



Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas

Maria da Penha Henriques do Amaral,^{*1} Fabiana Pires Vieira,¹
Magda Narciso Leite,¹ Lílian Henriques do Amaral,¹ Lucas César Pinheiro,¹
Bruno Guedes Fonseca,² Mônica Cecília Santana Pereira,³
Eduardo Vinícius Varejão⁴

¹Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora,
36036-330 Juiz de Fora-MG, Brasil

²Escola de Engenharia de Lorena, Departamento de Biotecnologia, CP 116,
12602-810 Lorena-SP, Brasil,

³Nativita Farmacêutica, Rua Paracatu, 1320, 36047-040 Juiz de Fora-MG, Brasil

⁴Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Rolfs, s/n Campus Universitário,
36570-000 Viçosa-MG, Brasil

RESUMO: A produção magistral do xarope de guaco, obtido a partir do extrato fluido do guaco (*Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae) e comercializada na Farmácia Universitária da UFJF/MG, gerou um projeto de pesquisa com o objetivo principal de estudar a estabilidade do produto acabado, tendo como ponto de referência a determinação do teor de cumarina das amostras armazenadas em diferentes temperaturas. O método aplicado para realizar a análise do teor de cumarina presente no xarope em estudo foi espectrometria no UV com comprimento de onda de 275,4 nm. Utilizou-se como veículo para efetuar as diluições da amostra uma mistura de metanol/água destilada, na proporção de 80% v/v. A curva de calibração foi obtida diluindo-se 100 mg de cumarina padrão em 100 mL da solução descrito acima, obtendo-se sete concentrações distintas com variação de 2 µg a 20 µg. Os resultados obtidos demonstraram que a temperatura de armazenamento de 45 °C foi considerada ótima para desenvolver a conversão do isômero *trans* em *cis* com subsequente conversão deste a cumarina. Os valores de cumarina encontrados na forma farmacêutica em estudo foram de 1,19 a 1,37 mg/mL, sendo que o valor mais alto refere-se às amostras armazenadas a 45°C durante seis meses.

Unitermos: Xarope, guaco, temperatura, cumarina, *Mikania glomerata*, Asteraceae

ABSTRACT: “Coumarin content of guaco syrup stored at different temperatures”. The production of guaco syrup, obtained from guaco (*Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae) fluid extract, and commercialized by the University Pharmacy of the Federal University of Juiz de Fora-MG, Brazil, led to a research project whose main aim was to study the stability of the finished product, with reference to the coumarin content of samples stored at different temperatures. UV spectrophotometry (275.4 nm) was used to assess the coumarin content of the study syrup. An 80% v/v methanol/distilled water mixture was used for sample dilution. The calibration curve was constructed by the dilution of 100 mg standard coumarin in 100 ml of the aforementioned solution, with seven distinct concentrations (ranging from 2 µg a 20 µg) being obtained. The results showed the 45 °C storage temperature to be optimum for the development of *trans-cis* isomerization, with subsequent conversion of the latter into coumarin. Coumarin content in the studied pharmaceutical presentation ranged from 1.19 to 1.37 mg/mL, the highest value corresponding to the samples stored at 45 °C for six months.

Keywords: Syrup, guaco, temperature, coumarine, *Mikania glomerata*, Asteraceae.

INTRODUÇÃO

Mikania glomerata Spreng. é uma espécie vegetal pertencente a família Asteraceae, conhecida

vulgarmente por “guaco”, “coração-de-jesus”, “guaco-liso”, “cipó-caatinga” e “erva-de-cobra”, oficializada na 1ª edição da Farmacopéia Brasileira (Brandão et al., 2006; 2008). É uma das espécies mais estudadas sobre o aspecto

* E-mail: penhauffj@yahoo.com.br; Tel. +55-32 3225-1533, Fax +55-32-3229-3802

farmacognóstico apesar de sua constituição química não estar completamente elucidada.

O guaco é uma planta medicinal brasileira, empregada em medicamentos para a tosse e problemas respiratórios (Silva et al., 2006; Soares et al., 2006; Tavares et al., 2006; Panizza, 2007; Corrêa et al., 2008; Marlière et al., 2008).

