

o tratamento s.c., os animais receberam o marcador (10% de carvão ativado e 5% de goma arábica; 0,2 ml/animal; v.o.), 20 min depois foram sacrificados por deslocamento cervical e a distância percorrida pelo marcador em relação ao comprimento total do intestino delgado foi expressa como percentagem. Na segunda etapa, os animais foram tratados com veículo (10 ml/kg, v.o.), LCU (600 mg/kg, v.o.), L-arginina (600 mg/kg, i.p.) ou L-arginina 30 min antes da administração do LCU. Uma hora após o tratamento oral ou 30 min após o tratamento i.p., os animais receberam o marcador para o cálculo da distância percorrida pelo mesmo. Na terceira etapa, os animais foram tratados com veículo (10 ml/kg, v.o.), clonidina (0,1 mg/kg, v.o.), LCU (600 mg/kg, v.o.) ou ioimbina (1 mg/kg, i.p.). Outros dois grupos foram tratados com ioimbina, antagonista  $\alpha$ 2-adrenérgico, 10 min antes de clonidina ou LCU, nas mesmas doses. Uma hora após o tratamento oral ou 30 min após o tratamento i.p. foi administrado o marcador.

Para avaliarmos uma possível atividade anticolinérgica do LCU, utilizamos o modelo de trânsito gastrointestinal estimulado por fisostigmina, um inibidor da colinesterase. Os animais foram tratados oralmente com veículo (controle fisostigmina, 10 ml/kg), atropina (5 mg/kg), LCU (600 mg/kg), ou atropina em associação ao LCU. Imediatamente após o tratamento, os animais receberam fisostigmina (0,25 mg/kg, i.p.). O grupo controle normal foi tratado com veículo (10 ml/kg, v.o.) e recebeu água destilada (i.p.) em substituição à fisostigmina. Após 1 h do tratamento, os animais receberam o marcador.

## Referências

- Mathan V. I. Diarrhoeal diseases. *Brazilian Medical Bulletin* 1998; 54: 407-19
- Itokawa H, Ichihara Y, Mochizuki M, Enomori T, Morita H, Shirota O, Inamatsu M, Takeya K. A cytotoxic substance from *Sangre de Grado*. *Chemical Pharmacology Bulletin* 1991; 39: 1041-2
- Ubillas R, Jolad SD, Bruening RC, Kernan MR, King SR, Sesin DF, Barrett M, Stoddart CA, Flaster T, Kuo J, Ayala F, Meza E, Castañel M, Mcmeeke D, Rozhon E, Tempesta MS, Barnard D, Huffman J, Smee D, Sidwell R, Soike K, Brazier A, Safrin S, Orlando R, Kenny PTM, Berova N, Nakanishi K. SP-303, an antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (*Sangre de Drago*). *Phytomedicine* 1994; 1: 77-106
- Murray CJL, Lopes AD. *Global Health Statistics*. World Health Organization: New York, 1996: 256-258
- Okuda T, Yoshida T, Hatano T. New methods of analyzing tannins. *Journal of Natural Products* 1989; 52: 1-31
- Gabriel SE, Davenport SE, Steagall RJ, Vimal V, Carlson T, Rozhon EJ. A novel plant-derived inhibitor of cAMP-mediated fluid and chloride secretion. *American Journal of Physiology* 1999; 279: G58-G63
- Meli R, Autore G, Di Carlo G, Capasso F. Inhibitory action of quercetin on intestinal transit in mice. *Phytotherapy Research* 1990; 4: 201-1

## Estudo clínico duplo-cego de extrato padronizado (BNT-08) das raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen: avaliação do efeito tônico em atividade física

Luís Carlos Marques<sup>1\*</sup>; Marcelo Árias Danucalov<sup>2</sup>; Fernando Torres<sup>2</sup>; José Carlos F. Galduróz<sup>2</sup>; Elisaldo L. A. Carlini<sup>3</sup>; Antonio Carlos Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, bloco T22, 87020-900, Maringá, PR

<sup>2</sup> Departamento de Fisiologia do Exercício, Universidade Federal de São Paulo, SP

<sup>3</sup> Departamento de Psicobiologia, Universidade Federal de São Paulo, SP, Brasil  
lcmarques@teracom.com.br

