

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DAS ESPÉCIES *Alpinia speciosa* E *Alpinia zerumbet* (Galanga)

Organização: Ministério da Saúde e Anvisa

Fonte de Recurso: Ação 20K5 (DAF/SCTIE/MS)/2012

Brasília

2014

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotos de <i>Alpinia zerumbet</i> .....	10
Figura 2: Gráfico de distribuição geográfica das espécies em estudo nos continentes terrestres.....	11
Figura 3: Gráfico da prevalência de utilização das diferentes partes da planta dentre todos os órgãos vegetais citados na literatura pesquisada.....	12
Figura 4: Prevalência de diferentes órgãos vegetais utilizados para a obtenção do óleo essencial.....	20
Figura 5: Prevalência das atividades testadas <i>in vitro</i> referentes às espécies de interesse <i>A. zerumbet</i> e <i>A. speciosa</i> .....	33

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro I: Levantamento de informações científicas nas bases de dados de patentes...81

Quadro II: Documentos relacionados à proposta da monografia em questão encontrados nas bases EPO, WIPO e JPO.....82

## LISTA DE ABREVIATURAS

%: porcentagem	DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
$\mu$ L: microlitro	EA: antígeno early
5-HTP: 5-hidroxitriptofano, precursor do neurotransmissor serotonina	EBV-EA: vírus Epstein-Barr
ABTS: atividade antioxidante total	EC <sub>50</sub> : metade da concentração máxima eficaz
ACA: 1'S-1'acetoxichavicol	ELISA: ensaio imunoenzimático
ADP: adenosina difosfato	EMAC: éter metílico do álcool- $\gamma$ -O-cumarílico
AGEs: glicação avançada	EPIN: epinefrina
As: Arsênio	EPO: Gabinete Europeu de Patentes
ATP: adenosina trifosfato	ESR: velocidade de sedimentação eritrocitária
BCB: $\beta$ -caroteno	FA: acetonida de fluocinolona
CFT: Conteúdo fenólico total	FE: fenilefrina
CHCl <sub>3</sub> : clorofórmio	FIC: íon ferroso
CHOP: potenciador de ligação proteína-proteína homóloga	FITC: fluorescência pelo isotiocianato
CIM: concentração inibitória mínima	g: grama
CYP2D6: citocromo P450 2D6	GPX: glutaciona peroxidase
CYP3A4: citocromo P450 3A4	GSH: glutaciona
DAC: diacetato de <i>p</i> -cumarila	GST: glutaciona S-transferase
DDK: diidro-5-6-deidrokawaina	GST-P: glutaciona S-transferase placentária
DK: 5,6-deidrokawaina	h: hora
DL <sub>50</sub> : dose letal mediana	
DMSO: dimetil sulfóxido	

HCMV: citomegalovírus humano	MRSA: <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
HCV: vírus da hepatite C	N: nitrogênio
HIV-1: vírus da imunodeficiência humana tipo 1	N <sub>2</sub> : gás nitrogênio
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência	NA: neuraminidase
i.v: intravenosa	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : sulfato de sódio
INPI: Instituto Nacional da Propriedade Industrial	NFκB: fator nuclear kappa B
JPO: Gabinete de Patentes do Japão	Ni: níquel
Kg: quilograma	nm: nanometro
LDL: lipoproteína de baixa densidade	NO: óxido nítrico
L-NAME: éster metílico da 1-nitro-L-arginina	OE: óleo essencial
L-NAME: inibidor da síntese de óxido nítrico	PAM: pressão arterial média
LPO: lipídios peroxidados	PAP: pressão arterial pulsátil
LPS: lipopolissacarídeo	Pb: chumbo
m: metro	PCC: conteúdo de proteínas carboniladas
MDA: malonildialdeído	PDA: ágar batata dextrose
MeOH: metanol	pH: potencial hidrogeniônico
mL: mililitro	ROS: espécies reativas de oxigênio
mm: milímetro	Rpm: rotações por minuto
MN: micronúcleos em medula óssea	SNC: sistema nervoso central
	SOD: superóxido dismutase
	TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TPA: 13-acetato de 12-*O*-tetradecanoil-forbol