Outras espécies do gênero *Mikania* também recebem o nome vulgar de guaco, como por exemplo: *Mikania cordifolia* Willd, *Mikania scandins* Willd, *Mikania officinalis* Mart e *Mikania guaco* Willd. O gênero *Mikania* contém cerca de 300 espécies as quais são usadas em medicina popular (Agra et al., 2007; 2008). O estudo fitoquímico de diversas espécies de *Mikania* conduziu ao isolamento de monoterpênicos, lactonas sesquiterpênicas, diterpênicos e cumarinas (Christo et al., 2006; Reis et al., 2008; Bolina et al., 2009; Bueno & Bastos, 2009).

O estudo químico do guaco mostra as seguintes substâncias isoladas: cumarina (1,2-benzopirano), ácido kaurenóico, ácido cinamolglândiflóroco, estmasterol, friedelina, lupeol e siringaldeído (Osório & Martins, 2004; Pedroso et al., 2008). Dentre estes se destacam a cumarina e o ácido kaurenóico por suas ações farmacológicas tais como antiinflamatória e expectorante (Falcão et al., 2005; Silva et al., 2008). Acredita-se que o ácido kaurenóico tenha a propriedade de inibir o crescimento do *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* podendo ser este e ainda o ácido cinamolgrandiflórico os responsáveis pela atividade antibiótica (Soares et al., 2006).

O guaco possui aroma agradável semelhante à baunilha, por isso é empregado como corretivo de sabor e odor no preparo de licores, balas e pirulitos.

Externamente é usado nas formas de tintura e sabão medicinal. Essas formas farmacêuticas são aplicadas sob fricções, nos casos de dores nevralgias e de reumatismos e, também, na forma de banhos no tratamento de eczema pruriginoso e como anti-séptico (Souza & Felfili, 2006).

Segundo a tradição popular, o guaco é empregado como calmante da tosse, expectorante, béquico e balsâmico nas afecções das vias respiratórias, como antiespasmódico, antiinflamatório e antídoto para veneno de cobra e escorpião.

Oliveira et al. (1995), relataram a atividade antiedema e toxicidade aguda do extrato de *Mikania glomerata* e *M. laevigata* no edema induzido, pela carregenina, na pata de ratos *Wistar* machos. Concluíram que ambos apresentam atividade inibitória do edema induzido, mas atentam que esse efeito não pode ser considerado como único e exclusivamente motivados pelos componentes dos vegetais, uma vez que o etanol contido no extrato pode exercer efeito semelhante.

O xarope de guaco é um fitoterápico popular de fácil aceitação por duas gerações distintas: pelas crianças, devido ao aroma e sabor agradáveis e pela terceira idade, cuja fidelidade ao uso deste medicamento deve-se aos efeitos balsâmicos da tosse e como expectorante, reduzindo

estes sintomas em um curto espaço de tempo. Por ser um fitoterápico de efeito rápido, de sabor agradável e baixo custo quando obtido na forma magistral, a comunidade local, munida das prescrições obtidas nas Unidades Básicas de Saúde, têm recorrido à Farmácia Universitária da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) para obtenção deste medicamento.

Outras atividades farmacológicas descritas na literatura para plantas do gênero *Mikania* são atividade hipoglicemiante, anti-diarréica, anti-*Trypanosoma cruzi*, antioxidante, alelopática, anticonvulsivante e antimalárica (Barbosa-Filho et al., 2005; Salgado et al., 2005; Saúde-Guimarães & Faria, 2007; Vicentino & Menezes, 2007; Baratto et al., 2008; Quintans-Júnior et al., 2008; Mariath et al., 2009)

Foi realizado um estudo para a determinação do teor de cumarina presente no xarope de guaco, armazenado em temperaturas distintas, com o comprometimento de oferecer à comunidade um medicamento seguro e eficaz.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

