



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

**CARACTERÍSTICAS FITOQUÍMICAS E BIOLÓGICAS DE *Cissampelos*  
*sympodialis* EICHLER (MENISPERMACEAE) – UMA REVISÃO  
BIBLIOGRÁFICA**

**JOÃO PESSOA – PB**

**Junho – 2021**

**JOÃO BATISTA DE OLIVEIRA**

**CARACTERÍSTICAS FITOQUÍMICAS E BIOLÓGICAS DE  
*Cissampelos sympodialis* EICHLER (MENISPERMACEAE) – UMA  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso de  
Graduação em Farmácia, do Centro de  
Ciências da Saúde, da Universidade  
Federal da Paraíba, como parte dos  
requisitos para obtenção do grau de  
Bacharel em Farmácia.

**Orientadora:** Dra. Márcia Regina Piuvezam

**Coorientador:** Dr. Gabriel Rodrigues Martins de Freitas

**JOÃO PESSOA – PB**

**Junho, 2021**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

048c Oliveira, Joao Batista de.  
Características fitoquímicas e biológicas de  
*Cissampelos sympodialis* Eichler (Menispermaceae) - uma  
revisão bibliográfica / Joao Batista de Oliveira. -  
João Pessoa, 2021.  
137 f. : il.

Orientação: Márcia Regina Piuvezam.  
Coorientação: Gabriel Rodrigues Martins de Freitas.  
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Planta medicinal. 2. Doenças respiratórias. 3.  
Alergia. 4. Fitoterapia. I. Piuvezam, Márcia Regina.  
II. Freitas, Gabriel Rodrigues Martins de. III. Título.

UFPB/CCS

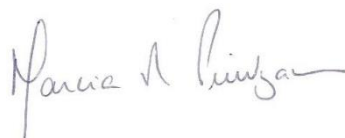
CDU 633.88

**JOÃO BATISTA DE OLIVEIRA**

**CARACTERÍSTICAS FITOQUÍMICAS E BIOLÓGICAS DE  
*Cissampelos sympodialis* EICHLER (MENISPERMACEAE) – UMA  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso de  
Graduação em Farmácia, do Centro de  
Ciências da Saúde, da Universidade  
Federal da Paraíba, como parte dos  
requisitos para obtenção do grau de  
Bacharel em Farmácia.

Aprovado em 01 de julho de 2021.



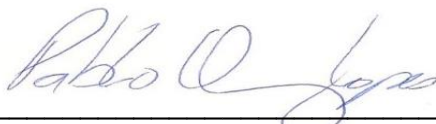
---

Orientadora - Dra. Márcia Regina Piuvezam  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB



---

Coorientador - Dr. Gabriel Rodrigues Martins de Freitas  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB



---

Examinador I - Dr. Pablo Queiroz Lopes  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB



---

Examinador II – Mestra - Larissa Rodrigues Bernardo  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

**OLIVEIRA, J. B. Características fitoquímicas e biológicas de *Cissampelos sympodialis* Eichler (Menispermaceae) – uma revisão bibliográfica. Trabalho de Conclusão de Curso. Coordenação do Curso de Farmácia, CCS/UFPB, 2021.**

**RESUMO**

A espécie *Cissampelos sympodialis* Eichler, popularmente conhecida como “milona”, “jarrinha” e “orelha-de-onça”, a planta é há décadas utilizada pela população paraibana para o tratamento de desordens inflamatórias, principalmente as que acometem as vias respiratórias, com destaque para sua ação eficaz no tratamento da asma alérgica. Sua atividade terapêutica foi respaldada por diversos estudos conduzidos por cerca de trinta anos. *C. sympodialis* ainda não é encontrada nos compêndios oficiais de fitoterapia no Brasil, e também não há um medicamento desenvolvido com a planta ou seus derivados. Diante disso, considerando a importância etnobotânica que *C. sympodialis* apresenta, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica acerca das características fitoquímicas e farmacológicas já descritas para a espécie. Para tanto, foram utilizadas as bases de dados *Web of Science*, *Scopus*, *Science Direct*, *Pubmed*, *Scielo* e *Lilacs*, utilizando o descritor *Cissampelos sympodialis*. A busca realizada gerou o quantitativo de 254 registros, os quais foram triados, e passaram pelas fases de elegibilidade e inclusão, sendo eleitos 60 artigos científicos para construção desse trabalho. Os resultados mostram que a espécie apresenta uma riqueza de componentes alcaloídicos, com 10 moléculas já caracterizadas, destacando-se o alcaloide Warifteína, considerado marcador biológico da espécie. Somado a isso, inúmeras atividades biológicas foram descritas, na qual as atividades anti-inflamatória e antialérgica já são bem caracterizadas, respaldando sua utilização pela população para doenças respiratórias como rinite e asma alérgicas. Mesmo com alto potencial terapêutico, a espécie ainda é pouco conhecida pela população paraibana, havendo uma necessidade de difusão do conhecimento sobre a planta, instituída como vegetal símbolo do estado da Paraíba. Pensando nisso, desenvolvemos um folheto informativo para que possa ser cedido aos órgãos públicos de saúde para distribuição em unidades de atenção primária, como forma de contribuir para conhecimento popular das vantagens de sua utilização. Criamos ainda, uma frente de divulgação da espécie junto com parceiros institucionais para divulgação da espécie através das redes sociais, ampliando o alcance ao público. Com bases nos achados deste trabalho, consideramos então que a *C. sympodialis* é uma espécie promissora para o desenvolvimento de um novo medicamento, e que o fortalecimento de estratégias que contribuam para seu conhecimento pode fortalecer a fitoterapia local e o cuidado integral na saúde de diversos indivíduos.

**Palavras-chave:** Planta medicinal; doenças respiratórias; alergia; fitoterapia.

**OLIVEIRA, J. B. Phytochemical and biological characteristics of *Cissampelos sympodialis* Eichler (Menispermaceae) – a literature review. Trabalho de Conclusão de Curso. Coordenação do Curso de Farmácia, CCS/UFPB, 2021.**

## **ABSTRACT**

The species *Cissampelos sympodialis* Eichler, popularly known as "milona", "jariinha" and "orelha-de-onça", the plant has been used for decades by the population of Paraíba for the treatment of inflammatory disorders, especially those that affect the airways, with highlight for its effective action in the treatment of allergic asthma. Its therapeutic activity was supported by several studies carried out for nearly thirty years. *C. sympodialis* is not yet found in official herbal medicine compendiums in Brazil, and there is no drug developed with the plant or its derivatives. For this purpose, the databases Web of Science, Scopus, Science Direct, Pubmed, Scielo and Lilacs were used, using the descriptor *Cissampelos sympodialis*. The search performed generated a quantitative 254 records, which were screened, and went through the eligibility and inclusion phases, with 60 scientific articles being chosen for the construction of this work. The results show that the species has a richness of alkaloid components, with 10 molecules already characterized, highlighting the alkaloid Warifteína, considered a biological marker of the species. Added to this, numerous biological activities have been described, in which the anti-inflammatory and anti-allergic activities are already well characterized, supporting its use by the population for respiratory diseases such as allergic rhinitis and asthma. Even with high therapeutic potential, the species is still little known by the population of Paraíba, with a need to spread knowledge about the plant, established as a symbol plant of the state of Paraíba. With this in mind, we developed an information leaflet so that it can be transferred to public health agencies for distribution in primary care units, as a way to contribute to popular knowledge of the advantages of its use. We also created a front for the dissemination of the species together with institutional partners for the dissemination of the species through social networks, expanding its reach to the public. Based on the findings of this work, we therefore consider that *C. sympodialis* is a promising species for the development of a new drug, and that the strengthening of strategies that contribute to its knowledge can strengthen local herbal medicine and comprehensive health care for several individuals.

**Keywords:** Medicinal plant; respiratory diseases; allergy; phytotherapy.

## AGRADECIMENTOS

Eu sonhei a graduação inteira com o momento que estaria aqui escrevendo os agradecimentos para o meu trabalho de conclusão de curso. Eu consegui! Sem dúvidas, inúmeros foram os momentos que pensei que não conseguiria chegar até aqui, mas muitos me deram o suporte que precisei.

Preciso começar agradecendo a Deus, foi ele que me foi base quando tudo que eu construí começou a desmoronar. Seu amor fraterno e eterno foi o combustível que mais precisei para chegar onde estou chegando. Também preciso agradecer logo de início a Santíssima Virgem Maria, minha mãe, protetora, intercessora, amiga e companheira. Foi resguardado em seu véu, no aconchego do seu colo, que pude ter coragem para caminhar e seguir meu caminho.

Agradeço aos meus pais, Antônio Ribeiro de Oliveira Neto, conhecido como Seu Totô Barbeiro, e Maria de Fátima da Cruz, a Fátima de Dona Nair, por nunca terem desistido de mim. Obrigado por terem feito o possível e o impossível para que eu pudesse seguir nos meus estudos. Nunca foi fácil, ainda não será, mas farei o possível para recompensar cada dia que meu pai passou na barbearia para trazer o sustento para casa, nunca deixando faltar nada para minha mãe, meus irmãos e eu. À minha mãe, nem todo esforço do mundo seria suficiente para agradecer o tão quanto ela fez e faz por mim. Amo vocês e serei eternamente grato.

Aos meus irmãos Adriana, Conceição, Erivano, Flávio, João Paulo, Luiza, Pedro e Tiago, por me apoiarem e torcerem por mim. Mesmo de longe, guardo-os em meu coração.

À minha Vó Dona Nair, uma das maiores incentivadoras que tenho. Não apenas torce por mim, como confia em mim como farmacêutico. Toda gratidão!

Aos meus tios maternos, em especial à Diaciza e Erneudo, Dora, Francisca e Elias, Genival e Joana, Geraldo e Gorete, Rosa e Cícero, Socorro e Geraldo, e aos demais que também torcem, apoiam e acreditam em mim. Obrigado pelos almoços, trocados (\$), abraços, conversas e todas as formas que cada um, do seu jeitinho, buscou em me dar algum suporte.

Aos meus tios paternos, em especial à minha Tia Lúcia e à minha Tia Mariza, que aqui em João Pessoa sempre se dispuseram a me ajudar e me acolher quando precisei. Aproveito e agradeço aos meus primos André, Rafaely e Tiago, Raquel e Rodrigo e Poliany, por serem sempre tão receptivos e acolhedores! Obrigado por serem família (mesmo eu sumindo vez por outra...)!

Às minhas amigas Para a vida toda: Antonielle, Fabyelle, Jheniffer e Mayslla. Que o elo que construímos na infância permaneça sempre forte. Vocês são luz de Deus na minha vida, e serei sempre grato por poder compartilhar da amizade e companheirismo de cada uma de vocês.

Ao meu grande e especial amigo Lucas Gomes, pela cumplicidade, parceria, cordialidade e paciência de sempre. Obrigado pelas aventuras e boas risadas (obrigado pelo secador de cabelo e por andar comigo de moto quando estou em Ipaumirim). De longe, estou também sempre torcendo por você!

Aos farmacêuticos de uma das melhores turmas que a UFPB já viu, os FarMaravis 2016.1. Obrigado por compartilhar de cada passo que demos juntos até aqui nos apoiando e que, mesmo com algumas adversidades, tentando deixar os dias mais leves para que o tão sonhado diploma chegue com tranquilidade (que não tem). Cada um sabe do lugar que ocupam em minha vida e sou grato a Deus por isso.

À Euripedes Neto, Emille Wannick e Rickia Cavalcante. Pela parceria de luta, atenção e paciência comigo.

Aos meus irmãos do EJC, os Laramados, em especial aos meus mais que chegados: Ádylla, Aline, Gilvan e Luanne. Agradeço a Deus por terem colocado vocês no meu caminho, tornando os meus dias mais leves, mais alegres, com muito mais histórias e risadas. Sou muito grato a Deus por vocês.

À Davi, um irmão que a vida me deu. Obrigado por ser paciente, compreensivo, amigo e tão especial. Mais que um parceiro para dividir o aluguel, você é um cúmplice de muitas aventuras. Nunca desista dos seus sonhos e nunca duvide do seu potencial. Você é grande e vai muito longe! Obrigado por tanto!

À Francisco agradeço pela cumplicidade, carinho, paciência, cuidado e amor compartilhado. Nesse último ano, tão cheio de adversidades, você foi um suporte para que eu pudesse estar aqui hoje. Você sabe tudo o que tenho para lhe dizer. Obrigado por tanto!

À minha orientadora neste trabalho, Dra. Márcia Regina Piuvezam. Obrigado por tanto, professora. Mais que uma orientadora, você é um exemplo de honestidade, seriedade, ética e amor ao que faz. Não posso descrever o tão quanto já aprendi com seus ensinamentos nesses 4 anos enquanto seu orientando. Saiba que és uma referência ímpar para cada um de nós que temos a honra de compartilhar conhecimento e fazer ciência com a senhora. Minha eterna gratidão por ter me aceitado enquanto orientando e ter me capacitado tanto. Continuemos!

Ao meu co-orientador neste trabalho, Dr. Gabriel Freitas. Obrigado por ter topado o desafio, e mais ainda, por não ter desistido mesmo com as mudanças que foram necessárias. Você é uma referência de profissional e sou muito feliz de ter sido seu aluno e aprendido tanto.

Agradeço à minha banca avaliadora: Larissa Rodrigues, Pablo Queiroz, Rayanne Silva e Walleri Reis. Obrigado por terem aceitado o convite e por contribuírem para o aprimoramento deste trabalho.

Aos professores que são exemplos de profissionais para mim: Bagnólia, Celidarque, Fábio, Felipe, Giciane, Isabele, José Barbosa, Leônia, Marianna, Pedro

Cruz, Priscilla, Silvana, Temilce, Vianney e Walleri. Obrigado por serem referência para o profissional que quero ser. Trago grandes aprendizados de vocês comigo.

Aos mestres que me orientaram durante a graduação. Aqui agradeço a Pedro Cruz e Priscilla Anne. Obrigado terem me ensinado tanto, me acompanhado tanto e por plantarem sementes de conhecimento e empatia em mim. Sou grato.

Abro um espaço especial para agradecer à Pablo, por sempre ter sido tão solícito, por resolver problemas que não são dele e, principalmente, por ser exemplo de ética, de profissional e de professor. Sou grato por cada vez que pude contar com você.

À uma professora incrível, que de orientadora tornou-se uma amiga: Fabíola Carneiro. Obrigado por ter sido tão compreensiva, solícita e empática comigo. Obrigado por ter confiado em mim para ser seu monitor. Obrigado pela parceria construída durante esse último ano trabalhando juntos. Obrigado pelas ligações necessárias, seja para um desabafo ou uma boa risada. Saiba que mesmo querendo, você não passa despercebida em lugar nenhum, porque és um ser luz que leva alegria por onde passa. Gratidão!

Aos meus companheiros de trabalho do Laboratório de Imunofarmacologia – LIMFA: Alisson, Larissa Adilis, Raquel e Rita. Destaco Laércia e Larissa Rodrigues, por toda compreensão, paciência e disponibilidade para me aperfeiçoar enquanto aluno apaixonado pela imunologia. Não posso esquecer de Hianka e Tamires, por terem sido tão parceiras e deixarem os dias mais leves para o trabalho. Obrigado, pessoal.

Agradeço a Cosmo e a Louise, meus amigos e parceiros de luta nesse caminho da iniciação científica. Obrigado pelo suporte, pela amizade, pelo companheirismo e por compartilharem das loucuras que todo caminho nos proporcionou, das noites mal dormidas às crises de ansiedade, do experimento que deu certo à cervejinha depois do ENIC. Obrigado!

Também não posso deixar de agradecer a cada um que foi meu cliente no PHot Dog do Maravis, e assim contribuiu para minha permanência em João Pessoa.

Por fim, agradeço à Universidade Federal da Paraíba, por ter me acolhido, me dado oportunidades únicas e por ter me capacitado para ser um farmacêutico de excelência. Farei o possível para honrar esse diploma.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** *C. sympodialis* cultivada no canteiro de plantas medicinais da UFPB

**Figura 2:** Histórico das pesquisas com *C. sympodialis*

**Figura 3:** Fases do desenvolvimento de um medicamento

**Figura 4:** Fluxograma do processo de seleção dos registros

**Figura 5:** Evolução do processo metodológico diante dos registros encontrados

**Figura 6:** Morfologia frontal e posterior das folhas de *C. sympodialis*

**Figura 7:** Estruturas moleculares dos alcaloides isolados de *C. sympodialis*

**Figura 8:** Estudos toxicológicos realizados com *C. sympodialis*

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Diferenças entre os fitoterápicos abordados na RDC Nº 26/2014

**Tabela 2:** Estudos sobre os parâmetros farmacobotânicos e fitoquímicos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 3:** Estudos sobre os ensaios toxicológicos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 4:** Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre a atividade espasmolítica realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 5:** Estudos sobre os efeitos antiasmáticos, anti-inflamatórios e antialérgicos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 6:** Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre o Sistema Nervoso realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 7:** Estudos sobre os ensaios farmacológicos cardiovasculares realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 8:** Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre o Trato Gastrointestinal realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 9:** Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre microrganismos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

**Tabela 10:** Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre o diabetes e osteoartrose experimental com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados

## LISTA DE ABREVIATURAS

‰: Percentual

AB: Atenção Básica

ADMET: Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade

AFL-1: Fração aquosa do extrato etanólico das folhas

AFL-2: Fração aquosa do extrato etanólico das folhas

AFL-3: Fração aquosa do extrato etanólico das folhas

AFR: Fração aquosa do extrato hidroalcoólico das raízes

AHR: Hiperreatividade das vias aéreas

AINEs: Anti-inflamatórios não esteroidais

ALT: Alanina aminotransferase

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST: Aspartato aminotransferase

ATP: Trifosfato de adenosina

BACE: Proteína precursora beta amiloide

BAL: Lavado broncoalveolar

BVS: Biblioteca Virtual de Saúde

Ca<sup>2+</sup>: Íon cálcio

cAMP: Monofosfato cíclico de adenosina

CARAS: Síndrome da Asma e Rinite Alérgicas Combinadas

Ceme: Central de Medicamentos

cGMP: Monofosfato cíclico de guanosina

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CIP: Citocromo P

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Con-A: Concanavalina-A

CYP: Citocromo P

CysLTs: Leucotrienos cisteínicos

DENV: Vírus da dengue

Dr.: Doutor

Dra.: Doutora

DSC: Calorimetria exploratória diferencial

EBF: extrato bruto das folhas

EBR: Extrato bruto das raízes

ERK: Cinase regulada por sinal extracelular

FAT: Fração de alcaloides totais

FAT-f: Fração dos alcaloides totais das folhas

FAT-r: Fração dos alcaloides totais das raízes

FATT: Fração de alcaloides totais terciários

F-CsEHA: Extrato hidroalcoólico das folhas

F-CsEP: Extrato Polares das Folhas

F-CsEtOH: Extrato etanólico das folhas

FOL: Folhas

g: Grama

GMP: Monofostato de guanosina

IC50: Concentração Inibitória 50

IES: Instituição de Ensino Superior

IgE: Imunoglobulina E

IL: Interleucina

INF- $\gamma$ : Interferon gama

K<sup>+</sup>: Íon potássio

KATP: Canal de potássio sensível a ATP

KCl: Cloreto de potássio

kg: Quilograma

LAFITO: Liga acadêmica de Fitoterapia da UFC

LC-MS/MS = Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massa

LPS: Lipopolissacarídeo

M: Concentração molar

MAO-A: Monoamina oxidase A

MF: Medicamento Fitoterápico

MFFB: Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira

mg: Miligramas

MIL: Milonina

mL: Mililitro

MPO: Mieloperoxidase

MTT: Ensaio de Redução do tetrazólio

MWAR: Metilwarifteína

Na<sup>+</sup>: Íon sódio

NAC: Conteúdo de ácido nucleico

NBR: Norma Brasileira Regulamentadora

NETs: Armadilhas extracelulares de neutrófilos

NFκB: Fator nuclear kappa B

Nº: Número

NO: Óxido nítrico

NRU: Ensaio de captação de vermelho neutro

NS1: Proteína não estrutural 1

OVA: Ovalbumina

P&D: Pesquisa e Desenvolvimento

PB: Paraíba

PDE: Fosfodiesterase

PET-Farmácia: Programa de Educação Tutorial de Farmácia da UFPB

PG: Prostaglandina

PGE2: Prostaglandina E2.

PICs: Práticas Integrativas e Complementares

PKA: Proteína cinase A

PKC: Proteína cinase C

PKG: Proteína cinase G

PNPIC: Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PNPMF: Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

PPgPNSB: Programa de pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

PTF: Produto Tradicional Fitoterápico

PTZ: Pentilenotetrazol

RA: Raízes

RDC: Reunião de Diretoria Colegiada

RMN 2D: Ressonância Magnética Nuclear bidimensional

RNA: Ácido ribonucleico

STZ: Estreptozotocina

SUS: Sistema Único de Saúde

TF: Torta das folhas

TF: Torta das Raízes

TG: Termogavimetria

T<sub>H</sub>1: Linfócito T auxiliar do tipo 1

T<sub>H</sub>2: Linfócito T auxiliar do tipo 2

TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa

TPC: Tempo pré-convulsivo

UBS: Unidade Básica de Saúde

UFC: Universidade Federal do Ceará

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

UV: Ultravioleta

v.o.: Via oral de administração

WAR: Warifteína

$\alpha$ : Alfa

$\beta$ : Beta

$\mu$ M: Micromolar



## SUMÁRIO

|                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Introdução</b>                                                    | <b>19</b> |
| <b>2. Fundamentação teórica</b>                                         | <b>22</b> |
| 2.1. Histórico de <i>Cissampelos sympodialis</i>                        | 22        |
| 2.2. Fitoterapia e Assistência à Saúde                                  | 25        |
| 2.2.1. Fitoterapia no Brasil                                            | 26        |
| 2.2.2. Medicamentos Fitoterápicos e Produtos Tradicionais Fitoterápicos | 29        |
| 2.3. Respaldo Científico e desenvolvimento de medicamentos              | 31        |
| 2.3.1. Estudos não clínicos                                             | 32        |
| 2.3.1. Estudos clínicos                                                 | 34        |
| <b>3. Objetivos</b>                                                     | <b>37</b> |
| 3.1. Objetivo geral                                                     | 38        |
| 3.2. Objetivos específicos                                              | 38        |
| <b>4. Metodologia</b>                                                   | <b>39</b> |
| 4.1. Tipo de estudo                                                     | 40        |
| 4.2. Amostragem                                                         | 40        |
| 4.3. Instrumentos                                                       | 40        |
| 4.4. Procedimentos                                                      | 40        |
| 4.5. Aspectos éticos                                                    | 41        |
| <b>5. Resultados</b>                                                    | <b>42</b> |
| 5.1. Aspectos fitoquímicos e farmacobotânicos de <i>C. sympodialis</i>  | 42        |
| 5.2. Propriedades biológicas                                            | 52        |
| 5.2.1. Aspectos toxicológicos                                           | 53        |
| 5.2.2. Aspectos farmacológicos                                          | 59        |
| 5.2.2.1. Atividade espasmolítica                                        | 59        |
| 5.2.2.2. Atividades antiasmática, anti-inflamatória e antialérgica      | 62        |
| 5.2.2.3. Atividades psicofarmacológicas                                 | 77        |
| 5.2.2.4. Atividades cardiovasculares                                    | 82        |
| 5.2.2.5. Atividades gastrointestinais                                   | 85        |
| 5.2.2.6. Atividades antimicrobianas                                     | 88        |
| 5.2.2.7. Atividades sobre o diabetes e osteoporose experimentais        | 92        |

|                                           |            |
|-------------------------------------------|------------|
| <b>6. Discussão .....</b>                 | <b>95</b>  |
| <b>7. Produtos.....</b>                   | <b>105</b> |
| <b>8. Considerações finais .....</b>      | <b>107</b> |
| <b>9. Referências bibliográficas.....</b> | <b>109</b> |
| <b>10. Anexos .....</b>                   | <b>120</b> |

# Introdução

## 1. INTRODUÇÃO

Historicamente, a humanidade sempre buscou soluções curativas derivadas de produtos naturais, e no Brasil não foi diferente. Com o conhecimento advindo dos nativos, somado aos conhecimentos oriundos dos colonizadores, as preparações derivadas de plantas medicinais fitoterápicas foram rapidamente disseminadas pelo país (DUTRA et al., 2016). Com a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicas (PNPMF) do Ministério da Saúde, em 2006 (BRASIL, 2006b), o número dos programas municipais de fitoterapia cresceram. Desde então, as plantas medicinais e os fitoterápicos vêm ganhando importância no âmbito da política nacional de saúde, com crescimento de investimentos e valorização de programas no Sistema Único de Saúde (SUS) (RIBEIRO, 2019).

A medicina popular e as práticas culturais ancestrais foram grandes responsáveis pela valorização da fitoterapia no Brasil. Esta, no entanto, se deve, principalmente, à diversidade territorial do país, uma vez que o mesmo detém a maior biodiversidade do mundo, com cerca de 20-22% de todas as espécies vegetais conhecidas. Dentro dessa grande diversidade, a caatinga brasileira apresenta mais de quatro mil espécies de plantas catalogadas, representando mais de 17% de todas as plantas encontradas no Brasil (MAGALHÃES et al., 2019).

A espécie *Cissampelos sympodialis* Eichler (Menispermaceae), encontrada em vários estados do Nordeste e do Sudeste brasileiro, é há décadas, utilizada pela população paraibana para o manejo de sintomas relacionados às desordens inflamatórias, principalmente as que acometem as vias respiratórias (CAVALCANTI et al., 2013; SEMWAL et al., 2014). Conhecida popularmente como “milona”, “orelha-de-onça”, “abuteira” e “jarrinha”, a espécie *C. sympodialis* despertou interesse de pesquisadores da Universidade Federal da Paraíba em elucidar os mecanismos farmacológicos por trás do sucesso terapêutico da planta, bem como os componentes químicos responsáveis por tal feito (BARBOSA-FILHO et al., 2020).

O tratamento com derivados dessa planta foi avaliado em diversos protocolos experimentais, e durante mais de três décadas, muitos aspectos inéditos foram descobertos sobre o seu potencial farmacológico. Desses, pode-se citar os efeitos antidepressivo (ALMEIDA et al., 1998), anti-inflamatório (BATISTA-LIMA et

al., 2001), antiulcerogênico (DE SALES et al., 2018) e, principalmente, o efeito antiasmático (BEZERRA-SANTOS et al., 2006; 2012; 2020).

Em 2012, devido à importância etnobotânica e às diversas pesquisas que embasam a utilização da planta para diversas afecções, a espécie *C. sympodialis* foi instituída como vegetal símbolo do estado da Paraíba pela Lei Nº 9.801, de 14 de junho do mesmo ano. Apesar disso, a espécie em questão ainda não consta no Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira (MFFB) (ANVISA, 2016) nem no Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2018). Esses são documentos oficiais que auxiliam os profissionais de saúde na indicação correta de fitoterápicos. Ainda, a *C. sympodialis* não está inclusa no grupo de Produtos Tradicionais Fitoterápicos (PTF). Isso porque, para tal, a demonstração do tempo de uso, por meio de literatura técnico-científica, é tida como a principal forma de comprovação de sua segurança e efetividade, segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) de nº 26, de 13 de maio de 2014 (BRASIL, 2014).

Diante da importância da planta e do seu potencial terapêutico, esse trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica da produção científica com a espécie, abordando os aspectos fitoquímicos e farmacológicos explorados com *C. sympodialis*. Espera-se ainda, que essa revisão possa contribuir para a compreensão da importância etnobotânica da planta e seu potencial para o desenvolvimento de novos produtos fitoterápicos.

Fundamentação teórica

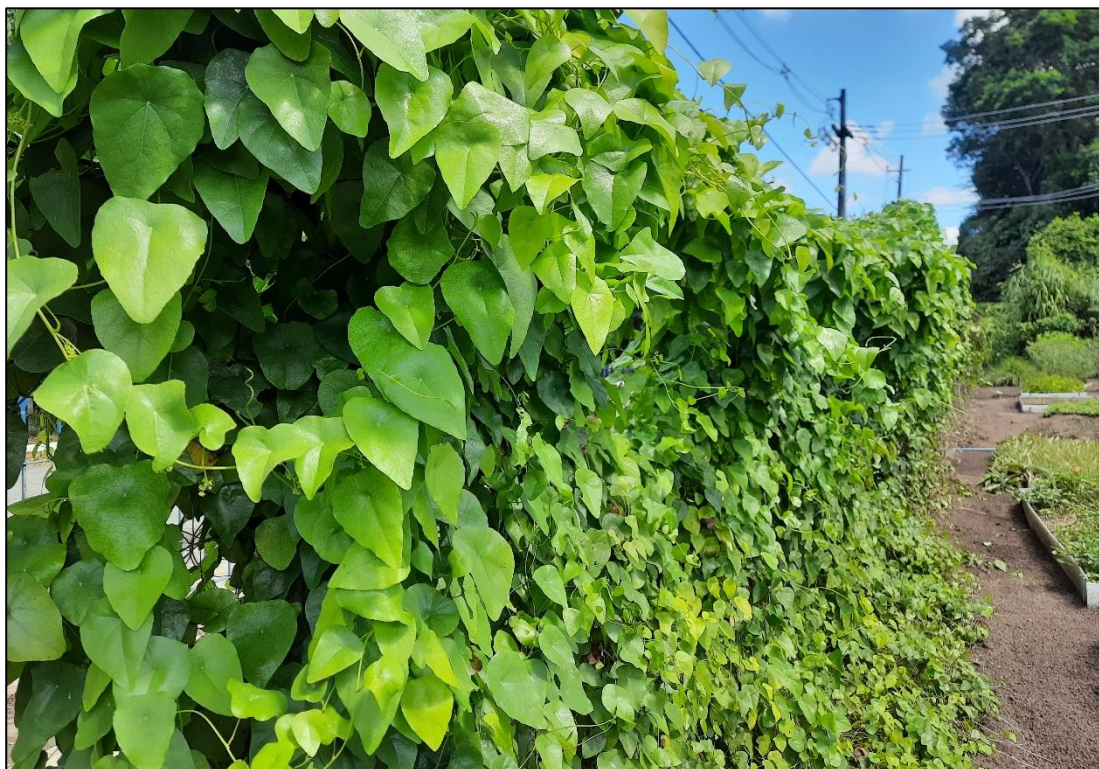
## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. Histórico de *Cissampelos sympodialis*

*Cissampelos sympodialis* Eichler, é uma planta pertencente à família Menispermaceae, com mais de 100 espécies relatadas, sendo uma família de plantas que ficou popularizada pelas preparações do curare, a partir do gênero *Chondodrendon* (PORTO; BASÍLIO; AGRA, 2008). *Cissampelos sympodialis* popularmente conhecida como milona, orelha-de-onça, jarrinha e abuteira é, há décadas, utilizada popularmente em comunidades do sertão do estado da Paraíba para tratar sintomas relacionados a doenças inflamatórias, como artrite, asma e rinite alérgicas, bem como resfriados (SEMWAL et al., 2014).

Pertencente ao gênero *Cissampelos*, entre mais de vinte espécies relatadas, a *C. sympodialis* (Figura 1) é encontrada basicamente na América do Sul, onde no Brasil a espécie pode ser encontrada desde o estado do Ceará, até o norte do estado de Minas Gerais, ocorrendo principalmente em áreas do semiárido (PORTO; BASÍLIO; AGRA, 2008; SEMWAL et al., 2014).

**Figura 1: *C. sympodialis* cultivada no canteiro de plantas medicinais da UFPB**



Fonte: Acervo do autor. OLIVEIRA, J.B. 2021.

Com atividade promissora para tratar os sintomas característicos de doenças respiratórias alérgicas, como asma e rinite, a espécie é, há mais de trinta anos, estudada por diversos pesquisadores, na qual a sua utilização popular foi respaldada por diversos estudos (VIEIRA et al., 2018; BEZERRA-SANTOS et al., 2006; 2012; 2020). Nesse ponto, buscamos descrever publicações importantes sobre a espécie, seus principais marcos dentro de mais de trinta anos de estudos e sua importância etnobotânica.

No programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB) da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil, está, até os dias atuais, o principal grupo de pesquisa que se dedica a estudar a espécie, com mais de quarenta trabalhos (entre dissertações de mestrado e teses de doutorado) investigando aspectos inéditos de *C. sympodialis* (BARBOSA-FILHO et al., 2020). A planta chegou ao PPgPNSB, em 1988, quando era ainda o Curso de Mestrado em Produtos Naturais, pela Professora Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz que a trouxe da cidade de Souza, sertão do estado da Paraíba, sendo considerada uma “planta milagrosa” para os que a utilizavam para tratar doenças respiratórias (BARBOSA-FILHO et al., 2020).

O primeiro trabalho desenvolvido com *C. sympodialis*, em 1988, tratou-se de uma bolsa de aperfeiçoamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), contribuindo para o estudo químico da espécie (BARBOSA-FILHO et al., 2020). Porém, foi em 1995, que foram publicados os primeiros artigos científicos sobre a planta.

Entre esses, foi elucidado o alcaloide morfinâmico milonina nas folhas da planta (DE FREITAS et al., 1995); além do efeito farmacológico do extrato hidroalcoólico da raiz da espécie, que foi avaliado em tiras traqueais de cobaias e leucócitos broncoalveolares (THOMAS et al., 1995); e ainda foi demonstrado que a warifteína, um alcaloide bisbenzilisquinolínico, isolado de *C. sympodialis* possuía ação espasmolítica (CORTÊS et al., 1995).

Outro trabalho publicado, em 1997, demonstrou a atividade broncodilatadora do extrato das folhas de *C. sympodialis* (THOMAS et al., 1997a). Esse trabalho foi importante, pois mostrou a mesma atividade terapêutica da espécie com a utilização das folhas, ao invés das raízes, dessa forma podendo evitar a extinção da planta, como era utilizado popularmente.

Desde então, diversos estudos têm sido realizados a fim de elucidar os mecanismos de ação no qual a espécie atua sobre a asma, onde esses serão melhores abordados mais adiante neste trabalho. Entretanto, outras frentes de pesquisas foram encorajadas e o efeito terapêutico de *C. sympodialis* foi investigado em outros modelos experimentais.

Em 1998, por exemplo, os efeitos cardiovasculares da planta foram investigados, onde essa demonstrou melhora na frequência cardíaca e na contratilidade em preparações atriais perfundidas isoladas, em modelos murinos (MEDEIROS et al., 1998). No mesmo ano, a atividade antidepressiva de *C. sympodialis* também foi relatada (ALMEIDA et al., 1998), reforçada posteriormente dez anos depois (MENDONÇA-NETTO et al., 2008). Os efeitos toxicológicos da espécie também foram avaliados, e a segurança farmacológica foi comprovada com a fração aquosa do extrato hidroalcoólico (AFL) (DINIZ et al., 2002), bem como com alcaloides isolados (MELO et al., 2003).

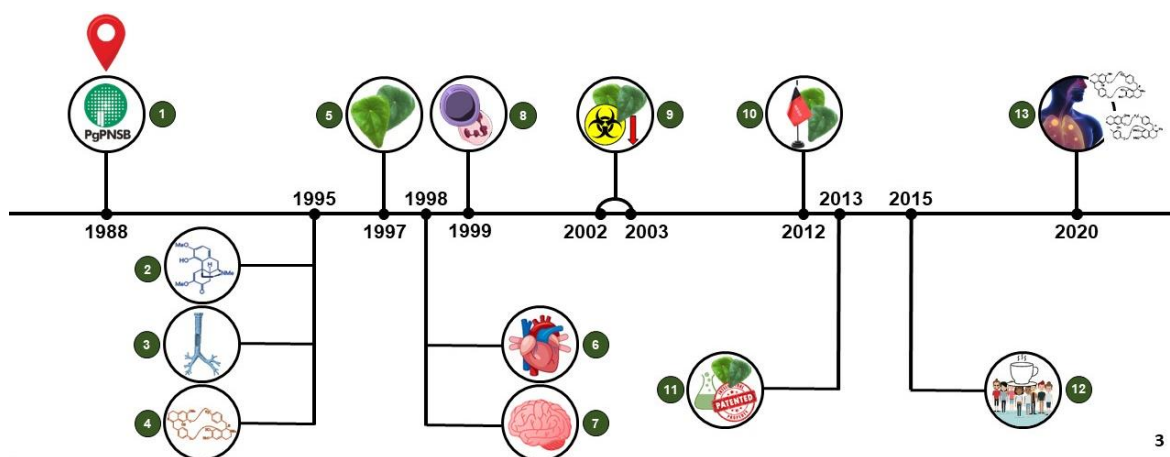
A importância etnobotânica, somada aos diversos estudos então realizados, fizeram com que em 2012, com mais de 40 (quarenta) artigos científicos já publicados, a *C. sympodialis* fosse instituída por lei como vegetal símbolo do Estado da Paraíba, PB, Brasil. A Lei nº 9.801, de 14 de junho de 2012, publicada no Diário Oficial do Estado da Paraíba, foi de autoria do Deputado Branco Mendes, aprovada pela Assembleia Legislativa da Paraíba, sancionada tacitamente e promulgada pelo Presidente da Mesa Diretora da Assembleia, o Deputado Estadual Ricardo Marcelo (Anexo II).

Dezoito anos após o primeiro trabalho publicado sobre *C. sympodialis*, em 2013, foi depositado a primeira de três patentes com a espécie, trazendo o título “*Processo para produção de extrato etanólico de milona com concentração padronizada de marcadores, extrato obtido, composições farmacêuticas e uso de composições obtidas.*”, registrando o processo de obtenção de um extrato padronizado, com atividade anti-inflamatória e atividade farmacológica em doenças do aparelho respiratório, preferencialmente a asma.

O primeiro estudo clínico com a milona foi realizado em 2015. Trata-se de um estudo clínico de Fase I, aberto e não randomizado, realizado com indivíduos participantes voluntariamente, onde os resultados demonstraram que a utilização diária do chá das folhas de *C. sympodialis*, durante trinta dias, foi bem tolerado,

indicando que não houve alterações laboratoriais ou reações adversas importantes (MANGUEIRA et al., 2015). Os estudos mais recentes demonstram a atividade dos alcaloides isolados, warifteína e metilwarifteína, em modelo experimental de Síndrome da Asma e Rinite Alérgicas Combinadas (CARAS) (CAVALCANTI et al., 2020). A sequência histórica está representada na figura 2.

**Figura 2: Histórico das pesquisas com *C. sympodialis***



Fonte: Elaborado pelo autor. OLIVEIRA, J.B. 2021.

Nota: Os eventos destacados estão descritos anteriormente no texto. **1** – Início das pesquisas com a espécie pelo PPgPNSB; **2** – Elucidação da milonina; **3** – Ensaios em traqueia isolada; **4** – Atividade espasmolítica da warifteína; **5** – Atividade terapêutica relatada com o extrato das folhas; **6** – Atividade farmacológica cardiovascular; **7** – Atividade antidepressiva; **8** – Atividade anti-inflamatória e imunomoduladora; **9** - Primeiros ensaios toxicológicos; **10** – Instituição como vegetal símbolo da Paraíba; **11** – Depósito da primeira patente; **12** – Publicação dos resultados do primeiro ensaio clínico; **13** – Warifteína e Metilwarifteína com atividades na CARAS.

Os estudos não ficaram restritos à UFPB, outras instituições, de outros estado, inclusive, desenvolveram estudos acerca das atividades fitoquímicas e farmacológicas de *C. sympodialis*. Diversas outras atividades farmacológicas e ensaios toxicológicos foram avaliados, a ação anti-inflamatória foi melhor compreendida, juntamente com a riqueza fitoquímica e farmacológica de *C. sympodialis*, contribuindo para o respaldo terapêutico da espécie e o incentivo ao desenvolvimento de um produto fitoterápico ou um medicamento fitofármaco.

## 2.2 Fitoterapia e Assistência à Saúde

### 2.2.1 Fitoterapia no Brasil

O uso de plantas medicinais como medida curativa ou preventiva para diversas afecções se confunde com a história da humanidade. Existem relatos dos usos de plantas há mais de 4.000 anos, como a papoula (*Papaver somniferum*) e a maconha (*Cannabis sativa*) (DUTRA et al., 2016). Essa cultura está presente no Brasil, pois possui a maior biodiversidade do mundo, compreendendo mais de 45.000 espécies de plantas superiores, o que corresponde de 20–22% do total existente no planeta (DUTRA et al., 2016). E dentro dessa perspectiva, a região Nordeste detém boa parte dessa variedade, (MAGALHÃES et al., 2019).

Sabe-se que cerca de 35% de todos medicamentos são oriundos de produtos naturais (CALIXTO, 2019), porém, em algumas áreas, como na oncologia, o número de medicamentos derivados de plantas medicinais pode chegar a 60% (DUTRA et al., 2016). E considerando que o mercado de medicamentos gira em torno 1,1 trilhão de dólares anuais (CALIXTO, 2019), o mercado brasileiro de fitoterápicos, apesar da ampla biodiversidade, ainda é modesto, representando cerca de 261 milhões de dólares, sendo apenas 5% do mercado mundial de medicamentos brasileiros, que em 2014 chegou a faturar 28 bilhões de dólares (DUTRA et al., 2016). De acordo com dados disponíveis na página da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), mais de 1,400 (mil e quatrocentos) formulações fitoterápicas são registradas para venda nacionalmente (BRASIL, 2020), porém poucos são os fitoterápicos originários do Brasil que estão entre os mais procurados no mercado (DUTRA et al., 2016).

Embora o mercado de fitomedicamentos não seja tão proeminente no Brasil para produtos locais, o fortalecimento da fitoterapia no país se consolidou pela disseminação das preparações artesanais a partir de plantas nativas de cada região. Sendo estimulada por movimentos sociais, orientações de várias conferências nacionais de saúde e recomendações da Organização Mundial da Saúde, favorecendo ainda o aumento dos recursos terapêuticos, a recuperação do conhecimento tradicional, a preservação da biodiversidade, o incentivo à agroecologia, o desenvolvimento social e a educação ambiental, popular e permanente (ANTONIO; TESSER; MORETTI-PIRES, 2014)

Tais direcionamentos fizeram com que em 1980, visando a idealização da criação e implantação do SUS, a medicina popular e as práticas culturais

ancestrais, enraizadas em todas as regiões do país, ganharam ainda mais força, reflexo dos possíveis resultados do Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da antiga Ceme (Central de Medicamentos), primeira política de âmbito nacional do Ministério da Saúde, que vigorou oficialmente de 1982 a 1997, mas cujas ações de fato se concentraram na década de 80 (BRASIL, 2006; RIBEIRO, 2019).

A Política Nacional de Medicamentos, como parte essencial da Política Nacional de Saúde, no âmbito de suas diretrizes para o desenvolvimento tecnológico, em 2006, preconizou que deveria ser continuado e expandido o apoio às pesquisas que visem ao aproveitamento do potencial terapêutico da flora e fauna nacionais, enfatizando a certificação de suas propriedades medicamentosas (BRASIL, 2006a). Diante disso, a extinta Gerência Técnica de Assistência Farmacêutica da Secretaria de Políticas da Saúde constituiu um Grupo de Estudo de Fitoterápicos para elaboração da Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, cujo objetivo foi garantir acesso e uso racional das plantas medicinais e dos fitoterápicos, com segurança, eficácia e qualidade, contribuindo com o desenvolvimento desse setor no país (BRASIL, 2006a).

Dessa forma, em 2006, foi lançada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) do Ministério da Saúde, potencializada pela instituição do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, e seu Comitê Nacional Gestor. Posteriormente em 2008, os programas de fitoterapia sofreram grande expansão pelo país, onde as plantas medicinais e os fitoterápicos ganharam importância no âmbito da política nacional de saúde, com crescimento de investimentos e valorização de programas no SUS (RIBEIRO, 2019).

No Brasil, a Fitoterapia está inclusa na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PNPIC), que compreende atualmente a 29 (vinte e nove) Práticas Integrativas e Complementares (PICs) oferecidas, de forma integral e gratuita, por meio do SUS. Essas estão presentes em quase 54% dos municípios brasileiros, distribuídos pelos 27 estados e Distrito Federal e todas as capitais brasileiras, onde 78% dos atendimentos são na rede de Atenção Básica (AB), totalizando mais de 2 milhões de atendimentos das PICs nas Unidades Básicas de Saúde (UBS), com mais de 85 mil práticas fitoterápicas em todo país (BRASIL, 2019).

Considerando primordialmente a crescente ampliação da cobertura da Estratégia Saúde da Família, é perceptível o potencial para ampliação do acesso às ações e serviços com plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos, proporcionando o fortalecimento dos princípios da universalidade e da integralidade em saúde, expandindo o acesso da população aos benefícios dessa prática no SUS (BATISTA; VALENÇA, 2012). Entretanto, é importante fortalecer alguns elos entre a fitoterapia e a assistência em saúde.

A exemplo, alguns estudos com profissionais apontaram diversas situações que dificultam o emprego de plantas medicinais e fitoterápicas no contexto da atenção básica, dentre elas podemos citar resistência cultural da população, déficit de conhecimento dos profissionais de saúde, ausência de insumos, e fragilidades do saber popular (DO BÚ; FERREIRA DE ARAÚJO, 2015).

Talvez o déficit de conhecimento desses profissionais esteja atrelado a sua formação acadêmica, como visto em um estudo realizado no estado do Ceará, que avaliou a formação do ensino superior diante da implantação da PNPMF, evidenciando que a graduação em saúde oferecida pelas instituições de ensino superior (IES) brasileiras, com formação em plantas medicinais e fitoterápicos, ainda se mostra insuficiente, com exceção dos cursos de Farmácia (SÁ et al., 2018).

Esse estudo sugere ainda, que as unidades assistenciais de fitoterapia do SUS permaneçam ligadas às universidades e demais IES, como forma de retroalimentar o sistema de ensino, pesquisa e extensão, tanto na graduação, pós-graduação e educação em serviço, fornecendo as bases para uma fitoterapia racional e mais científica (SÁ et al., 2018).

Considerando a importância do conhecimento sólido da fitoterapia pelos profissionais, bem como o conhecimento tradicional de plantas medicinais, e também outros recursos de Medicina Complementar Alternativa baseados na tradição, o emprego de plantas medicinais desempenha um papel fundamental na implementação do PNPIC, pois além de ser uma parte importante do patrimônio cultural de um país, essas práticas valorizam a autonomia dos usuários durante o processo de tratamento (HABIMORAD et al., 2020).

Os programas municipais de fitoterapia no SUS nas regiões brasileiras se vinculam a uma pluralidade de atores, práticas, saberes e estratégias. O valor e a

riqueza que eles representam advém dos diversos usos das plantas. Tais usos envolvem uma biodiversidade e também uma sociodiversidade que são recíprocas, isto é, dependentes e indissociáveis, historicamente elaboradas e espacialmente situadas (RIBEIRO, 2019). Sabendo disso, pode-se reconhecer que o fortalecimento do uso de plantas medicinais locais, pode favorecer diversos aspectos importantes que são reflexos do uso popular e do respaldo científico.

Dentro dessa perspectiva, a riqueza de conhecimento de *Cissampelos sympodialis* já atribuiu valor em diversos cenários, como ambiental, através do cultivo permanente de uma planta endêmica, evitando sua extinção; social, através do fortalecimento do conhecimento popular; econômico e tecnológico, através da transferência de tecnologias para a indústria químico-farmacêutica; e, principalmente, científico, agregando conhecimentos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos (BARBOSA-FILHO et al., 2020), tornando-se uma possível espécie para produção de um medicamento fitoterápico ou registro de um produto tradicional fitoterápico.

### **2.2.2 Medicamentos fitoterápicos e Produtos Tradicionais Fitoterápicos**

A instituição da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), assim como a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), em 2006, apresentam-se como ponto importante no desenvolvimento de práticas integrativas na atenção primária, bem como no aumento das pesquisas envolvendo as potencialidades do uso de plantas medicinais (ANTONIO; TESSER; MORETTI-PIRES, 2014). Isso pode ser confirmado pelo aumento do número de depósitos de patentes de fitoterápicos após o período de implantação dessas políticas, demonstrando o interesse em produtos derivados de plantas medicinais, sendo portanto o reflexo dos diversos estudos realizados com tais espécies (FRANÇA; VASCONCELLOS, 2018).

No Brasil, cabe a ANVISA determinar as medidas necessárias para certificar que apenas medicamentos seguros e eficazes cheguem ao mercado. Desde 1967, o Brasil possui normas específicas para o registro de medicamentos fitoterápicos, onde com a implantação na PNPMF e da PNPIC, modificações foram

implementadas ampliando o registro para plantas medicinais, drogas vegetais notificadas, medicamentos fitoterápicos manipulados e industrializados, além de plantas medicinais regulamentadas na produção de cosméticos e alimentos (CARVALHO et al., 2012). Ainda, em 2014, a Diretoria Colegiada da ANVISA, publicou através da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) número 26, de 2014, o Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico no Brasil, trazendo as orientações necessárias para registro dessas categorias (ANVISA, 2014).

Este guia, quando trata de fitoterápicos, refere-se tanto ao Medicamento Fitoterápico (MF) quanto ao Produto Tradicional Fitoterápico (PTF), porém ambos apresentam diferenças importantes quando ao conceito e sua comprovação de segurança e eficácia.

O MF, por sua vez, é um medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais, caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela constância de sua qualidade, sem acréscimo de substância ativas isoladas, de qualquer origem.

Já o PTF, é aquele obtido com emprego exclusivo de matérias-primas vegetais, cuja segurança e efetividade seja alicerçada no longo histórico de utilização demonstrado em documentação técnico-científica, sem evidências conhecidas ou informadas de risco à saúde do usuário e que seja caracterizado pela constância de sua qualidade. Na tabela 1 estão retratadas as principais diferenças entre os fitoterápicos abordados na RDC Nº 26/2014.

**Tabela 1: Diferenças entre os fitoterápicos abordados na RDC Nº 26/2014**

| <b>Diferenças</b>                               | <b>Medicamento Fitoterápico (MF)</b> | <b>Produto Tradicional Fitoterápico (PTF)</b> |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Comprovação de Segurança e Eficácia/Efetividade | Estudos clínicos                     | Por demonstração do tempo de uso              |
| Boas Práticas de Fabricação                     | De acordo com a RDC nº 17/2010       | De acordo com a RDC nº13/2013                 |

|                                                                 |                                   |                                                |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------|
| Informações do Fitoterápico para o consumidor final             | Disponibilizados na bula          | Disponibilizados em Folheto Informativo        |
| Formas de obter a autorização de comercialização junto à ANVISA | Registro ou Registro simplificado | Registro, registro simplificado ou notificação |

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2014.

Essas diretrizes implicaram em uma série de desafios, bem como de oportunidades para a produção de fitoterápicos. Estudos mostram que os principais desafios são, na pesquisa, a regulamentação da lei de acesso ao patrimônio genético e, na produção, a harmonização da regulamentação em toda a cadeia produtiva da indústria de plantas medicinais e fitoterápicos. Todavia, apesar dos desafios, a maioria das principais empresas da indústria de fitoterápicos e plantas medicinais possuem expectativas positivas para o desenvolvimento do segmento dos fitoterápicos a partir da biodiversidade brasileira (HASENCLEVER et al., 2017)

### **2.3 Respaldo científico e o desenvolvimento de medicamentos**

O desenvolvimento de medicamentos exige uma série de avaliações que vão desde a triagem de moléculas potenciais, até o acompanhamento de um produto posto no mercado. Para a aprovação de um medicamento, o período pode chegar a dez anos, entre pesquisa, desenvolvimento e aprovação (Figura 3), com alto investimento no setor (International Federation of Pharmaceutical Manufacturers & Associations, 2017).

**Figura 3: Fases do desenvolvimento de um medicamento**



Fonte: Adaptado de International Federation of Pharmaceutical Manufacturers & Associations, 2017.

### 2.3.1 Estudos não clínicos

As pesquisas iniciais se baseiam na triagem de espécies ou moléculas potencialmente ativas biologicamente, que possam tornar-se atrativas para o desenvolvimento de uma nova terapia, ou de uma terapia melhorada. Para tanto, esses estudos podem ser realizados *in silico*, *in vitro* ou *in vivo*, como instruído no Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos, criado pela ANVISA (ANVISA, 2013).

Os estudos *in silico*, expressão usada com o significado “executado em computador”, são empregados nos estágios iniciais da Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), na seleção e otimização de moléculas com maior potencial de atividade terapêutica. Todavia, não são estudos conclusivos, mas sim direcionadores, excluindo alvos não promissores e apontando possíveis sítios de ação com melhor eficácia, redução de efeitos toxicológicos e seletividade em mecanismos de ação (MODA; ANDRICOPULO, 2007).

O principal objetivo dos estudos *in silico* é avaliar os parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade), investigando a farmacocinética, que é a fase responsável pelo insucesso de até 30% do desenvolvimento de novos medicamentos. Dessa forma, pode-se traçar um bom perfil no que tange a absorção e distribuição, para alcançar o órgão alvo em uma

concentração apropriada; também no metabolismo, onde pode ocorrer a inativação/modificação do fármaco; e excreção, na qual o fármaco é liberado do corpo para que o mesmo não venha, posteriormente, provocar toxicidade (PEREIRA, 2019).

Outra perspectiva desses ensaios é investigar sítios de ligação de moléculas já conhecidas, a fim de projetar e sintetizar moléculas com efeitos colaterais reduzidos e/ou efeitos terapêuticos otimizados (DIZDAROGLU et al., 2020). O *docking* molecular é uma perspectiva em evidência na área da química medicinal (LI; FU; ZHANG, 2019). Trata-se de uma abordagem computacional baseada em um processo natural celular, envolvendo pequenas moléculas como ligantes em configurações apropriadas para interagir com um receptor para a formação de um complexo estável, mostrando-se um método fácil, barato, eficaz e que viabiliza a economia de tempo e material (SALMASO; MORO, 2018).

O uso de métodos alternativos *in vitro* em substituição a estudos *in vivo*, desde que validados e aceitos internacionalmente, são recomendados em diversos protocolos de avaliação farmacológica e toxicológica (ANVISA, 2013). Os métodos *in vitro* são utilizados com células isoladas, a fim de avaliar a toxicidade, tolerância local, produção e liberação de mediadores da comunicação celular, como citocinas bem como avaliar a interação de ligantes com receptores celulares específicos. Diversos são os protocolos experimentais de avaliação *in vitro*, dentre eles podemos citar a interação de hormônios em células de diferentes sistemas (ROSSI et al., 2020), identificação de alvos terapêuticos em oncologia (ZHANG; XIE, 2019), avaliação da concentração molecular citotóxica em modelos de viabilidade celular (LEITE et al., 2016), dentre muitos outros.

Uma extensão dos estudos *in vitro* que também merece notoriedade, são os ensaios *ex vivo*, nos quais órgãos isolados são submetidos a experimentos a fim de entender, de maneira local, a base dos principais efeitos biológicos em órgãos alvo, como o efeito vasodilatador de componentes em artérias isoladas (DE ANDRADE et al., 2016), o efeito broncodilatador em traqueia isolada através da ativação de receptores (YI et al., 2020), e o mecanismo de absorção intestinal de moléculas com potencial antioxidantes (SONG et al., 2020).

Já os ensaios *in vivo*, embora sejam alvos de diversas discussões éticas, mostram-se ainda como uma das principais ferramentas para validação da

segurança, eficácia e tolerância de novos candidatos à fármacos e formulações (CASTRO MORENO, 2019; ANVISA, 2013). É um importante recurso que possibilitou inúmeras contribuições para o cuidado à saúde, como a descoberta de vacinas e tratamentos para doenças que possuem impactos na saúde pública (PELUCI et al., 2017).

Diversas espécies são empregadas na pesquisa biomédica e, a escolha da espécie mais adequada, depende do objetivo do estudo e deve ser baseada nas características do animal, sendo que, camundongos e ratos são os animais mais utilizados nesses estudos (ANVISA, 2013; PELUCI et al., 2017). Embora tenham limitações, o emprego dos modelos *in vivo* favorece uma observação mais rebuscada dos efeitos biológicos de moléculas investigadas, tais como as reações adversas características de efeitos toxicológicos (PACHECO DE OLIVEIRA et al., 2015), alterações metabólicas sistêmicas (COLLAUD et al., 2019), alteração de processos fisiológicos importantes, tais como frequência respiratória e cardíaca (SCHIEFER et al., 2020), mortalidade, dentre muitos outros que não podem ser observados com precisão em outros modelos.

### **2.3.2 Estudos clínicos**

Um ensaio clínico é um estudo sistemático de medicamentos em voluntários humanos que seguem estritamente as diretrizes do método científico. Seu objetivo é descobrir ou confirmar os efeitos, e/ou identificar as reações adversas ao produto investigado, e/ou estudar a farmacocinética dos ingredientes ativos, de forma a determinar sua eficácia e segurança, confirmadas apenas por meio de ensaios clínicos controlados (ANVISA, 2020).

Há necessidade de padrões nacionais e internacionais para a pesquisa clínica com medicamento, devendo ser garantida a solidez científica do estudo. Além disso, os ensaios clínicos em todos os países devem seguir estritamente princípios éticos e científicos. Tais princípios são universais, acima de quaisquer diferenças entre indivíduos, e seu objetivo é salvaguardar a integridade física e psíquica dos indivíduos envolvidos (ANVISA, 2020). Considerando isso, foi publicado no Diário Oficial da União do dia 3 de março de 2015, o novo regulamento para a condução no Brasil de pesquisa clínica com medicamento. A

RDC 09/2015 adota um modelo de regulação harmonizado com as principais agências internacionais, considerando os aspectos de submissão de documentação técnica e boas práticas clínicas, assim como oferece maior qualidade e eficiência administrativa para a avaliação de ensaios clínicos no âmbito da Anvisa (ANVISA, 2015).

Esses ensaios são divididos em quatro fases fundamentais, objetivadas em entender diferentes parâmetros de segurança e efetividade. A fase I, é realizada com pequenos grupos, gerando uma avaliação preliminar de segurança. A fase II, realizada com um número maior de voluntários, visa avaliar a eficácia, definir a melhor dose eficaz e respaldar ainda mais a segurança do medicamento. Já a fase III, a fase final antes da inserção do produto no mercado, é realizada com um grande número de indivíduos, em grupos heterogêneos, a fim de avaliar a eficácia comparativa, bem como o risco/benefício da utilização. A fase IV, é também chamada de farmacovigilância, promovendo a análise da experiência dos consumidores com o produto, a fim de identificar possíveis efeitos adversos a longo prazo e, em adição, avaliar novas indicações para os mesmos (INCA, 2018).

# Objetivos

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Realizar um levantamento bibliográfico sobre a espécie *Cissampelos sympodialis* Eichler (Menispermaceae), abordando seus aspectos fitoquímicos e farmacológicos.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Abordar os componentes fitoquímicos isolados de *Cissampelos sympodialis*;
- Analisar os efeitos farmacológicos já avaliados com *Cissampelos sympodialis* e seus derivados;
- Demonstrar o potencial terapêutico investigado com *Cissampelos sympodialis*;
- Fortalecer, com base nos estudos publicados, a utilização popular de *Cissampelos sympodialis* para o tratamento de diferentes doenças.

# Metodologia

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa bibliográfica, fundamentada nos conhecimentos de biblioteconomia, documentação e bibliografia, onde sua finalidade é colocar o pesquisador em contato com o que já se produziu e registrou a respeito do seu tema de pesquisa (DE PÁDUA, 2019), caracterizada por uma pesquisa exaustiva na literatura disponível utilizando-se de uma metodologia pré-estabelecida, no intuito de fomentar a discussão dos dados disponíveis sobre o tema em questão (MORESI, 2003).

### 4.2 Amostragem

A identificação dos resultados neste trabalho foi fundamentada nos seguintes critérios de inclusão e exclusão:

- **Critérios de inclusão:** Estudos que abordassem como tema principal a espécie *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados, publicados em língua portuguesa ou inglesa, que estivessem disponíveis de forma integral para leitura. Estudos que abordassem o gênero *Cissampelos* também foram incluídos.
- **Critérios de exclusão:** Estudos que não estivessem disponíveis para leitura na íntegra. Outras revisões bibliográficas sobre a espécie também não foram incluídas.

### 4.3 Instrumentos

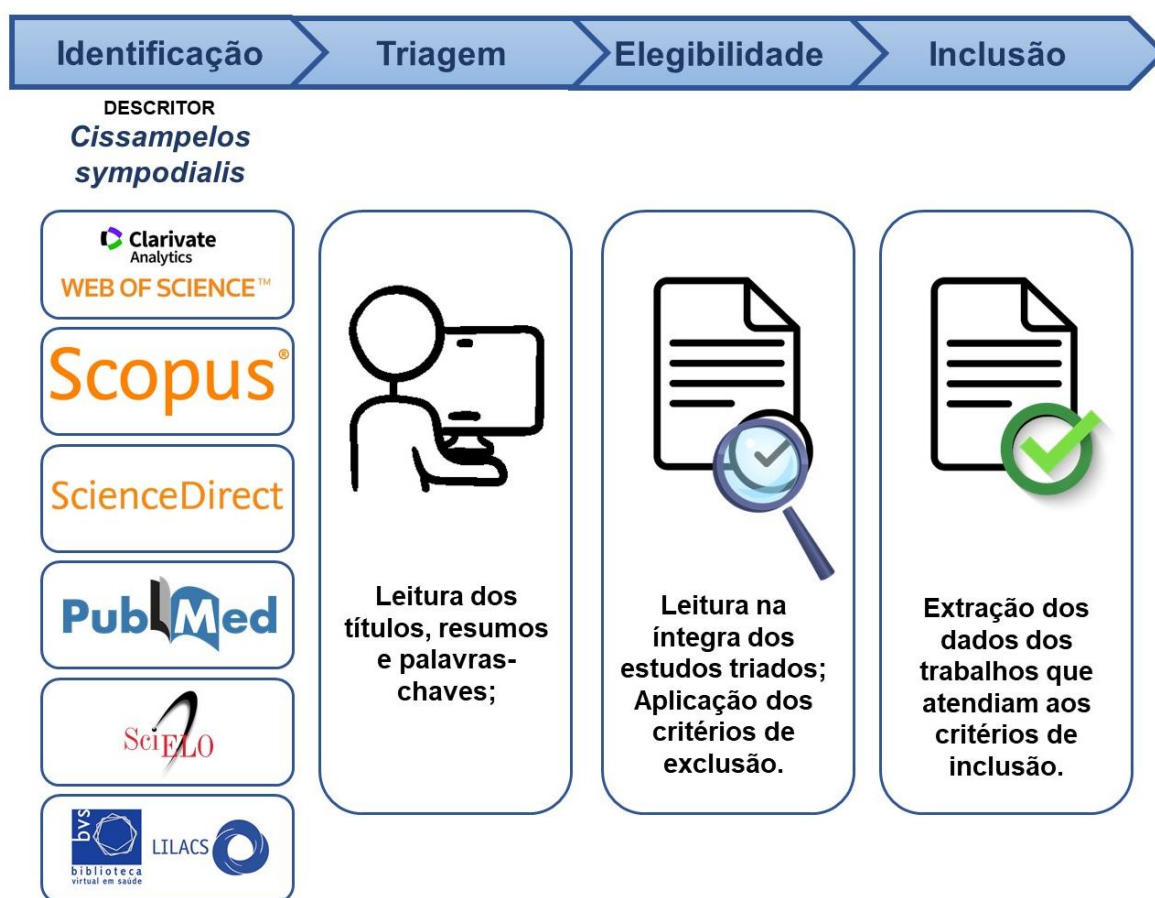
Foi realizada uma busca nas bases de dados: *Web of Science*, *Scopus*, *Science Direct*, *Pubmed*, *Scielo* e *Lilacs (BVS)*, utilizando o descritor *Cissampelos sympodialis*. A busca foi realizada até o dia 31 de março de 2021. Todos os artigos encontrados, desde que disponíveis na íntegra para leitura, foram avaliados no processo de triagem.

### 4.4 Procedimentos

Os procedimentos de identificação foram realizados através da aplicação do descritor *Cissampelos sympodialis* nas bases de dados citadas. A triagem então foi

realizada através da leitura dos títulos, resumos e palavras chaves, sendo excluídos os registros repetidos, os registros que não eram artigos originais, e os registros que não tratavam de *Cissampelos sympodialis*. Os trabalhos então foram lidos na íntegra para aplicação dos critérios de exclusão, na fase de elegibilidade. Por fim, foram incluídos para extração de dados, os trabalhos que atendiam aos parâmetros definidos na amostragem. O esquema metodológico está descrito na Figura 4.