UFC: unidades formadoras de colônia

US Patents: Patentes dos Estados Unidos

UV: radiação ultravioleta

VCAM1: molécula de adesão celular vascular

VD: ventrículo direito

VE: ventrículo esquerdo

vo: via oral

WIPO: Organização Mundial da Propriedade Intelectual

WT: camundongo do tipo selvagem

## SUMÁRIO

1.	IDENTIFICAÇÃO .....	10
1.1	Nomenclatura Botânica .....	10
1.2	Sinonímia Botânica .....	10
1.3	Família.....	10
1.4	Foto da planta .....	10
1.5	Nomenclatura popular .....	11
1.6	Distribuição geográfica .....	11
1.7	Outras espécies correlatadas do gênero, nativas ou exóticas adaptadas.....	11
2	INFORMAÇÕES BOTÂNICAS .....	12
2.1	Parte utilizada/ Órgão vegetal .....	12
2.2	Descrição macroscópica da parte da planta utilizada .....	12
2.3	Descrição microscópica da parte da planta utilizada.....	13
2.4	Informações sobre possíveis espécies vegetais similares que possam ser utilizadas como adulterantes .....	16
3	INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE.....	17
3.1	Espécie vegetal/ droga vegetal .....	17
3.1.1	Características organolépticas .....	17
3.1.2	Requisitos de pureza.....	17
3.1.2.1	Perfil de contaminantes comuns.....	17
3.1.2.2	Microbiológico .....	17
3.1.2.3	Teor de umidade.....	17
3.1.2.4	Metal pesado .....	17
3.1.2.5	Cinzas .....	18
3.1.3	Granulometria .....	18
3.1.4	Prospecção fitoquímica .....	18
3.1.5	Testes físico-químicos.....	18
3.1.6	Teste de identificação.....	18
3.1.7	Teste de quantificação .....	19
3.1.7.1	Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não. .	19
3.1.8	Outras informações úteis para o controle de qualidade.....	19
3.2	DERIVADO VEGETAL.....	19

3.2.1 Descrição.....	19
3.2.2 Método de obtenção .....	19
3.2.3 Características organolépticas .....	22
3.2.4 Requisitos de pureza.....	22
3.2.5 Testes físico-químicos.....	22
3.2.6 Prospecção fitoquímica .....	22
3.2.7 Testes de identificação .....	23
3.2.8 Testes de quantificação .....	23
3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não. .	23
3.3 Produto final.....	28
4 INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA E EFICÁCIA .....	28
4.1 Usos populares/ Tradicionais .....	28
4.2 Presença na notificação de drogas vegetais.....	29
As espécies não constam na RDC 10/2010.....	29
4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS .....	29
4.3.1 Estudos toxicológicos.....	29
4.3.1.1 Toxicidade aguda .....	29
4.3.1.2 Toxicidade subcrônica.....	30
4.3.1.3 Toxicidade crônica .....	31
4.3.1.4 Genotoxicidade.....	31
4.3.1.5 Sensibilização dérmica.....	32
4.3.1.6 Irritação cutânea .....	32
4.3.1.7 Irritação ocular .....	33
4.3.2 ESTUDOS FARMACOLÓGICOS.....	33
4.3.2.1 Ensaio <i>in vitro</i> .....	33
4.3.2.2 Ensaio <i>in vivo</i> .....	55
4.3.2.3 Ensaio <i>ex vivo</i> .....	67
4.4 ESTUDOS CLÍNICOS .....	72
4.4.1 Fase I.....	72
4.4.2 Fase II.....	73
4.4.3 Fase III .....	74
4.4.4 Fase IV .....	75
4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO	76
4.5.1 Vias de administração .....	77



4.5.2 Dose diária .....	78
4.5.3 Posologia (Dose e intervalo) .....	78
4.5.4 Período de utilização .....	78
4.5.5 Contra Indicações.....	78
4.5.6 Grupos de Risco .....	79
4.5.7 Precauções de Uso.....	79
4.5.8 Efeitos Adversos Relatados.....	79
4.5.9 Interações Medicamentosas.....	79
4.5.9.1 Descritas .....	79
4.5.9.2 Potenciais .....	79
4.5.9.3 Informações de Superdosagem.....	79
4.5.9.4 Descrição do quadro clínico .....	80
4.5.9.5 Ações a serem tomadas .....	80
5 INFORMAÇÕES GERAIS .....	80
5.1 Formas farmacêuticas/ formulações descritas na literatura.....	80
5.2 Produtos registrados na anvisa e outras agências reguladoras .....	80
A tintura preparada a partir de folhas de <i>A. zerumbet</i> consta do Formulário Nacional de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira. Entretanto, as espécies vegetais <i>A. speciosa</i> e <i>A. zerumbet</i> não possuem registro na ANVISA (11).....	80
5.3 Embalagem e armazenamento.....	80
5.4 Rotulagem .....	80
5.5 Monografias em compêndios oficiais e não oficiais .....	81
5.6 Patentes solicitadas para a espécie vegetal.....	81
Quadro I: Levantamento de informações científicas nas bases de dados de patentes .....	81
Quadro II: Documentos relacionados ao uso medicamentoso de <i>Alpinia speciosa</i> e <i>Alpinia zerumbet</i> , encontrados nas bases de dados EPO, WIPO e JPO.....	82
5.7 DIVERSOS .....	84
5.7.1 Curiosidades.....	84

# 1. IDENTIFICAÇÃO

## 1.1 Nomenclatura Botânica

*Alpinia speciosa* (Blume) D. Dietr e *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt & RMSM.

