

FRANCISCA LIDUINA RIBEIRO PONTE

**TOXICIDADE PRÉ-CLÍNICA DE FITOTERÁPICOS À BASE DE MEL
DE ABELHA, PRÓPOLIS E EXTRATOS DE *Mikania glomerata*,
Eucalyptus globulus OU DA ASSOCIAÇÃO *Zingiber officinale* E *Allium
sativum* EM ROEDORES**

Dissertação submetida à Coordenação de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Fisiologia.

Orientadora:
Professora Dra. Maria Bernadete Sousa Maia

**RECIFE
2003**

P857t Ponte, Francisca Liduina Ribeiro

Toxicidade pré-clínica de fitoterápicos à base de mel de abelha própolis e extratos de *Mikania glomerata*, *Eucalyptus globulus* ou da associação *Zingiber officinale* e *Allium sativum* em roedores / Francisca Liduina Ribeiro Ponte - Recife, 2003.

76 f.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Bernadete Sousa Maia

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco-CCB. Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

1. Toxicidade pré-clínica (aguda e crônica) 2. *Mikania glomerata*
3. *Eucalyptus globulus*. 4. *Zingiber officinale* 5. *Allium sativum* I. Título.
CDD 615704

FRANCISCA LIDUINA RIBEIRO PONTE

TOXICIDADE PRÉ-CLÍNICA DE FITOTERÁPICOS À BASE DE MEL DE ABELHA, PRÓPOLIS E EXTRATOS DE *Mikania glomerata*, *Eucalyptus globulus* OU DA ASSOCIAÇÃO *Zingiber officinale* E *Allium sativum* EM ROEDORES

Dissertação submetida à Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do grau Mestre em Fisiologia.

Aprovado em : 03/10/2003

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Bernadete Sousa Maia (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco-UFPE

Profa. Dra. Carmen de Castro Chaves
Universidade Federal de Pernambuco-UFPE

Profa. Dra. Glória Isolina B.P. Duarte
Universidade Federal de Pernambuco-UFPE

Prof. Dr. Vietla Satyanarayana Rao
Universidade Federal do Ceará –UFC

À minha mãe CLEONICE (*in memoriam*), meu especial agradecimento por minha vida, carinho e incentivo recebidos ao longo de minha existência. Saudosa amiga exemplo de dignidade e fé que soube tão bem cultivar a essência da vida no seu mais intenso aspecto e soube amar o próximo com sentimentos verdadeiramente nobres, seguindo os mandamentos divinos, os quais orientaram a retidão de seu caráter.

Ao meu pai Vicente e irmãos, cunhados e sobrinhos por toda uma vida de amor, alegrias, lutas, conquistas e trabalho que nos tornam unidos eternamente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por renovar minha vida a cada momento.

À Professora Dra. Maria Bernadete Sousa Maia pela dedicação, e, sobretudo, à grande amiga dos momentos agradáveis e difíceis que enfrentamos durante o período do mestrado.

Ao Professor Carlos Rolim Martiniano (*in memoriam*) coordenador adjunto do Curso de Mestrado em Fisiologia da Universidade Vale do Acaraú, grande entusiasta, pelo apoio, incentivo e convivência sempre agradável.

Ao laboratório PRONATU, pela disponibilização dos fitoterápicos que tornou possível a realização deste trabalho.

A todos os professores do mestrado de Fisiologia por toda contribuição científica dos seus conhecimentos e pela forma tão especial com que me receberam nas diversas ocasiões em que os procurava durante esta caminhada.

Ao Magnífico Reitor da Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA Professor José Teodoro Soares, pela grande oportunidade que tem contribuído de forma tão determinante em meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Dr. Marcelo Renato Araújo pela orientação estatística deste trabalho.

A todos os funcionários pela presteza e disponibilidade em ajudar.

A Rejane pela amizade e dedicação expressadas no decorrer da coleta de dados.

Aos amigos do HEMOCE pelo apoio constante, carinho e amizade.

Aos meus colegas de Mestrado pelo acolhimento carinhoso e compreensão na difícil arte da convivência ao longo dessa jornada.

Ao Professor Dr. Antonio Chagas Mota pelo incentivo na realização deste trabalho.

A bibliotecária Norma de Carvalho Linhares, da Biblioteca de Ciências da Saúde - UFC, pela correção das referências bibliográficas.

“Muito, muito grande é o poder que existe
Nas ervas, plantas, peDra.s e suas reais virtudes:
Pois nenhum ser que na terra viva é tão vil
Que à terra um dom especial não dê,
Dentro da casca nascente dessa flor frágil
O veneno tem moradia e o remédio , força”
(Shakespeare, Romeu e Julieta, ato II, cena iii)

RESUMO

Nesse estudo, avaliamos a toxicidade pré-clínica aguda e crônica de 03 fitoterápicos, amplamente consumidos pela população brasileira para o tratamento de afecções respiratórias. A formulação dos três compostos contém mel de abelha e extrato de própolis acrescida de extrato fluído de *Mikania glomerata* (fitoterápico A), extrato fluído de *Eucalyptus globulus* (fitoterápico B) ou extratos fluídos de *Zingiber officinale* e *Allium sativum* (fitoterápico C), os fitoterápicos A e B são apresentados sob a forma de xarope e o fitoterápico C sob a forma de “spray”. O ensaio de toxicidade aguda dose única (7,5, 15, 25 ou 35 ml/kg; v.o.), em camundongos Swiss de ambos os sexos (n=10animais/grupo), demonstrou baixa ordem de toxicidade para os três compostos. Os fitoterápicos A e C, em doses de até 25 ml/Kg, não produziram mortalidade nos animais dos respectivos grupos, enquanto que na dose de 35 ml/kg foi verificado um percentual de 30% e 70% de mortalidade para os fitoterápico C e A, respectivamente. Em relação ao fitoterápico B, nos animais submetidos ao tratamento com doses de até 15 ml/kg, não foi verificado nenhum registro de morte. Entretanto, para as doses de 25 e 35 ml/kg foram observados mortalidade de 20% e 40%, respectivamente. Nos três estudos não foi possível determinar a DL₅₀ dos fitoterápicos em função da impossibilidade de administração de volume superior ao volume máximo (1 ml), já utilizado na administração da dose de 35 ml/kg, permitido para a espécie estudada. Nas observações gerais, o tratamento agudo com os três fitoterápicos (7,5 e 15 ml/kg) não evidenciou nenhum indicativo de toxicidade, quando comparado ao grupo controle, do início até o 14º dia após o tratamento, para os animais sobreviventes. No estudo de toxicidade crônica em ratos de ambos os sexos, o tratamento com o fitoterápico A (7,5 ou 15 ml/kg; v.o.) não apresentou diferença no perfil hematológico e bioquímico dos grupos tratados em relação ao controle, após 90 dias de tratamento. O perfil hematológico dos grupos tratados com os fitoterápicos B ou C (7,5 ou 15 ml/kg; v.o.) também não diferiram do controle. Os animais do grupo tratado com o fitoterápico B (7,5 ml/kg), apresentaram um aumento significativo ($p<0,01$) na concentração plasmática de triglicérides (102,2±8.8 para machos e 100,0±8.8 mg/dl para fêmeas), em relação ao grupo controle salina (86,8±8.8 para machos e 84.6±8.8mg/dl para fêmeas). Os animais do grupo tratado com o fitoterápico C (15 ml/kg) apresentaram diferenças significantes ($p<0,01$) em relação à concentração plasmática de glicose (86,8±4,7 nos machos e 77,2±4,7 mg/dl nas fêmeas), em relação aos valores do controle (66,7±4,7 para os machos e 68,5±4,7 mg/dl para as fêmeas). Os valores relativos à concentração de triglicérides (127,0±11,0 nos machos e 96,0±11,0 mg/dl nas fêmeas) também diferiram significativamente ($p<0,05$) em relação ao controle (86,8±11,0 nos machos e 84,6±11,0 mg/dl nas fêmeas). A nível clínico, estas diferenças constatadas, não parecem ser significativas, uma vez que os valores observados se encontra dentro da faixa de referência considerada normal para a espécie estudada. Após a administração crônica, o comportamento geral dos animais não apresentou alteração e a evolução do peso corporal dos grupos tratados não apresentou nenhuma diferença significativa em relação ao controle. A análise macroscópica de órgãos vitais tais como pulmões, fígado, coração, rins e estômago não revelaram nenhuma alteração em relação ao grupo controle. Em relação ao peso desses órgãos, foi possível constatar que, somente nos grupos de machos tratados com o fitoterápico A foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$) em relação ao peso do fígado e rim, para o grupo tratado com 7,5ml/kg, e do baço para o grupo tratado com 15 ml/kg. Porém, tais alterações não foram dose dependente e restringiram-se apenas aos machos. A análise desses resultados leva a conclusão que, em doses equivalentes em termos humanos, os três fitoterápicos (7,5 ou 15 ml/kg), não apresentaram efeitos tóxicos (agudo e crônico) relevantes do ponto de vista clínico, em camundongos Swiss e ratos Wistar de ambos os sexos.

Palavras-chave: Toxicidade pré-clínica (aguda e crônica), *M. glomerata*, *E. globulus*, *Z.officinale* e *A.sativum*.

ABSTRACT

This study evaluated the preclinical toxicity (acute and chronic) of 03 phytotherapeutics, which are used by the Brazilian population for treatment of respiratory affections. The formulation of the three compositions contains honey bee and propolis added to: *Mikania glomerata* liquid extract (phytotherapeutic **A**), *Eucalyptus globulus* liquid extract (phytotherapeutic **B**), or *Zingiber officinale* and *Allium sativum* liquid extract (phytotherapeutic **C**); the first two are presented under the xarope form and the last one under "spray" form. The acute toxicity assay in a unique dose (7,5; 15; 25 or 35 ml/kg; v.o.) in Swiss mice (25-30g), demonstrated a low toxicity order for the three compositions. The phytotherapeutics **A** or **C**, in doses of up to 25 ml/kg, did not produce mortality in the animals of the respective groups. In the dose of 35 ml/kg, it was verified a 30% and 70% of mortality for phytotherapeutics **A** and **C**, respectively. No death was registered, in relation to phytotherapeutic **B**, when the animals were submitted to the treatment with doses up to 15 ml/kg. However, for the doses of 25 and 35 ml/kg, mortality of 20% and 40%, respectively, was observed. In the three studies, it was not possible to determine DL₅₀ of the phytotherapeutics in function of the impossibility of administration of superior volume to the maximum volume (1 ml), already used in the administration of 35 ml/kg dose, allowed for the studied species. In general observations, the treatment with the three phytotherapeutics (7,5 and 15 ml/kg) did not evidence any signs of toxicity, when compared to control group, from its beginning to the 14th day of the treatment, among the surviving animals. In respect to a ninety-day study of chronic toxicity, the treatment with the phytotherapeutic **A** (7,5 or 15 ml/kg; p.o.) did not present any significant statistic difference of the hematological/biochemical profiles of the treated groups in relation to the control. The hematological parameters of the treated groups with the phytotherapeutics **B** or **C** (7,5 or 15 ml/kg; p.o.), were not different from the control. In relation to the biochemical parameters, the group treated with the phytotherapeutic **B** (7,5 ml/kg), presented a significant increase ($p < 0,01$) in the triglycerides concentration ($102,2 \pm 8,8$ for males and $100,0 \pm 8,8$ mg/dl in the females). The animal group treated with phytotherapeutic **C** (15 ml/kg) presented significant differences ($p < 0,01$) in relation to the glucose concentration ($86,8 \pm 4,7$ in the males and $77,2 \pm 4,7$ mg/dl in the females), in relation to the values seen in controls ($66,7 \pm 4,7$ for the males and $68,5 \pm 4,7$ mg/dl for the females). The relative values to the triglycerides concentration ($127,0 \pm 11,0$ in the males and $96,0 \pm 11,0$ mg/dl in the females) also differed significantly ($p < 0,05$) in relation to the control value ($86,8 \pm 11,0$ in the males and $84,6 \pm 11,0$ mg/dl in the females). The observed differences may not have any clinical significance, since the observed values are well within the range reported in literature and are normal for the studied species. After the chronic administration, the general behavior of the animals did not present alteration and the evolution of the corporal weight of the treated groups did not present any significant difference in relation to the control. The macroscopic analysis of such vital organs as lungs, liver, heart, kidneys and stomach did not reveal any alteration in relation to those of control groups. In relation to the weight of those organs, it was possible to verify that only the male groups treated with the phytotherapeutic **A** presented significant differences at $p < 0,05$, in relation to liver and kidney weights, for the treated group with 7,5ml/kg, and of the spleen for the treated group with 15 ml/kg. However, such alterations were not dependent dose and they were limited to the males. The analysis of these results from Swiss mice and Wistar rats of either days suggest that, in equivalent doses in human terms, the three phytotherapeutics (7,5 or 15 ml/kg) do not present any clinically relevant acute or chronic toxicity.

Keywords: Preclinical toxicity (acute and chronic), *M. glomerata*, *E. globulus*, *Z. officinale* and *A. sativum*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1a. Evolução do peso corporal de machos tratados com o fitoterápico A durante 12 semanas.....	43
Figura 1b. Evolução do peso corporal de fêmeas tratadas com o fitoterápico A durante 12 semanas.....	43
Figura 2a. Evolução do peso corporal de machos tratados com o fitoterápico B durante 12 semanas.....	48
Figura 2b. Evolução do peso corporal de fêmeas tratadas com o fitoterápico B durante 12 semanas.....	48
Figura 3a. Evolução do peso corporal de machos tratados com o fitoterápico C durante 12 semanas.....	54
Figura 3b. Evolução do peso corporal de fêmeas tratadas com o fitoterápico C durante 12 semanas.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem da mortalidade em camundongos (machos e fêmeas) dos grupos tratados com os Fitoterápico A, B e C (7,5; 15; 25 ou 35 ml/kg; v.o) e do grupo controle salina 0,9% (35ml/kg; v.o)	36
Tabela 2 - Efeito do tratamento com o fitoterápico A (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros hematológicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo)	39
Tabela 3 -Efeito do tratamento com o fitoterápico A.(7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros bioquímicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).	40
Tabela 4 - Médias do peso (g/100) dos órgãos de ratos Wistar tratados com fitoterápico A durante 90 dias. (n=10 animais/grupo).	42
Tabela 5 -Efeito do tratamento com o fitoterápico B (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros hematológicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).	45
Tabela 6 -Efeito do tratamento com o fitoterápico B (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros bioquímicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).	46
Tabela 7 -Médias do peso (g/100) dos órgãos de ratos Wistar tratados com fitoterápico B durante 90 dias. (n=10 animais/grupo).	47
Tabela 8 -Efeito do tratamento com o fitoterápico C (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros hematológicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).	50
Tabela 9 -Efeito do tratamento com o fitoterápico C (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros bioquímicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).	51
Tabela 10 - Médias do peso (g/100) dos órgãos de ratos Wistar tratados com fitoterápico C durante 90 dias. (n=10 animais/grupo).	53

LISTA DE ABREVIATURAS e SIGLAS

AST	Aspartato amino transferase
ALT	Alanina amino transferase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CHCM	Concentração Hemoglobina Corpuscular Média
DL ₅₀	Dose letal para 50% dos animais de experimentação
EDTA	Ácido etileno diaminotetracético
g	Grama
gl.SR	Glândula supra renal
Hb	Hemoglobina
Hc	Hemácias
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HDL	Lipoproteína de alta densidade
Ht	Hematócrito
kg	Quilograma
mg	Miligrama
mL	Militro
OMS	Organização Mundial de Saúde
RDC	Resolução de Diretoria Colegiado
V	Volume
v.o	Via oral
VCM	Volume Corpuscular Médio
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

☞ **LISTA DE FIGURAS**

☞ **LISTA DE TABELAS**

☞ **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Produtos Naturais	18
1.1.1 Diversidade molecular dos princípios ativos de origem vegetal.....	18
1.1.2 Própolis.....	21
1.1.3 Mel de Abelha	21
1.1.4 <i>Mikania glomerata</i>	22
1.1.5 <i>Eucalyptus globulus</i>	23
1.1.6 <i>Zingiber officinale</i>	24
1.1.7 <i>Allium sativum</i>	25
1.2 Avaliação Toxicológica.....	25
1.2.1 Toxicidade Aguda	26
1.2.2 Toxicidade Crônica	27
2 OBJETIVOS	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 Produtos Fitoterápicos	30
3.2 Animais.....	31
3.3 Toxicidade Pré-Clínica.....	31
3.3.1 Toxicidade aguda.....	31
3.3.2 Toxicidade crônica	32
3.3 Análise Estatística	33
4 RESULTADOS	34
4.1 Toxicidade Aguda	34

4.1.1 Exame Macroscópico dos órgãos	37
4.2 Toxicidade crônica do fitoterápico A mel de abelha, própolis e extrato de <i>M. glomerata</i>	38
4.2.1 Efeito da administração crônica sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos em Ratos Wistar.	38
4.2.2 Avaliação do efeito crônico do fitoterápico A. mel de abelha própolis e extrato de <i>M. glomerata</i> sobre os principais órgãos e peso corporal de ratos Wistar.	41
4.3 Toxicidade crônica do fitoterápico B: mel de abelha, própolis e extrato <i>E. globulus</i>	44
4.3.1 Efeito crônico da administração do fitoterápico nos parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos Wistar.	44
4.3.2 Avaliação do efeito crônico do fitoterápico A. mel de abelha, própolis e extrato de <i>E. globulus</i> sobre os principais órgãos e peso corporal de ratos Wistar.	47
4.4 Toxicidade crônica do fitoterápico C: mel, própolis e extratos de <i>Z. officinale</i> e <i>A. sativum</i>	49
4.4.1 Efeito crônico da administração do fitoterápico C: mel de abelha, própolis e extratos de <i>Z. officinale</i> e <i>A. sativum</i> sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos Wistar.	49
4.4.2 Avaliação do efeito crônico do fitoterápico C-mel de abelha, própolis e extratos e <i>Z. officinale</i> e <i>A. sativum</i> sobre os principais órgãos e peso corporal de ratos Wistar.	52
5 DISCUSSÃO	55
6 CONCLUSÃO	62
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS	70

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais com fins terapêuticos encontra-se em expansão em todo o mundo, constituindo um mercado bastante promissor, evidenciando que a utilização das plantas medicinais vem se tornando cada vez mais popular, no mundo industrializado. No Brasil, não se sabe com exatidão, o número de pessoas que utilizam plantas medicinais, mas, seguramente, esta tendência mundial também é seguida. Apenas 5% da flora mundial foi estudada em suas propriedades medicinais até hoje, somente 1% é utilizada como matéria-prima na indústria farmacêutica (KATE; LAIRD, 2001).

Os metabólitos secundários de diversas espécies vegetais continuam sendo importantes fontes ou modelos no planejamento de novos fármacos semi-sintéticos ou sintéticos. Dentre os metabólitos secundários destacam-se os alcalóides tropânicos (hiosciamina e a escopolamina), presentes em vários gêneros da família Solonaceae; os alcalóides quinolínicos, (quinina e quinidina); os alcalóides benzilisoquinolínicos (papaverina, morfina e codeína) e os alcalóides indólicos de *Cantharantus roseus* (vincristina e vimblastina), empregados no tratamento de leucemias linfocíticas e em outras variedades de neoplasias (SANTOS, 2000).

O Brasil é reconhecido em todo o mundo como possuidor de uma das maiores biodiversidades vegetais do planeta. Pesquisadores de todas as partes buscam no nosso país plantas medicinais e outros componentes da biodiversidade, potenciais fornecedores de patentes internacionais. Infelizmente esse enorme manancial de riquezas biológicas e seu potencial ainda não são aproveitados como instrumento para o desenvolvimento sócio-econômico do país, embora seu valor seja reconhecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) há mais de duas décadas. (GOTTLIEB; BORIN, 1997).