**Figura 4: Fluxograma do processo de seleção dos registros**



Fonte: Elaborado pelo autor. OLIVEIRA, 2021.

#### 4.5 Aspectos éticos

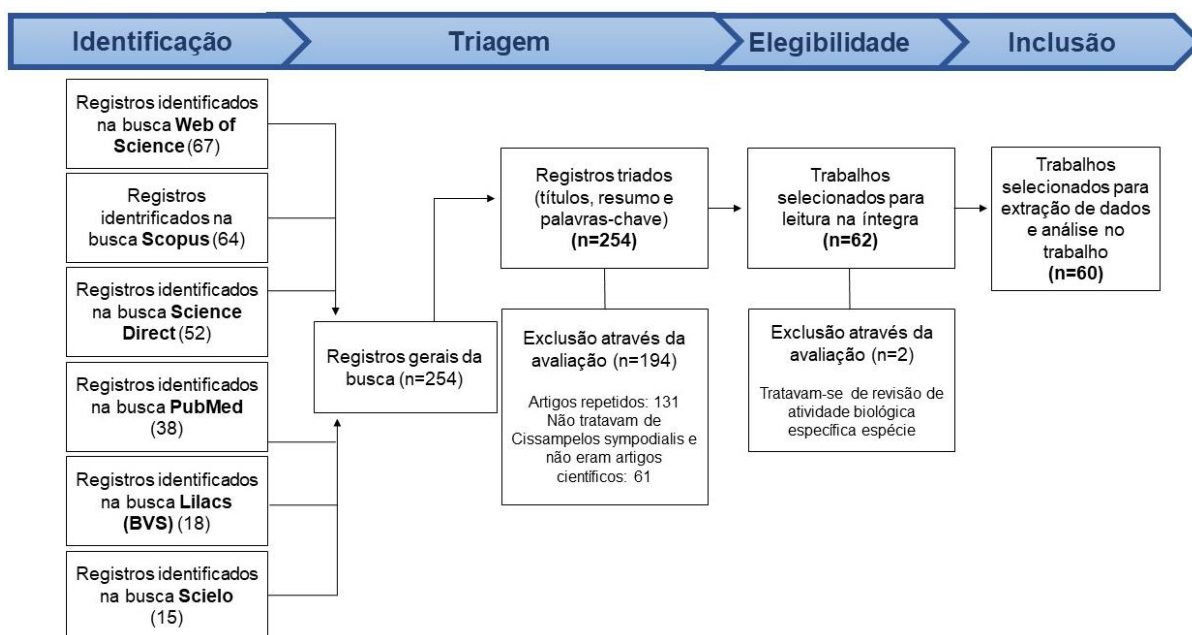
Este trabalho cumpriu as diretrizes preconizadas pela Norma Brasileira Regulamentadora (NBR) nº 6023, na qual é estabelecido o uso correto de referências bibliográficas (ABNT, 2018). Este estudo possui finalidade científica e sua coleta de dados não oferece risco à sociedade, sendo todos os trabalhos aqui citados, devidamente referenciados.

## Resultados

## 5. RESULTADOS

As buscas realizadas nas bases de dados, após aplicação de todo processo metodológico descrito no item 4, resultaram em uma amostragem final de 60 (sessenta) trabalhos elegíveis para extração dos principais resultados deste trabalho. Os artigos encontrados variam entre os anos de 1995 a 2020. Os dados encontrados em cada fase da metodologia estão descritos na figura 5.

**Figura 5: Evolução do processo metodológico diante dos registros encontrados**



Fonte: Elaborado pelo autor. OLIVEIRA, 2021.

Para uma melhor compreensão e discussão dos resultados encontrados, os registros foram distribuídos em duas sessões distintas, uma que corresponde aos aspectos fitoquímicos e farmacobotânicos da espécie, e outra que corresponde às propriedades biológicas, sendo essa subdividida pelos diferentes efeitos relatados.

### 5.1 Aspectos fitoquímicos e farmacobotânicos de *C. sympodialis*

Como descrito anteriormente, a *C. sympodialis* é uma espécie pertencente à família Menispermaceae, na qual compreende a um grupo com mais de 400 espécies relacionadas, sendo mais de 100 encontradas e distribuídas no Brasil (PORTO; BASÍLIO; AGRA, 2008). A família é conhecida por espécies vegetais ricas

quando trata-se de variedade fitoquímica, sendo o gênero *Cissampelos* um grupo de espécies ricas, principalmente, em alcaloides (SEMWAL et al., 2014).

O uso popular de *C. sympodialis* incentivou grupos de pesquisas a investigar os componentes responsáveis por sua atividade biológica. Estudos de caracterização farmacognóstica, permitiram identificar as classes de metabólitos secundários presentes nas folhas da espécie (CAVALCANTI et al., 2014), e estudos de investigação fitoquímica (Tabela 2) resultaram no isolamento e caracterização de dez alcaloides, bem como na padronização de métodos para isolamento dos principais metabólitos secundários e controle de qualidade dos extratos obtidos da espécie.

**Tabela 2: Estudos sobre os parâmetros farmacobotânicos e fitoquímicos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano                           | Design do estudo                                     | Principais conclusões                                                                                                                          |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DE-FREITAS, et al. 1995             | Identificação estrutural                             | Identificação do alcaloide morfinâmico 8,14-dihidromorfinandienona, nomeado de MIL, encontrado nas folhas de <i>C. sympodialis</i> .           |
| BARBOSA-FILHO; AGRA; THOMAS, 1997*  | Identificação estrutural e ensaio farmacológico      | Identificação dos alcaloides WAR, MWAR e Laurifolina, nas raízes. E identificação de WAR, MWAR e MIL nas folhas da espécie.                    |
| ARAGÃO; BARBOSA-FILHO; MACÊDO, 2001 | Padronização metodológica                            | Padronização metodológica para identificação de impureza após isolamento e purificação do alcaloide WAR.                                       |
| ARAGÃO, et al. 2002                 | Padronização metodológica                            | Padronização da aplicação termogavimétrica para controle de qualidade dos extratos obtidos da espécie.                                         |
| DE-LIRA, et al. 2002                | Identificação estrutural                             | Identificação do alcaloide bisbenzilisoquinolínico Roraimina, encontrado nas raízes de <i>C. sympodialis</i> .                                 |
| MUKHERJEE; KEIFER, 2003             | Identificação estrutural e padronização metodológica | Identificação e elucidação estrutural de WAR e MWAR, dois alcalóides terciários de bisbenzilisoquinolina, através de espectroscopia de RMN 2D. |

Continuação da tabela 2

| Autor/Ano                                    | Design do estudo                                       | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PORTO; BASÍLIO;<br>AGRA, 2008                | Caracterização<br>farmacobotânica                      | Identificação e caracterização da morfologia foliar em conjunto com a anatomia da epiderme como distintivos para <i>C. sympodialis</i> .                                                                                                                                   |
| MARINHO.<br>BARBOSA-FILHO;<br>OLIVEIRA, 2011 | Padronização<br>metodológica                           | Identificação das concentrações dos principais alcaloides da espécie frente as alterações vegetativas e de sazonalidade.                                                                                                                                                   |
| BARRETO-GOMES;<br>FREIRE; ARAGÃO,<br>2012    | Padronização<br>metodológica                           | Determinação da pressão de vapor das curvas de WAR e MWAR por análise de termogravimetria, como método rápido e sensível para determinação quantitativa, mostrando que estes alcaloides seguem cinética de ordem zero em relação à volatilização.                          |
| MARINHO, et al.<br>2013                      | Identificação estrutural                               | Identificação e elucidação estrutural de dois alcaloides isômeros bisbenzilisoquinolínicos encontrados no rizoma de <i>C. sympodialis</i> , Des-7'-O-metilroraimina e epi-Des-7'-O-metilroraimina.                                                                         |
| CAVALCANTI, et al.<br>2014                   | Caracterização<br>farmacognóstica                      | Identificação das classes de metabólitos contidos na espécie, e determinação de parâmetros controle de qualidade, incluindo a determinação nos níveis de seu marcador químico WAR.                                                                                         |
| ALVES, et al. 2017*                          | Padronização<br>metodológica e ensaio<br>farmacológico | Desenvolvimento e otimização de um método LC-MS/MS para quantificação de WAR e MWAR na infusão das folhas de <i>C. sympodialis</i> .                                                                                                                                       |
| CUNHA, et al. 2019*                          | Identificação estrutural e<br>ensaio farmacológico     | Identificação e elucidação estrutural do novo alcaloide fanostenina, encontrado nas raízes da espécie. Apresentou atividade antimicrobiana que está descrita na sessão de atividades biológicas de <i>C. sympodialis</i> .                                                 |
| DE-MELO, et al.<br>2020*                     | Metabolômica e<br>correlação farmacológica             | Realização de estudos metabolômicos com extratos polares, produzidos em diferentes estágios fenológicos da espécie, avaliando a concentração dos componentes ali presentes. Os alcaloides WAR e MWAR não foram encontrados em extratos preparados com folhas mais maduras. |

Fonte: Elaborado pelo autor. OLIVEIRA, 2021.

Nota: WAR = Warifteína; MWAR = Metilwarifteína; MIL = Milonina; RMN 2D = Ressonância Magnética Nuclear bidimensional; LC-MS/MS = Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria

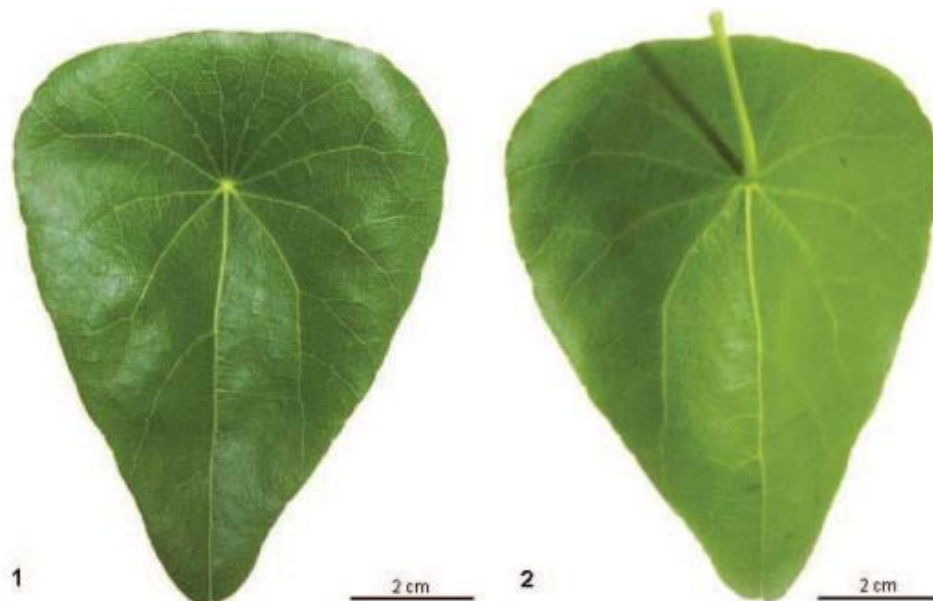
de Massa. Os estudos marcados (\*) estão também presentes (e sinalizados) na sessão de propriedades biológicas de *C. sympodialis*.

Em 1997, Barbosa-Filho e colaboradores forneceram subsídios iniciais de características botânicas particulares presentes em *C. sympodialis* (BARBOSA FILHO; AGRA; THOMAS, 1997), e em 2008, Porto e colaboradores embasaram as características inerentes a espécie, onde foram realizadas morfodiagnoses macroscópicas e microscópicas das folhas de *C. sympodialis* (PORTO; BASÍLIO; AGRA, 2008).

Os resultados mostram que as folhas da espécie se caracterizam macroscopicamente por serem folhas peltadas, com as lâminas deltoides, nervação actinodroma-broquidodroma, e o pecíolo espessado nas extremidades (Figura 6). Microscopicamente, a análise permitiu observar células epidérmicas com paredes anticlinais ondeadas na face adaxial e irregularmente sinuosa-ondeada na face abaxial, que é um caráter distintivo para esta espécie, distinguindo-a de *C. parreira* L., espécie com a qual compartilha vários caracteres, inclusive a ausência de papilas na epiderme, característica comum em *C. capensis* L. f. e *C. glaberrima* A.St-Hil., que possuem papilas na face abaxial. Além disso, a presença de sacos secretores associados ao arco esclerenquimático, não foram observadas em *C. sympodialis*, diferenciando-a de *C. pareira* e *C. fasciculata* (PORTO; BASÍLIO; AGRA, 2008). Esses dados são importantes para caracterização precisa da espécie, pois ao compartilhar características semelhantes a outras espécies do gênero, o seu cultivo, manejo e utilização terapêutica podem ser realizados de forma equivocada, podendo apresentar efeitos adversos ou não atingir o efeito terapêutico esperado.

A fim de obter e caracterizar os compostos químicos medicinais obtidos das folhas de *C. sympodialis*, Cavalcanti e colaboradores, em 2014, determinaram os parâmetros para o seu controle de qualidade, incluindo a determinação nos níveis de WAR, considerada como marcador da espécie. Nesse estudo, além de algumas análises consideradas essenciais para determinação do controle de qualidade de espécies vegetais, essas folhas passaram por análises histológicas, e o seu extrato passou por uma triagem fitoquímica, buscando distinguir as classes de metabólitos secundários presentes na espécie, tais como taninos, flavonoides, esteroides, alcaloides e saponinas (CAVALCANTI et al., 2014).

**Figura 6: Morfologia frontal e posterior das folhas de *C. sympodialis***



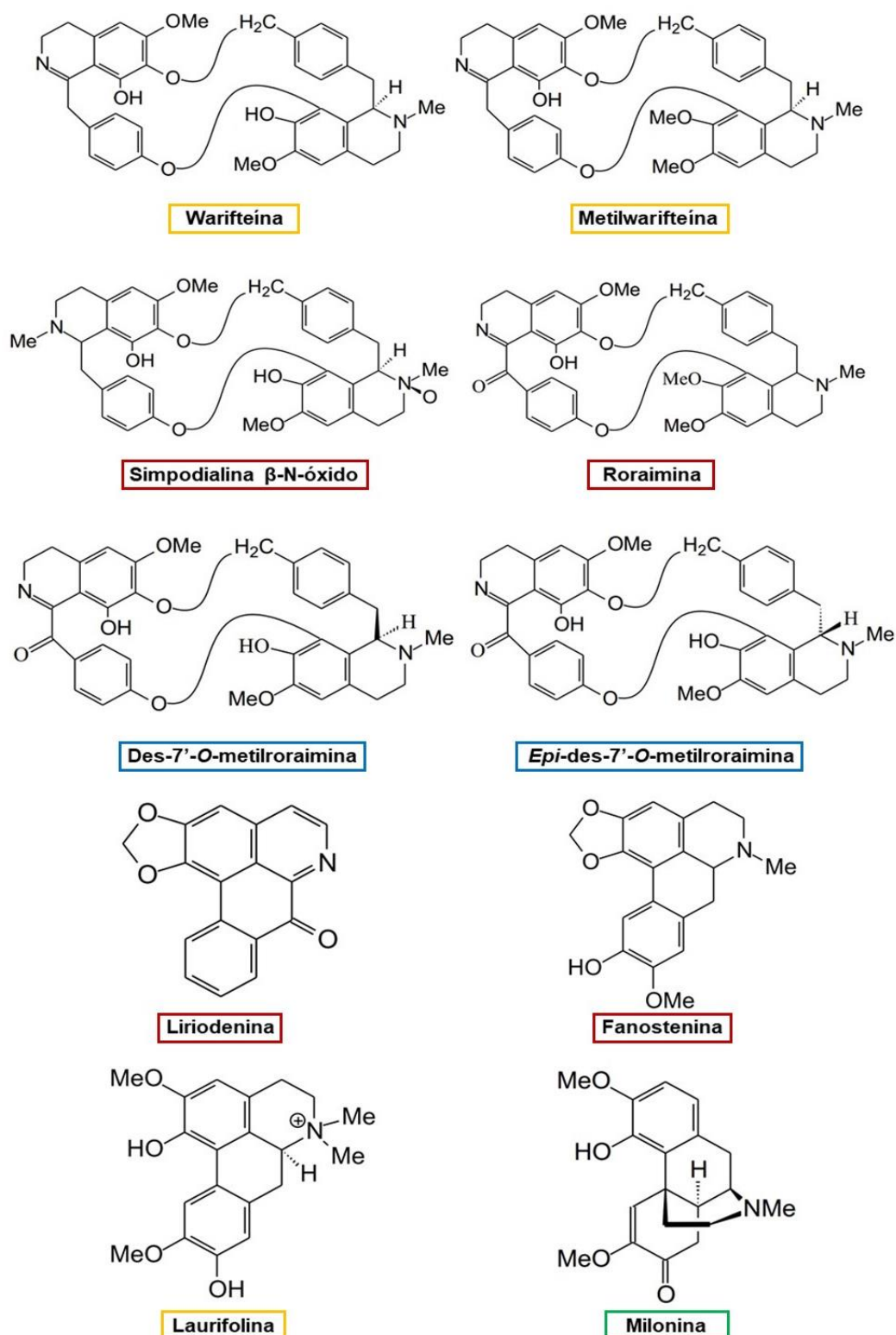
Fonte: Adaptado de PORTO; BASÍLIO; AGRA, 2008.

Os metabólitos que apresentam as reações histoquímicas mais intensas positivamente nas seções foliares foram os alcaloides, compostos fenólicos, polissacarídeos ácidos e lipídeos totais, dados que corroboram a triagem fitoquímica, que também demonstram a presença de compostos fenólicos e alcaloides no extrato hidroalcoólico das folhas, com exceção das saponinas, para as quais os resultados histoquímicos não foram conclusivos (CAVALCANTI et al., 2014). Esses resultados confirmam a complexidade das secreções idioblásticas e indicam tecidos fundamentais como locais de síntese e armazenamento desses compostos (CAVALCANTI et al., 2014).

A caracterização estrutural de componentes presentes em espécies vegetais medicinais, favorecem a identificação de fármacos alvo que detém as atividades biológicas das espécies. Considerando esse aspecto, em paralelo aos demais estudos, as análises fitoquímicas permitiram o isolamento, identificação e caracterização de dez alcaloides oriundos dos extratos de *C. sympodialis* (Figura 7). Seis deles, possuem o núcleo bisbenzilisquinolínico, warifteina (WAR) e metilwarifteina (MWAR) (BARBOSA FILHO; AGRA; THOMAS, 1997; MUKHERJEE; KEIFER, 2003), simpodialina- $\beta$ -N-óxido, roraimina (DE LIRA et al., 2002), des-7'-O-metilroraimina e *epi*-des-7'-O-metilroraimina (MARINHO et al.,

2013). Outros três possuem o núcleo aporfínico, sendo eles a liriodenina, laurifolina e fanostenina (BARBOSA FILHO; AGRA; THOMAS, 1997; CUNHA et al., 2019). E um deles apresenta o núcleo morfinâmico, a milonina (MIL) (DE FREITAS et al., 1995).

Figura 7: Estruturas moleculares dos alcaloides isolados de *C. sympodialis*



| Localização dos alcaloides na espécie       |                                                     |                                                       |                                           |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <span style="color: green;">■</span> Folhas | <span style="color: blue;">■</span> Folhas e Rizoma | <span style="color: yellow;">■</span> Folhas e Raízes | <span style="color: red;">■</span> Raízes |

Fonte: Elaborado pelo autor baseado em BARBOSA-FILHO et al., 2020.

Além de fornecer informações sobre as características inerentes às espécies vegetais, o isolamento, caracterização e identificação desses metabólitos secundários, favorece a investigação de moléculas alvo em sistemas biológicos. Dentre os metabólitos secundários isolados de *C. sympodialis*, alguns deles já possuem atividades biológicas relatadas, porém, alguns desses estudos foram realizados isolando esses componentes de outras espécies vegetais. As atividades biológicas dos componentes identificados serão descritas posteriormente.

A WAR, por ser encontrada em maior concentração e deter a atividade biológica que caracteriza o efeito terapêutico de *C. sympodialis*, foi definida como marcador biológico da planta (BARBOSA FILHO; AGRA; THOMAS, 1997). Considerando sua importância para a espécie, Aragão e colaboradores, em 2001, propuseram uma metodologia analítica para o ensaio de identificação e pureza de WAR, no qual foi empregado um método que utiliza um sistema foto visual de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG), sendo possível identificar impurezas após a purificação da WAR, conferindo assim um importante método para o controle de qualidade do derivado vegetal (ARAGÃO; FILHO; MACÊDO, 2001).

Posteriormente, Aragão e colaboradores, em 2002, aplicaram a técnica de TG para definir o controle de qualidade dos extratos de *C. sympodialis*. Esse estudo foi realizado com diferentes extratos e componentes isolados (folhas secas (FOL), torta das folhas (TF), raízes (RA), torta das raízes (TR), extrato bruto das folhas (EBF), extrato bruto das raízes (EBR), fração dos alcaloides totais das folhas (FAT-f), fração dos alcaloides totais das raízes (FAT-r), frações (F 10-12), MWAR, frações (F 36-64) e WAR. A análise comparativa das curvas TG das amostras obtidas das folhas ou raízes de *C. sympodialis* mostrou que as amostras alcaloídicas apresentam maior estabilidade nesses extratos, e a WAR mostra-se a mais estável em ambas análises, e essa alta estabilidade térmica dos alcaloides bisbenzilisoquinolínicos presentes na espécie permite a utilização de processos de secagens que utilizam calor, especialmente *Spray Dryer*, sem alterar significativamente a qualidade do extrato seco (ARAGÃO et al., 2002), favorecendo assim o desenvolvimento de fitomedicamentos sólidos, como comprimidos.

Ainda no que tange ao controle de qualidade da espécie vegetal, Cavalcanti e colaboradores, em 2014, também forneceram dados importantes para *C.*

*sympodialis*, investigando os componentes químicos presente nas folhas da planta (CAVALCANTI et al., 2014). Esse estudo apresentou dados sobre a determinação do teor de umidade, do teor total de cinzas, do teor de etanol extraível e índice de expansão, bem como do tamanho de partículas presentes no extrato, e a concentração de WAR, que variou de 0.004–0.006% (CAVALCANTI et al., 2014).

Em 2012, Barreto-Gomes e colaboradores, realizaram a determinação das curvas de pressão de vapor de WAR e MWAR usando TG, mostrando que ambos alcaloides apresentaram cinética de ordem zero para volatilização, padronizando um método rápido, sensível e barato para determinação quantitativa desses metabólitos como produtos farmacêuticos (GOMES; FREIRE; ARAGÃO, 2012).

Como os alcaloides são os principais componentes encontrados em *C. sympodialis* e possuem atividades biológicas com potencial terapêutico descritos, uma etapa importante para garantir a reprodutibilidade das ações biológicas do extrato etanólico das folhas é a quantificação de seus marcadores bioativos, e também o conhecimento das variações sazonais de seu acúmulo na planta. Dentro dessa perspectiva, Marinho e colaboradores, em 2011, validaram um método de quantificação simultânea dos alcaloides WAR, MWAR e MIL no extrato etanólico das folhas de *C. sympodialis*. As análises foram realizadas em um período de nove meses (outubro a junho), período vegetativo da planta, tendo as amostras dos extratos analisadas através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção de ultravioleta (UV) (MARINHO; BARBOSA-FILHO; OLIVEIRA, 2012).

Os resultados mostram que os níveis de alcaloides nas folhas diminuíram com o período de formação dos frutos nas plantas, com menor concentração no mês de junho, período em que os frutos das partes aéreas tornam-se totalmente maduros, e com o pico de concentração entre os meses de outubro e fevereiro, sugerindo que a diminuição dos teores desses alcaloides nas folhas pode estar associada à sua concentração nos frutos durante a maturação da planta (MARINHO; BARBOSA-FILHO; OLIVEIRA, 2012). Em 2017, Alves e colaboradores, relataram o desenvolvimento de uma padronização utilizando a Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massa (LC-MS/MS) para quantificação dos alcaloides WAR e MWAR nas infusões foliares de *C. sympodialis*,

a preparação comumente utilizada pela população como medida terapêutica (ALVES et al., 2017b).

Um estudo mais recente, realizou a análise metabolômica da espécie, dada a importância de avaliar em estudo qualitativo e quantitativo as variações no perfil dos metabólitos primários e secundários em resposta a fatores abióticos (ambientais) e bióticos, como a fenologia. Esse estudo objetivou avaliar a relação entre a composição química de extratos polares preparados a partir de folhas cultivadas de *C. sympodialis* coletadas em diferentes estágios fenológicos, bem como correlacionar a atividade espasmolítica desses extratos, que será melhor descrita posteriormente (DE MELO et al., 2020). Dentre os diversos componentes que foram identificados e quantificados nesse estudo, como aminoácidos, derivados de flavonóis, entre outros, os principais alcaloides, WAR e MWAR, considerados como componentes majoritários em *C. sympodialis*, não foram identificados nos extratos polares analisados a partir de 120 (WAR) e 150 dias (MWAR), onde os compostos fenólicos mostraram-se predominantes (DE MELO et al., 2020).

Estudos como estes demonstram as características inerentes a *C. sympodialis*, enfatizam a riqueza fitoquímica que essa espécie possui, sendo um vegetal com notável potencial biológico, e agrega, ainda, o respaldo científico para o conhecimento de espécies endêmicas, o que pode levar a valorização da fitoterapia local.

## **5.2 Propriedades biológicas de *C. sympodialis***

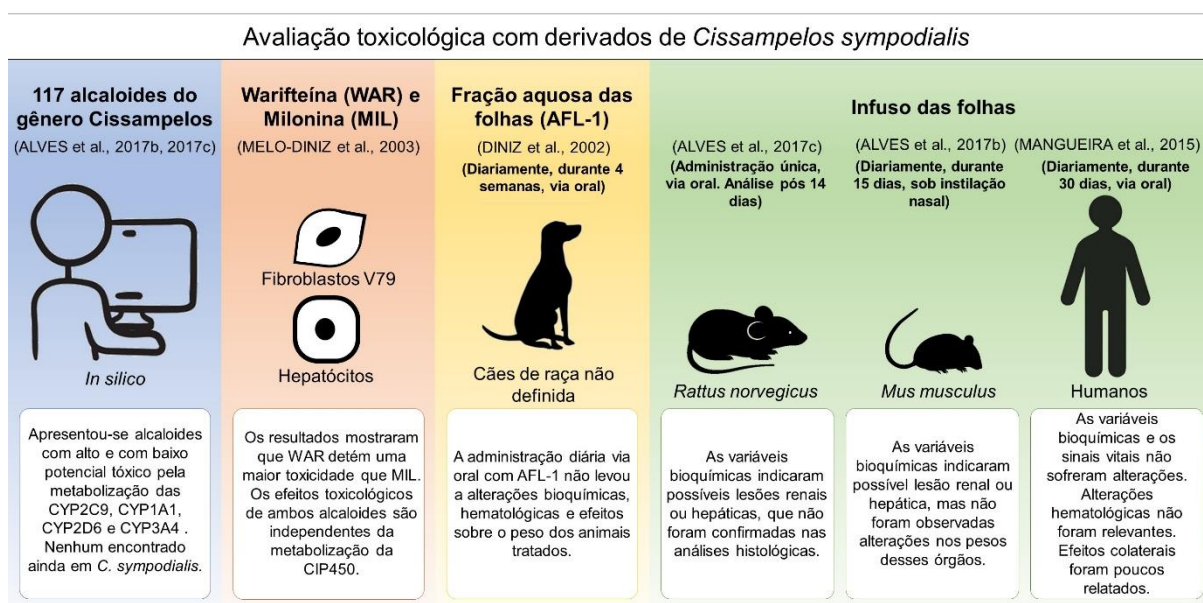
Diversos foram os estudos que investigaram as propriedades biológicas e o potencial terapêutico, bem como toxicológico de *C. sympodialis*. O uso popular da espécie relatado como atenuante para sintomas de resfriados, asma e doenças inflamatórias, foram importantes para investigação dessa atividade e respaldo científico para o uso popular. Todavia, considerando a variedade fitoquímica encontrada, outras atividades também foram investigadas e os resultados agregam ainda mais valor a espécie devido a sua plasticidade terapêutica em diversos modelos experimentais investigados.

Diferentes derivados de *C. sympodialis* foram investigados em diversos protocolos experimentais. As preparações dos diferentes extratos e frações produzidos com a espécie para análise farmacológica estão dispostas no Anexo I.

### 5.2.1 Aspectos toxicológicos

Alguns estudos com *C. sympodialis* foram conduzidos para entender principais manifestações que a utilização da planta ou seus derivados podem apresentar (Figura 8). Uma variedade de modelos experimentais foi empregada, com diferentes linhagens de células e animais, e também foi realizado um estudo clínico de Fase I, a fim de avaliar o surgimento de efeitos indesejáveis na utilização do infuso das folhas, como é indicado na medicina popular (Tabela 3).

**Figura 8: Estudos toxicológicos realizados com *C. sympodialis***



Fonte: Elaborado pelo autor. OLIVEIRA, 2021.

**Tabela 3: Estudos sobre os ensaios toxicológicos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano              | Design do estudo                  | Componente avaliado                                                                                      | Concentração ou dose avaliada          | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DINIZ, et al. 2002     | <i>in vivo</i>                    | AFL-1                                                                                                    | 45 mg/kg/dia                           | O tratamento via oral, mesmo com uma dose cinco vezes maior do que utilizada comumente em humanos, não apresentou efeitos tóxicos no modelo utilizado.                                                                                                                                                                                              |
| MELO, et al. 2003      | <i>in vitro</i>                   | MIL e WAR                                                                                                | 0-1000 M para cada componente          | IC <sub>50</sub> da MIL varia entre 100 e 400 µM e a IC <sub>50</sub> da WAR varia entre 10 e 35 µM após o tratamento de fibroblastos V79 ou hepatócitos; provavelmente, os efeitos tóxicos induzidos por WAR e MIL independem do citocromo P450, sugerido pelo teste com inibidor dessa enzima.                                                    |
| MANGUEIRA, et al. 2015 | Estudo clínico de Fase I          | Infuso das folhas                                                                                        | 1 g de folhas secas/150 mL de água/dia | A utilização diária do infuso das folhas, durante trinta dias, seu uso foi bem tolerado, não apresentou alterações nas análises laboratoriais, nem reações adversas significativas                                                                                                                                                                  |
| ALVES, et al. 2017     | <i>in silico</i> e <i>in vivo</i> | <i>In silico</i> : 117 alcaloides do gênero <i>Cissampelos</i><br><br><i>In vivo</i> : Infuso das folhas | 2000 mg/kg                             | O estudo <i>in silico</i> identificou 5 alcaloides com alta e 5 alcaloides com baixa toxicidade, através da possível interação com enzimas metabólicas. A avaliação toxicológica de dose única, via oral, apresentou algumas alterações sugestivas de lesão renal ou hepática, mas não foram observadas lesões teciduais nas análises histológicas. |

Continuação da tabela 3

| Autor/Ano          | Design do estudo                  | Componente avaliado                                                                                      | Concentração ou dose avaliada | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ALVES, et al. 2017 | <i>in silico</i> e <i>in vivo</i> | <i>In silico</i> : 117 alcaloides do gênero <i>Cissampelos</i><br><br><i>In vivo</i> : Infuso das folhas | 1 ou 3 g/100 mL de água/dia   | O estudo <i>in silico</i> identificou 5 alcaloides com alta e 5 alcaloides com baixa toxicidade, através da possível interação com enzimas metabólicas cerebrais. A avaliação toxicológica de dose repetida, sob instilação nasal, apresentou algumas alterações sugestivas de lesão renal ou hepática, mas não foram observadas lesões teciduais nas análises de peso desses órgãos, bem como não foram observadas lesões nas cavidades nasais e pulmonares através da análise histológica. |

Nota: AFL-1 = Fração aquosa do extrato etanólico das folhas; WAR = Warifteína; MIL = Milonina; IC50 = Concentração Inibitória responsável por inibir a viabilidade de 50% das células em estudo.

