

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Harpagophytum procumbens* DC. ex
Meissn. (“GARRA-DO-DIABO”)

Organização: Ministério da Saúde e Anvisa

Fonte do Recurso: Ação 20K5 (DAF/ SCTIE/ MS)/2012

Brasília

2015

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – <i>Harpagophytum procumbens</i> | 10 |
| Figura 2 – Distribuição de <i>Harpagophytum procumbens</i> , <i>Harpagophytum zeyheri</i> e de suas sub-espécies | 11 |
| Figura 3 – Estrutura das raízes escavadas de <i>H. procumbens</i> | 12 |
| Figura 4 – Droga vegetal de <i>H. procumbens</i> em forma de leques (à esquerda) e discos (à direita)..... | 13 |
| Figura 5 – Cromatograma obtido por CCDAE da solução metanólica dos grânulos da superfície da droga vegetal de <i>H. procumbens</i> | 14 |
| Figura 6 – Ilustração das características microscópicas observadas no pó da droga vegetal de <i>H. procumbens</i> | 17 |
| Figura 7 – Diferenciação morfológica entre <i>H. procumbens</i> e seu possível adulterante <i>H. zeyheri</i> | 18 |
| Figura 8 – Diferenciação macroscópica entre as raízes de <i>H. procumbens</i> e seus possíveis adulterantes | 19 |
| Figura 9 – Cromatograma por CLAE a 278 nm dos harpagosídeos iridóides e outros compostos de <i>H. procumbens</i> | 34 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|-----|
| Quadro 1 – Condições cromatográficas utilizadas nos testes de identificação da droga vegetal de <i>H. procumbens</i> por cromatografia em camada delgada (CCD)..... | 25 |
| Quadro 2 – Estrutura química dos principais iridóides glicosilados descritos nas raízes da espécie <i>H. procumbens</i> | 26 |
| Quadro 3 – Condições cromatográficas utilizadas para análise qualitativa e/ou quantitativa da droga vegetal de <i>H. procumbens</i> por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) | 30 |
| Quadro 4 – Condições cromatográficas utilizadas para análise qualitativa e/ou quantitativa de derivados e formas farmacêuticas de <i>H. procumbens</i> por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)..... | 35 |
| Quadro 5 – Características de <i>H. procumbens</i> no anexo da RDC 10/2010..... | 40 |
| Quadro 6 – Características de <i>H. procumbens</i> constante na IN 02/2014 | 40 |
| Quadro 7 – Estudos de toxicologia aguda <i>in vivo</i> da espécie <i>H. procumbens</i> | 42 |
| Quadro 8 – Estudos de toxicologia subcrônica <i>in vivo</i> da espécie <i>H. procumbens</i> | 45 |
| Quadro 9 – Estudos de toxicologia subcrônica <i>in vivo</i> da espécie <i>H. procumbens</i> | 46 |
| Quadro 10 – Estudos <i>in vitro</i> de atividade farmacológica pré-clínica da espécie <i>H. procumbens</i> | 65 |
| Quadro 11 – Estudos <i>in vivo</i> de atividade farmacológica pré-clínica da espécie <i>H. procumbens</i> | 84 |
| Quadro 12 – Estudos <i>ex vivo</i> de atividade farmacológica pré-clínica da espécie <i>H. procumbens</i> | 93 |
| Quadro 13 – Estudos clínicos de Fase I realizados com <i>H. procumbens</i> | 100 |
| Quadro 14 – Estudos clínicos de Fase II realizados com <i>H. procumbens</i> | 106 |
| Quadro 15 – Estudos clínicos de Fase III realizados com <i>H. procumbens</i> | 109 |
| Quadro 16 – Estudos clínicos de Fase IV realizados com <i>H. procumbens</i> | 111 |
| Quadro 17 – Estudos observacionais realizados com <i>H. procumbens</i> | 116 |
| Quadro 18 – Medicamentos fitoterápicos registrados na ANVISA com o nome do princípio ativo <i>Harpagophytum procumbens</i> DC..... | 125 |
| Quadro 19 – Medicamentos fitoterápicos registrados na ANVISA com o nome do princípio ativo <i>Harpagophytum procumbens</i> (Burch) DC. EX Meissn..... | 125 |
| Quadro 20 – Depósito de patente para a espécie <i>H. procumbens</i> no INPI..... | 127 |

| | |
|--|-----|
| Quadro 21 – Principais depósitos de patente para a espécie <i>H. procumbens</i> no European Patent Office..... | 129 |
|--|-----|

ABREVIATURAS

| | |
|------------------|--|
| AAS | Ácido acetilsalicílico |
| ADP | Adenosina difosfato |
| AINE | Anti-inflamatório não-esterooidal |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| BCL | Biculina |
| cDNA | DNA complementar |
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| CCDAE | Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência |
| CHO | Células de ovário de hamster chinês |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| CLAE-DAD | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de diodos |
| CLAE-IES-EM | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas |
| CLAE-UV | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção no Ultra-violeta |
| CL-EM | Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas |
| C _{max} | Pico de concentração plasmática |
| COX-1 | Ciclooxigenase-1 |
| COX-2 | Ciclooxigenase-2 |
| DL50 | Dose letal mediana |
| DMSO | Dimetilsufóxido |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picril-hidrazila |
| EA | Eventos adversos |
| EC50 | Concentração efetiva mediana |
| ERK | Proteína quinase regulada por sinal extracelular |
| IC50 | Concentração inibitória mediana |
| IG | Infusão intragástrica |
| IL-1 β | Interleucina-1 β |

| | |
|------------------|--|
| IL-6 | Interleucina-6 |
| IL-8 | Interleucina-8 |
| iNOS | Óxido nítrico sintetase indúzível |
| INPI | Instituto Nacional de Propriedade Intelectual |
| LPS | Lipopolissacarídeo bacteriano |
| MBC | Concentração mínima bactericida |
| MCF10A | Células de câncer de mama 10A |
| MIC | Concentração mínima inibitória |
| MPO | Mieloperoxidase |
| mRNA | RNA mensageiro |
| MTT | 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil brometo de tetrazolina |
| NF-κB | Fator nuclear κB |
| NO | Óxido nítrico |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PCT | Picrotoxina |
| PEG | Polietilenoglicol |
| PGE ₂ | Prostaglandina E ₂ |
| PMA | Forbol 12-miristato 13-acetato |
| PRP | Plasma rico em plaquetas |
| PTZ | Pentilenotetrazol |
| PXR | Receptor pregnano X |
| r ² | Coefficiente de determinação |
| R _f | Fator de retenção |
| RMN | Ressonância nuclear magnética |
| RT-PCR | Reação em cadeia da polimerase em tempo real |
| t _{1/2} | Tempo de meia-vida plasmática |
| t-BHP | Tert-butil hidroperóxido |
| TGI | Trato gastrointestinal |
| TLR-4 | Receptor <i>toll-like</i> 4 |
| TNF-α | Fator de necrose tumoral α |
| TPA | 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato |
| t _R | Tempo de retenção |
| TXA ₂ | Tromboxano A ₂ |

| | |
|-------|---|
| UV | Ultravioleta |
| VAS | Escala analógica visual |
| V.O. | Via oral |
| V.T. | Via tópica |
| WOMAC | Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index |
| 5-LO | 5-lipoxigenase |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 IDENTIFICAÇÃO | 9 |
| 1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA | 9 |
| 1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA | 9 |
| 1.3 FAMÍLIA | 9 |
| 1.4 FOTO DA PLANTA | 10 |
| 1.5 NOMENCLATURA POPULAR | 10 |
| 1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA | 10 |
| 1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS | 11 |
| 2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS..... | 12 |
| 2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL | 12 |
| 2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA | 13 |
| 2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA | 14 |
| 2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES | 18 |
| 3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE | 20 |
| 3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL | 20 |
| 3.1.1 Caracteres organolépticos..... | 20 |
| 3.1.2 Requisitos de pureza..... | 20 |
| 3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns | 20 |
| 3.1.2.2 Microbiológico | 21 |
| 3.1.2.3 Teor de umidade | 21 |
| 3.1.2.4 Metal pesado..... | 21 |
| 3.1.2.5 Resíduos químicos..... | 21 |
| 3.1.2.6 Cinzas | 21 |
| 3.1.3 Granulometria..... | 22 |
| 3.1.4 Prospecção fitoquímica..... | 23 |
| 3.1.5 Testes físico-químicos | 23 |
| 3.1.6 Testes de identificação | 23 |
| 3.1.7 Testes de quantificação..... | 26 |
| 3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não | 26 |
| 3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade | 31 |
| 3.2 DERIVADO VEGETAL..... | 31 |
| 3.2.1 Descrição | 31 |
| 3.2.2 Método de obtenção..... | 31 |
| 3.2.3 Caracteres organolépticos..... | 32 |
| 3.2.4 Requisitos de pureza..... | 32 |
| 3.2.4.1 Perfil de contaminantes comuns | 32 |
| 3.2.4.2 Microbiológico | 32 |
| 3.2.4.3 Teor de umidade | 32 |
| 3.2.4.4 Metal pesado..... | 32 |
| 3.2.4.5 Resíduos químicos..... | 32 |
| 3.2.5 Testes físico-químicos | 33 |
| 3.2.6 Prospecção fitoquímica..... | 33 |

| | |
|--|-----|
| 3.2.7 Testes de identificação | 33 |
| 3.2.8 Testes de quantificação..... | 36 |
| 3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não | 36 |
| 3.3 PRODUTO FINAL | 37 |
| 3.3.1 Forma farmacêutica | 37 |
| 3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica..... | 37 |
| 3.3.3 Requisitos de pureza | 37 |
| 3.3.4 Resíduos químicos..... | 38 |
| 3.3.5 Prospecção fitoquímica..... | 38 |
| 3.3.6 Testes de identificação | 38 |
| 3.3.7 Testes de quantificação..... | 38 |
| 3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não | 38 |
| 4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA..... | 39 |
| 4.1 USOS POPULARES E/OU TRADICIONAIS | 39 |
| 4.2 PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS | 39 |
| 4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS..... | 41 |
| 4.3.1 Estudos toxicológicos | 41 |
| 4.3.1.1 Toxicidade aguda..... | 41 |
| 4.3.1.2 Toxicidade subcrônica | 43 |
| 4.3.1.3 Toxicidade crônica | 46 |
| 4.3.1.4 Genotoxicidade | 47 |
| 4.3.1.5 Sensibilização dérmica | 47 |
| 4.3.1.6 Irritação cutânea | 47 |
| 4.3.1.7 Irritação ocular..... | 47 |
| 4.3.1.8 Toxicidade reprodutiva..... | 47 |
| 4.3.2 Estudos farmacológicos..... | 48 |
| 4.3.2.1 Ensaio in vitro | 48 |
| 4.3.2.2 Ensaio in vivo | 69 |
| 4.3.2.2.1 Atividade anti-inflamatória e analgésica | 85 |
| 4.3.2.2.2 Outras atividades..... | 87 |
| 4.3.2.3 Ensaio ex vivo..... | 88 |
| 4.4 ESTUDOS CLÍNICOS..... | 95 |
| 4.4.1 Fase I | 99 |
| 4.4.2 Fase II | 102 |
| 4.4.3 Fase III..... | 107 |
| 4.4.4 Fase IV..... | 110 |
| 4.4.5 Estudos observacionais..... | 111 |
| 4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO..... | 117 |
| 4.5.1 Vias de Administração | 119 |
| 4.5.2 Dose Diária | 119 |
| 4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo) | 119 |
| 4.5.4 Período de Utilização..... | 120 |
| 4.5.5 Contra Indicações | 120 |
| 4.5.6 Grupos de Risco | 121 |
| 4.5.7 Precauções de Uso | 121 |
| 4.5.8 Efeitos Adversos Relatados | 121 |
| 4.5.9 Interações Medicamentosas..... | 122 |

| | | |
|----------|--|-----|
| 4.5.9.1 | Descritas | 122 |
| 4.5.9.2 | Potenciais..... | 122 |
| 4.5.10 | Informações de Superdosagem..... | 123 |
| 4.5.10.1 | Descrição do quadro clínico | 123 |
| 4.5.10.2 | Ações a serem tomadas..... | 123 |
| 5 | INFORMAÇÕES GERAIS | 123 |
| 5.1 | FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA | 123 |
| 5.2 | PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS | 124 |
| 5.3 | EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO | 126 |
| 5.4 | ROTULAGEM | 126 |
| 5.5 | MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS | 126 |
| 5.6 | PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL | 127 |
| 5.7 | DIVERSOS..... | 129 |
| | REFERÊNCIAS | 131 |

1 IDENTIFICAÇÃO

1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA

A nomenclatura botânica aceita para a espécie é *Harpagophytum procumbens* DC. e/ou *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meisn (1-5).

1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA

Nas principais bases de dados de informações e nomenclatura botânica não foram detectados sinônimos botânicos para a espécie (1, 5). Porém, a espécie *H. procumbens* é composta de duas sub-espécies: *Harpagophytum procumbens* subsp. *procumbens* DC. Ex Meisn e *Harpagophytum procumbens* subsp. *transvaalense* Ihlenf. & H. Hartmann (5-6).

1.3 FAMÍLIA

Pedaliaceae (1, 5).

1.4 FOTO DA PLANTA

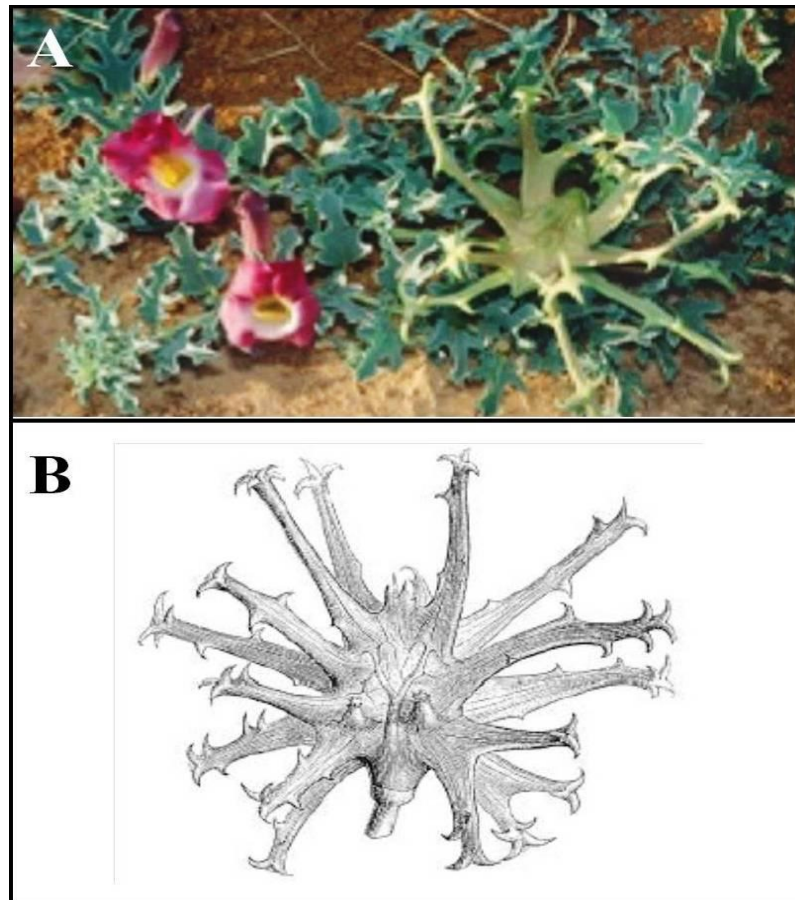


Figura 1 – *Harpagophytum procumbens* A: aspecto geral da planta. B: detalhe do fruto, que é provido de barbas semelhantes a garras, o que inclusive dá o nome popular da espécie (“garra-do-diabo”). Fonte: adaptado da referência (7).

1.5 NOMENCLATURA POPULAR

No Brasil, a espécie *H. procumbens* é conhecida popularmente como “garra-do-diabo” e/ou “unha-do-diabo”, nomes dados em função do aspecto ramoso e lenhoso do fruto, provido de barbas semelhantes a garras (Figura 1) (8-9). A raiz da espécie é comumente comercializada sob o nome farmacêutico de *Harpagophyti radix* (6).

1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

H. procumbens é uma planta herbácea perene originária do deserto de Kalahri, das estepes da Namíbia, Botswana e África do Sul, não sendo, portanto, uma planta nativa do

Brasil. Além disso, não são encontrados relatos de ocorrência da espécie no Brasil (8, 10). A espécie ocorre entre as latitudes 15 e 30° em Namíbia, Botswana, África do Sul, Angola e, em menor proporção, em Zâmbia, Zimbábue e Moçambique (Figura 2) (6). A planta cresce tipicamente em áreas de baixa precipitação anual (150-500 mm/ano) tais como solos arenos vermelhos do Deserto de Kalahari. A abundância e a visibilidade da planta dependem fortemente da precipitação. A espécie é mais abundante em áreas abertas e desgastadas, já que não compete bem com gramíneas e tem uma distribuição agregada (6, 9).

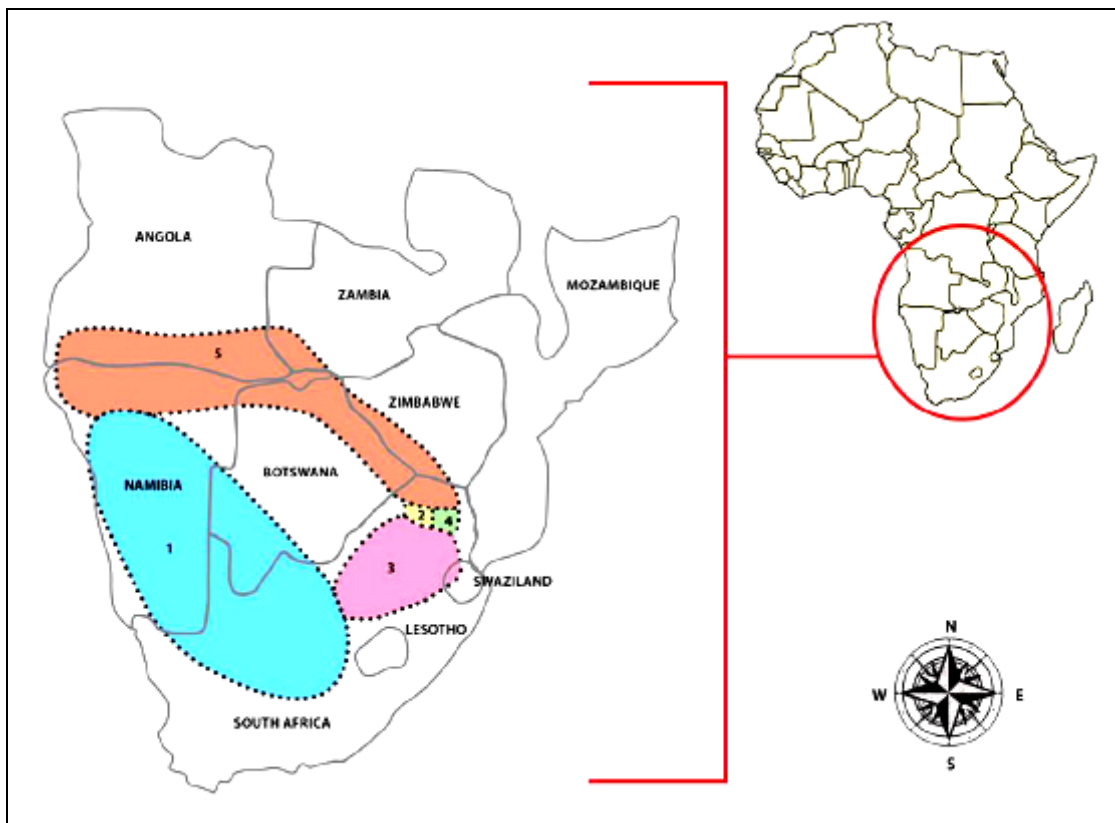


Figura 2 – Distribuição de *Harpagophytum procumbens*, *Harpagophytum zeyheri* e de suas sub-espécies. 1 - *H. procumbens* subsp. *procumbens*; 2 - *H. procumbens* subsp. *transvaalense*; 3 - *H. zeyheri* subsp. *zeyheri*; 4 - *H. zeyheri* subsp. *schijffii*; 5 - *H. zeyheri* spp. *sublobatum*. Fonte: adaptado da referência (9).

1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS

“Garra-do-diabo” é um nome comum a duas espécies do gênero *Harpagophytum*: *Harpagophytum procumbens* e *Harpagophytum zeyheri* (6). *H. procumbens* é composta de duas subespécies: *Harpagophytum procumbens* subsp. *procumbens* DC. Ex Meisn e *Harpagophytum procumbens* subsp. *transvaalense* Ihlenf. & H. Hartmann. *H. zeyheri* é

composta de três subespécies: *Harpagophytum zeyheri* Decne. subsp. *zeyheri*, *Harpagophytum zeyheri* subsp. *schijffii* Ihlenf. & H. Hartm. e *Harpagophytum zeyheri* subsp. *sublobatum* (Engl.) Ihlenf. & H. Hartm.

2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL

Apesar do nome popular da planta ser derivado da aparência dos frutos, as propriedades medicinais são derivadas das raízes secundárias (6, 9, 11). As raízes são cortadas em seções e subsequentemente secas antes de serem utilizadas terapeuticamente (8). O farmacógeno da espécie *H. procumbens* é, mais especificamente, as raízes tuberosas secundárias (Figura 3), secas e cortadas (3, 6, 8-9, 11-13). As raízes tuberosas secundárias de *H. procumbens* contêm aproximadamente duas vezes maior quantidade de harpagosídeo que a raiz primária (14).

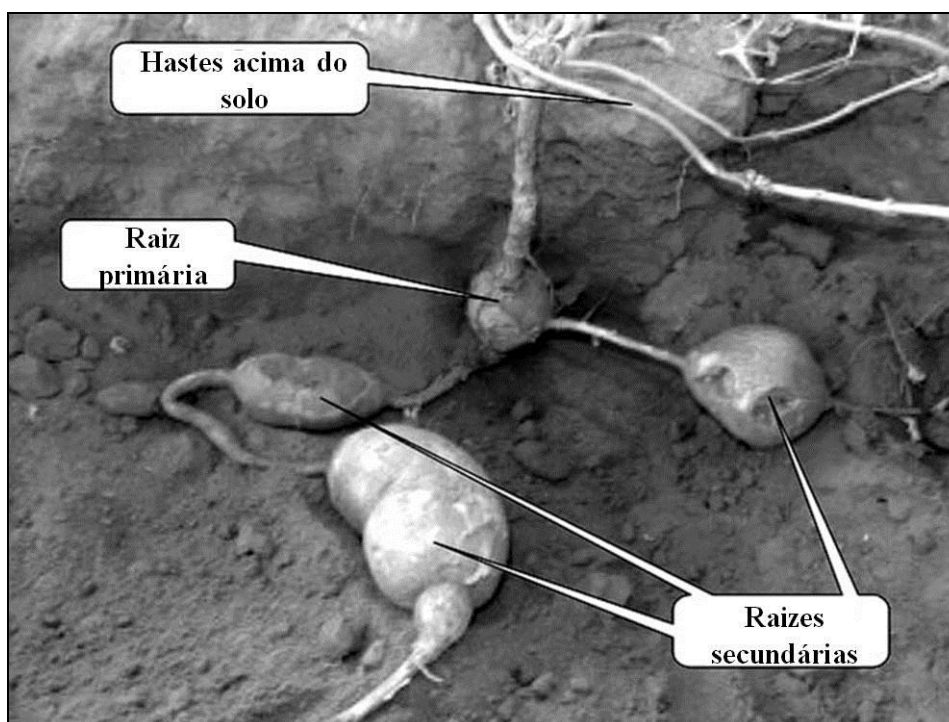


Figura 3 – Estrutura das raízes escavadas de *H. procumbens*. Fonte: adaptado da referência (6).

2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

As raízes primárias apresentam profundidade no solo de até 2 metros, juntamente com as raízes secundárias, espalhando-se até 1,5 metros sobre todos os lados, o que favorece a conservação de água (15). As raízes tuberosas secundárias são grossas, de 6 até 20 cm de comprimento, com diâmetro de 6 cm e pesam até 500 g (16).

A droga vegetal consiste em fatias em formato de discos ou leques (Figura 4) com 2-4 cm e, por vezes, até 6 cm de diâmetro, com 2-5 mm de espessura, de coloração marrom acinzentado a marrom escuro. As superfícies externas são mais escuras e apresentam rugas longitudinais tortuosas. A superfície cortada, de coloração mais pálida, apresenta uma região escura e feixes de xilema visivelmente alinhados radialmente. O cilindro central apresenta estrias concêntricas. Visto sob uma lente, a superfície de corte apresenta grânulos de coloração amarela a vermelho-alaranjada, longitudinalmente enrugados (3). Tais grânulos, quando observados com o auxílio de um estereomicroscópio (x40), aparecem como uma superfície brilhante de cor castanho-avermelhada ou com uma granulação fina amarelo-pálida (17). Tais grânulos que podem ser retirados da superfície da droga vegetal são parcialmente solúveis em metanol e a sua solução metanólica fornece um espectro de ultravioleta (UV) com absorvância máxima em 280 nm (17). No cromatograma da solução metanólica obtido por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE) (Figura 5) em gel de sílica 60, utilizando como fase móvel: acetato de etila: metanol: água (75:15:8, v/v/v), podem ser observadas duas manchas, correspondentes ao harpagosídeo e harpagida (17).

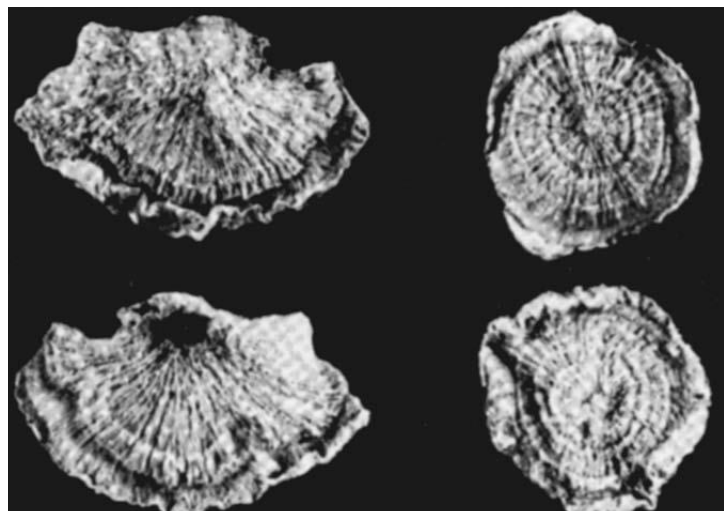


Figura 4 – Droga vegetal de *H. procumbens* em forma de leques (à esquerda) e discos (à direita). Fonte: adaptado da referência (17).

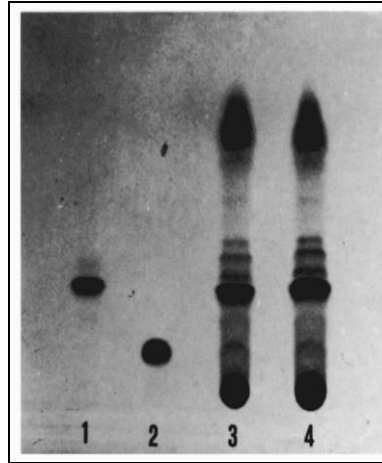


Figura 5 – Cromatograma obtido por CCDAE da solução metanólica dos grânulos da superfície da droga vegetal de *H. procumbens*. 1 - Harpagosídeo, 2 - harpagida, 3 - solução metanólica de material granular superficial de *H. procumbens* menos concentrado, 4 - solução metanólica de material granular superficial de *H. procumbens* mais concentrado. Fonte: adaptado da referência (17).

Segundo a descrição constante na British Herbal Pharmacopoeia (1996) (18), as raízes são cortadas transversalmente na forma de discos, alguns pedaços apresentam-se na forma de leque, com até 6 cm de diâmetro e aproximadamente 0,5 mm de espessura. A coloração da superfície externa varia de amarelo a marrom escuro, com estriações longitudinais. O xilema é irradiado, concêntrico, de coloração cinza claro amarronzado, podendo apresentar cavidades. Apresenta fratura curta, odor fraco e sabor fortemente amargo e adstringente. Visualizado sob lentes, a superfície cortada apresenta grânulos de coloração de amarelo a marrom escuro (18).

Um estudo botânico e químico foi conduzido visando a obtenção de ferramentas de diagnóstico padrão para a drogas vegetais de *H. procumbens*, no qual foram observados os caracteres descritos a seguir. A droga vegetal é composta de raízes secundárias tuberizadas cortadas e secas de *H. procumbens*. A coloração varia de cinza amarronzada a marrom. As raízes consistem de pedaços cortados finos em forma de discos ou de leques. A superfície externa, escura, é atravessada por rugas longitudinais tortuosas. O cilindro central apresenta finas estriações concêntricas. Visto sob lentes, a superfície cortada apresenta grânulos de coloração amarela a vermelho-amarronzada (19).

2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Algumas monografias são encontradas para a espécie *H. procumbens* descrevendo suas características microscópicas.

Na monografia da Organização Mundial da Saúde (OMS) (2007) (3) é descrito que a droga vegetal apresenta, microscopicamente, várias linhas de células de cortiça grandes, com paredes finas frequentemente com conteúdos marrom-amarelados. O córtex parenquimático apresenta esclereídeos muito ocasionais, com conteúdo marrom-avermelhado e o xilema é disposto em anéis concêntricos. Os vasos são reticularmente espessados, alguns com perfurações arredondadas nas paredes terminais (traqueídeos). É descrita a abundante presença de células parenquimáticas lignificadas associada com os vasos e na pequena medula central (3). Descrição semelhante é encontrada na Farmacopeia Europeia (2000) (4).

Foi observado, por meio de exame microscópico, que a superfície mais pálida do corte da droga vegetal apresenta, de fora para dentro, uma cortiça fina consistindo em células com paredes ligeiramente suberificada; uma feloderme desenvolvida constituída de células celulósicas de parede finas, um parênquima cortical pouco desenvolvido constituído de células poliédricas com paredes finas de celulose, separadas por meatos. O feixe fibrovascular é organizado em um anel contínuo constituído de estrutura secundária. O floema secundário concluído por cones estreitos é separado por raios celulósicos plurisseriados. Uma zona cambial escura consiste de pequenas células retangulares unidas, alinhadas em arquivos radiais. O xilema secundário inclui parênquima celulósico, engrossado reticularmente ou vasos ocos por vezes isolados e/ou agrupados por dois ou três e divididos em zonas concêntricas. A medula é constituída por células com paredes finas celulósicas (19).

Também é indicada a análise microscópica do pó para a identificação botânica das drogas vegetais de *H. procumbens*. Segundo a monografia da OMS (2007), o pó apresenta coloração amarelo-acastanhada. Mediante o uso de solução de hidrato de cloral R, na análise microscópica é possível observar a presença de fragmentos de parênquima cortical constituídos de células grandes e de parede fina, algumas vezes contendo inclusões granulares marrom-avermelhadas e gotículas amarelas isoladas. Também devem ser observados fragmentos de vasos apresentando espessamento reticulado e vasos traqueais com parênquima lignificado associado do cilindro central. Pequenas agulhas e cristais de oxalato de cálcio são presentes no parênquima. Pode haver presença de esclereídeos retangulares ou poligonais com conteúdo marrom-avermelhado escuro. O parênquima se torna verde quando tratado com uma solução de fluoroglicinol em hidrato de cloral (3). Descrição semelhante é encontrada na Farmacopeia Europeia (2000) (4).

De acordo com a British Herbal Pharmacopoeia (1996) (18), o pó da droga vegetal apresenta coloração marrom clara, além dos caracteres microscópicos descritos a seguir.

Parênquima lignificado, associado com vasos reticularmente espessos, com algumas perfurações arredondadas nas paredes finais. Parênquima de paredes finas e abundantes; células de cortiça gigantes; fibras e esclereídos sem coloração; oxalato de cálcio ausente; pouco ou nenhum amido. O tratamento do pó da droga vegetal com floroglucinol em ácido clorídrico concentrado produz uma coloração verde escura (18).

Babili et al. (2012) (19) também analisaram microscopicamente o pó da droga vegetal, que apresentava coloração amarelo-amarronzada, utilizando solução de hidrato de cloral R e observaram as seguintes características (Figura 6), que podem ser utilizadas, segundo os autores, como padrão para autenticação da droga:

- Fragmentos de cortiça constituídos de células poliédricas de cor amarelo-amarronzada, de paredes finas e regulares e que são sobrepostas;
- Fragmentos constituídos de parênquima cortical com células ovóides, com inclusões de paredes finas por vezes contendo material granular vermelho-amarronzado (corado de laranja pelo reagente láctico) e gotículas amarelas isoladas;
- Fragmentos de vasos com espessamentos reticulares, de traqueídeos associados com parênquima lignificado, do cilindro central, agulhas e pequenos cristais de oxalato de cálcio no parênquima;
- Ausência de amido.

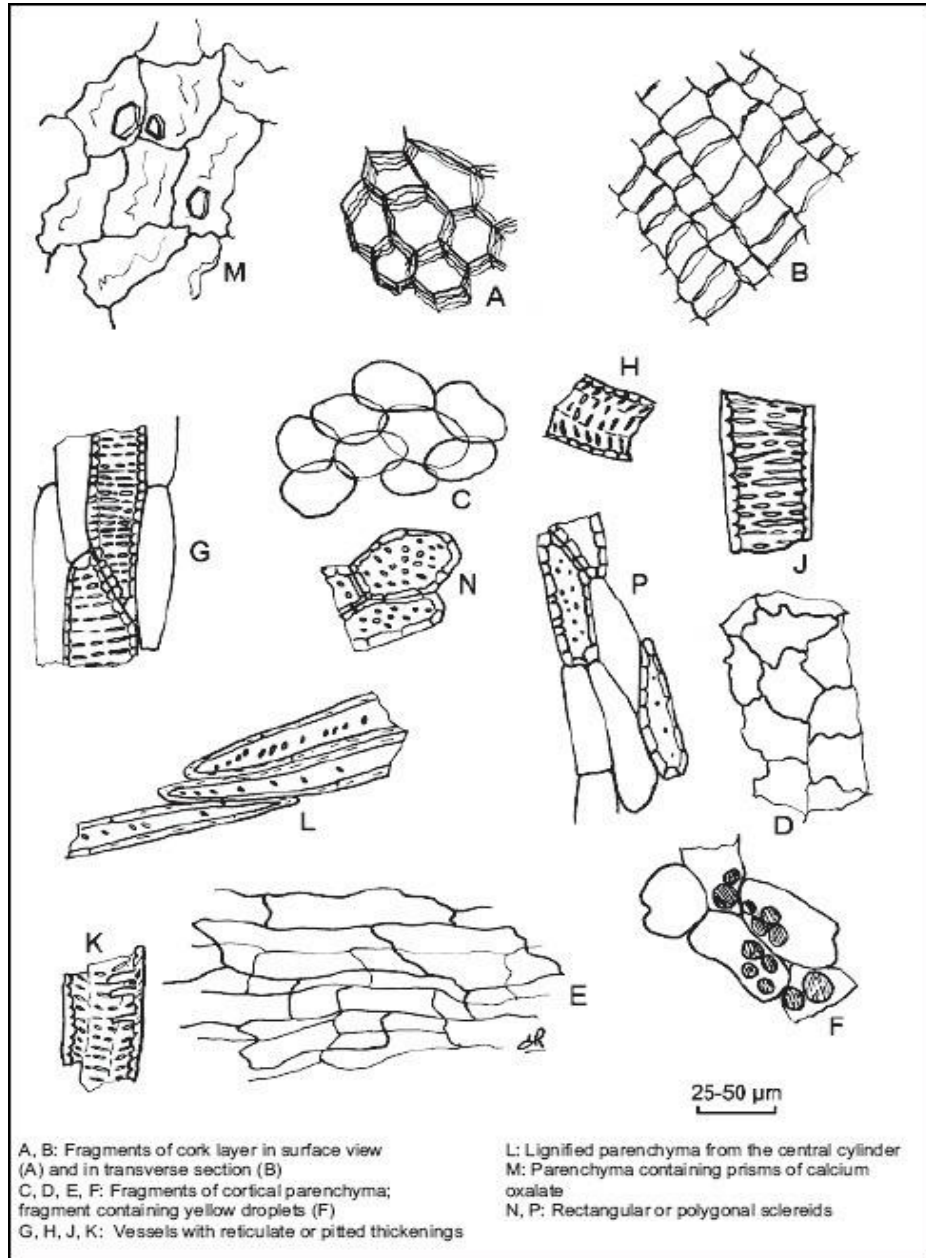


Figura 6 – Ilustração das características microscópicas observadas no pó da droga vegetal de *H. procumbens*. A, B: fragmentos de camada de cortiça na vista superficial (A) e na seção transversal (B). C, D, E, F: fragmentos de parênquima cortical, onde é possível observar gotículas amarelas em F. G, H, J, K: vasos com reticulação ou espessamentos corridos. L: parênquima lignificado do cilindro central. M: parênquima contendo prismas de oxalato de cálcio. N, P: esclereídeos poligonais retangulares. Fonte: adaptado da referência (19).