A Organização Mundial de Saúde estima que 80% da população do planeta, de algum modo, utilizam plantas medicinais como medicamentos (FARNSMORTH *et al.*, 1985). Calcula-se, que cerca de 25.000 espécies de plantas sejam utilizadas nas preparações da medicina tradicional. Somente o Brasil possui cerca de 60.000 espécies vegetais das quais 20.000 são encontradas apenas na Amazônia; acrescente-se a esse

dado às espécies existentes na Mata Atlântica, no cerrado, no pantanal, na caatinga, nos campos sulino e nas zonas costeiras (GARCIA, 1995). A biodiversidade brasileira, portanto, é um cofre de patrimônio químico inexplorado de drogas, alimentos, cosméticos, fertilizantes, pesticidas, além de moléculas, enzimas e genes (GOTTLIEB et al., 1997). O Brasil está em primeiro lugar quando comparado aos 17 países mais ricos em biodiversidade do mundo entre os quais figuram Estados Unidos, China, Índia, África do Sul, Indonésia, Malásia e Colômbia, uma vez que detém 23% das espécies vegetais do planeta (KATE; LAIRD, 2000).

Em 1985 o valor do mercado mundial das drogas em geral foi estimado em US\$ 9,0 bilhões de dólares; enquanto o valor de drogas provenientes de plantas medicinais foi estimado em US\$ 4,3 bilhões de dólares, isto é, cerca de 50% do valor do mercado mundial (ELISABETSKY; SHANLEY, 1994). O crescente mercado mundial de produtos biotecnológicos movimentava entre US\$ 470 e US\$ 780 bilhões de dólares por ano. Calcula-se que o comércio mundial de fitoterápicos movimentava cifras de US\$ 22 bilhões de dólares (YUNES, 2001). No Brasil, estima-se que o mercado para terapias à base de plantas medicinais tenha alcançado, em 2000, cerca de US\$ 500 milhões de dólares por ano, cifra esta pequena se comparada aos valores da Europa e Estados Unidos, 8,5 e 6,3 bilhões de dólares, respectivamente (KATE; LAIRD, 2000). Estes valores indicam um mercado com potencial de expansão bastante promissor.

Atualmente, há um crescente interesse na pesquisa com plantas medicinais, decorrentes de diversos fatores; dentre eles destacam-se: o crescimento exponencial do mercado de medicamentos fitoterápicos, o marcante interesse das grandes indústrias por esse setor e os resultados satisfatórios em termos terapêuticos que vários fitoterápicos apresentaram nos últimos anos. Neste contexto destacam-se, *Piper methysticum* (kava kava) usado como ansiolítico; *Hypericum perforatum* (erva de São João) usado como antidepressivo; *Ginkgo biloba* usado em enfermidades vestibulares e cerebrais e o Taxol, derivado de *Taxus* sp usado no tratamento de câncer ovariano (CALIXTO, 2000; GARCIA, 1995). De acordo com Ferreira (1998), com as fusões das grandes indústrias farmacêuticas, decorrentes do achatamento dos lucros e do crescente aumento dos custos em pesquisa e desenvolvimento, surgem grandes conglomerados multinacionais com enorme capacidade de investimento nessa área de

produtos naturais. Nesse contexto, a competição de países como o Brasil torna-se cada vez mais difícil, como já vinha ocorrendo no segmento de medicamentos de síntese química. Em função da enorme biodiversidade brasileira, abre-se no nosso país o segmento de medicamentos de origem vegetal, que precisa receber incentivos progressivos de forma a permitir a sua permanência nesse quadro de competição mundial. Daí a necessidade de desenvolvimento de uma Política Nacional consistente para a pesquisa de plantas medicinais.

A avaliação do binômio risco/benefício no emprego de toda e qualquer preparação farmacêutica (alopática, homeopática, fitoterápica) é um dos principais objetivos dos estudos farmacológicos e toxicológicos, pré-clínicos e clínicos.

A tradicionalidade do uso de plantas não é suficiente para validá-las cientificamente como medicamentos eficazes e seguros. Como corpo estranho no organismo, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos até que se comprove a sua eficácia sem danos ao organismo humano (CEVALLOS, 1996). A análise toxicológica considera que um fitoterápico ou uma planta medicinal não tem somente efeitos imediatos e facilmente correlacionados com a sua ingestão, mas também efeitos que devem ocorrer a longo prazo, de forma assintomática como os carcinogênicos, hepatotóxicos e nefrotóxicos. Por exemplo, os extratos de confrei (*Symphytum officinale* L.), os quais foram proibidos, em virtude de casos relatados de hepatotoxicidade quando administrados por via oral cronicamente (HIRONO et al., 1998; POZETTI, 1991); a Kava-kava (*P. methysticum*), indicada contra ansiedade, estresse e insônia, está sendo investigada sob suspeita de causar sérios danos ao fígado, com 25 casos de toxicidade hepática registrados num único mês na Suíça e na Alemanha (BRASIL, 2002).

A OMS define fitoterápico como “qualquer produto medicinal acabado e rotulado que contenha como ingredientes ativos partes aéreas ou subterrâneas de plantas ou outro material derivado de plantas, ou combinações destes, quer em estado natural, quer como preparados de plantas”. Afirma ainda que “os medicamentos que contêm material vegetal combinado a princípios ativos, incluindo constituintes de plantas isoladas e quimicamente definidos, não são considerados fitoterápicos”

(WORLD HEALTH ORGANIZATION-WHO, 1991). Nesse contexto, os fitoterápicos vão desde plantas medicinais frescas recém colhidas pela população até preparações farmacêuticas padronizadas usadas pela sofisticada indústria farmacêutica. A OMS desempenhou um papel fundamental na identificação e na produção de fitoterápicos seguros e eficazes para uso na atenção primária à saúde, e apoiou com firmeza o emprego de medicamentos à base de plantas medicinais para promover a saúde das comunidades carentes, principalmente nos países em desenvolvimento como por exemplo, Brasil, México ou Índia.

Reconhecendo o interesse e a demanda crescente por fitoterápicos tradicionais, a OMS formulou diretrizes, para avaliação farmacêutica, padrões para o material vegetal bruto, composição das preparações fitoterápicas e estudos toxicológicos e farmacológicos (pré-clínicos e clínicos) (WHO, 1992). Grandes dificuldades inerentes a fitoterapia advém do fato de que cada espécie vegetal é uma mistura complexa de milhares de substâncias químicas, e em geral fica difícil identificar, separar e concentrar os componentes farmacológicos úteis (princípios ativos), complicando muito a padronização da dosagem desses produtos. Sabe-se também que a concentração do princípio ativo varia muito em função de diversos fatores tais como o solo, o clima e as condições de cultivo e colheita (ELDIN; DUNFORD, 2001).

A fitoterapia atualmente existe principalmente no mercado informal, o que representa um grande perigo à saúde da população, devido haver comercialização de drogas vegetais sem controle fitossanitário e de identidade e pureza. Há a necessidade de um controle maior e melhor desse ramo farmacêutico, pois os fitoterápicos representam uma alternativa economicamente viável para as populações carentes (BENDAZZOLI, 2000). É preocupante a quantidade desses produtos lançados no mercado, sem nenhum controle com relação à sua eficácia e segurança, por isso, devem ser prioritariamente analisados através de estudos químicos, farmacológicos e de toxicidade, segundo os métodos modernos disponíveis, antes de sua comercialização (CEVALLOS, 1996).

Nos círculos alopatas, é comum referir-se *a priori* que o uso das plantas medicinais desencadeia efeitos tóxicos, com destaque para a hepatotoxicidade. É, sem dúvida, um pretexto para justificar a contra-indicação da fitoterapia em pacientes. Na população em geral, prevalece a visão oposta de que as plantas medicinais são seguras. No entanto, nenhuma dessas opiniões extremas deve ser considerada realista. Do ponto de vista científico, preconiza-se que qualquer substância ingerida em excesso é potencialmente prejudicial. Nenhum material de origem vegetal é exceção a esse princípio geral (ELDIN; DUNFORD, 2001).

O processo legal da regulamentação e legislação das plantas medicinais difere de país a país (CALIXTO, 2000). No Brasil, o controle do uso de plantas para finalidades terapêuticas só foi regulamentado com a publicação da Portaria Nº 06 da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS) de 31.01.95 (BRASIL, 1995). Essa norma foi elaborada a partir de diversas sugestões da sociedade civil brasileira que apontavam a necessidade de serem organizadas as atividades de registro dessa classe de medicamentos, de forma a melhorar o grau técnico dos produtos fitoterápicos comercializados no país. A Portaria 06/95 desencadeou um processo de adequação desse mercado, procurando transitar de uma fase confusa e liberal para um novo contexto, ético e rigidamente construído. Tal processo, iniciado com a publicação da portaria em 1995, envolve dois períodos de cinco anos para a realização dos estudos toxicológicos e da eficácia terapêutica (BRASIL, 1995).

Em vista da necessidade de normatização de estudos toxicológicos e de eficácia de produtos fitoterápicos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Portaria nº 116/96 de 08/08/96, elaborou roteiro técnico de estudos toxicológicos pré-clínicos e clínicos, complementada por preceitos gerais para estudos de eficácia terapêutica (BRASIL, 1996).

A publicação da Resolução RDC nº 17, de 24/02/2000 (ANEXO), instituiu e normatizou o registro de fitoterápicos junto a ANVISA. Para revalidação do registro de produtos fitoterápicos já comercializados, essa portaria estabeleceu prazo máximo de cinco anos para os estudos de eficácia clínica bem como os protocolos experimentais para os estudos toxicológicos dos fitoterápicos brasileiros (BRASIL, 2000).

1.1 Produtos Naturais

1.1.1 Diversidade molecular dos princípios ativos de origem vegetal

Após uma série de transformações tecnológicas, que fazem da planta medicinal uma droga vegetal, esta contém um certo número de substâncias que, na maior parte dos casos, age sobre o organismo humano (GOTTLIEB; BORIN, 1997). Em todas as espécies existem ao mesmo tempo princípios ativos e substâncias inertes (GARCIA, 1995). Quando isolado, o princípio ativo pode apresentar ação diferente daquela apresentada pelo vegetal inteiro. Os princípios ativos não se distribuem de maneira uniforme no vegetal, podendo concentrar-se nas flores, folhas e raízes, sementes, frutos ou casca. Os vegetais não apresentam uma concentração uniforme de princípios ativos durante o seu ciclo de vida, os mesmos podem variar com o habitat, a colheita e a preparação (MATOS, 2000). Dentre os mais importantes princípios ativos de origem vegetal podemos citar: glicosídeos antraquinonas, saponinas, cianogénicos, cardioativos, cumarínicos, flavonóides, alcalóides, taninos, óleos essenciais, substâncias aromáticas (GARCIA, 1995).

Os glicosídeos desempenham papel importante na vida da planta, participando de funções reguladoras, protetoras e sanitárias. Os glicosídeos são substâncias que, por hidrólise originam um ou mais açúcares (glicona) e um núcleo fundamental, denominado aglicona, que classifica o glicosídeos em antraquinônico, saponínico, cianogénico, flavonóide, cardioativo, cumarínico. A porção aglicônica é a determinante da ação farmacológica que o grupamento osídico modula (ROBBERS et al., 1997).

Nos glicosídeos cardioativos sua absorção pelo organismo é cumulativa, de modo que, embora possa ocorrer de forma aguda, a intoxicação é mais frequentemente crônica. Os fenômenos conseqüentes a essa administração se traduzem por sensação de mal-estar, náuseas, vômitos, suores frios, convulsões, desmaios e morte por parada cardíaca. A principal espécie medicinal do grupo é a Dedaleira (*Digitalis purpúrea* L.), usada na terapêutica médica na insuficiência cardíaca. Seu princípio ativo, a digitoxina, classificada entre as substâncias altamente tóxicas (MATOS, 2000).

As plantas que produzem antraquinonas são valorizadas como purgativas. Entre os diversos derivados da antraquinona incluem-se a antrona, a oxantrona, o antranol e o diantranol. Nesse grupo, os vegetais mais comumente utilizados, pela indústria farmacêutica no Brasil e em outros países, contendo antraquinonas são: a cáscara sagrada (*Rhamnus purshiana*), a sene (*Senna Alexandria*) e o ruibarbo (*Rheum palmatum*) (MATOS, 2000).

Os glicosídeos saponínicos em solução aquosa formam espuma persistente e abundante. A sua propriedade física principal é reduzir fortemente a tensão superficial da água, constituindo-se excelentes emulsionantes. Esses compostos apresentam ainda atividade hemolítica sobre os glóbulos vermelhos, expectorante, diurética e anti-séptica das vias urinárias. Os medicamentos à base de saponinas mais usados são a glicirrizia (*Glycyrrhiza glabra*) e o ginseng (*Panax ginseng*) (ROBBERS et al., 1997). Os glicosídeos saponínicos, encontram-se em várias espécies vegetais pertencentes às famílias Rubiáceae, Solanáceae, Convolvuláceae e Malpighiáceae.

Os flavonóides estão entre os compostos naturais mais disseminados em plantas, as principais categorias estruturais gerais são as flavonas, as flavononas, (os flavonóis as antocianidinas e as isoflavonas). De acordo com Podolsky (1994) diversas propriedades farmacológicas são atribuídas aos flavonóides: redução da fragilidade capilar, ações antiinflamatórias, antialérgica, antitumoral, antiviral, antimicrobianas e antioxidantes. Aldin et al., (2001) destacam a sua função nas dislipidemias inibindo a oxidação do LDL, conseqüentemente, diminuindo a aterogenicidade e o risco de doença coronária. No entanto, alguns flavonóides possuem atividade pró-oxidante diminuindo a capacidade respiratória de mitocôndrias isoladas, pela sua auto-oxidação, gerando espécies reativas de oxigênio (SANTOS et al., 1998).

As cumarinas são lactonas derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico, amplamente distribuídas no reino vegetal. Estes compostos possuem efeito antipirético e propriedades broncodilatadoras e antiasmáticas (LEAL et al., 2000). De acordo com Kuster e Rocha (2000) as cumarinas e seus metabólitos reúnem amplo espectro de ações farmacológicas, destacando a 4-hidróxi-cumarina do qual derivam importantes fármacos anticoagulantes como a varfarina; a escoporona por suas atividades imunossupressoras, relaxante muscular, hipolipêmica e hipotensora; a escopoletina por

sua atividade antiespasmódica; a di-hidropirano-cumarinas mostraram atividades vasodilatadora e antitrombócita; a umbeliferona com atividades inibidoras de carcinogêneses, antiespasmódicas, anti-arritmica, e a esculetina possui atividades antitumoral e antifúngica. No homem, a 7-hidroxicumarina é o principal metabólito da cumarina, estes compostos exercem atividade citostática em adenocarcinoma (LOPES-GONZÁLES et al., 2000). A manifestação mais comum da toxicidade das furacumarinas em mamíferos é a fitofotodermatite, uma reação epidérmica caracterizada por erupções bolhosas, hiperpigmentação, eritema e formação de vesícula (CORTEZ et al., 1999). A reação de fototoxicidade depende da concentração dos compostos cumarínicos existentes no vegetal em questão e, também, da hipersensibilidade individual (ELDIN; DUNFORD, 2001).

Em plantas ricas em alcalóides, estes desempenham diversas funções: atuando como depósitos para a síntese protéica, regulando as atividades do crescimento, metabolismo, reprodução; contendo substâncias de reserva - os compostos nitrogenados e outras substâncias necessárias para o metabolismo, atuando como precursores de coenzimas e hormônios (SALINAS; BERMÚDEZ, 1999). Alguns alcalóides são extremamente tóxicos como aqueles encontrados no esporão do centeio (*Secale cornutum*). Espécies como *Coffea arabica*, *Erythoxylum coca* e a *Nicotiana tabacum*, detêm em sua composição os alcalóides: cafeína, cocaína e nicotina - estimulantes do SNC, bastante utilizados na produção de medicamentos alopáticos (ROBBERS et al., 1997). As espécies do gênero *Datura ssp* (Solanaceae), são ricas em alcalóides tropânicos (hioscina e escopolamina), que podem provocar intoxicações anticolinérgicas fatais (SALINAS; BERMÚDEZ, 1999). Plantas com alto teor de alcalóides pirrolizidínicos (sinfitina e equimidina), como verificado em algumas Boragináceas (Raízes de Confrei - *Symphytum officinale*), são hepatotóxicas podendo levar, em doses elevadas ao surgimento de câncer hepático (POZETTI, 1991).

1.1.2 Própolis

A própolis é uma resina que as abelhas coletam dos brotos e cascas das plantas, acrescentada de algumas secreções salivares das mesmas. Na colméia é utilizada para protegê-la contra ação de microorganismos, mantendo-a desta forma saudável. De acordo com Bernardo et al., (1990) a própolis é uma mistura de diversos componentes (50 a 55% de resina bálsamo; 5 a 10% de pólen, minerais, vitaminas e enzimas; 30 a 40% de cera e 10% de óleos voláteis), que variam segundo a espécie vegetal visitada pelas abelhas. Já foram identificados: flavonóides (flavonas, flavononas); terpenos (aldeídos aromáticos vanilina); ácidos aromáticos não saturados; ácidos orgânicos (ácido benzóico e derivados); cumarinas; vitaminas: B₁, PP e A (ISLA et al., 2001; NIEVA MORENO et al., 2000).

Várias atividades farmacológicas tem sido atribuídas à própolis: antimicrobianas (Kujumgiev et al., 1999; Nieva Moreno et al., 1999), cicatrizante (Bernardo et al., 1990), antiviral e fungicida (Kujumgiev et al., 1999), antiulcerogênica e antiinflamatória (Wang et al., 1993), imunoestimulante, hipotensora e antioxidante (ISLA et al., 2001).

Segundo Hausen (1987) e Burdock (1998), embora a própolis seja uma substância totalmente natural, e não apresentar nenhuma toxicidade, seu uso é contraindicado em indivíduos que desenvolvem reações alérgicas quando picados por abelhas.

1.1.3 Mel de Abelha

O mel é uma suspensão viscosa muito doce com aroma particular produzida por abelhas melíferas a partir do néctar das flores. É um dos alimentos naturais mais antigos que se conhece, muito utilizado como edulcorante bem como na prevenção e tratamento de enfermidades no homem e animais. O mel de abelha é constituído de diferentes açúcares, especialmente, frutose e glicose podendo estar presente também, sacarose, maltose e polissacarídeos. Contêm, também, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, minerais, pólen, e um número limitado de fungos, algas e leveduras

(GARCIA et al., 1986). O mel é utilizado como fonte energética valiosa, apresentando reconhecido efeito laxante. Por ser um alimento de alto valor nutritivo, ele é indicado como meio profilático e curativo nas fadigas físicas e mentais De acordo com Efem (1992) e Tostes e Leite (1994), o mel como agente tópico apresenta atividade antimicrobiana. Vários estudos, com modelos experimentais de úlcera têm demonstrado a eficácia do mel contra lesões gástricas aguda e crônica, bem como efeito antioxidante (EFEM, 1992; MOBAROK ALI et al., 1997). Como no caso da própolis, recomenda-se cuidados em pessoas que já tiveram reações alérgicas a picadas de abelhas, pelo risco de manifestações alérgicas (GARCIA et al., 1986).

1.1.4 *Mikania glomerata* Sprengel

Mikania glomerata Sprengel (Compositae), popularmente conhecida como GUACO é um subarbusto trepador originário da América do Sul, amplamente utilizada na medicina popular em doenças respiratórias além de apresentar propriedades farmacoterapêuticas como: tônico, depurativo, febrífugo sendo usado, ainda, como estimulante do apetite e no tratamento da gripe (ABOY et al., 2000; MATOS, 1998). Administrada usualmente na forma de xarope ou lambedor a espécie é utilizada na medicina popular para aliviar crises de asma e tosse. Emprega-se, também o decocto em gargarejos; e sua tintura é aplicada em fricções ou em compressas nas partes afetadas por nevralgias, pruridos e dores reumáticas (CARVALHO et al., 1997; FIERRO et al., 1998; LEAL et al., 2000; MATOS, 2000; TESKE et al., 1995).

