

Caracterização farmacognóstica comparativa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Hebanthe paniculata* Martius - Amaranthaceae

Vigo, C.L.S.¹; Narita, E.¹; Milaneze-gutierrez, M.A.²; Marques, L.C.¹

¹Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia e Farmacologia; ²Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá - Av. Colombo 5790, bloco T22 - 87020-900 - Maringá (PR) - lmarques@teracom.com.br

RESUMO: Raízes de diferentes espécies de *Pfaffia* tem sido comercializadas como "ginseng brasileiro" e a falta de especificações farmacognósticas têm levado à sua comercialização conjunta, caracterizando uma situação de fraude. A coleta dos espécimes analisados de *P. glomerata* (PG) foi feita em Porto Rico (PR) e as de *Hebanthe paniculata* (HP) em Londrina (PR). Realizou-se a caracterização farmacognóstica (em termos botânicos, físico-químicos e cromatográficos), das folhas e raízes, e os testes farmacopêicos apenas das raízes (cinzas totais e insolúveis, teor de extrativos aquoso, índice de espuma e cromatografia em camada delgada) para ambas espécies. No estudo anatômico das raízes, PG apresenta uma série concêntrica de feixes vasculares isolados do tipo colateral aberto, e em HP há fusão dos feixes formando anéis vasculares contínuos dispostos de forma concêntrica. Os dados físico-químicos de PG foram: índice de espuma= 342±65, cinzas totais= 4,2±0,5%, cinzas insolúveis= 0,11±0,09% e teor de extrativos= 54,0±3,8%; para as raízes de HP os dados foram: índice de espuma= 500±0, cinzas totais= 7,4±0,3% e teor de extrativos= 35,7±3,0%. Na CCD, observou-se uma mancha de Rf= 0,78 no perfil de PG que a diferencia de HP, correspondendo à substância β-ecdisona. Conclui-se que a diferenciação com base na padronização da qualidade botânica, físico-química, quali e quantitativa de *P. glomerata* e *H. paniculata* pode ser realizada com estes dados preliminares.

Palavras-chave: *Pfaffia glomerata*, *Hebanthe paniculata*, controle de qualidade, farmacognosia, ginseng, plantas medicinais.

ABSTRACT: Comparative pharmacognostic characterization of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen and *Hebanthe paniculata* Martius - Amaranthaceae. Roots of species of *Pfaffia* have been marketed like "brazilian ginseng". However, the lack of pharmacognostic specifications has been taking to its united commercialization characterizing fraud situation. The types of *P. glomerata* (PG) were collected in the area of Porto Rico (PR) and the one of *Hebanthe paniculata* (HP) in Londrina (PR). The characterization of the leaves and roots of PG and HP was performed in botanical, physiochemical and chromatographic tests. It was done the characterization macro and microscopic of the leaves and roots and the pharmacopeic tests just of the roots (total and insoluble ashes, aqueous extractive, foam index and thin layer chromatography). In the anatomical study, PG presents a concentric series of isolated vascular bunches of the open collateral type, and in HP there is coalition of the bunches forming continuous vascular rings willing of concentric form. The physiochemical data of PG are: foam index = 342±65, total ashes = 4,2±0,5%, insoluble ashes = 0,11±0,09% and aqueous extractive = 53,4±3,8%; for the roots of HP the data are: foam index = 500±0, total ashes = 7,4±0,3% and aqueous extractive = 35,7±3,0%. In TLC, a stain of Rf=0,78 was observed in the profile of PG that differentiates it of HP, corresponding to the substance β-ecdisona. The differentiation with base in the standardization of the quality botanical, physiochemical, quali and quantitative of *P. glomerata* and *H. paniculata* can be accomplished with these preliminary data.

Key words: *Pfaffia glomerata*, *Hebanthe paniculata*, quality control, pharmacognosy, medicinal plants, ginseng.

INTRODUÇÃO

As raízes de *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae) correspondem a uma das drogas

vegetais mais utilizadas em todo o mundo, com centenas de artigos científicos evidenciando sua composição química, toxicologia, farmacologia e propriedades terapêuticas, destacando-se seus efeitos positivos sobre aprendizagem, memória e capacidade física em animais e humanos (D'angelo *et al.*, 1986; Petkov e

Mosharrof, 1987; Pieralisi *et al.*, 1991).

A busca por espécies afins à coreana levou à descoberta, no Brasil, de espécies de Amaranthaceae cujas raízes tuberosas lembram as formas humanóides típicas da espécie importada. A primeira espécie citada como "ginseng brasileiro" foi *Pfaffia paniculata* (Mart.) Kuntze, cuja identificação e caracterização farmacognóstica foi realizada por Oliveira *et al.* (1980). Essa publicação despertou o interesse pela espécie e levou à associação dos autores com um grupo de pesquisa japonês, que passou a desenvolver os estudos fitoquímicos da mesma, e de outras espécies do mesmo gênero.

Quimicamente *P. paniculata* apresenta um triterpeno denominado ácido pfáffico e cerca de 11% de saponinas do tipo triterpênico, identificadas e denominadas de pfaffosídeos A, B e C; apresentam também estigmasterol, sitosterol e glicosídeos derivados dessas substâncias, bem como a alantoína (Oliveira *et al.*, 1980; Oliveira, 1986; Nishimoto *et al.*, 1993). O interesse com essa espécie aumentou após a publicação desses resultados, na forma de patentes, sobre os efeitos da planta em melanomas B16 ou células Hela, e também sobre tumores de ascite em ratos (Takemoto e Odajima, 1984). Em função desses resultados, disseminou-se a comercialização nacional e internacional de raízes do ginseng brasileiro, tanto isoladamente como em associação com "ginsengs" de outras origens.

Em termos de nomenclatura botânica, retomou-se a antiga denominação *Hebanthe* Martius para algumas das espécies desse gênero, especialmente *P. paniculata* e *P. pulverulenta*, que voltaram a denominar-se *H. paniculata* Martius e *H. pulverulenta* Martius (Borsch e Pedersen, 1997).

Ao longo desse período de comercialização, estudos da sistemática vegetais desse grupo vêm apontando dúvidas se a espécie comercializada é, de fato, a anteriormente citada (Siqueira e Grandi, 1986; Siqueira, 1987; 1988; Smith e Downs, 1972). Visando esclarecer tal confusão, diversas coletas realizadas na região de origem dos lotes comerciais vêm sendo submetidas à identificação com o especialista botânico Prof. Dr. Josafá Carlos de Siqueira, confirmando tratar-se de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Marques, 1998).

Esta espécie é popularmente conhecida como fáfia, ginseng-do-Brasil, paratudo, corango sempre-viva, acônito, batata-do-mato, dentre outros nomes (Carriconde *et al.*, 1996). Apresenta distribuição geográfica ampla em todo o Brasil, com respectiva utilização medicinal tanto na região amazônica, na região nordeste como no sul-sudeste (Carriconde, 1994; Van Den Berg, 1982; Matos, 1990). Quimicamente também é rica em

saponinas triterpênicas, das quais destaca-se a b-ecdisona como o principal ingrediente ativo presente nas raízes, e que não está presente na espécie anterior (Akisue *et al.*, 1992; Nishimoto *et al.*, 1993; Nishimoto, 1992).

Por tratar-se, portanto, da espécie efetivamente comercializada no mercado farmacêutico, *P. glomerata* vem sendo objeto de investigação toxicológica e farmacológica, tendo sido verificado baixa toxicidade e efeitos positivos na aprendizagem e memória de animais e humanos (Marques, 1998). Em relação aos reputados efeitos estimulantes da capacidade física, os mesmos não foram confirmados em modelo clínico com bicicleta ergométrica (Marques *et al.*, 2002).

