



Avaliação da Atividade Farmacológica de *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze

Tiago O. FONTANIVE¹, Cristine KOBAYASHI², Laura R. BONA¹, Talita MASSONI¹,
Marina WEIZENMANN³, Tiana TASCA³, Giovana D. GAMARO², Rage W. MALUF²,
Simone U. PICOLI², Patrícia ARDENGHI^{1,2} & Edna S. SUYENAGA^{1,2}*

¹ Curso de Biomedicina e

² Curso de Ciências Farmacêuticas, Centro Universitario Feevale, RS-239, 2755,

CEP 93352-000, Novo Hamburgo, RS, Brasil

³ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 2752

Bairro Santana - CEP 90610-000 - Porto Alegre/RS

RESUMO. O presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito anti-inflamatório, antimicrobiano, antiprotozoário e possível ação sobre o sistema nervoso central (SNC) em ratos tratados com extrato hidroalcoólico de *Pfaffia paniculata*. Verificou-se atividade anti-inflamatória tanto *in vivo*, na dose de 100 mg/kg, como *in vitro* nas concentrações de 50 e 100 µg/mL. Porém, verificou-se efeito pró-inflamatório na dose de 200 mg/kg, pelo ensaio de pleurisia e de 200 µg/mL, pela quimiotaxia *in vitro*. Sugere-se potencial ação antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, nas concentrações de 250 e 500 mg/mL, com formação de halo de inibição de 11 e 21 mm, respectivamente. Observou-se que o extrato de *P. paniculata* nas concentrações de 1, 10 e 50 µg/mL potencializou o crescimento de trofozoítos de *Trichomonas vaginalis*. Quanto aos ensaios sobre o SNC, verificou-se diminuição da ansiedade e aumento da atividade locomotora em animais tratados com doses de 125 e 250 mg/kg.

SUMMARY. "Evaluation of the Pharmacological Activity of *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze". The aim of the present study was to investigate the antiinflammatory, antimicrobial, and antiprotozoal effects and the possible action on the central nervous system of the hydroalcoholic extract of *Pfaffia paniculata* in rats. This study showed anti-inflammatory activity both *in vivo*, at 100 mg/kg, and *in vitro* at concentrations of 50 and 100 µg/mL. Pro-inflammatory effect was verified at dose of 200 mg/kg, by pleurisy assay, and 200 µg/mL by the *in vitro* chemotaxis test. A potential antimicrobial action against *Staphylococcus aureus* was observed at concentrations of 250 and 500 mg/mL, with inhibition halo formation of 11 and 21 mm, respectively. *P. paniculata* extract at concentrations of 1, 10 and 50 µg/mL was capable of increasing the growth potential of *Trichomonas vaginalis* trophozoites. In tests concerning the CNS reduction in anxiety and an increase in locomotion activity were verified in animals treated with doses at 125 and 250 mg/kg.

INTRODUÇÃO

Uma das espécies vegetais muito utilizadas mundialmente é a *Panax ginseng* C.A. Mey. (Araliaceae), conhecida vulgarmente como ginseng ou ginseng-coreano. Sua utilização como planta medicinal tem origem desde épocas remotas pelos povos orientais devido às inúmeras atividades biológicas¹⁻⁴.

No Brasil, espécies do gênero *Pfaffia* (Amaranthaceae), embora não possuam correlações botânicas e fitoquímicas com *Panax ginseng*, são empregadas como suas substitutas⁵. Destacam-se a *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen,

P. iresinoides Sprengel e *P. paniculata* (Martius) Kuntze, conhecidas popularmente como fáfia ou ginseng-brasileiro⁵⁻⁷, sendo que *P. paniculata* está entre os maiores volumes de venda da indústria nacional de fitoterápicos⁸.

Desta forma, o presente trabalho visa contribuir na investigação farmacológica de *P. paniculata*, através de ensaios pré-clínicos visando contribuir na validação da potencial atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antiprotozoária e possíveis efeitos sobre o sistema nervoso central.

PALAVRAS-CHAVE: Anti-inflamatório, Antimicrobiano, Antiprotozoário, *Pfaffia paniculata*, Sistema nervoso central.

KEY WORDS: Anti-inflammatory, Antimicrobial, Antiprotozoal, Central nervous system, *Pfaffia paniculata*.

* Autor a quem correspondência deve ser enviada. E-mail: ednafarm@yahoo.com.br

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

Partes aéreas de *P. paniculata* foram coletadas na região Vale dos Sinos-RS (março/ 2007), cuja exsiccata está registrada no Herbário da FEEVALE, sob o número 39. As folhas foram secas em temperatura ambiente e sob proteção da luz. Após estabilização, foram moídas e adequadamente acondicionadas, para posterior obtenção do extrato bruto hidroalcoólico.

