

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica

TESE DE DOUTORADO

***Syzygium cumini* (L.) Skeels no tratamento do
diabetes melito tipo 2: resultados de um
ensaio clínico randomizado, controlado,
duplo-cego e *double-dummy***

CLAUDIO COIMBRA TEIXEIRA

Orientador: Prof. Dr. Flávio Danni Fuchs

**Porto Alegre
2004**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CLÍNICA MÉDICA

TESE DE DOUTORADO

***Syzygium cumini* (L.) Skeels no tratamento do
diabetes melito tipo 2: resultados de um
ensaio clínico randomizado, controlado,
duplo-cego e *double-dummy***

Autor: CLAUDIO COIMBRA TEIXEIRA

Orientador: PROF. DR. FLÁVIO DANNI FUCHS

Porto Alegre
2004

T266s **Teixeira, Claudio Coimbra**

Syzygium cumini (L.) Skeels no tratamento do diabetes melito tipo 2 : resultados de um ensaio clínico randomizado, controlado, duplo-cego e *double-dummy* / Claudio Coimbra Teixeira ; orient. Flávio Danni Fuchs. – 2004.
88 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2004.

1. Diabetes mellitus tipo II 2. *Syzygium jambolanum* 3. Fitoterapia 4. Plantas medicinais I. Fuchs, Flávio Danni II. Título.

NLM: WK 810

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

A Arcy, Aida e Júlio, *in memoriam*

À minha família

A todos os amigos

AGRADECIMENTOS

A todos os colegas e amigos que, das mais diferentes maneiras, ajudaram na elaboração desse trabalho, em especial aos seguintes:

- Prof. Dr. Flávio Danni Fuchs;
- Profa. Dra. Maria Beatriz Cardoso Ferreira;
- Prof. Dr. Francisco Silveira Guimarães;
- Profa. Dra. Maria Inês Schmidt;
- Profa. Dra. Vera Teixeira de Aguiar;
- Profa. Dra. Sandra Cristina Pereira Costa Fuchs;
- Prof. Dr. Bruno Irgang
- Funcionários e Chefia do Departamento de Farmacologia, Prof. Roberto Contino Thaddeu e Leila Beltrami Moreira;
- Alunos de Iniciação Científica;
- Pacientes, que voluntariamente muito colaboraram;
- Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial à equipe de trabalho do Ambulatório da Zona 15.

Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas

SUMÁRIO

1. REVISÃO DA LITERATURA	04
2. OBJETIVOS	08
3. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA	09
4. ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS (ESTUDO 1)	15
5. ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS (ESTUDO 1)	33
6. ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS (ESTUDO 2)	52
7. ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS (ESTUDO 2)	67
8. ANEXOS	82
Anexo 1: Convite	83
Anexo 2: Consentimento informado	86

REVISÃO DA LITERATURA

Muito antes da descoberta da insulina, medicamentos tradicionais, extraídos de plantas, já eram utilizados para controlar o diabetes (Kedar e Chakrabarti, 1983; Sepaha e Bose, 1956). Alguns medicamentos, hoje utilizados, tal como a metformina, tiveram como precursores produtos naturais. As biguanidas foram introduzidas em 1957 para o tratamento do diabetes melito tipo 2, mas seu ancestral, *Galega officinalis*, rica em guanidina, a qual tem propriedades antidiabéticas e significativos efeitos adversos, já era usada desde a Idade Média (Bailey, 1992).

No Brasil, o hábito de tratar doenças com medicações alternativas, especialmente chás preparados das mais diferentes plantas, é largamente disseminado entre a população. Isso foi mostrado em Porto Alegre, para o controle de diabetes melito (Teixeira et al., 1992), ansiedade (Wannmacher et al., 1990) e hipertensão arterial sistêmica (Fuchs et al., 1988).

Em estudo etnofarmacológico, demonstrou-se a alta freqüência de emprego de chás para o tratamento de diabetes em Porto Alegre. Entre as plantas mais freqüentemente mencionadas pela população estavam, entre outras, Jambolão (*Syzygium cumini* e *Syzygium jambos*), Manga (*Mangifera indica*), Pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), Carambola (*Averrhoa carambola*) e Carqueja (*Baccharis* sp.). O jambolão tem duas espécies identificadas: *Syzygium cumini* (L.) Skeels (previamente *Eugenia jambolana*) e *Syzygium jambos* (L.) Alst. Entre os pacientes diabéticos entrevistados, 72% usavam o chá preparado por infusão ou decocção de folhas secas de ambas as espécies numa diluição média de 2,5 g/l (0,2 a 6,9) para o *S. cumini* e 2,3 g/l (0,2 a 6,0) para o *S. jambos*. Os entrevistados utilizavam os chás como substitutos da água, ingerindo, em média, 1 litro por dia (Teixeira et al., 1992).

Diferentes componentes da planta, tais como sementes, casca, fruto e chá preparado de suas folhas, têm sido utilizados para tratar o diabetes melito em vários locais (Bramachari et al., 1961; Kohli e Singh, 1985; Almeida e Agra, 1986; Handa et al., 1989; Ivorra et al., 1989, Rahman e Zaman, 1989; Haddad et al., 2001). Um efeito anti-hiperglicemiante de sementes (Sigogneau et al., 1967; Nair e Santhakumari, 1986; Chivan-Nia e Ratsimamanga, 1972; Bansal et al., 1981; Kedar e Chakrabarti, 1983; Giri et al., 1985; Prince et al., 1998; Grover et al., 2000), casca (Ratsimamanga, 1973), fruto (Shrotri et al., 1963; Achrekar et al., 1991), folhas (Soares, 2000; Zanoello et al., 2002)

tem sido demonstrado em estudos experimentais e em estudos clínicos não controlados (Sepaha e Bose, 1956; Nande et al., 1981; Srivastava et al., 1983).

Por outro lado, outros autores não observaram esse efeito, testando, em ratos com diabetes induzido, o efeito de folhas (Pepato et al., 2001) e da casca (Mazzanti, et al., 2003).

Em alguns estudos, ao lado da investigação sobre a eficácia, não foram observados efeitos adversos. No estudo clínico de Srivastava e colaboradores (1983), entre 20 pacientes tratados com *S. cumini*, nenhum efeito adverso foi detectado sobre fígado, rins e órgãos hematopoiéticos. Dois pacientes tiveram náusea, 2, diarreia e 1, dor epigástrica. No estudo de Steinmetz (1960), a inocuidade desta planta também é mencionada .

Em um estudo pré-clínico exploratório, não se observou efeito sobre a glicemia de jejum de ratos normais, após a administração de chá de jambolão por 7 dias, nas concentrações de 10 e 30 gramas de folha por litro (Teixeira et al., 1989).

Em 1997, investigou-se a possível atividade anti-hiperglicêmica da decocção de folhas e sementes de *S. cumini*, administradas *ad libitum* a ratos normais e com diabetes induzido por estreptozotocina. Dois experimentos subagudos (14 dias) e dois crônicos (72 e 95 dias) foram realizados com ratos normais. Os ratos diabéticos foram tratados por 14 dias. Os resultados não demonstraram efeito antidiabético nas concentrações utilizadas (2, 8, 12, 32 e 64 g/l), tanto em ratos normais como naqueles com diabetes melito induzido (Teixeira et al., 1997).

Em 2000, foram apresentados os resultados da análise da possível atividade antidiabética de extratos de *S. cumini* em ratos normais e com diabetes induzido pela estreptozotocina. Esses animais foram divididos em 4 grupos, recebendo, por via oral, extratos na concentração de 0,25, 0,50 e 1,0 g de folhas/ml durante 14 dias. Não se observou nenhum efeito antidiabético (Teixeira et al., 2000).

Em ensaio clínico randomizado, paralelo, controlado com placebo, foi estudado o efeito agudo da administração do chá de *S. jambos* para voluntários jovens não-diabéticos. Após 10 horas de jejum, os voluntários recebiam 75 g de glicose via oral, junto com a decocção de *S. jambos*, preparada na concentração de 2 g de folhas secas em 250

ml de água, ou o mesmo volume de placebo. Não se demonstrou diferença entre as curvas de tolerância dos dois grupos (Teixeira et al., 1990).

Utilizando-se o mesmo modelo, em 2000, investigou-se o efeito antidiabético da decocção de folhas de *S. cumini*, administrada a trinta voluntários sadios. O comportamento da glicemia foi similar nos dois grupos de voluntários (Teixeira et al., 2000).

Em síntese, não se identificou nenhum efeito farmacológico sobre a glicemia, testando extratos ou chás preparados a partir de folhas dessa planta, em ratos normais (Teixeira et al., 1989, 1997 e 2000), em ratos com diabetes melito induzido por estreptozotocina (Teixeira et al., 1997 e 2000) e em voluntários normais (Teixeira et al., 1990 e 2000).

O referencial teórico apresentado sugere muito fortemente que o *Syzygium cumini* é provavelmente destituído de qualquer efeito antidiabético. Não se pode descartar, entretanto, que tenha efeito anti-hiperglicemiante em pacientes com diabetes melito. Assim, se delimitam os objetivos da presente investigação.

OBJETIVOS

Objetivo principal:

Investigar se o chá preparado a partir de folhas de *Syzygium cumini*, na forma utilizada por pacientes com diabetes melito, tem efeito anti-hiperglicemiante em pacientes com diabetes melito tipo 2.

Objetivos secundários:

Investigar efeitos adversos agudos do chá de folhas de *Syzygium cumini*.

Investigar o efeito do chá preparado com folhas de *Syzygium cumini* sobre insulina plasmática e outros indicadores de controle metabólico.

REFERÊNCIAS

- ACHREKAR S, KAKLIJ GS, POTE MS, KELKAR SM. Hypoglycemic activity of *Eugenia jambolana* and *Ficus bengalensis*: mechanism of action. *In Vivo* 5: 143-147, 1991.
- ALMEIDA RN, AGRA MF. Levantamento bibliográfico da flora medicinal de uso no tratamento da diabetes e alguns resultados experimentais. *Rev Bras Farm* 67:105-110, 1986.
- BAILEY CJ. Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care* 15: 755-772, 1992.
- BANSAL R, AHMAD N, KIDWAI R. Effects of administration of *Eugenia jambolana* seeds and chlorpropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rat. *Ind. J. Biochem. Bioph.* 18: 377, 1981.
- BRAMACHARI HD, AUGUSTI KT. Hypoglycaemic agents from indian indigenous plants. *J Pharm Pharmacol* 13: 381-382, 1961.
- CHIVAN-NIA P, RATSIMAMANGA AR. Régression de la cataracte et de l'hyperglycémie chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) diabétique ayant reçu un extrait de *Eugenia jambolana* (Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 274: 254-257, 1972.

FUCHS FD, PAOLI CL, HASSEGAWA CY, FERREIRA E., NETTO M.S., ROSITO G.A. O chá de chuchu (*Sechium edule*) no tratamento da hipertensão: evidência etnofarmacológica de largo emprego em Porto Alegre, RS. *X Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, São Paulo, 1988.

GIRI J, SAKTHIDEVI TK, DUSHYANTHY N. Effect of jamun seed extract on alloxan induced diabetes in rats. *J. Diab. Assoc. India* 25: 115-119, 1985.

GROVER JK, VATS V, RATHI SS. Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *J. Ethnopharmacol.* 73: 461-470, 2000.

HADDAD PS, DEPOT M, CHERRAH Y. Use of antidiabetic plants in Morocco and Quebec. *Diabetes Care* 24: 608-609, 2001.

HANDA SS, CHAWLA MANINDER A. Hypoglycaemic plants - A review. *Fitoterapia* 60, 195-225, 1989.

IVORRA MD, PAYÁ M, VILLAR A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *J. Ethnopharmacol.* 27, 243-275, 1989.

KEDAR P, CHAKRABARTI CH. Effects of jambolan seed treatment on blood sugar, lipids and urea in streptozotocin induced diabetes in rabbits. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* 27: 135-140, 1983.

KOHLI KR, SINGH RH. *Eugenia jambolana*: a plant drug with potential antidiabetic property (a review). *J Sci Res Pl Med* 6: 21-28, 1985.

MAZZANTI CM, SCHOSSLER DR, FILAPPI A, PRESTES D, BALZ D, MIRON V, MORSCH A, SCHETINGER MRC, MORSCH VM, CECIM M. Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. *Cienc. Rural* 33: 1061-1065, 2003.

NAIR RB, SANTHAKUMARI G. Anti-diabetic activity of the seed kernel of *Syzygium cumini* Linn. *Ancient Sci. Life* 6: 80-84, 1986.

NANDE CV, KALE PM, WAGH SY, ANTARKAR DS, VAIDYA AB. Effect of jambu fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam.) on blood sugar levels in healthy volunteers and diabetics. *Jour. Res. Ay. Sid.* 4: 01-05, 1981.

PEPATO MT, FOLGADO VBB, KETTELHUT IC, BRUNETTI IL. Lack of antidiabetic effect of a *Eugenia jambolana* leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. *Braz J Med Biol Res.* 34: 389-95, 2001.

PRINCE PS, MENON VP, PARI L. Hypoglycaemic activity of *Syzygium cumini* seeds: effect on lip peroxidation in alloxan diabetic rats. *J.Ethnopharmacol*: 61: 1-7, 1998.

RAHMAN AU, ZAMAN K. Medicinal plants with hypoglycemic activity. *J Ethnopharmacol* 26: 01-56, 1989.

RATSIMAMANGA AR. Nouvelle contribution à l'étude de l'action d'un principe hypoglycémiant mis en évidence dans l'écorce jeune de *Eugenia jambolana* (Myrtacées) sur l'hyperglycémie provoquée du lapin normal et poursuite de sa purification. *C. R. Acad. Sc. Paris* 227: 2219-2222, 1973.

SEPAHA GC, BOSE SN. Clinical observations on the antidiabetic properties of *Pterocarpus marsupium* and *Eugenia jambolana*. *J. Indian M. A.* 27: 388-391, 1956.

SHROTRI DS, KELKAR M, DESHMUKH VK, AIMAN R. Investigation of the hypoglycemic properties of *Vinca rosea*, *Cassia auriculata* and *Eugenia Jambolana*. *Ind. Jour. Med. Res.* 51: 464-467, 1963.

SIGOGNEAU M, BILBAL P, CHANEZ M, BOITEAU P, RATSIMAMANGA AR. Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant et antidiabétique d'un principe extrait du Roitra de Madagascar (*Eugenia jambolana* Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 264: 1119-1123, 1967.

