualquer sinal de toxicidade para o feto (Sertié et al., 2005).

Formas de dosagem e Posologia

Entre aplicações para o alívio de reumatismo, artrite reumatóide, gota, dores musculares e da coluna, prostatites, nevralgias e contusões, as seguintes formas de apresentação são recomendadas:





Infusão: o Formulário (ANVISA, 2011) recomenda preparar a infusão com 3g de folhas secas em 150mL de água fervente. Panizza (1998) indica a utilização das folhas frescas ou secas à sombra e recomenda uma xícara de chá 1-3 vezes ao dia.

Tintura: para aplicação tópica Panizza (1998) recomenda 3 colheres de folhas em uma xícara de álcool por 5 dias em maceração. Depois de coada a tintura é aplicada de 4 em 4 horas no local afetado. O uso interno da tintura é indicada para uso em adultos na dose de 10ml, 3 vezes ao dia, diluída em 1/2 copo d'água e para as crianças 5 ml, 3 vezes ao dia, diluído em 1/2 copo d'água (Panizza, 1998; Secretaria Municipal de Saúde, Memento terapêutico, RJ, 2002).

Em compressas pode também ser usada empregando folhas previamente aquecidas por exposição a vapor d'água em um pano e aplicada durante a noite (Panizza, 1998).

O Formulário (ANVISA, 2011) descreve uma pomada feita com 10mL da tintura feita com álcool a 70% e 100g de base de lanolina e vaselina. Baseado em dados clínicos acima esta pomada teria que ter um teor de humuleno entre 2,3 e 2,9%.

Referências bibliográficas

Akisue, M.K.; Oliveira, F.; Moraes, M.S.; Akisue, G.; Mancini, B. 1983. Caracterização farmacognóstica da droga e da tintura de *Cordia verbenaceae* Al. DC Boraginaceae. Revista de Ciências Farmacêuticas, v. 5, p. 69-82.

Ameira, O.A.; Pinto, J.E.B.P.; Cardoso, M.G.; Arrigoni-Blank, M.F. 2009. Estabelecimento de cultura de células em suspensão e identificação de flavonóides em *Cordia verbenacea* DC. Revista Brasileira Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 11(1), p. 7-11.

ANVISA. 2011. Formulário de Fitoterápicos, Farmacopéia Brasileira, 1ª. Ed., p. 28 e 110, Brasília – DF.

Arrebola, M.R.B.; Peterlin, M.F.; Bastos, D.H.M.; Rodrigues, R.F.de O.; Carvalho, P.de O. 2004. Estudo dos componentes lipídicos das sementes de três espécies do gênero *Cordia* (Boraginaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 14(1), p. 57-65.

Basile, A.C.; Sertie, J.A.A.; Oshiro, T.; Caly, K.D.V.; Panizza, S. 1989. Topical anti-inflammatory activity and toxicity of *Cordia verbenacea*. Fitoterapia, v. 60, p. 260-263.

Bayeux, M.C.; Fernandes, A.T.; Foflio, M.A. e Carvalho, J.E. 2002. Evaluation of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica* DC. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 35, p. 1229-1232.

Barroso, I. C. E.; Oliveira, F. 2009. Caracterização farmacognóstica dos frutos de *Cordia sellowiana* Cham. e de *Cordia myxa* L. (Boraginaceae Jussieu). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 19(2A), p. 458-470.

Brandão, D.C.; Brandão, G.C.; Miranda, J.B.; Faria, P.A.; Jesus-Garcia, R. 2006. Estudo fase III, duplo-cego, aleatório, comparativo para avaliar a eficácia e tolerabilidade da *Cordia verbenacea* e do diclofenaco dietilamônio, em pacientes portadores de contusões, entorses, traumas e lesões musculares, com início inferior a 24h. Revista Brasileira de Medicina, v. 63(8), p. 408-415.

Calixto J.B.; Vergnanini, A. 2000 – 2001. Estudos pré-clínicos em roedores e cães e clínicos de fase I - Arquivo Central do Laboratório Aché.

Carvalho Jr., P.M.; Rodrigues, R.F.O.; Sawaya, A.C.H.F.; Marques, M.O.M & Shimizu, M.T. 2004. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC. Journal of Ethnopharmacology, v. 95, p. 297-301.

Carvalho, S.S. 2010. Análise fotoacústica da cinética de penetração do fármaco *Cordia verbenacea* DC. (Acheflan) na pele humana (massagem versus fonoforese). Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade Vale do Paraíba.

Chaves, J.S.; Leal, P.C.; Pianowsky, L.; Calixto, J.B. 2008. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of the Sesquiterpene α -humulene in mice. Planta Médica, v. 74, p. 1678-1683.

Costa, J. F. O.; David, J.P.L.; David, J.M.; Giulietti, A.M.; Queiroz, L.P.; Santos, R.R.; Soares, M.B.P. 2008. Immunomodulatory activity of extracts from *Cordia superba* Cham. and *Cordia rufescens* A. DC. (Boraginaceae), plant species native from Brazilian semi-arid. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18(1), p. 11-15.

Enciclopédia Médica citada por Refsio, C. 2005. Revista Brasileira de Medicina, v. 62, p. 40-45.



<http://www.encyclopediamedica.cl/movil/index.php?sec=6&list=1&item=5444>, acesso em 04/01/2012.

Fernandes, E. S.; Passos, G. F.; Medeiros, R.; Cunha, F. M.; Ferreira, J.; Campos, M.M.; Pianowski, L. F.; Calixto, J.B. 2007. Anti-inflammatory effects of compounds α -humulene and (-)-*trans*-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. European Journal of Pharmacology, v. 569, p. 228-236.

Frezza, T.F.; Oliveira, A.S.S.; Simões, L.F.; Rehder, V.L.G.; Allegretti, S.M. 2010. Ação da fração etanólica de *Cordia verbenacea* na sobrevivência de *Schistosoma mansoni*. Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal/Parasitologia, UNICAMP, Revista Saúde, v. 4 (Esp.1), p. 124.

Hage-Melim, L.I.S. 2009. Estudo das interações entre fosfolipases A2 e o inibidor vegetal ácido rosmarínico de *Cordia verbenacea* (Boraginaceae) por cocristalização e modelagem molecular. Tese de doutorado em Toxicologia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Lameira, O.A.; Pinto, J.E.B.P.; Arrigoni-Blank, M.F.; Cardoso, M.G. 1997. Efeito de compostos fenólicos, carvão ativado e do meio físico no desenvolvimento de segmento nodal de *Cordia verbenacea* L. Ciência Rural, Santa Maria, v. 27(2), p. 189-192.

Lorenzi, H. e Matos, F.J.A. 2002. *Plantas Medicinais no Brasil*, 2ª edição, Plantarum, Odessa SP.

Medeiros, R.; Passos, G.F.; Vitor C.E.; Koepp, J.; Mazzuco, T.L.; Pianowski, L.F.; Campos, M.M.; Calixto, J.B. 2007. Effect of two active compounds obtained from the essential oil of *Cordia verbenacea* on the acute inflammatory responses elicited by LPS in the rat paw. British Journal of Pharmacology, v. 151(5), p. 618-27.

Memento terapêutico. 2002. *Programa de Fitoterapia*, Secretaria Municipal de Saúde RJ, p. 16.

Miller, R.W.; Earle, F.R.; Wolff, I.A.; Barclay, A.S. 1968. Search for new seed oils. XV. Oils of Boraginaceae. Lipids, v. 3(1), p. 43-45.

Oliveira, A.A.M.; Abdalla, D.S.P.; Sertié, J.A.A. 1998. Hematological evaluation of the ethanol extract of *Cordia verbenacea* leaves. Fitoterapia, v. 65, p. 387-390.

Panizz, S. 1998. *Plantas que Curam (Cheiro de Mato)*, 3ª. Ed., IBRASA, São Paulo, 280pp.

Passos, G.F.; Fernandes, E.S.; Da Cunha, F.M.; Ferreira, J.; Pianowski, L.F.; Campos, M.M.; Calixto, J.B. 2007. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. Journal of Ethnopharmacology, v. 110(2), p. 323-333.

Rapisarda, A.; Iauk, L.; Ragusa, S. 1997. Micromorphological Study on Leaves of Some *Cordia* (Boraginaceae) species used in traditional medicine. Economic Botany, v. 51(4), p. 385-391.

Refsio, C.; Brandão, D.C.; Brandão, G.C.; Korukian, M.; Garcia, R.J.; Bonfigliori, R.; Nery, C.A.S.; Gamba, R. 2005. Avaliação clínica da eficácia e segurança do uso de extrato padronizado da *Cordia verbenacea* em pacientes portadores de tendinite e dor miofascial / Clinical assessment of efficacy and safety from *Cordia verbenacea* standartized extract in tendinitis and chronicl miofacial pain patients. Revista Brasileira de Medicina, v. 62(1/2), p. 40-46.

Roldão, E.F.; Witacenis, A.; Seito, L.N.; Hiruma-Lima, C.A.; Di Stasi, L.C. 2008. Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). Journal of Ethnopharmacology, v. 119, p. 94-98.

Rogério, A.P.; Andrade, E.L.; Leite, D.F.P.; Figueiredo, C.; Calixto, J.B. 2009. Themed section: mediators and receptors in the resolution of inflammation. Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene α -humuleno in experimental airways allergic inflammation. British Journal of Pharmacology, v. 158, p. 1074-1087.

Queiroz, E.F.; Faro, R.R.A.; Melo, C.A. 2009. A biodiversidade brasileira como fonte de novas drogas: passado, presente e futuro. RDF – Revista de Fitoterapia, v. 9(1), p. 31-35.

Santos, R.P.; Nunes, E.P.; Nascimento, R.F.; Santiago, G.M.P.; Menezes, G.H.A.; Silveira, E.R.; Pessoa, O.D.L. 2006. Chemical Composition and Larvicidal Activity of the Essential Oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. Journal Brazilian Chemistry Society, v. 17(5), p. 1027-1030.

Seigler, D.S.; Mikolajczak, K.L.; Smith Jr., C.R.; Wolff, I.A. 1970. Structure and Reactions of a cyanogenetic lipid from *Cordia verbenacea* DC. Seed oil. Chemistry and Physics of Lipids, v. 4, p. 147-161.





- Sertié, J.A.A.; Basile, A.C.; Panizza, S.; Matida, A.K.; Zelnik, R. 1988. Pharmacological Assay of *Cordia verbenacea*; Part 1. Anti-Inflammatory Activity and Toxicity of the Crude Extract of the Leaves. *Planta Medica*, v. 54, p. 7-10.
- Sertié, J.A.A.; Basile, A.C.; Panizza, S.; Matida, A.K.; Zelnik, R. 1990. Antiinflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetin. *Planta Medica*, v. 56(11), p. 36-40.
- Sertié, J.A.A.; Basile, A.C.; Panizza, S.; Oshiro, T.T.; Azzolini, C.P.; Penna, S.C. 1991. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* III: oral and topical anti-inflammatory activity and gastrototoxicity of a crude leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 31, p. 239-247.
- Sertié, J.A.A.; Woisky, R.G.; Wiesel, G.; Rodrigues, M. 2005. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. *Phytomedicine*, v.12(5), p. 338-344.
- Silva Jr., A. A.; Vizzoto, V.J.; Giorgi, E. 1995. *Plantas medicinais, caracterização e cultivo*. Boletim Técnico, 68. Florianópolis, EPAGRI, 71p.
- Souza, G.C.; Haas, A.P.S.; Poser, G.L.; Schapoval, E.E.S.; Elisabetsky, E. 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 90, p. 135-143.
- Souza, M.F.; Nery, P.S.; Manganotti, S.A.; Matos, C.C.; Martins, E.R. 2009. Conteúdo de óleo essencial de *Cordia verbenacea* em diferentes horários de coleta. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 4(2), p. 2672-2675. Resumos VI CBA e II CLAA.
- Ticli, F.K. ; Hage, L.I.; Cambraia, R.S.; Pereira, P.S.; Magro, A.J.; Fontes, M.R.; Stabeli, R.G.; Giglio, J.R.; França, S.C.; Soares, A.M.; Sampaio, S.V. 2005. Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A2 inhibitor from *Cordia verbenacea* (Boraginaceae): anriserum action potentiation and molecular interaction. *Toxicon*, v. 46(3), p. 318-327.
- Vaz, A. P. A.; Scaranari, C.; Batista, L.A.R.; Figueira, G.M.; Sartoratto, A.; Magalhães, P. M. 2006. Biomassa e composição química de genótipos melhorados de espécies medicinais cultivadas em quatro municípios paulistas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41(5), p. 869-872.
- Velde, V.V.; Lavie, D.; Zelnik, R.; Matida, A.K. e Panizza, S. 1982. Cordialin A and B, two new triterpenes from *Cordia verbenacea* DC J., *Chemistry Society, Perkin Trans.*, v. 1, p. 2697-2700.
- Ventrella, M.C.; Marinho, C.R. 2008. Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) leaves. *Revista Brasileira Botânica*, v. 31(3), p. 457-467.



Plantas Medicinais Cultivadas e Utilizadas na Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV), Porteirinha, MG

Medicinal Plants Used in Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida Association (ACEBEV), Porteirinha-MG

¹Cindy V. Leite e ^{2*} Gisele L. Oliveira

¹Faculdade de Saúde Ibituruna, Ciências Biológicas, Av. Nice, 99, Ibituruna, Montes Claros, 39400-089, MG, Brasil

²Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, Centro de Ciências da Saúde, Bloco K, 2º andar, Sala 032, 21941-590, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro – RJ, Brasil.

*Correspondência: e-mail: gibibiologia2@hotmail.com

Palavras chave:

planta medicinal, etnobotânica, Asteraceae, Lamiaceae, Cerrado.

Keywords:

Medicinal Plants, ethnobotany, Asteraceae, Lamiaceae, Brazilian Cerrado.

Resumo

O conhecimento sobre uso tradicional de plantas medicinais pode auxiliar na descoberta de princípios ativos com alguma ação farmacológica. O objetivo deste trabalho foi levantar informações sobre as plantas cultivadas e utilizadas para fins medicinais na Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV), no município de Porteirinha, MG. Realizou-se uma entrevista semi-estruturada e diálogos informais com a Irmã Mônica, freira fundadora e responsável pelo local, para obtenção das informações. Este estudo mostrou que são cultivadas na ACEBEV 74 espécies medicinais, distribuídas em 33 famílias, destacando-se a Asteraceae (15 spp.) e Lamiaceae (15 spp.). As plantas medicinais são manipuladas de forma artesanal e comercializadas como medicamento natural. Os usos mais descritos estão relacionados às doenças infecciosas, da pele e tecido sub-cutâneo, transtornos do sistema nervoso e transtornos do sistema gastrointestinal. *Aloe vera* (2,0), *Ricinus communis* (2,0) e *Kalanchoe brasiliensis* (2,0) apresentaram os maiores valores de Importância Relativa. Os resultados do estudo mostram a importância da ACEBEV para a população local, tanto como apoio à saúde quanto para valorização e preservação dos recursos na região.

Abstract

The study about traditional use of medicinal plants can help in the discovery of active principles with some pharmacological activity. The aim of this study was gather information about the plants grown and used for medicinal purposes at Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV), locally known as ACEBEV, in the municipality of Porteirinha, MG. It was used a semi-structured interviews and informal dialogue with the Religious Mônica, known as Sister Mônica, founder and responsible for ACEBEV in order to obtain the information. This study registered 74 medicinal species, distributed in 33 families, standing out Asteraceae (15 spp.) and Lamiaceae (15 spp.). Medicinal plants are manipulated in a handmade product and marketed as natural. The most common uses are related to infectious diseases, diseases of the skin and sub-cutaneous tissue, nervous system disorders and disorders of the gastrointestinal system. *Aloe vera* (2.0), *Ricinus communis* (2.0) and *Kalanchoe brasiliensis* (2.0) showed higher relative importance. The results show the importance of ACEBEV for the local population, both as support for health and for recovery and preservation of resources in the region.



Introdução

A constante elevação de preços dos medicamentos industrializados e a ocorrência de efeitos colaterais provocados pelos mesmos, a resistência bacteriana a antibióticos, a divulgação das vantagens da fitoterapia e a busca por uma forma de vida mais natural somados com a desarticulação de políticas públicas relativas ao atendimento das necessidades básicas de saúde das populações periféricas, são responsáveis pelo aumento do consumo de espécies medicinais pelas populações (Azevedo e Silva, 2006; Martins et al., 2000).

Mas apesar de o uso terapêutico ser largamente difundido, somente há poucos anos os estudos de identificação de espécies medicinais tem sido realizados em Minas Gerais e na região do Cerrado e o conhecimento tradicional de grupos sociais que fazem uso das plantas é uma importante fonte para a descoberta de princípios ativos vegetais capazes de exercer uma ação farmacológica no combate a várias enfermidades (Vieira e Martins, 2000).

No Norte de Minas Gerais ainda são raros os estudos que foquem o conhecimento popular e, por isso, devem ser estimulados, pois trata-se de uma região carente, do ponto de vista sócio-econômico, e castigada pela seca, levando muitas comunidades ao uso tradicional de plantas para o tratamento de doenças. Além disso, o município de Porteirinha, localizado nesta região, apresenta como bioma um ecótono entre Cerrado e Caatinga, possuindo uma grande biodiversidade pouco estudada.

A Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV), localizada neste município, foi fundada em 1998 pela freira Porcina Amônica de Barros, conhecida como Irmã Mônica. Esta iniciou um trabalho de assistência aos doentes e crianças desnutridas, com remédios caseiros, segurança alimentar e orientação às famílias, tanto urbana quanto rural, devido às necessidades locais.

Muitas enfermidades eram conseqüências da má alimentação e do uso de águas poluídas, assim, iniciou-se um trabalho de conscientização e orientação na produção de gêneros alimentícios com agricultores familiares, através de oficinas na zona rural. Com o envolvimento da população, após seis anos de trabalho, fundou-se a associação com o apoio da Prefeitura e a criação de uma "Farmácia Viva", cujo objetivo é cuidar da saúde utilizando espécies vegetais.

Segundo Nogueira (2007), o conhecimento popular nasce do contato direto ao longo do tempo, utilizando uma linguagem particular, individualizada, local ou regionalizada, ampla e rica na diversidade peculiar e, diante das informações acima, o objetivo desse estudo foi levantar informações sobre as espécies cultivadas e utilizadas para fins medicinais na Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV).

Material e Métodos

O estudo foi realizado na Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV), localizada no município de Porteirinha, Norte de Minas Gerais, a 582 Km de Belo Horizonte, onde inicialmente foram realizadas visitas destinadas ao entrosamento e ao consentimento formal para a realização do estudo. Para obtenção de informações sobre as plantas medicinais cultivadas e utilizadas na Associação, suas indicações terapêuticas, seus usos e preparos, realizaram-se entrevistas com a irmã Mônica, utilizando um questionário semi-estruturado e diálogos informais, de junho a outubro de 2008.

As espécies indicadas como medicinais foram coletadas, com o auxílio da informante, e levadas ao Laboratório de Botânica da Faculdade de Saúde Ibituruna, Montes Claros (MG), para identificação taxonômica.

As indicações terapêuticas das plantas medicinais da ACEBEV foram enquadradas nos seguintes Sistemas Corporais (Almeida e Albuquerque, 2002): doenças infecciosas (DI); doenças parasitárias (DP); doenças das glândulas endócrinas, da nutrição e do metabolismo (DGNM); doenças do sangue e dos órgãos hematopoiéticos (DS); doenças do sistema osteomuscular e tecido conjuntivo (DSO); doenças da pele e tecido celular subcutâneo (DPTS); transtornos do sistema visual (TSV); transtornos do sistema nervoso (TSN); transtornos do sistema circulatório (TSC); transtornos do sistema respiratório (TSR); transtornos do sistema gastrointestinal (TSGI); transtornos do sistema geniturinário (TSGU); afecções não definidas ou dores não definidas (AND); doenças sexualmente transmissíveis (DST).

Calculou-se a importância relativa (IR) das espécies citadas com base na proposta de Bennett e Prace (2000), na qual o valor "2" é o máximo que pode ser obtido por uma determinada espécie. As espécies que obtiverem os valores mais altos são consideradas as mais versáteis e indicadas para um maior número de sistemas corporais. O uso desta técnica permite identificar a espécie mais importante, quando ela é mais





versátil (Silva e Albuquerque, 2004). A IR é calculada utilizando a fórmula $IR = NSC + NP$. IR é a importância relativa, NSC o número de sistemas corporais obtido pela razão entre o número de sistemas corporais tratados por uma determinada espécie (NSCE) e o número total de sistemas corporais tratados pela espécie mais versátil (NSCEV). O NP é a razão entre o número de propriedades atribuídas a uma determinada espécie (NPE) e o número total de propriedades atribuídas à espécie mais versátil (NPEV).

Resultados e Discussão

Cultivo

As plantas medicinais da ACEBEV são cultivadas em canteiros em um quintal, onde está situada a sede da associação. Não é utilizado nenhum adubo químico, somente adubo orgânico e para o combate às pragas e doenças que agridem as plantas utiliza-se o método da homeopatia.

A forma de cultivo de plantas medicinais e aromáticas é muito importante, pois está relacionada com a qualidade do material vegetal. As plantas cultivadas estão sujeitas às condições ambientais desfavoráveis, aos parasitas animais e vegetais e aos predadores (Carvalho et al., 2005). A homeopatia é uma alternativa compatível com a visão orgânica, holística, sistêmica e ecológica, que utiliza preparados para estimular as defesas naturais dos organismos (Andrade, Casali e De Vita, 2001). Esta técnica foi oficializada na agropecuária orgânica, pelo Ministério da Agricultura, em 1999 (Rossi, 2008).

No local, a água da chuva é aproveitada através de calhas que captam e abastecem uma caixa de 200 mil litros e a água é utilizada para lavar panelas, copos e materiais utilizados na elaboração dos medicamentos é reaproveitada, passando por uma canaleta, duas caixas com areia e brita além de duas caixas com carvão vegetal e é enviada para uma cisterna onde é utilizada para irrigação superficial.

Plantas medicinais da ACEBEV

A entrevista semi-estruturada realizada com a Irmã Mônica revelou uma relação de 74 espécies de uso medicinal cultivadas na ACEBEV, distribuídas em 33 famílias botânicas, destacando-se as famílias Asteraceae (15 spp.) e Lamiaceae (15 spp.) (Tabela 1). As

duas famílias em destaque possuem distribuição cosmopolita, sendo bem representadas no Brasil, com 300 gêneros e 2000 espécies para a família Asteraceae e 26 gêneros e cerca de 350 espécies para a família Lamiaceae (Souza e Lorenzi, 2005).

O cálculo da importância relativa (Tabela 1) mostrou que, por serem indicadas para tratamento de doenças que atacam variados sistemas corporais, *Aloe vera* (IR = 2,00), *Ricinus communis* (IR = 2,00) e *Kalanchoe brasiliensis* (IR = 2,00) podem ser consideradas as mais versáteis dentre as cultivadas na ACEBEV. As espécies indicadas pela irmã Mônica como, aparentemente, as mais importantes foram: babosa, mulungu, fáfia, calêndula, hortelã, saião, capim gordura, guaco, capeba e tansagem, evidenciando, desta forma, um conhecimento profundo das espécies utilizadas, pois pelo menos duas (babosa e saião) realmente apresentaram os maiores valores de importância relativa.

Sistemas corporais

São diversas as enfermidades tratadas com as ervas da ACEBEV (Tabela 1), enquadrando-se em 14 sistemas corporais (Almeida e Albuquerque, 2002). Os usos medicinais mais descritos estão relacionados a Doenças Infecciosas (35 spp.), Doenças da Pele e Tecido Celular Subcutâneo (33 spp.), Transtornos do Sistema Gastrointestinal (31 spp.) e Transtornos do Sistema Nervoso (30 spp.).

Pesquisas realizadas em outras partes do mundo e no Brasil revelam que os sistemas corporais mais tratados com a utilização de plantas medicinais são o Respiratório e o Gastrointestinal (Amorozo, 2002; Begossi e Silvano, 2002; Bueno et al., 2005; Medeiros et al., 2004). Este estudo apresentou uma diferença nesse padrão de uso de espécies medicinais, que pode ser decorrente do estilo de vida moderna, como a grande quantidade de indicações para Transtornos do Sistema Nervoso e Doenças da Pele. Para a Irmã, as doenças são derivadas de três problemas principais: alergias, derivações sifilíticas e gonorréia, seguindo o princípio da teoria da sarna suprimida. Segundo ela, “os remédios que curam não estão na farmácia, a Caatinga e o Cerrado são uma verdadeira farmácia natural sendo a relação homem-natureza profunda e intensa”.



