

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Mikania glomerata* (GUACO)

Organização: Ministério da Saúde e Anvisa

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

Brasília

2014

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Aspecto geral da <i>Mikania glomerata</i> Spreng	10
Figura 2 -	Aspecto das folhas de <i>Mikania glomerata</i> Spreng	11
Figura 3 -	Ramos de <i>Mikania glomerata</i> Spreng: (A) não floridos; (B) floridos	13
Figura 4 -	Detalhe das folhas de <i>Mikania glomerata</i> Spreng	13
Figura 5 -	<i>Mikania glomerata</i> Spreng. (A) Folha padrão. (B-C) Corte frontal Epiderme superior e inferior, respectivamente. Seta em B indica células subepidérmicas com paredes espessas e silicificadas. Em C, a seta indica células dispostas radialmente em torno da base de tricomas. (D-E) Tricoma glanular unisseriado e peltado, respectivamente. (F-G) Corte transversal do terço-médio da lâmina foliar. Seta no G indica o teor lipídico do ducto secretor. (H) Corte transversal da nervura mediana indicando os canais secretores (setas). (CO) Colênquima; (EP) Epiderme; (X) Xilema	15
Figura 6 -	Principais metabólitos secundários encontrados em <i>Mikania glomerata</i> : cumarina (1), lupeol (2), ácido- α -isobutiriloxi-caur-16-en-19-oico (3), ácidos diterpênicos (4), caurenóico (5), grandiflórico (6), cinamoilgrandiflórico (7), caurenol (8), β -sitosterol (9), friedelina (10) e estigmasterol (11)	23
Figura 7 -	Biossíntese de cumarina	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características da <i>Mikania glomerata</i> presentes no anexo da RDC 10/2010	35
Tabela 2 -	<i>Mikania glomerata</i> Spreng na lista de produtos tradicionais fitoterápicos	37
Tabela 3 -	Estudos pré-clínicos, <i>in vitro</i> , de atividade farmacológica da espécie <i>Mikania glomerata</i>	45
Tabela 4 -	Estudos pré-clínicos, <i>in vivo</i> , de atividade farmacológica da espécie <i>Mikania glomerata</i>	52
Tabela 5 -	Formulações descritas para o xarope de <i>Mikania glomerata</i>	63
Tabela 6 -	Medicamentos fitoterápicos que apresentam em sua formulação ativa derivados da espécie <i>Mikania glomerata</i>	65
Tabela 7 -	Patentes solicitadas para a espécie <i>Mikania glomerata</i> no banco de dados do INPI	68

LISTA DE ABREVIATURAS

ACh -	Acetilcolina
Anvisa -	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CBM -	Concentração Bactericida Mínima
CCD -	Cromatografia de camada delgada
CCE	Curva concentração-efeito
Cd -	Cádmio
CG -	Cromatografia gasosa
CG-EM -	Cromatografia gasosa acoplada a espectro de massa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE -	Cromatografia líquida de alta pressão
CMNC -	Concentração máxima não citotóxica
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
EPO -	<i>European Patent Office</i>
HIV -	<i>Human immunodeficiency virus</i>
Hist -	Histamina
IN -	Instrução Normativa
INPI -	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
KOH -	Hidróxido de potássio
LBA -	Lavado bronco alveolar
MAO -	Monoamina oxidase
MAO-A -	Monoamina oxidase A
MAO-B -	Monoamina oxidase B
ODS -	Octadecilsilano
OMS -	Organização Mundial da Saúde
Pb -	Chumbo
q.s.p. -	Quantidade suficiente para
RDC -	Resolução da Diretoria Colegiada
R _f -	Fator de retenção
SFE -	Extração por fluido supercrítico
SFE-CO ₂ -	Extração por fluido supercrítico utilizando dióxido de carbono
SFE-Hexano -	Extração por fluido supercrítico utilizando hexano
UFJF -	Universidade Federal de Juiz de Fora
UV -	Ultravioleta
VSM -	Veneno, soro e extrato

SUMÁRIO

1 IDENTIFICAÇÃO	9
1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA	9
1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA	9
1.3 FAMÍLIA.....	9
1.4 FOTO DA PLANTA	9
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	11
2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL	11
2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	11
2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES	15
3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DA QUALIDADE	16
3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL	16
3.1.1 Caracteres organolépticos	16
3.1.2 Requisitos de pureza	17
3.1.2.1 <i>Perfil de contaminantes comuns</i>	17
3.1.2.2 <i>Microbiológico</i>	17
3.1.2.3 <i>Teor de umidade</i>	17
3.1.2.4 <i>Metal pesado</i>	18
3.1.2.5 <i>Resíduos químicos</i>	19
3.1.2.6 <i>Cinzas</i>	19
3.1.3 Granulometria	19

3.1.4	Prospecção fitoquímica.....	19
3.1.5	Testes físico-químicos	20
3.1.6	Testes de identificação.....	20
3.1.7	Testes de quantificação.....	20
3.1.7.1	Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não ...	21
3.1.8	Outras informações úteis para o controle de qualidade.....	24
3.2	DERIVADO VEGETAL	25
3.2.1	Descrição	25
3.2.2	Método de obtenção.....	25
3.2.3	Caracteres organolépticos	26
3.2.4	Requisitos de pureza	26
3.2.4.1	<i>Perfil de contaminantes comuns</i>	26
3.2.4.2	<i>Microbiológico</i>	26
3.2.4.3	<i>Teor de umidade</i>	26
3.2.4.4	<i>Metal pesado</i>	27
3.2.4.5	<i>Resíduos químicos</i>	27
3.2.5	Testes físico-químicos	27
3.2.6	Prospecção fitoquímica.....	27
3.2.7	Testes de identificação.....	28
3.2.8	Testes de quantificação.....	28
3.2.8.1	Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não ...	28
3.3	PRODUTO FINAL.....	29
3.3.1	Forma farmacêutica	29
3.3.2	Testes específicos por forma farmacêutica	30
3.3.3	Requisitos de pureza	31
3.3.4	Resíduos químicos	31
3.3.5	Prospecção fitoquímica.....	31
3.3.6	Testes de identificação.....	31

3.3.7 Testes de quantificação.....	31
3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não	32
4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA	32
4.1 USOS POPULARES / TRADICIONAIS.....	32
4.2 PRESENÇA NA NOTIFICAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS	33
4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS	34
4.3.1 Estudos toxicológicos	35
4.3.1.1 Toxicidade aguda.....	35
4.3.1.2 Toxicidade subcrônica.....	35
4.3.1.3 Toxicidade crônica	35
4.3.1.4 Genotoxicidade	37
4.3.1.5 Sensibilização dérmica	38
4.3.1.6 Irritação cutânea	38
4.3.1.7 Irritação ocular	38
4.3.2 Estudos farmacológicos	38
4.3.2.1 Ensaios <i>in vitro</i>	38
4.3.2.2 Ensaios <i>in vivo</i>	45
4.3.2.3 Ensaios <i>ex vivo</i>	52
4.4 ESTUDOS CLÍNICOS	53
4.4.1 Fase I.....	53
4.4.2 Fase II	54
4.4.3 Fase III.....	54
4.4.4 Fase IV.....	54
4.4.5 Estudos observacionais.....	54
4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO....	54
4.5.1 Vias de Administração.....	Erro! Indicador não definido.
4.5.2 Dose Diária	55
4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)	55

4.5.4 Período de Utilização.....	55
4.5.5 Contra Indicações	56
4.5.6 Grupos de Risco.....	56
4.5.7 Precauções de Uso	56
4.5.8 Efeitos Adversos Relatados	57
4.5.9 Interações Medicamentosas	57
4.5.9.1 Descritas	57
4.5.9.2 Potenciais	58
4.5.10 Informações de superdosagem.....	58
4.5.10.1 Descrição do quadro clínico.....	58
4.5.10.2 Ações a serem tomadas.....	58
5 INFORMAÇÕES GERAIS	58
5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA	58
5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS ..	61
5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO	63
5.4 ROTULAGEM	63
5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS	63
5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL.....	63
5.7 DIVERSOS.....	64
REFERÊNCIAS	65

1 IDENTIFICAÇÃO

1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA

Mikania glomerata Spreng (1-3).

1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA

Mikania hatschbachii GM Barroso, *Willoughbya glomerata* (Spreng.) Kuntze, *Mikania glomerata* var *montana* Hassl, *Mikania scansoria* DC e *Cacalia trilobata* Vell (1-3).

1.3 FAMÍLIA

Asteraceae (2-6).

A maioria dos trabalhos utilizados para a elaboração desta monografia cita que a espécie *Mikania glomerata* pertence à família Asteraceae. Em alguns deles, no entanto, é possível ver referência à família Compositae (7-10). Por essa razão, é válido relembrar que os termos Asteraceae e Compositae são sinônimos (2).

1.4 FOTO DA PLANTA

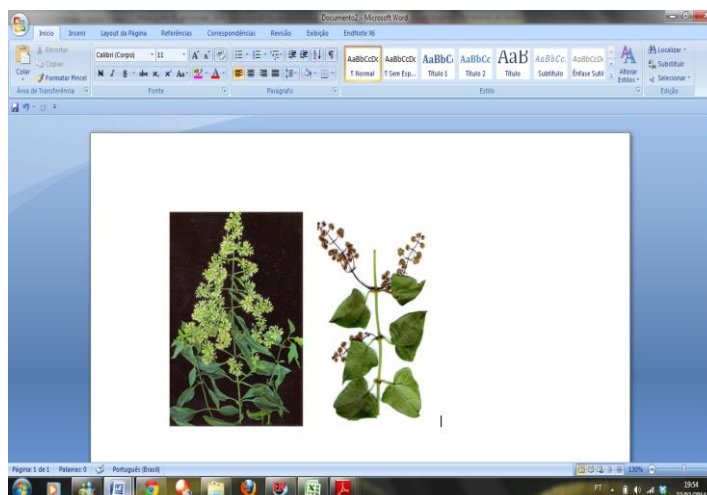


Figura 1 - Aspecto geral da *Mikania glomerata* Spreng (11, 12)

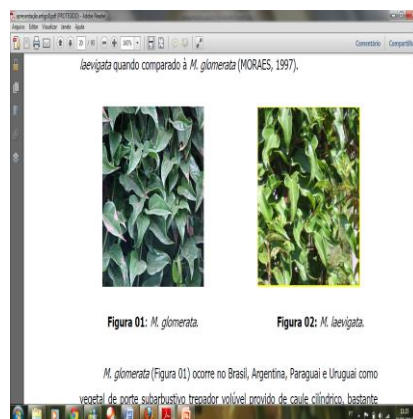


Figura 2 - Aspecto das folhas de *Mikania glomerata* Spreng (13)

1.5 NOMENCLATURA POPULAR

Guaco (4, 14-17), guaco-liso, guaco-de-cheiro (10), guaco-cheiroso (18, 19), guacotrepador (20), cipó-almecega (4), cipó-caatinga, coração-de-jesus e erva-de-cobra (10, 18, 20, 21). Conhecida também como chá-porreta na comunidade Bom Jardim, em Cuiabá, Mato grosso (22). Denominada cipó-almesca no bairro Barra do Jucu, em Vila Velha, no estado do Espírito Santo (23).

1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

O gênero *Mikania* compreende cerca de 430 espécies (24, 25), distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da América, África e Ásia (24, 26). No Brasil, são encontradas cerca de 170 espécies (21, 25, 27), que ocorrem geralmente nas regiões sul e sudeste (21). Uma das espécies mais estudadas, pertencente a este grupo, é a *Mikania glomerata* (24).

Mikania glomerata é uma espécie nativa do Brasil (23, 28-32), comumente encontrada em regiões de mata atlântica (4, 33) e cultivada em quase todo o território brasileiro (19, 34, 35). Tem seu habitat nas margens dos rios, crescendo espontaneamente em matas primárias, capoeiras, orlas de matas, terrenos de aluvião, várzeas sujeitas a inundações, além de possuir boa adaptação ao cultivo doméstico (25).

Sua distribuição geográfica na América do Sul abrange, principalmente, as regiões sul e sudeste do Brasil, podendo ser encontrada ainda na Bahia, Paraguai e noroeste da Argentina (18, 36).

1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS

A espécie *Mikania laevigata* é, muitas vezes, utilizada e comercializada de forma indistinta junto à *Mikania glomerata* (26, 37, 38). Essas duas espécies são confundidas por apresentarem morfologia, composição química e usos medicinais muito semelhantes (13, 39), além de ocorrerem, com frequência, no mesmo local (18). Além disso, *Mikania glomerata* e *M. laevigata* são, frequentemente, citadas de forma equivocada na literatura (25).

2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

A família Asteraceae, na qual está inserido o gênero *Mikania*, compreende, aproximadamente, cerca de 1500 gêneros que abrangem um total de 23.000 espécies (18). O gênero *Mikania* Willdenow foi estabelecido em 1803 (26) e compreende cerca de 430 (24, 25) espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (24-26). No Brasil, o gênero é amplamente distribuído, com cerca de 170 espécies relatadas (21, 24).

2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL

Folhas (15, 40, 41).

2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Segundo descrição da Farmacopeia Brasileira, as folhas são pecioladas, oval-lanceoladas, agudas, podendo medir de 10 a 15 cm de comprimento. Possuem margens inteiras e sinuosas, glabra e lazidia, sobre ambas as páginas, sensivelmente lobada, com a base arredondada (41). Com relação às nervuras, são tri ou pentanervadas, oriundas do ápice do pecíolo, que mede de 3 a 6 cm de comprimento, por até, 0,5 cm de diâmetro na base (41, 42).

Segundo Capaldi (2007), o pecíolo possui uma forma quase cilíndrica e, com frequência, apresenta a base torcida (42).

A Farmacopeia Brasileira cita ainda que, quando secas, as folhas perdem, quase que totalmente, seu odor característico, entretanto, o sabor aromático e amargo se mantém (41).

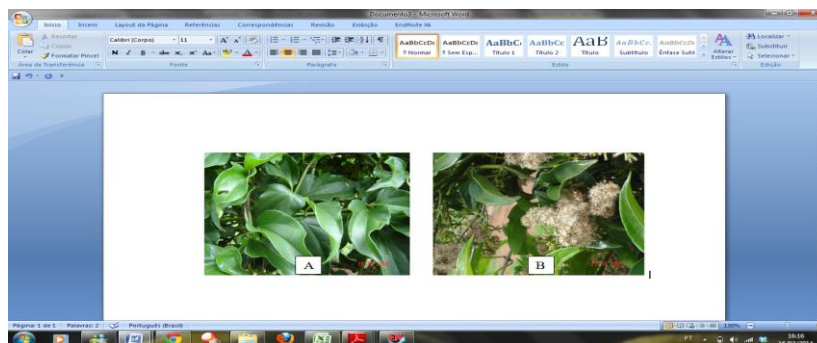


Figura 3 - Ramos de *Mikania glomerata* Spreng: (A) não floridos; (B) floridos (42).

Há, ainda, outras descrições importantes na literatura científica. A espécie é citada como uma trepadeira sub-lenhosa, de grande porte, perene, com folhas obtusas na base, de forma quase deltóide (11). Segundo Freitas (2006), apresenta-se como um subarbusto silvestre, escandente, com folhagem densa e perene. O caule é descrito como cilíndrico, ramificado, glabro e, quando seco, apresenta fratura fibrosa e aspecto estriado no sentido longitudinal. A planta jovem apresenta coloração verde-claro passando a arroxeada e a cinzento-escura nas partes suberificadas (43).

Outros autores citam ainda que as folhas da espécie *M. glomerata* são simples, de consistência subcoriácea e apresentam-se opostas (18, 44, 45), além de possuírem medidas de comprimento e largura muito próximas (18).

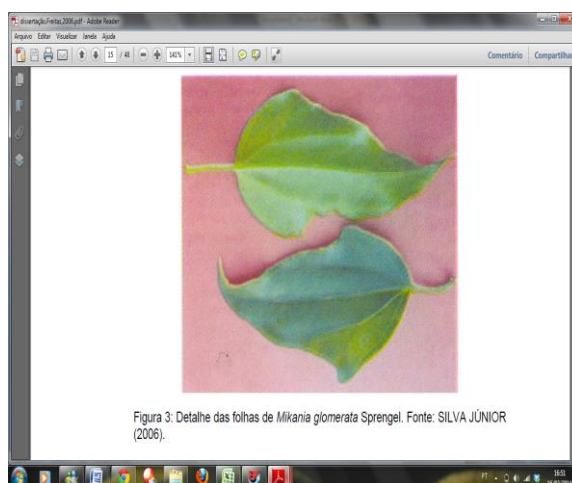


Figura 4 - Detalhe das folhas de *Mikania glomerata* Spreng (43).

2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Segundo a Farmacopeia Brasileira, as folhas possuem um epiderme glabro, formado na página superior por células poligonais de paredes levemente curvas e, na inferior, por células de parede ondeadas (41). Os estômatos anomocíticos ocorrem com maior frequência na porção inferior da epiderme e são, geralmente, circundados por três a quatro células epidérmicas não diferenciadas (18, 41, 44). As células da face abaxial mostram-se menores que as da superfície adaxial (18, 44). Ambos os epidermes possuem pelos glanulosos unisseriados, pluricelulares, recurvados, situados nas depressões epidérmicas (41, 43).

O mesófilo é heterogêneo e assimétrico, variando de acordo com as diferentes regiões da lâmina foliar (41, 43, 44). Formado, na parte superior, por uma ou duas camadas de células paliçádicas, frequentemente lobadas, e que permitem braços adquirindo formas características; e na parte inferior, por parênquima lacunoso, formado por células arredondadas ou elípticas (41-43).

Nos tricomas glandulares encontrados em *M. glomerata* (peltado e unisseriado) (18, 44), o pelo é simples e possui aspecto claviforme recurvado. Os tricomas devem ser considerados como glândulas que secretam néctar diluído. Os pelos capitados e os canais secretores também representam estruturas secretoras da espécie e estão distribuídas por todo o eixo vegetativo (42). A presença de ductos secretores em *M. glomerata* parece esta associada aos feixes vasculares (18, 42).

O texto contido na Farmacopeia Brasileira cita ainda informações relacionadas à nervura da folha. Essa nervura é mediana, biconvexa e apresenta de 3 a 5 feixes líbero-lenhosos, dispostos em arco e formados por um cordão lenhoso. Próximo a esses feixes, existe a presença de pequenos canais secretores (41).

Além disso, a folha da espécie *Mikania glomerata* Spreng possui, células isoladas que contém uma substância resinífera, finamente granulosa (41).

