

ESTUDO TOXICOLÓGICO E FARMACOLÓGICO DOS EXTRATOS FLUIDOS DE *Cissus sicyoides* L.

Geraldo Alves da Silva*
Luciene C. L. Araújo**
Seizi Oga***
Gokithi Akisue***

Os extratos fluidos obtidos de Cissus sicyoides L., conhecido popularmente como "anil-trepador", "cipó-pucá" e "insulina", foram caracterizados farmacológica e toxicologicamente. Os resultados preliminares apresentaram uma atividade hipoglicemiante não significativa e ausência de atividade tóxica.

UNITERMOS: *Cissus sicyoides* L., hipoglicemiante, ação farmacológica, ação toxicológica, insulina vegetal e cipó-pucá.

1. INTRODUÇÃO

A espécie vegetal *Cissus sicyoides* L. é conhecida popularmente como "achite", "caavurana-de-cunham", "tinta-dos-gentios", "uva-brava"⁽⁰³⁾, "anil-trepador"^(03, 14), "cipó-pucá"^(04, 08, 12) e insulina vegetal. É um arbusto escandente^(01, 16) que pertence à família *Vitaceae*. A espécie apresenta gavinhas simples, opostas às folhas e raízes pêndulas, possuindo folhas simples ovadas-cordiformes e 40-60 flores pálidas ou amarelo-esverdeadas⁽⁰³⁾ em cimeiras corimbiformes⁽⁰¹⁾, brácteas e bractéolas triangulares⁽⁰²⁾. O fruto é uma baga preta, globosa, contendo uma semente⁽⁰³⁾.

* Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, M.G.

** Universidade São Francisco, Bragança Paulista, S. P.

*** Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, S.P.

Do fruto foram isoladas três antocianinas, determinadas como sendo delphinidina-3-rutinosido, cianidina-3-ramnosil-arabinose e delphinidina-3-ramnósido⁽¹⁴⁾. Nos extratos aquoso e metanólico encontram-se aminoácidos, proteínas, alcalóides e flavonóides⁽¹²⁾. No extrato aquoso não foi verificada a presença de saponinas⁽⁰⁶⁾. No extrato etéreo verificou-se a presença de taninos, mas não foram detectados flavonóides e alcalóides⁽⁰⁶⁾. Sais de magnésio, manganês, silício, cálcio, fósforo e potássio também foram identificados⁽⁰¹⁾.

As folhas são empregadas externamente contra reumatismo e na cura de abscessos^(03, 14). No México a planta é conhecida como "sanalotodo" e "desinflamatória", e suas folhas, sob forma de cataplasma, são usadas no tratamento de inflamação muscular⁽¹⁷⁾. Os extratos obtidos de folha, caule e vegetal inteiro apresentaram ação significativa como anticonvulsivante^(05, 15). Na medicina popular a planta é utilizada para esta finalidade^(04, 12), sendo muito conhecida em Belém, onde tem também um largo emprego como antiparalisante, antiepiléptico e no tratamento de derrame cerebral⁽⁰⁶⁾. O chá das folhas ainda é empregado como sudorífero, hipotensor, ativador da circulação sanguínea⁽¹⁶⁾ e, atualmente, em diabetes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A - Material de estudo

O material de estudo é constituído de extratos fluidos, obtidos de folha e caule de *Cissus sicyoides* L., preparados conforme as especificações da Farmacopéia Brasileira II, segundo os processos A e C⁽⁰⁷⁾. A folha e caule de *Cissus sicyoides* L., foram devidamente coletados no horto de plantas medicinais da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, Minas Gerais. Foi preparada uma excisada que, depois da identificação da espécie, foi colocada no herbário do Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, onde recebeu a numeração SP: 251:212.

Para o estudo da atividade tóxica os extratos foram desidratados e posteriormente ressuspensos em NaCl 0,9% (EHD-A) e solução aquosa de tween a 12% (EHD-C). Para o estudo da atividade hipoglicemiante os extratos foram liofilizados e ressuspensos em água destilada.

