

## Efeitos biológicos da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e da *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze (Amaranthaceae)

Nádia Regina Alvim<sup>1</sup>, Kely Christiane Tavares da Cunha<sup>1</sup>, Lúcia Elaine Ranieri Cortez<sup>2</sup>, Roberto Barbosa Bazotte<sup>1</sup>, Luis Carlos Marques<sup>1</sup> e Diógenes Aparício Garcia Cortez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil. <sup>2</sup>Departamento de Farmácia, Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, s/n°, C.P. 224, 87502-210, Umuarama-Paraná, Brasil. \*Author for correspondence.

**RESUMO.** A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e a *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze (Amaranthaceae) são plantas nativas da região alagada das ilhas de Porto Rico, Paraná, Brasil. São utilizadas na medicina popular como tônico, afrodisíaco e antidiabético. O extrato bruto metanólico, obtido das raízes das duas espécies, foi utilizado para avaliar a atividade moluscicida de caramujos (*Biomphalaria glabrata*). Além disso, o potencial hipoglicemiante da *Pfaffia glomerata* foi investigado em ratos tratados com aloxana. As saponinas do extrato bruto metanólico da *P. glomerata* e da *P. paniculata* foram analisadas em cromatografia em camada delgada e foi determinado o índice hemolítico. O extrato bruto metanólico obtido da *Pfaffia glomerata* apresentou maior conteúdo de saponinas hemolíticas e maior atividade moluscicida em relação à *Pfaffia paniculata*. Todavia, o tratamento com extrato de *Pfaffia glomerata* não promoveu efeitos significativos sobre os níveis glicêmicos.

**Palavras-chave:** *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze, efeitos moluscicida, hemolítico e hipoglicemiante.

**ABSTRACT.** Biological effects of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen and *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze (Amaranthaceae). *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae) and *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze are native plants found in the flooded area of the islands of Porto Rico, state of Paraná, Brazil. They are used in folk medicine as tonics, aphrodisiacs, and to treat diabetes. The methanolic extract obtained from roots of both species was used to evaluate the molluscicidal activity against the periwinkle *Biomphalaria glabrata* and the hypoglycemic activity of *Pfaffia glomerata* was investigated in rats with diabetes induced by alloxan. The saponins from the methanolic extract of *P. glomerata* and *P. paniculata* were analyzed by thin-layer chromatography and scum and the hemolytic index was measured. The methanolic extract obtained from *Pfaffia glomerata* showed higher content of hemolytic saponin than *Pfaffia paniculata* and presented molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* from 200 ppm. However, the treatment with *P. glomerata* extract did not promote any significant effect on glycemic levels.

**Key words:** *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze, molluscicidal effects, hemolytic and hypoglycemic.

As raízes da *Pfaffia sp.*, conhecidas como Ginseng brasileiro, têm sido usadas na medicina popular como tônico, afrodisíaco e antidiabético (Oliveira *et al.*, 1980). Cerca de 90 espécies de *Pfaffia* são conhecidas na América Central e na América do Sul. No Brasil, são descritas 27 espécies encontradas nos estados da Amazônia, do Mato Grosso e de São Paulo (Vidal e Vidal, 1967). Na região do alagamento das ilhas de Porto Rico (PR), foram identificadas a *Pfaffia paniculata* e a *P. glomerata* cuja extração indiscriminada tem causado

problemas no ecossistema dessa área (Rosa, 1997). No Japão, a planta é utilizada como fonte de ecdisteróides (Nishimoto *et al.*, 1987; Nishimoto *et al.*, 1988). Neste trabalho, nós propomos avaliar a atividade hipoglicemiante do extrato bruto metanólico das raízes da *Pfaffia glomerata* e a atividade moluscicida da *Pfaffia glomerata* e da *Pfaffia paniculata* e a relação entre a atividade moluscicida e o conteúdo de saponinas presentes nessas espécies.