**Tabela 1 – Espécies medicinais cultivadas e utilizadas na Associação Casa de Ervas Barranco da Esperança e Vida (ACEBEV), Porteirinha – MG, Brasil.**

Espécie	Nome Vernacular	Indicação Terapêutica	IR	SC	Partes Usadas
Alismataceae					
<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. & Schltl.) Micheli.	Chapéu de Couro	Diurético, antireumático, ácido úrico, problemas da bexiga.	0,83	TSGU, DI, DSO, DGNM	Folha
Amaranthaceae					
<i>Alternanthera sp.</i>	Terramicina	Cicatrizante, antiinflamatório garganta, ant-térmico.	0,63	DPTS, DI, TSN	Folha e flor
<i>Celosia cristata</i> L.	Veludo	Vermífugo, antitus-sígeno, fortalecedor, antidepressivo, doenças pulmonares, bronquite.	0,88	DP, TSR, TSN	Semente, flor, raiz e folha.
<i>Pfaffia paniculata</i> (Mart) O. Kuntze.	Fáfia	Energizante completo, doenças infecciosas, imunoprotetora, anti-estresse.	0,71	AND, DI, TSN	Folha
Areceaceae					
<i>Coccoloba nucifera</i> L.	Coqueiro	Hidratante, vermífugo, controla pressão, liberta da dependência química	0,96	DPTS, DP, TSC, AND, TSN	Fruto, folha, flor
Asteraceae					
<i>Achillea millefolium</i> L.	Mil em Ramas	Analgésico, anti-inflamatório, coluna, pressão.	0,71	TSN, DSO, TSC	Folha
<i>Arctium minus</i> (Hill) Bernh.	Bardana	Alimento, problemas cardiovasculares, tônico, digestivo, colesterol.	1,17	TSC, AND, TSGI, DGNM	Raiz, folha
<i>Artemisia absinthium</i> L.	Losna	Vermífugo, anti-inflamatório genitália, problemas hepáticos, chulé, odor nas axilas.	0,83	DP, TSGU, TSGI, AND	Folha
<i>Artemisia canphorata</i> Vill.	Cânfora	Descongestionante, abre os poros, analgésico, contra ematomas, purifica vias respiratórias, descongestiona canais lacrimais.	1,13	TSR, DPTS, TSN, TSC, TSV	Folha
<i>Artemisia sp.</i>	Artemisinha	Problemas hepáticos, uterinos, digestivos, artrites e reumatismos	0,92	TSGI, TSGU, DI, DSO	Folha
<i>Artemisia vulgaris</i> L.	Artemisia	Problemas hepáticos, uterinos, digestivos, artrites e reumatismos	0,92	TSGI, TSGU, DI, DSO	Folha
<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	Carqueja	Problemas hepáticos, estômago, antireumática	0,63	TSGI, DI, DSO	Folha
<i>Calendula officinalis</i> L.	Calêndula	Alergias, fratura exposta, alergias internas, gripes alérgicas	0,92	AND, DPTS, TSN, DSO	Folha

Continua



Continuação

Espécie	Nome Vernacular	Indicação Terapêutica	IR	SC	Partes Usadas
<i>Chamomilla recutita</i> (L.) Rauschert	Camomila	Tranquilizante, digestivo, sonífera, analgésica	0,58	TSN, TSGI	Folha, flor
<i>Helianthus annuus</i> L.	Girassol	calmante, anti-depressivo	0,29	TSN	Folha, semente descascada
<i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Guaco	Expectorante, digestivo, pulmão, garganta, ouvido	0,79	TSR, TSGI, DI	Folha
<i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera	Quitoco	Anti-térmico, anti-inflamatório, digestivo, artrite, reumatóide	0,92	TSN, TSGI, DSO, DI	Folha
<i>Solidago chilensis</i> Meyen	Arnica	Desajuste, angústia, cortes, feridas, dores musculares, massagem, anti-trauma, relaxante	0,92	AND, DPTS, DSO, TSN	Flor, folha
<i>Taraxacum officinale</i> Weber	Dente de Leão	Cicatrizante, antiinflamatório, imunoprotetora, hepáticos, depressão, câncer crianças e adultos.	1,25	DPTS, DSO, DI, TSGI, TSN, AND	Folha
<i>Vernonia condensata</i> Backer	Boldo ou Boldo do Chile	Digestivo, hepático, antireumático, infecção nos rins, fígado, pâncreas, sapinho	0,96	TSGI, DI, DSO	Folha, caule e raiz
Boraginaceae					
<i>Heliotropium indicum</i> L.	Crista de Galo	Diurético, depurativo do sangue.	0,42	TSGU, AND	Folha
<i>Symphytum officinale</i> L.	Confrei	Cicatrizante, áfitas, feridas e manchas uterinas, mioma, fibroma, úlcera, gastrite, infecção do estômago, pele.	1,00	DPTS, DI, TSGU	Folha
Brassicaceae					
<i>Coronopus didymus</i> (L.) Smith	Mentrusto	Antireumático, vermífugo, gastrite, evita câncer do estômago, H. pylori	1,04	DI, DSO, DP, TSGU, TSGI	Folha
Caprifoliaceae					
<i>Sambucus australis</i> Cham. & Schldl.	Sabugueiro	Anti-térmico, prisão de ventre, sarampo, protetor da pele, cicatrizante.	0,92	TSN, TSGI, DI, DPTS	Folha, flor
Caricaceae					
<i>Carica papaya</i> L.	Mamão Verde	Anti-tussígeno, vermífugo, cicatrizante	0,63	TSR, DP, DPTS	Fruto, flor
Chenopodiaceae					
<i>Beta vulgaris</i> L.	Acelga	Cicatrizante, úlceras, gastrite, prisão de ventre, azia, furúnculo	0,88	DPTS, TSGI, DI	Folha

Continua





Continuação

Espécie	Nome Vernacular	Indicação Terapêutica	IR	SC	Partes Usadas
<i>Chenopodium am-brosioides</i> L.	Mastruz	Antiinflamatório, vermífugo, cicatrizante, anti-reumático, gastrite, úlcera, prisão de ventre, dores nos joelhos, dente inflamado, verrugas, parasitas, esporão	1,75	DSO, DP, DPTS, DI, TSGI, AND	Folha
Commelinaceae					
<i>Tradescantia pallida</i> (Rose) Hunt. cv. purpurea	Manto de Viúva	Cicatrizante, enzipra, frebite, gonorréia	0,83	DPTS, DI, TSC, DST	Folha
<i>Tradescantia zebrina</i> Heynh	Capa de Nossa Senhora	Gonorréia, artrites, alimentação, problemas vaginais, herpes	0,96	DI, DST, DSO, DGNM, TSGU	Folha
Convolvulaceae					
<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	Batata Doce	Gastrite, úlcera, prisão de ventre, tônico, quimioterapia e radioterapia, mastite	0,79	TSGI, AND, DI	Folha
Crassulaceae					
<i>Kalanchoe brasiliensis</i> Camb.	Saião	Antiinflamatório, analgésico, ouvido, refrescante, adenóide, amídalas, rachaduras nos pés, lábios e cotovelos, espinhas, gastrite, imunidade em crianças desnutridas, unha encravada, bronquite	2,00	DSO, TSN, AND, TSR, DPTS, TSGI, DGNM, DI	Folha
<i>Sedum dendroideum</i> Moc. & Sessé ex DC.	Bálsamo	Problemas estomacais, úlceras, gastrites, úlceras externas, herpes, frieiras, alimento, pele	1,29	TSGI, DPTS, DI, DST, DGNM	Folha
Euphorbiaceae					
<i>Jatropha</i> sp.	Mamoninha folha roxa	Furúnculo, cosmético, prisão de ventre, sinusite, adenóide, dor de ouvido, cicatrizante, queimaduras, feridas, cólicas dos recém nascidos, limpeza uterina, depressão pós-parto	2,00	DI, DPTS, AND, TSGI, TSR, TSGU, TSN	Folha, casca, fruto
<i>Ricinus communis</i> L.	Mertiolate	Cicatrizante	0,21	DPTS	Caule
Fabaceae					
<i>Caesalpinia paraguariensis</i> (D. Parodi) Burk. (Guajakan)	Pau Ferro	Tônico, antiinflamatório, vermífugo, anti-térmico, malária, febres tropicais	1,25	AND, DSO, DP, TSN, DI, DS	Tegumento da semente.

Continua



Continuação

Espécie	Nome Vernacular	Indicação Terapêutica	IR	SC	Partes Usadas
<i>Erythrina mulungu</i> Mart. ex Benth.	Mulungu	Sonífero, reumatismo, coluna, depressão.	0,71	AND, DI, TSN	Folha, entrecasca, semente
<i>Medicago sativa</i> L.	Alfafa	Calmante, tônico geral, equilibra pressão, aumenta leite materno, pessoas que fazem quimioterapia e radioterapia, crescer os cabelos	1,25	TSN, AND, TSC, DGNM, DS, DPTS	Folha, flor
<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link	Sene	Febre, pneumonia, prisão de ventre, infecção intestinal	0,71	TSN, TSR, TSGI	Folha
Lamiaceae					
<i>Glechoma hederacea</i> L.	Erva terrestre	Descongestionante, contra tosse, digestiva, abre apetite, cicatrizante, manchas e sinais de espinhas	1,00	TSR, TSGI, DGNM, DPTS	Folha
<i>Hyptis</i> sp.	Alfazema	digestiva, inflamação uterina, sonífera	0,63	TSGI, TSV, TSN	Caule, folha e flor
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	Rubinho	Problemas estomacais, rins, órgãos vitais, artrites reumatóides, desinteria, gás intestinal	1,13	TSGI, TSGU, AND, DI, DSO	Flor, folha
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Boldo Miúdo	Anti-reumático, problemas hepáticos, digestivos	0,63	DI, DSO, TSGI	Folha
<i>Mentha arvensis</i> L.	Vick	Descongestionante, antiinflamatório de adenoide, sinusite	0,33	TSR	Folha
<i>Mentha pulegium</i> L.	Poejo	emoliente, expectorante, antiinflamatório, vermífugo (ameba), rachadura pés	0,92	DPTS, TSR, DSO, DP	Folha
<i>Mentha</i> sp.	Hortelã da Índia	Calmante, cicatrizante, vermífugo, expectorante, fortalece a pele	0,92	TSN, DPTS, DP, TSR	Folha
<i>Mentha viridis</i> L.	Levante	Expectorante, inflamações reumáticas, descongestionante, articulações, gota, reumatismo, amídalas, congestão nasal, sinusites	1,13	TSR, DSO, DI	Folha
<i>Mentha x villosa</i> Huds.	Hortelã menta ou Hortelã miúdo	Calmante, cicatrizante, vermífugo, expectorante, fortalece a pele	0,92	TSN, DPTS, DP, TSR	Folha
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Manjerição roxo	Alimento, cicatrizante, alívio das dores, neutralizante, abrir os poros, dor de cabeça, sinusite, descongestionante, ansiedade	1,38	DGNM, AND, DPTS, TSN, TSR	Folha

Continua





Continuação

Espécie	Nome Vernacular	Indicação Terapêutica	IR	SC	Partes Usadas
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Cravo Favaca	Aparelho respiratório	0,21	TSR	Folha
<i>Ocimum</i> sp.	Alfavaca	Sujeira do olho, cardiovascular, calmante, pressão	0,71	AND, TSC, TSN	Folha, semente
<i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng.	Hortelã pimenta ou temperão	Expectorante, descongestionante, cicatrizante, repelente, prática da ventosa	1,00	TSR, DPTS, AND	Folha
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Alecrim	Repelente, calmante, sonífero, analgésico, angústia, taquicardia	0,88	TSN, AND, TSC	Folha, flor
<i>Tetradenia riparia</i> (Hochst.) Codd.	Mirra	Analgésico, dores reumáticas	0,42	TSN, DSO	Folha
Liliaceae					
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f.	Babosa	Cicatrização, frieira, áfitas, garganta, pele, protetor solar, vermífugo, gastrite, úlcera, mal hálito, reumatismo, cãndida, hemorróidas, enfermidades do couro cabeludo	2,00	DPTS, DI, TSR, DP, TSGI, AND, DSO	Folha
Malvaceae					
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Algodão crioulo	Contra inchaço, má digestão, analgésico (ouvido), dor de cabeça	0,83	AND, TSGI, TSR, TSN	Folha
Moraceae					
<i>Ficus carica</i> L.	Figueira	Contra verrugas	0,21	DI	Fruto (Leite)
Musaceae					
<i>Musa paradisiaca</i> L.	Bananeira	Bronquite, cálculos renais, picadas de escorpião e cobras venenosas	0,63	TSR, TSGU, TSC	Flor, folha
Myrtaceae					
<i>Psidium guajava</i> L.	Araçá	Rins, coração	0,42	TSGU, TSC	Folha
Nyctaginaceae					
<i>Mirabilis jalapa</i> L.	Bonina	Vermífugo, repelente, dores reumáticas, psuríases	0,92	DP, DI, DSO, AND	Semente, folha, flor, raiz
Papaveraceae					
<i>Argemone mexicana</i> L.	Cardo Santo	Vermífugo, bronquite	0,42	DP, TSR	Folha, raiz, flor
Passifloraceae					
<i>Passiflora edulis</i> Sims.	Maracujá	Sonífero, controle da pressão, fortalece os neurônios, angústia, ansiedade	1,25	TSN, TSC	Casca, folha, flor

Continua



Continuação

Espécie	Nome Vernacular	Indicação Terapêutica	IR	SC	Partes Usadas
Piperaceae					
<i>Pothomorphe umbellata</i> (L.) Miq.	Caieba	Rins, ácido úrico, pele ressecada, genitália	0,71	TSGU, DGNM, DPTS	Folha
Plantaginaceae					
<i>Plantago major</i> L.	Tanchagem	Anti-inflamatória, garganta, anti-reumático, tumores, infecção uterina, couro cabeludo, saúde bucal, enfermidades oculares, feridas crônicas	1,63	DSO, TSR, DI, AND, TSGU, DPTS, TSV	Folha
Poaceae					
<i>Coix lacruma-jobi</i> L.	Lágrima de Nossa Senhora	Infecção urinária, bexiga, uretra	0,36	TSGU	Folha
<i>Cymbopogon</i> sp.	Capim Açum	Cicatrizante, problemas hepáticos, anti-hemorragico, hemorragia nasal, cortes	0,71	DPTS, TSGI, DS	Folha
<i>Melinis munitiflora</i> Beauv	Capim Gordura	Rejuvenecedor, purificador sangue, catarata, alergias, imunidade, sífilis, DST, tuberculose, aumentar leite	1,47	AND, TSV, DI, DST, TSR, DGNM	Folha
Polygonaceae					
<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michaux	Erva de Bicho	Hemorroidas, problemas cutâneos, protetor e fortalecedor do couro cabeludo, unhas fracas, problemas vaginais (coceiras), aparelho gênito urinário, equizema, enzipra, eritema, psuríase	1,42	TSC, TSGI, DPTS, DI, TSGU, AND	Folha
Rosaceae					
<i>Rubus brasiliensis</i> Mart.	Amora	Inflamação garganta, amídalas, íngua na virilha, caxumba	0,58	TSR, DI	Folha
Rutaceae					
<i>Ruta graveolens</i> L.	Arruda	Inflamações uterinas, controla apetite sexual, brotoejas	0,71	AND, TSGU, DPTS	Folha
Solanaceae					
<i>Solanum</i> sp.	Caiçara	Remédio hepático, próstata, infecção das genitálias, antiinflamatório das genitálias	0,71	TSGI, TSGU, TSN	Raiz

Continua



Continuação

Espécie	Nome Vernacular	Indicação Terapêutica	IR	SC	Partes Usadas
<i>Solanum citruium</i> Vell.	Panacéia	Anti-inflamatória, diurética, controla pressão, machucado, gastrite, neutraliza efeitos colaterais	1,25	DSO, TSGU, TSC, DPTS, TSGI, AND	Folha
Tropaeolaceae					
<i>Tropaeolum majus</i> L.	Capuchinha	Alimento, depurativa do sangue, diurético, cicatriz, gastrite, gases, equilibra ácido úrico	1,04	AND, TSGU, DPTS, TSGI, DGNM	Flor, folha
Vitaceae					
<i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson & C.E. Jarvis	Insulina	Diabetes, cicatrização, herpes	0,75	DGNM, DPTS, DI, DST	Folha, caule
Zingiberaceae					
<i>Costus spiralis</i> (Jacq.) Roscoe	Cana do Brejo ou de Macaco	Infecções, problemas renais, aparelho urinário	0,50	DI, TSGU	Folha

IR – Importância Relativa; SC – Sistemas Corporais; DI - doenças infecciosas; DP - doenças parasitárias; DGNM - doenças das glândulas endócrinas, da nutrição e do metabolismo; DS - doenças do sangue e dos órgãos hematopoéticos; DSO - doenças do sistema osteomuscular e tecido conjuntivo; DPTS - doenças da pele e tecido celular subcutâneo; TSV - transtornos do sistema visual; TSN - transtornos do sistema nervoso; TSC - transtornos do sistema circulatório; TSR - transtornos do sistema respiratório; TSGI - transtornos do sistema gastrointestinal; TSGU - transtornos do sistema genito-urinário; AND - afecções não definidas ou dores não definidas; DST - doenças sexualmente transmissíveis.

Medicamentos da ACEBEV

Das 74 espécies de plantas medicinais cultivadas na ACEBEV, uma pequena parte é comercializada “*in natura*”. A grande maioria é manipulada artesanalmente, em um pequeno laboratório, chamado de “sala limpa”, e comercializadas como medicamento natural para a comunidade, desde a planta desidratada e acondicionada em sacos plásticos até preparados em forma de pomadas, tinturas, xaropes, garrafadas, xampus e sabonetes. Para isso, as tinturas-mãe são armazenadas sempre em vidros com tampas de cortiça ou cana de milho isoladas da luminosidade, em uma sala reserada, na qual só se entra descalço ou com sandália disponível no local.

O armazenamento das folhas se dá de maneira correta. Segundo Martins e Santos (2007), para se garantir a qualidade, as plantas secas devem ser guardadas em local arejado e seco, acondicionadas em sacos plásticos que além de econômicos dificultam a entrada de umidade e preservam a coloração original das plantas.

Segundo a Irmã Mônica, o consumo de chás deve ser feito por somente 15 dias consecutivos no máximo; a pessoa deve parar de consumir por 5 dias e depois pode retornar o consumo, mas deve sempre ser acompanhado por uma alimentação saudável. Além disso, crianças com até seis meses não devem ingerir

nenhum tipo de chá; de 6 meses até 3 anos, a quantidade deve ser de ½ xícara pequena de café até 1 xícara por dia e adultos podem ingerir ½ xícara média de chá até 1 xícara diária; mas, para o consumo de chás sempre deve ser observada a necessidade e o peso da pessoa – atualmente existem crianças que apesar de pouca idade tem o peso de um adulto. Para problemas hepáticos, renais e digestivos, consumir somente de 3 a 5 dias.

Algumas informações obtidas são confirmadas na literatura. Cardoso, Shan e Souza (2001) afirmam que o uso contínuo de uma mesma planta deve ser evitado e recomendam o uso máximo entre 21 e 30 dias, intercalados por um período de descanso entre 4 e 7 dias, permitindo que o organismo “repouse” ou desacostume e também para que o vegetal possa atuar com toda a eficácia; e de acordo com Martins e colaboradores (2000), as dosagens dos remédios caseiros, incluindo os chás, realmente devem variar de acordo com a idade.

Para o preparo dos chás com folhas desidratadas a Irmã recomenda ¼ da mão do consumidor e, se utilizar a entrecasca, o chá não deve ser feito por decotto, para não ficar tóxico; a entrecasca ou casca deve ser colocada em um copo de água fervente a noite e ser ingerido no dia seguinte. Entretanto, Cardoso, Shan e Souza (2001) afirma que é indicado para o preparo utilizando sementes, raízes, cascas e outras





partes mais resistentes a ação da água quente e deve ser utilizado no mesmo dia do seu preparo.

Segundo informações, os sumos são mais fáceis do organismo assimilar e devem ser utilizados em casos de emergência; é indicado no máximo um litro e no mínimo um copo americano. No caso das tinturas, consome-se de 10 a 30 gotas de acordo com o peso e a necessidade.

A Irmã acredita que os “remédios da natureza” são eficazes e que dela tudo podemos aproveitar. Segundo ela, a medicina convencional deveria se preocupar em um primeiro momento em fortalecer o organismo de maneira que ele próprio reforce as suas defesas para depois passar por procedimentos cirúrgicos. Cabe ressaltar que nenhum medicamento é indicado sem uma “consulta” prévia (gratuita), realizada pela própria Irmã, e que, os valores cobrados pelos medicamentos são simbólicos e totalmente voltados para a manutenção da própria associação.

Atualmente, na ACEBEV, existem vários integrantes que aprendem e participam dos trabalhos realizados no local, constituindo desta forma uma importante maneira de se difundir o conhecimento sobre as plantas medicinais. Este saber é repassado pela Irmã Mônica não somente na sua utilização para a manutenção de uma boa saúde, mas também, com amor incondicional pelo Cerrado e pela Caatinga, evidenciando desta forma sua importância e preservação.

Referências

Almeida, C.F.C.B.R. e Albuquerque, U.P. 2002 - Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): um estudo de caso. *Interciencia*, v.27, p.279-285.

Amorozo, M.C.M. 2002 - Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v.16, p.189-203.

Andrade, F.M.C.; Casali, V.W.D. e De Vita, B. 2001 - Efeito de homeopatia no crescimento e na produção de cumarina em chambá (*Justicia pectoralis* Jacq.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.4, p.19-27.

Azevedo, S.K.S. e Silva, I.M. 2006 - Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v.20, p.185-194.

Begossi, A. e Silvano, R.A.M. 2002 - Ecologia humana, etnoecologia e conservação. In: Amorozo, M.C.M. (ed.), Métodos de coleta e análise de dados em tenobiologia, etnoecologia e disciplinas correlatas. pp. 93-128. Rio Claro, Coordenadoria de Área de Ciências Biológicas. UNESP/CNPq.

Bennett, B.C. e Prance, G.T. 2000 - Introduced plants in the indigenous pharmacopoeia of Northern South America. *Economic Botany*, v.54, p.90-102.

Bueno, N.R.; Castilho, R.O.; Costa, R.B.; Pott, A.; Pott, V.J.; Scheidt, G.N. e Batista, M.S. 2005 - Medicinal plants used by the Kaiowá and Guarani indigenous populations in the Caarapó Reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, v.19, p.39-44.

Cardoso, M.G. ; Shan, A.Y.K.V. e Souza, J.A. 2001 - *Fitoquímica e química de produtos naturais*. UFLA/FAEPE, Lavras.

Carvalho, L.M.; Casali, V.W.D.; Lisboa, S.P.; Souza, M.A. e Cecon, P.R. 2005 - Efeito da homeopatia Arnica montana, nas potências centesimais, sobre plantas de artemísia. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.7, p.33-36.

Martins, E.R.; Castro, D.M.; Castellani, D.C. e Dias, J.E. 2000 - Plantas Medicinais. Editora UFV, Viçosa. Martins, E.R. e Santos, A.M. 2007 - Cultivo de Plantas Medicinais. In: Martins, E.R. (ed), *Capacitação de agricultores e extrativistas em boas práticas populares de produção, manejo e manipulação de plantas medicinais: uma experiência em rede*, p.79-93. Editora UFMG/ICA, Montes Claros.

Medeiros, M.F.T.; Fonseca, V.S. e Andreato, R.H.P. 2004 - Plantas medicinais e seus usos pelos sítiantes da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v.18, p.391-399.

Nogueira, M.M.A. 2007 - Botânica e a experiência de interação da universidade com a comunidade Medicinais. In: Capacitação de agricultores e extrativistas em boas práticas populares de produção, manejo e manipulação de plantas medicinais: uma experiência em rede. p. 29-37. Editora UFMG/ICA, Montes Claros.

ROSSI, F. 2008 - Agricultura Vitalista - A Ciência da Homeopatia Aplicada na Agricultura. I Encontro Sobre Estudos em Homeopatia Medicina - Veterinária - Farmácia - Agronomia. CESAHO - Centro de Estudos Avançados em Homeopatia. Disponível em: <www.cesaho.com.br>. Acesso em: 01 nov 2008

Silva, V.A. e Albuquerque, U.P. 2004 - Técnicas para análise de dados etnobotânicos. In: Albuquerque, U.P. (ed). *Métodos e Técnicas na Pesquisa Etnobotânica*, p.63-88. Editora Livro Rápido/ NUPEEA, Recife.

Souza, V.C. e Lorenzi, H. 2005 - *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação de famílias de Angiospermas da flora brasileira baseado em APGII*. Instituto Plantarum, Nova Odessa.

Vieira, R.F. e Martins, M.V.M. 2000 - Recursos Genéticos de plantas medicinais do cerrado: uma compilação de dados. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.3, p.13-36.



Avaliação da Administração Crônica de *Mucuna pruriens* sobre Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos e de seus Efeitos Neuroprotetores, em Modelo de Doença de Parkinson

Evaluation of Chronic Administration of *Mucuna pruriens* on Biochemical and Hematological Parameters and its Neuroprotective Effects on a Parkinson's Disease Model

¹Amanda A. Lopes; ²Fábio A. Pereira; ¹Maria G. Queiroz; ³Márcia V. Pitombeira; ¹Luzia K. A. M. Leal; ^{1*}Glauce S. B. Viana

¹*Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Rua Cel. Nunes de Melo, 1127. CEP 60430-270 - Fortaleza, CE.

²Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Av. Cel. Nunes de Melo, 1127 - Rodolfo Teófilo - CEP 60430-270 - Fortaleza - CE

³Departamento de Patologia e Medicinal Legal, Universidade Federal do Ceará, Rua Monsenhor Furtado, s/n - Rodolfo Teófilo - CEP 60441-750 - Fortaleza - CE

*Correspondência: e-mail: gbviana@live.com

Palavras chave:

Mucuna pruriens; L-DOPA; Doença de Parkinson; Neuroproteção.

Keywords:

Mucuna pruriens; L-DOPA; Parkinson's disease; Neuroprotection.

Resumo

A doença de Parkinson (DP) é uma patologia neurodegenerativa caracterizada pela perda progressiva de neurônios dopaminérgicos na substância negra. Os sinais cardinais da doença são bradicinesia, tremor de repouso e instabilidade postural. É a segunda doença neurodegenerativa mais comum, após a doença de Alzheimer. Os tratamentos disponíveis são apenas sintomáticos, não evitando a progressão da doença, e a L-DOPA, considerada padrão-ouro, apresenta efeitos colaterais sendo a discinesia um dos mais sérios. *Mucuna pruriens* é utilizada na medicina tradicional, principalmente na Índia, para o tratamento de DP. Essa espécie contém entre os seus constituintes bioativos a L-DOPA e parece apresentar um potencial discinésico menor do que aquele da L-DOPA sintética. No presente trabalho, observou-se que a administração de L-DOPA durante 14 dias aumenta as concentrações de dopamina no estriato, após a lesão unilateral por 6-OHDA em ratos. Nas doses usadas (50 e 100 mg/kg, p.o.), equivalentes a 25 e 50 mg/kg de L-DOPA, nenhuma alteração foi observada nos níveis de NE, 5-HT ou de seu metabólito 5-HIAA. Além disso, nenhuma alteração significativa foi demonstrada nos parâmetros bioquímicos ou hematológicos, após administração crônica de *M. pruriens*, nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg durante 90 dias. Os resultados são indicativos de efeitos neuroprotetores e confirmam o potencial benéfico de *M. pruriens* no tratamento de DP.



