



ESTUDO DE UMA PLANTA MEDICINAL E SEUS CONSTITUINTES BIOATIVOS: UMA REVISÃO

ARTIGO DE REVISÃO

VIEIRA, Antonio¹

VIEIRA, Antonio. **Estudo de uma planta medicinal e seus constituintes bioativos: uma revisão.** Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ano 09, Ed. 01, Vol. 02, pp. 61-68. Janeiro de 2024. ISSN: 2448-0959, Link de acesso: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/meio-ambiente/constituientes-bioativos>, DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/meio-ambiente/constituientes-bioativos

RESUMO

O presente trabalho se oportuniza da busca pelo conhecimento das substâncias químicas presentes numa espécie vegetal, muito utilizada pelos moradores de uma comunidade da região Leste de Mato Grosso no tratamento de furúnculos, feridas externas e verrugas. Trata-se da espécie vegetal conhecida pela classificação taxonômica de *Cissus erosa* Rich., mas que também é conhecida pelos nomes populares de Mão-de-sapo, cafezinho, uva-do-campo e cipó-de-arraia-liso. É uma Liana com raízes na forma de xilopódio, frutos monocotiledôneos do tamanho de um grão de ervilha e folhas segmentadas em três partes dispostas em um caule na forma de cipó sustentado por gavinhas. É natural dos cerrados brasileiros onde ela é endêmica, garantindo a proliferação da espécie principalmente nos períodos das chuvas e também das secas onde ocorre o armazenamento da água, juntamente com as substâncias químicas encontradas nas partes aéreas do caule e folhas como também nas raízes. Através das análises cromatográficas TLC e HPLC, (Silva; Rabelo; Enoque, 2015; Oliveira *et al.*, 2011), foram detectadas a presença de Taninos, Triterpenos, Esteróides e Flavonóides. Além disso os seus extratos etanólicos demonstraram possuir alguma eficiência na atividade antiviral contra os vírus da varíola (VACV) e do herpes (HSV-1) (Silva; Rabelo; Enoque, 2015; Oliveira *et al.*, 2011), em concentrações variando entre 50 a 100 µg/ml dos extratos obtidos. Também foi constatado alguma eficiência na remoção das verrugas, úlceras externas e inflamações (Silva; Rabelo; Enoque, 2015).

Palavras-chave: Bioprospecção, Fitoquímicos, Etnofarmacologia.



1. INTRODUÇÃO

A família *Vitaceae* é formada por 14 gêneros, e dentre eles o gênero *Cissus* L. é o maior gênero desta família com cerca de 350 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do velho e novo mundo (Rodrigues; Lombardi; Lovato, 2014; Ribeiro *et al.* 2018). Na América do Sul, *Cissus* é representado por 64 espécies, sendo 16 delas encontradas nos cerrados do Brasil (Silva; Rabelo; Enoque, 2015; Rodrigues; Lombardi; Lovato, 2014). Uma grande característica deste gênero revela a presença de compostos fitoquímicos como Alcaloides, Esteroides, Flavonoides, Triterpenos, Polissacarídeos e Cumarinas (Silva; Rabelo; Enoque, 2015; Oliveira *et al.*, 2011).

A espécie *Cissus erosa* Rich. pertencente à família *Vitaceae* e ao gênero *Cissus* é encontrada também nos cerrados da região Centro-Oeste do Brasil onde ela é uma planta endêmica e se desenvolve na forma de cipó (Liana) escadente, que se apoia em outros suportes por meio de gavinhas encaracoladas e rijas (Rodrigues; Lombardi; Lovato, 2014; Nunes *et al.*, 2020). As folhas são simples trifoliadas com as margens serrilhadas. A sua inflorescência ocorre num período que vai de outubro a dezembro, possuindo flores avermelhadas pequeninas, medindo entre 0,2 a 0,3 cm de diâmetro. O fruto é uma baga monocotiledônea com formato oblongo do tamanho de um grão de ervilha. As raízes são do tipo xilopódio (batata) que libera uma espécie de goma (baba) quando esmagada, é muito utilizada na medicina popular, na cura de furúnculos, espinhas, verrugas e inflamações (Silva; Rabelo; Enoque, 2015; Oliveira *et al.*, 2011).