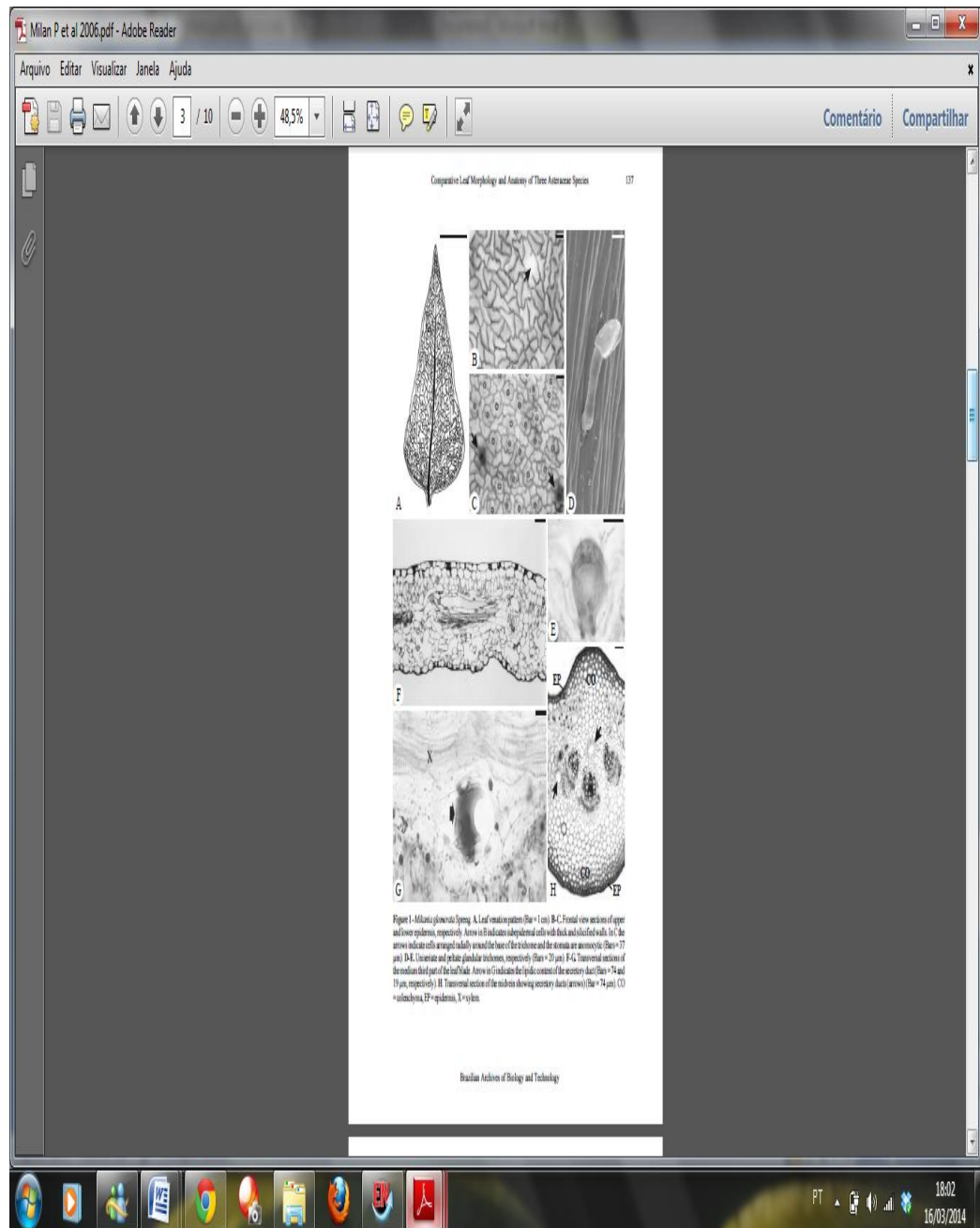


Figura 5 - *Mikania glomerata* Spreng. (A) Folha padrão. (B-C) Corte frontal Epiderme superior e inferior, respectivamente. Seta em B indica células subepidérmicas com paredes espessas e silicificadas. Em C, a seta indica células dispostas radialmente em torno da base de tricomas. (D-E) Tricoma glanular unisseriado e peltado, respectivamente. (F-G) Corte transversal do terço-médio da lâmina foliar. Seta no G indica o teor lipídico do ducto secretor. (H) Corte transversal da nervura mediana indicando os canais secretores (setas). (CO) Colênquima; (EP) Epiderme; (X) Xilema. (44)

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

No mercado de fitoterápicos, adulterações da matéria-prima vegetal ocorrem, comumente, sob a forma de substituições e falsificações. Frequentemente, espécies diferentes são comercializadas em substituição à farmacopeica, devido à dificuldade de obtenção desta ou, até mesmo, pelo emprego intencional de espécies de valor econômico inferior. Diante desses fatos, torna-se necessária a realização de estudos que busquem a identificação da constituição química de espécies com amplo uso medicinal, que apresentem características morfológicas semelhantes, a fim de evitar adulterações (38).

Uma espécie muito semelhante a *Mikania glomerata* que, muitas vezes, é comercializada indistintamente, é *Mikania laevigata* (26, 37, 38). As duas espécies são conhecidas popularmente como “guaco” e são facilmente confundidas, pois ocorrem com frequência no mesmo local, apresentam semelhança morfológica, composição química e usos medicinais muito parecidos (13). Além disso, as duas espécies são, frequentemente, citadas de forma errada na literatura (25).

A espécie *M. glomerata* consta da 1ª edição da Farmacopeia Brasileira (41), enquanto a *M. laevigata*, encontra-se descrita no sexto fascículo da Farmacopeia Brasileira 4ª edição (46). A principal diferença entre as duas espécies é a época de floração. A floração da espécie *M. laevigata* ocorre em setembro, diferente da *M. glomerata*, que tem suas flores no mês de janeiro (12). Outra diferença, porém pouco expressiva, está relacionada à morfologia e pode ser visualizada no formato das folhas de ambas as espécies de *Mikania*, onde *M. glomerata* apresenta lobos menos proeminentes do que *M. laevigata* (13, 36, 43).

A comparação entre características das células do xilema das duas espécies mostrou que os elementos presentes nesta região são muito semelhantes. Além disso, o mesmo estudo avaliou a anatomia do caule, que também não mostrou diferenças estatisticamente significativas entre as espécies. Diante desses resultados, a diferenciação morfológica entre *M. glomerata* e *M. laevigata* torna-se muito difícil (47).

Cumarina (1,2-benzopirona) é o marcador químico descrito para as duas espécies (38, 48, 49). De acordo com trabalhos descritos na literatura, espécies pertencentes a um mesmo gênero podem sim, apresentar diferenças na constituição química (38). Os resultados obtidos, por meio da comparação dos perfis cromatográficos por cromatografia de camada delgada (CCD), mostraram que as duas espécies apresentam constituição química semelhante, onde foi detectada a presença da cumarina (1,2-benzopirona), triterpenos/esteróides e heterosídeos

flavônicos. Características semelhantes também foram observadas nos perfis cromatográficos obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) dos extratos etanólicos das duas espécies, e os teores de cumarina mostraram-se bem próximos (38).

Outro estudo, realizado por Freitas (2006), encontrou concentrações diferentes de cumarina entre as duas espécies. Na espécie *M. glomerata*, a cumarina estava presente em cerca de 0,5% das folhas secas, enquanto que, na espécie *M. laevigata*, o marcador foi encontrado em maior quantidade, cerca de 2,6% (43).

Alguns autores sugerem que as espécies *M. glomerata* e *M. laevigata* podem ser utilizadas de forma indistinta (38) e, até mesmo sugerem a unificação em termos de nomenclatura (47). Entretanto, novas investigações relacionando essas duas espécies devem ser realizadas, a fim de corroborar e fortalecer a utilização das mesmas como uma alternativa terapêutica segura, eficaz e de qualidade (18).

3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DA QUALIDADE

3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL

Considerando que a monografia farmacopeica descrita para a espécie *M. glomerata* consta da primeira edição do documento oficial, muitos limites não são padronizados, especificamente, para a espécie em questão (41). Nestes casos, os limites descritos neste trabalho são gerais ou aqueles encontrados na literatura pesquisada.

3.1.1 Caracteres organolépticos

A folha apresenta-se com odor fraco aromático de cumarina e coloração esverdeada (26). Além disso, possui sabor aromático e amargo (41).

3.1.2 Requisitos de pureza

3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns

Conforme métodos gerais descritos na Farmacopeia Brasileira, devem ser avaliados os contaminantes macroscópicos. A porcentagem de elementos estranhos não deve ser superior a 2% (50).

O procedimento consta da separação manual de materiais estranhos à droga, inicialmente a olho nu e, em seguida, com auxílio de lentes de aumento, a partir de uma quantidade específica da amostra. Para finalizar, deve-se pesar o material separado e determinar sua porcentagem com base no peso da amostra submetida ao ensaio (50).

3.1.2.2 Microbiológico

Os métodos utilizados no controle microbiológico são os presentes nas metodologias gerais da Farmacopeia Brasileira (50).

A partir da publicação da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 26/2014, é necessária a avaliação da presença de micotoxinas. Esse teste não precisa ser realizado em todas as matérias-primas, apenas naquelas que possuem histórico de contaminação por essas substâncias e também naquelas que possuem referências em monografias oficiais e literatura científica (51).

Em estudo realizado por Bochner e colaboradores (2012), foi verificado que a preparação e o armazenamento da droga vegetal podem influenciar nas taxas de contaminação microbiológica. Por exemplo, a realização do processo de secagem, sem prévia lavagem da folha de *M. glomerata* resultou em maior contaminação microbiológica (52).

3.1.2.3 Teor de umidade

Não existe limite farmacopeico descrito para a espécie *M. glomerata* (41), porém, a Farmacopeia Brasileira cita que, quando a porcentagem não for indicada, é permitido um máximo de 5% (41). Para a espécie *M. laevigata* - já citada anteriormente como espécie muito semelhante e, muitas vezes, comercializada indistintamente à *M. glomerata* -, o limite máximo para teor de umidade é de 10% (46).

Segundo a Farmacopeia Brasileira, podem ser empregados três tipos de métodos para a determinação de água em drogas vegetais. O mais simples e rápido de ser executado é o método gravimétrico (dessecação), porém, não é aplicável quando a droga contém substâncias

voláteis. O método azeotrópico (destilação com tolueno) e o volumétrico (Karl Fischer) também podem ser empregados para a determinação de teor de água, porém, compreendem técnicas mais complexas e necessitam de equipamentos especiais (50).

Na maioria da literatura pesquisada, pôde ser notado que o método mais utilizado para avaliar o teor de umidade em amostras vegetais de *M. glomerata*, é o gravimétrico. Esse fato se deve a maior simplicidade e rapidez na realização deste, frente aos outros métodos farmacopeicos existentes (26, 38).

3.1.2.4 Metal pesado

A detecção de metais pesados em drogas vegetais deve ser realizada conforme os métodos gerais descritos na Farmacopeia Brasileira (50). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o limite máximo para detecção de chumbo seja de 10 mg/Kg (10 ppm), enquanto o de cádmio não deva ultrapassar 0,3 mg/Kg (0,3 ppm) em todas as espécies vegetais medicinais. No Canadá e na China, os limites de detecção para metais pesados não devem ultrapassar 10 e 20 ppm, respectivamente (53).

Um estudo desenvolveu um método simples de redissolução anódica de pulso diferencial para a determinação simultânea de cádmio (Cd) e chumbo (Pb), utilizando um eletrodo de mercúrio. A preparação da amostra foi um importante passo a ser considerado e, a incineração utilizada no estudo, mostrou-se adequada na etapa anterior a realização do teste. A determinação limite do método foi de 0,12 e 0,010 mg/Kg (0,12 e 0,010 ppm) para chumbo e cádmio, respectivamente. O método foi aplicado para a quantificação desses metais em amostras de várias espécies vegetais, inclusive para *M. glomerata*, e mostrou ser útil no controle de contaminantes em plantas medicinais (54).

Outro estudo foi realizado com o objetivo de desenvolver um sistema de espectrometria de absorção atômica, para determinar o teor de um metal pesado importante, o chumbo, em plantas medicinais. Eles utilizaram um sistema de pré-concentração, acoplado a um espectrômetro de absorção atômica. As amostras de *M. glomerata* foram analisadas após digestão em ácido nitroperclórico. O sistema proposto foi otimizado por meio da avaliação dos seguintes parâmetros: natureza, concentração e volume da solução, taxa de eluição, fluxo de eluente, eficiência da eluição, a pré-concentração, taxa de fluxo e tempo de pré-concentração. O sistema proposto apresentou bom desempenho, com alta precisão e repetibilidade, excelente linearidade, baixo consumo de amostra (10,5 mL por determinação) e frequência de amostragem de 55 amostras/hora. Os autores concluíram, então, que a

inclusão de uma coluna de pré-concentração no coletor de fluxo melhorou a sensibilidade do espectrofotômetro (55).

3.1.2.5 Resíduos químicos

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Não há metodologia descrita na monografia de *M. glomerata* (41).

Não foram encontradas informações sobre a existência de um protocolo específico para detecção de pesticidas em plantas medicinais. Conforme disposto no Guia da OMS, os limites de quantidade máxima de resíduos químicos permitida são individualizados e podem ser obtidos de pesquisas relacionadas à alimentos (53).

3.1.2.6 Cinzas

O teste deve ser realizado conforme a descrição contida na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (46). Não existe limite farmacopeico descrito para a espécie *M. glomerata* (41), apenas para a espécie *M. laevigata*, que é de 15% (46).

3.1.3 Granulometria

O teste deve ser realizado conforme a descrição contida na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50). Informações específicas sobre limites farmacopeicos para a espécie não foram encontradas na literatura pesquisada. Não há metodologia descrita na monografia de *M. glomerata* (41).

Em estudo realizado por Alvarenga e colaboradores (2009), amostras de folhas de *M. glomerata* foram submetidas a uma tamisação sequencial (MESH 10, 20, 32, 80 e fundo) e as frações retiradas em cada tamis foram pesadas e armazenadas. Porém, o objetivo do teste foi apenas determinar a porcentagem de material estranho nas amostras (26).

3.1.4 Prospeção fitoquímica

A espécie é rica em compostos cumarínicos, triterpenos/esteróides e heterosídeos flavônicos (29, 38), além dos componentes voláteis como os óleos essenciais (25). Alguns autores citam ainda, a presença de estigmasterol e taninos hidrolisáveis (25, 56).

A avaliação dessas classes de compostos deve ser realizada por meio de metodologias específicas como CCD e CLAE (26, 38).

3.1.5 Testes físico-químicos

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.1.6 Testes de identificação

A Farmacopeia Brasileira descreve vários métodos que podem ser utilizados para identificação de espécies e de substâncias, por exemplo, cromatografia em papel e cromatografia em coluna (50). Considerando que não existe a informação farmacopeica de qual metodologia deve ser realizada para a espécie *M. glomerata*, vale citar que, para a espécie *M. laevigata*, o teste preconizado é a CCD (46).

Informações encontradas na literatura pesquisada reforçam o que é preconizado pela Farmacopeia. A identificação da constituição química da espécie *M. glomerata*, na maioria dos trabalhos, foi realizada por CCD (26, 38). Entretanto, outros estudos utilizaram CLAE a fim de avaliar o perfil cromatográfico das amostras (56).

3.1.7 Testes de quantificação

Assim como no teste de identificação, não existe essa informação para *M. glomerata* descrita na Farmacopeia (41). Diante do fato de que as espécies *M. glomerata* e *M. laevigata* possuem composição química muito semelhante e, apresentam o mesmo marcador químico - cumarina, torna-se relevante citar os parâmetros preconizados pela monografia de *M. laevigata* (26, 37).

Para a quantificação da cumarina, segundo a Farmacopeia Brasileira, deve-se utilizar CLAE. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta (UV) 275 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada (ODS), coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), fluxo da fase móvel de 0,5 mL/minuto. Sistema isocrático. A fase

móvel que deve ser utilizada neste teste é a mistura de metanol e água, na proporção de 47:53 (46).

Bueno e Bastos (2009) propuseram outro método para quantificação de cumarina nas folhas da espécie *Mikania glomerata* Sprengel. O trabalho descreveu a validação completa de metodologia analítica empregando cromatografia gasosa capilar com padronização interna para quantificação da cumarina (1,2-benzopirona). A análise foi realizada utilizando-se uma coluna capilar HP-5 (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm), hidrogênio a 1,8 mL/minuto e rampa de temperatura de 100 °C a 250 °C, a 15 °C/min. A temperatura do injetor foi de 250 °C e do detector, 270 °C. Os limites de detecção e quantificação da cumarina foram de 0,5 µg/ mL e 1,5 µg/ mL, respectivamente. A precisão do método proposto apresentou desvios padrões relativos menores que 2,5 % e os teores de cumarina presentes nas folhas foi de 0,38 % m/m (40).

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

Entre os componentes químicos já descritos estão os compostos cumarínicos, diterpenóides, fenilpropanóides, triterpenóides e esteróis, além dos componentes voláteis como os óleos essenciais (25, 57).

O composto cumarínico cumarina (29) está presente em cerca de 0,5% de folhas secas de *M. glomerata*, entretanto, concentrações mais altas normalmente são encontradas em folhas frescas (58). A cumarina é o componente utilizado como marcador de *M. glomerata* (18) e, seus percentuais podem apresentar largas variações em folhas frescas de *M. glomerata* de ocorrência natural e cultivadas *ex situ*. Essas variações podem ocorrer devido ao processamento, secagem e estocagem do material vegetal (58).

Quanto a classe dos diterpenoides, já foram isolados a partir da espécie *M. glomerata* o ácido caurenóico, que ocorre em muitas espécies de *Mikania* (13), além do 15-β-cinamoilgrandiflórico, 15-α-isobutiriloxi-caur-16-eno-19-oico, 15-β-isobutiriloxi-caur-16-eno-19-oico, 15-β-isobutiriloxi-caur-16-eno-19-oico e 16-β-benzoiloxi-caur-16-eno-19-oico (56, 58). Além disso, os fenilpropanóides ácido orto-hidroxicinâmico (56) e ácido 2-acetoxi-trans-cinâmico também já foram isolados da espécie (58).

Outros metabólitos secundários como o siringaldeído (59), friedelina, lupeol, estigmasterol (25, 38), fitol e ácido palmítico também já foram isolados da espécie *M.*

glomerata (58). Componentes voláteis também já foram identificados, sendo que os principais constituintes registrados dos óleos essenciais foram o β -cubebeno e espantulenol (58).