Abstract

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease that causes a selective loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra. The cardinal signals of the disease are bradykinesia, resting tremor and postural instability. It is the second most common neurodegenerative disease, after Alzheimer's disease, for which there is no neurorestorative treatment. *Mucuna pruriens* is used in traditional medicine especially in India to treat PD, since it is known to contain L-DOPA among other bioactive constituents, still considered a gold-standard for the treatment of PD. In the present study, we observed that the daily oral administration of the extract of *M. pruriens* for 14 days (50 and 100 mg/kg) increases the DA concentrations in the striatum after the unilateral 6-OHDA lesion in rats. At the doses used, equivalent to 25 and 50 mg/kg synthetic L-DOPA, no changes were observed in striatal contents of NE, 5-HT or its metabolite 5-HIAA. In addition, no significant alterations were demonstrated in biochemical or hematological parameters after the extract administration, at the doses of 250, 500 and 1000 mg/kg up to 90 days. Our results point out to a neuroprotective effect and confirm the potential benefit of *M. pruriens* for the treatment of PD.

Introdução

A doença de Parkinson é um distúrbio progressivo relacionado com a idade, caracterizado pela degeneração dos neurônios nigroestriatais dopaminérgicos do gânglio basal, que resulta em bradicinesia, tremor de repouso e rigidez muscular. Apesar da sua etiologia desconhecida, sabe-se que existe uma destruição das terminações dopaminérgicas nigroestriatais, levando a 80% de redução nos níveis de dopamina, quando então os sintomas começam a manifestar-se (Deumens, Blokland e Prickaerts, 2002).

O tratamento atual está restrito ao alívio sintomático da doença, pois ainda não existem drogas capazes de inibir a degeneração neuronal. O tratamento com levodopa (L-DOPA) ou com drogas agonistas dopaminérgicas é inicialmente eficaz, mas, após seu uso crônico e com a evolução da doença, a terapia dopaminérgica se torna inviável (Richardson, Kase e Jenner, 1997). Tratamentos alternativos têm sido utilizados, usando outras drogas, como antagonistas de receptores colinérgicos muscarínicos ou inibidores da monoamino oxidase, no entanto, essas tentativas terapêuticas são limitadas. Consequentemente, outras alternativas para o tratamento da doença de Parkinson têm sido pesquisadas, principalmente baseadas em drogas não-dopaminérgicas (Hurley, Mash e Jenner, 2000). A lesão nigroestriatal unilateral induzida por 6-OHDA (6-hidroxidopamina) tem sido largamente usada como um modelo animal da DP. Agonistas de receptores dopaminérgicos, agindo nos receptores supersensíveis do estriato lesionado, induzem comportamento rotacional contralateral ao lado lesionado.

A espécie *Mucuna pruriens* L. é uma planta trepadeira da família Fabaceae que ocorre em climas tropicais,

conhecida popularmente como feijão-mucunã, alusão ao formato de suas sementes (Corrêa, 1984). É uma leguminosa nativa da Índia e Antilhas e todas as partes da planta possuem propriedades farmacológicas, sendo assim utilizada como planta medicinal para o tratamento de várias enfermidades (Vidal e Silva-López, 2010). Na Índia, há pelo menos 4500 anos, as sementes de *M. pruriens* são utilizadas nos tratamentos de DP, diabetes, hipertensão e distúrbios sexuais (Rathi et al., 2002; Grover, Rathi e Vats, 2002; Manyam, Dhanasekaran e Hare., 2004a,b). Dentre os principais constituintes bioativos da planta estão a L-DOPA e os alcalóides mucunina, mucunadina, mucuadinina, prurienina e nicotina, além de componentes outros como o beta-sitosterol, glutationa, leucina, ácidos venólico e gálico (Vidal e Silva-López, 2010).

Estudos toxicológico e farmacológico pré-clínicos do extrato de *M. pruriens* demonstraram a sua baixa toxicidade (Thipathi e Upadhyay, 2002), bem como a sua capacidade de aumentar o teor de dopamina no córtex cerebral de ratos (Katzenschlager, Evans e Manson, 2004) além de propriedades antidiabética (Rathi et al., 2002; Grover, Rathi e Vats, 2002) e antioxidante (Tripathi e Upadhyay, 2002). Estudo clínico mostrou que o extrato de feijão-mucunã (HP 200) apresenta efeitos benéficos na DP, sem efeitos colaterais importantes (Katzenschlager, Evans e Manson, 2004)

Os objetivos do presente trabalho foram: avaliar os efeitos da administração crônica de extrato de *M. pruriens* sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos e estudar seus possíveis efeitos neuroprotetores em modelo de DP em ratos (lesão estriatal unilateral com 6-OHDA). Ao final do experimento, os animais foram submetidos a testes comportamentais (comportamento rotacional na presença de apomorfina)





e sacrificados para a determinação de monoaminas (NE, DA, DOPAC, 5-HT, HVA e 5-HIAA) em núcleo estriado, por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE).

Material e métodos

Drogas e reagentes

A droga em pó, preparada a partir de sementes de *M. pruriens*, foi fornecida pela empresa PVP S/A (Parnaíba, PI) e continha em torno de 50% de L-DOPA. Os demais reagentes foram de grau analítico, sendo em sua maioria adquiridos da Sigma-Aldrich (USA).

Animais

Utilizaram-se ratos machos da linhagem Wistar, com peso variando entre 180 e 220g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram mantidos em caixas plásticas (5 a 6 animais por caixa), em ambiente com temperatura controlada, em ciclo claro/escuro de 12 h e com livre acesso a água e alimento até o momento do experimento. Realizaram-se os experimentos de acordo com o "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals from the US Department of Health and Human Services".

Toxicologia crônica

Administraram-se diariamente por via oral aos animais (8 por grupo), mantidos em gaiolas metabólicas, doses do extrato de *M. pruriens* (Ext.MP) variando entre 250 e 1000 mg/kg, durante 90 dias. Ao grupo controle foi administrada água destilada. Os animais foram pesados semanalmente e, ao final do período, coletaram-se amostras de sangue do plexo retroorbital para determinações dos parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue.

Cirurgia estereotáxica e lesão estriatal com 6-OHDA

Injetaram-se tiopental (30 mg/kg, ip) e hidrato de cloral (200 mg/kg, ip) aos animais que receberam em seguida duas injeções estereotáxicas (injeções unilaterais de 1 µl cada, em um dos lados do corpo estriado direito) de 6-OHDA (dissolvida em salina contendo 0,2% de ácido ascórbico, em uma concentração final de 12 µl/ml). As injeções foram processadas de acordo com as seguintes coordenadas: AP 0,9/1,4, ML 3,8, DV 3,3, a partir do bregma (Paxinos e Watson, 1986), usando-se uma seringa Hamilton de 5 µl. A seringa foi deixada no local de aplicação por 2 min, para assegurar que seu conteúdo foi injetado corretamente (Kim et al., 1998). Uma hora antes da cirurgia estereotáxica e

diariamente durante 14 dias, os animais foram administrados com o extrato aquoso das sementes de *M. pruriens*. Os testes comportamentais e a dissecação das áreas cerebrais foram realizados 24 h após a última administração da droga.

Dissecação das áreas cerebrais para determinação de monoaminas por CLAE

Após os testes comportamentais, os animais foram decapitados com uma guilhotina (Harvard, USA) e os cérebros retirados rapidamente e colocados sobre papel alumínio numa placa de Petri com gelo. Em seguida, acompanhando-se a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi liberada das leptomeninges com a ajuda de uma pinça reta de microdissecação. Assim, o córtex foi divulsionado delicadamente em toda a sua extensão fronto-occipital e rebatido para os lados, expondo assim parte do corpo estriado. O corpo estriado (caudado, putamen e globo pálido) foi então isolado das estruturas circunjacentes por divulsionamento com tesoura de microdissecação, sendo sua retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos após o rebatimento lateral do córtex.

Determinação de monoaminas e metabólitos

As concentrações das monoaminas noradrenalina (NE), dopamina (DA), serotonina (5-HT) e de seus metabólitos, DOPAC (ácido dihidroxifenilacético), HVA (ácido homovanílico) e 5-HIAA (ácido 5-hidroxi-indolacético) foram analisadas em homogenatos de núcleo estriado a 10%, preparados em tampão contendo ácido perclórico (0,1 M), após centrifugação. As amostras (20 µl) foram injetadas em um equipamento de CLAE (Shimadzu, Japão), utilizando-se para isso uma coluna CLC-ODS (25cm x 4,6mm, 3 µm d.i.). A fase móvel continha tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0 e ácido octanosulfônico sódico 0,69 M (SOS), como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4% v/v e tetrahydrofurano 1,7% v/v. NE, DA, DOPAC, HVA, 5-HT e 5-HIAA foram eletronicamente detectados, usando-se um detector amperométrico (Modelo L-ECD, Shimadzu, Japão) pela oxidação em eletrodo de carbono vítreo, fixado em 0,85 V relativamente a um eletrodo de referência de Ag-AgCl.

Análise estatística

Para a análise dos parâmetros bioquímicos e hematológicos, os resultados foram submetidos a Análise de Variância (One Way ANOVA) e Student-Newman-Keuls como teste post hoc. No caso das determinações das concentrações de monoaminas e metabólitos, utilizou-se o teste t de Student pareado,





comparando-se o valor do lado lesionado com o do não-lesionado, em cada grupo. Os resultados foram considerados significantes quando apresentaram um valor de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

A *M. pruriens* devido ao seu alto teor de L-DOPA é utilizada em várias partes do mundo, principalmente na medicina tradicional indiana, no tratamento da DP. Contudo, sua administração prolongada não parece estar associada ao aparecimento de discinesia, possivelmente por conta de outros componentes bioativos presentes na planta. Assim, estudo recente (Kasture et al., 2009) mostrou que a administração aguda de extrato de *M. pruriens*, na dose de 16 mg/kg (equivalente a 2 mg/kg de L-DOPA), antagonizou os déficits comportamentais induzidos pela administração unilateral de 6-OHDA em roedores. A administração subcrônica do extrato, na dose de 48 mg/kg (equivalente a 6 mg/kg de L-DOPA), apresentou um potencial discinésico menor do que aquele da L-DOPA sintética. Mais recentemente, outro grupo de pesquisadores mostrou, em modelo experimental de DP, que a administração do extrato aquoso de *M. pruriens* melhora os sintomas do parkinsonismo, com risco reduzido de discinesias (Lieu et al., 2010). Mostrou-se também (Pathan et al., 2011) que a droga atenua a discinesia orofacial induzida por haloperidol em ratos, possivelmente devido a sua capacidade seqüestradora de radicais livres.

Os resultados do presente trabalho mostraram que o extrato de *M. pruriens* apresenta efeito neuroprotetor no modelo de lesão estriatal com 6-OHDA em ratos, tendo-se em vista que o percentual de redução nos níveis de dopamina (DA) nos grupos controles, lesionados com 6-OHDA e não tratados com o Ext. MP (45%), foram significativamente mais elevados do que aqueles observados com o grupo lesionado e tratado com a maior dose de Ext.MP (23%). Contudo, enquanto os níveis de DOPAC foram também reduzidos nos grupos lesionados e não tratados (27%), esse efeito foi até mais intenso nos grupos lesionados e tratados com Ext.MP, nas doses de 50 (38%) e 100 mg/kg (41%). Não houve alteração significativa nos valores de HVA. Em todos os casos, as comparações foram feitas entre os valores obtidos com o núcleo estriado lesionado (ipsilateral) e aquele não lesionado (contralateral) de cada animal e de cada grupo.

Tabela 1 - Efeito do extrato de sementes de *Mucuna pruriens* (Ext.MP) sobre as concentrações de dopamina e de seus metabólitos em núcleo estriado de ratos

Grupo	DA	DOPAC	HVA
Controle L	2443,0±804,0**	1686,0±299,7*	783,8±55,2
NL	4472,0±630,4 (6)	2296,0±237,7 (8)	872,2±85,1 (6)
Ext.MP50 L	2474,0±774,5*	1566,0±245,9**	514,9±85,5
NL	4566,0±290,9 (5)	2529,0±203,9 (5)	691,0±63,1 (7)
Ext.MP100 L	2864,0±206,4*	1631,0±223,9**	693,7±69,3
NL	4225,0±791,6 (5)	2752,0±204,2 (5)	733,0±35,7 (8)
Falso Op. NL	3370,0±863,4	1690,0±234,0	698,7±105,5
NL	2950,0±288,1 (4)	1839,0±255,6 (4)	756,6±54,1 (4)

Os valores são médias ± EPM do número de animais em parênteses. L = lado (núcleo estriado) lesionado com 6-OHDA; NL = contralateral, não lesionado. Ext.MP 50 e 100 representam os grupos tratados com 50 e 100 mg/kg, v.o., do extrato das sementes de *M. pruriens*. * $p < 0,05$, comparado ao lado não lesionado; ** $p < 0,01$, comparado ao lado não lesionado.

Manyam e colaboradores (2004a) mostraram em ratos submetidos a lesão nigroestriatal com 6-OHDA e sob administração durante 52 semanas de formulação à base do endocarpo de *M. pruriens* (HP-200), nas doses de 2,5, 5 e 10 g/kg, efeito significativo nas concentrações corticais de dopamina. Contudo, nenhuma alteração foi observada nos teores de L-DOPA, norepinefrina, serotonina ou dopamina e seus metabólitos HVA, DOPAC e 5-HIAA, no trato nigroestriatal. É possível que os constituintes químicos presentes nesse extrato sejam diferentes daqueles presentes no extrato preparado com os cotiledôneos. Assim, em outro estudo (Mayam et al., 2004b) avaliou-se a atividade neuroprotetora de extrato preparado com cotiledôneos de *M. pruriens*, no modelo de DP em ratos (lesão nigroestriatal por 6-OHDA), mostrando que a droga aumentou de modo significativo as concentrações de L-DOPA, dopamina, norepinefrina e serotonina na substância negra. A droga aumentou também a atividade do complexo 1 mitocondrial no cérebro, considerada reduzida neste modelo de DP, porém não afetou in vitro a atividade da monoamino oxidase (MAO). Segundo estes autores, NADH e Coenzima Q-10 que também apresentam efeitos benéficos na DP e que ocorrem nas sementes de *M. pruriens*, podem ter contribuído para os efeitos da droga.

Nossos resultados mostraram também que, ao contrário daqueles demonstrados em outros estudos (Mayam et al., 2004a,b) não houve nenhuma alteração nos níveis de norepinefrina, serotonina ou no metabólito desta, 5-HIAA, após a administração do extrato de *M. pruriens*. Como a nossa preparação corresponde a 50% de L-DOPA, as doses utilizadas no presente trabalho são, portanto, equivalentes a 25 e





50 mg/kg de L-DOPA. É possível que alterações mais intensas possam ser observadas com doses maiores.

Tabela 2 - Efeito do extrato de sementes de *M. pruriens* (Ext.MP) sobre as concentrações de noreadrenalina e de 5-HT e seu metabólito (5-HIAA) em núcleo estriado de ratos

Grupo	NE	5-HT	5-HIAA
Controle L	595,1 ± 36,7	207,2 ± 48,9	275,3 ± 44,7
NL	531,3 ± 159,0 (9)	192,5 ± 40,5 (11)	207,1 ± 23,5 (11)
Ext.MP50 L	333,9 ± 65,1	100,2 ± 31,9	518,2 ± 193,1
NL	350,3 ± 62,3 (6)	166,1 ± 74,9 (6)	554,3 ± 84,5 (8)
Ext.MP100 L	154,0 ± 51,7	666,9 ± 84,8	314,8,7 ± 80,9
NL	156,8 ± 78,0 (6)	502,9 ± 72,5 (7)	266,6 ± 47,3 (6)
Falso Op. NL	685,3 ± 57,9	366,7 ± 52,6	260,9 ± 27,9
NL	479,2 ± 105,6 (4)	375,1 ± 61,0 (4)	209,4 ± 36,6 (4)

Os valores são médias ± EPM do número de animais em parênteses. L = lado (núcleo estriado) lesionado com 6-OHDA; NL = contralateral, não lesionado. Ext.MP 50 e 100 representam os grupos tratados com 50 e 100 mg/kg, v.o., da fração rica em L-DOPA (FRL), respectivamente.

Além disso, a administração crônica por via oral, durante 90 dias, de doses elevadas (250, 500 e 1000 mg/kg) do extrato de *M. pruriens*, não apresentou nenhuma alteração significativa nos parâmetros bioquímicos ou hematológicos, com relação aos valores observados para os grupos controles (administrados com água destilada) ou com relação aos valores de referência para a espécie animal estudada. Além disso, não houve alteração ponderal significativa em nenhum dos grupos controles ou tratados durante o período de experimentação (dados não mostrados).

Tabela 3 – Efeito do tratamento por 90 dias com extrato seco obtido das sementes de *M. pruriens* (MP) nos parâmetros bioquímicos do sangue de ratos

Parâmetro 90	Controle	Ext.MP 250 mg/kg	Ext.MP 500 mg/kg	Ext.MP 1000 mg/kg
Glicose (mg/dL)	114,0 ± 7,7	115,3 ± 7,6	97,3 ± 6,9	125,0 ± 7,1
Uréia (mg/dL)	62,0 ± 2,0	68,5 ± 2,2	65,7 ± 2,5	69,7 ± 2,4
Creatinina (U/L)	0,64 ± 0,02	0,7 ± 0,01	0,64 ± 0,02	0,68 ± 0,03
Colesterol (mg/dL)	70,4 ± 1,3	66,7 ± 2,2	66,6 ± 2,7	60,4 ± 3,1
HDL (mg/dL)	69,6 ± 3,3	63,5 ± 3,3	71,4 ± 6,1	74,3 ± 3,9
Triglicérides (mg/dL)	95,4 ± 15,0	95,0 ± 10,1	99,2 ± 9,3	96,6 ± 7,9
AST/TGO (U/L)	60,4 ± 7,9	108,5 ± 8,7	96,7 ± 7,1	81,7 ± 4,5
ALT/TGP (U/L)	21,8 ± 2,5	23,0 ± 1,8	20,6 ± 1,1	19,2 ± 1,3

Os valores são médias ± EPM de 8 animais por grupo. Ext.MP250, Ext.MP500 e Ext.MP1000 representam os grupos administrados diariamente com 250, 500 e 1000 mg/kg, v.o., do extrato das sementes de *M. pruriens*, respectivamente.

Tabela 4 - Efeito do tratamento por 90 dias com extrato seco obtido das sementes de *Mucuna pruriens* (MP) nos parâmetros hematológicos do sangue de ratos

Parâmetro 90	Controle	Ext.MP 250 mg/kg	Ext.MP 500 mg/kg	Ext.MP 1000 mg/kg
HEM (g/dL)	8,97 ± 0,1	8,4 ± 0,2	8,0 ± 0,3	8,7 ± 0,1
HGB (g/dL)	15,9 ± 0,3	15,3 ± 0,3	14,9 ± 0,3	15,4 ± 0,2
HTC (%)	46,1 ± 0,8	43,5 ± 0,7	42,6 ± 0,7	44,1 ± 0,4
VCM (fL)	51,3 ± 0,3	51,8 ± 0,6	53,4 ± 0,9	50,4 ± 0,4
HCM (g/dL)	17,7 ± 0,1	18,2 ± 0,2	18,7 ± 0,2	17,6 ± 0,2
CHCM (g/dL)	34,4 ± 0,2	35,2 ± 0,1	35,0 ± 0,3	34,8 ± 0,3
RDW (%)	15,1 ± 0,2	18,0 ± 1,9	18,1 ± 1,2	19,3 ± 2,3
LEU (103/ μ L)	10,6 ± 0,6	12,4 ± 0,8	10,7 ± 0,5	10,5 ± 0,5
NEU (103/ μ L)	2,3 ± 0,4	2,5 ± 0,4	1,9 ± 0,4	1,7 ± 0,2
LIN (103/ μ L)	7,3 ± 0,4	9,0 ± 0,6	7,5 ± 0,5	7,6 ± 0,5
MON (103/ μ L)	0,68 ± 0,2	0,61 ± 0,2	0,41 ± 0,1	0,46 ± 0,1
EOS (103/ μ L)	0,16 ± 0,04	0,19 ± 0,05	0,25 ± 0,05	0,10 ± 0,03
BAS (103/ μ L)	0,19 ± 0,2	0,02 ± 0,02	0,63 ± 0,5	0,43 ± 0,19
PLT (103/ μ L)	778,3 ± 45,5	898,1 ± 105,7	1014 ± 59,5	909 ± 49,3

Os valores são médias ± EPM de 8 animais por grupo. Ext.MP 250, Ext.MP 500 e Ext.MP 1000 representam os grupos tratados com 250, 500 e 1000 mg/kg, v.o., do extrato das sementes de *M. pruriens*, respectivamente.

Estes resultados experimentais foram corroborados em estudo clínico envolvendo portadores de DP, tratados com doses diárias em torno de 45 g (equivalentes a 1,5 g de L-DOPA) de extrato de sementes de *M. pruriens* e que demonstraram uma melhora significativa (Manyam, 1990; Hussain e Manyam, 1997). Outro estudo clínico duplo cego, aleatório e controlado, com oito pacientes com DP (Katzenschlager, Evans e Manson, 2004), mostrou que doses de 15 e 30 g de extrato seco de sementes de *M. pruriens* administradas aos pacientes oferecem vantagens, sem maior incidência de discinesias, com relação a preparações convencionais de L-DOPA, quando do manejo prolongado de DP. Por outro lado, sabe-se também que esta droga induz a ativação das caspases e o aumento de oxigênio cerebral, levando à peroxidação lipídica, danos ao DNA e morte neuronal (Spencer et al., 2002).

Conclusões

A tolerância dos portadores de DP ao tratamento com *M. pruriens*, associada a segurança e menor incidên-





cia de discinesias, efeito adverso mais importante da administração prolongada de L-DOPA, são fatores que favorecem a utilização dos extratos de *M. pruriens* relativamente às preparações convencionais de L-DOPA (Rajeshwar, Gupta e Mazumder, 2005; Tharakan et al., 2007). Assim, as evidências da literatura reforçam o benefício dos extratos secos de *M. pruriens* para a restauração funcional dos neurônios dopaminérgicos degenerados na substância negra, em portadores de DP, e enfatizam a droga como excelente opção terapêutica para o tratamento desta patologia.

Agradecimentos

Os autores agradecem a contribuição técnica de M. Vilani Rodrigues Bastos e a revisão ortográfica do Prof. M.O.L. Viana. O trabalho contou com o suporte financeiro da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).

Referências

- Braak, H.; Rüb, U.; Gai, W.P. e Del Tredici, K. 2003 - Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *Journal of Neural Transmission*, v. 110, p. 517-536.
- Corrêa, M.P. 1984 - *Dicionário das plantas úteis do Brasil*. volume V, p.246. Ministério da Agricultura, IBDF.
- Deumens, R.; Blokland, A. e Prickaerts, J. 2002 - Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Experimental Neurology*, v. 175, p. 303-317.
- Grover, J.K.; Rathi, S.S. e Vats, V. 2002 - Amelioration of experimental diabetic neuropathy and gastropathy in rats following oral administration of plant (*Eugenia jambolana*, *Mucuna pruriens* and *Tinospora cordifolia*) extracts. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 40, p. 273-276.
- Hurley, M.J.; Mash, D.C. e Jenner, P. 2000 - Adenosine A2A receptor mRNA expression in Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, v. 291, p. 54-58.
- Hussain, G. e Manyam, B.V. 1997 - *Mucuna pruriens* proves more effective than L-Dopa in Parkinson's disease animal model. *Phytotherapy Research*, v.6, p.419-423.
- Kasture, S.; Pontis, S.; Pinna, A.; Schintu, N.; Spina, L.; Longoni, R.; Simola, N.; Ballero, M. e Morelli, M. 2009 - Assessment of symptomatic and neuroprotective efficacy of *Mucuna pruriens* seed extract in rodent models of Parkinson's disease. *Neurotoxicity Research*, v. 15, p. 111-122.
- Katzenschlager R.; Evans A. e Manson, A. 2004 - *Mucuna pruriens* in Parkinson's disease: A double blind clinical and pharmacological study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, v. 75, p. 1672-1677.
- Kim, Y.S.; Joo, W.S.; Jin, B.K.; Cho, Y.H.; Baik, H.H. e Park, C.W. 1998 - Melatonin protects against 6-OHDA-induced neuronal death of nigrostriatal dopaminergic system. *Neuroreport*, v. 9, p. 2387-2390.
- Lang, A.E. e Lozano, A.M. 1998 - Parkinson's Disease. *New England Journal of Medicine*, v. 339, p. 1044-1053.
- Lieu, C.A.; Kunselman, A.R.; Manyam, B.V.; Venkiteswaran, K. e Subramanian, T. 2010 - A water extract of *Mucuna pruriens* provides long-term amelioration of parkinsonism with reduced risk for dyskinesia. *Parkinsonism & Related Disorders*, v. 16, p. 458-465.
- Manyam, B.V. 1990 - Paralysis agitans and levodopa in "Ayurveda" ancient Indian medical treatise. *Movement Disorders*, v. 5, p. 47-48.
- Manyam, B.V.; Dhanasekaran, M. e Hare, T.A. 2004a - Neuroprotective effects of the antiparkinson drug *Mucuna pruriens*. *Phytotherapy Research*, v. 18, p.706-712
- Manyam, B.V.; Dhanasekaran, M. e Hare, T.A. 2004b - Effect of antiparkinson drug HP-200 (*Mucuna pruriens*) on the central monoaminergic neurotransmitters. *Phytotherapy Research*, v. 18, p. 97-101
- Pathan, A.A.; Mohan, M.; Kasture, A.S. e Kasture, S.B. 2011 - *Mucuna pruriens* attenuates haloperidol-induced orofacial dyskinesia in rats. *Natural Product Research*, v. 25, p. 764-771.
- Paxinos, G. e Watson, C. 1986. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 2ª edição. Academic Press, Nova York.
- Rathi, S.S.; Grover, J.K.; Vikrant, V. e Biswas, N.R. 2002- Prevention of experimental diabetic cataract by Indian Ayurvedic plant extracts. *Phytotherapy Research*, v. 16, p. 774-777.
- Rajeshwar, Y.; Gupta, M. e Mazumder, U.K. 2005 - In vitro lipid peroxidation and antimicrobial activity of *Mucuna pruriens* seeds. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, v. 4, p. 32-35.
- Richardson, J.P.; Kase, H. e Jenner, P.G. 1997 - Adenosine A2A receptor antagonists as new agents





for the treatment of Parkinson's disease. *Trends in Pharmacological Science*, v.18, p. 338-344.