Estudos químicos com *M. glomerata* revelaram a presença de óleo essencial di e sesquiterpenos (monoterpeno, borneol e eugenol); flavonóides, taninos; saponinas; guacina; cumarinas; guacosídeo e substâncias aromáticas (TESKE et al., 1995). Oliveira et al. (1985) isolaram e identificaram as seguintes substâncias: ácido caurenóico, ácido cinamoil, ácido grandiflórico, flavonóides e cumarinas. O estudo fotoquímico de extrato diclorometânico dos caules de segmentos foliares de *M. glomerata* resultaram no isolamento dos esteróides campesteraol, estigmasterol, e η -sitosterol e da cumarina (SANTOS et al., 1999). A cumarina presente em grande quantidade nos extratos de suas folhas é o constituinte químico que confere identidade ao produto, a qual são atribuídos os efeitos broncodilatador e antiasmático

(CARVALHO, 1997; CELIGHINI et al., 1996; LEAL et al., 2000; LOPES et al., 1997). Outros estudos demonstraram, atividade antiinflamatória (FIERRO et al., 1998; OLIVEIRA et al., 1985; SOARES DE MOURA et al., 1996) e antialérgica (FIERRO et al., 1998) para essa espécie.

De acordo com Teske et al., (1995), a *M. glomerata* potencializa o efeito de anticoagulantes cumarínicos, não devendo ser usado concomitantemente com heparina, pois aumenta o risco de sangramento e o seu uso prolongado pode causar acidentes hemorrágicos e antagonismo com a vitamina K. Em altas doses, o guaco chega a provocar vômitos e diarreia que desaparecem após suspensão do tratamento (MATOS, 1989).

1.1.5 *Eucalyptus globulus* Labill

Eucalyptus globulus Labill da família Myrtaceae é originário da Austrália. As folhas do eucalipto contêm: óleo essencial, taninos, ácidos fenólicos, flavonóides e ceras (ROBBERS et al., 1997). O óleo é constituído, predominantemente de eucaliptol (1,8-cineol) além de hidrocarbonetos monoterpênicos, sesquiterpenos, aldeídos e cetonas. As ações farmacológicas são devidas fundamentalmente ao óleo essencial (1,8-cineol) (ZANKER et al. 1984; ROBBERS et al., 1997; SANTOS; RAO, 2002), que apresentam propriedades antiespasmódica, anti-séptico; expectorante balsâmico; antibiótica; antifúngica (ZANKER et al., 1984); antiinflamatório sistêmico e analgésico (SANTOS; RAO, 2000). Estudos realizados por Santos et al.,(2001) indicam que 1,8-cineol poderiam oferecer uma estratégia terapêutica nova a combater hepatites tóxicas e outras patologias séptico-choque-associadas. De acordo com Matos (1998) as folhas são indicadas para: afecções das vias respiratórias (bronquites, gripes, faringites, sinusites, tosse irritativa, asma); infecções urinárias; diabetes; afecções febris; reumatismo; úlceras e feridas. Doses elevadas do óleo essencial podem provocar irritações gástricas, hematúria, proteinúria, náuseas, taquicardia, sonolência, convulsões, delírio e coma (MELIS et al., 1990), de acordo com Tisserand; Balacs (1995) o óleo essencial pode apresentar risco de sensibilização e alergia de contato. A administração da espécie não é recomendada durante o período gestacional e de lactação.

1.1.6 *Zingiber officinale* Roscoe

Zingiber officinale (Gengibre), pertencente à família Zingiberaceae, é uma erva anual, de origem asiática, mas cultivada em todo o mundo como planta condimentar. Tem folhas longas e seu caule nasce de um rizoma ramificado com odor pronunciado. Popularmente, a espécie é conhecida como uma planta quente devido ao seu sabor acre e picante. O rizoma contém amido, proteínas, gorduras, ácidos orgânicos, sais minerais e até 3% de óleo essencial rico em gingerol e oleoserina (MATOS, 1998). O gingerol é a substância volátil que dá o aroma e sabor forte e picante pronunciado do gengibre. A oleoserina é a responsável pela ação pungente. Popularmente o chá de gengibre é utilizado para alívio de doenças das vias respiratórias tais como: tosse, bronquite, resfriado e rouquidão. A referida espécie tem ação carminativa, antiemética, espasmolítica, estimulante da circulação periférica, antiinflamatória, estimulante da digestão e tônica (PEREZ DE ALEJO et al., 1996; TESKE et al., 1995). Considerável interesse tem sido demonstrado no seu uso como antiemética, em razão da ausência de efeitos colaterais em comparação a outras drogas (SHARMA et al., 1997). A literatura registra ainda a presença de atividades antimicrobiana, antifúngica contra *Aspergillus ochraceous* (Habsah et al., 2000), antioxidantes (AHMED et al., 2000; HABSAH et al., 2000) e propriedades afrodisíacas (QURESHI, 1989). Segundo Teske et al. (1995), a atividade antiinflamatória é provavelmente devido à inibição da biosíntese de prostaglandinas, por isso a sua eficácia no estudo de casos recentes da desordem reumáticas e artríticas. Trabalho desenvolvido por Wilkinson (2000), demonstrou efeito embriotóxico da infusão de *Z. officinale* (15, 20 ou 50 g/l), administrada em ratas prenhas durante 20 dias.

1.1.7 *Allium sativum* Linn.

Allium sativum (Liliáceas) popularmente chamado alho é uma planta herbácea, bulbosa anual, cultivada há séculos pelo homem em todo o mundo como hortaliça condimentar e medicinal (MATOS, 1998). *A. sativum* contém diversos metabólitos biologicamente ativos destacando-se: alicina, aliina, alinase, óxido dialildissulfeto, alitiamina, germânio, fator anti-hemolítico, vitamina A, B₁, B₂, C, ácido nicotínico, colina, hormônios, iodo (JESSE et al., 1997). As células íntegras do alho contém sulfóxido de (+)-S-allyl-L-cisteína, aminoácido inodoro que contém enxofre. A enzima alinase catalisa a formação de alicina composto de enxofre ativo, responsável pelo sabor, odor e grande parte dos efeitos antibacterianos e antiinflamatórios do alho (ELLMORE, FELDEBERG, 1994).

Utiliza-se o alho popularmente pelas múltiplas propriedades que lhes são atribuídas entre elas destacamos: ação antihipertensivas, anticoagulantes, revitalizadora, estimulante, antiasmática, cardioativa, antianginosa, antiinfeciosa, antipirética, antidiabética, hipocolesterolêmica, anticancerosa, vermífuga, expectorante (MATOS, 2000, PEREZ DE ALEJO et al., 1996; RODRIGUEZ, 1989). Diferentes estudos realizados com *A. sativum* têm demonstrado atividade antihipertensiva (AL-QATTAN et al., 1999; RODRIGUEZ, 1984); diurética (PANTOJA et al., 1989); antifúngica (BONIFAZ et al., 1990); antioxidante (BALASENTHIL et al., 2000) e anti-helmíntica (CAMPOS et al., 1990). A espécie tem mostrado significativo efeito contra o câncer de estômago. Em doses elevadas pode desenvolver dermatites alérgicas e disfunção plaquetária (JESSE et al., 1997).

1.2. Avaliação Toxicológica

A administração no homem de um composto químico tem a possibilidade de desencadear efeitos adversos inesperados. É, portanto, extremamente importante conhecer não somente a eficácia terapêutica de um medicamento, mas, também as reações adversas que podem se desenvolver a curto, médio e longo prazo (CEVALLOS, 1996).

A avaliação toxicológica compreende a análise dos dados de uma substância ou composto químico com o objetivo de classificá-lo do ponto de vista toxicológico e, ao mesmo tempo, fornecer informações a respeito da forma correta de seu emprego, bem como as medidas preventivas e curativas quando do seu uso inadequado (LARINI, 1997).

Os testes de toxicidade são delineados não somente para demonstrar que um fitoterápico é seguro, mas para caracterizar os efeitos tóxicos que o composto pode produzir. O desenho do protocolo experimental para os ensaios toxicológicos pré-clínicos depende da via de administração, bem como do tempo que se pretende administrar o fármaco em humanos (KLAASSEN; WATKINS, 2001).

1.2.1 Toxicidade aguda.

O estudo de toxicidade aguda têm por objetivo caracterizar a relação dose/resposta que conduz ao valor estimado da DL_{50} . Este parâmetro que representa a probabilidade estatística de uma dose causar efeito letal em 50 % dos animais de uma população é útil para identificar a toxicidade relativa da substância (FOWLER; RUTTY, 1983). As espécies animais mais utilizadas são roedores com destaque para os ratos albinos (machos e fêmeas) sempre utilizando um número nunca inferior a 10 (dez) animais para cada dose experimental. Quatro doses crescentes do composto químico são selecionados de tal maneira que a menor dose não provoque mortalidade nos animais do grupo e a maior dose provoque 100% de mortalidade (PAUMGARTEN at al., 1989).

Os resultados dos testes de toxicidade aguda fornecem: (1) uma estimativa quantitativa da toxicidade aguda (DL_{50}) para comparação com outras substâncias, (2) identifica os órgãos alvo e outras manifestações de toxicidade aguda, (3) estabelecem a reversibilidade da resposta tóxica aguda, (4) estabelecem a dosagem para outros estudos. Esses dados são importantes para a elaboração dos protocolos clínicos (KLAASSEN; WATKINS, 2001).

No estudo de toxicidade aguda os animais são tratados com dose única do produto em teste ou, eventualmente, com doses repetidas em período não superior a 24 horas. A avaliação dos resultados imediatamente após esse período permitirá conhecer a espécie mais sensível e o índice de letalidade. A manutenção de alguns desses animais tratados agudamente por 7 a 14 dias permitirá verificar os efeitos tardios do tratamento e também se há reversibilidade da ação tóxica durante este período. Esse teste agudo é obrigatório para todos os tipos de produto, independente do tempo de uso proposto para a espécie humana, pois evidencia os potenciais riscos de intoxicações agudas, inadvertidas ou não, e a forma de preveni-las. Além disso, dão suporte à escolha das doses para os demais testes de toxicidade (LAPA et al., 2000).

1.2.2 Toxicidade crônica

A finalidade desse teste, com múltiplas doses é avaliar ações qualitativas e/ou quantitativamente diferentes produzidas pelo maior tempo de exposição ao produto, permitindo, também, medir a latência dos efeitos tóxicos e o acúmulo da droga no organismo. Uma vez comprovada a relação entre doses e efeitos tóxicos é possível determinar a maior dose que não produz efeito tóxico detectável. Este é um parâmetro importante na avaliação da margem de segurança do fármaco no qual se baseia o cálculo da dose inicial a ser empregada nos testes clínicos (KLAASSEN; WATKINS, 2001). A duração dos testes de toxicidade crônica tem relação direta com a dose a ser administrada em humanos: se em dose única, ou parcelada em 24 horas, a administração experimental intermitente deverá ser de no mínimo 14 dias; se o tratamento humano é previsto para 7 ou 30 dias (ou mais), os animais devem ser tratados ininterruptamente por um mínimo de 30 a 90 dias, respectivamente. De acordo com essa duração, os testes de dose repetidas são subdivididos em testes subagudos, ou de doses repetidas-menos de 30 dias de tratamento; testes subcrônicos -mínimo de 30 dias ou testes crônicos -mínimo de 90 dias (LAPA et al., 2000).

Larini (1997) classifica a toxicidade crônica em toxicidade a curto, médio e em longo prazo. Na toxicidade em curto prazo é administrada dose diária por um período de 28 dias, é recomendada pelo menos três doses experimentais. A maior dose

não deve produzir mais do que 10% de mortalidade, após uma dose inicial. A toxicidade em médio prazo representa a capacidade das substâncias em produzir efeitos adversos, como resultado da administração de dose repetidas, em animais de laboratório, durante um período de tempo não superior a 10% de vida média do animal utilizado. A toxicidade em longo prazo é obtida a partir da administração diária do agente tóxico em animais de laboratório, durante 12 meses. A via oral de administração é preferida e, neste caso a substância deve ser incorporada à dieta do animal.

Diante da utilização cada vez mais freqüente de medicamentos de origem vegetal e visto que para o grande público, que não tem acesso aos resultados de pesquisa científica, a planta medicinal é sinônimo de inocuidade, o benefício das plantas é um assunto complexo. Certo, elas podem servir como medicamento, mas é necessário lembrar que uma espécie não se resume a alguns constituintes químicos e que em fitoterapia, em geral, é preciso considerar o *totum* da planta. Não é, portanto difícil de prever que, como toda medida terapêutica, a fitoterapia utilizada incorretamente, sem as devidas precauções (toxicidade aguda e crônica, efeitos colaterais etc.) pode gerar problemas mais importante que aqueles observados com a utilização da alopatia.

Nesse estudo nos propomos a contribuir para o conhecimento de informações toxicológicas sobre fitoterápicos comercializados para o tratamento de afecções respiratórias (*M. glomerata*, *E. globulus*, *Z.officinale* e *A. sativum*).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade aguda e crônica de fitoterápicos à base de mel de abelha própolis e três extratos de plantas medicinais (*M. glomerata* ou *E. globulus*, ou da associação *Z.officinale* e *A. sativum*), comercializados pela indústria nacional.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a DL₅₀ dos fitoterápicos estudados
- Identificar sinais de toxicidade aguda ou crônica causadas pelos fitoterápicos
- Verificar a influência dos fitoterápicos A, B ou C sobre os parâmetros hematológicos
- Avaliar a influência dos fitoterápicos A, B ou C sobre os parâmetros bioquímicos.
- Identificar a influência dos fitoterápicos em estudo sobre os principais órgãos
- Orientar nas doses de referência. nos ensaios toxicológicos clínicos

3 MATERIAIS e MÉTODOS

3.1 Produtos Fitoterápicos

Os fitoterápicos utilizados foram: (A) Mel de abelha, própolis e extrato de *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco); (B) Mel de abelha, própolis e extrato de *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto) e (C) Mel de abelha, própolis e extratos de *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre) e *Allium sativum* Linn.(Alho). Os fitoterápicos foram gentilmente cedidos pelo Laboratório PRONATU (São Paulo - Brasil).

Composição do fitoterápico A

Solução alcoólica de própolis.....	1,80%
Extrato de <i>Mikania glomerata</i> S. (guaco).....	3,70%
Mel de abelha q.s.p	100 ml

Composição do fitoterápico B

Solução alcoólica de própolis	1,80%
Extrato de <i>Eucalyptus globulus</i> L. (eucalipto)	3,70%
Mel de Abelha q.s.p	100 ml

Os fitoterápicos A e B apresentam-se como um líquido espesso de tonalidade variando do bege claro ao marrom envasado em vidro âmbar com apresentação de 100 ml, sob a forma de xarope. A dose preconizada para os dois produtos corresponde a 03 colheres de sopa (15 ml) de xarope, três vezes ao dia.

Composição do fitoterápico C

	Volume(ml)
Extrato fluído de <i>Zingiber officinale</i> R.(gengibre)..	43
Extrato fluído de <i>Allium sativum</i> L. (alho)	1,7
Extrato de própolis	1,3
Mel de abelha	30
Água destilada q.s.p	100

O fitoterápico C apresenta-se como líquido de coloração parda, de forte odor, acondicionado em vidro âmbar com apresentação de 100 ml, sob a forma de “spray”ou gotas. A dose preconizada corresponde a 8 a 10 gotas a cada 2 horas.

Para realização do ensaio de toxicidade, foi utilizado um “pool”, de cada fitoterápico comercializados, pertencentes a diferentes lotes.

3.2 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos albinos Swiss e ratos Wistar de ambos os sexos, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em temperatura controlada (23 ± 2 °C) em ciclos claro/escuro de 12 horas com água e ração balanceada *ad libitum*.

3.3 Toxicidade Pré-Clinica

3.3.1 Toxicidade aguda

Para determinação da DL_{50} do fitoterápico **A** (mel de abelha, própolis e extrato de *M. glomerata*) utilizamos 05 grupos de camundongos de ambos os sexos (20-30g; n=10 animais/grupo), submetidos a jejum de 12 horas, aos quais administramos oralmente doses crescentes do fitoterápico (7,5; 15; 25 ou 35 ml/kg). O grupo controle recebeu solução salina 0,9% (35ml/kg; v.o.). O volume administrado variou de 0,25ml (7,5ml/kg) a 1ml (35ml/kg), uma vez que diluições para uniformização do volume provocariam alterações na composição original do produto. Doses maiores foram impraticáveis uma vez que ultrapassaria o volume máximo (1ml) que deve ser administrado oralmente nessa espécie animal. Os grupos em estudo foram observados atentamente aos 30, 60, 120, 240 e 360 minutos e depois a cada 24 horas durante 14 dias. Ao final do ensaio, os animais sobreviventes foram sacrificados através de deslocamento cervical e foram realizados exames macroscópicos dos seguintes órgãos: coração, pulmões, rins, fígado, estômago, ovários, úteros e testículos. A percentagem de mortalidade foi observada por 72 horas e a DL_{50} foi calculada, de acordo com o método do probito (MILLER; TAINTER, 1944).

O mesmo procedimento foi seguido para o estudo da DL_{50} dos fitoterápicos **B** mel de abelha, própolis e extrato de *E. globulus* e **C** mel de abelha, própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum*.

3.3.2 Toxicidade crônica

Para a determinação da toxicidade crônica do fitoterápico A (mel de abelha, própolis e extrato de *M. glomerata*) utilizamos 03 grupos de ratos Wistar de ambos os sexos (145-252g; n=10 animais/grupo) aos quais administramos o fitoterápico (7,5 ou 15 ml/kg; v.o) durante 90 dias consecutivos. O grupo controle recebeu salina 0,9%(15ml/kg; v.o). Todos os animais foram privados de alimento duas horas antes e duas horas após o tratamento, permanecendo com água *ad libitum*. Os pesos corporais foram registrados a intervalos semanais para ajuste de dose. Ao final do tratamento e após jejum de 12 horas, foram retiradas amostras de sangue através de plexo orbital, para realização de exames hematológicos e bioquímicos no Laboratório Central do UFPE. Em seguida, os animais foram sacrificados através de deslocamento cervical, procedendo-se à retirada do coração, baço, fígado, rins, glândula supra-renal(gl.SR), estômago, pulmão, testículos, ovário e úteros sendo os mesmos pesados e analisados macroscopicamente.

O sangue foi processado para determinação do hemograma em analisador de células hematológicas Coulter TKS: hemácias (Hc), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), hemoglobina corpuscular média (HCM), volume corpuscular média (VCM), concentração hemoglobina corpuscular média (CHCM), leucócitos e plaquetas. Os esfregaços sanguíneos, corados pelo método de May-Grunwald-Giemsa, foram usados para as contagens diferenciais dos leucócitos (segmentados, eosinófilos, linfócitos e monócitos) Os parâmetros bioquímicos foram determinadas em amostras de soro de acordo com o fabricante (LABTEST) e a concentração de cada constituinte foi determinada espectrofotometricamente pelos seguintes métodos: glicose (Orto-toluidina); uréia (Urease); colesterol (Huang mod.); HDL-colesterol (método enzimático); triglicérides (Soloni mod.); alanina amino-transferase-ALT (Frankel-Reitman); aspartato amino-transferase-AST (Frankel-Reitman); fosfatase alcalina (Bessey, Lowry mod.); proteínas totais (Biureto mod.).

O mesmo procedimento foi seguido para o estudo de toxicidade crônica dos fitoterápicos B (mel de abelha, própolis e extrato de *E. globulus*) ou C (mel de abelha, própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum*).

As doses selecionadas são equivalentes àquelas utilizadas em humanos, para o tratamento de afecções do trato respiratório, segundo informações contidas nas bulas dos respectivos fitoterápicos.

3.4 Análise Estatística

Os valores foram expressos como médias \pm erro padrão ($\epsilon x \pm \epsilon p$). Foram considerados estatisticamente diferentes os resultados que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade em 5% ($p < 0.05$) ou 1% ($p < 0.01$).