A inexistência de especificações botânicas diferenciadoras das duas espécies, bem como dos parâmetros físico-químicos básicos de qualidade, como cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido e de teor de extrativos, têm inviabilizado o controle de qualidade dos lotes e levado à comercialização de uma por outra, caracterizando uma situação de confusão entre as espécies e mesmo de fraude, por serem quimicamente diferentes.

Portanto, este trabalho teve como objetivo a realização de estudos botânicos, físico-químicos e cromatográficos de amostras das folhas e raízes de *Pfaffia glomerata* (PG) e *Hebanthe paniculata* (HP), visando a sua padronização farmacognóstica e a possibilidade da sua diferenciação em termos de qualidade.

MATERIAL E MÉTODO

1. Coleta e herborização do material botânico

O material de PG foi coletado na região de Porto Rico (PR) e separado em lotes destinados aos estudos farmacobotânico, físico-químico e cromatográfico. O primeiro lote, constituído de partes aéreas floridas, folhas e raízes, foi montado em exsiccatas ou conservado em FAA 50% para análise anatômica. No outro lote, as raízes foram lavadas e escovadas em água corrente, seccionadas transversalmente, secas à temperatura ambiente por duas semanas e colocadas em estufa por 12 horas a 40°C. Na seqüência, foram pulverizadas em moinho de facas e armazenadas em frascos de plásticos em armário fechado.

As amostras de HP foram obtidas do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), sub-sede de Londrina, fornecidas pelo engenheiro agrônomo Paulo Guilherme Ferreira Ribeiro e oriundas de cultivares mantidos no Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrônomicas da Unicamp (CPQBA - SP). As folhas e raízes foram igualmente

conservadas para estudo farmacobotânico e outro lote das raízes foi lavado, seccionado e seco a temperatura ambiente seguindo os mesmos procedimentos citados para PG.

A identificação de PG foi feita pelo especialista em Amaranthaceae, Prof. Dr. Josafá Siqueira; exemplares dessa coleta foram depositados no acervo do Herbarium Friburgense (FCAB) sob o número 5426. Já as amostras de HP vieram de exemplares previamente identificados, de acordo com exsiccatas de referência utilizadas pelo CPQBA (número CPQBA-241).

Em conjunto com o especialista, elaborou-se uma proposta de chave de identificação botânica das várias espécies desse grupo, as quais são confundidas comercialmente.

2. Caracterização farmacobotânica

As caracterizações organolépticas, macro e microscópicas das duas espécies foram realizadas de acordo com a metodologia convencional (Oliveira *et al.*, 1991). As partes de interesse foram observadas macroscopicamente, cortadas manualmente com lâminas de aço inoxidável, clarificadas com hipoclorito de sódio comercial e coradas pelo sistema Safranina/Azul de Astra (Kraus e Arduin, 1997; Farmacopéia, 1998), sendo montadas lâminas semi-permanentes com glicerina a 33%. As figuras foram obtidas em microscópio ótico acoplado a câmara digital e utilizando-se o programa Image-Pro plus 3.0.

3. Determinação dos dados físico-químicos

3.1. Teor de extrativos (WHO, 1992)

Para a realização deste teste ferveu-se, sob refluxo por quinze minutos, 2g da amostra em 100mL de água destilada. Após resfriadas, foram filtradas para um balão volumétrico de 100mL e completado o volume com água destilada. Com uma pipeta volumétrica, transferiu-se 20mL para um pesa-filtro previamente tarado. Após evaporação de todo o solvente em banho-maria, coloca-se a amostra na estufa a temperatura de 105°C por 2 horas, esta foi resfriada no dessecador e pesada. O teor de extrativos foi calculado em massa percentual, pela média de cinco determinações.

3.2. Cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido (Farmacopéia, 1998)

Para cinzas totais, carbonizou-se 3g da amostra, acondicionadas em um cadinho de porcelana estabilizado e previamente pesado. Após permanecer na mufla a 900°C por 4 a 5 horas; a

amostra foi esfriada no dessecador, pesada e então, calculado o valor de cinzas totais. Para as cinzas insolúveis em ácido, foi adicionado 25ml de HCl 20% no cadinho com resíduos de cinzas totais, sendo então fervida a amostra em manta aquecedora por 5 minutos, filtrada 2 vezes em papel de filtro com tarja preta. A seguir lavou-se o papel de filtro com água fervente até o pH tornar-se neutro. Acondicionou-se o papel de filtro em um segundo cadinho estabilizado e pesado, o qual foi carbonizado na mufla por 4 a 5 horas; sendo a seguir esfriado em dessecador e pesado para o cálculo das cinzas insolúveis em ácido.

3.3. Índice de espuma (WHO, 1992)

Ferveu-se sob refluxo, durante 30 minutos, 1g da droga com 100mL de água destilada. Após esfriada e filtrada para um balão volumétrico, a amostra teve seu volume completado para 100mL. Preparou-se uma série de diluições em tubos de ensaio, diluindo-se progressivamente o extrato aquoso. Cada tubo foi marcado ao nível de 10mL da solução e 1cm acima. Após agitados no sentido do seu comprimento, durante 15 segundos, as amostras em tubos foram deixadas em repouso por 15 minutos. Verificou-se, em seguida, em qual tubo se formou um anel de espuma persistente, de aproximadamente 1cm de altura. Calculou-se o índice de espuma com base na diluição do tubo onde formou-se o anel de espuma persistente (a = volume em mililitros da decoção usada para preparar a diluição no tubo onde a espuma de 1cm foi observada).

$$\text{Cálculo: Índice de espuma} = \frac{1000}{a}$$

3.4. Cromatografia em camada delgada (Oliveira *et al.*, 1980)

Submeteu-se a refluxo 1g da amostra em 100mL de metanol, sendo a seguir a amostra filtrada, concentrada até aproximadamente 10mL, aplicada em placa de sílica gel Merck. O sistema foi mantido em câmara de saturação com os eluentes: n-butanol, acetato de etila, ácido fórmico e água (4:1:0,6:0,5). Revelou-se a cromatografia com vanilina sulfúrica, em capela, e a seguir sendo mantida em estufa até o aparecimento de cores na placa.

RESULTADO

1. Chave de identificação

Com base nos caracteres mais marcantes, montou-se uma chave para identificação de algumas espécies dos gêneros *Pfaffia*, *Hebanthe*

e *Gomphrena*, que são comumente confundidas em termos comerciais.

Esta chave foi elaborada conjuntamente

com o Prof. Dr. Josafá Siqueira.

2. Caracterização farmacobotânica

Gêneros

- I. Estigma bífido *Gomphrena*
 Estigma globoso ou bilobado II
 II. Caule semi-escandente *Hebanthe*
 Caule ereto *Pfaffia*

Chave para espécie do gênero *Gomphrena*

- I. Caule semi-escandente; folhas pilosas somente na face inferior;
 planta ocorrente em formações vegetais florestais *G. vaga* Mart.

Chave para espécies do gênero *Hebanthe*

- I. Plantas com pêlos pulverulentos, ramoso-verticiladas *H. pulverulenta* Mart.
 Plantas glabras ou com pêlos simples, não pulverulentos *H. paniculata* Mart.