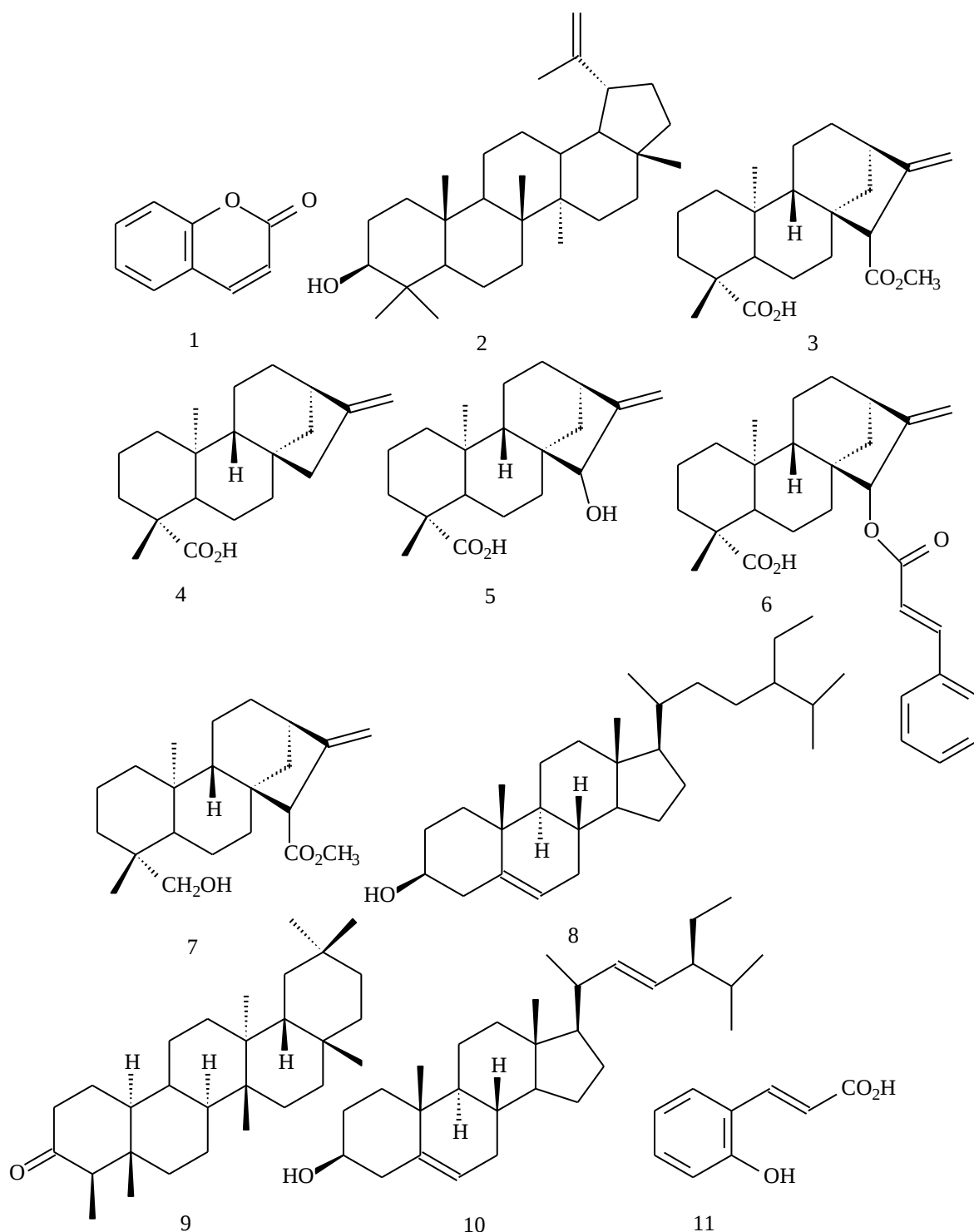


Figura 6 - Principais metabólitos secundários encontrados em *Mikania glomerata*: cumarina [1], lupeol [2], ácido- α -isobutiriloxi-caur-16-en-19-oico [3], ácidos diterpênicos: caurenol [4], grandiflórico [5], cinamoilgrandiflórico [6], caurenol [7], β -sitosterol [8], friedelina [9], estigmasterol [10] e ácido o-cumárico [11] (13).

O metabólito secundário majoritário descrito para a espécie é a cumarina, que é considerada também o marcador químico de *M. glomerata* (25, 38, 56, 60), ou seja, confere identidade à espécie. Acredita-se que, parte desta substância seja formada durante o processamento da planta, a partir da lactonização do ácido orto-cumárico, por ação enzimática e pelo calor. Cumarina ocorre principalmente nas folhas da planta e caracteriza o odor fragrante e aromático da espécie, além de ser um dos principais responsáveis pelas ações farmacológicas da planta (25). Diante disso, o doseamento desta substância é muito utilizado no controle da qualidade de preparações extrativas de *M. glomerata* (13).

Outro metabólito secundário que, juntamente com a cumarina, destaca-se por suas ações farmacológicas tais como anti-inflamatória e expectorante, é o ácido caurenóico. Esse diterpeno ocorre em muitas espécies do gênero *Mikania* e parece possuir ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *epidermidis*, além da atividade antifúngica, inibindo o crescimento de *Candida albicans* (13).

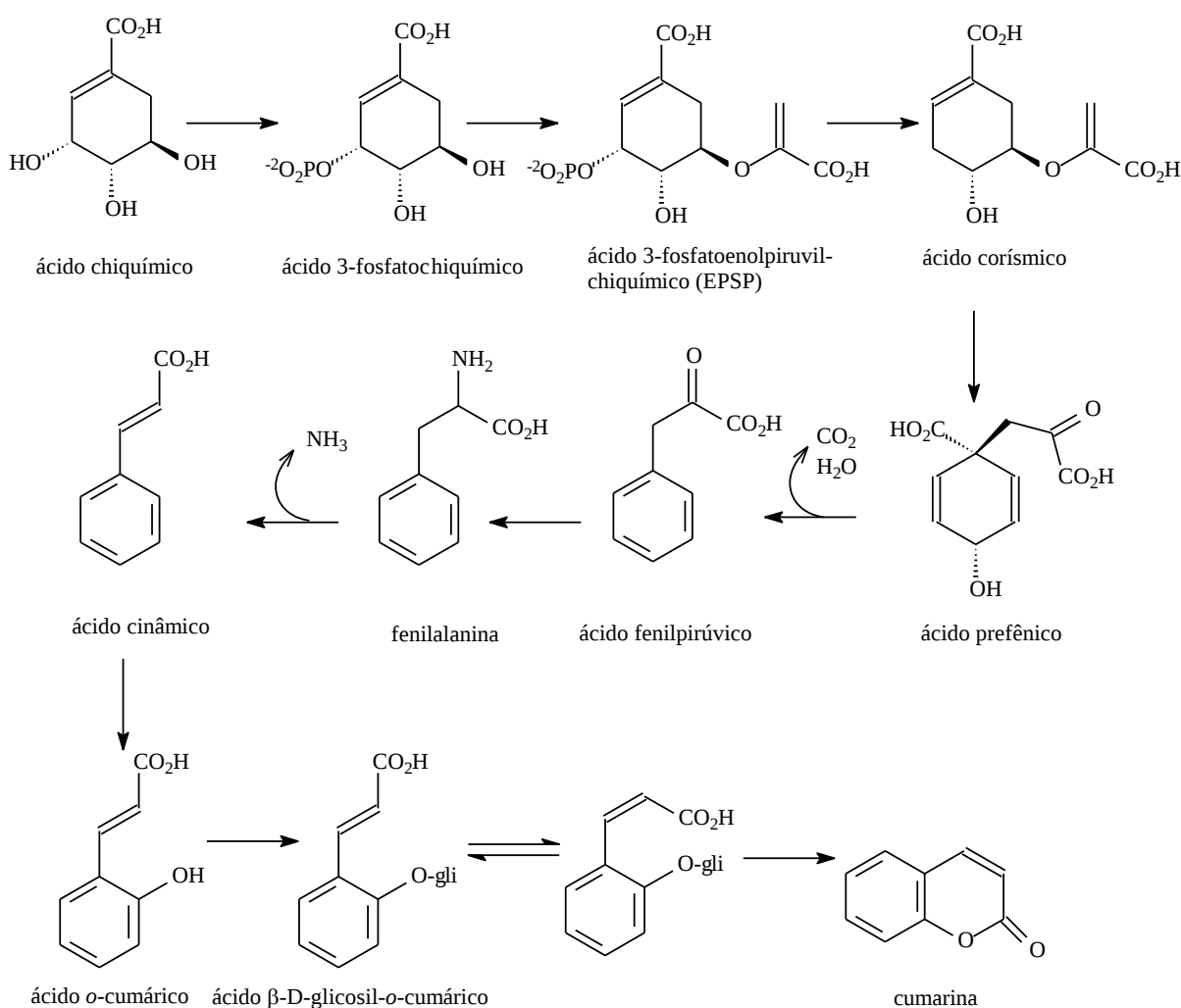


Figura 7 - Biossíntese da cumarina (25).

3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade

É de fundamental importância o conhecimento sobre quais fatores podem influenciar na composição química da espécie vegetal. A produção e, conseqüentemente, a proporção dos metabólitos secundários podem variar com alterações sazonais e circadianas, além de dependerem também da idade e do desenvolvimento da planta (25). Em muitas espécies de uso medicinal, também tem sido constatado certa plasticidade fisiológica e anatômica, em função das condições ambientais de cultivo (57).

Há uma relação importante entre intensidade da luz e produção de metabólitos secundários. O teor de cumarina, especialmente, pode apresentar alterações significativas com relação às variações de luminosidade tendo, muitas vezes, maior produção em pleno sol (25). Outro estudo, realizado por Medeiros (2006), avaliou a variação sazonal quantitativa e qualitativa da cumarina presente na espécie *M. glomerata*, e constatou que os fatores climáticos não influenciaram, de forma significativa, a biossíntese de cumarina. Isso porque, não foi observada variação sazonal no rendimento da mesma ao longo do ano (21). Importantes variações de cumarina também podem ser encontradas dependendo do órgão da planta. Para a espécie *M. glomerata*, os maiores teores deste metabólito são observados em folhas jovens, seguidos por flores, caules e raízes (25).

Em trabalho que avaliou as variações estruturais foliares de *Mikania glomerata* cultivada em diferentes condições de luminosidade (100%, 26,4% e 13,8% de intensidade luminosa), foi constatado que os maiores valores médios de área e massa fresca foliar ocorreram no tratamento sombra (13,8% de luminosidade) (61). Outro estudo que também avaliou aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco (*M. glomerata*) submetidas a fotoperíodos de 8, 12, 16 e 20 horas, constatou que, após 90 dias de tratamento, os teores de clorofila foram maiores nos fotoperíodos de 8 e 12 horas nas regiões superior e mediana da planta, e menores no fotoperíodo de 8 horas na região basal. A espessura da epiderme adaxial nas regiões mediana e basal da planta aumentou até o fotoperíodo de 16 horas e, quanto ao parênquima esponjoso nestas regiões houve aumento progressivo até o fotoperíodo de 20 horas (62).

A adaptação de espécies vegetais às mudanças ambientais pode resultar em eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, desde o anatômico, celular, bioquímico, até o molecular. Diante desse fato, é de extrema importância a execução de pesquisas de bio-monitoramento, considerando as alterações anatômicas, químicas e fisiológicas em vegetais de interesse medicinal, sob diferentes condições de crescimento (57).

3.2 DERIVADO VEGETAL

Não existe, nas farmacopeias oficiais, monografia para derivados da espécie *M. glomerata*. Diante disso, devem ser empregados os métodos gerais descritos e estabelecidos para droga vegetal, disponíveis na Farmacopeia Brasileira. Podem ser empregados ainda, os métodos e especificações existentes na literatura científica.

3.2.1 Descrição

A parte de *M. glomerata* mais utilizada são as folhas (8, 63, 64), entretanto, também são encontrados estudos realizados com partes do caule e da raiz da planta (33). O derivado mais utilizado é o extrato hidroalcoólico (65-68). Contudo, estudos têm sido realizados com vários solventes e diversos métodos de extração.

3.2.2 Método de obtenção

A obtenção de derivados hidroalcoólicos de *M. glomerata*, na maioria dos estudos, foi realizada por meio de maceração ativa, durante 24 horas (33, 56), utilizando, usualmente, 200 g de planta seca para 1000 mL de diferentes concentrações água:etanol (24, 69, 70). Outro método bastante citado é a percolação exaustiva com etanol (15, 38, 71).

O derivado aquoso de *M. glomerata* também é bastante utilizado. Soares de Moura e colaboradores (2002) obtiveram o extrato aquoso da planta por meio de infusão, utilizando 15 g de folhas da planta para 100 mL de água destilada (8). Em outro estudo que avaliou os efeitos genotóxicos e antiproliferativos de *M. glomerata*, as folhas da espécie foram secas e submetidas a infusão, durante 10 minutos. As infusões foram preparadas em duas concentrações: 4 g/L e 16 g/L (72).

Vilegas e colaboradores (1997) avaliaram cinco métodos para a extração de compostos de baixa polaridade de folhas de *M. glomerata*. Foram comparados: maceração convencional, maceração com ultrassom, Soxhlet e extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando hexano (SFE-hexano) ou dióxido de carbono (SFE-CO₂) como fluido de extração. A avaliação destes métodos pela correlação entre o rendimento e tempo de extração, mostrou que SFE-hexano foi o método mais eficiente. O SFE-CO₂ apresentou um rendimento mais baixo, porém significativamente mais elevado do que os métodos convencionais (maceração e

Soxhlet). SFE-hexano e maceração apresentaram o maior rendimento de cumarina, enquanto maceração sob sonicação forneceu o maior rendimento de ácido caurenóico (73).

Em outro estudo que avaliou diferentes métodos extrativos, Celeghini e colaboradores (2001) compararam os seguintes procedimentos: 1) maceração: utilizando 1 g de folhas para 10 mL solução extrativa (etanol:água), durante 7 dias; 2) maceração sob sonificação: 1g folhas para 10 mL solução hidroalcoólica, durante 30 minutos; 3) infusão: 1 g folhas para 10 mL água; 4) Extração em fluído supercrítico. O estudo apresentou como melhor escolha a maceração sob sonicação, principalmente quando considerada a relação tempo/rendimento (10).

3.2.3 Caracteres organolépticos

Na literatura pesquisada, apenas um estudo descreveu a avaliação de características organolépticas de amostras de soluções hidroalcoólicas (tinturas) adquiridas em farmácias de manipulação de Belo Horizonte. Os resultados encontrados mostraram que as 3 amostras de tinturas analisadas exibiram odor aromático próprio, mas apresentaram cores e aspectos diferentes (26).

3.2.4 Requisitos de pureza

3.2.4.1 Perfil de contaminantes comuns

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.2.4.2 Microbiológico

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.2.4.3 Teor de umidade

Foram encontrados dois estudos que avaliaram o teor de umidade em extratos hidroalcoólicos, posteriormente liofilizados, de *M. glomerata*. Braz e colaboradores (2012),

em estudo para avaliar a qualidade de espécies vegetais comumente encontradas no mercado brasileiro, avaliaram o teor de umidade do extrato seco de *M. glomerata* por meio do método gravimétrico (dessecação), descrito, inclusive, na farmacopeia brasileira (74). No segundo trabalho encontrado, a metodologia utilizada para a avaliação do teor de umidade, também em extrato seco, foi a utilização de um determinador de umidade com fonte de calor infravermelho durante o processo (63).

3.2.4.4 Metal pesado

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.2.4.5 Resíduos químicos

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.2.5 Testes físico-químicos

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.2.6 Prospecção fitoquímica

A avaliação da constituição química dos derivados vegetais da espécie *M. glomerata* deve ser realizada através de metodologias específicas como CCD e CLAE (26, 38).

Lanças e colaboradores (1997), ao obter um derivado hidroalcoólico em extrator com fluido supercrítico, analisaram, qualitativamente, sua composição química. Todos os extratos brutos obtidos por SFE tiveram que ser analisados por CCD, devido à alta concentração de clorofila presente nestes extratos, o que inviabilizou a análise por CLAE. A realização de uma etapa de "clean-up" para eliminação de clorofila mostrou-se inviável devido à perda no teor do marcador (64).

A identificação dos constituintes voláteis dos óleos essenciais derivados da espécie *M. glomerata* foi realizada por Duarte e colaboradores (2007), por meio de cromatografia em fase gasosa (CG) e espectrometria de massa (CG-EM). Foi utilizado um cromatógrafo de gás, equipado com um detector seletivo de massa. Os componentes presentes no óleo essencial foram identificados por comparação com os dados da literatura e por co-injeção de padrões autênticos, quando disponível (28).

3.2.7 Testes de identificação

A identificação de cumarina em derivados vegetais de *M. glomerata*, na maioria dos trabalhos, foi realizada por CLAE (21, 26, 75), seguida da metodologia por CCD (35, 70). Alguns trabalhos mostram a utilização de cromatografia gasosa para a identificação do marcador da espécie, sendo a grande maioria para derivados diclorometanólicos e clorofórmicos (20, 73, 76).

3.2.8 Testes de quantificação

Segundo a Farmacopeia Brasileira, a quantificação de cumarina deve ser realizada por CLAE (46). A maioria dos trabalhos encontrados reforça o que é preconizado pela Farmacopeia (38, 63, 75). Medeiros e Kanis (2010) utilizaram uma mistura de acetonitrila e água (40:60 v/v) como a fase móvel, o fluxo foi de 1,0 mL/min, temperatura de 40 °C, detecção em 274 nm, coluna Supelcosil LC18, 15 cm x 4,6 mm, 5 µm, e o volume injetado foi de 20 µL (75). Outro trabalho, desenvolvido por Alvarenga e colaboradores (2010), utilizou a coluna LiChrocart-LiChrospher 100 RP-18, a 40 °C, fluxo de 0,5 mL/min, detecção UV 275 nm e, como fase móvel, uma solução de água e metanol (53:47), com eluição isocrática (26).

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

Entre os componentes químicos descritos para os derivados vegetais de *M. glomerata* estão os compostos cumarínicos, triterpenos/esteróides e heterosídeos flavônicos (29, 77), além dos componentes voláteis como os óleos essenciais (5).

Em estudo que avaliou a composição química de óleos essenciais derivados da espécie, muitos componentes voláteis foram identificados, entre eles: limoneno, elemeno, copaeno, humeleno, elemol, biciclogermacreno, espatulenol (5).

O metabólito secundário majoritário descrito para a espécie é a cumarina (25, 38, 56). Além de conferir o odor fragrante e aromático da espécie, é a principal substância responsável pelas ações farmacológicas da planta (25). Outro metabólito secundário que, juntamente com a cumarina, destaca-se por suas ações farmacológicas tais como anti-inflamatória e expectorante, é o ácido caurenóico. Esse metabólito parece possuir ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, além da atividade antifúngica, inibindo o crescimento de *Candida albicans* (13).

3.3 PRODUTO FINAL

O Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, 1ª edição, apresenta algumas informações sobre produtos farmacêuticos derivados da espécie *Mikania glomerata*. A fórmula e as orientações de preparo da solução extemporânea, xarope e tintura estão descritos no documento oficial (78).

Não há monografias nas farmacopeias oficiais sobre formas farmacêuticas contendo *M. glomerata* e nem a descrição de testes específicos de controle de qualidade para produtos finais contendo essa droga vegetal. Diante disso, devem ser realizados os testes gerais para produtos finais constantes nas farmacopeias oficiais e, também, aqueles descritos em literatura científica.