Spencer, J.P.; Whiteman, M.; Jenner, P. e Halliwell, B. 2002 - 5-s-Cysteiny-conjugates of catecholamines induce damage, extensive DNA base modification and increases in caspase-3 activity in neurons. *Journal of Neurochemistry*, v. 81, p.122-129.

Tharakan, B.; Dhanasekaran, M.; Mize-Berge, J. e Manyam, B.V. 2007- Anti-Parkinson botanical *Mucuna*

pruriens prevents levodopa induced plasmid and genomic DNA damage. *Phytotherapy Research*, v. 21, p. 1124-1126.

Tripathi, Y.B. e Upadhyay, A.K. 2002- Effect of the alcohol extract of the seeds of *Mucuna pruriens* on free radicals and oxidative stress in albino rats. *Phytotherapy Research*, v. 16, p. 534-8.

Vidal, N.M. e Silva-López, R.E. 2010 - *Mucuna pruriens* (L.) DC (Leguminosae). *Revista Fitos*, v. 5, p. 34-42.



Exploração de Bioativos: Parcerias e Patentes

Exploitation of Bioactive: Partnerships and Patents

¹Ingrid E.M. Gutiérrez, ¹Aristóteles Góes-Neto

¹Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Transnordestina, s/n - Bairro Novo Horizonte. Feira de Santana-BA, CEP 44036-336

*Correspondência: email: far_gutierrez@yahoo.com.br

Palavras chave:

Fitoterápicos; Pesquisa e Desenvolvimento; Empresa; Universidade; Farmácia; Prospecção Tecnológica

Keywords:

Herbal medicines; Research and Development; Company; University; Pharmacy; Forecasting

Resumo

Este estudo objetivou avaliar o nível de parcerias e patentes brasileiras acerca de produtos naturais no setor empresarial e acadêmico, e então relacioná-lo com o panorama de investimentos e recursos humanos destinados a área de Química, Farmácia e Biotecnologia no país, que são imprescindíveis para as atividades de bioprospecção com o objetivo de descobrir princípios ativos de interesse para a saúde humana a partir da biodiversidade. O levantamento foi realizado nos bancos públicos de patentes do Brasil, Estados Unidos e Europa e nos sites dos órgãos de fomento à pesquisa e recursos humanos no país. Fica evidente a necessidade de incentivarmos a cultura da patenteabilidade por parte da academia e empresa nacionais, no tocante a produtos e processos advindos da biodiversidade, tornando-se imprescindível uma mudança brusca na atual legislação que regulamenta o seu acesso, assim como uma maior aproximação do setor empresarial com o acadêmico.

Abstract

This study aimed to evaluate the level of partnerships and Brazilian patents on herbal drugs in the business sector and university, and then list it to the investment outlook for human resources and the Chemistry, Pharmacy and Biotechnology in the country, which are essential to bioprospecting activities in order to discover the active ingredients of concern to human health from biodiversity. The survey was conducted in patent public banks in Brazil, the United States and Europe and on the websites of agencies that support research and human resources in the country. It is evident the need for awareness of patentability by the academy and national firms, with regard to products and processes arising from biodiversity, making it essential to a sudden change in current laws governing your access, as well as a closer in the business sector with academia.



Introdução

A Associação Brasileira de Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde (ABIFISA) estima que o mercado de fitoterápicos no país cresça algo em torno de 12% ao ano. O percentual pode ser considerado baixo diante da relação da indústria nacional de medicamentos e da megadiversidade do país, e, dessa forma o país deixa de gerar US\$ 5 bilhões anualmente (Acesso, 2010).

O primeiro caso de um fitoterápico genuinamente brasileiro é o Acheflan®, lançado no mercado em 2005 devido ao grande investimento em P&D pela maior indústria farmacêutica nacional, o Achê Laboratório, em parcerias realizadas com grandes instituições de pesquisa do sul e sudeste do país (Natercia, 2005). É sabido que a maioria dos fitoterápicos comercializados é de plantas validadas em países estrangeiros e quando fabricados no país a matéria-prima muitas vezes é importada. Uns dos inúmeros gargalos que explicam esse fato são as dificuldades criadas pela atual regulamentação ao acesso à biodiversidade no país (Brasil, 2001). A longa tramitação para ser aprovado o pedido de autorização ao acesso acaba impossibilitando o pesquisador de realizar suas atividades de pesquisa ou de bioprospecção, levando muitos dos pesquisadores a optarem por trabalhar na irregularidade (Marques, 2011).

Assim, principalmente devido à necessidade de inserção do Brasil nas estratégias da OMS sobre medicina tradicional e à necessidade do conhecimento dos componentes da nossa biodiversidade, ações recentes por parte do governo foram tomadas, como exemplo a criação das políticas públicas para plantas medicinais e fitoterápicos (Brasil, 2006, 2008), que favorece o desenvolvimento desses medicamentos para a Atenção Básica em Saúde (Boorhem, 2010); a política nacional da biodiversidade (Brasil, 2002), que relata os componentes básicos para a demanda relacionada à biodiversidade em ciência e tecnologia do país: conhecimento, conservação e utilização sustentável de seus componentes (Marinoni e Peixoto, 2010); assim como a criação recente da Lei de Inovação (Brasil, 2004), que surge como um instrumento institucional relevante para apoiar as políticas industrial e tecnológica no Brasil (Matias-Pereira e Kruglianskas, 2005).

A Lei de Inovação contempla diversos mecanismos de apoio e estímulo à constituição de alianças estratégicas e ao desenvolvimento de projetos cooperativos entre universidades, institutos tecnológicos e empresas nacionais (Brasil, 2004), o que favorece o desenvolvimento do mercado de fitoterápicos no país.

O compartilhamento de propriedade intelectual acadêmica/empresarial é cada vez mais emitente à medida que a pesquisa e as publicações científicas aderem-se ao novo conceito de acesso aberto, no qual ocorre a socialização de experiências, informações e idéias sobre um determinado assunto (Tapscott e Williams, 2007). Diferindo do clássico modelo de inovação fechada, onde a área de P&D busca encontrar soluções através dos próprios esforços, sem uma interação com outros agentes externos – colaboradores voluntários, comunidades e redes de inovação. O conceito de inovação aberta, proposto em 2003 por Henry Chesbrough, pressupõe que as empresas possuem suas fronteiras permeáveis às idéias e ao capital humano externo, explorando, assim, o poder da genialidade, da competência coletiva, aumentando a eficiência dos seus investimentos em P&D, consequentemente ganhando competitividade no mercado (Huizingh, 2011).

Dentre as empresas de alta tecnologia propícia para a inserção da inovação aberta na sua gestão, destaca-se a Indústria Farmacêutica (Bianchi et al., 2011), pois dificilmente uma só entidade será capaz de fornecer todo o conjunto de necessidades das empresas participantes do setor, como pesquisa científica e tecnológica, testes clínicos, propriedade intelectual, financiamento, capitalização, manufatura, marketing e distribuição (Judice e Baêta, 2005). Atualmente, o surgimento de colaborações com as áreas biotecnológicas tem beneficiado grandemente o desenvolvimento de insumos e de medicamentos a base de produtos naturais (Fundação Biominas, 2001).

O presente trabalho objetivou realizar uma pesquisa exploratória com relação à capacidade científica e institucional do país nas áreas do conhecimento que se relacionam diretamente com a exploração dos bioativos, assim como avaliar as redes de cooperação entre setor empresarial e acadêmico na área mencionada e realizar a prospecção tecnológica a respeito das preparações medicinais a base de bioativos.

Metodologia

O trabalho baseou-se em uma pesquisa exploratória realizada através do levantamento acerca dos Programas de Pós-graduação, de doutores e projetos de pesquisas na área de Farmácia, Química e Biotecnologia, foram utilizados os sites do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Plataforma Lattes.

Para o levantamento de patentes envolvendo preparações medicinais contendo materiais de constituição





indeterminadas derivados de algas, líquenes, fungos ou plantas, ou derivados dos mesmos, realizou-se uma busca avançada, na quarta semana de dezembro de 2011, nos bancos públicos de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), do *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) e do *European Patent Office* (EPO), através da Classificação Internacional de Patentes (CIP) para o referido grupo - A61K 36/00. E posteriormente analisou-se as empresas que faziam parte da Associação dos Laboratórios Farmacêuticos Nacionais (ALANAC). Entre as empresas associadas listadas, foram verificadas as que trabalhavam diretamente na produção de fitoterápicos e as suas parcerias com instituições de ensino e pesquisa no país. Os dados obtidos foram apresentados na forma de tabelas e gráficos de barras.

Resultados e Discussão

As áreas do conhecimento que se destacam para o desenvolvimento de medicamentos a base de produtos naturais são as de Química, Farmácia e mais recentemente a de Biotecnologia. No Brasil, são registrados atualmente 212 cursos de pós-graduação reconhecidos pela CAPES e 900 projetos de pesquisa apoiados pelo CNPq para as áreas do conhecimento mencionadas (Figura 1). Com relação à distribuição de doutores não foi possível quantificá-los para a área de Biotecnologia, pois a Plataforma Lattes não classifica essa área de conhecimento separadamente das outras. Portanto, vinculados ao setor de ensino superior, existem 4410 doutores na área de Farmácia e Química, prevalecendo a maior parte deles 87,2% (3.845) no setor público (Figura 2A), enquanto que no setor empresarial, apenas 118 doutores estão empregados no país para as mesmas áreas do conhecimento, percebendo-se o número reduzido de farmacêuticos doutores (16) atuantes nesse setor (Figura 2B).

Figura 1 - Número de Projetos de Pesquisa apoiados pelo CNPq e Relação de Cursos de Mestrado Profissional e Acadêmico e Doutorado Recomendados e Reconhecidos pela CAPES na área de Química, Farmácia e Biotecnologia (Fonte: Mapa de Investimentos do CNPq em 21/07/2011 e Relação de Cursos Recomendados e Reconhecidos pela CAPES em 24/08/2011)

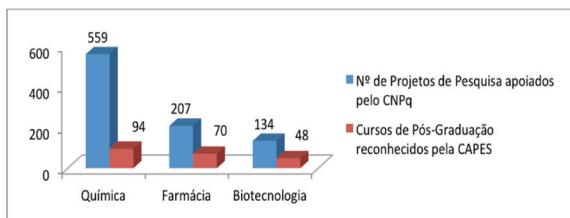
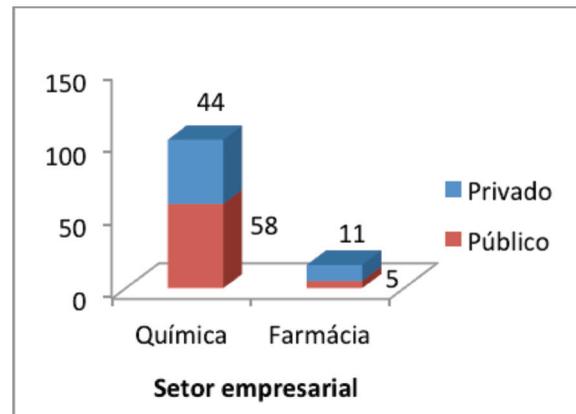
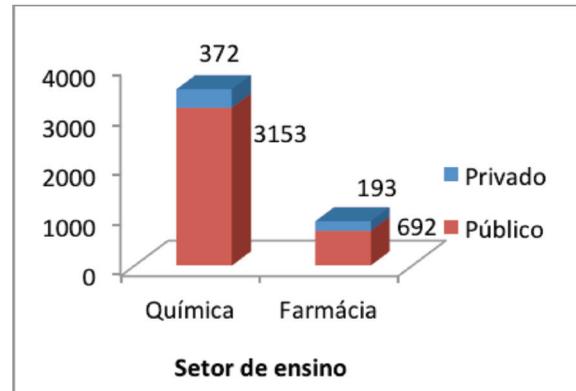


Figura 2 - Número de Doutores distribuídos nas áreas de Química e Farmácia pelo país, (A) no setor de ensino superior e (B) no setor empresarial (Fonte: Estatística da Base de Currículos da Plataforma Lattes – Ranking de Instituições por Área de Atuação em 02/12/2010).



Esses dados justificam a produção científica elevada do país, no entanto não explica o baixo número de patentes nacionais, o que pode ser esclarecido por diversos motivos, dentre eles, a falta de cultura da patenteabilidade e a aversão aos negócios por parte dos pesquisadores brasileiros (Marques e Gonçalves-Neto, 2007).

Com relação ao levantamento de patentes para a CIP A61K 36/00 referente a preparações medicinais contendo materiais de constituição indeterminadas, derivados de algas, líquenes, fungos ou plantas, ou derivados dos mesmos, foram encontradas 68 patentes no INPI, 730 no USPTO e 30.767 no EPO, sendo que das depositadas no INPI, apenas 42,6% são nacionais e as demais patentes são de países estrangeiros, prevalecendo os Estados Unidos com a maior parte, 53,8% dos pedidos dentre os países estrangeiros (dados não mostrados). Vale ressaltar que a atualização desses bancos públicos de patentes é semanal.

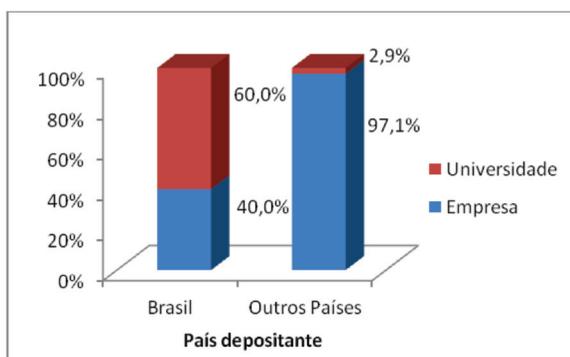
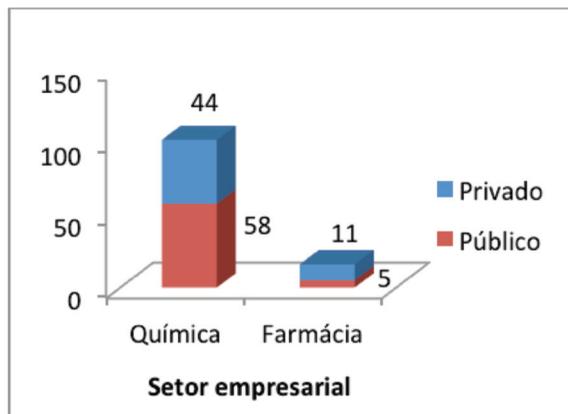




Percebe-se que a maioria das titularidades das patentes estrangeiras no INPI, para a referida CIP, pertence à pessoa jurídica (87,2%), enquanto que as brasileiras são depositadas a maioria por pessoa física (65,5%), geralmente pesquisadores de universidades (Figura 3A). De acordo a Lei de Propriedade Industrial, quando a instituição deixa de ser a titular da patente, ela perde o direito de explorar e comercializar o objeto da patente, dessa forma, diversas são as desvantagens para ambas as partes, as instituições perdem visibilidade frente às outras instituições e órgãos de fomento, e, os pesquisadores dificilmente conseguirão arcar sozinhos com os custos do depósito da patente (Brasil, 1996).

Com relação às patentes de titularidade de pessoa jurídica, a maior parte delas é depositada por empresas (97,1%) nos países desenvolvidos, enquanto que no Brasil a maioria é depositada pelas universidades (60%) (Figura 3B). Esses dados mostram a necessidade de as empresas brasileiras investirem mais em pesquisa e inovação.

Figura 3 - Porcentagem de patentes depositadas no INPI para o grupo A61K 36/00, distribuídas segundo a sua titularidade, se pessoa física ou jurídica (A) e quando pessoa jurídica, se universidade ou empresa (B), tanto para patentes nacionais quanto para de outros países (Fonte: INPI 21/12/2011).



Para as 29 patentes nacionais depositadas no INPI, a região sudeste detém a titularidade da maioria delas (55,2%) (Figura 4), sendo o estado de São Paulo o maior depositante no país, enquanto que para a região norte nenhuma patente foi encontrada e no nordeste apenas duas para a referida CIP (Figura 5).

Figura 4 – Porcentagem de patentes nacionais depositadas no INPI para o grupo A61K 36/00, distribuídas segundo a região do país depositante (Fonte: INPI 21/12/2011).

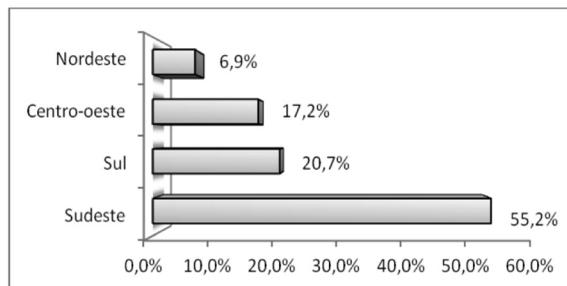
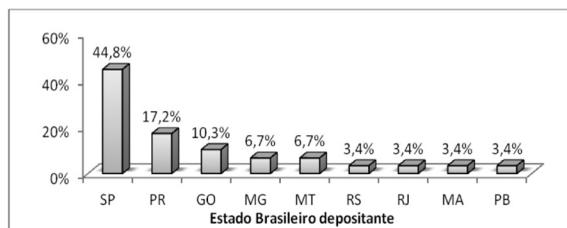


Figura 5 – Porcentagem de patentes nacionais depositadas no INPI para o grupo A61K 36/00, distribuídas segundo o estado brasileiro depositante (Fonte: INPI 21/12/2011).



Estudos de mapeamento de patentes são ferramentas de prospecção tecnológica que são capazes de influenciar de forma significativa uma indústria, a economia ou a sociedade como um todo (Serafini, Silva e Araujo, 2011). Uma vez que a propriedade intelectual é necessária no aproveitamento do potencial para o desenvolvimento econômico de um país (Sahoo, Manchikanti e Dey, 2011).

O fato é que, o Brasil possui grande parte da sua biodiversidade inexplorada e enorme potencial na geração de produtos e processos que podem ser patenteáveis na área de produtos naturais. Apesar do processo de proteção e comercialização das criações de pesquisas nacionais terem sido estimuladas por políticas recentes (Oliveira e Velho, 2009), é necessário que as universidades e empresas brasileiras atem para a importância da utilização de patentes como instrumento competitivo frente ao mercado globalizado (Ferreira, Guimarães e Contado, 2009).





Por conta disso, a associação de esforços e competências para a promoção da cadeia produtiva farmacêutica de fitoterápicos e plantas medicinais através da inovação aberta, tornou-se ponto estratégico no modelo de negócios de diversas indústrias e empresas farmacêuticas.

Através da lista de associados da ALANAC foi possível detectar 30 empresas farmacêuticas cadastradas, sendo que 10 estão envolvidas na produção de medicamentos de origem vegetal (Tabela 1), produzindo ao todo 38 fitoterápicos, simples ou em associação, não sendo contabilizado suas diferentes formas de apresentação. Diante desse levantamento, percebe-se a pequena lista de empresas cadastradas, o que não supre os 500 fitoterápicos registrados na ANVISA no ano de 2010 (Brandão, 2011), ficando evidente a dificuldade de organização da categoria dificultando assim a análise desse importante setor de mercado no país.

Tabela 1 – Relação das empresas produtoras de fitoterápicos no país, associadas a ALANAC, e suas respectivas parceiras com instituições de pesquisa.

Empresa (Matriz)	Universidades Parceiras
Apsen (São Paulo-SP)	NI
Biolab (São Paulo-SP)	NI
Brasterápica (Atibaia-SP)	NI
Geolab (Anápolis-GO)	NI
Kley Kertz (Porto Alegre-RS)	NI
Hypermarcas (Barueri-SP)	NI
Luper (Bragança Paulista-SP)	NI
Natulab (Sto Antônio de Jesus-BA)	UEFS, UFRB, UNIBAN e FAMAM
Hebron (Caruaru-PE)	UFC, UFRN, UFPB, UFPE, UFAL, UFBA, UFRJ, UNIFESP, UPE, USP, UNICAMP
TKS (Goiânia-GO)	UFGO; UNB; IGTF

NI – não informado as instituições em parcerias.

Diante dessa dificuldade, outro banco de dados, a Plataforma Lattes, foi utilizado para a busca de empresas farmacêuticas, no qual foram listadas 10 empresas privadas com vinculação de doutores farmacêuticos, destacam-se a YBIOS e a NATURA, ambas localizadas em São Paulo, por desenvolverem produtos inovadores a partir da biodiversidade através da elaboração e gestão de projetos em parcerias, seja para o aporte de recursos financeiros ou intelectuais.

A distribuição geográfica das indústrias nacionais produtoras de fitoterápicos, assim como dos estados

brasileiros depositantes de patentes referentes à CIP A61K 36/00, refletem exatamente a maior capacidade de investimentos em termos de infra-estrutura, produção científica e recursos humanos nas instituições de pesquisa da região sudeste do país.

Destacamos a necessidade dos países em desenvolvimento incentivarem as atividades de bioprospecção através das pesquisas realizadas em parceria com o setor acadêmico, empresarial e governamental, minimizando assim as perdas advindas das ações de biopirataria que sofrem pelos países desenvolvidos. Sendo necessário para isso o combate a falta de cultura no país com relação à patenteabilidade em produtos naturais, evidenciada nesse trabalho, uma vez que o número de patentes na área não reflete o potencial da flora brasileira e muito menos a capacidade institucional e científica instalada no país. Nesse sentido é necessário repensarmos em desburocratizar a atual legislação de acesso à biodiversidade, assim ficará mais fácil desvendar o real potencial químico da flora nacional, o que permite alavancar a exploração de novos nichos no setor de mercado de produtos naturais.

Referências

Acesso Mercado e Políticas Públicas de Medicamentos. *Questões burocráticas e falta de recursos para inovação causam entraves à produção nacional de medicamentos fitoterápicos*. 16 jun. 2010. Disponível em: <http://abifisa.org.br/noticias_ver.asp?news=3619>. Acesso em: 22 nov. 2010.

Bianchi, M.; Cavaliere, A.; Chiaroni, D.; Frattini, F. e Chiesa, V. 2011 - Organisational modes for Open Innovation in the bio-pharmaceutical industry: An exploratory analysis. *Technovation*, v.31, n.1, p.22-33.

Boorhem, R.L. 2010 - Normas recentes e as políticas para fitoterápicos e fitoterapia no Brasil. *Revista Fitos*, v.4, n. 2, p.18-20.

Brandão, A. 2011 - Fitoterapia, com certeza. *Pharmacia Brasileira*, n.81, p.22-28.

Brasil 1996 - Lei nº 9.279, de 14 de maio de 1996. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial. Brasília, DF, 1996.

Brasil 2001 - MP nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001. Dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado, a repartição de benefícios e o acesso à



tecnologia e a transferência de tecnologia para sua conservação e utilização, e dá outras providências. Brasília, DF, 2001.

Brasil 2002 - Decreto nº 4.339, de 22 de agosto de 2002. Institui princípios e diretrizes para a implementação da Política Nacional da Biodiversidade. Brasília, DF.

Brasil 2004 - Lei nº 10.973, de 02 de dezembro de 2004. Dispõe sobre incentivos à inovação e à pesquisa científica e tecnológica no ambiente produtivo e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 03 dez. 2004. Seção 1, p. 2-4.

Brasil 2006 - Ministério da Saúde, Brasil. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos - PNPMP. Brasília, DF.

Brasil 2008 - Ministério da Saúde, Brasil. Portaria interministerial nº. 2.960, de 9 de dezembro de 2008. Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília, DF.

Ferreira, A.A.; Guimarães, E.R. e Contado, J.C. 2009 - Patente como instrumento competitivo e como fonte de informação tecnológica. *Gestão & Produção*, v.16, n.2, p. 209-221.

Fundação Biominas. 2001 - Parque Nacional de Empresas de Biotecnologia. Belo Horizonte, dez. 2001. 72 p. Disponível em: < http://www.anbio.org.br/pdf/2/mct_parque_nacional_empresas.pdf> Acesso em: 15 maio 2011.

Huizingh, E.K.R.E. 2011 - Open innovation: State of the art and future perspectives. *Technovation*, v.31, p.2-9.

Judice, V.M.M. e Baêta, A.M.C. 2005 - Modelo Empresarial, Gestão de Inovação e Investimentos de Venture Capital em Empresas de Biotecnologia no Brasil. *Revista de Administração Contemporânea*, v.9, n.1, p. 171-191.

Marinoni, L. e Peixoto, A.L. 2010 - As coleções biológicas como fonte dinâmica e permanente de conhecimento sobre a biodiversidade. *Ciência e Cultura*, v. 62, n.3, p.54-57.

Marques, R. e Gonçalves-Neto, C. 2007 - The Brazilian system of innovation in biotechnology: a preliminary study. *Journal of Technology Management & Innovation*, v.2, n.1, p.55-63.

Marques, F. 2011 - Emaranhado Burocrático. *Pesquisa Fapesp*, n.179, p.28-33.

Matias-Pereira, J. e Kruglianskas, I. 2005 - Gestão de inovação: a lei de inovação tecnológica como ferramenta de apoio às políticas industrial e tecnológica do Brasil. *RAE-eletrônica*, v.4, n.2, Art.18.

Natercia, F. 2005 - Parcerias e inovação impulsionam setor farmacêutico. *Inovação Uniemp*, v.1, n.3, p.32-37.

Oliveira, R.M. e Velho, L. 2009 - Benefícios e riscos da proteção e comercialização da pesquisa acadêmica: uma discussão necessária. *Ensaio: avaliação e políticas públicas em educação*, v.17, n.62, p.25-54.

Sahoo, N.; Manchikanti, P. e Dey, S.H. 2011 - Herbal drug patenting in India: IP potential. *Journal of Ethnopharmacology*, v.137, n. 1, p.289-297.

Serafini, M.R.; Silva, G.F. e Araujo, A.A.S. 2011 - Prospecção tecnológica: *Morinda citrifolia* e indústria farmacêutica. *Revista GEINTEC*, n. 1, v. 1, p. 22-31.