Chave para algumas espécies do gênero *Pfaffia*

- I. Inflorescência espiciforme *P. jubata* Mart.
 Inflorescência capituliforme ou panícula-capituliforme II
 II. Inflorescência capituliforme, pouco ramificada; sistema subterrâneo
 tuberoso; planta ocorrente em formações
 vegetais campestres *P. tuberosa* (Spreng.) Hicken
 Sem essas características III
 III. Sistema subterrâneo fusiforme; caule adulto oco, glabro; ramos jovens pilosos;
 folhas lanceoladas ou, quando adultas, ovado-lanceoladas; pilosas, pêlos
 pubescentes; inflorescências muito ramificadas *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen
 Sistema subterrâneo fusiforme; caule adulto não-oco, piloso; ramos
 jovens pilosos; folhas ovadas ou oblongo-ovadas, densamente pilosas, pêlos
 incanos ou velutinos; inflorescências pouco ramificadas *P. iresinoides* (H.B.K.) Spreng.

2.1- Caracterização macro e microscópica de *Hebanthe paniculata*

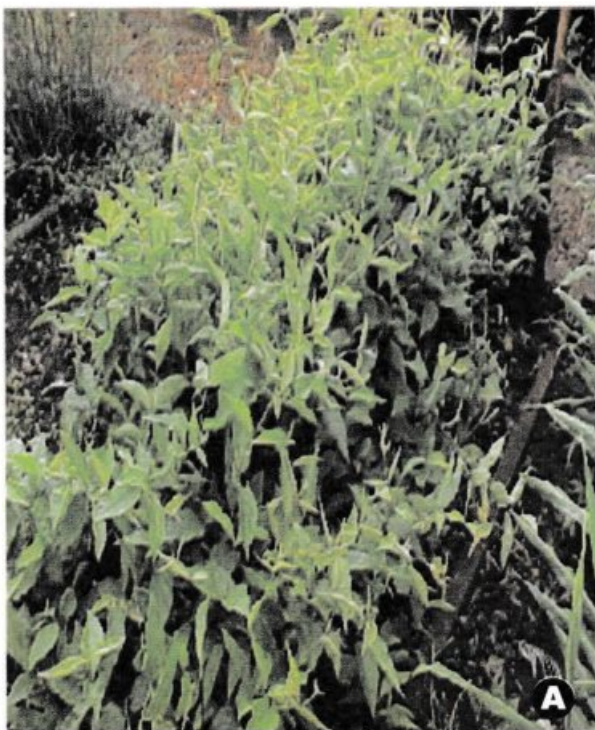
Esta espécie mostra-se, sob cultivo, de hábito escandente e muito ramificada (Figura 1A). Suas folhas são simples, opostas, de formato oval-lanceolado, levemente arqueadas, de tamanhos variados (4-9cm de comprimento; 1-4cm de largura), curtamente pecioladas. Mostram base simétrica e obtusa, margem lisa, ápice levemente acuminado. O limbo apresenta-se glabro a olho nu, de textura levemente coriácea, de cor verde escura na face ventral e mais clara na face dorsal. O pecíolo é canaletado, de aspecto curvo, especialmente quando seco. A nervura central mostra-se pouco proeminente na face abaxial e com projeção deltóide na face oposta (Figura 2C).

Em termos microscópicos as folhas apresentam epiderme unisseriada recoberta por cutícula relativamente espessada, especialmente em ambas faces da nervura central. Os estômatos estão presentes apenas na face abaxial, sendo do tipo anomocítico (Figura 2D). Como anexos epidérmicos

encontram-se dois tipos de tricomas unisseriados. Um é do tipo tector, com 4 a 5 células de paredes espessadas contendo ornamentações na forma de espículas e dentes na junção das células (Figura 2E). Nota-se que a célula mais basal deste tricoma rompe-se facilmente nos materiais fixados, dificultando sua análise. O outro tipo de tricoma desta espécie, apresenta de 5 a 7 células de paredes finas, sendo a apical glandular (Figura 2F). O mesofilo é dorsiventral, cujo parênquima paliçádico apresenta-se com 2 ou mais raramente 1 camada celular e o parênquima lacunoso mostra células com projeções braciiformes relativamente amplas, conferindo-lhe muitos espaços intercelulares (Figura 2A). Idioblastos com grandes drusas são freqüentes nestes tecidos. Os feixes vasculares presentes na nervura central são colaterais e em arco aberto (Figura 2C), sendo que os de menor calibre encontram-se envolvidos por uma bainha de células parenquimáticas não esclereificadas (Figura 2B).

Macroscopicamente as raízes frescas de HP são pivotantes, tuberosas, mostram-se finas, alongadas e levemente retorcidas, decrescendo em

FIGURA 1 - Aspectos morfológicos externos da parte aérea e das raízes de HP e PG. A e C: *Hebanthe paniculata*; B e D: *Pfaffia glomerata*.



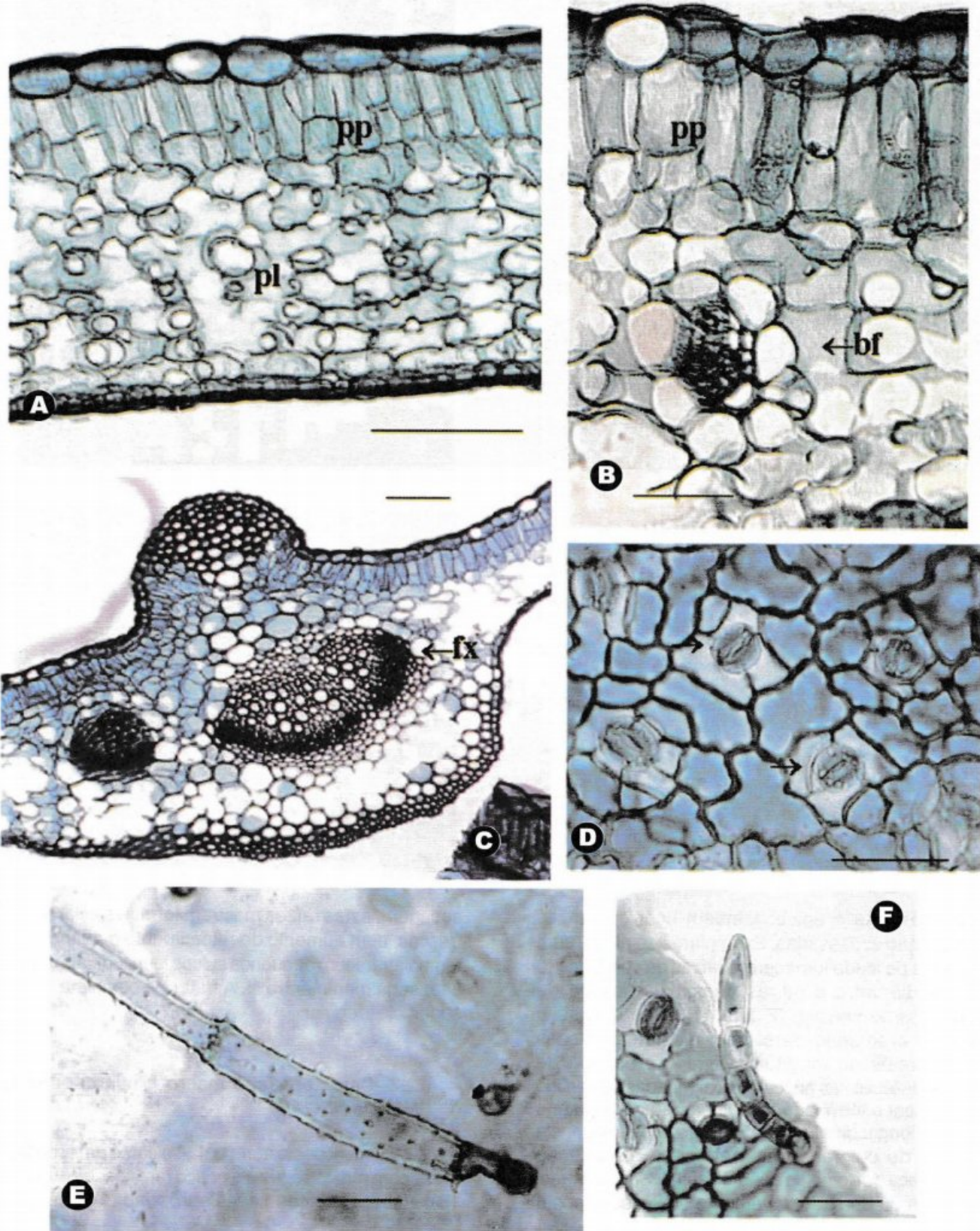
espessura até o ápice; também ocorrem raízes laterais não espessadas. Exemplos de planta com 4-5 anos de idade forneceram raízes de cerca de 1,0 cm de diâmetro e outras bem mais finas e de comprimento variável (Figura 1C). Sua coloração externa é amarelo-claro, sem mostrar cicatrizes transversais ou longitudinais. Há presença de pequenas lenticelas orbiculares, alongadas no sentido transversal e formando uma linha de ocorrência no sentido longitudinal. A seção transversal evidencia tecidos de coloração amarelo-claro e estriação concêntrica em torno do cilindro central. São inodoras, insípidas ou de sabor levemente amiláceo. Após a