B - Atividade hipoglicemiante

Para determinar a atividade hipoglicemiante, utilizaram-se ratos wistar machos de peso compreendido entre 180g a 220g, os quais foram

mantidos em jejum por 12 horas, previamente aos experimentos, fornecendo-lhes água "ad libitum". A solução de glicose a 50% foi administrada por via oral, em volume constante de 3mL para cada animal; 30 minutos após, foram administrados os extratos brutos de "insulina", A e C, liofilizados, ressuspensos em água destilada, também por via oral, nas doses de 1,0 e 2,0 g/Kg. As amostras de sangue foram coletadas mediante secção das extremidades da cauda, antes da administração da glicose e aos 60, 120 e 180 minutos após a administração dos extratos. A leitura da glicemia foi feita pelo método enzimático, colorimétrico, utilizando-se tiras reagentes Dextrostix (Ames) e um Reflectance Colorimeter Eyrton, modelo 5551 da Ames⁽⁰⁸⁾. Na avaliação estatística, a significância das diferenças entre os grupos de controle e os tratados com os extratos, foi avaliada pela análise de variância "one-way" ($p \geq 0,05$)⁽¹³⁾.

C - Verificação da atividade tóxica

Nos ensaios toxicológicos realizados utilizaram-se camundongos machos, pesando em média 30g, tratados com ração balanceada PURINA-LABINA, água "ad libitum" e mantidos em ciclo claro-escuro de 12 h. Nos experimentos em que o extrato era administrado por via oral, os animais foram deixados em jejum por 8h para favorecer a absorção do princípio ativo.

Os animais do grupo controle foram tratados com NaCl 0,9% ou solução aquosa de tween a 12% em volume idêntico ao do extrato, aplicado aos animais do grupo tratado desta maneira.

Na triagem hipocrática observamos, primeiramente, os efeitos produzidos por uma substância desconhecida sobre: (a) estado consciente e disposição; (b) atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular; (c) reflexos; (d) atividade do sistema nervoso autônomo⁽⁴⁸⁾. O ensaio foi realizado em grupos de 08 camundongos para cada nível de dose. Após 1/2, 1, 2, 4, 24 e 48 horas da administração por via oral, foram observados os efeitos descritos acima.

Também foi realizado o experimento com grupos de 08 camundongos, para cada nível de dose, submetidos à administração, de dose única do extrato, pela via p.o., tendo sido monitorados diariamente, para cada um dos animais, os seguintes parâmetros: peso corporal, peso de excretas (fezes e urina), consumo de água e consumo de ração. Este estudo representa uma estimativa preliminar das propriedades tóxicas da planta, acerca dos riscos à saúde, fornecendo resultados de uma administração de curta duração pela via escolhida^(09, 11). O período de observa-

ção foi de 14 dias. Após este tempo os camundongos foram sacrificados e foram realizadas a análise macroscópica e pesagem dos seguintes órgãos: fígado, baço, pâncreas, rins e estômago. Os valores médios foram obtidos a partir dos dados anotados individualmente.

A DL50 foi estimada pelo método de LITCHEFIELD & WILCOXON⁽¹⁰⁾. Foram utilizados três níveis de dose em progressão geométrica, administrados em dose única, pela via p.o., a grupos de 08 animais. A letalidade foi observada até 72 horas após a administração dos extratos.

3. RESULTADOS

A - Verificação da atividade hipoglicemiante

As tabelas 1 e 2 denotam os resultados preliminares do ensaio da glicemia em ratos tratados com os extratos fluidos A e C.

Tabela 1

Efeito do extrato A de *C. sicyoides* L. na glicemia de ratos, tratados previamente com solução de glicose. A solução de glicose (3 ml) foi administrada, p. o., 30 minutos antes do extrato. Cada valor representa a média \pm DP de 6 animais.