3.3.1 Forma farmacêutica

Apesar da atividade farmacológica da espécie *Mikania glomerata* ser conhecida desde longa data, existem poucos estudos visando preparar produtos padronizados que garantam produção uniforme, doses eficazes e estabilidade (56). Os estudos disponíveis indicam que a principal forma farmacêutica utilizada, contendo derivado da droga vegetal, é o xarope (14, 19, 40, 56). Em menor proporção, também foram encontrados trabalhos que citam a preparação de soluções antissépticas contendo derivados de *M. glomerata*, além de alguns testes de controle da qualidade das mesmas (14, 71).

Um estudo foi realizado com o objetivo de otimizar o processo extrativo, o tratamento da droga vegetal para o preparo de tinturas, a determinação da melhor forma de estocagem e, por fim, otimização da preparação da forma farmacêutica (xarope) (56). Os resultados encontrados levaram os autores à conclusão de que, para se obter um produto final de qualidade, com maior teor de princípio ativo, a planta *Mikania glomerata* fresca deve ser secada em estufa com circulação de ar à 40 °C por 48 horas. Após a secagem, a mesma deve ser transformada imediatamente em tintura utilizando-se para sua extração uma mistura hidroalcoólica a 70%. O xarope de guaco deve ser preparado pela adição da tintura ao xarope simples a quente. A preparação da forma farmacêutica final mostrou que, apesar de a cumarina ser uma substância volátil, houve elevação de seu teor quando o processo envolveu manipulações que permitiram a elevação da temperatura da matéria-prima, como secagem da planta em estufa, moagem e preparação do xarope a quente (56).

3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica

Um estudo avaliou a estabilidade de soluções antissépticas e xaropes que continham a droga vegetal, por meio da análise do efeito dos produtos sobre o crescimento de *S. mutans*. Primeiramente, a atividade antibacteriana dos extratos e formulações sobre *S. mutans* ATCC 25175 foi realizada pelo método de difusão em ágar e, posteriormente, pela aplicação desse mesmo procedimento, determinou-se a estabilidade das soluções antissépticas submetidas à temperatura ambiente e sob refrigeração (8°C - 10°C), mensalmente, por um período de três meses. Como resultado, os autores relatam que formulações contendo guaco, com ou sem própolis, foram ativas sobre *S. mutans*, mas podem perder a estabilidade em decorrência da diminuição da temperatura (35).

Outro estudo com objetivo principal de estudar a estabilidade do xarope de guaco produzido na Farmácia Universitária da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais (UFJF), teve, como ponto de referência, a determinação do teor de cumarina nas amostras armazenadas em diferentes temperaturas. A partir dos resultados encontrados, os autores concluíram que a temperatura ótima de armazenamento é de 45 °C, pois assim, ocorre a conversão do isômero *trans* em *cis* com subsequente conversão deste a cumarina (29).

3.3.3 Requisitos de pureza

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.3.4 Resíduos químicos

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.3.5 Prospecção fitoquímica

Informação específica não encontrada na literatura pesquisada. Os testes devem ser realizados conforme descrições contidas na Farmacopeia Brasileira, em seus métodos gerais (50).

3.3.6 Testes de identificação

Em estudo de Souza e colaboradores (2006), o monitoramento da cumarina em formulações contendo extratos de *M. glomerata* foi realizado através de cromatografia em camada delgada. O teste utilizou uma cromatoplaça de alumínio com sílica gel de 17 cm, fase móvel constituída de mistura de hexano e acetona (10:3 v/v) e 100 µL das amostras. Extrato fluido do guaco e solução de cumarina padrão foram empregados para comparar o fator de retenção (R_f) e a concentração dos constituintes cumarínicos, observada durante revelação na lâmpada ultravioleta a 365 nm e na reação com hidróxido de potássio (KOH) 5% (35).

3.3.7 Testes de quantificação

A maioria dos estudos encontrados utilizou CLAE para avaliar a quantificação de metabólitos de *M. glomerata* em formas farmacêuticas (14, 19). Entretanto, outros estudos também citaram a CCD para o monitoramento da cumarina em formulações contendo extrato

de guaco (35), além da utilização de técnicas espectrofotométricas para avaliar o teor da substância (19, 29).

Bueno e Bastos (2009) propuseram uma nova metodologia analítica empregando cromatografia gasosa capilar com padronização interna para quantificação da cumarina (1,2-benzopirona) em xarope contendo *Mikania glomerata*. O procedimento utilizado foi o seguinte: 10,0 g de amostra do xarope e 20,0 mL de acetato de etila contendo 100 µg/mL de piperonal, foram transferidos para um Erlenmeyer de 50,0 mL. O erlenmeyer foi hermeticamente selado e mantido num agitador magnético durante 30 minutos a 40 °C. Depois disso, a amostra foi arrefecida e submetida a centrifugação por três minutos. Uma alíquota do sobrenadante (2,0 mL) foi transferida para um frasco para análise por CG. Como resultado do estudo, o método desenvolvido parece ser adequado para a análise quantitativa rotineira de cumarina em xarope de guaco (40).

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

Em todos os trabalhos encontrados que se referiam às formas farmacêuticas derivadas de *M. glomerata*, foi realizada apenas a identificação e a quantificação de compostos cumarínicos (19, 35, 56). Este fato pode ser explicado pelo fato de que tanto a cumarina quanto seu precursor, o ácido orto-cumárico, parecem fazer parte de um fitocomplexo responsável pelas atividades terapêuticas da espécie (13).

4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA

4.1 USOS POPULARES / TRADICIONAIS

Muitos registros do uso medicinal de *M. glomerata* têm mostrado que a espécie é bastante utilizada no tratamento de doenças respiratórias (22, 30, 37) como bronquite (31, 79), asma (80), gripe (81-83), tosse (25, 37, 83) e resfriados (37). Suas propriedades analgésicas (31), antipiréticas (4), anti-inflamatórias (80), broncodilatadoras (25, 84) e expectorantes (18, 85) parecem ser as responsáveis pelos efeitos terapêuticos.

Alguns estudos, incluindo o realizado na cidade de São João de Polesine, no Estado do Rio Grande do Sul, no Brasil, utilizando o infuso e decocto das folhas de *M. glomerata*, relataram o uso da espécie no combate à enfermidades gastrointestinais (4, 18, 25, 39),

problemas relacionados a visão, além das já citadas doenças respiratórias (16). Há, ainda, relatos de utilização da espécie nos casos de picadas de escorpião (18), além de muitos estudos descreverem uma possível ação antiofídica (30, 31, 39).

Na comunidade de Barra do Jucu, município de Vila Velha, no estado do Espírito Santo, o decocto das partes aéreas da planta é utilizado em casos de epilepsia, derrames e reumatismo (23). Outros estudos, realizados em outras regiões do Brasil, também citam o potencial antireumático de *M. glomerata* (4, 30).

4.2 PRESENÇA NA NOTIFICAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS

A espécie *M. glomerata* está incluída na RDC 10 de 2010, que dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Anvisa, conforme mostrado na Tabela 1 (86).

Ainda, a espécie *M. glomerata* está incluída na IN 02/2014, que dispõe sobre a "Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado" e a "Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado" (Tabela 2) (87).

Tabela 1 - Características da *Mikania glomerata* presentes no anexo da RDC 10/2010 (86).

Nomenclatura Botânica	Nomenclatura Popular	Parte utilizada	Formas de utilização	Posologia e modo de usar	Via	Uso	Alegações	Contra indicações	Efeitos adversos	Informações adicionais em embalagem
<i>Mikania glomerata</i>	Guaco	Folha	Infusão: 3g (1 col sopa) em 150 mL (xic chá).	Utilizar 1 xic chá 3 x ao dia.	Oral	A/I	Gripes e resfriados, bronquites alérgicas e infecciosas, como expectorante.		A utilização pode interferir na coagulação sanguínea. Doses acima da recomendada podem provocar vômitos e diarreia.	Pode interagir com antiinflamatórios não-esteroidais.

g: grama; mL: mililitro; col: colher; xic: xícara; x: vezes; A: adulto; I: infantil.

Tabela 2 - *Mikania glomerata* Spreng na lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado (87).

Nomenclatura Botânica	Nomenclatura Popular	Parte utilizada	Padronização / Marcador	Derivado vegetal	Indicações	Dose diária	Via	Restrição de uso
<i>Mikania glomerata</i> Sprengel	Guaco	Folha	Cumarina	Extrato / Tintura	Expectorante e broncodilatador	0,5 a 5 mg de cumarina	Oral	Venda sem prescrição médica

mg: miligrama

4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

4.3.1.1 Toxicidade aguda

Foram encontrados três estudos de toxicidade pré-clínica aguda na literatura pesquisada (72, 77, 88). Dois destes utilizaram extrato aquoso na realização dos testes (72, 88), enquanto um terceiro utilizou extrato metanólico de *M. glomerata* (77). Esses estudos apontam níveis diferentes de toxicidade para os diferentes extratos da planta.

O estudo que utilizou o extrato metanólico da planta, preparado a partir de 50 g da planta seca, macerada em metanol (3 x 200 mL) por cinco dias, avaliou a toxicidade do extrato através da realização do teste com *Artemia salina*. O resultado obtido demonstra níveis significativos de toxicidade para o extrato de *M. glomerata*, com DL₅₀ no valor de 63 µg/mL (77).

Um segundo estudo, realizado por Dalla Nora e colaboradores (2010) com o objetivo de avaliar o efeito antiproliferativo e genotóxico de infusões de folhas de *M. glomerata* sobre o ciclo celular da cebola (*Allium cepa*), demonstrou que *M. glomerata*, nas concentrações de 4 g/L e 16 g/L, inibe significativamente a divisão celular. Este resultado indica a capacidade antiproliferativa dos extratos aquosos da planta (72).

A citotoxicidade do extrato aquoso de *M. glomerata* também foi demonstrada por meio de um estudo realizado com a linhagem celular MDBK de rim bovino. A avaliação das alterações morfológicas dessas células e a obtenção da concentração máxima não citotóxica (CMNC) no valor de 500 µg/mL, indicaram toxicidade fraca a moderada da planta (88).

4.3.1.2 Toxicidade subcrônica

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.3.1.3 Toxicidade crônica

Três estudos pré-clínicos de toxicidade crônica, foram encontrados na literatura pesquisada. Em todos os experimentos, foram utilizados extratos hidroalcoólicos preparados com partes aéreas da planta e o efeito desse extrato foi avaliado em vários sistemas de cobaias submetidas a tratamento crônico (67, 68, 89).

No primeiro estudo, ratos Wistar machos, com trinta dias de idade, foram divididos aleatoriamente em dois grupos (tratamento e controle) de 20 animais cada. Os ratos do grupo tratamento receberam, uma vez por dia, 1 mL de extrato de *M. glomerata* na dose de 3,3 g/kg de peso corporal, durante 90 dias. Os ratos do grupo controle foram submetidos ao mesmo protocolo, entretanto, receberam apenas 1 mL de água destilada (68).

Durante o período do experimento, os animais foram observados duas vezes ao dia para a detecção de sinais clínicos de toxicidade. Além disso, o peso corporal foi registrado em intervalos semanais e o consumo alimentar foi monitorado. No dia 91, os animais foram sacrificados e, imediatamente após a morte, os animais foram submetidos à laparotomia para a remoção e pesagem de diversos órgãos. Espermatozoides também foram coletados e avaliados, além da análise dos níveis de testosterona (68).

Como resultado, os autores não observaram nenhuma alteração significativa das variáveis analisadas e o tratamento não afetou o consumo de ração. Diante desses dados, os autores sugeriram que, na dose utilizada, o extrato hidroalcoólico de *M. glomerata* não apresentou efeito tóxico e nem interferiu com a fertilidade de ratos Wistar, quando submetidos a um tratamento de longa duração (68).

Resultados semelhantes foram obtidos em estudo realizado por Silveira e Sá e colaboradores (2003), no qual foram avaliados os efeitos de altas doses de extrato de *M. glomerata*, administrado durante o ciclo espermatogênico de rator Wistar. Parâmetros muito semelhantes àqueles avaliados no estudo anterior também foram analisados aqui e indicaram que não há atividade antifertilidade ou efeitos tóxicos durante a administração do extrato (89).

O terceiro estudo encontrado na literatura pesquisada fez uma avaliação da fertilidade de cobaias expostas ao extrato de *Mikania glomerata*. Neste estudo, ratos Wistar machos foram tratados com 1 mL de extrato da planta (3,3 g/Kg de peso corporal), durante 52 dias. Esses animais foram acasalados com fêmeas não tratadas em dois momentos do estudo. O primeiro acasalamento ocorreu uma semana antes do início do tratamento com o extrato da planta, enquanto, o segundo, na semana seguinte ao término do tratamento (67). Algumas variáveis foram analisadas após os acasalamentos, como o número de: embriões implantados; reabsorções e corpos lúteos; índices de acasalamento; gestações; perda de pré-implantações; filhotes nascidos vivos e de animais desmamados (67).

Após a análise dessas variáveis, os autores concluíram que a administração de *M. glomerata* não interferiu na fertilidade dos animais testados. Além disso, não foram observadas alterações significativas das variáveis analisadas, o que sugere a ausência de efeito mutagênico da planta em ratos Wistar (67).

Estudos que avaliam os efeitos do extrato de plantas sobre o sistema reprodutor de cobaias pode ser justificado, diante do fato de que, plantas medicinais podem apresentar, em sua constituição, alguns compostos capazes de causar muitos efeitos adversos ao organismo. Compostos como a cumarina e os flavonoides são substâncias encontradas em muitas espécies vegetais, cuja interferência na fertilidade de ratas e cadelas, respectivamente, já foi evidenciada em estudos prévios (68). *Mikania glomerata* Spreng é uma planta muito utilizada popularmente no tratamento de doenças respiratórias e, em suas folhas, foi detectada a presença de cumarina e flavonoides (25, 38). Diante desse fato, estudos que avaliam os efeitos da mesma sobre o sistema reprodutor são de grande relevância (67, 68, 89).

4.3.1.4 Genotoxicidade

Na literatura pesquisada, foram encontrados três estudos que avaliaram a genotoxicidade de extratos da espécie *M. glomerata*. Em estudo realizado por Dalla Nora e colaboradores (2010), que avaliou o efeito genotóxico de infusões de folhas de *M. glomerata*, sobre o ciclo celular da cebola (*Allium cepa*), concentrações de 4 g/L e 16 g/L do extrato da planta foram testadas e os resultados demonstraram causar aberrações cromossômicas importantes nas células de *A. cepa* (72).

A capacidade de extratos de *M. glomerata* induzirem danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA) também foi avaliada, *in vitro*, em células de hepatoma HTC, através da realização de ensaio cometa e teste de micronúcleos. Neste estudo, foram preparados dois extratos diferentes da planta, um obtido por infusão (MI) e outro por maceração em etanol 80% (MM80). Os resultados obtidos demonstraram que a espécie pode causar genotoxicidade e, além disso, pode-se perceber que os danos ao DNA foram mais acentuados quando doses mais altas dos extratos foram utilizadas (6).

Por fim, resultados diferentes dos citados anteriormente foram obtidos em estudo realizado por Soares de Moura e colaboradores (2002), onde foi avaliado o potencial genotóxico de uma fração diclorometano (MG1), obtida de um extrato hidroalcoólico de *M. glomerata*. O teste foi realizado com a utilização de um plasmídeo DNA pUC 9.1, utilizando um procedimento de lise alcalina. O resultado obtido mostrou que a fração MG1, em todas as concentrações testadas (1, 10 e 90 µg/mL), não apresentou qualquer tipo de dano sobre o DNA (8).

4.3.1.5 Sensibilização dérmica

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.3.1.6 Irritação cutânea

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.3.1.7 Irritação ocular

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

A falta de estudos de avaliação dérmica, como os três itens anteriores, pode ser justificada pela pequena utilização tópica de *M. glomerata*. Conforme a literatura pesquisada, não há estudos com a utilização de formulações tópicas.

4.3.2 Estudos farmacológicos

4.3.2.1 Ensaios *in vitro*

A maioria dos estudos com extratos de *Mikania glomerata*, foram realizados na área de farmacologia pré-clínica, onde os trabalhos com experimentos *in vitro* foram os mais encontrados na literatura pesquisada.

Foram encontrados 18 trabalhos avaliando diferentes atividades, de variados extratos obtidos da planta, como: atividade antiofídica (33, 90), potencial inibição da monoamina oxidase (MAO) (91), além da atividade antimicrobiana (5, 71, 77, 92, 93).

A atividade antiofídica foi avaliada em dois estudos encontrados. Um deles avaliou a atividade antiofídica de *M. glomerata* frente ao veneno de *Lachesis muta*. O extrato aquoso da planta foi submetido a alguns ensaios utilizando concentrações diferentes do veneno. Um deles determinou a atividade da fosfolipase A2, utilizando teste de hemólise indireta com eritrócitos humanos e da emulsão de gema de ovo de galinha como substrato. A atividade de coagulação também foi avaliada a partir de amostras normais de plasma humano de voluntários saudáveis. Por fim, a atividade proteolítica também foi determinada, utilizando azocaseína como substrato, na presença ou na ausência de extratos de plantas (90).

Os resultados obtidos em todos os testes frente ao veneno de *L. muta* mostraram que o extrato de *M. glomerata* não foi capaz de inibir por completo qualquer atividade (90).

Resultados diferentes foram obtidos frente a venenos de outras espécies, como *Bothrops* e *Crotalus durissus terrificus*. Em experimento realizado por Maiorano e

colaboradores (2005), que utilizou extratos aquosos de diferentes partes da planta (folhas, caules e raízes), a atividade fosfolipase A2 foi inibida em torno de 100% para o veneno de *Crotalus durissus terrificus*. Além disso, a atividade de coagulação induzida pelo veneno de *Bothrops jararacussu*, *Bothrops neuwiedi* e *Bothrops moojeni*, foi inibida pelos diferentes extratos obtidos a partir de *Mikania glomerata* (33).

Outro estudo avaliou o potencial de inibição da monoamino oxidase (MAO-A e MAO-B), por extratos de diferentes polaridades, obtidos a partir de folhas da planta. Os extratos hexânico, diclorometânico e metanólico foram testados a partir de uma suspensão de mitocôndrias e os resultados encontrados indicam que, os extratos hexânico e diclorometânico foram ativos frente a MAO-B, sem apresentar atividade de inibição da MAO-A. Por outro lado, o extrato metanólico apresentou atividade de inibição da MAO-A e MAO-B, sem seletividade (91).