Em 2002, Diniz e colaboradores, realizaram um estudo que avaliou a toxicidade de doses repetidas do AFL-1 em um período de quatro semanas, utilizando um modelo experimental com uma espécie não roedora. Baseado em estudos anteriores que utilizaram ratos *Wistar*, o ALF-1 não apresentou nenhum efeito toxicológico quando administrado diariamente, via oral (v.o.), durante quatro semanas, na dose de 9 mg/kg, usualmente utilizada em seres humanos. No entanto, em doses mais elevadas (45 e 225 mg / kg, v.o.), o AFL-1 induziu um aumento significativo nos níveis de aspartato transaminase (AST) e globulina. O aumento nos níveis de AST foi completamente revertido em 15 e 30 dias após a interrupção do tratamento com AFL-1 (45 e 225 mg / kg, respectivamente) (MELO-DINIZ et al., 1999 apud DINIZ et al., 2002).

Nesse estudo, cães, machos e fêmeas, foram submetidos à administração diária com 45 mg/kg (v.o.) do AFL-1, durante quatro semanas. Como critério de avaliação, foram avaliadas variáveis bioquímicas (glicose, ureia, creatinina, colesterol total, triglicerídeos, ácido úrico, proteínas e frações totais, fosfatase alcalina, transaminases, sódio, potássio, cálcio e magnésio), hematológicas (hemograma, leucograma e plaquetograma), e também o ganho de peso desses animais. Considerando os resultados desses parâmetros, não foram observadas alterações entre os grupos tratados com ALF-1 nos grupos controles não tratados. Esse estudo, embora não conclusivo, sugere que a administração do ALF-1 em uma dose cinco vezes maior à utilizada pela medicina popular não apresenta efeitos toxicológicos. (DINIZ et al., 2002).

Como dito anteriormente, WAR e MIL são alcaloides presentes em *C. sympodialis*, e esses desempenham atividades biológicas importantes, como atividade espasmolítica e antialérgica, respectivamente (DE F. CÔRTES et al., 1995; ALVES et al., 2017) tornando-se moléculas promissoras para o desenvolvimento de fitofármacos, e para isso, se faz necessário a avaliação do potencial toxicológico dessas moléculas. Melo e colaboradores, em 2003, utilizaram um protocolo *in vitro* para avaliar a citotoxicidade de WAR e MIL, utilizando testes como o Conteúdo de Ácido Nucleico (NAC), Ensaio de Redução do tetrazólio (MTT) e o Ensaio de captação do vermelho neutro (NRU), avaliando a Concentração Inibitória 50 (IC<sub>50</sub>) de ambos alcaloides em cultura de hepatócitos e fibroblastos V79 (MELO et al., 2003).

Esses perfis celulares foram escolhidos devido algumas particularidades. Os hepatócitos, por sua vez, possuem a capacidade de manter um nível suficiente de

metabolismo xenobiótico, são células que compõe o principal órgão de metabolismo de drogas, o fígado, e apresentam níveis elevados da enzima do citocromo P 450 (CIP450), ao contrário dos fibroblastos, que não contém níveis detectáveis dessa enzima, sendo incapazes de metabolizarem xenobióticos. Os testes de viabilidade determinaram a IC<sub>50</sub> nos diferentes ensaios, tanto para WAR nos hepatócitos (8-25 µM) e fibroblastos (10-35 µM), como para MIL (300-400 µM, nos hepatócitos, 100-290 µM, nos fibroblastos). Os resultados sugeriram que a WAR detém uma toxicidade maior que a MIL, e sugerem ainda que essa toxicidade pode ser independente do CIP450, confirmada com um teste nos hepatócitos, onde foi utilizada a cimetidina como inibidor da CIP450, confirmando que ambos alcaloides desempenham citotoxicidade independentemente dessa enzima (MELO et al., 2003).

A forma comumente utilizada de *C. sympodialis* pela população é através do decocto das raízes e, principalmente, através do infuso das folhas (BARBOSA FILHO; AGRA; THOMAS, 1997), que consiste em verter água quente sobre a droga vegetal e, em seguida, tampar ou abafar o recipiente por tempo determinado, a fim de extrair seus componentes, onde após filtragem e resfriamento, está pronto para consumo (ANVISA, 2011). Oferecendo características particulares às formulações já avaliadas, se fez necessário investigar o possível potencial toxicológico do infuso das folhas de *C. sympodialis*. Alves e colaboradores, em 2017, avaliaram o potencial toxicológico *in vivo* desse infuso, tanto através da administração oral, em *Rattus norvegicus* (ALVES et al., 2017c), bem como pela inalação em camundongos *Mus musculus* (ALVES et al., 2017b).

Em ambos estudos, ensaios *in silico* também foram realizados, a fim de identificar o potencial toxicológico de 117 alcaloides encontrados em espécies do gênero *Cissampelos*. A partir dos valores de predição para DL<sub>50</sub>, bem como o potencial de interação com enzimas hepáticas, foram identificados cinco alcaloides com alta e cinco alcaloides com baixa toxicidade através da metabolização das CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4 (ALVES et al., 2017c), bem como cinco alcaloides com alta e cinco alcaloides com baixa toxicidade através da metabolização da CYP1A1, em conjunto com as CYP2D6 e CYP3A4, analisadas também no estudo anterior (ALVES et al., 2017b). Entre os alcaloides descritos nessas análises, nenhum foi ainda encontrado em *C. sympodialis*.

As análises *in vivo* em *Rattus norvegicus*, realizadas após 14 dias de uma única administração do infuso (2000 mg/kg), via oral demonstraram diminuição do consumo de água em machos e diminuição do consumo de ração em ambos os sexos, porém não houveram alterações entre o peso desses animais. As variáveis hematológicas não apresentaram alterações, já as variáveis bioquímicas indicaram possíveis lesões renais ou hepáticas, que não foram confirmadas nas análises histológicas, apresentando uma resposta tolerável em um protocolo de toxicidade aguda (ALVES et al., 2017c). Em camundongos *Mus musculus*, o infuso foi administrado sob instilação nasal, em duas doses diferentes (32 mg/kg ou 96 mg/kg sendo 1 g ou 3 g para cada 100 mL de água, respectivamente), uma vez por dia, durante 15 dias. Os resultados mostraram na maior dose avaliada, alterações nas variáveis bioquímicas que poderiam indicar lesão renal ou hepática, mas não foram observadas alterações nos pesos desses órgãos. Os resultados mostraram ainda, preservação da histoarquitetura pulmonar e nasal para a dose de 1 g/kg, já na administração da dose de 3 g/kg foi observada vasodilatação nasal, efeito ainda não descrito com a utilização do infuso (ALVES et al., 2017b). Ambos estudos mostraram boa tolerância da administração do infuso das folhas de *C. sympodialis* em doses superiores às recomendadas para uso terapêutico, indicando segurança em roedores.

A avaliação da segurança clínica da utilização do infuso (chá) das folhas de *C. sympodialis* foi realizada em um ensaio clínico, aberto e não randomizado, no qual participaram 17 voluntários (6 homens e 11 mulheres), que utilizaram diariamente o chá feito com sachês padronizados contendo 1 g de folhas secas em 150 mL de água, durante 4 semanas. Análises bioquímicas, hematológicas, sinais vitais (temperatura, frequência respiratória, frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e diastólica, massa corporal) e possíveis efeitos colaterais foram avaliados (MANGUEIRA et al., 2015).

As análises foram realizadas antes da primeira utilização do chá, uma vez por semana durante a duração do estudo, e após a última ingestão do chá. Não foram observadas alterações nas variáveis bioquímicas (como esperado devido aos estudos em roedores), como também sob os sinais vitais. Algumas alterações nas variáveis hematológicas foram descritas, tais como a diminuição de leucócitos totais e neutrófilos, e aumento de linfócitos nos pacientes do sexo masculino, e também o aumento de eosinófilos nos pacientes do sexo feminino, todavia, nenhuma patologia

associada a essas alterações foram diagnosticadas nesses pacientes, sugerindo uma possível alteração fisiológica normal e esperada. Os efeitos colaterais avaliados (retenção de fluidos, diminuição das dores musculares, hidratação de calcanhares, apetite diminuído, redução de cândida, diminuição de formigamento, aumento da motilidade intestinal, tontura, sonolência e insônia) foram pouco relatados, variando entre 5,88-29,41% entre os pacientes (MANGUEIRA et al., 2015).

Os resultados obtidos nesse estudo, complementam os obtidos nas análises não clínicas, demonstrando baixa toxicidade do infuso das folhas de *C. sympodialis*, na dosagem e via de administração testada, fornecendo embasamento necessário para prosseguimento dos estudos clínicos, desenvolvimento de uma forma farmacêutica comercial e registro do produto como medicamento (MANGUEIRA et al., 2015).

Os estudos que avaliaram o potencial toxicológico de *C. sympodialis* e seus derivados, fornecem uma base importante sobre a segurança da utilização dessa espécie como medida farmacológica, respaldam sua utilização popular e direcionam investigações futuras que serão essenciais para a efetividade do seu uso como MF ou PTF.

## **5.2.2 Aspectos farmacológicos**

### **5.2.2.1 Atividade espasmolítica**

O uso popular para o tratamento da asma, direcionou a investigação da possível atividade espasmolítica detida pela espécie (Tabela 4). Em 1995, um dos primeiros estudos foi publicado confirmando tal atividade, no qual Cortês e colaboradores avaliaram a ação espasmolítica da WAR (DE F. CÔRTEZ et al., 1995).

**Tabela 4: Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre a atividade espasmolítica realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano                 | Design do estudo | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------|------------------|---------------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DE F. CÔRTEZ et al., 1995 | <i>in vitro</i>  | WAR                 | $1 * 10^{-5} - 1*10^{-4}$     | A WAR produziu um antagonismo reversível, inespecífico e não competitivo sobre a contração da musculatura lisa de íleo e traqueia de cobaias, bem como em úteros de ratas. O mecanismo parece ser dependente da inibição dos canais de $Ca^{2+}$ .           |
| DE-FREITAS et al., 1996   | <i>in vitro</i>  | WAR                 | $1 * 10^{-5} - 8 * 10^{-5} M$ | Esse estudo respalda a ação inibitória da WAR sobre os canais de $Ca^{2+}$ presentes na musculatura lisa na aorta de coelhos.                                                                                                                                |
| DE MELO et al., 2020      | <i>in vitro</i>  | F-CsEP              | 0,1 – 1000 µg/mL              | Extratos polares preparados com folhas coletadas em diferentes estágios fenológicos de <i>C. sympodialis</i> , produziram um efeito espasmolítico sobre a musculatura lisa da traqueia de cobaias, mesmo nos extratos onde WAR e MWAR não foram encontrados. |

Nota: WAR = Warifteína; MWAR = Metilwarifetina; F-CsEP = Extratos Polares das Folhas de *C. sympodialis*.

Diferentes modelos experimentais foram avaliados e, nesses, a WAR produziu antagonismo reversível, inespecífico e não competitivo de contrações induzidas por histamina, carbacol e bradicinina no íleo de cobaia ( $4,90 \pm 0,15$ ;  $4,95 \pm 0,20$  E  $5,03 \pm 0,11$ ); antagonizou as contrações induzidas pela oxitocina e pela bradicinina no útero de ratas de maneira semelhante ( $4,30 \pm 0,26$  e  $3,76 \pm 0,06$ ); e em traqueia da cobaia, o alcaloide inibiu o tônus espontâneo ( $IC_{50}$ ,  $1,1 \times 10^{-5}$  M), bem como as contrações sustentadas induzidas pelo carbacol ( $4,57 \pm 0,10$ ) (DE F. CÔRTEZ et al., 1995). Em conjunto, os resultados mostraram que a inibição do influxo de  $Ca^{2+}$ , através de canais de  $Ca^{2+}$  dependentes de voltagem, pode ser parcialmente responsável por sua atividade antiespasmódica (DE F. CÔRTEZ et al., 1995).

Em 1996, a regulação do  $Ca^{2+}$  intracelular como mecanismo de atividade espasmolítica de WAR, foi avaliada em aorta de coelho por De Freitas e colaboradores. Nesse estudo, a WAR antagonizou, de maneira não competitiva e reversível, contrações induzidas por KCl, mediadas pela entrada de  $Ca^{2+}$  através de canais operados por voltagem. Em adição, contrações sustentadas induzidas por noradrenalina mediadas pela entrada de  $Ca^{2+}$  através de canais operados por receptor também foram inibidas (DE FREITAS et al., 1996).

Em meio livre de  $Ca^{2+}$ , WAR reduziu a contração transitória induzida por noradrenalina, dependente de  $Ca^{2+}$  intracelular, por inibir a liberação deste. Todavia, o alcaloide não foi capaz de inibir essa liberação quando a contração foi induzida por cafeína. Logo, os resultados indicaram que a WAR pode causar relaxamento muscular, inibindo os canais de  $Ca^{2+}$  e modificando os estoques de  $Ca^{2+}$  intracelulares sensíveis à noradrenalina (DE FREITAS et al., 1996).

Um estudo recente, realizado em 2020 por De Melo e colaboradores, investigou a correlação da atividade espasmolítica de extratos polares das folhas de *C. sympodialis* e da sua composição química em diferentes estágios fenológicos da espécie (DE MELO et al., 2020). Com extratos polares preparados a partir folhas colhidas 60, 90, 120, 150, 180 e 210 dias após a semeadura da espécie, a ação espasmolítica foi avaliada sobre tiras de traqueia de cobaia (DE MELO et al., 2020).

Esse estudo trouxe uma visão ousada da compressão farmacológica e terapêutica que a espécie possuía até então. Nos extratos preparados com folhas colhidas após 210 dias de semeadura, os alcaloides WAR e MWAR não foram identificados nas amostras, e mesmo assim os extratos possuíam atividade relaxante

na musculatura lisa da traqueia das cobaias (DE MELO et al., 2020). Os autores consideraram então que esses alcaloides podem não participar de forma efetiva do relaxamento da traqueia, o que desafia as conclusões de estudos anteriores (DE FREITAS et al., 1996). Entretanto, devemos considerar que outros compostos, presentes nos extratos polares, podem estar exercendo tal atividade.

#### **5.2.2.7 Atividades antiasmática, anti-inflamatória e antialérgica**

Os efeitos de *C. sympodialis* descritos nessa seção são os que apresentam maior número de estudos e esclarecimentos dos mecanismos de ação que a espécie detém (Tabela 5). Em 1995, foi publicado o primeiro artigo que demonstrava o potencial antiasmático da espécie, realizado por George Thomas e colaboradores (THOMAS et al., 1995).

**Tabela 5: Estudos sobre os efeitos antiasmáticos, anti-inflamatórios e antialérgicos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano           | Design do estudo                 | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada                                      | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|---------------------|----------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| THOMAS, et al. 1995 | <i>In vitro</i>                  | AFR                 | 1-300 µg/mL                                                        | Entre os diferentes agentes utilizados para induzir a contração da musculatura lisa traqueal de cobaias, o AFR foi capaz de inibir essas contrações. Diminuiu o tônus espontâneo dessas traqueias, em um mecanismo dependente da interação de β-adrenoreceptores. E ainda aumentou a concentração de cAMP em macrófagos alveolares. |
| THOMAS, et al. 1997 | <i>In vitro</i> e <i>in vivo</i> | AFL-2               | <i>In vitro</i> : 1 – 135 µg/mL<br><i>In vivo</i> : 25 – 200 mg/kg | O tratamento com AFR inibiu o tônus espontâneo da traqueia, em um mecanismo dependente dos β2-adrenoreceptores. Reduziu a contração da traqueia de cobaias previamente sensibilizadas. Aumentou o TPC em protocolos de choque anafilático.                                                                                          |
| THOMAS, et al. 1997 | <i>In vitro</i>                  | AFL-2 e WAR         | AFL-2: 3 – 300 µg/mL<br>WAR: 10 – 90 µg/mL                         | O AFL inibe, de maneira não seletiva, as PDEs IV e V, levando ao aumento intracelular de cAMP e cGMP, respectivamente. O efeito da inibição da PDE IV, pode ser dependente da ação da WAR. Essa ação está relacionada ao efeito relaxante na musculatura lisa de traqueias de cobaias.                                              |

Continuação da tabela 5:

| Autor/Ano                                        | Design do estudo | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------|------------------|---------------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PIUVEZAM, et al. 1999                            | <i>in vitro</i>  | AFL-3               | 6,35-400 µg/mL                | Em células do baço de camundongos estimuladas com concavalina, o AFL foi capaz de diminuir a produção de INF-γ e estimular a produção de IL-10 e IL-4, sem interferir na produção de citocinas em células não estimuladas.                             |
| THOMAS; SELAK;<br>HENSON; 1999                   | <i>in vitro</i>  | AFL-2               | 10-300 µg/mL                  | O AFL foi capaz de inibir a degranulação de neutrófilos humanos, através de um mecanismo dependente de cAMP.                                                                                                                                           |
| BATISMA-LIMA, et al.<br>2001                     | <i>in vivo</i>   | AFL-3               | 50-200 mg/mL                  | O AFL apresentou efeito antiedematogênico em modelo experimental de edema de orelha, e redução da migração de células para a cavidade peritoneal de camundongos desafiados com carragenina, em decorrência, principalmente da migração de neutrófilos. |
| ALEXANDRE-MOREIRA;<br>PIUVEZAM; PEÇANHA,<br>2003 | <i>in vitro</i>  | AFL-2               | 6,5 – 100 µg/mL               | O AFL foi capaz de inibir a proliferação e liberação de imunoglobulinas em linfócitos B, em um mecanismo dependente do aumento de cAMP.                                                                                                                |
| ALEXANDRE-MOREIRA,<br>et al. 2003                | <i>in vitro</i>  | AFL-2               | 13-100 µg/mL                  | Os resultados indicam que um dos mecanismos pelo qual o AFL mostraria um efeito anti-inflamatório poderia estar relacionado ao decréscimo na atividade dos macrófagos infectados com <i>Trypanossoma cruzi</i>                                         |

Continuação da Tabela 5:

| Autor/Ano                               | Design do estudo          | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada                                   | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| BEZERRA-SANTOS et al., 2004             | <i>in vivo</i>            | AFL-3               | 200 – 600 mg/kg/dia                                             | O tratamento diário promoveu uma diminuição dos níveis de IgE total e alérgeno específico em camundongos alérgicos, devido a supressão do perfil T <sub>H</sub> 2, pelo aumento da produção de INF- $\gamma$ .                         |
| BEZERRA-SANTOS; PIUVEZAM; PEÇANHA, 2005 | <i>In vivo</i>            | AFL-3               | 200 e 400 mg/kg                                                 | Em protocolos de indução de choque anafilático, o tratamento com o AFL foi capaz de retardar o tempo de mortalidade dos animais alérgicos.                                                                                             |
| BEZERRA-SANTOS, et al. 2006             | <i>In vitro e in vivo</i> | AFL-3 e WAR         | AFL-3: 4-400 mg/kg<br>WAR: 50 $\mu$ g/animal                    | Os resultados mostram ação direta do extrato sobre a diminuição da migração de eosinófilos para o pulmão dos animais sensibilizados, devido a possível ação da WAR, que atuou também inibindo a liberação de CysLTs por essas células. |
| COSTA, et al. 2008                      | <i>In vivo</i>            | WAR                 | 0,4-10 mg/kg                                                    | O tratamento com WAR foi capaz de na produção de IgE, ativação de leucócitos, hiperalgesia térmica, degranulação de mastócitos e prurido em camundongos sensibilizados.                                                                |
| ROCHA, et al. 2010                      | <i>In vitro e in vivo</i> | WAR                 | <i>In vitro</i> : 0,02-2 $\mu$ M<br><i>In vivo</i> : 50 $\mu$ g | WAR apresenta ação direta sobre os linfócitos B, inibindo a proliferação de liberação de imunoglobulinas. Esse mecanismo mostrou-se dependente da diminuição dos níveis de Ca <sup>2+</sup> e aumento de cAMP.                         |

Continuação da Tabela 5:

| Autor/Ano                   | Design do estudo | Componente avaliado    | Concentração ou dose avaliada                    | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------|------------------|------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CERQUEIRA-LIMA, et al. 2010 | <i>In vivo</i>   | AFL-3, FAT e WAR       | AFL-3: 400 mg/kg<br>FAT: 8 mg/kg<br>WAR: 4 mg/kg | Em um modelo de alergia respiratória induzida pelo extrato de <i>Blomia tropicalis</i> , os tratamentos foram capazes de diminuir a migração total de células inflamatórias para o pulmão de camundongos alérgicos. Todavia, não foi observado a diminuição dos níveis de IgE nesses animais. |
| BEZERRA-SANTOS, et al. 2012 | <i>In vivo</i>   | ALF-3 e WAR            | AFL-3: 40mg/kg<br>WAR: 2mg/kg                    | Os tratamentos foram capazes de modular a AHR de camundongos asmáticos, além de inibir a migração de células e o remodelamento pulmonar nesses animais.                                                                                                                                       |
| VIEIRA, et al. 2012         | <i>In vivo</i>   | AFL-2, WAR, MWAR e MIL | AFL-2: 10-100 mg/kg<br>WAR, MWAR e MIL: 2 mg/kg  | A inalação do AFL inibiu reações alérgicas em animais, como o recrutamento de células no BAL e no sangue periférico de animais sensibilizados, e o título de IgE alérgeno específica. Essa ação do extrato pareceu está relacionada com a atividade de MWAR.                                  |
| COSTA, et al. 2013          | <i>In vivo</i>   | AFL-3, WAR e MWAR      | AFL-3: 200 mg/kg<br>WAR ou MWAR: 2 mg/kg         | WAR e MWAR modulam a resposta imune no protocolo de alergia alimentar pelo aumento do perfil T regulatório.                                                                                                                                                                                   |

Continuação da Tabela 5:

| Autor/Ano           | Design do estudo          | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada                                     | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------|---------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| LIMA, et al. 2014   | <i>In vitro e in vivo</i> | WAR                 | <i>In vitro</i> : 2 $\mu$ M<br><i>In vivo</i> : 10 $\mu$ g/animal | O tratamento com WAR inibiu a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos desafiados com caseína, por possível diminuição de $Ca^{2+}$ intracelular. Diminuiu ainda a liberação de NETs por neutrófilos. |
| ALVES et al. 2017a  | <i>In vitro e in vivo</i> | MIL                 | <i>In vivo</i> : 0,5-10 mg/kg<br><i>In vitro</i> : 0,1-10 $\mu$ M | MIL apresentou ação anti-edematogênica por ação direta sobre a degranulação de mastócitos. Ainda, retardou a morte de camundongos em um protocolo de choque anafilático desencadeado por um agente degranulador de mastócitos. |
| SILVA, et al. 2017  | <i>In vivo</i>            | MIL                 | 0,5-2 mg/kg                                                       | MIL reduziu o edema de pata desencadeado por diferentes agentes flogísticos, bem como reduziu a migração de PMN para o peritônio de animais desafiados com carragenina. Apresentou ação nociceptiva em protocolo de dor local. |
| VIEIRA, et al. 2018 | <i>In vivo</i>            | WAR                 | 2 mg/kg                                                           | O tratamento sob instilação nasal em camundongos alérgicos, foi capaz de diminuir sinais característico de rinite alérgica, como alterações teciduais e título de IgE alérgeno específica.                                     |

Continuação da Tabela 5:

| Autor/Ano                   | Design do estudo | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada  | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------|------------------|---------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| BEZERRA-SANTOS, et al. 2020 | <i>In vivo</i>   | AFL-3 e WAR         | AFL-3: 40 mg/kg<br>WAR: 2mg/kg | Ambos tratamentos foram capazes de diminuir sinais característicos de asma e ansiedade em animais alérgicos, além de melhorar a frequência respiratória desses animais.                                                             |
| CAVALCANTI, et al. 2020     | <i>In vivo</i>   | WAR ou MWAR         | WAR ou MWAR: 2 mg/kg           | Em um protocolo experimental de CARAS, WAR e MWAR foram capazes de diminuir a migração de células e liberação de citocinas do perfil T <sub>H</sub> 2, devido ao aumento de INF- $\gamma$ e polarização do perfil T <sub>H</sub> 1. |

Nota: AFR = Fração aquosa do extrato etanólico das raízes; FAT = Fração de Alcaloides Totais; AFL-2 e AFL-3 = Fração aquosa do extrato etanólico das folhas; WAR = Warifteína; MWAR= Metilwarifteína. MIL = Milonina; TPC = Tempo pré convulsivo; INF- $\gamma$  = Interferon gama; IL-4 e IL-10 = interleucinas 4 e 10; CysLTs = Leucotrienos cisteínicos; PDE = Fosfodiesterase; PMN = Polimorfonucleares; IgE = Imunoglobulina E; NETs = Armadilhas Extracelulares de Neutrófilos; BAL = Lavado Broncoalveolar; T<sub>H</sub>1 = Resposta inflamatória do Tipo 1; T<sub>H</sub>2 = Resposta inflamatória do Tipo 2; CARAS = Síndrome da Asma e Rinite Alérgicas Combinadas.

O tratamento com a fração aquosa do extrato etanólico das raízes (AFR) foi avaliado em tiras de traqueais de cobaias estimuladas com carbacol, histamina, prostaglandina 2 $\alpha$  ou substância P. Seu efeito também foi avaliado no tônus espontâneo, investigando a participação dos  $\beta$ -adrenoreceptores (THOMAS et al., 1995). A AFR foi capaz de reduzir o tônus espontâneo da traqueia de cobaia, em um mecanismo que indica um envolvimento parcial dos  $\beta$ -adrenoreceptores. Além disso, a AFR foi capaz de inibir as contrações traqueais induzidas pelos agonistas participantes dos processos fisiopatológicos da asma (THOMAS et al., 1995).

Considerando ainda que a migração de leucócitos para a cavidade broncoalveolar favorece a inflamação crônica e o remodelamento das vias aéreas, o efeito do AFR também foi observado sobre essas células, os macrófagos alveolares. Os resultados mostraram que níveis de cAMP intracelular apresentavam-se significativamente aumentados em células estimuladas por AFR, o que sugere que essa pode estimular a enzima adenilil ciclase (THOMAS et al., 1995).

Em 1999, Piuvezam e colaboradores avaliaram o efeito do AFL-3 sobre a proliferação de células esplênicas de camundongos estimuladas por concanavalina-A (Con-A) e a secreção de citocinas (PIUVEZAM et al., 1999). O AFL-3 inibiu as respostas proliferativas das células ativadas por Con-A, sem inibir a produção de citocinas pelas células ativadas. Induziu ainda, aumento na secreção de IL-10, efeito que pode ser observado mesmo após uma diminuição significativa na proliferação dessas células (PIUVEZAM et al., 1999).

Ainda, o AFL não inibiu a secreção de IL-2, e também não teve seu efeito inibido pela adição de IL-2 exógena. Em sua presença no meio, houve redução nos níveis de IFN- $\gamma$  secretado, enquanto a produção de IL-10 e IL-4 aumentou, mas não gerou alterações em células não estimuladas com Con-A. Os resultados indicam que o aumento da produção de IL-10/IL-4 induzida pelo AFL-3 regula negativamente a secreção de IFN- $\gamma$  e as respostas proliferativas de células T presentes no baço (PIUVEZAM et al., 1999).

No mesmo ano, George Thomas e colaboradores, avaliaram o efeito do AFL-2 sob neutrófilos humanos. O estudo mostrou que a fração aquosa pode inibir a liberação de lisoenzimas e mieloperoxidases (MPO) pelos neutrófilos, um efeito que pode ser mediado por cAMP, pois teve sua ação potencializada quando essas células foram pré-tratadas com um inibidor da PDE. A presença de proteína quinase A (PKA)

também se apresentou aumentada em células tratadas com AFL (THOMAS; SELAK; HENSON, 1999).

No sentido de entender o mecanismo de ação anti-inflamatório de *C. sympodialis* sobre os neutrófilos, Lima e colaboradores avaliaram o efeito da WAR nessas células e demonstram que o tratamento com o alcaloide foi capaz de inibir a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal em camundongos desafiados com caseína (LIMA et al., 2014). Essa inibição *in vivo* foi mediada pela inibição das interações das células com as células do endotélio que expressavam selectinas, pois também não foi observada diminuição do recrutamento de neutrófilos na medula óssea desses animais (LIMA et al., 2014).

Nas análises *in vitro*, verificou-se que a WAR, de forma semelhante ao AFL-2 (THOMAS; SELAK; HENSON, 1999), foi capaz de aumentar os níveis de cAMP nos neutrófilos. Esse efeito pode ser responsável pela diminuição de cálcio intracelular, que conseqüentemente leva a diminuição da migração dessas células para os tecidos. Ainda, o alcaloide foi capaz de inibir a produção e liberação das armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs), sem interferir nos processos oxidativos desencadeados com acetato de forbol miristato ou lipopolissacarídeo (LIMA et al., 2014).

George Thomas e colaboradores avaliaram a atividade broncodilatadora da fração aquosa do extrato etanólico das folhas (AFL-2) em cobaias. A AFL-2 inibiu o tônus espontâneo da traqueia (IC<sub>50</sub>, 13,9 µg/mL), que foi potencializado (IC<sub>50</sub>, 4,6 µg/mL) por 3-isobutil-1-metilxantina, bloqueado por timolol, bloqueador do β<sub>2</sub>-adrenoreceptores, mas não afetado pela remoção de epitélio. Esses resultados sugerem um efeito direto sobre a musculatura lisa, sem a interferência de fatores relaxantes derivados do epitélio (THOMAS et al., 1997a). Ainda, o AFL-2 antagonizou as contrações induzidas por carbachol, capsaicina e ácido araquidônico em traqueia normal e por ovalbumina em traqueia obtidas de cobaias previamente sensibilizadas (THOMAS et al., 1997a).

Nesse estudo ainda foi avaliado o efeito do AFL-2 em protocolos de choque anafilático, no qual a substância foi capaz de aumentar o tempo pré-convulsivo (TPC) dos animais em exposição a aerossol de histamina. Todavia não protegeu esses contra a convulsão, como observado em animais tratados com antagonistas clássicos de receptores de histamina (THOMAS et al., 1997a). Porém, o AFL-2 não apenas

prolongou o TPC, mas também protegeu os animais contra convulsão durante o período máximo de 12 minutos de exposição no protocolo de choque anafilático induzido por ovalbumina (OVA), no qual o desafio do antígeno causou convulsões nos animais controle em menos de 3 minutos. Em conjunto, esses resultados sugerem que o AFL-2 não possui uma ação específica sobre os receptores de histamina (THOMAS et al., 1997a).

A investigação da ação do AFL-2 sobre o tônus espontâneo em musculatura traqueal ainda foi aprofundada por George Thomas e colaboradores que, em 1997, descreveram que esse extrato é capaz de inibir, de forma não seletiva, a atividade das fosfodiesterases IV e V, bem como aumentar a concentração intracelular de nucleotídeos cíclicos (cAMP e cGMP), tendo como consequência fisiológica a diminuição da contração da musculatura lisa traqueal (THOMAS et al., 1997b).

Batista-Lima e colaboradores (2001), avaliaram o potencial anti-inflamatório do AFL-3 em protocolos experimentais de edema de orelha, edema de pata e peritonite em ratas Wistar (BATISTA-LIMA et al., 2001). Verificou-se o potencial do AFL-3 de inibir a formação de edema desencadeado por diferentes agentes flogísticos, bem como diminuir a infiltração celular total para o peritônio de animais desafiados com carragenina, em decorrência da diminuição de neutrófilos (BATISTA-LIMA et al., 2001).

Investigou-se ainda o potencial do AFL-2 sobre as funções de linfócitos B. Esse trabalho mostrou que em estudos *in vitro*, o AFL-2 apresentou potencial para inibir a atividade proliferativa dessas células. O extrato também foi capaz de inibir a liberação de imunoglobulinas, tanto em linfócitos B normais, bem como em linfócitos B pré-estimulados, em um mecanismo que pareceu está relacionado com o aumento dos níveis de cAMP, que se mostrou 700% maior que em células não tratadas com o AFL-2 (ALEXANDRE-MOREIRA; PIUVEZAM; PEÇANHA, 2003).