## Resumo

Realizou-se estudo clínico duplo-cego controlado com placebo, buscando-se comprovar os efeitos tônicos em atividade física atribuídos às raízes de *Pfaffia glomerata*. Foram triados 38 voluntários normais e realizou-se testes ergoespirométricos, com medição de VO<sub>2</sub> máximo, carga máxima atingida, frequência cardíaca submáxima e níveis sanguíneos de lactato no início e no fim do teste. Os voluntários receberam o extrato das raízes ou placebo por seis meses. Ocorreu apenas uma desistência no grupo placebo, não se verificou alterações clínico-laboratoriais e anotou-se manifestações mínimas de efeitos adversos. O teste ergoespirométrico realizado no início e no fim do estudo clínico não evidenciou alterações positivas ou negativas nos vários parâmetros analisados. Concluiu-se que, nos termos do protocolo utilizado e com o número de voluntários envolvidos, que o extrato padronizado das raízes de *Pfaffia glomerata* não promoveu benefícios aos voluntários em termos de aptidão e atividade física.

## Abstract

This double-blind clinical study controlled with placebo, being looked for to check the tonic effects in physical activity attributed to the roots of *Pfaffia glomerata*. It was selected 38 normal volunteers and it took place ergoespirometric tests, with mensuration of VO<sub>2</sub> maximum, reached maximum load, frequency heart and blood levels of lactato. The volunteers received the extract of the roots or placebo for six months. It just happened a waiver in the group placebo, it was not verified clinical-laboratorials alterations and it scored minimum manifestations of adverse effects. The ergoespirometric test accomplished in the beginning and at the end of the clinical study it didn't evidence positive or negative alterations in the several analyzed parameters. It was ended that, in the terms of the used protocol and with the number of involved volunteers, that the standardized extract of the roots of *Pfaffia glomerata* didn't promote benefits to the volunteers in aptitude terms and physical activity.

O envelhecimento provoca uma série de alterações fisiológicas e anatômicas nas pessoas, destacando-se os problemas relacionados à atividade física e alterações cardiovasculares, com declínio da captação de oxigênio, da frequência cardíaca máxima, do débito cardíaco máximo, da capacidade de perfusão periférica, dentre outros<sup>7,5</sup>. Diversas plantas apresentam a capacidade de aumentar a resistência a diversos tipos de estressores<sup>2,10</sup>, tanto na área de performance psicomotora e desempenho cognitivo de voluntários jovens e idosos<sup>11</sup> como em pesquisas voltadas ao esporte<sup>3,9</sup>.

Nesse contexto, testou-se um extrato padronizado das raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, conhecidas como “ginseng” brasileiro e amplamente utilizadas por idosos como produtos “tônicos” para a memória e para a atividade física.

### Material e Métodos

**Padronização do produto:** A planta florida foi coletada em Porto Rico (PR) e botanicamente identificada; as raízes foram adquiridos do mercado de drogas vegetais e submetidas a controle de qualidade<sup>8</sup>. Os extratos foram preparados por turbólise com solventes orgânicos, concentrados e levados a extrato seco com excipiente (amido de milho) em ‘spray-dryer’ industrial. Esse extrato seco foi padronizado em teor da saponina triterpênica  $\beta$ -ecdisona e como placebo utilizou-se açúcar mascavo comum.

**Crítérios de inclusão e exclusão e aspectos éticos:** Foram triados voluntários idosos normais e com diferentes padrões de atividade física. Excluiu-se voluntários com diagnóstico de demências, medicação tipo nootrópica, incapacitados para atividade física ou com problemas cardiovasculares. Seguiu-se os termos da Resolução CNS nº 196<sup>1</sup>, e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição.

**Protocolo do estudo clínico:** O protocolo envolveu uma anamnese inicial, coleta de sangue para testes laboratoriais, avaliação cardiológica com ECG de repouso e teste ergométrico com ECG de esforço. A fase inicial da pesquisa envolveu o teste ergoespirométrico basal e medição do lactato sanguíneo; também realizou-se a medição da viscosidade sanguínea. Seis meses após, repetiu-se o protocolo com a repetição de todos esses testes.

