

Estudo de parâmetros bioquímicos em ratos sob ação de planta medicinal. [XI. *Chiococca alba* (L.) Hitchc]

Rodrigues, E.R.¹; Moreti, D.L..C.¹; Martins, C.H.G.^{1*}; Kasai, A.¹; Stoppa, M. A.¹; Alves, E.G.¹; Paz, K.¹; Lopes, R.A.^{2,3}; Sala, M.A.³; Petenusci, S.O.³

¹Faculdade de Biomedicina da Universidade de Franca; ²Faculdade de Odontologia da Universidade de Franca. Av. Dr. Armando Salles Oliveira, 201, Pq. Universitário, 14404-600, Franca-SP; ³Depto de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP. Av. do Café s/n, 14040-904, Ribeirão Preto, SP.

RESUMO: *Chiococca alba* (L.) Hitchc. (família *Rubiaceae*), comumente conhecida como cainca e cipó-cruz, nativa de quase todo o território brasileiro, é amplamente empregada na medicina popular por apresentar efeitos diurético, purgativo, antiinflamatório e contra reumatismo. Seus principais constituintes fitoquímicos são glicosídeos cardiotônicos, saponinas, taninos, flavonóides, alcalóides e um triterpeno. Poucos estudos existem a respeito da toxicidade desta planta, e dentre eles a indicação da toxicidade da raiz, se ingerida em grande quantidade. O objetivo deste trabalho foi estudar parâmetros bioquímicos do soro de ratos sob a ação de doses elevadas do cipó-cruz, como parte dos estudos pré-clínicos de doses repetidas para o desenvolvimento da planta como fitoterápico. Foram utilizados dez ratos da linhagem Wistar. O grupo tratado recebeu a infusão de raiz de cipó-cruz (33,2 g/L de água), *ad libitum*, durante 7 dias, enquanto que o grupo controle recebeu água ao invés do infuso. O sangue dos ratos foi colhido por punção cardíaca e o soro separado. Foram avaliados os seguintes parâmetros: glicose, uréia, creatinina, ácido úrico, colesterol total, triglicérides, aspartato-aminotransferase, alanina-aminotransferase, gama-glutamyltransferase, proteínas totais, albumina, amilase, cálcio, fósforo e ferro. Os resultados foram avaliados estatisticamente através do teste de Mann-Whitney. Foram estatisticamente significativas as diferenças entre os grupos tratado e controle observadas nos parâmetros amilase, triglicérides e colesterol total. Nas condições do presente trabalho foi possível observar valores aumentados para triglicérides no grupo tratado frente ao grupo controle, respectivamente, $67 \pm 9\text{mg/dL}$ e $54 \pm 6\text{mg/dL}$. O parâmetro amilase sérica também exibiu o mesmo perfil, com $831 \pm 342\text{U/L}$ no grupo controle e $1137 \pm 81\text{U/L}$ no grupo tratado. Por outro lado, encontramos valores diminuídos para o colesterol total no grupo tratado em relação ao controle, respectivamente, $70 \pm 27\text{mg/dL}$ e $107 \pm 20\text{mg/dL}$. Os demais parâmetros mostraram resultados semelhantes entre animais controles e tratados com cipó-cruz.

Palavras-chave: *Chiococca alba*, parâmetros bioquímicos, toxicidade, rato

ABSTRACT: Study of biochemical parameters in rats treated with medicinal plant. [XI. *Chiococca alba* (L.) Hitchc]. *Chiococca alba* (L.) Hitchc (family *Rubiaceae*) (snowberry, snakeroot), widely distributed in brazilian territory, was been employed in popular medicine for present diuretic, purgative, anti-inflammatory and anti-rheumatic effects. Its main phytochemical constituents are cardiac glycosides, saponins, tannins, flavonoids, alkaloids and a triterpene. Few studies exist regarding the toxicity of this plant, and amongst them the indication of the toxicity of the root if ingested in great amount. The aim of this work was to evaluated serum biochemical parameters of rats under the action of high doses of the snowberry, as part of the preclinical studies of repeated doses for the development of the plant as phytotherapeutic medicine. Ten Wistar rats had been used. The treated group received the infusion prepared from roots of the plant (33.2g/L water), *ad libitum*, for 7 days, while the control group received water instead of infusion. The blood was collected by cardiac puncture and the serum separated. The following parameters had been evaluated: total cholesterol, triglycerides, uric acid, urea, creatinine, aspartate-aminotransferase, alanine-aminotransferase, gama-glutamyltransferase, total protein, albumin, serum amylase, calcium, phosphorus and iron. The results had been evaluated statistically by Mann-Whitney test. The treated and control group showed statistically significant differences ($p < 0,05$) to amylase, triglycerides and total cholesterol. The treated group showed concentration of triglycerides higher than control group, respectively, $67 \pm 9\text{mg/dL}$ and $54 \pm 6\text{mg/dL}$. The serum amylase of treated group was higher than control group, respectively, $1137 \pm 81\text{U/L}$ and $831 \pm 342\text{U/L}$. On the other hand, the concentration of total cholesterol for treated group was lower than control, respectively, $70 \pm 27\text{mg/dL}$ and $107 \pm 20\text{mg/dL}$. Other parameters showed similar results in both animal groups studied.