Obtenção do extrato bruto

O material vegetal foi previamente pesado e submetido à maceração em solução constituída por etanol : água (90:10, V/V), com ocasional agitação, em temperatura ambiente. Após 24 h, o extrato hidroalcoólico foi concentrado a resíduo, em evaporador rotatório (40 °C). Este procedimento foi repetido até o esgotamento da planta, sendo o extrato bruto acondicionado sob refrigeração e ao abrigo da luz, até sua utilização. O rendimento foi cerca de 25%.

Animais

Foram utilizados ratos *Wistar*, machos, adultos (180 a 220 g). Os animais foram mantidos em condições normais de biotério, com livre acesso à água e ração, umidade monitorada, temperatura a 25 ± 2 °C e ciclo de luz e escuro (12/12 h). A eutanásia dos animais obedeceu a Resolução Nº 714/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

Avaliação da atividade anti-inflamatória

Pleurisia induzida pela carragenina

Os animais foram tratados (via oral) com o extrato da planta (100 e 200 mg/kg), os controles-positivo receberam indometacina (10 mg/kg) e controles-negativo, água.

Para contagem global e diferencial de leucócitos, o sangue venoso foi coletado da cauda, com animais sob anestesia. Foi injetado 0,1 mL de suspensão de carragenina (1%) na cavidade pleural. Quatro horas após, estes foram sacrificados através da secção da veia jugular interna e artéria carótida. Realizou-se a toracotomia paraesternal bilateral, procedendo-se a lavagem do espaço pleural com 2 mL de tampão fosfato salina (PBS) heparinizado. Os esfregaços foram corados (May-Grünenwald e Giemsa) e determinouse o percentual de células mononucleares (MN) e polimorfonucleares (PMN) ⁹.

Quimiotaxia

Para esta avaliação foi empregada a técnica de Boyden ¹⁰ modificada por Zigmond & Hirsch ¹¹.

Obtenção do fator quimiotático

O material quimiotático foi obtido incubando-se plasma homólogo (30 min, 35 ± 2 °C) com solução de lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (LPS), na concentração de 65 µg/mL. O plasma foi então diluído com solução de Hanks, para a concentração de 20 % (V: V).

Coleta e preparo da suspensão de leucócitos

Neutrófilos foram obtidos da cavidade peritoneal de ratos 4 h após a injeção de 20 mL de uma solução de glicogênio (1,0%). No compartimento superior da câmara foram adicionadas $1,5 \times 10^6$ células suspensas em 0,4 mL de solução de Hanks, tratadas com o extrato (50, 100 e 200 µg/mL), sob agitação em banho-maria (37 °C) durante 30 min.

Determinação da atividade migratória de leucócitos

As câmaras foram preparadas em duplicata e incubadas a 35 ± 2 °C durante 1 h em atmosfera úmida. Os filtros foram fixados, corados, diafanizados e lidos sob microscopia óptica (ampliação de 400 vezes). A distância foi medida em micrômetros, entre o plano superior do filtro e o das duas últimas células em foco ¹¹. A leitura foi realizada em cinco campos/ filtro e o resultado expresso como média.

Determinação da atividade antimicrobiana

A análise antimicrobiana foi avaliada pelo método de disco-difusão ¹², usando-se cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC), incluindo *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Método disco-difusão em ágar

O extrato foi impregnado em discos de papel filtro estéreis (6 mm) nas concentrações de 10; 20; 62,50; 125; 250 e 500 mg/mL. A atividade antibacteriana foi determinada utilizando-se ágar Müller Hinton, cuja suspensão bacteriana em salina foi ajustada na escala 0,5 de McFarland. Os discos foram aplicados sobre o ágar e as placas foram incubadas a 37 °C/ 24 h. O ensaio foi realizado em triplicata. Foram utilizados três controles (cloranfenicol 20 mg/mL, amicacina 20 mg/mL e etanol 90%). Após o período de incubação, o halo de inibição foi medido e interpretado qualitativamente como sensível ou resistente.

Avaliação da atividade antiprotozoária

Foi utilizado um isolado clínico fresco (TV-

VP60) de *Trichomonas vaginalis*. O isolado foi cultivado em condições axênicas em meio trypticase-extrato de levedo-maltose (TYM) sem ágar, suplementado com 10% de soro bovino inativado pelo calor, penicilina (1.000 UI/mL), sulfato de estreptomicina (1 mg/mL), em aerobiose a 37 °C (\pm 0,5 °C) ¹³.

