

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DA ESPÉCIE LIPPIA SIDOIDES (ALECRIM-
PIMENTA)

Organização: Ministério da saúde e Anvisa

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

Brasília

2014

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1. <i>Lippia sidoides</i> sob condições naturais..... | 9 |
| Figura 2. <i>Lippia sidoides</i> sob condições de cultivo..... | 10 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Hierarquia Taxonômica de <i>Lippia sidoides</i> | 8 |
| Tabela 2. Nomenclatura popular e distribuição geográfica de <i>Lippia sidoides</i> | 11 |
| Tabela 3. Atividade de derivados vegetais de <i>L. sidoides</i> contra micro-organismos benéficos, fitobactérias, bactérias patogênicas e fungos <i>in vitro</i> | 27 |

ABREVIATURAS

CG-EM: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

CBM: Concentração bactericida mínima

CFM: Concentração fungicida mínima

CIM: Concentração inibitória mínima

CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência

D.N.E.L.: Dado não encontrado na literatura consultada.

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

HI: Halo de inibição

ICM: Inibição do crescimento micelial

LC₅₀: Concentração letal para 50% dos indivíduos

LC₉₀: Concentração letal para 90% dos indivíduos

OE: Óleo essencial

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

TPA: 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol

UFC: Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 IDENTIFICAÇÃO | 7 |
| 1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA | 7 |
| 1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA | 7 |
| 1.3 FAMÍLIA | 7 |
| 1.4 FOTO DA PLANTA | 8 |
| 1.5 NOMENCLATURA POPULAR | 9 |
| 1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA | 9 |
| 1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS | 10 |
| 2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS | 11 |
| 2.1 PARTE UTILIZADA/ ÓRGÃO VEGETAL | 11 |
| 2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA | 11 |
| 2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA | 11 |
| 2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES | 11 |
| 3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE | 11 |
| 3.1 ESPÉCIE VEGETAL/ DROGA VEGETAL | 11 |
| 3.1.1 Caracteres organolépticos | 12 |
| 3.1.2 Requisitos de pureza | 12 |
| 3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns | 12 |
| 3.1.2.2 Microbiológico | 12 |
| 3.1.2.3 Teor de umidade | 12 |
| 3.1.2.4 Metal pesado | 12 |
| 3.1.2.5 Resíduos químicos | 12 |
| 3.1.2.6 Cinzas | 12 |
| 3.1.3 Granulometria | 13 |
| 3.1.4 Prospecção fitoquímica | 13 |
| 3.1.5 Testes físico-químicos | 13 |
| 3.1.6 Testes de identificação | 13 |
| 3.1.7 Testes de quantificação | 13 |
| 3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não | 13 |
| 3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade | 14 |
| 3.2 DERIVADO VEGETAL | 14 |

| | | |
|--------------|---|----|
| 3.2.1 | Descrição | 14 |
| 3.2.2 | Método de obtenção | 14 |
| 3.2.3 | Caracteres organolépticos | 15 |
| 3.2.4 | Requisitos de pureza | 15 |
| 3.2.4.1 | <i>Perfil de contaminantes comuns</i> | 15 |
| 3.2.4.2 | <i>Microbiológico</i> | 15 |
| 3.2.4.3 | <i>Teor de umidade</i> | 15 |
| 3.2.4.4 | <i>Metal pesado</i> | 15 |
| 3.2.4.5 | <i>Resíduos químicos</i> | 15 |
| 3.2.5 | Testes físico-químicos | 16 |
| 3.2.6 | Prospecção fitoquímica | 16 |
| 3.2.7 | Testes de identificação | 17 |
| 3.2.8 | Testes de quantificação | 17 |
| 3.2.8.1 | <i>Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não</i> | 18 |
| 3.3 | PRODUTO FINAL | 19 |
| 3.3.1 | Forma farmacêutica | 19 |
| 3.3.2 | Testes específicos por forma farmacêutica | 19 |
| 3.3.3 | Requisitos de pureza | 19 |
| 3.3.4 | Resíduos químicos | 19 |
| 3.3.5 | Prospecção fitoquímica | 19 |
| 3.3.6 | Testes de identificação | 20 |
| 3.3.7 | Testes de quantificação | 20 |
| 3.3.7.1 | <i>Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não</i> | 20 |
| 4 | INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA | 21 |
| 4.1 | USOS POPULARES/ TRADICIONAIS | 21 |
| 4.2 | PRESENÇA NA NOTIFICAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS | 21 |
| 4.3 | ESTUDOS NÃO CLÍNICOS | 21 |
| 4.3.1 | Estudos toxicológicos | 21 |
| 4.3.1.1 | <i>Toxicidade aguda</i> | 22 |
| 4.3.1.2 | <i>Toxicidade subcrônica</i> | 23 |
| 4.3.1.3 | <i>Toxicidade crônica</i> | 24 |
| 4.3.1.4 | <i>Genotoxicidade</i> | 24 |
| 4.3.1.5 | <i>Sensibilização dérmica</i> | 24 |
| 4.3.1.6 | <i>Irritação cutânea</i> | 24 |

| | |
|--|-----------|
| 4.3.1.7 Irritação ocular | 24 |
| 4.3.2 Estudos farmacológicos | 24 |
| 4.3.2.1 Ensaaios <i>in vitro</i> | 25 |
| 4.3.2.2 Ensaaios <i>in vivo</i> | 31 |
| 4.3.2.3 Ensaaios <i>ex vivo</i> | 35 |
| 4.4 ESTUDOS CLÍNICOS | 36 |
| 4.4.1 Fase I | 36 |
| 4.4.2 Fase II | 36 |
| 4.4.3 Fase III | 38 |
| 4.4.4 Fase IV | 39 |
| 4.4.5 Estudos observacionais | 39 |
| 4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO | 39 |
| 4.5.1 Vias de Administração | 40 |
| 4.5.2 Dose Diária | 40 |
| 4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo) | 40 |
| 4.5.4 Período de Utilização | 40 |
| 4.5.5 Contra Indicações | 40 |
| 4.5.6 Grupos de Risco | 40 |
| 4.5.7 Precauções de Uso | 41 |
| 4.5.8 Efeitos Adversos Relatados | 41 |
| 4.5.9 Interações medicamentosas | 41 |
| 4.5.10 Informações de superdosagem | 41 |
| 5 INFORMAÇÕES GERAIS | 42 |
| 5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS/ FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA | 42 |
| 5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS | 42 |
| 5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO | 42 |
| 5.4 ROTULAGEM | 42 |
| 5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS | 42 |
| 5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL | 43 |

1 IDENTIFICAÇÃO

1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA

A planta revisada nesta monografia tem como nome oficial *Lippia sidoides* Cham., de autoria de Chamisso, Ludolf Karl Adelbert Von, publicado em: *Linnaea*7:224.1832 (1).

1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA

É reportado como sinonímia botânica *Lippia organoides* Kunth (2).

1.3 FAMÍLIA

A espécie em questão é pertencente à Família *Verbenaceae* e tem sua hierarquia taxonômica descrita na Tabela 1 (1):

Tabela 1. Hierarquia Taxonômica de *Lippia sidoides*.

| Hierarquia | |
|------------|------------------------------------|
| Classe | <i>Equisetopsida</i> C. Agardh |
| Subclasse | <i>Magnoliidae</i> Novák ex Takht. |
| Superordem | <i>Asteranae</i> Takht. |
| Ordem | <i>Lamiales</i> Bromhead |
| Família | <i>Verbenaceae</i> J. St.-Hil. |
| Gênero | <i>Lippia</i> |

1.4 FOTO DA PLANTA

A foto de um exemplar da planta pode ser visualizada sob condições naturais (Figura 1) e sob condições de cultivo (Figura 2)

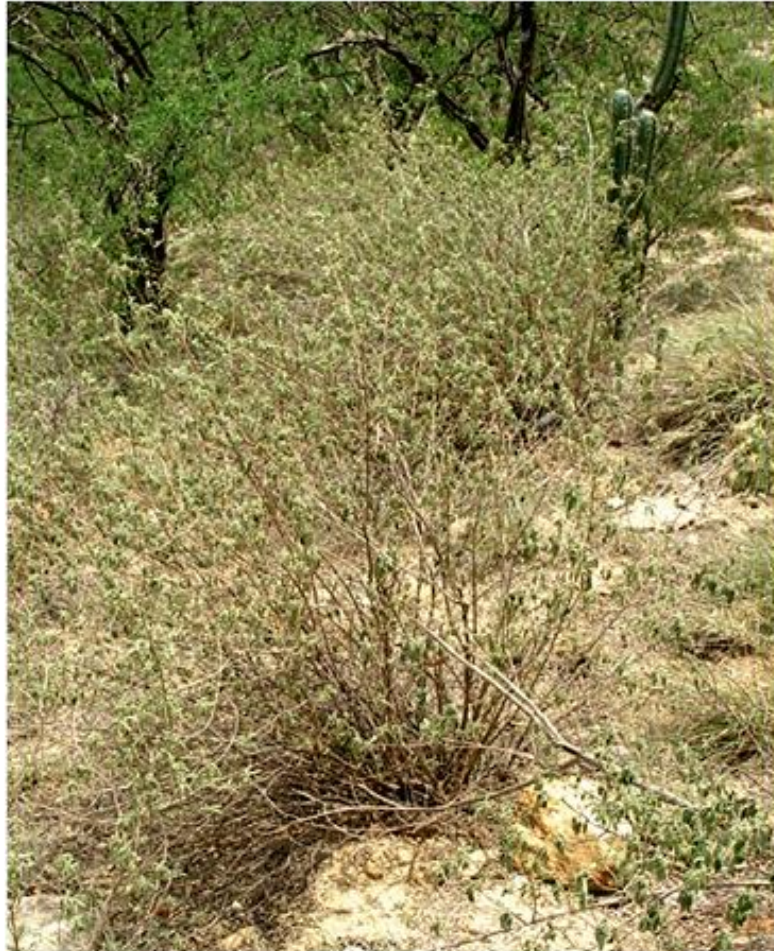


Figura 1. *Lippia sidoides* sob condições naturais (3).



Figura 2. *Lippia sidoides* sob condições de cultivo (3)

1.5 NOMENCLATURA POPULAR

Os nomes populares relatados para esta espécie encontram-se na Tabela 2. Dentre eles pode-se observar que o nome alecrim-pimenta predomina quanto ao número de referências que o citam e, portanto, também em termos de conhecimento popular.

1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A maioria dos trabalhos relata a maior ocorrência desta espécie na região Nordeste do Brasil. No entanto, ela pode ser encontrada ainda em outros países da América Latina, conforme é mostrado na Tabela 2.

Tabela 2. Nomenclatura popular e distribuição geográfica de *Lippia sidoides*.

| Nome Popular | Distribuição Geográfica | Referência |
|-------------------------------------|---|-------------------|
| Alecrim | Nordeste do Brasil | (4) |
| Alecrim-bravo | Nordeste do Brasil | (5-8) |
| Alecrim-d'Angola | México, Guatemala, Cuba, Guiana, Venezuela, Brasil (norte) e Colômbia | (9) |
| Alecrim-do-Nordeste | Nordeste do Brasil | (6) |
| Alecrim-do-Tabuleiro | Nordeste do Brasil | (10) |
| Alecrim-grande | Caatinga – Região Nordeste do Brasil | (8, 11, 12) |
| Alecrim-pimenta | Nordeste do Brasil | (13-64) |
| Estrepa-cavalo | Nordeste do Brasil | (6, 8, 11, 65-68) |
| Orégano | México, Guatemala, Cuba, Guiana, Venezuela, Brasil (norte) e Colômbia | (9) |
| Orégano-cimarrón | D.N.E.L. | (69) |
| Orégano-de-monte | América Central e Norte da América do Sul | (70-71) |
| Orégano-selvagem | D.N.E.L. | (72) |
| Pepper rosmarin/ Pepper rosmarin | Nordeste do Brasil | (73) |
| Rosemary Pepper | América Latina | (74) |
| Salva-de-Marajó | México, Guatemala, Cuba, Guiana, Venezuela, Brasil (norte) e Colômbia | (9) |

D.N.E.L.: Dado não encontrado na literatura consultada.

1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS

As espécies correlacionadas com *L. sidoides*, encontradas na literatura consultada, foram *Lippia alba*, *Lippia dulcis*, *Lippia graveolens* e *Lippia gracilis*.

2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 PARTE UTILIZADA/ ÓRGÃO VEGETAL

Os relatos da literatura incluem os seguintes órgãos vegetais: folhas (secas ou frescas), talos ou caules, flores, cascas e raízes (3-7, 9, 11, 14, 16, 18, 19, 21-24, 27-29, 33, 35, 36, 38-42, 46-52, 54, 56, 57, 61-63, 65, 67, 69, 71, 72, 74-106). Há também relatado o uso de brotos, ramos, cerne, partes aéreas, bem como da planta inteira (10, 12, 30, 32, 34, 45, 107-111).

2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Dado não encontrado na literatura consultada.

2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

Dado não encontrado na literatura consultada.

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

Dado não encontrado na literatura consultada.

3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE

3.1 ESPÉCIE VEGETAL/ DROGA VEGETAL

3.1.1 Caracteres organolépticos

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.2 Requisitos de pureza

3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.2.2 Microbiológico

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.2.3 Teor de umidade

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.2.4 Metal pesado

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.2.5 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.2.6 Cinzas

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.3 Granulometria

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.4 Prospecção fitoquímica

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.5 Testes físico-químicos

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.1.6 Testes de identificação

Para a identificação de algumas substâncias da droga vegetal foi utilizada a técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (66).

3.1.7 Testes de quantificação

Dado não encontrado na literatura consultada.