Key words: *Chiococca alba*, biochemical parameters, toxicity, rat

INTRODUÇÃO

Chiococca alba (L.) Hitchc. (família *Rubiaceae*), comumente conhecida como cipó-cruz, cainca, cainama, caninana, casinga, cruzeirinha,

dambê, poaia, purga-preta, cipó-cruz-verdadeiro, raiz-preta, raiz-de-quina, raiz-fedorenta, etc, é um arbusto perene, ereto, muito ramificada, de cerca de 1,5 m de altura. Suas folhas são simples, opostas, cartáceas glabras em ambas as faces. As flores são perfuradas, de cor branca, com duas sementes (Lorenzi & Matos, 2002). É nativa de quase todo o território brasileiro, em várias formações vegetais. A cainca foi encontrada

Recebido para publicação em 01/02/2004.
Aceito para publicação em 31/10/2006.

em 1777 no Peru por Pavon e Ruiz (Cruz, 1932) sendo denominada *Chiococca brachiata* Ruiz et Pavon, hoje considerada sinônimo de *C. alba* (L.) Hitchc. Também são consideradas sinônimas a *Chiococca anguifuga* Mart., *Chiococca parviflora* Willd., *Chiococca racemosa* H.B.K (Cruz, 1932; Costa, 1932), *Chiococca brachiota* var. *grandifolia* Mull. Arg., *Chiococca filipes* Lundell, *Chiococca macrocarpa* M. Martens & Galeotti, *Chiococca trisperma* Hook.f. e *Lonicera Alba* L. (Lorenzi & Matos, 2002).

A casca da raiz do cipó-cruz, sob a forma de chá fervido, é empregada como diurética, purgativa, hidragoga, emenagoga, febrífuga, antiasmática e, anti-hidrópica (Alzugaray & Alzugaray, 1996; Mors *et al.* 2000). É utilizada no tratamento de hidropsia, albuminúria, anasarca, dor na uretra, além de desejo constante de urinar (Alzugaray & Alzugaray, 1996); contra mordedura de cobra, darto e linfatismo (Mors *et al.* 2000).

As flores ou raízes fervidas, sob a forma de chá depurativo, mostrou-se eficaz como purgativo violento e diurético (Schultes & Raffaut, 1990) e os frutos eram purgativos quando preparado sob forma de suco por decocção. A raiz por decocção é empregada contra albuminúria, angina, anúria, blenorragia, bronquite, hidrofobia, laringite, mordedura de animais venenosos, prisão de ventre, reumatismo e sífilis (Balbachas, 1956). Além disso, a planta apresentou atividade anti-inflamatória e analgésica (Ribeiro *et al.*, 1988; Aucelio & Ribeiro, 1988; Ruppelt *et al.*, 1991).

Na península de Yucatã, o cipó-cruz é comumente conhecida como "t'unché" ou "Kanchakché" e, além das propriedades acima referida, é utilizada na medicina popular Yacatecã como catártico e no tratamento da disenteria, asma, dores de cabeça e nas infecções de pele (Borges-Argaéz *et al.*, 2001).

Seus principais constituintes são: glicosídeos cardiotônicos, saponinas, taninos e flavonóides, além de alcalóides e um triterpeno (Lorenzi & Matos, 2002).

A raiz da planta é considerada tóxica se o preparado for ingerido em grande quantidade (Simões *et al.*, 1998), sendo, pois, objetivo do presente trabalho avaliar alguns parâmetros bioquímicos séricos de rato sob ação de doses elevadas do cipó-cruz, como parte dos estudos pré-clínicos de doses repetidas para o desenvolvimento da planta como fitoterápico.

MATERIAL E MÉTODO

Material vegetal

Foi utilizada a raiz triturada de cipó-cruz, preparada na forma de infuso (33,2g de raiz / litro de água).