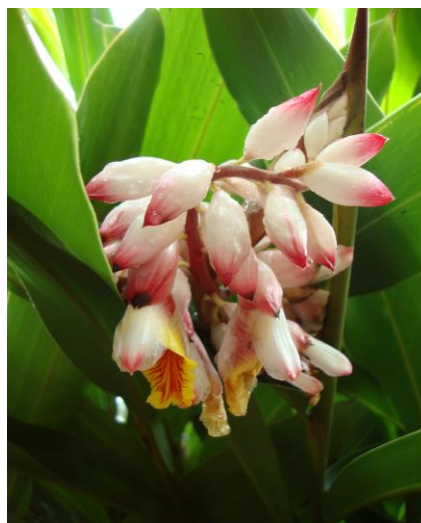
## 1.2 Sinonímia Botânica

*Alpinia speciosa* K. Schum., *Etilingera elatior* Sm RM (Jack), *Alpinia speciosa* (JC Wendl.) K. Schum, *Alpinia fluviatilis* Hayata, *Alpinia schumanniana* Valeton, *Catimbium speciosum* (J.C.Wendl.) Holttum, *Costus zerumbet* Pers., *Languas schumanniana* (Valeton) Sasaki, *Languas speciosa* (J.C. Wendl.) Merr., *Languas speciosa* (J.C. Wendl.) Small, *Renealmia spectabilis* Rusby, *Zerumbet speciosum* J.C. Wendl, *Languas pyramidata*, *Nicolaia speciosa* Horans, *Phaeomeria Horans speciosa*, *A. nutans* Roscoe, *Globba nutans* Redoute, *Catimbium speciosum* Holtt, *Zerumbet speciosum* Wendl, *Renealmia nutans* Andr.

## 1.3 Família

Zingiberaceae

## 1.4 Foto da planta



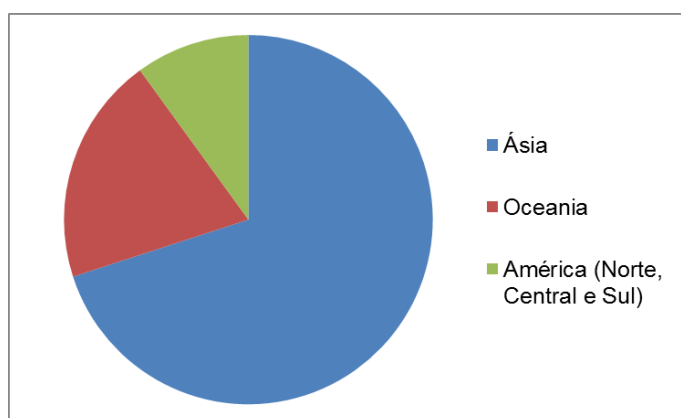
**Figura 1:** Fotos de *Alpinia zerumbet*. Fonte: Dra. Ana Maria Soares Pereira, Ribeirão Preto, São Paulo.

## 1.5 Nomenclatura popular

Alpinias; Alpinia galanga; Alpinia galangas; Alpinia; Galanga; Galangas; Gengibre tocha ou flor de cera; Colônia; Flor-da-redenção; Bastão-do-imperador; Paco-seroca; Cuité-açu; Pacova; Gengibre-concha; Bunga kantan; Gengibre; Kecombrang; Kincung; Vindica; Vindica-grande; Jardineira; Colônia espinho de cigano; Bunga kantan; Shell ginger.

## 1.6 Distribuição geográfica

Originárias das Índias Orientais e naturalizadas nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, Oceania e Ásia. Ambas as espécies estão distribuídas pela Ásia Tropical e Ocidental, China, Polinésia, Indonésia, Malásia, Filipinas e Brasil, sendo amplamente cultivadas no sudeste asiático.



**Figura 2:** Gráfico de distribuição geográfica das espécies em estudo nos continentes terrestres.

## 1.7 Outras espécies correlatadas do gênero, nativas ou exóticas adaptadas

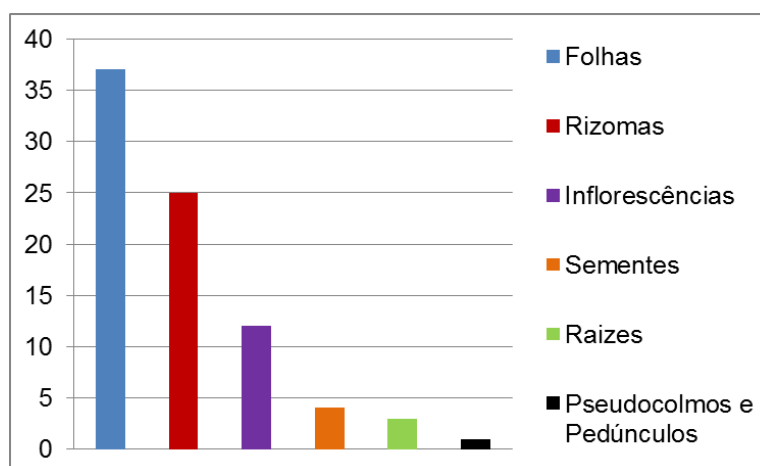
*Alpinia calcarata*, *A. officinarum*, *Etingera fulgens*, *E. maingayi*, *E. rubrostriata*, *E. giseke*, *E. pyramidosphaera* (K. Schum.), *E. megalocheilos* (Griff.), *E. coccinea* (Blume), *E. brevilabrum* (Valeton), *A. officinarum* Hance, *A. oxyphylla* Miq., *A. japonica*, *A. mutica* Robx., *Costus globosus* Bl., *E. littoralis* (König), *Zingiber pachysiphon* Burt e Smith, *Z. purpureum* Roscoe.,

*A. formosana*, *A. intermedia*, *A. katsumadai*, *Z. spectabile* Griff., *A. purpurata* (Viell.) Schum., *Kaempferia galanga.*, *A. allughas* Rosc.