secagem, estas raízes mostram formas similares às frescas, com aumento do retorcimento e ao mesmo tempo aparecem pequenos sulcos longitudinais retos, com seguimento entre si. A fratura é completa, com superfície irregular.

2.2- Caracterização macro e microscópica de *Pfaffia glomerata*

Esta espécie apresenta-se como um arbusto ereto, com ramos esguios e pouco ramificados (Figura 1B), embora sob condições apropriadas de cultivo

FIGURA 2 - Folha de *Hebanthe paniculata*. Em A, B e C: cortes transversais do mesofilo mediano, detalhe de um feixe vascular e nervura principal, respectivamente. Em D, E e F: cortes paradérmicos da superfície abaxial mostrando estômatos (→) e ambos tipos de tricomas. Barras de A e B: 100 μ m e as demais: 50 μ m. **pp**: parênquima paliçádico; **pl**: parênquima lacunoso; **bf**: bainha do feixe vascular; **fx**: feixe vascular.



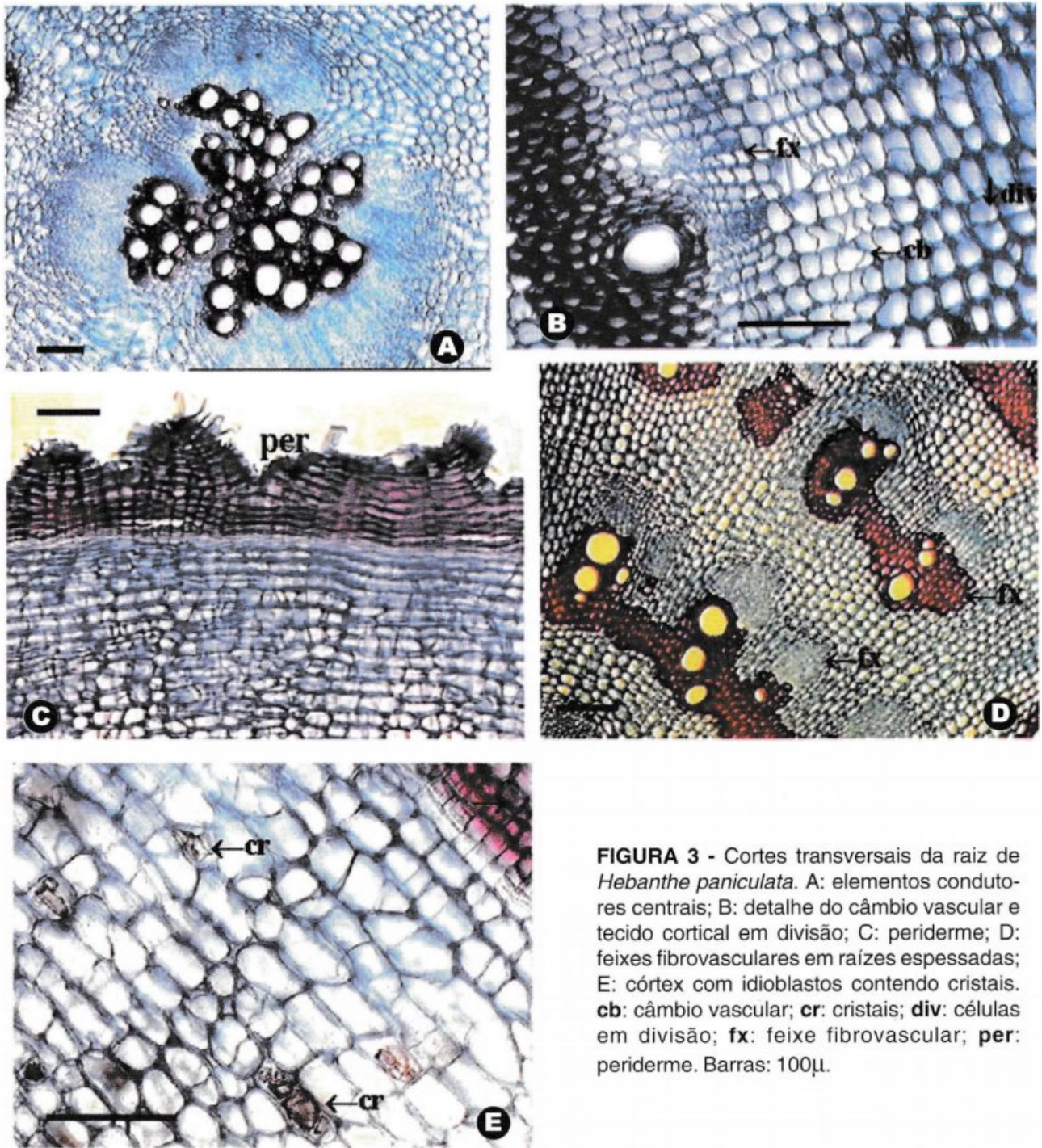


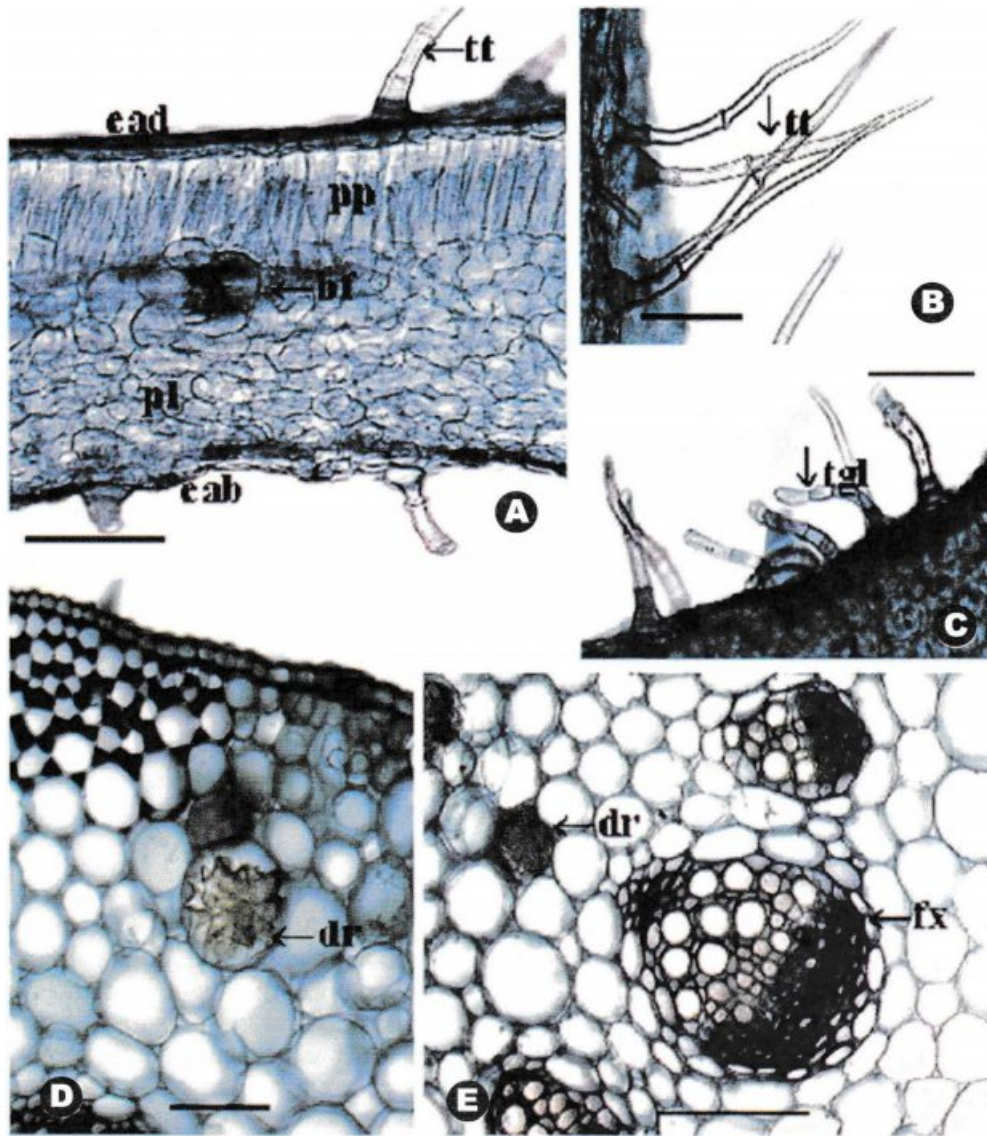
FIGURA 3 - Cortes transversais da raiz de *Hebanthe paniculata*. A: elementos condutores centrais; B: detalhe do câmbio vascular e tecido cortical em divisão; C: periderme; D: feixes fibrovasculares em raízes espessadas; E: córtex com idioblastos contendo cristais. **cb**: câmbio vascular; **cr**: cristais; **div**: células em divisão; **fx**: feixe fibrovascular; **per**: periderme. Barras: 100 μ .