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

Foram relatadas como presentes na droga vegetal naftoquinonas, dentre elas o lapachenol, o isocatalpanol, o catalpanol e a tectona. Ainda foram encontradas naftoquinonas diméricas como o tectol, diaciltectol, tecomaquinona, derivado da tecomaquinona e lippsidoquinona (66, 112). Detectou-se também a presença de 6-oxo-3,4,4a,5-tetraidro-3-hidroxi-2,2-dimetil-nafto-1,2-pirano; 6,7-dimetoxi-5,4-didroxiflavona; derivados de estrutura triterpênica como: icterogenina, ácido remânico e desoxi-icterogenina; leucoantocianidinas, esteróides e alcaloides (112).

3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade

Trabalhos realizados na região do Nordeste do Brasil descrevem a classe das quinonas como sendo restrita e, dentro do gênero *Lippia*, esta ocorreria nas espécies *L. sidoides* e *L. microphylla*.

3.2 DERIVADO VEGETAL

3.2.1 Descrição

O termo “derivado vegetal” se refere a todo tipo de extrativo processado a partir da droga vegetal ou uma parte dela. São exemplos de derivados vegetais os óleos essenciais (OE), extrato alcoólico, extrato hidroalcoólico, extrato metanólico, entre outros.

3.2.2 Método de obtenção

A parte da planta a ser processada, seca ou fresca, para originar o extrato fluido, foi submetida a métodos como maceração ou decocção com o respectivo solvente. Assim obtiveram-se extratos alcoólicos, hidroalcoólicos, metanólicos e aquosos. Os extratos alcoólicos ou etanólicos foram obtidos por moagem da droga vegetal ou parte dela em moinho de facas (78, 109), seguida por maceração dinâmica a 200 rpm e a 50°C por 30 min (88) ou por trituração da droga vegetal ou parte dela e posterior extração com etanol (6). O extrato hidroalcoólico foi obtido de folhas secas e maceradas com posterior filtração à vácuo (56). O extrato metanólico foi obtido por maceração, lixiviação das folhas com metanol (75, 86) ou ainda por espessão, originando uma resina (122). Os extratos aquosos foram obtidos por maceração da droga vegetal ou parte dela pulverizada (106). Também se fez uso de extrato seco, o qual foi obtido como resultado da secagem em leito fluidizado (19). Outro tipo de derivado relatado na literatura para *L. sidoides* inclui a tintura obtida por maceração com mistura de etanol-água na proporção 70%-30%, respectivamente (65). Já o OE foi obtido de diferentes formas, sendo hidrodestilação em aparelho de Clevenger a mais usada (4, 5, 9, 19, 21-24, 27, 29, 32, 34, 39-42, 45-47, 49, 52, 57, 62, 81, 84, 87, 88, 91, 92, 94, 96, 98, 100, 113-118), seguida por extração por arraste de vapor (11, 13, 20, 38, 44, 50, 89, 90, 99, 108, 110, 111) e por extração assistida por micro-ondas (12, 69, 70, 71, 79, 82, 83, 97, 105, 119). Ainda, o óleo essencial foi

extraído com fluido supercrítico (CO₂) (121, 122) a temperaturas de 31,3 e 61,3 °C e tempo de contato de 30 e 60 min a uma pressão fixa de 78 bar (121).

3.2.3 Caracteres organolépticos

O extrato alcoólico obtido do cerne foi descrito como um xarope viscoso de cor castanha (10).

3.2.4 Requisitos de pureza

3.2.4.1 Perfil de contaminantes comuns

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.2.4.2 Microbiológico

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.2.4.3 Teor de umidade

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.2.4.4 Metal pesado

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.2.4.5 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.2.5 Testes físico-químicos

Para o extrato etanólico das folhas foram descritos um pH= 5,63 e densidade= 0,90 g/mL, enquanto que seu extrato seco apresentou pH= 4,94 e densidade= 0,97 g/ mL (78). Ainda para o extrato etanólico de folhas secas foi encontrado pH entre 6,28 e $6,40 \pm 0,03$ e densidade: 0,88 g/ mL a 20°C (88). Para o óleo essencial foi descrita solubilidade em gás carbônico (CO₂): $2,266 \times 10^{-2}$ g óleo/g CO₂ (15°C e 66,7 bar) (116). Outros trabalhos relataram para óleo essencial das folhas uma densidade igual a 0,934 g/ mL a 20°C (57, 123), já o extrato hidroalcoólico apresentou uma densidade de 0,89 g/ mL (57).

3.2.6 Prospecção fitoquímica

Para o extrato etanólico de folhas foi encontrado um conteúdo de polifenóis totais, expressos em equivalentes de ácido gálico, de $6,43 \pm 0,16\%$ (extrato fluido) e de $6,18 \pm 0,20\%$ (m/m) (extrato seco) (78). Ainda para o extrato etanólico das folhas, foram realizados testes qualitativos para as seguintes classes de constituintes: alcalóides, terpenos, taninos hidrolisáveis e condensados, antocianinas e antocianidinas, flavanóis, xantonas, chalconas e auronas, flavanonóis, leucoantocianinas, catequinas, flavanonas, alcalóides, compostos de amônio quaternário, quinonas, triterpenóides, esteróides, saponinas, cumarinas e ácidos orgânicos não voláteis (33). Os constituintes identificados a partir do screening fitoquímico foram: derivados fenólicos, taninos hidrolisáveis e condensados, flavanóis, xantonas, chalconas e auronas, flavanonóis, flavanonas, quinonas, esteroides e ácidos orgânicos não voláteis (33). Outros testes com extrato etanólico das folhas e raízes também confirmaram a presença de polifenóis e flavonoides (93). Em um ensaio com extrato obtido a partir de folhas secas foram detectados alcaloides básicos, sais de amônio quaternário e alcaloides fracamente básicos, flavonoides, fenóis e taninos, óleo essencial e saponinas (72).

Com o extrato hidroalcoólico das folhas foram realizados testes de acidulação e alcalinização para detecção de antocianinas e catequinas, teste de fluorescência sob luz UV para cumarinas, teste com o reagente de Lieberman Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado) para esteroides e triterpenoides, teste com cloreto férrico para fenóis simples e taninos, bem como com Na₂CO₃ para flavonas. Além disso, foi realizada para o mesmo extrato a reação de Shinoda (HCl concentrado e fita de magnésio) para flavonoides e

xantonas, teste de variação de pH (com hidróxido de sódio e ácido sulfúrico) para flavonóis, flavanonas e flavonóis e por fim o teste de espuma para saponinas (54). Foi detectada a presença de catequinas, esteroides, fenóis simples, flavonoides, flavonóis, flavanonas, flavanonóis, saponinas, taninos e xantonas (54).

Para o extrato metanólico das folhas procedeu-se a caracterização de taninos pela reação com gelatina, sais de ferro e acetato de chumbo. Triterpenóides e esteróides foram investigados por meio do reagente Liebermann-Burchard, e a análise da presença de alcalóides foi realizada por reações de precipitação com os reagentes de Dragendorff, Bouchardat, Mayer e Bertrand. Para flavonóides, as reações de Shinoda e cloreto de alumínio foram utilizadas, enquanto que as antraquinonas foram caracterizadas com a reação de Borntraeger. A presença de saponinas foi avaliada pela a formação de espuma, e as cumarinas foram caracterizadas por meio de KOH. Os constituintes detectados a partir do screening fitoquímico foram: alcalóides, triterpenos, taninos, flavonoides e compostos fenólicos totais (86).

3.2.7 Testes de identificação

Para o derivado vegetal do tipo óleo essencial (OE) o principal teste de identificação é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) (5, 8, 9, 11-13, 22, 23, 29, 34, 40-42, 44-47, 49, 50, 61, 62, 70, 71, 79, 81, 83, 87, 89-92, 94, 98, 100, 102, 104, 110, 111, 113, 116, 119-121, 123-128). Este método de identificação ainda pode ser corroborado pela cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (19). Ainda para OE pode ser utilizada a técnica de RMN (102).

Para extrato etanólico usaram-se técnicas de espectroscopia de infravermelho e de massas (61), de RMN de ^1H e ^{13}C , com técnicas bidimensionais: COSY, NOESY, HETCOR, COLOC, HMQC e HMBC, além de cromatografia hidrofóbica em octil-sefaroze, seguida por cromatografia em fase-reversa para a caracterização de peptídeos em aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (48). Para tinturas utilizou-se CLAE acoplada a espectroscopia de ultravioleta (65). A técnica de RMN ainda foi usada na caracterização da resina obtida a partir do extrato metanólico (122).

3.2.8 Testes de quantificação

As técnicas de quantificação utilizadas incluem CG-EM e CLAE. A literatura também apresenta resultados de análise quantitativa de outros componentes como flavonoides e compostos fenólicos totais, no entanto as técnicas de quantificação não puderam ser acessadas (6, 19, 41, 45, 49, 50, 70, 89, 90, 92, 94, 98, 123, 127,).

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

Para o derivado vegetal de tipo OE, obtido a partir de folhas ou partes aéreas, os seguintes constituintes foram encontrados em diversos estudos: α -tujeno, α -pineno, mirceno, α -terpineno, *p*-cimeno, limoneno, β -ocimeno, γ -terpineno, linalol, éter metílico do timol, timol, α -copaeno, δ -cadineno, tujeno, *E*-cariofileno, aromadendreno, α -humuleno, deidroaromadendreno, α -muroleno, eugenol, óxido de cariofileno, α -felandreno, β -cariofileno, carvacrol, δ -(3)-careno, *cis*-tujopseno, α -himachaleno, terpinen-4-ol, acetato de timol, β -bisaboleno, aromadendreno, éter metílico do carvacrol, 1-epi-cubenol, epi- α -cadinol, α -muurolol, α -cadinol, germacreno D, α -copaeno, germacreno B, 1,8-cineol, β -selineno, sabineno, viridifloreno, cânfora, isoborneol, acetato de bornila, cicloeptatrieno, α -cedreno, umbelunona, (+)-espatulenol, artemisiatrieno, *cis*-calameneno, zierona, rosifoliol, pentanoato de citronelila, alo-himachalol, canfeno, octen-3-ol, γ -elemeno, hidrato de *cis*-sabineno, ipsdienol, monoglicéridos, 2-monopalmitina, 1-monoestearina (4, 8, 9, 12, 29, 34, 39-41, 44, 45, 47, 49, 50, 60, 62, 69, 87, 89, 90, 96, 99, 104, 121, 123).

A planta apresenta vários quimiotipos em relação à composição química de seu OE, sendo relatados quimiotipos ricos em carvacrol, *p*-cimeno, 1,8-cineol e quimiotipos ricos em *trans*- β -cariofileno (12, 104) e em timol (99, 121, 123). Dentre todos os estudos, pode-se constatar que o principal constituinte na maioria dos casos foi o timol, sendo que sua concentração nos OEs estudados variou de 34 a 95% (5, 8, 11, 13, 22, 23, 29, 38, 40, 41, 45, 46, 50, 60, 62, 71, 79, 83, 84, 87, 89-91, 96, 98-100, 113, 115, 119, 123-128), seguido do carvacrol, que quando majoritário no OE, mostrou variação de teor de 31,68 a 51,8% (4, 19, 42, 61, 79, 87, 92, 102, 104, 113, 121). Além disso, o quimiotipo *p*-cimeno apresentou esse constituinte com teor de 26,8% no OE (94), enquanto que para os quimiotipos 1,8 cineol e endo-fenchol, a porcentagem do componente majoritário foi de 26,67% (47), e 61% (92), respectivamente.

Ainda, é relatado para o extrato metanólico das folhas a presença de flavonóides na concentração de $229 \pm 0,02$ mg/ g e compostos fenólicos totais a $695 \pm 0,01$ mg/ g (86).

3.3 PRODUTO FINAL

3.3.1 Forma farmacêutica

As formas farmacêuticas produzidas a partir de *L. sidoides* foram géis contendo seu óleo essencial (100, 129). Em uma das formulações o procedimento utilizado foi a diluição de 1 mL de o óleo essencial das folhas em 9 mL de etanol (10%), seguido da adição de 50 g de carboximetilcelulose. Essa mistura foi mantida em ebulição até a sua completa dissolução para obter o gel. Uma mistura de glicerina / etanol (50 mL: 50 mL) foi adicionada e a solução foi vigorosamente agitada durante 15 min, até a formação do gel (100). Em outra formulação de gel contendo OE a 10% descrita para esta espécie, procedeu-se a diluição do óleo essencial em etanol seguida de adição de carboximetilcelulose, com vigorosa agitação e adição de conservante e aromatizante (129).

3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.3.3 Requisitos de pureza

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.3.4 Resíduos químicos

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.3.5 Prospecção fitoquímica

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.3.6 Testes de identificação

Dado não encontrado na literatura consultada.

3.3.7 Testes de quantificação

Dado não encontrado na literatura consultada.

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

Na formulação gel contendo 10% de óleo essencial de folhas, foram descritos os teores de 58,7% para o timol, 17,1% de carvacrol, 10,3% de cariofileno e 8,98% de *p*-cimeno (100).

4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA

4.1 USOS POPULARES/ TRADICIONAIS

Na medicina popular alguns usos de preparações obtidas a partir de *L. sidoides* são relatados. Entre eles está seu uso na forma de chá ou tintura das folhas, raízes ou talos por via oral ou tópica como antisséptico e antimicrobiano (16, 41). Ainda é relatado seu uso no tratamento de “problemas na pele” (16) e como desinfetante externo (67). O extrato fluido das folhas é utilizado como enxaguatório bucal e como solução de lavagem para lesões superficiais externas. Administrado por via tópica, o extrato fluido é relatado como desinfetante e antimicrobiano, agindo no combate à gengivite (75, 96). O óleo essencial das partes aéreas da planta também foi relatado com o mesmo propósito em preparações na forma de sabão líquido (34).

A infusão das folhas é utilizada como antisséptico por via oral e tópica no tratamento da acne, de lesões superficiais, rinite, infecções da pele, couro cabeludo, boca, garganta, infecções respiratórias e intestinais (4, 9, 12, 33, 47, 49, 65). A infusão de folhas ainda é utilizada por crianças e adultos no tratamento de dores de estômago, cólica de bebês, indigestão, diarreia, azia, náuseas, flatulência, corrimentos vaginais, dores de origem menstrual e febre (9).