As análises de variância (ANOVA) para todos os parâmetros estudados foram realizadas de acordo com o modelo abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + S_j + (TS)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2 \text{ e } 3 ; j = 1 \text{ e } 2.$$

onde μ é a média geral, T é o efeito devido aos tratamentos, S é o efeito devido ao sexo, TS é o efeito da interação tratamento x sexo, e ϵ é o error experimental normalmente distribuído e com variância igual a σ^2_{ϵ} e Y é a variável mensurada.

A análise de variância (ANOVA) e respectivos testes de comparação das médias foram realizados através do procedimento General Linear Model (GLM) do Statistical Analysis System (SAS).

4 RESULTADOS

4.1 Toxicidade Aguda

Os resultados relativos ao ensaio de toxicidade aguda do fitoterápico A-mel de abelha, própolis e extrato de *M. glomerata* (7,5; 15; 25 ou 35 ml/kg), estão apresentados na Tabela 1. Em relação aos exames clínicos não foi observado indicio de toxicidade, bem como, nenhum registro de mortalidade nas doses de 7,5 ou 15 ml/kg do fitoterápico. No entanto, os animais tratados na dose de 25 ml/kg apresentaram-se letárgicos, com retorno à normalidade 8 horas após o inicio do tratamento e nenhuma morte foi registrada nesse grupo.

O percentual de mortalidade do grupo tratado com fitoterápico A na dose de 35 ml/kg foi de 70%. Noventa minutos após a administração dessa dose, os animais apresentaram perda de coordenação motora. Dois animais deste grupo apresentaram convulsão seguida de morte.

Conforme apresentado na Tabela 1, não foi observado nenhum indicio de toxicidade, nem nenhum registro de mortalidade nos grupos tratados com o fitoterápico-B: mel de abelha, própolis e extrato de *E. globulus* nas doses de 7,5 e 15 ml/kg, quando comparados ao grupo controle.

O percentual de mortalidade no grupo tratado com fitoterápico B na dose de 25 ml/kg foi de 20%. Sessenta minutos após a administração dessa dose os animais apresentaram elevado grau de sedação, sendo, uma das mortes precedida de convulsão.

No grupo tratado com fitoterápico B na dose de 35ml/kg foi registrado o percentual de mortalidade de 40%. Os animais desse grupo apresentaram as mesmas alterações descritas anteriormente, porém de forma mais pronunciada e duas mortes foram precedidas de convulsão.

Os resultados relativos ao ensaio de toxicidade aguda do fitoterápico C- mel de abelha, própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum* (7,5, 15, 25 ou 35 ml/kg; v.o), estão apresentados na Tabela 1. Os exames clínicos não revelaram nenhum indicio de toxicidade nem também nenhum registro de mortalidade nas doses de 7,5 e

15 ml/kg. No entanto, todos os animais na dose de 25ml/kg apresentaram perda de coordenação motora e elevado grau de sedação. Dois animais apresentaram sedação em torno de 30 minutos e oito horas após a administração desta dose os animais apresentaram-se normais. Nenhuma morte foi registrada nesse grupo.

O percentual de mortalidade no grupo tratado com o fitoterápico C na dose de 35 ml/kg foi de 30%. Os animais apresentaram as mesmas alterações descritas anteriormente, porém de forma mais pronunciada.

TABELA 1: Porcentagem de mortalidade em camundongos machas e fêmeas tratados com os fitoterápicos A, B e C (7,5; 15; 25 ou 35 ml/kg; v.o) e controle salina 0,9% (35ml/kg; v.o).

Doses ml/kg; v.o	Fitoterápico A		Fitoterápico B		Fitoterápico C		Controle (salina 0,9%)	
	N ⁰ mortos/Total de animais	% mortalidade	N ⁰ mortos/Total de animais	% mortalidade	N ⁰ mortos/Total de animais	% mortalidade	N ⁰ mortos/Total de animais	% mortalidade
7,5	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
15	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
25	0/10	0	2/10	20	0/10	0	0/10	0
35	7/10	70	4/10	40	3/10	30	0/10	0

4.1.1 Exame macroscópico dos órgãos

O exame macroscópico dos órgãos vitais (coração, fígado, rins, pulmões, estômago) dos animais sobreviventes, 14 dias após a administração dos produtos fitoterápicos A, B ou C nas doses de 7,5; 15; 25; 35 ml/kg; v.o não apresentaram alterações, quando comparadas aos animais do grupo controle tratado com salina 0,9% (35ml/kg; v.o).

4.2 Toxicidade crônica do fitoterápico A: mel de abelha, própolis e extrato de *M. glomerata*

4.2.1 Efeito da administração crônica sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos em Ratos Wistar

Conforme mostrado nas Tabelas 2 e 3 não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes nos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos grupos tratados com o Fitoterápico A mel de abelha, própolis e extrato de *M. glomerata* nas doses de 7,5 ou 15ml/kg; v.o, durante 90 dias, quando comparados ao grupo tratados com salina 0,9% (15ml/kg; v.o).

Foram encontradas diferenças significantes ($p < 0.01$) em relação ao sexo para o número de hemácias, hemoglobina e hematócrito. Nestes parâmetros os valores obtidos para os machos foram superiores aqueles observados nas fêmeas (Tabela 2). Em relação às análises bioquímicas (Tabela 5), o efeito do sexo foi estatisticamente significativo ($p < 0.01$) para todos os parâmetros estudados. Os valores médios obtidos para as fêmeas foram superiores aqueles dos machos nos seguintes parâmetros: glicose, colesterol, HDL, triglicérides, fosfatase alcalina e proteínas. Nos demais parâmetros os machos obtiveram valores superiores aos das fêmeas (tabela 3).

TABELA 2: Efeito do tratamento com o fitoterápico A (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros hematológicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).

Parâmetros	Sexo	Fitoterápico A		Salina
		15ml/kg	7,5ml/kg	15ml/kg
Hemácias (mm ³)	m	5,7±0,1	5,6±0,1	5,7±0,1
	f	4,9±0,1	5,2±0,1	5,1±0,1
Hemoglobina (g/ml)	m	17,7±0,9	17,4±0,9	17,4±0,9
	f	15,3±0,9	16,9±0,9	15,0±0,9
Hematócrito (%)	m	53,4±1,1	52,4±1,1	52,8±1,3
	f	41,8±1,3	45,4±1,1	44,4±1,1
HCM (mm ³)	m	94,1±0,51	94,8±0,51	94,0±0,51
	f	94,6±0,51	94,6±0,51	93,8±0,51
VCM (mm ³)	m	93,0±1,1	93,2±1,1	93,4±1,2
	f	85,9±1,2	88,6±1,1	87,7±1,1
CHCM (%)	m	33,2±0,3	33,1±0,3	32,8±0,3
	f	31,8±0,3	32,6±0,3	33,1±0,3
Leucócitos (mm ³)	m	8340±0,5	7200±0,5	8725±0,6
	f	7875±0,6	8020±0,5	7640±0,5
Segmentados (%)	m	35,0±4,8	36,8±4,8	27,8±5,2
	f	33,5±5,2	33,4±4,6	32,8±4,6
Eosinófilos (%)	m	2,0±0,46	3,0±0,55	2,4±0,55
	f	2,0±0,56	2,6±0,55	2,0±0,55
Linfócitos (%)	m	61,8±4,7	60,0±4,7	68,5±5,2
	f	63,5±5,2	63,6±4,7	63,6±4,7
Monócitos (%)	m	3,2±0,4	2,6±0,4	3,3±0,5
	f	3,0±0,5	3,0±0,4	3,6±0,4
Plaquetas (mm ³)	m	276,0±30,5	268,0±30,5	243,8±34,1
	f	276,0±34,1	346,0±30,5	301,6±30,5

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

- valores de hemácias devem ser multiplicados por 10⁶.

- valores de plaquetas devem ser multiplicados por 10³

TABELA 3: Efeito do tratamento com o fitoterápico A (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros bioquímicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).

Parâmetros	Sexo	Fitoterápico A		Salina
		15ml/kg	7,5ml/kg	15ml/kg
Glicose (mg/dl)	m	62,9±6,8	59,7±6,8	56,6±6,8
	f	120,2±7,6	126,2±7,6	95,9±7,6
Uréia (mg/dl)	m	30,5±2,1	32,2±2,1	28,6±2,3
	f	19,1±2,3	18,6±2,3	16,0±2,1
Colesterol (mg/dl)	m	70,8±7,9	77,4±7,9	90,7±8,9
	f	120,5±8,9	126,5±8,9	131,7±7,9
HDL (mg/dl)	m	24,5±3,5	27,6±3,5	37,6±3,9
	f	53,2±3,9	52,9±3,9	53,6±3,5
Triglicérides (mg/dl)	m	67,2±6,9	75,6±6,9	80,5±±6,9
	f	87,6±7,7	108,3±7,8	92,4±7,7
AST (U/L)	m	117,2±15,4	102,4±15,4	110,3±15,4
	f	55,0±17,3	67,0±17,3	57,2±17,3
ALT (U/L)	m	115,2±10,0	99,4±10,0	106,0±11,2
	f	57,3±11,2	70,0±11,2	50,8±10,0
Fosfatase alcalina (U/L)	m	90,1±1,0	88,0±1,0	88,0±1,0
	f	116,0±1,1	128,0±1,1	116,0±1,1
Proteína (g/100mL)	m	5,4±0,5	6,2±0,5	6,0±0,5
	f	9,0±0,6	8,2±0,6	9,3±0,6

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

4.2.2 Avaliação do efeito crônico do fitoterápico A- mel de abelha própolis e extrato de *M. glomerata* sobre os principais órgãos e peso corporal de ratos Wistar

A média dos pesos dos diferentes órgãos e dos pesos corporal dos animais tratados com o fitoterápico A mel de abelha com própolis e extrato de *M. glomerata* (7,5 ou 15 ml/kg; v.o) são mostrados, na tabela 4 e nas figuras 1a e 1b, respectivamente.

Foram observadas diferenças significativas nos pesos do baço ($p < 0.01$), fígado ($p < 0.05$) e rins ($p < 0.01$) dos ratos machos tratados com o fitoterápico nas doses de 7,5 ou 15 ml/kg (tabela 6). A média do peso do baço ($1,24 \pm 0,05$) no grupo tratado com o fitoterápico 15 ml/kg foi superior aquela do grupo controle ($0,78 \pm 0,05$). A média do peso do fígado ($12,1 \pm 0,43$) no grupo tratado com o fitoterápico na dose de 7,5 ml/kg foi superior aquela do grupo controle salina 0,9% ($10,20 \pm 0,43$). Em relação à média do peso do rins ($1,24 \pm 0,03$) no grupo tratado com o fitoterápico na dose de 7,5 ml/kg, também observamos um valor superior aquela verificado no grupo controle ($1,12 \pm 0,03$).

Os grupos de ratos machos tratados com fitoterápico apresentaram média de peso de órgãos superior aos das fêmeas. A análise estatística revelou diferenças significativas ($p < 0.01$) nestes parâmetros.

Não foi observada alteração macroscópica dos órgãos de todos os animais.

Como pode ser observado nas Figuras (1a e 1b) não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes na evolução do peso corporal para os ratos machos e fêmeas tratados com o fitoterápico (7,5 ou 15ml/kg; v.o), quando comparada ao grupo controle tratado com salina (15 ml/kg; v.o).

TABELA 4: I (ι αζ ω# υ# φ κ ω# / v 8770# υ ω# | ψ υ ω# κ# υ ζ υ υ ω# Γ ω ζ ψ# υ ζ υ ζ υ ω# θ υ σ# λ ο υ υ κ υ# φ υ# 5# Υ υ ζ τ υ κ# 7# α ζ ω# τ | 87# ζ τ σ ζ ω ω# υ υ φ υ 05#

Orgãos	Sexo	Fitoterápico A		Salina 15ml/kg
		15ml/kg	7,5ml/kg	
Coração	m	1,24±0,06	1,28±0,06	1,12±0,06
	f	0,77±0,06	0,74±0,06	0,80±0,06
Baço	m	1,24±0,05 **	0,82±0,05	0,78±0,05
	f	0,50±0,06	0,62±0,05	0,58±0,05
Fígado	m	10,34±0,43	12,10±0,43*	10,20±0,43
	f	6,90±0,48	7,20±0,43	6,60±0,43
Rim	m	1,12±0,03	1,24±0,03 **	1,12±0,03
	f	0,71±0,04	0,78±0,03	0,71±0,03
Glândula Supra-renal	m	0,048±0,004	0,052±0,004	0,045±0,004
	f	0,020±0,004	0,023±0,004	0,018±0,004
Estômago	m	1,70±0,09	1,90±0,09	1,74±0,09
	f	1,50±0,10	1,48±0,09	1,56±0,09
Pulmão	m	2,92±0,18	2,78±0,18	2,70±0,18
	f	1,78±0,20	1,46±0,18	1,46±0,18
Testículos Ov/Útero	m	1,60±0,03	1,53±0,03	1,60±0,03
	f	0,72±0,10	0,70±0,09	0,70±0,09

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

* estatisticamente significativo p<(0.05)

**estatisticamente significativo p<0.01

Figura 1a. Evolução do peso corporal de machos tratados com o fitoterápico A durante 12 semanas

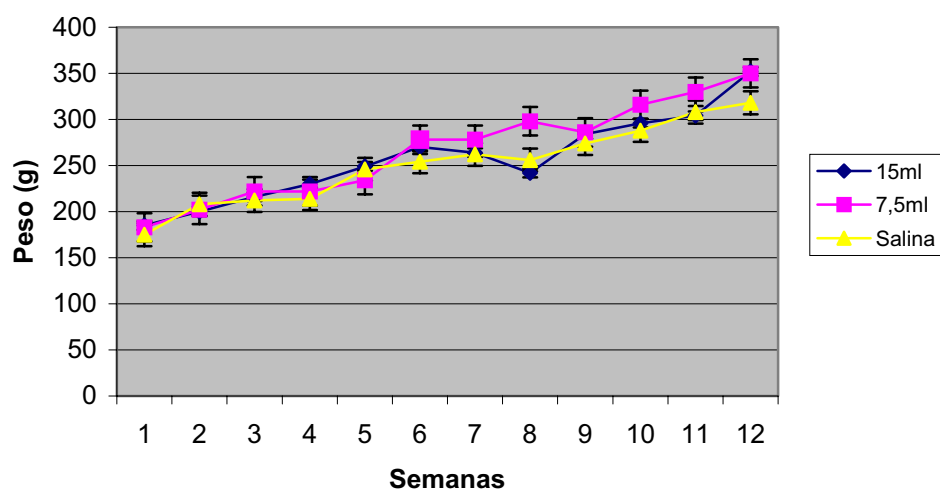
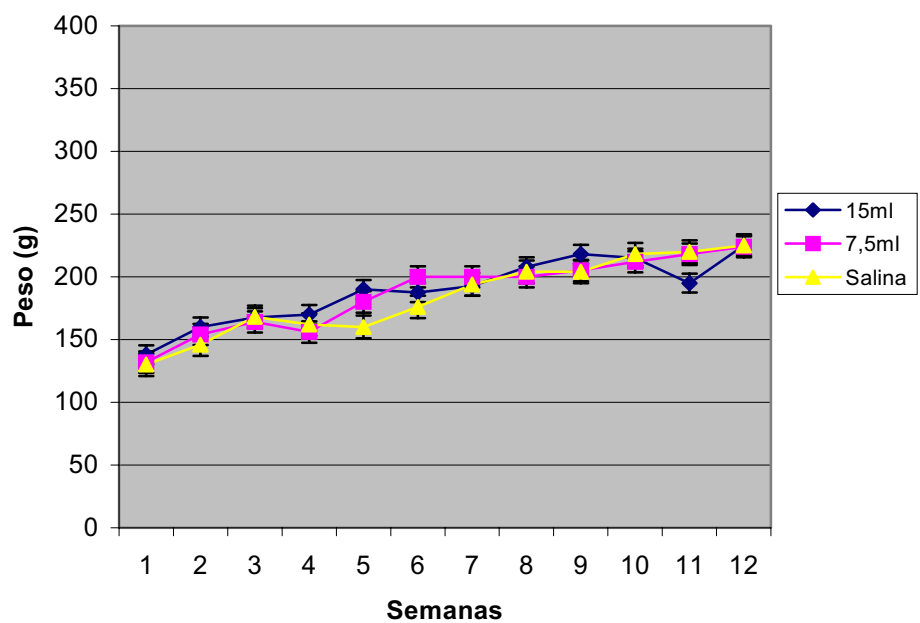


Figura 1b. Evolução do peso corporal de fêmeas tratadas com o fitoterápico A durante 12 semanas



4.3 Toxicidade Crônica do Fitoterápico B: mel de abelha, própolis e extrato *E. globulus*

4.3.1 Efeito crônico da administração do fitoterápico nos parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos Wistar

Os dados referentes aos parâmetros hematológicos estão expressos na tabela 5. Não foram encontrados diferenças estatisticamente significantes entre os grupos tratados com o fitoterápico mel, própolis e extrato *E. globulus* (7,5 ou 15ml/kg; v.o), quando comparado ao grupo controle.

Em relação aos parâmetros bioquímicos, com exceção do valor dos triglicérides para os ratos machos ($102,0 \pm 8,8$) ou fêmeas ($100,0 \pm 8,8$) do grupo tratado com 7,5 ml/kg do fitoterápico, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes para nenhum outro parâmetro bioquímico, quando comparado ao controle (tabela 6).

TABELA 5: Efeito do tratamento com o fitoterápico B (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros hematológicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).

Parâmetros	Sexo	Fitoterápico B		Salina 15ml/kg
		15ml/kg	7,5ml/kg	
Hemácias (mm ³)	m	6,8±0,16	6,7±0,16	6,9±0,16
	f	6,3±0,16	6,7±0,16	6,1±0,16
Hemoglobina (g/ml)	m	21,4±0,51	21,0±0,51	20,6±0,51
	f	19,6±0,51	21,0±0,51	20,2±0,51
Hematócrito (%)	m	64±1,46	64±1,46	63±1,46
	f	59±1,47	63±1,46	60±1,46
HCM (mm ³)	m	94,1±0,51	94,8±0,51	94,0±0,51
	f	94,6±0,51	94,6±0,51	93,8±0,51
VCM (mm ³)	m	31,2±0,33	31,6±0,33	31,3±0,33
	f	31,4±0,33	31,4±0,33	31,5±0,33
CHCM (%)	m	33,2±0,27	33,2±0,27	32,9±0,27
	f	33,2±0,27	33,2±0,27	32,5±0,27
Leucócitos (mm ³)	m	5400±0,34	6080±0,34	5640±0,34
	f	5660±0,34	5920±0,34	5460±0,34
Segmentados (%)	m	39±1,01	41±1,01	39±1,01
	f	41±1,01	41±1,01	40±1,01
Eosinófilos (%)	m	2,4±0,56	4,0±0,55	2,4±0,55
	f	1,6±0,56	2,2±0,55	1,8±0,55
Linfócitos (%)	m	55±1,18	53±1,18	54±1,18
	f	53±0,18	53±0,18	56±0,18
Monócitos (%)	m	3,2±0,30	2,2±0,30	3,2±0,30
	f	2,8±0,30	3,0±0,30	2,6±0,30
Plaquetas (mm ³)	m	318±19,0	335±19,0	316±19,0
	f	260±19,0	299±19,0	284±19,0

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

σ(ι αζ ω#π υ#ω υ#κωξ υαωδθζ σκτ θκ#ι ολκμκτ θκω#κτ θμκ#ωα#

valores de hemácias devem ser multiplicados por 10⁶.

valores de plaquetas devem ser multiplicados por 10³

TABELA 6: Efeito do tratamento com o fitoterápico B (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros bioquímicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).