## Material e métodos

**Coleta e Identificação do Material Botânico.** As raízes da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen foram coletadas na Ilha de Inundação de Porto Rico-PR, em julho de 1997. A exsiccata (n° 1317) desse espécime encontra-se depositada no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro-RJ, Brasil. Uma amostra seca das raízes da *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze foi adquirida de uma empresa atacadista de ervas medicinais (Quimer - São Paulo-SP, Brasil).

**Obtenção dos extratos brutos metanólicos.** As raízes da *Pfaffia glomerata* (2450g) foram lavadas, fragmentadas, secas em estufa de ar circulante (45°C) e pulverizadas em moinho de martelos, obtendo-se 688,3g de pó vegetal. Uma parte das raízes (341g) sofreu extração à quente em metanol: água (80:20), utilizando-se um extrator de Soxhlet. O líquido obtido da extração foi concentrado à pressão reduzida em evaporador rotativo a 45°C e o extrato bruto metanólico foi liofilizado e armazenado em freezer (75,08 g). As raízes secas da *Pfaffia paniculata* (26g) foram trituradas e extraídas com o mesmo procedimento descrito anteriormente para a *Pfaffia glomerata*, obtendo-se 4,2 g do extrato bruto metanólico liofilizado. O controle de qualidade das raízes da *Pfaffia paniculata* foi realizado de acordo com Oliveira et al. (1980).

### Análise de Saponinas nos Extratos Brutos Metanólicos

**Determinação do índice hemolítico (WHO, 1992).**

**Obtenção da solução do extrato bruto metanólico da *Pfaffia glomerata* e da *Pfaffia paniculata*.** 2g do extrato bruto metanólico foram colocados em balão volumétrico de 100ml e dissolvidos com uma solução tampão fosfato, pH 7,0.

### Determinação do perfil cromatográfico do extrato bruto metanólico (Wagner et al.,1984)

**Sistema cromatográfico 1.** Cromatofolhas AL TLC Silicagel 60 F<sub>254</sub> (Merck)- 20X20cm- 0,2mm.

Fase móvel: n-butanol:acetona:ácido acético:água (35:35:10:20).

Visualização: UV<sub>254</sub>, após nebulização do reativo vanilina/ácido sulfúrico, seguida de aquecimento a 105° C por 10 minutos.

**Sistema cromatográfico 2.** Cromatofolhas AL TLC Silicagel 60 F<sub>254</sub> (Merck)- 20X20cm- 0,2mm.

Fase móvel: n-butanol:acetona:ácido acético:água (35:35:10:20).

Visualização: UV<sub>254</sub>, após nebulização com reagente de sangue (BL). A detecção foi observada pela zona de hemólise.

**Atividade Moluscicida (Hostettmann et al.,1984).** O ensaio moluscicida foi realizado com os extratos brutos metanólicos de *Pfaffia glomerata* e de *Pfaffia paniculata*, utilizando-se caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*. Foram utilizados caramujos criados em aquário de tamanho uniforme (diâmetro de 9mm) e ensaiados com os extratos brutos metanólicos numa concentração de 400ppm em duplicata, os quais ficaram em contato com essa solução por 24 horas, a temperatura ambiente. Após esse tempo, foram observados os batimentos cardíacos, através de uma lupa, verificando a mortalidade em 100%. Para avaliar a atividade do extrato bruto metanólico, foram realizadas diluições decrescentes em água destilada de 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,56 ppm em duplicatas, com a finalidade de determinar a quantidade mínima para causar 100% de morte. O grupo controle positivo recebeu o moluscicida sintético Bayluscid<sup>®</sup>, nas diluições acima referidas.

**6. Atividade hipoglicemiante.** Ratos Wistar machos, pesando 250-350g, foram usados nos experimentos. O diabetes mellitus (DM) foi induzido por injeção endovenosa de aloxana (40mg/Kg de peso corpóreo), dissolvido em solução fisiológica. No quinto dia após a administração de aloxana, foi determinada a glicemia. Após a confirmação do DM (glicemia > 250mg/dl), os animais foram divididos em dois grupos. O grupo experimental recebeu o extrato bruto metanólico da *Pfaffia glomerata* via intraperitoneal (ip), dissolvido em DMSO (50mg do extrato bruto metanólico/kg rato), durante cinco dias, duas vezes ao dia. O grupo controle recebeu somente DMSO, via i.p. Foi utilizado também, um grupo controle positivo, que recebeu insulina regular via i.p. (1U/kg). Após esse período, os animais foram sacrificados e determinada a glicemia (Bergmeyer e Bernt, 1974).