GRUPO	GLICEMIA (mg/100mL)			
	0 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Controle-salina	93,33 \pm 8,76	125,00 \pm 31,30	133,33 \pm 13,66	112,50 \pm 20,92
Extrato A				
1,0 g/kg	90,00 \pm 5,00	123,33 \pm 17,56	136,67 \pm 15,28	115,00 \pm 21,79
2,0 g/kg	93,33 \pm 5,77	105,00 \pm 15,00	123,33 \pm 11,55	81,67 \pm 5,77

Tabela 2

Efeito do extrato C de *C. sicyoides* L. na glicemia de ratos tratados previamente com solução de glicose. A solução de glicose (3 ml) foi administrada, p. o., 30 minutos antes do extrato. Cada valor representa a média \pm DP de 6 animais.

GRUPO	GLICEMIA (mg/100mL)			
	0 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Controle-salina	85,00 \pm 29,66	115,89 \pm 30,40	114,17 \pm 38,78	110,00 \pm 10,49
Extrato B				
1,0 g/kg	70,00 \pm 10,00	95,00 \pm 5,00	108,33 \pm 12,58	103,33 \pm 5,77
2,0 g/kg	100,00 \pm 10,00	73,33 \pm 20,21	110,00 \pm 17,32	93,33 \pm 2,89

B - Verificação da atividade tóxica

As tabelas 3, 4, 5, 6 e 7 demonstram os resultados preliminares obtidos da análise toxicológica dos extratos EHD-A e EHD-C de *C. sicyoides* L.

Tabela 3

Efeitos observados em camundongos após administração oral de EHD-A e EHD-C, em doses únicas de 2,5; 5,0 e 10,0 g/kg, variação imposta pelo tempo 1/2, 1, 2, 4, 24 e 48 horas após.

Efeitos sobre	EHD-A	EHD-C
ESTADO CONSCIENTE E DISPOSIÇÃO	- Aumento da atividade geral nas doses 2,5 e 5,0 g/kg e diminuição na dose 10,0 g/kg. - Aumento de irritabilidade nos primeiros 30 minutos para todas as doses.	- Diminuição da atividade geral nas doses de 2,5 e 5,0 g/kg após 1 hora e permanecendo até 2 horas.
SISTEMA MOTOR E TÔNUS MUSCULAR	- Resposta ao toque, elevada em todas as doses nos primeiros 30 minutos. Redução ao aperto da cauda.	- Aumento da resposta ao toque nas doses de 5,0 e 10,0 g/kg até 1 hora. - Diminuição ao aperto de cauda nas doses de 2,5 e 5,0 g/kg perdurando até 2 horas.
REFLEXOS	- Não houve alterações significativas	- Diminuição do reflexo auricular nas doses de 5,0 e 10,0 g/kg - Diminuição do reflexo corneal na dose de 10,0 g/kg
SNC	- Não houve alterações significativas	- Não houve alterações significativas
SNA	- Ligeira diminuição da respiração nas doses de 5,0 e 10,0 g/kg até 1 hora	- Não houve alterações significativas

Tabela 4

Níveis de mortalidade de camundongos submetidos à administração dos extratos EHD-A e C.

TRATAMENTO	DOSE g/kg	n°	MORTES
EHD-A	2,5	8	00
	5,0	8	00
	10,0	8	00
EHD-C	2,5	8	00
	5,0	8	00
	10,0	8	00
SOL. AQUOSA TWEE 12%	5,0 ml/kg	8	00
SOL. AQUOSA NaCl 0,9%	5,0 ml/kg	8	00

Tabela 5

Resultados quanto à evolução do peso corporal, excretas, consumo de ração e de água, durante 14 dias, após administração do EHD-A e EHD-C, p.o., nas doses 2,5, 5,0 e 10,0 g/kg, em comparação com o grupo controle.