A maior parte dos estudos *in vitro*, relacionados à *M. glomerata*, testaram a atividade antimicrobiana da planta. Muitos avaliam seu efeito frente a diversas bactérias como, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, entre outras (24, 71, 77, 94). Foram encontrados também, estudos que avaliaram a atividade antiviral (88), antiprotozoária (9, 17), antifúngica (5, 65, 92) e nematicida (70) de diferentes soluções extrativas da espécie.

Os estudos realizados com bactérias apontam para a existência de algum grau de atividade tanto contra bactérias gram-positivas, como para gram-negativas (92). Atividades importantes contra cepas do gênero *Streptococcus* (24, 65), *Staphylococcus aureus* multirresistente (91), *Escherichia coli* (28) e *Klebsiella pneumoniae* (77) foram encontradas. Um dos trabalhos concluiu que, dos extratos e frações que apresentaram atividades de inibição notáveis contra cepas de *Streptococcus mutans*, as frações de hexano foram as mais potentes. Esta constatação sugere que a maioria dos compostos farmacologicamente ativos possuem características não-polares (24).

Em contrapartida, um estudo realizado por Pereira (2006), ao avaliar a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de *M. glomerata*, obteve um resultado negativo. A ausência de atividade frente a quatro bactérias testadas (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) foi constatada por visualização da não ocorrência de halos de inibição de crescimento (94).

Outro trabalho realizou um estudo avaliando o potencial de sinergismo na utilização concomitante de plantas medicinais e conhecidos fármacos antimicrobianos. O extrato hidroalcoólico de *M. glomerata* foi testado, juntamente com os fármacos, frente a 32 cepas de *S. aureus*, que foram isoladas de amostras clínicas de recém-nascidos, internados na Unidade Neonatal do Hospital da Faculdade de Medicina, Botucatu, SP, Brasil. Este estudo avaliou ainda a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos. Como resultado, *M. glomerata* apresentou sinergismo antimicrobiano com os seguintes fármacos: tetraciclina, cloranfenicol, netilmicina, gentamicina, vancomicina, penicilina, cefalotina. Além disso, apresentou CIM de 3,80 mg/mL (93).

A atividade antimicrobiana foi testada, também, em produtos acabados contendo *Mikania glomerata* em sua formulação. Pinheiro e colaboradores (2012) realizaram um estudo avaliando as atividades bacteriostática e bactericida de tinturas de *Mikania glomerata* sobre bactérias responsáveis pela cárie dentária e comparou às da clorexidina. A tintura hidroalcoólica de *Mikania glomerata* foi obtida na concentração de 20% (200 mg/mL), em farmácia de manipulação, na cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil, e a CIM foi determinada pela técnica da microdiluição. O resultado encontrado no estudo, foi de que a tintura de guaco, apesar de apresentar atividade antimicrobiana, ainda foi considerada inferior à clorexidina (95).

O efeito de formulações (soluções antissépticas e xaropes) contendo extratos de *M. glomerata*, sobre o crescimento de *Streptococcus mutans* foi avaliado em estudo realizado por Souza e colaboradores (2006). No mesmo estudo, as soluções antissépticas também foram avaliadas quanto à estabilidade em temperatura ambiente e sob refrigeração (8 °C a 10 °C), mensalmente, por um período de três meses, tendo como parâmetro a inibição do crescimento bacteriano (35).

As soluções antissépticas testadas inibiram o crescimento do microrganismo. A inibição foi mais eficiente na utilização da maior concentração testada (20%), observando-se ainda que a atividade foi potencializada na presença de extrato de própolis. Quanto ao teste de estabilidade, pode-se perceber que no primeiro mês, com exceção da solução anti-séptica na menor concentração do extrato (5%), todas as demais inibiram o crescimento de *S. mutans*. Já, no segundo mês, somente aquelas que continham, além do extrato da planta, o própolis, inibiram o crescimento da bactéria (35).

Estes achados corroboram não apenas com a ocorrência de um possível sinergismo entre o extrato de *M. glomerata* e o própolis, mas sugerem também, uma participação relevante deste último no efeito antibacteriano. Outro ponto do estudo a ser considerado é a

influência das condições ambientais sobre a estabilidade dos extratos. Temperaturas mais frias parecem diminuir a eficácia antimicrobiana das formulações estudadas, enquanto que a estocagem a temperaturas próximas a ambiente favorecem a atividade após três meses de observação (35).

A atividade antifúngica foi testada em três trabalhos e todos utilizaram cepas de diferentes espécies de *Candida* (5, 65, 92). Os resultados encontrados mostraram que o extrato hidroalcoólico possui potencial atividade antifúngica frente às espécies *C. krusei* e *C. tropicalis* (92). A atividade frente à espécie *C. albicans* foi testada com extratos hidroalcoólicos, etanólicos e com o óleo essencial da planta, sendo apenas o óleo fortemente ativo frente a essa espécie (5).

Um estudo avaliou ainda a atividade antiviral de derivados da planta, entretanto *M. glomerata* apresentou fraca atividade antiviral, frente ao herpesvírus bovino e suíno (88). Outra atividade relatada foi a nematicida que, em estudo realizado em placas de vidro transparentes, contendo 20 nematóides, expostos a concentrações diferentes do extrato da planta, foi avaliada com um estereomicroscópio após os tempos de exposições de 12 e 24 horas. Como resultado, foi avaliada a taxa de nematóides imóveis e, diante do que foi encontrado, a espécie *M. glomerata*, parece apresentar significativa ação nematicida (70).

Por fim, dois estudos avaliaram a atividade antiprotozoária de derivados da planta, frente a diferentes protozoários. Em estudo realizado por Luize e colaboradores (2005), o extrato hidroalcoólico da espécie *M. glomerata* foi avaliado quanto a sua ação antiprotozoária, frente à *Leishmania amazonensis* e ao *Trypanosoma cruzi* e, como resultado do estudo, pode-se concluir que a espécie apresenta efeito significativo contra ambos parasitas, com uma porcentagem de inibição de crescimento de 49,5% para *T. cruzi* e 97,5% para *L. amazonensis* (17).

O outro trabalho que avaliou a atividade antiprotozoária do extrato hidroalcoólico de *M. glomerata*, utilizou a espécie *Herpetomas samuelpeessoai* em seus testes e não obteve bons resultados. Após incubação de 72 horas, a 28 °C, do protozoário juntamente com o extrato da planta (1000 µg/ mL), o crescimento celular foi estimado e pode-se perceber que não ocorreu inibição. Assim, conclui-se que o extrato hidroalcoólico da planta não apresentou atividade frente a esta linhagem de *H. samuelpeessoai* (9).

Tabela 3 - Estudos pré-clínicos, *in vitro*, de atividade farmacológica da espécie *Mikania glomerata*.

Parte da planta	Extrato	Padronização do extrato	Concentração do extrato utilizada	Metodologia	Resultado	Referência
Atividade Antiofídica						
Folhas	Aquoso	Não informado	Foram utilizadas diferentes proporções da mistura veneno + extrato.	Foram realizados os testes de Inibição da atividade da Fosfolipase A2, da atividade coagulante e atividade proteolítica.	O extrato de <i>M. glomerata</i> não foi capaz de inibir completamente qualquer atividade.	(90)
Folhas, caules e raízes	Aquoso	Não informado	Foram utilizadas diferentes proporções da mistura veneno + extrato.	Foram realizados os testes de Inibição da atividade da Fosfolipase A2 e da atividade coagulante.	A atividade fosfolipase A2 foi inibida em torno de 100% para o veneno de <i>Crotalus durissus terrificus</i> . A atividade de coagulação induzida pelo veneno de <i>Bothrops jararacussu</i> , <i>Bothrops neuwiedi</i> e <i>Bothrops moojeni</i> , foi inibida pelos diferentes extratos da planta.	(33)
Atividade IMAO						
Folhas	3 diferentes extratos: hexânico, diclorometanólico e metanólico.	Não informado	Hexânico: 1.10^{-2} mg/mL Diclorometanólico: $1,5.10^{-2}$ mg/mL Metanólico: 1.10^{-1} mg/mL	A atividade foi medida utilizando uma suspensão de mitocôndrias e o substrato da reação utilizado foi a kinuramina. A formação do produto hidroxiquinolina foi monitorada a 314 nm.	Os extratos hexânico e diclorometânico foram ativos frente a MAO-B, sem apresentar atividade de inibição da MAO-A, enquanto o extrato metanólico apresentou atividade de inibição da MAO-A e MAO-B, sem seletividade.	(91)
Atividade Antimicrobiana						
Folhas	Extrato hidroalcoólico.	Não informado	Foram utilizadas variadas concentrações do extrato.	Foram realizadas diferentes metodologias: Método de disco, onde as zonas de inibição foram registradas em milímetros; ensaios de sinergismo entre os extratos da planta e drogas antimicrobianas e foi avaliada também, a concentração inibitória mínima (CIM). Foram utilizadas trinta e duas cepas de <i>S. aureus</i> nos testes.	<i>M. glomerata</i> apresentou sinergismo antimicrobiano com as seguintes drogas: tetraciclina, cloranfenicol, netilmicina, gentamicina, vancomicina, penicilina, cefalotina. A CIM (90%) encontrada para a <i>M. glomerata</i> foi de 3.80 mg/mL.	(93)
Folhas	3 diferentes extratos: hexânico, diclorometânico e metanólico.	Não informado.	Discos contendo 100 µL dos 3 extratos foram preparados.	Os discos com 100 µL dos extratos brutos foram inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura já semeado com a bactéria <i>S. aureus</i> multirresistente.	A espécie <i>Mikania glomerata</i> apresentou substâncias ativas frente ao crescimento da cepa multirresistente de <i>S. aureus</i> .	(91)
Folhas	Extrato metanólico	Não informado	Para o Teste de Difusão em ágar o extrato foi	Foi realizada a técnica de difusão em ágar, frente a 7 cepas bacterianas. A	A espécie <i>M. glomerata</i> parece possuir ação contra: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> ,	(77)

			dissolvido em DMSO estéril a uma concentração de 100 mg/mL. Enquanto que, para o ensaio de diluição em série (CIM), foram utilizadas diluições variadas.	ocorrência de halos foi avaliada e o diâmetro dos mesmos foi registrado. Ensaio para a determinação da CIM também foram realizados.	Klebsiella pneumoniae e Bacillus cereus.	
Folhas	Extrato hidroalcoólico	Não informado	10 mg/ mL	Foi realizada a técnica de difusão em ágar, frente a 4 cepas bacterianas. A ocorrência de halos foi avaliada e o diâmetro dos mesmos foi registrado.	A espécie <i>M. glomerata</i> apresentou ausência de atividade antibacteriana frente as 4 bactérias testadas. Não ocorreu a formação de halo de inibição.	(94)
Folhas	Extrato etanólico e frações hexânicas e de acetato de etila.	Não informado	Diferentes concentrações dos extratos e das frações foram utilizadas.	Ensaio para a determinação da CIM e CBM foram realizados frente a vários isolados de <i>Streptococcus</i> .	Os extratos e frações apresentaram atividades de inibição notáveis contra <i>Streptococcus mutans</i> , especialmente as frações de hexano. Esta constatação sugere que a maioria dos compostos farmacologicamente ativos possuem características não-polares.	(24)
Folhas	Óleo essencial.	Não informado	Diferentes concentrações do óleo essencial foram utilizadas.	Ensaio de CIM foram realizados através de microdiluição, frente a 13 sorotipos diferentes de <i>E. coli</i> .	<i>M. glomerata</i> apresentou fraca inibição para os 13 sorotipos diferentes de <i>E. coli</i> , apresentando, em todos os testes, MIC acima de 1000 µg/mL.	(28)
Folhas	O extrato hidroalcoólico de <i>M. glomerata</i> foi incorporado nas formulações-base de xarope e de solução anti-séptica bucal.	Não informado	Concentrações de 5, 10 e 20% do extrato da planta foram adicionados a formulações bases de xarope e soluções antisépticas bucais, com ou sem a presença de própolis.	Foi utilizado o método de difusão em ágar, frente a cepa de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175). A zona de inibição foi medida e avaliada.	Os resultados mostram que formulações contendo guaco, com ou sem própolis, foram ativas sobre <i>S. mutans</i> , entretanto, aquelas que apresentavam própolis em sua composição, tiveram potência maior. Ocorreu perda de estabilidade em decorrência de mudanças de temperatura.	(35)
Não informado.	Tintura hidroalcoólica obtida em farmácia de manipulação de João Pessoa, Paraíba, Brasil.	Não informado	Concentrações da planta que variaram de 0,78 a 100 mg/mL.	Foram determinadas as CIM e CBM dos das tinturas frente as linhagens bacterianas padronizadas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) e <i>Streptococcus oralis</i> (ATCC 10557).	A tintura utilizada apresentou atividade antimicrobiana, entretanto foi inferior a da Clorexidina.	(95)
Folhas	Extrato hidroalcoólico	Não informado	Foram utilizadas diferentes	As concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos extratos foram	<i>M. glomerata</i> apresentou algum grau de atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas.	(92)

			concentrações do extrato.	determinadas por meio das técnicas de microdiluição frente a vários microorganismos (bactérias e leveduras).		
Folhas	Extrato etanólico e óleo essencial	Não informado	Foram utilizadas concentrações que variaram de 2 a 0,03mg/mL.	Ensaios de CIM foram realizados através de microdiluição, utilizando placas de 96 poços. O produto Nistatina (Merck) foi utilizado como controle.	O óleo da <i>M. glomerata</i> possui forte atividade contra <i>Candida albicans</i> (CIM = 0,25 mg/mL). Já, o extrato etanólico, não apresentou atividade.	(5)
Folhas	Extrato hidroalcoólico	Não informado	Foram utilizadas variadas concentrações do extrato.	Foi determinada a CIM através da teste de microdiluição. Diversas cepas de bactérias e uma cepa de <i>C. albicans</i> foram utilizadas nos testes.	<i>M. glomerata</i> apresentou apresentou MIC até 0,5 mg/ mL (0,1 mg/mL) apenas para a cepa de <i>Streptococcus faecium</i> . O que representa forte atividade contra o microorganismo.	(65)
Não informado	Extrato aquoso	Não informado	Foram utilizadas diferentes concentrações do extrato.	Foi determinado o Índice de Inibição Viral frente ao herpesvírus bovino e suíno.	<i>M. glomerata</i> apresentou fraca atividade antiviral.	(88)
Folhas	Extrato hidroalcoólico	Não informado	100ug/mL	Realizou-se incubação de 72 horas, a 28°C, do protozoário (<i>Herpetomas samuelpessoai</i>) juntamente com o extrato da planta (1000 ug/mL) e o crescimento celular foi estimado.	Não ocorreu inibição no crescimento celular do protozoário.	(9)
Folhas	Extrato hidroalcoólico	Não informado	Diferentes concentrações foram testadas.	Os ensaios anti-protozoários foram realizados a partir da incubação, durante 96 horas, a 28°C, dos parasitas (1.10^6 / mL), mais 1,0 mL do extrato da planta diluído (100 ug/mL). O crescimento celular foi determinado pela contagem dos parasitas.	A espécie apresentou efeito significativo contra ambos parasitas, com a porcentagem de inibição de crescimento de 49,5 para <i>T. cruzi</i> e 97,5% para <i>L. amazonensis</i> .	(17)
Folhas	Extrato etanólico	Não informado	Foram utilizadas diferentes concentrações do extrato.	A ação nematocida foi avaliada através da taxa de nematóides mortos (não móveis), após incubação de 12 e 24 hs com o extrato da planta	A espécie <i>M. glomerata</i> apresentou significativa ação nematocida.	(70)

4.3.2.2 Ensaaios in vivo

Foram encontrados dez estudos na área de farmacologia pré-clínica, *in vivo*, relacionados à espécie *M. glomerata*. Nesses estudos, foram testadas as atividades antitussígena e expectorante (96, 97), antiofídica (33, 90, 98), antidiarreica (34), anti-inflamatória (7, 99, 100), analgésica (99), antibacteriana (101) e antialérgica (7).

Na maioria dos estudos avaliados, foram utilizados extratos aquosos das partes aéreas da planta, (33, 34, 99); porém, extratos obtidos de outras partes da planta, como raízes e caules também foram citados (33). Extratos hidroalcoólicos (100), frações etanólicas (7), entre outros derivados da espécie, também foram testados (96, 97).

A atividade antitussígena e expectorante da planta foi analisada em dois trabalhos que apresentaram o mesmo objetivo: avaliar formulações fitoterápicas que continham, como um dos componentes, extrato fluido de *Mikania glomerata* (96, 97).

Em um dos estudos, o produto Melagrião®, cuja formulação apresenta alcoolatura de agrião (*Nasturtium officinale*), extrato fluido de guaco (*Mikania glomerata*), extrato fluido de polígala (*Polygala sp.*), bálsamo de tolú (*Myrospermum erytroxylon*) e acônito, foi testada (96). O estudo utilizou três modelos biológicos diferentes onde foram utilizados ratos Wistar no modelo da secreção das vias aéreas, cobaias no modelo de tosse induzido por ácido cítrico e, na determinação da velocidade de transporte mucociliar, foram utilizadas codornas japonesas. Os animais foram distribuídos em grupos (teste e controles) e tratados, oralmente, com doses da formulação equivalentes a 10 vezes a terapêutica recomendada (96).

Os resultados demonstraram que a formulação foi eficaz no reflexo da tosse, causando uma redução de 27,3%. Entretanto, nos modelos de secreção das vias aéreas e na determinação da velocidade de transporte mucociliar, a formulação não apresentou eficácia significativa (96).

Os mesmos três modelos biológicos utilizados no estudo citado anteriormente, também foram utilizados na avaliação do produto Fimatosam Solução®, cuja formulação compreende: extrato fluido de jucá (*Caesalpineia ferrea*), agrião (*Nasturtium officinale*), guaco (*Mikania glomerata*), cambará (*Lantana camara*), maracujá (*Passiflora alata*), erva silvina (*Polipodium vacciniifolium*) e óleo vermelho (*Myrospermum erytroxylon*). Os resultados demonstraram que o produto reduziu significativamente o reflexo da tosse em cobaias, quando comparado ao controle

negativo. Isso mostra uma potencial atividade antitussígena do fitoterápico. Entretanto, a eficácia expectorante não pode ser comprovada, afinal, não ocorreu aumento da velocidade de transporte mucociliar em codornas tratadas, quando comparado ao grupo controle (97).

Popularmente, a espécie *Mikania glomerata* é, também, muito utilizada como agente anti-inflamatório e analgésico. Foram encontrados três estudos que avaliaram essas possíveis atividades terapêuticas da planta (7, 99, 100).

Um dos estudos avaliou essas potenciais atividades a partir do extrato aquoso das folhas da planta. Primeiramente, foi administrado (via oral) o extrato vegetal de *M. glomerata* ou água (grupo controle). Duas horas após a administração do extrato, foi administrado (via intravenosa), o corante Azul de Evans e o ácido acético. A fim de avaliar a atividade analgésica dos extratos, durante 30 minutos, foi registrado o número de contorções dos animais. Para avaliação da atividade anti-inflamatória, após os 30 minutos, os animais foram sacrificados, a cavidade peritoneal foi aberta e a concentração do corante extravasado foi determinado em espectrofotômetro a 590 nm (99).