## 2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

### 2.1 Parte utilizada/ Órgão vegetal

As partes da planta mais citadas na literatura pesquisada são as folhas, seguidas pela seguinte ordem de prevalência: rizomas, inflorescências, sementes, raízes, pseudocolmos e pedúnculo. Esses órgãos vegetais foram utilizados para obtenção de óleo essencial e extratos da planta, assim como para a obtenção de constituintes isolados.



**Figura 3:** Gráfico da prevalência de utilização das partes da planta dentre todos os órgãos vegetais citados na literatura pesquisada.

### 2.2 Descrição macroscópica da parte da planta utilizada

A espécie *Alpinia zerumbet* é descrita da seguinte forma:

Planta herbácea, perene, com cerca de 2,5 m de altura, rizomatosa, com caule aéreo curto, folhas lanceoladas em disposição dística de base aguda e ápice cuspidado, pubescentes nos bordos. As folhas são curto-pecioladas, com longa bainha aberta e lígula desenvolvida. A sobreposição das bainhas origina um pseudo-caule (8).

### 2.3 Descrição microscópica da parte da planta utilizada

Para a lâmina foliar de *Alpinia zerumbet*, a literatura apresenta a seguinte descrição microscópica:

A epiderme, em visão frontal, mostra células poligonais de paredes retas, levemente espessadas, por vezes arqueadas ordenadas em fileiras. Tricomas ocorrem somente nos bordos, e estômatos, do tipo paracítico, acham-se em densidade equivalente a 7,3/mm<sup>2</sup> na face adaxial, e a 149/mm<sup>2</sup> na abaxial. Nesta face encontram-se ainda estômatos do tipo tetracítico. As células epidérmicas sobre as regiões costais têm dimensões reduzidas, paredes suberificadas e encerram corpúsculos arredondados de natureza silicosa. As células epidérmicas, em secção transversal, mostram contorno retangular e campos de pontuação nas paredes anticlinais. Registraram-se ainda, na face abaxial, grande concentração de gotículas de óleo nas células subsidiárias dos estômatos e células oleíferas que se destacam pelo formato pentagonal em secção transversal. Sob a epiderme, encontra-se de um a três estratos hipodérmicos constituídos de células grandes, de formato arredondado ou quadrangular, de paredes finas com numerosos campos de pontuações visíveis, principalmente nas paredes anticlinais. A mucilagem ocorre nas células dos parênquimas paliçádico e lacunoso, enquanto que gotículas de óleo ocorrem em todo o mesofilo, no floema e na bainha parenquimática dos feixes. As células epidérmicas têm forma elíptica ou retangular, paredes anticlinais e periclinais espessas. Na região do bordo, as células dos parênquimas paliçádico e lacunoso são menores, e ocorrem células oleíferas. O tecido vascular está representado por um ou dois feixes de grande porte de caráter transcurrente. A nervura mediana, no terço médio do limbo, exhibe secção transversal côncavo-convexa. A epiderme da face adaxial apresenta células retangulares com numerosos cristais de sílica e impregnação de suberina, a qual se manifesta também nas paredes periclinais internas podendo, ocasionalmente, estender-se através dos estratos subepidérmicos. A epiderme da face abaxial exhibe células de

forma retangular a elíptica, com paredes periclinais externas arqueadas, espessadas, anisotrópicas, recobertas por uma tênue cutícula. Estão presentes estômatos com amplas câmaras subestomáticas, assim como tricomas simples, unicelulares, curtos, posicionados, preferencialmente, na região entre a nervura e a lâmina. À semelhança das células da face adaxial, ocorrem numerosos cristais de sílica. O limite entre os tecidos da nervura e da lâmina está marcado, em ambas as faces, pela interrupção do tecido subepidérmico suberificado e pela ocorrência de um conjunto de células com paredes espessadas, dispostas em até cinco estratos que, na face abaxial, penetram entre os feixes vasculares. Esses elementos têm fraca ou nenhuma afinidade tintorial, distinguindo-se facilmente dos tecidos celulósicos e lignificados. O sistema vascular da nervura dispõe-se em três níveis. Feixes de pequeno porte, envolvidos por bainha esclerenquimática, estão relacionados à face adaxial. Feixes de médio porte, guarnecidos por casquetes de fibras, mais volumosos em relação à porção xilemática, acham-se posicionados ao nível mediano do parênquima fundamental, enquanto os feixes mais calibrosos acham-se relacionados à face abaxial, estando também guarnecidos por casquetes de fibras, no entanto, mais desenvolvidos em relação ao floema. Entre os feixes de grande porte, o parênquima fundamental mostra especialização exibindo células menores, ricas em cloroplastos e cristais prismáticos de oxalato de cálcio, delimitando grandes espaços intercelulares preenchidos por células braciiformes. Células oleíferas ocorrem, em baixa frequência, próximas aos grandes espaços intercelulares. A região mediana mostra secção transversal plano-convexa, observando-se na face adaxial projeção mais ou menos acentuada dos bordos. As células epidérmicas, na face adaxial, apresentam forma retangular, em secção transversal, com paredes espessadas, em maior grau as anticlinais e periclinais internas. As células que revestem as porções laterais e abaxial do pecíolo podem, contudo, exibir espessamento uniforme de todas as paredes celulares. Nessas regiões, as células são menores que as da face adaxial. Células oleíferas acham-se aleatoriamente distribuídas entre os elementos epidérmicos, distinguindo-se pela forma, em geral pentagonal, e pelo