No ano de 2010 que o mecanismo de ação no qual a *C. sympodialis* atuaria sobre linfócitos B foi esclarecido. Baseados na ação já descrita do AFL-2 sobre essas células (ALEXANDRE-MOREIRA; PIUVEZAM; PEÇANHA, 2003), Rocha e colaboradores investigaram o potencial da WAR em inibir essas funções, já que esse alcaloide é o componente majoritário presente no AFL (ROCHA et al., 2010).

A WAR inibiu a proliferação e a liberação de imunoglobulinas por células B pré-estimuladas com diferentes agentes. Em conjunto, os resultados indicaram que este

alcaloide atua em eventos de sinalização tardia de células B, que é induzida após aumento de cálcio intracelular e ativação de PKC. Apesar deste efeito tardio, a WAR também apresentou um efeito sobre os eventos de sinalização inicial, uma vez que observou-se a diminuição dos níveis de cálcio intracelular em células B ativadas. Ainda, verificou-se que no mecanismo de ação da WAR sobre linfócitos B, ocorre pela inibição da migração do fator de transcrição nuclear kappa B (NFkB) para o núcleo, assim como a fosforilação de ERK, devido ao aumento dos níveis de cAMP, que é capaz de atuar inibindo a ativação do NFkB (ROCHA et al., 2010).

Em 2006, Bezerra-Santos e colaboradores, avaliaram as propriedades antialérgicas do extrato etanólico das folhas de *C. sympodialis* (AFL-3) e do seu marcador biológico, a WAR. Para tanto foram utilizados dois modelos de inflamação alérgica, um modelo de asma e outro de pleurisia, onde os camundongos foram previamente sensibilizados com OVA, bem como análises *in vitro* sobre células migratórias (BEZERRA-SANTOS et al., 2006).

Os resultados desse estudo, que focou seu processo investigativo sobre a migração eosinofílica, demonstrou que o pré tratamento oral, e também o pós tratamento com o extrato foi capaz de inibir o influxo de eosinófilos para a cavidade pleural, em decorrência da inibição da produção de eotaxinas. Além disso, o extrato foi capaz de inibir a ativação de eosinófilos, por interferir na síntese de novos corpos lipídicos citoplasmáticos, e também na liberação de cisteinil leucotrienos (CysLTs) (BEZERRA-SANTOS et al., 2006). A atividade biológica do extrato foi relacionada a atuação da WAR, que foi capaz de manter os mesmos efeitos inibitórios para a migração de eosinófilos e para a liberação de CysLTs (BEZERRA-SANTOS et al., 2006).

*C. sympodialis* também foi capaz de modular a hiper-reatividade das vias aéreas (AHR) e o remodelamento pulmonar decorrente da asma. Esse efeito foi relatado por Bezerra-Santos e colaboradores, em 2012, descrevendo a ação do AFL-3 e da WAR. O pré tratamento e o pós tratamento foram avaliados nesse estudo (BEZERRA-SANTOS et al., 2012). Os resultados mostraram que o pré e o pós tratamento com ambas substâncias foram capazes de inibir a AHR induzida por metacolina, bem como os níveis de interleucina 13 (IL-13) no lavado broncoalveolar (BAL). Ambos tratamentos também foram capazes de inibir a infiltração de eosinófilos

para o tecido pulmonar, a produção de muco e a fibrose subepitelial (BEZERRA-SANTOS et al., 2012).

Ainda em 2012, Vieira e colaboradores demonstraram que a inalação do AFL-2 também foi capaz de regular negativamente as reações alérgicas nas vias aéreas de camundongos sensibilizados com OVA. Essa regulação também foi avaliada com a inalação dos seus alcaloides isolados: WAR, MWAR e MIL (VIEIRA et al., 2012). O extrato inalado inibiu principalmente o recrutamento de eosinófilos para a cavidade pleural, bem como no lavado broncoalveolar e em sangue periférico. Este tratamento também reduziu o título de imunoglobulina E (IgE) alérgeno específica, quantificada no soro. Ainda, diminuiu a infiltração de leucócitos nas áreas perivascular e peribronquiolares pulmonares, somada a diminuição da produção de muco, verificados por análise histológica (VIEIRA et al., 2012). A análise por citometria de fluxo mostrou que tanto o AFL-2 como o MWAR foram capazes de reduzir a migração de células T CD3<sup>+</sup> e de eosinófilos, mas esse efeito não foi observado nos animais tratados com WAR ou MIL (VIEIRA et al., 2012).

Considerando as propriedades antialérgicas descritas até então, Vieira e colaboradores, em 2018, relataram o efeito da WAR em um modelo murino de rinite alérgica crônica (VIEIRA et al., 2018). Esse estudo demonstrou que o tratamento por instilação nasal com WAR em camundongos BALB/c com síndrome semelhante a rinite humana, reduziu a produção de IgE e o número de mastócitos no tecido conjuntivo próximo à cavidade nasal, além de reduzir a produção de muco no epitélio escamoso proximal nasal, devido a diminuição da hiperplasia e hipertrofia das células caliciformes, mostrando portanto efeito antialérgico nessa doença (VIEIRA et al., 2018).

As atividades antialérgicas de *C. sympodialis* também foram respaldadas por análises realizadas por Bezerra-Santos e colaboradores, em 2004. Este estudo mostrou que o tratamento oral diário com o extrato etanólico da planta, inibiu a produção de IgE total e IgE-alérgeno-específica em soros de camundongos sensibilizados com OVA. Essa diminuição estava relacionada com os níveis aumentados de INF- $\gamma$ , que pode regular e suprimir a liberação de citocinas do perfil T<sub>H</sub>2, como IL-4/IL-13, e assim diminuir a produção de IgE. Mas também pela significativa redução da proliferação de células T no baço (BEZERRA-SANTOS et al., 2004).

Bezerra-Santos e colaboradores, mostraram ainda que o AFL-3 apresenta efeito capaz de retardar a mortalidade por choque anafilático em camundongos sensibilizados com OVA. Esse efeito foi relacionado com o potencial do extrato em diminuir a produção de IgE total e IgE-alérgeno específica, além da diminuir da proliferação de células esplênicas (BEZERRA-SANTOS; PEÇANHA; PIUVEZAM, 2005).

Costa e colaboradores, em 2008, utilizaram um modelo murino de reação alérgica imediata para avaliar o tratamento com WAR na produção de IgE, ativação de leucócitos, hiperalgesia térmica, degranulação de mastócitos e prurido em camundongos (COSTA et al., 2008). Verificou-se que o alcaloide diminuiu a produção de IgE, o edema de pata induzido por OVA em camundongos sensibilizados, e a mortalidade por decorrência do choque anafilático, que em conjunto, corroboram com estudos anteriores. Esse trabalho demonstrou que o tratamento com a WAR foi capaz de diminuir hiperalgesia térmica e o prurido induzido por histamina em camundongos. Ainda, a inibição da proliferação de células esplênicas estimuladas foi relacionada com a capacidade do alcaloide em induzir um aumento de NO, confirmado em cultura de macrófagos peritoneais (COSTA et al., 2008).

Outros modelos experimentais de alergia respiratória também foram utilizados para entender o mecanismo imunológico que *C. sympodialis* detém sobre as respostas alérgicas. Cerqueira-Lima e colaboradores, utilizaram um modelo de alergia respiratória induzida pelo extrato de *Blomia tropicalis*, avaliaram o tratamento com o AFL-3, o FAT e o alcaloide WAR (CERQUEIRA-LIMA et al., 2010).

Todos os tratamentos foram capazes de inibir a migração de células totais para a cavidade broncoalveolar, em decorrência da diminuição dos eosinófilos. A ação da peroxidase de eosinófilos e o número de células totais presente no tecido, verificado por análise histológica, foram diminuídas apenas com o tratamento com o extrato (CERQUEIRA-LIMA et al., 2010). Diferentemente dos estudos anteriores, o tratamento com o extrato não foi capaz de alterar os níveis de IgE nos animais, pois também não foi capaz de alterar os níveis de IL-13 em camundongos sensibilizados, embora tenha diminuído os níveis de IL-5 e aumentado os níveis de IL-10 nesses animais (CERQUEIRA-LIMA et al., 2010).

O efeito de *C. sympodialis* também foi investigado sobre um protocolo experimental de alergia alimentar induzido por OVA. Os alcaloides WAR e MWAR

melhoraram ligeiramente o score de diarreia, independentemente da ação do AFL-3. Todos os tratamentos diminuíram os níveis de IgE alérgenos específicos (COSTA et al., 2013). Células linfonodais mesentéricas estimuladas (MLN) na presença dos alcaloides, reduziram os níveis de IL-12p70, independentemente da secreção de IFN- $\gamma$  ou IL-13. Essas moléculas isoladas aumentaram, ainda, o número de células Treg no linfonodo mesentérico e reduziu o número de eosinófilos e mastócitos, bem como a produção de muco no intestino. Em conjunto, os resultados demonstram que WAR e MWAR modulam a resposta imune na alergia alimentar, aumentando o perfil T regulatório (COSTA et al., 2013).

O alcaloide isolado MIL também foi descrito como potente antialérgico em modelos experimentais. Alves e colaboradores, em 2017, mostraram que a MIL inibiu a degranulação de mastócitos em modelos *in vitro* e *in vivo*. Neste trabalho, camundongos foram pré-tratados com MIL, e uma hora após, foram induzidos edema de pata com diferentes agentes flogísticos, tais como carragenina, composto 48/80 e histamina (ALVES et al., 2017a). Os animais tratados com MIL tiveram a formação de edema de pata diminuída nos animais desafiados com carragenina (apenas no início da reação) ou composto 48/80, mas o tratamento não inibiu a formação de edema de pata induzido por histamina. Dados semelhantes foram verificados também na análise histológica, que mostrou que a MIL foi capaz de manter a integridade tecidual das patas dos animais desafiados com o agente degranulador de mastócitos. Logo, os resultados sugerem que o efeito inibitório pode estar relacionado a inibição da degranulação de mastócitos (ALVES et al., 2017a).

*In vitro*, o tratamento com MIL foi capaz de manter a viabilidade celular de mastócitos isolados, e diminuiu a liberação de histamina em mastócitos ativados. Em adição, a MIL diminuiu o prurido nas patas dos camundongos, o alcaloide foi capaz de retardar o tempo de morte de animais desafiados com composto 48/80, em um protocolo de choque anafilático (ALVES et al., 2017a).

O efeito da MIL ainda foi investigado em modelos clássicos de inflamação e nocicepção. Em protocolos de edema de pata induzidos por LPS, PGE<sub>2</sub> ou bradicinina, a MIL foi capaz de diminuir a formação de edema (SILVA et al., 2017). Ainda foi capaz de diminuir a frequência das contrações abdominais induzidas por ácido acético, bem como o exsudato proteico presente do peritônio, mantendo a morfologia do tecido. A peritonite desencadeada por carragenina também foi revertida com o tratamento

utilizado o alcaloide, e isso em decorrência da migração de polimorfonucleares, reduzindo também os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (SILVA et al., 2017).

No que tange as análises nociceptivas, a MIL foi capaz de diminuir, na segunda fase, o tempo de lambidas na pata de animais desafiados localmente com formalina. Todavia, não aumentou o tempo de latência no teste de placa quente (SILVA et al., 2017).

Em estudos recentes, Bezerra-Santos e colaboradores (2020), avaliaram a eficácia do AFL-3 de *C. sympodialis* e seu alcaloide isolado WAR no tratamento de sintomas semelhantes aos da ansiedade e da asma em camundongos com alergia respiratória induzida por OVA (BEZERRA-SANTOS et al., 2020). Verificou-se que tanto o AFL como a WAR suprimiram o comportamento semelhante a ansiedade em camundongos alérgicos. Em adição ambos tratamentos foram capazes de suprimir os níveis de células migratórias no BAL, em decorrência da diminuição dos níveis de citocinas clássicas do perfil T<sub>H</sub>2, mas sem interferir nos níveis de quimiocinas (CCL2, CXCL5 e KC). E ainda, os tratamentos foram capazes de melhorar a frequência respiratória desses camundongos alérgicos (BEZERRA-SANTOS et al., 2020).

A asma e a rinite alérgicas, quando acometem o mesmo indivíduo, são consideradas etiologicamente como única doença, pois acometem o trato respiratório e compartilham muitos dos mecanismos inflamatórios e imunológicos, portanto a fisiopatologia de ambas as doenças são semelhantes e com propostas terapêuticas também semelhantes, na qual, a terminologia clínica apropriada tem sido a Síndrome da Asma e Rinite Alérgicas Combinadas (CARAS) (PAIVA FERREIRA et al., 2019). Diante disso, Cavalcanti e colaboradores, em 2020, desenvolveu um trabalho que buscou entender os mecanismos de ação dos alcaloides WAR e MWAR em alvos celulares e/ou moleculares que orquestram a síndrome experimental (CAVALCANTI et al., 2020).

Os resultados apresentados demonstraram que ambos os alcaloides apresentaram efeitos inibitórios nos sinais de rinite, tais como espirros e fricções nasais induzidas por aerosol de OVA nos camundongos com CARAS, diminuíram a hiperreatividade nasal induzida por histamina, o processo inflamatório local (vias aéreas superiores ou inferiores) e sistêmico, pela diminuição da migração de eosinófilos para os tecidos das vias aéreas superior e inferior, bem como no sangue desses animais (CAVALCANTI et al., 2020).

Em adição, ambos os alcaloides apresentaram efeitos antialérgico pela diminuição na produção de IgE OVA-específica, efeito imunomodulador pela diminuição das citocinas do perfil T<sub>H</sub>2 (IL-4, IL-5 e IL-13) e do perfil T<sub>H</sub>17 (IL-17), dependente do aumento de INF- $\gamma$ , característico do perfil T<sub>H</sub>1 e, a nível histológico, foi possível observar que o tratamento com os alcaloides atenuou as alterações teciduais provocadas pelo processo inflamatório crônico característico na CARAS (CAVALCANTI et al., 2020).

#### **5.2.2.2 Atividades psicofarmacológicas**

Alterações neurocomportamentais e efeitos farmacológicos foram avaliados com derivados de *C. sympodialis*, dentre elas, a atividade antidepressiva, ansiolítica, anorexígena, analgésica e antineurodegenerativas (Tabela 6).

**Tabela 6: Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre o Sistema Nervoso realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano                   | Design do estudo | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada                  | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------------------|------------------|---------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ALMEIDA, et al. 1998        | <i>in vivo</i>   | F-CsEtOH            | 10 – 160 mg/kg (i.p)<br>62,5 – 500 mg/kg (v.o) | O extrato apresentou atividade estimulante sobre o sistema nervoso central, pois potencializou o efeito convulsivo do pentilenotetrazol. Reduziu sinais característicos de depressão em animais submetidos à diferentes protocolos (teste do nado forçado, teste de reversão do efeito da reserpina). Indica um potencial antidepressivo do extrato. |
| ALMEIDA, et al. 2005        | <i>in vivo</i>   | AFL-1               | 9, 45 e 225 mg/kg                              | A administração crônica do extrato não apresentou alterações nos animais tratados com a menor dose, porém levou a diminuição do consumo de alimentos e redução do peso corporal em ratos fêmeas tratadas com as doses maiores do extrato. Ainda apresentou efeito antidepressivo nas análises comportamentais.                                       |
| MENDONÇA-NETTO, et al. 2008 | <i>in vivo</i>   | FATT                | 12,5 e 42 mg/kg                                | Os resultados sugerem notável ação antidepressiva, pois o tratamento com o extrato (12,5 mg/kg) foi capaz de diminuir o tempo de imobilidade e aumentar o tempo de latência dos animais no teste de nado forçado, além de reverter a hipotermia do teste de reversão da reserpina.                                                                   |

Continuação da Tabela 6:

| Autor/Ano                              | Design do estudo | Componente avaliado         | Concentração ou dose avaliada | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------------|------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MENDES-DE-OLIVEIRA-JUNIOR, et al. 2011 | <i>in vivo</i>   | F-CsEHA                     | 50 – 200 mg/kg                | O tratamento com o extrato levou a uma diminuição da contorção abdominal induzida por ácido acético, em uma relação dose dependente. Também foi capaz de diminuir o número de lambidas na pata, no protocolo de dor local induzida por formalina.         |
| LORENZO, et al. 2017                   | <i>In silico</i> | Alcaloides já identificados | -                             | O estudo apontou possíveis afinidades antagonistas dos alcaloides da bisbenzilisoquinolina, incluindo dois metabólitos secundários (roraimina e simpodialina- $\beta$ -N-óxido), sobre enzimas importantes para o desenvolvimento da Doença de Alzheimer. |

Nota: F-CsEtOH = Extrato etanólico das folhas de *C. sympodialis*; AFL-1 = Fração aquosa do extrato etanólico das folhas; FATT = Fração de Alcaloides Terciários Totais; F-CsEHA = Extrato hidroalcoólicos das folhas de *C. sympodialis*.

Em 1998, Almeida e colaboradores analisaram o efeito antidepressivo do extrato etanólico das folhas de *C. sympodialis* (F-CsEtOH). Para tanto, diferentes modelos experimentais, o F-CsEtOH apresentou atividade antidepressiva proeminente (ALMEIDA et al., 1998). Para o teste de convulsão induzido por pentilenotetrazol (PTZ), o tratamento com o F-CsEtOH não reduziu as convulsões, além de intensificar a toxicidade da PTZ e aumentar em 70% a morte dos animais tratados, indicando assim alto poder estimulante do sistema nervoso. Somado a isso, no teste de nado forçado, o tratamento com o F-CsEtOH diminuiu o tempo de imobilidade dos animais, nos quais foram, anteriormente, submetidos a uma agitação forçada e vigorosa. Os autores também avaliaram o efeito antidepressivo através do teste de reversão do efeito reserpina, que quando administrada nos animais saudáveis, causa ptose e catalepsia, nos quais foram reduzidos com o tratamento com o F-CsEtOH (ALMEIDA et al., 1998).

Ainda em avaliação do efeito antidepressivo de *C. sympodialis*, Mendonça-Netto e colaboradores, em 2008, reafirmaram esse efeito testando a ação da fração de alcaloides terciários totais (FATT). No teste de nado forçado, a dose de 12,5 mg/kg do FATT foi capaz de diminuir o tempo de imobilidade e aumentar o tempo de latência dos animais (MENDONÇA-NETTO et al., 2008). E no sentido de confirmar que a redução do tempo de imobilidade dos animais não foi pela estimulação da atividade motora, comum para outros antidepressivos, o teste de campo aberto foi empregado, onde não houve alterações entre os grupos experimentais. Já em relação ao teste reversão do efeito da reserpina, a temperatura dos animais foi verificada, e o tratamento com FATT, na dose de 12,5 mg/kg, foi capaz de reverter a hipotermia presente nos animais (MENDONÇA-NETTO et al., 2008).

Como forma de agregar evidências aos efeitos observados pelo uso prolongado de *C. sympodialis*, e assim contribuir para a compreensão dos aspectos toxicológicos que a planta possa apresentar, Almeida e colaboradores, em 2005, avaliaram os efeitos anorexígenos e comportamentais do tratamento crônico com o AFL-1. Três doses foram avaliadas, sendo a dose mínima, equivalente a utilizada popularmente (9 mg/kg), e mais duas doses, cinco (45 mg/kg) ou vinte e cinco (225 mg/kg) vezes maior que a dose usual. O AFL-1 foi aplicado diariamente durante treze semanas, onde semanalmente as análises de consumo de alimentos, peso corporal e o teste de campo aberto foram realizados (ALMEIDA et al., 2005).

A administração diária da AFL-1 em ratos não causou alteração no consumo de alimentos. No entanto, nas doses de 45 e 225 mg/kg, em ratas reduziu significativamente a ingestão alimentar, além de diminuir o peso corporal desses animais. Ainda, no ensaio de campo aberto, o tratamento crônico com AFL-1, levou a diminuição na frequência de locomoção, arrumação e defecação desses animais (ALMEIDA et al., 2005).

Os processos inflamatórios podem se relacionar com a geração e manutenção de estímulos nociceptivos, e dentro dessa perspectiva, considerando a ampla utilização de *C. sympodialis* para manejo de processos inflamatórios, a possível atividade antinociceptiva da espécie também foi investigada. Em 2011, Mendes de Oliveira e colaboradores, investigaram a ação analgésica do extrato hidroalcoólico das folhas de *C. sympodialis* (F-CsEHA) aplicando modelos experimentais de indução de dor (MENDES DE OLIVEIRA JUNIOR et al., 2011).

No modelo experimental de contorção induzida por ácido acético, o tratamento com o F-CsEHA foi capaz de reduzir o número de contorções de forma dependente da dose administrada, na qual a dose mais alta utilizada no estudo (200 mg/kg), promoveu resultados semelhantes ao grupo tratado com morfina, droga padrão avaliada. Já no teste de dor persistente induzida por formalina, o tratamento com a dose de 200 mg/kg do F-CsEHA, foi capaz de reduzir, de forma semelhante a droga padrão, o tempo de lambidas na pata, indicando redução da dor local (MENDES DE OLIVEIRA JUNIOR et al., 2011).

Em adição, Silva e colaboradores, 2017, avaliaram o efeito analgésico da milonina (MIL), no qual os testes de contorção por ácido acético e o teste de dor persistente induzida por formalina foram aplicados, bem como o teste de contato com placa quente. Os resultados corroboram com os achados de Mendes de Oliveira e colaboradores, indicando possível inibição nociceptiva da MIL, por diminuir o número de contorções ou lambidas na pata (SILVA et al., 2017). Além disso, Silva e colaboradores, mostraram que esse alcaloide pode ter um efeito antinociceptivo periférico, ao invés de antinocicepção central, haja visto que o tratamento com MIL não foi capaz de aumentar o tempo decorrido (latência) entre o contato da pata traseira do animal com a placa quente, bem como a reação de lamber a pata ou saltar da superfície, ao contrário da morfina (SILVA et al., 2017).

O estudo publicado em 2011 correlaciona a ação analgésica do extrato das folhas de *C. sympodialis*, com uma possível interação com os receptores de bradicinina. O estudo publicado em 2017 corrobora esses resultados, no qual uma das atividades da MIL sugerida é a possível inibição desses receptores, haja visto que o seu tratamento foi capaz de diminuir o edema de pata induzido com bradicinina (MENDES DE OLIVEIRA JUNIOR et al., 2011; SILVA et al., 2017).

Embasados pela a atividade sobre o sistema nervoso já relatada, tendo em vista a atividade antidepressiva da espécie, e considerando ainda a fisiopatologia da depressão pela deficiência de monoaminas, Lorenzo e colaboradores, em 2017, realizaram um estudo *in silico*, a fim de avaliar a ação dos alcaloides de *C. sympodialis* e 101 derivados propostos, em enzimas chaves em doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer (LORENZO et al., 2017).

A análise computacional mostrou possível interação inibitória dos alcaloides roraimina e simpodialina sobre a proteína precursora de beta-amiloide (BACE), bem como inibição do alcaloide liriodenina sobre a monoamina oxidase (MAO-A), ambas, enzimas consideradas importantes no desenvolvimento da Doença de Alzheimer. Em adição, entre os alcaloides que inibiram a BACE, todos possuem núcleo bisbenzilisquinolínico, indicando um possível modelo para planejamento e síntese de novas moléculas com alvos terapêuticos para doenças neurodegenerativas (LORENZO et al., 2017).

### **5.2.2.3 Atividades cardiovasculares**

Partindo da premissa de que o AFL derivado de *C. sympodialis* foi capaz de inibir as fosfodiesterases (PDE) IV e V (THOMAS et al., 1997b), e considerando ainda os possíveis efeitos clínicos que esses inibidores não seletivos podem causar, tais como arritmia e taquicardia, estudos foram conduzidos no sentido de entender as possíveis manifestações cardiovasculares induzidas pela utilização de *C. sympodialis* (Tabela 7). Em 1998, Medeiros e colaboradores apresentaram os efeitos cardiovasculares observados em ratos sobre o tratamento com o AFL-2 (i.v) (MEDEIROS et al., 1998).

**Tabela 7: Estudos sobre os ensaios farmacológicos cardiovasculares realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano               | Design do estudo                 | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada                                                                                                               | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MEDEIROS, et al. 1998   | <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> | AFL-2               | <i>in vivo</i> : 0,5 – 8,0 mg/kg<br><i>in vitro</i> : 1 – 500 µg/mL                                                                         | Os estudos iniciais demonstraram que o AFL pode induzir um aumento da pressão arterial em ratos normotensos. Todavia, é capaz de melhorar a frequência cardíaca desses animais.                                                                                                                                               |
| FREITAS, et al. 2000    | <i>in vitro</i>                  | AFL-2               | 1 – 10 <sup>4</sup> µg/mL                                                                                                                   | O AFL é capaz de induzir, em diferentes doses, a contração vascular na aorta de ratos, devido a ação de α-adrenoreceptores. Esse efeito foi modulado pela ação de componentes vasorrelaxantes derivados do endotélio, como NO.                                                                                                |
| CAVALCANTE, et al. 2010 | <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> | MIL                 | <i>in vivo</i> : 0,1 – 10,0 mg/kg<br><i>in vitro</i> : 10 <sup>-10</sup> – 3 * 10 <sup>-4</sup> M;<br>10 <sup>-6</sup> – 10 <sup>-4</sup> M | O tratamento com MIL diminuiu a pressão arterial em ratos normotensos. A diminuição está relacionada com seu efeito vasorrelaxante, mediado por dois mecanismos de ação, um derivado do epitélio, pela liberação de NO; e outro por sua ação direta sobre a musculatura lisa dos vasos, inibindo canais de Ca <sup>2+</sup> . |
| ASSIS, et al. 2013      | <i>in vitro</i>                  | WAR                 | 1 pmol/L – 10 µmol/L;<br>4,7 a 20 mmol/L;<br>10 µmol/L                                                                                      | A WAR foi capaz de induzir um efeito relaxante na musculatura lisa da aorta de ratos, em um mecanismo dependente da interação com os canais do íon K <sup>+</sup> .                                                                                                                                                           |

Nota: AFL-2 = Fração aquosa do extrato etanólico das folhas; WAR = Warifteína; MIL = Milonina; NO = óxido nítrico

Utilizando uma abordagem combinada (experimentos *in vivo* e *in vitro*), Medeiros e colaboradores, demonstraram que o AFL-2 pode aumentar acentuadamente a pressão arterial em ratos conscientes não controlados e anestesiados. Além disso, o tratamento foi capaz de melhorar a frequência cardíaca e a contratilidade em preparações atriais perfundidas isoladas. Os resultados indicaram, ainda, que a bradicardia associada pode refletir a ativação da alça reflexa barorreceptora arterial (MEDEIROS et al., 1998).

Posteriormente, nos anos 2000, De Freitas e colaboradores a fim de investigar se a modificação da resistência vascular foi de fato importante para os efeitos hipertensivos de AFL-2, realizaram estudos *in vitro* para avaliar sua capacidade de induzir a suavização na contração muscular vascular (FREITAS et al., 2000). Como esperado, o tratamento com AFL-2 produziu contrações dependentes de concentração em anéis aórticos de ratos. Essas contrações foram moduladas por fatores relaxantes derivados do endotélio e devido à ativação dos  $\alpha$ -adrenoceptores (FREITAS et al., 2000).

De maneira mais detalhada, essas respostas contráteis foram moduladas pelo endotélio por meio da liberação de NO e de um fator de relaxamento derivado da ciclooxigenase. Além disso, também foi demonstrada a participação dos adrenoceptores  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  nas contrações induzidas pelo AFL-2 (FREITAS et al., 2000). Portanto, parece que os efeitos contráteis do AFL-2 nos músculos lisos vasculares podem ser responsáveis pelo efeito hipertensivo nos ratos (FREITAS et al., 2000).

Já em 2010, Cavalcante e colaboradores, avaliaram se a milonina (MIL), poderia exercer atividades farmacológicas sobre anéis mesentéricos superiores isolados de ratos (CAVALCANTE et al., 2010). Assim como no estudo anterior, uma abordagem combinada em estudo *in vivo* e *in vitro* foram utilizadas. Entre as diversas análises realizadas, os resultados em conjunto, mostraram que a MIL foi capaz de diminuir a pressão arterial em ratos normotensos provavelmente secundária a uma diminuição nas resistências vasculares periféricas (CAVALCANTE et al., 2010).

Ainda, o tratamento foi capaz de gerar um efeito vasorrelaxante, parcialmente mediada pelo endotélio, provavelmente via liberação de óxido nítrico e ativação da via do óxido nítrico. Além disso, o vasorrelaxamento induzido pela MIL, também ocorre por meio de um mecanismo independente do endotélio, que envolve o bloqueio do influxo extracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  por interferir nos canais dependentes de voltagem e

operados por receptor, e pela inibição da liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  dos estoques intracelulares (CAVALCANTE et al., 2010).

Ainda no que tange as investigações quanto aos efeitos cardiovasculares, Assis e colaboradores, em 2013, avaliaram a ação da WAR sobre miócitos vasculares (ASSIS et al., 2013). Esse estudo demonstrou que a atividade que esse alcaloide exercia sobre anéis aórticos de ratos era vasorrelaxante (ASSIS et al., 2013).

Os resultados do presente estudo sugerem fortemente que os efeitos vasorrelaxantes da WAR, em aorta de rato, ocorre devido a mudanças na probabilidade de abertura de canais de  $\text{K}^+$  (ASSIS et al., 2013). Esses resultados diferem do efeito vasorrelaxante em aorta de coelhos, relatada por Freitas e colaboradores, na qual a ação central parece ser mediada pela inibição dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  dependentes de voltagem (DE FREITAS et al., 1996). É bem relatado que as características farmacológicas podem não ser uniformes em espécies diferentes, todavia, esses estudos forneceram os subsídios necessários para compreensão do potencial vasorrelaxante exercido pela WAR, embasando a compressão da ação farmacológica, inclusive, para outros alcaloides bisbenzilisoquinolínicos (DE FREITAS et al., 1996; ASSIS et al., 2013).

Percebe-se que os alcaloides isolados MIL e WAR apresentam efeitos contrários aos observados nos experimentos realizados com AFL-2, o que sugere que os efeitos observados nessa fração aquosa são decorrentes da ação de outros componentes ali encontrados.

#### **5.2.2.4 Atividades gastrointestinais**

O potencial terapêutico de *C. sympodialis* também foi investigado no trato gastrointestinal. Dentre as atividades avaliadas, o potencial antidiarreico, o efeito sob a motilidade intestinal, bem como a atividade antiulcerogênica foram descritas em modelos experimentais murinos (Tabela 8).

**Tabela 8: Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre o Trato Gastrointestinal realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano             | Design do estudo | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------|------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DE SALES, et al. 2015 | <i>in vivo</i>   | F-CsEtOH e FAT      | 62,5-500 mg/kg                | Os alcaloides presentes no FAT de <i>C. sympodialis</i> parecem mediar o efeito antidiarreico da espécie, por inibir a contração intestinal dos camundongos, além de induzir a reabsorção de água e eletrólitos.                                                        |
| DE SALES, et al. 2018 | <i>in vivo</i>   | F-CsEtOH e FAT      | 62,5-500 mg/kg                | O F-CsEtOH e o FAT foram capazes de reduzir o percentual da ULA e da ULI de camundongos submetidos à diferentes protocolos de lesão gástrica. Dentre as atividades, o mecanismo de ação gastroprotetor pode estar, parcialmente, relacionado com a via NO-GMP-PKG-KATP. |

Nota: F-CsEtOH = Extrato etanólico das folhas de *C. sympodialis*; FAT = Fração de Alcaloides Totais; ULA = Área da Lesão Ulcerativa; ULI = Índice de Lesão Ulcerativa; NO = óxido nítrico; GMP = Monofosfato de guanosina; PKG = Proteína quinase G; KATP = Canal de potássio sensível a ATP (Trifosfato de adenosina).

Em 2015, De-Sales e colaboradores, descrevem a atividade antidiarreica e a antimotilidade intestinal do extrato etanólico bruto (F-CsEtOH) e da fração de alcaloides totais (FAT), ambos derivados das folhas de *C. sympodialis* (DE SALES et al., 2015).

Os percentuais de esvaziamento gástrico e trânsito intestinal normal foram avaliados. Os resultados mostraram que o F-CsEtOH nas doses avaliadas (62,5 – 500 mg/kg) não foram capazes de interferir nesses parâmetros. Já a administração de FAT (250 e 500 mg/kg) foi capaz de diminuir tanto o esvaziamento gástrico, bem como a motilidade intestinal. Nesse ponto, os autores sugeriram que a atividade sobre a motilidade intestinal está relacionada com a ação dos alcaloides presentes na espécie, onde sua ação espasmolítica já foi relatada em outros modelos experimentais (DE SALES et al., 2015).