Em algumas regiões do Brasil esta planta é conhecida por diferentes nomes tradicionais. Na região sudeste ela é conhecida como cipó-de-fogo e cafezinho, na região Centro-Oeste recebe os nomes populares de mão-de-sapo e cipó-de-arraia-liso. Segundo pesquisas já realizadas, com esta espécie vegetal (Oliveira *et al.*, 2011; Nunes *et al.*, 2020; Vine *et al.*, 2023), apontam que os extratos etanólicos de *Cissus erosa* Rich., contém as seguintes substâncias: Taninos, Triterpenos, Alcalóides, Esteroides, polissacarídeos, Flavonoides e estilbenos-C-glicosídeos. Os extratos obtidos das partes aéreas (caule e folhas) demonstraram possuir algumas atividades antiviral contra o vírus do herpes tipos 1 (HSV-1), tipo 2 (HSV-2), Vaccínia vírus



(VACV) além de apresentar uma baixa citotoxicidade dos extratos, diante das células vivas, usando concentrações bem definidas (Oliveira *et al.*, 2011; Nunes *et al.*, 2020) com CMNT na faixa de 2000µg/mL (Nunes *et al.*, 2020; Reis *et al.*, 2020). Nas raízes, foram encontrados Flavonoides, Triterpenos e Esteroides (Oliveira *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2018). A presença destes compostos, principalmente os flavonoides, nesta espécie, sugere que ela também pode apresentar alguma atividade anti-inflamatória (Ingawale e Mandlik, 2020; Ullah; Munir; Badshal, 2020).

Embora a relação entre as estruturas dos flavonoides e o seu mecanismo de ação tem sido pouco estudados, mesmo assim, sabe-se que eles exibem propriedades anti-inflamatórias ao atingir muitas vias pró-inflamatórias (Ingawale; Mandlik; Patel, 2015; Vine *et al.*, 2023; He *et al.*, 2023). Esse mecanismo de ação se dá através da interação com muitas moléculas pro-inflamatórias para redução da dor (Ingawale e Mandlik, 2020; Ullah; Munir; Badshal, 2020). Flavonoides como quercetina, genisteína, Apigenina, kaempferol, e epigallocatequina-3-galato modulam a expressão e ativação de várias citocinas como interleucina-1beta (IL-1 β), que é pró-inflamatória produzida pelos macrófagos, fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-8 (IL-8). Regula a expressão gênica do pró-inflamatório fator nuclear-beta (NF- β), que é um fator potencializador de células beta ativadas, as proteínas ativadoras-1 (AP-1), adesão intercelular-mol-1 (ICAM-1), e a síntese do óxido nítrico (NOi) induzível. Além disso inibem também a secreção de enzima como lisozimas, β -glucuronidase e ácido araquidônico, diminuindo as reações inflamatórias (Ingawale e Mandlik, 2020; Ullah; Munir; Badshal, 2020).

2. PARTE EXPERIMENTAL

a) Material da Planta

O local onde a planta foi coletada, para estudo, trata-se de uma área de cerrado no Estado de Minas Gerais (Oliveira *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2018). Após a classificação taxonômica da espécie, as exsicatas foram depositadas no Herbário (BHCB) da Universidade Federal de Minas UFMG em Belo Horizonte com o registro PAMG/EPAMIG 566685. O material foi levado para secagem em estufa de circulação



de ar a 45 °C por 48 horas. As diferentes partes da planta (Folhas e Caule) foram separadas, moídas e submetidas à percolação com etanol a 98 °GL. Os filtrados recolhidos e o solvente foi completamente removido em aparelho de rotavapor por 40 °C sob pressão reduzida.

b) Análise dos extratos

Todos os extratos foram caracterizados por Cromatografia de Camada Fina (TLC) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD) acoplada com registrador on-line dos espectros UV, dos constituintes. Estas análises detectaram a presença de triterpenos, esteroides, flavonoides e taninos. Na caracterização fitoquímica realizada por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a espectrometria de massa (CLUE-EM) desses extratos, permitiram a identificação dos flavonoides como sendo, vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina, luteolina-7,4-di-O-glicosilflavona, metoxiluteolina-6(8) -C-hexosil (Silva; Rabelo; Enoque, 2015; Oliveira *et al.*, 2011).