adelgaçamento da parede celular. Os tricomas curtos, unicelulares, com paredes espessadas ocorrem exclusivamente na região limítrofe ao bordo, enquanto os estômatos posicionam-se nas laterais e mediana do arco abaxial. Internamente à epiderme, observa-se um tecido parenquimático que assume características próprias segundo sua posição no órgão. Os estratos adjacentes à epiderme adaxial, em número de três a quatro, exibem células de paredes moderadamente espessadas e suberificadas, contrastando com os elementos subepidérmicos da área correspondente ao bordo, onde o parênquima adquire caráter colenquimático, por vezes assemelhando-se a colênquima angular. Os elementos parenquimáticos adjacentes à face abaxial, dispostos em três a cinco estratos na porção mediana do arco, exibem também paredes levemente espessadas, com diferentes graus de suberificação. Outra especialização do parênquima corresponde à formação de um aerênquima posicionado entre os feixes vasculares de maior calibre, e relacionados à face abaxial do pecíolo. Os espaços delimitados pelas células parenquimáticas estão, em parte, ocupados por células braciiformes. O restante da estrutura exhibe parênquima fundamental com células de paredes finas, secção arredondada ou poligonal e dimensões variáveis segundo sua localização. Assim, os elementos mais calibrosos estão localizados na porção central da secção. Os feixes vasculares têm distribuição irregular, exceto os grandes feixes, que acompanham o arco abaxial da estrutura. Os feixes são colaterais, protegidos por dois casquetes de fibras, sendo o mais desenvolvido relacionado à porção floemática. O arco esclerenquimático que guarnece a porção xilemática, além de ter menor número de elementos, exhibe paredes menos espessadas. Relacionados à face adaxial encontram-se feixes muito reduzidos, totalmente envolvidos por um cordão de fibras, cujas paredes mostram diferentes graus de espessamento. Entre os feixes vasculares, intercalam-se cordões de fibras mais ou menos desenvolvidos chegando, por vezes, a se anastomosarem com os elementos mecânicos que envolvem os feixes. Ainda, por todo o parênquima, são observados pequenos feixes guarnecidos por elementos mecânicos mais desenvolvidos em relação à porção xilemática. No parênquima

observam-se pequenos cristais prismáticos de oxalato de cálcio. Células oleíferas acham-se predominantemente distribuídas no parênquima próximo aos feixes de grande porte. A região proximal do pecíolo distingue-se da mediana por apresentar cinco pequenos feixes vasculares envolvidos por bainha esclerenquimática, intercalados com os feixes de grande porte; e pela disposição dos casquetes de fibras dos feixes vasculares mais calibrosos, que se tocam através de suas extremidades acabando por soldarem-se formando um anel contínuo, sobretudo nos feixes vasculares posicionados nas laterais do arco. Na região proximal da lígula, verifica-se que a epiderme é constituída por células altas em paliçada, exibindo paredes fortemente cutinizadas. Os estratos subepidérmicos apresentam células com paredes espessadas. A lígula, com textura membranácea, exhibe epiderme uniestratificada. Na face adaxial os elementos epidérmicos apresentam forma retangular em secção transversal, com paredes anticlinais e periclinais internas espessadas. O espessamento acentua-se em relação às paredes periclinais externas nas células adjacentes ao bordo. Na face abaxial observa-se a ocorrência de estômatos, células oleíferas e numerosos tricomas unicelulares, simples, de tamanho variado e paredes espessadas. O mesofilo de natureza parenquimática exhibe células com paredes de espessura variável. Dispersas por todo o tecido, observam-se células oleíferas. O sistema vascular, imerso no parênquima, é constituído por feixes colaterais envolvidos por bainha mecânica, sendo mais congestionados nas proximidades do bordo onde se intercalam com cordões de fibras (8).

#### **2.4 Informações sobre possíveis espécies vegetais similares que possam ser utilizadas como adulterantes**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.