Parâmetro avaliado	EHD-A	EHD-C
EVOLUÇÃO DO PESO CORPORAL	- Não interferiu na evolução do peso corporal	- Não interferiu na evolução do peso corporal
EXCRETAS	- Ligeira diminuição de excretas até 14 ^a dia em todas as doses.	- Ligeira diminuição de excretas até 14 ^a dia nas doses de 5,0 e 10,0 g/kg. - A dose de 2,5 g/kg apresentou um grande aumento de excretas no 12 ^a dia e diminuindo no 14 dia.
CONSUMO DE RAÇÃO	- Diminuição do consumo de ração nos primeiros 6 dias para todas as doses.	- Não houve alteração significativa
CONSUMO DE ÁGUA	- Aumento do consumo de água apenas no 3 ^a dia para todas as doses	- Aumento do consumo de água apenas no 3 ^a dia para todas as doses.

Tabela 6

Efeito do tratamento de 14 dias com extrato de *Cissus sicyoides* L. EHD-A em camundongos, sobre o peso de órgãos. Todos os pesos dos órgãos estão expressos em relação a 100g de peso corporal.

ÓRGÃO	VIA ADMINISTRAÇÃO	DOSE (g/kg)			
		2,5	5,0	10,0	CONTROLE
ESTÔMAGO	PO	2,04 ± 0,18	2,13 ± 0,16	2,07 ± 0,10	2,39 ± 0,20
BAÇO	PO	0,63 ± 0,08	1,08 ± 0,12	0,65 ± 0,10	0,65 ± 0,13
FÍGADO	PO	6,03 ± 0,20	6,47 ± 0,24	6,91 ± 0,16	5,77 ± 0,50
RINS	PO	0,95 ± 0,09	0,87 ± 0,04	1,08 ± 0,05	0,73 ± 0,10

Tabela 07

Efeito do tratamento de 14 dias com extrato de *Cissus sicyoides* L. EHD-C em camundongos, sobre o peso de órgãos. Todos os pesos dos órgãos estão expressos em relação a 100g de peso corporal.

ÓRGÃO	VIA ADMINISTRAÇÃO	DOSE (g/kg)			
		2,5	5,0	10,0	CONTROLE
ESTÔMAGO	PO	2,10 ± 0,21	2,14 ± 0,17	2,75 ± 0,42	2,39 ± 0,20
BAÇO	PO	0,57 ± 0,11	0,70 ± 0,07	1,26 ± 0,20	0,65 ± 0,13
FÍGADO	PO	5,46 ± 0,31	5,36 ± 0,22	6,09 ± 2,44	5,77 ± 0,50
RINS	PO	0,86 ± 0,02	0,88 ± 0,04	0,93 ± 0,03	0,73 ± 0,10

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da determinação da ação hipoglicemiante (tabelas 1 e 2), mostraram ligeira tendência à queda de glicemia, após administração dos extratos de *Cissus sicyoides* L., entretanto, entre os animais tratados com extrato e os de controle não houve diferença significativa. Não houve diferença significativa também entre os extratos A e C.

No estudo do estado consciente e da disposição (tabela 3) observou-se aumento da atividade geral, produzida pelo EHD-A, nas doses de 2,5 e 5,0 g/kg e diminuição desta atividade na dose de 10,0 g/kg, fato este que poderia ser explicado pela dose muito elevada ocasionando mal estar gástrico e possivelmente dor. O EHD-A promoveu irritabilidade em todas as doses até 0,5 horas após sua administração, em relação ao grupo controle. No caso do EHD-C, houve diminuição da atividade geral nas doses de 2,5 e 5,0 g/kg em relação ao controle após 1 hora, permanecendo até 2 horas.

