

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Bidens pilosa* (Picão – preto)

Organização: Ministério da Saúde e Anvisa

Fonte do Recurso: Ação 20K5 (DAF/ SCTIE/ MS)/2013

Brasília

2015

FICHA DE CATALOGAÇÃO

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fotos da espécie <i>Bidens pilosa</i>	02
Figura 2 - Fotos da espécie <i>Bidens pilosa</i>	03
Figura 3 - Granulometria do extrato de <i>Bidens pilosa</i>	15
Figura 4 - Estrutura química das principais classes de compostos secundários presentes em <i>Bidens pilosa</i>	17
Figura 5 - Cromatograma de amostra liofilizada de <i>Bidens pilosa</i>	19

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Alegações terapêuticas da espécie <i>Bidens pilosa</i> de acordo com a RDC 10/2010.....	24
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AA:	Atividade Antioxidante
AAPH:	2,2 azobis amidinopropano dihidroclorato
ABTS:	2,20-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
AhR:	Receptor de aril hidrocarboneto
ALT:	Alanina aminotransferase
AP:	Transporte apical
AS:	Arsênio
AST:	Aspartato aminotransferase
ATP:	Adenosina trifosfato
BL:	Transporte basolateral
BPM:	<i>Bidens pilosa</i> variedade minor
BPP:	<i>Bidens pilosa</i> variedade pilosa
BPR:	<i>Bidens pilosa</i> variedade radiata
BuOH:	Fração butanólica
CaCl ₂ :	Cloreto de cálcio
CBM:	Concentração bactericida mínima
CCl ₄ :	tetraclorato de carbono
Cd:	Cádmio
CG-MS:	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
CIM:	Concentração inibitória mínima
COX-2:	Ciclooxigenase 2
DL ₅₀ :	Dose letal 50%
DMBA:	Dimetilbenzeno A antraceno
DPPH:	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EA:	Acetato de etila
ED ₅₀ :	Dose efetiva 50%
EtOAC:	Fração acetato de etila
GSH:	Glutathione
GSH-Px:	Glutathione peroxidase
HbA1c:	Hemoglobina glicada
Hg:	Mercúrio
HPLC:	Cromatografia líquida de alta eficiência
IC ₅₀ :	Concentração inibitória 50%

IL-1 β : Interleucina 1
iNOS: Óxido nítrico sintetase induzível
JunB: Fator de transcrição Jun B
JunD: Fator de transcrição Jun D
K⁺: Potássio
KCl: Cloreto de potássio
LDH: Lactato desidrogenase
MAPKS: mapquinasas
MCMV: Citomegalovírus
MDA: malonildialdeído
mRNA: RNA mensageiro
MTT: brometo de 3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil brometo
Na⁺: Sódio
NAD(P)H: nicotinamida -adenina-dinucleótido fosfato - oxidase
NMU: N-nitroso-N-Metilurea
NO: Óxido nítrico
NrF2: Fator nuclear eritróide 2
OMS: Organização Mundial de Saúde
PA-1: Poliacetileno
PAG: Poliacetilenos glicosídeos
Papp: Coeficiente de permeabilidade aparente
Pb: Chumbo
PGE2: Prostaglandina E 2
PHA: fitohemaglutina
SC: Teores sólidos
SE: Selênio
SOD: Superóxido dismutase
STZ: Estreptozotocina
SV: Vírus sindbis
TBARS: Ácido tiobarbitúrico
TFC: Flavonóides Totais
TGF- β : Fator de transformação do crescimento beta
TNF- α : Fator de necrose tumoral
TPA: 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato de etila

TPC: Polifenóis Totais

UFC: Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1. IDENTIFICAÇÃO	1
1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA.....	1
1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA.....	1
1.3 FAMÍLIA	1
1.4 FOTO DA PLANTA	2
1.5 NOMENCLATURA POPULAR	4
1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	4
1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS	4
2. INFORMAÇÕES BOTÂNICAS	5
2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL	5
2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	5
2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA.....	6
2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES	8
3. CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE	9
3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL.....	9
3.1.1 Caracteres organolépticos.....	9
3.1.2 Requisitos de pureza	9
3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns.....	9
3.1.2.2 Microbiológico.....	9
3.1.2.3 Teor de umidade	10
3.1.2.4 Metal pesado.....	10
3.1.2.5 Resíduos químicos	11
3.1.3 Granulometria	11
3.1.4 Prospeção fitoquímica	11
3.1.5 Testes físico-químicos	11
3.1.6 Testes de identificação.....	12
3.1.7 Testes de quantificação.....	12
3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não.....	12

3.1.8	Outras informações úteis para o controle de qualidade.....	12
3.2	DERIVADO VEGETAL	13
3.2.1	Descrição	13
3.2.2	Método de obtenção.....	13
3.2.3	Caracteres organolépticos.....	14
3.2.4	Requisitos de pureza	14
3.2.4.1	Perfil de contaminantes comuns.....	14
3.2.4.2	Microbiológico.....	14
3.2.4.3	Teor de umidade	14
3.2.4.4	Metal pesado.....	14
3.2.4.5	Resíduos químicos	15
3.2.5	Testes físico-químicos	15
3.2.6	Prospecção fitoquímica	16
3.2.7	Testes de identificação.....	16
3.2.8	Testes de quantificação.....	18
3.2.8.1	Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não.....	18
3.3	PRODUTO FINAL	20
3.3.1	Forma farmacêutica	20
3.3.2	Testes específicos por forma farmacêutica.....	20
3.3.3	Requisitos de pureza	20
3.3.4	Resíduos químicos	20
3.3.5	Prospecção fitoquímica	21
3.3.6	Testes de identificação.....	21
3.3.7	Testes de quantificação.....	21
3.3.7.1	Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não.....	21
4.	INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA.....	22
4.1	USOS POPULARES E/ OU TRADICIONAIS	22
4.2	PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS	23
4.3	ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS	25
4.3.1	Estudos toxicológicos	25
4.3.1.1	Toxicidade aguda.....	25
4.3.1.2	Toxicidade subcrônica	25

4.3.1.3 Toxicidade crônica.....	25
4.3.1.4 Genotoxicidade	25
4.3.1.5 Sensibilização dérmica	26
4.3.1.6 Irritação cutânea	26
4.3.1.7 Irritação ocular	27
4.3.1.8 In vitro	27
4.3.2 Estudos farmacológicos.....	28
4.3.2.1 Ensaios in vitro	28
4.3.2.1.1 Atividade antioxidante.....	28
4.3.2.1.2 Atividade anticarcinogênica.....	30
4.3.2.1.3 Atividade Anti-inflamatória	32
4.3.2.1.4 Atividade anti-histamínica	33
4.3.2.1.5 Atividade antidiabética.....	33
4.3.2.1.6 Atividade Antimicrobiana	33
4.3.2.1.7 Atividade Antibacteriana	34
4.3.2.1.8 Atividade Antifúngica.....	35
4.3.2.1.9 Atividade Antiviral	36
4.3.2.1.10 Atividade Antimalárica	37
4.3.2.1.11 Atividade Antileishmaniose.....	38
4.3.2.1.12 Atividade Anti-helmíntica.....	38
4.3.2.1.13 Atividade Fotoprotetora	38
4.3.2.1.14 Permeabilidade intestinal	38
4.3.2.2 Ensaios in vivo	39
4.3.2.2.1 Atividade Analgésica e Antipirética	39
4.3.2.2.2 Atividade Anti-inflamatória	39
4.3.2.2.3 Atividade Antiulcerogênica, Gastroprotetora e Antisecretora.....	40
4.3.2.2.4 Atividade Antidiarreica	41

4.3.2.2.5 Atividade Anti-herpética.....	42
4.3.2.2.6 Atividade Antitripanossoma	42
4.3.2.2.7 Atividade Anti-hipertensiva	42
4.3.2.2.8 Atividade Diurética	44
4.3.2.2.9 Atividade Hepatoprotetora	44
4.3.2.2.10 Atividade Hipoglicemiante	45
4.3.2.2.11 Atividade Antimalárica	46
4.3.2.2.12 Atividade Antineoplásica.....	47
4.3.2.2.13 Atividade cicatrizante.....	48
4.3.2.2.14 Atividade Uterotrófica.....	49
4.3.2.3 Ensaios ex vivo.....	49
4.3.2.3.1 Reatividade Vascular.....	49
4.3.2.3.2 Contratilidade da musculatura Uterina	50
4.3.2.3.3 Contratilidade da musculatura lisa	50
4.4 ESTUDOS CLÍNICOS.....	51
4.4.1 Fase I.....	51
4.4.2 Fase II.....	51
4.4.3 Fase III.....	51
4.4.4 Fase IV.....	51
4.4.5 Estudos observacionais.....	51
4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO	52
4.5.1 Vias de Administração	53
4.5.2 Dose Diária	53
4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo).....	53
4.5.4 Período de Utilização.....	54
4.5.5 Contra Indicações	54
4.5.6 Grupos de Risco.....	54
4.5.7 Precauções de Uso	54
4.5.8 Efeitos Adversos Relatados	54
4.5.9 Interações Medicamentosas	54
4.5.9.1 Descritas.....	54

4.5.9.2 Potenciais	55
4.5.10 Informações de Superdosagem.....	55
4.5.10.1 Descrição do quadro clínico.....	55
4.5.10.2 Ações a serem tomadas.....	55
5. INFORMAÇÕES GERAIS	56
5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA	56
5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS.....	56
5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO	56
5.4 ROTULAGEM.....	56
5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS	56
5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL	56
5.7 DIVERSOS.....	57

1. IDENTIFICAÇÃO

1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA

Bidens pilosa L. (1)

1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA

São consideradas sinónimas da espécie: *Bidens leucantha*, *Bidens bipinnata*, *Kerneria pilosa*, *Bidens alausensis*, *Bidens alba*, *Bidens chilensis*, *Bidens hispida*, *Bidens leucantha* (L.) Willd. ex Walp, *Bidens leucanthema* (L.) Willd., *Bidens montaubani* Phil., *Bidens reflexa*, *Bidens scandicina* Kunth, *Bidens sundaica* var. *minor* Blume, *Centipeda minuta* (G. Forst.) Benth. ex C.B. Clarke, *Coreopsis leucantha* L., *Coreopsis leucanthema* L., *Cotula minuta* G. Forst., *Kerneria tetragona* Moench, *Myriogyne minuta* (G. Forst.) Less. (1).

1.3 FAMÍLIA

Segundo a classificação em Angiosperm Phylogeny Group III (APG III), *Bidens pilosa* pertence à ordem Asterales, família Asteraceae, tribo Coreopsideae (2).

A maioria dos estudos farmacológicos com a espécie a classificam como pertencente à família Asteraceae. Porém, alguns poucos estudos ainda classificam-na como sendo da família Compositae, nomenclatura antiga dada a família Asteraceae (3-10).

1.4 FOTO DA PLANTA



Figura 1 - Fotos da espécie *Bidens pilosa*. Fonte: www.tropicos.org/Name/2700301 (11).



Figura 2 - Fotos da espécie *Bidens pilosa*. Fonte: www.tropicos.org/Name/2700301 (11).

1.5 NOMENCLATURA POPULAR

Bidens pilosa é conhecida comumente como picão preto, picão ou carrapicho (1), porém outros nomes populares também são utilizados como: amor seco, pica-pica, amor de mulher, carrapato de mendigo, amor de burro, setas, malpica, cadillo, aceitilla, carrapicho de agulha, romerillo, romerillo branco, Mhuuyu, Black Jack e localmente em Lagos Nigéria como “Abere” (1, 12).

No Brasil, a espécie recebe outros diversos nomes como cuambu, carrapicho-de-duas-pontas, picão-do-campo, goambu, erva-picão, macela-do-campo, piolho-de-padre, espinho de agulha, carrapicho-de-cavalo, pirco, erva picão e pau-pau (13), pico-pico, fura-capá, cuambri, carrapicho-picão, coambi, guambu, picão-amarelo, picão-das-horas e piolho-de-padre (1).

1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A espécie *Bidens pilosa* é originária da América do Sul e encontra-se em quase todos os países de regiões tropicais e subtropicais, assim como em algumas regiões da Europa (14). Diversos estudos descrevem a espécie como sendo de regiões tropicais e subtropicais (5, 15-21).

Outros estudos descrevem sua distribuição em países como Camarões (22), Lagos, Nigéria (12), Taiwan, Brasil, México e América do Sul (21), Zimbábue (23, 24), Índia (25), África (6) e Cuba (26).

No Brasil, *B. pilosa* é encontrada em praticamente todo o território, porém concentra-se nas áreas agrícolas da região Centro-Sul. Sua distribuição foi descrita nos municípios de Carrancas, Ingaí, Itumirim, Itutinga e Lavras no estado de Minas Gerais (27), em Ponta Porá, no estado do Mato Grosso do Sul (28) e na Amazônia (1, 13).

1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS

Existem 772 espécies do gênero *Bidens*, incluindo espécies e variedades (11), porém nenhuma destas espécies é citada como adulterante ou correlata da espécie *Bidens pilosa*.

2. INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL

Os estudos científicos, bem como o uso popular, relatam principalmente o uso das folhas e da planta inteira. Verifica-se que 51% dos estudos que avaliaram a atividade farmacológica de *Bidens pilosa* utilizam as folhas (16, 23, 29-65) ou a planta inteira (5, 9, 10, 15, 18, 20, 21, 66-90), seguido por 9,3% de uso das partes aéreas (3, 4, 7, 8, 14, 91-97). As partes menos frequentes, mas também utilizadas são: as raízes (98-101), as folha e raiz (22, 25, 102), os brotos e folhas (103, 104), as flores (104, 105), as folhas e caule (26, 106), as folhas e flores (19, 107), os ramos (108) e menos frequentemente as sementes (12).

2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Bidens pilosa é uma planta herbácea, ereta, com porte variando entre 20 e 150 cm, que possui desenvolvimento rápido, alta produção de sementes e que nas regiões de clima tropical está presente o ano todo (1).

Compreende uma planta ramosa, glabra, com folhas opostas, simples, pecioladas e fendidas; flores amarelas reunidas em inflorescência do tipo capítulo; capítulos pleiomorfos, com flores radiais liguladas, pentâmeras, com cálice modificado, formando papilo que é transformado em aristas (13).

Folhas: São glabras, inteiras ou lobadas, sendo as superiores eventualmente internas, com 5 a 10 cm de comprimento. São pecioladas, opostas no caule e ramos, de formato ovalado ou lanceado; apresentam coloração verde, podendo ter tonalidades violáceas; podem ocorrer folhas simples ou compostas, com até 8 cm de comprimento por 4 cm de largura; apresentam margens serradas, com ou sem a presença de pelos (109).

Caule: *Bidens pilosa* apresenta caule ereto, ramificado, quadrangular e de superfície lisa; com coloração verde, podendo apresentar estrias ou manchas vermelho-amarronzadas, com ou sem a presença de pelos (109).

Flores: As flores desta espécie são dispostas em capítulos, individualmente acompanhadas por uma bráctea paleácea, que recobre o ovário (110). Os capítulos são em forma de botões amarelos, rodeados por uma série de folhinhas verdes; presença de pétalas geralmente brancas ou amarelas (109). Os capítulos são poucos, pedunculados, reunidos em corimbos de 30 a 40 flores amareladas ou brancacentas, aromáticas; involúcro campanulado,

escamas exteriores em geral foliáceas, quase sempre as interiores mais curtas, membranosas, brancacentas e ciliadas nas margens; poucas lígulas, brancas, frequentemente maiores que o involúcro, de dois a três lobos. Possuem brotos florais terminais compostos de flores tubulares radiadas de cor amarelo intenso (111).

Sementes: Possuem tamanho variável, de cor negra fosca, finamente rugosa e pontilhada. Possuem duas ou três aristas na parte apical (109).

Plântula: Hipocótilo cilíndrico, liso e sem pelos, geralmente com pigmentação avermelhada; folhas cotiledonares lanceoladas, podendo medir até 2 cm de comprimento; epicótilo verde-claro, estriado, com pelos curtos; folhas verdadeiras opostas, sem pelos, verde-escuras na face ventral e verde-claras na parte dorsal (109).

Inflorescência: Integralmente amarela e seus frutos, quando maduros, apresentam coloração enegrecida (110), pápus aristado, contido numa protuberância no ápice do pericarpo, formado por cerdas rígidas, em número de três a quatro, que apresentam tricomas voltados para a base (2). Os capítulos isolados ou em conjunto, terminais, cada um sustentado por um pedúnculo de até 5 cm de comprimento (109).

Fruto: O fruto da espécie é um aquênio linear-tetragonal, de 5 a 9 mm de comprimento, com coloração marrom-escura e extremidade superior provida de duas a três aristas. Segundo, Julio *et al.* 2009 (110), a deposição de fitomelanina, que confere a cor negra ao fruto maduro, ocorre entre a região mais externa do mesocarpo e a região mediana deste. Conforme os autores, essa deposição tem início precocemente, quando comparada à de outras espécies do gênero. A fitomelanina é uma substância negra, caracteristicamente encontrada nos frutos de determinadas espécies da família Asteraceae e provavelmente relacionada à proteção do pericarpo. Na base do fruto ocorre uma pequena projeção, o carpopódio, onde o fruto insere-se no eixo da inflorescência. A precocidade na maturação dos frutos está relacionada, além do acúmulo de fitomelanina, ao baixo número de camadas celulares. Essa característica, entre outras, comum à família Asteraceae, confere ao fruto pequeno crescimento em relação ao ovário que o produziu, tornando-o leve e facilitando o processo de dispersão (2).

2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Folhas: *B. pilosa* apresenta lâmina foliar com espessura aproximada de 200 µm, com epiderme simples e a face adaxial mais espessa que a abaxial. O mesofilo foliar é dorsiventral com pouca compactação; os parênquimas paliçádico e lacunoso apresentam quatro a seis

camadas de células, com pouco mais de 100 e 70 μm de espessura, respectivamente, mostrando-se em conformidade com o descrito para a maioria das Dicotyledoneae (112). Tanto na face adaxial como na abaxial, os estômatos são classificados como anomocíticos. Entre as particularidades, pode ser destacada a maior presença de estômatos na face abaxial das folhas e tricomas tectores multicelulares não ramificados em ambas as faces das folhas. É provável que algumas das barreiras potenciais foliares à penetração de herbicidas na espécie, que compreendem da alta densidade tricomática, baixa densidade estomática na face adaxial e alto teor de cera epicuticular, principalmente na face adaxial. A taxa de vascularização foliar média dessa espécie é de, aproximadamente, um feixe a cada 200 μm de largura foliar (2).

Além disso, as folhas apresentam uma seção transversal, uma estrutura bifacial de dicotiledônea, com presença de uma delgada cutícula na epiderme. O mesófilo é composto de uma camada de parênquima paliádico e o clorofiliano de parênquima glandular. Há presença de tricomas cônicos, pluricelulares grandes e pequenos em ambas as superfícies da epiderme. Na nervura central, a folha apresenta presença de glândulas esquizógenas e reforços de colênquima em toda superfície adaxial (2).

Caule: apresenta epiderme uniestratificada, cutícula estriada, tricomas tectores pluricelulares, unisseriados e alguns estômatos. O limite interno da região cortical é determinado pela endoderme, apresentando estrias de Caspary evidentes e alguns amiloplastos (111). A endoderme típica é evidenciada no eixo caular, menos frequente em caule do que em raiz. Ductos secretores são encontrados nas proximidades dos feixes vasculares, nas regiões cortical e medular, com características semelhantes às dos dutos encontrados na raiz e nos demais órgãos vegetativos. No córtex primário há desenvolvimento de colênquima angular nas arestas e no parênquima cortical clorofiliano; há também reforços de fibras de esclerênquima, floema e xilema primários e uma ampla zona de parênquima medular. Os xilemas são do tipo escaleriforme, reticulado e espiralado.