mostrem-se mais robustas e com muitas folhas. Macroscopicamente as folhas desta espécie mostram filotaxia oposta com pecíolo relativamente curto, limbos com acentuada heterofilia, sendo de formato ovalado a lanceolado nas brotações, e de linear-lanceolado e a falciformes naquelas dos nós mais superiores e próximos às inflorescências, base simétrica aguda, pouco decorrente, ápice acuminado, bordo inteiro e textura membranácea. A nervura central mostra-se proeminente na face inferior das folhas, enquanto o pecíolo é canaletado e de aspecto reto

quando seco.

Microscopicamente as folhas de PG mostram epiderme uniseriada cujas células apresentam tamanho equivalentes em ambas faces (Figura 4A). Nestas, os estômatos são anomocíticos, embora mais abundantes na face abaxial. Foram observados dois tipos de tricomas unisseriados, sendo um tector composto por 4 a 6 células, tendo seu tamanho total muito variável, parede celular espessada, ornamentada com pequenas e freqüentes espículas; dentes ornamentam a junção entre as

FIGURA 4 - Cortes transversais da folha de *P. glomerata*. A: mesófilo mediano; B e C: tricomas; D e E: detalhes de drusas e feixes vasculares do pecíolo. **bf**: bainha do feixe vascular; **dr**: drusas; **eab**: epiderme da face abaxial; **ead**: epiderme da face adaxial; **fx**: feixe vascular; **pl**: parênquima lacunoso; **pp**: parênquima paliçádico; **tgl**: tricoma glandular; **tt**: tricoma tector. Barras 100µm.