Detalhes sobre a camada e as células de cortiça, sobre o parênquima cortical, cilindro vascular, vasos entre a reserva de parênquima, vasos formando uma área lenhosa contínua, grânulos das células do estrato interior, dentre outros, podem ser observados por meio de imagens obtidas por microscopia de varredura eletrônica (17).

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

H. zeyheri também é comercialmente aceita pela indústria farmacêutica. No entanto, *H. zeyheri* não é a preferida pelo mercado uma vez que é sabido que essa espécie apresente menor concentração dos componentes bioativos (iridóides) em comparação com *H. procumbens* (6, 9). Sendo assim, é frequente a sua incorporação como adulterante de *H. procumbens*. De uma forma geral, o teor de *H. zeyheri* não é conhecido em matérias primas de *H. procumbens*, porque geralmente não é identificado como tal nos dados de exportação, sendo por isso considerado um adulterante.

A autenticação da droga vegetal é difícil, já que as raízes de *H. zeyheri* não podem ser distinguidas das raízes de *H. procumbens*. Somente as flores (12) e frutos (20) dessas espécies apresentam características morfológicas e anatômicas diferentes (Figura 7).

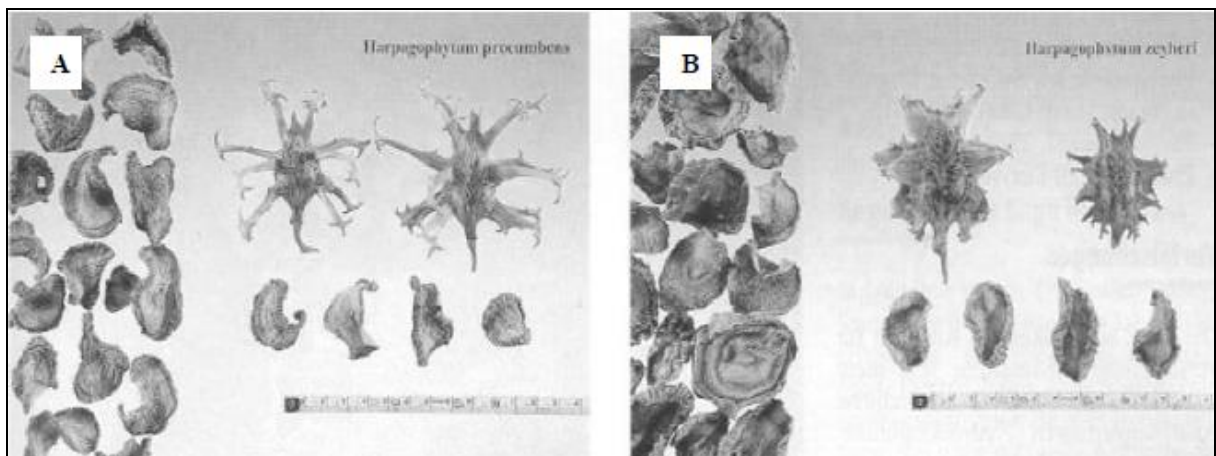


Figura 7 – Diferenciação morfológica entre *H. procumbens* e seu possível adulterante *H. zeyheri*. Raízes e frutos de *H. procumbens* (A) e *H. zeyheri* (B). Fonte: adaptado da referência (20).

Embora a diferenciação botânica seja difícil, *H. procumbens* e *H. zeyheri* podem ser diferenciadas por meio de uma caracterização química do extrato das raízes, por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (21-22). Baghdikian et al. (1997) (21) observaram que o iridoide harpagosídeo é o principal composto dessa classe em ambas espécies de *Harpagophytum*, enquanto que o iridoide 8-*p*-cumaril harpagida está presente mais significativamente apenas na espécie *H. zeyheri*. Dessa forma, esses autores sugerem que a razão entre o teor de harpagosídeo/8-*p*-cumaril harpagida possa ser um parâmetro utilizado para diferenciar quimicamente ambas as espécies. Esses autores demonstram que nas amostras das raízes de *H. procumbens*, a concentração de harpagosídeo variou de 1,22 a

2,40%, já nas raízes de *H. zeyheri*, o teor variou de 0,70 a 1,40%. A razão de harpagosídeo/8-*p*-cumaril harpagida em amostras de *H. zeyheri* foi aproximadamente 1 e para a espécie *H. procumbens*, a razão variou de 20 a 38, indicando a baixa concentração de 8-*p*-cumaril harpagida nas raízes de *H. procumbens*. Adicionalmente, a análise de amostras comerciais contendo extratos aquosos secos das raízes de *H. procumbens* demonstrou uma razão de harpagosídeo/8-*p*-cumaril harpagida intermediária, uma vez que há a possibilidade das preparações farmacêuticas conterem uma mistura de *H. procumbens* e *H. zeyheri* (21). Para a análise cromatográfica, esses autores utilizaram coluna cromatográfica μ Bondapack C18 (300 x 3,9 mm, 10 μ m) e eluição isocrática em metanol: água (57: 43, v/v). O fluxo foi de 1 mL/min e a detecção realizada por meio de luz UV no comprimento de onda de 278 nm. Os tempos de retenção (t_R) para o harpagosídeo e o 8-*p*-cumaril harpagida obtidos nesse sistema foram, respectivamente, 11 e 7 min (21). Eich; Schmidt; Betti (1998) (22), através de um estudo fitoquímico por meio de CLAE de fase reversa, sugeriram que para a detecção de adulterações de *H. procumbens* com *H. zeyheri* em matérias-primas vegetais, o valor de 8-*p*-cumaril harpagida no teor total de iridoides poderia ser um valor limite máximo de contaminação com *H. zeyheri* possível.

As raízes frescas de *H. procumbens* são também facilmente confundidas com as raízes das espécies *Acanthosicyos naudiniana* (Curcutitaceae) e *Ipomoea* sp. (Convolvulaceae) (Figura 8) (20).

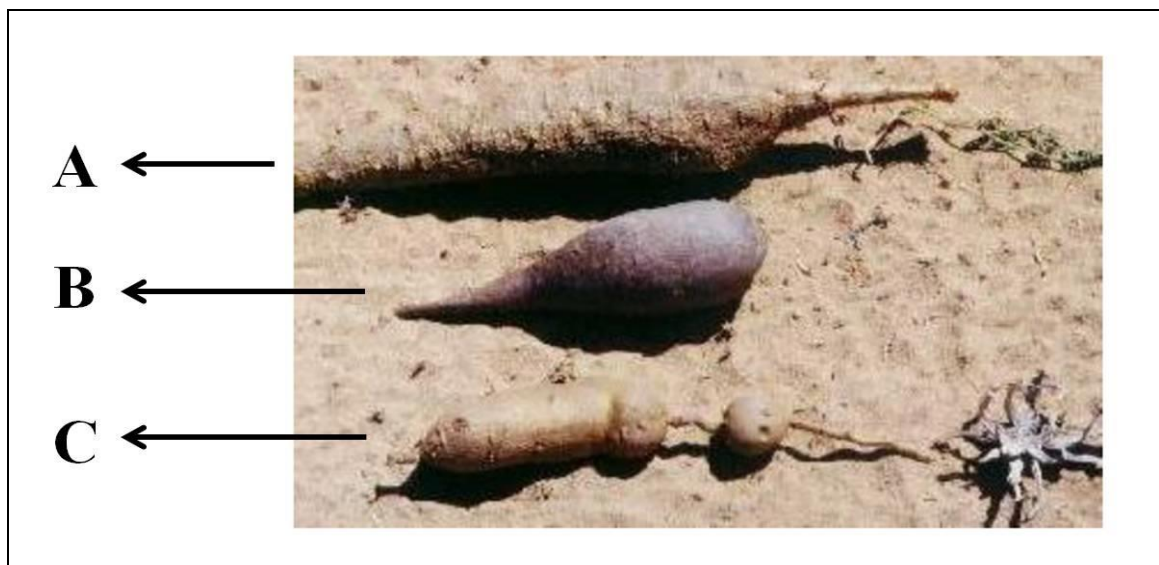


Figura 8 – Diferenciação macroscópica entre as raízes de *H. procumbens* e seus possíveis adulterantes. A: raiz de *Acanthosicyos naudiniana*. B: raiz de *Ipomoea* sp. C: raiz de *H. procumbens*. Fonte: adaptado de <http://harpago.co.za/Project/project.htm>

3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE

3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL

3.1.1 Caracteres organolépticos

As raízes secas de *H. procumbens* apresentam coloração que pode variar de marrom-acizentado a marrom escuro, possui sabor amargo e ausência de odor (3-4, 18-19).

3.1.2 Requisitos de pureza

3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns

Máximo de materiais estranhos: não mais que 2% (m/m) (3-4, 18).

Os elementos estranhos são constituídos, em sua totalidade ou em partes, por (4):

- Partes estranhas: qualquer elemento de procedência da planta originária, mas que não faz parte da droga vegetal (farmacógeno);
- Materiais estranhos: qualquer elemento que não faz parte da planta de origem, de procedência vegetal ou mineral.

Método para determinação de materiais estranhos:

Pesar de 100 a 500 g da amostra, ou a quantidade mínima indicada na monografia, e espalhar o material em uma superfície fina. Os materiais estranhos devem ser detectados por uma inspeção a olho nú ou com a ajuda de uma lupa (x6). Separar os elementos estranhos, pesar e calcular a porcentagem que representam (4, 18).

Na Farmacopeia Mexicana (2001) está preconizado o tamanho da amostra de 500 g. Além disso, embora o método seja semelhante ao descrito anteriormente, está especificado que além da análise a olho nú ou com o auxílio de uma lupa, pode-se utilizar um tamiz de malha 250. O pó é considerado um aditivo mineral (23).

3.1.2.2 Microbiológico

Na monografia da OMS (2007) para a espécie *H. procumbens* (3) é preconizado que os testes para microorganismos específicos e limites de contaminação microbiana sejam realizados conforme descrito no “WHO Guidelines on Quality Control Methods for Medicinal Plants” (24).

3.1.2.3 Teor de umidade

O teor de umidade (perda por dessecação) não deve ser superior a 12% (3-4). Segundo a Farmacopeia Europeia (2000), a perda por dessecação deve ser determinada em 1,0 g de amostra pulverizada, em estufa a 100-105°C, sendo expresso em porcentagem m/m (4).

3.1.2.4 Metal pesado

Na monografia da OMS (2007) da espécie *H. procumbens* (3) é preconizado que sejam seguidos o limite máximo permitido de metais pesados e a técnica descrita no “WHO Guidelines on Quality Control Methods for Medicinal Plants” (24).

3.1.2.5 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.2.6 Cinzas

Com relação ao teor de cinzas totais, segundo a monografia da OMS (2007) e a Farmacopeia Europeia (2000), o teor máximo preconizado é de 8% (3-4). Segundo a Farmacopeia Espanhola (2005), o teor máximo permitido é de 7% (25). Já segundo a British Herbal Pharmacopoeia (1996), o valor máximo é de 22% (18). O método proposto para quantificação de cinzas totais, que é comum a todas as monografias, é descrito a seguir.

Método para determinação de cinzas totais:

Aquecer a sílica ou cadinho de platina até encandecimento por 30 minutos, deixar resfriar em um dessecador e pesar. Pesar 1 g da droga vegetal no cadinho. Secar a 100-105°C por 1 hora e em seguida incinerar até massa constante em uma mufla a $600 \pm 25^\circ\text{C}$ e esfriar o cadinho em um dessecador. Chamas não devem ser produzidas durante o experimento. Após o término do processo, as cinzas contêm partículas pretas, então, acrescentar água quente, filtrar em um filtro isento de cinzas e incinerar o resíduo e o filtro de papel. Juntar o filtrado com as cinzas, secar cuidadosamente até seca e incinerar até peso constante.

Com relação ao teor de cinzas insolúveis em ácido clorídrico, segundo a British Herbal Pharmacopoeia (1996) (18) e a monografia da OMS (2007) (3), o teor máximo preconizado é 5%. Já segundo a Farmacopeia Espanhola (2005) esse valor é de 2% (25).

Método para determinação de cinzas insolúveis em ácido clorídrico:

Ao resíduo obtido após a extração das cinzas totais, adicionar 15 mL de água e 10 mL de ácido clorídrico R, cobrir com um vidro relógio, ferver a mistura por 10 minutos e esfriar. Filtrar em um filtro isento de cinzas, lavar o resíduo obtido com água quente até a obtenção do filtrado neutro, secar e incinerar, resfriar em dessecador e pesar. Repetir o processo até que a diferença entre duas pesagens consecutivas não seja maior que 1 mg.

Na monografia de *H. procumbens* da OMS (2007) (3), está preconizado ainda a realização de testes de determinação de extrativos solúveis em água, resíduos de pesticidas e radioativos, segundo métodos gerais descritos para plantas medicinais (24).

3.1.3 Granulometria

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.1.4 Prospecção fitoquímica

A droga vegetal apresenta em sua constituição os iridóides (compostos majoritários), harpagoquinonas, aminoácidos, flavonoides, fitosteróis, terpenoides e carboidratos (9, 14), devendo ser feita a avaliação desses compostos.

3.1.5 Testes físico-químicos

Dado não encontrado na literatura pesquisada. Métodos gerais dispostos em compêndios oficiais podem ser utilizados.

3.1.6 Testes de identificação

Teste A: Identificação macroscópica (3-4). Observar, a olho nu ou com esteromicroscópico, a presença dos caracteres macroscópicos da droga vegetal, conforme descrito anteriormente (item 2.2).

Teste B: Identificação microscópica do pó da droga vegetal (3-4). Reduzir a droga vegetal a pó e analisar microscopicamente utilizando solução de hidrato de cloral R. Observar a presença dos caracteres microscópicos da droga vegetal, conforme descrito anteriormente (item 2.3).

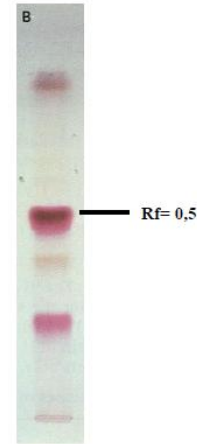
Teste C: Acrescentar a 1,0 g do pó das raízes de *H. procumbens* 0,1 mL de solução de floroglucionol, seguido por 0,1 mL de ácido clorídrico. A mistura produz uma coloração verde escura (16, 18).

Teste D: Determinação de amido (4). Observar ao microscópio a droga vegetal pulverizada, utilizando água. Acrescentar solução de iodo (SR). Não deve haver desenvolvimento de coloração azul.

Teste E: Cromatografia em camada delgada (CCD). No Quadro 1 são apresentados os sistemas cromatográficos para análise por CCD preconizados em compêndios oficiais e não oficiais.

| Solução problema | Solução padrão | Fase estacionária | Fase móvel | Deteção | Resultados | Referência |
|--|--|-----------------------------------|--|---|---|-------------|
| Aquecer em banho de água a 60°C, durante 10 min, 1,0 g da amostra pulverizada com 10 mL de metanol. Filtrar e reduzir o filtrado a cerca de 2 mL, a pressão reduzida e a temperatura não superior a 40°C | Dissolver 1 mg de harpagósideo em 1 mL de metanol | Gel de sílica F ₂₅₄ | Acetato de etila: metanol: água (77:15:8, v/v/v) | I: Observar à luz UV em 254 nm; II: Borrifar o cromatograma com solução de floroglucinol a 10 g/L em etanol (96%) e, em seguida, com ácido clorídrico R. Secar a placa a 80°C, durante 5- 10 min | I: A solução padrão deve apresentar uma mancha com fluorescência em <i>Rf</i> intermediário (<i>Rf</i> ≈ 0,5), que corresponde ao harpagósideo. A solução problema deve apresentar além a banda correspondente ao harpagósideo, outras bandas, principalmente com <i>Rf</i> superior ao harpagósideo. II: A solução problema apresenta uma mancha verde com <i>Rf</i> similar ao padrão harpagósideo. Com <i>Rf</i> superior e inferior ao harpagósideo, podem ser visualizadas bandas de colorações amarela e castanha | (23, 25-26) |
| Aquecer 0,1 g da droga vegetal em pó em um banho de água com 10 mL de metanol e, em seguida filtrar. Em seguida, levar à secura 5 mL do filtrado e ressuspender em 1 mL de metanol | Dissolver 1 mg de harpagósideo em 1 mL de metanol | Gel de sílica F ₂₅₄ | Clorofórmio: metanol (90:30, v/v) | Borrifar o cromatograma com dimetilaminobenzaldeído 1% em ácido clorídrico 1 N e aquecer por 15 min a 105°C | Uma banda de coloração cinza-azulada referente ao composto harpagósideo é observada com <i>Rf</i> = 0,5 | (16) |
| Deixar 0,5 g da droga vegetal pulverizada em contato com 5 mL de metanol a 60°C por 5 min ou a temperatura ambiente, por 20 min, sob agitação ocasional e por fim filtrar | Dissolver 10 mg de ácido cinâmico em 5 mL de metanol | Gel de sílica 60 F ₂₅₄ | Acetato de etila: metanol: água (15:4:1, v/v/v) | Após secar a placa com ar quente, observar o cromatograma em UV 254 nm e então borrifar com uma solução de vanilina (1%) em ácido sulfúrico. Após, aquecer a placa a 80 °C por 5 min, observar em UV 365 nm | Sob luz UV 254 nm, uma banda referente ao ácido cinâmico com <i>Rf</i> = 0,48 corresponde a uma zona fraca na solução problema. Abaixo dessa mancha, são observadas 3 manchas, a mais inferior corresponde ao composto harpagósideo (<i>Rf</i> = 0,35). Antes da revelação, essa macha apresenta fluorescência azul em UV 365 nm e após a revelação, essa zona desenvolve uma coloração violeta-avermelhado. A segunda zona apresenta uma coloração avermelhada de intensidade fraca com <i>Rf</i> = 0,15, que pode ser | (12) |

| Solução problema | Solução padrão | Fase estacionária | Fase móvel | Deteção | Resultados | Referência |
|--|----------------------------------|-----------------------------------|--|---|--|------------|
| | | | | | atribuída aos compostos harpagida e/ou procumbídeo. Quando observado em UV 365 nm, essa zona apresenta uma fluorescência laranja avermelhada. Após a revelação, a banda de ácido cinâmico não se torna mais visível | |
| 1 g da droga vegetal pulverizada é extraída com 10 mL de metanol, durante 15 min, sob banho de água. O extrato é filtrado e evaporado até 1-1,5 mL | Não especificado o uso de padrão | Gel de sílica 60 F ₂₅₄ | Acetato de etila: metanol: água (77:15:8, v/v/v) | Borrifar a placa com anisaldeído sulfúrico e secar a 100 °C, durante 10 min | No cromatograma pode ser observada uma mancha violeta principal com $R_f = 0,5$, correspondente ao composto harpagosídeo e outras duas manchas com R_f entre 0,25-0,45, características de harpagida e/ou procumbídeo | (27) |



Quadro 1 – Condições cromatográficas utilizadas nos testes de identificação da droga vegetal de *H. procumbens* por cromatografia em camada delgada (CCD).

Teste F: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para identificação e quantificação de harpagosídeo (4). Segundo a monografia da OMS (2007) para a espécie (3), o teor de harpagosídeo determinado por CLAE não deve ser menor que 1,2%. No item 3.1.7, serão descritos maiores detalhes das condições cromatográficas da análise quantitativa por CLAE.

3.1.7 Testes de quantificação

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

Vários estudos fitoquímicos tem revelado o isolamento de diversos constituintes de *H. procumbens*, dos quais se destacam os iridoides e outras substâncias incluindo harpagoquinonas, aminoácidos, flavonoides, fitosteróis e carboidratos (9). Dentre esses, os iridóides glicosilados são tidos como majoritários nas raízes (28-29). No Quadro 2 estão resumidos os principais constituintes químicos descritos nas raízes da espécie *H. procumbens*.

| Composto | Estrutura |
|----------------------|-----------|
| Harpagosídeo | |
| 8-p-cumarilharpagida | |
| Harpagida | |
| Procumbídeo | |

Quadro 2 – Estrutura química dos principais iridóides glicosilados descritos nas raízes da espécie *H. procumbens*. Fonte: referência (9).

O primeiro iridóide glicosilado isolado de *H. procumbens* foi o harpagosídeo, amplamente apontado como o constituinte ativo majoritário da espécie (9). Também foram relatadas a presença de pequena quantidade de harpagida, 8-p-cumaril harpagida e procumbídeo e seu éster 6'-p-cumaril (28-30), harpagogenina (31), harprocumbida A (6''-O- α -D-galactopiranosil harpagosídeo) e harprocumbida B (6''-O-(cis-p-cumaril)-procumbídeo (32). Outros componentes presentes são os derivados fenólicos glicosilados: acteosídeo (verbascosídeo) e isoacteosídeo (33); 6-acetilacteosídeo e 2,6-diacetilacteosídeo (34); triterpenos, principalmente o ácido oleanóico, ácido 3 β -acetiloleanóico e ácido ursólico (35). Adicionalmente, foi descrito, na década de 70, a presença dos monossacarídeos glicose, galactose, frutose e mioinositol e dos oligossacarídeos sucrose, rafinose e estaquiase, sendo este último o glicosídeo predominante nas raízes de *H. procumbens* (36). Outros constituintes químicos descritos para as raízes de *H. procumbens* são flavonóides, dentre os quais se podem citar canferol e luteolina, e a quinona harpagoquinona (37-38). Também foi descrito o isolamento de um novo triterpenóide glicosilado (designado harprosídeo), de um novo iridóide glicosilado (designado pagida) e de seis triterpenóides conhecidos (ácido 2 α ,3 α -dihydroxyurs-12:20(30)-dien-28-óico, ácido pigênico A, ácido corosólico, ácido euscáfico, ácido pigênico B e ácido 2 α ,3 α ,24-trihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-óico) isolados dos tubérculos de *H. procumbens* (39).

Embora os constituintes polares tenham sido amplamente investigados, poucos estudos têm sido conduzidos com frações apolares. Por meio de um fracionamento biomonitorado para caracterização de compostos com ação antiplasmódica na fração éter de petróleo das raízes de *H. procumbens*, foram obtidos dois compostos ativos, os diterpenos totarano e abietano (40). Posteriormente, foi obtido a partir da fração éter de petróleo das raízes dois novos diterpenos do tipo quinano, denominados 12,13-dihidroxiquina-8,11,13-trien-7-ona e 6,12,13-trihidroxiquina-5,8,11,13-tetraen-7-ona (41).

Como já mencionado, o iridóide glicosilado harpagosídeo (Quadro 2) constitui o composto majoritário das raízes de *H. procumbens* e é considerado um marcador químico para a espécie, enquanto que para a espécie *H. zeyheri*, o composto majoritário foi relatado como sendo o 8-p-cumaril-harpagida (Quadro 2) (20-21, 30). Na Farmacopeia Europeia (2000) (4) está especificado que um produto contendo extrato das raízes de *H. procumbens* não pode conter quantidade inferior a 1,3% de harpagosídeo, calculado em relação à droga vegetal seca. Nas flores, galhos e nos frutos maduros não foi detectada a presença de harpagosídeo e nas folhas foram encontrados apenas traços (14).

Como já mencionado no item 3.1.6, o uso de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é preconizado para identificação e quantificação de harpagosídeo (4). Segundo dados oficiais, o teor de harpagosídeo determinado por CLAE não deve ser menor que 1,2% (3-4, 25-26).

Além dos métodos descritos em compêndios oficiais, foram encontrados vários trabalhos na literatura que descrevem a análise qualitativa e/ou quantitativa de *H. procumbens*. No Quadro 3 estão apresentadas algumas condições cromatográficas por CLAE para a espécie *H. procumbens*.

| Composto | Fase estacionária | Fase móvel | Fluxo | Deteção | Referência |
|---|---|---|-------------|--|------------|
| Harpagosídeo ($t_R = 11$ min), 8-p-cumaril harpagida ($t_R = 7$ min) | μ Bondapack C18 (300 \times 3,9 mm, 10 μ m) | Eluição isocrática: metanol: água (57:43, v/v) | 1,0 mL/ min | UV 278 nm | (21) |
| Sistema I: Harpagosídeo ($t_R = 26$ min), 8-p-cumaril harpagida ($t_R = 21$ min). Sistema II: Harpagosídeo ($t_R = 30$ min), 8-p-cumaril harpagida ($t_R = 25$ min) | Supelcosil LC-18 (300 \times 4,6 mm, 5 μ m) | Sistema I: A: metanol B: água Eluição gradiente: 15% A (0-10 min), 50% A (11-35 min), 15% A (36-50 min). Sistema II: A: acetonitrila B: ácido fosfórico 0,5% Eluição gradiente: 8% A (0-5 min), 18% A (6-18 min), 27% A (19-33 min), 100% A (34-36), 89% A (37-50 min). | 1,0 mL/ min | UV 278 nm | (22) |
| Harpagosídeo ($t_R = 19,5$ min), ácido cinâmico ($t_R = 22,7$ min), 8-p-cumaril-harpagida ($t_R = 17,2$ min), pagosídeo ($t_R = 18,6$ min) acteosídeo ($t_R = 15,5$ min), isoacteosídeo, 6'-O-acetilacteosídeo ($t_R = 18,2$ min) e ácido caféico ($t_R = 12,5$ min) | Lichrospher 100 RP18 (250 \times 4 mm, 5 μ m) | A: acetonitrila B: ácido trifluoracético 0,1% Eluição gradiente: 10% A (0 min), 50% A (1-20 min), 70% A (21-30 min), 100% A (31-35 min). | N.D. | Harpagosídeo e ácido cinâmico: UV 280 nm; 8-p-cumaril-harpagida e pagosídeo: UV 312 nm; acteosídeo, isoacteosídeo, 6'-O-acetilacteosídeo e ácido caféico: UV 330 nm. | (42) |
| Acteosídeo ($t_R = 9,2$ min), isoacteosídeo ($t_R = 10,8$ min), 8-p-(4-cumaril), harpagida ($t_R = 14,4$ min), 6'-O-acetilacteosídeo ($t_R = 16,6$ min) e harpagosídeo ($t_R = 18,3$ min) e, 2',6'-di-O-acetilacteosídeo ($t_R = 22,4$ min) e 2'-O-acetilacteosídeo ($t_R = 13,8$ min) | Luna C18 (150 \times 4,6 mm, 3 μ m). Temperatura da coluna = 40 °C | A: água B: acetonitrila Eluição gradiente: 17% B (0 min), 42% B (1-35 min), 90% B (36-37 min), 17% B (38-40 min) | 0,8 mL/ min | UV 230 e 280 nm. | (41) |
| Harpagosídeo ($t_R = 20$ min) | LiChroCART (250 mm \times 4 mm, 5 μ m) | A: água acidificada 3% (ácido fosfórico, 85%) B: acetonitrila Eluição gradiente: 100% A (0-10 min), 20% | 1,3 mL/ min | UV 280 nm | (43) |

| Composto | Fase estacionária | Fase móvel | Fluxo | Deteccão | Referência |
|----------|-------------------|---|-------|----------|------------|
| | | B (11-20 min), 100% B (21-22 min), 100 % B (23-27 min), 100% A (28- 35 min), 100% A (36-40 min) | | | |

Quadro 3 – Condições cromatográficas utilizadas para análise qualitativa e/ou quantitativa da droga vegetal de *H. procumbens* por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). N.D.: não descrito.

/

Embora muitos autores considerem os iridóides glicosilados, especialmente o composto harpagosídeo, como componentes ativos dos extratos das raízes de *H. procumbens*, até o presente momento não se sabe quais são os reais compostos ativos, já que os resultados são bastante controversos. Em alguns estudos (*in vivo* e *in vitro*) tem sido demonstrado que esses compostos apresentam atividade anti-inflamatória (44-45), enquanto que em outros trabalhos não apresentaram tal atividade (46-47).

3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2 DERIVADO VEGETAL

3.2.1 Descrição

Segundo a literatura, no que diz respeito aos usos populares e aos estudos farmacológicos pré-clínicos e clínicos, o principal derivado vegetal de *H. procumbens* empregado é o extrato aquoso das raízes, que pode ser preparado por diferentes métodos de extração (infusão, decocção etc.) conforme descrito nos diferentes estudos. O segundo solvente extrator mais empregado é o etanol, em diferentes concentrações (extratos hidroetanólicos).

Segundo a monografia de *H. procumbens* da OMS (2007) (3), as raízes secas da espécie são utilizadas para preparação de decoctos e chás. Na RDC 10/2010, na qual a espécie é incluída na lista de notificação de drogas vegetais, é preconizado como derivado da espécie vegetal um extrato aquoso das raízes (13). Na IN 02/2014 é descrito uso do extrato aquoso ou hidroetanólico (30% a 60%) das raízes tuberosas secundárias de *H. procumbens* e *H. zeyheri* (11).

3.2.2 Método de obtenção

O extrato aquoso das raízes de *H. procumbens* pode ser obtido, conforme literatura, por vários métodos diferentes de extração (infusão, decocção, etc.). Segundo a monografia de *H. procumbens* da OMS (2007) (3), as raízes secas da espécie devem ser utilizadas para

preparação de decoctos e chás, porém maiores detalhes do modo de preparo não são fornecidos. O método indicado na lista de notificação de drogas vegetais da RDC 10/2010 é a infusão das raízes, na proporção de 1 g de raiz (1 colher de chá) em 150 mL de água (1 xícara de chá) (13). Na IN 02/2014, é apresentado como derivado vegetal o extrato aquoso ou hidroetanólico (30 a 60%) (11).

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*

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

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

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

3.2.6 Prospecção fitoquímica

Vários estudos fitoquímicos tem revelado o isolamento de diversos constituintes de *H. procumbens*, dos quais se destacam os iridoides e outras substâncias incluindo harpagoquinonas, aminoácidos, flavonoides, fitosteróis e carboidratos (9). Dentre esses, os iridóides glicosilados são tidos como majoritários em extratos das raízes (28-29).

3.2.7 Testes de identificação

Lanhers et al. (1992) (48) apresentaram um método por CCD para a análise dos iridóides glicosilados de um extrato aquoso das raízes de *H. procumbens*. A fase móvel consistiu em acetato de etila: metanol: água (77:15:8, v/v/v) e a detecção foi feita com vanilina sulfúrica. Com esse método, os autores visualizaram duas manchas vermelhas com $R_f=0,10$ e $0,40$, sendo a última correspondente ao harpagosídeo e três manchas amarelas com $R_f=0,30$; $0,45$ e $0,5$ (48).

Schmidt (2005) (49) propôs um método de análise por CLAE que pode ser aplicado para o controle de qualidade de derivados de *H. procumbens*. O autor transferiu de uma coluna de sílica C-18 convencional baseada em partícula para uma coluna de sílica monolítica, um método existente para a determinação de harpagosídeos em *H. procumbens*. Na condição A (Figura 9A) foi utilizada uma coluna em fase reversa e fluxo de $0,1$ mL/ min e na condição B (Figura 9B) foram utilizadas duas colunas monolíticas em série, o que possibilitou aumentar o fluxo para $5,0$ mL/ min. O tempo de análise reduziu de 30 (Figura 9A) para 5 minutos (Figura 9B), ou seja, houve uma redução de 85% , sem perda da resolução. Embora o uso de duas colunas monolíticas possa representar um custo três vezes maior que o de colunas tradicionais, os resultados obtidos demonstram que o uso de colunas monolíticas pode ser uma alternativa em análises rotineiras de controle de qualidade de amostras comerciais, a fim de reduzir o tempo das análises. As duas condições cromatográficas são apresentadas em detalhes no Quadro 4.

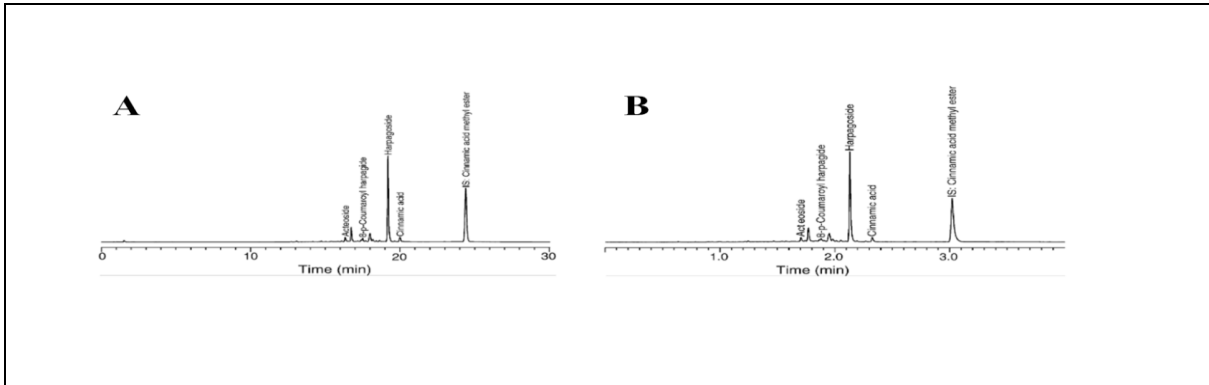


Figura 9 – Cromatograma por CLAE a 278 nm dos harpagosídeos iridóides e outros compostos de *H. procumbens*. A: coluna Hypersil ODS e fluxo de 0,8 mL/min. B: coluna Chromolith e fluxo = 5,0 mL/min. Fonte: adaptado da referência (49).

Anauate et al. (2010) (50) apresentaram no seu estudo um método cromatográfico por CCD para a detecção de iridóides em um extrato etanólico de *H. procumbens* e suas frações (50). A fase estacionária consistiu em gel de sílica 60 F₂₅₄. A fase móvel empregada foi clorofórmio: metanol (75:25, v/v). As placas foram analisadas sob luz UV a 254 nm e 366 nm e reveladas com ácido sulfúrico 3%/ vanilina para coloração dos iridóides (50).

Karioti et al. (2011) (51) desenvolveram um método analítico por CLAE-DAD e CLAE-IES-EM para a análise e estudo da estabilidade de tinturas de *H. procumbens*, conforme descrito no Quadro 4. Os autores detectaram como constituintes característicos de *H. procumbens* os glicosídeos iridóides acilados e álcoois feniletílicos. Os autores sugerem que o método analítico desenvolvido pode ser empregado para o controle de qualidade de tinturas a base de *H. procumbens*.

| Compostos | Fase estacionária | Fase móvel | Fluxo | Deteção | Referência |
|--|---|---|-------------|--|------------|
| Harpagosídeo ($t_R = 19,2$ min) e ácido cinâmico metilester ($t_R = 24,4$ min) | Hypersil ODS (125 mm \times 4 mm, 5 μ m). Temperatura da coluna = 30 °C | A: ácido fosfórico em água até pH=2 B: acetonitrila Eluição gradiente: 1% B (0 min), 50% B (2-16), eluição isocrática (17-18 min), 1% B (19-20 min) | 0,8 mL/ min | UV 278 nm | (49) |
| Harpagosídeo ($t_R = 3,0$ min) e ácido cinâmico metilester ($t_R = 2,1$ min) | Chromolith Performance RP-18e (100 mm \times 4,6 mm). Duas colunas de 100 mm foram acopladas em série. Temperatura da coluna= 30 °C | A: ácido fosfórico em água até pH=2 B: acetonitrila Eluição gradiente: 1% B (0 min), 2% B (1-2 min), seguido por uma eluição isocrática por 1 min, 2% B (3-4 min), 1% B (4-5 min) | 5,0 mL/ min | UV 278 nm | (49) |
| Glicosídeos iridóides acilados (8- <i>E</i> -p-cumarilharpagida, harpagosídeo e álcoois feniletílicos (verbascosídeo e isoverbascosídeo) | Coluna pré-empacotada Luna RP-C18 (150 mm \times 3 mm). Tamanho de partícula de 5 mm (Phenomenex). Temperatura da coluna = 26°C. | A: ácido formico em água até pH=3,2 B: acetonitrila Eluição gradiente: 95% B (0 min), 85% B (5 min), 76% B (8 min), 75% B (15 min), 73% B (19 min), 71% B (24 min), 50% B (29 min). | 0,4 mL/ min | UV 280 nm (harpagosídeo), 310 nm (8- <i>E</i> -p-cumarilharpagida e harpagida) e 330 nm (verbascosídeo e isoverbascosídeo) | (51) |

Quadro 4 – Condições cromatográficas utilizadas para análise qualitativa e/ou quantitativa de derivados e formas farmacêuticas de *H. procumbens* por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

3.2.8 Testes de quantificação

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

Como já mencionado anteriormente, vários estudos fitoquímicos destacam os iridóides, principalmente o harpagosídeo, como compostos majoritários nas raízes de *H. procumbens*, podendo ser utilizado como marcador para o controle de qualidade da espécie (28-29, 49).

Schmidt (2005) (49), ao compararem as duas condições cromatográficas descritas no Quadro 4 (fase estacionária convencional e fase estacionária monolítica), observaram que os dois métodos podem ser empregados tanto pra análise qualitativa como também para a análise quantitativa de harpagosídeo em extratos de *H. procumbens* (49). No estudo, o autor empregou uma amostra de extrato hidroalcoólico de *H. procumbens* preparado a partir das raízes tuberosas secundárias secas usando etanol 60%. A amostra foi preparada solubilizando exatamente 250 mg de extrato em 20 mL de metanol com o uso de banho ultrassônico por 20 min a temperatura ambiente; 1 mL de solução padrão interna (130 mg de ácido cinâmico metiléster em 100 mL de metanol) foi adicionada e a mistura foi completada para o volume final de 25 mL (em balão volumétrico) com metanol. Utilizando a coluna convencional (Figura 9A), observou-se um teor médio de harpagosídeo de 2,006 mg de harpagosídeo/ 100 mg de extrato. Para a coluna mais rápida (monolítica, Figura 9B), observou teor bastante semelhante (não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os valores), de 2,017 mg de harpagosídeo/ 100 mg de extrato. O autor então conclui que ambas as condições podem ser empregadas para o controle de qualidade de derivados de *H. procumbens* (49).

Karioti et al. (2011) (51) quantificaram por CLAE-DAD compostos presente em uma tintura comercial de *H. procumbens*, preparada conforme a Farmacopeia Européia (2000) (4). O teor de cada composto, expresso em mg/ mL de tintura, foi: 0,63 ± 0,01 de 8-*E*-*p*-cumaril-harpagida; 0,32 ± 0,01 de pagosídeo; 2,12 ± 0,05 de harpagosídeo; 0,84 ± 0,02 de verbascosídeo e 1,93 ± 0,03 de isoverbascosídeo. O teor de iridóides totais foi de 3,07 ± 0,02 e álcoois feniletílicos totais foi de 2,77 ± 0,02 mg/ mL de tintura. Também é interessante destacar o estudo de estabilidade que foi realizado com esses compostos, no qual os autores submeteram a tintura ao teste de termoestabilidade acelerada (40 ± 2°C) por 196 dias: tanto os iridóides totais quanto os álcoois feniletílicos mantiveram-se relativamente estáveis, com

degradação estimada em menos de 10 e 20%, respectivamente, em um período de 6 meses (51).

3.3 PRODUTO FINAL

3.3.1 Forma farmacêutica

Foram encontrados na literatura principalmente formulações indicadas para uso interno, na forma de cápsulas e comprimidos e, menos freqüente, como tinturas.

Dos produtos registrados na ANVISA que contêm *H. procumbens* como componente ativo, a maioria apresenta-se na forma farmacêutica de cápsulas, seguido por comprimidos e uma apresentação na forma de tintura. Na Alemanha, são encontrados produtos a base de *H. procumbens* na forma de cápsulas, comprimidos, tintura e pomada, dentre outros (16).

3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica

Teste de desintegração de comprimidos:

Comprimidos contendo o extrato WS1531 das raízes de *H. procumbens* foram analisados em relação ao tempo de desintegração, segundo a monografia da Farmacopeia Alemã (1996) (52). Os comprimidos desintegraram em 18 minutos. O extrato apresentou elevada solubilidade em água. O coeficiente de distribuição octanol: água do extrato de *H. procumbens* e do composto harpagosídeo foi igual a 4 (43). Além do teste de desintegração de comprimidos, foi simulado o processo de absorção dos comprimidos do extrato WS1531, contendo o equivalente a 16,5 mg de harpagosídeo. Os comprimidos apresentaram um tempo de meia-vida igual a 13,5 minutos. O composto harpagosídeo permaneceu estável por 3 horas no suco gástrico artificial e por um período de 6 horas no suco intestinal (43).

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

Os métodos cromatográficos (CLAE) propostos por Schmidt (2005) (49) (Quadro 4) podem ser empregados, segundo o autor, para a análise qualitativa e/ou quantitativa de harpagosídeo e outros iridóides relacionados em produtos farmacêuticos a base de *H. procumbens*, especialmente comprimidos, que foram analisados no estudo (49).

3.3.7 Testes de quantificação

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

Como já mencionado anteriormente, o método cromatográfico por CLAE (49) pode ser empregado também para a análise quantitativa em produtos farmacêuticos a base de *H. procumbens*, especialmente comprimidos. No estudo, foi realizada a quantificação de harpagosídeo em amostras de comprimidos comerciais. Para a análise, foram utilizadas amostras pulverizadas contendo o equivalente a 215 mg de extrato, sendo o processo de preparo idêntico ao utilizado para a análise do extrato (Seção 3.2.8.1). Utilizando a coluna convencional (Figura 9A), observou-se um teor médio de harpagosídeo de 13,019 mg de harpagosídeo/ comprimido. Para a coluna mais rápida (monolítica, Figura 9B), observou teor bastante semelhante (não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os valores), de 13,075 mg de harpagosídeo/ comprimido. O autor conclui que ambas as condições podem ser empregadas para o controle de qualidade de formas farmacêuticas a base de *H. procumbens* (49).

4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA

4.1 USOS POPULARES E/OU TRADICIONAIS

Conforme revisado por Mncwangi et al. (2012) (9), raízes de *H. procumbens* são utilizadas na medicina popular com várias finalidades terapêuticas, principalmente na forma de infusos e decoctos. Além de uso comum para artrite e dor, outros usos medicinais são frequentemente citados, como, por exemplo, dispepsia, febre, doenças sanguíneas, infecções urinárias, dores pós-parto, dores de modo geral, úlceras e febre (3, 8-9). Quando consumido diariamente, *H. procumbens* tem um efeito laxante sutil. Pequenas doses do extrato da planta são usadas para aliviar cólicas menstruais, enquanto doses mais elevadas podem ajudar na expulsão de placentas retidas. As raízes tuberosas secundárias secas são usadas diretamente como curativos para feridas. Um infuso pode ser utilizado oralmente para reumatismo e para o tratamento de doenças hepáticas, renais, pancreáticas e estomáquicas. Também há relatos de uso externo na forma de pomada, utilizada como cicatrizante em feridas, lesões da pele e em casos de queimadura (9, 15, 53).

4.2 PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS

A resolução RDC 10/2010, já revogada, incluía a espécie *H. procumbens* como espécie passível de ser tratada como droga vegetal sujeita à notificação (Quadro 5). Com informações semelhantes, a Instrução Normativa nº 02, de 13 de maio de 2014 (11) inclui *H. procumbens* como produto tradicional fitoterápico de registro simplificado (Quadro 6).

| Nomenclatura botânica | Nomenclatura popular | Parte utilizada | Forma de utilização | Posologia e modo de usar | Via | Uso | Alegações | Contra-indicações | Efeitos adversos | Embalagem |
|---------------------------------|----------------------|-----------------|--|------------------------------------|------|--------|---|--|------------------|-----------|
| <i>Harpagophytum procumbens</i> | Garra-do-diabo | Raíz | Infusão: 1 g (1 colher de chá) em 150 mL (xíc. de chá) | Utilizar 1 xíc. 2 a 3 vezes ao dia | Oral | Adulto | Dores articulares (artrite, artrose, artralgia) | Não utilizar em portadores de úlceras estomacais e duodenais | – | – |

Quadro 5 – Características de *H. procumbens* no anexo da RDC 10/2010.

| Nomenclatura botânica | Nome popular | Parte usada | Padronização/Marcador | Derivado vegetal | Alegação de uso | Dose Diária | Forma farmacêutica | Via de Administração | Restrição de uso |
|---|----------------|--------------------|--|--|--|--|---------------------------------------|----------------------|-----------------------------|
| <i>Harpagophytum procumbens</i> DC. ex Meissn. e <i>H. zeyheri</i> Decne | Garra do diabo | Raízes secundárias | Harpagosídeo ou iridoídeos totais expressos em harpagosídeos | Extrato aquoso ou hidroetanólico (30% a 60%) | Alívio de dores articulares e dor lombar baixa aguda | 30 a 100 mg de harpagosídeo ou 45 a 150 mg de iridoídeos totais expressos em harpagosídeos | Comprimido revestido gastroresistente | Oral | Venda sem prescrição médica |

Quadro 6 – Características de *H. procumbens* constante na IN 02/2014.

4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

Embora, há vários anos, seja utilizado popularmente, inclusive com uma série de produtos fitoterápicos já comercializados mundialmente, existem relativamente poucos estudos toxicológicos, sobretudo estudos de longa duração. Isso é importante de ser ressaltado uma vez que existem alguns relatos populares de toxicidade para a espécie vegetal. No entanto, dos poucos estudos existentes, o que se observa, em geral, é uma baixa toxicidade, principalmente em se tratando da via oral. Estudos realizados com compostos isolados, por outro lado, mostraram significativa toxicidade, o que será discutido em maiores detalhes adiante.

4.3.1.1 Toxicidade aguda

No Quadro 7 são apresentados os estudos de toxicidade aguda de *H. procumbens* relatados na literatura. As vias oral, intraperitoneal e intravenosa foram avaliadas, trazendo como resultados praticamente uma ausência de toxicidade aguda, em todas as vias ($p > 0,05$ em relação aos respectivos controles). Esse é um achado interessante, sobretudo com relação à via oral, que é preconizada pelo uso popular.

No entanto, como pode ser observado no Quadro 7, ainda são poucos os estudos toxicológicos pré-clínicos existentes para a espécie. Portanto, não há evidências suficientes sobre a toxicidade aguda da espécie, embora os dados já existentes apontem para uma atoxicidade. Também cabe destacar que nenhum dos estudos foi realizado no Brasil, portanto, não seguem a RE 90/2004 (“Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos”) (54). Dentro desse contexto, são necessários mais estudos comprobatórios que cumpram as atuais exigências da legislação brasileira para registro de fitoterápicos.

| Extrato | Modo de preparo | Via | Doses/ posologia | Metodologia | Animais | Resultado observado | Referência |
|---|---|-----------|--|--|--|--|------------|
| H25 A1 = extrato metanólico (3,7% de harpagosídeo); H25 A3 = extrato butanólico (19,5% de harpagosídeo); H25 A4 = extrato aquoso (0,2% de harpagosídeo); H25 B1 (2,7% de harpagosídeo); H25 C3 (85% de harpagosídeo); harpagosídeo isolado | N.D. | V.O. e IV | N.D. | Avaliação da toxicidade em ratos | N.D. | Os extratos metanólico, butanólico e aquoso não apresentaram sinais de toxicidade quando administrados V.O. ou IV, com DL50 > 4,64 e 1 g/kg, respectivamente. O harpagosídeo apresentou elevada toxicidade pela via IV, com DL50 de 511 mg/kg; DL50 > 4,64 g/kg por V.O. | (55) |
| Extrato aquoso | Extração a quente em sistema fechado (aparelho do tipo Soxhlet) | IP | | Determinação da DL50 e os sinais de toxicidade em 24 h. | Camundongos Balb C (<i>Mus domesticus</i>) | O tratamento com <i>H. procumbens</i> apresentou DL50 relativamente alta (1250 ± 156 mg/kg), sugerindo que o extrato apresenta baixa ou nenhuma toxicidade em camundongos. | (56) |
| Cápsulas contendo <i>H. procumbens</i> | N.D. | V.O. | 81 mg/kg (o que é 15 vezes a dose terapêutica em humanos, dessa formulação). | Avaliação de sinais de toxicidade em um período de 7 dias após a administração do extrato. Após o período, os animais foram sacrificados e os órgãos coletados para análise histopatológica, bem como o sangue coletado para análises bioquímicas e hematológicas. | Camundongos machos e fêmeas albinos Swiss, 6-7 semanas de vida, 20-25 g. | Nenhum sinal de toxicidade foi observado. | (57) |

Quadro 7 – Estudos de toxicologia aguda *in vivo* da espécie *H. procumbens*. V.O.: via oral; IP: via intraperitoneal; IV: via intravenosa; n: número de animais; N.D.: não descrito.

4.3.1.2 Toxicidade subcrônica

Em relação à avaliação da toxicidade pré-clínica subcrônica, de forma semelhante à toxicidade aguda, há falta de evidências, sendo encontrados apenas três estudos que avaliaram a toxicidade subcrônica do extrato aquoso seco de *H. procumbens*, conforme demonstrado no Quadro 8.

O primeiro estudo, realizado em 1983, mostrou que um produto comercial contendo *H. procumbens*, por via oral, não apresentou toxicidade significativa quando utilizado durante 7 ou 21 dias ($p>0,05$ em relação ao grupo controle) (58). No segundo trabalho, os animais utilizados no estudo apresentavam quadro de artrite reumatoide (59). Os resultados bioquímicos obtidos demonstraram que o extrato não apresenta sinais de toxicidade, durante os 14 dias de tratamento, uma vez que não houve alterações significativas nos níveis sanguíneos de proteína C-reativa, cortisol e albumina ($p>0,05$ em relação ao grupo controle). Além disso, os resultados histopatológicos demonstraram que há maior segurança de uso do extrato de *H. procumbens* quando comparado à indometacina, o que é interessante uma vez que o desenvolvimento de distúrbios no trato gastrointestinal (TGI), inclusive gastrite e úlceras, é comumente associado ao uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) (59). Porém, alguns problemas podem ser apontados no estudo: a via de administração (intraperitoneal) não corresponde à real via indicada; pequena amostra de animais e o tempo de duração do estudo.

No terceiro estudo, os autores observaram que o tratamento oral diário, durante 7 dias, com um produto comercial a base de *H. procumbens* não ocasionou nenhum sinal de toxicidade ($p>0,05$ em relação ao grupo controle) (57). É um resultado interessante, assim como o do estudo de Whitehouse; Znamirowska Paul (1983) (58), porém existe a necessidade de mais estudos para confirmar essa atoxicidade, bem como para que sigam as normas da legislação brasileira para esse tipo de estudo.

| Extrato | Modo de preparo | Via | Doses/ posologia | Metodologia | Animais | Resultado observado | Referência |
|--|-----------------|------|--|--|---|--|------------|
| Produto comercializado contendo extrato de <i>H. procumbens</i> | N.D. | V.O. | -7,5 g/ dia, durante 21 dias. -2g/ dia durante 7 dias. | Determinação da DL50 em camundongos | Camundongo Swiss Webster, machos e fêmeas | A DL50 foi maior que 13,5 g/ kg. Não foram observadas alterações hematológicas e alterações patológicas marcantes, após consumo de 7,5 g/ dia, V.O., de <i>H. procumbens</i> por 21 dias e sutis efeitos hepáticos não puderam ser demonstrados por meio do peso do fígado ou dos níveis das proteínas microsossomais, no citocromo P450, citocromo b5, nicotinamida adenina dinucleotídeo fostato-citocromo c redutase, etilmorfina- N-demetilase, nitroreductase ou azoreductase, após 7 dias de tratamento oral com 2g/ kg de <i>H. procumbens</i> . | (58) |
| Extrato aquoso seco de <i>H. procumbens</i> (Atos Pharmaceutical Co., Egito) | N.D. | IP | 800 mg/ kg, 3 vezes por semana, em dias alternados, por 14 dias. | Avaliação toxicológica foi realizada em animais com artrite induzida por adjuvante de Freund. O tratamento foi realizado 14 dias após a indução da artrite. Foram realizadas análises bioquímicas no sangue coletado ao final do experimento (proteína C-reativa, albumina e cortisol) e avaliação histopatológica da mucosa gástrica e duodenal. Os resultados foram comparados com a indometacina (fármaco padrão), para verificar se <i>H. procumbens</i> apresenta os mesmos efeitos adversos dos AINEs padrões. | Ratos albinos, de ambos os sexos, com 150-200 g | Avaliação bioquímica: <i>H. procumbens</i> não alterou significativamente os parâmetros analisados: causou redução mínima dos níveis sanguíneos da proteína C-reativa e cortisol e elevação não significativa de albumina sanguínea. Histopatologia: <i>H. procumbens</i> comparado com a indometacina causou poucos efeitos deletérios sobre a membrana do TGI. - <i>H. procumbens</i> : gastrite superficial (superfície da mucosa distorcida); glândulas do lúmen da zona superficial distorcidas; duodenite superficial manifestada pela perda de algumas vilosidades e ulcerações da superfície do epitélio, com células inflamatórias no interior das vilosidades do duodeno. - Indometacina: extensiva gastrite | (59) |

| Extrato | Modo de preparo | Via | Doses/ posologia | Metodologia | Animais | Resultado observado | Referência |
|--|-----------------|------|--|---|--|---|------------|
| | | | | | | superficial, na forma de perda da superfície do epitélio (ulceração) com extensiva infiltração celular inflamatória a base da úlcera e próximo às glândulas gástricas; extensiva duodenite superficial manifestada por extensiva superfície do epitélio desnudo e coberto por material protéico; sub-mucosa apresentou infiltrado inflamatório. | |
| Cápsulas contendo <i>H. procumbens</i> | N.D. | V.O. | 27 mg/ kg, uma vez por dia, durante 7 dias | Avaliação de sinais de toxicidade em um período de 7 dias após a primeira administração do extrato. Após o período, os animais foram sacrificados e os órgãos coletados para análise histopatológica, bem como o sangue coletado para análises bioquímicas e hematológicas. | Camundongos machos e fêmeas albinos Swiss, 6-7 semanas de vida, 20-25 g. | Nenhum sinal de toxicidade foi observado. | (57) |

Quadro 8 – Estudos de toxicologia subcrônica *in vivo* da espécie *H. procumbens*.

V.O.: via oral; IP: via intraperitoneal; n: número de animais; N.D.: não descrito.

4.3.1.3 Toxicidade crônica

Com relação aos estudos de toxicidade crônica, existem poucas evidências que confirmem a segurança do uso a longo prazo de *H. procumbens*. Mesmo com os estudos subcrônicos dando indícios de segurança, isso é importante de ser ressaltado uma vez que existe indicação de uso contínuo da espécie. Deve-se levar em conta que só a partir de estudos crônicos é possível prever potenciais efeitos mutagênicos ou carcinogênicos ou ainda embriotoxicidade (60). Neste sentido, apenas um estudo de toxicidade crônica foi encontrado (Quadro 9), no qual um produto comercial a base de *H. procumbens*, administrado em camundongos por via oral, apresentou ausência de toxicidade significativa (57). O estudo apresenta poucos detalhes metodológicos, dificultando sua análise crítica.

| Extrato | Modo de preparo | Via | Doses/ posologia | Metodologia | Animais | Resultado observado | Referência |
|--|-----------------|------|---|--|--|---|------------|
| Cápsulas contendo <i>H. procumbens</i> | N.D. | V.O. | 5,4 mg/kg, uma vez por dia, durante 90 dias | Avaliação de sinais de toxicidade em um período de 90 dias após a primeira administração do extrato. Após o período, os animais foram sacrificados e os órgãos coletados para análise histopatológica, bem como o sangue coletado para análises bioquímicas e hematológicas. | Camundongos machos e fêmeas albinos Swiss, 6-7 semanas de vida, 20-25 g. | Nenhum sinal de toxicidade foi observado. | (57) |

Quadro 9 – Estudos de toxicologia subcrônica *in vivo* da espécie *H. procumbens*.

V.O.: via oral; N.D.: não descrito.

4.3.1.4 Genotoxicidade

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

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.

A falta de estudos nesses três itens anteriores de avaliação dérmica pode ser justificada pela escassa utilização tópica de *H. procumbens*. A RE 90 exige ensaios adicionais de sensibilização dérmica, irritação cutânea e ocular apenas quando se trata de um fitoterápico de uso tópico. Como para a espécie *H. procumbens* o uso como anti-inflamatório está indicado por administração oral, esses tipos de estudo são, portanto, dispensáveis.

4.3.1.8 Toxicidade reprodutiva

Não foram encontrados estudos específicos nesta área. No entanto, foi encontrado relato de que o extrato de *H. procumbens* apresentou atividade ocitotóxica em animais, por isso seu uso não é recomendado durante a gravidez (38). Além disso, um estudo não-clínico *ex vivo* mostrou que o extrato de *H. procumbens* apresenta atividade uterotônica e espasmogênica, ao induzir a contratilidade de preparados musculares de tubas uterinas, o que também pode ser relacionado ao uso popular da espécie como indutor e/ou acelerador de trabalho de parto, bem como para a expulsão de placenta retida em mulheres grávidas (61).

Dessa forma, estudos de toxicidade reprodutiva se fazem necessários para confirmar e garantir a segurança do uso da espécie. Sugere-se, portanto, atentar para o risco da utilização desses extratos durante a gravidez, sobretudo, nas fases iniciais.

4.3.2 Estudos farmacológicos

Vários estudos farmacológicos, tantos clínicos quanto não-clínicos, são encontrados na literatura para a espécie *H. procumbens*. Já é bastante difundida a sua eficácia em condições inflamatórias, de modo que a grande maioria dos estudos está relacionada à atividade anti-inflamatória e/ou analgésica.

A seguir, são descritos os principais estudos farmacológicos pré-clínicos encontrados na literatura para espécie *H. procumbens*.