Na ação sobre o sistema motor e tônus muscular (tabela 3) destaca-se neste a atuação do EHD-A na resposta ao toque que se mostrou elevada em todas as doses, 0,5 horas após a administração em relação ao grupo controle, efeito esse que poderia estar sendo causado pela irritabilidade e aumento da atividade dos animais. Houve redução da resposta ao aperto de cauda. Observou-se aumento da resposta ao toque nas doses de 5,0 e 10,0 g/kg até 1 hora após as administrações do EHD-C em relação ao grupo controle. Também foi notado diminuição da resposta ao aperto de cauda nas doses de 2,5 e 5,0 g/kg, perdurando até 2 horas após.

No resultado da observação dos reflexos e do sistema nervoso central (tabela 3) para o EHD-A, nota-se que não houve alterações significativas em relação ao grupo controle. Com relação ao EHD-C, ocorreu uma diminuição do reflexo auricular nas doses de 5,0 e 10,0 g/kg e do reflexo corneal na dose de 10,0 g/kg.

Na atividade do sistema nervoso autônomo (tabela 3) houve uma ligeira diminuição da respiração dos animais nas doses de 5,0 e 10,0 g/kg observada até 1 hora após a administração do EHD-A. Não houve alterações significativas para o EHD-C.

Na determinação da DL₅₀ (tabela 4) não houve mortes dos animais submetidos aos tratamentos; conclui-se que a DL₅₀ é maior que 10,0 g/kg. Baseado neste resultado, podem-se administrar os extratos com segurança, desde que a dose usual não ultrapasse 10,0 g/kg.

Na análise de evolução do peso corporal (tabela 5), pode-se observar que o EHD-A e o EHD-C administrados por via oral, não interferiram na evolução do peso corporal, em nenhuma das doses empregadas, com relação ao grupo controle. Verificamos uma ligeira diminuição de excretas (tabela 5) até o 14° dia de administração do EHD-A, em todas as doses. Esta diminuição também foi observada para o EHD-C para as doses de 5,0 e 10,0 g/kg, enquanto que a dose de 2,5 g/kg apresentou aumento no décimo segundo dia. Com relação ao consumo médio de ração (tabela 5), houve diminuição nos primeiros 6 dias para o EHD-A e nenhuma alteração

ção para o EHD-C. Ocorreu um aumento de consumo de água (tabela 5) apenas no terceiro dia para o EHD-A e EHD-C, em todas as doses.

Na tabela 6 o peso dos rins foi significativamente maior ($p < 0,05$) somente na dose mais elevada (10,0 g/kg), podendo sugerir um processo inflamatório devido a alguma lesão promovida pelo extrato EHD-A. A Análise macroscópica não revelou nenhuma alteração significativa. Contudo, somente um ensaio mais prolongado com avaliação microscópica pode confirmar esta hipótese.

Observando a tabela 7 verifica-se que não houve alteração significativa quanto ao peso dos órgãos (fígado, baço, rins e estômago). Este dado revela que a planta utilizada no preparo do EHD-C não promove alterações lesivas macroscópicas nos órgãos vitais do organismo dos camundongos.

5. CONCLUSÕES

O uso dos extratos fluidos (extratos hidroalcoólicos) de *C. sicyoides* L. em casos de diabetes, não se justifica pelos resultados obtidos. Será necessário dar prosseguimento ao estudo para aprofundamento dos resultados e iniciar o estudo do chá (extrato aquoso), pois existem casos narrados pessoalmente em que diabéticos estão controlando a glicemia com o chá desta planta. A planta não apresentou atividade tóxica nos ensaios realizados, e, eventualmente, pode ser utilizada na medicina popular.

6. ABSTRACTS

The fluid extracts obtained from *Cissus sicyoides* L., commonly known as "anil-trepador", "cipó-pucá" and "insulina", were tested pharmacologically and toxicologically. The extracts show some hypoglycemic activity, but the results were not significant. No toxic activity was observed.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALBUQUERQUE, J. M. D. - *Plantas medicinais de uso popular*. Brasília, ABEAS, 1989. 96 p. (Programa Agricultura nos Trópicos, 6)
02. CHIEA, S. C., BISSA, W. M. - *Flora fanerogâmica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga* (São Paulo, Brasil) 109 - Vitaceae. Hoehnea, São Paulo, v. 10, p. 44-46, 1983.