Foram obtidas folhas de guaco provenientes do Horto Medicinal da FFB/UFJF. Uma excisada foi depositado no Herbário do Departamento de Botânica da UFJF sob o número 42054. A planta fresca, após a triagem, foi exposta sobre a bancada para a pré-secagem à temperatura ambiente, por 48 h e, posteriormente, transferida para a estufa sob temperatura controlada de 35 °C (± 1) até a perda de 95% de sua umidade. Em seguida, efetuou-se a trituração utilizando máquina tipo picadeiro e moinho a martelo (marca Junqueira - modelo 10 JC6, capacidade máxima 3000 rpm, com tamis malha 20), obtendo-se um pó grosso. O rendimento após a trituração e tamização foi de 5,9 kg de pó de guaco, sendo armazenado em sacos plásticos transparentes, à temperatura ambiente, devidamente lacrados.

Preparo do extrato fluido e do xarope de guaco

Preparou-se o extrato fluido passando pelas fases da maceração e percolação, conforme método descrito na Farmacopéia Brasileira 1ª edição (Silva, 1929). O xarope simples foi preparado segundo a Farmacopéia Brasileira. 1ª edição. O xarope de guaco, também seguiu o procedimento da Farmacopéia Brasileira. 1ª edição, no que diz respeito à concentração, sendo que o diferencial foi a adição do extrato fluido ao xarope simples aquecido à temperatura de 85 °C (Almeida et al., 1998).

Procedimento de envase e armazenagem

Em cada frasco de vidro âmbar, com capacidade total de 150 mL, foram envasados 100 mL do produto,

totalizando um lote de 150 frascos de “Xarope de Guaco”. Cada embalagem recebeu o rótulo de identificação do produto com o registro da temperatura de armazenagem.

Distribuiu-se 36 frascos para cada temperatura em estudo (temperatura ambiente, 37, 45 e 10 °C). O controle das temperaturas de armazenamento foi realizado mediante a utilização de termômetros calibrados (de máxima e mínima) instalados nos interiores dos equipamentos (estufas e geladeira).

Abordagem fitoquímica e perfil em CCD

Foram realizados testes para determinação de flavonóides, heterosídeos saponínicos, alcalóides, cumarinas, triterpenos e cinzas, tanto para xarope, extrato e planta seca e pulverizada, através de reações genéricas de identificação. A presença de substâncias fenólicas foi evidenciada na reação com $AlCl_3$, em que a fluorescência amarelo-esverdeado, visualizada sob luz UV, se deve a complexação do composto com alumínio. A identificação da cumarina foi realizada numa reação com KOH em presença de luz UV 365 nm.

As frações após partição com acetato de etila foram analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD) frente ao padrão de cumarina (FLUKA[®]) visando o estabelecimento de perfil cromatográfico que permita identificação do insumo farmacêutico.

Obtenção da reta de calibração

Dissolveu-se 100 mg de cumarina padrão em 100 mL de metanol/água. Realizaram-se sucessivas diluições para obtenção de sete concentrações diferentes variando de 2 µg a 20 µg. As leituras das absorvâncias foram realizadas no UV a 275,4 nm. Este procedimento foi realizado por três dias consecutivos obtendo-se a Reta de Calibração com valores médios das três determinações após regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.

A concentração e a absorção variam linearmente, tendo como equação da reta a seguinte expressão:

$$C = K \cdot ABS + B$$

onde: C = concentração; K = coeficiente angular; B = coeficiente linear; e ABS = absorção.

Aplicou-se como tratamento estatístico a regressão linear pelo método dos mínimos quadrados e as análises foram realizadas durante três dias consecutivos.

Determinação do teor de cumarina

Preparou-se uma solução de cumarina padrão em metanol/água (80:20) de concentração igual a 6 µg/mL para seleção do espectro na região do UV tendo sido determinado que o comprimento de onda de maior absorção ocorreu em 275,4 nm. Esta solução foi utilizada

também para determinação do teor de cumarina. Foram realizadas diluições sucessivas, em triplicata, em quatro amostras de xarope armazenados nas distintas temperaturas de trabalho de forma a se obter leituras de concentração em uma faixa de absorção de 0,400 e 0,600. O diluente utilizado foi mistura de metanol/água 80% v/v. As leituras das absorvâncias foram feitas a 275,4 nm e a concentração determinada através da reta de calibração comparativamente com a solução de cumarina padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se a presença de substâncias de natureza fenólica, cumarina e esteróides. A presença de cumarina também foi confirmada por cromatografia em camada delgada, conforme apresenta a Figura 1. Os resultados positivos para a reação de Liebermann-Bourchard demonstram a presença de substâncias com anel triterpênico/esteroidal.