Teste de suscetibilidade antiprotozoária in vitro qualitativo

Trofozoítos de *T. vaginalis* foram coletados na fase logarítmica de crescimento e lavados três vezes com tampão PBS estéril. A suspensão de parasitos foi ajustada para concentração de $7,0 \times 10^4$ trofozoítos/mL. Foram utilizadas microplacas de 96 poços e adicionados 50 μ L de meio TYM, seguidos de 50 μ L do extrato (200 μ g/mL), obtendo-se diluições seriadas do extrato (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78 μ g/mL). Os controles utilizados foram: metronidazol (50 μ M), DMSO a 1,0 % e controle da viabilidade dos trofozoítos. Finalmente, 150 μ L da suspensão de trofozoítos foram adicionados a cada poço, obtendo-se uma concentração final de $5,0 \times 10^4$ trofozoítos/mL. Após incubação a 37 °C/ 24 h as microplacas foram observadas em microscópio invertido com relação à viabilidade dos trofozoítos. O teste foi realizado em triplicata.

Teste de suscetibilidade antiprotozoária in vitro quantitativo

Os trofozoítos do isolado TV-VP60 foram lavados três vezes com tampão PBS estéril. A partir do *pellet* obteve-se suspensão de $5,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL, onde foi adicionado o extrato (1, 10 e 50 μ g/mL). Os controles utilizados, bem como o procedimento de incubação e contagens dos trofozoítos vivos, foram submetidos nas mesmas condições descritas anteriormente.

Avaliação da atividade comportamental

Os animais foram tratados com o extrato da planta (via oral, 125 e 250 mg/kg) e os controles receberam água, 1 h antes dos ensaios.

Habituação ao Campo Aberto (Open Field)

Empregou-se caixa de madeira envernizada (50 x 60 x 40 cm) com a face anterior de vidro. O assoalho é recoberto com linóleo e dividido em 12 retângulos (15,0 x 13,3 cm) com linhas escuras. As sessões de teste tiveram duração de 5 min. Os animais foram colocados no canto posterior esquerdo da caixa e deixados livres para explorar o ambiente. Foram avaliados o tempo de latência no primeiro retângulo, as res-

postas de orientação (*rearings*) e o número de cruzamentos (*crossings*) de um retângulo para o outro ^{14,15,16}.

Labirinto em Cruz Elevado (Plus Maze)

O aparato consistiu de uma caixa elevada, aproximadamente 50 cm do solo, em forma de cruz, com dois braços abertos (50 x 10 cm) dispostos perpendicularmente a dois braços fechados (50 x 10 x 40 cm) por paredes laterais desprovidos de teto, formando um ângulo de 90°. O animal foi colocado no centro da caixa e foram medidas as entradas do animal nos braços abertos e nos fechados, bem como o tempo de permanência nestes ¹⁷.

Análise fitoquímica

Foram realizadas análises fitoquímicas preliminares do extrato de *P. paniculata*, segundo técnicas preconizadas ¹⁸.

Análise estatística

A análise da atividade anti-inflamatória foi realizada através dos testes t de Student e/ou Anova/Tukey. Quanto a avaliação da atividade comportamental foi utilizado o teste de ANOVA seguido pelo Duncan e para a suscetibilidade antiprotozoária foi utilizado ANOVA de uma via.

RESULTADOS

Pleurisia

Foi observado em todos os grupos tratados aumento significativo de leucócitos totais no sangue periférico após a administração do agente flogístico, com exceção no grupo tratado com a dose de 100 mg/kg que não demonstrou aumento significativo (Tabela 1).

Em relação à contagem diferencial, foi verificada redução significativa no número de linfócitos, antes e após a indução do processo inflamatório na dose de 100 mg/kg em relação ao grupo controle. Quanto ao número de neutrófilos, foi observado um aumento após a administração de carragenina em todos os grupos, não sendo verificado diferença significativa entre os grupos antes e após a inflamação, bem como em relação ao controle.

Ao analisar o número de monócitos, verificamos diferença significativa no grupo indometacina em relação ao controle antes e após o processo inflamatório. No grupo 100 mg/kg foi evidenciado uma diminuição significativa antes da inflamação em relação ao grupo controle, sendo observado o mesmo efeito nos animais tratados com a dose de 200 mg/kg, onde foi observado