03. CORREA, M. P. - *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1969. 6v.
04. COSTA, C. M. M. - *Cipó-pucá (Cissus sicyoides)* Rio de Janeiro, 1990. / Apresentado no Curso de Especialização em Medicamentos da UFRJ. Manuscrito/.
05. ELISABETSKY, E., TEIXEIRA, K. M. C., CARRERA, M. P., MOURA, B. A. S., MULLER, A.H. - Ação Anticonvulsivante do *Cissus sicyoides* (CS), cipó-pucá. *Ciência e Cultura*, São Paulo v. 40, n. 7 supl., 1988. p. 985 (Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 1988).
06. ESTEVES, T. G., VANZELER, M. L. A., MORAES, M. S. - Contribuição ao estudo de *Cissus sicyoides* L. *Rev. Bras. Farmacognosia*. São Paulo, supl. 01, p. 24, 1986. (Reunião da Sociedade Brasileira de Farmacognosia, Encontro de Professores, 3, São Paulo, 1986).
07. FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL 2. ed. São Paulo: Gráf. Siqueira, 1959. 1265 p.
08. FERRO, V. O. - *Contribuição para o estudo farmacognóstico de alcaçuz-do-Brasil, Periandra mediterranea* (Velloso) Taubert. São Paulo, 1980. p. 24 (Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP).
09. HUNTER, W. J., LINGK, W., RECHT, P. - Intercomparison study on the determination of single administration toxicity in rats. Commission of the European Communities, Health and Safety Directorate. *J. Assoc. Off. Anal Chem.*, Washington, v. 62, p. 864-873, 1979.
10. LITCHFIELD, J. T., WILCOXON, F. - A simplified method for evaluating dose-effect experiments. *J. Pharm. Exper. Therap.*, Baltimore, v. 96, p. 99-113, 1949.
11. LOMIS, T. A. - Acute and prolonged toxicity test. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, Washington, v. 58, p. 645-705, 1975.

12. MOURA, B. A .S., MULLER, A. H., BARBOSA, W. L. R., ELISABETSKY, E. - *Estudo químico e farmacológico da Espécie vegetal Cissus sicyoides* Belém, 1986. /Apresentado no Curso de Especialização em Química de Produtos Naturais da Universidade do Pará. Manuscrito/.
13. SOKAL, R. R., ROHLF, F. J. - *Biometry: The principles and practice statistics in biological research*. San Francisco: Freeman, 1969. 776p.
14. TOLEDO, M. C. F., REYES, F. G. R., IADEROZA, M., FRANCIS, F. J., DRAETTA, I. S. - Anthocyanins from anil trepador (*Cissus sicyoides*). *J. Food Sci., Chicago*, v. 48, p. 1368-1369, 1983.
15. TROTTA, E. E., PAIVA, D. C. R., COSTA, R. S. - Screening neuroactive effects of crude extracts of amazonian healing plants. In: *SIMPÓSIO BRASIL-CHINA DE QUÍMICA E FARMACOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS*, Rio de Janeiro, 1989. Resumos, Rio de Janeiro, Ministério da Saúde, 1989, p. 196.
16. VIEIRA, M. N. C. - *Medicina caseira paraense. estudo linguístico*, Belém: Universidade Federal do Pará, 1985. 80 p.16
17. VIEIRA, L. S. - *Fitoterapia da Amazônia: manual das plantas medicinais* (A Farmácia de Deus). 2. ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. p. 104-105.
18. ZAMORA-MARTINEZ, M. C., POLA, C. N. P. - Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Méxio. *J. Ethnopharmacol.*, Lausanne, v. 35, p. 229-257, 1992.