Parâmetros	Sexo	Fitoterápico B		Salina 15ml/kg
		15ml/kg	7,5ml/kg	
Glicose (mg/dl)	m	77,5±9,7	72,4±9,7	66,7±9,7
	f	60,4±9,7	79,3±9,7	68,5±9,7
Uréia (mg/dl)	m	50,1±2,2	43,3±2,2	41,8±2,2
	f	36,1±2,2	39,8±2,2	41,2±2,2
Colesterol (mg/dl)	m	94,0±7,3	71,2±7,3	89,7±7,3
	f	109,2±7,3	102,8±7,3	96,6±7,3
HDL (mg/dl)	m	36,5±5,4	33,2±5,4	39,1±5,4
	f	56,6±5,4	41,9±5,4	42,7±5,4
Triglicerídes (mg/dl)	m	96,0±8,8	102,0±8,8 **	86,8±8,8
	f	74,0±8,8	100,0±8,8 **	84,6±8,8
AST (U/L)	m	27,6±4,2	40,4±4,2	34,2±4,2
	f	34,6±4,2	36,6±4,2	31,2±4,2
ALT (U/L)	m	30,4±4,6	43,0±4,6	37,2±4,6
	f	39,0±4,6	41,4±4,6	39,4±4,6
Fosfatase alcalina (U/L)	m	77,0±0,49	82,0±0,49	78,0±0,48
	f	80,0±0,49	78,0±0,49	81,0±0,49
Proteínas (g/100mL)	m	8,8±0,37	8,8±0,37	8,3±0,37
	f	7,9±0,37	8,6±0,37	8,2±0,37

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

**estatisticamente significativo p<0.01

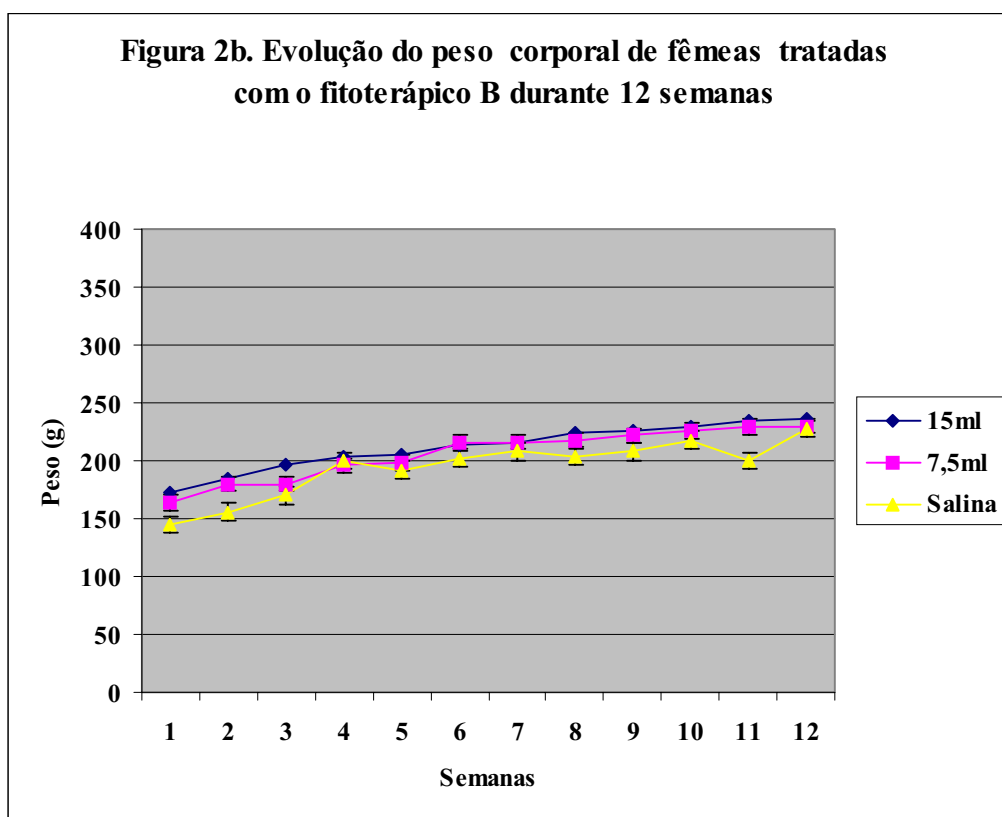
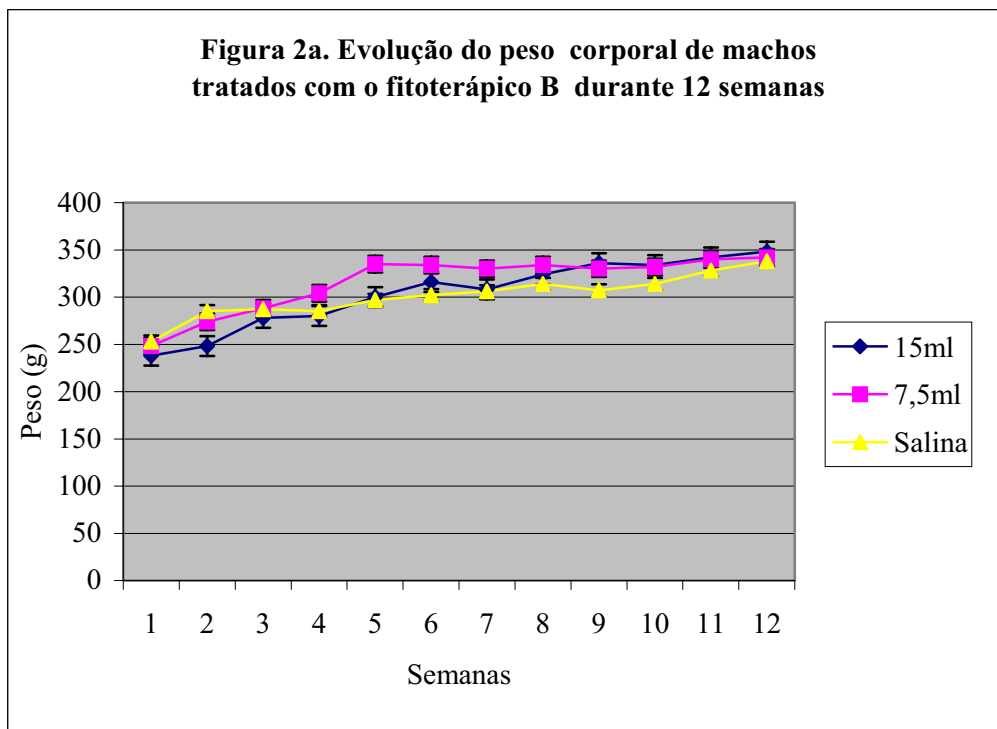
4.3.2 Avaliação do efeito crônico do fitoterápico B-mel de abelha, própolis e extrato de *E. globulus* sobre os principais órgãos e peso corporal de ratos Wistar

Não foram detectadas alterações significantes, em relação ao peso dos órgãos e à evolução do peso corporal, bem como nenhuma alteração macroscópica dos órgãos dos animais tratados com o fitoterápico mel de abelha, própolis e extrato de *E. globulus*, quando comparado ao grupo controle salina (tabela 7 e figuras 1a e 2b).

TABELA 7: Médias do peso (g/100) dos órgãos de ratos Wistar tratados com fitoterápico B durante 90 dias. (n=10 animais/ grupo).

Orgãos	Sexo	Fitoterápico B		Salina
		15ml/kg	7,5ml/kg	15ml/kg
Coração	σ#	73 7±73/ <7#	73 9±73/ <7#	73 ; ±73/ <7#
	λ#	73 7±73/ <7#	73 : ±73/ <7#	73 9±73/ <7#
	#	#	#	#
Baço	σ#	73 7±73/ <7#	73 9±73/ <7#	73 ; ±73/ <7#
	λ#	73 ?±73/ : 8#	73 <±73/ : 8#	73 8±73/ : 8#
	#	#	#	#
Fígado	σ#	>3 ±73/ ; #	>3 ±73/ ; #	?3 ±73/ ; #
	λ#	<3 ±73/ ; #	; 3 ±73/ ; #	<3 ±73/ ; #
	#	#	#	#
Rim	σ#	73 8±73/ 8>#	73 ?±73/ 8>#	73 ?±73/ 8>#
	λ#	73 : ±73/ 8>#	73 8±73/ 8>#	73 9±73/ 8>#
	#	#	#	#
Glândula Supra-renal	σ#	73/ : <±73/ 78 : #	73/ 9>±73/ 78 : #	73/ 9=±73/ 78 : #
	λ#	73/ 8[±73/ 78 : #	73/ 8<±73/ 78 : #	73/ 8=±73/ 78 : #
	#	#	#	#
Estômago	σ#	83 7±73/ >; #	83 : ±73/ >; #	83 9±73/ >; #
	λ#	73 ; ±73/ >; #	73 ?±73/ >; #	73 8±73/ >; #
	#	#	#	#
Pulmão	σ#	83 7±73/ >8#	83 : ±73/ >8#	83 ; ±73/ >8#
	λ#	83 7±73/ >8#	73 9±73/ >8#	73 ?±73/ >8#
	#	#	#	#
Testículos	σ#	83 ±73/ =>#	83 ±73/ =>#	83 ±73/ =>#
Ov/Útero	λ#	73 =±73/ : 9#	73 [±73/ : 9#	73 ?±73/ : 9#

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)
 σ(ι αζ ω# υ#ω υ#κωζ δαωδθζ σκτ δκ# ολκικτ δκω#κτ δμκ#ωσ#



4.4 Toxicidade Crônica do Fitoterápico C: mel de abelha, própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum*

4.4.1 Efeito crônico da administração do fitoterápico sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos Wistar

Em relação aos parâmetros hematológicos, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes nos grupos tratados com o fitoterápico mel de abelha com própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum* (7,5 ou 15 ml/kg; v.o), quando comparados ao grupo controle (tabela 8).

No que concerne aos parâmetros bioquímicos, somente os valores relativos à glicose e triglicérides para os animais de ambos os sexos, tratados com o fitoterápico (15 ml/kg) apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0.01$ e $p < 0.05$, respectivamente), quando comparados a seus respectivos controles (tabela 9).

TABELA 8: Efeito do tratamento com o fitoterápico C (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros hematológicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).

Parâmetros	Sexo	Fitoterápico C		Salina 15ml/kg
		15ml/kg	7,5ml/kg	
Hemácias (mm ³)	m	6,3±0,14	6,5±0,14	6,8±0,14
	f	6,1±0,14	6,4±0,14	6,2±0,14
Hemoglobina (g/ml)	m	19,7±0,43	20,2±0,43	20,6±0,43
	f	18,9±0,43	19,7±0,43	20,0±0,43
Hematócrito (%)	m	59±1,18	61±1,18	63±1,18
	f	57±1,18	59±1,18	60±1,18
HCM (mm ³)	m	93,0±0,49	93,6±0,49	94,0±0,49
	f	93,8±0,49	93,0±0,49	93,8±0,49
VCM (mm ³)	m	31,0±0,34	31,2±0,34	31,3±0,34
	f	31,4±0,34	31,2±0,34	31,5±0,34
CHCM (%)	m	32,2±0,27	33,2±0,27	32,9±0,27
	f	32,2±0,27	32,2±0,27	32,5±0,27
Leucócitos (mm ³)	m	5620±0,31	5400±0,31	5640±0,31
	f	4900±0,31	6180±0,31	5460±0,31
Segmentados (%)	m	42±1,57	40±1,57	39±1,57
	f	44±1,57	41±1,57	40±1,57
Eosinófilos (%)	m	2,2±0,53	1,8±0,53	2,4±0,53
	f	3,0±0,53	1,8±0,53	1,8±0,53
Linfócitos (%)	m	52 ±1,49	55±1,49	55±1,49
	f	53 ±1,49	54±1,49	56±1,49
Monócitos (%)	m	3,6 ±0,37	3,0±0,37	3,2±0,37
	f	2,4 ±0,37	3,8±0,37	2,6±0,37
Plaquetas (mm ³)	m	283 ±14,2	279±14,2	315±14,2
	f	287 ±14,2	267±14,2	285±14,2

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

σ(ι αζ ω# υ#ω υ#κωδζ ραωδθζ σκτ θκ# ολκμκτ θκω#κτ θμκ#ωδ#

valores de hemácias devem ser multiplicados por 10⁶.

valores de plaquetas devem ser multiplicados por 10³

TABELA 9: Efeito do tratamento com o fitoterápico C (7,5ml/kg ou 15ml/kg; v.o) e salina (15ml/kg; v.o) sobre os parâmetros bioquímicos em ratos Wistar tratados durante 90 dias (n=10 para cada grupo).

Parâmetros	Sexo	Fitoterápico C		Salina 15ml/kg
		15ml/kg	7,5ml/kg	
Glicose (mg/dl)	m	86,8±4,7 **	61,0±4,7	66,7±4,7
	f	77,2±4,7 **	63,1±4,7	68,5±4,7
Uréia (mg/dl)	m	39,3±2,0	42,2±2,0	41,8±2,0
	f	43,5±2,0	42,0±2,0	39,4±2,0
Colesterol (mg/dl)	m	85,5±5,6	90,8±5,6	89,7±5,6
	f	106,2±5,6	82,8±5,6	76,6±5,6
HDL (mg/dl)	m	27,2±6,5	38,8±6,5	39,1±6,5
	f	37,7±6,5	46,6±6,5	42,7±6,5
Triglicerídes (mg/dl)	m	127,0±11,0 *	91,0±11,0	86,8±11,0
	f	96,0±11,0 *	81,8±11,0	84,6±11,0
AST (U/L)	m	27,0±4,4	34,8±4,4	34,2±4,4
	f	29,0±4,4	27,2±4,4	31,2±4,4
ALT (U/L)	m	29,6±5,4	38,0±5,4	37,2±5,4
	f	30,4±5,4	32,2±5,4	39,4±5,4
Fosfatase alcalina (U/L)	m	75,0±0,54	79,0±0,54	78,0±0,54
	f	97,0±0,54	82,0±0,54	81,0±0,54
Proteínas (g/100mL)	m	8,4±0,44	8,1±0,44	8,3±0,44
	f	7,4±0,44	7,7±0,44	8,0±0,44

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

* estatisticamente significante p<0.05

** estatisticamente significante p<0.01

4.4.2 Avaliação do efeito crônico do fitoterápico C-mel de abelha, própolis e extratos e *Z.officinale* e *A. sativum* sobre os principais órgãos e peso corporal de ratos Wistar

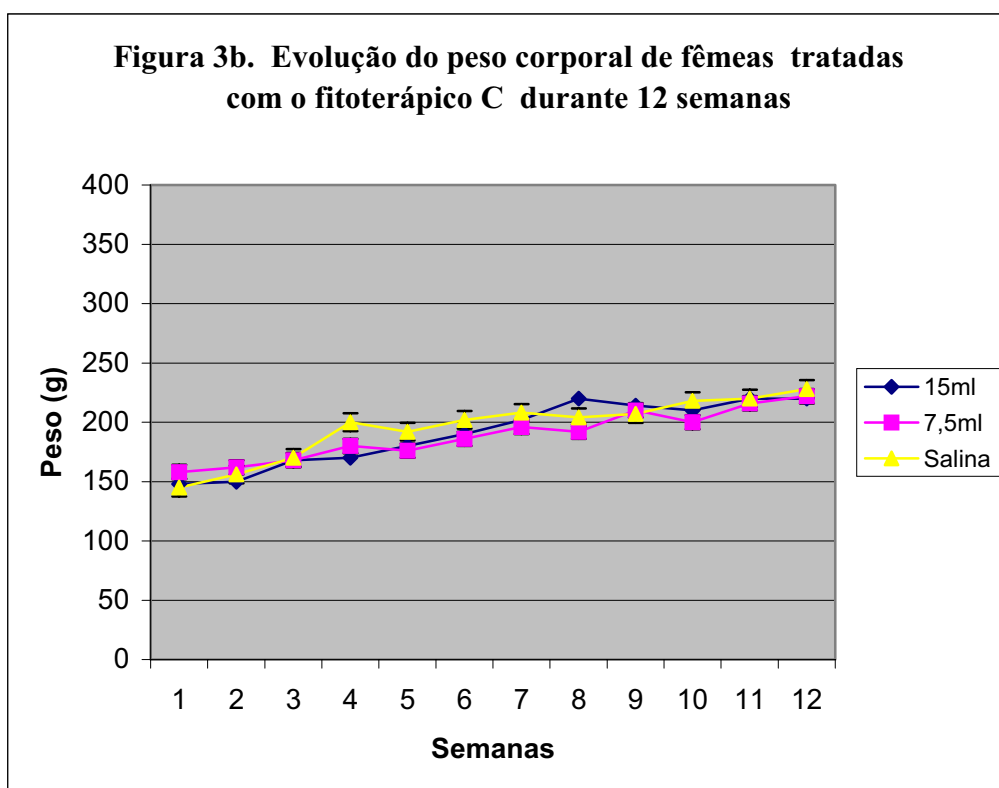
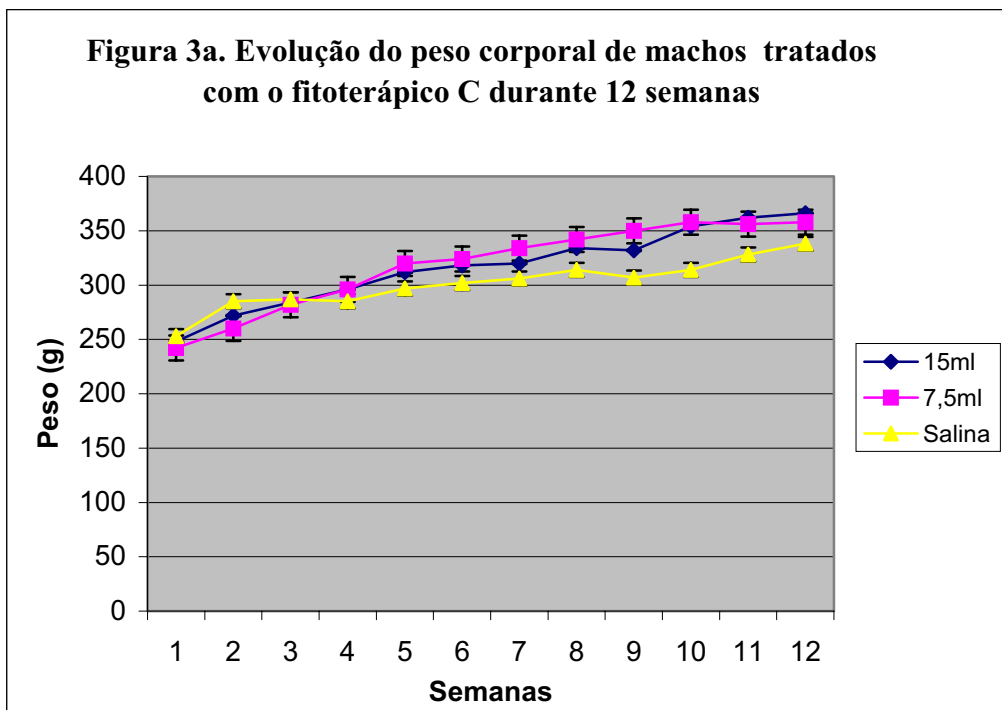
Não foram detectados alterações significantes, em relação ao peso dos órgãos e evolução do peso corporal dos animais tratados com o fitoterápico mel de abelha, própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum* (7,5 ou 15 ml/kg; v.o.), quando comparado ao grupo controle (tabela 10 e figuras 3a e 3b). Também não foram observadas alterações macroscópicas dos órgãos examinados dos grupos tratados em relação ao controle. No entanto de forma semelhante àquela observada no estudo no *E. globulus*, a análise de variância revelou que, com exceção do peso do ovário/ útero e testículos, todos os outros órgãos apresentaram diferença significativa ($p < 0.01$) em relação ao sexo.