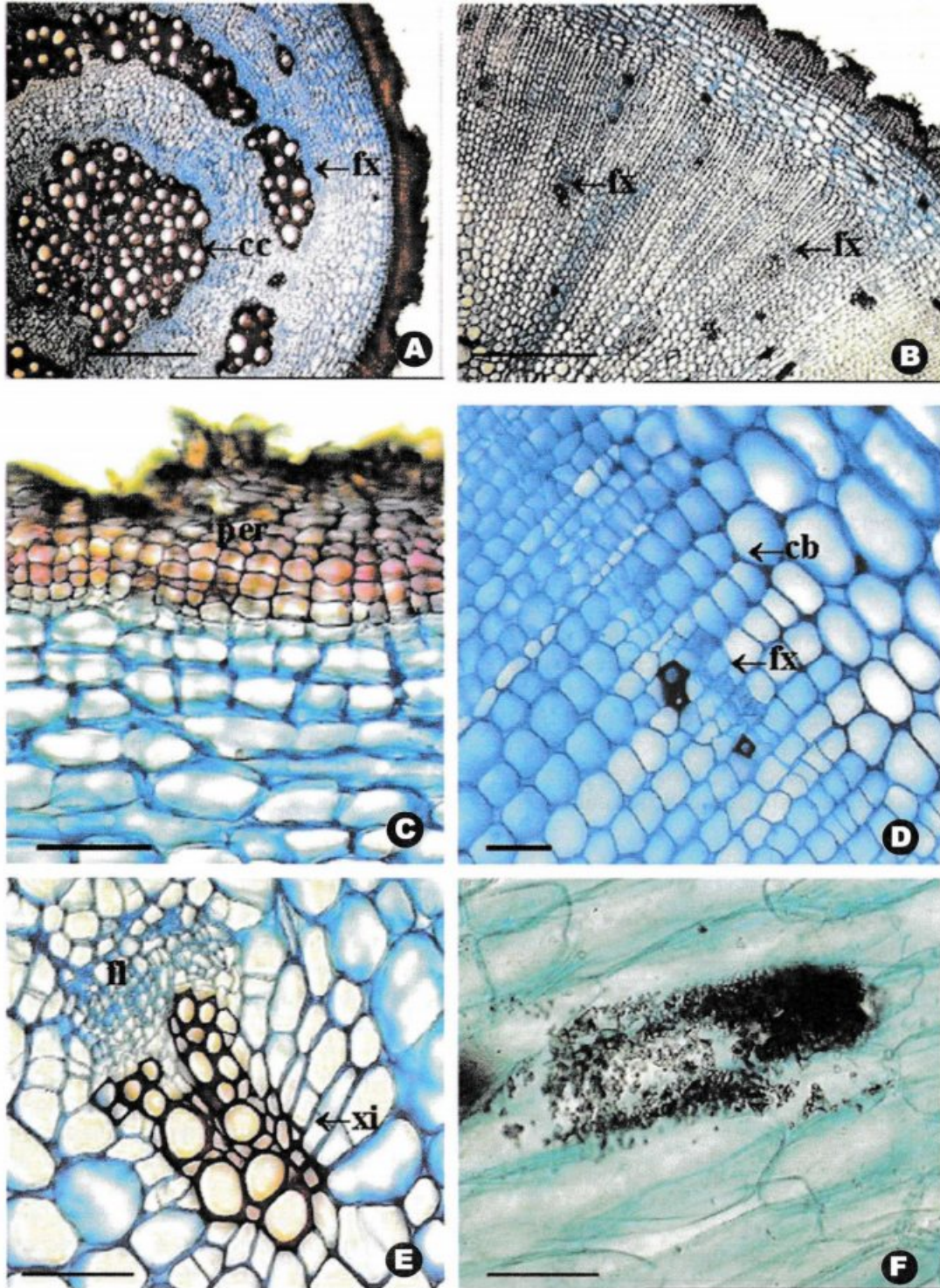


células. O outro tipo de tricoma possui 5 ou 6 células de parede fina, sendo a apical glandular e em forma de dedo de luva, estando com freqüência arqueados em direção a epiderme (Figuras 4B e 4C). O mesófilo é dorsiventral, composto de parênquima paliçádico com 1 ou mais raramente, 2 camadas celulares; o parênquima lacunoso apresenta espaços intercelulares de tamanhos variados (Figura 4A). Células contendo grandes drusas de oxalato de cálcio são freqüente no mesófilo e no pecíolo (Figuras 4D e 4E). Os feixes vasculares são colaterais e em arco aberto, e os de menor calibre encontram-se envolvidos por uma bainha de células parenquimáticas não esclerificadas (Figura 4A).

A espécie apresenta sistema radical pivotante composto por 1 ou 2 raízes principais, ou

mais raramente de forma ramificada. Cada uma das raízes frescas mostra-se alongada, decrescendo em espessura até o ápice, de comprimentos variados atingindo até 30cm ou mais, dependendo da idade do exemplar. Quanto à espessura, os exemplares de raízes adultas analisados apresentaram variação de 0,5 a 3,5 cm, sendo que há raízes secundárias não espessadas (Figura 1D). As formas também são variadas, desde as típicas formas humanóides que promovem a similaridade com *Panax ginseng*, até simples raízes alongadas únicas (napiformes); também ocorrem formas encurvadas, torcidas e espiraladas. A coloração da superfície externa é castanho-clara e a parte interna das mesmas é amarelo-clara, havendo exemplares com tonalidade mais forte. As raízes, quando frescas, apresentam

FIGURA 5 - Cortes transversais da raiz de *P. glomerata*. A: região apical; B: região espessada; C: detalhe da periderme; D: câmbio vascular com elementos condutores em formação; E: feixe vascular; F: cristais prismáticos. **cc**: cilindro central; **cb**: câmbio vascular; **fl**: floema; **fx**: feixe vascular; **per**: periderme; **xi**: xilema. Barras: A e B: 500µm; C e E: 100µm; D e F: 50µm.



superfície lisa com marcas concêntricas circulares espaçadas. Com o processo de secagem, surgem enrugamentos longitudinais superficiais em toda a sua extensão. Em vários pontos há cicatrizes de raízes secundárias, como marcas finas e distribuídas no

sentido transversal.

Em termos microscópicos, as raízes apresentam periderme espessa (Figura 5C), com diversas camadas de pequenas células quadrangulares de tonalidade acastanhada, não

achatadas. Na região cortical também se verifica, com frequência, células parenquimáticas com divisões anticlinais e periclinais (Figura 5D) e presença, nessa região, de idioblastos contendo pequenos cristais prismáticos (areia cristalina) (Figura 5F). O crescimento do tecido vascular é anômalo, com o câmbio originando uma série concêntrica de feixes vasculares colaterais abertos isolados (isto é, não formando arcos), distribuídos de forma homogênea ao longo da região vascular pela presença de grande quantidade de células parenquimáticas ao seu redor (Figuras 5B, 5D e 5E). Nas raízes secundárias não espessadas, verifica-se a formação de um ou dois arcos fibrovasculares contínuos (a semelhança do encontrado em *H. paniculata*) (Figura 5A), mas tal formação é logo substituída pelo padrão dos feixes vasculares isolados e não organizados em arcos contínuos. A região do cilindro central é maciça nas raízes espessadas, formada de xilema com grande quantidade de fibras; nas raízes secundárias não espessadas, o cilindro central é diarco, apresentando interrupção apenas em dois pontos, onde ocorre tecido parenquimático.

3. Dados físico-químicos

Foram realizados os testes de teor de extrativos (aquoso a quente), cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido e índice de espuma para as duas espécies em avaliação. Pela pequena quantidade de material de HP obtido para pesquisa, não foram realizados os testes de cinzas insolúveis para as raízes bem como o número de repetições para cada teste foi menor.

TABELA 1 - Valores dos testes físico-químicos das raízes

Teste	PG	HP
Teor de extrativos (%)	54,0 ± 3,8 (n= 16)	35,7 ± 3,0 (n= 4)
Cinzas totais (%)	4,2 ± 0,5 (n= 15)	7,4 ± 0,3 (n= 2)
Cinzas insolúveis em ácido (%)	0,11 ± 0,09 (n= 9)	NR
Índice de espuma (mL)	342 ± 65 (n= 9)	500 ± 0 (n= 3)

4. Cromatografia em Camada Delgada

Realizou-se uma série de cromatogramas, conforme metodologia citada, visando-se estabelecer o perfil adequado para as espécies em avaliação. Em

relação a PG, o sistema empregado mostrou-se adequado fornecendo, a partir de dois diferentes lotes da droga oriundos da mesma região, um perfil cromatográfico com sete manchas de diferentes Rf's. Destas, destaca-se a mancha de Rf= 0,78 de coloração variando do amarelo ao verde, a qual mostrou-se a mais evidente no conjunto de manchas do perfil (Figura 6-A).

Em relação às amostras das raízes de HP, esse mesmo sistema não se mostrou tão adequado, com desenvolvimento incompleto das substâncias presentes nessa droga. No entanto, também não evidenciou a mancha acima citada, apontando uma provável diferença em termos de composição química entre as duas espécies em avaliação (Figura 6-B).