Tratamento	Leucócitos totais (antes)	Leucócitos totais (depois)	Linfócitos (antes)	Linfócitos (depois)	Neutrófilos (antes)	Neutrófilos (depois)	Monócitos (antes)	Monócitos (depois)
Controle; n=7	9991,67 ± 1793,16	14441,67 ± 6155,52 *	7615 ± 1382,23	7653,67 ± 2957,24	1979,00 ± 630,41	6456,25 ± 3125,49 **	382,83 ± 165,984	331,75 ± 129,99
Indometacina; n=8	8962,5 ± 1985,07	12300 ± 5288,39 *	6116,88 ± 1272,35	5911,43 ± 1976,05	2650,25 ± 1129,19	6205,25 ± 3846,59 **	172,31 ± 99,03 ²	173,56 ± 245,15 ²
<i>P. paniculata</i> 100 mg/kg; n=7	7614,29 ± 1718,21 ¹	8300 ± 1372,34 ²	4895,86 ± 884,76 ²	3017,93 ± 874,35 **2a	2463,5 ± 1212,15	5006,07 ± 829,72 **	176,29 ± 203,11 ²	264,57 ± 184
<i>P. paniculata</i> 200 mg/kg; n=7	8068,75 ± 2542,35	11175 ± 3029,97*	6269,75 ± 2106,42	5604,06 ± 1823,81	1640,69 ± 423,92	4864 ± 1783,65 **	125,31 ± 76,84 ²	363,25 ± 157,32 **

Tabela 1. Efeito do extrato bruto hidroalcoólico de *Pfaffia paniculata* sobre o número de leucócitos no sangue periférico durante a indução do processo inflamatório induzida pela carragenina. Teste *t* de Student (em relação ao grupo controle). ¹ p < 0,05; ² p < 0,01; Teste *t* de Student (antes e depois da indução do processo inflamatório); * p < 0,05; ** p < 0,01; ANOVA/ Tukey; a p < 0,05.

Tratamento	Exsudato x 10 ⁶ céls/mL	PMN x 10 ⁶ céls/mL	MN x 10 ⁶ céls/mL
Controle n=7	6,04 ± 4,26	4,49 ± 3,89	1,55 ± 0,90
Indometacina n=8	1,81 ± 0,991	0,81 ± 0,791	1,00 ± 0,52
<i>P. paniculata</i> 100 mg/kg n=7	3,25 ± 1,201	1,30 ± 1,341	1,95 ± 0,68
<i>P. paniculata</i> 200 mg/kg n=7	11,00 ± 8,921	7,28 ± 7,921	3,72 ± 2,541a

Tabela 2. Migração de leucócitos ao exsudato pleural em ratos após a administração de carragenina. Teste *t* de Student (em relação ao grupo controle). ¹ p < 0,01; ANOVA/ Tukey; a p < 0,01.

também um aumento significativo em seu número nesta dose após a administração da carragenina.

No exsudato pleural, foi evidenciada uma diminuição significativa na migração de leucócitos à cavidade pleural, em animais tratados com indometacina e na dose de 100 mg/kg, havendo predominância de MN, apresentando uma redução significativa no número de PMN em relação ao grupo controle. Nos animais tratados com a dose de 200 mg/kg foi verificado um aumento significativo da migração de leucócitos ao exsudato pleural, havendo um aumento significativo de PMN e diminuição de MN, quando comparados ao grupo controle (Tabela 2).

Quimiotaxia

Foi verificada uma redução significativa da taxa de migração leucocitária nas células tratadas com indometacina em relação ao grupo controle. As células tratadas com o extrato (50 e 100 µg/mL) apresentaram uma redução significativa na migração leucocitária quando comparadas ao controle; na dose de 200 µg/mL houve um aumento significativo na taxa de migração em relação ao controle (Tabela 3).

Concentração (µg/mL)	Distância migrada (µm)
Controle	108,0 ± 10,6
Indometacina (100)	11,4 ± 3,4* a
50	44,1 ± 11,23* a
100	57,6 ± 7,30* a
200	112,20 ± 6,56 a

Tabela 3. Efeito do extrato de *P. paniculata* sobre a mobilização leucocitária *in vitro*. n= média/10 campos. Teste *t* de student (em relação ao grupo controle); * p < 0,01; ANOVA/ Tukey; a p < 0,01.

Disco-difusão em ágar

Foi observado um halo de inibição de 30 mm e 28 mm, promovido pelos controles cloranfenicol e amicacina, respectivamente, frente aos bacilos Gram-negativos e estafilococos, demonstrando bom desempenho antimicrobiano. Nos controles com etanol 90% foi observado um halo de inibição de 10 mm frente à cepa de *E. coli* e 9 mm, frente *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Nos discos impregnados com o extrato foi evidenciado um halo de inibição de 11 mm (250 mg/mL) e 21 mm (500 mg/mL) frente *S. aureus*. Nas demais concentrações testadas, não foi observada atividade antimicrobiana (Tabela 4).