Animais, grupos e tratamento

Foram utilizados 5 ratos Wistar machos, pesando em média 115g, que receberam no bebedouro a infusão preparada da raiz triturada, *ad libitum*, durante 7 dias. Os animais controles, também 5 animais, receberam água ao invés do infuso. Este trabalho recebeu parecer favorável pela Comissão de

Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de São Paulo – Campus de Ribeirão Preto em 03 de junho de 2003 (Protocolo nº 03.1.449.53.3).

Material biológico e parâmetros avaliados

O sangue foi colhido por punção cardíaca e o soro separado. Todas as determinações bioquímicas foram realizadas em aparelho automatizado de alto desempenho, com metodologias analíticas de uso consolidado nas análises clínicas, através de kits reagentes de marcas tradicionais no mercado brasileiro. Foram avaliados os seguintes parâmetros séricos: glicose, pelo método da glicose-oxidase/peroxidase (Trinder, 1969); colesterol total, pelo método da colesterol-oxidase/peroxidase (Allain *et al.*, 1974); triglicérides, pelo método da lipase/glicerol-oxidase/peroxidase (Mcgowan *et al.*, 1983); ácido úrico, pelo método da uricase/peroxidase (Fossati *et al.*, 1980); uréia, pelo método UV/cinético acoplado (Hallet & Cook, 1971); creatinina, pelo método cinético baseado na reação de Jaffé modif. (Bartels & Bohmer, 1973); aspartato-aminotransferase e alanina-aminotransferase, pelo método cinético otimizado segundo a IFCC (Bergmeyer *et al.*, 1986a,b); gama-glutamilttransferase, pelo método cinético/enzimático (Shaw *et al.*, 1983); proteínas totais, pelo método do biureto (Gornal *et al.*, 1949); albumina, pelo método do VBC (Doumas *et al.*, 1971); amilase, pelo método cinético otimizado segundo a IFCC (Lorentz, 1998); cálcio, pelo método do arsenazo (Bauer, 1981); fósforo, pelo método do molibdato (Tausky & Shorr, 1953) e ferro, segundo método da ferrozime (Itano, 1978).

Análise dos resultados

O confronto estatístico foi realizado utilizando-se o teste não-paramétrico para amostras independentes, teste U de Mann-Whitney (Siegel, 1975).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Em função dos controles, foi possível observar nos animais tratados valores aumentados para triglicérides (54 ± 6 e 67 ± 9 mg/dL, para os controles e tratados, respectivamente) e amilase (831 ± 342 e 1137 ± 81 U/L) e diminuído para colesterol total (107 ± 20 e 70 ± 27 mg/dL). Os demais parâmetros mostraram resultados semelhantes nos animais controles e tratados, como demonstra a Tabela 1.

A presença do alcalóide emetina encontrada na raiz, que é de elevada toxicidade, é mencionada por alguns autores (Costa, 1932; Cruz, 1932; Roig Y Mesa, 1945; Simões *et al.*, 1998). Nas raízes foi detectada a presença de salicinato de metila (Simões *et al.*, 1998). Relatos clínicos do século XIX, descreveram como efeitos indesejáveis o mal-estar, salivagem, náuseas, vômitos, fortes cólicas, poliúria, sudorese e evacuações abundantes (Castro, 1978). Testes em animais mostraram atividades anti-inflamatórias significativa, após o emprego do extrato alcoólico das raízes, mas também elevada toxicidade

TABELA 1. Parâmetros bioquímicos médios \pm desvio-padrão do soro de ratos controles e tratados com infusão de cipó-cruz *Chiococca alba* (L.) Hitchc.

Parâmetros	Controle	Tratado
Glicose (mg/dL)	116,0 \pm 6,5	114,0 \pm 17,0
Colesterol Total (mg/dL)	107,0 \pm 20,0	70,0 \pm 27,0*
Triglicérides (mg/dL)	54,0 \pm 6,0	67,0 \pm 9,0*
Ácido úrico (mg/dL)	1,4 \pm 0,3	1,2 \pm 0,2
Uréia (mg/dL)	59,0 \pm 8,0	61,0 \pm 5,0
Creatinina (mg/dL)	0,5 \pm 0,1	0,4 \pm 0,0
Aspartato-aminotransferase (U/L)	178,0 \pm 65,0	117,0 \pm 19,0
Alanina-aminotransferase (U/L)	77,0 \pm 16,0	66,0 \pm 8,0
Gama-glutamilttransferase (U/L)	0,4 \pm 0,8	0,4 \pm 0,9
Proteínas Totais (g/dL)	5,8 \pm 0,3	5,6 \pm 0,3
Albumina (g/dL)	3,2 \pm 0,2	3,2 \pm 0,1
Amilase (U/L)	831,0 \pm 342,0	1137,0 \pm 81,0*
Cálcio (mg/dL)	8,6 \pm 0,9	8,1 \pm 0,6
Fósforo (mg/dL)	8,6 \pm 0,9	8,2 \pm 0,5
Ferro (μ g/dL)	270,0 \pm 53,0	339,0 \pm 110,0