4.3.2.1 Ensaio *in vitro*

No Quadro 10 serão apresentados os ensaios farmacológicos pré-clínicos *in vitro* realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|---------------------------|---------------------------------|--|------------------|---|--|------------|
| Anticâncer | N.D. | Extrato metanólico | 1, 5 e 10 µg/ mL | Avaliação do efeito sobre a expressão de COX-2 induzida por TPA em células MCF10A, uma vez que a expressão elevada dessa enzima tem sido implicada na patogênese e progressão de carcinogênese. | O extrato inibiu a expressão da COX-2 nas células MCF10A. | (62) |
| Antiagregante plaquetária | N.D. | Extrato aquoso (decoção) por 3 min. O extrato obtido foi clarificado por centrifugação (2000 g) por 10 min e liofilizado. | 1 mg/ mL | Agregação plaquetária em PRP induzida pela adição de 10 µM de ADP. | Apresentou baixo percentual de inibição da agregação plaquetária (7,2±2,3%). | (63) |
| Anticolinesterásica | Cultura de raízes transformadas | Extratos metanólicos brutos da biomassa e das raízes transformadas. Também foram testadas as frações enriquecidas de feniletanóides, obtidas de cada extrato bruto por meio de uma coluna de poliamida 6, sendo as frações eluídas com porções de água destilada e metanol (25, 50, 75 e 100% de metanol). O composto majoritário, verbascosídeo, foi isolado aplicando as frações em colunas Merck Lobar (RP-8 e RP-18), e eluídas com um gradiente de água/ metanol. | 50-1000 µg/ mL | Método de Ellman, usando acetilcolina e butirilcolina como substratos para avaliar as atividades inibitórias de acetilcolinesterase e butirilcolinesterase, respectivamente. | As frações enriquecidas apresentadas atividade anticolinesterásica e antibutirilcolinesterásicas significativamente altas. O verbascosídeo isolado também foi ativo, porém um pouco menos que a fração enriquecida. Nenhum dos extratos brutos apresentou atividade. Esses resultados sugerem que o enriquecimento é essencial para a obtenção da atividade, existindo inclusive relatos de que o verbascosídeo, assim como alguns outros feniletanóides, apresentam atividades neuroprotetoras, o que pode justificar o resultado. Os autores sugerem que essas frações enriquecidas em | (64) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|--|-----------------|--|----------------------|---|---|------------|
| | | | | | feniletanóides podem ser atrativas para fins comerciais tendo em vista sua atividade farmacológica. | |
| Antienzimática (enzimas do citocromo P450) | Raíz | Extrato hidroalcoólico (80% metanol): 2,5 g das raízes foram extraídos com 10 mL de solvente (não especifica o solvente utilizado), em banho de ultrassom, por 30 min, a temperatura de 40°C. | 20, 100 e 500 µg/ mL | Inibição sobre as enzimas CYP, em um sistema enzima/substrato, para subtipos das enzimas CYP e quantificação dos metabólitos, por CLAE, após extração automatizada. | <i>H. procumbens</i> inibiu enzimas do sistema CYP (1A2, 2C8, 2C9, 2D6, 3A4) com IC50 de 121 a 1044 µg/mL, enzimas envolvidas na metabolização de alguns fármacos. | (65) |
| Anti-inflamatória | Raíz | <i>H. procumbens</i> : extrato aquoso (1:10, p/v), preparado por extração exaustiva em multiestágios (85-95°C) por 20 h. <i>H. zeyheri</i> (usado para comparação): extrato aquoso preparado por maceração durante 8 h (90°C). Também foram testadas as frações (acetato de etila e aquosa) e os compostos isolados do extrato de <i>H. procumbens</i> *: 8-cinamoil mioporosídeo, 8-feruloilharpagida, 8-p-cumarilharpagida (0,4/4,86%), pagosídeo (0,34/0,75%), 6'-o-acetilacteosídeo (0,9%/ | N.D. | Inibição da enzima elastase neutrofílica | Extrato de <i>H. procumbens</i> (IC50 = 540 µg/ mL) foi duas vezes mais ativo que <i>H. zeyheri</i> (IC50 = 1012 µg/ mL). A fração acetato de etila (IC50 = 50 µg/ mL) apresentou maior atividade que a fração residual aquosa (IC50 = 638 µg/ mL). Devido às quantidades obtidas dos compostos isolados, apenas 8 compostos foram avaliados: 6'-O-acetilacteosídeo (IC50 = 47µg/mL) foi o composto mais ativo, seguido por pagosídeo (IC50 = 154 µg/ mL), 8-p-cumarilharpagida (IC50 = 179 µg/ mL) e isoacteosídeo (IC50 = 179 µg/ mL); ácido caféico presente apenas em traços (IC50 = 86 µg/ mL); os compostos harpagosídeo, acteosídeo, ácido cinâmico | (42) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|--|--|--|---|------------|
| | | não detectado), harpagosídeo (2,35/1,35%), 8-feruloilharpagida, acteosídeo (0,68/0,89%), isoacteosídeo (2,0/ 3,95%) e os ácido cinâmico (0,09/ 0,03%) e caféico (0,005%/ traços). *em parênteses, o teor do composto nos extratos de <i>H. procumbens/ H. zeyheri</i> , respectivamente, quantificados por CLAE. | | | apresentaram IC ₅₀ >500 µg/mL. A maior atividade de 6'-O-acetilacteosídeo comparada com acteosídeo, pode estar relacionada a lipossolubilidade da molécula. | |
| Anti-inflamatória | Raíz | Com exceção do extrato 3 (material fresco), os demais extratos foram preparados com raízes secas e branqueadas. Não há detalhes sobre o modo de preparação dos extratos. -Extrato 1: extrato aquoso concentrado e solubilizado em etanol; o precipitado formado foi removido e o extrato foi seco. -Extrato 2: similar ao 1.: solubilizado em <i>n</i> -butanol (saturado em água); filtrado e extraído com água (saturada com <i>n</i> -butanol); fase <i>n</i> -butanólica foi separada e concentrada. | -Extrato 1: 0,1/ 0,25/ 0,3/ 0,6 e 1 mg/ mL; -Extrato 2: 0,1/ 0,2/ 0,3 mg/ mL. | Células mesangiais de ratos estimuladas por IL-1β. -Expressão de iNOS: <i>Northern blot</i> e <i>Western blot</i> ; -Determinação de NO: Reação de Griess. -Ensaio de transfecção e gene repórter luciferase. | Extratos 1 e 2 (alta concentração de harpagosídeo) diminuíram os níveis de NO em células mesangiais de ratos, estimuladas por IL-1β pela inibição da expressão de mRNA de iNOS devido a inibição da translocação de NF-κB. Os extratos de <i>H. procumbens</i> com altas concentrações de harpagosídeo são efetivos em inibir a expressão de iNOS, mas harpagosídeo na forma isolada não apresentou atividade. Extrato 1 e 2: inibiram a formação de nitrito em concentrações superiores a 0,1 mg/ mL. O extrato 1 apresentou atividade similar ao extrato 2, em concentração 2 | (47) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------|-----------------|--|--------------|-------------|---|------------|
| | | <p>-Extrato 3: preparado com água.</p> <p>-Extrato 4 e 5: preparados com água (60%) e etanol (60%), respectivamente.</p> <p>Também foi testado o harpagosídeo isolado do extrato aquoso.</p> <p>Determinação da concentração de harpagosídeo nos extratos (não especificado método utilizado):</p> <p>-Extrato 1: 8,9%;</p> <p>-Extrato 2: 27%;</p> <p>-Extrato 3: 1,8%;</p> <p>-Extrato 4: 1,9%;</p> <p>-Extrato 5: 2,0%.</p> | | | <p>vezes maior. Os extratos 1 e 2 também inibiram a expressão de mRNA de iNOS e a nível protéico. Para confirmar essa ação, foi observado que os extratos interferem na ativação da transcrição de gene.</p> <p>Extrato 3 e 4 em concentrações até 1 mg/ mL não inibiram a formação de nitrito e o extrato 5 apresentou toxicidade em concentrações maiores que 0,1 mg/ mL. Harpagosídeo inibiu a formação de nitrito (0,3 e 1 mg/ mL). Na concentração de 1 mg/ mL, a inibição foi de 80-100%. No entanto, 0,09 mg/ mL de <i>H. procumbens</i> (concentração de harpagosídeo em 1 mg/ mL do extrato 1) não inibiu a expressão de iNOS. Os autores sugerem que metabólitos do harpagosídeo e/ou outros constituintes de <i>H. procumbens</i> contribuem para a atividade anti-inflamatória, mas o extrato sem a presença de harpagosídeo (1 mg/ mL) também inibiu a formação de nitrito e a expressão de iNOS em torno de 50%. Quando o extrato sem harpagosídeo foi suplementado com 90 µg/ mL de harpagosídeo apresentou atividade similar ao extrato bruto. Os extratos 1 e 2, o</p> | |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|--|--|--|---|------------|
| | | | | | extrato sem a presença de harpagosídeo e harpagosídeo isolado foram avaliados sobre a translocação de NF-κB. Com exceção do harpagosídeo, os extratos inibiram parcialmente a translocação de NF-κB para o núcleo. | |
| Anti-inflamatória | N.D. | Produto a base de <i>H. procumbens</i> comercializado no Canadá | <i>H. procumbens</i> : 1, 10, 100, 1000, 10000 e 100000 µg/ mL; Controle positivo: AAS: 50, 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/ mL e indometacina: 0,05/0,10/0,25/0,50/0,75 e 1 µg/ mL | Inibição da enzima prostaglandina sintase | O extrato de <i>H. procumbens</i> , em doses até 10000 µg/mL, não inibiu a atividade da enzima prostaglandina sintase. Por outro lado, AAS e indometacina, causaram 50% de inibição da enzima nas concentrações de 0,316 e 437 µg/mL, respectivamente. | (58) |
| Anti-inflamatória | N.D. | Extrato hidroetanólico de <i>H. procumbens</i> (etanol 60%) (Steiner <i>Harpagophytum procumbens</i> extract 69). Foi determinado por CLAE como 2,9% de harpagosídeo, de acordo com método proposto pela Farmacopéia Européia (suplemento 1999). Harpagida foi isolado e identificado por RMN e harpagosídeo foi adquirido comercialmente (Roth, Karlsruhe, Alemanha). | Extrato: 1, 10, 100 e 1000 µg/ mL harpagosídeo e harpagida: 0,01/0,1/1 e 10 µg/ mL; Controle positivo: tepoxalina. | Monócitos humanos incubados com as amostras por 30 min e tratados com LPS (10 ng/mL) por 24 h: avaliação dos níveis de IL-6, TNF-α, IL-1β e PGE ₂ . | O tratamento com o extrato SteiHap 69 inibiu a liberação de TNF-α de monócitos humanos de maneira dose dependente. Na concentração de 10 µg/mL inibiu 30% a síntese de TNF-α e 1000 µg/mL causou inibição total (IC ₅₀ ≈ 100 µg/mL). Harpagosídeo e harpagida não inibiram a síntese de TNF-α (concentrações > 10 µg/mL). O extrato também diminuiu os níveis das citocinas IL-6 e IL-1β e de PGE ₂ somente em concentrações > 100 µg/mL. | (46) |
| Anti-inflamatória | N.D. | Extrato aquoso obtido por extração a quente em | Extratos: 0,0001/ 0,005/ 0,01/ 0,05/ 0,1/ 0,5 e 1 | Em células de fibroblastos de camundongos L929 | -Viabilidade celular: <i>H. procumbens</i> não apresentou | (66) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|------------------------------------|--|---------------------------------------|---|--|------------|
| | | sistema aberto (decoção a 80°C durante 12 h). | mg/mL. Controle positivo: ciclofilina | foram avaliados: -viabilidade celular (ensaio MTT) -expressão de mRNA de COX-1 e 2 e iNOS (RT-PCR) -Síntese de PGE ₂ e NO | citotoxicidade em linhagens de células de fibroblastos L929. -expressão de mRNA: o tratamento com 1 mg/mL de <i>H. procumbens</i> suprimiu a expressão de mRNA de COX-1 em células estimuladas com 5 µg/mL de LPS, por 24 h. A expressão de mRNA de COX-2 e iNOS foi significativamente diminuída quando as células foram tratadas com 0,1 e 1,0 mg/mL de <i>H. procumbens</i> . -Síntese de PGE ₂ e NO: <i>H. procumbens</i> suprimiu a síntese de PGE ₂ e NO nas concentrações de 0,1 e 1,0 mg/mL. Os resultados sugerem que o efeito anti-inflamatório e analgésico de <i>H. procumbens</i> está associado à supressão da expressão de COX-2 e iNOS, resultando na inibição da síntese de PGE ₂ . | |
| Anti-inflamatória | Raízes tuberosas secundárias secas | Extrato metanólico preparado por agitação a temperatura ambiente (procedimento repetido duas vezes). A partir desse extrato, foi isolado o harpagosídeo. | 0,1-200 µM | Ensaio de transfecção e luciferase de NF-κB; NO; expressão de mRNA de COX-2 e iNOS; expressão de proteína e imunoblotting/ células RAW 264,7 (linhagem celular de macrófagos de camundongos) e HepG2 (linhagem celular de | Harpagosídeo reduziu a liberação de NO em células estimuladas por LPS de maneira dose-dependente (IC50 = 39,8 µM) e não afetou a liberação de NO em células não estimuladas. Para comprovar se a inibição da liberação de NO ocorre por inibição da iNOS em afetar a | (45) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|--|--------------|---|--|------------|
| | | | | carcinoma humano hepatocelular) | viabilidade celular foi avaliado a citotoxicidade (>90%). Harpagosídeo (200 µM) inibiu a indução da expressão de mRNA de COX-2 e iNOS e proteínas em células estimuladas, indicando que o composto interfere na síntese dessas proteínas a nível transcricional e translacional. | |
| Anti-inflamatória | N.D. | Extrato hidroetanólico (etanol 80%) (não especifica o modo de preparação do extrato). As frações foram obtidas por meio de partição líquido-líquido (frações heptano, acetato de etila, butanol e residual aquosa). Também foram avaliados o extrato WS1531 (extrato patenteado) e uma fração do extrato WS1531 sem a presença de alguns compostos. Concentração de harpagosídeo (não informada metodologia): Extrato hidroetanólico= 2,1% Frações: -Heptano=1,3%; -Acetato de etila= 19,95%; -Butanólica=19,5%; | N.D. | Avaliação da biosíntese de cisteinil-leucotrienos (via da lipooxigenase) e tromboxano em amostras de sangue humano, induzidos por cálcio ionofóro A23187. | A fração residual aquosa não apresentou atividade; já o extrato WS1531 apresentou um efeito inibitório sobre a síntese de eicosanóides maior que o composto harpagosídeo na forma isolada. Por outro lado, uma fração do extrato WS1531, sem a presença de alguns compostos, causou um aumento da biossíntese de leucotrienos e tromboxano. As frações acetato de etila e butanólica causaram uma significativa inibição da biossíntese de eicosanóides, na qual a fração acetato de etila apresentou maior atividade sobre a síntese de leucotrienos e a fração butanólica sobre a síntese de tromboxano. Os autores sugerem que a atividade de <i>H. procumbens</i> esteja relacionada ao conteúdo de harpagosídeo, mas também que outros compostos possam | (67) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|---|--------------|---|---|------------|
| | | -Residual aquosa=0% Extrato WS1531=7,3%. Fração do extrato WS1531 sem a presença de alguns compostos=0,36%. | | | estar envolvidos. | |
| Anti-inflamatória | Tubérculos | Extrato etanólico. | 50 µg/mL | Mecanismo de ação anti-inflamatório investigado por meio de <i>Microarray</i> (“gene chips”). Células THP-1 foram incubadas com o extrato por 1 h e depois estimuladas com 0,1 µg de LPS/ mL, sendo então incubadas durante 18 h. O mRNA isolado foi transcrito para cDNA, marcado e, em seguida, submetido ao <i>Microarray</i> . Avaliou-se a expressão dos genes reponsáveis por doenças inflamatórias ou doenças reumáticas, em particular alguns genes que são regulados pela via TLR-4. | O extrato mostrou efeito antiinflamatório através da inibição da transcrição do NF-κB, TNF-α, CCL2 e MMP9. Os autores concluem que o mecanismo de ação do extrato não é por uma via anti-inflamatória distinta, mas sim pela moderada inibição de vários alvos inflamatórios. | (68) |
| Anti-inflamatória | N.D. | Extrato etanólico 60%, Bioforce AG | 0-250 µg/ mL | Avaliação do efeito da ativação metabólica externa (com fração microssomal S9 de fígado de ratos) do extrato sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias por células monocíticas THP-1, <i>in vitro</i> . As células foram estimuladas com 25 µg/mL de LPS. | O extrato inibiu de forma dose dependente a secreção de TNF-α, com IC50 de 98 µg/mL. A secreção de IL-8 e IL-6 foi moderadamente inibida em cerca de 25% nas concentrações de 50-100 µg/mL. O efeito inibitório sobre a liberação de TNF-α em células THP-1 foi aumentado após a indução metabólica. Os | (69) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|--|---------------|--|--|------------|
| | | | | | dados sugerem que o extrato bruto tem propriedades inibitórias frente citocinas pró-inflamatórias e que a ativação metabólica parece desempenhar um papel importante neste efeito. | |
| Anti-inflamatória | N.D. | Extrato hidroalcoólico bruto foi obtido apartir da mistura de um pó contendo 1,78% de harpagosídeo (Pro-formula, SP, Brasil) com etanol 60%. O extrato bruto foi fracionado por cromatografia flash sucessivamente (monitorando o processo por meio de CCD e CLAE), resultando ao final nas seguintes frações para teste: -Fração A: 88,8% de harpagosídeo. -Fração B: 56,1% de harpagosídeo + <i>pool</i> de iridóides. -Fração C: 2,7% de harpagosídeo + 85,1% de ácido cinâmico livre. | 30-300 µg/ mL | Avaliação da influência do extrato bruto e frações sobre a atividade da COX-1, COX-2 e produção de NO, no ensaio de sangue total estimulado por LPS. A atividade COX-1 foi quantificada pela mensuração da produção de TXA ₂ , a atividade COX-2 pela produção de PGE ₂ e a produção de NO avaliada pela reação de Griess. | O extrato bruto não foi capaz de inibir a COX-1 nem a COX-2, enquanto que a fração contendo o maior teor de harpagosídeo (fração A) foi capaz de inibir indistintamente COX-1 e COX-2 (37,2 e 29,5%, respectivamente) e inibir bastante significativamente a produção de NO (66%). Em contraste, foi observado que a fração contendo um <i>pool</i> de iridóides (fração B) aumentou a atividade COX-2 e não alterou nem COX-1 nem a produção de NO. A fração contendo ácido cinâmico (fração C) foi capaz de reduzir apenas a produção de óxido nítrico (67%). Com esses resultados, os autores sugerem que a fração enriquecida em harpagosídeo é a principal responsável pelo efeito de <i>H. procumbens</i> na atividade dessas enzimas, enquanto que outros componentes poderiam estar antagonizando ou | (50) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|--------------------|---|---|---|--|------------|
| | | | | | <p> aumentando a síntese de mediadores inflamatórios, modulando assim a atividade do extrato bruto.</p> | |
| Anti-inflamatória | Raízes secundárias | <p> Extrato etanólico. Raízes secundárias pulverizadas (300 g) foram extraídas com etanol 50% (3 L, duas vezes) por 2 h sob refluxo. O extrato coletado foi concentrado sob pressão reduzida seguida de liofilização (rendimento = 61,4%). Harpagosídeo foi isolado (rendimento de 0,4%) e identificado por meio de RMN.</p> | <p> Extrato bruto: 50-500 µg/mL. Harpagosídeo: 50-200 µM</p> | <p> Avaliação do efeito sobre a expressão de das citocinas inflamatórias IL-1β, IL-6 e TNF-α em células de macrófagos de camundongos (células RAW 264,7) estimuladas por LPS.</p> | <p> O extrato bruto suprimiu, de forma concentração-dependente, a produção de todas as citocinas avaliadas. O harpagosídeo também apresentou efeito significativo, o que indica que esse composto é um dos princípios ativos de <i>H. procumbens</i>.</p> | (70) |
| Anti-inflamatória | Tubérculos | <p> Extrato etanólico. O pó dos tubérculos secos (4 kg) foi extraído com etanol 80% quente sob refluxo (40 L x 5, por 3 h), seguido de remoção do solvente a vácuo, para o rendimento de 463 g de extrato. O extrato seco foi então suspenso em água e extraído sucessivamente em acetato de etila (3 L) e <i>n</i>-butanol (3 L). Os compostos 1 (harpagosídeo) e 2 (pagida) foram isolados da fração <i>n</i>-butanol. Os compostos</p> | ND | <p> Avaliação da inibição do burst oxidativo em neutrófilos estimulados com PMA, por meio de análise por quimioluminescência.</p> | <p> Os compostos 3, 7 e 8 apresentaram significativa atividade inibitória contra o burst oxidativo de neutrófilos estimulados por PMA, enquanto que os compostos 4, 5 e 6 apresentaram apenas baixa atividade. A atividade desses compostos não tem relação com citotoxicidade, uma vez que todos eles não apresentaram citotoxicidade significativa. Os compostos 1 e 2 não apresentaram efeito detectável.</p> | (39) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|---------------------------------|---|--|---|--|------------|
| | | 3 (2 α ,3 α -dihydroxyurs-12:20(30)-dien-28-oic acid), 4 (ácido pigênico A), 5 (ácido corosólico), 6 (ácido euscáfico), 7 (ácido pigênico B) e 8 (2 α ,3 α ,24-trihydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid) (todos são terpenóides conhecidos) foram isolados da fração acetato de etila. A pureza dos compostos foi avaliada por CLAE e RMN, como maior de 95%. | | | | |
| Anti-inflamatória | Cultura de raízes transformadas | Extratos metanólicos. Porções (50 g) de suspensões celulares da biomassa celular liofilizada foram individualmente homogeneizadas com areia do mar usando gral e pistilo, depois extraído por incubação em metanol por 48 h. Os extratos resultantes da biomassa celular e das raízes transformadas foram designados CME-CB e CME-HR, respectivamente, sendo posteriormente filtrados e secos por evaporação a vácuo, resultando em | 500 μ g/ mL do extrato ou 250 μ g/ mL dos compostos isolados | Avaliação do efeito sobre a liberação de citocinas (TNF- α e IL-6) e NO e sobre a expressão de COX-1 e COX-2 em macrófagos peritoneais murinos estimulados por LPS. Além disso, o extrato e os compostos isolados foram adicionados a soro humano para investigar seus efeitos na via clássica de ativação do sistema complemento. | Os resultados indicam que os extratos brutos e o verbascosídeo puro (o constituinte ativo majoritário) apresentaram fortes propriedades anti-inflamatórias, comparáveis ou mesmo maiores que as do harpagosídeo (que é o principal constituinte ativo presente nos tubérculos intactos de <i>H. procumbens</i>). Assim, os autores sugerem o potencial farmacológico das culturas transformadas de <i>H. procumbens</i> . | (71) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|---|--|--|--|------------|
| | | 23,4 e 20,13 g de resíduo, respectivamente. Por meio de sucessivas cromatografias em coluna, os feniletanóides glicosilados verbascosídeo, leucosceptosídeo A, β -OH-verbascosídeo e martinósídeo, foram purificados e estruturalmente identificados por RMN e CL-EM. | | | | |
| Anti-inflamatória | N.D. | <i>H. procumbens</i> seco foi pulverizado e metanol foi adicionado a uma concentração final 100 mg de pó/ mL de metanol. O material foi vortexado por 5 min seguido de agitação a 400 rpm por 5 min a temperatura ambiente. Em seguida, o material foi centrifugado a 8000 rpm por 5 min e a fase metanólica foi decantada e concentrada a 35°C sob uma corrente suave de nitrogênio, resultando num extrato bruto resinoso. Harpagosídeo e harpagida foram identificados no extrato por meio de CCD. | Extrato bruto: 2 mg Harpagosídeo: 0,2 mg e 0,006 mg. Harpagida: 0,2 mg e 0,002 mg. | Inibição enzimática da COX-2, utilizando ácido aracônico como substrato. | O extrato bruto demonstrou direta inibição (68%) da enzima COX-2 (IC ₅₀ = 0,1046 mg/mL). A IC ₅₀ do harpagosídeo foi 104,1 mg/mL, enquanto para a harpagida foi 0,1186 mg/mL. A concentração de harpagosídeo e harpagida equivalente à encontrada no extrato (3 e 1%, respectivamente) contribuiu com 1,5 e 13% da inibição apresentada pelo extrato bruto, respectivamente. Os autores sugerem que a inibição do extrato seja devido a um sinergismo de vários componentes bioativos, incluindo harpagida e harpagosídeo. | (72) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|--|---|---|--|------------|
| Anti-inflamatória | N.D. | Comprimidos revestidos (DEV4.4-5.0:1, Pascoe®-Agil, 240 mg) contendo extrato hidroalcoólico obtido da extração hidroalcoólica de Radix Harpagophyti procumbens. 2,9% de harpagosídeo. | 10-500 µg/ mL | Avaliação do efeito sobre a expressão e liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1β e TNF-α e PGE ₂) em monócitos humanos estimulados por LPS e estudo das vias de sinalização intracelular envolvidas na inflamação. | Todas as citocinas analisadas foram inibidas pelo extrato de forma dose-dependente. Os resultados do estudo das vias de sinalização envolvidas indicam que o extrato inibe a indução da expressão de genes pró-inflamatórios, possivelmente bloqueando a via AP-1. | (73) |
| Antimicrobiana | N.D. | Extrato seco de <i>H. procumbens</i> (Finzelberg-Andernach, Alemanha), com teor de harpagosídeo de 2,6%. Também foi testado harpagosídeo comercial (Roth, Karlsruhe, Alemanha) | <i>H. procumbens</i> : 100, 20, 10, 2, 1, 0,4 e 0,2 µg/ mL. Harpagosídeo: 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 e 1 µg/ mL. | Avaliação da MIC e da MBC contra 18 bactérias aeróbicas, 9 anaeróbicas, 2 <i>Candida</i> e 1 <i>Malassezia furfur</i> isolada | O extrato de <i>H. procumbens</i> foi um dos extratos mais eficientes dentre os testados contra as bactéria aeróbicas e contra <i>Candida</i> , inibindo o crescimento de todas bactérias aeróbicas testadas, além de <i>C. krusei</i> . Por outro lado, o extrato apresentou atividade frente apenas duas bactérias anaeróbicas: <i>Fusobacterium nucleatum</i> e <i>Porphyromonas gingivalis</i> . Já o composto harpagosídeo, na forma isolada, não apresentou atividade. | (74) |
| Antioxidante | Raíz | Extrato aquoso das raízes secas e branqueadas, concentrado e solubilizado em etanol; o precipitado formado foi removido e o extrato foi seco. Teor de harpagosídeo: 8,9% (método de quantificação não descrito). O | 0,1-100 µg/ mL | Quimioiluminescência pela autooxidação de um homogenato de lipídios do cérebro de camundongos. | O extrato inibiu a autooxidação de modo concentração-dependente e o composto harpagosídeo não apresentou atividade. | (47) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|--------------|-----------------|--|---------------|---|---|------------|
| | | harpagosídeo isolado também foi testado. | | | | |
| Antioxidante | Raíz tuberosa | Extrato de <i>H. procumbens</i> (Bioforce AG, Suíça, teor não menor que 1,2% de harpagosídeo), tintura de <i>H. procumbens</i> (Bioforce UK Ltd) e harpagosídeo isolado comercial. | 1-1000 µg/ mL | Ensaio DPPH; geração de nitrato em células (macrófagos RAW 264,7) estimuladas por LPS; geração de ânion superóxido e atividade MPO em neutrófilos humanos estimulados por n-formil-metionil-leucil-fenilalanina e ácido araquidônico; quantificação de neutrófilos e viabilidade celular (azul de tripano). | O extrato e a tintura inibiram a formação de radicais DPPH de maneira concentração-dependente. Ambas preparações foram inativas em concentrações de 0,001 e 1 µg/mL. A máxima atividade foi observada em 1000 µg/mL, na qual extrato e tintura apresentaram capacidade de seqüestro de 91,75 ±1,4% e 89,95±2,80%, respectivamente. Harpagosídeo apresentou atividade antioxidante mínima, na máxima concentração testada (1000 µg/mL). Extrato e tintura, em todas concentrações, nos diferentes tempos de tratamento, diminuíram os níveis de nitrito, com atividade máxima em 1000 µg/mL, exceto, o extrato (300 µg/mL, 1 h de pré-tratamento), que não apresentou atividade. A viabilidade celular foi > 93%. Ambas preparações, em todas concentrações, não apresentaram atividade sobre a geração de ânion superóxido produzido por neutrófilos estimulados; diminuíram os níveis de mieloperoxidase em todas as concentrações, exceto | (75) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---------------------------------|--|---|---|---|------------|
| | | | | | a tintura (300 µg/mL) que não apresentou atividade e inibiu a atividade de MPO nas concentrações de 500 e 1000 µg/mL. | |
| Antioxidante | Cultura de raízes transformadas | Extratos metanólicos brutos da biomassa e das raízes transformadas. Também foram testadas as frações enriquecidas de feniletanóides, obtidas de cada extrato bruto por meio de uma coluna de poliamida 6, sendo as frações eluídas com poções de água destilada e metanol (25, 50, 75 e 100% de metanol). O composto majoritário, verbascosídeo, foi isolado aplicando as frações em colunas Merck Lobar (RP-8 e RP-18), e eluídas com um gradiente de água/metanol. | 50-1000 µg/ mL | Avaliação do potencial redutor de ferro e atividade quelante de íons ferro | Extratos brutos, frações e composto isolado apresentaram significativa ação redutora de íons ferro, sendo o extrato bruto o menos ativo, o que indica que são os compostos feniletanóides que são os principais responsáveis pela capacidade redutora do ferro. Os extratos brutos apresentaram forte capacidade quelante de íons ferro, enquanto que a fração enriquecida e o verbascosídeo não, o que sugere que outros compostos presentes no extrato bruto é que são responsáveis por essa atividade. | (64) |
| Anti-plasmódica | Raízes | Extrato éter de petróleo: 50 g das raízes secas e moídas* foi colocado em contato com 500 mL de éter de petróleo e deixado sob agitação por 24 h. Por meio de um fracionamento biomonitorado, foi obtido dois diterpenos: | Atividade anti-plasmódica: 100 a 0,2 µg/ mL Controle positivo: difosfato de cloroquina. Citotoxicidade: 100 µg/ mL a 1 ng/ mL. Controle positivo: hidrocloreto de daunorubicina. Efeito sobre a forma dos | Atividade anti-plasmódica: Cepa de <i>P. falciparum</i> sensível (D10) e cepa resistente (K1) a cloroquina. Citotoxicidade: células CHO e hepatoma humano (HepG2): ensaio MTT para avaliar a viabilidade celular. Efeito sobre a forma dos eritrócitos: | Por meio de uma triagem inicial foi observado que dentre os extratos aquoso, metanólico e éter de petróleo (EP), o último foi o único que apresentou atividade anti-plasmódica (IC ₅₀ = 13,57 µg/ mL). A atividade de extratos preparados a partir da planta cultivada foi mais | (40) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------|-----------------|--|---|---|--|------------|
| | | <p>(+)-8,11,13-totaratrieno-12,13-diol (1) e (+)-8,11,13-abietatieno-12-ol (2).</p> <p>*neste trabalho, foram preparados extratos com a espécie silvestre e com a espécie cultivada.</p> | <p>eritrócitos: 100 a 0,2 µg/mL (281-0,56 µM).</p> <p>Controle positivo: hidrocloreto de clorpromazina.</p> | <p>microscopia de contraste de fase de luz.</p> | <p>significante que da planta silvestre e apresentou uma IC₅₀ que variou de 5,8 a 6,6 µg/mL. Os compostos 1 e 2 apresentaram atividade antiplasmódica contra as cepas D10 e K1 e não apresentaram resistência cruzada com a cloroquina. O composto 1 foi igualmente ativo frente as duas cepas, já 2 foi levemente mais ativo contra a cepa K1. O extrato EP (IC₅₀>100) e os compostos 1 (IC₅₀ = 51,45 (CHO) e 59,01 (HepG2)) e 2 (IC₅₀= 51,69 (CHO) e 43,71 (HepG2)), apresentaram não serem tóxicos para as células de CHO e HepG2, nas concentrações necessárias para inibir o crescimento do parasita. Os valores do índice de seletividade demonstraram que ambos compostos são em média 66 vezes mais ativos contra <i>P. falciparum</i> em comparação a células mamárias, indicando certa seletividade. Em relação ao efeito sobre a forma dos eritrócitos, 1 e 2 não alteram a forma dos eritrócitos nas concentrações necessárias para inibir o parasita. Em concentrações 100 vezes maiores que os valores de</p> | |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------|-----------------|---------------------------|--------------|-------------|--|------------|
| | | | | | IC50, também se manteve a forma discóide do eritrócito e não foram observadas alterações morfológicas. Além disso, não foi observada lise de eritrócitos em concentrações de 100 µg/ mL. Cabe destacar, que o extrato EP preparado a partir das partes aéreas e das sementes foram desprovidos de atividade. | |

Quadro 10 – Estudos *in vitro* de atividade farmacológica pré-clínica da espécie *H. procumbens*. N.D.: não descrito.

Assim como no uso popular, a principal parte da planta utilizada nos estudos farmacológicos foram as raízes, não sendo encontrado nenhum estudo que avalie outra parte da planta, exceto pelos estudos em que a parte da planta não é especificada, mas que, no entanto, pode-se supor tratar-se das raízes, tendo-se em vista a grande hegemonia de estudos com esse farmacógeno. Vários dos estudos levantados mostram a avaliação da atividade farmacológica tanto do extrato bruto quanto de compostos isolados, principalmente o harpagosídeo, visando correlacionar a atividade biológica com os compostos isolados obtidos.

De forma geral, a maior parte dos trabalhos *in vitro* (assim como a maioria dos demais estudos farmacológicos da planta), foi conduzida para avaliação de atividade anti-inflamatória, devido ao seu largo emprego popular no tratamento, principalmente, de doenças inflamatórias. Para os demais possíveis efeitos do extrato de *H. procumbens* foram encontrados somente estudos preliminares. Nos estudos *in vitro*, os autores buscaram elucidar o mecanismo de ação anti-inflamatório de diferentes extratos de *H. procumbens*, por meio da avaliação da atividade dos compostos, considerados majoritários na espécie, na forma isolada.

Whitehouse; Znamirowska; Paul (1983) (58) observaram que o extrato obtido a partir de um produto comercial a base de “garra-do-diabo” não inibiu a atividade da enzima prostaglandina sintase. Baghdikian et al. (1997) (21) avaliaram a atividade de vários compostos isolados obtidos de uma fração mais ativa das raízes de *H. procumbens*, sobre a elastase de neutrófilos humanos. O composto mais ativo foi 6'-*O*-acetilacteosídeo, seguido por pagosídeo, 8-*p*-cumarilharpagida e isoacteosídeo, enquanto que o composto harpagosídeo não apresentou atividade (21). Por outro lado, Fiebich et al. (2001) (46) observaram que o extrato hidroetanólico (etanol 60%) das raízes de *H. procumbens* inibiu os níveis de TNF- α , IL-6, IL-1 e PGE₂, no entanto, os compostos harpagosídeo e harpagida não apresentaram atividade. Em um estudo mais recente foi mostrado que um extrato etanólico padronizado de *H. procumbens* é capaz de inibir a produção de IL-1 β , IL-6, PGE₂ e TNF- α , e que o extrato inibe a expressão de genes pró-inflamatórios possivelmente bloqueando a via AP-1 de sinalização celular (73). Inaba et al. (2010) (70) também observaram que o extrato etanólico das raízes secundárias de *H. procumbens*, bem como o harpagosídeo, foram capazes de diminuir os níveis de TNF- α , IL-6, IL-1 β em macrófagos de camundongos estimulados *in vitro* com LPS. Jang et al. (2003) (66) também observaram que o extrato aquoso das raízes de *H. procumbens* inibiu a expressão de mRNA de COX-1, mas de forma mais significativa atuou sobre a expressão de COX-2 e iNOS e sobre a síntese de PGE₂ e NO. Posteriormente, foi apresentado que extratos com maior concentração de harpagosídeo apresentaram atividade

mais significativa sobre a inibição dos níveis de NO, devido a inibição da expressão de mRNA de iNOS. No entanto, harpagosídeo na forma isolada não apresentou atividade sobre os níveis de NO, mas inibiu a formação de nitrito (66). Cabe destacar, que um extrato preparado sem a presença de harpagosídeo, também inibiu a formação de nitrito e inibiu em torno de 50% a expressão de iNOS (47). Huang et al. (2006) (45), observaram que harpagosídeo inibe os níveis de NO por meio da inibição da indução da expressão de iNOS e COX-2. Loew et al. (2001) (67) buscaram correlacionar a atividade anti-inflamatória com o teor de harpagosídeo e, por isso, obtiveram diferentes extratos que foram avaliados sobre a biossíntese de cisteinil-leucotrienos e tromboxano. As frações acetato de etila e butanólica, que contêm os maiores teores de harpagosídeo (em média 19%) apresentaram efeito significativo sobre a síntese de leucotrienos e tromboxano, mas harpagosídeo, na forma isolada, apresentou atividade significativamente menor que um extrato de *H. procumbens*, que apresentava um teor de 7,3% de harpagosídeo. Por outro lado, a influência do extrato bruto e de frações enriquecidas em harpagosídeo sobre a atividade das COX-1 e COX-2, bem como sobre a produção de NO, no ensaio de sangue total estimulado com LPS, foi avaliado (50) e observou-se que o extrato bruto não foi capaz de inibir a COX-1 (por não alterar a produção de TXA₂) nem a COX-2 (por não alterar a produção de PGE₂), enquanto que a fração contendo o maior teor de harpagosídeo foi capaz de inibir indistintivamente COX-1 e COX-2 (37,2 e 29,5%, respectivamente) e inibir significativamente ($p < 0,05$ em relação ao controle) a produção de NO (66%). Em contraste, foi observado que a fração contendo um *pool* de iridóides aumentou a atividade COX-2 e não alterou nem COX-1 nem a produção de NO. Uma fração contendo ácido cinâmico foi capaz de reduzir apenas a produção de óxido nítrico (67%). Com esses resultados, os autores sugerem que a fração enriquecida em harpagosídeo é a principal responsável pelo efeito de *H. procumbens* na atividade dessas enzimas, enquanto que outros componentes poderiam estar antagonizando ou aumentando a síntese de mediadores inflamatórios, modulando assim a atividade do extrato bruto (50).

Outro trabalho avaliou a atividade anti-inflamatória *in vitro* de um novo triterpenóide glicosilado (designado harprosídeo), de um novo iridóide glicosilado (designado pagida) e de seis triterpenóides conhecidos (ver Quadro 10) isolados dos tubérculos de *H. procumbens* (39). A atividade anti-inflamatória *in vitro* foi avaliada pela inibição do *burst* oxidativo em neutrófilos estimulados com PMA, por meio de análise por quimioluminescência. Os autores observaram que o novo iridóide glicosilado foi inativo e que os triterpenóides apresentaram atividade inibitória *in vitro*, alguns de forma mais significativa e outros de forma menos

intensa (39). Esse é um resultado interessante que forma um contraponto com relação a grande maioria dos trabalhos, que geralmente associam a atividade anti-inflamatória de *H. procumbens* somente aos iridóides glicosilados.

Assim, como pode ser observado, os estudos que avaliam a atividade anti-inflamatória *in vitro* de preparações a base de *H. procumbens* e dos compostos isolados com o intuito de elucidar o mecanismo de ação e caracterizar os compostos envolvidos são bastante contraditórios. Não há uma padronização dos extratos (tipo de extrato e teor dos iridóides glicosilados), que pode ser justificado pelo fato dos autores buscarem correlacionar a atividade com a presença dos iridóides glicosilados. Portanto, pelos resultados apresentados no Quadro 10, até o presente momento, não é possível concluir quais são os compostos ativos presentes em extratos de *H. procumbens*. Adicionalmente, embora haja algumas evidências que indicam que o extrato atue principalmente pela via da enzima COX-2, também não é possível concluir o mecanismo de ação de *H. procumbens*.

Dentre os estudos que avaliaram a atividade anti-inflamatória *in vitro* de preparações a base de *H. procumbens*, foi encontrado apenas um trabalho que também avaliou a atividade do extrato de *H. zeyheri* (42). Neste estudo, o extrato aquoso de *H. procumbens* apresentou ser duas vezes mais ativo que o extrato aquoso de *H. zeyheri* sobre a atividade da enzima elastase. No entanto, para a obtenção dos extratos foram utilizados modos de preparação diferentes, o que impossibilita uma comparação justa da atividade anti-inflamatória entre as duas espécies.

Em relação à atividade antioxidante de extratos de *H. procumbens* foram encontrados poucos estudos publicados. Em um dos trabalhos foi comparada a atividade antioxidante do extrato (não especifica o tipo de extrato) com a tintura de *H. procumbens*. Ambas as apresentações demonstraram atividade antioxidante em alguns parâmetros avaliados, já o composto harpagosídeo apresentou atividade mínima na maior concentração avaliada (75). Outro grupo de pesquisadores obteve resultados semelhantes: o extrato das raízes de *H. procumbens*, contendo 8,9% de harpagosídeo inibiu a autooxidação, já o composto harpagosídeo isolado não apresentou atividade (47).

Quanto à avaliação da atividade antiplasmódica, foi encontrado um único relato, que avaliou três diferentes extratos (aquoso, metanólico e éter de petróleo) e somente o derivado com caráter apolar (extrato éter de petróleo) apresentou resultados positivos, frente a uma cepa sensível a *P. falciparum*. Diante da falta de evidências, não há justificativas para uso desse derivado em casos de malária. De acordo com a busca realizada, este foi o único

trabalho que também avaliou extratos das partes aéreas e das sementes, encontrando, porém, resultados negativos (40).

Cabe destacar o trabalho realizado por Unger; Frank (2004) (65), que avaliaram a atividade do extrato hidroetanólico das raízes de *H. procumbens* sobre as enzimas do sistema CYP, envolvidas com a metabolização de diversos fármacos. Foi observado que o extrato de *H. procumbens* inibe diferentes sub-tipos das enzimas CYP. Na ausência de evidências, os resultados obtidos, embora não sejam confirmatórios, sugerem a merecida atenção que se deve ter com possíveis interações medicamentosas, principalmente tratando-se do sistema citocromo P450, envolvido com a metabolização de diversos fármacos.

Em relação às possíveis atividades como anticancer, antimicrobiana e inibidor da agregação plaquetária, foram realizados estudos preliminares, que apenas indicam uma possível ação do extrato de *H. procumbens* como antimicrobiano, frente a bactérias aeróbicas e *Candida* (74) e como antitumoral, por meio da inibição da COX-2 induzida por TPA em células epiteliais humanas de mama (62). Sobre a agregação plaquetária, o extrato apresentou um baixo percentual de inibição (63).