### **3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE**

#### **3.1 Espécie vegetal/ droga vegetal**

##### **3.1.1 Características organolépticas**

A literatura cita apenas os diferentes tons de rosa e vermelho da flor, que são responsáveis pelo uso ornamental da espécie (69).

##### **3.1.2 Requisitos de pureza**

###### **3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

###### **3.1.2.2 Microbiológico**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

###### **3.1.2.3 Teor de umidade**

O teor de umidade da inflorescência de *Etilingera elatior* (sin. *A. speciosa*) em um estudo foi de 89,9% (68). Para os demais órgãos vegetais não foram encontradas informações referentes ao teor de umidade.

###### **3.1.2.4 Metal pesado**

No caso dos metais pesados Ni, Cd, As, Pb, Hg, esses apresentaram concentração abaixo dos limites de detecção nas inflorescências de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*), o que indicou que o consumo desse órgão vegetal das espécies vegetais de interesse pode ser considerado seguro (68).

### **3.1.2.5 Cinzas**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### **3.1.3 Granulometria**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### **3.1.4 Prospecção fitoquímica**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### **3.1.5 Testes físico-químicos**

Os efeitos da secagem com ar quente sobre as propriedades físico-químicas das inflorescências de *Etlintera elatior* Jack. (sin. *A. speciosa*), foram analisadas, considerando-se três variáveis independentes: tempo (3-5 horas), a temperatura (40-80 °C) e a carga (0,5-2 kg/m<sup>2</sup>). Os resultados da otimização indicaram que a melhor resposta, dentro do intervalo estudado, foi alcançada com um tempo de secagem de 4,1h, à temperatura de 79°C e carga de 0,7 kg/ m<sup>2</sup> (88).

### **3.1.6 Teste de identificação**

Dois estudos referentes ao controle de qualidade da droga vegetal relatam um teste de identificação com as espécies abordadas nesta monografia.

O método preconizado pela AOAC foi utilizado para determinação da composição química das inflorescências de *E elatior* (sin. *A. speciosa*), com a quantificação de proteínas, gorduras, fibras, cinzas e extratos livres de nitrogênio, sendo empregado o método macroKjeldhal para determinação do teor de proteínas, o método de extração por Soxhlet com éter de petróleo para determinação das gorduras, o método

descrito por Indarti et al. (2005) para analisar o teor de ácidos graxos, o método descrito por Bhat et al. (2008) e Huda et al. (2010) para determinar os aminoácidos, o método preconizado por Bhat et al. (2010) para analisar os minerais e o teor de metais pesados e o método de Vaintraub e Lapteva (1988) para determinar o teor de ácido fítico (88).

A análise da textura de ervas secas através de um método instrumental foi realizada para *E. elatior* (sin. *A. speciosa*). Já a análise da coloração de ervas secas, realizado com as inflorescências de *E. elatior*, foi realizada por colorimetria (87).

### **3.1.7 Teste de quantificação**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

#### **3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não.**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### **3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

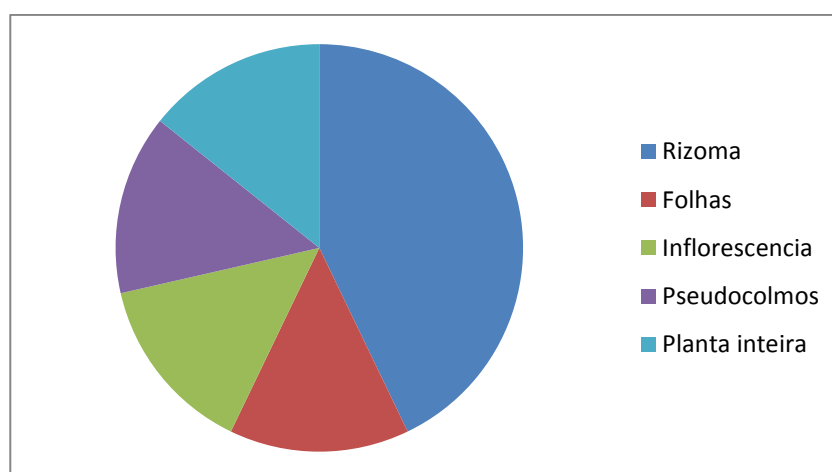
## **3.2 DERIVADO VEGETAL**

### **3.2.1 Descrição**

### **3.2.2 Método de obtenção**

A seguir são relatados dados referentes ao solvente utilizado, relação matéria-prima/solvente, utilização ou não de solvente de reconstituição, bem como o método de extração para a obtenção do derivado vegetal.