Esses resultados estão de acordo com Oliveira et al. (1993), que também encontraram resultado fracamente positivo para alcalóides atribuindo este resultado à presença de cumarina que pode levar a resultados falso-positivos para alcalóides. Acusa ainda, presença de traços de saponinas, resultado demonstrado também por Silva & Leite (1998) para plantas colhidas no período de floração.

A observação de fluorescência amarelo-esverdeado na placa de CCD sugere a identificação da cumarina cujo R_f corresponde ao R_f da cumarina padrão (0,79 cm). O perfil cromatográfico observado neste cromatograma é característico na identificação do guaco conforme descrito por Oliveira (1993), que observou a presença de quatro substâncias em condições semelhantes de trabalho.

Através da seleção do espectro na região do UV, da solução de cumarina padrão 6 µg/mL, observou-se que o comprimento de onda de maior absorção ocorreu em 275,4 nm conforme demonstrado na Figura 1. Esse espectro permite avaliar que não houve interferência significativa dos conservantes (nipagin/nipazol) usados na preparação do xarope quanto a absorção, para o comprimento de onda selecionado (275,4 nm).

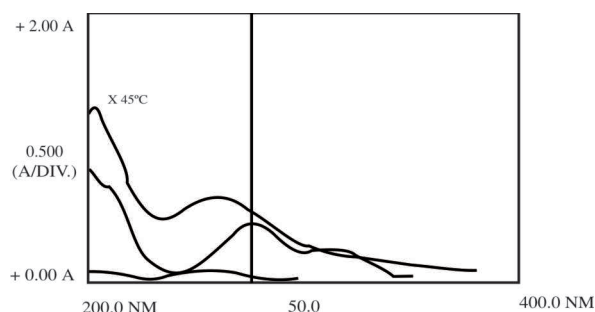


Figura 1. Espectro comparativo de absorção no UV para padrão (P), xarope de guaco (X45 °C) e xarope simples (XS).

Os resultados encontrados para os teores de cumarina indica que a perda por volatilização e o equilíbrio *cis-trans* são os responsáveis pelos fenômenos de queda e elevação do teor de cumarina, observados no xarope, em função da temperatura, que pode promover a abertura do anel cumarínico com o tempo de armazenamento.

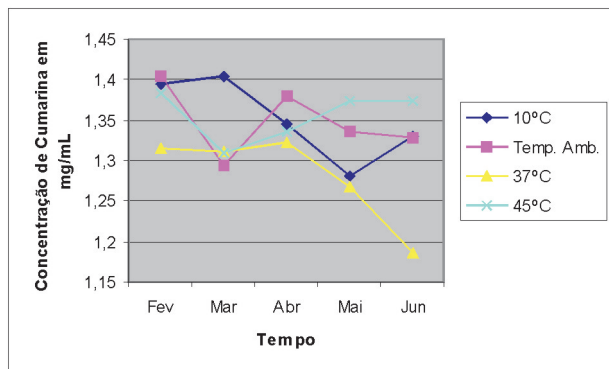


Figura 2. Resultado da concentração de cumarina em mg/mL no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas (geladeira (10 °C), temperatura ambiente, 37 e 45 °C) no período de fevereiro a junho de 1999

O isômero *trans* é mais estável às temperaturas de 10 °C e a temperatura ambiente; supõe-se que o equilíbrio da reação esteja mais deslocado para a direita e uma menor concentração de *trans* volta a *cis* formando novamente a cumarina.

A 37 °C o fenômeno acima descrito não se aplica, pois não foram observados aumento no teor de cumarina. Já a 45 °C, com a temperatura mais elevada, o equilíbrio se desloca de forma a promover a ciclização do precursor em cumarina justificando, desta maneira, o aumento do teor, apesar da perda por volatilização que pode ser sentida pelo odor cumarínico mais pronunciado desprendido do xarope armazenado nessa temperatura.