Tapscott, D. e Williams, A.D. 2007 - Os Novos Alexandrinos. In: Tapscott, D. e Williams, A.D. *Wikinomics: como a colaboração em massa pode mudar o seu negócio*, p.189-226. Nova Fronteira, Rio de Janeiro.

Pesquisa e Desenvolvimento de Fitoterápicos: Relatos de Experiência em Indústria Farmacêutica Nacional

Research and Development of Phytomedicines: Report of Experience on a Brazilian Pharmaceutical Company

¹Luis C. Marques e ²Carlos M. Souza

¹Universidade Bandeirante de São Paulo - Mestrado Profissional em Farmácia, Rua Maria Cândida 1813, 5º andar, Vila Guilherme. São Paulo – SP, CEP 02071-013,

²Herboflora Produtos Naturais Ltda., Av. Angélica, 2632 - Cj. 74, Higienópolis. São Paulo – SP CEP 01228-200

*Correspondência: e-mail: luis.marques08@hotmail.com

Palavras chave:

Pesquisa e desenvolvimento; isoflavona aglicona; incenso; garra do diabo; óleo de hortelã-pimenta; barbatimão.

Keywords:

Research and development; aglycon soy; frankincense; devil's claw; peppermint oil; barbatimao.

Resumo

Relata-se experiência profissional de cinco anos em uma empresa farmacêutica brasileira. Nesse período, montou-se uma equipe técnica e buscou-se o desenvolvimento de uma linha fitoterápica a partir de literatura científica, aproveitamento de estudos nacionais já realizados bem como com ajustes de pesquisas internacionais ao padrão regulatório brasileiro. Como resultados desta atividade profissional foram desenvolvidos cinco fitoterápicos: cápsulas duras com extrato de isoflavonas agliconas de soja (*Glycine max*), resultado de parceria com outra empresa e universidade; comprimidos de extrato padronizado de incenso (*Boswellia serrata*) indicados em patologias inflamatórias intestinais; comprimidos de extrato padronizado de garra do diabo (*Harpagophytum procumbens*) indicados em patologias reumáticas; cápsulas gelatinosas moles com óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) recomendadas na fase espástica da síndrome do intestino irritável; e, por fim, pomada com extrato padronizado das cascas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) indicada como cicatrizante em escaras de graus I e II. Apesar das dificuldades e complexidade de cumprimento dos requisitos da cadeia de pesquisa e desenvolvimento, o presente relato mostra ser possível esta atividade, com geração de produtos fitoterápicos seguros, eficazes e de qualidade compatível com as exigências regulatórias nacionais e internacionais.

Abstract

It is reported five years of professional experience in a Brazilian pharmaceutical company. During this period, was set up a technical team and we sought to develop a line of phytomedicines from scientific literature, use of national studies already made adjustments as well as international research at the Brazilian regulatory standard. As a result of this professional activity included five herbal drugs: hard capsules with the extract of soy aglycones isoflavones in interaction with other company and university; tablets standardized extract of frankincense (*Boswellia serrata*) indicated in inflammatory bowel diseases; tablets of standardized extract of devil's claw (*Harpagophytum procumbens*) given in rheumatic diseases; soft gelatin capsules with essential oil of peppermint (*Mentha piperita*) recommended in spastic phase of irritable bowel syndrome; and finally ointment with standardized extract from the bark of barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) as indicated in healing of decubitus ulcers stages I and II. Despite the difficulties and complexity of compliance with the requirements of the chain of research and development, this report shows that activity is possible, with the generation of herbal products with safe, effective and quality levels compatible with the national and international regulatory requirements.



Introdução

A natureza tem sido uma fonte inesgotável de substâncias químicas importantes à vida humana, fornecendo alimentos, corantes, ingredientes cosméticos, bem como sendo imprescindível na área de medicamentos. Assim, há inúmeros casos relevantes como substâncias farmacologicamente ativas e amplamente presentes em medicamentos, como a digoxina, morfina, taxol, dentre inúmeros outros exemplos; e como medicamentos fitoterápicos destacam-se os à base de extratos clássicos de *Panax ginseng*, *Valeriana officinalis*, *Ginkgo biloba*, etc. e mais recentemente medicamentos à base das espécies *Pelargonium sidoides*, *Hedera helix*, *Petasites hybridus*, dentre outros (Marques, 2010).

O Brasil tem algumas poucas espécies relevantes nesse cenário de desenvolvimento farmacêutico, como os casos das espécies ipeca e jaborandi, as sementes do guaraná e mais recentemente, a partir do impulso gerado pelo financiamento do programa de plantas medicinais da extinta Central de Medicamentos nos anos 1980, consolidaram-se algumas espécies genuinamente nacionais como a espinheira-santa e o guaco.

Esse cenário, no entanto, tem se modificado, embora lentamente, com a participação de empresas farmacêuticas modernas (Mukherjee e Houghton, 2009), frente a novas áreas sendo abertas, como a inclusão da fitoterapia no Sistema Único de Saúde e o envolvimento de novos prescritores, como tem ocorrido com os profissionais nutricionistas (Brasil, 2006a; CFN, 2007).

Dados de Mercado

O mercado mundial de medicamentos derivados de plantas é estimado para de cerca de 26 bilhões de dólares em 2011 (Saklani e Kutty, 2008), valor que representa apenas cerca de 3% do mercado global de medicamentos. Ao mercado brasileiro estima-se uma participação de cerca de 2,5% do valor mundial, projetando-se um faturamento na faixa de R\$ 1,0 bilhão (Carvalho et al., 2008).

De modo similar ao mercado farmacêutico sintético, também o segmento fitoterápico é concentrado em algumas empresas e produtos; assim, apresentam-se na tabela 1 os valores dos vinte principais produtos do mercado brasileiro pelo faturamento no ano de 2006, responsáveis por mais de 67% do faturamento global do segmento (Freitas, 2007).

Tabela 1 - Ranking dos vinte principais fitoterápicos do mercado brasileiro e seu faturamento em percentual e em reais, no ano de 2006.

Rk	Produto	%	milh/R\$	Rk	Produto	%	milh/R\$
1º	Tamarine	13,85	74,8	11º	Vecasten	2,29	12,4
2º	Eparema	6,37	34,4	12º	Tanakan	2,04	11,0
3º	Naturetti	6,06	32,7	13º	Equitam	1,90	10,3
4º	Tebonim	4,55	24,6	14º	Giamebil	1,81	9,8
5º	Plantaben	4,24	22,9	15º	Serenus	1,72	9,3
6º	Abrilar	3,39	18,3	16º	Novarrutina	1,68	9,1
7º	Metamucil	3,21	17,3	17º	Valeriane	1,68	9,1
8º	Pasalix	3,19	17,2	18º	Climadil	1,53	8,3
9º	Passiflorine	2,57	13,9	19º	Calman	1,52	8,2
10º	Maracugina	2,45	13,2	20º	Hemovirtus	1,41	7,6
20 principais produtos				Faturamento de 67,4%			
Demais produtos (± 340)				Faturamento de 32,6%			

Fonte: Adaptado de Freitas (2007)





Desse quadro, destaca-se o espaço ocupado por produtos laxativos, com o 1º, 3º e 5º lugares, e pelos ansiolíticos, os quais respondem, respectivamente, por 27,4% e 13,1% do total do mercado fitoterápico nacional, com mais de 200 milhões de reais de faturamento. A presença de um produto para problemas hepatobiliares é igualmente marcante, com a 2ª colocação e excelente faturamento, bem como também os produtos à base de extratos de *Ginkgo biloba*, para insuficiência venosa cerebral, e, por fim, apenas um produto para infecções das vias respiratórias e outro de ação fito-hormonal.

Assim, apesar da indiscutível predominância de espécies exóticas no mercado brasileiro, já é visível a presença de iniciativas em P&D com plantas nativas. O medicamento Giamebil®, produzido a partir de extratos da espécie *Mentha crisper* L. para parasitoses intestinais, é certamente o fitoterápico pioneiro do mercado brasileiro, desenvolvido por interação universidade - empresa na região nordeste do país, contando com um faturamento expressivo na casa dos 10 milhões de reais por ano (Marques, 2010).

Apesar dessas iniciativas, uma das grandes dificuldades nesta área de P&D sempre foi o mito do alto custo do desenvolvimento de medicamentos, que é frequentemente colocado com base em produtos sintéticos no padrão extremo de sofisticação e estimado na casa dos 800 milhões de dólares (Calixto e Siqueira Jr., 2008; European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations, 2011), o que seria praticamente impeditivo para a maioria das empresas farmacêuticas nacionais. Esse valor mitificado, no entanto, tem sido desconstruído por vários segmentos e colocado em níveis bem mais acessíveis. Nesse sen-

tido, Kandil (2004), um pesquisador do mundo árabe, comenta sobre este tema:

“O exagero no custo do desenvolvimento de medicamentos serve aos interesses internacionais de duas formas: para justificar os altos preços de seus medicamentos e para desencorajar companhias farmacêuticas de países em desenvolvimento a investir na descoberta de novos medicamentos devido aos custos proibitivos” (Kandil, 2004, p. 544).

A experiência brasileira recente de desenvolvimento de um produto anti-inflamatório tópico à base do óleo essencial da espécie *Cordia verbenaceae* (Acheflan®), embora de fato não seja o primeiro fitoterápico genuinamente nacional como se apregoa, tem relevância tanto pela qualidade da suas pesquisas quanto pelo exemplo concreto do custo real de um desenvolvimento nacional. De fato, o valor investido nas pesquisas desse produto tem sido divulgado na faixa de R\$ 15 milhões e executado no prazo de 7 anos (FENAFAR, 2010), muito abaixo do valor estratosférico citado anteriormente, e que necessita ser eliminado dos discursos dos formadores de opinião desta área por ser equivocado e politicamente manipulado, constituindo um desserviço ao esforço nacional na área de pesquisa e desenvolvimento de medicamentos.

Desse modo, a pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos parecem ser possíveis a qualquer empresa farmacêutica a custos reais e acessíveis. Exemplos de desenvolvimentos nacionais recentes têm confirmado esse conceito (Tabela 2) e constituem-se em fatores de estímulo a que novas empresas adentrem a esse campo inovador.

Tabela 2 - Produtos fitoterápicos genuinamente nacionais desenvolvidos nos últimos anos e seu respectivo faturamento.

Produto	Espécie	Forma Farmacêutica	Unidades	Us\$ milhões
Giamebil	<i>Mentha crisper</i>	comprimidos	487.000	4,6
Acheflan	<i>Cordia verbenaceae</i>	creme	479.000	3,7
Acheflan	<i>Cordia verbenaceae</i>	aerosol	195.000	1,5
Kronel	<i>Schinus terebenthifolius</i>	sabão líquido	400.000	3,3
Imunomax	<i>Uncaria tomentosa</i>	gel labial	11.000	0,4
Kronel	<i>Schinus terebenthifolius</i>	gel vaginal	50.000	0,4

Fonte: IMS, 2004.





Uma contribuição efetiva para esses desenvolvimentos tem sido a construção do marco regulatório fitoterápico brasileiro, iniciado em 1995 com a Portaria SVS nº 6 e seqüenciado com as Resoluções Anvisa RDC 17 de 2000, RDC 48 de 2004 e a atual RDC 14 de 2010. Em todos esses atos, o fitoterápico foi estabelecido no Brasil como medicamento com adaptação das exigências às peculiaridades técnicas dessa classe e também com algumas flexibilidades importantes, como o conceito de tradicionalidade via lista positiva ou pontuação por literaturas recomendadas (Carvalho et al., 2007).

Aproximação com o Segmento Farmacêutico

A atividade profissional voltada à P&D e com foco em produtos de mercado (Marques, 1992, 1998) levou à aproximação com empresas farmacêuticas interessadas em ocupar esses espaços para produtos inovadores.

Uma empresa farmacêutica nacional propôs consultoria a um dos autores no ano de 2003, inicialmente de forma pontual, seguida por um contrato fixo mensal. Nesse período, foi possível consolidar na prática a parceria envolvendo profissional da academia e empresas farmacêuticas, um fato desejado, mas raramente efetivado. Essa consolidação se concretizou na oferta para compor um cargo criado na estrutura administrativa da empresa, denominado Diretoria de Assuntos Fitoterápicos a partir de janeiro de 2004.

Como primeira medida, montou-se uma equipe técnica com a contratação de dois outros farmacêuticos, ambos com experiência anterior em empresas fabricantes e distribuidoras de extratos e de plantas para chás alimentícios. O passo seguinte foi a definição dos caminhos para a ousada tarefa de desenvolver produtos inovadores e criar uma linha fitoterápica numa empresa farmacêutica nacional. Assim, definiu-se a seguinte estratégia de pesquisa e desenvolvimento:

- a) aproveitar a literatura nacional e internacional para registro simplificado;
- b) prospectar desenvolvimentos nacionais não aproveitados industrialmente;
- c) ajustar ofertas internacionais ao padrão regulatório brasileiro.

Desse modo, de 2004 a 2008 foram desenvolvidas várias atividades e registrados cinco fitoterápicos, criando-se, então, a linha Fitomedicina, mostrando ser possível a aproximação universidade - empresa

e o desenvolvimento de fitoterápicos inovadores a custos acessíveis.

Descritivo dos Produtos Desenvolvidos Isoflavona aglicona de soja (*Glycine max* L. – Leguminosae)

Uma das áreas de interesse da empresa era a ginecologia, o que nos levou à busca de produtos para os sintomas do climatério. Os riscos mostrados pelo *Women's Health Initiative Study* (2002) aumentaram a valorização do emprego dos chamados fito-hormônios presentes principalmente na soja e em outras espécies.

Um levantamento de mercado realizado em 2004 mostrou a existência de produtos diversos nessa área, tanto alimentos de várias formas e apresentações, bem como alguns produtos fitoterápicos registrados. No entanto, apesar da presença de marcas de empresas importantes, a comercialização à época era de cerca de 500 mil unidades e US\$ 8 milhões, valores absolutamente abaixo da importância terapêutica desses produtos frente à expectativa do número de pacientes.

Esse perfil parecia relacionar-se à baixa aderência das pacientes à terapêutica com produtos de isoflavona de soja, decorrente de alguma provável heterogeneidade de efeitos. Aprofundando o tema, verificou-se que as isoflavonas, por serem moléculas heterosídicas, necessitam ser digeridas para, então, absorvidas e promoverem os efeitos terapêuticos. Como na idade onde se estabelece o climatério ocorre grande prevalência de quadros de disbiose intestinal (Almeida et al., 2009), as pacientes provavelmente não estavam conseguindo digerir a isoflavona, que acabava sendo eliminada nas fezes, obviamente sem produzir os efeitos esperados.

Esforços para liberação das formas aglicônicas das isoflavonas têm sido feitas, tais como a adição da enzima beta-glicosidase, diminuída nos quadros de disbiose, a extratos de soja. Estudo clínico comparativo do uso de extrato comum versus extrato adicionado de enzima (Isoflavin beta e Isoflavin beta plus – empresa Galena) não mostrou diferenças entre os grupos, mantendo-se a conhecida heterogeneidade de efeitos sobre os sintomas do climatério (Carneiro et al., 2006) e mostrando não ser esse o caminho tecnológico ao problema das isoflavonas.

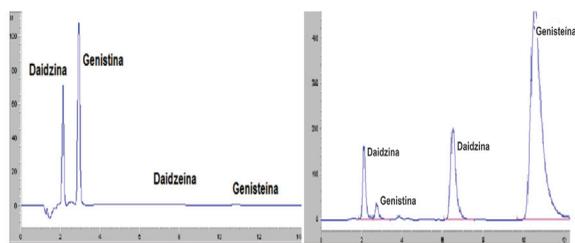
A solução foi, enfim, encontrada num pedido de patente de processo da Universidade de Campinas, envolvendo a hidrólise prévia das moléculas de iso-





flavonas glicosiladas com enzima beta-glicosidase, liberando-se as isoflavonas agliconas diretamente no extrato a ser ingerido (figura 1), evitando-se as deficiências digestivas e garantindo-se, teoricamente, os efeitos clínicos do produto (Park et al., 2001). Essa tecnologia foi depositada como patente e licenciada a uma empresa farmacêutica chamada Steviafarma Industrial, da cidade de Maringá (Bueno, 2004).

Figura 1 - Cromatogramas de extrato glicosilado (esquerda) e de extrato aglicônico (direita), conforme Park e colaboradores (2001).



Assim, buscou-se uma parceria comercial com a empresa licenciante, a qual estava em fase de montagem de equipe de promoção médica para o lançamento do fitoterápico chamado Aglicon-soy®. Desse modo, formalizou-se contrato de promoção e comercialização do produto, que foi lançado na forma de cápsulas de extrato seco padronizado a 40% em isoflavonas, porém garantindo-se ao mesmo, no mínimo, 55% em genisteína, a principal isoflavona aglicônica presente na soja (Figura 2).

Figura 2 - Cartucho da apresentação comercial do produto Aglicon-soy® 60 cápsulas.



Tratava-se de um produto simples, similar a outros existentes em mercado, mas inovador por focar e resolver um problema de absorção, fundamental para o sucesso terapêutico pretendido. Por outro lado, promovia a geração da cadeia produtiva e gerava royal-

ties à universidade e aos pesquisadores envolvidos. Apesar de tal perspectiva, após dois anos de comercialização, por motivos comerciais, houve rompimento do contrato de parceria comercial, retornando o produto Aglicon-soy à empresa Steviafarma Farmacêutica.

Incenso (*Boswellia serrata* Roxb. ex Colebr. – Burseraceae)

O segundo produto da linha Fitomedicina foi registrado com o nome de Védica®. Trata-se de um extrato padronizado da gomo-resina do incenso, espécie *Boswellia serrata* Roxb. ex Colebr. – Burseraceae, milenarmente utilizada na medicina Ayurvédica indiana como produto de ação anti-inflamatória.

Como a empresa atua fortemente na área da proctologia, tendo inclusive um medicamento à base do fármaco sulfasalazina, e tendo em vista a existência de inúmeros estudos comprovando efeitos dessa planta como anti-inflamatório em doenças inflamatórias intestinais, decidiu-se por seu desenvolvimento.

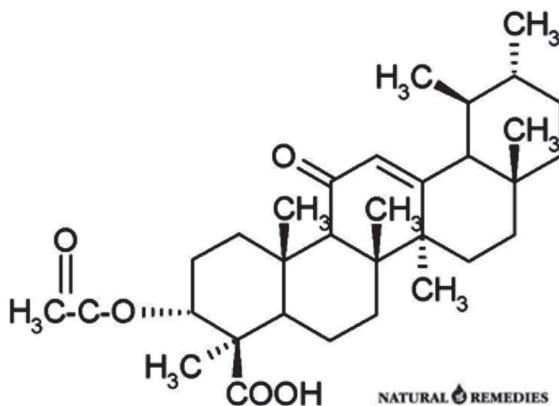
A busca por extratos junto aos importadores mostrou oferta de possibilidades, mas com contradições nas especificações de qualidade das matérias primas. À época, inexistia monografia oficial sobre a gomo-resina que apontasse os requisitos de qualidade a ser seguidos; em vista disso, realizou-se a montagem das especificações a partir da literatura disponível, principalmente a monografia da empresa *Natural Remedies Private Limited* (*Boswellia*, 2001). Relata-se nesse documento a presença nessa droga vegetal de 3-8% de óleos essenciais, 60-70% de resina e 27-35% de gomas; na fração resinosa estão presentes triterpenos pentacíclicos denominados ácidos boswélicos, dos quais destaca-se o ácido 3-acetil-11-ceto-beta-boswellico (AKBA) como marcador e ativo farmacológico principal (Figura 3).

O extrato comercial era adquirido de empresa indiana via distribuidor/importador nacional e a matéria prima vinha padronizada em, no mínimo, 60% de 'ácidos totais'; como tal padronização é absolutamente genérica e também tendo em vista a definição clínica da presença do marcador AKBA em, no mínimo 0,7% (Gupta et al., 1997, 2001), definiu-se por ambas especificações em conjunto (ácidos min. 60% e AKBA min. 0,7%) para os lotes de matéria prima (extrato seco).





Figura 3 - Estrutura química do AKBA – ácido 3-acetil-11-beta boswélico Disponível em: <<http://www.alibaba.com/countrysearch/IN/boswellic-acid>>

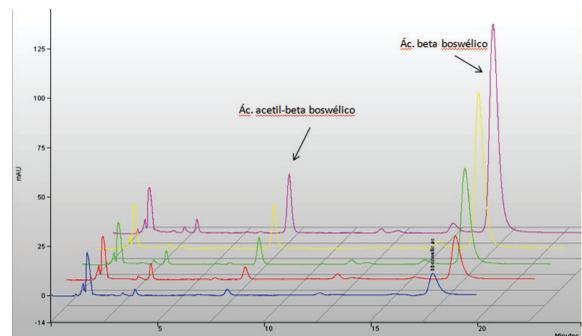


Houve desenvolvimento e validação de metodologia analítica realizada em parceria com a Universidade Federal do Paraná, tanto para método titulométrico de ácidos totais quanto por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando-se a substância AKBA como marcador. A falta de monografia oficial levou ao acréscimo de outra substância (ácido beta boswélico) como um segundo marcador, desenvolvido em paralelo ao primeiro, por ser majoritária no extrato, deixando-se tais dados em reserva, se porventura o órgão regulador exigisse a ampliação do número de marcadores no produto (Figura 4). Tais dados compuseram uma tese de doutorado dessa instituição (Perez, 2009).

Este fitoterápico apresenta um diferencial interessante frente a concorrentes de ação anti-inflamatória, pois seu mecanismo de ação direciona-se à inibição seletiva da enzima 5-lipoxigenase (LOX), inibindo-se desse modo a síntese da classe dos leucotrienos, particularmente o LTB₄ (Ammon, 1996). No contexto atual, onde os inibidores das ciclooxigenases, principalmente da COX2, encontram-se desacreditados por riscos e efeitos adversos graves, produtos que atuam diferentemente tendem a destacar-se.

Figura 4 - Cromatograma de CLAE dos padrões ácido 3-acetil-11-ceto-β boswélico em ~ 7 minutos e o ácido β-boswélico em ~ 17,0 minutos (λ= 210 nm) em curva de calibração a partir de 5 mg em metanol. Condições Cromatográficas: Cromatógrafo Varian 9012 com injetor automático e detector de arranjo de diodos mod. 9065; fase estacionária coluna Varian Res Elut C₁₈, 5 μm, tamanho de poro de 90 Å, 150 mm x 4,6 mm de diâmetro interno, de aço inoxidável; fase móvel: acetonitrila:água 80:20, modo isocrático em 22 min, seguido em

step gradiente para 100% de acetonitrila em 2 min, com fluxo de 1 ml/min. (Peres, 2009).



Extratos de *B. serrata* mostraram-se ainda capazes de promover inibição específica da 5-LOX, sem interferência nas COX e outras LOX, perfil que diminui o risco de efeitos adversos. Além disso, *Boswellia serrata* inibe também a enzima elastase leucocitária, protease dos leucócitos envolvida na destruição crônica de tecidos associada à inflamação, artrite e enfisema, o que lhe permite atribuir potencialidades terapêuticas na área da pneumologia, particularmente na doença pulmonar obstrutiva crônica (Ammon, 1996).

O produto foi finalizado na forma de comprimidos com 350 mg de extrato seco, que fornecem 2,45 mg de AKBA/comprimido (figura 5). Os estudos clínicos recomendam a administração de 3 comprimidos ao dia junto às refeições e estas preferencialmente com alimentos gordurosos, o que promove maior absorção dos ativos (Sterk et al., 2004).

Em termos de contra-indicações e reações adversas, o extrato de *B. serrata* é contra-indicado na gravidez e amamentação, podendo promover gastrite e refluxo gastroesofágico, queimação retroesternal, náuseas, flatulência abdominal, dor epigástrica, anorexia e dermatite.



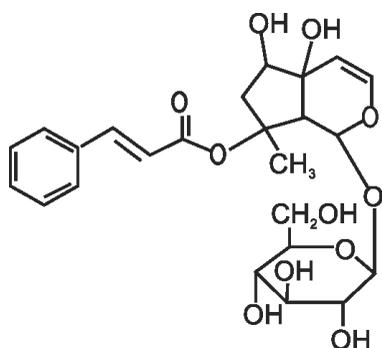


Portanto, entende-se ser a gomo-resina de *B. serrata* um fitoterápico de grande potencial; apresenta densa tradicionalidade em várias regiões, está modernamente estudado, com eficácia comprovada em patologias reumáticas e doenças inflamatórias intestinais, além de outras possibilidades terapêuticas a ser completadas. Apresenta mecanismo de ação seletivo e específico (5-LOX e elastase), devendo consolidar-se na fitoterapia brasileira e mesmo mundial.

Garra do diabo (*Harpagophytum procumbens* D.C. - Pedaliaceae)

Este produto foi denominado Arpadol®, correspondendo às raízes tuberosas da espécie popularmente conhecida como 'garra do diabo', nome decorrente do fato de suas sementes serem grandes e espinhosas, equivalente ao que chamaríamos no Brasil de 'carapicho'. É de origem africana, principalmente das regiões da Namíbia e muito presentes no deserto do Kalahari. Trata-se de uma droga vegetal oficial constante de várias farmacopéias, de composição química bastante conhecida, expressa na presença principalmente de iridóides (0,5-3,0%), devendo apresentar no mínimo 1% do iridóide harpagosídeo, o ativo marcador químico e principal agente farmacológico da droga

Figura 6 - Estrutura química da substância harpagosídeo, marcador da droga vegetal garra do diabo (Disponível em: <<http://www.biochemtek.net/html/classdetail.asp?id=101>>).



Avaliando-se o mercado de produtos à base de garra do diabo, nota-se ser um fitoterápico antigo no Brasil, presente em diversos registros no banco de dados da Anvisa; no entanto, é difícil de ser encontrado nas farmácias, não é propagado junto aos prescritores e não aparece nos levantamentos de mercado, evidenciava algum problema interferente na sua evolução em mercado.

O conjunto de estudos disponíveis na literatura sobre esta espécie é denso, com inúmeros estudos pré-clíni-

cos (em edema de pata, formalina, *tail-flick*, etc.) bem como pelo menos 30 estudos clínicos em patologias reumáticas como osteoartrite e lombalgias, sendo 15 revisões sistemáticas. Os estudos mostram eficácia comparada a de fármacos sintéticos usuais, mas principalmente maiores benefícios em termos de segurança, com ocorrência de efeitos adversos leves principalmente gastrointestinais (Stewart e Cole, 2005).