4.3.2.2 Ensaio *in vivo*

No Quadro 11 estão apresentados os ensaios farmacológicos pré-clínicos *in vivo* realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|---------------|-----------------|--|-----------|---|---|---------------------|---|------------|
| Antiarrítmica | Raízes | Extrato metanólico preparado por agitação constante, protegida da luz, a baixa temperatura, por 48 h. Relação material vegetal: solvente extrator: 1:10. 100 mg do extrato metanólico seco= 8,5 mg de harpagosídeo e 10,5 mg de iridóides glicosilados. O harpagosídeo isolado também foi testado. | V.O. e IP | 100, 200, 300 e 400 mg/ kg, 30 min antes da indução da arritmia | Modelo de atividade antiarrítmica em ratos intactos, através da indução de arritmia por aconitina ou cloreto de cálcio ou epinefrina clorofórmio. | Ratos machos Wistar | O extrato via IP causou, após 30-45 min da administração, uma redução dose dependente da frequência cardíaca, nas doses mais altas (300 e 400 mg/ kg). O efeito iniciou após 30 min e permaneceu por 120 min. Por via IP, o efeito de bradicardia foi significativo após 15 min. Nas doses de 300 e 400 mg/ kg, V.O. e 75 mg/ kg, IP, foi observado uma diminuição das ondas P; o período de ondas P foi moderadamente aumentado, e bradicardia associada com ritmo juncional foi observada. O harpagosídeo apresentou uma atividade menor do que o extrato contendo concentração correspondente de harpagosídeo. O extrato demonstrou uma ação protetora | (76) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|--------------------------------|-----------------|---|------|---|--|--|---|------------|
| | | | | | | | no que diz respeito as arritmias induzidas por aconitina e principalmente aquelas induzidas por cloreto de cálcio e epinefrina-clorofórmio. | |
| Anticancer e anti-inflamatória | N.D. | Extrato metanólico | V.T. | 60, 300 e 600 µg/mL, 30 min antes da aplicação de TPA. | Avaliação do efeito sobre a expressão de COX-2 induzida por TPA na pele de camundongos, uma vez que expressão elevada dessa enzima tem sido implicada na patogênese e progressão de carcinogênese. | Camundongos fêmeas ICR. | O extrato inibiu a expressão de COX-2 induzida por TPA na pele de camundongos. | (62) |
| Anticonvulsivante | Raízes | Extrato aquoso, preparado por agitação ocasional, durante 48 h, a temperatura ambiente. A extração foi repetida duas vezes com o mesmo material vegetal, os extratos obtidos foram reunidos e liofilizados. | IP | 100, 200, 400 e 800 mg/kg, 20 min antes da indução das convulsões | Modelo de convulsões induzidas por PTZ (90 mg/kg, i.p.), PCT (10 mg/kg, i.p.) e BCL (30 mg/kg, i.p.) | Camundongos albinos <i>Balb C</i> (<i>Mus domesticus</i>) machos. N = 10/grupo | O extrato (100-800 mg/kg), apresentou proteção contra as convulsões e aumentou o tempo de latência para o início das convulsões induzidas por PTZ e PCT, similar aos fármaco fentobarbital e ao diazepam. Já no modelo de convulsões induzidas por BCL, <i>H. procumbens</i> protegeu contra a ocorrência | (77) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------------------------|-----------------|---|---------------|---|--|-----------------------------------|---|------------|
| | | | | | | | de convulsões, mas somente nas doses mais elevadas (200-800 mg/kg), aumentou o tempo de latência para o início das convulsões. Os resultados obtidos sugerem que <i>H. procumbens</i> atue na neurotransmissão gabaérgica, mas provavelmente não nos sítios ativos do ácido gama amino butírico (GABA). | |
| Antidiabética | Raízes | Extrato aquoso preparado por Soxhlet (extração repetida duas vezes em água, a temperatura ambiente, sob agitação durante 24 h) e liofilizado. | IP | 50-800 mg/ kg | Avaliação da glicemia antes, 1, 2, 4 e 8 h da administração de extrato em animais normoglicêmicos e em animais hiperglicêmicos (hiperglicemia induzida por estreptozotocina) | Ratos Wistar adultos, n = 8/grupo | O extrato em todas as doses produziu significativa redução dose-dependente da glicemia de jejum de ratos normoglicêmicos e hiperglicêmicos. | (56) |
| Anti-inflamatória e antinociceptiva | Raízes | Extrato aquoso (2,7% de harpagosídeo), extrato metanólico (3,7% de harpagosídeo) e os compostos isolados harpagosídeo e harpagogenina. | IV, IP e V.O. | <u>Edema de pata induzido por ovoalbumina:</u> Harpagosídeo: 2, 10 e 40 mg/ kg, IV., 3 h antes da indução do edema e 100 mg/ kg, IV, 16 h antes da | Foram empregados os modelos de edema de pata induzido por ovoalbumina (2%, 0,1 mL), edema induzido por formalina (2%, 0,15 mL), artrite | Ratos | <u>Edema de pata induzido por ovoalbumina:</u> harpagosídeo (2,10 e 40 mg/kg, IV), administrado 3 h antes da indução da inflamação ou 100 mg/kg, 16 h após a | (44) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-----------|-----------------|--------------------------|-----|---|--|------------------|--|------------|
| | | | | <p>indução ou 20 mg/kg, IP, 3 dias antes da indução.</p> <p><u>Edema de pata induzido por formalina:</u> Harpagosídeo: 10 e 20 mg/kg, IP, 1 h antes da aplicação e 50 mg/kg, IP, tratamento por 8 dias.</p> <p><u>Bolsa de granuloma: H. procumbens:</u> 20 mg/kg, IP; Harpagosídeo: 20 mg/kg, IP; Harpagogenina: 20 mg/kg, IP; Tempo de tratamento: 12 dias.</p> <p><u>Artrite: H. procumbens:</u> 40 mg/kg, IP. Tempo de tratamento: 10 dias.</p> | <p>induzida por formalina e bolsa de granuloma induzida por óleo de cróton (0,5 mL, 0,5%).</p> | | <p>indução do edema e 20 mg/kg, IP, 3 h antes da indução do edema não causaram efeito anti-edematogênico.</p> <p><u>Edema de pata induzido por formalina:</u> Harpagosídeo (10 e 20 mg/kg, IP) administrado 1 h antes da indução do edema, não efeito antiedematogênico significativo. Harpagosídeo, na dose de 50 mg/kg, IP, por 8 dias, também não apresentou redução de edema.</p> <p><u>Artrite induzida por formalina:</u> O extrato aquoso (40 mg/kg) apresentou efeito similar a fenilbutazona (20 mg/kg), seguindo 10 dias de administração.</p> <p><u>Teste de granuloma:</u> O extrato aquoso e metanólico, VO, na dose de 20 e 200 mg/kg reduziram o volume de exsudato</p> | |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|------------------------------|------|---|---|-----------------------------|---|------------|
| | | | | | | | em 14,29% e 69,05%, respectivamente. Os compostos harpagosídeo (20 mg/kg), harpagogenina (20 mg/kg) e a fenilbutazona (40 mg/lg), após administração IP por 12 dias, apresentaram significativa inibição do exsudato (33,8%, 28,9% e 41,8%), do peso do granuloma (29,9%, 24,5% e 38,6%) e da granulação de tecido (19,2, 14,6 e 18%), respectivamente. | |
| Anti-inflamatória | Raízes | Extrato aquoso e metanólico. | V.O. | Tratamento 30 min antes da indução da inflamação | Modelo de granuloma induzido por carragenina. Edema de pata induzido por carragenina. Eritema induzido por luz UV durante 120 segundos. | Ratos | Os extratos aquoso e metanólico, na dose de 20 mg/kg, inibiram o edema de pata e a formação de granuloma. O extrato metanólico inibiu o eritema induzido por luz UV. | (55) |
| Anti-inflamatória | N.D. | N.D. | V.O. | <u>Modelo de edema de pata:</u> 20, 200, 2000 e 6000 mg/kg. <u>Modelo de artrite:</u> 2 g/kg/dia/ 7 dias | Edema de pata induzido por carragenina 1% e artrite induzida por adjuvante de Freund. | Ratos machos Sprague-Dawley | O extrato não diminuiu o desenvolvimento do edema de pata induzido por carragenina, nem | (58) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------------------------|-----------------|--|-----|---|--|-------------------|--|------------|
| | | | | | | | apresentou atividade anti-artrítica. | |
| Anti-inflamatória e antinociceptiva | Raízes | Extrato aquoso. O material vegetal foi percolado a quente, sendo o processo repetido 4 vezes e o extrato seco sob pressão reduzida. Relação material vegetal: solvente extrator: 750 kg: 1,5 L. Teor de harpagosídeo: 1,8%. Caracterização por CCD dos iridóides glicosilados: Fase móvel: acetato de etila: metanol: água (77:15:8, v/v/v), detecção: vanilina sulfúrica. Duas manchas vermelhas com $R_f=0,10$ e $0,40$, a última correspondente ao harpagosídeo e três manchas amarelas ($R_f=0,30/0,45$ e $0,50$). O harpagosídeo isolado também foi testado. | IP | Extrato aquoso: 100, 200 e 400 mg de raízes secundárias secas/kg. Harpagosídeo: 5 e 10 mg/kg (dose equivalente a 400 e 800 mg de raízes secundárias secas/kg, respectivamente). | Atividade anti-inflamatória: modelo de edema de pata induzido por carragenina 1%. Atividade antinociceptiva: modelo de contorções abdominais induzidas por estímulo químico. Influência do tratamento ácido das amostras, previamente à avaliação da atividade anti-inflamatória (condições físico-químicas semelhantes ao estômago): 1g do extrato de <i>H. procumbens</i> e 0,02 g de harpagosídeo foram colocados em contato com 10 mL de HCl (0,1 N, pH=1), durante 3 h, a 38°C. Após, a solução foi neutralizada com carbonato de sódio | Ratos machos OFA. | O extrato apresentou efeito anti-inflamatório e antinociceptivo significativo dose-dependente, desde a menor dose. O harpagosídeo, porém, não apresentou atividade significativa no modelo de inflamação, apresentando apenas atividade antinociceptiva, indicando a participação do composto nas propriedades analgésicas periféricas. Após o tratamento ácido, o extrato perdeu sua atividade, o que os autores sugerem indicar ser necessário o uso de formulações galênicas que protejam os princípios ativos do ácido liberado pelo estômago. | (48) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------|---------------------------------------|--|--------------------------|--|--|------------------|---|------------|
| | | | | | (pH=6-7), filtrada e precipitada para formar cloreto de sódio. Em seguida, o extrato (400 mg/kg) e o harpagosídeo (5 e 10 mg/kg) foram testado da mesma forma já descrita acima. | | | |
| Anti-inflamatória | Raízes (coletas na época da floração) | <u>Extrato liofilizado sem ciclodextrina:</u> maceração em água (1:10, p/v) sob agitação, por 12 h, a temperatura ambiente; seguido por mais 12 h a 35°C e por fim liofilizado. <u>Extrato liofilizado com ciclodextrina:</u> raízes frescas foram colocadas em contato com água (1:10,p/v), sob agitação, por 24 h, a temperatura de 37°C e após, foi realizado um processo para adição de ciclodextrina. Análise quantitativa | IP, V.O. e intraduodenal | <u>Extrato sem ciclodextrina:</u> 100, 200 e 400 mg/ kg IP, 30 min antes da indução da inflamação. <u>Extrato com ciclodextrina:</u> 200, 400, 800 e 1600 mg/ kg V.O. e via intraduodenal, 60 min antes da inflamação. OBS.: a ciclodextrina é um excipiente capaz de aumentar a biodisponibilidade do extrato pelas vias oral e indtraduodenal. | Modelo de edema de pata induzido por carragenina | Ratos machos OFA | A administração IP de <i>H. procumbens</i> (100 mg/ kg) reduziu 36% do edema após 3 h da indução da inflamação e apresentou efeito máximo na dose de 400 mg/ kg (67% de inibição). O tratamento V.O. com <i>H. procumbens</i> não inibiu a resposta inflamatória. A administração intraduodenal de <i>H. procumbens</i> (200 mg/ kg) foi capaz de diminuir o edema (43% de inibição), no período de 6-9 h. O efeito máximo observado foi com a dose de 400 mg/ kg (60% de inibição). Os | (78) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------|--|--|-----|---|--|------------------|---|------------|
| | | segundo a Farmacopéia Francesa: análise colorimétrica de iridóides totais = 2,72% e o valor de referência $\geq 2,40$, calculados em relação ao harpagosídeo; Por CLAE, a concentração de harpagosídeo foi de 0,44% e o valor de referência = 0,84%. | | | | | resultados demonstram que <i>H. procumbens</i> perde o efeito anti-inflamatório quando administrada oralmente, o que pode ser atribuído à transição pelo conteúdo ácido do estômago. | |
| Anti-inflamatória | Raízes de <i>H. procumbens</i> e <i>H. zeyheri</i> | Extratos aquosos preparados por infusão (1:10, p/v), seguido de maceração (40°C) por 12 h e após, os extratos foram liofilizados. Análise por CLAE-DAD de <i>H. procumbens</i> (média de harpagosídeo): 2,20% (p/p). Razão harpagosídeo/8-p-cumarilharpagida: 35; <i>H. zeyheri</i> (média de harpagosídeo): | IP | 400, 800 e 1200 mg/ kg, 30 min antes da indução da inflamação | Modelo de edema de pata induzido por carragenina | Ratos machos OFA | - <i>H. procumbens</i> (400 mg/ kg), no período de 3 e 4 h: 43 e 30% de inibição de edema; nas doses de 800 e 1200 mg/ Kg, a inibição do edema iniciou a partir da primeira hora e permaneceu por 5 h, apresentando inibição máxima, no período de 3 h: 53 e 64%, respectivamente. - <i>H. zeyheri</i> (800 mg/Kg): inibiu o edema a partir da primeira h e o efeito permaneceu por 5 h, | (21) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|--|-----------|---|--|--|---|------------|
| | | 2,04% (p/p). Razão harpagosídeo/8-p-cumarilharpagida: 4. | | | | | com inibição máxima no tempo de 3 h: 68%. | |
| Anti-inflamatória | Raízes | Extrato preparado pelo método de turbólise (30 min), com o uso de solvente orgânico e temperatura controlada (não descreve líquido extrator nem temperatura utilizada). Análise qualitativa por CLAE: identificação de harpagosídeo. | IP e V.O. | 100, 200, 400 e 800 mg/ kg IP e 800 mg/ kg VO, 30 min antes da indução da inflamação. | Modelo de edema de pata induzido por carragenina (2 mg/ mL) em ratos normais e em ratos com adrenalectomia bilateral* e avaliação hematológica (contagem de leucócitos 2 e 4 h após o tratamento). *modelo utilizado para avaliar se ocorre o envolvimento de corticosteróides adrenais na resposta inflamatória, já que animais sujeitos a situações de estresse ou a substâncias nocivas, apresentam um aumento plasmático de corticosteróides adrenais. | Ratos machos Wistar, n=10-12 animais/grupo | <u>Edema em ratos normais:</u> Tratamento IP: redução no volume do edema, principalmente nas doses mais elevadas (400 e 800 mg/ kg). Após 2 e 4 h do tratamento, houve uma redução do número de mononucleares. Tratamento VO: não apresentou atividade em nenhuma dose testada e não provocou alteração na contagem de leucócitos. <u>Edema em ratos com adrenalectomia bilateral:</u> as doses de 100, 200, 400 e 800 mg/ kg IP no período de 4 h após a indução da inflamação, apresentaram um percentual de inibição da resposta inflamatória de 88, 80, 70 e 60%, | (79) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|--|------|--|--|---------------------|--|------------|
| | | | | | | | respectivamente. O tratamento VO não alterou a resposta inflamatória. Os resultados obtidos com os animais adrenalectomizados não confirmam a hipótese do envolvimento de corticosteróides adrenais na resposta inflamatória, uma vez que esse grupo de animais também apresentou uma significativa redução na intensidade da resposta inflamatória. | |
| Anti-inflamatória | Raízes | Extrato hidroalcoólico (60% de etanol), preparado sob agitação mecânica (não informa detalhes sobre o modo de preparação). Harpagosídeo = 1,5% (análise segundo método da Farmacopéia Européia/ valor de referência: concentração de | N.D. | <u>Inflamação aguda:</u> 25, 50 e 100 mg/kg nos dias 5, 6, 7 e 8 após indução da inflamação. <u>Inflamação crônica:</u> 100 mg/kg/dia, nos dias 24, 29, 34 e 40 após a indução da inflamação. | Modelo de artrite induzida por adjuvante de Freund | Ratos machos Wistar | O extrato inibiu o volume do edema, em todas as doses testadas, tanto durante o processo agudo (6 dias após a indução da inflamação), como na avaliação do processo inflamatório crônico (21 dias após a indução da inflamação), indicando sua ação anti-inflamatória e analgésica periférica, para o tratamento de | (80) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------|-----------------|---|------|--|--|--|---|------------|
| | | harpagósideo \geq 1,2%). | | | | | processos inflamatórios. | |
| Anti-inflamatória | Raízes | Extrato aquoso preparado por Soxhlet (extração repetida duas vezes em água, a temperatura ambiente, sob agitação durante 24 h) e liofilizado. | IP | 400 e 800 mg/ kg, 30 min antes da indução da inflamação | Modelo de edema de pata induzido por ovoalbumina (0,5 mL/ kg) | Ratos Wistar adultos, n = 8/grupo | O extrato na dose de 800 mg/ kg apresentou significativa redução da inflamação, de forma sustentada e relacionada ao tempo. | (56) |
| Anti-inflamatória | N.D. | Extrato aquoso | IP | <u>Inflamação aguda:</u> 800 mg/ kg (dose única), 30 min antes da indução da inflamação <u>Inflamação crônica (modelo de artrite):</u> 800 mg/ kg, 3 vezes por semana, em dias alternados, durante duas semanas, 14 dias após a indução da artrite. <u>Modelo de granuloma:</u> 800 mg/kg/dia, durante 7 dias, a partir da implantação do <i>cotton pellet</i> . | <u>Inflamação aguda:</u> modelo de edema de pata induzido por carragenina. <u>Inflamação crônica:</u> modelo de artrite induzida por adjuvante de Freund. Modelo do granuloma induzido por <i>cotton pellet</i> . | Ratos albinos de ambos os sexos (inflamação aguda e crônica) e camundongos albinos de ambos os sexos (modelo de granuloma). N=8/grupo. | O extrato apresentou efeito anti-inflamatório significativo em todos os modelos utilizados. | (59) |
| Anti-inflamatória | Raízes | Extrato metanólico | V.T. | 200 e 400 μ g em 200 μ L de acetona contendo 10% de DMSO, 30 min antes da indução da | Modelo de edema de orelha induzido por TPA e avaliação da expressão de COX-2 na pele de | Camundongos fêmeas ICR | A administração tópica inibiu a expressão de COX-2 induzida por TPA, na pele de | (81) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-------------------|--------------------|--|------|--|---|--|---|------------|
| | | | | inflamação | camundongos estimulada pelo TPA e investigação do mecanismo de ação | | camundongos, enquanto a expressão de COX-1 permaneceu praticamente inalterada. Para elucidar o mecanismo molecular de inibição de COX-2, foi avaliado o efeito sobre a fosforilação da proteína quinase regulada por sinal extracelular (ERK), mas o extrato somente inibiu a atividade catalítica de ERK. Além disso, o extrato não inibiu a translocação da subunidade p65 para o núcleo e como consequência inibiu a ligação de NF- κ B ao DNA e a ativação dos fatores de transcrição, o ativador de proteína-1 (AP-1) e da proteína ligante do elemento de resposta ao AMPc (CREB). | |
| Anti-inflamatória | Raízes secundárias | Extrato etanólico. Raízes secundárias pulverizadas (300 g) foram extraídas com etanol 50% (3 | V.O. | 50 mg/ kg, uma vez ao dia, durante 30 dias, a partir do dia 0 (indução da inflamação). | Modelo de artrite em ratos induzida por adjuvante (<i>Mycobacterium butyricum</i> 10 mg/ | Ratas SD fêmeas (160-180 g). N = 10-11/ grupo. | A administração sucessiva diária de H. procumbens por via oral apresentou um efeito anti- | (70) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|------------------|--|---|------|--|---|--|---|------------|
| | | L, duas vezes) por 2 h sob refluxo. O extrato coletado foi concentrado sob pressão reduzida seguida de liofilização (rendimento = 61,4%). | | | mL em Bayol F) | | inflamatório significativo no modelo de artrite empregado. | |
| Anti-nociceptiva | Raízes | Extrato aquoso preparado por Soxhlet (extração repetida duas vezes em água, a temperatura ambiente, sob agitação durante 24 h) e liofilizado. | IP | 25, 50, 100, 200, 400 e 800 mg/ kg, 30 min antes da indução da analgesia | Modelos de placa quente e contorções abdominais (induzidas por ácido acético) | Camundongos BalbC adultos, n=8/grupo | O extrato (50-800 mg/ kg) causou significativo efeito analgésico em ambos modelos, apresentando maior efetividade na dose de 800 mg/ kg. | (56) |
| Anti-nociceptiva | N.D. | Extrato aquoso | IP | 400 mg/ kg, 30 min antes da indução da analgesia | Modelo de contorções abdominais induzidas por fenil-isoquinona | Camundongos albinos de ambos os sexos. N=8/grupo | O extrato apresentou atividade antinociceptiva bastante significativa | (59) |
| Anti-nociceptiva | Raízes | Extrato aquoso (2,7% de harpagosídeo) e metanólico (3,7% de harpagosídeo). | V.O. | 20 e 200 mg/ kg, 30 min antes da indução da inflamação | Modelo de contorções abdominais | Ratos | Os extratos apresentaram somente um baixo efeito antinociceptivo. | (55) |
| Antinociceptiva | Raízes de <i>H. procumbens</i> e <i>H. zeyheri</i> | Extratos aquosos preparados por infusão (1:10, p/v), seguido de maceração (40°C) por 12 h e após, os extratos foram liofilizados. | IP | 100, 400, 800 e 1200 mg/ kg, 30 min antes da indução da inflamação | Modelo de contorções abdominais e alongamentos induzidos por ácido acético | Ratos machos OFA | - <i>H. procumbens</i> : Na dose de 400 mg/ kg, inibiu 35% de contorções abdominais e alongamentos e na dose de 1200 mg/ kg: 62% de inibição. | (21) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-----------------|-----------------|--|------|--|---------------------------------|---------------------|---|------------|
| | | Análise por CLAE-DAD de <i>H. procumbens</i> (média de harpagosídeo): 2,20% (p/p). Razão harpagosídeo/8-p-cumarilharpagida: 35; <i>H. zeyheri</i> (média de harpagosídeo): 2,04% (p/p). Razão harpagosídeo/8-p-cumarilharpagida: 4. | | | | | - <i>H. zeyheri</i> : 400 mg/kg= 36%; 1200 mg/kg= 52%. Não foi observada diferença significativa entre as atividades analgésica de <i>H. procumbens</i> e <i>H. zeyheri</i> . Ambos os extratos apresentaram atividade similar ao AAS. | |
| Antinociceptiva | Raízes | Extrato hidroalcoólico (60% de etanol), preparado sob agitação mecânica (não informa detalhes sobre o modo de preparação). Harpagosídeo= 1,5% (análise segundo método da Farmacopéia Européia/ valor de referência: concentração de harpagosídeo \geq 1,2%). | N.D. | <u>Tratamento agudo:</u> 25, 50 e 100 mg/kg nos dias 5, 6, 7 e 8 após indução da analgesia. <u>Inflamação crônica:</u> 100 mg/kg/dia, nos dias 24, 29, 34 e 40 após a indução da analgesia. | Modelo da placa quente | Ratos machos Wistar | O tratamento agudo e crônico demonstrou que nas 3 doses testadas houve um aumento do tempo de latência para a retirada da pata, indicando um efeito protetor contra a dor induzida pelo estímulo térmico. Alguns resultados observados, indicam que a dose de 100 mg/ kg induz a uma analgesia total. | (80) |
| Condroprotetora | N.D. | Extrato de <i>Harpagophytum</i> | V.O. | 150 mg de extrato por dia com 0,1 mg | Modelo de osteoartrite induzida | Coelhos fêmeas | Através da coloração de elastina, sugere-se | (82) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato/ Modo de preparo | Via | Posologia | Metodologia | Animais, n/grupo | Resultado observado | Referência |
|-----------|-----------------|--|-----|---|--|------------------|---|------------|
| | | (FB9195) contendo 14% de harpagosídeo, determinado por CLAE. | | de harpagosídeo por grama de <i>pellet</i> de alimentos | por transecção unilateral do ligamento cruzado anterior. Após 27 semanas, a articulação do fêmur foi removida para a avaliação histomorfométrica | | possível regeneração do tecido condróide e aumento do número de fibras elásticas de colágeno da cartilagem do quadril no grupo de animais tratados com o extrato. Além disso, foi observado um aumento de 2 a 5 vezes de mRNA do inibidor tissular de metaloproteinase-2 (TIMP-2), indicando que um dos possíveis mecanismos desse efeito condroprotetor seja por meio do TIMP-2. | |

Quadro 11 – Estudos *in vivo* de atividade farmacológica pré-clínica da espécie *H. procumbens*.

V.O.: via oral; V.T.: via tópica; IP: via intraperitoneal; IG: infusão intragástrica; IV: via intraveosa; n: número de animais; N.D.: não descrito.

Embora em alguns estudos não esteja claramente definida a parte da planta utilizada para a preparação do extrato, sendo citada apenas a realização do estudo com extrato de *H. procumbens* e/ou “garra-do-diabo”, supõe-se que todos os trabalhos tenham sido realizados com extratos e/ou outras preparações farmacêuticas preparadas a partir das raízes, uma vez que está bem estabelecido na literatura a utilização das raízes como farmacógeno. Não foi encontrado nenhum estudo avaliando o extrato preparado a partir de outras partes (folhas, sementes ou frutos) de *H. procumbens*. A grande maioria dos trabalhos cita que a preparação do extrato foi realizada com as raízes secas e moídas, com exceção de um único trabalho (78), no qual as raízes foram utilizadas a fresco. Dessa forma, é importante observar que está preconizado o uso da droga vegetal seca.

Embora descrito em compêndios oficiais e farmacopeias a padronização de extratos a base de *H. procumbens*, o modo de preparação dos extratos dos estudos não-clínicos *in vivo* varia muito. A concentração mínima de harpagosídeo preconizada é não inferior a 1,2% (3), no entanto muitos trabalhos não informam dados quantitativos, nem mesmo um perfil químico do extrato avaliado.

Adicionalmente, é preconizada a utilização de extratos aquosos e/ou hidroetanólicos. Embora a grande maioria dos trabalhos tenham avaliado esses tipos de extratos, alguns trabalhos não informam o modo de preparação do extrato e o solvente utilizado. Além disso, as metodologias utilizadas para a preparação dos extratos variam de um estudo para outro, ocasionando a obtenção de extratos com diferentes teores de harpagosídeo.

4.3.2.2.1 Atividade anti-inflamatória e analgésica

A maioria dos estudos farmacológicos pré-clínicos *in vivo* relatados para a espécie *H. procumbens* foram conduzidos para avaliação da atividade anti-inflamatória e analgésica, utilizações alicerçadas na tradição popular. O primeiro relato de avaliação da atividade anti-inflamatória de *H. procumbens* foi registrado no ano de 1958, na qual foi observado uma diminuição do edema induzido por formalina, em ratos, com o tratamento com o extrato aquoso, administrado via intragástrica, na dose de 20 mg/ kg (83).

Para a avaliação da atividade anti-inflamatória não-clínica *in vivo* foi utilizado, na grande maioria dos estudos, o modelo de edema de pata induzido por diferentes agentes flogísticos para avaliação da inflamação aguda e o modelo de artrite induzido por adjuvante de Freund para avaliar a inflamação crônica.

Quanto à via de administração, a maioria dos trabalhos referentes à avaliação da atividade anti-inflamatória e analgésica utilizou a via de administração intraperitoneal, embora também sejam observados alguns trabalhos empregando as vias oral, intravenosa e tópica. Cabe ressaltar que não foi demonstrada atividade anti-inflamatória via oral dos extratos de *H. procumbens*. Alguns autores justificam a perda de atividade dos extratos a base *H. procumbens* quando administrados por via oral pela possibilidade de ocorrência de hidrólise ácida dos iridóides glicosilados no conteúdo gástrico do trato gastrointestinal. Dentro deste contexto, Whitehouse; Znamirowska; Paul (1983) (58) avaliaram a atividade anti-inflamatória de um extrato aquoso liofilizado das raízes de *H. procumbens* acrescido de ciclodextrina, a fim de observar se o uso desse adjuvante aumentaria a biodisponibilidade do extrato quando administrado via oral. No entanto, o extrato não apresentou atividade nas doses de 200-1600 mg/ kg. Harpagosídeo, após ser submetido a hidrólise ácida, foi avaliado no modelo de edema de pata, via intraperitoneal e, o tratamento ácido não alterou a atividade anti-inflamatória, mas extinguiu o efeito analgésico (48). Estes mesmos autores relatam que na análise por CCD não houve alteração do perfil de iridóides glicosilados do extrato antes e após o tratamento ácido. Recio et al. (1994) (84) observaram atividade anti-inflamatória do composto harpagosídeo, quando administrado na dose de 100 mg/ kg, por via intragástrica, no modelo de edema de pata induzido por carragenina e na dose de 20 mg/ kg, via tópica, no modelo de edema de orelha induzido por ester de forbol. Assim, este estudo não fornece evidências que comprovem a perda de atividade do extrato de *H. procumbens*, quando administrado via oral, devido à hidrólise dos iridóides glicosilados. Dessa forma, a via de administração é um fato curioso, já que a indicação de uso dos extratos de *H. procumbens* é por via oral e que a maioria dos resultados obtidos em estudos pré-clínicos *in vivo* utilizam outra via de administração.

Apenas um trabalho, de Baghdikian et al. (1997) (21), comparou o efeito do extrato aquoso liofilizado das raízes de *H. procumbens* e *H. zeyheri* no modelo de edema de pata induzido por carragenina, em ratos. *H. procumbens* apresentou maior efetividade na dose de 800 e 1200 mg/ kg, com 53 e 64% de inibição, respectivamente e *H. zeyheri*, na dose de 800 mg/ kg, apresentou 68% de inibição do edema. O efeito de ambos os extratos foi comparado ao fármaco indometacina, que apresentou 58% de inibição do edema. Os autores observaram que os extratos de *H. procumbens* e *H. zeyheri* apresentam atividade anti-inflamatória similar e, portanto, que *H. zeyheri* também pode ser aceita como droga vegetal. Em algumas farmacopeias (4, 26) a espécie *H. zeyheri* é aceita para a elaboração de preparações

farmacêuticas. Inclusive, na IN 02/2014, é indicado o uso das duas espécies em associação (embora não esclareça quanto à proporção utilizada de *H. zeyheri*) (11). A espécie *H. zeyheri* é considerada o principal adulterante de *H. procumbens* e há possibilidade de produtos comercializados a base de *H. procumbens* conterem em sua formulação uma mistura de ambas as espécies. Diante dos resultados, ainda não se justifica a aceitação de modo indiscriminado de ambas as espécies, já que a grande totalidade dos estudos farmacológicos foram realizados com a espécie *H. procumbens* e como descrito anteriormente as espécies apresentam constituição química diferenciada (21). Estudos mais rigorosos devem ser realizados para se ter controle sobre os extratos avaliados, ou seja, se foram preparados apenas com *H. procumbens* ou se há a presença de *H. zeyheri*.

Adicionalmente aos estudos que avaliaram especificamente a atividade anti-inflamatória e analgésica, foi demonstrado que o tratamento com o extrato de *H. procumbens* contendo 14% de harpagosídeo, na forma de *pellets*, apresenta um efeito condroprotetor, auxiliando na regeneração do tecido condróide e no aumento elástico e das fibras de colágeno da cartilagem do quadril, sugerindo efeito em casos de osteoartrite (82).

4.3.2.2.2 Outras atividades

Em relação a outras atividades que não anti-inflamatória e/ou analgésica, torna-se difícil a avaliação dos resultados obtidos, uma vez que foi relatado apenas um trabalho para cada atividade, de uma forma geral, como apresentado no Quadro 11. Dessa forma, os resultados obtidos, indicam uma possível atividade, sem evidências suficientes que justifiquem a sua utilização, mas que merecem atenção, a fim de encontrar novas indicações para esse extrativo vegetal e confirmar possíveis interações medicamentosas reais de algumas classes de medicamentos com produtos a base de *H. procumbens*.

Há relatos de efeitos cardiovasculares do extrato metanólico de *H. procumbens*, especialmente como hipotensor e na forma de proteção contra arritmias cardíacas (76, 85). Também é relatado um efeito anticonvulsivante, uma vez que o extrato aquoso das raízes secundárias da espécie protegeu os animais contra convulsões e aumentou o tempo de latência para o início das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, picrotoxina e bicuculina (77). Adicionalmente, o extrato aquoso de *H. procumbens*, na dose de 800 mg/ kg, intraperitoneal, apresentou atividade hipoglicemiante comparável ao fármaco clorpropamida, reduzindo os níveis de glicose sanguínea uma hora após a administração do extrato, mas apresentou efeito

máximo no período de 2-4 horas (56). O efeito anticancer do extrato metanólico de *H. procumbens* foi avaliado por meio da expressão de COX-2 induzida por TPA, na pele de camundongos, por aplicação tópica. Foi observado que o extrato inibiu a expressão da enzima COX-2, que é frequentemente aumentada em tecidos tumorais (62).

Como discutido anteriormente (item 4.3.2.1), os estudos *in vitro* são bastante contraditórios com relação à caracterização dos compostos químicos envolvidos nas atividades farmacológicas observadas em *H. procumbens*. No entanto, em alguns estudos *in vivo*, se observou que o harpagosídeo é inativo ou apresenta baixa atividade quando comparado ao extrato bruto de *H. procumbens* (44, 48, 76). Eichler; Koch (1970) (44) mostraram que o harpagosídeo (2, 10 e 40 mg/ kg, i.v.) não foi capaz de inibir o edema de pata induzido por ovoalbumina nem o edema de pata induzido por formalina (10 e 20 mg/ kg, i.p.). Lanhers et al. (1992) (48) mostraram que o extrato bruto de *H. procumbens* (1,8% de harpagosídeo) apresentou significativo efeito anti-inflamatório e antinociceptivo, enquanto que o harpagosídeo, utilizado em doses equivalentes à sua concentração no extrato bruto, apresentou apenas atividade antinociceptiva, indicando a participação desse composto apenas nas propriedades analgésicas periféricas do extrato bruto de *H. procumbens*. Circosta et al. (1984) (76) ao avaliar a atividade antiarrítmica de *H. procumbens*, utilizando o modelo de atividade antiarrítmica em ratos intactos, por meio da indução de arritmia por aconitina, cloreto de cálcio, epinefrina ou clorofórmio, observaram comportamento semelhante: o harpagosídeo apresentou uma atividade significativamente menor do que o extrato bruto contendo concentração correspondente de harpagosídeo (76). Esses são resultados relevantes uma vez que o teor de harpagosídeo é frequentemente utilizado como marcador químico da espécie, justamente por se acreditar que eles também seriam marcadores biológicos, ou seja, responsáveis pelas atividades farmacológicas de *H. procumbens*. Dessa forma, ressalta-se aqui a necessidade de mais estudos avaliando a atividade do harpagosídeo isolado para assim terem-se mais evidências quanto à caracterização química dos compostos bioativos.

4.3.2.3 Ensaios *ex vivo*

No Quadro 12 serão apresentados os ensaios farmacológicos pré-clínicos *ex vivo* realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|----------------|-------------------|--|---|--|--|------------|
| Anti-arrítmica | Raízes | Extrato metanólico preparado por agitação constante, protegida da luz, a baixa temperatura, por 48 h. Relação material vegetal: solvente extrator: 1:10. 100 mg do extrato metanólico seco= 8,5 mg de harpagosídeo e 10,5 mg de iridóides glicosilados. O harpagosídeo e a harpagida isolados também foram testados. | 1 mg (=0,085 mg de harpagosídeo) ou 2 mg (=0,170 mg de harpagosídeo) de extrato bruto foi adicionado a uma solução de perfusão na cânula, antes, durante e após a adição do agente arritmogênico. | Coração isolado de coelhos perfusado na circulação coronária: método de Langendorff's. Foram utilizados como agentes arritmogênicos aconitina ou cloreto de cálcio ou epinefrina-clorofórmio. | Em coração de coelhos, o extrato causou uma moderada diminuição na frequência cardíaca com um concomitante efeito inotrópico positivo moderado em baixas doses, mas um marcante efeito inotrópico negativo em altas doses. O fluxo coronário diminuiu apenas em altas doses. O efeito cronotrópico negativo e inotrópico positivo do harpagosídeo foi comparativamente maior em relação ao extrato, enquanto que harpagida teve apenas um ligeiro efeito cronotrópico negativo e um considerável efeito inotrópico negativo. O extrato demonstrou uma ação protetora no que diz respeito às arritmias induzidas por aconitina e principalmente aquelas induzidas por cloreto de cálcio e epinefrina-clorofórmio. | (76) |
| Anti-arrítmica | Raízes comerciais | Extrato metanólico preparado por agitação constante, protegida da luz, a baixa temperatura, por 48 hs. Relação material vegetal: solvente extrator: 1:10. 100 mg do extrato metanólico seco= 8,5 mg de harpagosídeo e 10,5 mg de iridóides glicosilados. Harpagosídeo puro também foi testado. | 1 mg (=0,085 mg de harpagosídeo) e 2 mg (=0,170) de extrato ou 0,085 mg e 0,0170 mg de harpagosídeo isolado foram adicionados a uma solução de perfusão na cânula, antes, durante e após a adição do agente arritmogênico | Arritmias de reperfusão induzidas no coração perfusado isolado de ratos: método de Langendorff's (perfusão isquêmica: fluxo coronário-0,5 mL/ min, pressão- 8 mmHg), seguida por reperfusão em condições basais (fluxo coronário- 8 mL/ min, pressão-50 mmHg). | O extrato e o harpagosídeo apresentaram uma significativa e dose-dependente ação protetora da hiperinética da arritmia ventricular induzida por reperfusão. Os resultados sugerem que a inibição da hiperinética ocorre por penetração de cálcio nas células do miocárdio, já que o extrato apresentou efeito protetor sobre arritmias induzidas por digitálicos, associado a aparência de automatismo, limitando seus efeitos tóxicos. O efeito do extrato parece | (85) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------------|------------------|--|--------------|---|--|------------|
| | | | | | atuar por um mecanismo análogo a perfusão anóxica ou do verapamil, devido à modificação do metabolismo celular responsável pelo fluxo iônico | |
| Anti-inflamatória | Raízes tuberosas | Extrato etanólico, preparado a frio (não especifica modo de preparação do extrato). A análise do extrato, por CLAE, permitiu a identificação qualitativa dos compostos: harpagosídeo, harpagida, verbascosídeo, 8- <i>O</i> -p-cumaril-harpagida. | 1 mg/mL | Atividade anti-inflamatória em tecido subcutâneo, utilizando modelo envolvendo pele (porco) <i>ex vivo</i> . Foram determinados os efeitos dos extratos sobre COX-2, PGE ₂ e sobre as enzimas 5-LO e iNOS. | Os resultados demonstraram que <i>H. procumbens</i> atua na resposta anti-inflamatória em tecidos profundos (como em casos de artrite), através de passagem transcutânea, uma vez que inibiu a expressão de COX-2 e um dos seus produtos, a prostaglandina PGE ₂ . No entanto, não inibiu a 5-LO e a iNOS. | (86) |
| Anti-inflamatória | Raízes tuberosas | Extrato etanólico-75 g de material vegetal em 250 mL de etanol (1:3, p/v), sob agitação <i>overnight</i> , a temperatura ambiente. Foi identificada no extrato, por CLAE, a presença de harpagosídeo (1), harpagida (2), 8-cumarilharpagida (3) e verbascosídeo (4). | ND | Expressão de COX-2 na pele de porco fresca | O extrato de <i>H. procumbens</i> , a associação dos compostos contendo (1), e os compostos (1), (3) e (4), na forma isolada, assim como o ibuprofeno, inibiram a expressão da COX-2 < 50%. O composto mais ativo foi (3). Por outro lado, o composto (2) causou um aumento de duas vezes sobre a expressão da COX-2, quando comparado com o extrato, atuando como proinflamatório. Além disso, (1), (3) e (4) foram mais ativos que o extrato bruto. Os autores sugerem que a presença de (2) no extrato bruto promove o aumento da expressão de COX-2. | (87) |
| Anti-inflamatória | Tubérculos | - Extrato bruto: 75 g do tubérculo pulverizado dissolvido em 250 mL de etanol e agitado overnight ao abrigo da luz a temperatura | ND | Expressão de COX-2 (por Western Blotting) em pele estiparda de porco. | Houve uma correlação significativa ($r^2=0,9496$) entre a relação A/P e o efeito anti-inflamatório apresentado, de modo que as | (88) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------|-----------------|--|--------------|-------------|--|------------|
| | | <p>ambiente. A solução foi então filtrada e evaporada.</p> <p>- Avaliação de sete produtos comerciais a base de <i>H. procumbens</i>:</p> <p>A) comprimido, 600 mg, 100% de extrato concentrado de “garra-do-diabo” (Medic Herb, Marlow, UK).</p> <p>B) Cápsula, 200 mg, 100% de extrato de “garra-do-diabo” (Boots The Chemist, Nottingham, UK).</p> <p>C) Cápsula, 400 mg, 80% de “garra-do-diabo” (Viridian, Daventry, UK).</p> <p>D) Tintura, 333 mg/ mL, 1:3 extrato de “garra-do-diabo” em álcool etílico 25% (Swiss Herbal Remedies, Cardiff, UK).</p> <p>E) Cápsula, 510 mg, 100% de “garra-do-diabo” (Good ‘N Natural for Holland and Barret Retail Ltd, Nuneaton, UK).</p> <p>F) Comprimido, 100% de extrato de “garra-do-diabo” 5:1 padronizado, proporcionando o mínimo de 2,5% de harpagosídeo em cada 100 mg (Just Vitamins Devil’s Claw, Coventry, UK).</p> <p>No caso dos comprimidos, eles foram pulverizados com almofariz e pistilo e dissolvidos em água deionizada. No caso das cápsulas, o seu conteúdo interno foi liberado e dissolvido em água. Todas as soluções obtidas foram sonicadas</p> | | | <p>formulações contendo maior teor de harpagida (componente pró-inflamatório, resultando em menor relação A/P) foram menos ativas. Algumas das formulações não apresentaram efeito anti-inflamatório no modelo estudado., O efeito anti-inflamatório do extrato bruto foisignificativo ($p < 0,05$), enquanto que as formulações A e C não apresentaram atividade e as formulações B e E reduziram a expressão de COX-2, porém não houve significância estatística ($p > 0,05$). As formulações D e F apresentaram efeito pró-inflamatório significativo ($p < 0,05$). Assim, os autores concluem que os pacientes, ao usarem diferentes produtos do mercado, podem estar sujeitos a obter diferentes respostas terapêuticas e que a atual farmacopeia, que preconiza o controle de produtos a base de <i>H. procumbens</i> em termos de teor mínimo de harpagosídeo, estaria inadequada, uma vez que o teor de harpagida também influencia na bioatividade. Assim, os autores sugerem que o índice A/P seria um melhor parâmetro para o controle de qualidade de produtos contendo <i>H. procumbens</i> do que apenas o teor de harpagosídeo.</p> | |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-------------|--------------------|---|--------------------------------|--|--|------------|
| | | <p>por 20 min e centrifugadas por 15 min e analisadas por CLAE para a quantificação de harpagosídeo (1), harpagida (2), verbascosídeo (3) e 8-O-p-cumarilharpagida (4). A tintura foi analisada por CLAE diretamente.</p> <p>Para cada formulação e para o extrato bruto, foram determinadas as concentrações equivalentes à dose diária recomendada pelo fabricante, para cada um dos compostos (1-4). O número total de moles de glicosídeos anti-inflamatórios (1, 3 e 4) foi somado e dividido pelo total de harpagida (2), que é pró-inflamatório, obtendo-se as relações A/P (componentes anti-inflamatórios/ pró-inflamatórios): A) 1,39; B) 2,21; C) 1,16; D) 0,34; E) 1,42; F) 0,2; Extrato bruto: 10,34.</p> | | | | |
| Uterotônica | Raízes secundárias | Extrato aquoso preparado pela maceração das raízes secas e cortadas em água, duas vezes, a temperatura ambiente, por 48 h, com agitação ocasional. Os extratos obtidos das duas extrações foram combinados, rotaevaporados ($60 \pm 1^\circ\text{C}$) e posteriormente liofilizados, totalizando um rendimento de 3,56% de um pó marrom claro. | 10-800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | Avaliação do efeito sobre secções longitudinais de músculo das trombas uterinas de ratas grávidas ou não-grávidas. | O extrato, desde as menores concentrações testadas, mostrou efeito contrátil significativo ($p < 0,05$ em relação ao controle) nas preparações musculares uterinas, tanto das ratas grávidas quanto das não-grávidas. Os autores indicam que o extrato apresenta efeitos espasmogênico e uterotônico em músculos uterinos de mamíferos. Os autores sugerem que os resultados podem justificar o uso popular da espécie como indutor | (61) |

| Atividade | Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Concentração | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------|-----------------|---------------------------|--------------|-------------|---|------------|
| | | | | | e/ou acelerador de trabalho de parto, bem como para a expulsão de placentas retidas em mulheres grávidas. | |

Quadro 12 – Estudos *ex vivo* de atividade farmacológica pré-clínica da espécie *H. procumbens*.