O resultado desses experimentos mostrou que o extrato da planta apresenta atividade analgésica (inibiu contrações na taxa de 63,10 %). Para a atividade anti-inflamatória, o resultado não foi tão bom, apresentando uma taxa de inibição de apenas 48,92 % para difusão do corante (99).

Em estudo realizado por Fierro e colaboradores (1999), foi obtida uma fração a partir do extrato etanólico de *M. glomerata*, e esta foi testada frente às possíveis atividades anti-inflamatórias e antialérgicas da espécie. Foram realizados os ensaios de pleurisia alérgica induzida por ovalbumina, histamina, serotonina ou PAF, além do experimento com modelos de inflamação local induzida por aminas biogênicas. Como resultado, o pré-tratamento dos animais (ratos Wistar machos) com a fração, apenas reduziu o edema pleural na dose mais elevada (110 mg /kg). Em contraste, a inibição da infiltração de leucócitos ocorreu precocemente (4 hs) e, também, tardiamente (24 hs) (7).

O terceiro estudo encontrado, que avaliou a atividade anti-inflamatória de derivados da planta *M. glomerata*, foi realizado a partir de extratos hidroalcoólicos de folhas da espécie. Ratos Wistar receberam pré-tratamento com o extrato da planta durante 2 semanas e, no 15º dia, soluções de pó de carvão ou de solução salina (grupo

controle) foram administrados diretamente no pulmão das cobaias, por instilação endotraqueal. Quinze dias após a instilação de pó de carvão, os animais foram mortos e o lavado bronco-alveolar (LBA) foi obtido. Níveis de proteína total, atividade da lactato desidrogenase e contagem de células totais foram variáveis analisadas no LBA e, os resultados obtidos, sugeriram que *M. glomerata* pode se tornar um bom candidato à prevenção de lesão oxidativa do pulmão (100).

Alguns estudos apontam para uma possível atividade antiofídica da espécie. Todos utilizam o extrato aquoso da planta, porém, de partes diferentes da mesma (33, 90, 98). Um dos trabalhos avaliou a atividade hemorrágica e indutora de edema, de extratos das folhas, caules e raízes da planta e, como resultado, foi encontrado que, apenas o extrato obtido a partir das raízes da espécie foi eficiente no combate ao edema induzido pelo veneno de *Crotalus durissus terrificus* (inibição em torno de 40%) (33).

Outro estudo que também avaliou a ocorrência de sinais clínicos e laboratoriais de envenenamento por *Crotalus durissus terrificus*, foi realizado por Floriano e colaboradores (2009). As cobaias do experimento foram divididas em três grupos experimentais: grupo C (controle); grupo VS (veneno + soro/ Vencofarma®); grupo VSM (veneno + soro + extrato *M. glomerata*). Foram realizados exames físicos e laboratoriais nas cobaias, em diferentes momentos após a inoculação do veneno (98).

Algumas alterações clínicas significativas foram encontradas nos grupos VS e VSM, quando comparado ao grupo controle (C), como: diminuição da temperatura; edema no membro onde foi inoculado veneno; sedação e diminuição da locomoção. A recuperação mais rápida da sedação foi observada somente para os animais do grupo VSM, quando comparado com VS. Houve um aumento do número de leucócitos, de neutrófilos e de creatina quinase nos grupos VS e VSM, em relação ao grupo C. Apesar dos resultados obtidos, estudos adicionais são necessários. Diferentes doses, tempo de tratamento, diferentes métodos de administração e estudos histológicos e imunológicos são essenciais para que o mecanismo de ação da *M. glomerata*, frente a este veneno, possa ser esclarecido (98).

Foi avaliada também a atividade antiofídica de *M. glomerata* frente ao veneno de *Lachesis muta*. O experimento quantificou lesões hemorrágicas produzidas na região abdominal de ratos Wistar, por injeção intradérmica do veneno, na ausência e na presença do extrato da planta. O resultado mostrou que o extrato de *M. glomerata* não foi capaz de inibir a atividade hemorrágica causada pelo veneno (90).

Dentre a literatura pesquisada, foi encontrado um estudo de revisão com foco em trabalhos que investigam medicamentos à base de plantas e outros produtos naturais, bem como sua aplicação terapêutica, efeitos colaterais e possíveis interações medicamentosas. A única citação relacionada com a espécie em questão relata que extratos e frações de *M. glomerata* mostram atividade contra *Streptococcus* do grupo *mutans* (101).

Por fim, um estudo testou a atividade antidiarreica do extrato aquoso das folhas de *Mikania glomerata*. Os resultados encontrados mostraram uma diminuição nos movimentos de propulsão do conteúdo intestinal em camundongos albinos. A administração oral produziu inibição do trânsito gastrointestinal de forma tão eficaz como aquela produzida pela loperamida. Esses dados sugerem que o extrato aquoso de *Mikania glomerata* contém substâncias farmacologicamente ativas com propriedades antidiarreicas (34).

Tabela 4 - Estudos pré-clínicos, *in vivo*, de atividade farmacológica da espécie *Mikania glomerata*.

Parte da planta	Extrato	Padronização do extrato	Dose / Posologia	Metodologia	Resultado	Referência
Atividade Antitussígena						
Não informado	Extrato fluido (Formulação Melagrião®)	Não informado	9 mL/Kg	Utilizou três modelos biológicos: secreção das vias aéreas, tosse induzida por ácido cítrico e determinação da velocidade de transporte mucociliar.	Apresentou atividade antitussígena.	(96)
Não informado	Extrato fluido (Formulação Fimatosan®)	Não informado	A dose utilizada foi correspondente a dez vezes a dose terapêutica recomendada pelo fabricante para seres humanos.	Utilizou três modelos biológicos: secreção das vias aéreas, tosse induzida por ácido cítrico e determinação da velocidade de transporte mucociliar.	Apresentou atividade antitussígena.	(97)
Atividade Anti-inflamatória, Antialérgica e Analgésica						
Folhas	Extrato aquoso	Não informado	0,1mL/Kg	Atividade analgésica: número de contorções. Atividade antiinflamatória: difusão do corante Azul de Evans na cavidade peritoneal das cobaias.	Apresentou atividade analgésica (inibiu contrações na taxa de 63,10 %). Já, para a atividade antiinflamatória, o resultado não foi tão bom, apresentando uma taxa de inibição de 48,92 % para difusão de azul de Evans.	(99)
Folhas	Fração obtida do extrato etanólico	Não informado. O artigo, através de testes de controle de qualidade do derivado, constatou que a fração continha 12,9% de cumarina.	Foram utilizadas dosagens que variam de 10-110 mg/Kg.	Foi realizado o ensaio de pleurisia alérgica induzida por ovalbumina, histamina, serotonina ou PAF. Realizou-se também, o experimento com modelos de inflamação local induzida por aminas biogénicas.	O pré-tratamento dos animais com a fração conseguiu reduzir o edema pleural apenas quando foi utilizada a dose mais elevada (110 mg/kg). Em contraste, inibiu a infiltração de leucócitos precocemente (4 hs) e tardiamente (24 hs).	(7)

Folhas	Extrato hidroalcoólico	Não informado	100mg/Kg	Após pré-tratamento com o extrato da planta, as cobaias foram expostas ao pó de carvão. Variáveis como o número total de células e de proteínas, assim como atividade da lactato desidrogenase, foram avaliadas no LBA dos ratos.	O extrato de <i>M. glomerata</i> parece ser um bom candidato para a prevenção de lesão oxidativa do pulmão, quando exposto ao carvão mineral.	(100)
Atividade Antiofídica						
Folhas	Extrato aquoso	Não informado	10mg/Kg	As cobaias foram separadas em 3 grupos: VS (veneno + soro), VSM (veneno+soro+extrato da planta) e C (controle). A ocorrência de sinais clínicos e laboratoriais de envenenamento foi avaliada em diferentes momentos após a inoculação.	Estudos adicionais com diferentes doses, tempo de tratamento, diferentes métodos de administração e estudos histológicos e imunológicos são necessários para entender a ação da <i>M. glomerata</i> frente a este veneno.	(98)
Raízes	Extrato aquoso	Não informado	Não informado	O experimento quantificou lesões hemorrágicas produzidas na região abdominal de ratos Wistar, por injeção intradérmica do veneno, na ausência e na presença do extrato da planta.	O extrato de <i>M. glomerata</i> não foi capaz de inibir a atividade hemorrágica causada pelo veneno.	(90)
Folhas, caules e raízes	Extrato aquoso	Não informado	Veneno + extratos vegetais de diferentes partes da planta, na proporção de 1:50.	Atividade indutora de edema e atividade hemorrágica.	Apenas os extratos obtidos da raiz da planta inibiram (em torno de 40%) o edema induzido pelo veneno de <i>Crotalus</i> .	(33)
Atividade Antibacteriana						
Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Revisão	Extratos e frações de <i>M. glomerata</i> mostram atividade	(101)

					contra <i>Streptococcus</i> do grupo <i>mutans</i> .	
Atividade Antidiarreica						
Folhas	Extrato aquoso	100 mg/mL	500 e 1000 mg/Kg	Camundongos foram divididos em 3 grupos: o teste recebeu os extratos vegetais (500 e 1000 mg /kg), enquanto o grupo controle negativo recebeu solução estéril de NaCl 0,9% e o grupo controle positivo recebeu Loperamida (5 mg/kg). Noventa minutos após a administração dos extratos, foi administrado carvão vegetal, por via oral, para cada animal. A distância percorrida pelo carvão vegetal, no intestino delgado (desde o piloro para o ceco) foi determinada.	A administração oral do extrato produziu inibição do trânsito gastrointestinal de forma eficaz. O extrato aquoso de <i>Mikania glomerata</i> contém substâncias farmacologicamente ativas com propriedades anti-diarréicas.	(34)

4.3.2.3 Ensaaios *ex vivo*

Na literatura pesquisada, foram encontrados apenas dois estudos *ex vivo*. Um deles avaliou a atividade antiespasmódica de diferentes extratos de *M. glomerata* (15), enquanto o outro testou a eficácia broncodilatadora de uma fração diclorometano obtida a partir de soluções extrativas da planta (8).

Para a avaliação da atividade antiespasmódica, foram utilizadas quatro soluções extrativas de folhas da espécie, obtidas a partir de dois métodos extrativos, percolação e refluxo e dois líquidos extratores, etanol a 96% e mistura hidroetanólica (50%) (15). A metodologia utilizada no teste partiu da utilização de fragmentos de tecidos do íleo de porquinhos da Índia e do jejuno de ratos Wistar machos. Esses fragmentos, com aproximadamente 2 centímetros (cm) de comprimento, foram preparados e expostos a solução de Tyrode e o registro das contrações isotônicas foi realizado. Foram registradas curvas concentração-efeito (CCE) cumulativas com acetilcolina (ACh) ou histamina (Hist) na ausência (controle) e na presença de concentrações crescentes dos extratos da planta ou do padrão de cumarina, incubados durante 20 minutos (15).

Como resultado da avaliação da atividade antiespasmódica, as soluções extrativas etanólicas, obtidas por percolação ou por refluxo, foram mais potentes quando comparadas às soluções hidroetanólicas. Entretanto, parece que este efeito antiespasmódico não está relacionado apenas ao conteúdo de cumarina presente nos extratos, visto que a substância de referência não afetou as curvas CCE de ACh e Hist (15).

O segundo estudo encontrado, avaliou a atividade broncodilatadora de extratos e frações obtidas a partir das folhas frescas da planta. Extratos aquosos, hidroalcoólico e frações diclorometano foram testados frente a partes de traquéia e de aorta obtidos de cobaias, além de pequenos segmentos de pulmão humanos, que foram expostos a histamina e acetilcolina, na presença e ausência dos diferentes derivados obtidos da espécie. Os resultados encontrados neste estudo sugerem que os produtos obtidos de folhas de *M. glomerata* podem ter potencial ação benéfica no tratamento de doenças broncoconstritivas (8).

4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

4.4.1 Fase I

Foram encontrados dois estudos clínicos de fase I na literatura pesquisada. Ambos tiveram como objetivo avaliar a segurança clínica de formulações fitoterápicas de xaropes, em combinação com outras espécies medicinais, em pequenos grupos de voluntários saudáveis (102, 103). Porém, até o momento, não há na literatura ensaios clínicos apenas para a espécie *Mikania glomerata*.

No primeiro trabalho encontrado, o fitoterápico Calmatoss®, xarope composto por tinturas de guaco (*Mikania glomerata*), grindélia (*Grindelia robusta*), copaíba (*Copaifera officinalis*), bálsamo de Tolú (*Myroxylon toluifera*), álcoolatura de agrião (*Nasturtium officinale*), própolis e mel, foi avaliado quanto seu potencial de toxicidade em um ensaio clínico, não controlado, realizado com 24 voluntários saudáveis (102).

Os 24 voluntários receberam, ambulatorialmente, doses de 15 mL do xarope, quatro vezes ao dia, durante 21 dias, sem interrupção. Foram realizadas avaliações da função hepática, renal, cardio-respiratória, exames físicos e laboratoriais antes do início do estudo, repetidas após a primeira, segunda e terceira semanas de tratamento e sete dias após o término do estudo (102).

A análise dos exames laboratoriais comparados ao período antes do tratamento não mostrou significância estatística que apontasse toxicidade nos diversos órgãos e sistemas avaliados. Não foram constatados, nem mesmo, efeitos de inibição da coagulação sanguínea, estes que já são bem conhecidos e descritos, causados pelos compostos cumarínicos presentes na espécie *M. glomerata*. Portanto, os autores concluíram que a administração do fitoterápico Calmatoss®, nas doses testadas, mostrou-se segura, em indivíduos saudáveis (102).

Em outro estudo, realizado por Tavares e colaboradores (2006), o fitoterápico Saratosse® (formulação composta da associação de *Mikania glomerata*, *Mentha piperita*, *Eucalyptus globulus* e *Copaifera multijuga*, incorporadas a própolis e mel) foi avaliado quanto à sua segurança clínica. O ensaio foi realizado com 26 voluntários sadios, que receberam quatro doses diárias orais de 15 mL do fitoterápico, durante 28 dias ininterruptos (103).

Foram realizados exames clínicos, físicos, eletrocardiograma e extensa avaliação laboratorial, antes, durante e após a realização do estudo. Os resultados encontrados foram submetidos à Análise de Variância, obtendo-se a menor diferença significativa ($p < 0,05$). O fitoterápico foi bem tolerado pelos voluntários e todos os exames realizados não evidenciaram sinais de toxicidade nos órgãos e sistemas avaliados (103).

Na pesquisa realizada, não foi encontrado nenhum estudo clínico que avaliasse a toxicidade de um produto contendo apenas derivados de *M. glomerata*.

4.4.2 Fase II

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.4.3 Fase III

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.4.4 Fase IV

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.4.5 Estudos observacionais

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO

Diferentes extratos de *M. glomerata* apresentam efeitos terapêuticos no tratamento de doenças do trato respiratório, ocasionando relaxamento da musculatura lisa e a fluidificação dos exsudatos traqueobrônquicos que, dessa maneira, podem ser mais facilmente expulsos pelo reflexo da tosse. Alguns estudos atribuem também à

espécie a ação broncodilatadora, espasmódica, vasodilatadora, antimicrobiana, analgésica, antiinflamatória (sendo empregada em reumatismos e nevralgias), antiulcerogênica, antiofídica, inseticida, moluscicida e antialérgica. Outros autores relatam ainda um eficiente efeito antitérmico e lhe atribuem as propriedades tônica, depurativa, estimulante do apetite, antigripal e como cicatrizante (38, 43, 56, 102, 104).

Em contrapartida aos efeitos benéficos da espécie, alguns estudos também têm verificado a existência de efeitos tóxicos ou indesejáveis, principalmente, quando um componente isolado do extrato é testado. Por exemplo, a cumarina, descrita como o marcador e principal componente dos extratos de *M. glomerata* causou extravasamento de células vermelhas do sangue do tecido pulmonar de cobaias. Este efeito não ocorreu no grupo que utilizou o extrato bruto da planta (105).

De acordo com a IN 02/2014, a *Mikania glomerata* faz parte da lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado (87).

4.5.1 Vias de Administração

Oral (78, 87, 106).

4.5.2 Dose Diária

Segundo a legislação brasileira, a dose diária deve estar entre 0,5 a 5 mg de cumarina (87).

4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)

A dose diária pode ser dividida em três doses (87).

4.5.4 Período de Utilização

Informação não encontrada na literatura pesquisada.

4.5.5 Contra Indicações

Extratos de *M. glomerata* são contraindicados para pacientes com histórico de hipersensibilidade e alergia reconhecida à espécie vegetal ou outras espécies da mesma família (Asteraceae) (107).

Não utilizar durante a gravidez e amamentação devido à falta de estudos disponíveis (107).

Pacientes com problemas hepáticos podem apresentar toxicidade com o uso prolongado (107).

Recomenda-se maior critério na administração de guaco em pacientes com quadros respiratórios crônicos não diagnosticados, devendo-se afastar a hipótese de tuberculose e câncer (107).

4.5.6 Grupos de Risco

A varfarina, cuja estrutura química resulta de uma modificação da cumarina, é um anticoagulante oral que atua como inibidor da vitamina K. *M. glomerata* é rica em cumarinas, assim, seu uso é desaconselhável para crianças com idade inferior a um ano e mulheres no período gestacional (25).

Pacientes com problemas hepáticos podem apresentar toxicidade com o uso prolongado, portanto, o uso de fitoterápicos que contenham a espécie é desaconselhável nesses casos (107).

4.5.7 Precauções de Uso

A utilização dessa planta pode interferir na coagulação sanguínea (86). Desta maneira, pacientes que fazem utilização deste fitoterápico devem interromper o uso do mesmo, pelo menos, uma semana antes de qualquer procedimento cirúrgico (107).

Doses acima da recomendada podem provocar vômitos e diarreia (86).

4.5.8 Efeitos Adversos Relatados

Não foram encontrados relatos ou estudos indicando efeitos adversos graves ou que coloquem em risco a saúde dos pacientes utilizando extratos de *M. glomerata* nas doses recomendadas. Em raras ocasiões, podem ocorrer reações de hipersensibilidade. Nesses casos, suspender o uso e procurar orientação médica (107).

Doses acima da recomendada ou uso muito prolongado podem ocasionar aumento da frequência dos batimentos cardíacos, vômitos e quadros diarreicos, que desaparecem com a descontinuação da terapia (86, 107).