SOARES JC. Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com Diabetes melittus aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. *Cienc. Rural* 30: 113-118, 2000.

SRIVASTAVA Y, VENKATAKRISHNA-BHATT H, GUPTA OP, GUPTA OS.

Hypoglycemia induced by *Syzygium cumini* Linn. seeds in diabetes mellitus. *Asian Med. J.* 26: 489-491, 1983.

STEINMETZ EF. A botanical drug from the tropics used in the treatment of the diabetes mellitus. *Acta Phytotherapeutica* 7, 23-25, 1960.

TEIXEIRA CC, FUCHS FD, BLOTTA RM, COSTA AP, MÜSSNICH DG, RANQUETAT, GG. Plants employed in the treatment of diabetes mellitus: results of an ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brazil. *Fitoterapia* 63: 320-322, 1992.

TEIXEIRA CC, FUCHS FD, BLOTTA RM, KNIJNIK J, DELGADO I, NETTO M, FERREIRA E, COSTA AP, MÜSSNICH DG, RANQUETAT GG, GASTALDO GJ. Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in nondiabetes subjects. *Diabetes Care* 13: 907-908, 1990.

TEIXEIRA CC, KNIJNIK J, PEREIRA MV, FUCHS FD. The effect of tea prepared from leaves of "jambolão" (*Syzygium cumini*) on the blood glucose levels of normal rats: an exploratory study. *Brazilian-Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products*, Rio de Janeiro: 191, 1989.

TEIXEIRA CC, PINTO LP, KESSLER FHP, KNIJNIK L, PINTO CP, GASTALDO GJ, FUCHS FD. The effect of *Syzygium cumini* (L.) Skeels on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with

streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J.Ethnopharmacol.* 56: 209-213, 1997.

TEIXEIRA CC, RAVA CA, SILVA PM, MELCHIOR R, ARGENTA R, ANSELMINI F, ALMEIDA CRC, FUCHS FD. Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. *J. Ethnopharmacol.* 71: 343-347, 2000.

WANNMACHER L, FUCHS FD, PAOLI CL, GIANUPI A, FILLMANN HS, HASSEGAWA CY, RIBEIRO AMS, MULLER AL, LANÇA E, MARQUES A. Plants employed in the treatment of anxiety and insomnia: I. An ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brasil. *Fitoterapia*, 61: 445-448, 1990.

ZANOELLO AM, MELAZZO-MAZZANTI C, GINDRI JK, FILAPPI A, PRESTES D, CECIM M. Efeito protetor do *Syzygium cumini* contra diabetes mellitus induzido por aloxano em ratos. *Acta Farm. Bonaerense* 21: 31-36, 2002.

ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS (ESTUDO 1)

***Syzygium cumini* (L.) Skeels in the treatment of
type 2 diabetes mellitus: results of a randomized,
double-blind, double-dummy, controlled trial**

Claudio Coimbra Teixeira, MD¹

Flávio Danni Fuchs, MD, PhD²

Letícia Schwerz Weinert, ¹

Daniel Cardoso Barbosa, ¹

Cristina Ricken, ¹

Jorge Esteves, MD³

¹Department of Pharmacology, ² Division of Cardiology,

³Department of Ophthalmology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

Address for correspondence and reprint requests Claudio C. Teixeira, MD, Departamento de Farmacologia, ICBS, UFRGS, Rua Sarmiento Leite, 550, CEP 90046-900, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: clauact@vortex.ufrgs.br

Abstract

Objective – The aim of this study was to investigate if a tea prepared from leaves of jambolan, *Syzygium cumini* (L.) Skeels, has an antihyperglycemic effect in patients with type 2 diabetes mellitus.

Research design and methods – Patients with type 2 diabetes mellitus were enrolled in a double-blind, double-dummy, randomized clinical trial. The three experimental groups received a tea prepared from leaves of *Syzygium cumini* plus placebo tablets, placebo tea plus glyburide tablets, or placebo tea plus placebo tablets.

Results – In the total, 27 patients were allocated to one of the treatment groups and followed for 28 days. Fasting blood glucose levels decreased significantly along the experiment in participants treated with glyburide and did not change in those treated with the *Syzygium cumini* tea and in the participants who received placebos from tea and glyburide. BMI, creatinine, γ -glutamyl transferase, alkaline phosphatase, SGOT, SGPT, 24-hour glycosuria, 24-hour proteinuria, triglycerides, total, LDL and HDL cholesterol did not vary significantly among the groups along the experiment.

Conclusions – Tea prepared from leaves of *Syzygium cumini* is pharmacologically inert. Patients and physicians should not rely on the putative antihyperglycemic effect of this tea.

Keywords: Herbal medicines. Treatment of diabetes. *Syzygium cumini* (L.) Skeels, Jambolan.

Introduction

Indigenous medications prepared from extracts of plants were used for controlling diabetes several years before the discovery of insulin. *Galega officinalis*, an antecedent of biguanides, is an example of plant that gave origin to an effective antihyperglycemic agent (1).

Syzygium cumini (formerly *Eugenia jambolana*) is another plant with a putative antihyperglycemic effect. Different components of the plant, such as seeds, bark, fruit, and tea prepared from their leaves have been used to treat diabetes around the world (2-6). We demonstrated, in an ethnopharmacological survey, that 72% of the diabetic patients interviewed in our city used the tea prepared by infusion or decoction of dry “jambolão” (jambolan, malak rose-apple or Malabar) leaves (7).

An antihyperglycemic effect of seeds (8-15), bark (16), fruit (17,18), and leaves (19,20) has been demonstrated in experimental and uncontrolled clinical studies (21-23). We have not identified any pharmacological effect on blood glucose levels of extracts or tea prepared from leaves of this plant in normal rats (24-26), in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus (25,26), and in normal volunteers (26).

Despite of these negative findings, an effect in patients with diabetes could not be discarded, since its mechanism of action could depend on specific abnormalities of diabetes in human beings. In this study, we demonstrated the absence of any effect of a tea prepared with leaves from *Syzygium cumini* and taken for one month on diabetic control of patients with type II diabetes mellitus.

Methods

Design: Double-blind, double-dummy, randomized clinical trial, controlled by placebo and glyburide.

Patients: We included patients from both genders, with well controlled type 2 diabetes mellitus for at least 3 years, and with two fasting blood glucose levels between 7 and 11 mmol/l under dietetic treatment. We excluded pregnant women and individuals with any of the following conditions: BMI > 35kg/m², alcohol abuse, abnormal liver enzymes, uncontrolled heart failure, creatinine > 1.2 mg/dl, 24-hour proteinuria > 500 mg with negative urine culture, triglycerides > 500 mg/dl, proliferative retinopathy during ophthalmoscopy, treatment with insulin, oral antidiabetic drugs, beta-adrenergic blocking agents, thiazide diuretics or corticosteroids.

Intervention: The participants were randomized to one of three treatment groups in blocks of three: tea prepared with leaves from *Syzygium cumini* plus placebo tablets; placebo tea and glyburide tablets; placebo tea and placebo tablets. The treatment lasted 28 days, after a run-in period of three months. The dose of glyburide was 5 mg, twice a day. Placebo tablets were identical to glyburide. *Syzygium cumini* leaves were collected in the Experimental Agronomic Farm of the State Department of Agriculture. Voucher specimen was classified and authenticated in the herbarium of the University. They were dried at room temperature for 30 days. Each patient received 2.0 g per day of dry leaves to prepare 1 liter of tea by boiling in water for 5 minutes. They were instructed to maintain the tea in the refrigerator and to use the tea as water substitute during the day. The placebo tea was prepared from dried leaves of *Imperata braziliensis* Trinius (28). The participants were instructed to use the placebo tea in the same way recommended for the jambolan tea. The leaves of all plants were packed in tea bags with 1 g of placebo or jambolan leaves.

Measurements and outcomes: Patients were examined in the days 7, 14, 21, and 28. Weight, fasting glucose, insulin, serum fructosamine, serum triglycerides, total cholesterol, LDL and HDL-cholesterol, 24-hour proteinuria and glycosuria, aminotransferases, alkaline phosphatase, γ -glutamyl transferase, serum creatinine and urinalysis, and blood analysis were determined before the treatment and in the 14th and 28th days. The main outcome was the variation in fasting glucose during the experiment.

Statistical analysis: The sample size was calculated on the basis of an effect size of 15% of reduction of fasting blood glucose levels along the follow-up in any of the experimental groups, with a statistical power of 90% and a P alpha of 0.05. ANOVA for multiple factors (treatment groups) and repeated measurements were employed to compare the effect of treatment on blood glucose levels and other continuous variables. The treatment effect was tested by “F” for the time-group interaction, using the Bonferroni test for contrast. The main effect was adjusted in a multiple linear model for baseline fasting glucose and BMI.

The Institution Review Board and Ethical Committee approved the protocol and all participants gave their written consent to participate.

Results

In the total, 27 patients (17 male, 10 female), with a mean age of 56.5 ± 8.0 years (39 to 71 years old) were randomized to one of the three treatment groups (Figure 1). The groups did not differ significantly in regard to most baseline features (ANOVA, $P > 0.05$). Body mass index (BMI) was statistically different among the groups, being lower in the glyburide group ($P = 0.027$) (Table 1).

Table 2 and figure 2 shows that fasting blood glucose levels decreased significantly along the experiment in participants treated with glyburide and did not change in those treated with the *Syzygium cumini* tea and in participants who received placebos from the tea and from glyburide. These differences were independent of baseline fasting blood glucose and BMI. BMI and LDL cholesterol differed significantly among the groups (ANOVA, $P = 0.031$ and $P = 0.025$, respectively), and the Bonferroni test shows that glyburide group differed from the placebo ($P = 0.045$ and $P = 0.027$, respectively). Insulin, fructosamine, creatinine, γ -glutamyl transferase, alkaline phosphatase, SGOT, SGPT, 24-hour glycosuria, 24-hour proteinuria, triglycerides, total cholesterol and HDL cholesterol did not vary significantly between groups along the experiment ($P > 0.05$).

Discussion

Folk and traditional use of medicinal plants is not sufficient to validate their use as effective medications. The World Health Organization requires that the validation of these plants, their rational use, and the development of new phytotherapeutic drugs depend on appropriate scientific studies, which should evaluate their efficacy and safety (27).

Most studies that have looked to the efficacy of plants with a supposed antidiabetic effect are flawed. Some of them are just case series, not controlled for the placebo effect and the regression to the mean (21-23). Few controlled clinical trials were performed (28), mostly with normal volunteers (26,29,30).

We have showed in a series of experimental and pre-clinical studies that it is unlikely that the natural extract or tea prepared with different parts of *Syzygium cumini* have an antihyperglycemic effect (24-26). An effect on patients with type 2 diabetes, however, could not be ruled out. In the present experiment we finished the cycle of experiments with the leaves of this plant, showing that the tea prepared with leaves from *Syzygium cumini*, in the way that it is prepared and used by patients, has no antihyperglycemic effect in patients with diabetes when used for a month. The double blind, double-dummy design, with placebo and active treatment control, demonstrate that this tea is pharmacologically inert. We did not find, also, any adverse event associated with the active treatment, but with this small sample size only very common side effects could be discarded.

The absence of effect of this tea should be known by physicians and patients that use to rely on its the putative efficacy to treating diabetes. The idea that it is not more than a placebo does not support its use, since

patients can assume that they are being treated, leaving aside effective measures to reach a strict metabolic control. The use of our experimental approach with other putative antidiabetic plants, and with plants used to treat other diseases, may be valuable to identify their potential efficacy previously to the attempt to identify their potentially active principles.

Acknowledgments: Hospital de Clínicas de Porto Alegre. This work was supported in part by grants from CNPq and FAPERGS, Brazil.

References:

1. Bailey CJ: Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care* 15:755-772, 1992.
2. Bramachari HD, Augusti KT: Hypoglycaemic agents from indian indigenous plants. *J Pharm Pharmacol* 13:381-382, 1961.
3. Kohli KR, Singh RH: *Eugenia jambolana*: a plant drug with potential antidiabetic property (a review). *J Sci Res Pl Med* 6:21-28, 1985.
4. Almeida RN, Agra MF: Levantamento bibliográfico da flora medicinal de uso no tratamento da diabetes e alguns resultados experimentais. *Rev Bras Farm* 67:105-110, 1986.
5. Rahman AU, Zaman K: Medicinal Plants with hypoglycemic activity. *J Ethnopharmacol* 26:01-56, 1989.
6. Haddad PS, Depot M, Cherrah Y: Use of antidiabetic plants in Morocco and Quebec. *Diabetes Care* 24:608-609, 2001.
7. Teixeira CC, Fuchs FD, Blotta RM, Costa AP, Müssnich DG, Ranquetat, GG: Plants employed in the treatment of diabetes mellitus: results of an ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brazil. *Fitoterapia* 63:320-322, 1992.

8. Sigogneau M, Bilbal P, Chanez M, Boiteau P, Ratsimamanga AR: Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant et antidiabétique d'un principe extrait du Roitra de Madagascar (*Eugenia jambolana* Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 264: 1119-1123, 1967.
9. Nair RB, Santhakumari G: Anti-diabetic activity of the seed kernel of *Syzygium cumini* Linn. *Ancient Sci. Life* 6:80-84, 1986.
10. Chivan-Nia P, Ratsimamanga AR: Régression de la cataracte et de l'hyperglycémie chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) diabétique ayant reçu un extrait de *Eugenia jambolana* (Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 274:254-257, 1972.
11. Bansal R, Ahmad N, Kidwai R: Effects of administration of *Eugenia jambolana* seeds and chlorpropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rat. *Ind. J. Biochem. Bioph.* 18: 377, 1981.
12. Kedar P, Chakrabarti CH: Effects of jambolan seed treatment on blood sugar, lipids and urea in streptozocin induced diabetes in rabbits. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* 27:135-140, 1983.
13. Giri J, Sakthidevi TK, Dushyanthy N: Effect of jamun seed extract on alloxan induced diabetes in rats. *J. Diab. Assoc. India* 25:115-119, 1985.