**Teste ergoespirométrico e ácido láctico:** Utilizou-se um cicloergômetro de membros inferiores modelo MET 300, no qual realizou-se teste de esforço incremental. As medidas foram realizadas no repouso, durante o exercício (25 watts até a exaustão) e no período de recuperação utilizando-se um sistema metabólico integrativo Vista CX; o ar expirado pelos voluntários era conduzido ao sistema por uma cânula de PVC. O consumo de oxigênio e a produção de gás carbônico foram medidos por calorimetria indireta respiratória pelo método de circuito aberto. A frequência cardíaca foi medida por um monitor cardíaco que opera por telemetria, modelo Vantage XL.

Coletou-se sangue do lóbulo de orelha dos voluntários

nas diversas fases do teste, e empregou-se um analisador de lactato marca Yellow Springs Instruments, mod 1500 Sport (USA).

**Esquema de tratamento e acompanhamento:** Distribuiu-se os voluntários nos grupos *Pfaffia* e placebo, alocando-os da forma o mais homogênea possível quanto aos vários parâmetros. Submeteu-se os voluntários a seis meses de ingestão da droga vegetal (2 cápsulas de 300 mg de extrato seco) ou placebo (2 cápsulas de 500 mg). Os voluntários retornaram ao serviço a cada 1-2 meses para avaliação do estado geral e de possíveis efeitos tanto negativos como positivos.

**Medida da viscosidade sanguínea:** Foi realizada com o aparelho “Wells-Brookfield Cone/Plater Viscosimeter”, que permite determinar a viscosidade absoluta de fluidos e amostras de pequenos volumes<sup>4</sup>.

**Análise estatística:** Os dados foram analisados por Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguida de comparações pelo Teste de Duncan, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

### Resultados

**Caracterização do extrato padronizado BNT-08:** A identificação botânica da espécie foi confirmada pelo especialista prof. Josáfa Carlos de Siqueira (PUC-RJ). O controle de qualidade foi realizado em termos farmacognósticos, comparando-se o lote de mercado com o lote coletado e botanicamente identificado. O extrato seco foi padronizado por HPLC em 0,96% de  $\beta$ -ecdisona.

**Seleção e características dos voluntários:** Foram avaliados 44 voluntários do sexo masculino, com seis exclusões, sendo 4 por hipertensão sem controle, 1 com ECG de esforço sugestivo de obstrução coronariana, 1 voluntário por alterações diversas nos exames laboratoriais e outro 1 que não conseguiu realizar o teste de ergoespirometria. Iniciou-se o estudo com 37 voluntários, mas 1 do grupo placebo descontinuou o tratamento e foi eliminado, finalizando-se o estudo com 36 voluntários.

**Tabela 1.** Características dos grupos de voluntários do estudo clínico

Características	Grupo placebo	Grupo <i>Pfaffia</i>
N	18	18
Idade (média $\pm$ dp)	59,7 $\pm$ 6,6	61,7 $\pm$ 7,3
3º grau (frequência)	11	10
2º grau (frequência)	3	4
1º grau (frequência)	5	4
Raça branca (frequência)	16	16
Raça negra (frequência)	0	1
Orientais (frequência)	3	1

**Tabela 2.** Dados da viscosidade sanguínea dos voluntários

Grupo	Viscosidade inicial	Viscosidade final	N
Placebo	4,0 ± 0,6	3,8 ± 0,4 *	15
<i>Pfaffia</i>	4,2 ± 0,6	3,9 ± 0,5 *	15

\* Estatisticamente diferentes dos valores da fase inicial ( $p < 0,05$ ). Dados da ergoespirometria.

A ergoespirometria forneceu uma série de informações da fisiologia do exercício, que foram utilizadas conjuntamente com outra tese de pós-graduação (mestrado em farmacologia, área de fisiologia do exercício). No presente caso, foram destacados alguns desses itens que mais globalmente expressam o desempenho nesse teste. Os valores correspondem aos realizados no início e no final do período de administração do medicamento ou placebo.

**Tabela 3.** Dados da ergoespirometria nas fases inicial e final do experimento (N= 18 nos dois grupos)

Parâmetros do teste	FASE INICIAL		FASE FINAL	
	Placebo	<i>Pfaffia</i>	Placebo	<i>Pfaffia</i>
VO <sub>2</sub> máximo (ml/kg/ml)	31,9 ± 9,8	33,0 ± 11,4	34,0 ± 9,8	35,6 ± 11,3
(l/min)	2,3 ± 0,7	2,4 ± 0,9	2,5 ± 0,7	2,5 ± 0,8
FC máxima (bpm)	157,6 ± 15,0	155,2 ± 15,0	159,9 ± 13,5	160,6 ± 15,4
Carga máxima (watts)	181,1 ± 50,1	168,4 ± 54,6	181,7 ± 50,7	170,8 ± 60,6
Lactato (Mmol)				
no repouso	1,38 ± 0,61	1,21 ± 0,44	1,83 ± 0,88	1,84 ± 0,68
no final do exercício	7,52 ± 1,98	6,27 ± 1,95	7,71 ± 2,63	8,00 ± 4,00