Raiz: apresenta uma estrutura secundária com amplo córtex e parênquima incolores, presença de espaços esquizógenos e fibras corticais. O cilindro vascular é constituído por floema e xilema secundários, separados por um cambio vascular. O xilema apresenta mais vasos do tipo reticulado (67). Apresenta epiderme uniestratificada e pelos radiculares, distinguindo-se claramente o sistema de revestimento, a região cortical e o sistema vascular (112).

Flores: A bráctea apresenta secção transversal em V e epiderme com células de tamanhos variados, cubóides, de paredes finas e cutícula evidente, e alguns tricomas multicelulares em diferenciação; o mesófilo é composto por células parenquimáticas

alongadas longitudinalmente, de tamanhos variados, entre as quais ocorrem vários feixes vasculares e canais secretores (110).

2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3. CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE

3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL

3.1.1 Caracteres organolépticos

A espécie *Bidens pilosa* apresenta cor verde claro e odor característico, que se mantém intacto por até 2 dias após colheita (113). Este mesmo estudo demonstrou que o armazenamento da planta inteira por 1 ano em frascos de vidro, em temperatura ambiente, manteve seus caracteres organolépticos como odor e cor.

3.1.2 Requisitos de pureza

3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (114), os materiais estranhos presentes na droga vegetal não podem ser superiores a 2%.

3.1.2.2 Microbiológico

O teste microbiológico de produtos não estéreis e de matéria-prima para uso farmacêutico é realizado segundo a metodologia descrita em ensaios microbiológicos para produtos não estéreis, item 5.5.3.1 da Farmacopeia Brasileira (115).

Para os ensaios microbiológicos em produtos não estéreis, devem ser utilizadas técnicas assépticas na amostragem e na execução do teste. O teste deve ser realizado, preferencialmente, em capela de fluxo laminar e empregar, quando possível, a técnica de filtração por membrana. Se a amostra possuir atividade antimicrobiana, essa deve ser convenientemente removida ou neutralizada. A eficácia e a ausência de toxicidade do agente inativante para os micro-organismos considerados devem ser demonstradas. Se usar substâncias tensoativas na preparação da amostra, também deve ser demonstrada a ausência de toxicidade para os micro-organismos e compatibilidade com o agente inativante (116).

Os limites permitidos de microrganismos em materiais vegetais, de acordo com a OMS, para uso interno, são os seguintes: Bactérias aeróbicas – máximo de 105 UFC/g;

Leveduras e bolores – máximo 103 UFC/g; *E. coli* – máximo 10 UFC/g; Outras enterobactérias – máximo 103 UFC/g; *Salmonella sp.* – ausência por 1 grama (117).

Já a Farmacopeia Brasileira de 1988, (118), bem como a Farmacopeia dos Estados Unidos da América (119), estabelecem as seguintes especificações: até 103 UFC/ g ou mL para bactérias e 102 UFC/g ou mL para fungos e leveduras. Devem estar ausentes colônias de *Salmonella sp.*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus*. Já segundo a British Pharmacopoeia (120), os limites permitidos para bactérias são de 10^5 UFC g⁻¹ e para fungos 10^4 UFC g⁻¹.

Até o momento não existem dados de teste microbiológico para o material vegetal de *Bidens pilosa*.

3.1.2.3 Teor de umidade

De acordo com a OMS, o valor aceito de umidade para uma droga vegetal é de 12% (114). Estudos demonstram que o teor de umidade para *Bidens pilosa* varia de acordo com a estação do ano, e compreendem valores entre 4,56 a 11,85%. Nos meses de janeiro e junho as médias de umidade foram de 7,53% e 6,20%, respectivamente (113).

3.1.2.4 Metal pesado

Os metais, como por exemplo o As, Se, Cd, Hg, Pb, entre outros, são muito tóxicos para os seres humanos e ambiente, e algumas plantas são potenciais biosorventes para a remoção desses metais do solo.

As plantas possuem vários grupos químicos, como, por exemplo, hidroxila, carboxila, carbonila, sulfidril, tioéter, sulfonato, amina, grupos amida, imina, imidiazole, fosfonato, fosfodiéster, entre outros, que são sugeridos por se complexar facilmente com esses metais.

Devido a esse fato, a OMS (117) recomenda que as plantas medicinais que constituem matérias-primas para os produtos acabados devem ser verificadas quanto à presença de metais pesados, pesticidas, contaminação por bactérias ou fungos (117), pois há um risco para a saúde inerente ao uso de muitas destas plantas, devido à presença deste tipo de contaminante (121).

Estudos demonstram que a espécie *B. pilosa* é uma planta considerada como hiperacumuladora de cádmio e eliminadora de arsênio do solo (122, 123). Estes mesmos

estudos demonstram que a espécie é uma interessante alternativa de fitoremediação para tratamento do solo contaminado com arsênio e cádmio.

Devido a essa propriedade da espécie de ser hiperacumuladora e eliminadora de metais pesados, devem ser feitas análises cuidadosas caso a espécie seja utilizada como um fitoterápico.

3.1.2.5 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.2.6 Cinzas

O valor para cinzas totais, que incluem as cinzas fisiológicas e as cinzas não fisiológicas (116), segundo a OMS (114), não deve ser superior a 13%.

A quantidade de cinzas totais observadas para a espécie *Bidens pilosa* variou de 9,69 a 16,57%, porém a média final foi de 11,54%, considerando amostras que foram coletadas nos meses de janeiro e junho (113). Portanto, a quantidade de cinzas presente na espécie está abaixo dos valores limítrofes.

3.1.3 Granulometria

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.4 Prospecção fitoquímica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.5 Testes físico-químicos

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.6 Testes de identificação

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.7 Testes de quantificação

A espécie *B. pilosa* apresenta em sua composição 83,33% de água, 2,27% de matéria nitrogenada, 0,43% de gorduras, 8,15% de matéria não nitrogenada, 3,94% de material fibroso e 1,84% de material mineral. Estes materiais minerais compreendem 36,77% de óxido de potássio, 17,86% de óxido de cálcio, 8,43% de ácido sílico, 6,69% de ácido fosfórico e 1,43% de ar. A relação nutritiva da planta é de 1:4:8 (111).

Além disso, foi detectada a presença de fibras 2,92 g/ 100 g, cálcio, ferro, fósforo, sódio, zinco, cobre, manganês, magnésio (124).

Outro estudo de quantificação demonstrou que *B. pilosa* apresenta em média 26,4% de substâncias solúveis em água e 25,99% de substâncias solúveis em etanol (113).

3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade

Poucos estudos relatam o controle de qualidade da espécie *Bidens pilosa*. Sanchez Govin, *et al.*, (2003) (113) investigaram formas de armazenamento ideais para a espécie. Para tanto, as partes aéreas da espécie vegetal foram coletadas, secas e armazenadas em três diferentes locais: pote de vidro, embrulhada em papel Kraft e em envelopes de polietileno, que ficaram em temperatura e umidade ambiente por um período de 1 ano. Após esse período, verificou-se que todos os indicadores estudados estavam dentro do padrão aceito para droga vegetal e a melhor forma de armazenamento para a espécie foi em pote de vidro.

Outro estudo verificou a perda de β -caroteno em diferentes formas de preparação das folhas de *Bidens pilosa*. O conteúdo de β -caroteno de folhas jovens tenras foi de $64 \mu\text{g g}^{-1}$ nas amostras frescas. Nas folhas fervidas por 20 minutos o conteúdo de β -caroteno foi 31% maior do que nas folhas escaldadas por 1 minuto. Já as folhas que passaram por um processo de

ebulição por 60 minutos, apresentaram uma diminuição de 6%, e as folhas secas no sol e na sombra apresentaram uma perda de 92 e 93% respectivamente, no conteúdo de β -caroteno. Após 6 dias de refrigeração, 38% do β -caroteno foi perdido nas folhas frescas, e nas folhas frescas congeladas durante 5 dias à 18°C nenhuma perda foi observada (24).

3.2 DERIVADO VEGETAL

3.2.1 Descrição

Não há monografias em Farmacopeias oficiais para os derivados de *Bidens pilosa*, porém há artigos científicos que utilizaram o derivado vegetal para caracterização fitoquímica e testes de farmacologia pré-clínica.

3.2.2 Método de obtenção

Os principais métodos de obtenção do derivado vegetal de *Bidens pilosa* são o extrato hidroalcoólico (43% dos trabalhos avaliados), seguido por extrato aquoso (24% dos estudos). Mas também estão descritos a obtenção do derivado vegetal por meio de extratos metanólicos (4, 6, 17, 72, 74, 124-126), clorofórmio (54, 74), éter de petróleo (74), acetato de etila (63, 127), diclorometano (34, 54, 63, 125), metanol acidificado (77) e a mistura metanol:diclorometano (1:1) (39, 43, 44, 57).

Quanto às formas de extração, o método mais comumente utilizado é a maceração, compreendendo 54% dos trabalhos analisados, que pode ser a frio, a temperatura ambiente ou sob agitação mecânica. Mas também foram utilizados os métodos de infusão (7, 8, 16, 18, 21, 70, 71, 75, 96, 128), percolação (15, 81), agitação sob refluxo (4, 9, 49, 52, 53, 77, 100, 107, 129-131), decocção (34, 45, 97, 132, 133), hidrodestilação em clevenger (105) para obtenção do óleo essencial, sonicação (87), soxlet (55, 76) e ultrassom (35, 41, 98).

A influência da adição de adjuvantes tecnológicos e parâmetros de secagem nas características físico-químicas do produto vegetal e no desempenho do secador foi avaliada em uma dissertação de mestrado (134). Após submeter o material vegetal à maceração dinâmica, o extrato foi submetido à concentração e secagem em *spray dryer*, leito de jorro e liofilizador e as características físico-químicas foram avaliadas.

Este estudo determinou que as condições ótimas para a extração por maceração dinâmica são: etanol 62,7% (v/v), temperatura de 66,2°C, proporção planta solvente 1/10

(p/v) e tempo de extração de 30 minutos, sendo essas condições ideais para obtenção de maior concentração de flavonoides e outros polifenóis, especialmente nas folhas e flores (84, 134).

Já as condições otimizadas para a secagem por meio de *spray dryer* foram: dióxido de silício coloidal : celulose microcristalina na proporção de 13:37; temperatura do gás de entrada de 155,2 °C; vazão de alimentação do extrato de 8,95 g/ min. Nestas condições operacionais obteve-se um produto seco com 4,9% de umidade, 0,2 de atividade de água, 17,8 mg/ g de flavonoides, 51,8 mg/ g de polifenóis e uma recuperação de 59,4% com respeito à composição de secagem atomizada (84, 134), sendo o *spray dryer* sugerido como a condição mais apropriada para a secagem do extrato vegetal.

3.2.3 Caracteres organolépticos

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2.4 Requisitos de pureza

3.2.4.1 Perfil de contaminantes comuns

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2.4.2 Microbiológico

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2.4.3 Teor de umidade

O extrato hidroalcoólico preparado em condições padronizadas por Cortés-Rojas e Oliveira (2012) (84) e seco por *spray dryer*, leito de jorro ou liofilizador apresentou uma atividade de água abaixo de 0,5, valor dentro do ideal, o que dificulta o crescimento microbiológico e a ocorrência de reações que podem levar a deterioração do produto vegetal (134).

3.2.4.4 Metal pesado

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2.4.5 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2.5 Testes físico-químicos

Cortés-Rojas (2011) demonstrou que o tamanho de partícula dos extratos secos das folhas de *Bidens pilosa* depende do processo de secagem (134). Extratos secos pela técnica de leito de jorro apresentam partículas maiores do que o extrato seco por meio da técnica padronizada de *spray dryer*.

O tamanho das partículas é uma propriedade importante, pois este influencia na solubilidade e fluidez do derivado vegetal, fatores de fundamental importância na indústria farmacêutica para o desenvolvimento de produtos à base de plantas (84).

A análise de microscopia eletrônica de varredura demonstrou que há diferenças nas características de superfície e na forma das partículas geradas, dependendo do adjuvante tecnológico utilizado, conforme demonstrado na figura a seguir, sugerindo que o extrato seco por *spray dryer* é melhor para ser utilizado nas preparações fitofarmacêuticas (84).

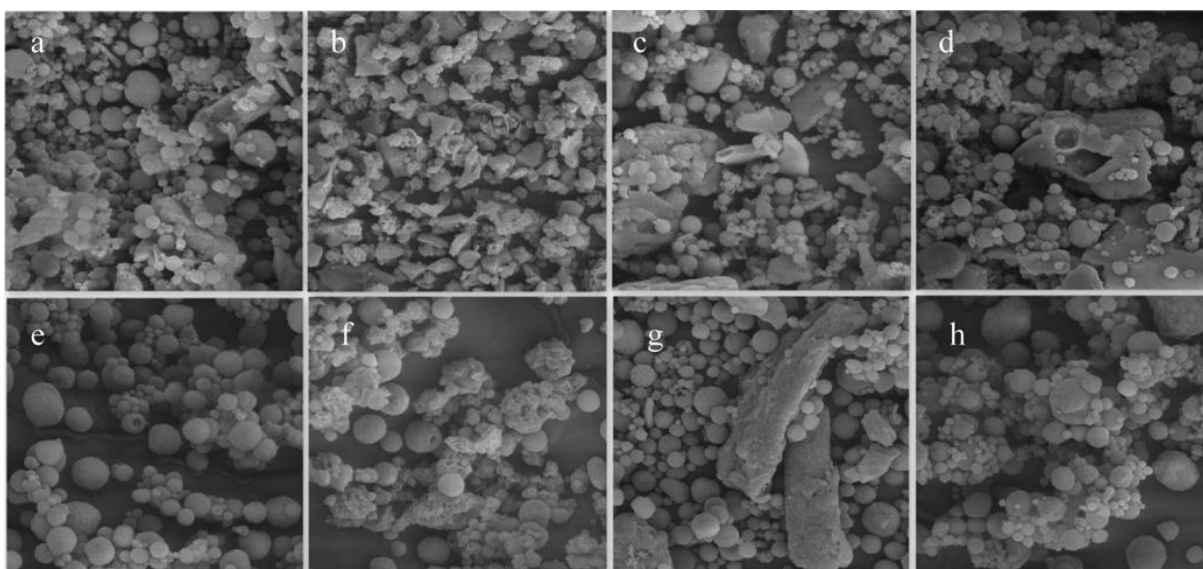


Figura 3 - Granulometria do extrato de *Bidens pilosa*. Microscopia eletrônica de varredura 1000X, demonstrando diferentes características de superfícies e formas no extrato de *Bidens pilosa*, seco por leito de jorro (a, b, c e d) e *spray drying* (e, f, g e h). (84)

3.2.6 Prospecção fitoquímica

Alguns estudos utilizaram testes fitoquímicos para a identificação de compostos secundários presentes na espécie. Dentre os principais testes realizados estão os testes de Dragendorff para identificação de alcaloides, Shinoda para flavonoides, teste da espuma para saponinas, teste do tricloreto férrico para compostos fenólicos, teste da gelatina para taninos, teste de Lieberman-Burchard para esteróides e/ou terpenoides, teste de Ninhidrina para Aminoácidos livres e de Molish (alfa naftol) para glicosídeos (68).

Além disso, foram relatados testes de identificação de compostos em cromatografia de camada delgada (CCD) (4) e testes para identificação de teor de sólidos (SC), de flavonoides totais (TFC) e de conteúdo de polifenóis totais (TPC) (133).

No extrato de folhas foi detectada a presença de alcaloides, flavonoides, taninos e saponinas. Já o extrato obtido do caule apresentou tanino e saponina, e o extrato das sementes apresentou alcaloides, taninos e saponinas (135). Foi detectada a presença de flavonoides, compostos fenólicos, taninos e alcaloides tanto no extrato etanólico bruto como na fração metanólica de *B. pilosa* (66-68). Também foi descrita a presença de 8 mg/ g de flavonoides, 11,2 mg/ g de protoantocianidinas e 8,3 mg/ g de taninos (23). Em placas cromatográficas foi detectada a presença de taninos, agliconas, esteróis insaturados e ou triterpenos, saponinas, carboidratos, lactonas e proteínas (4).

3.2.7 Testes de identificação

B. pilosa é uma extraordinária fonte de compostos fitoquímicos, pois já foram identificados 201 compostos os quais incluem: 70 compostos alifáticos (36 polyynes), 60 flavonoides, 25 terpenoides, 19 fenilpropanóides, 13 compostos aromáticos, 8 porfirinas e 6 outros compostos (136).

Diferentes técnicas como HPLC, CG-MS e fracionamento por cromatografia em coluna são utilizadas para isolamento e identificação dos compostos presente em *Bidens pilosa*. Essas técnicas já isolaram e identificaram os seguintes compostos: (Z)- β -ocimeno, β -elemeno, β -cariofileno, α -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, (E, E)- α -farneseno, 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol, δ -cadineno, espatulenol, óxido de cariofileno, torreyol, por CG-MS (105), 3,5-di-O cafeoilquínico, 6,7,3', 4'-tetra aurone, 7,8-di-hidroxycumarina, ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico, hiperósido, 5,8,4'-trihydroxyflavone-7-O- β -D-glucopiranósido, 5,3'-di-hidroxi-3,4'- dimethoxyflavone-7-O- β -D-glucopiranósido, o ácido clorogénico,

chlorogenate metil, 4-metil okanin éter-3'-O-β-D-glucósido, okanin 4'-O-β-D-6''-trans-p-coumarol)-glucopiranoside, centaureina, quercetina-3,4'-dimetil-éter 7-O-rutinosideo, isookanin-7-O-β-Dglucopiranosideo, 7,3', 4'-trihidroxiflavona, 3,5,7-tri-hidroxi-3', 4'-dimethoxiflavona, 3,5-di-hidroxi-3', 5' -dimethoxiflavona-7-O-β-D- glucopiranósido (lagotiside), 3,4,2', 3'-tetrahidroxichalcone-4'-O-β-D-glucopiranósido (Okanin-4'-glc), luteolina (82).

Ácido cafeíco, cefeoquínico e flavonoides (8), hiperosídeo (15 mg), a rutina (18 mg), maritimetin (10 mg), quercetina (15 mg), okanin (11 mg), iso-okanin (15 mg), 7-O-alquilo (400600-diacetil) -bd-glucopiranósido (11 mg), (Z) -6-O (3,6-di-Oacetyl-D-glucopiranosil) -6, 7,30,40-tetrahidroxiaurona (17 mg) e 20,40,60-trimetoxi-4-OD-glucopiranosil-di-(12 mg) (53).

No extrato bruto foram identificados compostos como flavonoide, quercetina, 3,3-dimetil éter 7-OBd-glicopiranosídeo (93).

Os compostos fenólicos predominantes descritos foram: ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido hidroxibenzóico, catequina, ácido cafeíco, vanílico, cumárico e ferúlico (103, 104), poliacetileno e flavonoides (100), terpenos e β-cariofileno (10,9% e 5,1%) e cadinene (7,82% e 6,13%), nas folhas e flores, respectivamente.

Os outros compostos químicos descritos foram α-pineno, limoneno, b-trans-ocimeno, b-cis-ocimeno, s-muurolene, bourbonene, b-elemenno, b-cubebene, cariofileno, óxido de cariofileno, e megastigmatrienone (19), quercetina (0,09%) (91), sabineno, b-felandreno (Z)-b-ocimeno, nonanal, bicicloelemenno, copaeno, b-elemenno, trans-cariofileno, α-humuleno, germacreno, biciclogermacreno, (E, E)-α-farneseno, g-cadineno, d-cadineno, óxido de cariofileno (137).

Outro estudo também revelou que a análise fitoquímica do extrato de *Bidens pilosa* extraído por CO₂ supercrítico possui fitol e ácidos graxos (138).