c) Linhagem de células e vírus utilizados

Foram usadas as células Vero (ATCC CCI-81) extraídas dos rins do macaco verde Africano da espécie *Cercopithecus aethiops*, e a linhagem de células *Fibrossarcoma Aneuploid murina* (FAM – L929) (Oliveira *et al.*, 2011). As células foram cultivadas em um meio líquido contendo 5% de soro bovino fecal, gentamicina (50 µg/mL), penicilina (100 UI) e fungizona (5 µg/mL) pelo método modificado de Dulbecco. Os vírus foram compostos de dois DNA dos vírus da Herpes tipo 1 (HSV-1) e tipo 2 (HSV-2), o vírus *Vaccinia Western Reserve* (VACV-WR) e o RNA do vírus *Encephalomyocarditis Murina* (EMCV). A multiplicação dos vírus foi realizada nas células Vero (ATCC CCL-81), (HSV-1 e o vírus VACV-WR) em células (FAM L929) em frascos de 150 mL; todas as células foram infectadas com 0,01 µg/mL por frascos, sendo posteriormente examinados diariamente por microscopia de luz para medir o Efeito Citopático (CPE). Culturas mostrando uma faixa de 90 a 100% de CPE foram centrifugadas e as alíquotas dos sobrenadantes mantidas a -70 °C para uso posterior.

d) Ensaio de citotoxicidade realizado



O Ensaio foi realizado em microplacas de 96 poços contendo 60.000 células por poço e incubadas em atmosfera umidificada com 5% de CO₂ a 37 °C. Após 24 horas de incubação, foram expostas a diferentes concentrações de extratos e novamente incubadas por 72 horas (Oliveira *et al.*, 2011). Após a incubação os sobrenadantes foram removidos e adicionados 28 µL de uma solução de 2mg/mL de MTT (brometo de 3-4-5-dimetiltiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio) em tampão salino fosfatado (PBS) em cada poço. As placas foram novamente incubadas por 90 minutos a 37 °C e após este intervalo, foram adicionados 130 µL de Dimetil Sulfóxido (DMSO) para dissolver os cristais de formazan. Após dissolução completa dos cristais, a porcentagem de citotoxicidade foi calculada como $(A-B/A \times 100)$, onde A e B correspondem à relação das células não tratadas e tratadas, respectivamente. A concentração citotóxica correspondida à concentração variada dos extratos de *Cissus erosa* Rich., para determinar as Condições Mínimas Não Tóxicas (CMNT) foi da ordem de 2000 µg/mL indicando uma baixa citotoxicidade dos extratos (Oliveira *et al.*, 2011; Reis *et al.*, 2020).

e) Ensaio da atividade antiviral dos extratos

Os testes com amostras virais foram realizados em células Vero utilizando microplacas de 96 poços com 60.000 células em cada poço e incubadas a 37 °C em meio de crescimento celular pelo método de Dulbecco (DMEM) contendo 5% de Soro Fetal Bovino (SFB) mais antibióticos em ambiente de CO₂ (Silva; Rabelo; Enoque, 2015; Oliveira *et al.*, 2011). Com o passar das 24 horas o meio sobrenadante foi descartado e em cada poço foi colocado 100µL de extrato na Concentração Máxima Não Tóxica (CMNT) obtida do teste da citotoxicidade. Em metade dos poços (48 deles) as células foram mantidas em contato com os extratos em diferentes concentrações e amostra viral na concentração de 100 DI (Doses Infectantes) e na outra metade (48) somente células e extratos da planta. Além disso, alguns poços foram usados como controle. A microplaca foi para estufa por 72 horas a 37 °C em atmosfera de CO₂. Após esse período, adicionou-se o MTT (brometo de 3-4-5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio) e as placas foram incubadas por 90 minutos a 37 °C e em seguida foram adicionados 130 µL de DMSO para solubilizar os cristais de formazan. A atividade antiviral dos extratos avaliadas em células Vero, foi calculada pela diferença



entre: células infectadas e tratadas com o extrato (T) e as células do controle apenas infectadas (C). Os extratos foram considerados ativos com um Índice de Inibição Viral (IIV), acima de 1,5 Ou seja, a concentração antiviral atingiu os 50% da concentração efetiva (EC50) de proteção das células infectadas tratadas contra a destruição induzida pelo vírus.

3. CONCLUSÃO

Para a realização desta pesquisa foram utilizados dois tipos de células vivas tais como as células Vero extraídas dos rins do macaco verde africano da espécie *Cercopithecus aethiops* (ATCC-CCI 81), e as células *Fibrossarcoma Aneuploid Murina* (FAM-L929). Os dois tipos de células foram preparados para a sua proliferação em um meio de cultura modificado de Dulbecco.

Por outro lado, foram utilizados os DNA dos vírus do Herpes-1 (HSV-1), do Herpes-2 (HSV-2), do vírus *Vaccinia West Reserve* (VACV-WR) e o RNA do vírus *Encephalomyocarditis Murina* (EMCV). A multiplicação dos vírus do Herpes-1 e Herpes-2 foram realizados nas células vero e o vírus da *Vaccinia* e *Encephalomyocarditis* em células (FAM-L929).