Em estudo realizado por Santos (2005) foi observado um efeito hemorrágico com o uso do extrato de *M. glomerata* e, por isso, o autor sugeriu estudos mais detalhados de seu efeito anticoagulante. Esse efeito pode ser visualizado pela ocorrência de vasodilatação acentuada nos cortes histológicos pulmonares das cobaias, causando estase sanguínea com consequente extravasamento de hemáceas e plasma, caracterizando um exsudato hemorrágico. Nesse sentido, sangramentos indesejáveis podem ocorrer e é preciso estar atento a esse sintoma (13).

4.5.9 Interações Medicamentosas

4.5.9.1 Descritas

Analisando os resultados obtidos no trabalho de Santos (2005), recomenda-se que pacientes que fazem uso de substâncias anticoagulantes não utilizem chá ou xarope derivados de *M. glomerata*. O tratamento dos camundongos com o chá, extrato hidroalcolico, ácido orto-cumárico e cumarina, levou a modificações nos cortes histológicos pulmonares das cobaias. O que foi visualizado sugeriu, segundo o autor, exsudato hemorrágico (13).

Derivados da planta não devem ser empregados simultaneamente com anticoagulantes e com produtos que contenham *Tabebuia avellanedae*. As cumarinas, além de potencializarem os efeitos de outros anticoagulantes, podem antagonizar a vitamina K. Além disso, as saponinas presentes na planta aumentam a absorção do lapachol, princípio ativo presente na *Tabebuia avellanedae* (ipê-roxo) (107).

4.5.9.2 Potenciais

Pode interagir com anti-inflamatórios não-esteroidais (86).

Um estudo mostrou que extratos secos de *M. glomerata* podem interagir sinergicamente, *in vitro*, com alguns antibióticos como tetraciclina, cloranfenicol, gentamicina, vancomicina e penicilina, no entanto, o mecanismo de ação ainda é desconhecido (25).

Alguns medicamentos utilizados por pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV - *human immunodeficiency virus*) como: zidovudina, didanosina, estavudina, lamivudina, tenofovir, nevirapina, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir e saquinavir podem provocar pancitopenia. A utilização concomitante com produtos que contenham *M. glomerata* pode exacerbar esse efeito (108).

4.5.10 Informações de superdosagem

4.5.10.1 Descrição do quadro clínico

Não foram encontrados relatos de intoxicações por superdosagem de *Mikania glomerata*.

Doses acima da recomendada ou uso muito prolongado, podem provocar aumento da frequência dos batimentos cardíacos e problemas gastrointestinais, como náuseas, vômitos e diarreia (86). Além disso, devido ao efeito anticoagulante da cumarina, sangramentos indesejáveis podem ocorrer (13).

4.5.10.2 Ações a serem tomadas

Deve-se interromper o uso e procurar orientação médica (107).

5 INFORMAÇÕES GERAIS

5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA

A espécie *M. glomerata* consta da 1ª edição da Farmacopéia Brasileira (41) e está descrita também no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira, 1ª edição (78). As formas farmacêuticas citadas na literatura, derivadas da planta, são: preparações extemporâneas, tintura e xarope. Todas possuem indicação como expectorante (58, 78).

Para a preparação extemporânea, o Formulário de Fitoterápicos (2011) cita que devem ser empregados 3 gramas de folhas secas da planta para cada 150 mL de água (78). Outra referência cita uma quantidade maior de folhas secas na formulação, em torno de 5 gramas, para 150 mL de água fervente (58).

O preparo da infusão deve considerar a proporção indicada na fórmula (78). Além disso, deve-se abafar durante 10 minutos e, em seguida, filtrar (58). Sua utilização deve ser realizada logo após o preparo, duas vezes ao dia, apenas a partir dos 12 anos de idade (78).

Algumas advertências importantes citadas na literatura devem ser consideradas. O infuso não deve ser utilizado em casos de tratamento com anti-inflamatórios não-esteroidais. A utilização pode interferir na coagulação sanguínea. Doses acima das recomendadas podem provocar vômitos e diarreia (78).

Outra forma farmacêutica citada para a espécie *M. glomerata* é a tintura. Neste caso, deve-se utilizar 20 gramas de folhas secas da planta, submetidas previamente a secagem em estufa a 40°C, por 48 horas. A extração deve ser realizada por percolação, com 100 mL de álcool a 70% (78). Esta preparação deve ser realizada imediatamente após a secagem da droga vegetal, o que retém 70% do conteúdo original de cumarina após um período de 5 meses de estocagem (58).

A tintura deve ser acondicionada em frasco de vidro âmbar, bem fechado, em local fresco, seco e ao abrigo da luz (78). A tintura parece ser a melhor forma para estocagem da droga, afinal é a forma farmacêutica que melhor estabiliza o teor de cumarina (58).

Além das advertências já citadas para o infuso da planta, outras devem ser consideradas quando tratamos de tinturas. Esta preparação não deve ser utilizada em gestantes, lactantes, crianças menores de dois anos, alcoolistas e diabéticos (78).

O modo de utilização da tintura difere um pouco do infuso. O Formulário de Fitoterápicos (2011) indica a administração de 2 a 7 mL da tintura diluída em 75 mL de

água, três vezes ao dia (78). Outra referência cita, como dosagem padrão, 5 mL, que deve ser ingerida 3 a 4 vezes ao dia, com água e açúcar ou mel (58).

O xarope é outra formulação citada no emprego da espécie *M. glomerata*. O preparo, segundo o Formulário de Fitoterápicos (2011), pode ser realizado utilizando dois derivados da planta, conforme descrito na Tabela 5 (78).

Tabela 5 - Formulações descritas para o xarope de *M. glomerata* (78).

Componentes	Quantidade
Tintura de guaco 20%	10 mL
Xarope simples q.s.p.	100 mL
Extrato fluido de guaco	5 mL
Xarope simples q.s.p.	100 mL

As orientações para o preparo compreendem as seguintes etapas: preparar a tintura ou o extrato fluido; transferir a tintura 20% ou o extrato fluido para recipiente adequado; solubilizar com o auxílio da formulação básica de xarope; completar o volume e homogeneizar. Durante o preparo, a formulação básica de xarope deve ser utilizada fria (78).

Uma forma caseira do xarope também pode ser preparada. Para isso, devem ser utilizadas folhas frescas de *M. glomerata* em água (1:10), fervê-las por cinco minutos, até que se perceba o odor adocicado característico de cumarina. Em seguida, deve-se coar e acrescentar um peso igual de açúcar ou mel a mistura. Para finalizar, aquecê-la brandamente até se tornar homogênea (58).

O acondicionamento do xarope deve ser realizado em frasco de vidro âmbar, em local fresco, seco e ao abrigo da luz (78). A formulação caseira deve ser estocada em vasilhame esterilizado (58).

O prazo de validade deste tipo de formulação pode variar de acordo com a temperatura de estocagem do mesmo. Após seis meses, o xarope armazenado a 10 °C perde cerca de 5 % do teor de cumarina; a 37°C perde em torno de 10 %. Assim, sugere-se um prazo de validade de um ano para o produto armazenado à temperatura ambiente (58).

Diabéticos não devem utilizar a formulação xarope devido ao alto teor de açúcar presente. Assim como para a tintura, gestantes, lactantes e crianças menores de dois anos não devem fazer uso desse produto (78).

O modo de uso do xarope varia de acordo com a idade: crianças de três a sete anos: tomar 2,5 mL do xarope, duas vezes ao dia; crianças de acima de sete a 12 anos: tomar 2,5 mL do xarope, três vezes ao dia; acima de 12 anos: tomar 5 mL do xarope, três vezes ao dia. Agitar antes de usar (78).

5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS

Mikania glomerata possui registro simplificado como medicamento fitoterápico na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (87).

Produtos registrados na Anvisa e em outras agências reguladoras que possuem como ativo a *M. glomerata* estão descritos na Tabela 6 (109).

Tabela 6 - Medicamentos fitoterápicos que apresentam em sua formulação ativa derivados da espécie *M. glomerata*.

Produto	Laboratório	Forma farmacêutica	Padronização
Aglix	Austen	Xarope 0,1 mL/mL - 120 mL	Tintura de <i>M. glomerata</i> Sprengel (padronizada em 0,08 mg de cumarina).
Apiguaco	Apis Flora	Xarope 100 mg/mL - 150 mL	Extrato padronizado de <i>M. glomerata</i> (1,46 mg de cumarina por 10 mL de xarope)
		Solução oral Edulito 100 mg/mL - 150 mL	Extrato padronizado de <i>M. glomerata</i> (1,46 mg de cumarina por 10 mL de xarope)
Bioexpecto	Brasmed	Xarope 0,167 mL/mL - 150 mL	Extrato fluido de <i>M. glomerata</i> (0,1 mg/mL cumarina)
Biotoss	Mariol	Xarope edulito 60 mg/mL - 120 mL	Extrato fluido de <i>M. glomerata</i> (0,036 mg de cumarina em cada mL do xarope)
Blumel Guaco	Brainfarma	Xarope - 120 mL	Não foram encontradas informações de padronização
Expectrat	Cazi	Xarope 0,083 mL/mL - 150 mL	Extrato fluido de guaco 0,083 mL/mL
Fimatosan MGS (<i>M. glomerata</i> + associações)	LabSimões	Xarope 0,1mL/mL - 100, 150 e 250 mL	Xarope de <i>Mikania glomerata</i> 0,030 mL/mL (0,08% cumarina)
Finetoss	HB Farma	Xarope 0,1 mL/mL - 150 mL	Não foram encontradas informações de padronização
		Solução oral 0,1 mL/mL - 150 mL	Não foram encontradas informações de padronização
Guaco Edulito	Herbarium	Solução oral 81,50 mg/mL - 120, 150 e 200 mL	Extrato concentrado de <i>M. glomerata</i> Sprengel (0,3 mg/mL de cumarina)
Guacoflus	Austen	Xarope 0,1 mL/mL - 100, 120 e 150 mL	Tintura de <i>Mikania glomerata</i> Sprengel (0,8 mg/mL de cumarina)
Guacolin	Kress	Xarope 0,0833 mL/mL - 120 mL	Extrato fluido de <i>M. glomerata</i> 0,4165 mL/5 mL (0,05 mg/mL de cumarina)
Guaconat	Pharmascience	Xarope 0,0325 mL/mL - 150 mL	Não foram encontradas informações de padronização
Guacoplex	Vitamed	Xarope 0,0833 mL/mL - 120 mL	Extrato fluido de <i>M. glomerata</i> Sprengel.
Guacovita (<i>M. glomerata</i> + associações)	Vitalab	Xarope 0,00833 mL/mL - 150 mL	Extrato fluido de <i>M. glomerata</i> Sprengel.
Guax	Mercofarma	Xarope 0,1 mL/mL - 100 mL	Não foram encontradas informações de padronização
Livtós	Vidora	Xarope 0,08 mL/mL - 100 mL	Não foram encontradas informações de padronização
Melagrião (<i>M. glomerata</i> + associações)	Catarinense	Xarope 100 e 150 mL	Extrato fluido de <i>M. glomerata</i> 0,00830 mL/mL (equivalente a 25 mcg de cumarina)
Peitoral Martel	Kley Hertz	Xarope 0,08 mL/mL - 150 mL	Extrato fluido de <i>M. glomerata</i> - padronizado em 0,0352 mg de cumarina (0,044%)
Xarope de Guaco Belfar	Belfar	Xarope 0,0583 mL/mL - 100, 120 e 200 mL	Não foram encontradas informações de padronização
Xarope de Guaco Herbarium	Herbarium	Xarope 0,5 mL/5mL - 120 mL	Extrato hidroalcoólico de <i>M. glomerata</i> 0,5 mL/5 mL - equivalente a 0,175 mg de cumarina.
Xarope de Guaco Natulab	Natulab	Xarope 35 mg/mL - 80, 100, 120 e 150 mL	Não foram encontradas informações de padronização
Xarope de Guaco IFAL	IFAL	Xarope 0,05 mL/mL - 100 mL	Não foram encontradas informações de padronização

5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Acondicionar em frasco de vidro âmbar (78).

Armazenar em local fresco, seco e ao abrigo da luz (78).

5.4 ROTULAGEM

Nos casos onde a forma farmacêutica utilizada é o xarope, deve-se informar que não deve ser utilizado em pessoas com *Diabetes mellitus*. Nos casos onde a forma farmacêutica é a tintura, a informação é de que não deve ser utilizada por alcoolistas e diabéticos (78).

5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS

A espécie *M. glomerata* possui monografia oficial na Farmacopeia Brasileira 1ª edição (41). Além disso, está presente também no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, 1ª edição. Neste documento, são citadas três formulações farmacêuticas derivadas da planta: preparações extemporâneas, tintura e xarope (78).

5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL

As buscas por patentes foram realizadas utilizando-se a nomenclatura botânica e popular da espécie em quatro diferentes escritórios de patentes: Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), *European Patent Office* (EPO), *Japan Patent Office* (JPO) e *The United States Patent and Trademark Office* (USPTO)

Foram encontrados dois depósitos de patentes para diferentes extratos de *Mikania glomerata*, em pesquisa realizada no banco de dados do INPI, no dia 08/06/2014 (110).

No banco de dados da EPO a pesquisa foi realizada, primeiramente, com a utilização da nomenclatura botânica da espécie, porém, não foi obtido nenhum resultado. Assim, uma nova pesquisa foi realizada no dia 08/06/2014, apenas com o

gênero "*Mikania*", e resultou em 38 solicitações. Entretanto, nenhuma se referia à espécie *M. glomerata* (111).

Nos bancos de dados da JPO e USPTO, a pesquisa foi realizada com a utilização da nomenclatura botânica da espécie, entretanto, nenhum resultado foi encontrado. Posteriormente, outra pesquisa foi realizada apenas com o gênero da espécie, porém, o resultado obtido foi o mesmo (112, 113).

Tabela 7 - Patentes solicitadas para a espécie *M. glomerata* no banco de dados do INPI (110).

Depósito	Títulos	Detalhes
30/07/1999	Processo para extração de frações do extrato hidro-alcoólico da <i>Mikania glomerata</i> ; fração MG1 obtida pelo processo; composição farmacêutica contendo a dita fração e uso terapêutico da composição em doenças respiratórias em geral.	A presente invenção trata do processo de obtenção de frações a partir do extrato hidro-alcoólico de folhas de <i>Mikania glomerata</i> com atividade dilatadora da musculatura lisa respiratória, anti-edema e anti-alérgica
09/12/2011	Formulações farmacêuticas a partir do extrato etanólico das folhas de <i>Mikania glomerata</i> Sprengel.	Esta invenção refere-se a uma formulação farmacêutica com propriedades ansiolíticas, derivada do extrato etanólico padronizado das folhas da espécie <i>Mikania glomerata</i> Sprengel. Refere-se à produção de um agente ansiolítico e depressor do sistema nervoso central.

5.7 DIVERSOS

Em estudo de farmacovigilância, desenvolvido por Balbino e Dias (2010), foi realizada uma avaliação retrospectiva, em bancos de dados da Gerência de Farmacovigilância da Anvisa, onde foram selecionadas notificações de eventos adversos relacionadas com plantas medicinais e seus derivados fitoterápicos (114).

Foram observadas duas notificações de reação adversa relacionadas à espécie *M. glomerata*. Uma delas foi desenvolvida por uma criança de sete anos que apresentou petéquias após o uso de xarope que continha derivado da espécie em sua formulação. A outra notificação ocorreu a partir do uso de uma associação, preparada em farmácia de manipulação, de *M. glomerata*, *Myroxylon balsamum* e *Cephaelis ipecacuanha* (114).

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Lista de espécies Flora do Brasil. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; 2012 [acesso em 18 abril 2013]. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>.
2. TROPICOS. Missouri botanical garden; 2014 [acesso em 07 fevereiro 2014]. Disponível em: <http://www.tropicos.org>.
3. IPNI. The International plant name index; 2005 [acesso em 18 abril 2013]. Disponível em: <http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do>.
4. Botsaris AS. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. Journal of ethnobiology and ethnomedicine. 2007;3:18.
5. Duarte MCT, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. Journal of ethnopharmacology. 2005;97(2):305-11.
6. Costa RdJ, Diniz A, Mantovani MS, Jordao BQ. In vitro study of mutagenic potential of *Bidens pilosa* Linne and *Mikania glomerata* Sprengel using the comet and micronucleus assays. Journal of ethnopharmacology. 2008;118(1):86-93.
7. Fierro IM, Borges Da Silva AC, Da Silva Lopes C, Soares De Moura R, Barja-Fidalgo C. Studies on the anti-allergic activity of *Mikania glomerata*. Journal of ethnopharmacology. 1999;66(1):19-24.
8. Soares de Moura R, Costa SS, Jansen JM, Silva CA, Lopes CS, Bernardo-Filho M, et al. Bronchodilator activity of *Mikania glomerata* Sprengel on human bronchi and guinea-pig trachea. The Journal of pharmacy and pharmacology. 2002;54(2):249-56.
9. Barbieri Holetz F, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, Garcia Cortez DA, Palazzo Mello JC, Vataru Nakamura C. Effect of plant extracts used in folk medicine on cell growth and differentiation of *Herpetomonas samuelpessoai* (kinetoplastida, trypanosomatidae) cultivated in defined medium. Acta Scientiarum - Biological and Health Sciences. 2002;24(3):657-62.
10. Celeghini RMS, Vilegas JHY, Lanças FM. Extraction and Quantitative HPLC Analysis of Coumarin in Hydroalcoholic: Extracts of *Mikania glomerata* Spreng. ("guaco") Leaves. Journal of the Brazilian Chemical Society. 2001;12(6):706-9.
11. Lorenzi H, Matos F. Plantas Medicinais no Brasil nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.
12. Napimoga MH, Yatsuda R. Scientific evidence for *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata* as a pharmacological tool. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2010;62(7):809-20.
13. Santos SC. Caracterização cromatográfica de extratos medicinais de guaco: *Mikania laevigata* SCHULTZ BIP. EX BAKER e *M. glomerata* SPRENGEL e ação de *M. laevigata* na inflamação alérgica pulmonar. [Dissertação de Mestrado]. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí; 2005.
14. Gasparetto JC, Guimaraes De Francisco TM, Campos FR, Pontarolo R. Development and validation of two methods based on high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determining 1,2-benzopyrone, dihydrocoumarin, o-coumaric acid, syringaldehyde and kaurenoic acid in guaco extracts and pharmaceutical preparations. Journal of separation science. 2011;34(7):740-8.