**Análise estatística** Para a atividade hipoglicemiante, empregou-se análise de variância, prefixando o nível de significância em 95% (p < 0,05).

## Resultados e discussão

As raízes *Pfaffia paniculata* adquiridas no comércio estão de acordo com os parâmetros de qualidade propostos por Oliveira et al. (1980).

O extrato bruto metanólico da *Pfaffia glomerata* causou mortalidade dos caramujos *Biomphalaria*

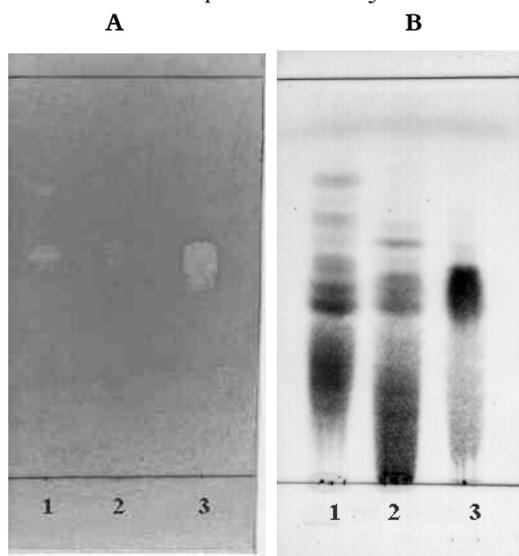
*glabrata* a partir de 200 ppm. A *Pfaffia paniculata*, no entanto, mostrou-se inativa (Tabela 1).

**Tabela 1.** Atividade moluscicida sobre a *Biomphalaria glabrata* dos extratos brutos metanólicos da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (A), *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze (B) e o moluscicida sintético Bayluscid® que foi utilizado como controle positivo (C)

Concentração em ppm	A tempo de exposição		B tempo de exposição		C tempo de exposição	
	6 h	24 h	6 h	24 h	6 h	24 h
400	+	+	-	-	+	+
200	+	+	-	-	+	+
100	-	-	-	-	+	+
50	-	-	-	-	+	+
25	-	-	-	-	+	+
12,5	-	-	-	-	+	+
6,25	-	-	-	-	+	+
3,12	-	-	-	-	+	+
1,56	-	-	-	-	+	+

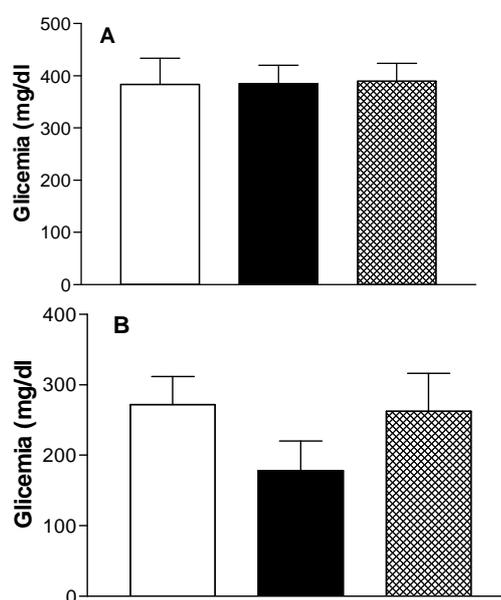
- : inativo + : 100% letal

Na análise por cromatografia em camada delgada (Figura 1, cromatograma A) dos extratos brutos metanólicos da *Pfaffia glomerata* e da *Pfaffia paniculata*, pôde-se observar uma diferenciação relativamente fácil entre as duas espécies. No cromatograma B (Figura 1), o extrato bruto metanólico da *Pfaffia glomerata* apresenta maior quantidade de saponinas hemolíticas do que a *Pfaffia paniculata*. Os índices de hemólise obtidos nos extratos brutos metanólicos da *Pfaffia glomerata* e da *Pfaffia paniculata* foram, respectivamente, de 1222 e de 305, estando de acordo com os resultados apresentados no cromatograma B (Figura 1). A atividade moluscicida pode ser relacionada com as saponinas hemolíticas, presentes em maior quantidade na *Pfaffia glomerata*.