Anteriormente as células vivas foram submetidas ao teste da citotoxicidade, para medir o efeito citopático dos extratos usando o método do MTT (Brometo de 3-4-5-dimetiltiazol-2-il-2,5-difenil tetrazólio). Com a adição de 150µL de DMSO os cristais de Formazan foram dissolvidos e a leitura em fotolorímetro mostrou uma concentração da ordem de 2000µ/mL indicando uma baixa citotoxicidade dos extratos.

No caso do teste antiviral foi utilizada uma microplaca de 96 poços com cerca de 60.000 células em cada poço. Em metade da placa (48) poços as células foram mantidas em contato com os extratos em diferentes concentrações e amostras virais (Doses infectantes). Os outros 48 poços mantidos como controle existiam somente células e extrato da planta. A microplaca foi para a estufa e após 72 horas adicionou-se o MTT e a placa incubada por um certo tempo até ocorrer a reação e logo em seguida foram adicionados 130 µL de DMSO para dissolver os cristais de Formazan.



Os extratos foram considerados ativos com um índice de inibição viral (IIV) acima de 1,5 em relação às Células Infectadas Tratadas (CIT) contra a destruição induzida pelo vírus nas Células Infectadas Não Tratadas (CINT) com os extratos. Embora esta atividade tenha demonstrado grande efeito nos testes acima aplicados, mesmo assim, não ficou bem claro qual das substâncias existentes no extrato vegetal tenha sido a responsável pelo efeito apresentado.

REFERÊNCIAS

HE, J. W. *et al.* Anti-inflammatory constituents isolated from the flowers of *Hosta plantaginea* via suppression of the NF- κ B signaling pathway in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. **RSC Advances**, 2023.

INGAWALE, D. K; MANDLIK, S. K. New insights Into the Novel Anti-inflammatory mode of Action of Glucocorticoides. **Immunopharmacol Immunotoxicol**, 42(2):59-73, 2020. DOI: 10.1080/08923973.2020.1728765.

INGAWALE, D. K.; MANDLIK, S. K.; PATEL, S. S. An Emphasis on the Molecular Mechanism of Anti-inflammatory Effects and Resistance to Glucocorticoids. **J Complement Integr Med.**, Mar;12(1):1-13, 2015. DOI: 10.1515/jcim-2014-0051.

NUNES, C. R. *et al.* Plants as Sources of Anti-inflammatory Agents. **Molecules**, 15;25(16):3726, 2020. DOI: 10.3390/molecules25163726.

OLIVEIRA, A. B. *et al.* Antiviral Activity of Plants Occurring in the State of Minas Gerais (Brazil): Parte III. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research** 3(4): 223-236, 2011. ISSN: 0975-7384. DOI: <https://doi.org/10.1590/SO102-695X2010005000035>. Disponível em: <http://jocpr.com/vol.3-iss4-2011/JCPR>. Acesso em: 10 jan. 2024.

REIS, A. C. C. *et al.* Antiviral activity and chemical characterization of *Cissus erosa* (Vitaceae) ethanol extracts. **Rodriguésia**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071052>.

RIBEIRO, V. P; *et al.* Brazilian Medicinal Plants With Corroborated Anti-inflammatory Activities: A Review. **Pharmaceutical Biology**, 56 (1): 253-268, 2018. DOI: 10.1080/13880209.2018.1454480.

RODRIGUES, J. G; LOMBARDI, J. A; LOVATO, M. B: Phylogeny of *Cissus* (Vitaceae) focusing on South American Species. **Taxon**, 63 (2), April 2014; p.287-298.

SILVA, A. F; RABELO, M. F. R; ENOQUE, M. M. Diversidade de Angiospermas e Espécies Medicinais de uma Área de Cerrado. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, Campinas, v.17, n.4. supl. III, p. 1016-1030, 2015. Doi.org/10.1590/1983-084X/14-115.



ULLAH, A. S.; MUNIR, S.; BADSHAL, S. L. Important flavonoids and their role with Therapeutic agents. **Molecules**, 25(22), 5243, 2020.

VINE, G. A. O. *et al.* Anti-inflammatory Activity of Gengen decoction and its Modulation Mechanism on NF- κ B and MAPK signaling Pathways. **Biol Pharm Bull**, 46 (5):647-654, 2023. DOI: 10.1248/bpb.b.22-00632.

Material recebido: 27 de novembro de 2023.

Material aprovado pelos pares: 09 de janeiro de 2024.

Material editado aprovado pelos autores: 18 de janeiro de 2024.

¹ Mestrado. ORCID: 0000-0003-4111-3215. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6035335019225914>.