4.2 PRESENÇA NA NOTIFICAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.3 ESTUDOS NÃO CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

A avaliação da atividade citotóxica *in vitro* foi relatada em diversos estudos. O óleo essencial foi considerado de baixa toxicidade frente a células mamíferas (macrófagos peritoniais de camundongos) nas concentrações de 15,6 a 250 µg/ mL no ensaio de MTT (113) e não inibiu o crescimento desta linhagem celular em concentrações abaixo de 0,5 mg/ mL (50). Os constituintes timol e carvacrol apresentaram toxicidade superior ao OE em macrófagos peritoniais (131). Entretanto, outro estudo com as mesmas concentrações considerou tanto o OE quanto seu constituinte timol como relativamente citotóxicos (34).

Igualmente, foi avaliada a atividade citotóxica do óleo essencial obtido a partir de folhas e caules, frente a células de rim de *Cercopithecus aethiops* (espécie de macaco). Foi avaliada a inibição do crescimento desta linhagem celular, obtendo-se um valor de IC₅₀ de 29,3 ± 4,8 µg/ mL (104). Ainda, foram consideradas concentrações citotóxicas acima de 31,4 µg/ mL do óleo essencial de diferentes quimiotipos da planta (105) e a concentração tóxica para 50% das células (CC₅₀) foi de 98 ± 3,8 µg/ mL de OE (70). Além disso, foi avaliada a atividade de OEs extraídos de diferentes amostras de *L. sidoides*, mostrando valores de IC₅₀ variando de 29,3 a 116,6 µg/ mL (12). Todavia outro estudo com a mesma linhagem celular define o óleo essencial como não tóxico (79), mas não cita as concentrações avaliadas.

O OE foi avaliado frente a células HeLa (células de carcinoma cervical humano) e apresentou toxicidade (49), obtendo-se valores de IC₅₀ em 24 e 48 h, respectivamente, de 0,34 mg/ mL e 0,55 mg/ mL (50). Frente ainda a esta mesma linhagem celular, o óleo essencial foi considerado moderadamente tóxico, uma vez que proveu 57,8% de viabilidade celular (58). Em um estudo com OE de diferentes amostras de *L. sidoides*, os valores de IC₅₀ para células HeLa variaram de 15,3 a ≥ 200 µg/ mL (12).

Ainda foi testada a toxicidade do extrato metanólico das folhas frente a larvas de *Artemia salina* e observou-se valores de CL₅₀ > 250 µg/ mL para o teste com o extrato e 1,44 µg/ mL para o timol na forma isolada (86).

4.3.1.1 Toxicidade aguda

Nos estudos de toxicidade do óleo essencial de folhas em dose única via oral, em camundongos, observou-se valores de DL₅₀ que variaram de 0,1 a 7,1 g/ kg (40, 50, 62). O estudo, no qual encontrou-se a maior DL₅₀, quando realizada a reexposição dos animais, a DL₅₀ passou a 1,8 g/ kg (50). Ainda foram observados sintomas pós administração do OE como letargia e anestesia (66). Nas doses de 0,15; 0,3; 0,6; 1,25; 2,5; 5 e 10 g/ kg observou-se

taquicardia e perda de peso (50) e na dose de 6 g/ kg os animais apresentaram espasmos, piloereção, coma, arritmia, seguido de morte após o 50º dia. A administração do óleo essencial nas doses de 0,1 a 3 g/ kg induziu miotonia, taquipnéia e dispneia, não demonstrando outros sinais de toxicidade até 3 g/ kg (62). Entretanto, outro estudo não observou alterações comportamentais até a dose de 0,5 g/ kg (46). Em um dos estudos consultados, o óleo essencial foi considerado de toxicidade moderada (66).

A toxicidade intraperitoneal foi avaliada com o extrato hidroalcoólico das folhas utilizando um volume de 0,5 mL do extrato ressuspendido em etanol 70%. O teste realizado em camundongos forneceu um valor de DL₅₀ de 0,31 mg/ mL, indicando elevada toxicidade (14). Ainda por via intraperitoneal, foi avaliada a toxicidade em camundongos do hidrolato dos brotos de *L. sidoides*, onde foram observados sinais de toxicidade e mortalidade (111). No entanto, esse último estudo não cita a dose nem os sintomas de toxicidade.

Quanto à toxicidade aguda por via inalatória, foi avaliada a ação do OE das folhas e de alguns constituintes isolados, como timol, carvacrol e 1,8 cineol na espécie *Tenebrio molitor* (bicho da farinha). Após 24 h o óleo essencial foi letal na concentração de 8,04 µL/L, enquanto que para os constituintes isolados foram obtidas as seguintes concentrações letais: carvacrol, 5,53 µL/L, 1,8-cineol, 5,71 µL/L e timol, 14,71 µL/L. Já após 48h as concentrações letais foram: OE, 7,04 µL/L, carvacrol, 4,77 µL/L, 1,8 cineol, 5,27 µL/L e timol 12,69 µL/L. As substâncias isoladas se mostraram mais tóxicas que o OE (4). Outro estudo avaliou a toxicidade por via inalatória sobre a espécie *Tetranychus cinnabarinus* (ácaro). A DL₅₀ foi obtida na concentração de 10% do OE e a concentração de 20% causou 96,6% de mortalidade (72).

4.3.1.2 Toxicidade subcrônica

A exposição ao óleo essencial das folhas foi realizada em camundongos por via oral, em um período de 30 dias, utilizando-se a dose de 117,95 mg/ kg/ dia. No final do período foram coletadas amostras de sangue e, após análise, concluiu-se que a administração subcrônica do óleo essencial foi destituída de toxicidade. O peso corporal não foi afetado pelo tratamento e os parâmetros bioquímicos analisados, creatinina, ureia e TGO e TGP, não foram significativamente afetados. Adicionalmente, a avaliação histopatológica do fígado, rins, pulmões, coração e baço não revelou alterações na estrutura padrão dos tecidos estudados (40, 62, 89).

4.3.1.3 Toxicidade crônica

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.3.1.4 Genotoxicidade

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.3.1.5 Sensibilização dérmica

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.3.1.6 Irritação cutânea

A irritação dérmica do óleo essencial das folhas foi estudada no modelo de edema de orelha em camundongos. O edema foi induzido com xileno e logo após foi aplicado 25 µL do OE *in natura*. O OE de *L. sidoides* apresentou efeito edematogênico, quando aplicado topicamente na orelha de camundongos e foi considerado pró-inflamatório no modelo de inflamação induzida por xileno (11). Entretanto a alcoolatura de *L. sidoides* foi considerada como não irritante na avaliação da toxicidade dérmica (130).

4.3.1.7 Irritação ocular

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.3.2 Estudos farmacológicos

4.3.2.1 Ensaaios *in vitro*

O OE foi testado contra micro-organismos benéficos, fitobactérias, bactérias patogênicas e fungos. Os valores de concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM), concentração fungicida mínima (CFM), inibição do crescimento micelial (ICM) e halos de inibição (HI) para cada micro-organismo avaliado estão descritos na Tabela 3. Por vezes é relatada a atividade dos derivados vegetais de *L. sidoides* em associação com fármacos de referência, causando um aumento na atividade dos mesmos. É o caso do óleo essencial e do timol, os quais reduziram a CIM da gentamicina frente à *Klebsiella pneumoniae* em 32 vezes e em 4 vezes, frente à *Pseudomonas aeruginosa*. A CIM da penicilina G foi reduzida de 128 µg/ mL para 32 e 2 µg/ mL, quando associada ao óleo essencial e ao timol, respectivamente. Houve reforço na atividade da ceftriaxona apenas na associação do óleo essencial e timol frente a *Enterococcus faecalis*, com redução da CIM de 64 para 4 µg/ mL. O óleo essencial e o timol potencializaram a atividade de aminoglicosídeos testados por contato do vapor frente à *P. aeruginosa* e *S. aureus* (91). Ainda, foi demonstrado que apenas 1 minuto em contato com o óleo essencial puro foi suficiente para o efeito antisséptico contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de amostras de queijo Minas (114). As linhagens de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei* apresentaram-se sensíveis ao OE de forma semelhante ao gluconato de clorexidina à 0,12%. A CIM foi detectada na diluição de 1:4 e a inibição da aderência bacteriana de *S. mutans* ocorreu até a diluição de 1: 128 (76).

O OE na concentração de 126 µL/mL inibiu ainda o crescimento dos fungos *Fusarium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. (68). Na concentração ≥ 50 mg/ml o OE das folhas inibiu totalmente o crescimento do fungo *Microsporium canis*. Em concentrações superiores a 25 mg/ mL, o OE apresentou maiores zonas de inibição que o controle positivo, anfotericina B, frente a cepas do gênero *Candida*. Na concentração de 100 mg/ml, induziu uma inibição total do crescimento do fungo *Malassezia pachydermatis*, com maiores zonas de inibição do que o itraconazol (62). Pode-se observar que o OE foi mais ativo contra micro-organismos patogênicos em relação aos benéficos, mostrando uma seletividade de ação.

Um estudo realizado com proteínas extraídas das flores de *L. sidoides* constatou que na concentração de 100 µg/ mL estas foram capazes de inibir o crescimento das cepas de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 31488, *Proteus* sp., *Escherichia coli* ATCC 35518 e *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (74).

Tabela 3. Atividade de derivados vegetais de *L. sidoides* contra micro-organismos benéficos, fitobactérias, bactérias patogênicas e fungos *in vitro*.

| Derivado vegetal | | Resultado | Ref. |
|-----------------------------------|---|--|----------|
| OE | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Atividade relatada | 91 |
| OE | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Atividade relatada | 91 |
| Extrato metanólico das folhas | | CIM: 625 µg/mL | 86 |
| OE | <i>Enterococcus faecalis</i> | HI OE 1%: 10 mm HI OE 10%: 12 mm | 91 |
| OE | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | Atividade relatada | 130 |
| OE | <i>Staphylococcus aureus</i> | CIM: 13 µL/mL CIM: 0,4 µL/mL CBM: 25 µL/mL | 114, 117 |
| Extrato hexânico das folhas | | CIM: 0,50 mg/ mL | 51 |
| Extrato etanólico das folhas a 5% | | Inibição do crescimento | 18 |
| Extrato metanólico das folhas | | CIM: 5000 µg/mL | 86 |
| Extrato bruto | | CIM: 0,06 à 0,5 µg/mL | 134 |
| OE | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | HI (10 µL de OE): 25 mm | 9 |
| OE | <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA (BMB9393) | HI (10 µL de OE): 25 mm | 9 |
| OE | <i>Escherichia coli</i> | CMB: 0,780 mg/mL CIM: 13 µL/mL CBM: 25 µL/mL | 114, 125 |
| Extrato bruto | | CIM: 0,06 à 0,5 µg/mL | 134 |
| Extrato metanólico das folhas | | Sem atividade | 86 |
| Extrato etanólico das folhas a 5% | <i>Listeria monocytogenes</i> | Inibição do crescimento | 18 |

Tabela 3. Atividade de derivados vegetais de *L. sidoides* contra micro-organismos benéficos, fitobactérias, bactérias patogênicas e fungos *in vitro* (continuação).

| Derivado vegetal | | Resultado | Ref. |
|--|--|--|----------------|
| Micropartículas do extrato hidroalcoólico das folhas | | CIM: 1600 µg/mL CBM: 4200 µg/mL | 57 |
| Extrato hidroalcoólico das folhas | | CBM: 1,34 µg/mL | 57 |
| Extrato etanólico das folhas a 5% | <i>Yersinia enterocolitica</i> | Inibição do crescimento | 18 |
| Extrato metanólico das folhas | <i>Bacillus cereus</i> | CIM: 78 µg/mL | 86 |
| Extrato metanólico das folhas | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | CIM: 2500 µg/mL | 87 |
| Fungos | | | |
| | <i>Candida albicans</i> | | |
| OE das folhas | | HI (217,5 mg/ mL): 34 mm HI (10 µL de OE): 27 mm CIM: 2,5 mg/ mL CIM: 620 a 1250 mg/L CFM: 5 mg/ mL CFM: 1250-2500 mg/L ICM: 250 µg/mL | 9, 23, 89, 105 |
| Extrato etanólico das folhas | | HI (2000 µg/disco): 9,3 a 19,6 mm | 33 |
| OE encapsulado | <i>Candida albicans</i> ATCC 64548 | HI: 13 mm | 133 |
| OE encapsulado | <i>Candida glabrata</i> ATCC 90030 | HI: 12 mm | 133 |
| OE encapsulado | <i>Candida krusei</i> ATCC 6258 | HI: 13 mm | 133 |
| Extrato etanólico das folhas | | HI (2000 µg/disco): 9,3 a 19,6 mm | 33 |
| OE encapsulado | <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22018 | HI: 11 mm | 133 |
| OE das folhas | <i>Candida tropicalis</i> | CIM: 1240 a 2500 mg/L CFM: 2500 a 5000 mg/L | 89 |
| Extrato etanólico das folhas | | HI (2000 µg/disco): 9,3 a 19,6 mm HI (15%): 14 mm | 33, 88 |

Tabela 3. Atividade de derivados vegetais de *L. sidoides* contra micro-organismos benéficos, fitobactérias, bactérias patogênicas e fungos *in vitro* (continuação).

| Derivado vegetal | | Resultado | Ref. |
|------------------------------|--|---|------|
| OE das folhas | <i>Microsporum canis</i> | CIM: 4,0 a 70 mg/L CFM: 9 a 150 mg/L | 89 |
| OE | <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | ICM: 300 ppm | 15 |
| OE das folhas | <i>Candida albicans</i> Sorotipo B ATCC 36802 | HI (10 µL de OE): 25 mm | 9 |
| OE das folhas | <i>Candida guilliermondii</i> | HI (10 µL de OE): 40 mm | 9 |
| OE das folhas | <i>Candida parapsilosis</i> | HI (10 µL de OE): 35 mm | 9 |
| Extrato etanólico das folhas | | HI (15%): 13 mm | 88 |
| OE das folhas | <i>Cryptococcus neoformans</i> T1-444 Sorotipo A | HI (10 µL de OE): 24 mm | 9 |
| OE das folhas | <i>Trichophyton rubrum</i> T544 | HI (10 µL de OE): 30 mm | 9 |
| OE das folhas | <i>Fonsecaea pedrosoi</i> 5VPL | HI (10 µL de OE): 40 mm | 9 |
| OE das partes aéreas | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 100% de inibição da germinação | 32 |
| OE de folhas e caule | <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 | ICM: 500 µg/mL | 104 |
| OE de folhas e caule | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 24198 | ICM: 500 µg/mL | 104 |
| Extrato etanólico das folhas | <i>Cryptococcus neoformans</i> | Atividade relatada | 85 |
| Extrato etanólico das folhas | <i>Candida glabrata</i> | HI (15%): 14 mm | 88 |
| Extrato etanólico das folhas | <i>Candida krusei</i> | HI (15%): 16 mm | 88 |
| Extrato bruto das flores | <i>Botrytis cinerea</i> | Inibição do crescimento | 48 |

*: O trabalho não informa o solvente extrator utilizado.