Tratamento	Zona de inibição (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
10 mg/mL	-	-	-
20 mg/mL	-	-	-
62,50 mg/mL	-	-	-
125 mg/mL	-	-	-
250 mg/mL	11 mm	-	-
500 mg/mL	21 mm	-	-
Cloranfenicol	30 mm	30 mm	-
Amicacina	-	-	28 mm
Etanol 90%	9 mm	10 mm	9 mm

Tabela 4. Efeito do extrato de *P. paniculata* no ensaio disco-difusão em ágar.

Tratamento	Número de trofozoítos viáveis (trofozoítos/mL) ^a	Viabilidade dos trofozoítos (%)
Controle	$1,3 \times 10^5 \pm 0,48 \times 10^5$	100
1 µg/mL	$2,7 \times 10^5 \pm 0,96 \times 10^5$	202
10 µg/mL	$3,7 \times 10^5 \pm 1,40 \times 10^5$	261
50 µg/mL	$4,7 \times 10^5 \pm 2,40 \times 10^5$	349
Metronidazol	Zero	Zero

Tabela 5. Efeito do extrato de *Pfaffia paniculata* com trofozoítos de *Trichomonas vaginalis*. ^a Valores são média ± desvio-padrão.

Teste de suscetibilidade antiprotozoária in vitro quantitativo

Trofozoítos tratados com metronidazol não foram viáveis, quanto os tratados com o extrato (1, 10 e 50 µg/mL) foi verificado aumento, embora não significativo, na viabilidade dos mesmos (202, 261 e 349%, respectivamente) quando comparados ao controle (Tabela 5).

Teste de suscetibilidade antiprotozoária in vitro qualitativo

Não foi verificado crescimento de trofozoítos nos poços contendo metronidazol, sendo observado trofozoítos viáveis apenas nos poços da microplaca contendo o extrato e DMSO a 1,0%.

Habituação ao Campo Aberto

Não foi observada diferença significativa entre os grupos no tempo de latência no primeiro retângulo e na capacidade exploratória, bem como em relação ao grupo controle, porém nos animais tratados com a dose de 250 mg/mL foi observado um aumento significativo no número de cruzamentos em relação ao controle (Fig. 1).

Labirinto em Cruz Elevado

Foi verificado nos animais tratados com o

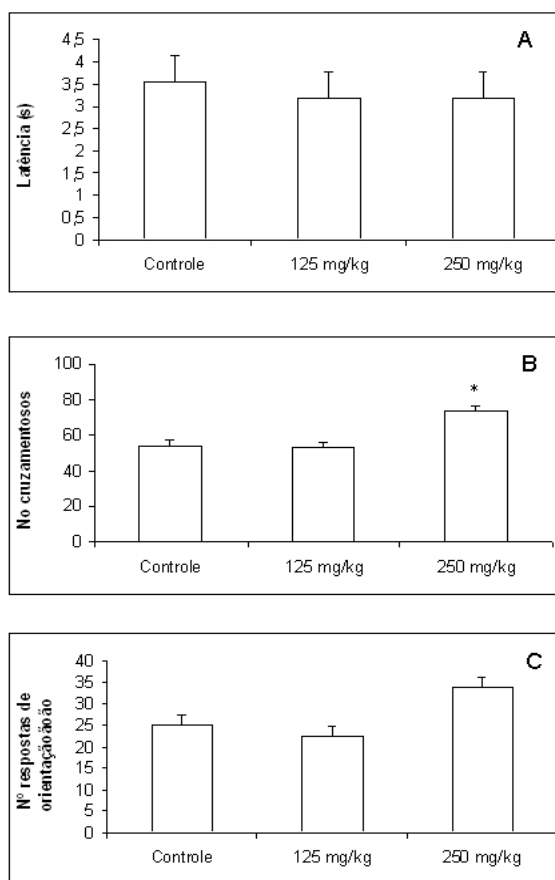


Figura 1. Efeito da administração de *P. paniculata* nas doses de 125 e 200 mg/kg no ensaio Habituação ao campo aberto em (A) latência no primeiro retângulo, (B) número de cruzamentos e (C) número de respostas de orientação. Os resultados são expressos em média ± desvio padrão. *n* = 11 animais por grupo. * *p* < 0,05 comparado com o controle; testes ANOVA/Duncan.

extrato (125 e 250 mg/kg) aumento significativo no tempo de permanência nos braços abertos e diminuição na permanência nos braços fechados, em relação ao grupo controle. Nos demais