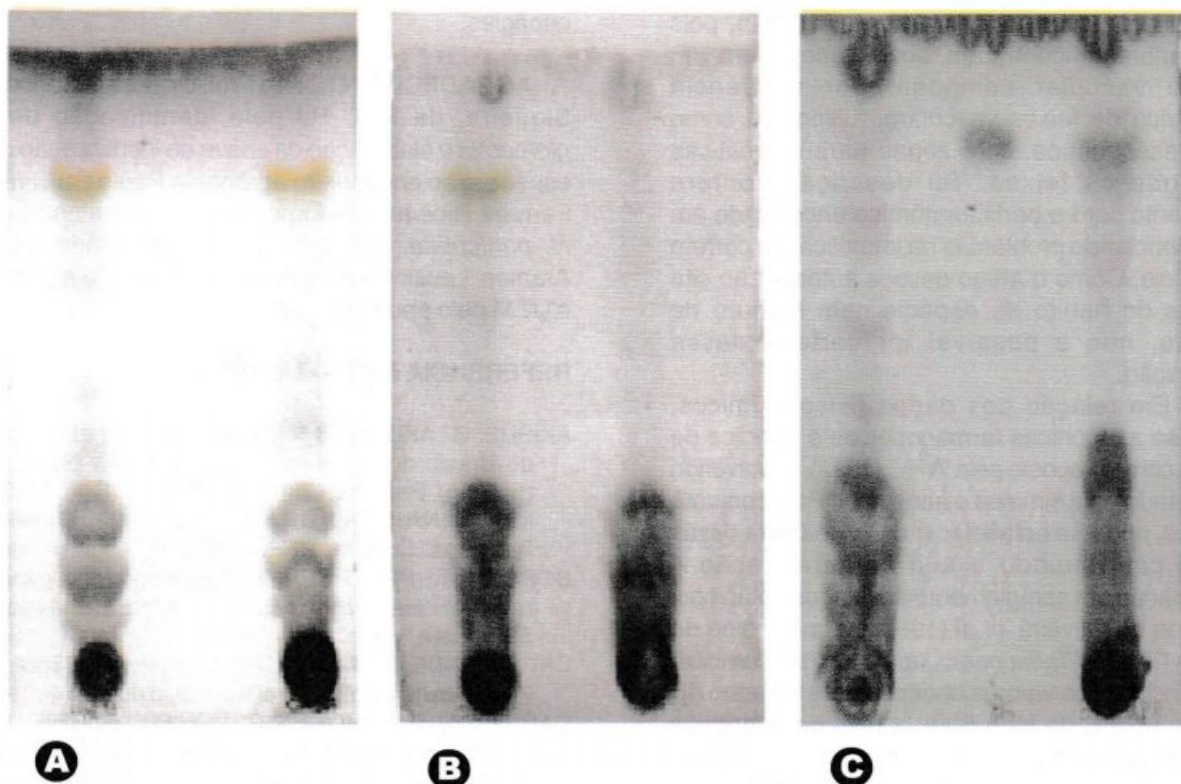
Visando identificar essa mancha diferenciadora, foram preparadas outras placas com extratos de PG e de HP, intercalados da substância padrão b-ecdisona. Obteve-se o perfil demonstrado na figura 6-C, onde se nota a ausência de tal substância em HP e confirmando que a mancha de Rf 0,78 presente em PG, é de fato b-ecdisona.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A busca por alternativas nacionais, para substituição de espécies importadas e caras, é um campo aberto e oportuno em termos econômicos. No caso presente, as espécies de *Amaranthaceae* descobertas pelo uso da população parecem, de fato, com as raízes do ginseng coreano, ao menos em termos morfológicos e pela presença de saponinas. No entanto, em termos de volume de informações farmacológicas, ainda há uma lacuna enorme a ser preenchida pelas espécies brasileiras, cujos estudos estão ainda em fases iniciais, embora já existam resultados francamente positivos no favorecimento dos processos de aprendizagem e memória (Marques, 1998). Em termos de controle de qualidade, também há muitos pontos a serem definidos, tanto em aspectos fitoquímicos como botânicos e físico-químicos.

A falta dessas especificações tem promovido a oferta e comercialização de toneladas de raízes como sendo de "*Pfaffia paniculata*", isto é, mais como um nome genérico que de fato uma expressão técnica em termos botânicos. Tal situação decorreu do primeiro artigo, de Oliveira *et al.* (1980), ter sido realizado com essa espécie. Porém, em termos de ocorrência na natureza, essa espécie, atualmente denominada de *Hebanthe paniculata*, é bastante restrita e de crescimento lento, o contrário ocorrendo com *Pfaffia glomerata* que apresenta distribuição ampla e se desenvolve em campos abertos e bem iluminados, atingindo ponto de coleta em cerca de dois anos de idade (Montanari *et al.*, 2002). Tal perfil promoveu o seu predomínio em termos de oferta e

FIGURA 6 - Perfis cromatográficos de dois lotes de PG (A), de PG e de HP (B) e de HP e PG intercalados por b-ecdisona (C).



distribuição comercial.

Como além dessas duas espécies algumas outras vem sendo confundidas, elaborou-se uma chave de identificação visando auxiliar os coletores no sentido da correta definição das espécies afins, praticamente todas com amplos sistemas subterrâneos. Em termos práticos, as duas espécies em questão podem ser diferenciadas pelo hábito, com HP portando-se como planta semi-escandente presente no interior ou em bordos de matas e PG como erva ereta abundante em campos ensolarados. A diferenciação entre as outras carece da observação de outros detalhes mais minuciosos, como a presença de pêlos pulverulentos em *H. pulverulenta*. A diferenciação entre PG e *P. iresinoides* igualmente é difícil pela semelhança morfológica, apesar do fato de que a segunda espécie apresenta ocorrência mais restrita, localizando-se apenas no norte do Brasil, na Amazônia brasileira e de países limítrofes (Siqueira, 1988).

Quanto aos dados comparativos das folhas das espécies em avaliação, destacam-se a forma oval-lanceolada e pecíolo curto e encurvado de HP, e a heterofilia e pecíolo maior e reto em PG. Em termos microscópicos, ambas apresentam estômatos anomocíticos, mesofilo heterogêneo assimétrico (dorsiventral) e drusas com oxalato de cálcio. Tais características são comuns na família, como observaram Metcalfe e Chalk (1969) e Handro (1964;

1967), não representando caracteres relevantes em termos diferenciativos. Em outro aspecto, a presença de bainha parenquimática ao redor dos feixes vasculares, embora encontradas tanto em PG quanto em HP, distinguem este grupo de outros gêneros de *Amaranthaceae*, como *Gomphrena* e *Froelichia*, dentre outros (Handro, 1964).

A diferenciação entre as duas espécies a partir das folhas mostra-se possível principalmente quanto aos tricomas tectores. Ambas apresentam tricomas pluricelulares uniseriados de ápice agudo; porém os de HP apresentam ornamentações tipo espícula maiores e menos freqüentes que em PG. Os tricomas glandulares existem em ambas as espécies e apresentam formato semelhante (uniseriado com célula apical glandular). Embora Handro (1964; 1967) tenha descrito detalhes anatômicos de folhas de diversas espécies de *Amaranthaceae* do cerrado, não cita a ocorrência de tricomas glandulares do tipo descrito acima.

Em relação às raízes, em termos microscópicos destacam-se as diferenças entre o conteúdo dos idioblastos, com presença de cristais prismáticos irregulares de tamanhos diversos em HP e bem menores (areia cristalina) em PG. No entanto, a maior diferença ocorre no tecido vascular, que apresenta crescimento anômalo em ambas as espécies, mas formando sucessivos arcos fibrovasculares predominantemente contínuos em HP

e, diferentemente, gerando feixes colaterais abertos isolados e esparsos em PG.

Os dados anatômicos verificados conflitam com os publicados por Oliveira *et al.* (1980), pois esses autores encontraram, supostamente em HP, sistema vascular composto por seqüência concêntrica de feixes vasculares dispostos como anéis descontínuos, com zonas parenquimáticas separando os feixes. Tal descrição confere exatamente com o perfil anatômico encontrado em PG evidenciando problemas na identificação correta da espécie. Como o artigo desses autores não cita detalhes do hábito da espécie nem número de exsicata, não é possível ter certeza dessa identificação.