A atividade antileishmania foi investigada para o OE. Formas promastígotas de *Leishmania chagasi* receberam tratamento com o OE diluído em DMSO nas concentrações de 160 a 2,5 nL/ mL. Também foram testados os constituintes isolados carvacrol (64,0 a 0,5 µg/ mL) e com timol (200,0 a 1,6 µg/ mL). O valor de IC₅₀ após 72 h para o OE variou de 54,8 µg/ mL a 74,1 µg/ mL; para o carvacrol foi de 2,3 µg/ mL e frente ao timol a IC₅₀ foi de 9,8

$\mu\text{g}/\text{mL}$ (87). A concentração de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ inibiu 100% do crescimento das formas promastigotas e as concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ inibiram 50% do crescimento (98). Já para testes com a forma promastigota, após 24h de exposição ao OE, foi encontrado valor de IC_{50} igual a 19,76 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (59) e para as formas amastigotas, uma IC_{50} de 5,07 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (58). Testes relacionando à atividade antileishmania do OE com dois diferentes quimiotipos de *L. sidoides* forneceram IC_{50} de 82,70 e 63,26 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para os quimiotipos timol e carvacrol, respectivamente (135).

Para a espécie *Leishmania amazonensis*, foi encontrada uma IC_{50} igual a 44,38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de OE. O índice de inibição da sobrevivência dos parasitas intracelulares foi de 24,4%, 88,3% e 99,9% para 25, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de óleo essencial, respectivamente. Ainda, o OE e as substâncias marcadoras carvacrol e timol, mostraram atividade significativa contra formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (131). Também foi verificado que o óleo essencial foi 4,91 vezes menos tóxico para os macrófagos que para o parasito, demonstrando seletividade (45).

A atividade do OE de *L. sidoides* também foi avaliada em testes frente ao vetor da leishmaniose, o mosquito da espécie *Lutzomyia longipalpis*. O ensaio com ovos do mosquito revelou 94,59% de inibição com OE na concentração de 40 mg/mL e 65,51% de inibição com 20 mg/mL . Já o ensaio com larvas demonstrou que 1,2 mg/mL de OE foi 100% eficaz na inibição do crescimento larval. No ensaio com adultos, 100% de mortalidade foi alcançada na concentração de 2,5 mg/mL em 24 h, obtendo-se uma LC_{50} de 0,54 mg/mL (44).

Adicionalmente, foi demonstrado que o OE inibiu o crescimento do protozoário causador da doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, em sua forma epimastigota, e levou à perda da viabilidade celular da forma tripomastigota de maneira concentração-dependente. A concentração que inibiu o crescimento de 50% dos protozoários foi de 28,91 g/mL , em 72 h. O OE demonstrou alta seletividade para células de tripanossomas, em comparação às células de mamíferos (113). Já o extrato etanólico das partes aéreas e raiz foi inativo frente às cepas Y e Bolívia do *Trypanosoma cruzi* (109).

A atividade antioxidante do OE *in vitro* foi avaliada no teste de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Foi observado 86% de sequestro dos radicais pelo óleo OE (61) e inibição total da oxidação do radical livre DPPH na concentração de 7,27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ do OE diluído em metanol (96). Já em ensaio comparativo com a Vitamina E (α -tocoferol), foi observada inibição da oxidação do ácido linoléico em $39,8 \pm 0,7\%$ pela vitamina E e em $77 \pm 5\%$ pelo OE. Esses resultados demonstraram capacidade antioxidante similar à vitamina E para o OE (69). Quanto à variabilidade de atividade considerando quimiotipos diferentes, o OE do

quimiotipo rico em *p*-cimeno apresentou baixa atividade antioxidante. Já o óleo do quimiotipo rico em carvacrol teve atividade antioxidante similar o α -tocoferol e maior que a do BHT, ambos utilizados como controles positivos (121).

Para o extrato etanólico das folhas foi encontrada atividade antioxidante significativa frente ao DPPH na concentração de 1 mg/ mL, enquanto que uma mistura de flavonoides deste extrato e uma mistura de di-hidrochalconas proporcionaram neutralização de 99,9% de radicais (16, 93). Frações contendo flavonoides, hidrochalconas, naftoquinonas e monoterpenos, obtidas do extrato etanólico de folhas e raízes foram testadas também pelo método do sequestro do radical DPPH em comparação com a Vitamina E. A mistura de flavonóides e diidrochalconas apresentaram atividade antioxidante, inibindo 50% da oxidação do radical na concentração de 2,5 μ L/ mL. A fração contendo naftoquinonas e a fração contendo monoterpenos não apresentaram atividade (6).

O extrato metanólico das folhas inibiu 50% da oxidação do radical DPPH na concentração de $5 \pm 0,1 \mu\text{g/ mL}$ e na avaliação do poder redutor de uma solução com ferrocianeto de potássio, alcançou-se 50% de redução com $107 \pm 0,08 \mu\text{g/ mL}$ do extrato (86). Ainda é relatada atividade antioxidante frente ao DPPH para o extrato seco das folhas (19). Nesse último estudo, informações sobre o solvente extrator não estavam disponíveis.

OEs de folhas e flores de dois quimiotipos: timol e carvacrol foram testados quanto sua possível atividade antígeno-tóxica. O ensaio foi realizado usando cromoteste SOS sendo que as células da cepa PQ37 de *Escherichia coli* foram tratadas com os OEs e simultaneamente com o agente mutagênico bleomicina (1 $\mu\text{g/mL}$). A partir da concentração de 7,4 mg/ mL houve proteção significativa ao dano induzido por bleomicina com o OE de ambos quimiotipos. Além disso, acima de 118,7 mg/mL houve 100% de inibição do dano (71, 83). Entretanto em outro estudo o OE não apresentou atividade anticâncer *in vitro* (128).

Um estudo avaliou o potencial antiviral do OE, onde células de rim de macaco foram infectadas com o vírus da febre amarela e o exudato (sobrenadante) foi coletado e incubado com o OE por 24 h. Foi mensurada a inibição de replicação viral, obtendo-se uma CIM de 3,7 $\mu\text{g/mL}$ (70).

A fim de se estudar a susceptibilidade do mosquito vetor da dengue (*Aedes aegypti*) frente ao OE, o mesmo foi aplicado em áreas municipais de Pentecoste (Ceará, Brasil) em intervalos semanais. No final do tratamento constatou-se uma maior eficiência quando o OE foi diluído em água na proporção de 1:5 (20). Ainda neste contexto, foi avaliado o potencial larvicida do OE dos brotos contra as larvas de 3° e 4° estágio do mosquito da dengue. O OE e seu hidrolato puros e hidrolato diluído até 1:2 proporcionaram 100% de mortalidade das

larvas em 5 min. O hidrolato diluído 1:5 proporcionou 100% de mortalidade em 20 min, e o hidrolato diluído a 1:10 apresentou essa eficácia em 24 h. Já o hidrolato na proporção de 1:20, apresentou 50% de mortalidade em 24 h. A eficácia larvicida do óleo foi maior que a do inseticida Temefós (110).

Considerando ensaios com o OE das folhas e ramos frente a larvas de 3° estágio de *Aedes aegypti*, foram obtidos um valores de LC₅₀ iguais a 63 ppm (115) e 19,5 ppm (29). Com o OE obtido comercialmente, a LC₅₀ foi de 25,5 ppm, enquanto que para o estágio de pupa a LC₅₀ foi de 276,8 ppm e para ovos expostos ao OE a LC₅₀ foi de 66,4 ppm. Já a concentração que impediu 50% da ovoposição foi de 35,3±2,24 ppm, sendo todos os resultados obtidos após 4 dias de exposição (136). Foi testado o OE (20mg) nanoencapsulado em matriz de alginato frente a larvas de terceiro ínstar de *Aedes aegypti* e constatou-se que quanto maior a proporção de alginato no procedimento de encapsulamento, maior a mortalidade das larvas. A mortalidade em 24 h e 48 h foi de 45 e 85%, respectivamente. O encapsulamento proporcionou liberação lenta do OE no meio, sendo mais efetivo que o OE não encapsulado (137). A atividade larvicida do OE foi demonstrada também frente ao mosquito *Culex quinquefasciatus* nas concentrações de 1.000, 500 e 250 ppm após 10 minutos da aplicação do tratamento e em 100 ppm após 30 minutos. A LC₅₀ foi obtida com 16,6 ppm (29).

4.3.2.2 Ensaio *in vivo*

Testes *in vivo* foram realizados para avaliar as mais diferentes atividades dos derivados vegetais de *L. sidoides*. A atividade antiedematogênica foi relatada no modelo de aplicação tópica de TPA (13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol) em orelha de camundongos. O OE das folhas, aplicado em dose única de 1 e 10 mg/ orelha, reduziu o edema em 46 e 35%, respectivamente. A indometacina, usada como controle positivo, inibiu 38% do edema de orelha (46). Foi avaliado o efeito anti-inflamatório em modelo de edema de orelha e a produção de óxido nítrico, em modelo de bolsa de ar subcutânea frente a derivados vegetais das folhas de *L. sidoides*. O OE e o extrato etanólico foram testados topicamente ou via oral, enquanto que os extratos aquoso e hexânico foram avaliados por via tópica em camundongos. Os extratos e o OE não modificaram o peso corporal, o peso relativo dos órgãos, bem como não alteraram os níveis plasmáticos das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e a contagem total de leucócitos. O edema de orelha foi reduzido pelo

OE e pelo extrato etanólico e apenas o OE induziu a liberação de óxido nítrico (77). Ainda no modelo de inflamação de orelha induzido por TPA, foi testada a aplicação tópica do OE das folhas diluído em acetona, a fim de promover uma diminuição do estado inflamatório. Observou-se uma redução da resposta inflamatória de 45,93% na dose de 1 mg e 35,26% na dose de 10 mg (96).

Também foi avaliada a atividade antinociceptiva do OE das folhas administrado subcutaneamente em camundongos, pelo ensaio da inibição das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético e pelo teste da placa quente. Encontrou-se uma relação dose-efeito no teste de contorções abdominais para a curva dose-resposta com a utilização de 100, 200, and 400 mg/ kg. Houve aumento da latência para retirada da pata no teste da placa quente na dose de 100 mg/ kg, indicando efeito antinociceptivo. Esse efeito foi antagonizado pela naloxona, evidenciando envolvimento do sistema de receptores opióides na ação do OE (94).

A atividade antiúlcera em modelo de úlcera induzida por etanol foi ensaiada em camundongos tratados oralmente com dose única do OE das folhas diluído em NaCl 0,9%. O pré-tratamento oral com o OE, 1 h antes da administração do etanol, inibiu a indução das lesões gástricas. A inibição de 53,88% foi alcançada na dose de 10 mg/ kg, 45,83% na dose de 50 mg/ kg e 41,66% na dose de 100 mg/ kg. O tratamento não afetou a produção de muco (46). O OE das folhas também foi testado quanto a uma potencial atividade cicatrizante em ratos, utilizando-se o modelo de feridas por excisão cutânea. Neste estudo, unguentos de vaselina e lanolina contendo o OE nas doses de 5 e 12% foram aplicados topicamente uma vez ao dia e em quantidade suficiente para cobrir a lesão. Nos animais tratados com ambas as doses, foi observada intensa exsudação até o 5º dia do experimento. Aos 21 dias de tratamento não houve diferença significativa em comparação ao grupo tratado apenas com o veículo (11). Já testes considerando a mesma atividade, envolvendo o extrato etanólico das folhas, apresentaram resultados promissores. O extrato etanólico foi incorporado a um creme numa concentração de 10% e então aplicado topicamente em coelhos albinos. A atividade cicatrizante foi verificada empregando o modelo de indução de úlceras dérmicas, sendo estas analisadas macroscopicamente quanto ao aspecto da lesão e a contração de sua área durante 10 dias. O tratamento em avaliação apresentou número de vasos sanguíneos, área de colágeno e área de matriz extracelular similares ao controle positivo. O número de fibroblastos e células inflamatórias foi 24% e 54% menor, respectivamente, em relação ao controle positivo (93).

A atividade gastroprotetora foi ensaiada com o OE rico em timol (66,67%), o qual protegeu via mecanismo antioxidante o aparecimento de lesões gástricas induzidas por etanol

em camundongos (60). Outro estudo descreve a utilização do OE e do extrato etanólico, ambos das folhas, administrados em camundongos por via oral em dose única de 1, 5, 10, 50 ou 100 mg/ kg. O OE promoveu inibição na formação de lesões, entretanto, apenas na dose de 10 mg/ kg foi capaz de reduzir significativamente o aparecimento de lesões, quando comparado ao grupo controle positivo, apresentando portanto a mesma eficiência do omeprazol. Grupos pré-tratados com extrato etanólico nas doses de 1, 5 e 10 mg/ kg não diferiram do grupo controle negativo (95).