Em termos de mecanismos de ação, parecem ser do tipo misto, com inibição das vias enzimáticas das ciclo e lipooxigenases, supressão da expressão da óxido nítrico sintetase, inibição de citocinas pró-inflamatórias, diminuição do efeito de metaloproteinases, analgesia por redução da PGE₂, bem como também por atividade antioxidante (Chrubasik e Eisenberg, 1999; Fiebich et al., 2001). Portanto, em conjunto, o produto expressa ações anti-inflamatórias, analgésicas e citoprotetoras articulares.

Apesar desse 'padrão ouro' em termos documentais, os produtos à base desta espécie se mostravam clínica e comercialmente insignificantes, situação aparentemente incompatível com seu potencial farmacológico e terapêutico.

O estudo dessa situação levantou a hipótese de problemas de dosagens dos extratos secos. Assim, re- vendo-se cuidadosamente a literatura (ex.: ESCOP, 1997), nota-se a recomendação da oferta de produtos que forneçam doses diárias de harpagosídeo na faixa de 50-100 mg por dia. Os extratos comerciais disponíveis no Brasil apresentam-se com especificações de 5% em iridóides totais expressos em harpagosídeo; no entanto, especificamente sobre esse ativo, tais extratos ofertam apenas 1,6% do mesmo, exigindo-se ingestões de 3,1 a 6,2 g de extrato por dia.

Um dos produtos registrados na Anvisa e amplamente comercializado, conforme site da empresa produtora, declara conter 200 mg de extrato seco por comprimido, correspondendo a 10 mg de iridóides totais calculados como harpagosídeo. Ingerindo-se 1 comprimido 2-3 vezes ao dia, conforme recomendado, tal produto oferta aos pacientes de 6,4 a 9,6 mg de harpagosídeo por dia, uma dose absolutamente abaixo do limite mínimo recomendado cientificamente.

Para solucionar tal evidente problema técnico, buscamos extratos concentrados no marcador farmacológico. Tal extrato foi encontrado num fornecedor da Alemanha, com o qual se fechou contrato para fornecimento de extrato padronizado a 5% em harpagosídeo (mais de 10% em iridóides totais). Com essa





matéria prima formulou-se produto na forma de comprimidos de 400 mg, os quais, ofertados três vezes ao dia, fornecem 60 mg de harpagosídeo, dose dentro da faixa ideal para obtenção dos efeitos terapêuticos.

Em outro aspecto, a conferência da literatura sobre esta espécie mostra também artigos científicos com resultados negativos, o que a princípio levanta dúvidas sobre a efetividade dessa droga vegetal. Um desses materiais (Soulimani et al., 1994) mostra claramente que o harpagosídeo é um fitofármaco com instabilidade em meio ácido, explicando porque em alguns estudos não se conseguem efeitos positivos com administração de produtos via oral. Para adequar o produto a tal característica, incluiu-se na formulação a aplicação, após compressão, de um polímero gastroresistente, incluindo-se o teste de desintegração de duplo pH no teste de estabilidade (tabela 3).

Tabela 3 - Resultados do teste de desintegração de duplo pH de um dos lotes de comprimidos gastroresistentes de garra do diabo (Arpadol).

Fases do teste	Condições	Resultados
Fase ácida	HCl 0,1 N Min. 60 minutos	> 60 min.
Fase básica	Tampão pH 7,5 Máx. 30 minutos	10 min., 45 seg 15 min., 20 seg 22 min., 48 seg

Portanto, finalizou-se o desenvolvimento do produto, lançado em apresentação com 30, 60 e 90 comprimidos de 400 mg gastroresistente (Figura 7). Cumpridos todos os requisitos técnicos, o sucesso comercial deste desenvolvimento é potencial.

Figura 7 - Cartucho da apresentação comercial do produto Arpadol® 60 comprimidos.



Hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L. – Labiatae)

Este produto corresponde a cápsulas gelatinosas moles de óleo essencial de hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.), tendo sido comercialmente denominado de Mentaliv®. Esta espécie é mundialmente utilizada com propriedades digestivas e antiespasmódicas, sendo talvez uma das plantas medicinais de mais ampla e disseminada tradição de uso.

Quimicamente, a espécie contém taninos e flavonóides, mas, principalmente, óleos essenciais, os quais constituem matéria prima específica, com monografias distintas da droga vegetal sumidades floridas de hortelã. Esse óleo essencial é constituído de vários mono e sesquiterpenos, dos quais destacam-se o mentol com 30-55% e a mentona com 14-32% (WHO, 1999).

O óleo essencial foi adquirido de distribuidores gerais do mercado brasileiro, obtendo-se lotes de origem inglesa, inexistindo no país fornecedor de matéria prima local, embora o Brasil tenha sido, no passado, um dos grandes fornecedores mundiais de hortelã pimenta. Esses lotes foram avaliados segundo monografia da British Pharmacopoeia (1998), realizando-se desenvolvimento e validação de metodologia de controle de qualidade por cromatografia gasosa, utilizando-se esses dois marcadores, mentol e mentona.

Em termos de indicações, o efeito antiespasmódico da hortelã, do tipo antagonista de cálcio, facilmente obtido dos chás comuns de folhas da planta, no óleo essencial torna-se muito mais expressivo, tendo sido avaliado clinicamente na fase espástica da chamada síndrome do intestino irritável, uma patologia comum tratada clinicamente na gastroenterologia (Hänsel, Tyler e Schultz, 2002).

Os estudos clínicos do óleo de hortelã nessa síndrome existem num volume surpreendente para o padrão fitoterápico comum, com mais de 10 estudos clínicos disponíveis, publicados em revistas médicas conhecidas e respeitadas, tais como os estudos de Dew, Evans e Rhodes (1984), Evans e colaboradores (1982), Pittler e Ernst (1998), dentre outros.

No entanto, como no produto anterior, há a recomendação técnica de que sejam formulados em cápsulas gelatinosas moles com gastroresistência (Kline et al., 2001; Liu et al., 1997). Os motivos dessa exigência decorrem do efeito colateral azia, que ocorre em função do efeito relaxante do óleo essencial sobre o





esfíncter gastroesofágico inferior, a partir do que ocorrem as eructações tão comuns após a ingestão de chás de hortelã. No entanto, como tal efeito adverso torna-se intolerável em tratamento prolongado, como exigido no tratamento da síndrome do intestino irritável, torna-se obrigatória a formulação do produto na forma gastrorresistente.

Tal formulação envolveu a aplicação de um polímero sintético sobre a cápsula gelatinosa mole, realizada em empresa terceirizadora dessa tecnologia. No entanto, durante a etapa de estabilidade, os três lotes piloto sofreram trincas no polímero sobreposto às cápsulas, talvez pelo fato das cápsulas serem flexíveis e os polímeros formarem uma camada sólida rígida. Apenas na terceira produção, com medidas extremas no controle de umidade da sala de revestimento e ampliação da concentração de plastificante no polímero, os resultados adequados foram obtidos, demonstrando as dificuldades tecnológicas na produção de cápsulas gelatinosas moles gastrorresistentes.

Em relação às doses do produto, os estudos clínicos existentes levaram à sua inclusão na Resolução Anvisa RE 89 (Brasil, 2004a), que regula o registro de produtos fitoterápicos de registro simplificado. O produto, portanto, foi desenvolvido na forma de cápsulas gelatinosas moles gastrorresistentes contendo 200 mg de óleo essencial.

A resolução RE 89, conforme determinam outras regras legais da área, exige que se expresse a correspondência em marcador contida na quantidade de derivado colocada na forma farmacêutica, no caso, as 200 mg de óleo essencial. Assim, com base na especificação dos marcadores citada na resolução (mentol 30-55% e mentona 14-32%) calculou-se como presentes no produto 60-110 mg de mentol e de 28-54 mg de mentona. Assim, esses dados foram incluídos em bula e cartucho do produto, bem como em toda a documentação do dossiê para registro.

Ao ser peticionado o pedido de registro à Anvisa, a avaliação desses dados gerou uma diligência específica, dentre outros itens, questionando a forma adotada para a expressão de ativos e exigindo sua definição em um determinado valor fixo com variação de 90-110%, como usual para qualquer medicamento. Entrou-se, assim, numa dúvida técnica inédita: como expressar um valor fixo de marcadores se a matéria prima os exprime em faixas?

Entendendo tratar-se de um tema novo aos envolvidos, tanto à empresa quanto aos técnicos da área regulatória, a equipe decidiu questionar essa posição óbvia e clássica solicitando que o tema fosse avaliado junto à CATEF – Câmara Técnica de Fitoterápicos, composta por pesquisadores de instituições públicas e certamente mais aberta à discussão técnica heterodoxa que se haveria de realizar.

Um questionamento formal foi enviado às Anvisa e Catef baseado nos próprios regulamentos, tanto nas monografias farmacopêicas oficiais adotadas para o controle das matérias primas quanto na monografia da própria RE 89, ambas estabelecendo faixas para os dois marcadores do óleo de menta. Ao definir-se um ponto qualquer da faixa, se estaria adotando um requisito acima do exigido naqueles regulamentos.

O assunto foi avaliado pelos técnicos da Catef, os quais julgaram tal novidade técnica de expressão de ativos segundo o racional próprio da área, emitindo-se o parecer com o seguinte teor:

“...Como todos os testes farmacológicos foram realizados com óleo essencial padronizado em dois marcadores, mentol e mentona, não pode ser permitida a padronização do extrato em apenas um marcador. Conscientes da dificuldade da padronização de um óleo essencial em dois marcadores, decidiu-se aceitar a padronização do extrato em mentol e mentona, com os valores dentro da faixa farmacopêica e de acordo com a RE 89/04 (30-55% de mentol e 14-32% de mentona). O teor dos marcadores deve estar compreendido nesta faixa, desde a liberação dos lotes até o final do prazo de validade” (CATEF, 2007, p. 1).

Portanto, este assunto demonstrou a necessidade clara de se fundamentar adequadamente os temas e pleitos, encaminhando-os para discussões amplas e coerentes à busca do progressivo acúmulo de experiências na área, tanto nas empresas quanto no órgão regulador, a quem parabenizamos pela flexibilidade e coerência neste assunto.

Desse modo, o produto foi registrado como de venda livre (sem prescrição médica obrigatória), em apresentações de 10, 20, 30, 40 e 60 unidades, indicadas para a fase espástica da síndrome do intestino irritável com recomendação da ingestão de uma cápsula 3 vezes ao dia (Figura 8).





Figura 8 - Cartucho do produto Mentaliv®, apresentação 30 cápsulas.



Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* [Mart.] Coville – Leguminosae)

Este produto, o quinto da linha em discussão, refere-se a uma pomada com extratos das cascas de barbatimão, uma das espécies mais tradicionais da fitoterapia brasileira, presente em praticamente todos os livros de uso popular de plantas medicinais de nosso país, e citada desde os tempos do império.

É uma espécie típica do cerrado brasileiro, originalmente denominadas 'uabatimó', termo indígena que significa 'casca que aperta', em decorrência de sua forte adstringência. Essa droga vegetal está inscrita na Farmacopéia Brasileira 1 e 2^{as} edições (Farmacopéia, 1926; Farmacopéia, 1959), com os dados usuais de caracterização botânica e testes fitoquímicos direcionados à classe dos taninos.

Os estudos iniciais partiram de financiamento do Programa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos do Ministério da Saúde, o qual patrocinou estudos químicos e farmacológicos junto ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP, sob a coordenação da Profa. Dra. Suzelei de Castro França. Vários estudos foram realizados, particularmente nas áreas de química, farmacologia, toxicologia e também de coleta de germoplasma e avaliação da variabilidade genética e química.

Em termos químicos, a universidade produziu extratos hidroalcoólicos (a 30%) das cascas e os pa-

dronizou em fenóis totais e taninos, expressos nas concentrações de mínimo 60% em fenóis totais dos quais, pelo menos, 80% deles representado por taninos totais. A metodologia utilizada para tais avaliações foi a farmacopêica, empregando-se reagente de Folin-Ciocalteu para fenóis totais e precipitação com pó-de-pele levemente cromado para os taninos totais (Farmacopéia, 1959).

O estudo de cicatrização em roedores mostrou resultados muito interessantes e peculiares. Assim, elaborou-se o produto na forma farmacêutica pomada, incorporando-se à mesma o extrato de barbatimão nas concentrações de 1, 3, 6 e 10% (m/m). Todas essas quatro formulações foram testadas em modelos de cicatrização em roedores, obtendo-se resultados distintos de acordo com os teores. Desse modo, a formulação de 1% não mostrou eficácia frente ao controle; a de 10% mostrou cicatrização rápida por formação de uma crosta superficial, deixando o ferimento não cicatrizado abaixo desta, o qual geralmente infectava e tornava-se purulento. De modo distinto, as concentrações de 3 a 6% mostraram-se adequadas, melhorando o processo cicatricial de modo mais efetivo que o grupo controle. A peculiaridade desse achado embasou pedido de patente da UNAERP para formulações contendo extrato das cascas de barbatimão com propriedades cicatrizantes (Oliveira, 2003).

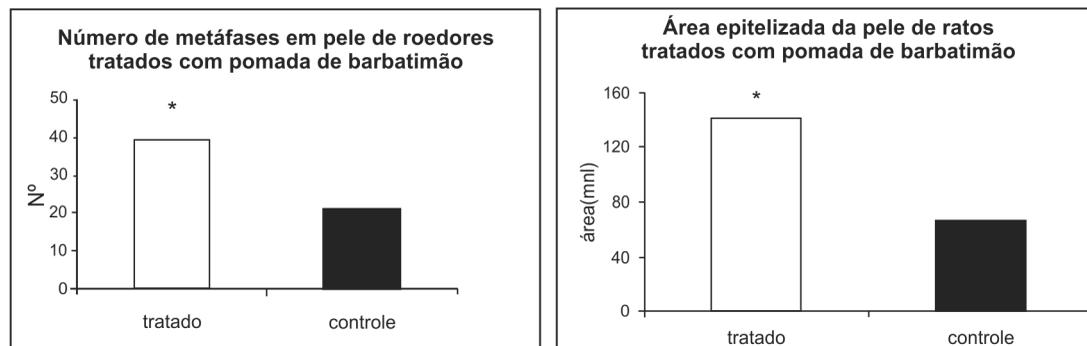
A literatura já apontava a esse efeito cicatrizante das cascas, embora sem detalhes quanto à concentração adequada para que tal ocorresse. Os estudos anteriores mostravam também efeitos antiinflamatórios à casca, bem como efeitos cicatrizantes de pele, de úlceras gástricas, e ainda antimicrobianos (Neves et al., 1992; Panizza et al., 1988; Hernandez et al., 2001; Mitsui et al., 2001).

O estudo de Viera, Mello e Mello (1998) confirmava o efeito cicatrizante de uma pomada a 2,5% de extrato seco de barbatimão, com aumento na formação de tecido de granulação, proliferação de fibroblastos, neocapilarização, produção de colágeno e reepitelização. Outro estudo (Palazzo et al., 2001) avaliou o efeito cicatrizante em termos de metáfases e extensão da área reepitalizada, mostrando serem esses bons parâmetros indicativos dos efeitos cicatrizantes para esta espécie (Figura 9).





Figura 9 - Resultados da pomada de barbatimão sobre número de metáfases e área epitelizada em pelo de roedores (adaptados de Palazzo et al., 2001).



Com os resultados obtidos, elaborou-se forma farmacêutica (pomada) na concentração de 3% de fenóis totais e realizou-se uma avaliação clínica direcionada a escaras de decúbito. Os resultados clínicos foram tão expressivos que permitiu à UNAERP a montagem de um ambulatório de escaras e ao seu referenciamento regional para atendimento de escaras de pacientes do Sistema Único de Saúde.

A UNAERP, motivada pelo conjunto de resultados, peticionou pedido de registro de medicamento fitoterápico junto à Anvisa; no entanto, a inexistência de laboratório industrial certificado em termos de boas práticas de fabricação dentro das instalações da instituição, impossibilitou a concretização desse anseio.

Ao se tomar conhecimento desse contexto, formalizou-se proposta de parceria à UNAERP, dando condições de aproveitamento industrial ao conjunto de dados técnicos tão bem elaborados pela universidade. Desse modo, ocorreu o licenciamento de pedido de patente dessas informações da UNAERP ao laboratório farmacêutico, a quem coube finalizar os estudos de formulação, estabilidade e registro junto à Anvisa, bem como a respectiva produção e comercialização do produto, repassando-se à UNAERP um determinado percentual de royalties decorrentes do lucro líquido de vendas do medicamento.

Durante a finalização do desenvolvimento, a equipe confrontou-se com outro desafio: o atendimento à legislação da biodiversidade – Medida Provisória 2186 (Brasil, 2001). Tal norma teve origem na Convenção da Diversidade Biológica, apresentando conceitos básicos referentes à propriedade dos recursos naturais pelo próprio país, acesso autorizado a tais recursos

com vistas à repartição dos benefícios originados do seu uso.

Apesar da pesquisa com o barbatimão ser anterior à vigência da medida provisória, e sendo esta uma das críticas mais contundentes que lhe é feita, ou seja, a tentativa de vigorar de forma retroativa, a empresa decidiu atender às suas exigências. Como o TAP – Termo de Anuência Prévia, documento inicial exigido pela MP, inexistia à época do início da pesquisa, montou-se contrato de repartição de benefícios remetendo a assinatura atual à autorização informal feita pelo proprietário da terra onde a espécie foi originalmente coletada.

Fez-se coleta de exsicata, depósito em herbário fiel depositário e buscou-se toda a documentação solicitada pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN, órgão encarregado de gerenciar os pedidos de autorização de acesso à biodiversidade.

O contrato de repartição de benefícios foi formalizado pela universidade, que realizou as pesquisas iniciais, com o dono da terra, definindo-se em conjunto uma série de benefícios não financeiros, tais como ajuda na montagem de uma coleção de espécies nativas, treinamento em recursos humanos, aquisição de alguns equipamentos de secagem, etc.

Assim, montou-se o processo com os documentos exigidos e peticionou-se ao Ministério do Meio Ambiente para tramitação. O pedido tramitou durante um ano, sofreu duas exigências e foi acompanhado pessoalmente por membro da equipe para monitoramento e intervenção. Dessa experiência, notou-se ser crucial ao sucesso do pedido a regularidade da documentação de propriedade da terra, com cópia au-





tenticada do título de propriedade, bem como a exata indicação de onde se localiza tal propriedade; no caso em questão, a inclusão de croqui elaborado localmente mostrando detalhes e limites exatos da propriedade facilitaram a avaliação pelos técnicos do CGEN.

Por outro lado, notou-se a dificuldade de entendimento, por parte de membros do CGEN, das etapas de produção de extrato seco ou validação de controle de qualidade, exigidas pela legislação de registro, que porventura sejam feitas à parte de forma terceirizada; tais etapas complementares ao desenvolvimento de produtos foram entendidas por alguns membros como um novo acesso à biodiversidade, o que exigiria novo pedido de autorização e novo trâmite, obviamente complicando e protelando inoportunamente a autorização necessária.

Assim, após um ano de tramitação, duas exigências pontuais e duas reuniões onde o processo foi avaliado, a UNAERP obteve aprovação de seu pedido (retroativo) de acesso à biodiversidade e desenvolvimento tecnológico, em conjunto com a empresa farmacêutica, expressa na Deliberação nº 163 (Brasil, 2006b). Assim, embora se trate de uma legislação irracional, burocrática e totalmente inadequada à realidade brasileira, a experiência citada mostra ser possível, mesmo assim, o seu cumprimento em prazo exequível para permitir o desenvolvimento de produtos fitoterápicos brasileiros.

Superado esse obstáculo de porte, a equipe confrontou-se com outro desafio: a espécie de barbatimão em utilização encontra-se em risco de extinção, o que colocava em cheque todo o futuro do projeto. Buscou-se parceria com a empresa Centroflora, produtora de extratos secos, que partiu à busca da matéria prima (cascas) e obteve, com respaldo legal do Ibama, acesso a volume de cascas suficientes para 3 anos de pesquisas e mesmo de produção industrial.

Em paralelo, formalizou-se parceria com pesquisadora da UNAERP da área de agronomia, Profa. Ana Maria Soares Pereira, que realizou viagens para coleta de sementes, as quais foram estudadas em termos de germinação e desenvolvimento de mudas. Tal atividade desdobrou-se em patrocínio a uma Oscip chamada Ecocerrado Brasil, em Minas Gerais, que recebia as sementes ou mesmo as mudas obtidas pela UNAERP, completava seu desenvolvimento e fazia sua disseminação em propriedades da região, desse modo contri-

bundo à manutenção da espécie e à sustentabilidade do projeto (Figura 10).

Figura 10 - Equipe da Oscip Ecocerrado Brasil, parceira no desenvolvimento do projeto Barbatimão (gentileza: Profa. Ana Maria Soares Pereira).



Após essas etapas, consideradas limites para a sequência do projeto, realizou-se também novo estudo toxicológico pré-clínico, completando-se algumas etapas do estudo anterior, frente às exigências regulatórias, particularmente da Resolução RE 90 (Brasil, 2004b). Assim foram realizados os seguintes estudos:

- Toxicologia aguda em ratos, vias oral e dérmica
- Toxicologia de 90 dias em ratos, via dérmica
- Toxicologia de 90 dias em coelhos, via dérmica
- Teste de irritação dérmica em coelhos
- Teste de irritação ocular em coelhos

Todos os experimentos confirmaram a total segurança pré-clínica do produto, com DL50 acima de 5 g/kg e ausência de manifestações de toxicidade, mortalidade ou alterações nos testes laboratoriais ou histopatológicos (Figura 11). Esse conjunto de dados permitiu a elaboração de um dossiê toxicológico pré-clínico específico, totalmente documentado com resultados laboratoriais e histopatológicos, o qual foi anexado ao processo de registro à Anvisa (UNAERP, 2006).

Figura 11 - Fotos de animais utilizados no estudo toxicológico pré-clínico com pomada de barbatimão (gentileza: prof. Lucélio Couto).



A – Pomada base B – 625 mg/Kg C – 1250 mg/Kg D – 2500 mg/Kg





Em relação à parte clínica, o foco do produto eram escaras, que são ferimentos surgidos por compressão física gerando úlceras de pressão ou decúbito, muito presentes em pacientes acamados, idosos, para e tetraplégicos. Tais ferimentos mostram-se em vários níveis (I a IV) conforme sua gravidade e profundidade. Assim, buscou-se avaliar o produto nas escaras de graus mais leves, entendendo-se que, se fosse efetivo em tais ferimentos, evidentemente o seria igualmente para ferimentos leves e superficiais ocorrentes no cotidiano de todas as pessoas.

Assim, recuperando a extensa base tradicional das cascas de barbatimão, presentes nos principais livros da fitoterapia brasileira como Pio Correa, Raul Coimbra, Simões e colaboradores, dentre inúmeros outros; com base também nos vários estudos pré-clínicos de cicatrização existentes na literatura em modelos *in vivo* e em tecidos, decidiu-se aproveitar dados das observações clínicas realizadas pela UNAERP ao longo de muitos anos em seu ambulatório de escaras.

Assim, recuperando a extensa base tradicional das cascas de barbatimão – presentes nos principais livros da fitoterapia brasileira como Pio Correa, Raul Coimbra, Simões e colaboradores, dentre inúmeros outros - e com os vários estudos pré-clínicos de cicatrização existentes na literatura em modelos *in vivo* e em tecidos, decidiu-se aproveitar dados das observações clínicas realizadas pela UNAERP ao longo de muitos anos em seu ambulatório de escaras.

O projeto foi aprovado em comitê de ética institucional, envolveu 27 pacientes de faixa etária variada, apresentando um total de 51 úlceras, aos quais aplicou-se a pomada com o extrato seco de barbatimão. O estudo confirmou ser a pomada efetiva na cicatrização das escaras dos pacientes, com maior eficácia nas escaras de nível I e II, embora 100% das lesões tenham cicatrizado completamente no período de tratamento (UNAERP, 2004; Minatel et al., 2010).

Desse modo, o desenvolvimento do produto foi finalizado com validação analítica ao extrato, ao produto acabado, produção de lotes piloto e estudo de estabilidade. O registro foi peticionado à Anvisa com base em vários pontos da legislação, compondo um perfil documental global envolvendo referências constantes da RE 88 de 2004 (2 pontos), apresentação de estudos próprios conforme RDC 48 de 2004 - item 8.2, bem como dezenas de referências diversas sobre

botânica, agronomia, química, farmacologia e clínica disponíveis na literatura, compondo um volume substancial de documentação técnico-científica para o registro de fitoterápico tradicional.

Portanto, em dezembro de 2007, o registro deste produto inovador nacional, de grande tradição, foi emitido pela Anvisa. O produto recebeu a denominação comercial de Fitoscar®, sendo comercializado na forma de pomada 60 mg do extrato por grama, em bisnagas de 10, 20, 30 e 50 g, recomendada para uso tópico 2 a 3 vezes ao dia (figura 12).

Figura 12 - Cartucho do produto Fitoscar, apresentação de 50 g.



Conclusões

A partir desse conjunto enorme de dados das mais diversas áreas, tenta-se mostrar que é totalmente possível desenvolver fitoterápicos no Brasil, a custos acessíveis e em empresas nacionais de porte médio, no mínimo, tendo em vista os investimentos necessários. Em termos de faturamento, a linha igualmente cumpriu a expectativa projetada, com valores maiores ou menores que o esperado, mas na média gerando à empresa valores substanciais que tanto recuperaram o investimento quanto permitem contribuição efetiva no faturamento geral (Tabela 4).

Tabela 4 - Faturamento da linha Fitomedicina no período setembro 2010 a setembro 2011(IMS, 2011).