N.D.: não descrito

Embora a principal indicação de uso de preparações a base de *H. procumbens* seja via oral, também há relatos de uso popular externo, como cicatrizante em feridas, em casos de lesões da pele e queimadura, na forma de pomada (15, 53). Em outros países já existem preparações farmacêuticas de uso tópico a base de *H. procumbens*. Sendo assim, estudos que avaliam a absorção tópica de produtos a base de *H. procumbens* merecem considerável importância, já que poderiam auxiliar no tratamento de doenças inflamatórias de pele, com, por exemplo, eczema e psoríase, e a liberação transcutânea apresenta significativo valor em condições inflamatórias, como no caso de artrite.

Nesse contexto, Abdelouahab; Heard (2008) (89) avaliaram a liberação transcutânea dos compostos majoritários das raízes de *H. procumbens*, na pele extirpada de porcos, em soluções preparadas a partir de quatro veículos: água deionizada, etanol 30% em água, PEG 400, PEG 400: etanol 30% (50:50). Foi observado que a maior permeação foi obtida com soluções contendo o veículo etanol 30%. Todos os compostos, harpagosídeo, 8-p-cumaril harpagida e verbascosídeo apresentaram perfis de profundidade de penetração, destacando-se o composto harpagida, detectado em maiores concentrações na fase receptora (89). Porém, a harpagida causou um aumento de duas vezes sobre a expressão da COX-2, quando comparado com o extrato, atuando, portanto, como pró-inflamatório, conforme observado em outro estudo realizado pelo mesmo grupo de pesquisa (87). Dessa forma, os autores discutem que tal formulação que aumenta a permeação da harpagida não seria a mais indicada para formulação para uso tópico (89).

Ainda com relação à atividade pró-inflamatória da harpagida, um estudo realizado por Ouitas; Heard (2010) (88) mostrou que alguns produtos farmacêuticos comerciais, contendo teor mais elevado de harpagida, mesmo contendo os valores preconizados de harpagosídeo, não apresentaram atividade anti-inflamatória, ou apresentaram atividade pró-inflamatória, no modelo *ex vivo* de expressão de COX-2 em peles estirpadas de porco. Os autores, por meio de CLAE, quantificaram os teores de glicosídeos anti-inflamatórios (harpagosídeo, verbascosídeo e 8-O-p-cumarilharpagida) e da harpagida (pró-inflamatória) e calcularam a relação A/P (compostos anti-inflamatórios/ pró-inflamatórios) e observaram que o valor obtido para 6 formulações comerciais se correlacionou ($r^2 = 0,9496$) com o efeito anti-inflamatório observado (inibição da COX-2), de modo que as formulações com menor relação A/P (e portanto, maior teor de harpagida) não apresentaram efeito anti-inflamatório. Assim, os autores concluem que os pacientes, ao usarem diferentes produtos do mercado, podem estar sujeitos a obter diferentes respostas terapêuticas e que a atual farmacopeia, que preconiza o

controle de produtos a base de *H. procumbens* em termos de teor mínimo de harpagosídeo, estaria inadequada, uma vez que o teor de harpagida também influencia na bioatividade. Assim, os autores sugerem que o índice A/P seria um melhor parâmetro para o controle de qualidade de produtos contendo *H. procumbens* do que apenas o teor de harpagosídeo (88). Contraditoriamente, em outro trabalho, Ebrahim; Uebel (2011) (72) observaram que a harpagida foi cerca de 900 vezes mais ativa que o harpagosídeo na inibição enzimática da COX-2. A IC50 para a harpagida foi de 0,1186 mg/ mL, enquanto que para o harpagosídeo foi de 104,1 mg/ mL (72).

Ouitas; Heard (2009) (86), ao avaliarem a atividade anti-inflamatória de *H. procumbens* em tecido subcutâneo, utilizando modelo envolvendo pele de porco *ex vivo*, demonstraram que *H. procumbens* atua na resposta anti-inflamatória em tecidos profundos (como em casos de artrite), por meio de passagem transcutânea, uma vez que inibiu a expressão de COX-2 e um de seus produtos, a prostaglandina PGE₂.

4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

Desde o ano de 1980 vários estudos clínicos vêm sendo realizados com *H. procumbens*, nos quais foram avaliadas a segurança e eficácia do uso de derivados contendo a espécie vegetal. De um modo geral, os ensaios clínicos foram conduzidos com pacientes que apresentavam um dos quadros descritos a seguir: (a) osteoartrite ou artrite reumatóide nos joelhos ou quadril; (b) dor lombar crônica não-específica e/ou (c) dores músculo-esqueléticas. Os estudos foram realizados principalmente por grupos de pesquisadores da Europa, especialmente, da Alemanha, onde produtos a base de *H. procumbens* são utilizados há cerca de cinquenta anos para os quadros clínicos descritos acima (16).

Os estudos apresentaram heterogeneidade em alguns parâmetros: delineamento do estudo, dose utilizada no tratamento, tipos de extratos e monitoramento das condições clínicas, o que dificultou em alguns casos uma avaliação comparativa e quantitativa dos resultados obtidos. Das amostras analisadas nos ensaios clínicos, algumas foram mais homogêneas em relação a parâmetros como: idade, altura, co-morbidades, tipo e duração da severidade, localização da dor no corpo (e se havia ou não radiação da dor) e número de centros que participaram. A homogeneidade pode aumentar a precisão e a confiança, referente às conclusões do estudo, mas também pode limitar a generalização para outras populações com diferentes propriedades.

Quanto à parte da planta vegetal utilizada, quando é mencionado o uso da “garra-do-diabo” está bem estabelecido na literatura o uso medicinal das raízes secundárias tuberosas como

droga vegetal. Quanto à via de administração, embora já existam produtos a base de *H. procumbens* registrados em outros países na forma de pomada, em todos estudos clínicos a via de administração avaliada foi oral, na forma de cápsulas, comprimidos e/ou comprimidos revestidos.

Em alguns compêndios internacionais (2, 90) é preconizado o uso diário de extrato das raízes de *H. procumbens* ou equivalentes na dose de 1,5-3,0 g e 4,5 g, em casos dolorosos de artrite. Nos estudos clínicos existentes para *H. procumbens* pode ser observado que a avaliação de eficácia de derivados da espécie tem variado de 0,96 a 2,610 g/ dia, com exceção de Bélaiche (1982) (91), que avaliou doses de 3,0 e 9,0 g/ dia. Em relação ao teor de harpagosídeo, foi observada, de um modo geral, uma variação de 20 a 60 mg/ dia.

Em relação ao tipo de extrato, a ESCOP (1997) (2) descreve o uso tanto de extrato aquoso, como hidroetanólico. Os primeiros estudos foram realizados, na grande maioria, com extratos aquosos, já os estudos mais recentes avaliaram principalmente extratos hidroetanólicos. Embora até o presente momento não se saiba quais são os compostos ativos presentes nos extratos das raízes de *H. procumbens*, muitos autores consideram os iridóides glicosilados, especialmente o composto harpagosídeo, como componentes ativos. Devido a isso, na ESCOP (1997) (2), assim como em outros compêndios oficiais, está preconizado um teor de harpagosídeo não inferior a 1% para o derivado apresentar atividade, quantidade equivalente a 100 mg de harpagosídeo. No entanto, na grande totalidade dos trabalhos, o tratamento foi realizado com uma quantidade diária de extrato equivalente a, no máximo, 60 mg de harpagosídeo. Apenas dois estudos (91-92) avaliaram a efetividade de extratos de *H. procumbens* contendo de 90-270 mg (91) e 102 mg (92) de harpagosídeo por dia. Não foi observado um maior percentual de melhora no grupo tratado com dose de extrato equivalente a 270 mg de harpagosídeo, comparado ao grupo que recebeu 90 mg de harpagosídeo por dia (91). Ao comparar o efeito de dose diária total de 600 mg de extrato aquoso das raízes de *H. procumbens* (equivalente a 51 mg de harpagosídeo), com grupo tratado com dose de 1200 mg (equivalente a 102 mg de harpagosídeo), houve uma melhora mais significativa no índice de Arhus, embora o grupo da dose de 1200 mg tenha apresentado um maior número de pacientes livre de dor (92).

De um modo geral, as preparações contendo extrato das raízes de *H. procumbens* variam consideravelmente entre os fabricantes, mas contêm extratos somente aquosos ou hidroetanólicos, conforme preconizado em compêndios internacionais (2, 90). No entanto, a grande maioria dos trabalhos não fornece detalhes do modo de preparação do extrato e do teor de harpagosídeo. Os extratos hidroetanólicos, de um modo geral, apresentaram um teor de 60% de etanol. Além disso, não há claras evidências de que uma formulação seja superior à outra, mas especificamente em casos de alívio da dor lombar, a grande maioria dos trabalhos foi conduzida com extrato aquoso.

Como já descrito anteriormente, há algumas controvérsias sobre a correlação do efeito do extrato de *H. procumbens* e o conteúdo dos iridóides glicosilados. Alguns autores sugerem que esses compostos, obtidos após a hidrólise ácida, especialmente, a harpagogenina, são os compostos ativos, considerando que alguns ensaios farmacológicos pré-clínicos *in vivo* sugerem que o extrato de *H. procumbens* e o composto harpagosídeo podem ser parcialmente inativados pelo meio ácido do estômago (78, 93). Dentro deste contexto, alguns laboratórios produzem comprimidos revestidos para evitar uma possível degradação dos compostos durante a passagem pelo estômago.

Embora exista um grande volume de ensaios clínicos com a espécie *H. procumbens*, os resultados obtidos em muitos ensaios clínicos são questionáveis devido a falhas metodológicas. Os primeiros ensaios clínicos conduzidos com *H. procumbens*, especialmente da década de 80 e 90, não fornecem informações sobre dose adequada e efeitos adversos e, embora muitos ensaios comparem o tratamento de *H. procumbens* com fármacos utilizados na terapêutica em casos de osteoartrite, artrite reumatóide e dor lombar, a ausência de randomização e cegamento pode ter gerado viés nos resultados. Alguns estudos randomizados, duplo cego, controlados por placebo, também apresentam algumas falhas como pobreza ou ausência de dados basais iniciais dos pacientes (como, por exemplo, (94)), enquanto outros apresentam falta de transparência dos dados. Por exemplo, Grahame; Robinson (1981) (95) avaliaram a eficácia do extrato aquoso de *H. procumbens* (1230 mg/ dia), durante 6 semanas, mas não encontram benefícios com o uso de *H. procumbens*. No entanto, o número reduzido da amostra (N= 13) e baixa dose (1230 mg/ dia), já que os pacientes incluídos no estudo apresentavam estágio severo de reumatismo, podem ter contribuído para o resultado obtido.

As evidências sobre as atividades anti-inflamatória e analgésica, principalmente em casos de artrite e reumatismo a longo-prazo e/ou em doses elevadas, são escassas. A grande maioria dos trabalhos foi conduzida por períodos curtos, de 4 a 8 semanas, enquanto que em longo prazo foram encontrados apenas dois trabalhos. No entanto, por outro lado, produtos a base de *H. procumbens* vem sendo utilizados na Alemanha por mais de cinquenta anos, sem relatos de toxicidade. Apenas um estudo (91), que avaliou a administração de uma dose elevada (9,0 g/ dia) do extrato aquoso de *H. procumbens*, descreveu que não foram observados eventos adversos sérios, sendo relatado principalmente desconfortos gastrointestinais moderados. De acordo com a grande maioria dos trabalhos que avaliaram a tolerabilidade e segurança de derivados de *H. procumbens* em curto prazo, os resultados demonstram uma boa tolerabilidade, com a ocorrência de eventos adversos moderados, sendo principalmente distúrbios no TGI, como dispepsia e diarreia (96-97). Dessa forma, o uso de *H. procumbens* parece estar associado com eventos adversos menores, quando comparado aos AINES e os inibidores seletivos da COX-2. Os AINES

são utilizados na terapêutica de condições inflamatórias, como no caso de osteoartrite ou dores músculo-esqueléticas, de um modo geral. No entanto, embora esses fármacos sejam considerados efetivos na redução da dor, apresentam muitos efeitos adversos, sendo relacionados principalmente a efeitos no TGI, incluindo dispepsia, náuseas, vômito, dor no abdômen, azia, úlceras perfuradas e sangramentos. Já para os inibidores seletivos da COX-2, estudos têm demonstrado elevado risco de eventos cardiovasculares, hepáticos e reações alérgicas, que culminaram com a retirada de alguns desses fármacos do mercado, como o rofecoxibe e valdecoxibe (98). Segundo a ESCOP (1997) (2), o período recomendado para o tratamento de casos dolorosos de artrose é de no mínimo 2 a 3 meses. Em um trabalho de revisão, é recomendado o tratamento por um período de no mínimo 4 semanas de administração diária para o extrato apresentar efetividade (99).

Barnes; Ernst (1998) (100) demonstraram que no Reino Unido, dentre os médicos que utilizam a fitoterapia como tratamento alternativo, os casos inflamatórios crônicos, como a artrite, foram citados como os casos que mais requerem a fitoterapia como um recurso alternativo no tratamento dessas condições. Especificamente em casos de artrite, a espécie mais citada foi *H. procumbens*, a qual foi considerada pela experiência dos prescritores, em relação à segurança, como excelente (100).

Em uma revisão sistemática sobre a eficácia de *H. procumbens* no tratamento da dor lombar crônica, foi concluído que há fortes evidências que demonstram que o extrato aquoso de *H. procumbens*, contendo 50 mg de harpagosído, diminui a dor de forma mais significativa que o placebo, em tratamento a curto prazo, em pacientes com episódios agudos (101).

Em relação a outras indicações populares citadas na literatura, não há embasamento científico suficiente que justifique o uso de extrato de *H. procumbens* para outros fins, que não como anti-inflamatório e analgésico, em casos de osteoartrite, artrite reumatóide e dores músculo-esqueléticas, especialmente dor lombar.

Em suma, de um modo geral, os estudos que investigaram os derivados obtidos com as raízes de *H. procumbens*, embora não confirmem a melhor dose, fornecem fortes evidências sobre a possível efetividade do tratamento com a espécie. No entanto, estudos devem ser desenvolvidos para avaliar o uso contínuo por períodos longos de doses mais elevadas dos extratos, que garantam a sua segurança e tolerabilidade (101-102).

4.4.1 Fase I

No Quadro 13 serão apresentados os ensaios farmacológicos clínicos de Fase I realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|--|--|--|---|------------|
| Raízes | N.D. | Dose única de 150 mg | Estudo randomizado, duplo-cego, dose única, crossover para avaliar hipersensibilidade imediata tipo I. Controle: placebo. Controle positivo: fexofenadina (60 mg). N = 15 voluntários. | Após administração de dose única do extrato, não foi observada alteração na resposta da histamina sobre a pele, não houve inibição da formação de pápula e de mácula na pele. Dessa forma, os autores sugerem que não há necessidade da interrupção do uso de um produto contendo extrato de “garra-do-diabo”, como componente ativo, previamente a um teste para identificação de alérgenos. Os EA relatados pelos pacientes foram principalmente no TGI: náusea, diarreia e dispesia. | (103) |
| Raízes | (1) Cápsula contendo extrato de <i>H. procumbens</i> (25%), correspondente a 100 e 200 mg de harpagosídeo. (2) Cápsulas contendo extrato de <i>H. procumbens</i> HF 8858, equivalente a 25% de harpagosídeo. (3) Comprimidos revestidos de 200 mg do extrato WS1531 (9% de harpagosídeo) | Administração com 150 mL de água, após uma noite jejum. - Estudo 1: 400 mg de 1. Após 14 dias, mais 600 mg e após 14 dias, 800 mg. - Estudo 2: 600 mg de 2. - Estudo 3: 600, 1200 e 1800 mg de 3. | N = 10 voluntários. - Estudo 1 = 1 voluntário (estudo piloto). - Estudo 2 = 6 voluntários. - Estudo 3 = 3 voluntários. Amostras de sangue foram coletadas antes da administração e nos tempos 0,5/ 1/ 1,5/ 2/ 2,5/ 3/ 4/ 5/ 6/ 7/ 8/ 9/ 10/ 12 e 24 h. Determinação de harpagosídeo nas amostras de sangue por CLAE-UV. | De acordo com os resultados obtidos, o composto harpagosídeo é absorvido via oral e alcançou valores máximos (C_{max}) em amostras de sangue nos tempos de 1,3 a 2,5 h e foram calculados como 15,4/16,4/8,2/32,2/27,8 e 50,1 ng/ mL, correspondente as doses de 43,8/100/108/150/162 e 200 mg de harpagosídeo, respectivamente. O $t_{1/2}$ foi curto e variou entre 3,7-6,4 h. O clearance foi em torno de 15 L/ min. Os níveis de harpagosídeo em amostras de sangue foram detectados somente em doses maiores de 54 mg, sendo que as possíveis causas que podem ser apontadas são o metabolismo de primeira passagem ou baixa absorção oral. Os metabólitos resultantes do metabolismo de primeira passagem ainda não foram determinados. | (67) |
| Raízes | Cápsulas de 500 mg contendo 3% de iridóides glicosilados. | <i>H. procumbens</i> (Grupo H): 2 g, durante 21 dias. Grupo Placebo (Grupo P). | Amostras de sangue foram coletadas por punção venosa antes e no final do tratamento para avaliação da produção de PGE ₂ , TXB ₂ , 6-ceto-PGF _{1α} e LTB ₄ . N = 34 voluntários sadios (N = 9, grupo P e N = 25, grupo H). | Nas condições de estudo, o extrato de <i>H. procumbens</i> não alterou a biossíntese de eicosanóides, tanto pela via da ciclooxigenase, como pela via da lipooxigenase. | (104) |

Quadro 13 – Estudos clínicos de Fase I realizados com *H. procumbens*.

N.D.: não descrito; EA: eventos adversos; N = número de voluntários.

Como pode ser observado no Quadro 13, são relativamente poucos os estudos clínicos realizados em voluntários sadios. Os estudos detectados são relacionados a toxicidade ou à farmacocinética de *H. procumbens*.

More; Napoli; Hagan (2003) (103) avaliaram a toxicidade aguda do extrato de *H. procumbens* sobre a hipersensibilidade imediata do tipo I. Embora não tenham sido observados sinais de toxicidade, a dose administrada foi extremamente baixa (150 mg). Considerando a falta de estudo de toxicidade para uso contínuo e de clareza sobre as interações medicamentosas, deve-se ter precaução, evitando o uso excessivo dessa planta.

Foram encontrados na literatura apenas três estudos que avaliaram o perfil farmacocinético dos compostos presentes em medicamentos fitoterápicos a base de *H. procumbens*, sendo apenas um deles realizados em humanos. Os resultados obtidos por Loew et al. (2001) (67) demonstram que após a administração oral de extratos de *H. procumbens*, o composto harpagosídeo é detectado no plasma sanguíneo, indicando que não ocorre hidrólise ácida total deste composto pela passagem pelo estômago. No entanto, a metodologia utilizada não está muito clara, quando se refere a forma de administração e o tempo de tratamento. Os outros estudos do mesmo grupo mesmo de pesquisadores avaliaram a farmacocinética de diferentes produtos comercializados a base de *H. procumbens*, com diferentes teores de harpagosídeo, em cavalos (105-106). No entanto, considerando que a avaliação farmacocinética é um dos pontos críticos para o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos e um dos entraves para o desenvolvimento dessa área é a dificuldade no desenvolvimento de métodos bioanalíticos confiáveis para a quantificação dos compostos ativos presentes em extrativos de espécies vegetais, justifica-se a realização de um estudo para avaliar o perfil farmacocinético em humanos, associado ao desenvolvimento e validação de um método por CLAE sensível para determinar a presença dos iridóides glicosilados em fluídos biológicos.

Moussard et al. (1992) (104) avaliaram o teor de eicosanoides no sangue de voluntários tratados com *H. procumbens*. Contrariamente aos estudos pré-clínicos que indicam que o extrato age possivelmente pela inibição das vias das ciclooxigenases, os autores observaram que o extrato, nas condições desse estudo, não alterou a biossíntese de eicosanoides, tanto pela via da ciclooxigenase como pela via da lipooxigenase (104). No entanto, é importante ressaltar que o extrato foi administrado em voluntários sadios, o que de alguma forma poderia influenciar nos resultados obtidos. Dessa forma, mais estudos nesse

sentido devem ser realizados para se ter mais evidências acerca do mecanismo de ação do extrato.

4.4.2 Fase II

No Quadro 14 serão apresentados os ensaios farmacológicos clínicos de Fase II realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---|--|---|---|------------|
| Raízes | Extrato aquoso. Produto comercial: Salus® (comprimidos de 410 mg). | <i>H. procumbens</i> (grupo H): 1,23 g (< 30 mg de harpagosídeo) Controle: fenilbutazona (grupo F): dia 1-4: 300 mg, dia 5-28: 200 mg. Tempo de tratamento: 28 dias. | Estudo randomizado controlado. N = 50 pacientes com osteoartrite nos joelhos e quadril e/ou com artrite gotosa. | Ligeira melhora da dor espontânea no grupo H (80%), comparado com o grupo F (72%). O número de pacientes que apresentaram melhora da mobilidade e da rigidez matinal foi 1 e 2 pacientes no grupo H e, 5 e 5, no grupo F, respectivamente. Em relação à segurança, foram reportados 4 EA no grupo F e nenhum no grupo H. | (107) |
| Raízes | Extrato hidroetanólico (45:55, etanol: água) contendo 1,5% de iridóides glicosilados. | <i>H. procumbens</i> (grupo H): 2,4 g (< 20 mg de harpagosídeo. Grupo Placebo (grupo P). Cápsulas de 400 mg, duas cápsulas, 3 vezes/dia. Tempo de tratamento: 3 semanas. | Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. N = 50 pacientes com artrose em múltiplos locais. | Após 10 dias de tratamento, o grupo H apresentou significativa diminuição da dor severa, quando comparado ao grupo P. No entanto, a melhora foi mais significativa no grupo com dor moderada. | (108) |
| Raízes | Produto comercializado: Arkophytum® (cápsulas de 335 mg). Extrato contendo 3% de iridóides glicosilados. | <i>H. procumbens</i> (grupo H): 2,1 g/dia equivalente a 60 mg de harpagosídeo Grupo placebo (grupo P). 2 cápsulas de 335 mg / 3 vezes dia Tempo de tratamento: 8 semanas. | Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. N = 89 pacientes com osteoartrite e artrite reumatóide nos joelhos e quadril. | Foi observada uma melhora da intensidade da dor (escala de VAS - Escala Analógica Visual - e distância dos dedos até o chão) e da mobilidade em pacientes do grupo H, quando comparado com o grupo P, avaliado nos dias 0, 30 e 60. Não foram observados EA em ambos os grupos, nem alterações nos parâmetros biológicos (incluindo hemograma). | (94) |
| Raízes | Extrato aquoso. Produto comercializado: Doloteffin® (comprimidos revestidos de 400 mg). Proporção droga: extrato (1,5-5:1). Foi identificada por CLAE a presença de harpagosídeo. | <i>H. procumbens</i> (grupo H)= 2,4 g, equivalente a 50 mg de harpagosídeo. 2 comprimidos revestidos de 400 mg, 3 vezes por dia. Grupo placebo (grupo P). 2 comprimidos revestidos/3 vezes/dia. Tempo de tratamento: 4 Semanas. Foi permitido o uso de tramadol. | Estudo duplo-cego, randomizado, controlado por placebo. N = 118 pacientes com dor lombar crônica não-específica. Grupo H: 54 (18 homens: 36 mulheres), com idade média de 55,7 anos. Grupo P: 55 (16 homens: 39 mulheres), com idade média de 53 anos. Os pacientes incluídos no estudo sofriram, no mínimo, por seis meses de dores lombares ou de | O estudo terminou com 109 pacientes (5 pacientes do grupo H e 4 do grupo P abandonaram o estudo). Um dos pacientes do grupo H abandonou o estudo porque apresentou taquicardia. Ao final do estudo, 9 pacientes do grupo H e um paciente do grupo P, não apresentaram mais dor. Em relação ao índice de Arhus, houve uma melhora de 20% no grupo H em relação aos valores iniciais e no grupo P, uma melhora de 8%. O tratamento com o extrato de <i>H. procumbens</i> apresentou eficácia no tratamento agudo da dor lombar, em um grande número de pacientes (livres de dor), | (109) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|--|---|---|---|------------|
| | | | crises de dor aguda. | comparado com o grupo P; redução do índice de Arhus para dor lombar, particularmente em pacientes sem radiação da dor para as pernas. Não foram observadas alterações na pressão arterial, na frequência cardíaca e respiratória e nos parâmetros bioquímicos e hematológicos, durante o período do estudo, entre os dois grupos. | |
| Raízes | Extrato aquoso WS 1531 (extrato não comercializado). Comprimido de 200 mg = 17 mg de harpagosídeo. Comprimido de 400 mg ≈ 34 mg. | -Grupo H600: 600 mg equivalente a 51 mg de Harpagosídeo. 3 comprimidos de 200 mg/dia. -Grupo H1200: 1200 mg, equivalente a 102 mg de harpagosídeo. 3 comprimidos de 400 mg/ dia. -Grupo placebo (grupo P): lactose. Durante o estudo foi permitido o uso de tramadol (400 mg/ dia). Tempo de tratamento: 4 semanas. | Estudo duplo-cego, randomizado comparado com placebo. N = 197 pacientes com dor lombar crônica não específica (grupo P=66; grupo H600=65, grupo H1200=66). | O estudo foi finalizado com 183 pacientes. Os pacientes que não concluíram o estudo foram: 3-grupo P (2 apresentaram dor considerada insuportável e 1 apresentou queixas cardiovasculares), 8-grupo H600 (2 apresentaram infecção viral e sintomas psicossomáticos e 1 teve um quadro de mucorréia, reações de pele, falha na administração do medicamento e dor insuportável) e 3-grupo H1200 (1 com reações alérgicas, outro não suportou a dor e um paciente não compareceu aos exames finais). Ao final do estudo, o número de pacientes livres de dor, sem o uso de analgésicos, foram 3-grupo P; 6-grupo H600 e 10-grupo H1200 (P=0,0027). A maioria dos pacientes que responderam ao tratamento sofriam de dor há menos de 42 dias. Foi observado melhor efeito em pacientes com dor severa e irradiada, acompanhada de déficit neurológico. Por outro lado, em relação ao índice de Arhus, embora tenha apresentado benefícios aparentes, foi observado melhores resultados no grupo H600 e em pacientes sem dor severa, radiação ou déficit neurológico. Em relação a segurança, um pequeno número de pacientes do grupo H apresentaram distúrbios moderados no TGI. | (110) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---|--|--|--|------------|
| Raízes | Extrato hidroetanólico (60:40, etanol: água). Produto comercializado: Flexiloges [®] (comprimidos revestidos de 480 mg). Proporção droga: extrato (4,4-5,0:1). | Flexiloges (grupo F): 960 mg equivalente a 30 mg de harpagosídeo. Controle positivo: ibuprofeno 800 mg. Como suplemento do tratamento cada paciente recebeu 800 mg de ibuprofeno nas semanas 1-8 e 400 mg nas semanas 9-16. Ao final de 4 semanas não foi mais permitido o uso de analgésico. Tempo de tratamento: 20 semanas. | Estudo duplo-cego, placebo controlado. N = 46 pacientes com osteoartrite e artrite reumatóide nos joelhos e quadril. | A eficácia foi determinada pelo número de pacientes que responderam ao tratamento (pacientes que utilizaram menos de 4000 mg de ibuprofeno e apresentaram um aumento de 20% na escala WOMAC nas semanas 17-20). Significante redução da dor em pacientes do grupo F, em associação com ibuprofeno (71%), comparado com o tratamento com ibuprofeno (41%). Quanto a segurança foi reportado semelhança nos EA observados (8-grupo F e 7-grupo P). | (111) |
| Raízes | Extrato hidroetanólico (60:40, etanol: água). Produto comercializado: Rivoltan [®] Proporção droga: extrato (4,4-5,0:1). | Rivoltan (Grupo R): 960 mg, equivalente a 30 mg de harpagosídeo. 1 comprimido revestido de 480 mg, 2 vezes/dia, pela manhã e a noite. Grupo placebo (Grupo P). Tempo de tratamento: 4 semanas. | Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. N = 63 pacientes com dor leve a moderada, tensão muscular no ombro, pescoço e região lombar. Grupo R: 31 pacientes. Grupo P: 32 pacientes | 12 pacientes não completaram o estudo. A tolerabilidade foi considerada satisfatória, já que 4 pacientes do grupo R e 2 pacientes do grupo P apresentaram EA moderados. Após 4 semanas de tratamento, 46% dos pacientes do grupo R apresentaram um quadro livre de dor, e o grupo P, apresentou um percentual de 2%. | (112) |
| Raízes | Extrato aquoso. Produto comercializado: Doloteffin [®] (comprimidos revestidos de 400 mg). Proporção droga: extrato (1,5-5:1). Conteúdo não menor que 1%. | Doloteffin (grupo D) = 2400 mg equivalente a 60 mg de harpagosídeo. 2 comprimidos de 400 mg, 3 vezes/dia + um comprimido placebo/ dia. Vioxx [®] (rofecoxibe) (grupo V): 12,5 mg. um comprimido de 12,5 mg/dia + 2 comprimidos placebo/3 vezes por dia. Tempo de tratamento: 6 semanas | Estudo randomizado, duplo-cego, comparativo. N = 88 pacientes com dor lombar crônica não-específica (grupo D = 44 pacientes, idade média 61 anos, 10 homens; grupo V = 44 pacientes, com idade média de 62 anos e 14 homens). Foi permitido o uso de 400 mg/ dia de tramadol líquido (2,5 mg/ mL). | 79 pacientes completaram o estudo (43 do grupo D e 36 do grupo V). Um paciente do grupo D e 8 do grupo V abandonaram o estudo, 7 devido a EA (1 do grupo D e 6 do grupo V) e 1 por dor lombar excessiva. O número de pacientes que responderam ao tratamento ao final das 6 semanas foi de 17% dos 88 pacientes (10 do grupo D e 5 do grupo V). Comparando os resultados obtidos na quarta e sexta semana com a primeira semana, foi observado uma melhora de 20 a 50% dos sintomas da dor, sem diferença entre os grupos D e V. | (113) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|--|---|---|--|------------|
| | | | | 28 pacientes (14 em cada grupo) relataram 39 EA, principalmente distúrbios no TGI (8 no grupo D e 9 no grupo V). | |
| Raízes | Extrato aquoso. Produto comercializado: Doloteffin® (comprimidos revestidos de 400 mg). Proporção droga: extrato (1,5-2,5:1). Conteúdo não menor que 1%. | Doloteffin (grupo D): 2,4 g equivalente a 60 mg de harpagosídeo. Tempo de tratamento: 54 semanas. | Estudo de seguimento pelo período de um ano, do estudo de Chrubasik et al. (2003). 38 pacientes do ex-grupo Doloteffin e 35 do ex-grupo Vioxx receberam Doloteffin. N = 88 pacientes com dor lombar crônica não-específica (Grupo D-44 e grupo R-44). | 43 pacientes terminaram o estudo. 17 pacientes relataram 21 EA: 5 no TGI, 3 aumentos dos níveis de GGT, 6 problemas esqueléticos, 3 problemas de pele e 4 outros EA. A pressão sanguínea não foi afetada. Ao final do seguimento foi observado uma redução da dor em percentual maior que 50%, alcançado dentro de 3 meses e foi mantido por 9 meses, com poucos EA (reações alérgicas e distúrbios no TGI). | (114) |

Quadro 14 – Estudos clínicos de Fase II realizados com *H. procumbens*.

N.D.: não descrito; EA: eventos adversos; N = número de voluntários.

4.4.3 Fase III

No Quadro 15 serão apresentados os ensaios farmacológicos clínicos de Fase III realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---|---|---|--|------------|
| Raízes | Não informado o tipo do extrato. Produto comercializado (cápsula de 435 mg) (extrato de <i>H. procumbens</i> e/ou <i>H. zeyheri</i>). A concentração de harpagosídeo e iridóides glicosilados totais (harpagosídeo, harpagida, 8-p-cumarilharpagida e procumbida) foi determinada por CLAE. 8-p-cumarilharpagida: 5,9% Cada comprimido contem 9,5 mg de harpagosídeo e 14,5 mg de iridóides glicosilados totais. | Grupo teste (grupo H)= 2,61 g equivalente a 57 mg de harpagosídeo. 6 cápsulas de 435 mg de extrato em pó de <i>H. procumbens</i> + 2 cápsulas de placebo/dia. Grupo diacereína (grupo D): 100 mg. 2 cápsulas de 50 mg + 6 cápsulas de placebo/dia. Tempo de tratamento: 16 semanas. | Estudo duplo-cego, randomizado, comparativo e multicêntrico. Durante o tratamento, foi permitido o uso de diclofenaco ou paracetamol associado a cafeína. N = 122 pacientes com osteoartrite e artrite reumatóide nos joelhos e quadril. Grupo H: 62 pacientes, com idade média de 62,25 anos e 42 mulheres. Grupo D: 60 pacientes, com idade média de 61 anos e 35 mulheres. | 30 pacientes não completaram o estudo (12 do grupo H e 18 do grupo D). Em relação à eficácia do produto comercializado, não foi observada diferença entre o grupo H (65,3%), comparado ao grupo D (60%). Ambos os grupos reduziram o índice de Lequesne, sem diferença entre os grupos. Outro fato observado foi que, após o período de tratamento, os pacientes do grupo H diminuíram o uso AINES e fármacos antálgicos, comparado com o grupo D. Em relação aos EA, 26 pacientes do grupo D e 16 pacientes do grupo H reportaram um ou mais EA. O evento adverso mais freqüente foi diarreia, com ocorrência de 8,1% e 26,7%, no grupo H e D, respectivamente. Os autores concluem que o produto comercializado apresenta eficácia similar a diacereína e segurança superior a diacereína no tratamento de osteoartrite e artrite reumatóide do joelho ou quadril. | (115) |
| Raízes | Não informado o tipo do extrato. Produto comercializado (cápsula de 435 mg) (extrato de <i>H. procumbens</i> e/ou <i>H. zeyheri</i>). A concentração de harpagosídeo e iridóides glicosilados totais (harpagosídeo, harpagida, 8-p-cumarilharpagida e procumbida) foi determinada por CLAE. 8-p-cumarilharpagida: 5,9% Cada comprimido contem 9,5 mg de harpagosídeo e 14,5 mg de iridóides glicosilados totais. | Grupo teste (grupo H) = 2,61 g equivalente a 57 mg de harpagosídeo. 6 cápsulas de 435 mg/dia. Grupo diacereína (grupo D) (ART50®) = 100 mg. 2 cápsulas de 50 mg/ dia. | Estudo randomizado, duplo-cego, multicêntrico, comparado com fármaco. Durante o tratamento foi permitido, quando necessário, o uso de paracetamol associado de cafeína e diclofenaco (50 mg), em uma dose diária não maior que 3 comprimidos. N = 122 pacientes com osteoartrite no joelho e/ou quadril. Grupo H = 62 pacientes, com idade média de 62,25 anos (42 mulheres/ 18 homens); Grupo D = 60 | 92 pacientes concluíram o estudo (grupo H = 60 e grupo D = 42). Após 4 meses de tratamento foi observado que ambos grupos H e D apresentaram eficácia similar referente ao alívio da dor. Os resultados foram confirmados também por meio do índice de Lequesne e pelo score na VAS. Os pacientes do grupo H, ao final dos 120 dias de tratamento, diminuíram significativamente o número de comprimidos de diclofenaco e paracetamol-cafeína, comparado ao grupo diacereína. Em relação à segurança, o grupo H apresentou 13% de EA, já o grupo diacereína, 23%. Os principais EA foram distúrbios gastrointestinais, sendo diarreia o evento adverso mais freqüente (grupo H = 8,1% e grupo D = 26,7%). Grupo H apresentou maior | (116) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---------------------------|-------------|--|--|------------|
| | | | pacientes, com idade média de 61,08 anos (35 mulheres/ 25 homens). | efetividade no tratamento de osteoartrite de joelho ou quadril, quando comparado com o grupo D e diminuiu significativamente o uso de AINES e analgésicos. | |

Quadro 15 – Estudos clínicos de Fase III realizados com *H. procumbens*.