Em relação aos dados físico-químicos, adotou-se as técnicas farmacopêicas e o índice de espuma como proposto pela WHO (1992), envolvendo uma metodologia simples e acessível. Pelo conjunto de dados, pode-se estabelecer os limites para essas drogas contribuindo à sua caracterização e diferenciação em complemento aos dados botânicos. Os dados de Oliveira *et al.* (1980) para o índice de espuma (IE) de *Pfaffia paniculata* (IE= 780) também se distanciam dos valores obtidos neste trabalho (IE de PG= 342; IE de HP= 500); a falta de referência oficial do método utilizado naquele trabalho impossibilita a comparação com os dados obtidos atualmente. Em relação ao teste que os autores chamam de "resíduo seco", a descrição da metodologia refere-se à uma perda por dessecação e não a um resíduo pós-extração, como é pertinente à técnica tanto de resíduo seco como do teor de extrativos (Farmacopéia, 1988), dessa forma também não permitindo uma comparação com os valores expressos neste trabalho. Oliveira *et al.* (1980) também não realizaram os testes de teor de extrativos e cinzas, fato que valoriza sua definição neste trabalho.

Em relação aos cromatogramas, pode-se verificar que o sistema adotado permite um bom e adequado desenvolvimento para o extrato bruto de PG, embora para HP não tenha havido o mesmo desempenho. Mesmo assim, a técnica adotada permite a separação da mancha de Rf= 0,78, a qual se confirmou tratar-se de â-ecdisona, o marcador ideal para as raízes de PG e que não foi encontrado na outra espécie (Nishimoto *et al.*, 1990; 1992). Os dados de Oliveira *et al.* (1980) mostram a ocorrência de doze manchas no extrato metanólico revelado por vanilina sulfúrica, com Rfs variando de 0,0 a 0,98 e de colorações variadas. Não há correspondência direta com a mancha de Rf= 0,78 e de coloração amarelo-esverdeado obtida neste trabalho.

Desse modo, pode-se concluir que o conjunto de dados apresentados permite a separação e correta identificação das partes aéreas e raízes de *Pfaffia*

glomerata e *Hebanthe paniculata*, possibilitando seu controle de qualidade e evitando a comercialização fraudulenta de diferentes drogas preparadas com tais espécies.

AGRADECIMENTO: Ao Prof. Dr. Josafá Carlos de Siqueira, da PUC-RJ pela identificação de *P. glomerata* e elaboração da chave de identificação das espécies, ao engenheiro agrônomo Paulo Guilherme Ferreira Ribeiro pelo fornecimento das amostras de *H. paniculata*, aos técnicos de laboratório Admir Arantes, Leucir Cassaro e Nair Santarosa e ao CNPq e UEM pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AKISUE, G., AKISUE, M.K., OLIVEIRA, F. *et al.* Ginseng do Brasil: novo triterpenóide de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12, 1992, Curitiba, Resumos. Curitiba: UFPR, 1992.
- BORSCH, T., PEDERSEN, M.T. Restoring the generic rank of *Hebanthe* Martius (Amaranthaceae). *Sendtnera*, v.4, p. 13-31, 1997.
- CARRICONDE, C. Acônito: *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **De volta às raízes**, v.9, n.46, p. 1-3, 1994.
- CARRICONDE, C., MORES, D., VON FRITSCHEN, M. *et al.* **Plantas medicinais e plantas alimentícias**. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular, 1996.
- D'ANGELO, A., GRIMALDI, R., CARAVAGGI, M. *et al.* A double-blind, placebo-controlled clinical study on the effect of a standardized ginseng extract on psychomotor performance in healthy volunteers. *Journal of Ethnopharmacology*, v.16, n.1, p. 15-22, 1986.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1998. v.4.
- HANDRO, W. Contribuição ao estudo da venação e anatomia foliar das amarantáceas dos cerrados. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.36, n.4, p. 479-99, 1964.
- HANDRO, W. Contribuição ao estudo da venação e anatomia foliar das amarantáceas dos cerrados II. Gênero *Pfaffia*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.39, n.4, p. 495-506, 1967.
- KRAUS, J., ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, Seropédica, 1997, 133p.
- MARQUES, L.C. **Avaliação da ação adaptógena das raízes de *Pfaffia glomerata* (Sprengel) Pedersen - Amaranthaceae**. 1998. Tese doutorado em Psicobiologia, 188 p. Escola Paulista de Medicina, São Paulo.
- MARQUES, L.C., DANUCALOV, M.A., TORRES, F. *et al.* Estudo clínico duplo-cego de extrato padronizado (BNT-08) das raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen: avaliação do efeito tônico em atividade física. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, supl., p. 44-7, 2002.
- MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas**. Fortaleza: EUFC, 1990, 67 p.

- METCALFE, C.R., CHALK, I. **Anatomy of the dicotyledons**. London: Clarendon Press, 1969. 724p.
- MONTANARI, I. Jr., MAGALHÃES, P.M., QUEIROGA, C.L. *et al.* O ciclo de cultivo e sua influência na produção de raízes e teores de β -ecdisona em *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 17, 2002, Cuiabá. Resumos... Cuiabá: UFMT, 2002, p. 35.
- NISHIMOTO, N. The constituents of brazilian ginsengs. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12. 1992, 22 p. Curitiba. Resumos... Curitiba: UFPR, 1992. p. 22.
- NISHIMOTO, N., SHIOBARA, Y., AKISUE, G. *et al.* Triterpenoids and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. **Phytochemistry**, v.32, n.6, p.1527-30, 1993.
- OLIVEIRA, F. *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze: o ginseng brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, n.1, p. 86-92, 1986.
- OLIVEIRA, F., AKISUE, G., AKISUE, M.K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1991, 304p.
- OLIVEIRA, F., AKISUE, G., AKISUE, M.K. Contribuição para o estudo farmacognóstico do "ginseng brasileiro" *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. **Anais Farmacia e Química de São Paulo**, v.20, n.1/2, p. 261-77, 1980.
- PETKOV, V.D., MOSHARROF, A.H. Effects of standardized ginseng extract on learning, memory and physical capabilities. **American Journal of Chinese Medicine**, v.15, n.1/2, p.19-29, 1987.
- PIERALISI, G., RIPARI, P., VECCHIET, L. Efectos de una combinación de extracto de ginseng estandarizado, dimetilaminoetanol bitartrato, vitaminas, minerales y oligoelementos sobre el rendimiento físico durante el ejercicio. **Clinical Therapeutics**, v.13, n.3, p. 1-11, 1991.
- SIQUEIRA, J.C. Importância alimentícia e medicinal das amarantáceas do Brasil. **Acta Biológica Leopoldensia**, v.9, n.1, p. 99-110, 1987.
- SIQUEIRA, J.C. Considerações taxonômicas sobre as espécies brasileiras do gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae). **Acta Biológica Leopoldensia**, v.10, n.2, p. 269-78, 1988.
- SIQUEIRA, J.C., GRANDI, T.S.M. O gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) nos cerrados e campos rupestres de Minas Gerais. **Acta Biológica Leopoldensia**, v.8, n.2, p. 213-30, 1986.
- SMITH, L.B., DOWNS, R.J. Amarantáceas de Santa Catarina. In: REITZ, R. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1972. 110p.
- TAKEMOTO, T., ODAJIMA, T. Antitumor pfaffosides from brazilian carrots. **Japanense Kokai Tokkyo Koho JP 59,184,198**, 19 Oct. 1984.
- VAN DEN BERG, M.E. **Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático**. Manaus: CNPQ, 1982, 86 p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva, 1992. 115p..