14. Prince P S, Menon VP, Pari L: Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effect on lip peroxidation in alloxan diabetic rats. *J.Ethnopharmacol*: 61:1-7, 1998.
15. Grover JK, Vats V, Rathi SS: Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *J. Ethnopharmacol*. 73: 461-470, 2000.
16. Ratsimamanga AR: Nouvelle contribution à l'étude de l'action d'un principe hypoglycémiant mis en évidence dans l'écorce jeune de *Eugenia jambolana* (Myrtacées) sur l'hyperglycémie provoquée du lapin normal et poursuite de sa purification. *C. R. Acad. Sc. Paris* 227: 2219-2222, 1973.
17. Shrotri DS, Kelkar M, Deshmukh VK, Aiman R: Investigation of the hypoglycemic properties of *Vinca rosea*, *Cassia auriculata* and *Eugenia Jambolana*. *Ind.Jour.Med.Res.* 51: 464-467, 1963.
18. Achrekar S, Kaklij GS, Pote MS, Kelkar SM: Hypoglycemic activity of *Eugenia jambolana* and *Ficus bengalensis*: mechanism of action. *In Vivo* 5: 143-147, 1991.
19. Soares JC: Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com Diabetes melittus aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. *Cienc. Rural* 30: 113-118, 2000.

20. Zanoello AM, Melazzo-Mazzanti C, Gindri JK, Filappi A, Prestes D, Cecim M: Efeito protetor do *Syzygium cumini* contra diabetes mellitus induzido por aloxano em ratos. *Acta Farm. Bonaerense* 21: 31-36, 2002.
21. Sepaha GC, Bose SN: Clinical observations on the antidiabetic properties of *Pterocarpus marsupium* and *Eugenia jambolana*. *J. Indian M. A.* 27: 388-391, 1956.
22. Nande CV, Kale PM, Wagh SY, Antarkar DS, Vaidya AB: Effect of jambu fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam.) on blood sugar levels in healthy volunteers and diabetics. *Jour. Res. Ay. Sid.* 4: 01-05, 1981.
23. Srivastava Y, Venkatakrishna-Bhatt H, Gupta OP, Gupta PS: Hypoglycemia induced by *Syzygium cumini* Linn. seeds in diabetes mellitus. *Asian Med. J.* 26: 489-491, 1983.
24. Teixeira CC, Knijnik J, Pereira MV, Fuchs FD: The effect of tea prepare from leaves of "jambolão" (*Syzygium cumini*) on the blood glucose levels of normal rats: an exploratory study. *Brazilian-Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products*, Rio de Janeiro: 191, 1989.
25. Teixeira CC, Pinto LP, Kessler FHP, Knijnik L, Pinto CP, Gastaldo GJ, Fuchs FD: The effect of *Sygyzium cumini* (L.) Skeels on post-

- prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J.Ethnopharmacol.* 56: 209-213, 1997.
26. Teixeira CC, Rava CA, Silva PM, Melchior R, Argenta R, Anselmi F, Almeida CRC, Fuchs FD: Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. *J. Ethnopharmacol.* 71: 343-347, 2000.
27. Manila (Ed): *Guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines*, World Health Organization (WHO), 1993.
28. Russo EMK, Reichelt AAJ, De-Sá JR: Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia Forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. *Brazilian J Med Biol Res*:11-20, 1990.
29. Teixeira CC, Fuchs FD, Blotta RM, Knijnik J, Delgado I, Netto M, Ferreira E, Costa AP, Müssnich DG, Ranquetat GG, Gastaldo GJ: Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in nondiabetes subjects. *Diabetes Care* 13: 907-908, 1990.
30. Teixeira CC, Paixão LQ, Pinto LP, Kessler FHP, Miura CS, Guimarães MS, Miura MS, Gastaldo GJ, Fuchs FD: Is the decoction of leaves of mango an antihyperglycemic tea? *Fitoterapia*, 69: 165-168, 1998.

Table 1. Clinical characteristics at baseline of the three experimental groups (mean \pm SD)

	<i>Syzygium cumini</i> 9	Glyburide 9	Placebo 9
Age (years)	54.1 \pm 8.1	59.5 \pm 6.3	55.8 \pm 9.3
Male gender (%)	5 (55.5)	7 (77.8)	5 (55.5)
BMI(kg/m ²)	29.9 \pm 2.7	26.7 \pm 3.6	30.6 \pm 2.7
Fasting glucose (mmol/l)	8,7 \pm 1,2	8,8 \pm 1,1	9,2 \pm 1,1
Insulin(mU/l)	21.8 \pm 10.2	20.7 \pm 14.7	23.0 \pm 16.4
Fructosamine (mmol/l)	3.4 \pm 0.5	3.5 \pm 0.7	3.0 \pm 0.4
Triglycerides (mg/dl)	166.6 \pm 61.5	159.6 \pm 115.6	166.9 \pm 41.5
Total cholesterol (mg/dl)	219.9 \pm 51.4	192.1 \pm 43.2	207.6 \pm 79.8
HDL cholesterol (mg/dl)	46.3 \pm 10.6	49.7 \pm 11.9	43.9 \pm 7.1
LDL cholesterol (mg/dl)	143.3 \pm 41.6	109.9 \pm 35.5	153.8 \pm 37.3

Table 2 Fasting glucose, Insulin and Fructosamine at baseline, 14th day and 28th day of treatment in the three experimental groups. (mean \pm SD)

	Group	Baseline	14 th day	28 th day	<i>P</i>
Fasting Glucose(mmol/l)	<i>S. cumini</i>	8.7 \pm 1.2	8.8 \pm 2.3	9.1 \pm 2.0	0.015*
	Glyburide	8.8 \pm 1.1	7.3 \pm 1.2	6.8 \pm 1.7	
	Placebo	9.2 \pm 1.1	10.2 \pm 2.1	10.1 \pm 1.9	
Insulin(mU/l)	<i>S. cumini</i>	21.8 \pm 10.2	22.5 \pm 13.9	22.5 \pm 11.4	0.933
	Glyburide	20.7 \pm 14.7	26.7 \pm 17.2	26.0 \pm 14.6	
	Placebo	23.0 \pm 16.4	25.7 \pm 16.1	19.2 \pm 10.4	
Fructosamine (mmol/l)	<i>S. cumini</i>	3.5 \pm 0.5	3.4 \pm 0.4	3.4 \pm 0.3	0.946
	Glyburide	3.5 \pm 0.7	3.3 \pm 0.3	3.2 \pm 0.3	
	Placebo	3.0 \pm 0.4	3.3 \pm 0.8	3.7 \pm 0.7	

* for the interaction time/treatment

Figure 1 Flow Diagram of the progree through the phases of randomized trial (enrollment, intervention allocation, follow-up, and data analysis).

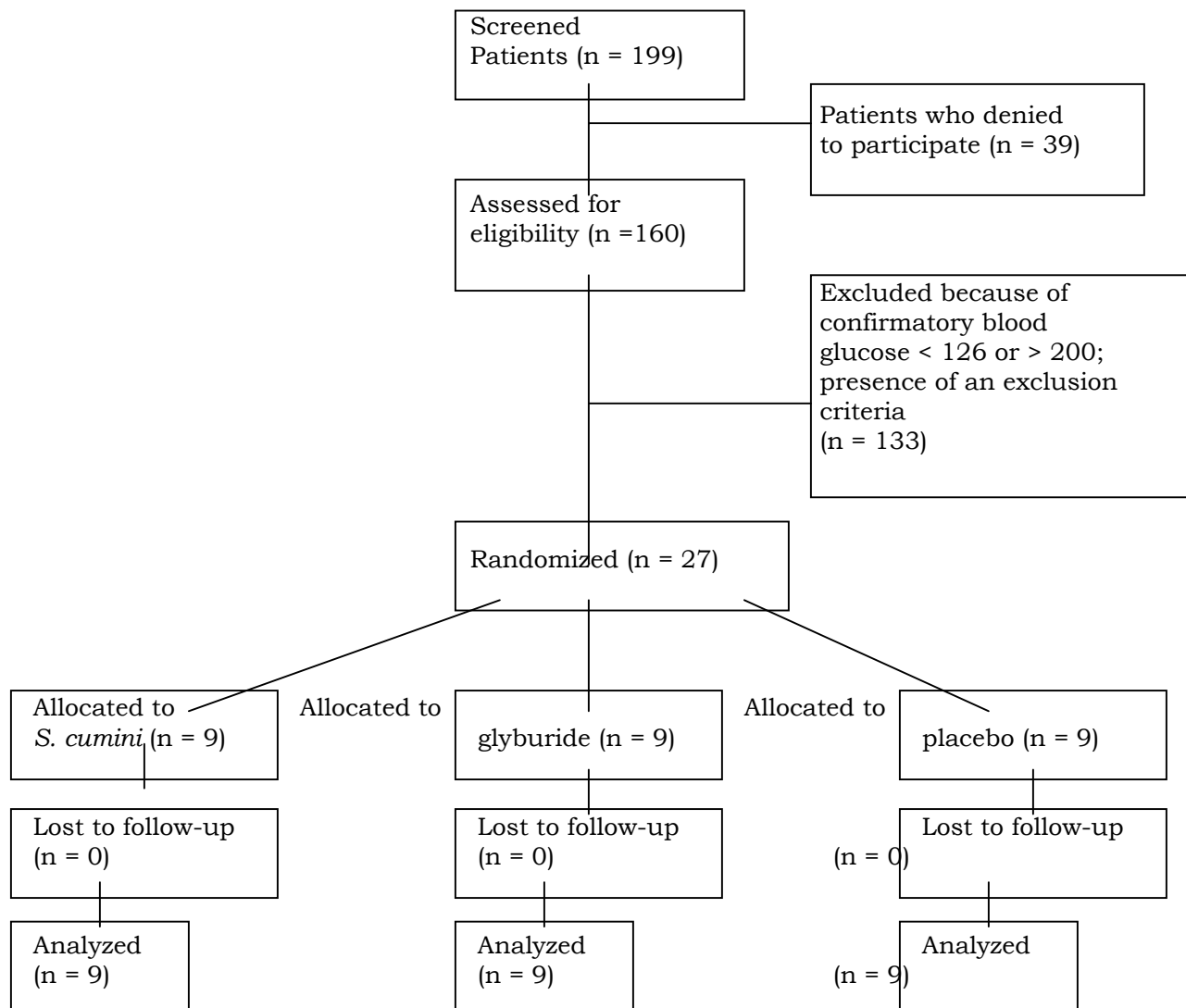
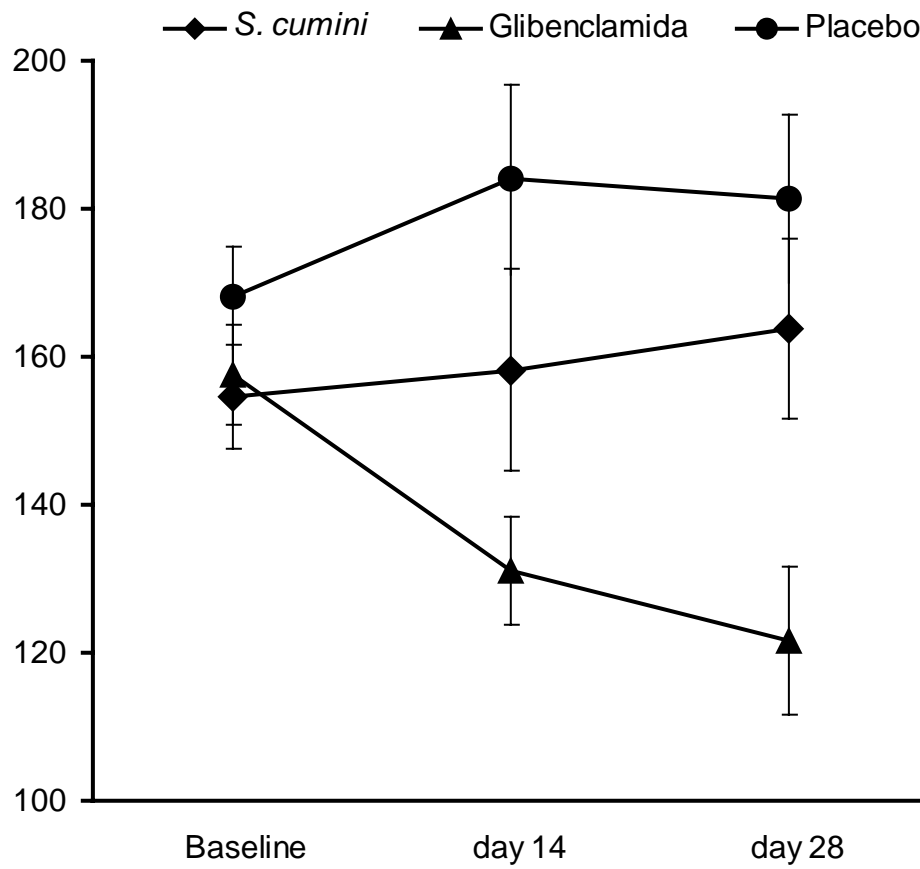


Figure 2 Fasting glucose levels at baseline, 14th day and 28th day of treatment in the three experimental groups. (mean \pm SE)



ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS (ESTUDO 1)

Syzygium cumini* (L.) Skeels no tratamento do diabetes melito tipo 2: resultados de um ensaio clínico randomizado, controlado, duplo-cego e *double-dummy

Claudio Coimbra Teixeira, ¹

Flávio Danni Fuchs, ²

Letícia Schwerz Weinert, ¹

Daniel Cardoso Barbosa, ¹

Cristina Ricken, ¹

Jorge Esteves, ³

¹Departamento de Farmacologia, ²Serviço de Cardiologia,

³Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

Endereço para correspondência:

Claudio C. Teixeira, MD, Departamento de Farmacologia, ICBS, UFRGS, Rua Sarmiento Leite, 550, CEP 90046-900, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: clauct@ufrgs.br

Resumo:**Objetivo:**

O objetivo principal desse estudo foi investigar se o chá preparado com folhas de jambolão, *Syzygium cumini* (L.) Skeels, tem efeito anti-hiperglicemiante em pacientes com diabetes melito do tipo 2.

Metodologia:

Pacientes com diabetes melito do tipo 2 foram selecionados para participar de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e *double-dummy*. Os três grupos experimentais receberam um chá preparado com folhas de *Syzygium cumini* e comprimidos placebo, um chá placebo e comprimidos de glibenclamida ou um chá placebo e comprimidos placebo.

Resultados:

Vinte e sete pacientes foram distribuídos nos grupos de tratamento e controle e seguidos por 28 dias. Durante o experimento, a glicemia de jejum diminuiu significativamente entre os pacientes tratados com glibenclamida e não se alterou naqueles tratados com o chá de *Syzygium cumini* ou naqueles que receberam placebos do chá e da glibenclamida. O índice de massa corporal (IMC), creatinina, γ -glutamil transferase, fosfatase alcalina, aminotransferases, glicosúria de 24 horas, proteinúria de 24 horas, triglicerídeos, colesterol total, LDL e HDL não variaram significativamente entre os grupos, durante o experimento.

Conclusões:

O chá preparado com folhas de *Syzygium cumini* é farmacologicamente inerte. Os pacientes e médicos não podem contar com o postulado efeito anti-hiperglicemiante desse chá.

Palavras chave: Medicamentos Fitoterápicos; Tratamento do diabetes melito; *Syzygium cumini* (L.) Skeels, Jambolão.

Introdução

Medicamentos tradicionais, preparados a partir de extratos de plantas, têm sido usados para o controle do diabetes melito por muitos anos antes da descoberta da insulina. *Galega officinalis*, um precursor das biguanidas, é um exemplo de planta que deu origem a um agente anti-hiperglicemiante efetivo (1).

Syzygium cumini (anteriormente denominado *Eugenia jambolana*) é outra planta com um postulado efeito anti-hiperglicemiante. Diferentes componentes da planta, tais como sementes, casca, fruto e chá preparado de suas folhas, têm sido utilizados para tratar o diabetes melito em vários locais (2-6). Nós demonstramos, em um estudo etnofarmacológico, que 72% dos pacientes diabéticos entrevistados em nossa cidade usavam o chá preparado por infusão ou decocção de folhas secas de jambolão (jambolan, malak rose-apple or Malabar, em inglês) (7).

Um efeito anti-hiperglicemiante de sementes (8-15), casca (16), fruto (17, 18) e folhas (19, 20) tem sido demonstrado em estudos experimentais e em estudos clínicos não controlados (21-23). Nós não identificamos nenhum efeito farmacológico sobre a glicemia, testando extratos ou chás preparados a partir de folhas dessa planta, em ratos normais (24-26), em ratos com diabetes melito induzido por estreptozotocina (25, 26) e em voluntários normais (26).

Apesar desses resultados negativos, um efeito em pacientes diabéticos não pode ser descartado, já que seu mecanismo de ação pode depender de anormalidades específicas do diabetes em seres humanos. Neste estudo nós demonstramos a ausência de qualquer efeito do chá preparado com folhas de *Syzygium cumini* sobre o controle de pacientes com diabetes melito do tipo 2.

Métodos:

Delineamento: Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, *double-dummy* controlado por placebo e glibenclamida.

Pacientes: Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com diagnóstico de diabetes melito do tipo 2, estável há pelo menos 3 anos, e com duas glicemias de jejum entre 7 e 11 mmol/l sob tratamento dietético. Foram excluídas mulheres grávidas e indivíduos com alguma das seguintes condições: IMC > 35 kg/m², abuso de álcool,

provas de função hepática anormais, insuficiência cardíaca descompensada, creatinina > 1,2 mg/dl, proteinúria de 24 horas > 500 mg com urocultura negativa, triglicerídeos > 500 mg/dl, retinopatia proliferativa durante exame do fundo de olho, tratamento com insulina, fármacos antidiabéticos orais, bloqueadores beta-adrenérgicos, diuréticos tiazídicos e glicocorticóides.

Intervenção: Os participantes foram randomizados em blocos de três para um dos três diferentes grupos de tratamento: chá preparado de folhas de *Syzygium cumini* e comprimido placebo; chá placebo e comprimido de glibenclamida; chá placebo e comprimido placebo. O tratamento durou 28 dias, após um período inicial de acompanhamento ambulatorial de três meses. A dose de glibenclamida foi de 5 mg, duas vezes por dia. Os comprimidos placebo eram idênticos aos comprimidos de glibenclamida. As folhas de *Syzygium cumini* foram coletadas na Estação Agronômica Experimental da Secretaria da Agricultura. A excicata foi classificada e registrada no herbário da Universidade. Elas foram secas à temperatura ambiente por 30 dias. Cada paciente recebeu 2,0 g de folhas secas por dia, para preparar 1 litro de chá por decocção em água por cinco minutos. Eles foram instruídos a conservarem o chá em refrigerador e usá-lo como substituto da água durante o dia. O chá placebo foi preparado com folhas secas de *Imperata braziliensis* Trinius (28). Os participantes foram instruídos a usar o chá placebo do mesmo modo como foi recomendado para o chá de jambolão. As folhas de todas as plantas foram acondicionadas em sachês com 1 g de folhas ativas ou placebo.

Medidas e desfechos: Os pacientes voltavam ao ambulatório para acompanhamento nos 7^o, 14^o, 21^o e 28^o dias. Peso corporal, glicemia de jejum, insulina, frutossamina, triglicerídeos, colesterol total, LDL, HDL, glicosúria e proteinúria de 24 horas, aminotransferases, fosfatase alcalina, γ -glutamil transferase, creatinina sérica, exame comum de urina e hemograma foram realizados antes do tratamento, no 14^o e no 28^o dia. O desfecho principal era a variação na glicemia de jejum durante o experimento.

Análise estatística: O tamanho da amostra foi calculado para demonstrar uma diferença de 15% da glicemia de jejum durante o seguimento dos grupos experimentais, com um poder estatístico de 90% e *P* alfa de 0,05. Análise da variância (ANOVA) para múltiplos fatores (grupos de tratamento) e medidas repetidas foi empregada para comparar o efeito do tratamento sobre a glicemia de jejum e outras variáveis contínuas. O efeito do tratamento foi testado por “F” para a interação tempo-grupo,

usando-se o teste de Bonferroni para contraste. O efeito principal foi ajustado, em modelo linear múltiplo, para a glicemia de jejum e IMC.

O Comitê de Ética aprovou o protocolo e todos os participantes assinaram o consentimento informado.

Resultados:

No total, 27 pacientes (17 homens, 10 mulheres), com idade média de $56,5 \pm 8,0$ anos (39 a 71 anos), foram randomizados para um dos três grupos de tratamento (Figura 1). Os grupos não diferiam significativamente em relação à maior parte das características clínicas basais (ANOVA, $P > 0,05$). IMC foi estatisticamente diferente entre os grupos, sendo maior no grupo que recebeu *Syzygium cumini* ($P = 0,027$) (Tabela 1).

A tabela 2 e a figura 2 mostram que a glicemia de jejum diminuiu significativamente durante o experimento nos participantes tratados com glibenclamida e não foi alterada naqueles tratados com chá de *Syzygium cumini* e nos participantes que receberam placebos do chá e da glibenclamida. Essa diferença foi independente da glicemia de jejum e IMC. IMC e colesterol LDL diferiram significativamente entre os grupos (ANOVA, $P = 0,031$ e $P = 0,025$, respectivamente) e o teste de Bonferroni mostrou que o grupo da glibenclamida diferia do placebo ($P = 0,045$ e $P = 0,027$, respectivamente). Insulina, frutossamina, creatinina, γ -glutamil transferase, fosfatase alcalina, SGOT, SGPT, glicosúria de 24 horas, proteinúria de 24 horas, triglicerídeos, colesterol total e HDL não variaram significativamente, entre os grupos, durante o experimento ($P > 0,05$).

Discussão:

O uso popular e tradicional de plantas medicinais não é suficiente para validar seu uso como medicação efetiva. A Organização Mundial da Saúde recomenda que a validação dessas plantas, seu uso racional e o desenvolvimento de novos fármacos fitoterapêuticos estejam sujeitos a estudos científicos apropriados, os quais devem avaliar sua eficácia e segurança (27).

Muitos estudos sobre a eficácia de plantas com suposto efeito antidiabético são evidentemente falhos. Alguns deles são apenas relatos de casos, os quais não controlam o efeito placebo e a regressão à média (21-23). Poucos ensaios clínicos foram realizados (28), alguns com voluntários normais (26, 29, 30).

Nós temos mostrado, numa série de estudos experimentais e pré-clínicos, que é improvável que extratos naturais ou chás preparados com diferentes partes de *Syzygium cumini* tenham efeito anti-hiperglicemiante (24-26). Um efeito em pacientes com diabetes melito do tipo 2, entretanto, não poderia ser descartado. No presente experimento, encerramos um ciclo de estudos com folhas dessa planta, mostrando que o chá de folhas de *Syzygium cumini*, do modo como é preparado e usado pelos pacientes, não tem efeito anti-hiperglicemiante em diabéticos, quando usado por um mês. O delineamento duplo cego e *double-dummy*, controlado com placebo e tratamento ativo, demonstra que esse chá é farmacologicamente inerte. Nós não encontramos, também, nenhuma reação adversa associada com o tratamento ativo, mas, com o pequeno tamanho da amostra, somente efeitos adversos comuns poderiam ser descartados.

A ausência de efeito desse chá deve ser conhecida por médicos e pacientes que o usam contando com sua postulada eficácia para tratar o

diabetes. A idéia de que ele não é mais do que um placebo não justifica seu uso, uma vez que os pacientes podem assumir que estão sendo tratados, abandonando medidas efetivas para alcançar um bom controle metabólico.

O uso de nosso método experimental, com outras plantas postuladas como antidiabéticas e com plantas utilizadas no tratamento de outras doenças, é útil para se identificar sua eficácia potencial, antes de tentarmos isolar seus princípios ativos.

Agradecimentos: Ao Hospital de Clínicas de Porto. Este trabalho foi financiado, em parte, por auxílios do CNPq e FAPERGS, Brasil.

Referências:

31. Bailey CJ: Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care* 15:755-772, 1992.
32. Bramachari HD, Augusti KT: Hypoglycaemic agents from indian indigenous plants. *J Pharm Pharmacol* 13:381-382, 1961.
33. Kohli KR, Singh RH: *Eugenia jambolana*: a plant drug with potential antidiabetic property (a review). *J Sci Res Pl Med* 6:21-28, 1985.
34. Almeida RN, Agra MF: Levantamento bibliográfico da flora medicinal de uso no tratamento da diabetes e alguns resultados experimentais. *Rev Bras Farm* 67:105-110, 1986.
35. Rahman AU, Zaman K: Medicinal Plants with hypoglycemic activity. *J Ethnopharmacol* 26:01-56, 1989.
36. Haddad PS, Depot M, Cherrah Y: Use of antidiabetic plants in Morocco and Quebec. *Diabetes Care* 24:608-609, 2001.
37. Teixeira CC, Fuchs FD, Blotta RM, Costa AP, Müssnich DG, Ranquetat, GG: Plants employed in the treatment of diabetes mellitus: results of an ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brazil. *Fitoterapia* 63:320-322, 1992.

38. Sigogneau M, Bilbal P, Chanez M, Boiteau P, Ratsimamanga AR: Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémisante et antidiabétique d'un principe extrait du Rotra de Madagascar (*Eugenia jambolana* Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 264: 1119-1123, 1967.
39. Nair RB, Santhakumari G: Anti-diabetic activity of the seed kernel of *Syzygium cumini* Linn. *Ancient Sci. Life* 6:80-84, 1986.
40. Chivan-Nia P, Ratsimamanga AR: Régression de la cataracte et de l'hyperglycémie chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) diabétique ayant reçu un extrait de *Eugenia jambolana* (Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 274:254-257, 1972.
41. Bansal R, Ahmad N, Kidwai R: Effects of administration of *Eugenia jambolana* seeds and chlorpropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rat. *Ind. J. Biochem. Bioph.* 18: 377, 1981.
42. Kedar P, Chakrabarti CH: Effects of jambolan seed treatment on blood sugar, lipids and urea in streptozocin induced diabetes in rabbits. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* 27:135-140, 1983.
43. Giri J, Sakthidevi TK, Dushyanthy N: Effect of jamun seed extract on alloxan induced diabetes in rats. *J. Diab. Assoc. India* 25:115-119, 1985.

44. Prince P S, Menon VP, Pari L: Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effect on lip peroxidation in alloxan diabetic rats. *J.Ethnopharmacol*: 61:1-7, 1998.
45. Grover JK, Vats V, Rathi SS: Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *J. Ethnopharmacol*. 73: 461-470, 2000.
46. Ratsimamanga AR: Nouvelle contribution à l'étude de l'action d'un principe hypoglycémiant mis en évidence dans l'écorce jeune de *Eugenia jambolana* (Myrtacées) sur l'hyperglycémie provoquée du lapin normal et poursuite de sa purification. *C. R. Acad. Sc. Paris* 227: 2219-2222, 1973.
47. Shrotri DS, Kelkar M, Deshmukh VK, Aiman R: Investigation of the hypoglycemic properties of *Vinca rosea*, *Cassia auriculata* and *Eugenia Jambolana*. *Ind.Jour.Med.Res.* 51: 464-467, 1963.
48. Achrekar S, Kaklij GS, Pote MS, Kelkar SM: Hypoglycemic activity of *Eugenia jambolana* and *Ficus bengalensis*: mechanism of action. *In Vivo* 5: 143-147, 1991.
49. Soares JC: Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com Diabetes melittus aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. *Cienc. Rural* 30: 113-118, 2000.

50. Zanoello AM, Melazzo-Mazzanti C, Gindri JK, Filappi A, Prestes D, Cecim M: Efeito protetor do *Syzygium cumini* contra diabetes mellitus induzido por aloxano em ratos. *Acta Farm. Bonaerense* 21: 31-36, 2002.
51. Sepaha GC, Bose SN: Clinical observations on the antidiabetic properties of *Pterocarpus marsupium* and *Eugenia jambolana*. *J. Indian M. A.* 27: 388-391, 1956.
52. Nande CV, Kale PM, Wagh SY, Antarkar DS, Vaidya AB: Effect of jambu fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam.) on blood sugar levels in healthy volunteers and diabetics. *Jour. Res. Ay. Sid.* 4: 01-05, 1981.
53. Srivastava Y, Venkatakrishna-Bhatt H, Gupta OP, Gupta PS: Hypoglycemia induced by *Syzygium cumini* Linn. seeds in diabetes mellitus. *Asian Med. J.* 26: 489-491, 1983.
- 24 Teixeira CC, Knijnik J, Pereira MV, Fuchs FD: The effect of tea prepare from leaves of "jambolão" (*Syzygium cumini*) on the blood glucose levels of normal rats: an exploratory study. *Brazilian-Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products*, Rio de Janeiro: 191, 1989.
- 25 Teixeira CC, Pinto LP, Kessler FHP, Knijnik L, Pinto CP, Gastaldo GJ, Fuchs FD: The effect of *Sygyzium cumini* (L.) Skeels on post-

prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J.Ethnopharmacol.* 56: 209-213, 1997.

- 26 Teixeira CC, Rava CA, Silva PM, Melchior R, Argenta R, Anselmi F, Almeida CRC, Fuchs FD: Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. *J. Ethnopharmacol.* 71: 343-347, 2000.
- 27 Manila (Ed): *Guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines*, World Health Organization (WHO), 1993.
- 28 Russo EMK, Reichelt AAJ, De-Sá JR: Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia Forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. *Brazilian J Med Biol Res*:11-20, 1990.
- 29 Teixeira CC, Fuchs FD, Blotta RM, Knijnik J, Delgado I, Netto M, Ferreira E, Costa AP, Müssnich DG, Ranquetat GG, Gastaldo GJ: Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in nondiabetes subjects. *Diabetes Care* 13: 907-908, 1990.
- 30 Teixeira CC, Paixão LQ, Pinto LP, Kessler FHP, Miura CS, Guimarães MS, Miura MS, Gastaldo GJ, Fuchs FD: Is the decoction of leaves of mango an antihyperglycemic tea? *Fitoterapia*, 69: 165-168, 1998.

Tabela 1. Características clínicas basais dos três grupos experimentais (média \pm DP)

	<i>Syzygium cumini</i> n = 9	Glibenclamid a n = 9	Placebo n = 9
Idade (anos)	54,1 \pm 8,1	59,5 \pm 6,3	55,8 \pm 9,3
Sexo masculino(%)	5 (55,5)	7 (77,8)	5 (55,5)
IMC(kg/m ²)	29,9 \pm 2,7	26,7 \pm 3,6	30,6 \pm 2,7
Glicemia de jejum (mmol/l)	8,7 \pm 1,2	8,8 \pm 1,1	9,2 \pm 1,1
Insulina (mU/l)	21,8 \pm 10,2	20,7 \pm 14,7	23,0 \pm 16,4
Frutosamina (mmol/l)	3,4 \pm 0,5	3,5 \pm 0,7	3,0 \pm 0,4
Triglicerídeos (mg/dl)	166,6 \pm 61,5	159,6 \pm 115,6	166,9 \pm 41,5
Colesterol total (mg/dl)	219,9 \pm 51,4	192,1 \pm 43,2	207,6 \pm 79,8
HDL (mg/dl)	46,3 \pm 10,6	49,7 \pm 11,9	43,9 \pm 7,1
LDL (mg/dl)	143,3 \pm 41,6	109,9 \pm 35,5	153,8 \pm 37,3

Tabela 2. Glicemia de jejum, Insulina e Frutosamina basais, no 14^o dia e no 28^o dia, dos três grupos experimentais (média ± DP)

	Grupo	Basal	14 ^o dia	28 ^o dia	P
Glicemia de jejum (mmol/l)	<i>S. cumini</i>	8,7 ± 1,2	8,8 ± 2,3	9,1 ± 2,0	0,015*
	Glibenclamida	8,8 ± 1,1	7,3 ± 1,2	6,8 ± 1,7	
	Placebo	9,2 ± 1,1	10,2 ± 2,1	10,1 ± 1,9	
Insulina (mU/l)	<i>S. cumini</i>	21,8 ± 10,2	22,5 ± 13,9	22,5 ± 11,4	0,933
	Glibenclamida	20,7 ± 14,7	26,7 ± 17,2	26,0 ± 14,6	
	Placebo	23,0 ± 16,4	25,7 ± 16,1	19,2 ± 10,4	
Frutosamina (mmol/l)	<i>S. cumini</i>	3,5 ± 0,5	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,3	0,946
	Glibenclamida	3,5 ± 0,7	3,3 ± 0,3	3,2 ± 0,3	
	Placebo	3,0 ± 0,4	3,3 ± 0,8	3,7 ± 0,7	

* para a interação tempo/tratamento

Figura 1. Fluxograma das fases da randomização (recrutamento, intervenção, alocação, acompanhamento e análise de dados)

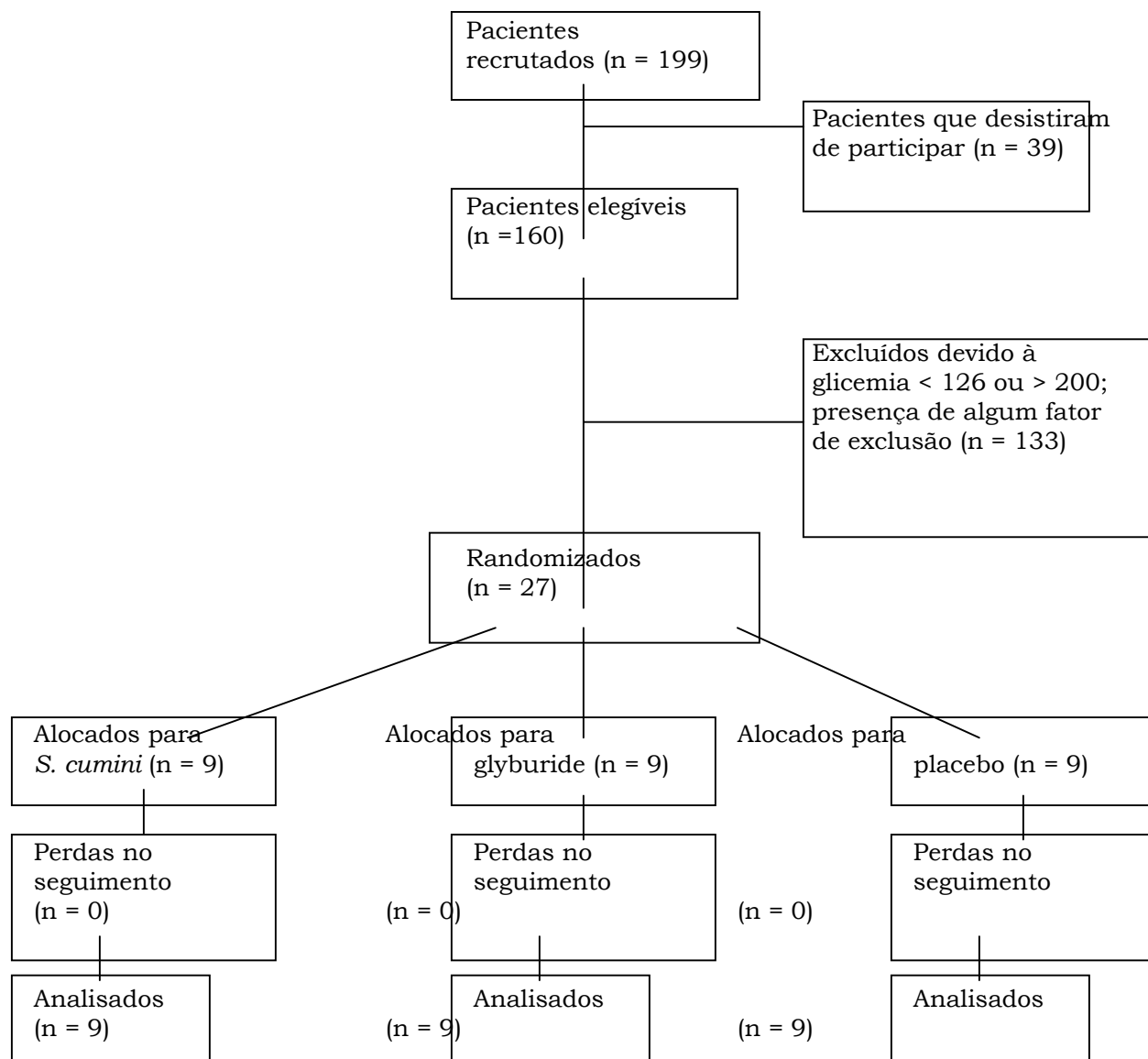
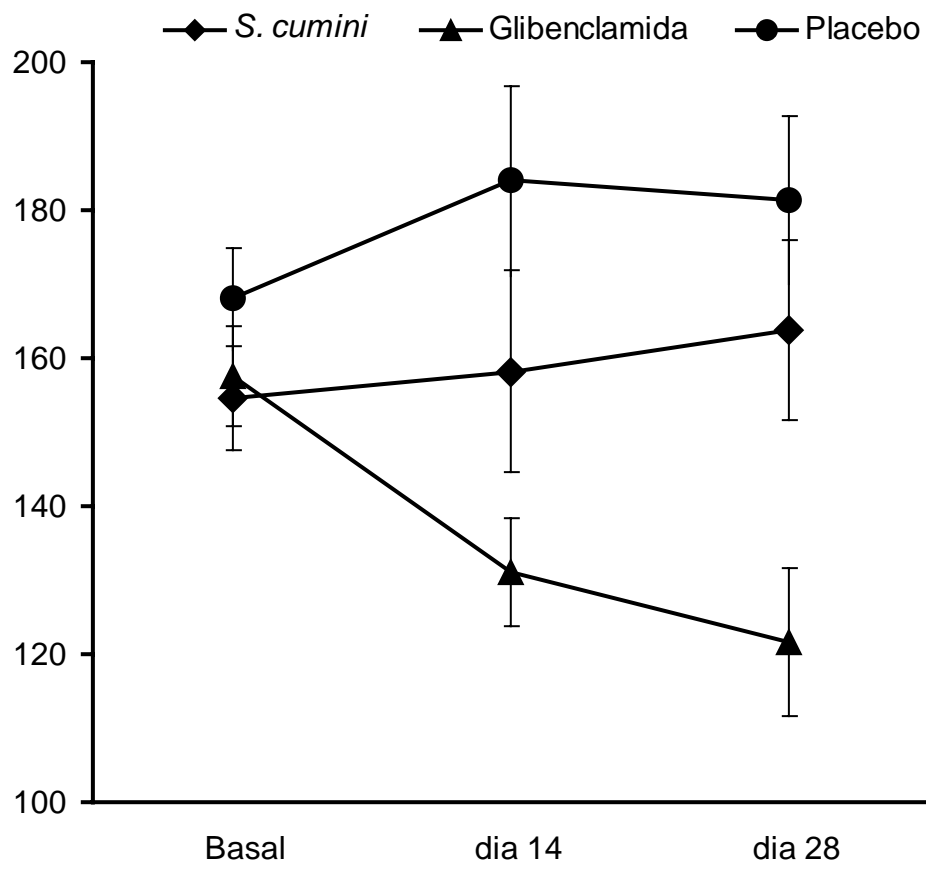


Figure 2. Glicemia de jejum basal, no 14^o e 28^o dia de tratamento nos três grupos experimentais (mean ± SE)



ARTIGO CIENTÍFICO EM INGLÊS (ESTUDO 2)

The investigation of efficacy of herbal medicines in clinical models: the case of jambolan

Claudio Coimbra Teixeira ^{a,*}, Leticia Schwerz Weinert ^a, and Flávio Danni Fuchs ^b

^aDepartment of Pharmacology and ^bDivision of Cardiology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

* Corresponding author:

Claudio Coimbra Teixeira

Departamento de Farmacologia, ICBS, UFRGS,

Rua Sarmiento Leite, 550, CEP 90046-900, Porto Alegre, RS,
Brazil.

E-mail: clauct@ufrgs.br

Abstract

We review a large series of experimental and clinical investigations on the potential antihyperglycemic effect of tea and extracts prepared with leaves and other parts of jambolan (*Syzygium cumini* and *Syzygium jambos*). The experiments with normal rats, rats with streptozotocin-induced diabetes, normal volunteers and patients with diabetes were all negative in regard to an antihyperglycemic effect of this plant. We propose that the use of clinical trials in patients with diabetes, testing the efficacy of the natural product in the way that it is used by patients, could be a shortcut to identify products with potential clinical utility. The identification of active principles and of their pharmacological properties could therefore follow the clinical phase. In view of the pharmacological inertia of jambolan in the clinical model, patients and physicians should not rely on its putative antihyperglycemic effect. This approach may also be applicable to other folk medicines employed in the management of diabetes.

Keywords: Herbal medicines. Diabetes Mellitus treatment.

Syzygium cumini, Jambolan.

A large proportion of drugs with medical utilization has a natural origin. Antimicrobial drugs, antineoplastic agents and digitalis are some examples. Insulin (Davis and Granner, 2001) and biguanids (Bailey, 1992) are examples of drugs with a natural origin employed in the management of diabetes mellitus. Indigenous medications prepared from extracts of plants were used for controlling diabetes several years before the discovery of insulin (Kedar and Chakrabarti, 1983; Sepaha and Bose, 1956).

This historical background has been the basis of the investigation of new drugs for many medical conditions and particularly for diabetes. The screening of plants or other natural products with potential efficacy has followed a classical pathway, which starts with the identification of the folk use of herbs or other natural products. After that, the effect of extracts and isolates of these products are tested in pharmacological models. In the case of positive results, the next step is to identify the active component, which is finally tested in pharmacological and clinical models (Malone, 1982).

We have proposed that the investigation of natural products with putative therapeutic effect could follow an alternative approach (Fuchs et al., 1988). Instead of trying to identify the active components of herbs or other products, we suggested to start investigating the efficacy of the natural product, in the way that it is used by patients, in randomized clinical trials. Products with some evidence of effect in the clinical model would therefore be submitted to the attempt to identify their active principles.

Several years ago we start this line of investigation testing the effect of a tea prepared with *Sechium edule*, commonly used as a blood pressure-lowering product, in normal volunteers, with negative results (Fuchs et al., 1988). In an ethnopharmacologic survey, we identified that *Aloysia triphylia* was commonly employed in the management of anxiety in our city (Wannmacher et al., 1990a). In a randomized clinical trial with normal volunteers, we demonstrated that *Aloysia triphylia* had no effect on experimentally induced anxiety (Wannmacher et al., 1990b). Our main focus, however, was the investigation of plants commonly employed in the management of diabetes. The results of a series of experimental and clinical studies on the antidiabetic effect of jambolan, mainly developed by our group, are presented below.

The investigation of the potential antihyperglycemic effect of Jambolan

The first step of the investigation consisted of the identification of the pattern of use of alternative therapies among patients with diabetes. We identified the high frequency of use of teas for the treatment of diabetes in patients attending to primary care units (Teixeira et al., 1992). Jambolan (*Syzygium cumini* formerly *Eugenia jambolana* and *Syzygium jambos*) was among the plants most often mentioned. Mango (*Mangifera indica*), “Pata-de-vaca” (*Bauhinia forficata*), “Carambola” (Chinese Gooseberry) (*Averrhoa carambola*) and “Carqueja” (*Baccharis* sp) were also reported. In the survey, 72% of patients with diabetes used the tea prepared by infusion or decoction of dry jambolan leaves (as far we know, malak rose-apple and malabar plum in English). Two species were identified, *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *S. jambos* (L.) Alst. Most people prepared the tea by infusion or decoction of dry leaves of both species in an average dilution of 2.5 g/L (0.2 to 6.9) for *S. cumini* and 2.3 g/L (0.2 to 6.0) for *S. jambos*. The tea was used as a water substitute, with a mean daily intake of 1 L (Teixeira et al., 1992).

In an exploratory pre-clinical study, we did not detect any effect on fasting glycemia of normal rats, after the administration of jambolan tea (*S. cumini*) for 7 days, at concentrations of 10 and 30 grams of leaves per liter (Teixeira et al., 1989).

In a second experiment, we investigated the possible antihyperglycemic activity of products prepared by decoction of leaves and seeds of *S. cumini*, administered *ad libitum* to normal rats and rats with diabetes induced by streptozotocin. Two subacute (14 days) and two chronic experiments (72 and 95 days) were done with non-diabetic rats. The rats with diabetes were treated for 14 days. The results did not show any antidiabetic effect at the concentrations used (2, 8, 12, 32 and 64 g/L), both in normal and diabetic rats (Teixeira et al., 1997).

Other investigators have looked at the antidiabetic effect of jambolan in experimental models. Different components of the plant, such as seeds, bark, fruit, and tea prepared from their leaves have been used to treat diabetes around the world (Bramachari and Augusti, 1961; Kohli and Singh, 1985; Almeida and Agra, 1986; Handa et al., 1989; Ivorra et al., 1989; Rahman and Zaman, 1989; Haddad et al., 2001).

An antihyperglycemic effect of seeds (Sigogneau et al., 1967; Nair and Santhakumari, 1986; Chivan-Nia and Ratsimamanga, 1972; Bansal et al., 1981; Kedar and Chakrabarti, 1983; Giri et al., 1985; Flores et al., 1988; Prince et al., 1998; Grover et al., 2000), bark (Ratsimamanga, 1973), fruit (Shrotri et al., 1963; Achrekar et al., 1991) and leaves (Soares, 2000; Zanoello et al., 2002) has been suggested by experimental studies. On the other hand, this effect was not reproduced in mice with diabetes, neither with leaves (Pepato et al., 2001) or barks of jambolan (Mazzanti, et al., 2003). Increased beta pancreatic-cathepsin activity, which increases in parallel with the stimulation of insulin secretion, was showed in rats treated with *S. Cumini* (Bansal et al., 1981).

The discrepancy between the results of some of these experimental studies may be ascribed to the use of other parts of jambolan, such as seeds, bark and fruits, but it seems unlikely that an anti-diabetic agent is present in different parts of the same plant. The use of other parts are not referred by patients, at least in our city (Teixeira et al., 1992). Studies with leaves have showed positive and negative results.

The investigation of the effects of jambolan in human beings was described by other investigators (Sepaha and Bose, 1956; Nande et al., 1981; Srivastava et al., 1983). These studies, however, were just case series, and therefore did not control potential confounders, such as regression to mean, placebo effect, and the natural trends for glicemia.

In 1990 we published the results of an investigation of the acute effect of the administration of jambolan (*S. jambos*) tea to non-diabetic young volunteers, in a randomized, parallel, placebo-controlled clinical trial. After 10 hours fasting, volunteers received a dose of 75 g of glucose per os and 250 ml of a decoction of the *S. jambos* leaves, prepared with 2 g of dry leaves, or placebo. There was no difference on the glucose tolerance curve between the two groups (Teixeira et al., 1990).

The potential antidiabetic effect of the other plant employed in the treatment of diabetes, *S. cumini*, was also investigated in a randomized, parallel, placebo-controlled clinical trial. Thirty healthy volunteers received a dose of 75 g of glucose per os, together with a decoction of the *S. cumini* species, prepared at a concentration of 2 g of dry leaves /250 mL of water, or the same volume of placebo. No statistically significant difference was found between the two groups (Teixeira et al., 2000).

We have also studied the potential antidiabetic activity of the *S. cumini* extract in normal rats and in rats with streptozotocin-induced diabetes. These animals were divided into 4 groups and the extract was administered per os, at concentrations of 0.25, 0.50 and 1.0 g of leaves/mL, for 14 days . No antihyperglycemic effect was observed in normal rats or rats with streptozotocin-induced diabetes (Teixeira et al., 2000).

This long series of experiments in animals and in normal volunteers suggested that the tea and extracts prepared with leaves or other parts of both species of *Syzygium* were pharmacologically inert. A specific effect in patients with diabetes could not be discarded, however, since it could depend on abnormalities of the glucose metabolism exclusive of human beings. In order to investigate such possibility, we have carried out a controlled trial in patients with diabetes.

In a double-blind, double-dummy, clinical trial, we randomized patients with type 2 diabetes mellitus to received a tea prepared from leaves of *Syzygium cumini* (2 g per liter of water, taken as water substitute) plus placebo tablets, placebo tea plus glyburide tablets (5 mg twice a day), or placebo tea plus placebo tablets. Fasting blood glucose levels decreased significantly along the experiment in participants treated with glyburide and did not change in those treated with the *Syzygium cumini* tea and in the participants who received placebos from tea and glyburide (Teixeira et al., 2004).

An overall view about the history of jambolan

(how clinical trials with the folk preparations could be a shortcut to identify natural products with potential pharmacological properties)

Taking together, the experiments with jambolan suggest that it is pharmacologically inert. The results of the clinical experiments suggest that the investigation of its potential antihyperglycemic effect could be abbreviated. The experiments

with normal rats and rats with streptozotocin-induced diabetes, either for tea or extracts, could be considered dispensable, in view of negative results of a clinical trial with patients with diabetes. All attempts to identify an active principle could also be avoided. The investigation of the potential efficacy of folk preparations, in the way by which they are used by patients, would be also useful in regard to other aspects. The potential toxicity of the preparation, at least in terms of common adverse effects, would be tested in controlled conditions. The negative effect of the folk preparation should also be informed to patients and physicians, who should not rely on the putative antihyperglycemic effect of this tea and perhaps of other folk medicines that pretend to have such effect.

In conclusion, we propose that the investigation of plants with potential clinical utility could start with a clinical trial testing the effect of the folk preparations, reserving the attempt to isolate active principles to those products that show pharmacological activity in this model.

References

- Achrekar, S., Kaklij, G.S., Pote, M.S. and Kelkar, S.M. (1991) Hypoglycemic activity of *Eugenia jambolana* and *Ficus bengalensis*: mechanism of action. *In Vivo* 5, 143-147.
- Almeida, R.N. and Agra, M.F. (1986) Levantamento bibliográfico da flora medicinal de uso no tratamento da diabetes e alguns resultados experimentais. *Rev Bras Farm* 67, 105-110.
- Bailey, C.J. (1992) Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care* 15, 755-772.
- Bansal, R., Ahmad, N. and Kidwai, R. (1981) Effects of administration of *Eugenia jambolana* seeds and chloropropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rat. *Ind. J. Biochem. Bioph.* 18, 377.
- Bramachari, H.D. and Augusti, K.T. (1961) Hypoglycaemic agents from indian indigenous plants. *J Pharm Pharmacol* 13, 381-382.
- Chivan-Nia, P. and Ratsimamanga, AR (1972) Régression de la cataracte et de l'hyperglycémie chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) diabétique ayant reçu un extrait de *Eugenia jambolana* (Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 274, 254-257.
- Davis, S.N., Granner, D.K. Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacology of the endocrine pancreas. In: Hardman, J.G., Limbird, L.E., Gilman A.G. *Goodman &*

- Gilman's The pharmacological basis of therapeutics* (Ed.). 10 ed. New York: McGraw-Hill, 2001. cap. 61, p. 1679-1714.
- Flores, R.L. et al (1998) Valoracion de medicamentos homeopaticos y alopaticos en el tratamiento de ratas com diabetes melittus inducida por aloxana. *La Homeopatia de México* 521, 10-20.
- Fuchs, F.D.; Paoli, C.L.; Hasegawa, C.Y.; Ferreira, E.; Netto, M.S.; Rosito, G.A. (1988) O chá de chuchu (*Sechium edule*) no tratamento da hipertensão: evidência etnofarmacológica de largo emprego em Porto Alegre, RS. *X Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, São Paulo.
- Giri, J., Sakthidevi, T.K. and Dushyanthy, N. (1985) Effect of jamun seed extract on alloxan induced diabetes in rats. *J. Diab. Assoc. India* 25, 115-119.
- Grover, J.K., Vats, V. and Rathi, S.S. (2000) Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *J. Ethnopharmacol.* 73, 461-470.
- Haddad, P.S., Depot, M. and Cherrah, Y. (2001) Use of antidiabetic plants in Morocco and Quebec. *Diabetes Care* 24, 608-609.
- Handa, S.S. and Chawla Maninder, A.S. (1989) Hypoglycaemic plants - A review. *Fitoterapia* 60, 195-225.
- Ivorra, M.D., Payá, M. and Villar, A. (1989) A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *J. Ethnopharmacol.* 27, 243-275.

- Kedar, P. and Chakrabarti, C.H. (1983) Effects of jambolan seed treatment on blood sugar, lipids and urea in streptozotocin induced diabetes in rabbits. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* 27, 135-140.
- Kohli, K.R. and Singh, R.H. (1985) *Eugenia jambolana*: a plant drug with potential antidiabetic property (a review). *J Sci Res Pl Med* 6, 21-28.
- Malone, M.H. (1983) The pharmacological evaluation of natural products – General and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. *J.Ethnopharmacol.* 8, 127-147.
- Mazzanti, C.M., Schossler, D.R., Filappi, A., Prestes, D., Balz, D., Miron, V., Morsch, A., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Cecim, M.(2003) Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. *Cienc. Rural* 33: 1061-1065.
- Nair, R.B. and Santhakumari G. (1986) Anti-diabetic activity of the seed kernel of *Syzygium cumini* Linn. *Ancient Sci. Life* 6, 80-84.
- Nande, C.V., Kale, P.M., Wagh, S.Y., Antarkar, D.S. and Vaidya, A.B. (1981) Effect of jambu fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam.) on blood sugar levels in healthy volunteers and diabetics. *Jour. Res. Ay. Sid.* 4, 01-05.
- Pepato, M.T., Folgado, V.B.B., Kettelhut, I.C., Brunetti, I.L. (2001) Lack of antidiabetic effect of a *Eugenia jambolana* leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. *Braz J Med Biol Res.* 34: 389-95.

- Prince, P. S., Menon, V.P. and Pari, L. (1998) Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effect on lip peroxidation in alloxan diabetic rats. *J.Ethnopharmacol*: 61:1-7.
- Rahman, A.U. and Zaman, K. (1989) Medicinal Plants with hypoglycemic activity. *J. Ethnopharmacol*. 26, 1-56.
- Ratsimamanga, A.R. et al. (1973) Nouvelle contribution à l'étude de l'action d'un principe hypoglycémiant mis en évidence dans l'écorce jeune de *Eugenia jambolana* (Myrtacées) sur l'hyperglycémie provoquée du lapin normal et poursuite de sa purification. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 227, 2219-2222.
- Sepaha, G.C. and Bose, S.N. (1956) Clinical observations on the antidiabetic properties of *Pterocarpus marsupium* and *Eugenia jambolana*. *J. Indian M. A.*, 27, 388-391.
- Shrotri, D.S., Kelkar, M., Deshmukh, V.K., and Aiman, R. (1963) Investigation of the hypoglycemic properties of *Vinca rosea*, *Cassia auriculata* and *Eugenia Jambolana*. *Ind.Jour.Med.Res.* 51, 464-467.
- Sigogneau-Jagodzinski, M., Bilbal-Prot, P., Chanez, M., Boiteau, P., and Ratsimamanga, A.R. (1967) Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant et antidiabétique d'un principe extrait du Roetra de Madagascar (*Eugenia jambolana* Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 264, 1119-1123.
- Soares, J.C. (2000) Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com Diabetes melittus aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. *Cienc. Rural* 30, 113-118.
- Srivastava, Y., Venkatakrishna-Bhatt, H., Gupta, O.P. and Gupta P.S. (1983) Hypoglycemia induced by *Syzygium cumini* Linn. seeds in diabetes mellitus. *Asian Med. J.* 26, 489-491.

- Teixeira, C.C., Fuchs, F.D., Blotta, R.M., Costa, A.P., Müssnich, D.G. and Ranquetat, G.G. (1992) Plants employed in the treatment of diabetes mellitus: results of an ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brazil. *Fitoterapia* 63, 320-322.
- Teixeira, C.C., Fuchs, F.D., Blotta, R.M., Knijnik, J., Delgado, I., Netto, M., Ferreira, E., Costa, A.P., Müssnich, D.G., Ranquetat, G.G. and Gastaldo, G.J. (1990) Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in nondiabetes subjects. *Diabetes Care* 13, 907-908.
- Teixeira, C.C., Knijnik, J., Pereira, M.V. and Fuchs, F.D. (1989) The effect of tea prepared from leaves of "jambolão" (*Syzygium cumini*) on the blood glucose levels of normal rats: an exploratory study. *Brazilian-Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products*, Rio de Janeiro, 191.
- Teixeira, C.C., Pinto, L.P., Kessler, F.H.P., Knijnik, L., Pinto, C.P., Gastaldo, G.J., Fuchs and F.D. (1997) The effect of *Syzygium cumini* (L.) Skeels on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J.Ethnopharmacol.* 56, 209-213.
- Teixeira, C.C., Rava, C.A., Silva, P.M., Melchior, R., Argenta, R., Anselmi, F., Almeida, C.R.C., Fuchs, F.D. (2000) Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. *J. Ethnopharmacol.* 71, 343-347.

- Teixeira, C.C., Weinert, L. S., Barbosa, D.C., Ricken, C., Esteves, J.F., Fucks, F.D. (2004) *Syzygium cumini* (L.) Skeels in the treatment of type 2 diabetes. Results of a randomized, double-blind, double-dummy, controlled trial. *Diabetes Care* (accepted for publication).
- Wannmacher, L., Fuchs, F.D.; Paoli, C.L., Gianlupi, A., Fillmann, H.S., Hassegawa, C.Y., Ribeiro, A.M.S., Muller, A.S., Lança, E., Marques, A., Guimarães, F. S. (1990) Plants employed in the treatment of anxiety and insomnia: I. An ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brasil. *Fitoterapia* 61, 445-448.
- Wannmacher, L., Fuchs, F.D.; Paoli, C.L., Fillmann, H.S., Gianlupi, A., Lubianca Neto, J.F., Hassegawa, C.Y. (1990) Plants employed in the treatment of anxiety and insomnia: II. Effect of infusions of *Aloysia triphyllia*, on experimental anxiety in normal volunteers. *Fitoterapia* 61, 449-453.
- Zanoello, A.M., Melazzo-Mazzanti, C., Gindri, J.K., Filappi, A., Prestes, D. and Cecim, M. (2002) Efeito protetor do *Syzygium cumini* contra diabetes mellitus induzido por aloxano em ratos. *Acta Farm. Bonaerense* 21, 31-36.

ARTIGO CIENTÍFICO EM PORTUGUÊS (ESTUDO 2)

A investigação de eficácia de fitoterápicos em modelos clínicos: o caso do jambolão

Claudio Coimbra Teixeira ^{a,*} Leticia Schwerz Weinert ^a, and Flávio Danni Fuchs ^b

^a Departamento de Farmacologia e ^b Serviço de Cardiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

* Endereço para correspondência: Departamento de Farmacologia, ICBS, UFRGS, Rua Sarmiento Leite, 550, CEP 90046-900, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: Clauct@ufrgs.br

Sumário

Nós revisamos uma grande série de investigações experimentais e clínicas sobre o potencial efeito anti-hiperglicemiante do chá e extratos preparados com folhas e outras partes do jambolão (*Syzygium cumini* e *Syzygium jambos*). Os experimentos com ratos normais, ratos com diabetes melito induzido com estreptozotocina, voluntários normais e pacientes com diabetes foram todos negativos em relação ao efeito anti-hiperglicemiante dessa planta. Nós propomos que o uso de ensaios clínicos com pacientes com diabetes, testando a eficácia de produtos naturais do modo como são utilizados pelos pacientes, poderia ser um atalho para identificar produtos com utilidade clínica potencial. A identificação de princípios ativos e de suas propriedades farmacológicas poderiam, por conseguinte, seguir à fase clínica. Em vista da inércia farmacológica do jambolão no modelo clínico, pacientes e médicos não poderiam contar com o postulado efeito anti-hiperglicêmico. Essa abordagem também poderia ser aplicada a outros medicamentos populares empregados no tratamento do diabetes.

Palavras-chave: Medicamentos fitoterápicos. Tratamento do Diabetes Melito. *Syzygium cumini*. Jambolão.

Uma grande proporção de fármacos, com definido emprego médico, têm origem natural. Fármacos antimicrobianos, agentes antineoplásicos e digitálicos são alguns exemplos. Insulina (Davis and Granner, 2001) e biguanidas (Bailey, 1992) são exemplos de fármacos empregados no tratamento do diabetes melito que têm origem natural. Medicamentos populares preparados de extratos de plantas foram usados para o controle do diabetes vários anos antes da descoberta da insulina (Kedar e Chakrabarti, 1983; Sepaha e Bose, 1956).

Esses antecedentes históricos têm orientado a investigação de novos fármacos para muitas situações médicas e, particularmente, para o diabetes. A triagem de plantas ou outros produtos naturais com potencial eficácia tem seguido a via clássica, a qual começa com a identificação do uso popular de plantas ou outros produtos naturais. Após, o efeito de extratos e isolados desses produtos são testados em modelos farmacológicos. Em caso de resultado positivo, o próximo passo é a identificação do princípio ativo, o qual é finalmente testado em modelos farmacológicos e clínicos (Malone, 1982).

Nós temos proposto que a investigação de produtos naturais com postulado efeito terapêutico poderia seguir um método alternativo (Fuchs et al., 1988). Em vez de tentar a identificação de componentes ativos da planta ou outros produtos, nós sugerimos iniciar investigando a eficácia do produto natural, da maneira como ele é utilizado pelos pacientes, em ensaios clínicos randomizados. Produtos com alguma evidência de efeito no modelo clínico seriam submetidos a tentativa de identificação de seus princípios ativos.

Há vários anos atrás testamos o efeito de um chá preparado com *Sechium edule*, comumente usado como anti-hipertensivo, em voluntários normais, com resultado negativo (Fuchs et al., 1988). Em trabalho etnofarmacológico, nós identificamos que *Aloysia triphyllia* era freqüentemente empregada no tratamento da ansiedade em nossa cidade (Wannmacher et al., 1990a). Num ensaio clínico randomizado com voluntários normais, demonstramos que *Aloysia triphyllia* não tinha efeito sobre a ansiedade induzida experimentalmente (Wannmacher et al., 1990b). Nosso principal objetivo, entretanto, foi a investigação de plantas usualmente empregadas no tratamento do diabetes. Os resultados de uma série de estudos experimentais e clínicos sobre o efeito antidiabético do jambolão, principalmente desenvolvidos pelo nosso grupo, são apresentados abaixo.

A investigação do efeito anti-hiperglicêmico potencial do jambolão

O primeiro passo da investigação consistiu da identificação do padrão de tratamentos alternativos entre os pacientes com diabetes. Nós identificamos a alta frequência de uso de chás no tratamento do diabetes em pacientes atendidos em unidades de cuidados primários (Teixeira et al., 1992). Jambolão (*Syzygium cumini* anteriormente denominado *Eugenia jambolana* e *Syzygium jambos*) estava entre as plantas mais frequentemente mencionadas. Manga (*Mangifera indica*), Pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), Carambola (*Averrhoa carambola*) e Carqueja (*Baccharis* sp) também foram mencionadas. Nesse estudo, 72% dos pacientes com diabetes usavam o chá preparado pela infusão ou decocção de folhas secas de jambolão. Duas espécies foram identificadas, *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *S. jambos* (L.) Alst. A maior parte dos pacientes preparava o chá tanto por infusão como por decocção de folhas secas de ambas as espécies, na diluição média de 2,5 g/l (0,2 to 6,9) para o *S. cumini* e 2,3 g/l (0,2 to 6,0) para o *S. jambos*. O chá era usado como substituto da água, com uma ingestão diária média de 1 litro (Teixeira et al., 1992).

Em estudo pré-clínico exploratório, não detectamos nenhum efeito sobre a glicemia de jejum de ratos normais, após a administração de chá de jambolão (*S. cumini*) por 7 dias, nas concentrações de 10 e 30 gramas de folhas por litro (Teixeira et al., 1989).

Num segundo experimento, investigamos a possível atividade anti-hiperglicêmica de produtos preparados pela decocção de folhas e sementes de *S. cumini*, administrados *ad libitum* a ratos normais e a ratos com diabetes induzido pela estreptozotocina. Dois experimentos subagudos (14 dias) e dois crônicos (72 e 95 dias) foram realizados com ratos não-diabéticos. Os ratos com diabetes foram tratados por 14 dias. Os resultados não mostraram nenhum efeito antidiabético nas concentrações empregadas (2, 8, 12, 32 e 64 g/l), tanto em ratos normais quanto nos diabéticos (Teixeira et al., 1997).

Outros investigadores pesquisaram o efeito antidiabético do jambolão em modelos experimentais. Diferentes componentes da planta, tais como sementes, casca, frutos e chá preparado com folhas, têm sido utilizados no tratamento do diabetes em diferentes regiões (Bramachari e Augusti, 1961; Kohli e Singh, 1985; Almeida e Agra, 1986; Handa et al., 1989; Ivorra et al., 1989; Rahman e Zaman, 1989; Haddad et al., 2001).

Um efeito anti-hiperglicêmico de sementes (Sigogneau et al., 1967; Nair e Santhakumari, 1986; Chivan-Nia e Ratsimamanga, 1972; Bansal et al., 1981; Kedar e Chakrabarti, 1983; Giri et al., 1985; Flores et al., 1988; Prince et al., 1998; Grover et al., 2000), casca (Ratsimamanga, 1973), frutos (Shrotri et al., 1963; Achrekar et al., 1991) e folhas (Soares, 2000; Zanoello et al., 2002) tem sido sugerido por estudos experimentais. Por outro lado, esse efeito não foi reproduzido em camundongos com diabetes, tanto com folhas (Pepato et al., 2001) quanto com casca de jambolão (Mazzanti, et al., 2003).

O aumento da atividade da catepsina beta pancreática, a qual se eleva em paralelo com a estimulação de secreção de insulina, foi demonstrado em ratos tratados com *S. Cumini* (Bansal et al., 1981).

A discrepância entre os resultados de alguns desses estudos experimentais pode ser atribuída ao uso de outros componentes do jambolão, tais como sementes, casca e frutos, mas parece improvável que um agente antidiabético esteja presente em diferentes partes da mesma planta. O uso de outras partes não é referido pelos pacientes, ao menos em nossa cidade (Teixeira et al., 1992). Estudos com folhas têm mostrado resultados positivos e negativos.

A investigação dos efeitos do jambolão em seres humanos foi descrita por outros investigadores (Sepaha e Bose, 1956; Nande et al., 1981; Srivastava et al., 1983). Esses estudos, entretanto, eram séries de casos, portanto, não controlavam vieses potenciais como a regressão a média, o efeito placebo e as oscilações naturais da glicemia.

Em 1990, nós publicamos os resultados de uma investigação sobre o efeito agudo da administração do chá de jambolão (*S. jambos*) para voluntários jovens não-diabéticos, num ensaio clínico randomizado, paralelo e controlado com placebo. Após 10 horas de jejum, os voluntários receberam a dose de 75 g de glicose por via oral e 250 ml da decocção de folhas de *S. jambos*, preparada com 2 g de folhas secas ou placebo. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi demonstrada na curva de tolerância à glicose entre os dois grupos (Teixeira et al., 1990).

O efeito antidiabético potencial de outra planta empregada no tratamento do diabetes, *S. cumini*, também foi investigado num ensaio clínico randomizado, paralelo e controlado com placebo. Trinta voluntários hígidos receberam uma dose de 75 g de glicose, por via oral, junto com a decocção de *S. cumini*, preparada na concentração de 2

g de folhas secas em 250 ml de água ou o mesmo volume de placebo. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os dois grupos (Teixeira et al., 2000).

Também estudamos a atividade antidiabética potencial do extrato de *S. cumini* em ratos normais e em ratos com diabetes induzido pela estreptozotocina. Esses animais foram divididos em 4 grupos e o extrato era administrado, por via oral, nas concentrações de 0,25, 0,50 e 1,0 g de folhas/ml por 14 dias. Nenhum efeito anti-hiperglicêmico foi observado nos ratos normais ou nos ratos com diabetes induzido pela estreptozotocina (Teixeira et al., 2000).

Essa longa série de experimentos em animais e voluntários normais sugere que o chá e os extratos preparados com folhas ou outras partes das duas espécies de *Syzygium* eram farmacologicamente inertes. Entretanto, um efeito específico em pacientes com diabetes não poderia ser desconsiderado, uma vez que isso poderia depender de anormalidade do metabolismo da glicose exclusiva de seres humanos. Para investigar tal possibilidade, nós realizamos um ensaio clínico controlado em pacientes com diabetes.

Num ensaio clínico duplo-cego, *double-dummy*, nós randomizamos pacientes com diabetes melito tipo 2 para receber um chá preparado com folhas de *Syzygium cumini* (2 g por litro de água, ingerido como substituto da água) mais um comprimido placebo, chá placebo mais um comprimido de glibenclamida (5 mg 2 vezes ao dia), ou chá placebo mais um comprimido placebo. Ao longo do experimento, a glicemia de jejum diminuiu significativamente nos participantes tratados com glibenclamida e não se alterou naqueles tratados com o chá de *Syzygium cumini* e naqueles que receberam os placebos do chá e da glibenclamida (Teixeira et al., 2004).

Uma visão geral sobre a história do Jambolão

(como ensaios clínicos com a preparação popular poderiam ser um atalho para identificar produtos naturais com potenciais propriedades farmacológicas)

Observando em conjunto, os experimentos com o jambolão sugerem que ele é farmacologicamente inerte. Os resultados dos experimento clínicos sugerem que a investigação de seu efeito anti-hiperglicemiante potencial poderia ser abreviada. Os experimentos com ratos normais e ratos com diabetes induzido pela estreptozotocina, tanto com chás como com extratos, poderiam ser considerados dispensáveis, tendo em vista os resultados negativos de um ensaio clínico com pacientes diabéticos. Todas as tentativas de identificar um princípio ativo também poderiam ser evitadas. A investigação da eficácia em potencial da preparação popular, da maneira como é utilizada pelos pacientes, também poderia ser útil em consideração a outros aspectos. A toxicidade potencial da preparação, ao menos em relação a efeitos adversos comuns, poderia ser testada em condições controladas. O efeito negativo da preparação popular também deveria ser informado a pacientes e médicos, os quais não contariam com o postulado efeito anti-hiperglicemiante desse chá e talvez de outros medicamentos populares que pretendem ter tal efeito.

Concluindo, propomos que a investigação de plantas, com potencial utilidade clínica, poderia começar com ensaios clínicos para testarmos o efeito das preparações populares, reservando o

esforço de isolar princípios ativos para aqueles produtos que mostraram atividade farmacológica nesse modelo.

Referências

- Achrekar, S., Kaklij, G.S., Pote, M.S., Kelkar, S.M. (1991) Hypoglycemic activity of *Eugenia jambolana* and *Ficus bengalensis*: mechanism of action. *In Vivo* 5, 143-147.
- Almeida, R.N., Agra, M.F. (1986) Levantamento bibliográfico da flora medicinal de uso no tratamento da diabetes e alguns resultados experimentais. *Rev Bras Farm* 67, 105-110.
- Bailey, C.J. (1992) Biguanides and NIDDM. *Diabetes Care* 15, 755-772.
- Bansal, R., Ahmad, N., Kidwai, R. (1981) Effects of administration of *Eugenia jambolana* seeds and chlorpropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rat. *Ind. J. Biochem. Bioph.* 18, 377.
- Bramachari, H.D., Augusti, K.T. (1961) Hypoglycaemic agents from indian indigenous plants. *J Pharm Pharmacol* 13, 381-382.
- Chivan-Nia, P., Ratsimamanga, AR (1972) Régression de la cataracte et de l'hyperglycémie chez le rat des sables (*Psammomys obesus*) diabétique ayant reçu un extrait de *Eugenia jambolana* (Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 274, 254-257.
- Davis, S.N., Granner, D.K. Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacology of the endocrine pancreas. In: Hardman, J.G., Limbird, L.E., Gilman, A.G. *Goodman &*

Gilman's The pharmacological basis of therapeutics (Ed.). 10 ed. New York: McGraw-Hill, 2001. cap. 61, p. 1679-1714.

Flores, R.L. et al (1998) Valoracion de medicamentos homeopaticos y alopaticos en el tratamiento de ratas com diabetes melittus inducida por aloxana. *La Homeopatia de México* 521, 10-20.

Fuchs, F.D.; Paoli, C.L.; Hasegawa, C.Y.; Ferreira, E.; Netto, M.S.; Rosito, G.A. (1988) O chá de chuchu (*Sechium edule*) no tratamento da hipertensão: evidência etnofarmacológica de largo emprego em Porto Alegre, RS. *X Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil*, São Paulo.

Giri, J., Sakthidevi, T.K., Dushyanthy, N. (1985) Effect of jamun seed extract on alloxan induced diabetes in rats. *J. Diab. Assoc. India* 25, 115-119.

Grover, J.K., Vats, V., Rathi, S.S. (2000) Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *J. Ethnopharmacol.* 73, 461-470.

Haddad, P.S., Depot, M., Cherrah, Y. (2001) Use of antidiabetic plants in Morocco and Quebec. *Diabetes Care* 24, 608-609.

Handa, S.S., Chawla Maninder, A.S. (1989) Hypoglycaemic plants - A review. *Fitoterapia* 60, 195-225.

Ivorra, M.D., Payá, M., Villar, A. (1989) A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *J. Ethnopharmacol.* 27, 243-275.

- Kedar, P., Chakrabarti, C.H. (1983) Effects of jambolan seed treatment on blood sugar, lipids and urea in streptozotocin induced diabetes in rabbits. *Ind. J. Physiol. Pharmac.* 27, 135-140.
- Kohli, K.R., Singh, R.H. (1985) *Eugenia jambolana*: a plant drug with potential antidiabetic property (a review). *J Sci Res Pl Med* 6, 21-28.
- Malone, M.H. (1983) The pharmacological evaluation of natural products – General and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. *J.Ethnopharmacol.* 8, 127-147.
- Mazzanti, C.M., Schossler, D.R., Filappi, A., Prestes, D., Balz, D., Miron, V., Morsch, A., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Cecim, M.(2003) Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. *Cienc. Rural* 33: 1061-1065.
- Nair, R.B., Santhakumari G. (1986) Anti-diabetic activity of the seed kernel of *Syzygium cumini* Linn. *Ancient Sci. Life* 6, 80-84.
- Nande, C.V., Kale, P.M., Wagh, S.Y., Antarkar, D.S., Vaidya, A.B. (1981) Effect of jambu fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam.) on blood sugar levels in healthy volunteers and diabetics. *Jour. Res. Ay. Sid.* 4, 01-05.
- Pepato, M.T., Folgado, V.B.B., Kettelhut, I.C., Brunetti, I.L. (2001) Lack of antidiabetic effect of a *Eugenia jambolana* leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. *Braz J Med Biol Res.* 34: 389-95.

- Prince, P. S., Menon, V.P., Pari, L. (1998) Hypoglycaemic activity of *Syzygium cumini* seeds: effect on lip peroxidation in alloxan diabetic rats. *J.Ethnopharmacol*: 61:1-7.
- Rahman, A.U., Zaman, K. (1989) Medicinal Plants with hypoglycemic activity. *J. Ethnopharmacol*. 26, 1-56.
- Ratsimamanga, A.R. et al. (1973) Nouvelle contribution à l'étude de l'action d'un principe hypoglycémiant mis en évidence dans l'écorce jeune de *Eugenia jambolana* (Myrtacées) sur l'hyperglycémie provoquée du lapin normal et poursuite de sa purification. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 227, 2219-2222.
- Sepaha, G.C., Bose, S.N. (1956) Clinical observations on the antidiabetic properties of *Pterocarpus marsupium* and *Eugenia jambolana*. *J. Indian M. A.*, 27, 388-391.
- Shrotri, D.S., Kelkar, M., Deshmukh, V.K., Aiman, R. (1963) Investigation of the hypoglycemic properties of *Vinca rosea*, *Cassia auriculata* and *Eugenia Jambolana*. *Ind.Jour.Med.Res.* 51, 464-467.
- Sigogneau-Jagodzinski, M., Bilbal-Prot, P., Chanez, M., Boiteau, P., Ratsimamanga, A.R. (1967) Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant et antidiabétique d'un principe extrait du Roitra de Madagascar (*Eugenia jambolana* Lamarck). *C. R. Acad. Sc. Paris* 264, 1119-1123.
- Soares, J.C. (2000) Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com Diabetes melittus aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. *Cienc. Rural* 30, 113-118.
- Srivastava, Y., Venkatakrishna-Bhatt, H., Gupta, O.P., Gupta P.S. (1983) Hypoglycemia induced by *Syzygium cumini* Linn. seeds in diabetes mellitus. *Asian Med. J.* 26, 489-491.

- Teixeira, C.C., Fuchs, F.D., Blotta, R.M., Costa, A.P., Müssnich, D.G., Ranquetat, G.G. (1992) Plants employed in the treatment of diabetes mellitus: results of an ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brazil. *Fitoterapia* 63, 320-322.
- Teixeira, C.C., Fuchs, F.D., Blotta, R.M., Knijnik, J., Delgado, I., Netto, M., Ferreira, E., Costa, A.P., Müssnich, D.G., Ranquetat, G.G., Gastaldo, G.J. (1990) Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in nondiabetes subjects. *Diabetes Care* 13, 907-908.
- Teixeira, C.C., Knijnik, J., Pereira, M.V., Fuchs, F.D. (1989) The effect of tea prepared from leaves of "jambolão" (*Syzygium cumini*) on the blood glucose levels of normal rats: an exploratory study. *Brazilian-Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products*, Rio de Janeiro, 191.
- Teixeira, C.C., Pinto, L.P., Kessler, F.H.P., Knijnik, L., Pinto, C.P., Gastaldo, G.J., Fuchs, F.D. (1997) The effect of *Syzygium cumini* (L.) Skeels on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J.Ethnopharmacol.* 56, 209-213.
- Teixeira, C.C., Rava, C.A., Silva, P.M., Melchior, R., Argenta, R., Anselmi, F., Almeida, C.R.C., Fuchs, F.D. (2000) Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. *J. Ethnopharmacol.* 71, 343-347.

- Teixeira, C.C., Weinert, L. S., Barbosa, D.C., Ricken, C., Esteves, J.F., Fucks, F.D. (2004) *Syzygium cumini* (L.) Skeels in the treatment of type 2 diabetes. Results of a randomized, double-blind, double-dummy, controlled trial. *Diabetes Care* (aceito para publicação).
- Wannmacher, L., Fuchs, F.D.; Paoli, C.L., Gianlupi, A., Fillmann, H.S., Hasegawa, C.Y., Ribeiro, A.M.S., Muller, A.S., Lança, E., Marques, A. Guimarães, F.S. (1990) Plants employed in the treatment of anxiety and insomnia: I. An ethnopharmacological survey in Porto Alegre, Brasil. *Fitoterapia* 61, 445-448.
- Wannmacher, L., Fuchs, F.D.; Paoli, C.L., Fillmann, H.S., Gianlupi, A., Lubianca Neto, J.F., Hasegawa, C.Y. (1990) Plants employed in the treatment of anxiety and insomnia: II. Effect of infusions of *Aloysia triphyllia*, on experimental anxiety in normal volunteers. *Fitoterapia* 61, 449-453.
- Zanoello, A.M., Melazzo-Mazzanti, C., Gindri, J.K., Filappi, A., Prestes, D., Cecim, M. (2002) Efeito protetor do *Syzygium cumini* contra diabetes mellitus induzido por aloxano em ratos. *Acta Farm. Bonaerense* 21, 31-36.

ANEXOS

ANEXO 1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
UNIDADE DE FARMACOLOGIA CLÍNICA DO HCPA**

AVALIAÇÃO DE EFEITO SUB-CRÔNICO DO CHÁ DE FOLHAS DE
"JAMBOLÃO", *Syzygium cumini* (L.) SKEELS, SOBRE O CONTROLE
METABÓLICO E OUTROS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE PACIENTES
COM DIABETES MELITO TIPO 2

CONVITE PARA JUNTAR-SE AO ESTUDO DO CHÁ DE JAMBOLÃO

Gostaríamos de explicar para você alguns dos trabalhos de pesquisa que estamos fazendo e, então, perguntar-lhe se nos ajudará neste.

Em nosso meio, a população usa muito o chá de "jambolão" para tratar o diabetes melito. Até agora, não existem estudos comprovando que realmente esse chá tem efeito de diminuir a glicose no sangue. Vários trabalhos feitos com animais ou com voluntários normais, que receberam esse chá, não mostraram nenhum efeito. Apesar desse grande uso, não existem relatos do aparecimento de complicações. Por outro lado, existem estudos que não observaram efeitos adversos dessa planta.

Agora, depois de ter trabalhado com animais e voluntários normais, chegou o momento de administrar o chá de jambolão para voluntários que tenham diabetes melito. Isso é muito importante porque esse estudo vai trazer informações úteis para o tratamento de vários pacientes. Se houver efeito, é possível que o chá de jambolão seja útil nesse tratamento ou que, a partir dele, procuremos um novo medicamento. Se não houver efeito, seu uso deve ser desaconselhado até que tenhamos certeza de que ele representa algum benefício.

A sua participação na pesquisa consistirá na ingestão de um comprimido e de um chá. Tanto um como o outro podem ser placebo (sem efeito). A ingestão do comprimido de medicamento ou comprimido placebo será feita duas vezes por dia. O chá de jambolão ou chá placebo será ingerido no volume de 1 litro por dia, durante 28 dias. Eles serão preparados fervendo-se, durante 5 minutos, 8 gramas de folhas em 1 (um) litro de água. Esse é o modo que a população com mais frequência usa o chá de jambolão. Nesse período, você fará coleta de sangue e de urina, para exames, em três momentos: no início do estudo e após 14 e 28 dias de tratamento com o referido chá. Fará, ainda, uma consulta por semana, para acompanhamento.

Participando ou não do estudo, você, é claro, estará recebendo tratamento comprovadamente bom para você e, caso queira retirar-se do estudo, estará livre para fazê-lo em qualquer momento que desejar. Cabe salientar que, mesmo recebendo placebo, você não deixará de ser tratado, pois manter-se-á sob dieta para diabético recomendada, que muitas vezes é por si só eficaz para controlar a doença, além de receber acompanhamento médico semanal e exames de sangue para controle.

Se você tiver alguma pergunta a fazer antes de se decidir, sinta-se à vontade para fazê-la.

ANEXO 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
UNIDADE DE FARMACOLOGIA CLÍNICA DO HCPA

AVALIAÇÃO DE EFEITO SUB-CRÔNICO DO CHÁ DE FOLHAS DE "JAMBOLÃO",
Syzygium cumini (L.) SKEELS, SOBRE O CONTROLE METABÓLICO E OUTROS
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE PACIENTES COM DIABETES MELITO TIPO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Eu,....., de nacionalidade,
residente à....., abaixo assinado, concordo
em participar, de livre e espontânea vontade, da investigação acima citada.

Estou ciente de que a investigação dos efeitos do chá de folhas de "jambolão" sobre a glicose e outros exames de sangue e de urina, assim como dos efeitos adversos, justifica-se pela implicação que esses fatos podem ter sobre o tratamento do diabetes melito. Isso é muito importante porque esse estudo vai trazer informações úteis para o tratamento de vários pacientes. Se houver efeito, é possível que o chá de jambolão seja útil nesse tratamento ou que, a partir dele, se procure um novo medicamento. Se não houver efeito, seu uso deve ser desaconselhado até que tenhamos certeza de que ele representa algum benefício.

Fui informado que, em nosso meio, a população usa muito o chá de "jambolão" para tratar o diabetes melito. Até agora, não existem estudos comprovando que realmente esse chá tem efeito de diminuir a glicose no sangue. Vários trabalhos feitos com animais e com voluntários normais, que receberam esse chá, não mostraram nenhum efeito. Apesar desse grande uso, não existem relatos do aparecimento de complicações. Por outro lado, existem estudos que não observaram efeitos adversos dessa planta, mas,

mesmo assim, por segurança, ela será administrada do modo como é utilizada e preparada pela comunidade.

A minha participação na pesquisa consistirá na ingestão de um comprimido e de um chá. Tanto um como o outro podem ser placebo (sem efeito). A ingestão do comprimido de medicamento ou comprimido placebo será feita duas vezes por dia. O chá de jambolão ou chá placebo será ingerido no volume de 1 litro por dia, durante 28 dias. Eles serão preparados fervendo-se, durante 5 minutos, 2 gramas de folhas em 1 (um) litro de água. Fui informado que esse é o modo que a população, com mais frequência, usa o chá de jambolão. Nesse período, farei a coleta de sangue e de urina, para exames, em três momentos: no início do estudo e após 14 e 28 dias de tratamento. Farei, ainda, uma consulta por semana, para acompanhamento.

Estou ciente de que, participando do estudo, estarei recebendo tratamento comprovadamente bom e que, mesmo recebendo placebo, não deixarei de ser tratado, pois ficarei sob dieta para diabético, que muitas vezes por si só é eficaz para controlar a doença, além de receber acompanhamento médico semanal e exames de sangue para controle.

Foi-me assegurado o direito de abandonar a experiência a qualquer momento, bastando comunicar a minha decisão.

Porto Alegre,..... de de

Assinatura do Voluntário