EA: eventos adversos; N = número de voluntários.

Alguns compêndios oficiais aceitam em produtos contendo *Harpagophytum*, além de *H. procumbens*, a espécie *H. zeyheri* (25-26). Pela dificuldade de diferenciação da droga vegetal, alguns produtos comercializados contendo extrato seco de *H. procumbens* podem conter uma associação de ambas as espécies. Desta forma, embora todos os estudos clínicos descrevam como objeto de estudo derivados a base de *H. procumbens*, por consulta à bula dos produtos foi constatada a presença de *H. procumbens* e/ou *H. zeyheri* em alguns deles. Dentre os ensaios os clínicos existentes para a espécie, cabe destacar o estudo de Chantre et al. (2000) (115), um ensaio randomizado, duplo-cego, comparado com diacereína, por um período de 16 semanas, pode ser considerado um dos ensaios que apresentou maior rigor. Na metodologia do estudo está claro como foi realizado o processo de randomização e o cegamento do estudo e, além disso, foi conduzido em 30 centros, indicando a generalização do estudo.

4.4.4 Fase IV

No Quadro 16 serão apresentados os ensaios farmacológicos clínicos de Fase IV realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|--|--|---|--|------------|
| Raízes | Extrato aquoso Produto comercializado. Proporção droga: extrato (2,5:1). | <i>H. procumbens</i> : 1,8 g equivalente a 30 mg de harpagosídeo (Grupo H). Grupo placebo (Grupo P). Tempo de tratamento: 6 semanas. | Estudo aberto, não randomizado, comparado com tratamento convencional (estudo pós-comercialização). 3 × 600 mg (monoterapia), ou associada com outra terapia (N=51) ou terapia convencional (N=51, AINE, exercícios físicos ou injeção paravertebral). N= 102 pacientes com dor lombar crônica. | Foi observado uma melhora no índice de Arhus de 20%, em ambos grupos. Entre a semana 4 e 6 houve uma melhora de mais de 30%. O número de pacientes livres de dor após a semana 4 e 6 foram, 16 e 20 (grupo H) e 12 e 23 (grupo P). O grupo de pacientes que recebeu apenas o tratamento com o extrato de <i>H. procumbens</i> , apresentou melhora similar aos outros grupos. Não foram observados EA que impedissem a continuidade do estudo. | (117) |
| Raízes | Extrato | <i>H. procumbens</i> | Estudo pós- | Ao final do estudo, 6 | (118) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|--|--|---|--|------------|
| | hidroetanólico (40:60, água: etanol). Produto comercializado: comprimidos revestidos de 300 mg. Proporção droga: extrato (1,5-2:1, v/v). | (grupo H): 2,5 g, contendo o equivalente de 30 mg de harpagosídeo. 2 comprimidos, 3 vezes por dia. Tempo de tratamento: 4 semanas. | comercialização. Estudo piloto, randomizado. N = 100 pacientes que sofriam de vários tipos de dores reumáticas. | pacientes no grupo H e 32 no grupo P, apresentaram dor moderada. Apenas um paciente no grupo H apresentou dor severa e 9 pacientes no grupo P. Em relação aos EA, houveram dois relatos (grupo H=1 paciente com diarreia, grupo P=1 paciente com gastrite leve). | |

Quadro 16 – Estudos clínicos de Fase IV realizados com *H. procumbens*.

EA: eventos adversos; N = número de voluntários.

4.4.5 Estudos observacionais

No Quadro 17 serão apresentados os ensaios farmacológicos clínicos observacionais realizados com a espécie *H. procumbens*.

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---|--|--|--|------------|
| Raízes | Extrato aquoso. Produto comercializado: comprimidos de 410 mg. | <i>H. procumbens</i> (grupo H): 1,23 g (< 30 mg de harpagosídeo). Tempo de tratamento: 6 semanas. | Estudo aberto (observacional). Foi permitido o uso de corticosteróides, salicilatos, indometacina e derivados do ácido propiônico, dentro outros. N=13 (11 pacientes com artrite e 2 com artropatia psoriática). Pacientes com dores músculo esqueléticas. | Após 6 semanas de tratamento, 4 pacientes relataram uma melhora, que não foi considerada significativa, considerando o grupo inteiro. Não foi observado aparente benefício com o tratamento com <i>H. procumbens</i> . | (95) |
| Raízes | Extrato aquoso (proporção droga: extrato, 3:1) contendo 2,5% de iridóides glicosilados | 3 ou 9 g, dividido em 3 doses diárias (90 ou 270 mg de harpagosídeo). Tempo de tratamento: 24 semanas. | Estudo aberto (observacional). N = 630 pacientes com atrose nos joelhos, quadril, coluna vertebral e dedos. | Significante alívio da dor, variando de 14,9-56,2%, dos pacientes que receberam 3 g/dia de <i>H. procumbens</i> e 13,9-39,08%, dos pacientes que receberam 9 g/dia. Não foram relatados EA severos, somente distúrbios no TGI moderados, quando administrado em altas doses. | (91) |
| Raízes | Produto comercializado. Proporção droga: extrato, 2:1. Extrato contendo 3% de iridóides glicosilados. | <i>H. procumbens</i> : 2,46 g, equivalente 60 mg de harpagosídeo. Grupo Placebo (grupo P). Tempo de tratamento: 4 semanas | Estudo aberto (observacional). N = 100 pacientes com artrite reumatóide e osteoartrite. | Após 4 semanas de tratamento, os pacientes com dor moderada foram 6 no grupo H e 32 no grupo P. Um paciente apresentou dor severa no grupo H e 9 no grupo P. Foi observado uma significativa melhora dos sintomas da dor, da mobilidade e na rigidez matinal. EA foram relatados por 2 pacientes (grupo H- um paciente com diarreia e grupo P- um paciente com gastrite moderada). | (119) |
| Raízes | Extrato hidroetanólico (60:40, etanol: água). Produto comercializado: comprimidos de 480 mg. Proporção droga: extrato (4,4-5:1, v/v). | Problemas agudos e crônicos na coluna espinhal = 960 mg de <i>H. procumbens</i> , equivalente a < 30 mg de harpagosídeo + duas vezes por semana Osteoartrite= injeção. Tempo de tratamento: 6 semanas. | Estudo observacional. N = 99. Pacientes com distúrbios na coluna espinhal agudos ou crônicos = 26; osteoartrite no joelho = 76. | 68% dos pacientes apresentaram um quadro livre de dor com significativa redução dos sintomas. | (120) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---|--|---|---|------------|
| Raízes | Extrato hidroetanólico (60:40, etanol: água). Produto comercializado: comprimidos revestidos de 480 mg. Proporção droga: extrato (4,4-5,0:1) | <i>H. procumbens</i> : 960 mg, equivalente a 24 mg de harpagosídeo. Tempo de tratamento: 6 semanas. | Estudo observacional. N = 1026 pacientes com distúrbios degenerativos no sistema locomotor (coluna espinhal e lombar, joelhos, dedos e quadril). | 83% dos pacientes utilizaram somente o extrato de <i>H. procumbens</i> durante o estudo; 6% utilizaram algum tipo de AINE e 11%, terapias manuais. Além disso, 61% dos pacientes apresentaram uma diminuição da dor, aumentando a mobilidade em 52,5%. A tolerabilidade foi considerada boa ou muito boa por 96% dos pacientes. Não foram reportados EA. | (121) |
| Raízes | Extrato hidroetanólico (60:40, etanol: água). Produto comercializado: comprimidos revestidos de 480 mg. Proporção droga: extrato (4,4-5,0:1). | Grupo Rivoltan (grupo R): 960 mg, equivalente a < 30 mg de harpagosídeo. Comprimidos revestidos de 480 mg, duas vezes ao dia (manhã e noite) Tempo de tratamento: 8 semanas. | Estudo observacional, multicêntrico. N = 130 pacientes com dor lombar crônica não radicular (68% mulheres e 32% homens e idade média de 51 anos). Em 66,7% dos pacientes, a dor estava centrada na coluna lombar; 26,5% com dor na espinha torácica e espinha lombar; em 3,4%, apenas na espinha torácica, e em 3,4% dos pacientes, espinha cervical e espinha lombar. | 117 pacientes completaram o estudo (o abandono deveu-se a retornos irregulares e nenhuma melhora aparente). No grupo R foi observada uma redução na escala do índice de Arhus de 64%. Também na análise da escala multidimensional da dor (MPS), houve uma melhora de 10,7 para 4,7 em 114 pacientes analisados. A mobilidade da coluna espinhal também aumentou significativamente, na avaliação da distância dos dedos ao chão (MPS) e sinais de Schober's. Em relação à tolerância, a maioria dos pacientes não utilizou mais nenhum tipo de AINE. Não foram observados EA graves, somente dois casos relataram surtos de suor e insônia e um caso relatou dispepsia no TGI. O tratamento com Rivoltan em pacientes com dor crônica nas costas não radicular com sintomas, no mínimo por um período anterior ao tratamento de 6 meses, apresentou efetividade, já que 73,5% de todos os pacientes tiveram um alívio da dor de moderado para muito bom. | (122) |
| Raízes | Extrato hidroetanólico (60:40, | Grupo Flexiloges (grupo | Estudo observacional. N = 583 | 2 pacientes abandonaram o estudo. Foi | (123) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---|---|---|--|------------|
| | etanol: água). Produto comercializado: comprimidos revestidos de 480 mg. Proporção droga: extrato (4,4-5,0:1). | F): 960 mg, equivalente a < 30 mg de harpagosídeo. Tempo de tratamento: 8 semanas. | pacientes com gonartrose e coxartrose. | observado uma melhora na dor na escala WOMAC de 52,5%, e na rigidez de 49,6%. A avaliação global dos pacientes foi considerada 84,6%, muito boa ou boa e 61,4% dos pacientes interromperam todos os medicamentos convencionais utilizados. Em relação à segurança, 6 pacientes relataram EA, incluindo boca seca, comichão e distúrbios no TGI. | |
| Raízes | Extrato hidroetanólico (60:40, etanol: água). Produto comercializado: Comprimido revestido de 480 mg. Proporção droga: extrato (4,4-5,0:1). | <i>H. procumbens</i> : 960 mg, equivalente a < 30 mg de harpagosídeo. Comprimido revestido de 480 mg, duas vezes por dia. Tempo de tratamento: 8 semanas. | Estudo observacional multicêntrico. N = 675 pacientes com osteoartrite, espondilite e fibromialgia. | Foi observada uma melhora de 53% em todos os sintomas e uma redução de 60% do número de pacientes que utilizavam AINES (N = 464) e 56% pacientes que utilizavam corticosteróides (N = 50). | (124) |
| Raízes | Extrato aquoso. Produto comercializado: comprimidos revestidos de 400 mg. Proporção droga: extrato (1,5-5:1). Conteúdo não menor que 1%. | Doloteffin (grupo D) = 2,4 g equivalente a 60 mg de harpagosídeo. 2 comprimidos de 400 mg, 3 vezes por dia. Tempo de tratamento: 8 semanas. | Estudo observacional, multicêntrico (pos-comercialização). Foi permitido o uso concomitante de analgésicos. N = 250, divididos em 3 grupos de pacientes: - Grupo 1: dor lombar não específica (N = 104); - Grupo 2: dor por osteoartrite no joelho (N = 85); - Grupo 3: dor no quadril (N = 61). | 227 pacientes completaram o estudo: 15 pacientes do grupo 1, 6 do grupo 2 e 2 do grupo 3 interromperam o estudo. 16 não completaram o estudo pelos EA, 3 desistiram, 1 por intolerância a dor, 1 com carcinoma gástrico, 1 teve um prolapso e um decidiu utilizar outro tratamento. Em relação aos EA, dos 27 pacientes (10%) que tiveram ocorrência de algum EA, 22 foram distúrbios no TGI e 2 tiveram reações alérgicas de pele. Nos 3 grupos avaliados houve uma melhora nas variáveis da dor, de 50 a 70% dos pacientes do grupo D. Os pacientes que apresentaram maiores benefícios foram os que apresentavam artrose no quadril, seguido pelo pacientes com artrose no joelho e menos benefícios foram observados nos pacientes com dor lombar. | (125) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|--|--|--|--|------------|
| Raízes | Extrato aquoso. Produto comercializado: comprimidos revestidos de 400 mg. Proporção droga: extrato (1,5-2,5:1). Conteúdo não menor que 1%. | Doloteffin (Grupo D): 2,4 g equivalente a 50 mg de harpagosídeo. 2 comprimidos de 400 mg, 3 vezes por dia + uma cápsula placebo/dia. Vioxx® (rofecoxibe) (grupo V): 12,5 mg. 1 cápsula de 12,5 mg/dia + 2 comprimidos placebo/ 3 vezes por dia. Tempo de tratamento: 12 semanas. | Estudo observacional. N = 75 pacientes com osteoartrite ou artrite reumatóide no joelho ou quadril (24 homens e 51 mulheres, com idade média de 64 anos). Foi permitido o uso de 400 mg/dia de tramadol líquido (2,5 mg/mL). | Após as 12 semanas de tratamento, houve uma redução de 45,5% em relação à dor a palpação, 35% de limitação de mobilidade, 25,4% de crepitação conjunta, 57,6% do inchaço e 88% de vermelhidão. De um modo geral foi observado uma melhora de 45,4% no grupo D. Pela análise de VAS, houve uma melhora de 16,1%, após 4 semanas e 25,8%, após 12 semanas de tratamento. No índice WOMAC houve uma melhora na escala total de 22,9%. Os pesquisadores consideraram que 50,66% dos pacientes tiveram uma melhora muito grande. A eficácia apresentou-se marcante em 16% dos casos, moderada em 36% e mínima em 33,33%. Não houve alterações no tempo de sedimentação, proteína C-reativa e concentração de ácido úrico. Em relação à tolerância e segurança, o uso de Doloteffin apresentou ser bem tolerável e foram relatados EA por 4 pacientes (5,3%), sendo principalmente distúrbios no TGI: dispepsia, sensação de plenitude e ataque de pânico. | (126) |
| Raízes | Tintura de <i>H. procumbens</i> (1,5-3:1, hidroetanólica, 60:40, etanol: água). Produto comercializado: A. Vogel Rheuma Tabletten. | Grupo tintura de <i>H. procumbens</i> (grupo H): 960 mg. Comprimido revestido de 480 mg, duas vezes por dia (manhã e noite/ com refeições). Tempo de tratamento: 8 semanas | Estudo observacional. N = 259 (pacientes com distúrbios reumáticos de um modo geral). | 37 pacientes interromperam o tratamento, 11 por EA e 26 por outros motivos. Uma melhora na dor, na rigidez e função, foram obtidos em 207 pacientes. Um total de 60% dos pacientes reduziu ou parou de utilizar outros medicamentos para alívio da dor. Em relação aos parâmetros sanguíneos não houve alterações e todos parâmetros avaliados apresentaram valores normais na primeira e última visita. Nenhum EA sério foi reportado, e | (127) |

| Parte da planta | Extrato e modo de preparo | Dose diária | Metodologia | Resultado observado | Referência |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|--|--|------------|
| | | | | apresentaram grau leve a moderado, sendo relatados principalmente distúrbios no TGI. Os sinais vitais, o hemograma e a avaliação de enzimas hepáticas não apresentaram alterações. A tintura foi bem tolerada pelos pacientes e seu uso foi considerado como “bom” para 194 pacientes e os pesquisadores também observaram tolerabilidade, considerada “boa”, para 196 pacientes. | |
| Raízes | N.D. | 500 mg por dia, via oral | Relato de caso de dois pacientes portadores de linfoma folicular que utilizaram “garra-do-diabo” sem terapia citotóxica. | Os dois pacientes apresentaram regressão significativa da massa cervical e dos nodos retroperitoneais. No entanto, os autores questionam se o efeito de regressão do tumor foi devido ao tratamento ou se não teria sido meramente espontânea, uma vez que em uma série de casos, observou-se que 16% dos pacientes, sem nenhum tratamento com fitoterápicos ou inibidores de COX-2, também obtiveram o mesmo resultado. Dessa forma, os autores sugerem que mais estudos envolvendo inibidores de COX-2 sejam realizados. | (128) |

Quadro 17 – Estudos observacionais realizados com *H. procumbens*.

EA: eventos adversos; N = número de voluntários.

Muitos estudos, conforme apresentados no Quadro 17, foram observacionais. Desta forma, embora os pacientes tenham apresentado uma melhora clínica significativa com a intervenção, nas variáveis em estudo, a ausência de comparação com placebo, impossibilita concluir se realmente os derivados de *H. procumbens* são efetivos sobre as condições avaliadas. Além disso, muitos desses estudos não utilizaram medidas específicas para avaliação da dor e o tamanho da amostra foi reduzido.

4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO

- **Doenças articulares degenerativas/Osteoartrite**

Há um grande volume de evidências que sugerem que a espécie *H. procumbens* é segura e eficaz no tratamento em curto prazo para alívio da dor em pacientes com doenças articulares degenerativas ou osteoartrite. Os resultados demonstram que o extrato das raízes de *H. procumbens* apresenta eficácia similar aos AINEs e que o tratamento com produtos a base de *H. procumbens* possibilita a diminuição da dose e/ou a interrupção do uso desses medicamentos. Entretanto, muitos dos ensaios clínicos apresentaram deficiências metodológicas, além de alguns estudos terem sido conduzidos com uma amostra pequena de pacientes. Dessa forma, cabe ressaltar a necessidade de comprovação da eficácia, do desenvolvimento de estudos farmacocinéticos que auxiliariam no melhor entendimento do mecanismo de ação dos compostos presentes no extrato de *H. procumbens* e, principalmente, da avaliação da segurança em longo prazo (acima de 24 semanas). Quanto ao principal derivado utilizado para o tratamento de doenças articulares degenerativas e/ou osteoartrite não foi observado diferença de eficácia entre os extratos aquosos e hidroetánolicos (etanol 60%).

- **Dor Lombar**

Existem vários ensaios clínicos controlados que suportam o uso de *H. procumbens* na terapia da dor lombar. Entretanto, a maioria dos estudos foi conduzida em um tamanho reduzido de amostra, alguns apresentaram problemas metodológicos, além de muitos terem sido desenvolvidos pelo mesmo grupo de pesquisadores. Portanto, embora os resultados já existentes sejam considerados fortes e promissoras evidências de efetividade do uso de *H. procumbens* em casos de dor lombar, estudos bem delineados deveriam ser desenvolvidos,

antes de comprovar essa indicação. Quanto ao principal derivado utilizado para o tratamento de dor lombar, de um modo geral, os estudos clínicos foram conduzidos com extrato aquoso.

- **Estimulante do apetite**

Na literatura popular, há relatos do uso de *H. procumbens* como um estimulante do apetite. Entretanto, na literatura consultada não foi encontrado nenhum estudo clínico que avalie o uso de preparações à base de *H. procumbens* com essa indicação. Dessa forma, não há evidências que confirmem a eficácia de *H. procumbens* como estimulante do apetite.

- **Digestivo tônico**

Da mesma forma que para a indicação anterior, o uso de *H. procumbens* como digestivo tônico é citado popularmente, principalmente, para alívio de constipação, diarreia e flatulência. Na monografia da OMS (2007) (3), está descrito que o chá obtido das raízes (não especificado a dose), por um período de vários dias, proporcionou uma melhora nos sintomas de distúrbios da parte superior do intestino delgado, que foram acompanhadas de colerese e distúrbios na bile. No entanto, não há embasamento científico que comprove a eficácia de *H. procumbens* como digestivo tônico.

Indicação:

A Comissão E indica uso interno das raízes de *H. procumbens* como estimulador do apetite, como colerético (devido ao seu amargor), como analgésico, anti-flogístico e analgésico moderado (90). A *European Scientific Cooperative on Phytotherapy* indica o uso interno das raízes de *H. procumbens* em casos dolorosos de artrose e tendinite e em casos de dispesia e perda do apetite (2). Na *British Herbal Pharmacopeia* (1996) (18) está indicado o uso das raízes de *H. procumbens* como anti-reumático. Alguns compêndios não oficiais indicam o uso interno das raízes de preparações de *H. procumbens* como anti-inflamatório, analgésico (15, 38), anti-reumático (38, 129), como tônico amargo (15, 129) e em casos de perda do apetite (129). Na IN 02/2014 (11), o comprimido revestido gastrorresistente a base de *H. procumbens* e/ou *H. zeyheri* é indicado por via oral para o alívio de dores articulares moderadas e dor lombar baixa aguda.

Nas bulas dos medicamentos comercializados na Europa, o uso dos medicamentos está indicado em casos de dor nas articulações, doenças reumáticas, dor lombar e restrição de

movimentos e inchaço, devido a articulações afetadas, por osteoartrite e artrite reumatóide. No sítio eletrônico da ANVISA, os medicamentos fitoterápicos registrados no Brasil a base de extrato das raízes de *H. procumbens* (Quadros 18 e 19) estão classificados como anti-inflamatórios.

Produtos a base de *Harpagophytum* sp. geralmente são registrados na Alemanha e França como fitoterápicos, enquanto que em países como Reino Unido, Holanda, Estados Unidos e no extremo oriente são registrados como suplementos alimentares (6).

4.5.1 Vias de Administração

Administração via oral (2, 11). Para uso externo, é indicado popularmente o seu uso na forma de pomada (129). No entanto, não existem ainda evidências suficientes que comprovem a eficácia de produtos tópicos a base de *H. procumbens* e, portanto, seu uso não está indicado pela ESCOP (1997) (2) e Comissão E (90).

4.5.2 Dose Diária

A ESCOP (1997) (2) preconiza dose diária total em casos de artrose e tendinite de 1,5-3,0 g, na forma de decocção ou 1-3 g da droga ou equivalente extrato aquoso ou hidroetanólico. Em casos de perda de apetite ou dispepsia, preconiza-se doses mais baixas, de 0,5 g, na forma de decocção ou preparações de equivalente amargor, ou ainda 3 mL de tintura (1:10, 25% de etanol).

A Comissão E preconiza para perda de apetite 1,5 g da droga ou preparações de equivalente amargor, e para outras condições indica o uso de 4,5 g da droga ou preparações equivalentes (90).

4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)

- **Alívio da dor em casos de artrose ou tendinite**

Está preconizado o uso diário total de 1,5-3,0 g, na forma de decocto ou 1-3 g da droga ou equivalente extrato aquoso ou hidroetanólico, que deve ser administrado em três doses diárias (2).

Mills; Bone (2000) (15) descrevem o uso da “garra-do-diabo” como anti-reumático e analgésico, na dose de até 6 g por dia. Essa quantidade corresponde a 6-12 mL por dia de um extrato (1:2) ou 15-30 mL por dia de uma tintura (1:5). Comprimidos contendo extrato seco (5:1), devem ser administrados de 600 a 1200 mg por dia (15).

Na IN 02/2014 é preconizada a dose de 30 a 100 mg de harpagosídeo ou 45 a 150 mg de iridoides torais expressos em harpagosídeos (11).

- **Perda de apetite ou dispepsia**

Em casos de perda de apetite ou dispepsia está preconizado o uso de doses baixas de 0,5 g/ dia, na forma de decocção ou preparações de equivalente amargor ou ainda, 3 mL/ dia de tintura (1:10, 25% de etanol), administrados em três doses diárias (2).

4.5.4 Período de Utilização

O tratamento é recomendado por um período de, no mínimo, 2 a 3 meses em casos de artrose. Caso os sintomas persistem, é recomendado procurar um médico (2). Na literatura consultada foram encontrados somente dois trabalhos que avaliaram a eficácia do tratamento com *H. procumbens* em longo prazo (91, 114).

4.5.5 Contra Indicações

Não devem ser administrados medicamentos à base de *H. procumbens* em pacientes com úlceras gástricas ou duodenais, ou que sejam susceptíveis a ocorrência (2, 129), uma vez que pelo forte gosto amargo, *H. procumbens* estimula a produção de secreção do suco gástrico (98). Por esse motivo, é indicado em casos de distúrbios digestivos, como tônico amargo, somente em doses baixas (129). Além disso, seu uso é contraindicado em pacientes com casos de pedras nos rins (90, 97).

Uma vez que em estudos pré-clínicos *in vivo* foi observado que o extrato das raízes de *H. procumbens* apresenta atividade hipoglicemiante (56), efeitos cardiovasculares como anti-hipertensivo e anti-arrítmico (76, 85) e atividade anticonvulsivante (77), o uso concomitante de medicamentos à base de *H. procumbens* com fármacos hipoglicemiantes, anti-arrítmicos,

anti-hipertensivos e anticonvulsivantes devem ser evitados. Adicionalmente, é contra-indicado uso concomitante com o fármaco varfarina (130-131).

Um estudo pré-clínico *ex vivo* mostrou que o extrato aquoso das raízes secundárias de *H. procumbens* apresentou atividade uterotônica e espasmogênica, ao induzir a contratilidade de preparados musculares de tubas uterinas de ratas grávidas e não-grávidas (61). Os autores sugerem que esse efeito justifique o uso popular da espécie como indutor e/ou acelerador de trabalho de parto, bem como para expulsão de placenta retida em mulheres grávidas (61). Dessa forma, aliado à falta de dados sobre a segurança de *H. procumbens* durante a gravidez ou lactação, seu uso deve ser evitado durante esses períodos.

4.5.6 Grupos de Risco

Pela falta de evidências não se recomenda o uso em mulheres grávidas e pacientes com idade inferior a 18 anos (132).

4.5.7 Precauções de Uso

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.8 Efeitos Adversos Relatados

A incidência de efeitos adversos associados com o uso de *H. procumbens* ocorre em menos de 10% da população em estudo clínico, sendo que os principais efeitos adversos incluem distúrbios moderados no TGI, sendo que diarreia foi o evento adverso mais relatado pelos pacientes, seguido por náuseas, dispepsia, boca seca e flatulências, que podem ocorrer, especialmente em altas doses (2, 98). Reações alérgicas de pele, embora menos frequentes, também foram relatadas por 2 pacientes, de uma amostra de 250 indivíduos (125) e por 2 pacientes, de um N = 88 (114), após 8 e 54 semanas, respectivamente.

4.5.9 Interações Medicamentosas

4.5.9.1 Descritas

Há poucos dados que confirmam interações entre medicamentos fitoterápicos à base de *H. procumbens* e aqueles elaborados com substâncias isoladas. Segundo alguns compêndios oficiais, não há relatos de interações medicamentosas para a espécie (2, 90). Embora o mecanismo seja desconhecido, e em um estudo *in vitro* foi observado que o extrato aquoso da “garra-do-diabo” não apresentou atividade significativa sobre a inibição da agregação plaquetária (63), a falta de evidência somada à existência de um relato, justifica evitar o uso do extrato de *H. procumbens* com fármacos anticoagulantes, como a varfarina, pelo risco de aumento de sangramento (130). Adicionalmente, no estudo de Chrubasik et al. (2005) (114), foi associado o uso concomitante de famotidina à ocorrência de uma reação alérgica apresentada por um dos pacientes.

4.5.9.2 Potenciais

Resultados obtidos em estudos pré-clínicos *in vivo* demonstraram que o extrato de *H. procumbens* diminui a concentração de glicose sanguínea (56) e reduz significativamente a pressão arterial sanguínea e a frequência cardíaca e apresenta efeito protetor contra arritmias cardíacas (76, 85), indicando uma provável interação medicamentosa com fármacos hipoglicemiantes, anti-hipertensivos e anti-arrítmicos. Dessa forma, deve-se ter precaução ao utilizar produtos a base de *H. procumbens* em pacientes diabéticos que utilizam medicamentos para diminuir os níveis de glicose (97); pacientes em uso de fármacos anti-arrítmicos e anti-hipertensivos, já que pode ocasionar um efeito aditivo (98) e pacientes que utilizam anticonvulsivantes (77).

Adicionalmente, uma triagem *in vitro* demonstrou que um produto contendo extrato de *H. procumbens* inibiu algumas enzimas do citocromo P450 (65). Embora tenha apresentado uma IC50 alta comparada com as demais plantas, merece atenção o uso de *H. procumbens* com fármacos como os anti-hipertensivos, antidepressivos, estatinas e anti-epilépticos, que são metabolizados pelas enzimas do citocromo P450 (133). Em um trabalho um pouco mais recente, foi avaliada a inibição das enzimas CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 e 3A4, a ativação do receptor pregnano X (PXR) e a indução do CYP3A4 por dez produtos comerciais a base de *H.*

procumbens, bem como o harpagosídeo e a harpagida (134). Cinco das preparações inibiram fracamente a CYP3A4 ($IC_{50} = 124,2-327,6$ mg/ mL) e cinco ativaram fracamente o PXR ($EC_{50} = 10,21-169,3$ mg/ mL). Harpagosídeo e harpagida não inibiram CYP3A4. Com esses resultados, os autores concluem que os preparados a base de *H. procumbens* são susceptíveis a efeitos clinicamente relevantes na função CYP (134).

Outro trabalho, em culturas de células *in vitro*, avaliou o efeito de três preparados comercialmente disponíveis de *H. procumbens* (nomeadas DC1, DC2 e DC3, contendo 2; 1,2 e 1%, respectivamente, de harpagosídeo) e do composto puro harpagosídeo sobre o transportador multidroga ABCB1/ P-glicoproteína (135). Os autores observaram que *H. procumbens* pode interagir com esse transportador e o efeito parece não está estritamente relacionado ao teor de harpagosídeo, uma vez que o composto puro por si só não interagiu com o transportador. Os autores indicam que a modulação da atividade e da expressão do transportador ABCB1/ P-glicoproteína por *H. procumbens* levanta a possibilidade de interações medicamentosas, o que deve ser explorado mais a fundo posteriormente (135).

4.5.10 Informações de Superdosagem

4.5.10.1 Descrição do quadro clínico

Nenhum efeito tóxico foi reportado (2, 15).

4.5.10.2 Ações a serem tomadas

Nenhum efeito tóxico foi reportado (2, 15).

5 INFORMAÇÕES GERAIS

5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA

Foram encontrados na literatura principalmente formulações indicadas para uso interno, na forma de cápsulas e comprimidos e, menos freqüente, como tinturas. Alguns estudos têm apontado que o efeito analgésico e anti-inflamatório de *H. procumbens* diminui

pela acidez do estômago e sugerem que o extrato, seria mais eficiente, quando administrado em formulações com revestimento de proteção entérica.

Embora na literatura popular haja relatos de uso externo de *H. procumbens*, na forma de pomadas, foi encontrado apenas um estudo que avaliou o uso tópico do extrato (81). Outro trabalho mostrou o desenvolvimento e a avaliação físico-química de uma formulação tópica, a base de polímeros de ácido acrílico (Carbopol Ultrez 10, Carbopol 980) contendo um extrato padronizado de *H. procumbens* (maiores detalhes não foram obtidos, uma vez que o texto na íntegra não se encontrava disponível) e cetoprofeno, visando um sinergismo quanto na atividade anti-inflamatória e analgésica (136). Baseado nos testes físico-químicos e de permeação *in vitro*, os autores sugerem que esta poderia ser uma formulação alternativa para aplicação tópica visando atividade anti-inflamatória e analgésica (136).

Como apresentado nos Quadros 18 e 19, dos produtos registrados na ANVISA que contêm *H. procumbens* como componente ativo, a maioria apresenta-se na forma farmacêutica de cápsulas, seguida por comprimidos revestidos, uma apresentação na forma de tintura e uma única apresentação na forma de comprimido efervescente.

Na Alemanha, são encontrados produtos a base de *H. procumbens* na forma de cápsulas, comprimidos, tintura e pomada, dentre outros (16).

5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS

Há oito fitoterápicos registrados na ANVISA (Quadro 18), com o nome científico *Harpagophytum procumbens* DC., todos classificados como fitoterápicos simples, na categoria dos anti-inflamatórios antireumáticos. Outros nove fitoterápicos (Quadro 19) estão registrados contendo como princípio ativo *Harpagophytum procumbens* (Burch.) DC. EX Meissn, também todos classificados como fitoterápicos simples/anti-inflamatórios antireumáticos. Os resultados foram encontrados por meio de busca no sítio eletrônico da ANVISA, no dia 13 de março de 2015 (137). Informações adicionais sobre a padronização dos extratos foram pesquisadas nos sites dos laboratórios fabricantes ou nas suas bulas.

| Princípio ativo | Concentração | Padronização |
|------------------------|---|---|
| Simple | Comprimido revestido de 400 mg | Extrato seco 5%, que corresponde a 20 mg de harpagosídeo. |
| Simple | Comprimido revestido 450 mg | Extrato seco padronizado em 4% de harpagosídeo. Cada comprimido tem 18 mg de harpagosídeo. |
| Simple | Comprimido revestido 166,66 mg | No site da empresa só foi encontrado o produto Bioflan 30, que consiste em um comprimido revestido 250 mg equivalente a 30 mg de harpagosídeo, utilizando o mesmo número de registro para o produto Bioflan contido no site da ANVISA |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 200 mg e comprimido revestido de 200 mg | Extrato seco 5%. Cada comprimido contém 10 mg de iridóides totais calculados como harpagosídeo. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 500 mg | Extrato seco padronizado em 1,6% de harpagosídeo. Cada cápsula contém 8 mg de harpagosídeo. |
| Simple | Comprimido revestido de 480 mg e comprimido efervescente de 480 mg. | Não foram encontradas informações sobre o produto no site da empresa e bula não localizada. |
| Simple | Comprimido revestido gastroresistentes de 300 mg | Extrato seco padronizado em 20% de harpagosídeo. Cada comprimido contém 60 mg de harpagosídeo. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 350 mg | Extrato seco padronizado em 1,6% de harpagosídeos. |

Quadro 18 – Medicamentos fitoterápicos registrados na ANVISA com o nome do princípio ativo *Harpagophytum procumbens* DC.

| Princípio ativo | Concentração | Padronização |
|------------------------|-----------------------------------|---|
| Simple | Comprimido revestido de 200 mg | Extrato seco 5%, equivalente a 10 mg de iridóides totais expressos em harpagosídeo. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 350 mg | Laboratório não tem site e bula não localizada. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 350 mg | Não foram encontradas informações sobre o produto no site da empresa e bula não localizada. |
| Simple | Tintura- 30 mL | Não foram encontradas informações sobre o produto no site da empresa e bula não localizada. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 250 mg | Não foram encontradas informações sobre o produto no site da empresa e bula não localizada. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 350 mg | 350 mg de extrato seco que corresponde a 5,6mg de harpagosídeos e 10,5 mg de iridóides totais . |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 350 mg | Laboratório não tem site e bula não localizada. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 350 mg | Site do laboratório em construção e bula não localizada. |
| Simple | Cápsula gelatinosa dura de 400 mg | Produto não foi encontrado no site e bula não localizada. |

Quadro 19 – Medicamentos fitoterápicos registrados na ANVISA com o nome do princípio ativo *Harpagophytum procumbens* (Burch) DC. EX Meissn.

5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

5.4 ROTULAGEM

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS

Harpagophytum procumbens consta nas seguintes monografias:

Oficiais

- Farmacopeia Italiana, 1991;
- Farmacopeia Britânica, 1996;
- ESCOP, 1997;
- Comissão E, 1998;
- Farmacopeia Mexicana, 2001;
- Farmacopeia Portuguesa VII, 2002;
- Farmacopeia Espanhola, 2005;
- Farmacopeia Européia, 2005.