ANOVA, não significante

*Dados toxicológicos e de efeitos adversos:* Durante o tratamento, ocorreram citações de efeitos adversos em sete voluntários, sendo quatro do grupo placebo (dores de estômago, fezes pastosas, dores na região abdominal, erupções de pele, salivação e gosto diferente na boca e secura na boca) e três no grupo *Pfaffia* (fezes pastosas, crise aguda de ansiedade e dois casos de torpor). A avaliação comparativa dos exames laboratoriais na fase inicial e após seis meses de tratamento também não evidenciou alterações hematológicas ou bioquímicas de sangue e urina que apontassem efeitos tóxicos promovidos pelo extrato.

### Discussão e Conclusões

Como a literatura aponta relação entre condicionamento físico e performance cognitiva em idosos<sup>6</sup>, buscou-se realizar este trabalho como complementação à avaliação cognitiva que se realizava no mesmo grupo de voluntários. O estudo foi concluído com apenas uma desistência no grupo placebo, sem alterações clínico-laboratoriais e com manifestações mínimas de efeitos adversos em sete voluntários, o que evidencia ser o extrato padronizado BNT-08 um produto de boa aceitação e com baixa ocorrência de reações negativas.

O teste ergoespirométrico realizado no início e no fim do estudo clínico não evidenciou alterações positivas ou negativas nos vários parâmetros analisados. A única alteração ocorreu nos valores de lactato em repouso (no início do teste ergoespirométrico), os quais atingiram valores altos na etapa

final do tratamento para ambos os grupos placebo e tratado. Em relação à viscosidade sanguínea, encontrou-se valores inferiores aos encontrados no início do tratamento, porém em ambos os grupos. Tais dados não mostram relação com o fator tratamento dos voluntários.

A avaliação dos outros dados da ergoespirometria das fases inicial e final do estudo clínico mostra que não ocorreram diferenças significativas entre o desempenho do grupo placebo e grupo *Pfaffia* nos parâmetros VO<sub>2</sub> máximo, frequência cardíaca submáxima, carga máxima de trabalho e níveis de lactato ao final do exercício. A distribuição dos dados em subgrupos de acordo com o padrão de atividade física igualmente não possibilitou evidenciar-se diferenças significativas.

Esses resultados apontam à ausência de efeitos adaptativos da *Pfaffia glomerata* em termos do stress do exercício nos voluntários participantes do estudo. Em relação ao ginseng coreano, há contradições na literatura quanto à obtenção de efeitos tônicos em atividade física<sup>9</sup>. Tais contradições, ora relacionadas à *Pfaffia glomerata*, carecem de estudos complementares, com ampliação do número de voluntários ou do leque de doses testadas, de modo a confirmar-se a ausência desse efeito popular e comercialmente relatado.

Os dados obtidos permitem a conclusão de que, nos termos do protocolo utilizado e com o número de voluntários envolvidos, que o extrato padronizado das raízes de *Pfaffia glomerata* não promoveu nenhum benefício aos voluntários em termos de aptidão e atividade física, contrariando uso popular e propaganda comercial de diversos produtos contendo raízes

de espécies deste gênero.