Produto	Faturamento previsto		Faturamento executado	
	Unid/ano	Fat R\$/ano	Unid/ano	Fat R\$/ano
Aglicon-soy 60 cps	35.000	1.925.000	descontinuado	descontinuado
Arpadol 30 comp	180.000	3.510.000	411.924	12.377.000
Mentaliv 60 comp	15.600	790.000	65.748	2.038.000
Védica 60 comp	5.000	270.000	2.811	176.000
Fitoscar 60 mg/g	50.000	1.860.000	69.739	1.775.000
Total faturamento	285.600	± 8.355.000	550.222	± 16.346.000





Os prazos, porém, não são antecipáveis pela complexidade técnica envolvida em praticamente todas as etapas da cadeia de P&D, o que protelou a obtenção dos registros para 3-4 anos após o início das atividades e o lançamento da linha completa para outros tantos anos, em decorrência de estratégias específicas do setor de marketing.

Em outro aspecto, apesar do sucesso no desenvolvimento dos produtos e na obtenção dos respectivos registros, a estrutura da área foi extinta em 2009, com incorporação dos produtos à linha usual da empresa, sem grande distinção em termos de origem fitoterápica.

Essa desestruturação teve vários motivos, alguns bastante subjetivos, mas certamente a demora na finalização decorrente da complexidade do desenvolvimento foi um dos aspectos envolvidos. Em paralelo, as empresas nacionais são assediadas por empresas internacionais que oferecem produtos totalmente desenvolvidos, com literatura publicada e matérias primas acessíveis, o que esmorece a intenção inicial de investimentos em desenvolvimentos locais.

E, por fim, foi possível notar que as empresas nacionais mostram-se às vezes motivadas com a biodiversidade, mas sem um compromisso específico com a área, com seu potencial gerador de riqueza e nacionalidade, permanecendo predominantemente com o entendimento de que é, apenas, mais uma fonte de matérias primas para novos produtos.

Agradecimentos

Agradecemos e reconhecemos a colaboração da equipe técnica da empresa de todas as áreas, farmacotécnica, controle, garantia da qualidade, produção, médica e regulatória, vendas, etc., em especial à farmacêutica Cecília Elena de Figueiredo Ognibene, bem como aos fornecedores de serviços e produtos, sem as quais estas atividades de desenvolvimento não seriam possíveis.

Referências

Almeida, L.B.; Marinho, C.B.; Souza, C.S. e Cheib, V.B.P. 2009 - Disbiose intestinal. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, v. 24, n. 1, p. 58-65.

Ammon, H.P.T. 1996 - Salai Guggal – *Boswellia serrata*: from an herbal medicine to a non-redox inhibitor of leukotriene biosynthesis. *European Journal of Medical Research*, v. 1, p. 369-370.

Boswellia Serrata Master Document. 2001 - *Bangalore (Índia): Natural Remedies Private Limited*, 10/05/2001. Disponível em: <www.allianceingredients.com/pdfdocs>. Acesso em: 07 ago 2006.

Brasil 2001 - Presidência da República. Medida Provisória no. 2186-16 de 23 de Agosto de 2001. Regulamenta o inciso II do § 1o e o § 4o do art. 225 da Constituição, os arts. 1o, 8o, alínea "j", 10, alínea "c", 15 e 16, alíneas 3 e 4 da Convenção sobre Diversidade Biológica, dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado, a repartição de benefícios e o acesso à tecnologia e transferência de tecnologia para sua conservação e utilização, e dá outras providências. Diário Oficial da União.

Brasil 2004a - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RE 89, de 16 de março de 2004. Publica lista de produtos fitoterápicos para registro simplificado. Diário Oficial da União.

Brasil 2004b - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE 90, 16 de março de 2004. Publica regulamento para estudos de toxicologia pré-clínica de produtos fitoterápicos. Diário Oficial da União.

Brasil 2006a - Decreto Presidencial nº 5813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e institui Grupo de Trabalho Interministerial, no prazo de 120 dias, sob a coordenação do Ministério da Saúde, elaborar o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Diário Oficial da União.

Brasil 2006b - Ministério do Meio Ambiente. Conselho de Gestão do Patrimônio Genético. Deliberação nº 163 de 28.09.2006. Concede à Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP, autorização de acesso a amostra de componente do patrimônio genético para a finalidade de bioprospecção e desenvolvimento tecnológico, de acordo com os termos do projeto intitulado "Estudo clínico com forma farmacêutica fitoterápica contendo extrato de planta do gênero *Stryphnodendron*", sob a coordenação da pesquisadora Dra. Suzelei de Castro França.

British Pharmacopoeia 1998 - HMSO, Londres, p. 1323-1324.

Bueno, R. 2004 - *Agência de Inovação Unicamp licenciar 1ª patente: Steviafarma vai comercializar*





isoflavona desenvolvida por Yong Kun Park. Publicada em 10 de junho 2004. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/report/news-isoflavona.shtml>> Acesso em: 20 abr. 2011.

Calixto, J.B. e Siqueira Jr., J.M. 2008 - *Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios*. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 78, suplemento 1, p.98-106. Disponível em: <<http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/269/260>> Acesso em: 20 de abr. 2011.

Câmara Técnica de Fitoterápicos (CATEF)/online 2007. *Resposta a questionamento sobre concentração de marcadores de óleo de menta (mensagem pessoal)*. Mensagem recebida por luis.marques@apsen.com.br em 01.08.2007.

Carneiro, L.M.R.; Francisco, C.; Franco, P.A. e Marques, L.C. 2006 - Avaliação sintomática de pacientes usuárias de isoflavonas da Farmácia Reativa de Araquara (SP): estudo aberto e preliminar. *JBF - Jornal Brasileiro de Fitomedicina*, v. 4, p. 11-15.

Carvalho, A.C.B.; Balbino, E.E.; Maciel, A. e Perfeito, J.P.S. 2008 - Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 2, p. 314-319.

Carvalho, A.C.B.; Nunes, D.S.G.; Baratelli, T.G.; Shuqair, N.S.M.S.A.Q. e Netto, E.M. 2007 - Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. *T&C Amazônia*, v. 5, n.11, p. 26-32.

Chrubasik, S. e Eisenberg, E. 1999 - Treatment of rheumatic pain with kampo medicine in Europe. Part 1. *Harpagophytum procumbens*. *Pain Clinic*, v. 11, n. 3, p. 171-178.

Conselho Federal de Nutricionistas - CFN 2007 - Resolução CFN Nº402/2007. Regulamenta a prescrição fitoterápica pelo nutricionista de plantas in natura frescas, ou como droga vegetal nas suas diferentes formas farmacêuticas, e dá outras providências. *Diário Oficial da União do dia 06 ago. 2007, seção I*, p. 121.

Dew, M.J.; Evans, B.K. e Rhodes, J. 1984 - Peppermint oil for the irritable bowel syndrome: a multicentre trial. *The British Journal of Clinical Practice*, v. 38, p. 394-398.

European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (EFPIA) 2011 - A highly regulated industry. Disponível em: <<http://www.efpia.org/content/Default.asp?PageID=361>>. Acesso em: 18 jul 2011.

European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP). 1997 - Monographs on the medicinal uses of plant drugs. Exeter, UK: ESCOP.

Evans, B.K.; Levine, D.F.; Mayberry, J.F.; Rees, W.D.W.; Rhodes, J.; Cardiff, T.J.T. 1982 - Multicentre trial of peppermint oil capsules in irritable bowel syndrome. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 17, A503.

Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil. 1959. 2ª edição. Indústria Gráfica Siqueira, São Paulo.

FENAFAR - Federação Nacional dos Farmacêuticos. 2010 - *País deixa de gerar US\$ 5 bi por ano com fitoterápicos*. Disponível em: <<http://www.fenafar.org.br/portal/medicamentos/62-medicamentos/527-pais-deixa-de-gerar-us-5-bi-por-ano-com-fitoterapicos.html>>. Acesso em: 20 Jul 2011.

Fiebich, B.L.; Heinrich, M.; Hiller, K.O. e Kammerer, N. 2001 - Inhibition of TNF-alpha synthesis in LPS-stimulated primary human monocytes by *Harpagophytum* extract SteiHap 69. *Phytomedicine*, v. 8, p. 28-30.

Freitas, A. 2007 - *Estrutura de mercado do segmento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira*. Ministério da Saúde / OPAS, Brasília.

Gupta, I.; Parihar, A.; Malhotra, P.; Singh, G.B.; Lüdtke, R.; Safayhi, H. e Ammon, H.P. 1997 - Effects of *Boswellia serrata* gum resin in patients with ulcerative colitis. *European Journal of Medical Research*, v. 2, n. 1, p. 37-43.

Gupta, I.; Parihar, A.; Malhotra, P.; Gupta, S.; Lüdtke, R.; Safayhi, H. e Ammon, H.P. 2001 - Effects of gum resin of *Boswellia serrata* in patients with chronic colitis. *Planta Medica*, v. 67, p. 391-395.

Hänsel, R.; Tyler, V.E. e Schultz, V. 2002. *Fitoterapia racional: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde*. Editora Manole, São Paulo.

Hernandes, L.; Pereira, L.C.M.S.; Pallazo, F.; Palermo, D. e Mello, J.C.P. 2001 - Fitoterapia x cicatrização cutânea: aplicação de pomada com extrato de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville] em feridas cutâneas. III Seminário do Centro de Ciências da Saúde da UEM, p. 73, Maringá.

Houghton, P.J. e Mukherjee, P.K. 2009 - The worldwide Phenomenon of Increased use of Herbal Products: Opportunities and Threats. In: Houghton, P.J.





- e Mukherjee, P.K. (ed.) *Evaluation of herbal medicinal products*, cap. 1. Pharmaceutical Press, Londres.
- IMS - International Medical Statistics 2004 - *Pharmaceutical Market Brazil*. IMS, Suíça
- IMS - International Medical Statistics 2011 - *Pharmaceutical Market Brazil*. IMS, Suíça.
- Kandil, O. 2004 - The pharmaceutical industry in the Arab world challenger, controversies and future outlook. *Drug Discovery Today*, v. 9, n. 13, p. 543-545.
- Kline, R.M.; Kline, J.J.; Di Palma, J. e Barbero, G.J. 2001 - Enteric-coated, pH-dependent peppermint oil capsules for the treatment of irritable bowel syndrome in children. *The Journal of Pediatrics*, v. 138, p. 125-128, 2001.
- Liu, J.H.; Chen, G.H.; Yeh, H.Z.; Huang, C.K.; Poon, S.K. 1997 - Enteric-coated capsules in the treatment of irritable bowel syndrome: a prospective randomized trial. *Journal of Gastroenterology*, v. 32, n. 6, p. 765-768.
- Marques, L.C. 1992 - *Produção e comercialização de fitoterápicos no Paraná: uma abordagem de vigilância sanitária*. Curitiba, 232p. Dissertação (Mestrado) Curso de Pós-graduação em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- Marques, L.C. 1998 - Avaliação da ação adaptógena das raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen – Amaranthaceae. São Paulo, 145p. Tese (Doutorado) - Escola Paulista de Medicina Universidade Federal de São Paulo.
- Marques, L.C. 2010 - Fitoterápicos: perspectivas de novos e antigos produtos. In: Haraguchi, L. M. M. e Carvalho, O. B. *Plantas medicinais*. Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, São Paulo.
- Minatel, D.G.; Pereira, A.M.S.; Chiaratti, T.M.; Pasqualin, L.; Oliviera, J.C.N.; Couto, L.B.; Lia, R. C.C.; Cintra, J.M.; Bezzon, M.F.A. e Franca, S.C. 2010 - Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) na cicatrização de úlceras de decúbito. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 67, n. 7, p. 250 -256.
- Mitsui, M.L.; Nakamura, C.V.; Toledo, C.E.M.; Dias Filho, B.P. e Mello, J.C.P. 2001 - Atividade antibacteriana *in vitro* das subfrações obtidas de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). X Encontro Anual de Iniciação Científica da UEPG, Ponta Grossa.
- Neves, C.L.C.; Neto, J.J.; Ifa, D.R.; Fracasso, J.F.; Silva, R.F.P. e Lepera, E.Z.P. 1992 - Estudo dos Efeitos Farmacológicos de Hamamélis e Barbatimão. XII Simposio de Plantas Medicinais do Brasil, p.12, Curitiba.
- Oliveira, E.E. 2003 - *Formulação de Medicamento Natural (Composição para uso tópico contendo extrato de planta do gênero Stryphnodendron; seu processo de preparação e sua aplicação)*. PI0300440-6, depositada em 25/02/2003.
- Palazzo, F.; Palermo, D.B.; Mello, J.C.P. e Hernandez, L. 2001 - Proliferação celular em feridas cutâneas de ratos Wistar tratados com *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). X Encontro Anual de Iniciação Científica da UEPG, Ponta Grossa.
- Panizza, S.; Rocha, A.B.; Gecchi, R. e Souza-Silva, R.A.P. 1998 - *Stryphnodendron barbatiman* (Velloso) Martius: teor em taninos na casca e sua propriedade cicatrizante. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, v. 10, p. 101-106.
- Park, Y.K.; Aguiar, C.L.; Alencar, S.M. e Scamparini, A.R.P. 2001 - Biotransformações de isoflavonas de soja. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, v. 20, mai/jun, p. 12-14.
- Perez, E. 2009 - *Obtenção de extrato padronizado de Mucuna pruriens (L.) DC. e controle de qualidade de matéria-prima e produto contendo Boswellia serrata Roxb.: desenvolvimento e validação de metodologias analíticas por CLAE*. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil 1926. 1ª edição. Companhia Editora Nacional, São Paulo.
- Pittler, M.H. e Ernst, E. 1998 - Peppermint oil for irritable bowel syndrome: a critical review and metaanalysis. *The American Journal of Gastroenterology*, v. 93, n. 7, p. 1131-1135.
- Saklani, A. e Kutty, S.K. 2008 - Plant-derived compounds in clinical trials. *Drug Discovery Today*, v. 13, n. 3-4, p. 161-171.
- Soulimani, R.; Younos, C.; Mortier, F. e Derriue, C. 1994 - The role of stomachal digestion on the pharmacological activity of plant extracts. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 72, n. 12, p. 1532-1536.





Sterk, V.; Büchele, B. e Simmet, T. 2004 - Effect of food intake on the bioavailability of boswellic acids from a herbal preparation in healthy volunteers. *Planta Medica*, v. 70, n. 12, p. 1155-1160.

Stewart, K.M. e Cole, D. 2005 - The commercial harvest of Devil's claw (*Harpagophytum spp.*) in southern Africa: the Devil's in the details. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, n. 3, p. 225-236.

Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP. 2004 - Ambulatório de escaras. Estudo clínico da utilização do barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron adstringens*) na cicatrização de úlceras isquêmicas. Ribeirão Preto.

Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP. 2006 - Laboratório Experimental Animal. Estudo toxicológico

pré-clínico em ratos e coelhos de extrato seco padronizado das cascas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* [Mart.] Coville) isolado e formulado em pomada a 3% em polifenóis totais. Ribeirão Preto.

Vieira, F.C.; Mello, J.C.P. e Mello, E.V.S. 1998 - Cicatrização cutânea após aplicação tópica de Nebacetin e barbatimão em feridas de ratos: estudo clínico e histológico. Encontro Anual de Iniciação Científica, p. 207, Maringá.

Women's Health Initiative. 2002 - *Whi HRT Update*. Disponível em: <http://www.nhlbi.nih.gov/whi/update_ht2002.pdf> Acesso em: 10 maio 2011.

World Health Organization (WHO). 1999 - *WHO Monographs on selected medicinal plants*. Geneva: WHO, v.1, p. 188-198.



Padronização de uma Amostra de Extrato Etanólico de Própolis Verde

Standardization of an Ethanolic Sample of Green Propolis

¹*Cristina F. Nunes; ¹Paula F. Finger; ¹Geferson Fischer; ¹Clarissa C. Castro; ¹Silvia O. Hübner; ²Niraldo Paulino; ³Maria Cristina Marcucci; ³Oseraldo Vieira; ³Pedro E. Martes; ¹Gilberto D. Vargas

¹Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas – UFPel – CP 354, CEP, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil;

²Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Biomedicamentos do Programa de Mestrado Profissional em Farmácia da Universidade Bandeirante de São Paulo – UNIBAN - São Paulo - SP – Brasil

³Laboratório de Produtos Naturais do Programa de Mestrado Profissional em Farmácia da Universidade Bandeirante de São Paulo – UNIBAN - São Paulo - SP – Brasil.

*Correspondência: e-mail: tinavet_@hotmail.com

Palavras chave:

CLAE; caracterização fitoquímica; sólidos solúveis; fenóis totais; flavonóides totais.

Keywords:

HPLC; phytochemical characterization; soluble solids; total phenols; total flavonoids.

Resumo

A própolis, uma substância resinosa produzida pelas abelhas melíferas a partir de exsudatos coletados em diferentes partes das plantas, tem sido utilizada há séculos na medicina popular devido as suas propriedades terapêuticas. Este trabalho descreve a padronização de um extrato etanólico de própolis verde, onde foram identificados os compostos químicos por CLAE (Cromatografia líquida de alta eficiência), caracterização fitoquímica por cromatografia em camada delgada (CCD), teor de sólidos solúveis, teor de fenóis e flavonóides totais e atividade antioxidante por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Este extrato etanólico de própolis verde (EEPV) analisado posteriormente será estudado como agente virucida. Os resultados encontrados evidenciam que este EEPV está dentro dos padrões requisitados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, apresentando 9,35% de teor de sólidos solúveis, atividade antioxidante com $CE_{50\%}$ de 9,80 $\mu\text{g/mL}$, duas classes fitoquímicas, polifenóis e flavonóides, identificadas pela CCD, altos níveis de fenóis e flavonóides totais (12,93 e 6,05% respectivamente), comprovados por CLAE, o qual identificou altas concentrações de ácidos fenólicos (ácido p-cumárico, ácido diprenil-hidroxicinâmico, derivados do ácido cinâmico), os quais são atribuídos as propriedades antibacteriana, antioxidante, antiviral e virucida.

Abstract

Propolis, a resinous substance produced by honeybees from exudates collected from different plant parts have been used for centuries in folk medicine due to its therapeutic properties. This work describes the standardization of an ethanol extract of green propolis, where the chemicals were identified by HPLC (high performance liquid chromatography), phytochemical characterization by thin layer chromatography (TLC), soluble solids, phenols and flavonoids and total antioxidant activity 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The ethanol extract of green propolis (EEPV) will be discussed later studied as a virucidal agent. The results show that this EEPV is within the standards required by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply, with 9.35% of total soluble solids, antioxidant activity with $EC_{50\%}$ of 9.80 mg/mL , two classes phytochemicals, polyphenols and flavonoids, identified by TLC, high levels of phenolics and flavonoids (12.93 and 6.05% respectively) as shown by HPLC, which identified high concentrations of phenolic acids (p-coumaric acid, hydroxycinnamic acid diprenyl, acid derivatives cinamics), which are assigned the antibacterial, antioxidant, antiviral and virucidal.



Introdução

A própolis, uma substância resinosa produzida pelas abelhas melíferas a partir de exsudatos coletados em diferentes partes das plantas, tem sido utilizada há séculos na medicina popular devido as suas propriedades terapêuticas (Fischer et al, 2008). Nos últimos 30 anos, a própolis tem sido objeto de intensos estudos farmacológicos e químicos no controle de enfermidades, através do conhecimento de sua composição e propriedades bioativas (Sforcin, 2007; Lustosa et al, 2008) tais como atividade antibacteriana, anti-inflamatória, antifúngica, antitumoral, imunomoduladora, antioxidantes, antiviral, virucida, entre outros, embora muitos dos seus mecanismos de ação ainda sejam desconhecidos. A atividade e os componentes da própolis variam de acordo com sua origem geográfica (Markham, et al., 1996; Kujumgiev et al, 1999).

Quimicamente, a própolis apresenta diversos compostos, sendo que na denominada de “verde” estão presentes vários compostos fenólicos. Recentemente, foi demonstrada a tipificação das amostras de própolis no Brasil, associando-as a atividades biológicas específicas (Ribeiro, Jesus e Marcucci, 2008).

Além de todas as características mencionadas, a própolis é utilizada freqüentemente tanto na área da medicina humana quanto na área veterinária, com obtenção de bons resultados terapêuticos. Com isso não se pode relegar a própolis a uma categoria de modismo terapêutico, tendo em vista que suas virtudes são reconhecidas há séculos, sendo relatadas em muitos trabalhos que demonstram diferentes tipos de atividade biológica e aplicações em diversas terapias (Pereira et al., 2002; Helfenberg, 1908; Mizuno, Iinuma e Kato, 1987). Trata-se de uma medicina alternativa, chamada de Apiterapia, devido às suas várias propriedades terapêuticas e biológicas, segundo trabalhos científicos do mundo inteiro (Coloni et al., 2007). No entanto, a fim de ser aceito oficialmente pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), deve-se estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade do extrato de própolis para que se garanta a segurança e eficácia (Brasil, 2001; Bankova, 2005). Neste sentido o objetivo deste trabalho foi determinar a padronização de um extrato etanólico de própolis verde, que posteriormente será estudado como agente virucida.

Materiais e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Produtos Naturais do Programa de Mestrado Profissional em Farmácia da Universidade Bandeirante de São Paulo - UNIBAN.

Obtenção do extrato etanólico da própolis verde (EEPV)

O EEPV foi obtido através da mistura de aproximadamente 75 g de própolis bruta triturada fornecida pela Prodapys, com 250 mL de álcool etílico (p.a.) (ou na mesma proporção) em erlenmeyers de 500 mL, estes permaneceram em um shaker orbital a uma agitação de 160 rpm a uma temperatura de 40°C por 18h. Após esse procedimento, a amostra foi armazenada em freezer por 1 a 2 horas, para a redução do teor de gordura no extrato e posteriormente filtrada para a separação da porção insolúvel. A porção insolúvel (retida no filtro) foi seca em uma capela com ventilação, *overnight*. Junto às porções insolúveis foi adicionado álcool etílico (p.a.) e devolvido ao *shaker* para uma nova extração. Repetindo o procedimento. O solvente foi evaporado em rotaevaporador a temperatura de 70°C até a obtenção do extrato mole da própolis.

Identificação dos compostos da amostra.

Cromatografia líquida de alta eficiência do EEPV.

Uma quantidade de 150 mg do extrato mole foi solubilizada em 5 mL de metanol, 2 mL desta amostra foi filtrada em filtro Millipore (0,20 µm) e armazenada em um “vial”, para a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando-se o cromatógrafo LaChrom, modelo D-70005. Para determinar a composição química da amostra da própolis por CLAE, empregou-se uma coluna com 18 cadeias de carbono em fase reversa (Lichrochart Lichrospher 100 RP 18, 12,5 x 0,4 cm, diâmetro de partícula de 5µm Merck) e um gradiente linear (fluxo de 1 mL/min.) composto de metanol e água acidificada com 5% de ácido fórmico. O volume injetado foi de 20 µL. Foi utilizado um detector de rede de diodos na detecção dos picos. O tempo máximo de análise foi de 60 minutos e a detecção foi efetuada em comprimentos de onda de 280 e 340 nm. O programa utilizado para a análise de dados foi o Merck-Hitachi modelo D-7000 (Chromatography Data Station - DAD Manager).

Caracterização fitoquímica do EEPV

Cromatografia em camada delgada.

As análises foram realizadas em relação às seguintes substâncias naturais: flavonóides (reação com AlCl₃), cumarinas (reação com KCl), alcalóides (reagente de Dragendorff), saponinas (anisaldeído), triterpenos (reação de Liebermann-Buchard) (Costa, 1982), heterosídeos cardioativos, polifenóis e taninos. Obteve-se os perfis cromatográficos, em cromatografia de camada delgada em placas de sílica gel 60G, com base de alumínio e indicador fluorescente.





Para a preparação das amostras, 1 mg do EEPV foi solubilizado em 1 mL de metanol. Os sistemas de eluentes empregados foram selecionados de acordo com o grupo fitoquímico que foi pesquisado. As amostras analisadas foram aplicadas a aproximadamente 1 cm da base inferior da placa, com auxílio de um capilar. Após a aplicação das amostras sobre as placas, as mesmas foram introduzidas nas cubas previamente saturadas, contendo fase móvel adequada, para cada classe fitoquímica. Foram utilizadas cubas de vidro com fundo chato com as paredes laterais internas

recobertas com papel filtro (deixando uma abertura para a observação da fase móvel), para facilitar sua saturação com os vapores do solvente. O solvente sobe por capilaridade até que esteja a 2 cm da extremidade superior. Ao ascender, o solvente arrasta os compostos menos adsorvidos na fase estacionária, separando-os dos mais adsorvidos. A linha de chegada da fase móvel foi marcada e a placa foi colocada em local arejado para ocorrer a secagem e posterior revelação. Os eluentes e reveladores utilizados estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 - Demonstração das classes fitoquímicas, eluentes, amostras analisadas e agentes reveladores utilizados.

Classe fitoquímica	Eluente	Amostras Analisadas		Agente revelador
		Amostra padrão	Amostra avaliada	
Cumarinas	Tolueno e éter saturado com 10% de ácido acético	Extrato de Guaco	EEPV	KOH 10% + luz UV
Flavonóides	Acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético glacial e água	Extrato de Calêndula	EEPV	AlCl ₃ 1% + luz UV
Alcalóides	Acetato de etila, metanol e água	Extrato de Jaborandi	EEPV	Reativo de Dragendorff
Triterpenos	Hexano e acetato de etila	Óleo Essencial de Citronela	EEPV	Reativo de Liebermann-Buchar
Heterosídeos cardioativos	Acetato de etila, metanol e água	Extrato de Espirradeira	EEPV	Reagente de Kedde
Saponinas	Clorofórmio, metanol e água	Extrato de Carqueja	EEPV	Anilsadeido + 5 min a 105°C
Polifenóis	Hexano e acetato de etila	Extrato desidratado de Própolis Verde	EEPV	K ₃ Fe(CN) ₆ 1% + FeCl ₃ 2% + luz UV
Taninos	Tolueno, n-butanol, ácido acético e água.	Extrato de Espinheira Santa	EEPV	K ₃ Fe(CN) ₆ 1% + FeCl ₃ 2% + luz UV

Teor de sólidos solúveis da própolis verde

Pesou-se um *becker* de 50 mL e anotou-se o peso. Com auxílio de uma proveta mediu-se 20 mL do extrato e depositou-se no *becker* e este levado à estufa a 60°C até a secura. O *becker* foi retirado e resfriou-se o mesmo. Pesou-se e repetiu-se a operação até peso constante. O procedimento foi realizado em triplicata. Para fins de cálculo foi utilizada a fórmula abaixo.

$$\% \text{ sólidos solúveis (m/v)} = \frac{(m1-b) \times 100}{V_a}$$

Onde: b = massa do *becker*.

m1 = massa final do *becker* com o extrato seco, após secagem.

V_a = Volume da alíquota do extrato, a ser seco.

Análises espectrofotométricas

Determinação de fenóis totais

Para a quantificação de fenóis totais utilizou-se o método de Folin, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, e a leitura por espectrofotometria. Este método funciona através da quantificação da substância a ser testada, necessária para inibir a oxidação do reagente. Preparou-se uma solução estoque, da seguinte forma, 0,05 g do extrato seco, dissolvido em etanol, transferindo-o para um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com água. A partir deste ponto o procedimento foi realizado em triplicata. Transferiu-se uma alíquota de 0,2 mL da solução estoque, para um balão volumétrico de 10 mL, contendo aproximadamente 5





mL de água destilada e adicionou-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Agitou-se por alguns segundos e no intervalo de 1 a 8 minutos acrescentou-se 1,2 mL da solução tampão carbonato-tartarato de sódio a 20% (carbonato de sódio). Completou-se o volume do balão volumétrico com água até próximo ao menisco. A solução foi mantida em um banho-maria a 20°C. Após 2 horas, fez-se o ajuste do volume final a 20°C, agitando-se por alguns segundos e fez-se a leitura no espectrofotômetro a 760 nm.

Determinação de flavonóides totais

A quantificação do teor de flavonóides totais foi realizada por espectrofotometria utilizando-se cloreto de alumínio, como reagente de deslocamento. O método espectrofotométrico para quantificar flavonóides totais baseia-se na propriedade do cátion alumínio de formar complexos estáveis com os flavonóides, evitando a interferência de outras substâncias fenólicas.

A partir da solução estoque do procedimento anterior, retirou-se uma alíquota de 0,2 mL desta solução e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL, contendo aproximadamente 5 mL de metanol. Adicionou-se 0,2 mL de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) e completou-se o volume até próximo ao menisco com metanol. Agitou-se a solução e esta foi mantida em banho-maria por 30 minutos a 20°C. Após esse período fez-se o ajuste do volume. A leitura foi feita a 425 nm. As análises foram feitas em triplicatas.

Atividade antioxidante - DPPH

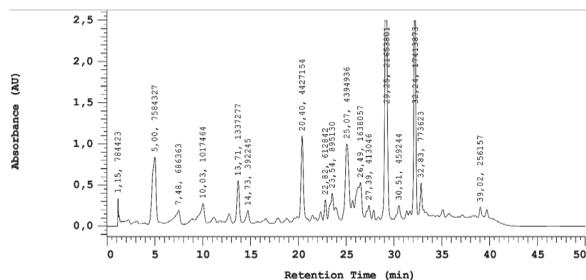
A atividade antioxidante foi avaliada empregando-se o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em amostras de própolis, realizada através de medidas espectrofotométricas do consumo do radical, na presença de substâncias antioxidantes. A partir do extrato seco da amostra, preparou-se uma solução estoque a 1%, desta solução estoque tomou-se 100 μ L e colocou-se em um balão volumétrico de 10 mL e completou-se com etanol. Preparou-se diferentes diluições do extrato de própolis a 0,0002% da seguinte forma, organizou-se 9 tubos enumerados de 0 a 8, adicionando álcool, solução de própolis e DPPH em cada tubo. O tubo de número zero foi o controle, ou seja, apenas DPPH e etanol. Ao adicionar o DPPH no tubo zero, contou-se 1 minuto e adicionou-se o DPPH no segundo tubo e assim sucessivamente até o tubo 8. Agitando os tubos de tempo em tempo. Após 30 minutos da adição de DPPH no primeiro tubo, realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 517 nm, em triplicata, sempre obedecendo 1 minuto de intervalo entre cada amostra.

Resultados e Discussão

Cromatografia líquida de alta eficiência do EEPV

Os compostos fenólicos foram quantificados com o uso de padronização interna por meio de cromatografia de fase líquida de alta eficiência. O perfil cromatográfico da amostra está apresentado na figura 1. Nota-se, altas concentrações de ácido p-cumárico, Artepillin C e derivados do ácido cinâmico. Segundo Akao e colaboradores (2003), atividades biológicas extremamente importantes, como por exemplo, atividade virucida de extratos etanólicos desse tipo de própolis podem ser atribuídas principalmente à presença destes ácidos fenólicos.

Figura 1 Resultados do CLAE: 150 mg/5mL de metanol, volume de injeção 20 μ L. Apresentando os nomes dos compostos químicos, tempo de retenção e concentração dos compostos químicos no EEPV.



Nome	Tempo de Retenção	Concentração no EEPV(mg/g)
Ácido cafeico	2,88	0,87
Ácido p-cumárico	4,49	20,98
Ácido cafeico (derivado 1)	7,11	6,46
Ácido cafeico (derivado 2)	9,5	7,32
Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (derivado 1)	12,73	7,61
Ácido cafeico (derivado 3)	14,12	3,27
Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (derivado 2)	17,69	1,05
Ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico	19,13	9,92
2,2-dimetil-6-carboxietenil-2H-1-benzopirano	20,91	0,91
Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (derivado 3)	22,2	1,54
Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (derivado 4)	25,14	5,88
Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (derivado 5)	25,97	0,82
Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C)	27,86	27,46
Ácido cinâmico (derivado 1)	30,94	11,91
Ácido 6-propenóico-2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano	31,52	2,47





Caracterização fitoquímica do EEPV Cromatografia em camada delgada (CCD).

Ao realizar a leitura das placas, observou-se apenas a presença de duas classes de metabólitos secundários no EEPV avaliado, sendo a classe dos polifenóis e flavonóides. As análises por CCD, baseadas na comparação das manchas reveladas, sendo estas iguais e de mesmo tamanho que das amostras padrão (Sousa et al., 2007a).

Teor de sólidos solúveis da própolis verde

Quanto ao teor de sólidos solúveis, considerando a metodologia utilizada, são aceitáveis valores acima de 7% (Brasil, 2001; Akao et al., 2003). Avaliando-se o resultado obtido para a análise do teor de sólidos solúveis percebe-se que a amostra apresenta 9,35% de teor de sólidos solúveis, atendendo as normas em vigor.

Análises espectrofotométricas

Determinação de fenóis e flavonóides totais

A tabela 2 traz os resultados dos ensaios espectrofotométricos realizados com a própolis para determinação de seus teores de flavonóides e fenóis totais. A média do teor de fenóis totais encontrado na amostra investigada foi de 12,93% (m/m), atendendo ao requisito mínimo do Ministério da Agricultura, que é de 5%. Da mesma forma ocorreu com o teor de flavonóides totais, que na amostra investigada apresentou o valor de 6,048% (m/m), sendo que o requisito mínimo do Ministério da Agricultura é de 0,5% (Brasil, 2001).

Tabela 2 - Resultado das análises de fenóis e flavonóides totais e limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

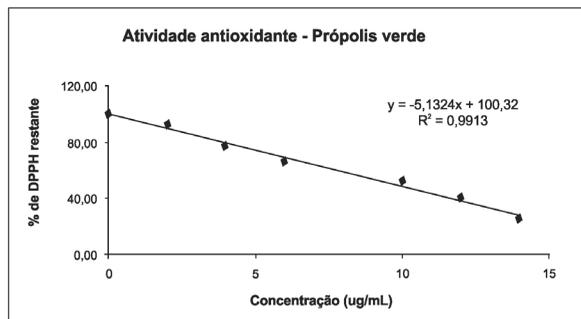
Análise	Teor médio \pm Desvio Padrão	Requisito do Ministério
Fenóis totais	12,93 \pm 1,06	Mínimo de 5%
Flavonóides totais	6,05 \pm 0,61	Mínimo de 0,5%

Atividade antioxidante- DPPH

A quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração efetiva (CE_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE_{50} e maior a sua atividade antioxidante. Neste experimento a CE_{50} da amostra do extrato etanólico foi de 9,80 μ g/mL, o que indica uma ótima atividade antioxidante. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais

de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (Sousa et al., 2007b).

Figura 2 - Comportamento do extrato etanólico frente ao DPPH



Conclusão

Pode-se concluir que o EEPV avaliado está dentro dos padrões requisitados pelo MAPA, com altos níveis de fenóis e flavonóides totais, o que indica altas concentrações de ácidos fenólicos, os quais são atribuídos as propriedades antibacteriana, antioxidante e antiviral (Volpi e Bergonzini, 2006), por tanto, está apto a ser utilizado para a determinação da atividade virucida a ser pesquisada posteriormente.

Agradecimentos

Somos gratos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – pelo suporte financeiro; Apis Nativa Produtos Naturais Ltda – Prodapys – Araranguá, SC – Brasil, pelo fornecimento da própolis bruta; Laboratório de Produtos Naturais do Programa de Mestrado Profissional em Farmácia da Universidade Bandeirante de São Paulo – UNIBAN – pelo treinamento prestado.

Referências

- Akao, Y.; Maruyama, H.; Matsumoto, K.; Ohguchi, K.; Nishizawa, K.; Sakamoto, T.; Araki, Y.; Mishima, S.; Nozawa, Y. 2003 - Cell growth inhibitory effect of cinnamic acid derivatives from propolis on human tumor cell lines. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, v. 26, n. 7, p. 1057-1059.
- Bankova, V. 2005 - Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, n. 1-2, p. 114 – 117.





- Brasil 2001. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 3 – ANEXO VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 19 jan. 2001.
- Coloni, R.D.; Lui, J.F.; Santos, E.; Cavalcante Neto, A.; Zanato, J. A. F. e Silva, L.P.G.; Malheiros, E.B.; 2007 - Extrato etanólico de própolis sobre o ganho de peso, parâmetros de carcaça e pH cecal de coelhos em crescimento. *Biotemas*, v. 20, n. 2, p. 59-64.
- Costa, A. 1982. *Farmacognosia*. 2ª edição. Volume 3. Fundação Calouste Grilbenkian, Lisboa.
- Fischer, G.; Hübner, S.O.; Vargas, G.D. e Vidor, T. 2008 - Imunomodulação pela própolis. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 75, n. 2, p. 247-253.
- Helfenberg, K.D. 1908. The Analysis of Beeswax und Propolis. *Chemiker - Zeitung*, cap. 31, n. 987.
- Kujumgiev, A.; Tsvetkova, I.; Serkedjieva, Y.; Bankova, V.; Christov, R. e Popov, S. J. 1999 - Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 64, n.3, p. 235 – 240.
- Lustosa, S.R.; Galindo, A.B.; Nunes, L.C.C., Randau, K.P e Rolim Neto, P.J. 2008 - Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 3, p. 447-454.
- Markham, K.E.; Mitchel, K. A.; Wilkins, A. L.; Daldy, J. A. e Lu, Y. 1996 - HPLC and GC-MS. Identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. *Phytochemistry*, v. 42, p. 205 – 211.
- Mizuno, M.; Iinuma, M. e Kato, I.I. 1987 - Useful ingredients and biological activity of propolis. *Fragrance Journal*, v. 15, n. 2, p. 20-28.
- Pereira, A.S.; Seixas, F.R.M.S. e Aquino Neto, F.R. 2002 - Própolis: 100 Anos de Pesquisa e suas Perspectivas Futuras. *Química Nova*, v. 25, n. 2, p. 321-326.
- Ribeiro, F.L.; Jesus, P.T. e Marcucci, M.C. 2010 - Composição química e atividade biológica da própolis tipificada – I Jornada de Iniciação Científica UNIBAN - Disponível em <http://www.uniban.br/pesquisa/iniciacao_cientifica/pdf/ciencias_vida/farmacia/composicao_tipificada.pdf> Acesso em: 27 jun. 2010.
- Sforcin, J. M. 2007 - Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 113, n.1, p. 1-14.
- Sousa, J.P.B.; Furtado, N.A.J.C.; Jorge, R.; Soares, A.E.E. e Bastos, J.K. 2007a - Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 17, n.1, p. 85-93.
- Sousa C.M.M.; Silva, H.R.; Vieira-Jr., G.M.; Ayres, M.C.C.; Costa, C.L.S., Araújo, D.S.; Cavalcante, L.C.D.; Barros, E.D.; Araújo, P.B.M.; Brandão, M.S. e Chaves, M.H. 2007b - Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355.
- Volpi, N. e Bergonzini, G. 2006 - Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 42, n.3, p. 354-361.



Este ano começa com uma boa notícia para todos os interessados no estudo das plantas medicinais, principalmente nos seus aspectos químicos e farmacológicos. Acaba de ser lançado pela editora John Wiley o livro *Plant Bioactives and Drug Discovery: Principles, Practices and Perspectives*, editado pelo professor Valdir Cechinel Filho, da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

A obra consta de 16 capítulos escritos por 60 pesquisadores da Argentina, Brasil, Espanha, Estados Unidos, Inglaterra, Itália, Panamá, Suíça e Uruguai.

O capítulo 1 apresenta as técnicas mais recentes de drogas obtidas a partir de produtos naturais, não apenas vegetais superiores, mas também microorganismos, algas e organismos marinhos. O capítulo 2 trata das técnicas modernas na descoberta de novos compostos naturais. Os capítulos 3 e 4 discutem a importância dos produtos naturais na descoberta para a química medicinal. As ações dos constituintes dos vegetais superiores sobre o sistema nervoso central, como agentes anti-infecciosos, antiúlcera e antitumoral são abordados nos capítulos 5, 6, 7, 8 e 9 respectivamente. O tema do capítulo 10 é a inovação sobre a tecnologia farmacêutica das plantas medicinais. Os testes clínicos com plantas medicinais são tratados no capítulo 11. A influência dos fatores ambientais (bióticos e abióticos) na produção dos metabólitos vegetais pode ser vista no capítulo 12. A síntese de produtos bioativos aparece no capítulo 13. O capítulo 14 mostra métodos modernos de *screening* de drogas vegetais com propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e no tratamento do câncer e diabetes. Os dois últimos capítulos versam sobre dois tópicos de extrema importância para um país como o Brasil, onde, apesar da sua imensa biodiversidade e da capacidade técnica e científica de seus cientistas, a produção de fitomedicamentos não ultrapassa 5% do mercado mundial: os direitos de propriedade intelectual (capítulo 15) e a cooperação entre a indústria e a academia (capítulo 16).

Este livro deverá se tornar uma referência obrigatória no campo da produção de produtos com atividade terapêutica oriundos da biodiversidade.

Lucio Ferreira Alves

1. Normas Gerais

1.1 Os trabalhos submetidos poderão abranger qualquer aspecto da pesquisa com plantas medicinais (química, farmacologia, gestão, monografia, legislação, etnofarmacologia, cultivo, farmacognosia, pesquisa e desenvolvimento, revisão, educação, política científica, políticas públicas, etc.).

1.2 Os trabalhos enviados deverão ser inéditos, não sendo permitida a apresentação simultânea para outros periódicos.

1.3 Os trabalhos poderão ser redigidos em português, inglês ou espanhol. A Revista sugere que os autores cuja língua materna não seja o inglês ou espanhol o submetam, previamente, a uma empresa especializada, ou a um especialista na área com o inglês ou espanhol como primeira língua.

1.4 Uma vez aceito, os direitos autorais de todos os artigos, incluindo a sua reprodução por qualquer meio, seja eletrônico ou impresso, pertencerá à Revista Fitos, que solicitará aos autores uma declaração assinada neste sentido.

1.5 Todos os manuscritos serão submetidos à apreciação de consultores *ad hoc*, cujos nomes permanecerão em sigilo absoluto, e que dispõem de plena autoridade para decidir sobre a pertinência de sua aceitação, podendo, inclusive, rerepresentá-los aos autores com sugestões para que sejam feitas as alterações necessárias e/ou para que os mesmos sejam adequados às normas editoriais da Revista. Os trabalhos que não forem selecionados para publicação serão devolvidos aos autores.

1.6 Qualquer conceito emitido nos trabalhos publicados será de responsabilidade exclusiva dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Editor-Responsável e do Conselho Editorial.

1.7 Todos os trabalhos envolvendo estudos em humanos ou animais deverão estar acompanhados dos Pareceres dos Comitês de Ética de Pesquisa em Seres Humanos ou em Animais das instituições a que pertencem os autores, autorizando tais estudos.

1.7 Os artigos aceitos para a publicação deverão ser devolvidos ao Editor com as recomendações feitas pelos referees no prazo máximo de dois meses, caso contrário a aceitação do mesmo será cancelada.

1.9 Os trabalhos deverão ser enviados on-line para o Editor no endereço ograndetimoneiro@uol.com.br

2. Normas para Publicação

2.1 Os autores deverão manter uma cópia dos manuscritos em seu poder, em caso de eventual extravio daquele enviado à revista.

2.2 As figuras, tabelas, quadros, estruturas químicas, fotografias, gráficos, desenhos etc. deverão ser inseridas pelos próprios autores nos locais adequados e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. As respectivas legendas deverão ser claras, concisas, sem abreviaturas e localizadas na parte superior das mesmas.

2.3 As tabelas (dados numéricos) deverão seguir as mesmas regras do item 2.2 e não podem ser fechadas por linhas laterais.

3. Formatação Inicial do Trabalho

3.1 Os originais deverão ser redigidos na ortografia oficial e digitados em folhas de papel tamanho A4, espaço duplo, fonte tipo Times New Roman, tamanho 12, com texto justificado, margem de 2 cm em cada um dos quatro lados, e perfazendo o total de, no máximo, 20 e, no mínimo, 5 páginas, incluindo figuras, tabelas e quadros.

3.2 **Título e subtítulo:** deverão estar de acordo com o conteúdo do trabalho, levando em conta o âmbito da Revista. Estes deverão estar escritos em negrito com a primeira letra de cada palavra em maiúscula, fonte tipo Times New Roman, tamanho 14. Deverão também aparecer em inglês, com as mesmas características, mas em tamanho 12.

3.3 **Autores:** o primeiro nome de cada autor deve vir abaixo do título, à esquerda. O nome e o último sobrenome devem ser por extenso. Os demais sobrenomes devem conter apenas a primeira inicial (ex. José Carlos F. P. Oliveira.). No caso de vários autores, seus nomes deverão ser separados por ponto e vírgula.

3.4 **Filiação dos autores:** antes do nome de cada autor deverá constar um número arábico, sobrescrito, indicando seu local de trabalho, com endereço completo (inclusive CEP) e deverá aparecer logo abaixo dos nomes dos autores, também à esquerda. Deve-se assinalar o nome do autor principal com um

asterisco sobrescrito, para o qual toda correspondência deverá ser enviada.

3.5 Resumo em português: deverá apresentar concisamente o trabalho, destacando as informações de maior importância, expondo metodologia, resultados e conclusões. Permitirá avaliar o interesse pelo artigo, prescindindo de sua leitura na íntegra. Dever-se-á dar destaque ao Resumo como tópico do trabalho, (máximo de 200 palavras).

3.6 Abstract: versão do resumo para a Língua Inglesa. Evitar traduções literais. Quando não houver domínio deste idioma, consultar pessoas qualificadas. Providenciar também versão do título para a língua inglesa.

3.7 Palavras-chave: deverão identificar/representar o conteúdo do artigo. Observar o limite máximo de 6 (seis). São importantes para levantamentos em banco de dados, com o objetivo de localizar e valorizar o artigo em questão. Deverão vir separados por ponto e vírgula.

3.8 Keywords: Palavras-chave em inglês. Também em número de 6 (seis) e separados por ponto e vírgula.

4 Formatação do Trabalho

4.1 Introdução: deverá estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos na mesma área. Extensas revisões da literatura deverão ser substituídas por referências às publicações mais recentes, onde estas revisões tenham sido apresentadas.

4.2 Materiais e Métodos: a descrição dos materiais e dos métodos usados deverá ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e a reprodução do trabalho. Processos e técnicas já publicados, amenos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referenciados por citação.

4.3 Resultados: deverão ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e, sempre que possível, ser acompanhados de tabelas e figuras adequadas. Os dados, quando pertinentes, deverão ser submetidos a uma análise estatística.

4.4 Discussão: deverá ser restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, evitando-se

inferências não baseadas nos mesmos.

Obs.: Eventualmente, Resultados e Discussão poderão ser apresentados num único item.

4.5 Agradecimentos: este item é opcional e deverá vir antes das Referências.

4.6 Referências

4.6.1 Referência dentro do texto:

No início da citação. Nome do(s) autor (es) em caixa baixa, seguido do ano entre parênteses. Ex. "Pereira (1999) descreveu a atividade ansiolítica de *Lippia alba*". Quando houver dois autores, deverá obedecer a ordem alfabética dos autores e seguido o seguinte padrão: "Castro e Silva (1998) analisaram a toxicologia do extrato de *Psidium guajava*". Para três autores, a regra será semelhante à anterior, separando os dois primeiros autores por meio de vírgula. Por exemplo, "Amoroso, Costa e Soares (1997) descreveram a propriedade analgésica de toxicologia da *Lippia alba*". No caso de mais de três autores, deverá ser mencionado apenas o nome do primeiro, seguido de e colaboradores e do ano entre parênteses. Por exemplo, Silva e colaboradores (1999) confirmaram o efeito broncodilatador de *Mikania glomerata*.

No final da citação. Autor em caixa baixa seguido do ano. Ex. (Silva, 1999). Quando houver dois autores, estes deverão ser separados pela partícula 'e' e ser obedecida a ordem alfabética. Ex. (Castro e Silva, 1998). No caso de três autores, a regra será (Albuquerque, Lima e Sousa, 2000). Quando houver mais de três autores, deverá ser mencionado apenas o nome do primeiro, seguido de et al. e do ano. Por exemplo, (Silva et al., 1999) ou (Silva et al., 1995a,b).

4.6.2 Citação textual: colocar, também, a página. Ex. (Silva, 1999, p.24)

4.6.3 As Referências no final do artigo deverão ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, em caixa baixa e em ordem crescente de data de publicação, com o ano de publicação sempre após o nome do último autor. Devem-se levar em consideração as seguintes ocorrências:

4.6.3.1 Livro com um autor:

Autor, ano, título do livro em itálico, editora, cidade. COSTA, A.F. 1996. *Farmacognosia*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa

4.6.3.2 Livro com dois ou mais autores:

Autores, ano, título do livro em itálico, editora, cidade. SANTOS, I.F.; PEREIRA, F.L. 1995. *Criando um Novo Mundo*. Atheneu, São Paulo.

4.6.3.3 Livro editado

Deverão ser citados os nomes de todos os editores ou organizadores.

Editor(es) ou organizador(es), ano, título do livro em itálico, editora, cidade.

Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosman, G.; Palazzo de Melo, J.; Mentz, L.A. e Petrovick, P.R. (org.) 2003. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Editora da UFRGS/Editora da UFSC. Porto Alegre/Florianópolis.

Yunes, R.A e Calixto, J.B (ed.) 2001 – *Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna*. Editora Argos. Chapecó.

4.6.3.4 Capítulo de livro:

Autor(es), ano, título do capítulo, editor (ou organizador), título do livro em itálico, páginas inicial e final, editora, cidade.

Furlan, M.; Bergamo, D.C.B. e Kato. M.J. 2009 – Biossíntese de Produtos Naturais: Atualidades e Perspectivas no Desenvolvimento de Novos Fármacos. In: Yunes, R.A. e Cechinel Filho, V. (org.), *Química de Produtos Naturais: Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia*, p. 83-102. Editora da Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí.

4.6.3.5 Tese ou Dissertação:

Autor, ano, título da tese ou dissertação em itálico, nome da Faculdade ou Instituto, nome da Universidade, cidade.

Lima, N. 1991 - *Influência da ação dos raios solares na germinação do nabo selvagem*. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Campinas.

4.6.3.6 Artigo de periódico:

Deverão ser citados os nomes de todos os autores, ano, título do artigo, nome completo do periódico em itálico, volume, página inicial e final.

Carlini, E.A.; Duarte-Almeida, J.M. Rodrigues, E. e Tabach, R. 2010 - Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemao, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.20, p.140-146.

4.6.3.7 Citação indireta:

As duas citações devem ser mencionadas de maneira completa, com autor, ano, título do livro ou do periódico.

Carballo, S.A. 1995 - Plantas medicinales del Escambray cubano. Apuntes científicos. TRAMIL VII. Islã San Andrés, Colômbia. *apud* Germosén-Robineau, L. G., (ed) 1996 - *Farmacopea Vegetal Caribeña*, p.127-130. Editions Emile Désormeaux, Fort-de-France, Martinica.

Wax E.T .1977. Antimicrobial activity of Brazilian medicinal plants. *J Braz Biol Res* 41: 77-82, *apud Nat Prod Abs* 23, p.588-593, 1978.

4.6.3.8 Eventos científicos (Congressos, Seminários, Simpósios e outros):

Autor(es). Título do trabalho, ano, nome do evento, nº do evento, identificação do trabalho ou resumo, cidade de realização do evento.

Oliveira, J.P.C.; Ferreira, E.L.F. e Chaves, M.H. 2009 – Fenóis totais e atividade antioxidante e citotóxica de extratos das folhas de *Lecynites pisonis*. 32ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química, PN-003, Fortaleza.

4.6.3.9 **Patentes:** Devem ser identificadas conforme modelo abaixo.

Ichikawa, M.; Ogura, M. e Iijima, T. 1986. Antiallergic flavone glycoside from *Kalanchoe pinnatum*. *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 61,118,396*, *apud* Chemical Abstracts 105: 178423q.

4.6.3.10 Leis, Resoluções e demais documentos

BRASIL 2003 – Decreto nº 4.946 de 31 de dezembro de 2003. Altera, revoga e acrescenta dispositivos ao Decreto no 3.945, de 28 de setembro de 2001, que regulamenta a Medida Provisória no 2.186-16, de 23 de agosto de 2001.

4.6.3.11 Banco/Base de Dados

BIREME. Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. Lilacs - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde. Disponível em: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&base=LILACS&lang=p>>. Acesso em: 27 ago. 2009.

4.6.3.12 Homepage/Website

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza and other Influenza Viruses. 20 August 2009.** 91 p. Disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_guidelines_pharmaceutica_l_mngt.pdf>. Acesso 28 ago. 2009.