

## ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO *CISSUS SICYOIDES* L. (VITACEAE)

Dani Luce Doro<sup>\*</sup>  
Greisiele Lorena Pessini<sup>\*</sup>  
Evandro José Vieira de Campos<sup>\*</sup>  
Celso Vataru Nakamura<sup>\*\*</sup>  
Lúcia Elaine Ranieri Cortez<sup>\*\*\*</sup>  
Diógenes Aparício Garcia Cortez<sup>\*\*\*\*</sup>

DORO, D.L.; PESSINI, G.L.; CAMPOS, E.J.V.; NAKAMURA, C.V.; CORTEZ, L.E.R.; CORTEZ, D.A.G. Estudo fitoquímico e avaliação antimicrobiana do *Cissus sicyoides* L. (vitaceae). *Arq. Ciênc. Saúde Unipar* 1 (1): 45-47, 1997.

**RESUMO:** O *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae) é um vegetal conhecido como insulina, é uma planta nativa do estado do Paraná (Brasil), as partes aéreas do *Cissus sicyoides* L. tem sido usado na medicina popular como hipoglicemiante. O extrato etanólico apresentou atividade antimicrobiana sobre o *Bacillus subtilis*. Do fruto foram isolados um alcalóide e um triterpenóide, por métodos de cromatografia de exclusão e adsorção e identificados por cromatografia de camada delgada.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cissus sicyoides*; Vitaceae; Antimicrobianos; Alcalóide.

### PHITOCHEMICAL STUDY AND ANTIMICROBIAL EVALUATION OF *CISSUS SICYOIDES* (VITACEAE)

DORO, D.L.; PESSINI, G.L.; CAMPOS, E.J.V.; NAKAMURA, C.V.; CORTEZ, L.E.R.; CORTEZ, D.A.G. Phitochemical study and antimicrobial evaluation of *Cissus sicyoides* L (vitaceae) *Arq. Ciênc. Saúde Unipar* 1 (1): 45-47, 1997.

**ABSTRACT:** *Cissus sicyoides* L (Vitaceae), commonly known as vegetable insulin, is a native plant from Paraná state (Brazil). The aerial parts of *Cissus sicyoides* L. have been used as a folk medicine with hypoglycemic properties. The antimicrobial property of the ethanolic extract of aerial parts over *Bacillus subtilis* was identified. From the fruits an alkaloid and a triterpene were isolated with exclusion and adsorption chromatography and identified with thin-layer chromatography.

**KEY WORDS:** *Cissus sicyoides*; Vitaceae; Antimicrobial; Alkaloid.

#### Introdução

O *Cissus sicyoides* uma trepadeira lenhosa, conhecido popularmente como cipó milagroso, uva-brava, anil-trepador, insulina, é uma planta nativa no Brasil, amplamente distribuída no estado do Paraná.

Na medicina popular, o chá da planta é utilizado como anti-inflamatório, antipirético, anti-hipertensivo e antitérmico. Além disso o *Cissus sicyoides* tem sido usado pela população com muita frequência para o tratamento de diabetes *mellitus* (DM), sendo conhecida popularmente como insulina.

Os seus frutos são utilizados pelos índios Coroados e outras tribos do Brasil Central para o tingimento de roupas, por causa dos seus pigmentos

azuis.

Dos pigmentos dos frutos do *C. sicyoides*, foram isolados antocianinas (TOLEDO *et al.*, 1983); do *C. rheifolia* foram isolados, alcalóides quinolizidínicos das folhas (SAIFAH *et al.*, 1983); das raízes uma mistura de esteróides, e flavonóides (SAIFAH & VASIROJ, 1984); do *C. quadrangularis* foram isolados triterpenóides da parte aérea do vegetal (BHUTANI *et al.*, 1984); do *C. pallida* foi isolado o pallidol que apresentou atividade antifúngica (KHAN *et al.*, 1986).

#### Material e Métodos

##### Material

Foram coletadas partes aéreas do *Cissus sicyoides*, na região de Maringá. Do material foi pre-

<sup>\*</sup> Aluno de iniciação científica do Dep. de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá

<sup>\*\*</sup> Docente do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá

<sup>\*\*\*</sup> Chefe do Departamento de Farmácia da Universidade Paranaense

<sup>\*\*\*\*</sup> Docente do Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá

parada uma exsicata, que após a identificação foi depositada no herbário da Universidade Estadual de Maringá.

## Métodos

### Obtenção dos Extratos Brutos

As folhas e caule foram secas em estufa de ar circulante e pulverizadas em moinho de martelo. Essas partes foram extraídas com etanol e concentrada em evaporador rotativo, até a eliminação do solvente orgânico, o extrato bruto foi liofilizado, e armazenado em freezer. Os frutos verdes coletados foram triturados com etanol, filtrados e concentrados em pressão reduzida, obtendo-se um extrato bruto que foi armazenado em freezer.

### Análise Cromatográfica dos Extratos Brutos

#### Sistema cromatográfico para alcalóides:

fase estacionária: placas de vidro 5X10 cm-0,2 mm, impregnadas com sílica gel GF<sub>254</sub> (MERCK) fase móvel: clorofórmio:metanol:dietilamina (50:9:1) visualização: luz ultravioleta 254 e 340 nm, nebulização com reativo de Dragendorff, após a secagem desta placa até a eliminação total do solvente foi pulverizada com etanol com 5% de ácido sulfúrico.