Porém, considerando que a diarreia não está apenas relacionada com a motilidade intestinal, um modelo experimental de indução diarreica por óleo de rícino foi realizado. Devido a ação das lipases intestinais, o ácido ricinoleico é liberado, atuando em variados mecanismos, sendo um protocolo utilizado para avaliar a atividade anti-secretora e antimotilidade de substâncias (CAPASSO et al., 1994).

Nesse protocolo, o F-CsEtOH (500 mg/kg) reduziu o índice de evacuação dos animais, bem como atividade semelhante foi observada com a administração de FAT (250 e 500 mg/kg). O *enteropooling*, técnica que avalia a secreção ou reabsorção de fluidos no lúmen intestinal, também foi avaliado. Nesse modelo experimental, o F-CsEtOH (500 mg/kg) reduziu os volumes de fluidos no intestino dos animais (DE SALES et al., 2015). Considerando que a ação do óleo de rícino está relacionada com a liberação endógena de prostaglandinas, assim como o aumento da secreção de eletrólitos, como  $\text{Na}^+$ , pode sugerir que o efeito antidiarreico de *C. sympodialis* é decorrente da reabsorção de água e eletrólitos. Apresentando ainda, possível envolvimento da inibição da liberação de prostaglandinas, efeito atribuído aos componentes alcaloídicos presentes na espécie (DE SALES et al., 2015).

Ainda no que tange as atividades no trato gastrointestinal, o potencial anti úlcera foi avaliado por De-Sales e colaboradores, em 2018. Nesse estudo, os potenciais citoprotetor, antioxidante e a anti-inflamatório do F-CsEtOH e do FAT, foram descritos em modelos experimentais de úlceras gástricas agudas (DE SALES et al., 2018).

Diferentes modelos de úlcera gástrica foram realizados, dentre eles o de indução por etanol; por anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs); por estresse de restrição hipotérmica; e por ligação pilórica. Esses modelos são usados para avaliar diferentes mecanismos de ação para drogas potenciais para o tratamento de úlceras (DE SALES et al., 2018). Em todos os protocolos avaliados, o F-CsEtOH e o FAT foram capazes de reduzir o percentual da área da lesão ulcerativa (do inglês, ULA), sendo as doses de 500 mg/kg e 250 mg/kg, escolhidas como as melhores doses para o F-CsEtOH e o FAT, respectivamente (DE SALES et al., 2018).

A fim de investigar o mecanismo de ação no qual atua os derivados de *C. sympodialis*, protocolos experimentais foram utilizados para avaliar a participação dos grupos sulfrídila, óxido nítrico (NO), canais de potássio sensíveis a ATP (KATP), prostaglandinas (PG), bem como a deposição de muco na parede gástrica. Além disso foram avaliadas a atividade antioxidante dos derivados, assim como seu efeito na liberação de citocinas (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-10) e nas alterações morfológicas teciduais (DE SALES et al., 2018).

Os resultados avaliados, sugeriram que o efeito gastroprotetor de *C. sympodialis* não está somente relacionada ao potencial farmacológico dos alcaloides presentes na espécie, mas também a outros componentes, como flavonoides. Sua ação não parece estar relacionada com uma atividade antissecretória (DE SALES et al., 2018). O mecanismo de ação pode estar relacionado com o envolvimento parcial dos grupos sulfrídila, bem como com o envolvimento parcial da via NO-GMP-PKG-KATP, assim como possível envolvimento das prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>) e prostaciclina. Além de apresentar significativo efeito anti-inflamatório, antioxidante e conservante da camada de muco gástrico (DE SALES et al., 2018).

#### **5.2.2.5 Atividades antimicrobianas**

No que tange a atividade antimicrobiana de *C. sympodialis*, análises foram realizadas para investigar seu potencial antileishmania (DA SILVA et al., 2012), antiviral (LEITE et al., 2016) e antibacteriano (CUNHA et al., 2019b) (Tabela 8).

**Tabela 9: Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre microrganismos realizados com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano             | Design do estudo                  | Componente avaliado | Concentração ou dose avaliada              | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------|-----------------------------------|---------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DA SILVA, et al. 2012 | <i>in vitro</i>                   | WAR                 | 0,05-0,15 mg/mL                            | IC <sub>50</sub> da WAR foi 0,08 mg/mL, apresentando efeito antileishmanial por induzir mudanças ultra estruturais na superfície de <i>Leishmania chagasi</i> .                                                                                                                                       |
| LEITE, et al. 2016    | <i>in vitro</i>                   | AFL-2, WAR e MWAR   | 0,1 µM, 1 µM e 10 µM, para cada componente | O AFL, de forma independente de WAR e MWAR, conseguiu suprimir a resposta inflamatória induzida pelo vírus da dengue (DENV2), diminuindo a produção de citocinas e a liberação de NS1, mas não impediu a produção do vírus                                                                            |
| CUNHA, et al. 2019    | <i>in silico</i> e <i>in vivo</i> | Fanostenina         | 24,6 – 3150,7 µM                           | O alcaloide foi capaz de inibir o crescimento de diferentes cepas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> . Ainda foi capaz de diminuir, em dose subinibitória (98,4 µM), a CIM de antibióticos aminoglicosídeos (entre 20 e 80%) em bactérias resistentes, apresentando uma ação antibiótica sinérgica. |

Nota: AFL-2 = Fração aquosa do extrato etanólico das folhas; WAR = Warifteína; MWAR = Metilwarifteína; IC<sub>50</sub> = Concentração Inibitória responsável por inibir a viabilidade de 50% do parasita em estudo; DENV2 = Vírus da dengue tipo 2; CIM = Concentração Inibitória Mínima

Os alcaloides bisbenzilisiquilínicos foram relatados, em diferentes estudos, como moléculas potenciais para o desenvolvimento antiprotozoários. Diante disso, Da Silva e colaboradores, em 2012, descreveram o potencial antileishmania do alcaloide warifteína (WAR), marcador fitoquímico de *C. sympodialis* (DA SILVA et al., 2012).

O estudo deu-se em um ensaio *in vitro*, no qual a WAR (0,15 mg/mL) foi capaz de inibir em até 70% o crescimento de prosmatigotas de *Leishmania chagasi*. Em adição a IC<sub>50</sub> da WAR foi determinada para 0,08 mg/mL (135 µM), demonstrando efeito mais proeminente que a droga referência (Glucantime) utilizada no estudo, na qual a IC<sub>50</sub> foi de 2,5 mg/mL (DA SILVA et al., 2012).

A ação leishmanicida de WAR parece estar relacionada com o potencial em induzir alterações ultraestruturais sobre o parasita (DA SILVA et al., 2012). Esse dado foi avaliado através da microscopia de varredura, que mostrou que alguns parasitas perderam sua característica alongada, e apresentavam forma redonda, além da frequência de septos longitudinais, bem como bolhas espalhadas sobre suas membranas. As bolhas se apresentaram geralmente semiesféricas, mas seus tamanhos, números e localização foram variantes. Essas alterações podem ser relacionadas com o potencial da WAR em inibir a concentração de Ca<sup>2+</sup> intracelular (DA SILVA et al., 2012).

Em 2016, Leite e colaboradores, avaliaram o potencial antiviral do extrato hidroalcóolico das folhas (AFL-2) de *C. sympodialis*, e dos alcaloides isolados, WAR e metilwarifteína (MWAR), sob o vírus da dengue (DENV) (LEITE et al., 2016). Os protocolos experimentais foram realizados por metodologias *in vitro*, nas quais foram utilizadas uma linhagem de células de hepatocarcinoma (Huh-7). A citotoxicidade avaliada pelo ensaio MTT, mostrou que nem o AFL-2 e nem os alcaloides isolados, apresentaram toxicidade celular nas doses avaliadas (LEITE et al., 2016).

Para avaliação do potencial antiviral, as células foram previamente infectadas com o vírus DENV-2, tratadas com as distintas drogas duas horas após, e as análises realizadas 72 horas após a incubação viral. Previamente, a expressão do antígeno DENV, a produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e do fator de inibição de macrófagos (MIF) foram avaliados (LEITE et al., 2016).

Os resultados mostraram que o AFL-2 não foi capaz de interferir na expressão do antígeno DENV nas células infectadas, mas na concentração de 10 µg/mL, a produção de TNF-α e MIF foi diminuída nas células Huh-7 infectadas (LEITE et al.,

2016). A fim de confirmar o potencial imunomodulador do AFL-2, a produção de interleucina 8 (IL-8) e prostaglandina E2 (PGE2) também foram avaliadas, na qual o ALF (10 µg/mL) foi capaz de inibir a produção dessas moléculas (LEITE et al., 2016).

A NS1 é uma proteína não estrutural codificada com mais seis proteínas não estruturais pelo RNA viral do DENV. Por sua vez, é uma glicoproteína expressa em células de mamíferos infectadas como monômeros solúveis que é subsequentemente transportada para a superfície celular onde a proteína permanece e/ou é liberada no meio extracelular sendo essencial para a replicação e viabilidade viral, muitas vezes utilizada como marcador laboratorial para o diagnóstico de infecção por DENV (LEITE et al., 2016). O AFL-2 (10 µg/mL) foi capaz de reduzir a liberação de NS1 em células Huh-7 infectadas por DENV-2 (LEITE et al., 2016).

Ainda no sentido de descrever o mecanismo de ação do AFL-2, os mesmos protocolos foram realizados com WAR e MWAR. Todavia, esses alcaloides não foram capazes de interferir nos componentes avaliados, nem no que tange a viabilidade viral, nem sobre liberação de citocinas. Esses resultados indicaram que o efeito do AFL-2 é independente da WAR/MWAR, e que o extrato da planta apresenta outros compostos responsável pelo efeito antiviral (LEITE et al., 2016).

Quanto ao potencial antimicrobiano, Cunha e colaboradores, em 2019, descreveram a atividade antibacteriana da fanostenina, um alcaloide isolado a partir das raízes de *C. sympodialis* (CUNHA et al., 2019b). Os experimentos foram realizados com cepas padrão e isolados clínicos de *Escherichia coli* (ATCC259226 e EC27) e *Staphylococcus aureus* (ATCC12692 e SA358). Todas as cepas clínicas isoladas eram resistentes a amicacina, neomicina e gentamicina (CUNHA et al., 2019b).

Resultados da avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo, mostrou que fanostenina apresentou valores de concentração inibitória mínima (CIM) de 787,69 µM para *S. aureus* ATCC12692 e *E. coli* EC27, 1.575,38 µM para cepas de *E. coli* ATCC259226 e *S. aureus* SA358 ATCC (CUNHA et al., 2019b). Ainda, a atividade modulatória da resistência bacteriana a aminoglicosídeos combinados com a fanostenina, em concentração subinibitória, apresentou resultados, reduzindo a CIM dos antibióticos usados nos testes na presença de fanostenina quando comparada ao CIM do antibiótico sozinho. Essa

redução no CIM de antibióticos (amicacina, neomicina e gentamicina) variando de 21% a 80%, indicando sinergismo no efeito antibiótico (CUNHA et al., 2019b).

As análises *in vitro* realizadas com diferentes classes de micro-organismos, somada a baixa citotoxicidade também relatada nesses estudos (DA SILVA et al., 2012; LEITE et al., 2016) , embasam o potencial antimicrobiano da espécie e direciona novas investigações em estudos *in vivo*.

#### **5.2.2.6 Atividades sobre o diabetes e osteoartrose experimentais**

O tratamento com *C. sympodialis* também foi avaliado para o manejo do diabetes e osteoartrose experimental (Tabela 9). Em protocolo experimental utilizando camundongos BALB/c, Cerqueira-Lima e colaboradores induziram o diabetes autoimune por injeções intraperitoneais de estreptozotocina (STZ). Análises bioquímicas, imunológicas e histológicas foram realizadas no sentido de compreender a atuação do AFL-3 sobre a doença (CERQUEIRA-LIMA et al., 2014).

**Tabela 10: Estudos sobre os ensaios farmacológicos sobre o diabetes e osteoartrose experimental com *Cissampelos sympodialis* ou seus derivados**

| Autor/Ano                   | Design do estudo | Componente avaliado    | Concentração ou dose avaliada | Principais conclusões                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------------------|------------------|------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TORRES, et al. 2009         | <i>In vivo</i>   | Extrato hidroalcoólico | 12,5-50 mg/kg                 | O tratamento com o extrato não foi capaz de regenerar as cartilagens articulares dos joelhos de ratos submetidos a degeneração química.                                                                                                                                                     |
| CERQUEIRA-LIMA et al., 2014 | <i>In vivo</i>   | AFL-3                  | 0,4 e 4 mg/kg                 | O tratamento preveniu danos morfológicos nas ilhotas pancreáticas de ratos diabéticos, mas não interferiu na quantificação de glicose, insulina e citocinas nesses animais.                                                                                                                 |
| DE MEDEIROS et al., 2020    | <i>in vivo</i>   | AFL-2                  | 400 mg/kg                     | O tratamento diminuiu o colesterol total e os níveis de triglicerídeos em animais diabéticos, mas não interferiu nos níveis de glicose e insulina. Preservou a morfologia das ilhotas pancreáticas, bem como o remodelamento pulmonar decorrente do agravamento do diabetes em camundongos. |

Nota: AFL-2 e AFL-3 = Fração aquosa do extrato etanólico das folhas

Os resultados mostraram que o tratamento com o AFL-3 não foi capaz de alterar os níveis de glicose no sangue dos animais, bem como não interferiu na produção de insulina e na produção (*in vitro*) das citocinas IL-10, IL-4 e IL-17. Embora não tenha interferido nos parâmetros bioquímicos, o tratamento foi capaz de prevenir danos morfológicos nas ilhotas pancreáticas de camundongos diabéticos, além de apresentar efeito protetor contra a morte de células  $\beta$  pancreáticas (CERQUEIRA-LIMA et al., 2014).

O efeito protetor sobre danos pulmonares causados pelo diabetes também foi avaliado posteriormente em ratos Wistar diabéticos por indução de STZ. Embora não tenha tido efeito sobre os níveis de glicose no sangue desses animais, nem sobre a perda de peso e aumento do consumo de água, o tratamento com o AFL-2 foi capaz de diminuir o colesterol total e os níveis de triglicerídeos nesses animais, além de prevenir danos nas ilhotas pancreáticas (DE MEDEIROS et al., 2020). Morfologicamente o tratamento com o extrato foi capaz de diminuir o infiltrado inflamatório tecidual pulmonar, assim também como o espessamento da parede alveolar e broncoalveolar em ratos diabéticos (DE MEDEIROS et al., 2020).

Como usada popularmente para artrite reumatoide e outras doenças degenerativas com características inflamatórias, Torres e colaboradores avaliaram *in vivo* o efeito do extrato hidroalcoólico (preparação não descrita no artigo) do *C. sympodialis* na osteoartrose induzida nos joelhos direitos de ratos Wistar (TORRES et al., 2009). Análises histológicas foram realizadas, mas não observou-se alteração nas articulações de animais tratados. Logo o extrato não é capaz de provocar ou induzir a regeneração de cartilagens articulares submetidas à degeneração química neste modelo experimental (TORRES et al., 2009).

## Discussão

## 6. DISCUSSÃO

Nesse trabalho, buscamos compilar as atividades biológicas de *C. sympodialis*, descrever os mais diversos estudos fitoquímicos já empregados com a espécie, e destacar as potencialidades terapêuticas que essa planta apresenta. Dentro do gênero *Cissampelos*, com mais de vinte espécies relatadas, a *C. sympodialis* é a que se destaca no uso popular, com evidências científicas necessárias que sustentam a sua tradicionalidade (DA SILVA MENDES et al., 2020).

Dentro do gênero *Cissampelos*, diversos são com metabólitos secundários, porém os componentes alcaloídicos são encontrados com predominância, incluindo os das classes de bisbenzilisquinolinas, berberinas, morfina e aporfina, morfina e aporfina, morfina e aporfina a exemplo da milonina, dentre outros, junto com uma quantidade moderada de outros constituintes (SEMWAL et al., 2014). Por sua riqueza fitoquímica, a maioria das plantas do gênero *Cissampelos*, incluindo *C. capensis*, *C. pareira* e *C. sympodialis*, foram reconhecidas por suas propriedades medicinais notáveis e estão sendo usadas em vários sistemas da medicina indígena, como antibacteriano, antioxidante, antiespasmódico, diurético, hipotensor, relaxante muscular, antisséptico, afrodisíaco, analgésico, propriedades anti-hemorragicas e cardiotônicas (SEMWAL et al., 2014).

Quanto à diversidade molecular da espécie *C. sympodialis* foram isolados mais de dez alcaloides em diferentes partes da planta. Dentre eles, destacam-se pela quantidade encontrada, a warifteina (WAR) e a metilwarifteina (MWAR), encontradas nas folhas e raízes da espécie (BARBOSA FILHO; AGRA; THOMAS, 1997; MUKHERJEE; KEIFER, 2003), bem como a milonina (MIL), encontrada somente nas folhas de *C. sympodialis* (DE FREITAS et al., 1995).

Em extratos polares, por sua vez, a concentração de WAR e MWAR foram diminuindo de acordo com a maturação da espécie, chegando a não ser quantificada em extratos polares das folhas colhidas com mais de 150 dias de sementeiras (DE MELO et al., 2020). De fato, esses alcaloides são encontrados em maior concentração nas plantas mais jovens, e entre os meses de outubro e fevereiro, onde a espécie ainda não está em frutificação (MARINHO; BARBOSA-FILHO; OLIVEIRA, 2012).

O alcaloide liriodenina, embora não isolado com predominância em *C. sympodialis*, pode ser encontrado em maior quantidade em outras espécies das famílias Magnoliaceae, Annonaceae, Rutaceae e Monimiaceae. Esse alcaloide apresenta propriedades antibióticas, antifúngicas, antiplaquetárias, sedativas e principalmente antitumoral (CHEN, 2013). O alcaloide laurifolina, encontrado também em *Caulis sinomenii*, um fitoterápico amplamente usado na medicina chinesa, apresentou propriedades anti-inflamatória e relaxante muscular, por inibir o fator de transcrição NFkB e atuar como agonista de receptores  $\beta$ 2-adrenérgicos, respectivamente (SUN et al., 2016).

Com essa gama de componentes alcaloídicos descritos, diversos são os alvos farmacológicos que extrato da espécie pode atuar sobre um organismo animal. Entretanto, efeitos adversos podem surgir, onde os ensaios toxicológicos são essenciais para evidenciar a segurança terapêutica de fitoterápicos/fitofármacos em potenciais (ANVISA, 2013). Juntamente com a eficácia e a qualidade, a segurança de produtos medicamentosos, naturais ou não, é um dos principais fatores para aprovação de novas terapias farmacológicas. As análises de alterações bioquímicas, hematológicas, metabólicas, anatômicas e histológicas, compõem uma rede de parâmetros que devem ser investigados para identificar possíveis danos no uso de candidatos a novos medicamentos (ANVISA, 2013).

A tradicionalidade é um dos critérios de comprovação da segurança e eficácia na utilização de produtos naturais como medida terapêutica (ANVISA, 2014). Somado a isso, a ANVISA também possui um guia de condução de ensaios toxicológicos não clínicos, sendo um manual que direciona os estudos da comprovação de segurança de candidatos a medicamentos (ANVISA, 2013).

Dentre os ensaios toxicológicos realizados com os derivados vegetais de *C. sympodialis*, verificou-se que o AFL (extrato hidroalcoólico das folhas), bem como o infuso da folhas, em doses superiores à utilizadas popularmente, não induziram sinais toxicológicos em espécies de roedoras ou não roedoras (DINIZ et al., 2002; ALMEIDA et al., 2005 ALVES et al., 2017b, 2017c). *In vitro*, foi observado que MIL é mais tolerável que a WAR, e que ambos alcaloides podem apresentar efeitos citotóxicos independentes da metabolização do CIP450 (MELO et al., 2003).

Alguns alcaloides, como os da classe dos pirrolizidínicos, são clássicas moléculas hepatotóxicas, sendo ativados no fígado para desempenharem suas

propriedades toxicológicas, incluindo estresse oxidativo, apoptose e disfunção do metabolismo dos ácidos biliares e suas interações, onde sua ativação ocorre em decorrência da metabolização do CIP450 (XU et al., 2019; XIONG et al., 2020). Outros tipos de alcaloides, como derivados da berberina, também induzem alterações hepáticas dependentes da interação do CIP450 (WANG et al., 2017).

Estudos adicionais são necessários para confirmar a hipótese de toxicidade de alcaloides, porém, a não interação toxicológica de WAR e MIL com CIP450, pode favorecer clinicamente sua utilização, pois caso interagissem com essa enzima poderiam levar a interações medicamentosas adversas clinicamente significativas após a coadministração de medicamentos que são substancialmente metabolizados pela CIP450 (KAMBLE et al., 2020).

É importante destacar que os dados obtidos no estudo clínico de fase I, no qual a utilização do infuso das folhas de *C. sympodialis* foi avaliado durante trinta dias, fornecem evidências que corroboram com os estudos não clínicos e respaldam uma boa tolerância na sua utilização contínua (MANGUEIRA et al., 2015). A tolerância, permite e assegura os testes clínicos que podem confirmar, com base em estudos robustos, a eficácia terapêutica da espécie para as mais diversas afecções que são relatadas para o seu uso.

Estudos *in silico* demonstraram que alcaloides encontrados em *C. sympodialis* podem inibir proteínas importantes para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer (LORENZO et al., 2017). A atividade neuroprotetora de alcaloides isoquinolínicos tem sido relatada em diversos estudos, dentre eles, a atividade dos alcaloides berberina e dauricina (WANG et al., 2020; YUAN et al., 2019).

Entre os efeitos farmacológicos avaliados, a espécie ainda mostrou (*in vivo*) potencial de modular manifestações neurocomportamentais, revertendo sinais característicos de depressão (ALMEIDA et al., 1998; MENDONÇA-NETTO et al., 2008). Ainda, *C. sympodialis* foi capaz de reverter comportamentos semelhantes a ansiedade em animais com inflamação pulmonar alérgica, com efeitos associados ao seu marcador biológico, a WAR (SOUSA et al., 2020; BEZERRA-SANTOS et al., 2020).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou a depressão como a terceira maior doença em todo o mundo e projetou que essa ocuparia o primeiro lugar

em 2030 (MALHI; MANN, 2018). Estudos mostram ainda, que os sinais e sintomas de ansiedade pode acometer cerca de 92% de adolescentes e jovens adultos, nos quais alguns podem desenvolver depressão de forma concomitante (BARZILAY et al., 2020).

Considerando ainda que os psicotrópicos utilizados para o manejo da ansiedade e depressão levam a dependência medicamentosa e diminuição dos efeitos esperados à longo prazo (AIT-DAOUD et al., 2018), novas terapêuticas são encorajadas para tratamento dessas doenças. *C. sympodialis* mostrou versatilidade ao reverter os sinais característicos de ambas, e considerando ainda a correlação entre asma e ansiedade (CUNHA et al., 2019a), a espécie pode ser base para o desenvolvimento de uma única terapia para tratar indivíduos que apresentam as duas doenças concomitantemente.

*C. sympodialis* apresentou atividade antinociceptiva (MENDES DE OLIVEIRA JUNIOR et al., 2011) tendo a MIL como possível responsável por esse efeito (SILVA et al., 2017), que por sua vez, possui estrutura semelhante ao analgésico morfina, amplamente utilizado na clínica por sua atividade antinociceptiva. Todavia, os dados sugerem que o efeito antinociceptivo de MIL é periférico e não central (SILVA et al., 2017).

Efeitos cardiovasculares avaliados com a AFL mostraram que essa pode apresentar efeito hipertensivo em ratos normotensos, embora possa ser modulado por fatores derivados do endotélio (MEDEIROS et al., 1998; FREITAS et al., 2000). Isso faz com que a indicação do uso de *C. sympodialis* em pacientes hipertensos seja recomendado com cautela, embora o estudo clínico realizado não tenha apresentado alterações na pressão arterial dos voluntários (MANGUEIRA et al., 2015). Todavia, os efeitos hipertensivos da espécie não parecem relacionados com os principais alcaloides encontrados na planta, pois WAR e MIL, foram capazes de induzir efeitos vasorrelaxantes, levando a diminuição da pressão arterial em ratos normotensos (CAVALCANTE et al., 2010; ASSIS et al., 2013). Com isso, podemos considerar que os alcaloides isolados podem também atuar de maneira coadjuvante no tratamento de pacientes hipertensos.

A tradicionalidade e o sucesso terapêutico popular do uso de *C. sympodialis* para o tratamento da asma, estimulou a investigação dos possíveis mecanismos de ação que a espécie detém sobre a musculatura lisa. Com ação espasmolítica, em

decorrência da interferência entre os canais de  $\text{Ca}^{2+}$  e suas reservas intracelulares, a WAR mostrou potencial para inibir as contrações musculares lisas induzidas por diferentes agentes (DE F. CÔRTEZ et al., 1995; DE FREITAS et al., 1996). Ainda, extratos polares que não possuem a presença do alcaloide, induziram atividade relaxante na musculatura lisa da traqueia das cobaias demonstrando que, além dos alcaloides, outros compostos presentes nesses extratos contribuem com esse efeito (DE MELO et al., 2020). De toda forma, essas análises complementam o respaldo científico para a utilização popular de *C. sympodialis* para a asma, pois confirmam uma variedade fitoquímica de componentes alcaloídicos e/ou fenólicos que possuem atividade espasmolítica.

Somada a atividade espasmolítica, sua ação farmacológica tem sido amplamente investigada e descrita em modelos experimentais de rinite alérgica (VIEIRA et al., 2018) e asma (BEZERRA-SANTOS et al., 2006; 2012; 2020), demonstrando propriedades promissoras para o manejo de ambas doenças, dessa forma, enriquecendo o arsenal científico que respalda o potencial terapêutico.

Atualmente estabeleceu-se que quando um indivíduo apresenta concomitantemente rinite alérgica e asma, a terminologia clínica apropriada é Síndrome da Asma e Rinite Alérgicas Combinadas (CARAS) (PAIVA FERREIRA et al., 2019). A WAR e a MWAR foram eficazes em diminuir sinais característicos da CARAS, devido ao potencial anti-inflamatório e imunomodulador, sobrepondo o perfil  $\text{T}_\text{H}1$  diante do perfil  $\text{T}_\text{H}2$  (CAVALCANTI et al., 2020).

De fato, o potencial imunomodulador de *C. sympodialis* foi evidenciado em diferentes modelos experimentais de alergias respiratórias. Animais com perfil  $\text{T}_\text{H}2$  estabelecido e tratados com extratos ou alcaloides derivados de *C. sympodialis*, tiveram a redução da migração celular, danos teciduais atenuados e diminuição de citocinas clássicas do perfil  $\text{T}_\text{H}2$ , e isso em decorrência da polarização para o perfil  $\text{T}_\text{H}1$ , com aumento da secreção de  $\text{INF-}\gamma$  (BEZERRA-SANTOS et al., 2004; 2020; CAVALCANTI et al., 2020). Dentre suas funções, o  $\text{INF-}\gamma$  inibe a síntese de IL-4 ao diminuir a ativação de GATA3, um fator de transcrição para o perfil  $\text{T}_\text{H}2$ , controlando assim a presença do perfil imune tipo 2 em diferentes doenças (TUMES et al., 2017).

O seu efeito anti-inflamatório não está apenas relacionado à modulação intrínseca das respostas de células T. Desde o início das investigações farmacológicas com a espécie, *C. sympodialis* foi capaz de aumentar a produção e

liberação de IL-10 em culturas celulares (PIUVEZAM et al., 1999), bem como em camundongos sensibilizados com alérgenos (CERQUEIRA-LIMA et al., 2010).

O aumento da produção e liberação de IL-10 em doenças com inflamação intensa, é um fator importante para o manejo da resposta inflamatória, pois atua balanceando a resposta induzida por células T e, conseqüentemente, reduzindo os danos teciduais causados pela liberação de mediadores por células migratórias (WANG et al., 2018; SHEN et al., 2019). Além disso, a inibição da sinalização pró-inflamatória por meio do aumento da expressão de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 ou IL-4, pode ser a chave para melhor controle nociceptivo, pois oferece potencial para o alívio substancial da dor por meio da modulação das vias de citocinas direcionadas (VANDERWALL; MILLIGAN, 2019), o que soma a atividade antinociceptiva de *C. sympodialis* (MENDES DE OLIVEIRA et al., 2011; SILVA et al., 2017).

É notável que as alterações imunológicas e bioquímicas que *C. sympodialis* detém sobre células do sistema imune, pode favorecer na diminuição de respostas inflamatórias exacerbadas. A ação inibitória que o AFL sobre neutrófilos (THOMAS; SELAK; HENSON, 1999), em decorrência da possível ação da WAR (LIMA et al., 2014), faz com que a espécie seja também candidata para o desenvolvimento de um medicamento que atue no manejo de doenças inflamatórias agudas, tais como a síndrome respiratória aguda grave e a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) (TOBIN; MANTHOUS, 2017), e também pneumonias bacterianas ou virais (PECHOUS, 2017; RUDD et al., 2019). Ainda, somado ao potencial antileishmania, antiviral, e antibiótico, descrito para os extratos de *C. sympodialis* ou seus alcaloides (DA SILVA et al., 2012; LEITE et al., 2016; CUNHA et al., 2019), essa espécie torna-se uma planta com atributos suficientes para o desenvolvimento aprimorado, coadjuvante ou não, para o tratamento de infecções por micro-organismos que desencadeiam respostas inflamatórias.

Quanto ao seu potencial antialérgico, esse foi evidenciado em diversos modelos experimentais. Aparentemente, a ação direta que essa espécie possui sobre linfócitos B, faz com que o efeito antialérgico seja potencializado pela diminuição da proliferação dessas células, e também pela diminuição da produção e liberação de imunoglobulinas, como a IgE-alérgeno específica (ALEXANDRE-MOREIRA; PIUVEZAM; PEÇANHA, 2003; ROCHA et al., 2010). O alcaloide MIL foi capaz de

atuar sobre mastócitos, células importantes nos processos alérgicos, impedindo a liberação de mediadores cruciais na resposta alérgica (ALVES et al., 2017a).

Em modelos *in vivo*, *C. sympodialis* foi capaz de aumentar o tempo de sobrevivência de animais submetidos a choque anafilático (THOMAS et al., 1997a; BEZERRA-SANTOS; PEÇANHA; PIUVEZAM, 2005; COSTA et al., 2008; ALVES et al., 2017a). Os sintomas anafiláticos e o choque anafilático são reações sistêmicas graves, de desenvolvimento rápido e potencialmente fatais que ocorrem após o contato com o gatilho (alérgeno), seguido pela liberação de uma série de substâncias que afetam a permeabilidade vascular, o tônus muscular liso dos vasos sanguíneos e brônquios, com ativação da cascata inflamatória sistêmica. Do ponto de vista fisiopatológico, pode ser uma resposta imune mediada por IgE seguida de liberação maciça de mediadores biologicamente ativos de mastócitos e basófilos (KRČMOVÁ; NOVOSAD, 2019). A WAR e a MWAR foram capazes de manejar a alergia alimentar em animais sensibilizados com OVA, diminuindo ligeiramente o *score* de evacuações (COSTA et al., 2013). Essa atividade pode, inclusive, ser potencializada pelo efeito que *C. sympodialis* sobre processos diarreicos (DE SALES et al., 2015).

Sabe-se que os AINEs podem causar danos gástricos, inclusive serem potentes agentes causadores de úlceras pépticas, e a prevalência dessa correlação tem aumentado (DE CARLI et al., 2015). Ainda, os efeitos da toxicidade dos AINEs no intestino delgado têm ganho evidência, onde a lesão é tão prevalente quanto no gastroduodeno (TAI; MCALINDON, 2018). Portanto, *C. sympodialis* oferece mais uma vantagem sobre os demais medicamentos anti-inflamatórios, pois ao invés de apresentar danos gástricos, a espécie ofereceu gastroproteção em diferentes modelos experimentais (DE SALES et al., 2018).

A maioria das atividades de *C. sympodialis* relatadas, tais como a atividade anti-inflamatória, espasmolítica, antidepressiva e gastroprotetora, parecem ter uma relação direta com sua ação sobre a inibição das PDEs IV e V (THOMAS et al., 1997b). As fosfodiesterases (PDEs) são uma família de diversas enzimas (11 isoformas identificadas até o momento) responsáveis pela degradação do monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) e do monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) que estão envolvidos em várias funções celulares e bioquímicas (BHAT et al., 2020). Devido à expressão e regulação gênica específica de células e tecidos, os PDEs modulam funções únicas baseadas em órgãos (TAVARES et al., 2020).

Uma sinalização intracelular complexa governa diferentes respostas celulares na inflamação (BHAT et al., 2020). O cAMP é um indutor de respostas anti-inflamatórias, e as vias dependentes do cAMP têm sido extensivamente exploradas farmacologicamente para tratar doenças inflamatórias, sendo apontado como coordenador das principais etapas da resolução da inflamação (TAVARES et al., 2020). Dentre suas funções, esse mediador pode regular a liberação de citocinas, bem como a apoptose e fagocitose de granulócitos, além de induzir a polarização de macrófagos (TAVARES et al., 2020). A ação de *C. sympodialis*, a modulação exercida sobre macrófagos, neutrófilos, e linfócitos B, foram mediadas pelo aumento intracelular de cAMP (THOMAS et al., 1995; THOMAS; SELAK; HENSON, 1999; ALEXANDRE-MOREIRA; PIUVEZAM; PEÇANHA, 2003), na qual a WAR foi relatada como componente responsável pela ação farmacológica exercida sobre neutrófilos e linfócitos B (LIMA et al., 2014; ROCHA et al., 2010).

A PDE IV também é encontrada em células neurológicas de mamíferos, bem como em células musculares lisas das vias aéreas (BHAT et al., 2020; KRYMSKAYA; PANETTIERI, 2007). Nessa perspectiva, a ação antidepressiva relatada com o tratamento de derivados de *C. sympodialis*, foi relacionada com a possível ação desta sobre a inibição da PDE e consequente aumento de cAMP (ALMEIDA et al., 1998; MENDONÇA-NETTO et al., 2008). O potencial relaxante na musculatura lisa traqueal também foi relacionado a inibição da PDE, levando ao aumento da concentração intracelular de nucleotídeos cíclicos e consequentemente ao relaxamento do órgão, podendo melhorar a passagem de ar e contribuir para o manejo de broncoespasmos em pacientes asmáticos (THOMAS et al., 1997b).

Os produtos da espécie também apresentaram efeito protetor sobre o pulmão de animais. Esse efeito ocorreu em decorrência da imunomodulação diminuindo o processo inflamatório nos pulmões afetados, e consequentemente os danos teciduais em camundongos asmáticos (BEZERRA-SANTOS et al., 2012). Esse efeito foi observado ainda em ratos diabéticos, pois o tratamento com derivados *C. sympodialis* foi capaz de reaver a histoarquitetura pulmonar normal em ratos com danos causados pela diabetes experimental (DE MEDEIROS et al., 2020).

Até o momento, diversas foram as vantagens fitoquímicas, farmacológicas e terapêuticas descritas para a *C. sympodialis*, o que estimula, cientificamente, o avanço para o desenvolvimento de um novo medicamento. Todavia, a contribuição que a

espécie apresenta não são puramente acadêmicas, e pode fortalecer diferentes pontos sociais e econômicos, valorizando a fitoterapia local e estimulando o cultivo regional da espécie.

Mesmo sendo instituído como vegetal símbolo do Estado da Paraíba, a *C. sympodialis* ainda não é amplamente conhecida em todo estado sendo, portanto, uma perda para toda população paraibana, pois inúmeros indivíduos deixam de usufruir dos benefícios da planta por simples falta de conhecimento de sua existência ou da eficácia que a espécie pode oferecer para o manejo de problemas respiratórios.

O potencial para ampliação do acesso às ações e serviços com plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos pode ser impulsionado por diferentes práticas (BATISTA; VALENÇA, 2012). E a utilização de plantas medicinais pode atuar como ferramenta de estímulo para o resgate da cultura, tradicionalidade e qualidade de vida local.

A própria lei que institucionaliza a *C. sympodialis* como vegetal símbolo da Paraíba, aponta estratégias importantes para sua valorização local (Anexo II). A mesma sugere que as Secretarias Estaduais do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos, e da Ciência e Tecnologia, realize o cultivo da espécie em seus viveiros, favorecendo a disponibilidade local para fins farmacêuticos e para a agricultura familiar.

Pôde-se ainda observar que o cultivo de espécies endêmicas em hortas comunitárias presentes em Unidades Básicas de Saúde (UBS), pode favorecer e apoiar às ações educativas sobre uso adequado de plantas medicinais, promovendo discussões sobre o uso racional de medicamentos. Em adição, pode introduzir conceitos e práticas de educação ambiental, bem como criar e fortalecer espaços de acolhimento e inclusão social (SANTOS et al., 2016).

A universidade, como instituição de ensino, pesquisa e extensão, vem contribuindo não apenas no respaldo científico sobre as propriedades farmacológicas de *C. sympodialis*, mas também na divulgação contínua do seu potencial terapêutico, bem como no cultivo regional, auxiliando assim no fortalecimento da fitoterapia. Tais práticas podem contribuir diretamente para o aperfeiçoamento do ensino sobre plantas medicinais tanto nas IES, assim como nas unidades de atenção primária, levando a uma vivência contínua dos profissionais de saúde ali inseridos.

## Produtos

## 7. PRODUTOS

No sentido de contribuir para divulgação sobre as potencialidades terapêuticas de *C. sympodialis*, dentro e fora da comunidade acadêmica da Universidade Federal da Paraíba, elaboramos ações para amplificação do conhecimento da espécie. Realizamos parcerias com projetos de extensão e ligas acadêmicas, para divulgar em redes sociais postagens que abordem o uso da planta para o tratamento coadjuvante na asma alérgica.

A preparação do material divulgado foi construído com base nos estudos científicos publicados, com uma estética agradável e atrativa (Anexo V). As publicações ocorreram na rede social *Instagram*, com a colaboração do Projeto de Extensão Protocolos Fito (UFPB), do Programa de Educação Tutorial de Farmácia, PET-Farmácia (UFPB), da Liga Acadêmica de Fitoterapia da Universidade Federal do Ceará, LAFITO (UFC), e do perfil de divulgação científica ImunoMaravis (UFPB). As publicações tiveram um bom alcance de internaltas e um engajamento sólido, o que mostra que foi um passo importante na divulgação da espécie.

Elaboramos também um panfleto informativo sobre *C. sympodialis* (Anexo VI), que trás as medidas caseiras para preparação do infuso das folhas. Esse panfleto pode ser oferecido para as instituições governamentais municipais e estaduais, no sentido de oferecer as comunidades um material de confiança, que enalteça valor à planta, fortaleça a fitoterapia local e amplifique a utilização da planta como medida terapêutica.

A construção desse trabalho gerou também a elaboração, apresentação e publicação em anais, do trabalho intitulado **“Alcaloides naturais de plantas paraibanas e alcaloides sintéticos como perspectiva terapêutica para manejo da síndrome da asma e rinite alérgicas combinadas (CARAS)”**, apresentado no IV Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências, em agosto de 2019, na cidade de Campina Grande – PB (Anexo III). Assim também como agregou na publicação do livro **“*Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae), Milona – de 1988 até 2020”**, idealizado pelo professor Dr. José Maria Barbosa Filho/UFPB, João Pessoa, PB, Brasil, publicado como e-book pela **Editora Universitária da UFPB**, em coautoria com outros pesquisadores e alunos (Capa da obra no Anexo IV).

## Considerações finais

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Cissampelos sympodialis* é uma planta medicinal com inúmeros efeitos biológicos. Preparações populares do infuso das folhas ou raízes se mostraram promissoras para o manejo de doenças inflamatórias respiratórias, e o uso popular foi respaldado por inúmeros estudos experimentais, com mecanismos de ação descritos. Os estudos fitoquímicos realizados até então com a espécie, apresentam essa planta como fonte de alcaloides isoquinolínicos, com ações farmacológicas, mas também apresenta moléculas dos grupos fenólicos com efeitos importantes.

A variedade fitoquímica e o potencial terapêutico de *C. sympodialis*, coloca a planta como matéria prima promissora para a produção de um novo produto tradicional fitoterápico, que auxilie no tratamento da asma alérgica. E os estudos realizados até o momento, fornecem o embasamento necessário para investigações clínicas que possam respaldar o desenvolvimento aperfeiçoado de um fitomedicamento ou fitofármaco.

Portanto, a importância etnobotânica da planta permite o desenvolvimento de ações que possam fortalecer a fitoterapia local, valorizar raízes culturais e agregar valor à saúde de diversos indivíduos.

## Referências bibliográficas

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

ABNT, A. B. DE N. T. **ABNT NBR nº 6023 Informação e documentação-Referências-Elaboração Information and documentation-References-Developing**, 2018. Disponível em: <www.abnt.org.br>. Acesso em: 1 ago. 2020

AIT-DAOUD, N. et al. A Review of Alprazolam Use, Misuse, and Withdrawal. **Journal of Addiction Medicine**, v. 12, i. 1, p. 4-10, 2018.

ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; PIUVEZAM, M. R.; PEÇANHA, L. M. T. Modulation of B lymphocyte function by an aqueous fraction of the ethanol extract of *Cissampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 11, p. 1511–1522, 2003.

ALMEIDA, R. N. et al. Antidepressant effect of an ethanolic extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 63, n. 3, p. 247–252, dez. 1998.

ALMEIDA, R. N. et al. Anorectic and behavioural effects of chronic *Cissampelos sympodialis* treatment in female and male rats. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 2, p. 121–124, 2005.

ALVES, A. F. et al. Milonine, an Alkaloid of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) Inhibits Histamine Release of Activated Mast Cells. **Inflammation**, v. 40, n. 6, p. 2118–2128, 15 dez. 2017a.

ALVES, M. F. et al. Toxicological evaluation in silico and in vivo of secondary metabolites of *Cissampelos sympodialis* in *Mus musculus* mice following inhalation. **Natural Product Research**, v. 33, n. 6, p. 789–795, 2017b.

ALVES, M. F. et al. In silico and In vivo Toxicological Evaluation of *Cissampelos Sympodialis* Secondary Metabolites in *Rattus Norvegicus*. **Current Drug Metabolism**, v. 18, n. 6, 2017c.

ANTONIO, G. D.; TESSER, C. D.; MORETTI-PIRES, R. O. Phytotherapy in primary health care. **Revista de Saude Publica**. Universidade de Sao Paulo, 2014.

ANVISA. Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 4, de 18 de junho de 2014.**, p. 1–123, 2014.

ANVISA. **Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira**. [s.l: s.n.].

ANVISA. Primeiro suplemento do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira 1ª edição.

ANVISA, A. N. DE V. S. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. 1ª edição ed. Brasília:

ANVISA, A. N. DE V. S. GUIA PARA A CONDUÇÃO DE ESTUDOS NÃO CLÍNICOS DE TOXICOLOGIA E SEGURANÇA FARMACOLÓGICA NECESSÁRIOS AO DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS. v. 2

ANVISA, A. N. DE V. S. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 9, DE 20 DE FEVEREIRO DE 2015** *Diário Oficial da União*, 3 mar. 2015. Disponível em:

<[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3503972/RDC\\_09\\_2015\\_COMP.pdf/e26e9a44-9cf4-4b30-95bc-feb39e1bacc6](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3503972/RDC_09_2015_COMP.pdf/e26e9a44-9cf4-4b30-95bc-feb39e1bacc6)>.

ANVISA, A. N. DE V. S. **Ensaios clínicos**. Disponível em:

<[http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-](http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2864110&_101_type=content&_101_urlTitle=>)

[1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_assetEntryId=2864110&\\_101\\_type=content&\\_101\\_urlTitle=>](http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2864110&_101_type=content&_101_urlTitle=>).

ARAGÃO, C. F. S. et al. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. January, p. 60–61, 2002.

ARAGÃO, C. F. S.; FILHO, J. M. B.; MACÊDO, R. O. Thermal characterization of warifteine by means of TG and a DSC photovisual system. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. Anais**, 2001

ASSIS, Á. C. L. et al. Warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid, induces relaxation by activating potassium channels in vascular myocytes. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 40, n. 1, p. 37–44, 2013.

BARBOSA-FILHO, J. M. et al. **Cissampelos sympodialis Eichl (Menispermaceae) Milona: de 1988 até 2020**. 1. ed. Editora UFPB, João Pessoa, 2020.

BARBOSA FILHO, J. M.; AGRA, M. DE F.; THOMAS, G. Botanical, chemical and pharmacological investigation on *Cissampelos* species from Paraíba (Brazil). **Ciência e Cultura Journal of the Brazilian Association of the Advencimento of Science**, v. 49, n. 5/6, p. 386–94, 1997.

BARZILAY, R. et al. Association of anxiety phenotypes with risk of depression and suicidal ideation in community youth. **Depression and Anxiety**, v. 37, n. 9, p. 851–861, 1 set. 2020.

BATISTA-LIMA, K. V et al. Anti-inflammatory Activity of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) Leaf Extract **Acta Farm. Bonaerense**, 2001.

BATISTA, L. M.; VALENÇA, A. M. G. A Fitoterapia no Âmbito da Atenção Básica no SUS: Realidades e Perspectivas. **Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.**, v. 12, n. 2, p. 293–296, 2012.

BEZERRA-SANTOS, C. R. et al. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae): Oral treatment decreases IgE levels and induces a Th1-skewed cytokine production in ovalbumin-sensitized mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2–3, p. 191–197, 2004.

BEZERRA-SANTOS, C. R. et al. Anti-allergic properties of *Cissampelos sympodialis* and its isolated alkaloid warifteine. **International Immunopharmacology**, v. 6, n. 7, p. 1152–1160, jul. 2006.

BEZERRA-SANTOS, C. R. et al. Effectiveness of *Cissampelos sympodialis* and its isolated alkaloid warifteine in airway hyperreactivity and lung remodeling in a mouse

model of asthma. **International Immunopharmacology**, v. 13, n. 2, p. 148–155, jun. 2012.

BEZERRA-SANTOS, C. R. et al. Cissampelos sympodialis and Warifteine Suppress Anxiety-Like Symptoms and Allergic Airway Inflammation in Acute Murine Asthma Model. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, n. 2, p. 224–232, 9 mar. 2020.

BEZERRA-SANTOS, C. R.; PEÇANHA, L. M. T.; PIUVEZAM, M. R. Cissampelos sympodialisEichl. (Menispermaceae) inhibits anaphylactic shock reaction in murine allergic model. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 4, p. 287–291, 2005.

BHAT, A. et al. Phosphodiesterase-4 enzyme as a therapeutic target in neurological disorders. **Pharmacological Research**, 2020.

BRASIL, M. DA S. DO. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília: [s.n.].

BRASIL, M. DA S. **POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_fitoterapicos.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf)>. Acesso em: 21 maio. 2020b.

BRASIL, M. DA S. **Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA-RDC Nº 26, DE 13 DE MAIO DE 2014**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026\\_13\\_05\\_2014.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf)>.

BRASIL, M. DA S. **Práticas Integrativas e Complementares: quais são e para que servem**. Disponível em: <<https://saude.gov.br/saude-de-a-z/praticas-integrativas-e-complementares>>. Acesso em: 24 jul. 2020.

BRASIL, M. DA S. **Consultas - Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/q/?categoriasRegulatorias=4>>. Acesso em: 23 jul. 2020.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 91, 2019.

CAPASSO, F. et al. Dissociation of castor oil-induced diarrhoea and intestinal mucosal injury in rat: effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester. **British Journal of Pharmacology**, v. 113, n. 4, p. 1127–1130, 1994.

CARVALHO, A. C. B. et al. Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos Brazilain Regulation on Medicinal Plants and Herbal Medicines. **Revista Fitos**, v. 7, n. 1, p. 5–16, 2012.

CASTRO MORENO, J. A. El estatus ontológico, epistemológico y ético de los animales de laboratorio. Del especismo a la biofilia y la bioética. **Tabula rasa**, n. 32, p. 39–56, 1 out. 2019.

CAVALCANTE, H. M. M. et al. Cardiovascular Effects Elicited by Milonine, a New 8,14-Dihydromorphinandienone Alkaloid. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 108, n. 2, p. 122–130, 2010.

CAVALCANTI, A. C. et al. Studies with Cissampelos sympodialis: The search

towards the scientific validation of a traditional Brazilian medicine used for the treatment of asthma. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 3, p. 527–541, 2013.

CAVALCANTI, A. C. et al. Pharmacognostic evaluation of *Cissampelos sympodialis* Eichl leaves. **South African Journal of Botany**, v. 93, n. July 2015, p. 70–78, 2014.

CAVALCANTI, R. F. P. et al. Warifteine and methylwarifteine inhibited the type 2 immune response on combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS) experimental model through NF- $\kappa$ B pathway. **International Immunopharmacology**, v. 85, 1 ago. 2020.

CERQUEIRA-LIMA, A. T. et al. Effects of *Cissampelos sympodialis* Eichl. and its alkaloid, warifteine, in an experimental model of respiratory allergy to *Blomia tropicalis*. **Current drug targets**, v. 11, n. 11, p. 1458–67, nov. 2010.

CERQUEIRA-LIMA, A. T. et al. Effects of *Cissampelos sympodialis* Extract in a Murine Model of Streptozotocin-Induced Diabete. **Autoimmune Diseases and Therapeutic Approaches**, v. 1, n. 2, p. 1–9, 2014.

CHEN, C.-Y. Review on pharmacological activities of liriodenine. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, n. 18, p. 1067–1070, 15 maio 2013.

COLLAUD, F. et al. Preclinical Development of an AAV8-hUGT1A1 Vector for the Treatment of Crigler-Najjar Syndrome. **Molecular Therapy - Methods and Clinical Development**, v. 12, p. 157–174, 15 mar. 2019.

CORTÊS, S. et al. Spasmolytic actions of warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from the root bark of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (menispermaceae). **Phytotherapy Research**, v. 9, n. 8, p. 579–583, 1995.

COSTA, H. F. et al. Warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid, decreases immediate allergic and thermal hyperalgesic reactions in sensitized animals. **International Immunopharmacology**, v. 8, n. 4, p. 519–525, abr. 2008.

COSTA, H. F. et al. Managing murine food allergy with *Cissampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae) and its alkaloids. **International Immunopharmacology**, v. 17, n. 2, p. 300–308, 2013.

CUNHA, Â. G. J. et al. The impact of asthma on quality of life and anxiety: a pilot study. **Journal of Asthma**, v. 56, n. 6, p. 680–685, 3 jun. 2019a.

CUNHA, W. E. M. et al. Antibiotic-Potentiating Activity of Phanostenine Isolated from *Cissampelos sympodialis* Eichler. **Chemistry and Biodiversity**, v. 16, n. 12, 2019b.

DA SILVA, E. C. et al. Antileishmanial activity of warifteine: A bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from *cissampelos sympodialis eichl*. (Menispermaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2012, n. 516408, p. 5, 2012.

DA SILVA MENDES, J. W. et al. *Cissampelos* genus: biological activities, ethnobotanical and phytochemical aspects. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, 2020.

DE ANDRADE, D. M. L. et al. Jabuticaba-induced endothelium-independent vasodilating effect on isolated arteries. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 223–229, 1 set. 2016.

DE CARLI, D. M. et al. Diferentes frequências da úlcera péptica relacionadas com H. pylori ou AINES. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 52, n. 1, p. 46–49, 2015.

DE F. CÔRTEZ, S. et al. Spasmolytic actions of warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from the root bark of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (menispermaceae). **Phytotherapy Research**, v. 9, n. 8, p. 579–583, 1 dez. 1995.

DE FREITAS, M. R. et al. Milonine, an 8,14-dihydromorphinandienone alkaloid from leaves of *Cissampelos sympodialis*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1553–1555, 1 nov. 1995.

DE FREITAS, M. R. et al. Modification of Ca<sup>2+</sup> metabolism in the rabbit aorta as a mechanism of spasmolytic action of warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid isolated from the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 48, n. 3, p. 332–336, 1996.

DE LIRA, G. A. et al. Roraimine: A bisbenzylisoquinoline alkaloid from *Cissampelos sympodialis* roots. **Fitoterapia**, v. 73, n. 4, p. 356–358, jul. 2002.

DE MEDEIROS, T. D. et al. Ethanol extract of *Cissampelos sympodialis* ameliorates lung tissue damage in streptozotocin-induced diabetic rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, n. 17374, p. 1–9, 2020.

DE MELO, I. C. A. R. et al. Metabolomic fingerprinting of *Cissampelos sympodialis* Eichler leaf extract and correlation with its spasmolytic activity: “Metabolomic Fingerprinting and bioactivity of *C. sympodialis*”. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 253, n. 112678, 2020.

DE PÁDUA, E. M. M. **Metodologia da pesquisa: Abordagem teórico-prática**. Papyrus Editora ed. [s.l.: s.n.]. v. 1

DE SALES, I. R. P. et al. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae), a medicinal plant, presents antimotility and antidiarrheal activity in vivo. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–6, 2015.

DE SALES, I. R. P. et al. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 222, p. 190–200, 10 ago. 2018.

DINIZ, M. F. F. M. et al. Subacute toxicology studies on the aqueous fraction of the ethanol extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) in dogs. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 87–89, 2002.

DIZDAROGLU, Y. et al. Design, synthesis and molecular modelling studies of some pyrazole derivatives as carbonic anhydrase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 289–297, 1 jan. 2020.

DO BÚ, E.; FERREIRA DE ARAÚJO, C. R. A Fitoterapia e sua inserção no contexto da Atenção Básica. **Revista Saúde e Ciência Online**, v. 4, n. 2, p. 120–128, 2015.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, 1 out. 2016.

FRANÇA, E. DE; VASCONCELLOS, A. G. PATENTES DE FITOTERÁPICOS NO BRASIL: UMA ANÁLISE DO ANDAMENTO DOS PEDIDOS NO PERÍODO DE 1995-

2017. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 35, n. 3, p. 329–359, 23 jan. 2018.

FREITAS, M. R. et al. Mechanisms of the contractile effect of the hydroalcoholic extract of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in the rat aorta. **Phytomedicine**, v. 7, n. 1, p. 63–67, 2000.

GOMES, A. P. B.; FREIRE, F. D.; ARAGÃO, C. F. S. Determination of vapor pressure curves of warifteine and methylwarifteine by using thermogravimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 249–252, 2012.

HABIMORAD, P. H. L. et al. Implementation of brazil's national policy on complementary and integrative practices: Strengths and weaknesses. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 25, n. 2, p. 395–405, 1 fev. 2020.

HASENCLEVER, L. et al. The Brazilian phytotherapies industry: Challenges and opportunities. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2559–2569, 2017.

INCA, I. N. DE C. **Fases de desenvolvimento de um novo medicamento | INCA - Instituto Nacional de Câncer**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/pesquisa/ensaios-clinicos/fases-desenvolvimento-um-novo-medicamento>>. Acesso em: 28 jul. 2020.

INTERNATIONAL FEDERATION OF PHARMACEUTICAL MANUFACTURERS & ASSOCIATIONS. **The pharmaceutical industry and Global Health. Facts and Figures 2017**. [s.l: s.n.].

KAMBLE, S. H. et al. Exploration of cytochrome P450 inhibition mediated drug-drug interaction potential of kratom alkaloids. **Toxicology Letters**, v. 319, p. 148–154, 1 fev. 2020.

KRČMOVÁ, I.; NOVOSAD, J. Anaphylactic symptoms and anaphylactic shock. **Vnitřní Lekarství**, v. 65, n. 2, p. 149–156, 2019.

KRYMSKAYA, V. P.; PANETTIERI, R. A. Phosphodiesterases Regulate Airway Smooth Muscle Function in Health and Disease. **Current Topics in Developmental Biology**, v. 79, p.61-74, 2007.

LEITE, F. C. et al. *Cissampelos sympodialis* has anti-viral effect inhibiting dengue non-structural viral protein-1 and pro-inflammatory mediators. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 4, p. 502–506, 2016.

LI, J.; FU, A.; ZHANG, L. An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, 2019.

LIMA, T. F. A. et al. Warifteine, an alkaloid purified from *cissampelos sympodialis*, inhibits neutrophil migration in vitro and in vivo. **Journal of Immunology Research**, v. 2014, n. ID 752923, p. 12, 2014.

LORENZO, V. P. et al. Computational Chemistry Study of Natural Alkaloids and Homemade Databank to Predict Inhibitory Potential Against Key Enzymes in Neurodegenerative Diseases. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 26, p. 2926–2934, 2017.

MAGALHÃES, K. DO N. et al. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu

- Matos. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 237, p. 314–353, 12 jun. 2019.
- MALHI, G. S.; MANN, J. J. Depression. **The Lancet**, v. 24;392(10161), p. 2299-2312, 2018.
- MANGUEIRA, L. F. B. et al. Clinical safety evaluation of a tea containing *Cissampelos sympodialis* in healthy volunteers. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 5, p. 491–498, 2015.
- MARINHO, A. F. et al. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments of two new isomeric bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae). **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 312–315, 2013.
- MARINHO, A. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; OLIVEIRA, E. J. A validated method for the simultaneous quantitation of bioactive alkaloid markers in the leaf ethanolic extract of *cissampelos sympodialis* eichl.: A phenological variation study. **Phytochemical Analysis**, v. 23, n. 5, p. 426–432, 2012.
- MEDEIROS, I. A. et al. Cardiovascular effects of an aqueous fraction of the ethanol extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in the rat. **Phytomedicine**, v. 5, n. 2, p. 97–102, 1998.
- MELO, P. S. et al. Warifteine and milonine, alkaloids isolated from *Cissampelos sympodialis* Eichl: Cytotoxicity on rat hepatocyte culture and in V79 cells. **Toxicology Letters**, v. 142, n. 1–2, p. 143–151, 2003.
- MENDES DE OLIVEIRA JUNIOR, W. et al. Analgesic effect of hydroalcoholic extract of *Cissampelos sympodialis* Eichl leaves. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 10, n. 4, p. 333–337, 2011.
- MENDONÇA-NETTO, S. et al. Antidepressant effects of total tertiary alkaloid fraction of *Cissampelos sympodialis* Eichler in rodents. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 2, p. 165–169, 2008.
- MODA, T. L.; ANDRICOPULO, A. D. **Desenvolvimento de Modelos In Silico de Propriedades de ADME Para a Triagem de Novos Candidatos a Fármacos**. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2007.
- MORESI, E. **Metodologia da Pesquisa**. Brasília -DF: [s.n.]. v. 1
- MUKHERJEE, R.; KEIFER, P. A. Warifteine and methylwarifteine: <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C assignments by two-dimensional NMR spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 213–218, 2003.
- PACHECO DE OLIVEIRA, M. T. et al. Synthesis, toxicity study and anti-inflammatory effect of MHTP, a new tetrahydroisoquinoline alkaloid. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 37, n. 4, p. 400–412, 2015.
- PAIVA FERREIRA, L. K. D. et al. Combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS). **International Immunopharmacology**, v. 74, p. 105718, 27 set. 2019.
- PECHOUS, R. D. With friends like these: The complex role of neutrophils in the progression of severe pneumonia. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7:160, 2017.

- PELUCI, M. et al. Aplicação de modelos animais na pesquisa biomédica experimental experimental biomedical research Resumo. **Revista de Saúde - RSF**, v. 4, n. 2, 15 dez. 2017.
- PEREIRA, A. L. DA C. Síntese, elucidação estrutural e estudos in silico de novos compostos 2-amino-tiofeno candidatos a fármacos antifúngicos, antileishmanicida e antitumorais. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2019.
- PIUVEZAM, M. R. et al. Cissampelos sympodialis Eichl. leaf extract increases the production of IL-10 by concanavalin-A-treated BALB/c spleen cells. **Journal of ethnopharmacology**, v. 67, n. 1, p. 93–101, out. 1999.
- PORTO, N. M.; BASÍLIO, I. J. L. D.; AGRA, M. D. F. Estudo farmacobotânico de folhas de Cissampelos sympodialis Eichl. (Menispermaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 102–107, 2008.
- RIBEIRO, L. H. L. Análise dos programas de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS) sob a perspectiva territorial. **Ciencia & saude coletiva**, v. 24, n. 5, p. 1733–1742, 30 maio 2019.
- ROCHA, J. D. B. et al. Inhibitory Effect of the Alkaloid Warifteine Purified from Cissampelos sympodialis on B Lymphocyte Function in Vitro and in Vivo. **Planta Medica**, v. 76, n. 4, p. 325–330, 2010.
- ROSSI, A. et al. *In vitro* characterization of the effects of chronic insulin stimulation in mouse 3T3-L1 and human SGBS adipocytes. **Adipocyte**, v. 9, n. 1, p. 415–426, 1 jan. 2020.
- RUDD, J. M. et al. Neutrophils induce a novel chemokine receptors repertoire during influenza pneumonia. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, n. MAR, 2019.
- SÁ, K. M. et al. Avaliando o impacto da política brasileira de plantas medicinais e fitoterápicos na formação superior da área de saúde. **Revista Ibero-Americana de Estudos em Educação**, v. 13, n. 3, p. 1106–1131, 3 jul. 2018.
- SALMASO, V.; MORO, S. Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 923, 22 ago. 2018.
- SANTOS, E. A. D. DOS et al. GRUPO DE HORTA E PLANTAS MEDICINAIS: ESPAÇO DE PRODUÇÃO DE SAÚDE NA ATENÇÃO PRIMÁRIA EM UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE PERTENCENTE À REDE DE SERVIÇOS DA SMS/SÃO PAULO, CRS OESTE. **Anais do XXX Congresso de Secretários Municipais de Saúde do Estado de São Paulo**, abr. 2016.
- SCHIEFER, M. et al. Hypoglossal Nerve Stimulation in a Rabbit Model of Obstructive Sleep Apnea Reduces Apneas and Improves Oxygenation. **Journal of Applied Physiology**, p. japplphysiol.00828.2019, 23 jul. 2020.
- SEMWAL, D. K. et al. From arrow poison to herbal medicine - The ethnobotanical, phytochemical and pharmacological significance of Cissampelos (Menispermaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. Elsevier Ireland Ltd, , 11 set. 2014.
- SHEN, Y. et al. M2 macrophages promote pulmonary endothelial cells regeneration

in sepsis-induced acute lung injury. **Annals of Translational Medicine**, v. 7, n. 7, p. 142–142, abr. 2019.

SILVA, L. R. et al. Milonine, a Morphinandienone Alkaloid, Has Anti-Inflammatory and Analgesic Effects by Inhibiting TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  Production. **Inflammation**, v. 40, n. 6, p. 2074–2085, 11 dez. 2017.

SONG, P. et al. Mechanism of the Intestinal Absorption of Six Flavonoids from Zizyphi Spinosi Semen Across Caco-2 Cell Monolayer Model. **Current Drug Metabolism**, v. 21, 14 jul. 2020.

SOUSA, H. G. L. DE et al. Warifteine therapeutic treatment reduced leukocyte recruitment and anxiety-like response in ovalbumin-induced allergic pulmonary inflammation. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 65737–65754, 8 set. 2020.

SUN, D. et al. Screening and identification of Caulis Sinomenii bioactive ingredients with dual-target NF- $\kappa$ B inhibition and  $\beta_2$ -AR agonizing activities. **Biomedical Chromatography**, v. 30, n. 11, p. 1843–1853, 1 nov. 2016.

TAI, F. W. D.; MCALINDON, M. E. NSAIDs and the small bowel. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 34, i. 3, p. 175-182, 2018.

TAVARES, L. P. et al. Blame the signaling: Role of cAMP for the resolution of inflammation. **Pharmacological Research**. Academic Press, v. 159, 2020.

THOMAS, G. et al. Preliminary studies on the hydroalcoholic extract of the root of Cissampelos sympodialis Eichl in guinea-pig tracheal strips and bronchoalveolar leucocytes. **Phytotherapy Research**, v. 9, n. 7, p. 473–477, 1995.

THOMAS, G. et al. Bronchodilator activity of an aqueous fraction of an ethanol extract of the leaves of Cissampelos sympodialis Eichl. (Menispermaceae) in the guinea pig. **Phytomedicine**, v. 4, n. 3, p. 233–238, 1997a.

THOMAS, G. et al. Characterization of an extract from the leaves of Cissampelos sympodialis Eichl. on the spontaneous tone of isolated trachea. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 7, p. 496–499, 1997b.

THOMAS, G.; SELAK, M.; HENSON, P. M. Effects of the aqueous fraction of the ethanol extract of the leaves of Cissampelos sympodialis Eichl. in human neutrophils. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 1, p. 9–13, 1999.

TOBIN, M.; MANTHOUS, C. What is acute respiratory distress syndrome? **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine** American Thoracic Society 2017.

TORRES, L. et al. Tratamento da osteoartrose experimental em joelhos de ratos com extrato hidroalcoólico do cisampelos sympodialis eichl. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 13, n. 1, p. 26–32, 2009.

TUMES, D. J. et al. Epigenetic regulation of T-helper cell differentiation, memory, and plasticity in allergic asthma. **Immunological Reviews**, v. 278, i. 1, p. 8-19, 2017.

VANDERWALL, A. G.; MILLIGAN, E. D. Cytokines in Pain: Harnessing Endogenous Anti-Inflammatory Signaling for Improved Pain Management. **Frontiers in Immunology**, v. 23, 2019.

- VIEIRA, G. C. et al. Inhaled *Cissampelos sympodialis* Down-Regulates Airway Allergic Reaction by Reducing Lung CD3 + T Cells. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 6, p. 916–925, jun. 2012.
- VIEIRA, G. C. et al. Warifteine, an alkaloid of *Cissampelos sympodialis*, modulates allergic profile in a chronic allergic rhinitis model. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 1, p. 50–56, 1 jan. 2018.
- WANG, D. et al. Effects of tetrahydroberberine and tetrahydropalmatine on hepatic cytochrome P450 expression and their toxicity in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 268, p. 47–52, 25 abr. 2017.
- WANG, L. et al. Recovery from acute lung injury can be regulated via modulation of regulatory T cells and Th17 cells. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 88, n. 5, 1 nov. 2018.
- WANG, L. et al. Antioxidative and antiapoptosis: Neuroprotective effects of dauricine in Alzheimer's disease models. **Life Sciences**, v. 243, 15 fev. 2020.
- XIONG, F. et al. Protein cross-linking in primary cultured mouse hepatocytes by dehydropyrrolizidine alkaloids: Structure–toxicity relationship. **Toxicon**, v. 186, p. 4–11, 30 out. 2020.
- XU, J. et al. Pyrrolizidine alkaloids: An update on their metabolism and hepatotoxicity mechanism. **Liver Research**, v. 3. i. 3-4, p. 173-184, 2019.
- YI, C. et al. Design, synthesis and biological evaluation of 8-(2-amino-1-hydroxyethyl)-6-hydroxy-1,4-benzoxazine-3(4H)-one derivatives as potent  $\beta$ 2-adrenoceptor agonists. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 1, 1 jan. 2020.
- YUAN, N. N. et al. Neuroprotective effects of berberine in animal models of Alzheimer's disease: A systematic review of pre-clinical studies. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, 23 maio 2019.
- ZHANG, J.; XIE, T. Ghrelin inhibits cisplatin-induced MDA-MB-231 breast cancer cell apoptosis via PI3K/Akt/mTOR signaling. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, n. 3, 31 dez. 2019.

Anexos

## ANEXO I

### Preparações dos extratos e frações de *Cissampelos sympodialis* aplicados nos estudos relacionados às atividades biológicas

| Extrato etanólico das folhas (F-CsEtOH)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Folhas maduras foram coletadas da planta cultivada no Jardim Botânico da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil e identificada pelo Dra. MF Agra. Uma amostra de voucher (M F Agra 2013 JPB, LTF) está depositada no herbário do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba. As folhas foram secas em estufa a 40 °C e pulverizadas e extraídas em temperatura ambiente com etanol 95% em água por 72 h. O extrato foi seco a 60 ° C usando um rotavapor e o rendimento foi de aproximadamente 21%. |
| Estudos com essa preparação                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Almeida, R.N.; Navarro, D.S.; Assis, T.S.; Medeiros, I.A.; Thomas, G. Antidepressant effect of an ethanolic extract of the leaves of <i>Cissampelos sympodialis</i> in rats and mice. <b>Journal of Ethnopharmacology</b> v. 63, p. 247, 1998.                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Sales, I.R.P.; Machado, F.D.F.; Marinho, A.F.; Lúcio, A.S.S.C.; Barbosa-Filho, J.M.; Batista, L.M. <i>Cissampelos sympodialis</i> Eichl. (Menispermaceae), a medicinal plant, presents antimotility and antidiarrheal activity in vivo. <b>BMC - Complementary and Alternative Medicine</b> , v. 15, p. 253, 2015.                                                                                                                                                                                                                                   |
| Sales, I.R.P.; Formiga, R.O.; Machado, F.D.F.; Nascimento, R.F.; Pessoa, M.M.B.; Barros, M.E.F.X.; Vieira, G.C.; Gadelha, F.A.A.F.; Marinho, A.F.; Barbosa-Filho, J.M.; Araújo-Júnior, R.F.; Antunes, A.A.; Batista, L.M. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of <i>Cissampelos sympodialis</i> Eichl. in animal models. <b>Journal of Ethnopharmacology</b> , v. 222, p. 190-200, 2018.                                                                                                       |

### Extrato hidroalcoólico das folhas (F-CsEHA)

Folhas de *C. sympodialis* foram coletadas 150 dias após a primeira poda da planta cultivada no Jardim Botânico da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil. As folhas foram secas em estufa com circulação de ar a 38° C por 72 horas, e posteriormente moídas em moinho tipo Harley. Depois de quebradas, foram maceradas com etanol 35% em temperatura ambiente por mais de 72 horas. Em seguida, o material foi filtrado e submetido a nova extração pelo mesmo período. Os filtrados foram concentrados em um evaporador rotativo, dando origem a um material preto, higroscópico, denominado bruto hidroalcoólico, que foi submetido à liofilização.

### Estudos com essa preparação

Oliveira-Júnior, W.M.; Benedito, R.B.; Santos, C.C.D.P.; Rodrigues, L.T.D.; Marinho, A.F.; Moraes, L.C.S.L.; Diniz, M.F.F.M.; Almeida, R.N. Analgesic effect of hydroalcoholic extract of *Cissampelos sympodialis* Eichl leaves. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 10, p. 333-337-444, 2011.

### Extratos polares das folhas (F-CsEP)

Folhas de *C. sympodialis* foram coletadas no Jardim Botânico da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil (7.141632S, 34.846290W). Foi depositado no Herbário Lauro Pires Xavier, UFPB, um cupom-espécime (AGRA 1476). Seis diferentes amostras agrupadas de folhas (consistindo de 15 folhas de 8 espécimes de plantas diferentes, totalizando 60-80g de material vegetal fresco) foram coletadas mensalmente de março a agosto de 2012, com intervalo de 30 dias entre si, no mesmo horário do dia (10 horas da manhã). Folhas inteiras foram coletadas manualmente. A primeira

colheita foi iniciada 60 dias após a semeadura e a última após o surgimento dos primeiros frutos (210 dias após a semeadura).

As folhas coletadas foram imediatamente esmagadas com nitrogênio líquido e, em seguida, liofilizadas e mantidas em freezer (-80 °C). Uma amostra do material vegetal liofilizado (100 mg) foi agitada em vórtice por 1 minuto em uma mistura de 750 µL de metanol-d<sub>4</sub> e 750 µL de tampão de fosfato 90 mM (pH 6,0) contendo 0,1% (p / p) de 3- sal de sódio do ácido (trimetilsilil) propiônico-2,2,3,3-d<sub>4</sub> (TSP) como padrão interno. A mistura foi então sonicada durante 20 minutos e centrifugada a 5000 rpm durante 30 minutos. O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de seringa de nylon (0,45 µm) e 600 µL transferidos para um tubo de NMR. O mesmo procedimento de extração foi adotado para os extratos usados nos experimentos farmacológicos, exceto que o TSP não foi adicionado e os solventes de grau de HPLC foram usados em vez dos deuterados. Para os testes farmacológicos, o extrato final foi posteriormente evaporado em evaporador rotativo (40-45 °C) para remoção do metanol e o resíduo foi liofilizado. O resíduo liofilizado foi dissolvido em Cremophor® (3%, v / v) e diluído em água destilada para uma concentração final de 10,0 mg / mL. Cinco amostras diferentes de cada momento de coleta foram processadas separadamente e os extratos foram codificados de acordo com o período de colheita (número de dias após a semeadura) como: CsL60, CsL90, CsL120, CsL150, CsL180 e CsL210.

#### Estudos com essa preparação

Melo, I.C.A.R.; Souza, I.L.L.; Vasconcelos, L.H.C.; Scotti, M.T.; Silva, B.A.; Schripsema, J.; Fonseca, A.H.; Oliveira, E.J. Metabolomic fingerprinting of *Cissampelos sympodialis* Eichler leaf extract and correlation with its spasmolytic activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 253, Article 112678, 2020.

### Fração de Alcaloides Totais (FAT)

Após a preparação do F-CsEtOH, uma alíquota de 100 g deste foi solubilizada em solução ácida (HCl 3%) e filtrada com papel de filtro. A solução ácida resultante foi submetida a partição líquido-líquido com diclorometano. A camada de diclorometano foi descartada e a camada de ácido foi basificada com NH<sub>4</sub>OH a pH=9, com uma subsequente extração em clorofórmio. A fase de clorofórmio foi filtrada, sulfato de sódio anidro foi adicionado, e o líquido foi concentrado em um evaporador rotativo resultando no FAT (4,8 g).

### Estudos com essa preparação

Sales, I.R.P.; Machado, F.D.F.; Marinho, A.F.; Lúcio, A.S.S.C.; Barbosa-Filho, J.M.; Batista, L.M. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae), a medicinal plant, presents antimotility and antidiarrheal activity in vivo. **BMC - Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, p. 253, 2015.

Sales, I.R.P.; Formiga, R.O.; Machado, F.D.F.; Nascimento, R.F.; Pessoa, M.M.B.; Barros, M.E.F.X.; Vieira, G.C.; Gadelha, F.A.A.F.; Marinho, A.F.; Barbosa-Filho, J.M.; Araújo-Júnior, R.F.; Antunes, A.A.; Batista, L.M. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 222, p. 190-200, 2018.

### Fração de Alcaloides Totais Terciários (FATT)

As folhas foram provenientes do Jardim Botânico da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil e submetidas a processo de secagem a 50 °C. Posteriormente, as folhas foram pulverizadas e o pó extraído com etanol 70% em água a 70 °C por 5 dias. O extrato seco foi dissolvido em água, filtrado e volumes conhecidos foram secos para determinar a concentração final dos componentes solúveis em água. Todas as doses são expressas em termos de concentração dos componentes solúveis (mg/kg de peso corporal). O rendimento foi de 22% em média, com base nos resíduos sólidos presentes. O extrato hidroalcoólico de *C. sympodialis* foi submetido a procedimentos de obtenção do FATT, por cromatografia em coluna e em camada delgada. Resumidamente, o extrato foi dissolvido em HCl a 3% e extraído várias vezes com CHCl<sub>3</sub>. A fração aquosa foi basificada com NH<sub>4</sub>OH até pH 9 e novamente extraída com CHCl<sub>3</sub>. A fase de clorofórmio foi enxaguada com água, seca em MgSO<sub>4</sub> anidro e filtrada. O solvente foi removido sob pressão reduzida a 40 °C, obtendo-se assim o FATT.

### Estudos com essa preparação

Mendonca-Netto, S.; Varela, R.W.B.; Fachine, M.E.; Queiroga, M.N.G.; Souto-Maior, F.N.; Almeida, R.N. Antidepressant effects of total tertiary alkaloid fraction of *Cissampelos sympodialis* Eichler in rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 165-169, 2008

### Fração aquosa do extrato etanólico das folhas (AFL-1)

*Cissampelos sympodialis* EICHL foi coletado no Jardim Botânico da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil e foi identificado pelo departamento de botânica da Universidade Federal da Paraíba onde estão depositados os espécimes de voucher (código Agra 1456). Foram utilizados os métodos propostos pelo edital nº 116/96 da “Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária”, que regulamenta os estudos de toxicidade para fitomedicamentos no Brasil. As folhas foram secas a 35 °C em estufa e pulverizadas. O pó foi extraído com etanol 50% em água e o extrato hidroalcoólico resultante foi seco a 70 °C em rotaevaporador. Quando necessário, o AFL foi dissolvido em água destilada e usado nos testes.

### Estudos com essa preparação

Diniz, M.F.F.M.; Santos, H.B.; Cunha, M.A.L.; Duarte, J.C.; Moraes, M.A.; Medeiros, I.A. Subacute toxicology studies on the aqueous fraction of the ethanol extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae) in dogs. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 87-89, 2002

Almeida, R.N.; Diniz, M.F.F.M.; Medeiros, I.A.; Quintans-Junior, L.J.; Navarro, D.S.; Falcão, A.C.G.M.; Duarte, J.C.; Barbosa-Filho, J.M. Anorectic and behavioral effects of chronic *Cissampelos sympodialis* treatment in female and male rats. **Phytotherapy Research**, v. 19, p.121-124, 2005.

### Fração aquosa do extrato etanólico das folhas (AFL-2)

Folhas maduras de *Cissampelos sympodialis* Eichl., cultivadas no Jardim Botânico da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil da Universidade (amostra voucher Código Agra1456) foram secas a 40° C em uma estufa e pulverizadas. O pó foi extraído com etanol a 70% em água à temperatura ambiente (25-30 ° C) durante 72 h. O extrato resultante foi seco a 60 ° C usinga rotavapor por ator e o rendimento foi de 22%. Quando necessário, esse extrato foi dissolvido em água, filtrado e os volumes conhecidos foram secos para determinação da concentração, pois apenas 70% do extrato bruto era solúvel. Este fator foi usado para calcular a concentração final de AFL.

### Estudos com essa preparação

Thomas, G.; Araújo, C.C.; Duarte, J.C.; Souza, D.P. Bronchodilator activity of the aqueous fraction of ethanol extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* in the guinea pig. **Phytomedicine**, v. 4, p. 233, 1997

THOMAS, G. et al. Characterization of an extract from the leaves of *Cissampelos sympodialis* Eichl. on the spontaneous tone of isolated trachea. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 7, p. 496–499, 1997b.

Medeiros, I.A.; Pires, S.L.S.; Almeida, R.N.; Thomas, G. Cardiovascular effects of an aqueous fraction of the ethanol extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* in the rat. **Phytomedicine**, v. 5, 97, 1998.

Freitas, M.R.; Lemos, V.S.; Thomas, G.; Medeiros, I.A.; Côrtes, S.F. Mechanisms of the contractile effect of the hydroalcoholic extract of *Cissampelos sympodialis* in the rat aorta. **Phytomedicine** v. 7, p. 63, 2000.

Vieira, G.C.; Lima, J.F.; Figueiredo, R.C.B.Q.; Mascarenhas, S.R.; Bezerra-Santos, C.R.; Piuvezam, M.R. Inhaled *Cissampelos sympodialis* down-regulates airway allergic reaction by reducing lung CD3+T Cells. **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 916-925, 2012.

Leite, F.C.M.; Silva, F.C.; Marinho, C.F.; Lima, A.L.A; Barbosa Filho, J.M.; Kubelka, C.F.; Piuvezam, M.R. *Cissampelos sympodialis* has anti-viral effect inhibiting dengue non-structural viral protein-1 and pro-inflammatory mediators. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 502-506, 2016.

### Fração aquosa do extrato etanólico das folhas (AFL-3)

As folhas de *Cissampelos sympodialis* Eichler, Menispermaceae (espécime voucher Agra 1456) do Jardim Botânico da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil, foram secos a 50 °C e pulverizados usando um rotor elétrico. O pó foi extraído com etanol 70% a 70 °C durante 5 dias para produzir o AFL. Portanto, o extrato foi seco sob pressão reduzida em um evaporador rotativo, dissolvido em água, filtrado e volumes conhecidos foram secos para determinar os níveis finais dos componentes solúveis em água. O rendimento foi de 22% de resíduo sólido.

### Estudos com essa preparação

Piuvezam, M.R.; Peçanha, L.M.T.; Alexandre, J.; Thomas, G. *Cissampelos sympodialis* Eichl leaf extract increases the production of IL-10 by concanavalin-A-treated BALB/C spleen cells. **Journal of Ethnopharmacology** v. 67, p. 93-101, 1999.

Batista-Lima, K.V., Ribeiro, R.A., Balestieri, F.M.P., Thomas, G., Piuvezam, M.R. Anti-inflammatory activity of *Cissampelos sympodialis*

(Menispermaceae) leaf extract. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 20, p. 275-279, 2001.

Alexandre-Moreira, M.S.A.; Lima, C.G.F.; Trindade, M.N.; Faria-Neto, H.C.C.; Piuvezam, M.R.; Peçanha, L.M.T. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) leaf extract induces an IL-10-dependent inhibition *Trypanosoma cruzi* killing by macrophages. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 199-205, 2003.

Bezerra-Santos, C.R.; Balestieri, F.M.P.; RossiBergmann, B.; Pecanha, L.M.T.; Piuvezam, M.R. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae): oral treatment decreases IgE levels and induces a Th1-skewed cytokine production in ovalbumin-sensitized mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 191-197, 2004.

Bezerra-Santos, C.R.; Peçanha, L.M.T.; Piuvezam, M.R. *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae) inhibits anaphylactic shock reaction in murine allergic model. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 287-291, 2005.

Bezerra-Santos, C.R.; Vieira-de-Abreu, A.; BarbosaFilho, J.M.; Bandeira-Melo, C.; Piuvezam, M.R.; Bozza, P.T. Anti-allergic properties of *Cissampelos sympodialis* and its isolated alkaloid warifteine. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 1152-1160, 2006.

Cerqueira-Lima, A.T.; Alcântara-Neves, N.M.; Pontes de Carvalho, L.C.; Costa, R.S.; Barbosa-Filho, J.M.; Piuvezam, M.R.; Momtchilo, R.; Barboza, R.; Oliveira, E.J.; Marinho, A.; Figueiredo, C.A. Effects of *Cissampelos sympodialis* Eichl. and its alkaloid, warifteine, in an experimental model of respiratory allergy to *Blomia tropicalis*. **Current Drug Targets**, v. 11, p. 1458-1467, 2010

Costa, H.F.; Leite, F.C.; Alves, A.F.; Barbosa-Filho, J.M.; Santos, C.R.B.; Piuvezam, M.R. Managing murine food allergy with *Cissampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae) and its alkaloids. **International Immunopharmacology**, v. 17, p. 300-308, 2013.

Cerqueira-Lima, A.T.; Pinto, L.C.; Teixeira, T.O.; Suzarth, S.S.; Dourado, K.M.C.; Medeiros, K.C.P.; Piuvezam, M.R.; Pontes de Carvalho, L.C.; Alcantara-Neves, N.M.; Figueiredo, C.A.. Effects of *Cissampelos sympodialis* extract in a murine model of streptozotocin-induced diabetes. **Autoimmune disessess and Therapeutic Approches**, v. 1, Article 106, 2014

Bezerra- Santos, C.R; Bondarenko, E.; Essilfie, A.T.; Nair, P. M.; Horvat, J.C.; Barbosa-Filho, J. M.; Piuvezam, M.R.; Nalivaiko, E. and Hansbro, P.M. *Cissampelos sympodialis* and warifteine suppress anxiety-like symptoms and allergic airway inflammation in acute murine asthma model **Journal: Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, p. 224-232, 2020.

#### **Fração aquosa do extrato hidroalcoólico das raízes (AFR)**

As raízes foram separadas, secas a 40 °C em estufa e pulverizadas. O pó foi extraído com etanol 70% em água à temperatura ambiente (25-30 °C) durante 3 dias. O extrato resultante foi seco a vácuo a 60 °C usando um rotavaporador e o rendimento em peso constante foi de aproximadamente 19,0%. Quando necessário, o extrato seco foi dissolvido em água, filtrado e volumes conhecidos foram secos para determinar a concentração final, visto que apenas 69% -70% do pó era solúvel em água. Este fator foi levado em consideração quando a concentração final da fração aquosa foi calculada.

#### **Estudos com essa preparação**

Thomas, G.; Araújo, C.C.; Agra, M.F.; Diniz, M.F.F.M.; Bachelet, M.; Vargafting, B.B. Preliminary studies on the hydroalcoholic extract of the root of *Cissampelos sympodialis* Eichl in guinea-pig tracheal strips and bronchoalveolar leukocytes. **Phytotherapy Research**, v. 9, p. 473-477, 1995.

## ANEXO II

Recorte do Diário Oficial do Estado da Paraíba (adaptado) que apresenta a Lei que institui a *Cissampelos sympodialis* como vegetal símbolo do Estado da Paraíba



# DIÁRIO OFICIAL

ESTADO DA PARAÍBA

Nº 14.963

João Pessoa - Sábado, 16 de Junho de 2012

Preço: R\$ 2,00

**LEI Nº 9.801, DE 14 DE JUNHO DE 2012**

**AUTORIA: DEPUTADO BRANCO MENDES**

**Institui a Milona como vegetal símbolo do Estado da Paraíba e dá outras providências.**

**O PRESIDENTE DA ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO ESTADO DA PARAÍBA**

Faz saber que a Assembléia Legislativa decreta, e eu, em razão da sanção tácita, nos termos do § 3º c/c o § 7º do art. 65, da Constituição Estadual, Promulgo a seguinte Lei:

**Art. 1º** Fica instituída, como espécie vegetal símbolo do Estado da Paraíba, a *Milona - cissampelos sympodialis*, da família da *menispermaceae*.

**Art. 2º** A Secretaria de Estado do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Ciência e Tecnologia deverá cultivar a Milona em seus viveiros, com o objetivo de promover o plantio e disponibilizar suas mudas para fins farmacêuticos, especialmente, para a produção da agricultura familiar.

**Art. 3º** Todo dia 13 de maio, a partir da presente Lei, serão desenvolvidas ações educativas para lembrar que a sabedoria popular sempre precede as pesquisas quanto ao poder curativo de algumas plantas; e promover o cultivo das espécies vegetais com propriedades medicinais, para o fortalecimento dessa cultura.

**Art. 4º** Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Paço da Assembléia Legislativa do Estado da Paraíba, "Casa de Epitácio Pessoa", João Pessoa, 14 de junho de 2012.

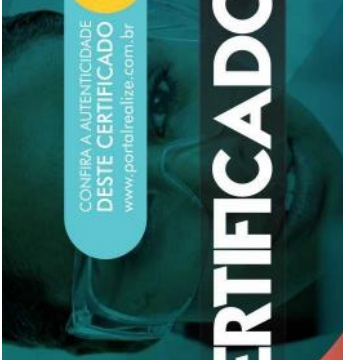
  
**RICARDO MARCELO**  
Presidente

### ANEXO III

## Certificado de apresentação do trabalho no IV Congresso de Pesquisa e Ensino em Ciência



CONGRESSO  
NACIONAL de  
**PESQUISA e ENSINO**  
em CIÊNCIAS  
**CONAPESC**



CONFIRA A AUTENTICIDADE  
DESTE CERTIFICADO  
[www.portfolrealize.com.br](http://www.portfolrealize.com.br)

# CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado: **ALCALOIDES NATURAIS DE PLANTAS PARAIBANAS E ALCALOIDES SINTÉTICOS COMO PERSPECTIVA TERAPÊUTICA PARA MANEJO DA SÍNDROME DA ASMA E RINITE ALÉRGICA COMBINADAS (CARAS) do(s) autor(es): JOÃO BATISTA DE OLIVEIRA, COSMO ISAÍAS DUVIRGENS, LOUISE MANGUEIRA DE LIMA, RITA DE CÁSSIA DE SENA DOS SANTOS e orientado por LAÉRCIA KARLA DIEGA PAIVA FERREIRA**, foi apresentado na modalidade Comunicação Oral (CO) no IV Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências, evento realizado no Centro de Convenções Raymundo Asfora na cidade de Campina Grande - PB, no período de 22 a 24 de Agosto de 2019.

**Identificador: 999607d544cf1a1fa3f84891cd3e642f**



Prof. Me. Claudjo Luis de Araujo Neto - UNINASSAU  
Coordenação Geral do IV CONAPESC



Prof. Dr. Juliano Cesar Bresolin Marinho - UNIPAMPA  
Coordenação Geral do IV CONAPESC



Prof. Dr. Weruska Brasileiro Ferreira - UEPB  
Coordenação Geral do IV CONAPESC

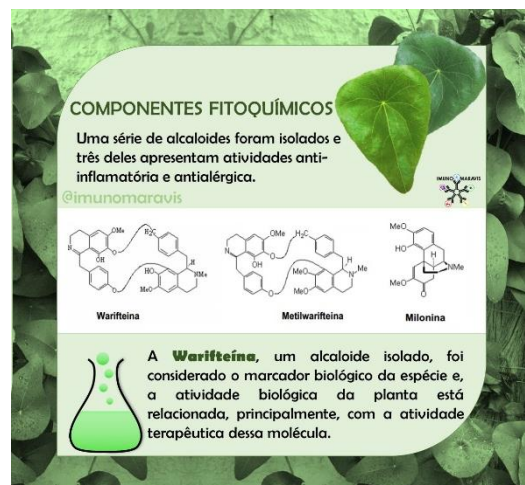
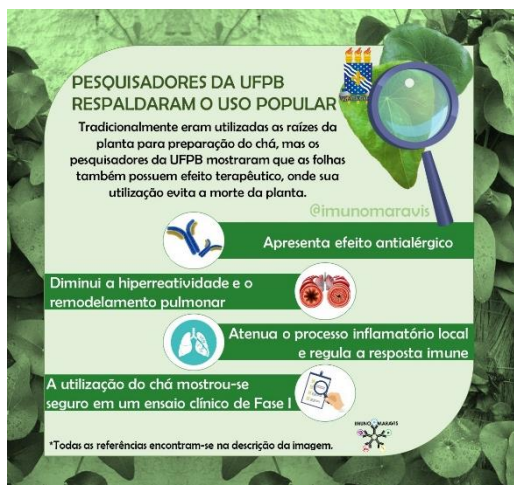
ANEXO IV

Capa do livro *Cissampelos sympodialis* Eichl. (Menispermaceae), Milona – de 1988 até 2020



## ANEXO V

### Imagens da publicação de divulgação de *C. sympodialis* nas redes sociais



## ANEXO VI

### Panfleto Informativo – Parte 1



O QUE É A MILONA?

É uma planta usualmente utilizada pela população do sertão paraibano para o manejo de sintomas relacionados a desordens inflamatórias, principalmente as que podem acometer as vias respiratórias, como a **asma**. Seu uso terapêutico foi respaldado por pesquisadores.

|                                              |
|----------------------------------------------|
| NOME POPULAR                                 |
| Milona, orelha-de-onça e jarrinha e abuteira |
| NOME CIENTÍFICO                              |
| <i>Cissampelos sympodialis</i> Eichl.        |
| FAMÍLIA                                      |
| Menispermaceae                               |

Pode usar **Milona** sem medo?

**Sim!** A segurança da utilização da planta é respaldada pela sua tradicionalidade e por estudos científicos não clínicos e clínicos já realizados.

Obs.: Um estudo clínico de fase I mostrou que a utilização diária do chá não leva à alterações na pressão arterial, porém o uso em pacientes hipertensos merece cautela.

**VOCÊ SABIA QUE...**

A **MILONA** foi instituída vegetal símbolo do Estado da Paraíba pela Lei Nº 9.801, de 14 de junho de 2012.

**APROVEITE OS BENEFÍCIOS QUE A MILONA PODE OFERECER!**

Espaço para logomarcas das instituições envolvidas

CONHEÇA A

# MILONA

(*Cissampelos sympodialis* Eichl.)

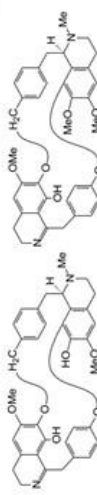
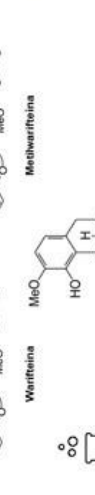
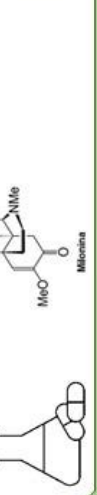


Uma terapia complementar para o tratamento da Asma alérgica



### O QUE É HÁ DE ESPECIAL NA MILONA?

Uma série de alcaloides foram isolados e três deles apresentam atividades anti-inflamatória e antialérgica.

### QUAIS OS PRINCIPAIS SINTOMAS DA ASMA?



**Falta de ar**  
Consequência da inflamação crônica presente que leva ao remodelamento pulmonar.



**Dor no peito**  
Devido a liberação de mediadores inflamatórios (como histamina e leucotrieno) que agem causando broncoespasmos.



**Chiado no peito e Tosse**  
Em decorrência do aumento da hiperprodução de muco nos pulmões.

### COMO MILONA AJUDA A TRATAR A ASMA?



**Apresenta efeito antialérgico**



**Diminui a hiperreatividade e o remodelamento pulmonar**



**Modula negativamente a resposta inflamatória**

### COMO PREPARAR O CHÁ DAS FOLHAS DA MILONA?

Coloque em uma xícara 1g (um grama) de folhas secas, cortadas em pedaços pequenos. Adicione de 100 a 150 mL de água fervente, abafe e aguarde de 10 a 15 minutos. Em seguida, coe (filtre) e pode ingerir.

### COMO MEDIR 1 (UM) GRAMA DAS FOLHAS DE MILONA EM CASA?

Folhas secas e inteiras, use

3 ou 4 Folhas grandes ou 4 ou 5 Folhas médias ou 6 ou 7 Folhas pequenas

Folhas secas e já cortadas em pedaços, use

3 Colheres de sopa ou 5 ou 6 Colheres de chá

### UMA CURIOSIDADE...

Tradicionalmente eram utilizadas as raízes da planta para preparação do chá, mas os pesquisadores da UFPB mostraram que as folhas também possuem efeito terapêutico, onde sua utilização evita a morte da planta.

## ANEXO VII

### Prêmio Nacional de estudos com extratos de *C. sympodialis* e seus derivados



**INFORMATIVO**  
2007

Fundação José Pedro de Araújo

BELO HORIZONTE - DEZEMBRO 2007

Patrocínio: **nansen** Apoio: **USIMINAS** **FSFX** **FUNDACÃO SÃO FRANCISCO XAVIER** **FIEMG**

### *Pesquisadores da Paraíba vencem edição 2007 do Prêmio José Pedro de Araújo*

Os pesquisadores Márcia Regina Piuvezam, Cláudio Roberto Bezerra dos Santos, Hermann Ferreira Costa e José Maria Barbosa Filho, do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), que é ligado ao Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UEPB), receberam, dia 7 de dezembro, o Prêmio José Pedro de Araújo 2007.

O trabalho do grupo — “Uso potencial de extratos das folhas de *Cissampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae) e do alcalóide warifteína no tratamento da asma” — concorreu com outras 18 pesquisas apresentadas à comissão julgadora, formada por Ênio Cardillo Vieira, da Academia Mineira de Medicina; Ângelo Barbosa Monteiro Machado, da UFMG; Bartira Rossi Bergmann, da UFRJ, e Elfriede Marianne Bacchi, da USP.

Uma menção honrosa (2º lugar) foi para a pesquisa “Emprego do extrato de raiz de *Pothomorphe umbellata* na prevenção das alterações precoces da fotocarcinogênese induzidas pela radiação ultravioleta B na pele de camundongos sem pêlo”, de autoria de Vanessa Vitoriano da Silva, da USP. O trabalho “Avaliação das atividades broncorelaxantes e antiespasmódicas do composto 7-epiclusanona, uma benzofenona poliprenilada extraída do vegetal *Garcinia brasiliensis*”, de Luciana Pontes Coelho, da Fiocruz, ficou com a outra menção honrosa (3º lugar).

Página 3



O USO POTENCIAL DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *CISSAMPELOS SYMPODIALIS* EICHL (MENISPERMACEAE) FOI TEMA DO TRABALHO VENCEDOR DO PRÊMIO 2007