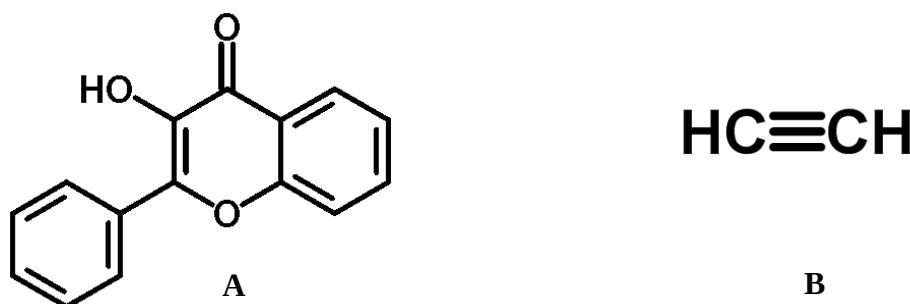


Figura 4 - Estrutura química das principais classes de compostos secundários presentes em *Bidens pilosa*. A – Flavonoide; B - Acetileno (139).

3.2.8 Testes de quantificação

Estudos realizaram testes para a quantificação de compostos fenólicos totais, pela técnica de Folin–Ciocalteu, e de flavonoides totais por HPLC e espectrofotometria de ultravioleta no derivado vegetal de *B. pilosa*. Foi observado, que a fração acetato de etila apresenta maior quantidade de compostos fenólicos e flavonoides totais, em comparação com as frações n-hexânica, n-butanólica e aquosa (126). Outro estudo também determinou a quantidade destes compostos por espectrofotometria de ultravioleta e também observou maior quantidade destes compostos na fração acetato de etila em comparação com a fração éter de petróleo (79).

Quanto as quantidades, Cortés-Rojas *et al.*, (2011) (85) obtiveram um conteúdo de flavonoides totais (TFC) de $0,385 \pm 0,002$ mg por gw.b e um conteúdo de polifenóis totais (TPC) de $1,219 \pm 0,004$ mg por gw.b. Já Katerere *et al.*, (2012) (87) observaram que o conteúdo de polifenóis totais (TPC) foi de 333,56 mg /equivalente em ácido gálico/100 g.

Também foram realizados testes para identificação de flavonóis e foram identificados a presença de miricetina, morin, quercetina e kaempferol, e este mesmo estudo detectou 32,9 mg ácido gálico/g DW de polifenóis totais (77).

3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

A espécie *Bidens pilosa* é uma extraordinária fonte de compostos fitoquímicos, especialmente flavonoides e poliacetilenos (140).

Em um artigo de revisão, foram descritos 198 compostos para a espécie *Bidens pilosa* (141). Ainda, em uma outra revisão, foram descritos diversos compostos isolados da espécie, sendo estas substâncias das classes dos produtos naturais alifáticos, flavonoides, terpenoides, fenilpropanoides e compostos aromáticos (140).

Outros compostos secundários presentes e descritos para a espécie são os taninos, agliconas, esteróis insaturados, triterpenos, saponinas, carboidratos, lactonas e proteínas (4), flavonoides, compostos fenólicos e glicosídeos (66-68).

Já os flavonoides, um grande grupo de metabólitos de *B. pilosa*, estão divididos em auronas, flavonas, chalconas, flavanonas, flavonas e flavonóis, assim como também em terpenoides, incluindo os sesquiterpenos, diterpenos, esteróis, triterpenos e tetraterpenos.

Outros importantes compostos presentes em *B. pilosa* são os acetilenos, que são compostos importantes para a classificação botânica. Foram identificados 34 tipos de

acetilenos, sendo o mais abundante o C13-poliacetileno, que está presente nas folhas, caule e raiz. Outro grupo de poliacetilenos isolado de *B. pilosa* são os poliacetilenos glicosídeos (PAG), que são poliacetilenos com um radical de açúcar (glicose ou ramosa). Já foram descritos 9 tipos de PAGs (141).

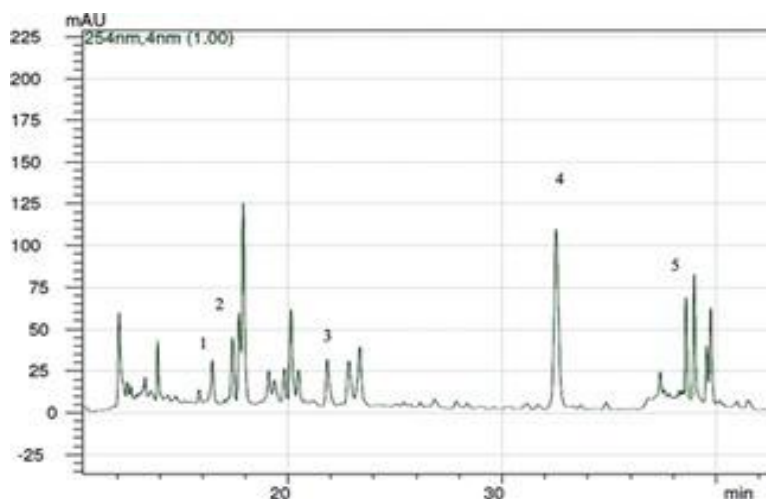


Figura 5 - Cromatograma de amostra liofilizada de *Bidens pilosa*, demonstrando os principais compostos presentes na espécie. Pico 1, rutina; pico 2, hiperosídeo; pico 3, o ácido 4,5-dicafeoilquínico; pico 4, quercetina; pico 5, poliacetileno (84).

No óleo essencial das flores, folhas e caules foram identificados como compostos majoritários os sesquiterpenos germacreno-D e β -cariofileno (141). Poliacetilenos, incluindo 1-phenylhepta-1,3,5-triyne, foram identificados na raiz e nas partes aéreas. E a cromona, conhecida como precocene I, foi isolada das folhas da espécie (141).

A espécie *Bidens pilosa* apresenta uma diferença nos compostos secundários de acordo com a parte da planta, por exemplo, no extrato das folhas foi detectada a presença de alcaloide, flavonoides, taninos e saponinas. Já o extrato de caule apresentou tanino e saponina, e o extrato das sementes apresentou alcaloides, taninos e saponinas (135).

Outro exemplo é quanto aos teores de sólidos (SC), flavonoides totais (TFC) e de polifenóis totais (TPC). Cortes-Rojas *et al.* 2013 (133) demonstraram que os extratos de raiz apresentam quantidade inferior de conteúdo sólido (SC), quando comparados com os extratos das folhas/flores e caules. O extrato de raiz também apresentou um TFC e TPC ligeiramente superior em comparação com o extrato de caule, e o extrato das folhas apresentou maior quantidade de flavonoides (133).

Quanto à diferença dos compostos em relação à localização geográfica, foram analisados os perfis cromatográficos de seis extratos hidroalcoólicos de folhas de *B. pilosa*

coletadas em diferentes lugares, e estes apresentaram perfis cromatográficos gerais semelhantes (133).

Também é descrito que há pouca variação em relação à quantidade de compostos ao longo do ano. Sánchez Govin, *et al.* (113) demonstraram que a média de compostos fenólicos no mês de janeiro foi de 0,68% e no mês de junho foi de 0,72%, em plantas coletadas em Cuba.

Quanto aos diferentes tipos de extração, foi possível observar que a maceração dinâmica foi a que demonstrou maior quantidade dos compostos analisados, em comparação com outros métodos de extração como soxlet, ultrasom e micro-ondas (133).

3.3 PRODUTO FINAL

Até o momento, a espécie *Bidens pilosa* não foi padronizada como um produto final para ser utilizada como fitoterápico, portanto, não existem dados que a caracterizem quanto a sua forma farmacêutica e bem como também não foram realizados os demais testes necessários para sua padronização.

3.3.1 Forma farmacêutica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.3 Requisitos de pureza

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.4 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.5 Prospecção fitoquímica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.6 Testes de identificação

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.7 Testes de quantificação

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4. INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA

4.1 USOS POPULARES E/OU TRADICIONAIS

Diversos estudos descrevem o uso tradicional e popular da espécie *Bidens pilosa*. Dentre as principais indicações destacam-se o uso para o tratamento de icterícia (22, 27, 28, 108, 142-144), inflamação nos rins (29, 31, 145-147), cicatrização de feridas (27, 28, 48, 76, 143, 145, 146), como antimalárico (28, 59, 63, 64, 76, 143) e para o tratamento da diabetes (3, 6, 12, 28, 37, 63, 64, 143, 145, 146) ou como hipoglicemiante (76).

Também há relatos de uso para tratar infecções de bexiga, colecistite, doenças reumáticas, bronquite, infecção do útero, vaginite (29), tosse (27-29, 59, 143), dor (27, 143), inflamação (29, 143, 147), como antiulcerogênica (26, 30, 76), para tratar disenteria (3, 28, 48, 143), como antitumoral e antibacteriana (30), diurética, depurática (3), para tratamento de herpes labial, amigdalite catarral, antidontálgica, doença renal, para perda de peso e diminuição do colesterol (15).

Dentre outras indicações de usos, há relatos para tratar dor de cabeça, doenças inflamatórias (35), hepatite (27, 102, 142, 143), picadas de cobra, picadas de insetos, choque após acidentes, problemas pulmonares, infecções do olho, hipotensor, antibacteriano (76), alongamento de pequenos lábios (36), hipertensão (37), abortiva (98), emenagogo (15, 48), alívio da dor da primeira dentição (148), como tônico e para redução do cansaço, controle da pressão arterial (baixas doses) (25), inapetência, anemia (143, 145, 146), para tratar cálculo renal (143, 145, 146), erisipela (28, 143), gonorréia (28, 143), inflamação da garganta (27, 149, 150), como antimicrobiana, para tratar apendicite, coceira, congestão, ferida do umbigo do bebê, flatulência, hemorróidas, como hepatoprotetora, para tratar inchaço, infecção, infecção dos ovários, inflamação dos ovários, inflamação renal, pele seca, picada de inseto, problemas circulatórios, digestivos, hepáticos, oculares, renais, urinários e reumatismo (143), dores de estômago (144), como antidiarreica (56, 62, 147, 151), anestésico (6), para aumentar a motilidade uterina e a atividade da oxitocina (149), como ocitócito (estimular o nascimento da criança) (61, 128), para aliviar dor nos olhos (59), para estancar sangramento (86), como cicatrizante (62, 127), sedativo (62), para o tratamento da pneumonia (63, 64), de doenças hepáticas (65), gases no estômago (28), como estimulante, anti-inflamatória, antiescorbútica, antileucorreica, sialagoga, vermífuga (147), para desobstruções do fígado (27, 147), febre, reumatismo articular (27), inflamação no útero, cistite, problemas renais, gastrite, cólica

intestinal, anti-inflamatório, prurido, dor de dente (102), tumores da glândula da próstata e para tratar urticária (152).

4.2 PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS

A espécie *Bidens pilosa* está presente no anexo I da RDC 10/2010, que dispunha sobre a notificação de drogas vegetais junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (153). As informações estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Alegações terapêuticas da espécie *Bidens pilosa* de acordo com a RDC 10/2010 (153).

Nomenclatura botânica	Nomenclatura popular	Parte utilizada	Forma de utilização	Posologia e modo de usar	Via de administração	Uso (A= adulto, I= infantil)	Alegações	Contra-indicações	Efeitos adversos	Informações adicionais de embalagem
<i>Bidens pilosa</i>	Picão	Folhas	Infusão: 2 g (1 col sobremesa) em 150 mL de água (xíc chá)	Utilizar 1 xíc chá 4 x ao dia	Oral	I	Icterícia (coloração amarelada de pele e mucosas devido a uma acumulação de bilirrubina no organismo	Não utilizar na gravidez	–	–

4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

4.3.1.1 Toxicidade aguda

Dois estudos descrevem a avaliação da toxicidade aguda para a espécie *Bidens pilosa* em camundongos. Frida *et al.* (2007) (16) avaliaram a toxicidade do extrato aquoso e etanólico administrado por via intraperitoneal, nas doses de 0,78, 1,56, 2,34, 3,13, 3,90 mg/ g uma única vez, para determinar o número de mortes no período de 72 horas. Os resultados demonstraram que a DL50 do extrato aquoso é de 12,30 g/ Kg e do extrato etanólico é de 6,15 g/ Kg.

Mirvish *et al.* (1979) (38) avaliaram o potencial carcinogênico das folhas de *Bidens pilosa*. Para tanto, incorporaram na dieta de ratos wistar o material vegetal seco ou o extrato etanólico, resíduo insolúvel, fração metanólica, fração hexânica ou o extrato aquoso, que foram administrados por um período de 1 ou 2 semanas. Os resultados demonstraram que a timidina do DNA das células epiteliais esofágicas aumentou de 2 a 3 vezes nos animais que receberam a dieta contendo o material vegetal seco, o extrato etanólico, a fração metanólica ou o extrato aquoso, sugerindo que a espécie *B. pilosa* pode causar câncer de esôfago.

Apesar da espécie *Bidens pilosa* apresentar uma DL50 alta, sugerindo ser segura, mais estudos precisam ser realizados para verificar seus efeitos tóxicos e seu potencial carcinogênico.

4.3.1.2 Toxicidade subcrônica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.3.1.3 Toxicidade crônica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.3.1.4 Genotoxicidade

Quanto à avaliação da genotoxicidade da espécie *Bidens pilosa*, diferentes estudos utilizaram o teste do cometa e do micronúcleo, avaliando diferentes concentrações e preparações do extrato (68, 73, 77, 78, 93).

Arroyo, *et al.* (2010) avaliaram a atividade antitumoral do extrato etanólico de *B. pilosa* em ratas induzidas com dimetil-hidrazina (DMH) para o desenvolvimento de tumor mamário. Após tratamentos com 300 mg/ Kg do extrato, o sangue dos animais foi coletado e submetido ao teste do micronúcleo. Os resultados demonstraram que o tratamento promoveu uma diminuição significativa no número de micronúcleos no sangue (68).

Em outro estudo, cultura de células de hepatócitos de ratos *Wistar* foi incubada com diferentes concentrações de extrato aquoso de *B. pilosa*, preparado por infusão (0,5, 1 e 2 mg/ mL) ou por decocção (1, 2 e 4 mg/ mL). Os resultados deste estudo demonstraram que ambas as formas de preparação promoveram um aumento na frequência do número de células danificadas, no teste do cometa, nas 3 concentrações testadas, já no teste do micronúcleo, nenhum dano celular foi observado (73).

O extrato bruto e especialmente a fração acetato de etila (EtOAc) de *B. pilosa*, administrados por via oral, preveniram a fragmentação do DNA induzida por CCl₄ em hepatócitos de camundongos (93). Outro estudo também demonstrou que o extrato metanólico acidificado protege o DNA de lesão induzida por peróxido de hidrogênio nas concentrações de 25 e 50 µg/ mL em linfócitos (77).

Observa-se por meio dos resultados apresentados que a espécie *Bidens pilosa* protege o DNA de lesão induzida por H₂O₂ e também por CCl₄ e diminui o número de micronúcleos no sangue. Porém, Costa, *et al.* (2008) (73) demonstraram que o extrato aquoso preparado por infusão e decocção promove um aumento na frequência do número de células danificadas, no teste do cometa. Desta forma, há necessidade de mais testes para estabelecer se há ou não potencial genotóxico para *B. pilosa*.

4.3.1.5 Sensibilização dérmica

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.3.1.6 Irritação cutânea

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.3.1.7 Irritação ocular

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.3.1.8 *In vitro*

Estudos *in vitro* foram realizados para avaliar o potencial toxicológico de *Bidens pilosa*. Dentre essas avaliações, foram testadas sua ação irritante, anti-hemolítica, citotóxica e mutagênica.

Quanto à ação irritante, diferentes concentrações do extrato aquoso de *B. pilosa* foram colocadas na presença de hemoglobina de eritrócitos humanos, pois substâncias irritantes promovem desnaturação da hemoglobina. Os resultados demonstraram que o extrato não promoveu desnaturação da hemoglobina das hemácias, sugerindo ausência de efeito irritante para a espécie (97). Kwiecinski *et al.* (2008) (94) também demonstraram ausência de efeito hemolítico para o extrato hidroalcoólico e para as frações clorofórmica, acetato de etila e metanólica das partes aéreas.

Para avaliar a atividade anti-hemolítica, eritrócitos foram incubados com diferentes concentrações do extrato etanólico ou a fração acetato de etila e posteriormente a hemólise foi induzida por 2,2 azobis amidinopropano (AAPH). Ambos extratos suprimiram a hemólise induzida por AAPH de forma concentração dependente (81), também sugerindo que a espécie apresenta atividade anti-hemolítica.

A atividade citotóxica da espécie também foi avaliada em células derivadas de larvas de *Aedes albopictus* e em células tumorais humanas. Diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de caule, flor ou raiz de *B. pilosa* foram adicionadas às culturas de células e avaliadas pelo método de MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo]. Os resultados demonstraram que nenhuma atividade tóxica foi observada (135).

O extrato acetato de etila foi incubado com células tumorais humanas KB (carcinoma epidermóide oral) e células embrionárias humanas diplóides ling MRC-5, para avaliar sua atividade de promoção da morte destas células. Os resultados demonstraram que *B. pilosa* promoveu atividade citotóxica de $24.0 \pm 17.0\%$ nas células KB e de $14.0 \pm 2.0\%$ nas células MRC5 (127), demonstrando baixa atividade citotóxica para estes tipos celulares.

A atividade mutagênica do extrato metanólico foi avaliada em cepas de *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535 e *Escherichia coli* WP2 uvrA, onde foi avaliado o crescimento bacteriano em meio apropriado na presença de diferentes concentrações do

extrato. Os resultados indicaram que esta planta não é mutagênica nas cepas testadas e há ausência de ativação metabólica (17).

4.3.2 Estudos farmacológicos

4.3.2.1 Ensaios *in vitro*

Diversas atividades foram avaliadas em estudos farmacológicos *in vitro* para a espécie *Bidens pilosa*, dentre estas, as atividades antimicrobiana, antimalárica, anti-histamínica, antioxidante, antileishmaniose, antibacteriana, anticarcinogênica, antidiabética, antifúngica, anti-helmíntica, anti-herpética, anti-inflamatória, antiparasitária, antipromastigota, antiviral, fotoprotetora, imunossupressora, imunomoduladora e de alteração da permeabilidade intestinal.

4.3.2.1.1 Atividade antioxidante

A espécie *Bidens pilosa* é rica em compostos fenólicos, por isso diversos estudos avaliaram e demonstraram sua atividade antioxidante. O principal modelo utilizado para avaliação da atividade antioxidante foi o modelo do DPPH. De um modo geral e sucinto, esse método consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), de coloração púrpura que absorve luz a 515 nm. Por ação de um antioxidante, o DPPH• é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional. Outro modelo também utilizado nos estudos de atividade antioxidante é o modelo do ABTS (2,20-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) que avalia a capacidade da substância em teste na remoção deste radical orgânico.

Cortéz-Rojas *et al.* (2013) (133) compararam a atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico preparado por diferentes métodos de extração, e utilizando diferentes partes da planta, como folhas/flores, caule ou raiz coletados em 6 locais diferentes do estado de Minas Gerais, no modelo do DPPH. Este estudo demonstrou que o extrato folhas/flores apresentaram melhor atividade antioxidante (AA), em comparação com os extratos de raiz e caule e a maior AA foi obtida no método de extração por maceração dinâmica com IC₅₀ de 17,80 µg/ mL.

Esse estudo também demonstrou que a AA está diretamente relacionada a quantidade de compostos fenólicos do extrato, ou seja, quanto mais compostos fenólicos, maior a atividade AA. Esse mesmo autor em outro estudo, demonstrou que o extrato etanólico da planta inteira, preparado por maceração dinâmica com etanol 62,7% e temperatura de 66,2°C, foi o que apresentou a maior atividade antioxidante nos modelos do DPPH e ABTS com IC₅₀ de $14,1 \pm 0,2$ e $9,0 \pm 0,6$ (TEAC por gw.b.), respectivamente (85), assim como também observado por Kumar, *et al.*, 2010 (158), cuja IC₅₀ observada no modelo do DPPH foi de $72,33 + 4,61 \mu\text{g/mL}$. Odhav, *et al.* (2007) (124) também observaram atividade antioxidante neste mesmo modelo para o extrato metanólico e Katere *et al.* (2012) (87) observaram esta atividade utilizando o extrato hidrometanólico, além de também observarem AA no modelo do ABTS.

Lin *et al.* (2013) (77) também demonstraram que o extrato metanólico acidificado da planta inteira promoveu uma porcentagem de inibição do dieno, conjugado na formação da emulsão de auto-oxidação do ácido linoleico, de 49,14%, 55,71% e de 73,72%, na concentração de 25, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente e de 184,61 mM Trolox no modelo de ABTS.

Chiang *et al.* (2004) (5) avaliaram a atividade antioxidante da fração acetato de etila (EA), butanólica (BuOH), aquosa ou do extrato bruto total da planta inteira de *B. pilosa* no modelo do DPPH e no modelo de eliminação do ânion superóxido, e observaram que a fração butanólica e acetato de etila apresentaram a maior atividade antioxidante nos dois modelos. No modelo de produção de nitrito, a fração EA e a BuOH exibiram atividade dose dependente, com IC₅₀ de 36,2 $\mu\text{g/mL}$ e 250,8 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Porém, este mesmo estudo observou que uma concentração elevada da fração EA promoveu efeito citotóxico sobre as células RAW264.7. Já o extrato bruto total, a fração BuOH e fração aquosa não promoveram essa atividade, sugerindo que a fração BuOH é a mais eficaz e segura em comparação com as demais testadas.

Kwiecinski *et al.* (2011) (93) também descreveram maior atividade antioxidante no modelo do DPPH para a fração acetato de etila das partes aéreas, e também identificou maior quantidade de compostos fenólicos nesta fração no modelo de Folin-ciocalteu. Lee *et al.* (2013) (126) e Wu *et al.* (2013) (79) também demonstraram que a fração EA das flores e da planta inteira, respectivamente, também apresentaram a melhor atividade antioxidante nos modelos do DPPH, ABTS e de redução do ferro (FRAP). Chipurura *et al.* (2013) (104) também descrevem a atividade antioxidante do extrato hidrometanólico de brotos e folhas de *B. pilosa* no modelo do DPPH e redução de ferro, além disso este estudo também observou que esse extrato retardou a oxidação do β -caroteno (103).

O extrato etéreo e o óleo essencial das folhas e flores de *B. pilosa* também apresentaram atividade antioxidante no modelo do DPPH e de oxidação do ácido linoleico, sendo a atividade do óleo essencial ligeiramente superior à atividade do extrato etéreo (19). O extrato hidrometanólico da espécie, comprado em uma feira livre, também apresentou atividade antioxidante demonstrada pelos modelos do DPPH, cloreto férrico, redução do β -caroteno e TBARS (159).

Além destes, outros modelos demonstram a atividade antioxidante de *B. pilosa*. Abajo *et al.* (2004) (97) demonstraram a atividade antioxidante do extrato aquoso no modelo de indução de oxidação por 2,2 - azobis (amidinopropano) dihidroclorato (AAPH) em eritrócitos onde a IC50 observada foi de 1,19 mg. Yang *et al.* (2013) (80) também utilizaram o modelo do AAPH em eritrócitos e observou que o tanto o extrato etanólico como a fração AE impediram o declínio da superóxido dismutase (SOD) e a depleção do conteúdo de glutathione (GSH) e ATP (adenosina trifosfato) dos eritrócitos, além de inibir o aumento nos níveis de malonildialdeído (MDA), demonstrando a atividade antioxidante da espécie.

Kohda *et al.* (2013) (20) demonstraram que o extrato de *Bidens pilosa* promoveu ativação do receptor de aril hidrocarbonetos (AhR), com consequente aumento da expressão de fatores antioxidantes, como o fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) e da NAD(P)H: quinona oxidoreductase 1 (Nqo1) em culturas de células dérmicas humanas. O extrato também diminuiu a produção de espécies reativas de oxigênio em células estimuladas com TNF- α e promoveu a regulação na produção de óxido nítrico (NO) através de um mecanismo Ahr independente.

Com base no exposto, os estudos *in vitro* demonstram que a espécie *Bidens pilosa* apresenta uma importante atividade antioxidante. Essa atividade é maior em extratos alcoólicos, hidroalcoólicos e acetato de etila preparados principalmente com a planta inteira. Porém, os estudos preliminares demonstraram que o extrato AE apesar de sua importante atividade antioxidante, apresentou atividade citotóxica, sugerindo que para a atividade antioxidante o mais seguro e eficaz é o extrato alcoólico ou hidroalcoólico.

4.3.2.1.2 Atividade anticarcinogênica

Estudos avaliaram a atividade anticarcinogênica de *Bidens pilosa*. Diaz *et al.* (2011) (30) evidenciaram que o extrato hidroalcoólico das folhas de *B. pilosa*, avaliado pelo método do MTT em células de tumor de pulmão humano A549, promoveu a morte destas células

somente em concentrações maiores que 100 µg/ mL, demonstrando que este extrato não apresenta efeito citotóxico sobre este tipo de células.

Fadeyi, *et al.* (2013) (6) avaliaram a atividade do extrato metanólico da planta inteira em 6 linhagens de células, derivadas de adenocarcinoma de mama humano MCF-7 (ATCC No. HTB-22), BT-20 (ATCC No. HTB-19), BT-549 (ATCC No. HTB-122), de adenocarcinoma de próstata PC-3 (ATCC No. CRL-1435), e de cólon SW-480 (CCL-228 ATCC No.) e de células leucêmicas T aguda Jurkat (ATCC N ° TIB-152). Os resultados demonstraram que o extrato de *B. pilosa* apresentou atividade citotóxica moderada, com IC50 de 43,1 µg/ mL contra BT-549, de 53,7 µg/ mL contra BT-20 e de 47,7 µg/ mL contra PC-3, sugerindo atividade anticarcinogênica moderada para o extrato. Chang *et al.* (2001) (70) também avaliaram a atividade do extrato da planta inteira de *B. pilosa* em linhagens de células leucêmicas humana e verificou que o extrato inibiu o crescimento de células de Raji (39,29%), de K562 (31,07%) na concentração de 100 µg/ mL e também inibiu o crescimento das células L1210 (65,1%) e P3HR1 (68,45%) na concentração de 250 µg/ mL, e não promoveu nenhuma inibição nas células da linhagem U937 na concentração de 100 µg/ mL, demonstrando baixa atividade citotóxica sobre estas células e portanto, baixa atividade anticarcinogênica.

Por outro lado, foi demonstrado por outro estudo que o extrato aquoso das partes aéreas de *B. pilosa* inibe o crescimento de células leucêmicas T humanas tipo 1 (HTLTLV-1), mantém a célula em ciclo celular G1 e induz a apoptose de células-T-1-HTLTLV infectadas (95). Além disso, observou-se inibição da fosforilação do IκB-cinase e β IκBα, e a ligação do NF-κB com o DNA, em conjunto com a redução de expressão de proteínas envolvidas na transição do ciclo celular G1 / S e da supressão da apoptose, assim como inibição das espécies reativas de oxigênio, e possivelmente devido a isso, inibiu a atividade do NF-κB. Além disso, o extrato também inibiu a expressão de JunB e JunD, resultando na supressão da ligação do AP-1-DNA.

A fração acetato de etila da planta inteira de *B. pilosa* promoveu efeito anti-proliferativo das células de câncer de mama (MCF-7), de câncer colorretal (RKO), de câncer gástrico (MGC 803) e de hepatoma (HepG2) de forma dose dependente. Além disso, aumentou o número de células em apoptose e a fragmentação do DNA especialmente nas células de tumor de cólon (79).

Kwiecinski *et al.* (2008) (94) avaliaram diferentes frações do extrato hidroalcoólico (9:1), fração clorofórmica, fração acetato de etila ou fração de metanólica das partes aéreas de *B. pilosa* em células de tumor de Erlich. Os resultados demonstraram que a fração

clorofórmica foi a que apresentou maior atividade citotóxica sobre estas células. As frações acetato de etila e o extrato hidroalcoólico apresentaram baixa atividade citotóxica e a fração metanólica foi considerada inativa.

O extrato hidroalcoólico da planta inteira de *Bidens bipinnata* L. promoveu efeito inibitório sobre as linhagens de células HepG2 e Helas, com pico de inibição após 48 horas de incubação, com valores de IC₅₀ de 14,80 µg/ mL para HepG2 e de 13,50 µg/ mL para Hela (80). Zhu *et al.* (2013) (83) demonstraram que o extrato etanólico da planta inteira inibiu significativamente a proliferação de células de carcinoma cervical U14 de maneira dose e tempo dependente. Ong *et al.* (2008) (10) demonstraram que uma proteína extraída de *B. alba*, na concentração de 225 µg/ mL induziu a produção de espécies reativas de oxigênio nas células SW480, após 1 h de incubação, promovendo depleção do conteúdo de glutathione intracelular (GSH) após 12-24 horas, o que causou perda do potencial transmembrana mitocondrial e diminuição do citocromo c citoplasmático. Além disso, as atividades da caspases 3/7 foram ativadas após 3 a 6 horas e as porcentagens de apoptose induzida pela proteína de *B. alba* diminuiu significativamente quando as células SW 480 foram pré-tratadas com a vitamina C, a N-acetilcisteína, e Boc-Asp (OMe) -fmk, respectivamente, sugerindo atividade citotóxica desta proteína nestas linhagens de células (10).

Os extratos acetato de etila, metanólico, clorofórmico, hexânico, acetônico e aquoso, nessa ordem de potência, promoveram citotoxicidade sobre as células de carcinoma Hela9 e KB, conforme demonstrado pelo teste do cometa (78), sugerindo atividade anticarcinogênica para estes extratos.

Os estudos *in vitro*, que avaliaram a atividade anticarcinogênica de *B. pilosa*, apresentam resultados contraditórios, sugerindo que os diferentes extratos testados apresentam baixa atividade, e somente para alguns tipos celulares específicos.

4.3.2.1.3 Atividade Anti-inflamatória

O extrato hidroalcoólico e aquoso das folhas de *B. pilosa* foram avaliados quanto à inibição da secreção de prostaglandinas em vesículas microssomais seminal isoladas de ovelhas. Os resultados demonstraram que o extrato etanólico promove uma inibição de 90% na secreção de prostaglandinas e o extrato aquoso uma inibição de 22% (35). Yoshida *et al.* (2006) (96) também avaliaram a atividade anti-inflamatória do extrato aquoso das partes aéreas de *B. pilosa* em fibroblastos dérmicos humanos normais estimulados com IL-1 β , e observaram que este extrato inibe a fosforilação das MAPKs, a expressão da COX-2 e a

produção de PGE₂, sugerindo atividade anti-inflamatória para este extrato. Linfócitos humanos foram estimulados com fitohemaglutina (PHA) ou 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato de etila (TPA) para avaliar a proliferação destas células na presença do extrato hidrometanólico ou do composto isolado (poliacetileno- PA-1). PA-1 foi 10 vezes mais potente do que o extrato bruto em bloquear a proliferação dos linfócitos apresentando uma IC₅₀ de 1,25 a 2,5 µg/ mL⁻¹ (40).

Ainda, foi demonstrado que o extrato aquoso das partes aéreas promove um aumento na produção de TNF-α e IL-1β em eritrócitos estimulados com LPS (97).

4.3.2.1.4 Atividade anti-histamínica

Estudos *in vitro* relatam a atividade anti-histamínica de *Bidens pilosa*. Para avaliação desta atividade foram utilizados mastócito peritonial de ratos, obtidos por técnica de lavagem, e colocados em solução nutritiva e em contato com diferentes concentrações dos produtos em teste, para avaliar a atividade inibitória sobre a secreção de histamina.

Horiuchi *et al.* (2006) e (2008) avaliaram a atividade do extrato aquoso de *Bidens pilosa* (7, 8) e também da fração enriquecida contendo compostos isolados (8). Em ambos os estudos, observaram que tanto o extrato bruto de *Bidens pilosa* como a fração enriquecida inibiram a secreção de histamina induzida tanto pelo composto 48/80 como pela reação antígeno-anticorpo, porém a atividade inibitória da fração foi superior a do extrato bruto.

4.3.2.1.5 Atividade antidiabética

Apesar de diversos relatos de uso popular e tradicional da espécie *Bidens pilosa* para o tratamento da diabetes, um único estudo *in vitro* avaliou essa atividade. Ramirez *et al.*, (2002) (89) avaliaram a inibição da glucosidase em homogenatos de mucosa intestinal de ratos e a inibição da lipase pancreática suína. Os resultados demonstraram que o extrato hidroalcoólico da planta inteira de *B. pilosa* promoveu inibição de 41,8% da glucosidade e de 13,6% da lipase, sendo considerado inativo.

4.3.2.1.6 Atividade Antimicrobiana

Estudos avaliaram a atividade antimicrobiana de diferentes tipos de extrato e partes de *Bidens pilosa*. Chavasco *et al.* (2014) (135) avaliaram a atividade dos extratos hidroalcoólico

de folhas/flores, folhas, flores, raiz ou caule sobre diferentes bactérias, micobactérias ou leveduras, e observaram que, o extrato de caule apresentou atividade contra *S. aureus*, *M. luteus*, *C. albicans* e *S. cerevisiae*, porém não apresentou atividade contra as bactérias Gram negativas. Já os extratos de flores e folhas inibiram o crescimento de 10 microrganismos e as maiores zonas de inibição foram para *S. Cerevisiae*, *S. aureus*, *M. luteus*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *E. coli*, *C. albicans* e *S. cerevisiae* e o extrato de raiz não inibiu o crescimento de nenhum dos microorganismos utilizados no estudo.

Para o extrato etanólico, e as frações acetato de etila e éter de petróleo da planta inteira foi demonstrada atividade contra diversas cepas de bactéria e protozoários, sendo que as frações apresentaram maior atividade (76). Rojas *et al.*(2006) (49) demonstraram que o extrato aquoso das folhas de *B. pilosa* apresenta atividade frente a *E. coli*, o extrato hexânico só foi ativo para *C. albicans* e o extrato etanólico apresentou atividade para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *E. coli*. Para o extrato etanólico e hexânico de *B. pilosa* (parte não informada), Mathur *et al.* (2010) (130) observaram atividade contra *S. aureus*, *S.hemolytic*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans*, e o extrato aquoso foi inativo.

Estes estudos demonstram atividade antimicrobiana para *B. pilosa*, sendo os extratos etanólicos e hexânicos os mais ativos, bem como as respectivas frações.

4.3.2.1.7 Atividade Antibacteriana

Alguns estudos avaliaram a atividade antibacteriana de *B. pilosa*. Garcia *et al.* (2011) (90), avaliaram a atividade do extrato hidroalcoólico da planta inteira em 52 cepas (28 MRSA e 24 MSSA) de bactérias *S. aureus*. Este estudo demonstrou que a concentração bactericida/antibacteriana Mínima (CBM) do extrato foi de 51,75 mg/ mL e a porcentagem de cepas inibidas foi de 92,3%, sendo esta atividade considerada moderada. Voigt *et al.* (2011) (33) demonstraram que o extrato alcoólico das folhas apresentaram atividade antibacteriana para as espécies *Staphylococcus aereus* ou *S. galactia*.

Diferentemente, Kamanzi, *et al.* (2002) (60) avaliaram a atividade do extrato hidroalcoólico das folhas sobre as bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aereus* e *Enterococcus faecalis*, e bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosas* e demonstraram que este foi inativo. Haida *et al.* (2007) (3) também demonstraram que os extratos etanólico e aquoso das partes aéreas apresentaram atividade antimicrobiana sobre *E. coli*. Somente o extrato etanólico apresentou atividade antimicrobiana

sobre *P. aeruginosa* e, diferentemente do observado por Garcia *et al.* (2011) (90), este extrato não inibiu o crescimento de *S. aureus*.

Os extratos éter de petróleo, metanólico e aquoso da planta inteira apresentaram atividade antibacteriana, contra bactérias Gram-positivas *Micrococcus luteus*, *Bacillus megaterium*, *Corynebacterium glutamicum*, *Streptomyces coelicolor* e *griseus* (74). O extrato aquoso e hidroalcoólico das folhas de *B. pilosa* também inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (41).

Ashafa e Afolayan (2009) (101) demonstraram que o extrato aquoso de raiz foi inativo para as bactérias testadas, e o extrato metanólico inibiu o crescimento das bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus Kristina* e *Streptococcus faecalis* e das bactérias Gram-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Klebsella pneumoniae* e *Serratia marcescens*. Já o extrato acetônico inibiu o crescimento das bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *S. epidermidus*) e das Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*), e ambas com concentração inibitória mínima (CIM) de 5,0 e 10,0 mg/ mL, respectivamente.

Deba *et al.* (2008) (19) demonstraram que o óleo essencial das flores de *B. pilosa* apresentaram atividade contra as bactérias *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas ovalis*. Kumar *et al.* (2010) (158) demonstraram que o extrato etanólico das folhas e da planta inteira de *B. pilosa* foram ativos para as cepas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e inativos para *Bacillus subtilis*. Já o extrato etanólico de caule foi ativo somente para *E. coli*. Maobe *et al.* (2013) (64) demonstraram que os extratos hexânico, diclorometano, acetato de etila e etanólico das folhas de *B. pilosa* apresentaram atividade antibacteriana contra *E. coli* e *Staphylococcus aureus*. Balangcod *et al.* (2012) (160) também demonstraram que o extrato metanólico de *B. pilosa* foi parcialmente ativo contra a bactéria *S. aureus* e ativo contra *P. aeruginosa*.

Os estudos aqui apresentados, apesar de alguns serem controversos, demonstram que a espécie *B. pilosa* apresenta atividade antibacteriana para diversas cepas, especialmente as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas*, e de um modo geral a planta inteira e as folhas são as partes da planta mais ativas.

4.3.2.1.8 Atividade Antifúngica

Minami *et al.* (1986) avaliaram a atividade antifúngica do extrato alcoólico das folhas e do caule de *Bidens pilosa* pela técnica de difusão em ágar. Foram testadas 47 cepas de fungos, dos quais 42 tiveram seu crescimento inibido pelo extrato e 5 foram consideradas resistentes. Os fungos sensíveis foram os dermatófitos e leveduras e os resistentes foram os fungos *Sporothrix*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* e *Aureobasidium*. Ashafa e Afolayan (2009) (101) avaliaram a atividade dos extratos aquoso, metanólico e acetônico de raiz sobre os fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium notatum* e *Candida albicans*, e os resultados demonstraram que os três extratos testados apresentaram baixa atividade contra *A. flavus*, boa atividade contra *A. niger* e inibiram 100% do crescimento de *P. notatum* na concentração de 0.1 mg/ mL, porém não inibiram o crescimento de *C. albicans* até a concentração de 10 mg/ mL.

Deba *et al.* (2008) (19) avaliaram a atividade antifúngica do extrato etéreo e do óleo essencial de folhas ou flores sobre os fungos *Corticium rolfsii* f.sp., *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* e demonstraram que os óleos essenciais inibiram significativamente a cepa dos três fungos. Kamanzi *et al.* (2002) (60) também demonstraram que o extrato hidroalcoólico das folhas apresenta atividade antifúngica sobre os fungos *Cladosporium cucumerinum* e *Candida albicans*. Maobe *et al.* (2013) (63) avaliaram a atividade do extrato hexânico, acetato de etila, etanólico e diclorometano das folhas sobre a inibição do crescimento de *C. albicans* e verificaram que somente o extrato acetato de etila apresentou atividade.

Com base nos resultados demonstrados nestes estudos é possível inferir que a espécie *B. pilosa* apresenta baixa atividade antifúngica.

4.3.2.1.9 Atividade Antiviral

Nakama *et al.* (2012) (18) avaliaram a atividade de diferentes concentrações do extrato aquoso da planta inteira quanto a inibição dos vírus HSV-1 estirpe HF e HSV-2 estirpe selvagem em células Vero e RAW 264.7. Os resultados demonstram que o extrato de *B. pilosa* não alterou a viabilidade celular e promoveu a morte de HSV 1 e 2, diminuindo a infecção das células pelos vírus. O extrato também induziu a expressão gênica de iNOS mRNA e estimulou a produção de NO de forma dose dependente, sugerindo que o extrato aquoso de *B. pilosa* apresenta atividade anti-herpética. Outro estudo também avaliou a mesma atividade em células BCC-1/KMC e verificou que o extrato aquoso da planta inteira na concentração de 100 µg/ mL protegeu em 11,9% e 19,2 % as células de serem infectadas com

HSV-1 e HSV-2 respectivamente. Este extrato apresentou uma ED₅₀ de 655,44 µg/ mL para HSV-1 e de 960 µg/ mL para HSV-2 e promoveu citotoxicidade para as células utilizadas no estudo somente em concentrações maiores que 1000 µg/ mL (71).

A atividade antiviral de *B. pilosa* foi também testada utilizando-se o citomegalovírus (MCMV) e o vírus Sindbis (SV) e os resultados demonstram que o extrato hidroalcoólico da planta inteira apresenta uma CIM de 125 µg/ mL para o vírus MCMV e 65 µg/ mL para o vírus SV (9).

Estes estudos preliminares sugerem que a espécie *B. pilosa* apresenta atividade antiviral, especialmente para os vírus envolvidos no desenvolvimento da herpes, reforçando a sua indicação de uso popular.

4.3.2.1.10 Atividade Antimalárica

A espécie *Bidens pilosa* apresenta vários relatos de uso popular ou tradicional como antimalárica. Apesar disso, poucos estudos avaliaram essa atividade. Andrade-Neto, *et al.* (2004) coletaram plantas de diferentes regiões e com diferentes formas de cultivo para avaliar a atividade antimalárica de *B. pilosa*. Para tanto, utilizaram diferentes estágios de trofozoítos, que foram cultivados em 1% e 2% e parasitemia de 2,5% de hematócrito que foram incubados com diferentes concentrações dos extratos hidroalcoólicos de raiz. Os resultados encontrados foram os seguintes: o IC₅₀ das plantas cultivadas em solo padrão variou 25-36 g/ mL, as plantas cultivadas em solo com 65% a 80% de húmus, apresentaram uma IC₅₀ de 16,4-22 g/ mL; plantas cultivadas com 3 g/ de calcário cultivadas em vaso, foram as menos ativas com IC₅₀ de 36,7-49,8 g/ mL. As plantas cultivadas com 4 ou 8 g de pedra calcária ou com 30 a 80% de húmus cultivadas em vaso foram inativas com IC₅₀ ≥ 50 g/ mL, e as plantas selvagens foram as que apresentaram a maior atividade antimalárica com IC₅₀ de 10,4-17,0 g/ mL (99).

O extrato etanólico bruto das folhas, raízes ou da planta inteira de *B. pilosa*, bem como as frações clorofórmicas e butanólicas inibiram 90% do crescimento do *Plasmodium falciparum* *in vitro*, confirmando a atividade antimalárica da espécie (131). Clarkson *et al.* (2004) (54) avaliaram os extratos diclorometano, diclorometano:metanol, metanólico e aquoso sobre a atividade da enzima lactato desidrogenase (pLDH) do *Plasmodium falciparum*, cuja atividade indica a viabilidade do parasita. Os resultados demonstraram que todos os extratos apresentaram atividade antimalárica, sendo que o extrato metanólico apresentou IC₅₀ de 5 µg/ mL, o diclorometano de 8,5 µg/ mL, o diclorometano/methanol de

11 µg/ mL e o aquoso de 70 µg/ mL, sendo o menos inativo. Lacroix *et al.* (2011) (127) também demonstraram que o extrato acetato de etila das folhas de *B. pilosa* promoveram a morte de $45,8 \pm 6,2\%$ do *Plasmodium falciparum* após 24 horas de incubação com o extrato.

Esses estudos *in vitro* sugerem que a espécie *B. pilosa* apresenta atividade antimalárica em suas diferentes partes e com diferentes tipos de extrato, corroborando com o descrito em seu uso popular.

4.3.2.1.11 Atividade Antileishmaniose

Um único estudo relata a atividade antileishmaniose de *B. pilosa*, Garcia *et al.* (2010) (47) demonstraram que o extrato hidroalcoólico das folhas apresentam uma IC₅₀ de 42,6 µg/ mL sobre a morte dos *L. amazonensis* promastigotas intracelulares em macrófagos e a concentração que promove a morte dos macrófagos é de 153 µg/ mL, portanto a seletividade determinada para o extrato foi de 4, sugerindo atividade antileishmaniose para a espécie.

4.3.2.1.12 Atividade Anti-helmíntica

Cristobal-Alejo *et al.* (2006) (161) avaliaram a atividade dos extratos etanólicos de folhas, caule ou raiz de *Bidens alba*, sobre a morte de 20 meloidogyne incognita (nematodos) e observaram que os três extratos promoveram a morte de 100% dos nematóides após 24 horas na concentração de 500 ppm.

Diferentemente, Diehl *et al.* (2004) (56) demonstraram que o extrato etanólico das folhas de *B. pilosa* não apresenta atividade anti-helmíntica contra o *Haemonchus contortus*, até 6 dias nas condições experimentais utilizadas.

4.3.2.1.13 Atividade Fotoprotetora

Abajo *et al.* (2004) (97) avaliaram uma possível atividade fotoprotetora para o extrato aquoso das partes aéreas de *B. pilosa*. Para tanto, eritrócitos foram incubados com 2 mg/ mL do extrato e as células foram expostas a luz UVA e UVB por 120 minutos e a hemólise foi monitorada no sobrenadante. Os resultados demonstraram que o extrato de *B. pilosa* promoveu uma fotoproteção de 40%, sugerindo outra potencial atividade para a espécie.

4.3.2.1.14 Permeabilidade intestinal

O extrato metanólico e as frações n-hexânica, acetato de etila, n-butanólica, aquosa e compostos isolados de *B. pilosa* foram avaliados quanto a sua permeabilidade intestinal. O coeficiente de permeabilidade aparente (Papp) de cada um dos compostos foi medido em células Caco-2 de epitélio intestinal humano. Os transportes apical (AP) e basolateral (BL) foram avaliados, sendo o transporte BL preferencialmente usado pelas substâncias em teste. Quanto aos compostos, o ácido di-O-cafeoilquínico foi melhor absorvido em comparação com os demais compostos testados (126).

4.3.2.2 Ensaios *in vivo*

Dentre as atividades avaliadas em modelos experimentais *in vivo* para a espécie *Bidens pilosa* destacam-se as atividades: antiulcerogênica, gastroprotetora e antissecretora, analgésica, anti-inflamatória, antidiarreica, antiviral (anti-herpética), anti-hipertensiva, antimalárica, antineoplásica, anti-tripanosoma, cicatrizante, diurética, hepatoprotetora, hipoglicemiante e uterotrófica.

4.3.2.2.1 Atividade Analgésica e Antipirética

Fosto *et al.* (2014) (46) avaliaram a atividade analgésica da fração acetato de etila das folhas de *B. pilosa* nos modelos de dor de contorção abdominal induzida por ácido acético, de placa quente e de dor neurogênica induzida por capsaicina ou formalina em camundongos. Os resultados demonstraram que nas doses de 50, 100 e 200 mg/ Kg da fração apresentou efeito antinociceptivo em todos os quatro diferentes modelos de nocicepção.

Os extratos hexânico, clorofórmico, metanólico, acetato de etila, acetônico e aquoso da planta inteira foram testados quanto a sua atividade antipirética. Para tanto, coelhos receberam uma solução de levedura para induzir a febre e posteriormente receberam 500 mg/ Kg dos extratos por via intraperitoneal. Os resultados demonstraram que somente os extratos metanólico e acetato de etila apresentaram efeito antipirético (78).

Estes poucos estudos sugerem que a espécie apresenta atividade analgésica e antipirética.

4.3.2.2.2 Atividade Anti-inflamatória

Fosto *et al.* (2014) (46) avaliaram a atividade anti-inflamatória no modelos de indução de inflamação por carragenina, dextran, histamina ou serotonina. Esses modelos consistem na injeção intraplantar do agente edematogênico 1 hora após a administração do extrato. Os resultados demonstraram que a fração acetato de etila das folhas de *B. pilosa* apresentou atividade anti-inflamatória em todos os modelos testados.

Pereira, *et al.* (1999) (40) também demonstraram que o extrato hidrometanólico das folhas de *B. pilosa* reduziu significativamente o tamanho do nódulo linfático após a inflamação induzida pelo zimosan em camundongos, sendo que na dose de 10 mg reduziu o peso do nódulo da pata de 4,6 mg (grupo controle) para 1,8 mg ($p < 0,05$).

Horiuchi, *et al.* (2006) (7) avaliaram o efeito do extrato aquoso das partes aéreas de *B. pilosa* em camundongos injetados com DNP-ascaris para estimular a produção de IgE, e observaram que após 10 dias, o extrato inibiu a produção de IgE de forma dose dependente. Este mesmo estudo, também demonstrou que o extrato na dose de 250 mg/ Kg inibiu a formação do exudato nos modelos de edema de pata induzido por substância P, histamina ou serotonina em ratos. Já Horiuchi *et al.* (2008) (8) avaliaram a atividade da fração enriquecida com flavonoides, ácido cafeíco e cafeoquinico nos mesmos modelos e espécies animais do estudo anterior e verificou que a fração enriquecida promoveu uma inibição mais efetiva que o extrato bruto tanto na produção de IgE, como na formação do exudato induzido por serotonina, substância P e histamina.

Estes estudos demonstram com base nos resultados pré-clínicos que a espécie *Bidens pilosa* apresenta atividade anti-inflamatória.

4.3.2.2.3 Atividade Antiulcerogênica, Gastroprotetora e Antisecretora

Alvarez *et al.* (1996) (162) descreveram que uma solução viscosa de *B. pilosa* (forma de preparação não descrita) promoveu 68,85% de inibição na formação das lesões, na concentração de 80%, no modelo de úlcera induzida por estresse e uma diminuição das lesões de forma dose dependente no modelo de úlcera induzida por etanol, porém essa solução foi inativa no modelo de úlcera induzida por indometacina.

O pó das partes aéreas de *B. pilosa*, misturado com 0,25% de carboximetilcelulose de sódio, foi administrado por via oral em ratos para ser avaliado quanto a sua atividade antiulcerogênica. Os resultados demonstraram que o preparado promoveu redução significativa da lesão e da hemorragia gástrica e também inibiu o aumento da peroxidação lipídica, nas doses de 0,25 e 0,5 mg/ Kg, nos modelos de indução de lesão gástrica por

Etanol/HCl, indometacina e estresse por contenção a frio. Essa atividade foi atribuída a atividade antioxidante da espécie (92).

Os extratos cloreto de metileno, ciclohexano e metanólico das folhas de *B. pilosa* foram testados nos modelos de lesões gástricas induzida por etanol, etanol/HCl, indometacina e no modelo de ligadura do piloro em ratos. Os resultados revelaram que o extrato cloreto de metileno inibiu 100% da lesão na dose de 750 mg/ Kg e os extratos ciclohexano e metanólico inibiram 41 e 46% respectivamente, na mesma dose, as lesões no modelo de lesão gástrica por etanol/HCl. Com base nestes resultados, somente o extrato cloreto de metileno foi testado nos demais modelos e promoveu pouca ou nenhuma proteção da mucosa gástrica, bem como não reduziu nem a quantidade e nem a acidez do suco gástrico no modelo de ligadura do piloro (50). Demonstrando que o extrato foi ativo somente em um modelo experimental e com uma dose elevada.

Álvarez-Ávalos *et al.* (1998) e (1999) (14, 91) demonstraram que o extrato hidroalcoólico das partes aéreas de *B. pilosa* avaliado no modelo de ligadura do piloro diminuiu o volume de suco gástrico nas doses de 1 e 2 g/ Kg e na dose de 2 g/ Kg diminuiu a secreção de ácido e pepsina. Nas doses de 0,5 e 2 g/ Kg diminuiu a lesão induzida por indometacina e nas doses de 1 e 2 g/ Kg promoveu inibição significativa da lesão induzida por etanol. Quanto ao mecanismo envolvido nesta gastroproteção, observou-se que a atividade do extrato é local, pois não houve proteção quando o mesmo foi administrado por via intraperitoneal e esse efeito protetor também não está relacionado com a síntese de prostaglandina, já que quando essa via foi inibida pela indometacina, o efeito protetor do extrato se manteve, e o pré-tratamento com o extrato reverteu de maneira dose dependente a depleção de muco produzida pelo etanol.

Estes estudos demonstram que a espécie *B. pilosa* apresenta atividade antiulcerogênica *in vivo*, porém em doses altas.

4.3.2.2.4 Atividade Antidiarreica

O extrato hidrometanólico das partes aéreas de *B. pilosa* foi avaliado no modelo de diarreia induzida com óleo de rícino, e no modelo de motilidade gastrointestinal através do teste do carvão ativado. Os resultados demonstraram que o extrato, nas doses de 200 e 400 mg/ Kg, reduziu o número de pellets fecais após 1, 2, 3 e 4 horas de observação e também reduziu a distância percorrida pelo carvão ativado na dose de 400 mg/ Kg, demonstrando que o extrato apresenta atividade antidiarreica e inibidora da motilidade em roedores (4).

4.3.2.2.5 Atividade Anti-herpética

Estudos *in vivo* avaliaram a atividade do extrato aquoso da planta inteira em camundongos inoculados na pele com os vírus HSV 1 e 2, e os resultados demonstraram que o tratamento por 18 dias com 1 g/ Kg do extrato, retardou o desenvolvimento e a progressão das lesões da pele causadas pelos vírus, em comparação com o grupo controle (18), confirmando a atividade demonstrada *in vitro*.

4.3.2.2.6 Atividade Antitripanossoma

Os extratos aquoso, diclorometano e metanólico da planta inteira de *B. pilosa* foram testados quanto a sua atividade antitripanossoma em camundongos inoculados com *trypanosomes* e tratados com os extratos nas doses de 1000, 2000 e 5000 mg/ Kg por um período de 60 dias. Os resultados demonstraram que nenhum extrato apresentou atividade antitripanossomica (125), demonstrando que a espécie não apresenta tal atividade, já que foi testada em doses altas.

4.3.2.2.7 Atividade Anti-hipertensiva

O extrato aquoso de *Bidens pilosa* foi avaliado quanto a sua atividade no controle da pressão arterial (P.A.), bem como quanto a sua influência na excreção urinária e no volume plasmático corporal. Os resultados demonstraram que o extrato promoveu redução da pressão arterial em coelhas espontaneamente hipertensas, porém não promoveu alteração na diurese e no volume plasmático corporal (132).

Dimo *et al.* (2001) (34) observaram que o extrato aquoso e extrato diclorometano das folhas de *B. pilosa* reverteram o aumento da pressão arterial e da hipertrigliceridemia desenvolvidos em ratos que receberam frutose, porém não foram observados efeitos do extrato sobre os níveis plasmáticos de insulina e glicose. Por outro lado, as doses altas do extrato aquoso e diclorometano 350 e 300 mg/ Kg respectivamente, reduziram os níveis de creatinina e tenderam a aumentar os níveis de colesterol plasmático.

Os efeitos hipotensores do extrato metanólico das folhas de *Bidens pilosa* foram avaliados em 3 grupos de animais: ratos espontaneamente hipertensos (SHR), ratos hipertensos induzidos pela administração de NaCl por 2 semanas (SLHR) e em ratos *Wistar*

normotensos (NTR). Após o tratamento único ou 2 vezes (24 horas após o primeiro) com o extrato, os animais foram avaliados quanto a pressão sistólica, durante 4 semanas. Após 48 h da administração do extrato, a urina dos animais foi coletada e avaliada quanto a taxa de sódio e potássio. Os resultados demonstraram que o efeito hipotensor do extrato foi mais marcante em ratos hipertensos do que em normotensos. O extrato não promoveu mudanças significativas na frequência cardíaca e no volume urinário dos animais. A excreção urinária de sódio foi reduzida em 36% em ratos espontaneamente hipertensos e a excreção de potássio aumentou 35% em ratos normotensos, porém sem diferença estatística. Estes resultados sugerem que o extrato tem atividade anti-hipertensiva sem exercer nenhum efeito sobre a frequência cardíaca e que seu efeito hipotensor pode estar relacionado com a vasodilatação (42).

O mesmo grupo experimental foi submetido a um outro teste avaliando o extrato metanol:diclorometano das folhas de *B. pilosa*. Foi observado que nas doses de 20 e 30 mg/Kg, em ratos normotensos, o extrato promove uma diminuição menor da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca do que a diminuição promovida nos ratos espontaneamente hipertensos ou com hipertensão induzida por administração de sal. A força de contração do coração só foi afetada com a dose de 30 mg / Kg e a fase inicial da resposta hipotensora foi parcialmente inibida pelo propanolol, enquanto atropina aumentou este efeito. Estes resultados sugerem que *B. pilosa* apresenta efeito hipotensor, por agir sobre a eficiência da bomba cardíaca e por promover vasodilatação (43).

Dimo *et al.* (2002) (44) também demonstraram que ratos *Wistar* que receberam solução de frutose a 10% por 3, 4 ou 6 semanas apresentaram um aumento significativo nos níveis plasmáticos de insulina e colesterol, e também na pressão sanguínea arterial. Porém, o extrato de metanol:diclorometano das folhas de *B. pilosa* foi capaz de impedir o estabelecimento da hipertensão e de diminuir os níveis elevados de pressão arterial. O extrato também reduziu os níveis de insulina plasmática provocados pela dieta rica em frutose. Estes resultados sugerem que o extrato de folha de *B. pilosa* exerce, ao menos em parte, o seu efeito anti-hipertensivo também pela melhoria da sensibilidade a insulina.

Djomeni, *et al.* (2014) também demonstraram que ratos que receberam frutose apresentaram alterações nos vasos sanguíneos, o que resultou em aumento na pressão sistólica. Este estudo observou-se que os diâmetros mínimos e máximos e as áreas lúmenais dos vasos sanguíneos foram reduzidos, e as áreas totais e a luz do lúmen foram reduzida após 6 semanas de administração de frutose em 28%, porém estas alterações estruturais nas artérias

foram revertidas pelo tratamento com o extrato metanol:diclorometano das folhas de *Bidens pilosa* na dose de 75 mg/ Kg.

Os estudos pré-clínicos aqui apresentados, demonstram que os extratos aquoso, metanólico e metanol:diclorometano das folhas de *B. pilosa* apresentam atividade anti-hipertensiva, somente em animais com aumento de P.A., não interferindo na pressão de ratos normotensos. E o mecanismo de ação sugerido para essa atividade é por promover um aumento da vasodilatação, agir sobre a eficiência da bomba cardíaca e também por melhorar a sensibilidade a insulina, porém sem interferir com a diurese e com o volume plasmático corporal.

4.3.2.2.8 Atividade Diurética

Diferentemente do observado nos estudos de hipertensão, Lorenzo Monteagudo, *et al.* (2003) (15) descreveram a atividade diurética para a espécie. O extrato aquoso da planta inteira de *Bidens alba* quando administrado uma vez, na dose de 400 mg/ Kg em ratos, promove um efeito diurético semelhante à furosemida, com excreção de volume total de $88,81 \pm 7,69$ mL/ Kg, promovendo maiores níveis de excreção de Na^+ e K^+ do que o fármaco de referência.

4.3.2.2.9 Atividade Hepatoprotetora

Vários estudos avaliaram diferentes extratos de *Bidens pilosa* no modelo de indução de lesão hepática por tetracloreto de carbono (CCl_4).

O extrato hidroalcoólico e fração acetato de etila das partes aéreas de *B. pilosa* foram testados neste modelo de lesão hepática em camundongos e ambos promoveram uma diminuição nos níveis de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e lactato desidrogenase (LDH), bem como nos níveis de malonildialdeído (MDA) hepático, demonstrando atividade hepatoprotetora (93). Yuan *et al.* (2008) (51) também demonstraram que o extrato enriquecido com compostos fenólicos das folhas de *Bidens bipinnata* reduziu os níveis de: AST, ALT, ácido hialurônico, pró-colágeno tipo III e hidroxiprolina hepática. Além disso, reduziu a peroxidação lipídica e aumentou a atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GSH-P_x) e suprimiu a expressão gênica do NF-KB, α -SMAD e TGF- β .

Yuan *et al.* (2008) (52) avaliou o extrato enriquecido com compostos fenólicos das folhas de *B. pilosa* em ratos e camundongos e observou que na dose de 50 e 100 mg/ Kg o extrato reduziu os níveis séricos de ALT, AST, o conteúdo de MDA hepático, e restaurou a atividade da SOD e da GSH-Px em camundongos. Em ratos, na dose de 60 mg/ Kg inibiu a ativação do NF- κ B. A análise histopatológica sugeriu que os compostos fenólicos do extrato foram os responsáveis por reduzir o grau de lesão hepática em camundongos e a gravidade da fibrose no fígado de ratos. Zhong *et al.* (2007) (53) observaram os mesmos resultados com extrato similar em camundongos, ou seja, redução nos níveis séricos de ALT, AST, no conteúdo de MDA hepático, e adicionalmente observou que o extrato restaurou a atividade da SOD e da GSH-Px, e diminuiu as alterações histológicas causadas pelo CCl₄, além de suprimir a produção de NO e a ativação de NF- κ B.

Suzigan *et al.* (2009) (32) avaliaram o extrato aquoso das folhas de *B. pilosa* no modelo lesão hepática induzida pela ligadura e ressecção do ducto biliar comum em ratos jovens e observaram que o extrato reduziu os níveis séricos de ALT, AST e diminuiu o escore da lesão. Estes resultados sugerem que este extrato pode ser usado na doença hepática induzida pela colestase obstrutiva crônica, pois protege a função hepática e diminui a velocidade de necrose e a intensidade da fibrose na obstrução biliar extra-hepática.

Estes estudos demonstram potencial atividade hepatoprotetora da espécie *B. pilosa*.

4.3.2.2.10 Atividade Hipoglicemiante

Para avaliar a atividade hipoglicemiante de *B. pilosa*, Hsu *et al.* (2009) (75) avaliaram a atividade do extrato aquoso da planta inteira em três condições: administração de dose única, doses repetidas (28 dias) e em camundongos com diabetes induzida por estreptozotocina (STZ). Foram observados os seguintes resultados: no experimento de dose única: o extrato diminuiu significativamente os níveis de glicose e aumentou os níveis de insulina; no experimento de tratamento por longo prazo: o extrato diminuiu significativamente os níveis de glicose e aumentou os níveis de insulina no soro dos animais diabéticos, além de melhorar significativamente a tolerância à glicose e diminuir os níveis de hemoglobina glicada (HbA1c); já no experimento da indução de diabetes por STZ: o extrato reduziu a hiperglicemia via produção de insulina a partir das ilhotas pancreáticas, demonstrando a atividade hipoglicemiante da espécie.

Alarcon-Aguilar *et al.* (2002) (69) também demonstraram que o extrato etanólico da planta inteira de *Bidens pilosa* promoveu redução da glicemia, após 240 minutos, tanto nos animais normais como nos animais induzidos com aloxan.

Chien, *et al.* (2009) (72) também avaliaram a atividade hipoglicemiante do extrato bruto metanólico de três variedades de *B. pilosa*, variedade radiata (BPR), pilosa (BPP) e minor (BPM) e também do composto isolado glicosídeo poliacetileno. Os resultados demonstraram que tanto no experimentos de dose única como no de longo prazo o tratamento com o extrato de BPR promoveu maior de redução dos níveis de glicose, maior aumento na liberação de insulina que os extratos das outras duas variantes. Já o composto isolado, assim como o extrato de BPR, também aumentou os níveis hemoglobina A1c glicosilada em camundongos db / db. Isto pode ser devido ao fato do extrato bruto de BPR ter uma maior quantidade do composto isolado do que os extratos brutos de BPP e BPM, conforme demonstrado na análise por HPLC.

Os resultados aqui apresentados demonstram que a espécie apresenta atividade hipoglicemiante, especialmente os extratos aquoso e alcoólico da planta inteira.

4.3.2.2.11 Atividade Antimalárica

Camundongos inoculados com o parasita *Plasmodium berghei* foram tratados com o extrato hidroalcoólico das raízes de *B. pilosa* coletadas em três locais diferentes no estado de Minas gerais. Os resultados demonstraram que nas doses de 250 e 500 mg/ Kg os extratos promoveram uma redução de 60% da parasitemia, porém com a dose de 1000 mg/ Kg somente o extrato coletado em Belo Horizonte apresentou atividade (99). Brandão *et al.* (1997) (131) também avaliaram a atividade do extrato etanólico e frações butanólica e clorofórmica das folhas, raízes e da planta inteira de *B. pilosa* na dose de 1000 mg/ Kg e observaram que somente o extrato etanólico bruto e a fração clorofórmica da planta inteira promoveram a redução da parasitemia em 40%.

Oliveira, *et al.* (2004) (100) demonstraram que o extrato hidroalcoólico das raízes de *B. pilosa* reduziu a parasitemia no quinto dia em 36% e no sétimo dia em 29%. A fração etérea reduziu apenas 10% da parasitemia e a fração éter: metanol promoveu uma redução no quinto dia de 38%, e de 10% no sétimo dia. Estes resultados demonstraram que a ausência de poliacetilenos, e o aumento da concentração de flavonoides, não contribuíram para o aumento da atividade da fração éter: metanol. O extrato etanólico promoveu o aumento da sobrevivência dos animais, sendo que somente 20% morreram até o 19º dia. Na fração éter e

éter: metanol a mortalidade foi total no dia 13, semelhante ao observado com os animais não tratados.

Estes resultados *in vivo*, diferente do observado *in vitro*, demonstram que a atividade antimalárica de *B. pilosa* é fraca, pois necessita de doses altas para promover a morte de no máximo 60% dos parasitas, apesar do extrato etanólico ter promovido um aumento na sobrevivência dos animais.

4.3.2.2.12 Atividade Antineoplásica

O tratamento com o extrato etanólico e com a fração metanólica da planta inteira de *Bidens pilosa* foi avaliado no modelo de indução de neoplasia gástrica por N-nitroso-N-metilurea (NMU) em ratos. Este estudo demonstrou que o extrato etanólico e a fração metanólica promoveram uma diminuição da displasia dos animais e menor alteração histopatológica em comparação com os animais do grupo controle. No sangue coletado dos animais, ambos os tratamentos promoveram uma diminuição no número de eritrócitos policromáticos e uma diminuição do estresse oxidativo. Em todos os parâmetros avaliados o efeito da fração metanólica foi superior ao extrato etanólico bruto, sugerindo que essa atividade esteja relacionada com os compostos fenólicos que foram aparentemente detectados em maior quantidade na fração metanólica (66). Esses mesmos extratos foram testados no modelo de câncer de mama induzido por DMBA (dimetilbenzeno A antraceno) e os resultados demonstraram que os animais tratados com o extrato etanólico desenvolveram adenocarcinoma diferenciado (++) e desmoplásico. Já a fração metanólica impediu o desenvolvimento de uma maior diferenciação do tecido mamário. Os tratamentos com os extratos promoveram uma diminuição no conteúdo de MDA, demonstrando sua atividade antioxidante. Além disso, os extratos reduziram o número de micronúcleos nas células avaliadas, o que demonstra diminuição da genotoxicidade (68).

O extrato etanólico da planta inteira foi testado no modelo experimental de câncer de cólon induzido pela administração semanal de DMH em ratos. Os resultados demonstraram que esse extrato promoveu uma diminuição nos níveis plasmáticos de nitritos, na concentração plasmática de MDA e os animais apresentaram menores alterações nos órgãos analisados histologicamente na dose de 50 mg/ Kg (67).

O extrato hidroalcoólico e as frações clorofórmica, acetato de etila e metanólica foram testados quanto a atividade anticarcinogênica. Para tanto, células tumorais foram inoculadas na cavidade peritoneal de ratos e vários parâmetros foram avaliados após 9 dias de tratamento.

Como resultado, observou-se que os tratamentos com as frações clorofórmica, acetato de etila e com o extrato hidroalcoólico promoveram uma redução na atividade da enzima lactato desidrogenase, de 39,5, 30,6 e 27,2%, respectivamente e levaram a um esgotamento de GSH no tumor de 94,6, 50,7 e 50,1%, além de promover melhora nos parâmetros clínicos avaliados. A fração metanólica foi inativa em todos os parâmetros avaliados (94).

Camundongos foram enxertados com células 1×10^7 HUTUT-102 por injeção subcutânea na região pós-auricular para indução da formação de tumor e foram tratados por 28 dias com o extrato aquoso das partes aéreas de *B. pilosa*. Os resultados demonstraram que o tratamento promoveu uma diminuição significativa no peso e no volume do tumor (95). Zhu *et al.* (2013) (83) também inocularam células U14 de carcinoma cervical na axila de camundongos e trataram os animais por 10 dias com o extrato etanólico da planta inteira e verificaram que as taxas de inibição dos tumores sólidos foi de 49,13% na dose de 10 mg/ Kg, de 2,26% na dose de 5 mg/ Kg e a taxa de prolongamento da sobrevida foi de 63,63% e 34,86%, respectivamente.

Os resultados pré-clínicos aqui apresentados sugerem que o extrato da planta inteira de *B. pilosa* apresenta potencial atividade antineoplásica, porém é necessária a avaliação em outros modelos que melhor caracterizem essa atividade.

4.3.2.2.13 Atividade cicatrizante

O extrato alcoólico das folhas e flores de *B. alba* foram aplicados em incisões feitas no dorso de camundongos Balb/c para avaliação de sua atividade cicatrizante. Os resultados mostraram que os animais tratados com o extrato de *Bidens* iniciaram o fechamento das feridas 1 dia após os demais grupos, porém apresentaram fechamento total das feridas após o 18º dia, apresentando uma cicatrização histologicamente superior a substância de referência utilizada no estudo (107).

Hassan *et al.* (2011) (58) também avaliaram a atividade cicatrizante do extrato hidroalcoólico das folhas de *B. pilosa* em incisões feitas no dorso de ratos, e os resultados demonstraram que as feridas tratadas com extrato apresentaram taxa mais rápidas de cicatrização, nos dias 3, 6 e 9 em comparação com o controle negativo. Histologicamente, no dia 7 o extrato promoveu maior presença de colágeno, angiogênese e organização do tecido da ferida. A epitelização e o tempo total de cura para *B. pilosa* foi comparável ao sulfato de neomicina. Em conclusão, o extrato de *B. pilosa* mostrou potencial para uso como alternativa à neomicina para o tratamento de feridas.

Estes estudos comprovam a indicação de uso popular da espécie *B. pilosa* como cicatrizante, sugerindo que a mesma pode ser usada como alternativa ao fármaco de referência utilizado na clínica, porém mais estudos precisam ser feitos.

4.3.2.2.14 Atividade Uterotrófica

A espécie *Bidens pilosa* é relatada nos usos populares e tradicionais como uma planta que promove o aumento da motilidade uterina, aumento da atividade da oxitocina (149), como ocitócito (estimula o nascimento da criança) (61, 128), porém um único estudo *in vivo* avaliou somente a atividade uterotrófica da espécie. Frida *et al.* (2007) (16) avaliaram se a administração dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Bidens pilosa* por 3 dias em camundongos afetava a evolução do peso corpóreo e do peso do útero. Os resultados demonstraram que o extrato etanólico promoveu maior ganho de peso corporal, na concentração de 500 ug / g / dia, e o extrato aquoso foi significativamente mais eficaz no aumento de peso uterino, na concentração de 1000 ug/ g/ dia.

Estes resultados juntamente com os resultados observados *in ex vivo*, sugerem que a espécie *B. pilosa* apresenta atividade estrogênica-like e ocitócicas-like, o que explica o uso popular da espécie para aumentar o trabalho de parto, provavelmente devido à presença de composto(s) biologicamente ativos, que atuam diretamente sobre o músculo uterino.

4.3.2.3 Ensaios *ex vivo*

Alguns ensaios *ex vivo* foram realizados para avaliar determinadas atividades de *Bidens pilosa*.

4.3.2.3.1 Reatividade Vascular

O extrato aquoso das folhas de *B. pilosa*, preparado por infusão, promoveu o relaxamento da aorta de ratos de forma dose dependente, ou seja, de 25 a 105% para as respectivas concentrações de 0,25 a 1,5 mg/ mL. A concentração máxima de 1,5 mg/ mL promoveu 88% de relaxamento das contrações induzidas pela noradrenalina. Não houve diferença significativa no efeito do extrato na aorta com ou sem endotélio. Na presença de indometacina ou pirilamina maleato, a resposta relaxante induzida pelo extrato foi significativamente inibida nas concentrações mais baixas. O extrato da planta foi capaz de reduzir o tônus de repouso da aorta e inibir as contrações induzidas por KCl (90% a 1,5 mg/

mL) e as contrações induzidas por CaCl_2 em 95% a uma concentração de 0,75 mg/ mL. Estes resultados demonstram as propriedades vasodilatadoras do extrato de *Bidens pilosa* e indicam que ele pode atuar como um antagonista de cálcio (39).

Resultados semelhantes foram observados por Dimo *et al.* (1998) (45) que também observaram que quando o músculo aórtico com endotélio foi pré-contraído com KCl, a dose mais elevada do extrato (8 mg/ mL) produziu um relaxamento de 47% semelhante a acetilcolina. Quando as mesmas doses foram testadas em tecido aórtico sem endotélio, nenhuma resposta significativa foi observada tanto com o extrato de *B. pilosa*, como com a acetilcolina. Já o relaxamento da aorta intacta, em pré-contrato com norepinefrina, aumentou com doses crescentes do extrato de *B. pilosa*, em 28% para a dose de 0,5 mg/ mL e em 71% para a dose de 8 mg/ mL. Quando tiras de aorta sem endotélio foram pré-contraídas com noradrenalina, o extrato de *B. pilosa* (8 mg/ mL) promoveu um relaxamento de 105% em comparação com 3,6% promovido pela acetilcolina. Os resultados sugerem que o efeito de relaxamento do extrato pode ser devido ao bloqueio do influxo de cálcio extracelular para dentro da célula.

4.3.2.3.2 Contratilidade da musculatura Uterina

O extrato aquoso e etanólico das folhas de *B. pilosa* foram testados para avaliação da contratilidade uterina em cornos de útero de ratas e os resultados demonstraram que o extrato aquoso promoveu um aumento no tempo da amplitude das contrações, já o extrato etanólico promoveu um aumento no tônus da atividade contrátil espontânea uterina (16). Nikolajsen, *et al.* (2011) (98) também observaram que o extrato etanólico das raízes de *B. pilosa* promoveu contração da musculatura de cornos de rata com a mesma força induzida pela resposta máxima da acetilcolina, porém o extrato não alterou a frequência de contração do órgão. Kamatenesi-Mugisha *et al.* (2007) (128) também demonstraram que o extrato aquoso preparado por infusão das folhas, estimulou a motilidade uterina nas concentrações de 1,43 mg mL⁻¹ e de 2,86 mg mL⁻¹, sendo essa motilidade rítmica.

4.3.2.3.3 Contratilidade da musculatura lisa

O extrato clorofórmico bruto das folhas de *B. pilosa* promoveu contração da musculatura lisa do jejuno de coelho com IC₅₀ de 160 ± 45 µg/ mL (55). O extrato aquoso das folhas nas concentrações de 2,86 mg mL⁻¹ e 5,71 mg mL⁻¹ aumentaram ligeiramente e

mudaram a linha de base para cima da motilidade jejunal. O extrato quando combinado com neostigmina promoveu maior motilidade (128).

Controversamente, o extrato metanólico das partes aéreas de *Bidens bipinnata* promoveu uma inibição dose dependente na motilidade do duodeno de coelhos, sugerindo atividade antidiarreica para o extrato (4).

4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

Apesar dos inúmeros estudos relatados que demonstram a atividade pré-clínica de *Bidens pilosa*, não há relatos na literatura de estudos clínicos para a espécie.

4.4.1 Fase I

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.4.2 Fase II

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.4.3 Fase III

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.4.4 Fase IV

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.4.5 Estudos observacionais

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO

Com base nos estudos pré-clínicos *in vivo*, *in vitro* e *ex vivo* para determinação das atividades biológicas da espécie *Bidens pilosa*, algumas atividades observadas merecem destaque, dentre estas as atividades antibacteriana, antiviral, hipoglicemiante, hepatoprotetora, anti-inflamatória, anti-hipertensiva e diurética. Tais atividades comprovam cientificamente alguns usos tradicionais e populares.

De fato, a espécie apresenta atividade antimicrobiana, em especial atividade antibacteriana, sendo os extratos etanólicos (33, 90) e hexânicos (64) os mais ativos, bem como as suas frações (64). Apesar de alguns resultados controversos, a espécie *B. pilosa* apresenta atividade antibacteriana para diversas cepas, especialmente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas*, e de um modo geral a planta inteira e as folhas são as partes mais ativas da planta.

Os extratos hidroalcoólicos e aquosos da planta inteira apresentam atividade antiviral (18, 71), especialmente para os vírus envolvidos no desenvolvimento da herpes, reforçando a sua indicação de uso popular como anti-herpética (15).

Os estudos pré-clínicos aqui avaliados demonstram que os extratos aquoso, metanólico e metanol:diclorometano das folhas de *B. pilosa* apresentam importante atividade anti-hipertensiva (34), (42, 43, 132) e o mecanismo de ação sugerido para essa atividade é por promover um aumento da vasodilatação (42, 43), agir sobre a eficiência da bomba cardíaca (43) e também por melhorar a sensibilidade a insulina (44), porém sem interferir na diurese e no volume plasmático corporal. Controversamente, foi observada atividade diurética para o extrato aquoso da planta inteira de *Bidens alba* (sinonímia de *B. pilosa*) (15).

O extrato hidroalcoólico e fração acetato de etila das partes aéreas (93), o extrato aquoso e o extrato enriquecido com compostos fenólicos (52), (51) foram os que apresentaram maior atividade hepatoprotetora *in vivo*.

Os extratos aquoso e alcoólico da planta inteira (69, 72) são os que apresentam maior atividade hipoglicemiante.

Quanto à atividade antineoplásica, o extrato da planta inteira (66, 95) é o que possui maior potencial para ser testado em outros modelos que melhor caracterizem essa atividade.

Para a atividade cicatrizante, os extratos alcoólicos das folhas são os mais potenciais a serem utilizados como alternativa ao fármaco de referência (107),(58), porém mais estudos de eficácia e segurança ainda precisam ser feitos.

Os resultados observados *in ex vivo* e *in vivo*, sugerem que a espécie *B. pilosa*, em especial o extrato etanólico das folhas (16), (128), apresenta atividade estrogênica-like e ocitócicas-like, o que explica o uso popular da espécie para aumentar o trabalho de parto, provavelmente devido à presença de composto(s) biologicamente ativos, que atuam diretamente sobre o músculo uterino.

Apesar da espécie *Bidens pilosa* apresentar uma DL50 alta (16), o que indica segurança de uso, mais estudos precisam ser realizados para verificar seus efeitos tóxicos e principalmente seu possível potencial carcinogênico (38). Além disso, os resultados controversos sobre o potencial genotóxico da espécie (68, 73, 77, 78, 93) reforçam a necessidade de novos estudos.

Os resultados apresentados nesta monografia estão baseados nos trabalhos descritos na literatura, e demonstram que apesar da espécie apresentar várias e importantes atividades biológicas, mais estudos precisam ser realizados para demonstrar a eficácia e segurança da espécie *Bidens pilosa*, principalmente estudos clínicos, já que estes ainda não foram realizados, apesar da ampla indicação popular de uso desta espécie.

4.5.1 Vias de Administração

Uso oral e tópico.