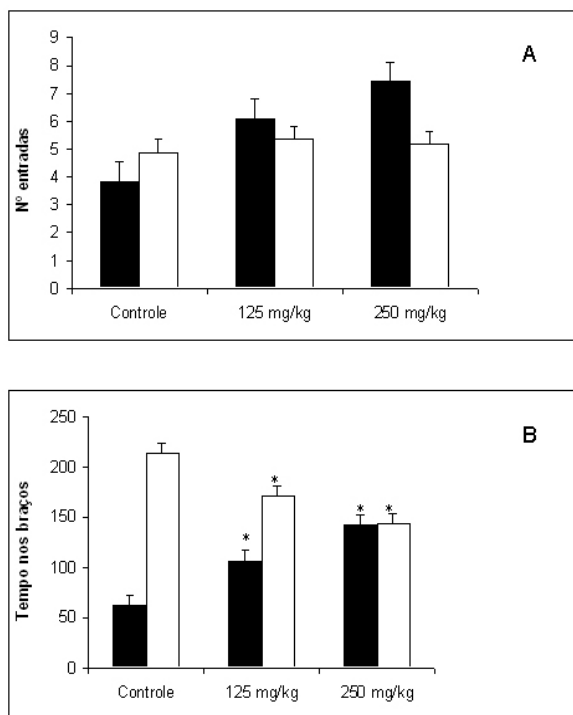


Figura 2. Efeito da administração de *P. paniculata* no ensaio do labirinto em cruz elevado em: (A) número de entradas e (B) tempo gasto nos braços abertos e fechados. Barras claras correspondem aos braços fechados e as escuras, aos abertos. Os resultados são expressos em média \pm desvio padrão. $n = 11$ animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado com o controle; testes de ANOVA/Duncan.

parâmetros não foi verificada diferença significativa, bem como entre os grupos (Fig. 2).

DISCUSSÃO

Dentre as classes de metabólitos secundários de *P. paniculata*, destacam-se as saponinas, as quais são conhecidas por apresentarem diversas propriedades biológicas, devido à complexidade em sua estrutura química¹⁹. Os principais componentes isolados da *P. paniculata* são o ácido pfláico²⁰, pflafiosídeos A, B, C, D, E e F, sitosterol e estigmasterol, estigmasterol- β -D-glicosídeo, sitosterol- β -glicosídeo e alantoína^{21,22}. O ácido pfláico e os pflafiosídeos A, C, D, E e F demonstraram efeito inibitório *in vitro* sobre o crescimento de células do melanoma murino B-16 em cultura²⁰⁻²². Corroborando com estas observações, no presente estudo foi caracterizada a presença de saponinas, nas partes aéreas desta planta.

Estudos realizados utilizando as raízes de *P. paniculata* relataram a atividade anti-inflamatória e analgésica em modelo animal²³⁻²⁵, antitumoral *in vivo*^{26, 27} e *in vitro*²⁰⁻²², efeito quimio-

preventivo em lesões hepáticas pré-neoplásicas em ratos idosos²⁸, ação imunoestimulante²⁹ e diminuição da angiogênese³⁰. Em estudos realizados por Mazzanti^{23,24} foi sugerida pronunciada atividade anti-inflamatória de *P. paniculata* no modelo do edema de pata.

Através dos resultados obtidos no ensaio da quimiotaxia *in vitro*, sugerimos que o extrato possui atividade anti-inflamatória nas concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$ e pró-inflamatória na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$, devido à redução e aumento da mobilização leucocitária ao agente quimiotático LPS, respectivamente. Para confirmar os resultados observados neste ensaio, a atividade anti-inflamatória foi analisada *in vivo* frente ao modelo da pleurisia induzida pela caragenina em ratos, onde se observou aumento da migração leucocitária, principalmente de PMN. O tratamento prévio com o extrato de *P. paniculata* foi capaz de reduzir a mobilização leucocitária à cavidade pleural na dose de 100 mg/kg e aumentar a mobilização na dose de 200 mg/kg, sugerindo efeito pró-inflamatório nesta última dose, e atividade anti-inflamatória na dose de 100 mg/kg. Sugere-se que os compostos responsáveis por tal ação em maiores doses, ultrapassem a dose terapêutica, apresentando efeitos pró-inflamatórios. Também podemos sugerir que os compostos responsáveis por este efeito farmacológico independem dos processos farmacocinéticos, pois tanto ensaios *in vivo*, como *in vitro*, demonstraram resultados similares.

A resistência bacteriana aos antibióticos tem se tornado uma preocupação global, onde a eficácia clínica dos muitos existentes está sendo ameaçada pelo crescente aumento de patógenos multirresistentes³¹. Desta forma, existe uma grande necessidade de se descobrir novos compostos bioativos com ação antimicrobiana, os quais apresentem diferentes estruturas químicas e mecanismos de ação para combater as infecções bacterianas.

Verificou-se ação antimicrobiana do extrato de *P. paniculata*, através do ensaio de disco-difusão, com formação do halo de inibição de 11 e 21 mm, nas concentrações de 250 e 500 mg/mL, respectivamente.