15. Aboy AL, Ortega GG, Petrovick PR, Langeloh A, Bassani VL. Atividade antiespasmódica de soluções extrativas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco). *Acta Farmaceutica Bonaerense*. 2002;21(3):185-91.
16. Dorigoni PA, Ghedini PC, Froes LF, Baptista KC, Ethur ABM, Baldisserotto B, et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João de Polesine, RS, Brasil. I - Relação entre enfermidades e espécies utilizadas. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2001;4(1):69-79.
17. Luize PS, Tiuman TS, Morello LG, Maza PK, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, et al. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas*. 2005;41(1):85-94.
18. Gasparetto JC, Campos FR, Budel JM, Pontarolo R. *Mikania glomerata* Spreng e *Mikania laevigata* Sch Bip ex Baker, Asteraceae: Estudos agronômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2010;20(4):627-40.
19. Da Silva CR, Gomes VS, Kulkamp IC, Kanis LA. Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de *Mikania glomerata* Sprengel. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008;18(4):594-9.
20. Taleb-Contini SH, Santos PA, Veneziani RCS, Pereira AMS, França SC, Lopes NP, et al. Differences in secondary metabolites from leaf extracts of *Mikania glomerata* Sprengel obtained by micropropagation and cuttings. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2006;16(supl):596-8.
21. Medeiros FD. Determinação da Variabilidade Sazonal de Marcadores Químicos de Plantas de Interesse Medicinal [Dissertação de Mestrado]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 2006.
22. Pasa MC. Saber local e medicina popular: a etnobotânica em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Ciências Humanas*. 2011;6(1):179-96.
23. Albertasse PD, Thomaz LD, Andrade MA. Plantas medicinais e seus usos na comunidade da Barra do Jucu, Vila Velha, Espírito Santo. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2010;12(3):250-60.
24. Yatsuda R, Rosalen PL, Cury JA, Murata RM, Rehder VLG, Melo LV, et al. Effects of *Mikania* genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;97(2):183-9.
25. Czelusniak KE, Brocco A, Pereira DF, Freitas GBL. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulz Bip. ex Baker. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2012;14(2):400-9.
26. Alvarenga FCR, Garcia EDF, Bastos EMAF, Grandi TSM, Duarte MGR. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de folhas e tinturas de guaco. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009;19(2 A):442-8.
27. Lima NP, Biasi LA, Zanette F, Nakashima T. Produção de mudas por estaquia de duas espécies de guaco. *Horticultura Brasileira*. 2003;21(1):106-9.
28. Duarte MCT, Leme EE, Delarmelina C, Soares AA, Figueira GM, Sartoratto A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *Journal of ethnopharmacology*. 2007;111(2):197-201.
29. Do Amaral MDPH, Piresvieira F, Leite MN, Do Amaral LH, Pinheiro LC, Fonseca BG, et al. Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009;19(2 B):607-11.

30. Brandao MGL, Cosenza GP, Graef CFF, Netto Jr NL, Monte-Mor RLM. Traditional uses of American plant species from the 1st edition of Brazilian Official Pharmacopoeia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009;19(2 A):478-87.
31. Garcia D, Domingues MV, Rodrigues E. Ethnopharmacological survey among migrants living in the Southeast Atlantic Forest of Diadema, São Paulo, Brazil. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*. 2010;6(29):1-19.
32. Boeger MRT, Alquini Y, Negrelle RRB. Características anatômicas da região nodal de estacas em diferentes fases de desenvolvimento de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel - Asteraceae) e formação de raízes adventícias. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2004;6(2):1-6.
33. Maiorano VA, Marcussi S, Daher MAF, Oliveira CZ, Couto LB, Gomes OA, et al. Antiophidian properties of the aqueous extract of *Mikania glomerata*. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;102(3):364-70.
34. Salgado HRN, Roncari AFF, Moreira RRD. Antidiarrhoeal effects of *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) leaf extract in mice. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2005;15(3):205-8.
35. Souza DHd, Yamamoto CH, Pinho JdJRG, Alves MS, Araújo AdLAd, Sousa OVd. Atividade antibacteriana frente ao *Streptococcus mutans* e estabilidade de produtos naturais contendo extrato de *Mikania glomerata* Sprengel. *HU rev*. 2006;32(1):11-4.
36. Lima NP, Biasi LA, Zanette F, Nakashima T. Estaquia semilenhosa e análise de metabólitos secundários de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker). *Rev Bras Pl Med*. 2003;5(2):47-54.
37. Niehues J, Bonetti P, Souza MRd, Maia AL, Piovezan AP, Peters RR. Levantamento etnofarmacológico e identificação botânica de plantas medicinais em comunidades assistidas por um serviço de saúde. *ACM arq catarin med*. 2011;40(1):34-9.
38. Bolina RC, Garcia EDF, Duarte MGR. Estudo comparativo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009;19(1 B):294-8.
39. Rufatto LC, Gower A, Schwambach J, Moura S. Genus *Mikania*: Chemical composition and phytotherapeutical activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2012;22(6):1384-403.
40. Bueno PCP, Bastos JK. A validated capillary gas chromatography method for guaco (*Mikania glomerata* S.) quality control and rastreability: From plant biomass to phytomedicines. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009;19(1 B):218-23.
41. Dias da Silva RA. *Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil*. Companhia Editora Nacional, 1ª ed, 1929.
42. Capaldi M. Reguladores vegetais no desenvolvimento de Plantas de Guaco (*Mikania glomerata* SPRENGEL) [Dissertação de mestrado]. Marília: Universidade de Marília; 2007.
43. Freitas TP. Avaliação dos efeitos de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulz Bip. ex Baker (Asteraceae) no processo inflamatório induzido pela exposição aguda ao carvão mineral [Dissertação de mestrado]. Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense; 2006.
44. Milan P, Hayashi AH, Appezzato-Da-Glória B. Comparative leaf morphology and anatomy of three Asteraceae species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2006;49(1):135-44.

45. Oliveira Fd, Akisue G, Akisue MK, Jorge LIF. Morfodiagnose de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker - guaco-do-mato - estudo do Axófito. 1986;45-57.
46. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 313 de 25 de outubro de 2005. Aprova o fascículo 6 da parte II da 4ª edição da Farmacopéia Brasileira. 2005.
47. Bastos CL, da Mata CS, Maia VH, Borges RAX, Franco LO, Ferreira PCG, et al. Anatomical and molecular identification of "guaco" *Mikania glomerata* and *Mikania laevigata* (Asteraceae), two important medicinal species from Brazil. *Journal of Medicinal Plant Research*. 2011;5(18):4579-83.
48. Bertolucci SKV, Pereira ABD, Pinto JEBP, Ribeiro JADA, De Oliveira AB, Braga FC. Development and validation of an RP-HPLC method for quantification of cinnamic acid derivatives and kaurane-type diterpenes in *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata*. *Planta medica*. 2009;75(3):280-5.
49. Bertolucci SKV, Pereira ABD, Pinto JEBP, Oliveira AB, Braga FC. Seasonal variation on the contents of coumarin and kaurane-type diterpenes in *Mikania laevigata* and *M. glomerata* Leaves under different shade levels. *Chemistry and Biodiversity*. 2013;10(2):288-95.
50. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 49 de 23 de novembro de 2010. Aprova a Farmacopéia Brasileira, 5ª edição, e dá outras providências. 2010.
51. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 26 de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. 2014.
52. Bochner R, Fizon JT, Assis MA, Avelar KES. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2012;14(3):537-47.
53. OMS. WHO Guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2007.
54. Mamani MCV, Aleixo LM, De Abreu MF, Rath S. Simultaneous determination of cadmium and lead in medicinal plants by anodic stripping voltammetry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2005;37(4):709-13.
55. Campos MMA, Tonuci H, Silva SM, Altoe BDS, De Carvalho D, Kronka EAM, et al. Determination of lead content in medicinal plants by pre-concentration flow injection analysis-flame atomic absorption spectrometry. *Phytochemical Analysis*. 2009;20(6):445-9.
56. Rocha L, Lucio EMA, Franca HS, Sharapin N. *Mikania glomerata* Spreng: desenvolvimento de um produto fitoterápico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008;18(SUPPL.):744-7.
57. Contin D. Alterações anatômicas e fisiológicas em plantas de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Shultz Bip. ex Baker, sob diferentes condições luminosas e nutricionais [Dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2009.
58. Gilbert B, Ferreira J, Alves L. Monografias de plantas medicinais brasileiras e aclimatadas. Curitiba: Sécia Editora e Gráfica; 2005.
59. Pedroso APD, Santos SC, Steil AA, Deschamps F, Barison A, Campos F, et al. Isolation of syringaldehyde from *Mikania laevigata* medicinal extract and its influence on the fatty acid profile of mice. *Rev bras farmacogn*. 2008;18(1):63-9.

60. De Castro EM, Pinto JEBP, Bertolucci SKV, Malta MR, Cardoso MDG, Silva FADM. Coumarin contents in young *Mikania glomerata* plants (guaco) under different radiation levels and photoperiod. *Acta Farmaceutica Bonaerense*. 2006;25(3):387-92.
61. Espindola Junior A, Boeger MRT, Maccari Júnior A, Reissmann CB, Rickli FL. Variação na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade. *Revista Brasil Bot*. 2009;32(4):749-58.
62. Castro EMd, Pinto JEBP, Melo HCd, Soares ÂM, Alvarenga AAd, Lima Júnior ÉdC. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a diferentes fotoperíodos. *Horticultura Brasileira*. 2005;23(3):846-50.
63. Soares e Silva LS, da Santos da Silva LS, Brumano L, Stringheta PC, Aparecida de Oliveira Pinto M, Moreira Dias LO, et al. Preparation of dry extract of *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) and determination of its coumarin levels by spectrophotometry and HPLC-UV. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2012;17(9):10344-54.
64. Lanças FM, Vilegas JHY, Vasconcelos EC, Celeghini RMS. NOVAS APLICAÇÕES DE SISTEMAS SFE "HOME MADE": I. PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 1997;17(4):413-7.
65. Duarte MCT, Figueira GM, Pereira B, Magalhães PM, Delarmelina C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcolicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. *Revista brasileira de farmacognosia*. 2004;14(supl):6-8.
66. Moraes VL, Santos LF, Castro SB, Loureiro LH, Lima OA, Souza ML, et al. Inhibition of lymphocyte activation by extracts and fractions of *Kalanchoe*, *Alternanthera*, *Paullinia* and *Mikania* species. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 1994;1(3):199-204.
67. Sá RdCdSe, Leite MN, Peters VM, Guerra MdO, Almeida RNd. Absence of mutagenic effect of *Mikania glomerata* hydroalcoholic extract on adult wistar rats in vivo. *Braz arch biol technol*. 2006;49(4):599-604.
68. da Silveira e Sa RC, Leite MN, de Almeida RN. Toxicological screening of *Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae, extract in male Wistar rats reproductive system, sperm production and testosterone level after chronic treatment. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2010;20(5):718-23.
69. Vigo-Schultz SC, Stangarlin JR, Franzener G, Portz RL, Kuhn OJ, Schwan-Estrada KRF. Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em couve-flor. *Semina ciênc agrar*. 2006;27(4):515-24.
70. Slomp L, Pereira PS, De Castro Franca S, Zingaretti S, Beleboni RO. In vitro nematocidal effects of medicinal plants from Sao Paulo State, brazil. *Pharmaceutical Biology*. 2009;47(3):230-5.
71. Lessa FCR, Grillo CHB, Pinto FE, Lorencon BB, Martins JDL, Bertolucci SKV, et al. Efficacy of guaco mouthwashes (*Mikania glomerata* and *Mikania laevigata*) on the disinfection of toothbrushes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2012;22(6):1330-7.
72. Dalla Nora GD, Pastori T, Laughinghouse Iv HD, do Canto-Dorow TS, Tedesco SB. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). *Biocell : official journal of the Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica* et al. 2010;34(3):95-101.
73. Vilegas JHY, De Marchi E, Lancas FM. Extraction of low-polarity compounds (with emphasis on coumarin and kaurenoic acid) from *Mikania glomerata* ('Guaco') leaves. *Phytochemical Analysis*. 1997;8(5):266-70.

74. Braz R, Wolf LG, Lopes GC, de Mello JCP. Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian market. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2012;22(5):1111-8.
75. de Medeiros J, Kanis LA. Avaliação do efeito de polietilenoglicóis no perfil de extratos de *Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae, e *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2010;20(5):796-802.
76. Vilegas JHY, De Marchi E, Lancas FM. Determination of coumarin and kaurenoic acid in *Mikania glomerata* ('guaco') leaves by capillary gas chromatography. *Phytochemical Analysis*. 1997;8(2):74-7.
77. Bouzada MLM, Fabri RL, Nogueira M, Konno TUP, Duarte GG, Scio E. Antibacterial, cytotoxic and phytochemical screening of some traditional medicinal plants in Brazil. *Pharmaceutical Biology*. 2009;47(1):44-52.
78. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira, 1ª edição. 2011.
79. Corrêa MFP, De Melo GO, Costa SS. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da asma. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008;18(SUPPL.):785-97.
80. Ustulin M, Figueiredo BDB, Tremea C, Pott A, Pott VJ, Bueno NR, et al. Plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campo Grande-MS. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009;19(3):805-13.
81. Martinazzo AP, Martins T. Plantas medicinais utilizadas pela população de Cascavel/PR. *Arq ciências saúde UNIPAR*. 2004;8(1):3-5.
82. Macedo AF, Oshiiwa M, Guarido CF. The use of herbal medicine by inhabitants of a part of the city of Marília (SP, Brazil). *Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada*. 2007;28(1):123-8.
83. Oliveira ER, Menini Neto L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte - MG. *Rev bras plantas med*. 2012;14(2):311-20.
84. Ogava SEN, Pinto MTC, Kikuchi T, Meneguetti VAF, Martins DBC, Coelho SAD, et al. Implantação do programa de fitoterapia "Verde Vida" na secretaria de saúde de Maringá (2000-2003). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2003;13(supl.1):58-62.
85. Oliveira MJR, Simoes MJS, Sassi CRR. Fitoterapia no sistema de saúde pública (SUS) no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 2006;8(2):39-41.
86. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 10 de 10 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010.
87. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IN 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". 2014.
88. Kaziyama VM, Fernandes MJB, Simoni IC. Atividade antiviral de extratos de plantas medicinais disponíveis comercialmente frente aos herpesvírus suíno e bovino. *Rev bras plantas med*. 2012;14(3):522-8.
89. De Cassia Da Silveira E Sa R, Leite MN, De Moura Reporedo M, Nobrega De Almeida R. Evaluation of long-term exposure to *Mikania glomerata* (Sprengel) extract on male Wistar rats' reproductive organs, sperm production and testosterone level. *Contraception*. 2003;67(4):327-31.

90. de Paula RC, Sanchez EF, Costa TR, Martins CHG, Pereira PS, Lourenco MV, et al. Antiophidian properties of plant extracts against *Lachesis muta* venom. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases. 2010;16(2):311-23.
91. Do Amaral RR, Arcenio Neto F, Carvalho ES, Teixeira LA, De Araújo GL, Sharapin N, et al. Avaliação da atividade IMAO e antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel. Revista brasileira de farmacognosia. 2003;13(supl.1):24-7.
92. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DA, Nakamura CV, Filho BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2002;97(7):1027-31.
93. Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Di Stasi LC, Fernandes Jr A. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2006;101(4):387-90.
94. Pereira AC. Purificação e Caracterização de Antibacterianos de Plantas do Município de Lavras [Dissertação de mestrado]. Lavras - MG: Universidade Federal de Lavras; 2006.
95. Pinheiro MA, Brito DBdA, Almeida LFDd, Cavalcanti YW, Padilha WWN. Efeito antimicrobiano de tinturas de produtos naturais sobre bactérias da cárie dentária. Rev bras promoç saúde 2012;25(02).
96. De Mello FB, De Mello JRB. Avaliação dos Efeitos Antitussígenos e Expectorantes de Duas Formulações Fitoterápicas Existentes no Mercado Brasileiro. Acta Farmaceutica Bonaerense. 2006;25(1):64-70.
97. Mello FB, Mello JRB. Eficácia antitussígena de duas formulações fitoterápicas. Arq Bras Med Vet Zootec. 2007;59(3):705-10.
98. Floriano RS, Nogueira RM, Sakate M, Laposy CB, da Motta YP, Sangiorgio F, et al. Effect of *Mikania glomerata* (Asteraceae) leaf extract combined with anti-venom serum on experimental *Crotalus durissus* (Squamata: Viperidae) envenomation in rats. Revista de biologia tropical. 2009;57(4):929-37.
99. Ruppelt BM, Pereira EF, Goncalves LC, Pereira NA. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom: I. Analgesic and anti-inflammatory activities. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 1991;86 Suppl 2:203-5.
100. Freitas TP, Silveira PC, Rocha LG, Rezin GT, Rocha J, Citadini-Zanette V, et al. Effects of *Mikania glomerata* Spreng. and *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker (Asteraceae) extracts on pulmonary inflammation and oxidative stress caused by acute coal dust exposure. Journal of medicinal food. 2008;11(4):761-6.
101. Groppo FC, De Cassia Bergamaschi C, Cogo K, Franz-Montan M, Motta RHL, De Andrade ED. Use of phytotherapy in dentistry. Phytotherapy Research. 2008;22(8):993-8.
102. Soares AKA, Carmo GC, Quental DP, Nascimento DF, Bezerra FAF, Moraes MO, et al. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. Revista brasileira de farmacognosia. 2006;16(4):447-54.
103. Tavares JP, Martins IL, Vieira AS, Lima FAV, Bezerra FAF, Moraes MO, et al. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico a base de associações de plantas, mel e própolis. Revista brasileira de farmacognosia. 2006;16(3):350-6.
104. Radünz LL, Melo EC, Barbosa LCA, Rocha RP, Berbert PA. Rendimento extrativo de cumarina de folhas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) submetidas a diferentes temperaturas de secagem. Rev bras plantas med. 2012;14(3):453-7.

105. Biavatti MW. Synergy: An old wisdom, a new paradigm for pharmacotherapy. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009;45(3):371-8.
106. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IN 05 de 11 de dezembro de 2008. Determina a publicação da "Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado". 2008.
107. Xarope de Guaco Herbarium. *Mikania glomerata* Spreng. Herbarium Laboratório Botânico LTDA. Farm. Resp.: Anny M. Trentini - CRF-PR 4081 . Bula de remédio. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/BularioEletronico/>.
108. Sales PM, de Sousa PM, da Silveira CA, Silveira D. The use of herbal medicine by aids patients from hospital universitário de Brasília, Brazil. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2008;7(4):207-16.
109. BRASIL. Portal da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2014 [acesso em julho de 2014] Disponível em: www.anvisa.gov.br.
110. INPI. Instituto Nacional da Propriedade Industrial 2014 [acesso em 08 de junho de 2014]. Disponível em: <http://pesquisa.inpi.gov.br>.
111. EPO. European Patent Office 2014 [acesso em 08 de junho de 2014]. Disponível em: www.epo.org.
112. JPO. Japan Patent Office 2014 [acesso em 17 de setembro de 2014]. Disponível em: www.jpo.go.jp.
113. USPTO. The United States Patent and Trademark Office 2014 [acesso em 17 de setembro de 2014]. Disponível em: www.uspto.gov.
114. Balbino EE, Dias MF. Pharmacovigilance: A step towards the rational use of herbs and herbal medicines. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2010;20(6):992-1000.