**Figura 1.** Cromatogramas A (sistema cromatográfico 1) e B (sistema cromatográfico 2): (1) 200µg do extrato bruto metanólico das raízes de *Pfaffia glomerata*, (2) 200µg do extrato bruto metanólico das raízes de *Pfaffia paniculata* e (3) 50 µg de saponina Merck

O tratamento dos ratos diabéticos com extrato bruto metanólico das raízes da *Pfaffia glomerata* (50 mg/Kg) não promoveu redução significativa da glicemia (Figura 2). A redução de glicemia, observada depois do tratamento com *Pfaffia glomerata*, reflete uma melhora espontânea da DM, o que é comum no DM induzido por aloxana. Por outro lado, a confiabilidade do experimento foi confrontada pelo grupo que recebeu insulina 1U/Kg, i.p. (controle positivo), no qual se observou redução de ( $p < 0,05$ ) de glicemia. Portanto, esse resultado não está de acordo com o uso popular do chá das raízes da *Pfaffia glomerata* no tratamento do DM.



**Figura 2.** Efeito sobre a glicemia do tratamento com extrato bruto metanólico das raízes da *Pfaffia glomerata* (50 mg/kg/dia, i.p.); insulina regular (1U/kg) e DMSO controle. A. Valores de glicemia antes do tratamento. B. Valores de glicemia depois do tratamento (n=5-8). \*  $p < 0,05$  quando comparada aos demais grupos

## Referências bibliográficas

- Bergmeyer, H. U.; Bernt, E. Determination of glucose with glucose oxidase and peroxidase. In: *Methods of enzymatic analysis*, New York: Academic Press, 1974. v.2. p.1464-1472.
- Farmacopéia Brasileira. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1988.
- Hostettmann, K.; Kizu, T.; Tomimori, T. Molluscicidal properties of various saponins. *Planta Med.*, 44:34-35, 1982.
- Nishimoto, N.; Shiobara, Y.; Fujino, M.; Inque, S.S.; Takemoto, T.; Oliveira, F.; Akisue, G.; Akisue, M.K.; Hashimoto, G.; Tanaka, O.; Kasai, R.; Matsuura, H. Ecdsteroids from *Pfaffia iredesinoides* and reassignment of

- some  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts. *Phytochemistry*, 26(9):2505-2507, 1987.
- Nishimoto, N.; Shiobara, Y.; Inque, S.S.; Fujino, M.; Takemoto, T.; Yeoh, C.L.; Oliveira, F.; Akisue, G.; Akisue, M.K.; Hashimoto, G. Three ecdysteroid glycosides from *Pfaffia iresinoids*. *Phytochemistry*, 27(6):1665-1668, 1988.
- Oliveira, F.; Akisue, G.; Akisue, M.K. Contribuição para o estudo farmacognóstico do Ginseng brasileiro, *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. *An. Farm. Quím. S. Paulo*, 20:261-277, 1980.
- Rosa, M.C. Processo de ocupação e situação atual. In: Vazzoler, A.E.A.M.; Agostinho, A.A.; Hahn, N.S.; (Eds.) *A Planície de Inundação do Alto do Paraná*, Maringá, Eduem, 1997. p. 371-394.
- Vidal, M.R.R; Vidal, W.N. Flórmula de Viçosa. I. *Chenopodiaceae e Amaranthaceae. Rev. Ceres.*, 14:46-79, 1967.
- Wagner, H.; Bladt, S.; Zgainski, E .M. *Plant Drug Analysis*, New York: Springer-Verlag, 1984, 320 p.
- World Health Organization. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Genebra: WHO/PHARM/92.559, 1992. p. 33-35.

Received on December 08, 1998.

Accepted on April 23, 1999.