(*) $p < 0,05$

(Simões *et al.*, 1998). Os valores alterados observados para os parâmetros colesterol total e triglicérides indicam interferência do infuso do cipó-cruz no metabolismo ou transporte lipídico, sendo mecanismos possíveis uma mudança na composição das lipoproteínas, alteração na captação da LDL, alteração na razão de produção hepática de HDL/VLDL ou por alteração na conversão VLDL/LDL. Quanto à alteração de amilase sérica, o quadro sugere uma pancreatite ou uma congestão das glândulas salivares. Novos estudos deveriam dar ênfase a este possível efeito adverso, verificando outros parâmetros pancreáticos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que nas condições do presente trabalho, o cipó-cruz provocou nos ratos um aumento sérico de triglicérides e amilase, além de diminuição do colesterol. A raiz da planta é considerada tóxica se o preparado for ingerido em grande quantidade, necessitando que sejam continuados os estudos toxicológicos pré-clínicos, principalmente no que se refere a possíveis efeitos adversos hepáticos, cardíacos e pancreáticos. Diante da falta de dados toxicológicos mais completos o uso dessa planta deveria ser evitado.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Universidade de Franca pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALLAIN, C.C.; POON, L.S.; CHAN, C.S.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v.20, n.4, p.470-475, 1974.
- ALZUGARAY, D.; ALZUGARAY, C. **Plantas que Curam**. São Paulo: Editora Três, 2 vol., 1996. 438p.
- AUCELIO, J.G.; RIBEIRO, Y.E.G. Atividade farmacológica do extrato bruto de *Chiococca Alba* frente as ações da *Prostaglandina F₂-alfa*, bradicinina e acetilcolina em útero de rata: In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. X, São Paulo, 1988. **Anais**. São Paulo, 1988, p.3/7.
- BALBACHS, A. **As Plantas Curam**. 4 ed. São Paulo: Editora Missionária "A Verdade Presente", 1956. 422p.
- BARTELS, H.; BOHMER, M. A kinetic method for measurement of creatinine in serum. **Medicine Laboratory**, v.26, n.9, p.209-215, 1973.
- BAUER, P.J. Affinity and stoichiometry of calcium binding by arsenazo III. **Anal Biochemistry**, v.110, n.1, p.61-72, 1981.
- BERGMEYER, H.U.; HORDER, M.; REJ, R. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase

(L-aspartate: 2-oxoglutarateaminotransferase, EC2.6.1.1). **Journal Clinical Chemistry Clinical Biochemistry**, v.24, n.7, p.497-510, 1986a.

BERGMEYER, H.U.; HORDER, M.; REJ, R. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). **Journal Clinical Chemistry Clinical Biochemistry**, v.24, n.7, p.481-495, 1986b.

BORGES – ARGÁEZ, R.; MEDINA – BAIZABA'L.; MAY – PAT, I.; WATERMAN, P.G.; PEÑA – RODRIGUEZ, L.M. Merilactone, an unusual C₁₉ metabolite from the root extract of *Chiococca alba*. **Journal of Natural Products**, v.64, n. 2, p. 228-231, 2001.

CASTRO, J.M. **Purgativos Indígenos do Brasil**. 1978. 115p. Tese - Faculdade de Medicina, Rio de Janeiro.

COSTA, O.A. Estudo farmacognóstico da cainca. **Revista Brasileira de Medicina e Farmacia**, v.8, n. 2, p. 124-129, 1932.

CRUZ, J. Cainca. Estudo botânico, farmacognostico e chimico. **Boletim do Museu Nacional**, v.8, p.97 – 116, 1932.

DOUMAS, B.T.; WATSON, W.A.; BIGGS, H.G. Albumin standard and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clinical Chimics Acta**, v.31, p.87-96, 1971.

FOSSATI, P.; PRENCIPE, L.; BERTI, G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. **Clinical Chemistry**, v.26, n.2, p.227-231, 1980.

GORNAL, A.G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, .1977, p.751-766, 1949.

HALLETT, C.J.; COOK, J.G. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. **Clinical Chimics Acta**, v.35, n.1, p.33-37, 1971.

ITANO, M. CAP Comprehensive Chemistry: serum iron survey. **American Journal Clinical Pathologic**, v.70, n.3(suppl), p. 516-522, 1978.

LORENTZ, K.. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for alpha-amylase (1,4-alpha-D-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory