

Avaliação do potencial anti-hiperglicemiante da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae)

Neviton Rogério Sanches, Ricardo Galletto, Carlos Eduardo de Oliveira, Roberto Barbosa Bazotte e Diógenes Aparício Garcia Cortez*

Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, Campus Universitário, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Author for correspondence.

RESUMO. As raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, conhecida como ginseng brasileiro, são utilizadas na medicina popular como tônico afrodisíaco e antidiabético. O extrato metanólico bruto e suas frações obtidos das raízes foram utilizados para avaliar a atividade anti-hiperglicemiante em ratos da linhagem Wistar. Das quatro frações obtidas do extrato metanólico bruto, o extrato butanólico apresentou maior atividade anti-hiperglicemiante a partir de 50 mg/kg e o seu fracionamento resultou em perda desta atividade. A β -ecdisona identificada no extrato butanólico não está relacionada com a atividade anti-hiperglicemiante.

Palavras-chave: *Pfaffia glomerata*, Amaranthaceae, antihyperglycemiante, β -ecdisona.

ABSTRACT. Evaluation of antihyperglycemic potential of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae). The roots of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae), commonly known as Brazilian ginseng, are used in folk medicine as a tonic and as an aphrodisiac and antidiabetic medicine. The methanolic extract and its fractions obtained from roots were used to evaluate their antihyperglycemic potential in male Wistar rats. While the methanolic extract yielded four fractions, the butanolic extract had larger antihyperglycemic potential, starting from 50 mg/kg. No activity was shown by its fractionation. The β -ecdisonone identified in the butanolic extract is not related with the antihyperglycemic effect.

Key words: *Pfaffia glomerata*, Amaranthaceae, antihyperglycemiante, β -ecdisonone.

O ginseng brasileiro, pertencente ao gênero *Pfaffia*, é constituído por cerca de 90 espécies, distribuídas na América do Sul e América Central. No Brasil são descritas 27 espécies, (Vidal *et al.*, 1967). Na medicina popular as raízes são utilizadas como afrodisíaco e antidiabético (Oliveira *et al.*, 1980).

Diversos compostos foram isolados e identificados de algumas espécies de *Pfaffia*, incluindo os ecdisteróides, saponinas e um pigmento amarelo da *P. irsinoides* (Nishimoto *et al.*, 1987, 1988; Shiobara *et al.*, 1992). Esta espécie apresentou atividade antiinflamatória (Taniguchi *et al.*, 1997) e moluscicida (Alvim *et al.*, 1999).

A partir da *P. paniculata* Kuntze, foram isolados sitosterol, estigmasterol, alantoína e ácido pífico e seus glicosídeos, que apresentaram atividades antitumorais *in vitro* (Nishimoto *et al.*, 1984; Nakai *et al.*, 1984).

O ginseng coreano, (*Panax ginseng* C. A. Meyer, Araliaceae), é uma planta da medicina tradicional dos

povos orientais, sendo utilizado como antidiabético, antiinflamatório, afrodisíaco etc. (de-Paris *et al.*, 2000). O *Panax ginseng* tem sido reconhecido como um milagre da medicina na preservação da saúde e longevidade, o que justifica o aumento de sua demanda e preço no mercado mundial (Choi *et al.*, 1988); porém a confirmação das propriedades terapêuticas do *Panax ginseng* através de estudos científicos é um assunto controverso (Vogler *et al.*, 1999, Ong *et al.*, 2000).

No que se refere ao potencial antidiabético do ginseng, verificou-se que pacientes diabéticos não insulino-dependentes apresentaram menor glicemia de jejum após 8 semanas de tratamento com esta planta (Sotaniemi *et al.*, 1995). Além disso, o ginseng americano (*Panax quinquefolius* L) reduziu a elevação da glicemia pós-prandial em pacientes diabéticos e não diabéticos (Vuksan *et al.*, 2000 e 2000).

Por outro lado, embora as raízes da *Pfaffia sp.* do Estado do Paraná sejam usadas em medicina popular como antidiabético, com exceção de um trabalho de

nosso grupo, investigando o potencial antidiabético da *P. glomerata* (Alvim et al., 1999), não encontramos outros estudos empregando esta espécie. Assim, o presente trabalho tem por objetivo investigar o potencial antidiabético da *P. glomerata* obtida nas regiões de alagamento de Porto Rico (PR).

Material e métodos

Coleta e identificação do material botânico. As raízes da *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen foram coletadas na Ilha de Inundação, de Porto Rico, PR. A excisata (n° 1317) deste espécime encontra-se depositada no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Obtenção dos Extratos Brutos. As raízes da *P. glomerata* (2450 g) foram lavadas, fragmentadas, secas em estufa de ar circulante (45°C) e pulverizadas em moinho de martelos, obtendo-se 688,3 g de pó vegetal. Uma parte das raízes (341 g) foi extraída com metanol: água (4:1), utilizando-se um extrator de Soxhlet. O extrato obtido foi concentrado a pressão reduzida em evaporador rotativo para fornecer o extrato metanólico (EM), obtendo-se 75,08 g de material liofilizado, que foi armazenado em freezer.

Fracionamento do extrato metanólico bruto. O extrato metanólico bruto (EM) (20 g) foi diluído em 200mL de água e submetido a uma partição líquido-líquido inicialmente com *n*-butanol (3 vezes de 400 mL), resultando em extratos aquoso (EA) e *n*-butanólico (EB). O EB foi fracionado por partição com acetato de etila:*n*-butanol:água (1:3:1), resultando, após evaporação dos solventes a pressão reduzida e liofilizada em duas frações: fase inferior (FI = 1,0 g) e fase superior (FS = 0,87 g) (Figura 1).

Ensaio biológico: avaliação da atividade anti-hiperglicemiante. Utilizamos ratos Wistar pesando entre 200 e 250 g, provenientes do biotério central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais tiveram livre acesso a água e alimento (ração balanceada Nuvital®) até a véspera do experimento, quando foram submetidos a 24 horas de jejum. No dia seguinte, os animais receberam, via intragástrica: água (grupo controle, CTR), amido solúvel dissolvido em água (AM), acarbose dissolvida em água (AC, Glucobay® da arlo-Erba) ou os diferentes extratos de *P. glomerata* testados. Após 30 min da administração destas substâncias, os ratos foram decapitados e o sangue colhido para dosagem sérica de glicose pelo método da glicose oxidase

(Bergmeyer e Bernt, 1974), empregando-se kit da Labtest®.

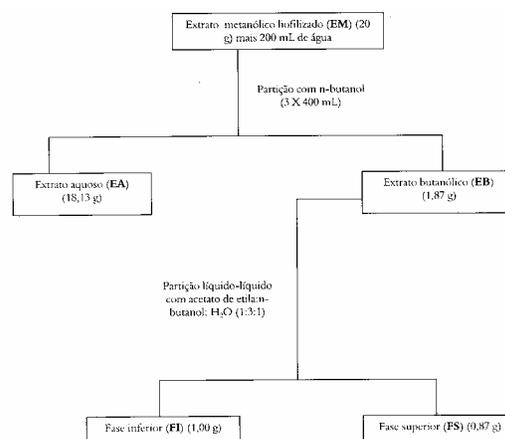


Figura 1. Fracionamento do extrato metanólico obtido das raízes da *P. glomerata*

Uma descrição detalhada de cada experimento pode ser encontrada nas legendas das tabelas nas quais apresentamos os resultados obtidos.

Os resultados foram analisados por meio de análise de variância, utilizando-se o programa Primer, versão 1.0. O nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi adotado. Todos os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM).

Determinação do perfil cromatográfico em CCD dos extratos EM, EA, EB e das frações FI e FS.

Sistema cromatográfico A

Cromatofolhas AL TLC Silicagel 60 F₂₅₄ (MERCK)- 10X10 cm- 0,2mm

Fase móvel: *n*-butanol:ácido acético:água (25:5:2)

Visualização: UV₂₅₄ e nebulização do reativo vanilina/ácido sulfúrico, seguida de aquecimento a 105° C.

Resultados e discussão

As unidades de glicose do amido são conectadas por ligações α -1-4 (amilose) e α -1-6 (amilopectina). As ligações α -1-4 são hidrolisadas pela α -amilase salivar e pancreática, enquanto a α -glicosidase intestinal hidrolisa as ligações α -1-6.

A Figura 2 apresenta um experimento demonstrativo no qual empregamos a acarbose como fármaco anti-hiperglicemiante. Trata-se de um oligotetrassacarídeo que, ao inibir

competitivamente a enzima α -glicosidase, torna mais lenta a absorção de polissacarídeos, promovendo desta forma uma elevação mais suave da glicemia após a ingestão de amido (Balfour e Mctavish, 1993). Assim, como nos mostra a Figura 2, a elevação ($p < 0,05$) da glicemia promovida pela administração intragástrica de amido solúvel (CTR x AM) não ocorre na presença de acarbose (AM + AC x AM). Outro aspecto a ser destacado foi a escolha do tempo 30 minutos após a administração intragástrica do amido solúvel, que ocorreu em função de ser este o momento em que se observa o “pico de glicemia”, após a administração do amido solúvel. Desta maneira, os experimentos apresentados nas Figuras 3, 4, 5 e 6, foram realizados em condições semelhantes aos deste experimento-modelo (Figura 2), com o objetivo de verificarmos o potencial anti-hiperglicemiante das frações da *P. glomerata*.

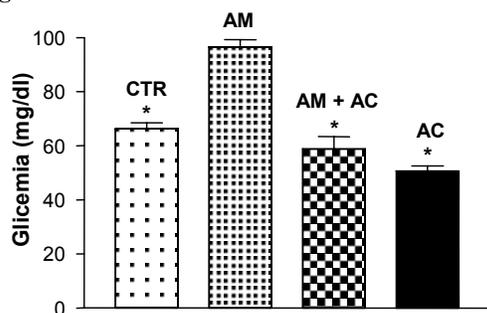


Figura 2. Efeito da administração, via intra-gástrica de água (grupo controle, CTR); 1g/kg de amido solúvel (AM); 12mg/kg de acarbose (AC) e AM + AC sobre a glicemia de ratos em jejum. A glicemia foi avaliada 30 min após a administração das substâncias. Os resultados representam a média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$, quando comparado ao grupo AM

Observada a sequência de fracionamento apresentada na Figura 1, o extrato metanólico (EM) da *P. glomerata* foi o primeiro a ser testado. Como nos mostra a Figura 3, o efeito antihiperglicemiante do EM foi muito discreto; porém forneceu-nos a possibilidade de encontrarmos uma resposta mais palpável ao realizarmos o fracionamento deste extrato.

Como nos mostra a Figura 1, a partir do EM dois novos extratos foram obtidos: extrato aquoso (EA) e extrato butanólico (EB).

A Figura 4 demonstra que o EA (AM + EA x AM) e o EB (AM + EB x AM) inibem ($p < 0,05$) a elevação da glicemia promovida pela administração de intragástrica de amido solúvel. Estes resultados estão de acordo com dados descritos na literatura (Vuksan *et al.*, 2000; Vuksan *et al.*, 2000) em relação ao ginseng americano (*Panax quinquefolius* L).

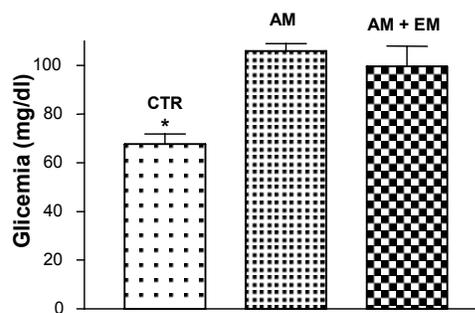


Figura 3. Efeito da administração, via intra-gástrica de água (grupo controle, CTR); 1g/kg de amido solúvel (AM); e AM + 1 g/kg de extrato metanólico de *Pfaffia glomerata* (EM) sobre a glicemia de ratos em jejum. A glicemia foi avaliada 30 min após a administração das substâncias. Os resultados representam a média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$, quando comparado ao grupo AM

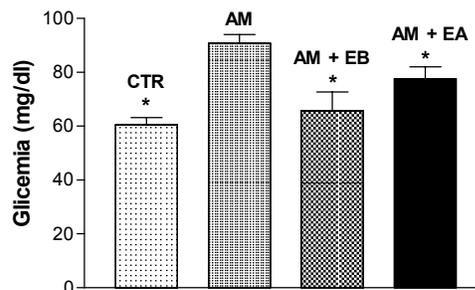


Figura 4. Efeito da administração, via intra-gástrica de água (grupo controle, CTR); 1g/kg de amido solúvel (AM); AM + 1g/kg de extrato butanólico de *Pfaffia glomerata* (EB) e AM + 1g/kg de extrato aquoso de *Pfaffia glomerata* (EA) sobre a glicemia de ratos em jejum. A glicemia foi avaliada 30 min após a administração das substâncias. Os resultados representam a média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$, quando comparado ao grupo AM

Ao compararmos o efeito anti-hiperglicemiante do EA e EB (Figura 4) na dose de 1g/kg, verificamos que este efeito também pode ser observado com doses até 20 vezes menores (50 mg/kg).

Como o extrato butanólico apresentou os melhores resultados (Figura 5), submetemos esta fração a uma partição líquido-líquido com acetato de etila: n-butanol: H₂O (1:3:1), obtendo (Figura 1) uma fase superior (FS) e uma fase inferior (FI).

A Figura 6 resume os resultados obtidos empregando a FS e FI na dose de 50 mg/kg, ou seja, ambas as frações não interferiram na capacidade da amido solúvel promover elevação da glicemia 30min após sua administração por via intragástrica. Desta forma, é provável que o fracionamento do EB leve à perda desta atividade biológica.

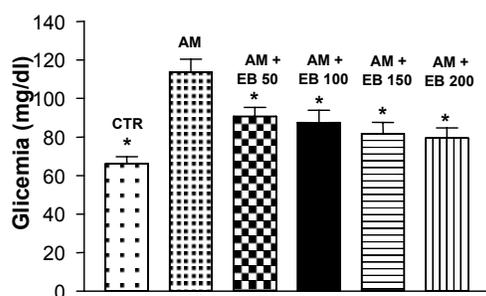


Figura 5. Efeito da administração, via intra-gástrica de água (grupo controle, CTR); 1g/kg de amido solúvel (AM); AM + extrato butanólico de *Pfaffia glomerata* nas concentrações de 50 (EB 50), 100 (EB 100), 150 (EB 150) e 200 (EB 200) mg/kg sobre a glicemia de ratos em jejum. A glicemia foi avaliada 30 min após a administração das substâncias. Os resultados representam a média \pm erro padrão da média. * $p < 0.05$, quando comparado ao grupo AM

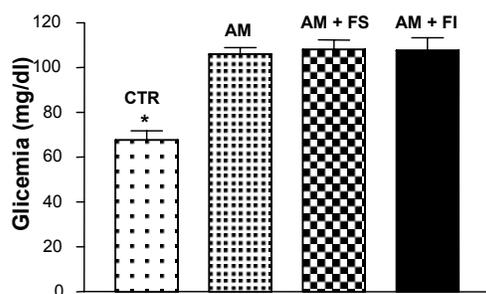


Figura 6. Efeito da administração, via intra-gástrica de água (grupo controle, CTR); 1g/kg de amido solúvel (AM); AM + fração superior (FS, 50 mg/kg); AM + fração inferior (FI, 50 mg/kg) de *Pfaffia glomerata* sobre a glicemia de ratos em jejum. A glicemia foi avaliada 30 min após a administração das substâncias. Os resultados representam a média \pm erro padrão da média. * $p < 0.05$, quando comparado ao grupo AM

Como o gênero *Pfaffia* é rico em ecdisteróides (Nishimoto *et al.*, 1987, 1988), decidimos investigar a presença de ecdisona nas diversas frações empregadas neste estudo (Figura 1). Na análise cromatográfica em CCD dos extratos brutos e frações obtidas das raízes da *P. glomerata* (Figura 7), foi detectada a presença de β -ecdisona no EM, EB e na fração FS. Além disso, o cromatograma apresentado na Figura 7 mostra-nos a presença de β -ecdisona em proporções progressivamente maiores no EM, EB e FS e ausência deste esteróide em EA e FI. Estes resultados sugerem que não há correlação entre a presença de β -ecdisona no extrato com maior efeito anti-hiperglicemiante, ou seja, EB (Figuras 4 e 5). Ou seja, este esteróide não é o responsável pelo efeito anti-hiperglicemiante.