Ainda, foi relatada a atividade imunomoduladora em camungos para o OE e extratos hexânico etanólico e aquoso, todos das folhas de *L. sidoides*. Os títulos de anticorpos anti-hemácia de carneiro e a reação de hipersensibilidade retardada foram reduzidos no 15º dia pós tratamento, enquanto os títulos de anticorpos anti-LPS, no 10º dia, não foram reduzidos pelo OE e extratos. Estes dados são indicativos de que os extratos e o óleo essencial apresentam propriedade imunomoduladora (77).

O OE de *L. sidoides* foi testado frente à periodontite, incorporado a um gel, na concentração de 0,5%. A aplicação tópica do gel se deu três vezes ao dia, em ratos, por 11 dias. O gel inibiu o crescimento de bactérias características da periodontite e promoveu um aumento na massa corpórea dos animais em relação ao grupo veículo (37). Entretanto, outro ensaio relatado na literatura traz o mesmo protocolo de dose e dias de tratamento para o OE das folhas. Os resultados indicaram que a aplicação do gel não reduziu a reabsorção do osso alveolar, não havendo diminuição significativa na infiltração de células inflamatórias, bem como na atividade da mieloperoxidase e nos níveis de IL-1 β e TNF- α do tecido gengival do maxilar (24).

É relatado na literatura, ainda, um estudo frente à periodontite induzida em ratos, com um gel à base de carvacrol a 0,5%. A aplicação do gel se deu três vezes ao dia por 1 min, durante os 11 dias após a cirurgia de indução de periodontite. O tratamento promoveu a redução da perda do osso alveolar, diminuição da infiltração de células inflamatórias e no crescimento bacteriano. Além disso, o uso do gel preveniu a perda de peso do animal, característico de processos inflamatórios. A atividade da mieloperoxidase diminuiu no grupo tratado, indicando menor infiltração de neutrófilos (80). A aplicação tópica de uma solução de OE na dose de 6 mL/ L a cada dois dias, durante 15 dias, na cavidade bucal de cães da raça pastor alemão reduziu significativamente a gengivite. Além disso, a análise histológica mostrou diminuição de células inflamatórias, como as polimorfonucleares (90). A aplicação tópica de gel contendo 300 μ g/ g de carvacrol não reduziu estatisticamente a reabsorção do osso alveolar. Confirmando o estudo anterior, houve uma diminuição na infiltração de células

inflamatórias, mas não foi observada diminuição na atividade da mieloperoxidase. Além disso, o tratamento preveniu a perda de peso do animal em relação ao grupo não tratado e promoveu redução na contagem de micro-organismos (81).

O OE foi testado visando o controle de nematódeos intestinais de ovelhas. Os animais, tratados uma vez ao dia por cinco dias consecutivos com 230 e 283 mg/ kg do OE, apresentaram redução na contagem de ovos de nematódeos em 38% e 54%, respectivamente, no dia 14 após o início do tratamento. O controle positivo, ivermectina, reduziu 39,6% da contagem de ovos. Na contagem de larvas, o óleo essencial teve eficácia comparável a ivermectina para a espécie de nematódeo *Haemonchus contortus* (138). A atividade frente aos nematódeos intestinais *Syphacia obvelata* e *Aspiculuris tetraptera* foi relatada para oOE, quando administrado em camundongos. A eficácia na redução do número dos parasitos foi de 46,29% e 68,94 para as doses de 800 e 1600 mg/ kg, respectivamente, enquanto que o controle positivo febendazol alcançou uma redução de 99,37% (8, 126).

O tratamento com o OE das folhas foi realizado em ratos Wistar infectados com *Strongyloides venezuelensis* a fim de investigar seu potencial anti-helmíntico. Entretanto, a contagem dos ovos não foi realizada, devido à ação sedativa do óleo nas doses testadas. Houve uma redução no número de parasitos adultos de 74,4% e 76,8% para as doses de 150 e 250 mg/ kg, respectivamente, em comparação ao controle negativo (5, 7).

O OE submetido a processo de inclusão molecular em ciclodextrina foi testado pelas vias tópica, oral e parenteral em modelo de leishmaniose cutânea em camundongos. Para a via tópica foram desenvolvidos dois sistemas emulsionados, creme e gel-creme para incorporação do OE. O OE e as substâncias marcadoras, carvacrol e timol, mostraram atividade significativa contra formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania amazonensis*. (131).

O OE das folhas foi administrado em dose única via oral a camundongos inoculados com eritrócitos infectados por *Plasmodium berghei*, a fim de se avaliar sua potencial atividade antimalárica. A cloroquina, administrada oralmente, foi utilizada como controle positivo. Após o 5º dia foi observada uma redução da parasitemia em 82,25% para a dose de 100 mg/ kg, enquanto que após o 7º dia, ocorreu uma redução de 44% para a dose de 500 mg/ kg e após o 10º dia, de 47,3% para a dose de 1000 mg/ kg (50). Outro ensaio com o OE das folhas frente à cepa *Plasmodium berghei* NK65, foi realizado em ratos tratados oralmente com uma dose diária por oito dias. No 5º dia, a dose de 1000 mg/ kg inibiu 48% da atividade do parasita, enquanto que na dose de 500 mg/ kg, foi observada uma inibição de 47% e na dose de 100 mg/ kg, ocorreu 55% de inibição. No 7º dia, a dose de 1000 mg/ kg inibiu 49% do

crescimento do parasita, a dose de 500 mg/ kg ocasionou 40% de inibição, enquanto que a dose de 100 mg/ kg inibiu 45% da atividade parasitária (49).

A aplicação potencial do OE para o controle de larvas do terceiro ínstar de *Aedes aegypti* foi avaliada, utilizando o OE encapsulado em cápsulas de 9, 13 e 18 mg na proporção óleo-quitosana, 1:1 e 5:1. As cápsulas foram adicionadas em um béquer contendo 50 mL de água e 20 larvas por concentração, sendo observado 100% de mortalidade em 72 h com as cápsulas de 18 mg. A LC_{50} encontrada para o óleo encapsulado foi de 36 ppm (137). Já a atividade larvicida frente a larvas do terceiro ínstar de *Stegomyia aegyptz* foi ensaiada com nanopartículas de OE. No teste, foram utilizadas 50 mg de nanopartículas, na proporção óleo-alginato 1:20 e 1:10. As nanopartículas de proporção óleo-alginato 1:10 proporcionaram mortalidade de $85 \pm 3\%$ após 24 h e $92 \pm 2\%$ após 48 h. Entretanto, a amostra obtida com proporção óleo-alginato 1:20 proporcionou mortalidade de $52 \pm 3\%$ e $60 \pm 3\%$ após 24 e 48 h, respectivamente (139).

Um estudo avaliou a suplementação alimentar com o OE nas doses de 0, 100, 200 e 300 ppm, via oral, na dieta de frangos inoculados com oocistos de *Coccidia*. Os resultados observados indicam que 65 ppm de OE na dieta de frangos proporciona um aumento significativo na conversão do alimento em peso corporal nos animais do grupo controle. Já para os animais encistados essa concentração passa a ser 147 ppm (124).

4.3.2.3 Ensaaios ex vivo

Apenas um estudo relacionando o OE à ação adjuvante de permeação do ácido salicílico no estrato córneo de cobra foi encontrado na literatura. O OE foi incorporado em solução de propilenoglicol e tampão fosfato a 1% juntamente com 2 mg/ mL de ácido salicílico. Discos de estrato córneo foram colocados nos compartimentos receptor e doador. Foi adicionada a solução contendo OE no compartimento doador e foram retiradas alíquotas de 1 mL em 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, e 8 h. Uma solução sem óleo essencial foi usada como controle negativo. O estudo de calorimetria por varredura diferencial constatou que o óleo essencial interagiu com o estrato lipídico da pele de cobra. A espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier indicou que a solução extraiu lipídios da membrana, mas não foi suficiente para fluidizá-la, o que é requerido para potenciadores de permeação de substâncias. Portanto, a solução contendo o óleo essencial proporcionou um aumento no fluxo do ácido salicílico pela pele de cobra (140).

4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

4.4.1 Fase I

Os estudos clínicos de fase I encontrados na literatura compreendem ensaios aplicados à odontologia. O uso tópico de um enxaguatório bucal contendo OE das folhas de *L. sidoides* nas concentrações de 0,6%, 0,8%, 1% e 1,2% foi avaliado em humanos. O ensaio foi randomizado e tanto antes como após a aplicação do tratamento, a saliva dos pacientes foi coletada. Como resultado, foi observado que a concentração de 0,8% mostrou maior redução do crescimento de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Streptococcus mutans*. Também foi avaliado o uso de gel contendo o OE das folhas nas concentrações de 0,6%; 0,8%; 1%; 1,2% e 1,4%. Seguindo o mesmo protocolo, o estudo foi randomizado e tanto antes como após a aplicação do tratamento, a saliva dos pacientes foi coletada. Quando na forma de gel, a concentração de 1,4% mostrou maior redução do crescimento de *Streptococcus mutans*. Para os constituintes isolados, timol e carvacrol, foi avaliada a atividade na redução da carga bacteriana com um enxaguatório bucal contendo a mistura das duas substâncias. Não houve diferença entre o enxaguatório à base de OE e o enxaguatório que continha os constituintes timol e carvacrol. Este padrão se repete para a avaliação do gel contendo o OE ou esses dois constituintes, onde não foi constatada diferença entre o gel contendo 1,4% de OE e o gel composto da mistura timol-carvacrol (42).

4.4.2 Fase II

Da mesma forma que para os estudos de fase I, os estudos de fase II trazem ensaios aplicados à odontologia. A fim de avaliar o efeito sobre o índice de placa e índice gengival bem como o acúmulo de placa bacteriana sobre os dentes, utilizou-se um colutório contendo o OE de *L. sidoides* durante 28 dias. Os resultados obtidos foram confrontados com os de um placebo. A administração foi realizada por via tópica sob forma de bochecho. O estudo foi randomizado, cego e os pacientes foram distribuídos em quatro grupos. O grupo-teste I utilizou colutório formulado à base de OE de *L. sidoides* associado ao extrato de *Myracrodruon urundeuva*. O grupo-teste II usou o hidrolato de *L. sidoides*, o grupo controle positivo usou colutório formulado à base de clorexidina e o grupo controle negativo utilizou

solução placebo. Os índices de placa e gengival foram coletados em todos os pacientes antes e após o tratamento. A redução do índice de placa foi 28,7%; 21,8% e 33,6% para os colutórios dos grupos teste I, teste II e controle positivo (clorexidina), respectivamente. A análise dos resultados indicou que o bochecho com a clorexidina foi mais eficaz que o colutório teste II na inibição do acúmulo de placa. Os colutórios dos grupos I, II e clorexidina produziram uma redução do índice gengival de 25,4%, 20,2% e 27,4%, respectivamente, quando comparados ao placebo (141).

Um enxaguatório bucal com 1% de OE das folhas foi avaliado em pacientes de 17 a 63 anos de idade, com índice de placa gengival mínimo de 1,2 e possuindo 10 ou mais dentes. Os indivíduos foram alocados nos grupos por sorteio, realizado por um software. A avaliação foi realizada por profissional que não participou do processo de randomização. O tratamento consistiu em bochecho com 15 mL do enxaguatório, por 30 s, duas vezes ao dia durante sete dias. O grupo teste recebeu o enxaguatório à base de OE de *L. sidoides* (n= 27) e o grupo controle positivo recebeu enxaguatório com clorexidina a 0,12% (n= 28). O grupo tratado com o enxaguatório à base de OE apresentou redução do índice de placa gengival e do sangramento gengival similar ao controle positivo de clorexidina (21). Outro estudo também avaliou um enxaguatório bucal contendo 1% de OE no mesmo protocolo de dose e frequência de administração descritos acima, e duração do tratamento de 30 dias. O ensaio foi randomizado, controlado, duplo-cego, e os critérios de inclusão foram pacientes de 18 a 69 anos, com índice gengival mínimo de 1,05 e possuindo 10 ou mais dentes. O uso do enxaguatório diminuiu em mais de 58% a contagem de *S. mutans*, de forma similar ao controle positivo. Os índices de placa gengival e de sangramento gengival foram reduzidos no 7º e 30º dia após o início do tratamento, em relação às medidas basais. Houve relato de leve sensação de queimação nos grupos teste e controle (22). Ainda relacionando estudos com enxaguatórios bucais, relata-se o uso de uma solução de OE a 1%, porém com bochechos por 30 segundos, três vezes ao dia por sete dias. Comparou-se neste estudo a intervenção, ou seja, a solução contendo o OE com um enxaguatório bucal com clorexidina a 0,12%. O ensaio clínico foi randomizado, duplo-cego e os 81 pacientes tinham idade média de 38,3 anos e 45,7% eram do sexo masculino. Foram realizados exames clínicos avaliando o índice de placa, índice gengival e índice de sangramento gengival antes da intervenção, sete e 30 dias após tratamento. Verificou-se uma redução no índice de placa antes do tratamento e 30 dias após o tratamento de 68% e 75% com a solução do OE e clorexidina, respectivamente. O índice gengival foi reduzido em 70,4% e 74,7% com a solução do OE e clorexidina, respectivamente, após 30 dias de tratamento. A redução do índice de sangramento gengival

foi de 52% e 50% com a solução do OE e clorexidina, respectivamente, após 30 dias de tratamento. O número de UFCs de *S. mutans* na saliva foi reduzido em 41,7% e 72,7% com a solução do OE e clorexidina, respectivamente, após 30 dias de tratamento (25).

Foram realizados ensaios com um enxaguatório e um gel contendo OE das folhas, ambos tendo sua eficácia comparada com enxaguatório e gel de clorexidina. Em cada um dos tratamentos com bochecho foram utilizados 5 mL durante 1 min., porém na administração do gel foram utilizadas moldeiras individuais por 4 min. O estudo foi randomizado e os pacientes, num total de 100, eram todos crianças e foram observadas por um período de um ano. Foi observado que a melhor concentração do enxaguatório foi a 0,8% e a melhor concentração para o gel foi a de 1,4%, com redução da carga bacteriana de *S. mutans* (99).

É relatado, adicionalmente, um ensaio com a aplicação de um gel contendo OE a 10%, durante três meses. O controle positivo do estudo consistiu em um gel de digluconato de clorexidina a 2%. O estudo foi uma permutação randomizada de três, com pacientes entre 26 e 47 anos de idade e com presença de no mínimo 20 dentes naturais e com índice de gengivite > 30%. O gel não foi efetivo no controle da placa bucal, entretanto teve boa aceitação e não produziu efeitos adversos, tais como ulcerações ou reações alérgicas. Na avaliação do índice de placa bucal e na observação de gengivite, o gel contendo o OE teve efeito similar ao controle positivo (100). Outro ensaio randomizado duplo-cego com gel contendo OE, também a 10%, foi realizado em pacientes com placa dental pré-existente. Durante o teste foi realizada a escovação dos dentes com o gel contendo OE e o controle com o creme dental comercial, ambos por 21 dias. O gel em teste reduziu o acúmulo de placa de forma similar ao creme dental comercial (129). Apenas um estudo randomizado envolvendo extrato de *L. sidoides*, aplicado na forma de colutório, é relatado na literatura. O extrato foi comparado com a associação de extrato aquoso de *Matricaria recutita* Linn. associado à Gelclair® e a aplicação foi feita em forma de bochecho. Em 94% dos pacientes que usaram o colutório a base de extrato de *L. sidoides* houve remissão completa ou parcial da mucosite. Apenas em 6% dos casos não houve alteração do quadro clínico. Os resultados obtidos de dor e xerostomia foram similares em ambos os grupos, teste e controle (142).

4.4.3 Fase III

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.4.4 Fase IV

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.4.5 Estudos observacionais

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO

Por via tópica, preparações à base da planta ou seu extrato são empregados como desinfetante externo, no combate a gengivite, na lavagem e no tratamento de lesões bucais (67, 75, 96). Ainda por via tópica ou oral (externo e interno), preparações à base de *L. sidoides* são utilizadas para tratar infecções de pele, respiratórias e rinite (4, 9, 12, 16, 33, 41, 47, 49, 65). Já por via oral a infusão das folhas é utilizada para combater cólicas estomacais, indigestão e diarreia (9).

De acordo com estudos pré-clínicos, é segura a utilização de alguns derivados vegetais de *L. sidoides*. A administração do OE de folhas por via oral foi destituída de toxicidade e não ocasionou alterações bioquímicas (40, 62, 89). O uso oral do OE de folhas diluído foi reportado como tratamento para úlceras gástricas, no controle de nematódeos intestinais e sob forma de nanocápsula no controle da leishmaniose (5, 7, 8, 46, 49, 50, 60, 126, 138). O uso tópico é previsto objetivando-se uma ação cicatrizante e no tratamento da periodontite (37, 80, 90). A aplicação tópica do OE bruto não é recomendada, pois o mesmo mostrou-se edematogênico e pró-inflamatório (11). Entretanto o OE diluído tem efeito antiedematogênico (46). A alcoolatura pode ser usada topicamente, uma vez que não demonstrou toxicidade dérmica (130). O OE ou extrato da planta não deve ser usado pela via intraperitoneal ou subcutânea, pois apresentam toxicidade moderada a elevada (40, 50, 62, 66, 111).

Nos estudos clínicos de fase I, a utilização por via tópica é recomendada para o OE incorporado a um gel ou na forma de enxaguatório bucal, para controle de placa bacteriana, gengivite e periodontite (42). Considerando-se os estudos clínicos de fase II, o uso por via tópica de colutórios e enxaguatórios bucais contendo o OE ou o hidrolato é preconizado (21, 25, 99, 141, 142).

4.5.1 Vias de Administração

Via tópica ou oral (uso externo e interno).

4.5.2 Dose Diária

Estudos clínicos preconizam o bochecho com 5-15 mL do enxaguatório contendo 1% de OE (21, 22, 25, 99).

4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)

Estudos clínicos preconizam o bochecho com 5-15 mL do enxaguatório contendo 1% de OE por 30s, 2-3 vezes ao dia durante 7 dias (21, 22, 25, 99).

4.5.4 Período de Utilização

O uso foi considerado seguro para enxaguatórios, géis e colutórios com até 10% de OE em períodos de 7-30 dias, três meses e um ano (21, 22, 25, 99, 100).

4.5.5 Contra Indicações

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.6 Grupos de Risco

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.7 Precauções de Uso

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.8 Efeitos Adversos Relatados

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.9 Interações medicamentosas

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.9.1 Descritas

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.9.2 Potenciais

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.10 Informações de superdosagem

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.10.1 Descrição do quadro clínico

Dado não encontrado na literatura consultada.

4.5.10.2 Ações a serem tomadas

Dado não encontrado na literatura consultada.

5 INFORMAÇÕES GERAIS

5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS/ FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA

As formas farmacêuticas em estudos atualmente publicados na literatura são:

- Nanocápsulas de OE (137, 139);
- Colutório bucal à base de OE (141, 142)
- Enxaguatório bucal à base de OE (21, 25, 42, 75, 96, 99)
- Gel contendo OE (24, 37, 80, 81);
- Gel-creme contendo OE (131);
- Gel bucal contendo OE (42, 99, 100, 129).

5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS

Um produto a base de *L. sidoides* está atualmente registrado na Anvisa para fins de higiene corporal. Sabonete líquido de *Lippia sidoides* Cham.(143)

5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Dado não encontrado na literatura consultada.

5.4 ROTULAGEM

Dado não encontrado na literatura consultada.

5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS

Dado não encontrado na literatura consultada.

5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL

Algumas patentes registradas com produtos derivados de *L. sidoides* ou associação com os mesmos são descritas a seguir.

Um produto com atividade repelente foi registrado e é intitulado “Formulações à base do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) para proteção pessoal contra o mosquito *Aedes aegypti* Linn” (144). Adicionalmente, um produto larvicida foi registrado sob título de “Larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti* obtido a partir da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham.”. Este registro traz o processo de preparação de um larvicida contra o mosquito transmissor da dengue e febre amarela usando o OE obtido por arraste de vapor, de partes aéreas da planta. O hidrolato larvicida é caracterizado por apresentar toxicidade às larvas do mosquito vetor da dengue e febre amarela nos 3º e 4º estágios de desenvolvimento larval. O produto proporciona 100% de mortalidade em menos de 1 min. (145).

Uma patente de um produto com ação antimicrobiana foi registrada como “Fitoterápicos antimicrobianos a partir da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham.”. Estes fitoterápicos são preparados a partir do tronco, inflorescências, folhas e ramos finos. As ações preconizadas são como antifúngicos, bactericidas e anti-microbianos em geral (146).

REFERÊNCIAS

1. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. [02 mar 2013]. Available from: <http://www.tropicos.org>.
2. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [02 mar 2013]. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>.
3. Vega-Vela NE, Sanchez MI. Genetic structure along an altitudinal gradient in *Lippia origanoides*, a promising aromatic plant species restricted to semiarid areas in northern South America. *Ecol Evol.* 2012; 2 (11): 2669-81.
4. Lima RK, Cardoso MdG, Moraes JC, Carvalho SM, Rodrigues VG, Guimarães LGL. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Ciênc Agrotec, (Impr).* 2011; 35 (4): 664-71.
5. Carvalho CO, Chagas AC, Cotinguiba F, Furlan M, Brito LG, Chaves FC. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. *Vet Parasitol.* 183. Netherlands: 2011 Elsevier B.V; 2012. p. 260-8.
6. Almeida MCS. Estudo fitoquímico e avaliação antioxidante de *Lippia sidoides*. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Química] - Universidade Estadual do Ceará; 2011.
7. Carvalho CO. Eficácia de extratos vegetais em nematódeos parasitas: avaliação *in vitro* em *Haemonchus contortus* e avaliação *in vivo* em *Strongyloides venezuelensis*. Botucatu. Dissertação [Mestrado em Biologia Geral e Aplicada] - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2011.

8. Vasconcelos ALFC. Avaliação da atividade anti-helmíntica dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Croton zehntneri* sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. Fortaleza. Tese [Doutorado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2006.
9. Oliveira D R, Leitao G G, Bizzo H R, Lopes D, Alviano D S, Alviano C S, Leitao S G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. Food Chemistry. 2006; 101 (1): 236-240.
10. Lemos TLG, Monte FJQ, Santos AKL, Fonseca AM, Santos HS, Oliveira MF. Quinones from plants of northeastern Brazil: Structural diversity, chemical transformations, NMR data and biological activities. Natural Product Research. 2007; 21 (6): 529-50.
11. Oliveira MLM. Efeitos do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e do óleo fixo de *Caryocar coriaceum* Wittm. sobre a inflamação tópica e a cicatrização de feridas cutâneas. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2009.
12. Zapata B D, Stashenko C E, Correa-Royero J, Betancur-Galvis L. Actividad citotóxica de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. y componentes mayoritarios. Revista de la Universidad Industrial de Santander Salud. 2009; 41 (3): 215-222.
13. Abreu MFJ, De Oliveira F. *Lippia sidoides* Cham. - Pharmacognosy, chemistry and pharmacology. *Lippia sidoides* Cham - Farmacognosia, química e farmacologia. 1998; 79 (3-4): 84-7.
14. Almeida A C, Sobrinho E M, Pinho L, Souza P N S, Martins, E R, Duarte E R, Santos H O, Brandi I V, Cangussu A S, Costa J P. Acute toxicity of leaf hydroalcoholic extracts of *Lippia sidoides*, *Myracrodruon urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens* and of *Caryocar brasiliense* administered by intraperitoneal route. Ciência Rural. 2009; 40 (1): 200-203.
15. Almeida GAA. Ação antifúngica de óleos essenciais de espécies vegetais sobre *Lasioidiploidia theobromae*. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Fitotecnia] - Universidade Federal do Ceará; 1999.
16. Almeida M C S de, Alves L A, S Souza, L G, Machado L L, Matos M C, Oliveira M C F, Lemos T L G, Braz-Filho, R. Flavonoides e outras substâncias de *Lippia sidoides* e suas atividades antioxidantes. Química Nova. 2010; 33 (9) : 1877-1881.

17. Arruda TTP. Perfil de sensibilidade de cepas planctônicas e biofilmes de *Enterococcus faecalis* frente a desafios antimicrobianos. Dissertação [Mestrado em Microbiologia Médica] - Universidade Federal do Ceará; 2007.
18. Bara MTF, Vanetti MCD. Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 1998; 7-8 (1): 23-34.
19. Benelli L. Desenvolvimento de extratos secos padronizados de *Lippia sidoides* Cham. pelo processo em leite de jorro e avaliação da atividade biológica. Ribeirão Preto. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas] - Universidade de São Paulo; 2011.
20. Borges NSS. Influência do hidrolato de alecrim-pimenta e capim citronela no mosquito vetor da dengue, *Aedes aegypti*. Fortaleza. Tese [Doutorado em Fitotecnia] - Universidade Federal do Ceará; 2007.
21. Botelho MA, Bezerra Filho JG, Correa LL, da Cruz FSG, Montenegro D, Gapski R, Castro BGA, Heukelbach J. Effect of a novel essential oil mouthrinse without alcohol on gingivitis: A double-blinded randomized controlled trial. *Journal of Applied Oral Science*. 2007; 15 (3): 175-180.
22. Botelho MA, dos Santos RA, Martins JG, Carvalho CO, Paz MC, Azenha C. Comparative effect of an essential oil mouthrinse on plaque, gingivitis and salivary *Streptococcus mutans* levels: a double blind randomized study. *Phytother Res*. 2009; 23 (9): 1214-1219.
23. Botelho MA, Nogueira NAP, Bastos GM, Fonseca SGC, Lemos TLG, Matos FJA. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *B J Med. Biol. Res*. 2007; 40 (3): 349-56.
24. Botelho MA, Rao VS, Carvalho CBM, Bezerra-Filho JG, Fonseca SGC, Vale ML. *Lippia sidoides* and *Myracrodruon urundeuva* gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Ethnopharmacol*. 2007; 113 (3): 471-8.
25. Botelho MAS. Eficácia do Alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) e do neem (*Azadirachta indica*) no controle da placa bacteriana e gengivite: um ensaio clínico controlado randomizado. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Saúde Pública] - Universidade Federal do Ceará; 2005.
26. Bruno DG. Efeito de um fito composto no desempenho de leitões submetidos ao desafio experimental com *Salmonella typhimurium*. Pirassununga. Dissertação [Mestrado em Medicina Veterinária] - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2008.

27. Cavalcanti SC, Niculau Edos S, Blank AF, Camara CA, Araujo IN, Alves PB. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Bioresour Technol.* 2010; 101 (2): 829-832.
28. Chaves FCM, De Chagas ACS, Souza AM, Pinto MAS, Bizzo HR. Content and chemical composition of essential oil of "alecrim-pimenta" in Manaus, Amazonas state, Brazil. 2011; 131-4.
29. Costa JGM, Rodrigues FFG, Angélico EC, Silva MR, Mota ML, Santos NKA. Chemical-biological study of the essential oils of *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* and *Syzigium aromaticum* against larvae of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Rev Bras Farmacogn.* 2005; 15 (4): 304-9.
30. Costa S M, Lemos T., Pessoa O D, Pessoa C, Montenegro R C, Braz-Filho R. Chemical constituents from *Lippia sidoides* and cytotoxic activity. *Nat. Prod. Rep.* 2001; 64 (6): 792-795.
31. Costa SMO, Lemos TLG, Pessoa ODL, Assunção JCC, Braz-Filho R. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. *Rev Bras Farmacogn.* 2002; 12 (supl.1): 66-7.
32. Silva AC, Sales NLP, de Araújo AV, Caldeira Júnior CF. *In vitro* effect of plant compounds on the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolated from passion fruit. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz Isolado do maracujazeiro. 2009; 33 (SUPPL.): 1853-60.
33. Farias EMFG, Ximenes RM, Magalhães LPM, Chiappeta ADA, De Sena KXDFR, De Albuquerque JFC. Antifungal activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) against clinical isolates of *Candida* species. *J Herbal Med.* 2012; 2 (3): 63-7.
34. Medeiros MDGF, da Silva AC, Citó AMDGL, Borges AR, de Lima SG, Lopes JAD. *In vitro* antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Parasitol Int.* 2011; 60 (3): 237-41.
35. Melo MTP, Ribeiro JM, Meira MR, de Figueiredo LS, Martins ER. Essential oil content of pepper-rosmarin as a function of harvest time. *Cienc. Rural* 2011; 41 (7): 1166-9.
36. Ehlert PAD, Blank AF, Arrigoni-Blank MF, Paula JWA, Campos DA, Alviano CS. Hydrodistillation time for essential oil extraction of seven medicinal plant species. *Rev Bras Plantas Med.* 2006; 8 (2): 79-80.

37. Botelho MA. Estudo do efeito do gel de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) e aroeira (*Myracrodruon urudeuva*) e seus princípios ativos isolados na doença periodontal experimental. Fortaleza. Tese [Doutorado em Ciências Médicas] - Universidade Federal do Ceará - 2007.
38. Fernandes LP, Ehen Z, Moura TF, Novak C, Sztatisz J. Characterization of *Lippia sidoides* oil extract-beta-cyclodextrin complexes using combined thermoanalytical techniques. J Term Anal. Calorim. 2008; 78 (2): 557-573.
39. Fernandes LP. Desenvolvimento de extratos secos padronizados de *Lippia sidoides* Cham. pelo processo em leite de jorro e avaliação da atividade biológica. Ribeirão Preto. Tese [Doutorado em Ciências Farmacêuticas] - Universidade de São Paulo; 2009.
40. Fontenelle ROS. Efeito antifúngico de óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham., *Croton argyrophylloides* Muell., *Croton zenhtneri* Pax et Hoffm., *Croton nepetaefolius* Baill.e de seus principais constituintes contra dermatófito e *Candida* spp. isolados de cães. Fortaleza. Tese [Doutorado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2008.
41. Gomes G A, Monteiro C M, Senra T O, Zeringota V, Calmon F, Matos R S, Daemon E, Gois R W, Santiago G M, Carvalho M G. Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on larvae of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) and larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res. 2012; 111 (6): 2423-2430.
42. Lobo PLD, Fonteles CSR, De Carvalho CBM, Do Nascimento DF, Da Cruz Fonseca SG, Jamaru FVF. Dose-response evaluation of a novel essential oil against *Mutans streptococci* *in vivo*. Phytomed. 2011; 18 (7): 551-6.
43. Lopes FGM, Vasconcelos NMS, Almeida MMB, Nogueira CMD, Morais NMT, Sa MJHC. Analytical characterization in medicinal plants. Caracterização analítica de plantas medicinais. Rev Bras Farm. 1998; 79 (3-4): 88-89.
44. Maciel MV. Contribuição para o controle da leishmaniose visceral: atividade inseticida de plantas sobre *Lutzomyia longipalpis* (LUTZ E NEIVA, 1912). Fortaleza. Tese [Doutorado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2009.
45. Medeiros MDGF, da Silva AC, Citó AMDGL, Borges AR, de Lima SG, Lopes JAD. *In vitro* antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Parasitol Int. 2011; 60 (3): 237-41.

46. Monteiro VBM, Leite KRMA, Bertini ML, Morais MS, Nunes-Pinheiro CSD. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. J Ethnopharmacol. 2007; 111 (2): 378-3782.
47. Morais S R, Oliveira T L, Bara M T, Conceicao E C, Rezende M H, Ferri P H, Paula J R. Chemical constituents of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) leaves cultivated in Hidrolândia, Goiás, Brazil. Int J Anal Chem. 2012: 1-4.
48. Moreira JS. Identificação de proteínas de flores de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*): uma nova estratégia no combate a patógenos. Juiz de Fora. Dissertação [Mestrado em Ciências Biológicas] - Universidade Federal de Juiz de Fora; 2009.
49. Mota M L, Lobo L T Costa J M, Costa L S, Rocha H A, Rocha e Silva L F, Pohlit A M, Neto V F. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of essential oils and chemical components from three medicinal plants found in northeastern Brazil. Planta Med. 2012; 78 (7): 658-664.
50. Mota ML. Atividade antimalárica de plantas medicinais da biorregião do Araripe-CE em modelo murino - *Plasmodium berghei*. Natal. Dissertação [Mestrado em Ciências Biológicas] - Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2009.
51. Nader TT. Potencial de atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais do cerrado frente estirpes de *Staphylococcus aureus*. Jaboticabal. Dissertação [Mestrado em Medicina Veterinária] - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2010.
52. Oliveira R A G, Lima E O, Vieira W L, Freire K R, Trajano L, Vinicius N, Lima IO, Souza E L, Toledo MS, Silva-Filho RN. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. Rev Bras Farmacogn. 2005; 16 (1): 77-82.
53. Parente KMS. Bioatividade de óleos vegetais sobre o comportamento da saúva do Nordeste (*Atta opaciceps* Borgmeier, 1939). Fortaleza. Tese [Doutorado em Bioquímica] - Universidade Federal do Ceará; 2002.
54. Pinho L, Silva Souza PN, Sobrinho EM, de Almeida AC, Martins ER. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from rosemary, pepper tree, barbatimao and erva baleeira leaves and from pequi peel meal. Ciênc Rural. 2012; 42 (2): 326-31.
55. Radünz LL, Melo EC, Martins PM, Santos RHS, Santos RR, Machado MC. Drying of *Lippia sidoides* Cham. in fixed-bed dryer. Rev Bras Plantas Med. 2002; 5 (1): 79-82.

56. Reis FB, Souza VM, Thomaz MR, Fernandes LP, Oliveira WP, Martinis EC. Use of *Carnobacterium maltaromaticum* cultures and hydroalcoholic extract of *Lippia sidoides* Cham. against *Listeria monocytogenes* in fish model systems. *Int J Food Microbiol.* 2011; 146 (3): 228-234.
57. Reis FB. Bioconservação de pescado surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) com utilização da bactéria láctica bacteriocinogênica (*Carnobacterium maltaromaticum* C2) e de extratos vegetais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). Ribeirão Preto. Dissertação [Mestrado em Biociências Aplicadas à Farmácia] - Universidade de São Paulo; 2010.
58. Rondon F C, Bevilaqua C M, Accioly M P, Morais S M, Andrade-Junior H F, Carvalho C A, Lima J C, Magalhaes H C. *In vitro* efficacy of *Coriandrum sativum*, *Lippia sidoides* and *Copaifera reticulata* against *Leishmania chagasi*. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2012; 21 (3): 185-191.
59. Rondon FCM. Desenvolvimento de fitoterápicos para o tratamento da leishmaníase visceral. Tese [Doutorado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2011.
60. Rozza AL, Pellizzon CH. Essential oils from medicinal and aromatic plants: A review of the gastroprotective and ulcer-healing activities. *Fund Clin Pharmacol.* 2013; 27 (1): 51-63.
61. Santos AK. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Lippia Sidoides* (Cham.) e *Mimatanthus drasticus* (Mart). Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Química Orgânica] – Universidade Federal do Ceará; 2004.
62. Santos RO. Avaliação do potencial antifúngico de óleos essenciais de plantas do nordeste brasileiro. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2005.
63. Sousa E, Chiavone-Filho O, Moreno MT, Silva DN, Marques MOM, Meireles MAA. Experimental results for the extraction of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. using pressurized carbon dioxide. *Braz J Chem Eng.* 2002; 19 (2): 229-241.
64. Vieira RF, Bizzo HR, Deschamps C. Genetic resources of aromatic plants from Brazil. *Isr J Plant Sci.* 2010; 58 (3-4): 263-271.
65. Leal L K A M, Oliveira V M, Araruna S M, Miranda M C C, Oliveira F M A. Análise de timol por CLAE na tintura de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) produzida em diferentes estágios de desenvolvimento da planta. *Rev Bras Farmacogn.* 2003; 13: 9-11.

66. Lemos TLG, Monte FJQ, Santos AKL, Fonseca AM, Santos HS, Oliveira MF. Quinones from plants of northeastern Brazil: Structural diversity, chemical transformations, NMR data and biological activities. *Nat Prod Res.* 2007; 21 (6): 529-50.
67. Nunes RDS, Xavier HS, Rolim Neto PJ, De Santana DP, de Albuquerque UP. Botanical standardization of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). *Acta Farm Bonaer.* 2000; 19 (2): 115-8.
68. De Oliveira OR, Terao D, De Carvalho ACPP, Innecco R, De Albuquerque CC. Effect of essential oil from genus *Lippia* plants over the control of fungi contaminants on the micro propagation of plants. *Rev Ciên Agron.* 2008; 39 (1): 94-100.
69. Muñoz Acevedo A, Kouznetsov VV, Stashenko EE. Composición y capacidad antioxidante *in-vitro* de aceites esenciales ricos en timol, carvacrol, trans-anetol o estragol. *Rev Univ Ind Sant Salud.* 2009; 41 (3): 287-94.
70. Meneses R, Ocazonez R E, Martinez J R, Stashenko E E. Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication *in vitro*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2009; 8 (8): 1-6.
71. Vicuna GC, Stashenko EE, Fuentes JL. Chemical composition of the *Lippia organoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. *Fitoterapia.* 2010; 81 (5): 343-349.
72. Sivira A, Sanabria ME, Valera N, Vasquez C. Toxicity of ethanolic extracts from *Lippia organoides* and *Gliricidia sepium* to *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). *Neot Entomol.* 2011; 40 (3): 375-9.
73. Silva TF, Vollu RE, Jurelevicius D, Alviano DS, Alviano CS, Blank AF, Seldin L. Does the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. (pepper-rosmarin) affect its endophytic microbial community? *BMC Microbiol.* 2013; 13 (1): 29.
74. Moreira JS, Almeida RG, Tavares LS, Santos MO, Viccini LF, Vasconcelos IM. Identification of botryticidal proteins with similarity to NBS-LRR proteins in rosemary pepper (*Lippia sidoides* Cham.) flowers. *Prot J.* 2011; 30 (1): 32-8.

75. Albuquerque ACLd, Pereira MdSV, Pereira JV, Costa MRM, Higino JS. Efeito antimicrobiano do extrato da *Lippia sidoides* Cham. sobre microrganismos cariogênicos. Arq Odontol. 2008; 44 (4): 05-10.
76. Albuquerque ACL. Efeito antimicrobiano dos extratos da *Matricaria recutita* Linn. E *Lippia sidoides* Cham. sobre microrganismo do biofilme dental. João Pessoa. Dissertação [Mestrado em Odontologia - Diagnóstico Bucal] - Universidade Federal da Paraíba; 2007.
77. Leite AKRM. Atividade antiinflamatória e imunomoduladora do óleo essencial e de extratos de *Lippia sidoides* Cham. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2003.
78. Benelli L, Souza CRF, Oliveira WP. Spouted bed performance on drying of an aromatic plant extract. Powder Technol. 2013; 239: 59-71.
79. Betancur-Galvis L, Zapata B, Baena A, Bueno J, Ruíz-Nova CA, Stashenko E. Antifungal, cytotoxic and chemical analyses of essential oils of *Lippia organoides* H.B.K grown in Colombia. Rev Univ Ind Santander, Salud. 2011; 43 (2): 141-8.
80. Botelho MA, Martins JG, Ruela RS, Rachid I, Santos JA, Soares JB. Protective effect of locally applied carvacrol gel on ligature-induced periodontitis in rats: A tapping mode AFM Study. Phytother Res. 2009; 23 (10): 1439-48.
81. Botelho MA, Satyanarayana RS, Montenegro D, Menezes BMA, Cruz FSG, Pinto NNA, Ribeiro RA, Castro BGA. Effects of a herbal gel containing carvacrol and chalcones on alveolar bone resorption in rats on experimental periodontitis. Phytother Res. 2008; 22 (4): 442-449.
82. Caballero-Gallardo K, Olivero-Verbel J, Stashenko EE. Repellency and toxicity of essential oils from *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* and *Lippia organoides* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*. J Stored Prod Res. 2012; 50: 62-65.
83. Vicuna CG, Stashenko EE, Fuentes JL. Chemical composition of the *Lippia organoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. Fitoterapia. 2010; 81 (5): 343-349.
84. Chataing B, Rojas L, Usabillaga A, Mora D. Chemical composition and bioactivity on bacteria and fungi of the essential oil from *Lippia organoides* H.B.K. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. 2012; 15 (3): 454-460.

85. Funari CS. Estudos químicos e biológicos de espécies do gênero *Lippia* (Verbenaceae) nativas no Cerrado paulista. Araraquara. Tese [Doutorado em Química] - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2010.
86. Fabri R L, Nogueira M S, Moreira J R, Bouzada M L, Scio E. Identification of antioxidant and antimicrobial compounds of *Lippia* species by bioautography. *J Med Food*; 2011; 14 (7-8): 840-846.
87. Farias-Junior PA, Rios MC, Moura TA, Almeida RP, Alves PB, Blank AF. Leishmanicidal activity of carvacrol-rich essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Biol Res*. 2012; 45 (4): 399-402.
88. Fernandes LP, Candido RC, Oliveira WP. Spray drying microencapsulation of *Lippia sidoides* extracts in carbohydrate blends. *Food and Bioprod Process*. 2012; 90 (3): 425-32.
89. Fontenelle R O, Morais S M, Brito E H, Kerntopf M R, Brilhante R S, Cordeiro R A., Tome A R, Queiroz M G, Nascimento N R, Sidrim J J, Rocha M F. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59 (5): 934-940.
90. Girao V C, Nunes-Pinheiro D C, Morais S M, Sequeira J L, Gioso M A. A clinical trial of the effect of a mouth-rinse prepared with *Lippia sidoides* Cham. essential oil in dogs with mild gingival disease. *Preventive Vet Med*. 2003; 59 (1-2): 95-102.
91. Veras HNH. Caracterização química e avaliação da atividade antimicrobiana e antiinflamatória tópica do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). Crato. Dissertação [Mestrado em Bioprospecção Molecular] - Universidade Regional do Cariri; 2011.
92. Hernandes C, Bertoni BW, Franca SC, Pereira AMS. Promising natural preservatives from *Lippia organoides* essential oils (Verbenaceae). *Planta Med*. 2012; 78 (11): 1106-1106.
93. Viana LM. Atividade cicatrizante de três espécies do cerrado brasileiro em modelo experimental de úlceras dérmicas em coelhos. Juiz de Fora. Dissertação [Mestrado em Ciências Biológicas] - Universidade Federal de Juiz de Fora; 2011.

94. Marcal RM, Ptak DM, Krempser RR, Krempser MR, Cardoso GC, Santos RB. Antinociceptive effect of the essential oil of *Lippia sidoides* on mice. *Planta Med.* 2006; 72 (11): 1068-1068.
95. Monteiro MVB. Prevenção de lesões gástricas por *Lippia sidoides* Cham. em camundongos. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2003.
96. Monteiro VBM, Leite AKRM, Medeiros BL, Morais MS, Nunes-Pinheiro DCS. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. *J Ethnopharmacol.* 2007; 111 (2): 378-82.
97. Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko EE. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *J Stored Prod Res.* 2009; 45 (3): 212-4.
98. Oliveira V C, Moura D M, Lopes J A, Andrade P P, Silva N H, Figueiredo R. C. Effects of essential oils from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Lippia sidoides* Cham., and *Ocimum gratissimum* L. on growth and ultrastructure of *Leishmania chagasi* promastigotes. *Parasitol Res.* 2009; 104 (5): 1053-1059.
99. Lobo PLD. Avaliação *in vivo* do óleo essencial de *Lippia sidoides* nas apresentações farmacêuticas: bochecho, gel e dentifrício, frente aos *Streptococcus mutans* em crianças com cárie. Fortaleza. Tese. [Doutorado em Farmacologia] - Universidade Federal do Ceará; 2009.
100. Pereira S L, Praxedes Y C, Bastos T C, Alencar P N, Costa F N. Clinical effect of a gel containing *Lippia sidoides* on plaque and gingivitis control. *Eur J Dent.* 2013; 7 (1): 28-34.
101. Santiago GP, Pádua LEM, Silva PRR, Carvalho EMS, Maia CB. Effects of plant extracts on the biology of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) maintained under artificial diet. *Ciênc e Agrotec.* 2008; 32 (3): 792-966.
102. Santos FJB, Lopes JAD, Cito AMGL, Oliveira EH, Lima SG, Reis FDAM. Composition and biological activity of essential oils from *Lippia origanoides* H.B.K. *J Ess Oil Res.* 2004; 16 (5): 504-506.
103. Costa SMO. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste brasileiro: *Lippia sidoides* Cham. Fortaleza. Tese [Doutorado em Química Orgânica] - Universidade Federal do Ceará; 2001

104. Tangarife-Castaño V, Roa-Linares V, Betancur-Galvis LA, Durán García DC, Stashenko E, Mesa-Arango AC. Antifungal activity of Verbenaceae and Labiatae families essential oils. *Pharmacol online*. 2012; 1 (SPL. 1): 133-45.
105. Tangarife-Castaño V, Correa-Royero J, Zapata-Londoño B, Durán C, Stashenko E, Mesa-Arango A C. Anti-*Candida albicans* activity, cytotoxicity and interaction with antifungal drugs of essential oils and extracts from aromatic and medicinal plants. *Infectio*. 2011; 15 (6): 160-167.
106. Vicuna G C, Stashenko E E, Fuentes J L. Impact of aqueous plant extracts on *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiol*. 2012; 59 (3): 849-858.
107. Gowell AJ, Chandra A, Malik K. Bioassay directed fractionation and anti-microbial activity of *Lippia sidoides*. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*. 2011; 241.
108. Pessoa LM. Atividade anti-helmíntica de plantas medicinais. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Ciências Veterinárias] - Universidade Estadual do Ceará; 2001.
109. Alves RT. Atividade biológica de derivados vegetais de famílias da flora brasileira sobre as linhagens I e II de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). Araraquara. Tese [Doutorado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia] - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2011.
110. Carvalho AF, Melo VM, Melo VM, Machado MI, Bantim MB, Rabelo EF. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Against *Aedes aegypti* Linn. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003; 98 (4): 569-57.
111. Urano Carvalho AF, Melo VMM, Craveiro AA, Machado MIL, Bantim MB, Rabelo EF. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003; 98 (4): 569-71.
112. Pascual ME, Slowing K, Carretero E, Sanchez Mata D, Villar A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *J Ethnopharmacol*. 2001; 76: 201-214.
113. Borges AR, Aires JRDA, Higino TMM, Medeiros MDGFD, Citó AMDGL, Lopes JAD. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. *Exp Parasitol*. 2012; 132 (2): 123-8.

114. Castro CE, Ribeiro JM, Diniz TT, Almeida AC, Ferreira LC, Martins ER, Duarte ER. Antimicrobial activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2011; 13 (3): 293-297.
115. Cavalcanti ES, Morais SM, Lima MA, Santana EW. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99 (5): 541-544.
116. Sousa EMBD. Construção e utilização de um dispositivo de extração com fluido pressurizado, aplicado a produtos naturais. Natal. Tese [Doutorado em Engenharia Química] - Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2001.
117. Oliveira F P, Lima E O, Siqueira Júnior J P Souza E L, Santos B H C Barreto H M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. Rev Bras Farmacogn. 2006; 16 (4): 510-516.
118. Olivero-Verbel J, Caballero-Gallardo K, Jaramillo-Colorado B, Stashenko, E. Actividad repelente de los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Citrus sinensis* y *Cymbopogon nardus* cultivadas en Colombia frente a *Tribolium castaneum*, Herbst. Revista de la Universidad Indust Sant. 2009; 41 (3): 244-250.
119. Olivero-Verbel J, Guette-Fernandez J, Stashenko E. Acute toxicity against *Artemia franciscana* of essential oils isolated from plants of the genus *Lippia* and *Piper* collected in Colombia. B Latinoam Caribe Pl, 8 (5), 419 – 42.
120. Lopes PRO. Extração supercrítica de óleos essenciais do Nordeste do Brasil. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Química] - Universidade Federal do Ceará; 2004.
121. Stashenko E, Ruiz C, Munoz A, Castaneda M, Martinez J. Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia origanoides* HBK grown in Colombia. Nat Prod Com. 2008; 3 (4): 563-566.
122. Macambira LMA, Andrade CHS, Matos FJA, Craveiro AA, Braz Filho R. Naphthoquinoids from *Lippia sidoides*. J N Prod. 1986; 49 (2): 310-2.
123. Fernandes LP, Oliveira WP, Sztatisz J, Novák C. Thermal properties and release of *Lippia sidoides* essential oil from gum arabic/maltodextrin microparticles. J Therm Anal Calorim. 2008; 94 (2): 461-7.

124. Betancourt L L, Ariza N C, Gonzalo DG, Germán AT. Efecto de diferentes niveles de aceites esenciales de *Lippia origanoides* kunth en pollos de engorde. Rev MVZ Córdoba. 2012; 17 (2): 3033-3040.
125. Betancourt L, Phandanauvong V, Patiño R, Ariza-Nieto C, Afanador-Téllez G. Composition and bactericidal activity against beneficial and pathogenic bacteria of oregano essential oils from four chemotypes of *Origanum* and *Lippia* genus. Rev Med Vet Zoot. 2012; 59 (1): 21-21.
126. Camurca-Vasconcelos AL, Bevilaqua CM, Morais SM, Maciel MV, Costa CT, Macedo IT, Oliveira LM, Braga RR, Silva RA, Vieira LS. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. Veterinary Parasitology. 2007; 148 (3-4): 288-294.
127. Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA, Alencar JW, Silva MG. Medicinal plants of northeast Brazil containing thymol and carvacrol - *Lippia sidoides* Cham. and *L. gracilllis* H.B.K. (Verbenaceae). J Ess Oil Res. 1999; 11(6): 666-668.
128. Marques RA. Estudo químico e avaliação quimiopreventiva de *Humirianthera ampla* Miers, *Simarouba versicolor* e cinco espécies do gênero *Lippia*. Fortaleza. Tese [Doutorado em Química] - Universidade Federal do Ceará; 2011.
129. Carvalho Rodrigues IS, Tavares VN, da Silva Pereira SL, da Costa FN. Antiplatelet and anti-inflammatory effect of *Lippia sidoides*. A double-blind clinical study in humans. J Appl Oral Sci. 2009; 17 (5): 404-7.
130. Oliveira RAG. Plantas medicinais usadas na dermatologia: Avaliação da atividade biológica de seus extratos, óleos essenciais e de suas associações. João Pessoa. Tese [Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos] -Universidade Federal da Paraíba; 2006.
131. Medeiros MGC. Contribuições tecnológicas para formas farmacêuticas a partir de óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham. e *Lippia origanoides* H.B.K. para tratamento das leishmanioses. Tese [Doutorado em Biotecnologia] - Universidade Estadual do Ceará; 2011.
132. Guimarães LGL. Óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham., *Alomia fastigiata* (Gardner) Benth, *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer, *Mikania glauca* Mart. e *Cordia verbenacea* D.C.: Identificação e quantificação química, caracterização das estruturas secretoras, atividades antioxidantes e antibacteriana. Lavras. Tese [Doutorado em Agroquímica]- Universidade Federal de Lavras; 2010.

133. Fernandes LP, Turatti ICC, Lopes NP, Ferreira JC, Candido RC, Oliveira WP. Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential oil. *J of Therm Anal Calorim*. 2008; 94 (2): 461-467.
134. Coppede JS. Plantas medicinais do Cerrado como fonte potencial de antimicrobianos e compostos anticancer. Ribeirão Preto. Dissertação [Mestrado em Biotecnologia] - Universidade de Ribeirão Preto; 2009.
135. Farias Junior PA. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* do óleo essencial de *Lippia* spp. Aracaju. Dissertação [Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais] - Fundação Universidade Federal de Sergipe; 2011.
136. Lima GP, Souza TM, Freire, PG, Farias DF, Cunha AP, Ricardo NM, Morais SM, Carvalho AF. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and Croton species against *Aedes aegypti* L. *Parasitology Research*. 2013; 112 (5): 1953-1958
137. Paula HCB, De Oliveira EF, Abreu FOMS, De Paula RCM. Alginate/cashew gum floating bead as a matrix for larvicide release. *Mat Sci Eng C*. 2012; 32 (6): 1421-7.
138. Camurca-Vasconcelos AL, Bevilaqua CM, Morais SM, Maciel MV, Costa CT, Macedo IT, Oliveira LM, Braga RR, Silva RA, Vieira LS, Navarro AM. Anthelmintic activity of *Lippia sidoides* essential oil on sheep gastrointestinal nematodes. *Vet Parasitol*. 2008; 154 (1-2): 167-170.
139. Paula HCB, Sombra FM, Abreu FOMS, De Paula RCM. *Lippia sidoides* essential oil encapsulation by alginate gum/chitosan nanoparticles. *J Braz Chem Soc*. 2010; 21 (12): 2359-2366.
140. Brito MB, Barin GB, Araújo AAS, Sousa DP, Cavalcanti SCH, Lira AAM, Nunes RS. The action modes of *Lippia sidoides* (Cham) essential oil as penetration enhancers on snake skin. *J Therm Anal Calorim*. 2007; 97 (1): 323-327.
141. Sousa AA. Avaliação clínica do efeito de colutórios à base de *Myracrodruon urundeuva* Allemão e *Lippia sidoides* Cham. sobre o biofilme dental e a gengivite. Fortaleza. Dissertação [Mestrado em Ciências Fisiológicas] - Universidade Estadual do Ceará; 2005.

142. Albuquerque ACL. Ensaio clínico randomizado avaliar a eficácia da *Lippia sidoides* Cham. na prevenção e tratamento de mucosite. João Pessoa. Tese [Doutorado em Odontologia - Diagnóstico Bucal] - Universidade Federal da Paraíba; 2010.

143. Anvisa. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira, 1° ed. 2011.

144. Craveiro AA, Carvalho AFU, Melo VMM, Sena VCS, Antunes ASL, Farias DF, Teixeira LB, inventors. Formulações à base do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) para proteção pessoal contra o mosquito *Aedes aegypti* Linn. Instituto Nacional da Propriedade Industrial PI 0602027. 2008 jan 8°.

145. Craveiro AA, Machado MIL, Carvalho AFF, Melo VMM, inventors. Lavicida contra o mosquito *Aedes aegypti* obtido a partir da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham. Instituto Nacional da Propriedade Industrial PI9902911. 2001 mar 6°.

146. Craveiro AA, Machado MIL, Matos FJA, Alencar JW, inventors. Fitoterápicos antimicrobianos a partir da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham. Instituto Nacional da Propriedade Industrial PI9805100. 2000 may 30°.