TABELA 10: I (ι αζ ωη υ#φ κωυ#v6770η υω# | ψν υωη κ#ψζ θωω#T αωλζ ψ#θψζ υζ ι υω# θυσ#λ οδυθκψ@αυ#κ # λψζ τθκ# 7η αζ ω5#τ| 87#ζ τασζ ααηλγφυ05

Orgãos	Sexo	Fitoterápico C		Salina 15ml/kg
		15ml/kg	7,5ml/kg	
Coração	σ#	73>>±73/<; #	73[±73/<; #	73 ; ±73/<; #
	λ#	73<9±73/?=#	73=>±73/; [#	73<9±73/<; #
	#	#	#	#
Baço	σ#	73 [±73/: : #	73=±73/: : #	73<?±73/: : #
	λ#	73 <±73/<9#	73 7±73/: 7#	73 8±73/: : #
	#	#	#	#
Fígado	σ#	?3±73/<#	>3±73/<#	?3±73/<#
	λ#	; 3 ±73 7#	<3 ±73/: #	<3±73/<#
	#	#	#	#
Rim	σ#	73; ±73/9: #	73<±73/9: #	73?±73/9: #
	λ#	73 =±73/: >#	73<±73/98#	73<9±73/9: #
	#	#	#	#
Glândula Supra-renal	σ#	73/: 9±73/78#	73/: 7±73/78#	73/9=±73/78#
	λ#	73/8?±73/79#	73/8?±73/78#	73/8=±73/78#
	#	#	#	#
Estômago	σ#	838±73/>#	83: ±73/>#	83<7±73/>#
	λ#	73/>±7388#	83/±73/=#	73 ; ±73/>#
	#	#	#	#
Pulmão	σ#	83?±73/?#	83 ?±73/?#	83 ; ±73/?#
	λ#	83 ±738: #	83±73/>#	83/±73/?#
	#	#	#	#
Testículos Ov/Útero	σ#	73 ±#73/>#	83/±73/>#	83/±73/>#
	λ#	73 <±7389#	73=: ±73/>#	73 ?±73/>#

Todos os resultados são expressos em média±epm (ANOVA)

1σ(ι αζ ωη υ#φ κωυ#v6770η υω# | ψν υωη κ#ψζ θωω#T αωλζ ψ#θψζ υζ ι υω# θυσ#λ οδυθκψ@αυ#κ # λψζ τθκ# 7η αζ ω5#τ| 87#ζ τασζ ααηλγφυ05



5 DISCUSSÃO

Os estudos de toxicidade pré-clínica (aguda e crônica) de novos fármacos se caracterizam pelo impacto fisiológico após sua administração em espécies animais, e os dados desses estudos fornecem bases importantes para a posterior validação clínica dos mesmos (CEVALLOS, 1996). É nesse contexto que se situa nosso estudo, o qual visa contribuir com o processo de validação de fitoterápicos comercializados e utilizados pela população brasileira.

O estudo de toxicidade aguda do fitoterápico A mel de abelha, própolis e *M. glomerata*, somente no grupo tratado com a dose de 35ml/kg por via oral, registrou-se um percentual de 70% de mortalidade. Não houve possibilidade de cálculo da DL₅₀ para esse fitoterápico uma vez que o volume administrado não poderia ultrapassar 1ml na espécie estudada (camundongos). Na avaliação dos efeitos tóxicos os animais tratados com o referido fitoterápico (25 ou 35 ml/kg; v.o) apresentaram-se letárgicos, com retorno à normalidade em torno de 8 horas após o tratamento. Considerando que estas doses, equivalem a 39 e 55 vezes respectivamente, aquela preconizada para o tratamento das afecções das vias aéreas superiores em humanos (0,64 ml/kg ou 24mg/kg de extrato fluído de *M. glomerata*), segundo informações contidas no rótulo do produto, podemos concluir que o produto apresenta relativa margem de segurança na espécie animal estudada. Corroborando com nossos resultados, Oliveira *et al.*, (1985) determinando a toxicidade aguda do extrato fluído de *M glomerata* (40ml/kg; v.o), em ratos Wistar, encontrou um percentual de 40% de mortalidade num período de observação idêntico ao nosso. Esse resultado também revela uma baixa ordem de toxicidade do extrato fluído de *M. glomerata*. Esses autores também não observaram nenhuma mortalidade, após administração de dose única do extrato fluído de *M.glomerata* (7,5 a 10 ml/kg; v.o.).

Com relação ao estudo de toxicidade aguda, do fitoterápico B mel de abelha, própolis e extrato de *E. globulus*, nenhum registro de mortalidade foi verificado até a dose oral de 15 ml/kg. Entretanto para as doses de 25 e 35 ml/kg foi observada um percentual de mortalidade de 20% e 40%, respectivamente. Estas duas últimas doses

representam 39 e 55 vezes aquela utilizada em humanos. Nesse caso também não foi possível determinar o valor da DL_{50} , em função do volume máximo (1ml) já administrado com a dose de 35 ml/kg. Todos os animais desses dois últimos grupos apresentaram sedação, sendo a morte de dois deles precedida de convulsão. Na literatura consultada não encontramos dados sobre a toxicidade aguda com o extrato fluido dessa espécie. Entretanto existem registros relativos à dose letal do óleo essencial (DL_{50} =3480 mg/kg; v.o) de *E. globulus*, cuja composição detém 70% de cineol (NEWALL et al., 2002; SCHULZ et al., 2.000), toxicidade esta que também pode ser considerada de baixa ordem. Considerando que a até a dose de 15 ml/kg, equivalente a aproximadamente 23,5 vezes àquelas preconizadas para o tratamento das afecções das vias aéreas superiores, não houve nenhum registro de morte nos grupos tratados. Portanto, podemos sugerir que o produto apresenta relativa margem de segurança em termos de aparecimento de efeitos tóxicos na espécie animal estudada.

O tratamento agudo (dose única) em camundongos Swiss com o fitoterápico C mel de abelha, própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum* (7,5, 15 ou 25 ml/kg; v.o), não promoveu morte nos animais dos respectivos grupos. O grupo tratado com o fitoterápico na dose de 35ml/kg apresentou um índice de mortalidade de 30%. Na avaliação dos sinais clínicos do grupo tratado com 25 ou 35 ml/kg os animais apresentaram leve grau de sedação, com retorno à normalidade 8 horas após o tratamento. De forma semelhante aos dois fitoterápicos anteriores podemos sugerir que o produto apresenta elevada margem de segurança em termos de efeitos tóxicos na espécie animal estudada. A dose que provocou mortalidade (35 ml/kg; v.o.) equivale a aproximadamente 55 vezes aquela preconizada para o tratamento das afecções das vias aérea superiores, segundo indicações contidas no rótulo do produto. Nosso resultado é concordante com aquele apresentado por Nakagawa et al., (1984), os quais avaliando a toxicidade aguda de extrato de alho, administrado por via oral, intraperitoneal e subcutânea em camundongos, observaram que a DL_{50} do mesmo é superior a 30 ml/kg.

Em relação à toxicidade aguda do *Z. officinale* (gengibre), Qureshi (1989), não observou mortalidade significativa quando comparada ao controle. Segundo Tisserand e

Balaes (1995) a DL_{50} do óleo essencial dessa espécie é superior a 5g/kg em ratos e coelho, sendo, portanto, considerada extremamente baixa.

Dentre as informações obtidas por intermédio dos estudos de toxicidade aguda, a DL_{50} , é apenas um dos parâmetros que pode ser determinado (MOREIRA et al., 1993). A avaliação dos efeitos tóxicos e os achados de necropsia fornecem também informações importantes na integração dos estudos farmacológicos / toxicológicos. A interpretação desses achados são importantes referencias para a avaliação dos riscos da exposição do homem a um agente químico.

Nas observações gerais, o tratamento agudo com os três fitoterápicos (7,5 e 15 ml/kg; v.o) não evidenciou nenhum indicativo de toxicidade, quando comparado ao grupo controle, do início até o 14º dia após o tratamento, para os animais sobreviventes. Tais observações indicam ausência de toxicidade tardia dos produtos, nas doses utilizadas. Embora não tenha sido possível determinar a DL_{50} dos fitoterápicos estudados, nossos resultados revelam uma baixa ordem de toxicidade dos mesmos, fornecendo ainda indicativo relativamente seguro de sua utilização aguda na espécie animal testada.

De acordo com Klaassen e Watkins (2001) o estudo da toxicidade crônica permite estabelecer a existência ou não de efeitos adversos e posteriormente, identificar e caracterizar o(s) órgão(s) afetado(s) determinado pelo efeito cumulativo da substância administrada. Adicionalmente, durante a realização desse ensaio, a determinação quantitativa de parâmetros (hematológicos, bioquímicos, histológicos...), importante na avaliação da margem de segurança do fármaco, podem funcionar como indicativos de toxicidade. Esses aspectos são positivamente considerados como referências no cálculo da dose inicial a ser empregada nos testes clínicos. Por exemplo, a leucocitose que pode ser observada durante o uso prolongado de antipirina, digitálicos e terebentina; a anemia hemolítica verificada com as sulfonas; os distúrbios da coagulação (ex. tempo de protrombina e agregação plaquetária), verificada com a aspirina (BALCELLS, 1990; YOUNG; VINCENT, 1980), e a elevação da concentração das enzimas hepáticas (ALT, AST), provocadas por aminoglicosídeos, acetominofeno, retrovir, zidovudina (VESSEY, 1999).

Os dados do presente estudo indicam que o tratamento crônico, por via oral, com o fitoterápico A mel de abelha, própolis e extrato de *M. glomerata* (7,5 ou 15 ml/kg), equivalente a 281,2 mg/kg e 562,5 mg/kg do extrato fluido, respectivamente, foi relativamente isento de efeitos tóxicos. Essas doses equivalem a 11,7 e 23,4 vezes aquelas utilizadas para o tratamento crônico em humanos (0,64 ml/kg ou 24mg/kg de extrato fluido). Não houve alteração comportamental dos animais, nem também do desenvolvimento do peso corporal dos animais durante as 12 semanas de tratamento, quando comparado ao controle.

A avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais tratados cronicamente com o fitoterápico A mel de abelha, própolis e extrato de *M. glomerata*, não indicaram nenhuma alteração significativa em relação ao controle. Todos os valores encontrados para os referidos parâmetros são comparáveis àqueles existentes na literatura especializada (MITRUKA; RAWNSLEY, 1977; OLIVEIRA et al., 1991; RODRIGUES et al., 1998; NIHO et al., 2001). Uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0.01$) entre os sexos foi encontrada para alguns parâmetros hematológicos (Hc, Hb e Ht) e bioquímicos. As diferenças verificadas podem ser caracterizadas como variação interespecies, peculiar para cada sexo, e não revelam um estado patológico. Outros estudos de toxicidade crônica também revelam diferenças, em relação ao sexo, nesses parâmetros (RODRIGUES et al., 1998; SALAZAR et al., 1998). Alterações nos parâmetros bioquímicos e hematológicos podem ser consideradas importantes indicadores de toxicidade de medicamentos em decorrência do seu uso crônico.

Em relação ao peso dos órgãos, com exceção do peso do baço, fígado e rim dos machos tratados com 7,5 e 15ml/kg do fitoterápico A, que se mostraram superior ao do controle, o exame macróscopico dos diferentes órgãos avaliados, não indicou nenhuma alteração estatisticamente significativa. Por outro lado, o perfil bioquímico/hematológico em relação a parâmetros indicativos de lesões/alterações desses órgãos tais como as enzimas hepáticas (ALT, AST e fosfatase alcalina); concentração de ureia (rim); hemáceas e plaquetas (Baço), não apresentaram-se diferentes em relação ao controle. Uma explicação para esses resultados não pode,

atualmente, ser dada. Estudos adicionais, incluindo a análise histopatológica dos órgãos analisados macroscopicamente poderão fornecer maiores detalhes para esses achados e, possivelmente até para alguns dados bioquímicos do trabalho.

O ensaio de toxicidade crônica com o fitoterápico B mel de abelha, própolis e extratos de *E. globulus*, administrado por via oral nas doses de 7,5ml/kg (281,2 mg/kg do extrato fluido de *E. globulus*) ou 15 ml/kg (562,5 mg/kg do extrato fluido de *E. globulus*) revelou que estes foram relativamente isentos de efeitos tóxicos. Essas doses as quais equivalem a 11,7 e 23,4 vezes aquelas utilizadas para o tratamento crônico em humanos (0,64 ml/kg ou 24mg/kg; v.o. de extrato fluido). As análises hematológicas não mostraram nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação ao controle e as flutuações dos valores encontrados nos grupos tratados e controle se mantiveram dentro dos limites de referência (MITRUKA; RAWNSLEY, 1977).

Quanto aos parâmetros bioquímicos somente em relação à concentração de triglicérides, a análise estatística revelou diferença significativa ($p < 0.01$) no grupo tratado com fitoterápico B mel de abelha, própolis e extratos de *E. globulus* na dose de 7,5ml/kg, quando comparado ao controle. Segundo Wallach, (2003) variações na concentração de triglicérides podem ser verificadas na vigência de alterações pancreáticas (cálculo, cirrose biliar, colestase), lesões hepáticas, ou em alguns tipos de doença renal (síndrome nefrótica) ou cardíaca coronariana. É importante ressaltar que, a avaliação macroscópica desses órgãos (fígado, rins e coração) nos animais tratados com o fitoterápico (7,5 ou 15ml/kg; v.o.) não revelou nenhuma alteração em relação ao controle. Por outro lado, embora tenha sido registrado um aumento significativo do valor de triglicérides ($102,0 \pm 8,8$ para os machos e $100,0 \pm 8,8$ para as fêmeas) do grupo tratado com fitoterápico na dose de 7,5ml/kg em relação ao controle salina ($86,8 \pm 8,8$ para machos e $84,6 \pm 8,8$ para fêmeas), esses valores ainda encontram-se dentro de uma faixa de referência considerada normal (26 a 145 mg/dl), conforme descrito na literatura especializada (MITRUKA; RAWNSLEY, 1977). Ademais, essas alterações se restringiram às fêmeas e não apresentam correlação dose-dependente quando analisamos esses mesmos parâmetros nos animais tratados com o fitoterápico

(15ml/kg; v.o). Portanto, essa observação não parece ser indicativa de alterações fisiológicas provocadas durante o tratamento prolongado com o referido fitoterápico.

Em relação ao tratamento crônico com o fitoterápico C mel de abelha, própolis e extratos de *Z. officinale* e *A. sativum* (7,5 ou 15 ml/kg; v.o.), os resultados relativos às análises hematológicas não diferiram do controle. Por outro lado, os grupos de ambos os sexos, tratados com o fitoterápico (15ml/kg), apresentaram níveis (mg/dl) de glicose (86,8±4,7 nos machos e 77,2±4,7 nas fêmeas) e de triglicérides (127,0±11,0 nos machos e 96,0±11 nas fêmeas) superiores aqueles observados nos controles para glicose (66,7±4,7 em machos e 68,5±4,7 em fêmeas) e triglicérides (86,8±11,0 em machos e 84,6±11,0 em fêmeas). Contrariamente ao verificado no nosso estudo, Brahmachari e Augusti (1962) demonstraram em coelhos uma atividade hipoglicêmica do extrato alcoólico de *A. sativum* (50g de alho seco em pó). Enquanto que Weidner et al. (2000) não observaram nenhum efeito nos níveis da glicose sanguínea do extrato de gengibre (25, 50 e 100mg/kg; v.o.) em ratos.

Em relação as concentrações séricas de triglicérides, Lau et al. (1983) estudando coelhos com alimentação suplementada com alho seco em pó, óleo de alho ou alicina, verificaram redução nas concentrações de triglicérides em ratos. Uma possível explicação para elevação nos níveis de glicose, verificada no nosso estudo poderia se dever ao fato da presença de mel de abelha na composição do fitoterápico, o qual segundo Garcia et al. (1986), é constituído de diferentes açúcares, especialmente de glicose e frutose. No entanto, caso isto fosse verdade, essa alteração deveria ter sido verificada com todos os outros grupos tratados com os diferentes fitoterápicos, cujas formulações também contém mel de abelha. De qualquer forma, embora estatisticamente significantes ($p < 0.01$ e $p < 0.05$) para os níveis de glicose e triglicérides, respectivamente, nossos resultados continuam dentro de intervalos para a concentração de glicose (50 – 135 mg/dl) e triglicérides (26 – 145 mg/dl), considerados normais no Rato (MITRUKA; RAWNSLEY, 1977).

Portanto, acreditamos que essas alterações não expressem nenhum indicativo de significância fisiológica/ patológica e conseqüentemente não devem estar relacionada à

presença dos extratos (alho e gengibre), na formulação do fitoterápico. De forma geral, nossos resultados são comparáveis àqueles apresentados por Sumiyoshi et al., (1984), durante a avaliação da toxicidade crônica da administração de *A. sativum* (2g/kg; v.o.) cinco vezes por semana durante seis meses, em ratos. Nesse estudo, utilizando doses bastante superiores às nossas (7,5 e 15 ml/kg; v.o.), os autores também não observaram diferença significativa nos exames urinários, hematológicos e sorológicos e histopatológicos, dos grupos tratados em relação ao controle. Estudo realizado por Qureshi (1989) do *Z. officinale* dos animais tratados durante 3 meses em tratamento crônico não demonstrou toxicidade.

Considerando que a dose de 15 ml/kg do referido fitoterápico equivale a 176,5 vezes aquelas utilizadas para o tratamento crônico em humanos (0,085ml/kg; v.o. de extrato fluido), podemos deduzir que esse produto também apresenta boa margem de segurança na espécie animal estudada.

Durante todo o período experimental (90 dias), os animais tratados com os fitoterápicos A, B ou C (7,5 ou 15 ml/kg) foram observados e avaliados em procedimentos individuais para avaliação clínica de peso individual, aparelho locomotor, aspectos comportamentais, pele etc. Durante os três meses de observação, não foi observada nenhuma diferença em relação ao grupo controle salina 0.9% (15ml/kg). A análise conjunta de todos os resultados leva à conclusão que, em doses equivalentes em termos humanos, os três fitoterápicos (7,5 ou 15 ml/kg), não apresentaram efeitos toxicológicos (agudo e crônico) relevantes do ponto de vista clínico, em camundongos Swiss e ratos Wistar de ambos os sexos.