Figura 7. Cromatograma: (1) 20 μ g do extrato bruto metanol: Água (90:10)(EM), (2) 20 μ g do extrato aquoso (EA), (3) 20 μ g do extrato n-butanol(EB), (4) 20 μ g da fração fase inferior (FI) e (5) 20 μ g da fração fase superior (FS), extraídos das raízes de *Pfaffia glomerata*, (6) 1 μ g de β -ecdisona (1 mg/mL) Sigma® (Sistema cromatográfico A)

Em resumo, nossos resultados demonstraram que o **EB** da *P. glomerata* apresenta efeito anti-hiperglicemiante. Todavia, o mecanismo pelo qual este efeito é desencadeado (inibição da degradação do amido solúvel e/ou absorção de glicose, estímulo da secreção de insulina etc.), merece uma investigação mais aprofundada.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pelo apoio financeiro.

Referências

- ALVIM, N. R. *et al.* Efeitos biológicos da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e da *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze (Amaranthaceae), *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 21, no. 2, p. 349-352, 1999.
- BALFOUR, J. A. *et al.* Acarbose: an update of its pharmacology and therapeutic use in diabetes mellitus. *Drugs*, Mairangi Bay Auckland, v. 46, p. 1025-1054, 1993.

- BERGMEYER, H. U. *et al.* Determination of glucose oxidase and peroxidase. In: BERGMEYER, H. U. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Verlag Chemie Academic Press, 1974. p. 1205-1215.
- CHOI, K. T. *et al.* *Panax ginseng*: micropropagation and the vitro production of saponins. In: BAJAJ, Y. P. S. *Biotechnology in Agriculture and forestry*. New York, Springer-Verlag, 1988. p. 485-500.
- DE-PARIS, F. *et al.* Psychopharmacological screening of *Pfaffia glomerata* Spreng. (Amaranthaceae) in rodents. *J. Ethnopharmacol.* New York, v. 73, no. 1-2, p. 261-269, 2000.
- NAKAI, S. *et al.* H. Pfaffosides, nortriterpenoid saponins, from *Pfaffia paniculata*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 23, no. 8, p. 1703-1705, 1984.
- NISHIMOTO, N. *et al.* Pfaffosides and nortriterpenoid saponins from *Pfaffia paniculata*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 23, no. 1, p. 139-142, 1984.
- NISHIMOTO, N. *et al.* Ecdysteroids from *Pfaffia iresinoides* and reassignment of some c-13 nmr chemical-shifts *Phytochemistry*, Oxford, v. 26, no. 9, p. 2505-2507, 1987.
- NISHIMOTO, N. *et al.* Three ecdysteroids glycosides from *Pfaffia iresinoides*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 27, no. 6, p. 1665-1668, 1988.
- OLIVEIRA, F. *et al.* Contribuição para o estudo para o estudo farmacognóstico do Ginseng brasileiro, *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. *An. Farm. Quim. S. Paulo*, São Paulo, v. 20, p. 261, 1980.
- ONG, Y. C. *et al.* *Panax* (ginseng)--panacea or placebo? Molecular and cellular basis of its pharmacological activity. *Ann. Acad. Med. Singapore*. Singapore, v. 29, no. 1, p. 42-46, 2000.
- SHIOBARA, Y. *et al.* Iresinoides, a yellow pigment from *Pfaffia iresinoides*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 32, no. 6, p. 1527-1530, 1992.
- SOTANIEMI, E. A. *et al.* A. Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Care*, Alexandria, v. 18, no. 10, p. 1373-1375, 1995.
- TANIGUCHI, S. F. *et al.* Effect of *Pfaffia iresinoides* on the experimental inflammatory process in rats. *Phytother. Res.*, W Sussex, v. 11, p. 568-571, 1997.
- VIDAL, M. R. R. *et al.* Flórlula de Viçosa. I. Chenopodiaceae e Amaranthaceae. *Rev. Ceres. Viçosa*, v. 14, p. 46-79, 1967.
- VOGLER, B. K. *et al.* The efficacy of ginseng. A systematic review of randomised clinical trials. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* New York, v. 55, no.8, p. 567-75, 1999.
- VUKSAN, V. *et al.* American ginseng (*Panax quinquefolius* L) reduces postprandial glycemia in nondiabetic subjects and subjects with type 2 diabetes mellitus. *Arch. Intern. Med.*, Chicago, v. 160, no. 7, p. 1009-1013, 2000a.
- VUKSAN, V. *et al.* Similar postprandial glycemic reductions with escalation of dose and administration time of American ginseng in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, Alexandria, v. 23, no. 9, p. 1221-1226, 2000b.

Received on December 05, 2000.

Accepted on March 06, 2001.