#### Sistema cromatográfico para triterpenos:

fase estacionária: Placas de vidro 5X10 cm-0,2 mm, impregnadas com sílica gel GF<sub>254</sub> (MERCK) fase móvel: hexano:acetato de etila (50:50) visualização: luz ultravioleta 254 e 340 nm, nebulização com reativo de anisaldeído sulfúrico e aquecimento a 105°C por 10 minutos.

### Atividade Antimicrobiana (RIOS *et al.*, 1988)

Para avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos brutos e frações semipurificadas foi utilizado o método de difusão em placa. As amostras foram solubilizadas em dimetil-sulfóxido (2mg/ml) e adicionadas em (100µl) cilindros de aço inoxidável (diâmetro externo 8mm, diâmetro interno 6mm e altura de 10 mm), junto com um controle. Esses discos foram colocados previamente na superfície do meio de Ágar Mueller Hinton semeado em placas separadas com uma suspensão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*. Após a incubação em estufa a 37° C o halo de inibição, foi medido.

### Isolamento dos constituintes químicos do fruto

O extrato bruto do fruto (3,2 g) foi diluído com metanol e água a 10%, e realizada uma partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescentes: hexano, CHCl<sub>3</sub> e AcOEt, obtendo-se 4 frações. As frações foram analisadas em cromatografia de camada delgada (CCD) com um sistema cromatográfico e triterpenos. A fração 4 (300 mg) com reação positiva para alcalóide foi cromatografada em coluna de Sephadex LH20, utilizando-se como fase móvel: MeOH/CHCl<sub>3</sub> (50:50), obtendo-se 40 frações (A). Essas frações foram analisadas novamente em CCD para alcalóides. A fração A.23 (51 mg) foi purificada em coluna de Sephadex LH20, utilizando-se metanol como fase móvel obtendo-se 30 frações (B). Após a análise destas frações em CCD, obteve-se o composto 1 (12 mg) pela reunião das frações B.24 a B.25. A fração A.14 (250 mg) foi separada em cromatografia de adsorção de coluna empacotada com sílica (70-230 mesh) utilizando 230 mesh como fase móvel: hexano:Hexano/CHCl<sub>3</sub> (98:2; 95:5; 90:10; 80:20; 50:50); CHCl<sub>3</sub>; CHCl<sub>3</sub>/AcOEt (98:2; 95:5; 90:10; 80:20; 50:50); AcOEt; MeOH. As frações obtidas foram analisadas por CCD com um sistema cromatográfico para triterpenos, obtendo-se o composto 2 (23 mg).

## Resultados

### Análise dos compostos puros (1 e 2) obtidos do fruto

Os compostos puros 1 e 2 foram identificados como alcalóide e triterpenóide, respectivamente, através da análise de CCD, utilizando-se como teste positivo para alcalóide a boldina e triterpenóide o ácido oleanólico e o β-sitosterol.

### Discussão e Conclusões

A determinação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico (ET) das folhas e caule do *Cissus sicyoide* e das frações obtidas do extrato metanólico do fruto (1-4) revelou uma atividade antimicrobiana sobre o *Bacillus subtilis* (Tabela 1). A análise em CCD de ET, e das frações 1-4 para o sistema cromatográfico para alcalóides evidenciaram a presença de alcalóides somente nos frutos, diferenciando dos dados encontrados pela literatura (SAIFAH *et al.*, 1983). A identificação de alcalóides pirrolizi-

dínicos neste vegetal é de suma importância, pois esta classe de compostos é considerada hepatotóxica. Um composto do tipo triterpenóide foi identificado no fruto, contribuindo com a quimios-sistemática da família vegetal Vitaceae. Pode-se evidenciar que atividade antimicrobiana do ET sobre *Staphylo-*

*coccus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans* não está relacionada com a presença dos alcalóides, pois não foram detectados a presença destes neste extrato.

	ET (100µl)	1 (100µl)	2 (100µl)	3 (100µl)	4 (100µl)	DMSO (100µl)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<i>Bacillus subtilis</i>	17 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

#### Referência Bibliográfica

- BHUTANI, K.K.; KAPOOR, R.; ATAL, C.K. Two unsymmetric tetracyclic triterpenoids from *Cissus quadrangularis*. **Rev. Phytochemistry**, **23** (2): 407-10, 1984.
- KHAN, M.A.; NABI, S.G.; PRAKASH, S.; ZAMAN, A.; Pallidol, a resveratrol dimer from *Cissus pallida*. **Rev. Phytochemistry**, **25** (8): 1945-48, 1986.
- RIOS, J.L.; RECIO, M.C.; VILLAR, A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. **J. Ethnopharmacol.**, 126-149, 1988.
- SAIFAH, E.; KELLEY, C. J.; LEARY, J.D. Constituents of the leaves of *Cissus Rheifolia*. **Revista Journal of Natural Products**, **46** (3): 353-8, 1983.
- SAIFAH, E.; VASIROJ, V. Constituents of the roots of *Cissus Rheifolia*. **Rev. Journal of Natural Products**, **50** (2): 328, 1987.
- TOLEDO, M.C.F.; REYES, F.G.R.; IADEROZA, M.; FRANCIS, F.J.; DRAETT, I.S. Anthocyanins from anil trepador (*Cissus sicyoides*, Linn.). **Revista Journal of Food Science**, **48**: 1368-9, 1983.