4.5.2 Dose Diária

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)

Não há relatos de uso clínico para a espécie, somente uma publicação no Diário Oficial da União, de 20/07/2010 (163), descreve o uso da espécie da seguinte forma, para tratamento da icterícia:

Uso externo: Banhar com o infuso, logo após o preparo, 2 x ao dia;

Uso interno(Crianças):

3 a 7 anos – Tomar – 35 mL do infuso, logo após o preparo, 3 a 4 x ao dia.

7 a 12 anos – Tomar 75 mL do infuso, logo após o preparo, 3 a 4 x ao dia

4.5.4 Período de Utilização

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.5 Contra Indicações

Hipersensibilidade a espécies da família Asteraceae. Não utilizar na gravidez (164).

4.5.6 Grupos de Risco

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.7 Precauções de Uso

Caso sejam observadas reações alérgicas, suspender o uso imediatamente. Pacientes com hipersensibilidade as espécies da família Asteraceae, não devem fazer uso da espécie *Bidens pilosa*.

4.5.8 Efeitos Adversos Relatados

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.9 Interações Medicamentosas

4.5.9.1 Descritas

Um único estudo descreve o uso de concomitante de *Bidens pilosa* por pacientes em uso de medicamentos antiretrovirais, no Zimbabue, África (165). Este estudo descreve que 66% de 246 pacientes relataram utilizar a espécie junto com os medicamentos antiretrovirais, para aliviar o desconforto causado por esses fármacos, porém os efeitos desta associação não foram avaliados. Assim, até o momento não há relato de interação medicamentosa da planta medicinal ou fitoterápico contendo *Bidens pilosa*.

4.5.9.2 *Potenciais*

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.10 **Informações de Superdosagem**

Não há relatos de intoxicações por superdosagem com *Bidens pilosa* na literatura pesquisada. Porém, plantas ricas em fenóis totais, como é o caso da *B. pilosa*, quando usadas em doses excessivas podem causar irritação da mucosa gástrica e intestinal, gerando vômitos, cólicas intestinais e diarreia.

4.5.10.1 *Descrição do quadro clínico*

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.10.2 *Ações a serem tomadas*

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

5. INFORMAÇÕES GERAIS

5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS

Não há registro na Anvisa para *B. pilosa*.

5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Não há descrições específicas para a embalagem e armazenamento de *B. pilosa*, porém Sánchez Govin, *et al.*, 2003 (113) demonstraram que o armazenamento da planta inteira por 1 ano em frascos de vidro, em temperatura ambiente, manteve seus caracteres organolépticos como odor e cor. Portanto, sugere-se que a melhor forma de armazenamento para a espécie seja em recipientes de vidro, bem fechados.

5.4 ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL

Foram consultadas as bases de dados para a busca de patentes, WIPO (World Intellectual Property Organization), EPO (European Patent Office), INPI (Instituto Nacional de Propriedade Intelectual), JPO (Japan Patent Office) e USPTO (United States Patent and Trademark Office's). Foram selecionadas as seguintes patentes INPI (1), JPO (6), USPTO (1),

WIPO (2) e EPO (0), que estão descrita abaixo. Foi utilizado como critério de seleção as patentes relacionadas com a atividade biológica ou com o método de preparação do derivado vegetal da espécie. Foram critérios de exclusão: patentes repetidas, relacionada com agricultura, uso veterinário e cosmético. Segue abaixo lista das patentes selecionadas:

1. Perante, L. M. L., *et al.* (2012). Processo de obtenção de medicamento fitoterapico hepatoprotetor a base de extrato seco e padronizado de *Bidens pilosa* linn (asteraceae) com aplicações na medicina humana e veterinaria. Brasil, Universidade Federal de Goiás (BR/GO). BR 10 2012 007667 5.
2. Eberlin, S., *et al.* (2010). Uso do extrato de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) Em formulações cosméticas e farmacêuticas como agente antienvhecimento por mecanismos similares aos retinóides. Brasil, Chemyunion Química LTDA (BR/SP). PI1003665-2.
3. Tobinaga, K., *et al.* (2007). Malaria treating agent, Tobinaga, Kiyoteru. JPO2007-053532.
4. Yatsuka, Y. (2003). Cosmetic. JPO2004-323466.
5. Masuzawa, M., *et al.* (2002). Ameliorant for blood circulation. Japão, Musashino Meneki Kenkyusho:Kk. JPO 2001-001720.
6. Yoshinori, S. and Y. Yatsukai (2004). Method for processing *Bidens pilosa*. Japão, Musashino Meneki Kenkyusho:Kk. JPO2002-011854.
7. Wen-Chin, Y., *et al.* (2008). Butanol extract of *Bidens pilosa*. Estados Unidos, Academica Sinica. USPTO 12/263,896.
8. Yoshiyuki, S. (2004). Composition for promoting repair of injured tissue. Japão, Musashino Meneki Kenkyusho:Kk. WO2004091434.
9. Yoshinori, S., Yatsukai, Y. (2004). Method for processing *Bidens pilosa*. Japão, Musashino Meneki Kenkyusho:Kk. JPO2002-011854.
10. Yoshida, Y. (2003). Composition comprising extract from plant of genus *Bidens*, Musashino Meneki Kenkyusho:Kk. 2003115703 21.04.2003 JP.

5.7 DIVERSOS

A denominação *Bidens pilosa* é originária do latim, em que “*Bidens*” significa dois dentes, referindo-se às duas projeções do aquênio, e “*pilosa*”, devido à presença de pelos em suas brácteas (2). O gênero descrito por Carl Linnaeus inclui aproximadamente 240 espécies cosmopolitas (13).

É uma planta que cresce espontaneamente em lavouras agrícolas de todo o Brasil, onde é considerada uma séria planta daninha. Esta planta possui uma longa história de uso na medicina caseira entre os povos indígenas na Amazônia (1), devido a este fato, esta planta tem

sido objeto de muitos estudos farmacológicos nos últimos anos, os quais validaram algumas das propriedades a ela atribuídas pela medicina tradicional (1).

Conforme demonstrado, a espécie *Bidens pilosa* apresenta diversas atividades farmacológicas, que podem ser atribuídas aos diversos compostos secundários presentes na espécie, porém mais estudos são necessários para caracterizar sua eficácia e segurança de uso, especialmente através estudos clínicos, já que estes ainda não foram feitos.

REFERÊNCIAS

1. Lorenzi H. Plantas Medicinais no Brasil Nativas e Exóticas. 2, editor. Nova Odessa, SP.: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA.; 2008.
2. Santos JB, Cury JP. Picão-preto: uma planta daninha especial em solos tropicais. *Planta Daninha*. 2011;29.
3. Haida KS, Parzianello L, Werner S, Garcia DR, Inácio CV. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. *Arq ciências saúde Unipar*. 2007;11(3):185-92.
4. Atta AH, Mouneir SM. Evaluation of some medicinal plant extracts for antidiarrhoeal activity. *Phytother Res*. 2005;19(6):481-5.
5. Chiang Y-M, Chuang D-Y, Wang S-Y, Kuo Y-H, Tsai P-W, Shyur L-F. Metabolite profiling and chemopreventive bioactivity of plant extracts from *Bidens pilosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;95(2-3):409-19.
6. Fadeyi SA, Fadeyi OO, Adejumo AA, Okoro C, Myles EL. In vitro anticancer screening of 24 locally used Nigerian medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013;13.
7. Horiuchi M, Seyama Y. Antiinflammatory and antiallergic activity of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff. *Journal of Health Science*. 2006;52(6):711-7.
8. Horiuchi M, Seyama Y. Improvement of the antiinflammatory and antiallergic activity of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* SCHERFF treated with enzyme (Cellulosine). *Journal of Health Science*. 2008;54(3):294-301.
9. Yip L, Pei S, Hudson JB, Towers GHN. Screening of medicinal plants from Yunna province in southwest China for antiviral activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 1991;34(1):1-6.
10. Ong PL, Weng BC, Lu FJ, Lin ML, Chang TT, Hung RP, et al. The anticancer effect of protein-extract from *Bidens alba* in human colorectal carcinoma SW480 cells via the reactive oxidative species- and glutathione depletion-dependent apoptosis. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(5):1535-47.
11. Tropicos. <http://www.tropicos.org> [cited 2014 15/10/2014].

12. Gbolade AA. Inventory of antidiabetic plants in selected districts of Lagos State, Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*. 2009;121(1):135-9.
13. Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2, editor. São Paulo: UNESP; 2002.
14. Álvarez-Ávalos A, Gómez MJM, Montalvo FP, Gobin ES. Actividad antiulcerosa de un extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. en ratas. *Revista Cubana Plantas Medicinai*1998.
15. Lorenzo Monteagudo G, Boffill Cárdenas MdlA, Monteagudo Jiménez E, Martínez Chaviano MY, Romero Loinaz del Castillo D, Sueiro Oyarzún ML. Evaluación preliminar de la actividad diurética de *Bidens Alba* y *Carica Papaya*l. *Medicentro (Villa Clara)*. 2003;7(1).
16. Frida L, Rakotonirina S, Rakotonirina A, Savineau JP. In vivo and in vitro effects of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) leaf aqueous and ethanol extracts on primed-oestrogenized rat uterine muscle. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2007;5(1):79-91.
17. Hong CE, Ji ST, Lyu SY. Absence of mutagenicity in three Nigerian medicinal plants - *Bidens Pilosa*, *Cleistopholis patens* and *Tetrapleura tetraptera*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2011;10(2):153-9.
18. Nakama S, Tamaki K, Ishikawa C, Tadano M, Mori N. Efficacy of *Bidens pilosa* Extract against Herpes Simplex Virus Infection In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012:413-53.
19. Deba F, Xuan TD, Yasuda M, Tawata S. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*. 2008;19(4):346-52.
20. Kohda F, Takahara M, Hachiya A, Takei K, Tsuji G, Yamamura K, et al. Decrease of reactive oxygen species and reciprocal increase of nitric oxide in human dermal endothelial cells by *Bidens pilosa* extract: A possible explanation of its beneficial effect on livedo vasculopathy. *Journal of Dermatological Science*. 2013;72(1):75-7.
21. Chang SL, Chiang YM, Chang CL, Yeh HH, Shyur LF, Kuo YH, et al. Flavonoids, centaurein and centaureidin, from *Bidens pilosa*, stimulate IFN-gamma expression. *J Ethnopharmacol*. 2007;112(2):232-6.
22. Betti JL, Lejoly J. Contribution to the knowledge of medicinal plants of the Dja Biosphere Reserve, Cameroon: Plants used for treating jaundice. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2009;3(12):1056-65.

23. Chipurura B, Muchuweti M, Kasiyamhuru A. Wild Leafy Vegetables Consumed in Buhera District of Zimbabwe and Their Phenolic Compounds Content. *Ecology of Food and Nutrition*. 2013;52(2):178-89.
24. Benhura MAN, Chitsiku IC. The extractable β -carotene content of Guku (*Bidens pilosa*) leaves after cooking, drying and storage. *International Journal of Food Science and Technology*. 1997;32(6):495-500.
25. Bhatt KC, Sharma N, Pandey A. 'Ladakhi tea' *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): A cultivated species in the cold desert of Ladakh Himalaya, India. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2009;56(6):879-82.
26. Falcao HS, Mariath IR, Diniz MFFM, Batista LM, Barbosa-Filho JM. Plants of the American continent with antiulcer activity. *Phytomedicine*. 2008;15(1-2):132-46.
27. Rodrigues VEG, Carvalho DA. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio dos cerrados na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2007;9(2):17-35.
28. Pereira ZV, Mussury RM, de Almeida AB, Sangalli A. Medicinal plants used by Ponta Porã community, Mato Grosso do Sul State. *Acta Scientiarum - Biological Sciences*. 2009;31(3):293-9.
29. Borges CC, Matos TF, Moreira J, Rossato AE, Zanette VC, Amaral PA. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): traditional use in a community of southern Brazil. *Rev bras plantas med*. 2013;15(1):34-40.
30. Díaz García A, Rodríguez Sánchez H, Scull Lizama R. Citotoxicidad de extractos de plantas medicinales sobre la línea celular de carcinoma de pulmón humano A549. *Rev cuba farm*. 2011;45(1):101-8.
31. Oliveira ER, Menini Neto L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte - MG. *Rev bras plantas med*. 2012;14(2):311-20.
32. Suzigan MI, Battochio AP, Coelho KL, Coelho CA. An aqueous extract of *Bidens pilosa* L. protects liver from cholestatic disease: experimental study in young rats. *Acta Cir Bras*. 2009;24(5):347-52.
33. Voigt Mota F, Lambrecht Gonçalves C, Damé Schuch LF, Silveira Coimbra H, Hartwig C. Comparación de distintas extracciones hidroalcohólicas de plantas con indicativo etnográfico antiséptico/desinfectante. *Rev cuba plantas med*. 2011;16(3):236-46.

34. Dimo T, Azay J, Tan PV, Pellecuer J, Cros G, Bopelet M, et al. Effects of the aqueous and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* leaf on fructose-hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2001;76(3):215-21.
35. Jäger AK, Hutchings A, van Staden J. Screening of Zulu medicinal plants for prostaglandin-synthesis inhibitors. *Journal of Ethnopharmacology*. 1996;52(2):95-100.
36. Koster M, Price LL. Rwandan female genital modification: elongation of the Labia minora and the use of local botanical species. *Cult Health Sex*. 2008;10(2):191-204.
37. Lans CA. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2006;2:45.
38. Mirvish SS, Rose EF, Sutherland DM. Studies on the esophagus. II. Enhancement of [3H]thymidine incorporation in the rat esophagus by *Bidens pilosa* (a plant eaten in south africa) and by croton oil. *Cancer Letters*. 1979;6(3):159-65.
39. Nguelefack TB, Dimo T, Mbuyo EP, Tan PV, Rakotonirina SV, Kamanyi A. Relaxant effects of the neutral extract of the leaves of *Bidens pilosa* Linn on isolated rat vascular smooth muscle. *Phytother Res*. 2005;19(3):207-10.
40. Pereira RLC, Ibrahim T, Lucchetti L, da Silva AJR, de Moraes VLG. Immunosuppressive and anti-inflammatory effects of methanolic extract and the polyacetylene isolated from *Bidens pilosa* L. *Immunopharmacology*. 1999;43(1):31-7.
41. Rabe T, van Staden J. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. *Journal of Ethnopharmacology*. 1997;56(1):81-7.
42. Dimo T, Nguelefack TB, Kamtchouing P, Dongo E, Rakotonirina A, Rakotonirina SV. Hypotensive effects of a methanol extract of *Bidens pilosa* Linn on hypertensive rats. *C R Acad Sci III*. 1999;322(4):323-9.
43. Dimo T, Nguelefack TB, Tan PV, Yewah MP, Dongo E, Rakotonirina SV, et al. Possible mechanisms of action of the neutral extract from *Bidens pilosa* L. leaves on the cardiovascular system of anaesthetized rats. *Phytother Res*. 2003;17(10):1135-9.
44. Dimo T, Rakotonirina SV, Tan PV, Azay J, Dongo E, Cros G. Leaf methanol extract of *Bidens pilosa* prevents and attenuates the hypertension induced by high-fructose diet in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002;83(3):183-91.

45. Dimo T, Rakotonirina S, Kamgang R, Tan PV, Kamanyi A, Bopelet M. Effects of leaf aqueous extract of *Bidens pilosa* (Asteraceae) on KCl- and norepinephrine-induced contractions of rat aorta. *J Ethnopharmacol.* 1998;60(2):179-82.
46. Fotso AF, Longo F, Djomeni PDD, Kouam SF, Spiteller M, Dongmo AB, et al. Analgesic and antiinflammatory activities of the ethyl acetate fraction of *Bidens pilosa* (Asteraceae). *Inflammopharmacology.* 2014;22(2):105-14.
47. Garcia M, Monzote L, Montalvo AM, Scull R. Screening of medicinal plants against *Leishmania amazonensis*. *Pharmaceutical Biology.* 2010;48(9):1053-8.
48. Rivera D, Obon C. The ethnopharmacology of Madeira and Porto Santo islands, a review. *Journal of Ethnopharmacology.* 1995;46(2):73-93.
49. Rojas JJ, Ochoa VJ, Ocampo SA, Munoz JF. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2006;6:2.
50. Tan PV, Dimo T, Dongo E. Effects of methanol, cyclohexane and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* on various gastric ulcer models in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 2000;73(3):415-21.
51. Yuan LP, Chen FH, Ling L, Bo H, Chen ZW, Li F, et al. Protective effects of total flavonoids of *Bidens bipinnata* L. against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2008;60(10):1393-402.
52. Yuan L-P, Chen F-H, Ling L, Dou P-F, Bo H, Zhong M-M, et al. Protective effects of total flavonoids of *Bidens pilosa* L. (TFB) on animal liver injury and liver fibrosis. *Journal of Ethnopharmacology.* 2008;116(3):539-46.
53. Zhong MM, Chen FH, Yuan LP, Wang XH, Wu FR, Yuan FL, et al. Protective effect of total flavonoids from *Bidens bipinnata* L. against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *J Pharm Pharmacol.* 2007;59(7):1017-25.
54. Clarkson C, Maharaj VJ, Crouch NR, Grace OM, Pillay P, Matsabisa MG, et al. In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology.* 2004;92(2-3):177-91.
55. Cortes Arroyo AR, Chacon BL, Maki KA. Screening and selection of plants by positive pharmacologic effect on jejunum muscular contractility. *Pharmaceutical Biology.* 2004;42(1):24-9.

56. Diehl MS, Atindehou KK, Tere H, Betschart B. Prospect for anthelmintic plants in the Ivory Coast using ethnobotanical criteria. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;95(2-3):277-84.
57. Djomeni Dzeufiet PD, Nguelefack TB, Azay J, Kamtchouing P, Cros G, Dimo T. Vascular changes associated with high fructose diet-induced hypertension: Effects of the leaf methanol extract of *Bidens Pilosa* L. (Asteraceae). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2014;5(2):707-15.
58. Hassan AK, Deogratius O, Nyafuono JF, Francis O, Engeu OP. Wound healing potential of the ethanolic extracts of *Bidens pilosa* and *Ocimum suave*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011;5(2):132-6.
59. Jiofack T, Ayissi I, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V. Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2009;3(4):144-50.
60. Kamanzi Atindehou K, Kone M, Terreaux C, Traore D, Hostettmann K, Dosso M. Evaluation of the antimicrobial potential of medicinal plants from the ivory coast. *Phytotherapy Research*. 2002;16(5):497-502.
61. Kamatenesi-Mugisha M, Oryem-Origa H. Medicinal plants used to induce labour during childbirth in western Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;109(1):1-9.
62. Kone WM, Kande B. Qualitative analysis of the pyrrolizidine alkaloids from 11 asteraceae and boraginaceae used in traditional medicine in cote d'Ivoire. *Research Journal of Phytochemistry*. 2012;6(3):75-83.
63. Maobe MAG, Gitu L, Gatebe E, Rotich H, Karanja PN, Votha DM, et al. Antifungal activity of eight selected medicinal herbs used for the treatment of diabetes, malaria and pneumonia in Kisii Region, Southwest Kenya. *World Journal of Medical Sciences*. 2013;8(1):74-8.
64. Maobe MAG, Gitu L, Gatebe E, Rotich H, Karanja PN, Votha DM, et al. Antimicrobial activities of eight selected medicinal herbs used for the treatment of diabetes, malaria and pneumonia in kisii region,southwest Kenya. *Global Journal of Pharmacology*. 2013;7(1):25-33.
65. Mukazayire MJ, Minani V, Ruffo CK, Bizuru E, Stevigny C, Duez P. Traditional phytotherapy remedies used in Southern Rwanda for the treatment of liver diseases. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;138(2):415-31.