6 CONCLUSÃO

- €# Os fitoterápicos, mel de abelha, própolis e extrato fluído de *Mikania glomerata* (fitoterápico **A**) e mel de abelha, própolis e extratos fluídos de *Zingiber officinale* e *Allium sativum* (fitoterápico **C**), na dose de 35ml/kg foi verificado um percentual de 70 e 30% de mortalidade, respectivamente. Os animais submetidos a tratamento com o mel de abelha, própolis e extrato fluído de *Eucalyptus globulus* (fitoterápico **B**) apresentaram percentuais de mortalidade de 20 e 40%, para as doses de 25 e 35 ml/kg, respectivamente.
- €# Em doses equivalentes àquelas administradas para humanos, os três fitoterápicos (7,5 ou 15 ml/kg; v.o), não demonstraram nenhum indicativo de toxicidade, no tocante à mortalidade e/ou sinais clínicos.
- €# O tratamento crônico (90 dias) com os três fitoterápicos (7,5 ou 15 ml/kg; v.o), não apresentou nenhuma alteração estatisticamente significativa do perfil hematológico/ bioquímico, em relação aos animais pertencentes ao grupo controle.
- €# A avaliação clínica dos animais tratados com os três fitoterápicos (7,5 ou 15 ml/kg; v.o) relativa ao peso individual, aparelho locomotor, aspectos comportamentais e pele, durante todo o período do ensaio de toxicidade crônica, não diferiu do controle.
- €# Finalmente, a análise desses resultados leva a conclusão que, em doses equivalentes em termos humanos, os três fitoterápicos, não apresentaram efeitos tóxicos (agudo ou crônico) relevantes do ponto de vista clínico, em camundongos Swiss e ratos Wistar de ambos os sexos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOY, A. L.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; LANGELOH, A.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico de soluções extrativas de *Mikania glomerata* Sprengel (*Asteraceae*) Guaco. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 36, n. 1, p. 165-172, 2000.
- AHMED, R. S.; SETH, V.; PASHA, S. T.; BANERJEE, B. D. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinalis* Rosc) on oxidative stress induced by malathion in rats. **Food Chem. Toxicol.**, v. 38, n. 5, p. 443-450, 2000.
- ALDIN, M. N.; BARROS, H. H.; MATTOS, R. C.; NUNES, M. S.; OLIVEIRA, P. G.; RIBEIRO, F. P.; SAVOY, P. M.; JAIME, P. C. Eficácia dos flavonóides na dislipidemia. **Mundo Saúde**, v. 25, n. 2, p.149-152, 2001.
- AL-QATTAN, K. K.; ALNAQEEB, M. A.; ALI, M. The antihypertensive effect of garlic (*Allium sativum*) in the rat two-kidney-one-clip Goldblatt model. **J. Ethnopharmacol.**, v. 66, n. 2, p. 217-222, 1999.
- BALASENTHIL, S.; ARIVAZHAGAN, S.; NAGINI, S. Garlic enhances circulatory antioxidants during 7,12-dimethylbenza anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. **J. Ethnopharmacol.**, v. 72, p. 429-433, 2000.
- BALCELLS, A. **La clinica y el Laboratorio. Semiologia bioquímica, hematológica y serológica. Pruebas funcionales.** 12. ed. Espanha: Marin, 1990. 573 p.
- BRAHMACHARI, H. D.; AUGUSTI, K. T. Orally effective hypoglycaemic agents from plants. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 14, p. 254-255, 1962.
- BENDAZZOLI, W. S. Fitomedicamentos: perspectivas de resgate de uma terapia histórica. **Mundo Saúde**, v. 24, n. 2, p.123-126, 2000.
- BERNARDO, C. L. E.; SOUZA, I. A. F.; COLAVITTI, C.; GARCIA, C. Propolis-cicatrizante e antibiótico natural. **Rev. Bras. Enfermagem** , v. 43, p. 101-106, 1990.
- BONIFAZ, A.; MUÑOZ AYALA, M. J.; MONGE, B. Estudio de la actividad in vitro de la alicina (principio ativo del ajo) en el tratamiento de tiñas del cuerpo e inguinal. **Dermatol. Rev. México**, v. 34, n. 3, p. 199-204, 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 6/95 de 31/01/1995. Normatização de registro de fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 06 /021995.
- _____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SNVS nº 116 Normas para estudo de toxicidade e eficácia de produtos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 de agosto de 1996.

_____.Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº17 de 24/02/2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 25 de fevereiro de 2000.

_____.Ministério da Saúde.Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. KAVA-KAVA (Piper *Methysticum* L.). Fiscalização Intensificada através da Resolução Nº 356 de 28/01/02. Alerta SNVS/Anvisa/Ufarm nº 5. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 de março de 2002.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food Chem Toxicol**, v.36, p. 347-363, 1998.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, p. 179-189, 2000.

CAMPOS, R. et al. Tratamento da Ascaridíase por meio do Alho (*Allium sativum*). **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. USP**, v. 45, n. 5, p. 213-125, 1990.

CARVALHO, L. C. R. M. et al. Efeito do guaco (*Mikania glomerata*) no leito vascular mesentérico. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DA SOCIEDADE DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL,12., 1997, Caxambu. **Anais...** p. 309-314.

CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y. Determinação quantitativa de cumarina em extratos hidroalcoólicos de guaco. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996, Florianópolis. **Anais...** p. 69.

CEVALLOS, G. C. Estudios de toxicologia preclínica para nuevos fármacos. **Arch. Neurociências**, v. 1, n. 2, p.118-121, 1996.

CORTEZ, L .E. R. Relato de caso: dermatite de contato causada por arruda (*Ruta graveolens* L). **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, v. 3, n. 3, p. 257-260, 1999.

EFEM, S. Clinical observations on the wound healing proprieties of honey. **Br. J. Surg.**, v. 75, n. 7, p. 679-681, 1992.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária à saúde**. São Paulo: Macule, 2001. 163p.

ELISABETSKY, E.; SHANLEY, P. Ethnopharmacology in the Brazilian Amazon. **Pharmacol. Ther.**, v. 64, n. 2, p. 201-214, 1994.

ELLMORE, G.; FELDBERG, R. Alliin lyase localization in bundle sheaths of garlic clove (*Allium sativum*). **Am. J. Bot.**, v. 81, p. 89-95, 1994.

FIERRO, I.; da SILVA, A. C.; LOPES, C. D. A. S.; de MOURA, R. S.; BARJA-FIDALGO, C. Studies on the anti-allergic activity of *Mikania glomerata*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 66, n. 1, p. 19-24, 1999.

FOWLER, J. S. L.; RUTTY, D. A. Methodological aspects of acute toxicity testing particularly LD50 determinations present use in development of new drugs. **Acta Pharmacol.**, v. 52, p. 20-30, 1983.

GARCIA, A.; SOTO, D.; ROMO, C. La miel de abejas: composicion química, propiedades y usos industriales. **Rev. Chil. Nutr.**, v. 14 , n. 3, p. 183-191, 1986.

GARCIA, E. S. Biodiversity , biotechnology and health. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 495-500, 1995.

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M .R. M. B. Natural products research in brazil: ciência e cultura **J. Braz. Assoc. Adv. Sci.**, v. 49, n. 5-6, p. 315-320, 1997.

HABSAH, M.; AMRAN, M.; MACKEEN, M. M.; LAJIS, N. H.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N.; RAHMAN, A. A.; GHAFAR; ALI, A. M. Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. **J. Ethnopharmacol.**, v. 72, n. 3, p. 403-410, 2000.

HAUSEN, B. M. Própolis allergy. **Contact Dermatitis**, v. 17, p. 163-170, 1987.

HIRONO, I.; MORI, H.; HAGA, M. Carcinogenic activity of *Symphytum officinale*. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 61, p. 865-869, 1978.

ISLA, M. I.; NIEVA MORENO, M. I.; SAMPIETRO, A. R.; VATTUONE, M. A. Antioxidant activity of Argentine própolis extracts. **J. Ethnopharmacol.**, v. 76, p.165-170, 2001.

JESSE, J. et al. **Medical attributes of *Allium sativum*- garlic**. Wilkes-Barre: Wilkes University, 1997.

KATE, K. K.; LAIRD, S. The Commercial use of biodiversity. In: ARNT, R. Tesouro verde. **Rev. Exame**, v. 35, n. 9, p.52-64, 2001.

KLAASSEN, C. D; WATKINS, J. B. **Toxicologia**: a ciência básica dos tóxicos de Casarett e Doull. 5.ed. Lisboa: McGraw-Hill de Portugal, 2001. 280 p.

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y.; BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **J. Ethnopharmacol.**, v. 64, p. 235-240, 1999.

KUSTER, R. M; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ Ed. UFSC, 2000. cap. 21, p. 458-462.

LAPA, A. J. et al. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2000. cap. 11, p.181-289.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1997. 280 p.

LAU, B. H. S.; ADETUMBI, M. A.; SANCHEZ, A. *Allium sativum* (garlic) and atherosclerosis: a review. **Nutr. Res.**, v. 3, p.119-128, 1983.

LEAL, L. K. A. M.; FERREIRA, A. A.; BEZERRA, G. A.; MATOS, F. J.; VIANA, G. S. Antinoceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **J. Ethnopharmacol.**, v. 70, p.151-159, 2000.

LOPES, C. S. et al. Efeito do Guaco (*Mikania glomerata*) na musculatura lisa Respiratória. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DA SOCIEDADE DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 12. 1997, Caxambu, p.283.

LOPES-GONZÁLES, J. S.; SULLIVAN LÓPEZ GONZÁLES, J.; PRADO GARCÍA, H.; AGUILAR CÁZARES, D.; MOLINA GUARNEROS, J. A.; MANDOKI, J. J.; MEDINA MORALES, F. Efecto em ciclo celular de líneas de adenocarcinoma pulmonar por cumarina y 7-hidroxycumarina. **Rev. Inst. Nac. Enfermedades Respir.**, v.13, n. 4., p.192-197, 2000.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas medicinais do Nordeste do Brasil. Fortaleza: IOCE, 1989.182 p. v. 1, 2.

_____. **Farmácias vivas**. 2.ed. Fortaleza: Ed. UFC, 1998. 179 p.

_____. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 3. ed. Fortaleza: Ed. UFC, 2000. 203 p.

MELIS, K; JANSSENS, G; BOCHNER, A. Accidental nasal eucalyptol and menthol instillation. **Acta Clinica Bélgica.**, v. 13, p. 101-102, 1990.

MILLER, L. C.; TAINTER, M. L. Estimation of the ED₅₀ and this error by means of logarithmic probit graph paper. **Proc. Exp. Med.**, v. 57, p. 261-264, 1944.

MITRUKA, B. M.; RAWNSTLEY, H. M. **Clinical biochemical and hematological reference values in normal animals**. New York: Masson, 1977.

MOBAROK ALI, A. T. M.; AL-SWAYEH, O. A. Natural honey prevents ethanol-induced increased vascular permeability changes in the rat stomach. **J. Ethnopharmacol.**, v. 55, p. 231-238, 1997.

MOREIRA, E. L. T. et al. Avaliação da toxicidade aguda (DL₅₀): proposta para harmonização dos protocolos adotados no Brasil. **Pesticidas Rev. Téc. Cient.**, v. 3, p.11-20, 1993.

NAKAGAWA, S.; MASAMOTO, K.; SUMIYOSHI, H.; HARADA, H. Acute toxicity test of garlic extract. **J. Toxicol. Sci.**, v. 9, p. 57-60, 1984.

NEWALL, C. A. et al. **Plantas medicinais**: guia para profissional de saúde. São Paulo: Ed. Premier, 2002. 308p.

NIEVA MORENO, M. I.; ISLA, M. I.; CUDMANI, N. G.; VATTUONE, M. A.; SAMPIETRO, A. R. Screening of antibacterial activity of Amaicha Del Valle (Tucumán, Argentina) própolis. **J. Ethnopharmacol.**, v. 68, n. 1-3, p. 97-102, 1999.

NIEVA MORENO, M. I.; ISLA, M. I.; SAMPIETRO, A. R.; VATTUONE, M. A. Comparison of the free radical-scavenging of própolis from several regions of Argentina. **J. Ethnopharmacol.**, v. 71, n. 1-2, p. 109-114, 2000.

NIHO, N.; SHIBUTANI, M.; TAMURA, T.; TOYODA, K.; UNEYAMA, C.; TAKAHASHI, N.; HIROSE, M. Subchronic toxicity study of garlic acid by oral administration in F344 rats. **Food Chem. Toxicol.**, v. 39, p. 1063-1070, 2001.

OLIVEIRA, F., OGA, S.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. Parâmetros físicos e químicos e efeito antiedema dos extratos fluídos de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e de guaco de mato (*Mikania Laevigata* Schultz Bip. Ex Baker). **An. Farm. Quim. São Paulo**, v. 25, n. 1-2, p. 50-54, 1985.

OLIVEIRA, M. G.; MONTEIRO, M. G.; MACAÚBAS, C.; BARBOSA, V. P.; CARLINI, E, A. Pharmacologic and toxicologic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **J. Ethnopharmacol.**, v. 34, p. 29-41, 1991.

PAUMGARTTEN, F. J. R.; PRESGRAVE, O. A. F.; MENEZES, M. A. C.; FINGOLA, F. F.; FREITAS, J. C. B. R.; CARVALHO, R. R.; CUNHA, F. Q. Comparison of five methods the determination of lethal dose in agude toxicity studies. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 22, p. 987-991, 1989.

PEREZ DE ALEJO, J. L.; MIRANDA, R.; RODRIGUEZ, G. Accion estimulante del extracto fluido del *zingiber officinale* Rosc. (Jengibre). **Rev. Cuba. Plantas Med.**, v. 1, n. 1 , p. 42-45, 1996.

PODOLLSKY, J. Atividade antioxidante de los flavonoides. **Antioxid. Cali Vida**, v. 1, n. 2, p.10-12, 1994.

QURESHI, L. Studies on herbal aphodisiasiacs used in Arab system of medicine. **Am. J. Chin. Med**, v. 17(1-2), p 57-63, 1989.

POZETTI, G. L. *Symphytum officinale*, sua toxicologia e a respectiva patogenesia registrada na literatura homeopática. **Pesq. Homeop.**, v. 6, n. 1, p. 29-33, 1991.

ROBBERS, J. E. et al. **Farmacognosia biotecnologia**. São Paulo: Premier, 1997. 372 p.

RODRIGUES, E. R.; PEDRAZZI, A. H. P.; BASTOS, J. K. Acute preclinical toxicity study of *zanthoxylum naranjillo* extract. **Phytother. Res.**, v. 12, n. 7, p. 512-516, 1998.

RODRIGUEZ, S. M. Efecto hipotensor Y Bradicardizante del AJO (*Allium sativum*) en Ratas **Rev. Med. Caja Seguro Soc.**, v. 16, n. 2, p. 190-195, 1984.

_____. Respuesta vascular del *Allium sativum* (AJO) en espirales de aorta de ratas, antes y depues de administrar fentolamina. **Rev. Med. Caja Seguro Soc.**, v. 21, n. 1, p. 84-89, 1989.

- SALAZAR, M.; MARTÍNEZ, E.; MADRIGAL, E.; RUIZ, L. E.; CHAMORRO, G. A. Subchronic toxicity in mice fed *Spirulina maxima*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 62, p. 253-241, 1998.
- SALINAS, P. J; BERMÚDEZ, M. M. Principios activos y utilizacion terapêutica de las plantas tóxicas del genero *Datura*. **Rev. Fac. Med. Univ. Los Andes**, v. 59, p. 1-4, 1999.
- SANTOS, A. C.; MARTÍNEZ, E.; MADRIGAL, E.; RUIZ, L. E.; CHAMORRO, G. A. Effect of naturally occurring flavonoids on lipid peroxidation and membrane permeability transition in mitochondria. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 24, n. 9, p. 1455-1461, 1998.
- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2000. cap. 16, p.323-339.
- SANTOS, P. A.; PEREIRA, A. M. S.; FRANÇA, S. C.; LOPES, N. P. Esteróides e cumarina em calos de *Mikania glomerata* Sprengel. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 15, n. 2, p. 231-235, 1999.
- SANTOS, F. A; SILVA, R. M; TOMÉ, A. R; RAO, V. S. N; POMPEU, M. M. L; TEIXEIRA, L. A. R. 1-8-Cineole protects against liver failure in na in-vivo murine model of endotoxemic shock. **Pharm. Pharmacol.**, v. 53, p. 505-551, 2001.
- SANTOS, F. A ; RAO, V. S. N. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole , a terpenoid oxid present in many plant essential oils.**Phytother.** v.14, p. 240-244, 2000.
- SANTOS, F. A ; RAO, V. S. N. Possible role of mast cells in cineole-induced scratching behavior in mice. **Food Chem. Toxicol.**, v. 40, p. 1453-1457, 2002.
- SAS. Institute, Inc. 1989. Statistics: user's guide. Version 6.0 SAS Institute, InC., Cary NC.
- SHARMA, M; SHUKLA, S. Hypoglycaemic effect of ginger. **J. Res. Ind. Med. Yoga Homoeopath**, v.12, p.127-130, 1977.
- SHARMA, S. S.; KOCHUPILLAI, V.; GUPTA, S, K.; SETH, S. D.; GUPTA, Y. K. Antiemetic efficacy of ginger (*Zingiber officinale*) against cisplatin-induced emesis in dogs. **J. Ethnopharmacol.**, v. 57, n. 2, p. 93-96, 1997.
- SCHULZ, V. et al. **Fitoterapia racional: um guia de fitoterapia para as ciências de saúde**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2002. 385 p.
- SOARES de MOURA, R. et al. Efeitos do Guaco (*Mikania glomerata*) sobre o edema podal em camundongos induzido pelo veneno da *Bothrops jararaca*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996, Florianópolis. **Anais...** p. 87.
- SUMIYOSHI, H.; KANEZAWA, A.; MASAMOTO, K.; HARADA, H.; NAKAGAMI, S.; YOKOTA, A.; NISHIKAWA, M; NAKAGAWA, S. Chronic toxicity test of garlic extract in rats. **J. Toxicol. Sci.**, v. 9, n. 1, p. 61-75, 1984.

TESKE, M.; TRETINI, A. M. M. **Compêndio de fitoterapia: herbarium**. 2. ed. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1995. 317 p.

TISSERANN, R; BALAES, T. **Essential oil safety**. Edinburg: Churchill Livingstone, 1995.

TOSTES, R .O. R.; LEITE, F. E. D. Novas considerações sobre o uso tópico de açúcar e mel em feridas. **Rev. Méd. Minas Gerais**, v. 4, n. 3, p. 35-39, 1994.

VESSEY, D. A. Metabolism of xenobiotics by the human liver. In: ZAKIN, D.; BOYER, T. D. (Ed.) **Hepathology: a textbook of liver disease**. Phyladelphia: W. B. Saunders, 1999. cap. 9, p. 257-305.

VILEGAS, H. Y. et al. Extration of low-polarity compounds (with emphasis on Coumarin and Kaurenoic Acid) from *Mikania glomerata* (Guaco) leaves. **Phytochem. Anal.**, v. 8, p. 266-270, 1997.

WALLACH, J. **Interpretação de exames laboratoriais**. 7. ed. Rio de Janeiro: Médica e Científica, 2003. 402 p.

WANG, L.; MINESHITAS, G. A. I. Antiinflammatory effects of propolis. Japanese **J. Pharmacol. Therap.**, v. 24, p. 223-226, 1993.

WEIDNER, M. S.; SIGWART, K. The safety of a ginger extract in the rat. **J. Ethnopharmacol.**, v. 73, p. 513-520, 2000 .

WILKINSON, J. M. Effect of ginger tea on the fetal development of Spague-Dawley rats. **Reprod. Toxicol.**, v. 14, n. 6, p. 507-512, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the assesement of herbal medicines**. Geneva, 1991.

_____. Division of Drug Management & Policies. **Guidelines for good clinical practice (GCP) for trials on pharmaceutical products**. Geneva, 1992.

YOUNG, G. A. R.; VINCENT, P. C. Drug-induced agranulocytosis. **Clin. Haematol.**, v. 9, p. 483, 1980.

YUNES, R.; PEDROSA, R. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, p.147-152, 2001.

ZANKER, K. S. et al. Theoretical and experimental evidence for the action of terpens as modulators in lung function. **Prog. Resp. Res.**, v. 18, p. 302-304, 1984.

ANEXOS

Resolução - RDC n.º 17, de 24 de fevereiro de 2000 (*) .

Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária no uso da atribuição que lhe confere o art. 11 inciso IV do Regulamento da ANVS aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999, c/c o § 1º do art. 95 do Regimento Interno aprovado pela Resolução n.º 1, de 26 de abril de 1999, em reunião realizada em 23 de fevereiro de 2000, adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Aprovar o Regulamento Técnico, em anexo, visando normatizar o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária.

Art. 2º Os medicamentos fitoterápicos importados devem cumprir os mesmos requisitos previstos neste Regulamento e na legislação específica em vigor.

Art. 3º Esta Resolução de Diretoria Colegiada entrará em vigor na data de sua publicação.

Art. 4º Fica revogada a Portaria n.º 6 SVS/MS, de 31 de janeiro de 1995, e o inciso XIX do Anexo da Portaria n.º 2, de 24 de janeiro de 1995.

GONZALO VECINA NETO

ANEXO

Regulamento Técnico sobre Registro de Medicamentos Fitoterápicos

1. DEFINIÇÕES:

1.1 Adjuvante substância adicionada ao medicamento com a finalidade de prevenir alterações, corrigir e/ou melhorar as características organolépticas, biofarmacotécnicas e tecnológicas do medicamento.

1.2 Droga vegetal planta ou suas partes, após processos de coleta, estabilização e secagem, podendo ser íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada.