Diferentemente do que ocorre com os agentes antibióticos e quimioterápicos, há poucos registros na literatura quanto ao possível mecanismo de ação de produtos oriundos de plantas. Tais compostos podem atuar no metabolismo intermediário ativando enzimas, alterando a ação de inibidores que influenciam os nutrientes

do meio, inferindo nos processos enzimáticos em nível nuclear ou ribossomal, provocando alterações nas membranas ou ainda interferindo no metabolismo secundário ³².

O teor de saponinas brutas encontrado na *P. paniculata* está em torno de 11% ⁶. São conhecidas diversas saponinas com ação antimicrobiana, antifúngica e pela proteção contra ataques de insetos. A grande complexidade da estrutura das saponinas é decorrente da variabilidade da estrutura da aglicona, a natureza das cadeias laterais e a posição em que elas estão ligadas à estrutura aglicona. Muitos efeitos biológicos das saponinas, como a permeabilização de membranas, propriedades imunoestimulantes, hipocolesterêmicas e antineoplásicas estão sendo estudadas ³³. Desta forma, o efeito observado se deve possivelmente à presença das saponinas.

A partir dos resultados obtidos no teste de suscetibilidade antiprotozoária *in vitro* quantitativo, podemos verificar que o extrato de *P. paniculata* potencializou, embora não estatisticamente significativo, o crescimento dos trofozoítos de *T. vaginalis*. Em relação ao metabolismo energético dos tricomonas, os carboidratos correspondem à principal fonte de nutrientes para este parasito, no entanto, em condições em que tais compostos são limitados, aminoácidos podem ser utilizados para prolongar a sua sobrevivência e o crescimento. O *T. vaginalis* também é incapaz de sintetizar várias macromoléculas, particularmente purinas, pirimidinas e muitos lipídios ³⁴. Através da triagem fitoquímica do extrato hidroalcoólico de *P. paniculata*, foi evidenciada a presença de desóxi-açúcares, os quais podem ter sido utilizados como fonte de energia pelo *T. vaginalis*, podendo desta forma, ter colaborado com os resultados obtidos neste teste. Além disso, outros compostos podem estar presentes no extrato, os quais podem estar sendo metabolizados pelos protozoários para obtenção de energia.

O presente estudo verificou uma diminuição da ansiedade dos animais frente ao labirinto em cruz elevado, devido ao aumento do tempo de permanência nos braços abertos e diminuição do tempo de permanência nos braços fechados, quando comparados com o grupo controle, com efeito dose dependente. Além disso, observou-se o aumento da atividade locomotora no ensaio de habituação ao campo aberto. Sugere-se, desta forma, efeito ansiolítico do extrato de *P. paniculata*, sem contudo comprometer a locomoção dos animais tratados.

CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos, sugere-se que o extrato bruto hidroalcoólico das partes aéreas de *P. paniculata* possui atividade anti-inflamatória e pró-inflamatória, tanto em ensaios *in vitro* e *in vivo*, sendo dose-dependentes. Sugere-se também uma potencial ação antimicrobiana, porém não foi verificado efeito antiprotozoário nas concentrações testadas. Existe uma possível ação sobre o sistema nervoso central, cujos resultados demonstram efeitos ansiolíticos e aumento da atividade locomotora, sendo necessária a realização de estudos neuroquímicos para esclarecer os mecanismos de ação associados aos efeitos comportamentais observados. Cabe salientar, que os resultados obtidos são inéditos para a espécie analisada, que visam contribuir para a sua validação farmacológica.

Agradecimentos. À Pró – Reitoria de Pesquisa, Tecnologia e Inovação (PROPTEC) do Centro Universitário Feevale pelo suporte financeiro e infra-estrutura disponibilizada.