Para a obtenção do óleo essencial (OE), o único método de extração descrito é a hidrodestilação utilizando aparelho Clevenger, com tempo de extração variando de 3 a 8 horas (2, 6, 17, 37,92, 99). Foram encontradas sete publicações que descrevem a extração e análise da composição química do OE das espécies de interesse, sendo quatro para *A. speciosa* e três para *A. zerumbet*. A prevalência dos diferentes órgãos vegetais utilizados para a obtenção do OE pode ser visualizada na figura 3. O rendimento para os rizomas de *A. galanga* (sin. *A. speciosa*) variou de 0,27-0,56 % (17, 37), sendo que em um dos artigos o rendimento do óleo foi calculado com base no peso fresco (v/m) (2). No caso do estudo feito utilizando-se diferentes órgãos vegetais de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) e diferentes tempos de secagem do material vegetal, com cálculo dos rendimentos expressos em base seca, estes foram de 0,16% para folhas secas pelo período de 48 h, 0,1% para as inflorescências secas por 24 e 72 h, 0,047% para os rizomas secos por 6 h e 0,013% para pseudocolmos secos por 24 h (2). Outra publicação relata a obtenção do OE de *A. zerumbet* através do método descrito por Craveiro, et al. (1976), porém não puderam ser acessadas maiores informações (81). O óleo volátil de *A.galanga* (sin. *A. zerumbet*) foi extraído a partir de 1 kg de rizomas frescos por hidrodestilação utilizando aparelho Clevenger durante 3 h. Após secagem com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, o OE foi mantido sob atmosfera de N<sub>2</sub> e armazenado a -20 °C até à sua utilização (74). O OE da planta inteira de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) foi obtido por hidrodestilação com aparelho do tipo Clevenger por 8h (7).



**Figura 4:** Prevalência dos diferentes órgãos vegetais utilizados para a obtenção do óleo essencial

No caso do derivado vegetal ser o extrato, o solvente varia conforme o estudo, podendo ser água, etanol, metanol, acetona, n-butanol, acetato de etila, clorofórmio ou hexano, sendo que nenhum relato de utilização de solvente de reconstituição foi encontrado para os extratos. A forma de extração assim como a relação matéria-prima/solvente também varia conforme o extrato e método escolhido. Apenas dois estudos relatam o rendimento extrativo, um deles do extrato etanólico dos rizomas *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), obtido por maceração por 48 h sob agitação, como sendo de 7,7% (160). Outro artigo relata a extração sequencial de 16 Kg de rizomas secos moídos de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*), três vezes com cada um dos solventes extratores. Foram utilizados três diferentes solventes, a saber: clorofórmio, acetato de etila e metanol, sendo que os rendimentos obtidos para os extratos correspondentes foram 0,75, 0,31 e 0,05%, respectivamente (70). Os demais estudos não mencionam os rendimentos obtidos (5, 18, 35, 42, 52, 55, 70, 85, 91, 92, 102, 99, 141, 160, 178). O extrato metanólico de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) obtido a partir da extração de 1g de folhas frescas e inflorescências, separadamente, em 50 mL de metanol. O material vegetal foi pulverizado com nitrogênio líquido em um almofariz antes da extração, com agitação contínua durante 1 h à temperatura ambiente. Os extratos foram filtrados e armazenados a cerca de 20° C para posterior utilização (35). Também foram obtidos os extratos aquosos de folhas de *A. zerumbet* de plantas tratadas com sulfato de cobre 24 h antes da extração, bem como de plantas não tratadas com o produto. Os extratos aquosos foram posteriormente fracionados com clorofórmio e acetato de etila (5). Também foi relatada a obtenção do extrato metanólico, frações acetato de etila e n-butanólica do rizoma e das folhas de *Catimbiium speciosum* (sin. *A. zerumbet*). No entanto, não foi possível acessar maiores informações sobre o estudo (99). Já o extrato metanólico de *A. galanga* a partir de 0,5 kg de rizomas frescos foi obtido por maceração com 2,5 L de solvente, durante três a quatro dias à temperatura ambiente ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ), seguindo-se filtração. O filtrado foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi mantido a  $-20^\circ\text{C}$  até a sua utilização. Um dos trabalhos descreve a extração de 200 g de folhas frescas de *A. zerumbet* por diferentes métodos: ebulição em água destilada a  $100^\circ\text{C}$  por 20 min, por autoclavação a 1,5 Atm e  $121^\circ\text{C}$ , bem como por sonicação com etanol por 20 min (55). Extratos etanólico e hexânico de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) foram obtidos a partir de 100 g de rizomas frescos divididos em pequenos fragmentos e macerados a  $4^\circ\text{C}$  com 500 mL de cada solvente extrator, com agitação diária (18). Também foram obtidos extratos a partir de seis órgãos vegetais de *A. zerumbet*, (rizomas, caules, folhas, flores, pericarpo e

sementes). Os extratos aquosos foram preparados por ebulição durante 20 min de 10 g das amostras secas ao ar. No caso dos extratos etanólicos, as amostras foram imersas em etanol durante 24 h. Os extratos foram filtrados, secos sob vácuo e depois dissolvidos no solvente extrator para posterior análise (85). O mesmo grupo de pesquisa obteve o extrato acetônico de *A. zerumbet* a partir de amostras secas dos rizomas, caules, folhas, flores, pericarpo e sementes. O material vegetal (20 g) permaneceu em contato com 400 mL de acetona (70%) por 24 h à temperatura ambiente. Após a filtração, a acetona foi evaporada em rotaevaporador a 40 °C (42). Outro estudo avaliou diferentes solventes para a extração de folhas de *A. zerumbet* por diferentes métodos (extração a frio através de sonicação com etanol, hexano e acetato de etila; extração a quente em sistema aberto por infusão) e, segundo os autores, o método de infusão em água foi o melhor para a obtenção dos componentes ativos (55).