1.3 Marcadores componentes presentes na matériaprima vegetal, preferencialmente o próprio princípio ativo, utilizados como referência no controle de qualidade da matériaprima vegetal e dos medicamentos fitoterápicos .

1.4 Matériaprima vegetal planta fresca, droga vegetal ou seus derivados: extrato, tintura, óleo, cera, suco e outros.

1.5 Medicamento fitoterápico medicamento farmacêutico obtido por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais.

1.6 Medicamento fitoterápico novo aquele cuja eficácia, segurança e qualidade, sejam comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro, podendo servir de referência para o registro de similares.

1.7 Medicamento fitoterápico tradicional aquele elaborado a partir de planta medicinal de uso alicerçado na tradição popular, sem evidências, conhecidas ou informadas, de risco à saúde do usuário, cuja eficácia é validada através de levantamentos etnofarmacológicos e de utilização, documentações tecnocientíficas ou publicações indexadas.

1.8 Medicamento fitoterápico similar aquele que contém as mesmas matérias-primas vegetais, na mesma concentração de princípio ativo ou marcadores, utilizando a mesma via de administração, forma farmacêutica, posologia e indicação terapêutica de um medicamento fitoterápico considerado como referência .

1.9 Princípio ativo substância ou grupo delas, quimicamente caracterizada, cuja ação farmacológica é conhecida e responsável, total ou parcialmente, pelos efeitos terapêuticos do medicamento fitoterápico .

2. REGISTRO DE MEDICAMENTO FITOTERÁPICO NOVO

Apresentar relatório técnico com as seguintes informações:

2.1 Quanto à natureza da matériaprima de partida:

2.1.1 Planta Fresca

2.1.1.1 Nomenclatura botânica oficial (gênero, espécie, variedade, autor do binômio e família).

2.1.1.2 Nomenclatura farmacopeica e/ou tradicional, com indicação da localização de região de origem.

2.1.1.3 Laudo de identificação botânica, emitido por profissional habilitado na área. Quando existirem especificações farmacognósticas que permitam a confirmação da identidade botânica, fica liberada a apresentação deste laudo, aplicandose tais dados na forma de controle de qualidade.

2.1.1.4 Parte da planta utilizada.

2.1.1.5 Testes de autenticidade: caracterização organoléptica, identificação macroscópica e microscópica.

2.1.1.6 Testes de pureza e integridade, incluindo: cinzas, cinzas insolúveis em ácido clorídrico, umidade, pesquisa de matérias estranhas, pesquisa de contaminantes microbiológicos, metais pesados, de acordo com criterios farmacopeicos ou as recomendações da Organização Mundial da Saúde. Em caso de utilização de métodos para eliminação de contaminantes, descrever o método e a pesquisa de eventuais alterações na matériaprima.

2.1.1.7 Análise qualitativa e quantitativa dos princípios ativos e/ou marcadores, quando conhecidos.

2.1.1.8 Havendo utilização no medicamento fitoterápico de espécie vegetal nativa, apresentar documentação do fornecedor da matériaprima vegetal que comprove a origem do material mediante autorização do Ministério do Meio Ambiente/IBAMA e ou Ministério da Agricultura/EMBRAPA referente ao uso sustentado e preservação dos recursos genéticos, e plano de manejo e/ou cultivo racional; essa condição entrará em vigor no prazo de 2 anos, contados a partir da publicação desta Resolução.

2.1.2 Droga Vegetal

2.1.2.1 Atender as exigências contidas no item 2.1.1 .

2.1.2.2 Apresentar relatório descritivo dos métodos de secagem, estabilização (quando empregada) e conservação utilizados, com seus devidos controles, próprio ou do fornecedor.

2.1.3 Derivados da MatériaPrima Vegetal (extratos, tinturas, óleos, ceras, sucos e outros)

2.1.3.1 Laudo do fornecedor, caracterizando o derivado da matériaprima vegetal, atendendo às exigências contidas nos itens 2.1.1.1 a 2.1.1.4, 2.1.1.5 e 2.1.1.6 onde aplicável, 2.1.1.7 e 2.1.1.8 .

2.1.3.2 Apresentar documento relativo ao controle de qualidade do derivado da matéria-prima vegetal realizado pela empresa fabricante do medicamento fitoterápico

2.2 Quanto ao medicamento acabado:

2.2.1 Indicar a concentração real, em peso ou volume, da matériaprima vegetal e a correspondência em marcador ou em princípio ativo, quando conhecida.

2.2.2 Indicar a fórmula completa de preparação, com todos os componentes especificados pelos nomes técnicos, de acordo com as denominações oficiais correspondentes e sinônimos, com as quantidades expressas no sistema métrico decimal ou unidade padrão, indicando quais os utilizados como adjuvantes.

2.2.3 Descrever critérios de identificação do lote ou partida.

2.2.4 Relatório descritivo de fabricação e controle de qualidade, especificando as operações realizadas, identificando os pontos de controle de processo e métodos utilizados. Inexistindo metodologia química adequada para o controle de qualidade, este deverá ser baseado na ação farmacológica preconizada.

2.2.5 Apresentar testes de estabilidade do medicamento acabado, em seu material de acondicionamento original, em três lotes consecutivos, em forma de tabela, informando as condições de temperatura e umidade relativa empregadas, e as características físicoquímicas e microbiológicas de acordo com a forma farmacêutica apresentada.

2.2.6 Descrever as práticas de transporte e de armazenamento do medicamento.

2.2.7 Apresentar estudos científicos que comprovem a segurança do uso do medicamento, de acordo com as exigências estipuladas pelo Conselho Nacional de Saúde CNS (Resoluções 196/96 e 251/97):

2.2.7.1 Toxicologia pré-clínica;

2.2.7.2 Toxicologia clínica.

2.2.8 Apresentar estudos científicos que comprovem a eficácia terapêutica do medicamento, de acordo com as exigências estipuladas pelo CNS:

2.2.8.1 Farmacologia pré-clínica ;

2.2.8.2 Farmacologia clínica, estabelecendo a relação dose/atividade;

2.2.8.3 Definir o conjunto de indicações terapêuticas, adequadamente nominadas;

2.2.8.4 Apresentar as contraindicações, restrições de uso, efeitos colaterais e reações adversas para cada forma farmacêutica.

3. REGISTRO DE MEDICAMENTO FITOTERÁPICO TRADICIONAL

A petição de registro de medicamentos fitoterápicos tradicionais deve atender aos itens concernentes às especificações de qualidade previstas nos itens 2.1 e 2.2, excetuando-se 2.2.7 e 2.2.8 .

A segurança de uso e indicação(ões) terapêutica(s) serão validadas pelo atendimento a uma das seguintes condições (3.1, 3.2 ou 3.3):

3.1 Presença na lista de medicamentos do Anexo I, desde que respeitadas integralmente as especificações ali citadas, respectivamente: parte usada, formas de uso, indicações terapêuticas, dose e via de administração.

3.1.1. Poderão ser formuladas outras formas farmacêuticas, desde que sejam apresentados:

a) os cálculos de equivalência de doses entre as formas extrativas e as formas farmacêuticas propostas;

b) testes de dissolução para as formas farmacêuticas sólidas, quando couber.

3.2 Pontuação atingir no mínimo 6 pontos, conferidos de acordo com a escala de pontuação descrita a seguir:

3 pontos a cada inclusão em obra relacionada no Grupo I do Anexo II, relativa à segurança de uso e indicações terapêuticas propostas.

2 pontos a cada inclusão em obra relacionada no Grupo II do Anexo II, relativa à segurança de uso e indicações terapêuticas propostas.

1 ponto a cada inclusão em obra relacionada no Grupo III do Anexo II, relativa à segurança de uso e indicações terapêuticas propostas.

0,5 ponto a cada citação em publicação técnicocientífica, brasileira e/ou internacional, não incluídas nos Grupos I, II e III do Anexo II, relativa à segurança de uso e indicações terapêuticas propostas.

3.2.1 Receberá pontuação "6" o medicamento fitoterápico tradicional que apresentar estudos clínicos de eficácia terapêutica e segurança de uso, realizados por instituições cadastradas junto ao CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE CNS, conforme as Resoluções 196/96 e 251/97.

3.3 Apresentação de levantamento bibliográfico (etnofarmacológico e de utilização, documentações técnicocientíficas ou publicações indexadas), que será avaliado consoante os seguintes critérios:

3.3.1 ausência de risco tóxico para o usuário.

3.3.2 ausência de grupos ou substâncias químicas tóxicas.

3.3.3 indicação de uso: episódica ou para curtos períodos de tempo.

3.3.4 coerência com relação às indicações terapêuticas propostas.

3.3.5 indicação para doenças consideradas leves e com finalidade profilática.

3.3.6 comprovação de uso seguro por um período igual ou superior a 10 anos.

3.3.7 se as condições dos itens anteriores não forem todas atendidas, será avaliada a relação risco/benefício, podendo ser exigidas comprovação de segurança de uso e/ou eficácia terapêutica, e/ou ainda a adoção de restrições à forma farmacêutica, frequência de uso e indicações, de modo a possibilitar a utilização adequada do medicamento e não causar danos à saúde dos usuários.

4. REGISTRO COM BASE NA SIMILARIDADE

O relatório técnico deve conter:

4.1 Especificações de qualidade conforme os itens 2.1 e 2.2, excetuando-se os itens 2.2.7 e 2.2.8 .

4.2 Atender ao disposto na legislação específica em vigor, referente ao registro de medicamento por similaridade.

5. ISENÇÃO DE REGISTRO

5.1 A isenção de registro de medicamento fitoterápico será concedida àquele cuja formulação esteja inscrita na Farmacopéia Brasileira ou códigos oficiais aceitos, e após avaliação do relatório técnico que apresente:

5.1.1 cópia da monografia da Farmacopéia ou código oficial aceito onde o medicamento fitoterápico esteja inscrito; no caso da monografia constar de mais de uma edição, adotar-se-á a mais recente;

5.1.2 as informações referentes a toxicidade e as indicações terapêuticas do medicamento fitoterápico que não constarem da monografia referida no item anterior, devem ser apresentadas anexando comprovação científica, de acordo com os itens 2.2.7 e 2.2.8 desta Resolução;

5.1.3 a identificação, produção e controle de qualidade deverão atender ao disposto nos itens 2.1 e 2.2 desta Resolução, à exceção dos itens 2.2.7 e 2.2.8 .

5.1.4 o número do cadastro de isenção deve constar na rotulagem do medicamento.

6 .REVALIDAÇÃO DO REGISTRO DE MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS REGISTRADOS ATÉ 31/01/1995

Em função da definição de medicamento fitoterápico constante desta Resolução, e da necessidade de reavaliar os medicamentos registrados até 31/01/95, de forma a que atendam aos critérios atuais de segurança, eficácia e qualidade, as solicitações de alteração ou revalidação devem obedecer aos seguintes requisitos:

6.1 atender ao disposto nos itens 2.1 e 2.2 desta Resolução, excetuando-se 2.2.7 e 2.2.8 .

6.2 apresentar até 31.01.2001 os estudos sobre toxicidade do medicamento fitoterápico, de acordo com o item 2.2.7 desta Resolução. Neste interstício, as bulas e rótulos devem conter obrigatoriamente os seguintes dizeres:

"MEDICAMENTO EM ESTUDO PARA AVALIAÇÃO CIENTÍFICA DA TOXICIDADE E DAS INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS".

6.3 apresentar até 31.01.2005 os estudos de comprovação da eficácia do medicamento fitoterápico, segundo o item 2.2.8 deste Regulamento; neste interstício, as bulas e rótulos devem conter obrigatoriamente os seguintes dizeres:

"MEDICAMENTO EM ESTUDO PARA AVALIAÇÃO CIENTÍFICA DAS INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS ".

6.4 Todos os medicamentos fitoterápicos registrados até 31/01/1995 terão sua autorização de comercialização prorrogada até 31.01.2001.

6.5 Se no interstício previsto no subitem anterior for observada toxicidade do medicamento ou for demonstrada a ausência de eficácia serão tomadas as medidas previstas na legislação vigente.

6.6 É permitida a alteração da modalidade de registro, de produto novo, produto similar ou de produto isento, para produto tradicional, devendo o interessado apresentar Relatório técnico adequado à nova condição pretendida, de acordo com o disposto nesta Resolução.

6.6.1 na hipótese de alteração da modalidade de registro para tradicional, os medicamentos com tempo de comercialização no mercado interno igual ou superior a 30 anos contarão automaticamente com 3 pontos no esquema de pontuação descrito no item 3.1 desta Resolução.

7 . EMBALAGEM E BULA

7.1 Embalagem externa (cartucho ou etiqueta no caso de inexistência de cartucho)

7.1.1 Não deve conter dizeres que induzam à automedicação, à utilização indevida do medicamento, ou referências a "Medicamento Natural" ou congêneres, que transmitam ao consumidor a idéia de produto inócuo ou possuidor de propriedades especiais.

7.1.2 A designação "MEDICAMENTO FITOTERÁPICO" deve ser utilizada .

7.1.3 Os medicamentos fitoterápicos tradicionais devem exibir a expressão "MEDICAMENTO FITOTERÁPICO TRADICIONAL ".

7.1.4 Atender aos demais aspectos previstos na legislação específica em vigor.

7.2 Na bula deverão constar:

7.2.1 Nomenclatura botânica oficial (gênero, espécie, variedade, autor do binômio e família).

7.2.2 Parte utilizada da planta.

7.2.3 Composição do medicamento, indicando a relação real, em peso ou volume, da matéria prima vegetal usada e a correspondência em marcadores e/ou princípios ativos, quando conhecidos .

7.2.4 atender aos demais aspectos previstos na legislação específica em vigor.

7.3 Conforme a indicação terapêutica, o medicamento fitoterápico deverá ser vendido somente sob prescrição médica.

8. CONSIDERAÇÕES GERAIS

8.1 Qualquer membro da sociedade poderá apresentar, para avaliação pela ANVS, sugestões de inclusão, supressão ou modificação da lista de medicamentos constante do Anexo I, enviando documentação com os seguintes dados:

8.1.1 nomenclatura botânica e popular, com referência à região de origem;

8.1.2 parte da planta utilizada;

8.1.3 indicações terapêuticas;

8.1.4 posologia e modo de usar (incluindo a duração do tratamento);

8.1.5 cuidados e limitações para o uso;

8.1.6 descrição do medicamento, incluindo formulação completa e forma farmacêutica;

8.1.7 dados referentes à realização, pelo menos, da Fase II dos ensaios clínicos, conforme normas preconizadas pelo CNS;

8.1.8 dados de trabalhos científicos e evidências outras, que comprovem a segurança e a eficácia do medicamento proposto.

8.2 Os processos de registro de fitoterápicos, protocolados na ANVS até a data de publicação desta Resolução, deverão ser adequados às novas disposições estabelecidas neste Regulamento no prazo de 360 (trezentos e sessenta) dias, contados da data de publicação deste ato.

ANEXO I

Nome popular	Nome científico	Parte usada	Formas de uso	Indicação Terapêutica	Dose Diária	Via de administração
ALCA- CHOFRÁ	Cynara scolymus L. Asteraceae	Folhas	Infusão, Decocção, Tintura (1:5)	Colerético, colagogo	- Folhas secas: máximo 6g - Tintura: 2 a 4 ml, 13 vezes	Oral
ALHO	Allium sativum L. Liliaceae	Bulbo	Bulbo fresco ou seco, tintura, óleo, extrato seco	Coadjuvante no tratamento de hiperlipidemia e hipertensão arterial leve; prevenção da aterosclerose	- Bulbo seco: 0,4-1,2g - Bulbo fresco: 2 a 4g - Tintura: 6 a 12 ml - Óleo 2 a 5 mg - Extrato seco: 300 a 1000 mg	Oral
BABOSA	Aloe vera (L.) Burm. f. Liliaceae	Gel mucilaginoso das folhas	Creme, gel	Tratamento de queimaduras térmicas (1º e 2º graus) e de radiação	10 a 70% do gel fresco	Tópico
BOLDO-DO- CHILE	Peumus boldus Mol. Monimiacaceae	Folhas	Infusão	Colagogo e colerético	2 a 5g	Oral
CALÊNDULA	Calendula officinalis L. Asteraceae	Flores	Infusão, tintura	Cicatrizante, anti-inflamatório e antisséptico	- Infusão: 1 a 2g/150ml - Tintura: 2 a 4 ml/250-500ml água	Tópico
CAMOMILA	Matricaria recutita L. Asteraceae	Capítulos florais	Infusão, tintura	Antiespasmódico, anti-inflamatório	- Infusão: 2 a 6g, 3 vezes - Tintura: 5% apenas tópico	Oral e tópico
GENGIBRE	Zingiber officinale Roscoe Zingiberaceae	Raízes	Infusão, decocção	Profilaxia de náuseas causadas pelo movimento (cinetose), e pós-cirúrgicas	- 6 anos: 0,5-2g - adulto: 2 a 4g	Oral
HORTELÃ PIMENTA	Mentha x piperita L. Lamiaceae	Folhas	Infusão, tintura (1:5)	Carminativo, expectorante	- Infusão: 3 a 6g - Tintura: 5 a 15 ml	Oral
MELISSA	Melissa officinalis L. Lamiaceae	Folhas	Infusão, tintura (1:10)	Carminativo, antiespasmódico, sedativo	- Infusão: 8 a 10 g - Tintura: 6 a 18 ml	Oral
MARACUJÁ	Passiflora incarnata L. Passifloraceae	Folhas	Infusão, tintura (1:8)	Sedativo	- Infusão: 4 a 8 g - Tintura: 1 a 4 ml	Oral

SENE	Senna alexandrina Miller Caesalpiniaceae	Folhas e frutos	Infusão	Laxante suave	10 anos- adultos: 0,5 a 2,0 g (antes de dormir)	Oral
------	---	-----------------	---------	---------------	---	------

Obs.: esta lista foi elaborada baseando-se na literatura constante do anexo II.

ANEXO II

GRUPO I:

- 1- THE COMPLETE GERMAN COMMISSION "E" MONOGRAPHS THERAPEUTIC GUIDE TO HERBAL MEDICINES American Botanical Council Boston, Massachusetts, 1998
- 2- WHO MONOGRAPHS ON SELECTED MEDICINAL PLANTS vol. 1 1998 Geneva
- 3- MONOGRAPHS ON THE MEDICINAL USES OF PLANT DRUGS EUROPEAN SCIENTIFIC COOPERATIVE ON PHYTOTHERAPY, 1997

GRUPO II:

- 4- AMERICAN HERBAL PHARMACOPOEA Monografias
- 5- BRITISH HERBAL PHARMACOPOEA Monografias
- 6- BRITISH HERBAL COMPENDIUM British Herbal Association
- 7- LES MEDICAMENTS À BASE DE PLANTES Agence du Medicament, Paris, 1998
- 8- HACIA UNA FARMACOPEA CARIBEÑA (TRAMIL 7) Santo Domingo; Editora Lionel GermonsénRobineau, 1995
- 9- Monografias contendo informações etnofarmacológicas e/ou dados de estudos pré-clínicos e clínicos, realizadas por pesquisadores credenciadas pelo CNPq ou equivalente.

GRUPO III:

- 10- MINISTERIO DE LA SALUD Y ACCIÓN SOCIAL SECRETARIA DE POLÍTICA Y REGULACIÓN DE SALUD ANMAT (26/05/99) Disposicion n.º 2673
- 11- VADEMECUM DE PRESCRIPCIÓN . PLANTAS MEDICINAIS Masson, S. A. 3ª edição 1998
- 12- HERBAL MEDICINES A Guide for Health Care Professionals, London The Pharmaceutical Press 1996
- 13- PDR for HERBAL MEDICINES The information standard for complimentary medicine 1998
- 14- FARMÁCIAS VIVAS F.J.A. Matos Editora da UFCE, 1999
- 15- 270 PLANTAS MEDICINAIS IBEROAMERICANAS Gupta, M.P. CYTED Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnologia para el Desarrollo, 1995