REFERÊNCIAS

1. Veiga Junior, V.F., A.C. Pinto & M.A.M. Maciel (2005) *Quim. Nova* **28**: 519-28.
2. Schulz, V., R. Hänsel & V.E. Tyler (2002) “*Fitoterapia Racional*” in “Um guia de fitoterapia para ciências da saúde”. (São Paulo, ed.) Manole, São Paulo, pp. 386-9.
3. Furlan, M.R. (1998) “*Cultivo de plantas medicinais*” in “Coleção Agroindústria SEBRAE 13” Cuiabá, São Paulo, pp. 137-40.
4. Nascimento, G.G.F., J. Locatelli, P.C. Freitas & G.L. Silva (2000) *Braz. J. Microbiol.* **31**: 247-56.
5. Oliveira, F. (1986) *Rev. Bras. Farmacog.* **1**: 86-92
6. Castro, D.M. (2000) “*Plantas medicinais*” (UFV 1 eds) Viçosa.
7. Oliveira, F., G. Akisue & M.K. Akisue (1980) *An. Farm. Quim. São Paulo* **20**: 261-77.
8. Rates, S.M.K. & G. Gosmann (2002) *Rev. Bras. Farmacog.* **12**: 85-93.
9. Spector, W.G. (1956) *J. Pathol. Bacteriol.* **72**: 367-80.
10. Boyden, S. (1962) *J. Exp. Med.* **15**: 433-66.
11. Zigmond, S.H. & J.G. Hirsch (1973) *J. Exp. Med.* **137**: 387-410.
12. Michel, R.V., F.P. Borges, R.C.M, Wiltusching, F.G. Neves, J. Ribeiro, R.C. Vieiro, P.B. Vieira, G.R. Bohns, T. Tasca & G. De Carli (2006) *Rev. Bras. An. Clin.* **38**: 127-30.
13. Diamond, L.S. (1957) *J. Parasitol.* **43**: 488-90.
14. Izquierdo, I. (1979) *Psychopharmacol.* **66**: 199-203.

15. Izquierdo, I., D.O. Souza, R.D. Dias, M.L.S. Perry, M.A. Carrasco, N. Volkmer & C.A. Netto (1984) *Psychoneuroendocrinol.* **9**: 381-9.
16. Netto, C.A., R.D. Dias & I. Izquierdo (1986) *Psychoneuroendocrinol.* **11**: 432-46.
17. Pellow, S. (1985) *J. Neurosc. Methods.* **14**: 149-67.
18. Costa, A.F. (1994) *Farmacognosia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
19. Ballas, S.K. (2000) *Brit. J. Haematol.* **111**: 359-62.
20. Takemoto, T., S. Nishimoto, N. Nakai, S. Takagi, S. Hayashi, S. Odashima, Y. Wada (1983) *Tetrahedron Lett.* **24**: 1057-60.
21. Nakai, S. Takagi, N. Takagi, H. Miichi, S. Hayashi, N. Nishimoto, T. Takemoto & H. Kizu (1984) *Phytochemistry* **23**: 1703-5.
22. Nishimoto, N., S. Nakai, N. Takagi, S. Hayashi, T. Takemoto, S. Odashima, H. Kizu & Y. Wada (1984) *Phytochemistry* **23**: 139-42.
23. Mazzanti, G., L. Braghiroli, B. Titã, P. Bole & D. Piccinelli (1993) *Pharmacol. Res.* **27**: 91-2.
24. Mazzanti, G., L. Braghiroli (1994) *Phytother. Res.* **8**: 413-6.
25. Oga, S., G. Akisue, E. Fujii, M. Stephan & S.F. Taniguchi (1987) *An. Farm. Quim. São Paulo*. (Vol. Esp.): 40-55.
26. Matsuzaki, P., M. Haraguchi, G. Akisue, S. Oloris, M. Nagamine, T. da Silva, M. Sakai, E. Fonseca, J. Palermo-Neto & S.L. Górnaiak (2006) *Cancer Lett.* **238**: 85-9.
27. Watanabe, T., M. Watanabe, Y. Watanabe & C. Hotta (2000) *Cancer Detect. Prev.* **24**: 173-8.
28. Silva, T., A.P. Silva, G. Akisue, J.L. Avanzo, M.K. Nagamine, H. Fukumasu, P. Matsuzaki, P.C. Raspantini, M. Haraguchi & S.L. Górnaiak (2005) *Cancer Lett.* **226**: 107-13.
29. Pinello, K. C., E.S.M. Fonseca, G. Akisue, A.P. Silva, S.C.S. Oloris, M. Sakai, P. Matsuzaki, M.K. Nagamine, J.P. Neto & M.L.Z. Dagli (2006) *Life Sci.* **78**: 1287-92.
30. Carneiro, C. S., F.A. Costa-Pinto, A.P. Silva, K.C. Pinello, T.C. Silva, P. Matsuzaki, M.K. Nagamine, S.L. Górnaiak, M. Haraguchi, G. Akisue & M.L.Z. Dagli (2007) *Exp. Toxicol Pathol.* **58**: 427-31.
31. Westh, H & C.S. Zinn, V.T. (2004) *Microb. Drug Resist.* **10**: 169-76.
32. Cowan, M.M. (1999) *Clin. Microbiol. Rev.* **12**: 564-82.
33. Francis, G., Z. Kerem, H.P.S. Makkar & K. Becker (2002) *Brit. J. Nutrit.* **88**: 587-605.
34. Petrin, D., K. Delgaty, R. Bhatt & G. Garber (1998) *Clin. Microbiol Rev.* **11**: 300-17.