Não oficiais

- FELTROW, C. W.; AVILA, J. R. Manual de Medicina Alternativa para o Profissional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, p. 348-350.
- DER MARDEROSIAN, A.; BEUTLER, J. A. The Review of Natural Products. The most complete source of natural product information (5th ed). St. Louis: Wolters Kluwer, 2008, p. 414-415.
- NEWALL, C. A. Herbal Medicines. A guide for health care professionals. London: The Pharmaceutical Press, 1996.

- GRUENWALD, J.; BRENDLER, T.; JAENICKE, C. Physicians` Desk Reference (PDR) for Herbal Medicines (2 Ed). Montvalle: Medical Economics Company, 2000.
- MILLS, S.; BONE, K. Principles and Practice of Phytotherapy. London: Harcourt Publishers Ltd, 2000.
- WAGNER, H.; BLADT, S. Plant Drugs Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. (2 Ed). Heidelberg: Springer, 1996, p. 88.
- WICHTL, M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientific basis. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 2004.
- TYLER, V. E. The honest herbal. New York: Pharmaceutical Products Press, 1993.

5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL

Foi encontrado no banco de dados do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), em pesquisa realizada no dia 13 de março de 2015, somente um depósito de patente para a espécie *H. procumbens*, em associação com outras espécies, conforme descrito no Quadro 20.

| Data do depósito e N° do pedido | Título | Detalhes do invento |
|---------------------------------|--|--|
| 21/03/2005 PI0508750-3 A2 | Fitocomposição, composição farmacêutica e seu uso. | Fitocomposição para o tratamento de doenças articulares (artrite reumatóide e osteoartrite), que compreende: 0,01 a 26% em peso de <i>Curcuma longa</i> (cúrcuma); 30 a 80% em peso de um extrato de <i>Harpagophytum procumbens</i> (garra do diabo); 0,01 a 25% em peso de um extrato de <i>Filipendula ulmaria</i> (ulmaria); 7 a 35% em peso de óleo de <i>Oenothera biennis</i> (onagra). |

Quadro 20 – Depósito de patente para a espécie *H. procumbens* no INPI

No *European Patent Office*, em pesquisa realizada no dia 13 de março de 2015, utilizando as palavras *Harpagophytum* e Devil's Claw, foram encontrados cerca de 50 registros de patentes com o extrato de *H. procumbens* na forma isolada ou em associação. Os principais inventos, que são relacionados aos usos medicinais de *H. procumbens* são apresentados no Quadro 21.

| Nº e data de depósito da patente | Título da patente | Informações adicionais |
|----------------------------------|---|---|
| EP2845624 (A1) 11/03/2015 | Extratos mucoadesivos de “garra do diabo” e uso dos mesmos | Preparação de uma fração com somente traços de iridóides, com presença de resinas e seu uso como protetor de membranas mucosas ou como carreador com propriedades mucoadesivas. |
| RO126915 (B1) 30/04/2014 | Composição de um creme corporal antireumático | Associação com diversas espécies vegetais, incluindo 0,5% de pó da raiz de <i>H. procumbens</i> . |
| CN103638192 (A) 19/03/2014 | Bebida medicinal antireumática e preparação da mesma | Contém 12-18 partes de <i>H. procumbens</i> . |
| KR101152753 (B1) 18/06/2012 | Composição farmacêutica para prevenção e tratamento de doença óssea metabólica compreendendo <i>Harpagophytum</i> | Associação com diversas espécies vegetais, incluindo <i>H. procumbens</i> . |
| EP2460518 (A1) 06/06/2012 | Composição incluindo agentes condroprotetores e vitaminas | Associação para diversos fins farmacêuticos, incluindo antireumático e tratamento de artrite, contendo, dentre outras espécies vegetais, 66,7 mg de extrato das raízes de <i>H. procumbens</i> . |
| EP2397136 (A1) 21/12/2011 | Composição anti-inflamatória | A composição compreende <i>H. procumbens</i> e harpagosídeo. A quantidade referida é confusa. |
| US2011262552 (A1) 27/10/2011 | Composições compreendendo extratos de plantas e o uso das mesmas para tratar inflamação | Associação com diversas espécies vegetais, incluindo <i>H. procumbens</i> . |
| US2007286899 (A1) 13/12/2007 | Fitocomposição para o tratamento de doenças articulares | Associação com diversas espécies vegetais, incluindo 30 a 80% em peso de um extrato de <i>H. procumbens</i> . |
| WO2006114422 (A2) 02/11/2006 | Uso do extrato das raízes da “garra-do-diabo” (<i>Harpagophytum procumbens</i>) para o tratamento da endometriose | |
| 13/11/2008 US2008279931 (A1) | Composição para o tratamento da dor | Associação de glicosamina, garra-do-diabo e S-adenosil metionina com um anti-inflamatório não esteroide. |
| 21/12/2007 CA2550753 (A1) | Vitamina líquida e formulações suplementares | Vitamina líquida (A) ou suplemento multi-vitamínico (B), contendo sulfato de glicosamina. A= extrato alcoólico das raízes de “garra-do-diabo”, extrato alcoólico do extrato das folhas de unha de gato, glicerina, ácido ascórbico, ácido cítrico, benzoato de sódio e potássio, (B) formulação contendo vitaminas A, B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12, C, D3 e E, beta-caroteno, água, ácido cítrico, xanthan gum, ácido ascórbico, sorbato de potássio e benzoato de sódio |
| 6/12/2006 US2008138406 (A1) | Composição para o tratamento da dor em ossos e articulações | Associação de glicosamina, “garra-do-diabo” e S-adenosil metionina. |
| DE10326556 (B3) 10/03/2005 | Tratamento ou prevenção de doenças renais, disfunções e/ou danos, por exemplo, doenças renais degenerativas e/ou inflamatórias, usando extrato de <i>Harpagophytum</i> ou harpagosídeo. | - |
| KR20050013894 (A) 05/02/2005 | Agente aliviador da dor contendo extrato de <i>Harpagophytum procumbens</i> , | - |

| <i>Corydalis turschanovii</i> Besser e <i>Attractylodes japonica</i> Koidz | | |
|---|--|--|
| EP1371372 (A1) 17/12/2003 | Uso de misturas de substâncias ativas contendo tocoferóis e extratos de <i>Harpagophytum procumbens</i> para a preparação de um medicamento contra artrite reumatoide. | - |
| DE10143146 (A1) 27/03/2003 | Composição útil para tratamento ou prevenção de osteoartrite, especialmente em cavalos, contendo extrato(s) de <i>Equisetum arvense</i> , <i>Symphytum officinale</i> e/ou <i>Harpagophytum procumbens</i> . | - |
| KR20020084908 (A) 16/11/2002 | Uso de compostos relacionados à harpagida como agentes profiláticos ou terapêuticos contra osteoporose, artrite e hérnia de disco e composição farmacêutica contendo o composto como ingrediente ativo. | - |
| KR20020041709 (A) 03/06/2002 | Preparação farmacêutica contendo extratos de rizoma de cibotii e <i>Harpagophytum procumbens</i> DC. como principais ingredientes. | Preparação útil para prevenção e tratamento de osteoporose, artrite reumatoide e hérnia de disco. |
| 25/12/2001 US6333056 (B1) | Formulações terapêuticas baseada em ervas | Formulação de ervas para o tratamento de cavalos e cachorros, para aliviar sintomas de osteoartrite e compreende uma associação de “garra-do-diabo” e “confrei”, além de “dente-de-leão”, “bardana” e “urtiga”, que deve ser adicionada a ração do animal. |
| WO9852583 (A1) 26/11/1998 | Composição natural para tratar inflamação do osso ou das juntas | Associação de vitaminas, fármacos e extratos vegetais, incluindo as raízes secundárias de <i>H. procumbens</i> . |
| 24/06/1996 ITRM940835 (A1) | Adesivo para liberação controlada para absorção transcutânea de um extrato planta. | Camada adesiva, camada de água/extrato alcoólico de “garra-do-diabo” e excipientes. |
| FR2605224 (A1) 22/04/1988 | Composição medicinal baseada em plantas para uso interno | Associação de plantas medicinais, incluindo <i>H. procumbens</i> , para o tratamento de osteoartrite em animais ou humanos. |
| DE3316726 (A1) 08/11/1984 | Mistura terapeuticamente ativa | Associação de diversas vitaminas, fármacos e extratos vegetais, incluindo <i>H. procumbens</i> , para o tratamento de diversos tipos de artrite. |

Quadro 21 – Principais depósitos de patente para a espécie *H. procumbens* no European Patent Office.

5.7 DIVERSOS

O nome do gênero “harpago” deriva do grego, que significa garra e/ou gancho de embarque, aludem como se fossem pernas dos animais e o nome da espécie “procumbens”

deriva do latim “procumbere”, que significa descanso e faz referência ao comportamento da planta, que cresce em direção do chão (138).

REFERÊNCIAS

1. IPNI. The International Plant Names Index. 2014 [26 jun. 2014]; Available from: http://www.ipni.org/ipni/simplePlantNameSearch.do;jsessionid=BE8A14AE4BA5277018BC1AAFE370672C?find_wholeName=Harpagophytum+procumbens&output_format=normal&query_type=by_query&back_page=query_ipni.html.
2. ESCOP. Harpagophyti radix. Monographs on the medicinal uses of plant drugs. Fascicule 4. Exeter: European Scientific Cooperative on Pyhtotherapy (ESCOP); 1997.
3. World Health Organization. WHO monographs on selected medicinal plants. 3rd ed. Geneva: WHO Press; 2007.
4. EUROPEAN PHARMACOPOEIA. Strasbourg: Council of Europe; 2000.
5. TROPICOS. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 2015 [24 ago. 2015]; Available from: <http://www.tropicos.org/Name/24300038>.
6. Stewart KM, Cole D. The commercial harvest of devil's claw (*Harpagophytum* spp.) in southern Africa: the devil's in the details. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;100(3):225-36.
7. Bolli R. *Harpagophytum*, die Wurzelkonolle aus dem südlichen Afrika. *Botanik, Handel, Gefährdung und Anbau. Phytotherapie*. 2004;3:20-4.
8. Grant L, McBean DE, Fyfe L, Warnock AM. A review of the biological and potential therapeutic actions of *Harpagophytum procumbens*. *Phytotherapy Research*. 2007;21:199-209.
9. Mncwangi N, Chen W, Vermaak I, Viljoen AM, Gericke N. Devil's Claw - a review of the ethnobotany, phytochemistry and biological activity of *Harpagophytum procumbens*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;143(3):755-71.
10. Anauate MCC. Efeito dos extratos de *Harpagophytum procumbens* (garra do diabo) e suas frações na atividade da COX-1 e COX-2 e na produção de NO em sangue total [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.
11. BRASIL. Instrução Normativa nº 02 de 13 de maio de 2014. Publica a “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado” e a “Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado”. Brasília: Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); 2014.

12. Wichtl M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientific basis. 3rd ed. Stuttgart: Medpharm Scientific Publischers; 2004.
13. BRASIL. RDC 10 de 10 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Ministério Da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010.
14. Czygan FC, Krüger A. Pharmaceutical-biological studies of the genus *Harpagophytum*. Communication 3: distribution of the iridoid glycoside harpagoside in the different organs of *Harpagophytum procumbens* DC and *Harpagophytum zeyheri* Decne. *Planta Medica*. 1977;31:305-7.
15. Mills S, Bone K. Principles and practice of phytotherapy. London: Harcourt Publishers Ltd; 2000.
16. Della Loggia R. Piante officinali per infusi e tisane. Manual per farmacisti e medici. Milano: Organizzazione Editoriale Medico Farmaceutica; 1993.
17. Ragusa S, Circosta C, Galati EM, Tumino G. A drug used in traditional medicine. *Harpagophytum procumbens* DC I. Scanning electron microscope observations. *Journal of Ethnopharmacology*. 1984;11(3):245-57.
18. BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA. Exeter: British Herbal Medicine Association; 1996.
19. Babili FE, Fouraste I, Rougaignon C, Moulis C, Chatelain C. Anatomical study of secondary tuberized roots of *Harpagophytum procumbens* DC and quantification of harpagoside by high-performance liquid chromatography method. *Pharmacogn Mag*. 2012;8(30):175-80.
20. Schmidt MV. Cultivation of *Harpagophytum procumbens*. A project in Namibia to secure the pharmaceutical quality. *Deutsche Apotheker Zeitung*. 1998;138(47):46-57.
21. Baghdikian B, Lanhers MC, Fleurentin J, Ollivier E, Maillard C, Balansard G, et al. An analytical study and anti-inflammatory and analgesic effects of *Harpagophytum procumbens* and *Harpagophytum zeyheri*. *Planta Medica*. 1997 04.01.2007;63(02):171-6.
22. Eich J, Schmidt M, Betti G. HPLC analysis of iridoid compounds of *Harpagophytum* taxa: quality control of pharmaceutical drug material. *Pharm Pharmacol Lett*. 1998;8(2):75-8.
23. FARMACOPEIA MEXICANA. 2001.
24. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Quality control methods for medicinal plant materials. 3rd ed. Geneva: WHO Press; 1998.
25. REAL FARMACOPOEA ESPAÑOLA. 2005.

26. FARMACOPEIA PORTUGUESA VII. Lisboa: Infarmed; 2000.
27. Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2nd ed. Germany: Springer; 2001.
28. Czygan FC, Krüger A, Schier W, Volk OH. Pharmazeutisch-biologische Untersuchungen der Gattung *Harpagophytum* (Bruch.) DC ex Meissn.1. Mitteilung: Phytochemische Standardisierung von *Tubera Harpagophyti*. Deutsche Apotheker Zeitung. 1977;117:1431-4.
29. Sticher O. Die aktuelle Droge: *Harpagophytum procumbens*. Deutsche Apotheker Zeitung. 1977;117(1279-1284).
30. Kikuchi T, Matsuda S, Kubo Y, Namba T. New iridoids from *Harpagophytum procumbens* DC. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 1983;31:2296-301.
31. Vanhalelen V, Vanhaelen-Fastré R, Elchami AA, Fontaine J. Activité biologique D'*Harpagophytum procumbens* D.C. I. préparation et structure de l'harpagogénine. Journal de Pharmacie Clinique. 1981;36(1):38-42.
32. Qi J, Chen JJ, Cheng ZH, Zhou JH, Yu BY, Qiu SX. Iridoid glycosides from *Harpagophytum procumbens* D.C. (devil's claw). Phytochemistry. 2006;67:1372-7.
33. Burger JFW, Brandt EV, Ferreira D. Iridoid and phenolic glycosides from *Harpagophytum procumbens*. Phytochemistry. 1987;26:1453-7.
34. Munkombwe NM. Acetylated phenolic glycosides from *Harpagophytum procumbens*. Phytochemistry. 2003;62:1231-4.
35. Tunmann P, Bauersfeld HJ. Über weitere Inhaltsstoffe der Wurzel von *Harpagophytum procumbens* DC. Archiv der Pharmazie. 1975;308:655-7.
36. Ziller KH, Franz G. Analysis of the water soluble fraction from the roots of *Harpagophytum procumbens*. Planta Medica. 1979;37:340-8.
37. BRITISH HERBAL COMPENDIUM. Dorset: British Herbal Medicine Association; 1992.
38. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal medicines. A guide for health-care professionals. London: The Pharmaceutical Press; 1996.
39. Qi J, Li N, Zhou JH, Yu BY, Qiu SX. Isolation and anti-inflammatory activity evaluation of triterpenoids and a monoterpene glycoside from *Harpagophytum procumbens*. Planta Medica. 2010 Nov;76(16):1892-6.

40. Clarkson C, Campbell WW, Smith P. *In vitro* antiplasmodial activity of abietane and totarane diterpenes isolated from *Harpagophytum procumbens* (Devil's Claw). *Planta Medica*. 2003;69:720-4.
41. Clarkson C, Staerk D, Hansen SH, Smith PJ, Jaroszewski JW. Discovering new products directly from crude extracts by HPLC-SPE-NMR: chinane diterpenes in *Harpagophytum procumbens*. *Journal of Natural Products*. 2006;69(4):527-30.
42. Boje K, Lechtenberg M, Nahrstedt A. New and known iridoid and phenylethanoid glycosides from *Harpagophytum procumbens* and their *in vitro* inhibition of human leukocyte elastase. *Planta Medica*. 2003;69:820-5.
43. Chrubasik J, Sporer F, Dillman-Marschner R, Friedmann A, Wink M. Physicochemical properties of harpagoside and its *in vitro* release from *Harpagophytum procumbens* extract tablets. *Phytomedicine*. 1999/2000;6(6):469-73.
44. Eichler VO, Koch C. Über die antiphlogistische, analgetische und spasmolytische Wirksamkeit von harpagosid, einem glykosid aus der wurzel von *Harpagophytum procumbens* DC. *Arzneimittel Forschung/Drug Research*. 1970;20:107-9.
45. Huang THW, Tran VH, Duke RK, Tan S, Chrubasik S, Roufogalis BD, et al. Harpagoside suppresses lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 expression through inhibition of NF- κ B activation. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;104:149-55.
46. Fiebich BL, Heinrich M, Hiller KO, Kammerer N. Inhibition of TNF- α synthesis in LPS-stimulated primary human monocytes by *Harpagophytum* extract SteiHap 69. *Phytomedicine*. 2001;8(1):28-30.
47. Kaszin M, Beck KF, Koch E, Erdelmeier C, Kusch S, Pfeilschifter J, et al. Downregulation of iNOS expression in rat mesangial cells by special extracts of *Harpagophytum procumbens* derives from harpagoside-dependent and independent effects. *Phytomedicine*. 2004;11:585-95.
48. Lanhers MC, Fleurentin J, Mortier F, Vinche A, Younos C. Anti-inflammatory and analgesic effects of an aqueous extract of *Harpagophytum procumbens*. *Planta Med*. 1992 Apr;58(2):117-23.
49. Schmidt AH. Fast HPLC for quality control of *Harpagophytum procumbens* by using a monolithic silica column: method transfer from conventional particle-based silica column. *Journal of Chromatography A*. 2005;1073:377-81.

50. Anauate MC, Torres LM, de Mello SBV. Effect of isolated fractions of *Harpagophytum procumbens* D.C. (devil's claw) on COX-1, COX-2 activity and nitric oxide production on whole-blood assay. *Phytotherapy Research*. 2010;24(9):1365-9.
51. Karioti A, Fani E, Vincieri FF, Bilia AR. Analysis and stability of the constituents of *Curcuma longa* and *Harpagophytum procumbens* tinctures by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011;55(3):479-86.
52. FARMACOPEIA ALEMÃ (DAB). 1996.
53. Leung AY, Foster S. *Encyclopedia of common natural ingredients*. 2nd ed. New York: John Willey & Sons; 1996.
54. BRASIL. RE 90 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o "Guia para os estudos de toxicidade de medicamentos fitoterápicos". Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2004.
55. Erdös A, Fontaine R, Friehe H, Durand R, Pöppinghaus T. Beitrag zur pharmakologie und toxikologie verschiedener extrakte, sowie des harpagosids aus *Harpagophytum procumbens* DC. *Planta Medica*. 1978 13.01.2009;34(5):97-108.
56. Mahomed IM, Ojewole JA. Analgesic, antiinflammatory and antidiabetic properties of *Harpagophytum procumbens* DC (Pedaliaceae) secondary root aqueous extract. *Phytotherapy Research*. 2004 Dec;18(12):982-9.
57. Ibrahim KE, Al-Ashban RM, El-Sammani SA. Toxicity studies on devil's claw herbal medicine. *Research Journal of Pharmacology*. 2010;4(3):69-73.
58. Whitehouse LW, Znamirowska M, Paul CJ. Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*): no evidence for anti-inflammatory activity in the treatment of arthritic disease. *Canadian Medical Association Journal*. 1983 Aug 1;129(3):249-51.
59. Ahmed MI, Afifi MI, Younos IH. *Harpagophytum procumbens* (Devil's Claw): a possible natural anti-inflammatory agent (an experimental study). *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*. 2005;4:54-63.
60. Barros SBM, Davino SC. Avaliação da Toxicidade. In: Oga S, Camargo MMA, Batistuzzo JAO, editors. *Fundamentos de Toxicologia*. 3 ed. São Paulo: Atheneu; 2008. p. 59-70.
61. Mahomed IM, Ojewole JA. Uterotonic effect of *Harpagophytum procumbens* DC (Pedaliaceae) secondary root aqueous extract on rat isolated uterine horns. *Journal of Smooth Muscle Research*. 2009 Oct;45(5):231-9.
62. Na HK, Mossanda KS, Lee JY, Surh YJ. Inhibition of phorbol ester-induced COX-2 expression by some edible African plants. *Biofactors*. 2004;21(1-4):149-53.

63. Pierre S, Crosbie L, Duttaroy AK. Inhibitory effect of aqueous extracts of some herbs on human platelet aggregation *in vitro*. *Platelets*. 2005 Dec;16(8):469-73.
64. Georgiev MI, Alipieva K, Orhan IE. Cholinesterases inhibitory and antioxidant activities of *Harpagophytum procumbens* from *in vitro* systems. *Phytotherapy Research*. 2012;26(2):313-6.
65. Unger M, Frank A. Simultaneous determination of the inhibitory potency of herbal extracts on the activity of six major cytochrome P450 enzymes using liquid chromatography/mass spectrometry and automated online extraction. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2004;18(19):2273-81.
66. Jang MH, Lim S, Han SM, Park HJ, Shin I, Kim JW, et al. *Harpagophytum procumbens* suppresses lipopolysaccharide-stimulated expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in fibroblast cell line L929. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2003 Nov;93(3):367-71.
67. Loew D, Mollerfeld J, Schrodter A, Puttkammer S, Kaszkin M. Investigations on the pharmacokinetic properties of *Harpagophytum* extracts and their effects on eicosanoid biosynthesis *in vitro* and *ex vivo*. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2001 May;69(5):356-64.
68. Balthazar Lv, Eggenschwiler J, Rohrer J, Suter A. Investigations on the antiinflammatory way of action of a *Harpagophytum* extract using microarray technology. *Planta Medica*. 2009 21.07.2009;75(9):PJ158.
69. Hostanska K, Rostock M, Suter A, Saller R. Antiinflammatory profile of *Harpagophytum procumbens* crude extract and after its external metabolic activation in THP-1 monocytic cells *in vitro*. *Planta Medica*. 2010 24.08.2010;76(12):P194.
70. Inaba K, Murata K, Naruto S, Matsuda H. Inhibitory effects of devil's claw (secondary root of *Harpagophytum procumbens*) extract and harpagoside on cytokine production in mouse macrophages. *J Nat Med*. 2010 2010/04/01;64(2):219-22.
71. Gyurkovska V, Alipieva K, Maciuk A, Dimitrova P, Ivanovska N, Haas C, et al. Anti-inflammatory activity of Devil's claw *in vitro* systems and their active constituents. *Food Chemistry*. 2011;125(1):171-8.
72. Ebrahim N, Uebel RA. Direct inhibition of cyclooxygenase-2 enzyme by an extract of *Harpagophytum procumbens*, harpagoside and harpagide. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011;5(20):2209-12.

73. Fiebich BL, Muñoz E, Rose T, Weiss G, McGregor GP. Molecular targets of the antiinflammatory *Harpagophytum procumbens* (Devil's claw): inhibition of TNF α and COX-2 gene expression by preventing activation of AP-1. *Phytotherapy Research*. 2012;26(6):806-11.
74. Weckesser S, Engel K, Simon-Haarhaus B, Wittmer A, Pelz K, Schempp CM. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*. 2007;14(7–8):508-16.
75. Grant L, McBean DE, Fyfe L, Warnock AM. The inhibition of free radical generation by preparations of *Harpagophytum procumbens in vitro*. *Phytotherapy Research*. 2009;23(1):104-10.
76. Circosta C, Occhiuto F, Ragusa S, Trovato A, Tumino G, Briguglio F, et al. A drug used in traditional medicine: *Harpagophytum procumbens* DC. II. Cardiovascular activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 1984 Aug;11(3):259-74.
77. Mahomed IM, Ojewole JAO. Anticonvulsant activity of *Harpagophytum procumbens* DC [Pedaliaceae] secondary root aqueous extract in mice. *Brain Research Bulletin*. 2006;69(1):57-62.
78. Soulimani R, Younos C, Mortier F, Derrieu C. The role of stomachal digestion on the pharmacological activity of plant extracts, using as an example extracts of *Harpagophytum procumbens*. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1994 Dec;72(12):1532-6.
79. Catelan SC, Belentani RM, Marques LC, Silva ER, Silva MA, Caparroz-Assef SM, et al. The role of adrenal corticosteroids in the anti-inflammatory effect of the whole extract of *Harpagophytum procumbens* in rats. *Phytomedicine*. 2006;13(6):446-51.
80. Andersen ML, Santos EHR, Seabra MdLV, da Silva AAB, Tufik S. Evaluation of acute and chronic treatments with *Harpagophytum procumbens* on Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;91(2-3):325-30.
81. Kundu JK, Mossanda KS, Na H-K, Surh Y-J. Inhibitory effects of the extracts of *Sutherlandia frutescens* (L.) R. Br. and *Harpagophytum procumbens* DC. on phorbol ester-induced COX-2 expression in mouse skin: AP-1 and CREB as potential upstream targets. *Cancer Letters*. 2005;218(1):21-31.
82. Chrubasik JE, Lindhorst E, Neumann E, Gerlach U, Faller-Marquardt M, Torda T, et al. Potential molecular basis of the chondroprotective effect of *Harpagophytum procumbens*. *Phytomedicine*. 2006;13(8):598-600.

83. Zorn B. Über die antiarthritische Wirkung der Harpagophytum-Wurzel. Zeitschrift für Rheumaforschung. 1958;17:134-8.
84. Recio MC, Giner RM, Manez S, Rios JL. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents. *Planta Medica*. 1994 Jun;60(3):232-4.
85. Costa De Pasquale R, Busa G, Circosta C, Iauk L, Ragusa S, Ficarra P, et al. A drug used in traditional medicine: *Harpagophytum procumbens* DC. III. Effects on hyperkinetic ventricular arrhythmias by reperfusion. *Journal of Ethnopharmacology*. 1985 May;13(2):193-9.
86. Ouitas NA, Heard CM. A novel *ex vivo* skin model for the assessment of the potential transcutaneous anti-inflammatory effect of topically applied *Harpagophytum procumbens* extract. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;376(1–2):63-8.
87. Abdelouahab N, Heard C. Effect of the major glycosides of *Harpagophytum procumbens* (Devil's Claw) on epidermal cyclooxygenase-2 (COX-2) *in vitro*. *Journal of Natural Products*. 2008 May;71(5):746-9.
88. Ouitas NA, Heard C. Estimation of the relative antiinflammatory efficacies of six commercial preparations of *Harpagophytum procumbens* (Devil's Claw). *Phytotherapy Research*. 2010;24(3):333-8.
89. Abdelouahab N, Heard CM. Dermal and transcutaneous delivery of the major glycoside constituents of *Harpagophytum procumbens* (Devil's Claw) *in vitro*. *Planta Medica*. 2008 Apr;74(5):527-31.
90. Blumenthal M. *The Complete German Commission E Monographs*. Austin: American Botanical Council; 1998.
91. Bélaiche P. Clinical study of 630 patients with arthritis treated with the herbal remedy *Harpagophytum procumbens*. *Phytothérapie*. 1982;1(22-28).
92. Chrubasik S, Junck H, Breitschwerdt H, Conradt C, Zappe H. Effectiveness of *Harpagophytum* extract WS 1531 in the treatment of exacerbation of low back pain: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *European Journal of Anaesthesiology*. 1999 Feb;16(2):118-29.
93. Wenzel P, Wegener T. Teufelskralle, ein pflanzliches Antirheumatikum. *Deutsche Apotheker Zeitung*. 1995;135(13):1131-44.
94. Lecomte A, Costa JP. *Harpagophytum* dans l'arthrose: études en double insu contre placebo. *Le Magazine*. 1992;15:27-30.

95. Grahame R, Robinson BV. Devil's claw (*Harpagophytum procumbens*): pharmacological and clinical studies. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1981;40:632.
96. Chrubasik S, Conradt C, Roufogalis BD. Effectiveness of *Harpagophytum* extracts and clinical efficacy. *Phytotherapy Research*. 2004;18:187-9.
97. Setty A, Sigal L. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2005;34(6):773-84.
98. Brien S, Lewith GT, McGregor G. Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*) as a treatment for osteoarthritis: a review of efficacy and safety. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 2006;12(10):981-93.
99. Wegener T. Devil's Claw: from African traditional remedy to modern analgesic and antiinflammatory. *Herbal Gram*. 2000;50:47-54.
100. Barnes J, Ernst E. Traditional herbalists' prescriptions for common clinical conditions: a survey of members of the UK National Institute of Medical Herbalists. *Phytotherapy Research*. 1998;12:369-71.
101. Gagnier JJ, Tulder MW, Berman B. Herbal medicine for low back pain. *A Cochrane Review*. *Spine*. 2007;32(1):82-92.
102. Ameye LG, Chee WSS. Osteoarthritis and nutrition. From nutraceuticals to functional foods: a systematic review of the scientific evidence. *Arthritis Research & Therapy*. 2006;8(4):127.
103. More DR, Napoli DC, Hagan LL. Herbal supplements and skin testing: the lack of effect of commonly used herbal supplements on histamine skin prick testing. *Allergy*. 2003 Jun;58(6):492-4.
104. Moussard C, Alber D, Toubin MM, Thevenon N, Henry JC. A drug used in traditional medicine, *harpagophytum procumbens*: no evidence for NSAID-like effect on whole blood eicosanoid production in human. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*. 1992 Aug;46(4):283-6.
105. Colas C, Garcia P, Popot MA, Bonnaire Y, Bouchonnet S. Liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometric characterization of *Harpagophytum* in equine urine and plasma. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2006;20:3257-66.

106. Colas C, Popot MA, Garcia P, Bonnaire Y, Bouchonnet S. Analysis of iridoids from *Harpagophytum* and eleutherosides from *Eleutherococcus senticosus* in horse urine. *Biomedical Chromatography*. 2008;22:912-7.
107. Schruffler H. Anti-rheumatic treatment: progress with Devil Claw tablets without the use of steroids. *Die Medizin Publik*. 1980:1-8.
108. Guyader M. Les plantes antirheumatismales. Étude historique et pharmacologique, et étude clinique du nebulisat d'*Harpagophytum procumbens* DC chez 50 patients arthrosiques suivis en service hospitalier [Dissertation]. Paris: Université Pierre et Marie Curie; 1984.
109. Chrubasik S, Zimpfer C, Schutt U, Ziegler R. Effectiveness of *Harpagophytum procumbens* in treatment of acute low back pain. *Phytomedicine*. 1996 May;3(1):1-10.
110. Chrubasik J, Eisenberg E. Treatment of rheumatic pain with kampo medicine in Europe. Part 1. *Harpagophytum procumbens*. *The Pain Clinic*. 1999;1(3):171-8.
111. Frerick H, Biller A, Schmidt U. Hip osteoarthritis: double-blind study with Devil Claw. *Der Kassenarzt*. 2001;5:34-41.
112. Göbel H, Heinze A, Ingwersen M, Niederberger U, Gerber D. *Harpagophytum*-extract LI174 (Teufelskralle) bei der behandlung unspezifischer rüchenschmerzen. *Schmerz*. 2001;15(10-18).
113. Chrubasik S, Model A, Black A, Pollak S. A randomized double-blind pilot study comparing Doloteffin[®] and Vioxx[®] in the treatment of low back pain. *Rheumatology*. 2003;42:141-8.
114. Chrubasik S, Künzel O, Thanner J, Conradt C, Black A. A 1-year follow-up after a pilot study with Doloteffin[®] for low back pain. *Phytomedicine*. 2005;12(1-2):1-9.
115. Chantre P, Cappelaere A, Leblan D, Guedon D, Vandermander J, Fournie B. Efficacy and tolerance of *Harpagophytum procumbens* versus diacerhein in treatment of osteoarthritis. *Phytomedicine*. 2000 Jun;7(3):177-83.
116. Leblan D, Chantre P, Fournie B. *Harpagophytum procumbens* in the treatment of knee and hip osteoarthritis. Four-month results of a prospective, multicenter, double-blind trial versus diacerhein. *Joint Bone Spine*. 2000;67(5):462-7.
117. Chrubasik S, Schmidt A, Junck H, Pfisterer M. Wirksamkeit und Wirtschaftlichkeit von Teufelskrallenwurzelextrakt bei Rückenschmerzen: erste Ergebnisse einer Anwendungsbeobachtung. *Forsch Komplementärmed*. 1997;4:332-4.

118. Schmelz H, Hämmerle D, Springorum HW. Wirkung eines Teufelskllenwurzel-extraktes bei verschiedenen chronisch-degenerativen Gelenk-erkrankungen. Rheumatherapie mit Phytopharmaka. 1997;86-9.
119. Pinget M, Lecomte A. The effect of *Harpagophytum* Arkocaps in degenerative rheumatism. Naturheilpraxis. 1990;50:267-9.
120. Rutten S, Schafer I. Einsatz der afrikanischen Teufelskralle [*Allya*] bei Erkrankungen des Stutz und Bewegungsapparates. Ergebnisse einer Anwendungsebeobachtung. Acta Biologica. 2000;2:5-20.
121. Usbeck C. Teufelskralle: Devil claw: Treatment for chronic pain. Arzneimittel-Forum. 2000;3:23-5.
122. Laudahn D, Walper A. Efficacy and tolerance of *Harpagophytum* extract LI 174 in patients with chronic non-radicular back pain. Phytotherapy Research. 2001 Nov;15(7):621-4.
123. Schendel U. Arthritis treatment: study with Devil Claw extract. Der Kassenarzt. 2000;29/30:2-5.
124. Ribbat JM, Schakau D. Treatment for chronic painful conditions. Natura Med. 2001;16(23-30).
125. Chrubasik J, Pollak S, Black A. Effectiveness of devil'claw for osteoarthritis. Rheumatology. 2002;41:1332-3.
126. Wegener T, Lupke NP. Treatment of patients with arthrosis of hip or knee with an aqueous extract of devil's claw (*Harpagophytum procumbens* DC.). Phytotherapy Research. 2003 Dec;17(10):1165-72.
127. Warnock M, McBean D, Suter A, Tan J, Whittaker P. Effectiveness and safety of Devil's Claw tablets in patients with general rheumatic disorders. Phytotherapy Research. 2007 Dec;21(12):1228-33.
128. Wilson KS. Regression of follicular lymphoma with Devil's Claw: coincidence or causation? Current Oncology. 2009;16(4):67-70.
129. PDR FOR HERBAL MEDICINES. Montvale: Medical Economics Company; 1998.
130. Ramsay NA, Kenny MW, Davies G, Patel JP. Complimentary and alternative medicine use among patients starting warfarin. British Journal of Haematology. 2005;130:777-80.
131. Gregory PJ, Sperry M, Wilson AF. Dietary supplements for osteoarthritis. American Family Physician. 2008;77(2):177-84.

132. Blender T, Gruenwald J, Ulbricht C, Basch E. Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens* DC): an evidence-based systematic review by the natural standard research collaboration. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*. 2006;6(1):89-126.
133. Soares F, Azevedo AP, Taveira ACA, Sougey EB. papel do citocromo P450 nas interações farmacológicas entre antidepressivos. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco*. 1999;44(2):138-42.
134. Modarai M, Suter A, Kortenkamp A, Heinrich M. The interaction potential of herbal medicinal products: a luminescence-based screening platform assessing effects on cytochrome P450 and its use with devil's claw (*Harpagophyti radix*) preparations. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011;63(3):429-38.
135. Romiti N, Tramonti G, Corti A, Chieli E. Effects of Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*) on the multidrug transporter ABCB1/P-glycoprotein. *Phytomedicine*. 2009;16(12):1095-100.
136. Piechota-Urbanska M, Kolodziejska J, Berner-Strzelczyk A. The application of *Harpagophytum procumbens* extract in anti-inflammatory preparations applied on skin produced on acrylic acid polymers base. *polimery W Medycynie*. 2009;39(3):9-15.
137. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE: Consulta de medicamentos registrados; 2015.
138. Pedretti M. *Harpagophytum procumbens*, l'artiglio antireumatico. *Erboristeria Domani*. 1998:53-62.