66. Arroyo J, Bonilla P, Ráez E, Suárez S, Palomino R, Terán S, et al. Phenolic compounds from *Bidens pilosa* methanolic fraction on induced gastric neoplasia in rats. *An Fac med.* 2007;68(2):105-12.
67. Arroyo J, Bonilla P, Oré R, Ráez E, Marin M, Valencia J, et al. Estudio morfohistológico y efecto quimioprotector de las hojas de *Bidens pilosa* L. sobre el cáncer de colon inducido en ratas. *An Fac med.* 2008;69(2):77-83.
68. Arroyo J, Bonilla P, Ráez E, Barreda A, Huamán O. *Bidens pilosa* chemoprotective effect on induced breast cancer in rats. *An Fac med.* 2010;71(3):153-60.
69. Alarcon-Aguilar FJ, Roman-Ramos R, Flores-Saenz JL, Aguirre-Garcia F. Investigation on the hypoglycaemic effects of extracts of four Mexican medicinal plants in normal and alloxan-diabetic mice. *Phytother Res.* 2002;16(4):383-6.
70. Chang JS, Chiang LC, Chen CC, Liu LT, Wang KC, Lin CC. Antileukemic activity of *Bidens pilosa* L. var. *minor* (Blume) Sherff and *Houttuynia cordata* Thunb. *Am J Chin Med.* 2001;29(2):303-12.
71. Chiang LC, Chang JS, Chen CC, Ng LT, Lin CC. Anti-Herpes simplex virus activity of *Bidens pilosa* and *Houttuynia cordata*. *Am J Chin Med.* 2003;31(3):355-62.
72. Chien S-C, Young PH, Hsu Y-J, Chen C-H, Tien Y-J, Shiu S-Y, et al. Anti-diabetic properties of three common *Bidens pilosa* variants in Taiwan. *Phytochemistry.* 2009;70(10):1246-54.
73. Costa RdJ, Diniz A, Mantovani MS, Jordão BQ. In vitro study of mutagenic potential of *Bidens pilosa* Linné and *Mikania glomerata* Sprengel using the comet and micronucleus assays. *Journal of Ethnopharmacology.* 2008;118(1):86-93.
74. Geissberger P, Séquin U. Constituents of *Bidens pilosa* L.: do the components found so far explain the use of this plant in traditional medicine? *Acta Trop.* 1991;48(4):251-61.
75. Hsu Y-J, Lee T-H, Chang CL-T, Huang Y-T, Yang W-C. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. *Journal of Ethnopharmacology.* 2009;122(2):379-83.
76. Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. Anti-microbial activity of *Bidens pilosa*, *Bischofia javanica*, *Elmerillia papuana* and *Sigesbekia orientalis*. *Fitoterapia.* 2001;72(6):662-5.

77. Lin KH, Yang YY, Yang CM, Huang MY, Lo HF, Liu KC, et al. Antioxidant activity of herbaceous plant extracts protect against hydrogen peroxide-induced DNA damage in human lymphocytes. *BMC Res Notes*. 2013;6:490.
78. Sundararajan P, Dey A, Smith A, Doss AG, Rajappan M, Natarajan S. Studies of anticancer and antipyretic activity of *Bidens pilosa* whole plant. *Afr Health Sci*. 62006. p. 27-30.
79. Wu J, Wan Z, Yi J, Wu Y, Peng W. Investigation of the extracts from *Bidens pilosa* Linn. var. *radiata* Sch. Bip. for antioxidant activities and cytotoxicity against human tumor cells. *J Nat Med*. 2013;67(1):17-26.
80. Yang QH, Yang J, Liu GZ, Wang L, Zhu TC, Gao HL, et al. Study on in vitro anti-tumor activity of *Bidens bipinnata* L. extract. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2013;10(3):543-9.
81. Yang H-L, Chen S-C, Chang N-W, Chang J-M, Lee M-L, Tsai P-C, et al. Protection from oxidative damage using *Bidens pilosa* extracts in normal human erythrocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 2006;44(9):1513-21.
82. Yang X-W, Huang M-Z, Jin Y-S, Sun L-N, Song Y, Chen H-S. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*. 2012;83(7):1169-75.
83. Zhu LH, Qin RY, Guo HM, Ding XL, Guan XL, Liu SS, et al. The inhibitory effect of *Bidens bipinnata* L. extract on U14 tumour in mice. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2013;10(4):66-9.
84. Cortés-Rojas DF, Oliveira WP. Physicochemical Properties of Phytopharmaceutical Preparations as Affected by Drying Methods and Carriers. *Drying Technology*. 2012;30(9):921-34.
85. Cortés-Rojas DF, Souza CRF, Oliveira WP. Optimisation of the extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from aerial parts of *Bidens pilosa* L. using response surface methodology. *International Journal of Food Science and Technology*. 2011;46(11):2420-7.
86. Joshi AR, Joshi K. Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;73(1-2):175-83.
87. Katerere DR, Graziani G, Thembo KM, Nyazema NZ, Ritieni A. Antioxidant activity of some African medicinal and dietary leafy African vegetables. *African Journal of Biotechnology*. 2012;11(17):4103-8.

88. Piero NM, Joan NM, Cromwell KM, Joseph NJ, Eliud NN, Wilson NM, et al. Herbal management of diabetes mellitus: A rapidly expanding research avenue. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2012;4(2):1-4.
89. Ramirez G, Zavala M, Perez J, Zamilpa A. In vitro screening of medicinal plants used in Mexico as antidiabetics with glucosidase and lipase inhibitory activities. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2012.
90. Garcia CS, Ueda SMY, Mimica LMJ. Avaliação da atividade antibacteriana in vitro de extratos hidroetanólicos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2011;70(4):589-98.
91. Alvarez A, Pomar F, Sevilla, Montero MJ. Gastric antisecretory and antiulcer activities of an ethanolic extract of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. *J Ethnopharmacol*. 1999;67(3):333-40.
92. Horiuchi M, Wachi H, Seyama Y. Effects of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff on experimental gastric lesion. *J Nat Med*. 2010;64(4):430-5.
93. Kwiecinski MR, Felipe KB, Correia JFG, Ferreira EA, Rossi MH, Gatti FM, et al. Brazilian *Bidens pilosa* linne yields fraction containing quercetin-derived flavonoid with free radical scavenger activity and hepatoprotective effects. *Libyan Journal of Medicine*. 2011;6(1):1-8.
94. Kwiecinski MR, Felipe KB, Schoenfelder T, de Lemos Wiese LP, Rossi MH, Gonçalves E, et al. Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008;117(1):69-75.
95. Nakama S, Ishikawa C, Nakachi S, Mori N. Anti-adult T-cell leukemia effects of *Bidens pilosa*. *Int J Oncol*. 2011;38(4):1163-73.
96. Yoshida N, Kanekura T, Higashi Y, Kanzaki T. *Bidens pilosa* suppresses interleukin-1(beta)-induced cyclooxygenase-2 expression through the inhibition of mitogen activated protein kinases phosphorylation in normal human dermal fibroblasts. *Journal of Dermatology*. 2006;33(10):676-83.
97. Abajo C, Angeles Boffill M, Del Campo J, Alexandra Mendez M, Gonzalez Y, Mitjans M, et al. In vitro study of the antioxidant and immunomodulatory activity of aqueous infusion of *Bidens pilosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;93(2-3):319-23.
98. Nikolajsen T, Nielsen F, Rasch V, Sorensen PH, Ismail F, Kristiansen U, et al. Uterine contraction induced by Tanzanian plants used to induce abortion. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;137(1):921-5.

99. Andrade-Neto VF, Brandao MGL, Oliveira FQ, Casali VWD, Njaine B, Zalis MG, et al. Antimalarial activity of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) ethanol extracts from wild plants collected in various localities or plants cultivated in humus soil. *Phytotherapy Research*. 2004;18(8):634-9.
100. Oliveira FQ, Andrade-Neto V, Krettli AU, Brandão MG. New evidences of antimalarial activity of *Bidens pilosa* roots extract correlated with polyacetylene and flavonoids. *J Ethnopharmacol*. 2004;93(1):39-42.
101. Ashafa A, Afolayan A. Screening the root extracts from *Biden pilosa* L. var. *radiata* (Asteraceae) for antimicrobial potentials. 2009;3(8):568-72.
102. Cunha e Silva S, Gualberto S, Macedo G, Silveira T, Silva D. Plantas medicinais usadas pela comunidade do povoado de Laços (Tanhaçu/Bahia) e encontradas na floresta nacional contendas do Sincorá. *Revista Caatinga*. 2012;25(3):130-6.
103. Chipurura B, Muchuweti M, Parawira W, Kasiyamhuru A. An assessment of the phenolic content, composition and antioxidant capacity of *Bidens pilosa*, *Cleome gynandra*, *Corchorus olitorius*, *Galinsoga parviflora* and *Amaranthus hybridus*. 2011. p. 417-26.
104. Chipurura B, Muchuweti M, Bhebhe M. An assessment of the phenolic content, composition and antioxidant capacity of selected indigenous vegetables of Zimbabwe. 2013. p. 611-20.
105. Aguiar GP, Melo NI, Wakabayashi KAL, Lopes MHS, Mantovani ALL, Dias HJ, et al. Chemical composition and in vitro schistosomicidal activity of the essential oil from the flowers of *Bidens sulphurea* (Asteraceae). *Natural Product Research*. 2013;27(10):920-4.
106. Minami PS, Oliveira Fd. Atividade antifúngica de *Bidens pilosa* L. *Revista brasileira de farmacognosia*. 1986;1(2):118-22.
107. Martínez Fernández C, García Gutiérrez M, Santana Machado AT, Bermúdez Alemán R. Efecto cicatrizante del extracto fluido de Romerillo (*Bidens Alba* Linné). *Medicentro (Villa Clara)*. 2003;7(4).
108. Albertasse PD, Thomaz LD, Andrade MA. Medicinal plants and their uses in Barra do Jucu community, Vila Velha Municipality, Espírito Santo State, Brazil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2010;12(3):250-60.
109. Embrapa. panorama.cnpms.embrapa.br/plantas-daninhas/identificacao/folhas-largas/picao-preto-bidens-pilosa. 2014.

110. Julio PGS, Oliveira DMT. Morfoanatomia comparada e ontogênese do pericarpo de *Bidens gardneri* Baker e *B. pilosa* L. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Botânica*. 2009;32(1):109-16.
111. Lastra Valdés HA, De León Rego HP. *Bidens pilosa* Linné. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2001;6(1):28-33.
112. Duarte M, Estelita M. Caracteres anatômicos de *Bidens pilosa* L., Asteraceae. *Hoehnea*. 1999;26:15-27.
113. Sánchez Govín E, Leal López IM, Carballo Guerra C, Chávez Figueredo D, Chalala Vázquez M, Rodríguez Ferradá CA. Caracterización y conservación de *Bidens alba*. (L.) DC. var. *radiata* (Sch. Bip.) Ballard. *Rev cuba plantas med*. 2003;8(3).
114. WHO. WHO monographs on selected medicinal plants. Geneva, Switzerland.: World Health Organization; 2002.
115. BRASIL. Farmacopéia brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Vol. 1. 5 ed. Brasília.2010.
116. BRASIL. Farmacopéia brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Vol. 2. 5 ed. Brasília.2010.
117. WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2011.
118. BRASIL. Farmacopéia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 1988.
119. USA. United States Pharmacopeial Convention. Rockville2005.
120. BRITISH. Pharmacopeia. Her Majesty's Stationery Office. London2005.
121. Jena V, Gupta S. Study of Heavy Metal Distribution in Medicinal Plant Basil. *Environmental and analytical toxicology*. 2013;2(61).
122. Sun Y, Zhou Q, Wang L, Liu W. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Bidens pilosa* L. as a potential Cd-hyperaccumulator. *Journal of Hazardous Materials*. 2009;161(2-3):808-14.

123. Sun YB, Zhou QX, Liu WT, An J, Xu ZQ, Wang L. Joint effects of arsenic and cadmium on plant growth and metal bioaccumulation: a potential Cd-hyperaccumulator and As-excluder *Bidens pilosa* L. *J Hazard Mater*. 2009;165(1-3):1023-8.
124. Odhav B, Beekrum S, Akula U, Baijnath H. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2007;20(5):430-5.
125. Peter O, Magiri E, Auma J, Magoma G, Imbuga M, Murilla G. Evaluation of in vivo antitrypanosomal activity of selected medicinal plant extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2009;3(11):849-54.
126. Lee WC, Peng CC, Chang CH, Huang SH, Chyau CC. Extraction of antioxidant components from *Bidens pilosa* flowers and their uptake by human intestinal Caco-2 cells. *Molecules*. 2013;18(2):1582-601.
127. Lacroix D, Prado S, Kamoga D, Kasenene J, Namukobe J, Krief S, et al. Antiplasmodial and cytotoxic activities of medicinal plants traditionally used in the village of Kiohima, Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;133(2):850-5.
128. Kamatenesi-Mugisha M, Makawiti DW, Oryem-Origa H, Olwa O, Nganga J. The oxytocic properties of *Luffa cylindrica* (L.) M. Roem. and *Bidens pilosa* L., traditionally used medicinal plants from western Uganda. *African Journal of Ecology*. 2007;45(3):88-93.
129. Yan B, Chen FH, Wu FR, Hu W, Yuan LP, Li J. Therapeutic effects of total flavones of *Bidens bipinnata* L (TFB) on liver fibrosis in rats and its mechanisms. *Chinese Pharmacological Bulletin*. 2008;24(12):1640-5.
130. Mathur A, Bhat R, Prasad GBKS, Dua VK, Verma SK, Agarwal PK. Antimicrobial activity of plants traditionally used as medicines against some pathogens. *Rasayan Journal of Chemistry*. 2010;3(4):615-20.
131. Brandão MG, Krettli AU, Soares LS, Nery CG, Marinuzzi HC. Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. *J Ethnopharmacol*. 1997;57(2):131-8.
132. Brito Sd, Barber Fox MO, Barber Gutiérrez E. Volemia y excreción urinaria en ratas hipertensas tratadas con nifedipina o diuréticos. *Rev cuba invest bioméd*. 2001;20(2):99-103.
133. Cortes-Rojas DF, Chagas-Paula DA, Da Costa FB, Souza CRF, Oliveira WP. Bioactive compounds in *Bidens pilosa* L. populations: A key step in the standardization of phytopharmaceutical preparations. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2013;23(1):28-35.

134. Cortés-Rojas DF. Extratos secos padronizados de *Bidens pilosa* L.: desenvolvimento tecnológico e avaliação da atividade biológica: Universidade de São Paulo/ Ribeirão Preto; 2011.
135. Chavasco JM, Prado E, Felipe BH, Cerdeira CD, Leandro FD, Coelho LF, da Silva JJ, et al. Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from southern Minas Gerais cerrado. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2014;56(1):13-20.
136. Yang WC. Botanical, Pharmacological, Phytochemical, and Toxicological Aspects of the Antidiabetic Plant *Bidens pilosa* L. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;14.
137. Aguiar GP, Carvalho CE, Dias HJ, Reis EB, Martins MHG, Wakabayashi KAL, et al. Antimicrobial activity of selected essential oils against cariogenic bacteria. *Natural Product Research*. 2013;27(18):1668-72.
138. Fapesp P. <http://revistapesquisa.fapesp.br/2011/12/26/beleza-retocada/>: Fapesp; 2011 [cited 2014 19/10/2014].
139. Chemical-Structure. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6086.html> 2014 [cited 2014 20/10/2014].
140. Bartolome AP, Villasenor IM, Yang WC. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;1-51.
141. Silva FL, Fischer DC, Tavares JF, Silva MS, de Athayde-Filho PF, Barbosa-Filho JM. Compilation of secondary metabolites from *Bidens pilosa* L. *Molecules*. 2011;16(2):1070-102.
142. Luchesi BM, Beretta MIR, Dupas G. Conhecimento e uso de tratamentos alternativos para icterícia neonatal. *Cogitare enferm*. 2010;15(3):506-12.
143. De Medeiros PM, Ladio AH, Albuquerque UP. Patterns of medicinal plant use by inhabitants of Brazilian urban and rural areas: A macroscale investigation based on available literature. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;150(2):729-46.
144. De-la-Cruz H, Vilcapoma G, Zevallos PA. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;111(2):284-94.

145. Garlet TMB, Irgang BE. Medicinal plants used by rural women workers in Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brazil. *Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil*. 2001;4(1):9-18.
146. Kareru PG, Kenji GM, Gachanja AN, Keriko JM, Mungai G. Traditional medicines among the Embu and Mbeere peoples of Kenya. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2007;4(1):75-86.
147. Rodrigues ACC, Guedes MLS. The use of medicinal plants at Sapucaia Village, Municipality of Cruz das Almas, Bahia State, Brazil. *Utilização de plantas medicinais no Povoado Sapucaia, Cruz das Almas - Bahia*. 2006;8(2):1-7.
148. Ahmad FB, Holdsworth DK. Medicinal plants of Sabah, East Malaysia - Part I. *Pharmaceutical Biology*. 2003;41(5):340-6.
149. Gruber CW, O'Brien M. Uterotonic plants and their bioactive constituents. *Planta Medica*. 2011;77(3):207-20.
150. Medeiros PMd, Ladio AH, Albuquerque UP. Patterns of medicinal plant use by inhabitants of Brazilian urban and rural areas: A macroscale investigation based on available literature. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;150(2):729-46.
151. Shah BN, Seth AK, Maheshwari KM. A review on medicinal plants as a source of anti-inflammatory agents. *Research Journal of Medicinal Plant*. 2011;5(2):101-15.
152. Steenkamp V. Phytomedicines for the prostate. *Fitoterapia*. 2003;74(6):545-52.
153. ANVISA. Resolução - RDC N. 10, de 9 de março de 2010. Brasil; 2010.
154. Gupta Me. 270 Plantas medicinales Iberoamericanas. Bogotá: Cyted-Secab; 1995. 617 p.
155. FITOTERÁPICO MT. Farmácia verde: Ipatinga; 2000.
156. Simões C, Mentz L, Schenkel E, Irgang B, Stehmann J. Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. 5 ed. Rio Grande do Sul: Editora da Universidade UFRGS; 1998.
157. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Argentina 2004.

158. Kumar G P, Kumar R, Badere R, Singh SB. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extracts from trans Himalayan medicinal plants. *Pharmacognosy Journal*. 2010;2(17):66-9.
159. Muchuweti M, Mupure C, Ndhlala A, Murenje T, Benhura MAN. Screening of antioxidant and radical scavenging activity of *Vigna unguiculata*, *Bidens pilosa* and *Cleome gynandra*. *American Journal of Food Technology*. 2007;2(3):161-8.
160. Balangcod TD, Vallejo VL, Patacsil M, Apostol O, Laruan LMVA, Manuel J, et al. Phytochemical screening and antibacterial activity of selected medicinal plants of Bayabas, Sablan, Benguet Province, Cordillera administrative region, Luzon, Philippines. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 2012;11(4):580-5.
161. Cristóbal-Alejo J, Tun-Suárez JM, Moguel-Catzín S, Marbán-Mendoza N, Medina-Baizabal L, Simá-Polanco P, et al. In vitro sensitivity of *Meloidogyne incognita* to extracts from native Yucatecan plants. *Nematropica*. 2006;36(1):89-97.
162. Alvarez Avalos A, Robaina Y, Sánchez E, Cuevas Guerrero M. Efecto antiulceroso de una solución viscosa oral a partir de un extracto de *bidens pilosa* L. (romerillo) en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 1996;1(1):25-9.
163. ANVISA. Consulta pública n. 73, de 16 de julho de 2010. Brasil: Diário Oficial da União, Seção 1; 2010. p. 40.
164. ANVISA. Consolidado de normas da COFID (Versão IV) Brasília-DF: http://www.crfce.org.br/novo/images/stories/pdf/fitoterapicos_consolidado_legisl.pdf; 2013 [cited 2014 13/10/2014].
165. Mudzviti T, Maponga CC, Khoza S, Ma Q, Morse GD. The Impact of Herbal Drug Use on Adverse Drug Reaction Profiles of Patients on Antiretroviral Therapy in Zimbabwe. *AIDS Research and Treatment*. 2012.