## Referências

- <sup>1</sup> BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196 de 10.10.96 a
- <sup>2</sup> Dellaloggia, R.; Sosa, S.; Biachi, P.; Bombardelli, E. & Tubaro, A. Anti-stress activity of a ginseng extract: a subchronic study in mice. *Planta Medica*, 57(suppl. 2): A6-7, 1991
- <sup>3</sup> Forgo, I. Effect of drugs on physical performance and hormone system of sportmen. *Münchener Medizinische Wochenschrift*, 125(38): 822-4, 1983
- <sup>4</sup> Galduróz, J.C.F.; Santos, R.F. & Carlini, E.A. Os efeitos da idade e sexo sobre a viscosidade sanguínea em voluntários normais. *Temas*, 25(50): 159-66, 1995
- <sup>5</sup> Lamb, D.R. Exercise in older adults. In: Gisolfi, C.V.; Lamb, D.R. & Nadel, E. *Perspectives in exercise science and sports medicine*, 8. USA, Cooper, 1995
- <sup>6</sup> Marques, L.C. Avaliação da ação adaptógena das raízes de *Pfaffia glomerata* (Sprengel) Pedersen – Amaranthaceae. São Paulo, Unifesp/Escola Paulista de Medicina, 1998. Tese de doutorado
- <sup>7</sup> McArdle, W.D.; Katch, F.I. & Katch, V.L. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho*. Rio de Janeiro, Interamericana, 1985
- <sup>8</sup> Oliveira, F.; Akisue, G. & Akisue, M.K. Contribuição para o estudo farmacognóstico do "ginseng brasileiro" *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. *An.Farm.Quim.S.Paulo*, 20(1/2): 261-77, 1980
- <sup>9</sup> Pieralisse, 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*, 13(3): 1-11, 1991
- <sup>10</sup> Saito, H.; Yoshida, Y. & Takagi, K. Effect of Panax ginseng root on exhaustive exercise in mice. *Japan. J. Pharmacol.*, 24: 119-27, 1974
- <sup>11</sup> Sanderberg, F. Vitality and senility: the effects of the ginsenosides on performance. *Svens Farmaceutisk Tidskrift*, 84(13): 499-502, 1980
- <sup>12</sup> Schepdael, P.V. Les effets du ginseng G115 sur la capacité physique de sportifs d'endurance. *Acta Therapeutica*, 19: 1-11, 1993. UEM/UNIFESP

## Estudo da atividade inibitória enzimática da quercetina sobre a resposta vasodressora induzida pela bradicinina

Luciane Pereira Nascimento Häckl; Gareth Cuttle; Selma Sanches Dovichi; Mauro Nicolau\*

Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil  
mnicolau@mbox1.ufsc.br

### Resumo

Em estudos recentes tem sido sugerido que os flavonóides, compostos de origem vegetal sendo encontrados em vários produtos alimentares, possuem uma ação inibitória de vários sistemas enzimáticos. A inibição da enzima conversora da angiotensina (ECA) tem sido utilizada no tratamento da hipertensão. O mecanismo de ação dos inibidores da ECA implica na formação da Angiotensina II e na degradação da bradicinina. O propósito do presente estudo foi de analisar a ação da quercetina na atividade da ECA através da avaliação do efeito da angiotensina I (AI) e da bradicinina (BK) na pressão arterial de ratos anestesiados. Foram utilizados neste estudo ratos Wistar machos adultos. Estes animais foram anestesiados com uretana e foi introduzida na traquéia uma cânula de polietileno (PE 240) para facilitar a respiração. Também foi isolada e canulada (PE 50) a veia jugular para administração das substâncias em estudo. Para registro da pressão arterial foi introduzida na artéria carótida comum esquerda uma cânula de polietileno (PE 50) acoplada a um transdutor de pressão. A administração de BK (10 nmol/kg, i.v.) induziu um efeito hipotensor, enquanto que a administração de AI (0,1 nmol/kg) induziu uma resposta hipertensora. Pré-tratamento com captopril v.o. (100 nmol/kg) 45 min antes e i.v. (10 nmol/kg) 5 min antes aumentou significativamente a resposta à BK; embora captopril reduziu, também significativamente, o efeito da AI. O tratamento com quercetina via oral (30 mg/kg) 45 min antes e via intravenosa (5 mg/kg) 5 min antes aumentou significativamente o efeito da BK. O efeito da AI foi significativamente reduzido por ambos os tratamentos. Estes resultados sugerem que a quercetina potencializou o efeito hipotensor da bradicinina e reduziu o efeito hipertensor da angiotensina I através de ação inibitória sobre a enzima conversora da angiotensina, portanto apresentando um mecanismo de ação semelhante ao captopril.

A enzima conversora da angiotensina (ECA) cataliza a formação da angiotensina II (AII) à partir da angiotensina I e participa na degradação da bradicinina (BK) em produtos inativos<sup>1</sup>. Inibidores da ECA são amplamente usados no tratamento da hipertensão, diminuindo a pressão arterial sem alterar a frequência cardíaca<sup>2</sup>. A quercetina é um bioflavonóide ampla-