O teor encontrado foi de 30% maior para a planta seca em estufa a 40 °C do que para a planta fresca e seca à temperatura ambiente. O resultado mais surpreendente foi verificado por Almeida et al. (1998), que encontraram teores 97% mais altos para xarope preparado a 80 °C do que para xarope preparado a frio. Em ambos os artigos, os autores apresentam a hipótese de que o precursor (isômero *trans*) existente na *Mikania glomerata*, sob condição de temperatura elevada, se transformaria em cumarina.

Os teores médios de cumarina encontrados no xarope variaram de 1,19 a 1,37 mg/mL em função do tempo e da temperatura de armazenamento. Estes valores estão acima dos valores médios encontrados por Almeida et al. (1998), 0,05 mg/mL, usando técnicas de extração e metodologia de análise (HPLC) diferentes das descritas nesse artigo.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos na determinação

do teor de cumarina presente no xarope de guaco, armazenado em geladeira a 10 °C e a temperatura ambiente - condições normais de armazenamento - foi verificado que após seis meses houve uma perda de aproximadamente 5% do teor de cumarina. Essa perda pode estar associada à abertura do anel cumarínico e à isomerização do composto a forma *trans*, de maior estabilidade.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo observamos que, as amostras de xarope armazenadas a 37 °C apresentaram uma perda no teor de cumarina de aproximadamente 10%. Acredita-se que esta perda possa estar associada à volatilização do produto durante o armazenamento.

Os resultados são concordantes com as observações descritas por Almeida et al. (1998), de que o extrato de guaco deve ser acrescentado ao xarope sob temperatura de 80°C como forma de promover a transformação do precursor em cumarina elevando o teor inicial da mesma no produto, garantindo maior eficácia terapêutica.

Este fenômeno de equilíbrio, decorrente da temperatura elevada, justifica o aumento gradativo do teor de cumarina do terceiro ao quinto mês de armazenamento do produto a 45 °C apesar da perda por volatilização (inferior a 1%).

Com base nos resultados obtidos nos seis meses iniciais de estudo em que se trabalhou em condições forçadas de armazenamento (37 °C e 45 °C), podemos sugerir um prazo de validade de um ano para este produto, se armazenado à temperatura ambiente ou de geladeira a 10 °C.

Para comprovação desta hipótese, será necessário dar continuidade aos estudos através da caracterização física, química, biológica e microbiológica do produto antes e após o prazo de validade estimado de um ano, pesquisando a estabilidade de longa duração do produto.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.
- Agra MF, Silva KN, Basílio IJLD, França PF, Barbosa-Filho JM 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 472-508.
- Almeida JML, Santana R, Rocha LM, Santos EVM, Sharapin N 1998. Processo de fabricação e determinação do prazo de validade do Xarope de Guaco. In: *Anais do XV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil*. UNIFESP, Águas de Lindóia-SP, 08.019, 197.

- Baratto L, Lang KL, Vanz DC, Reginatto FH, Oliveira JB, Falkenberg M 2008. Investigação das atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtida de cultivos hidropônico e tradicional. *Rev Bras Farmacogn* 18: 577-582.
- Barbosa-Filho JM, Vasconcelos THC, Alencar AA, Batista LM, Oliveira RAG, Guedes DN, Falcão HS, Moura MD, Diniz MFFM, Modesto-Filho J 2005. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Rev Bras Farmacogn* 15: 392-413.
- Bolina RC, Garcia EF, Duarte MGR 2009. Estudo comparativo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. *Rev Bras Farmacogn* 19: 294-298.
- Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM 2006. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 16: 408-420.
- Brandão MGL, Zanetti NNS, Oliveira GRR, Goulart LO, Monte-Mor RLM 2008. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 18: 127-134.
- Bueno PCP, Bastos JK 2009. A validated capillary gas chromatography method for guaco (*Mikania glomerata* S.) quality control and rastreability: from plant biomass to phytomedicines. *Rev Bras Farmacogn* 19: 218-223.
- Christo AG, Guedes-Bruni RR, Fonseca-Kruel US 2006. Uso de recursos vegetais em comunidades rurais limitrofes à reserva biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro: Estudo de Caso na Gleba Aldeia Velha. *Rodriguésia* 57: 579-542.
- Corrêa MFP, Melo GO, Costa SS 2008. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da Asma. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 785-797.
- Falcão HS, Lima IO, Santos UL, Dantas HF, Diniz MFFM, Barbosa-Filho JM, Batista LM 2005. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 15: 381-391.
- Mariath IR, Falcão HS, Barbosa-Filho JM, Sousa LCF, Tomaz ACA, Batista LM, Diniz MFFM, Athayde-Filho PF, Tavares JF, Silva MS, Cunha EVL 2009. Plants of the American continent with antimalarial activity. *Rev Bras Farmacogn* 19: 158-192.
- Marlière LDP, Ribeiro AQ, Brandão MGL, Klein CH, Acurcio FA 2008. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 754-760.
- Oliveira F, Saito ML, Garcia L 1993. Caracterização cromatográfica em camada delgada do extrato fluido de guaco - *Mikania glomerata* Spreng - *Lecta* 11: 43-55.
- Osório CA, Martins JLS 2004. Determinação de cumarina em extrato fluido e tintura de guaco por espectrofotometria derivada de primeira ordem. *Rev Bras Cienc Farm* 40: 481-486.
- Panizza S 1997. *Plantas que curam: cheiro de mato*. São Paulo: IBRASA, 117-118.
- Pedroso APD, Santos SC, Steil AA, Deschamps F, Barison A, Campos F, Biavatti MW 2008. Isolation of syringaldehyde from *Mikania laevigata* medicinal extract and its influence on the fatty acid profile of mice. *Rev Bras Farmacogn* 18: 63-69.
- Quintans-Júnior LJ, Almeida JRGS, Lima JT, Nunes XP, Siqueira JS, Oliveira LEG, Almeida RN, Athayde-Filho PF, Barbosa-Filho JM 2008. Plants with anticonvulsant properties - a review. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 798-819.
- Reis AA, Ferraz TL, Martins D, Cruz FG, Guedes MLS, Roque NF 2008. Preliminary studies on the volatile constitution of *Mikania* species. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 683-685.
- Salgado HRN, Roncari AFF, Moreira RRD 2005. Antidiarrhoeal effects of *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) leaf extract in mice. *Rev Bras Farmacogn* 15: 205-208.
- Saúde-Guimarães DA, Faria AR 2007. Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanosoma cruzi*. *Rev Bras Farmacogn* 17: 455-465.
- Silva RA 1929. *Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil*. São Paulo: Ed. Nacional.
- Silva AAS, Leite MN 1998. Contribuição para o estudo farmacológico do gênero *Mikania*. *Livro de resumos da IV Reunião de Iniciação Científica UFJF*.
- Silva MIG, Gondim APS, Nunes IFS, Sousa FCF 2006. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). *Rev Bras Farmacogn* 16: 455-462.
- Silva CR, Gomes VS, Kulkamp IC, Kanis LA 2008. Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de *Mikania glomerata* Sprengel. *Rev Bras Farmacogn* 18: 594-599.
- Soares AKA, Carmo GC, Quental DP, Nascimento DF, Bezerra FAF, Moraes MO, Moraes MEA 2006. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. *Rev Bras Farmacogn* 16: 447-454.
- Souza CD, Felfili JM 2006. Uso de Plantas Medicinais na Região de Alto Paraíso de Goiás/GO, Brasil - *Acta Bot Bras* 20: 135-142.
- Tavares JP, Martins IL, Vieira AS, Lima FAV, Bezerra FAF, Moraes MO, Moraes MEA 2006. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico a base de associações de plantas, mel e própolis. *Rev Bras Farmacogn* 16: 350-356.
- Vicentino ARR, Menezes FS 2007. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. *Rev Bras Farmacogn* 17: 384-387.