### **3.2.3 Características organolépticas**

Na literatura pesquisada apenas um artigo científico relata a utilização da espécie vegetal *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) devido ao sabor, como tempero e corante para molhos, sopas de peixe, legumes refogados e saladas, bem como o uso em pratos locais da Malásia conhecidos como 'nasi ulam', 'laksa asam', 'Kerabu', 'Laksa'(90).

### **3.2.4 Requisitos de pureza**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### **3.2.5 Testes físico-químicos**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### **3.2.6 Prospecção fitoquímica**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### 3.2.7 Testes de identificação

As análises de identificação relatadas foram realizadas pelos métodos de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC), HPLC acoplado à espectroscopia no ultravioleta (HPLC-UV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (2, 7, 17, 18, 37, 42, 52, 55, 91, 99).

### 3.2.8 Testes de quantificação

#### 3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não.

Com relação aos testes de quantificação dos constituintes químicos do OE de *A. speciosa* foram encontrados os seguintes estudos: O OE de folhas frescas de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) apresentou como principais constituintes químicos: 1,8-cineol (20,57%); terpinen-4-ol (19,39%);  $\gamma$ -terpineno (1,08%); sabineno (9,68%); *p*-cimeno (8,54%);  $\alpha$ -tujeno (6,35%);  $\alpha$ -terpineno (3,88%),  $\beta$ -pineno (3,02%); limoneno (2,64%);  $\alpha$ -pineno (2,38%); terpinoleno (1,93%);  $\beta$ -mirceno (1,20%); *E*-cariofileno (1,11%);  $\alpha$ -terpineol (0,86%); além de um composto não identificado (3,3%) (99). Adicionalmente, o OE da planta inteira da espécie *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) apresentou como constituintes majoritários o  $\beta$ -pineno (24,92%) e o 1-dodeceno (24,31%). Além destes, foram descritos como componentes do OE biciclo 2,6,6-trimetil [3.1.1] hept-2-eno (11,59%), ácido 3-bromo-7-metil-1-adamantanocarboxílico (1,38%), dodecanal (8,15%),  $\beta$ -farneseno (2,49%), 1,6,10,-dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno (2,41%),  $\alpha$ -cariofileno (1,99%), 1-dodeceno (24,31%), epóxido de  $\alpha$ -bisaboleno (2,56%), ácido acético (3,49%) e 1,3-propanodiol,2-dodecila (2,27%) (7). Em outro estudo, os compostos majoritários descritos para o OE de diferentes órgãos vegetais de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) foram: 2-ciclo-hexen-1-ona (93,42%) a partir de folhas secas por 6 horas, 2-tridecanona (51,55%) a partir dos pseudo-colmos secos por 24 h, 1-dodecanol a partir de rizomas (63,64%) secos por 48 h e das inflorescências (54,48%) secas por 24 h (2). No caso do OE obtido dos rizomas de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) foram

descritos como os principais constituintes monoterpenoides oxigenados, seguidos de sesquiterpenoides oxigenados, sesquiterpenos, diterpenoides oxigenados e diterpenos (37).

Um dos trabalhos de interesse relatou como principal constituinte do OE dos rizomas *Alpinia galanga* (sin. *A. zerumbet*) o 1,8- cineol, com percentagem variável entre 40,92 e 72,49 % (17). Outro estudo também descreveu o 1,8-cineol como principal componente do OE, desta vez das folhas de *A. zerumbet*, além de cânfora e cinamato de metila, enquanto o óleo dos rizomas continha principalmente hidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e cinamato de metila (7). Já outro grupo de pesquisa relata como constituintes químicos identificados no OE dos rizomas de *A. zerumbet*: 1,8-cineol (26,33%) como majoritário, além de  $\alpha$ -pineno (2,90%), canfeno (0,10%),  $\beta$ -pineno (1,69%), mirceno (1,49%),  $\alpha$ -terpineno (0,54%),  $\gamma$ -terpineno (0,95%), terpinen-4-ol (2,34%), chavicol (0,69%),  $\alpha$ -copaeno (0,29%), acetato de geranila (0,74%),  $\beta$ -elemeno (2,39%), metileugenol (0,57%),  $\beta$ -cariofileno (5,48%),  $\gamma$ -elemeno (2,33%),  $\alpha$ -humuleno (2,81%),  $\beta$ -farneseno (4,27%),  $\beta$ -selineno (5,14%),  $\alpha$ -selineno (3,31%),  $\beta$ -bisaboleno (4,78%),  $\beta$ -sesquifelandreno (0,76%) e acetato de eugenol (0,45%) (91).

O extrato metanólico de folhas de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) teve o conteúdo fenólico total (CFT) do extrato determinado pelo ensaio de Folin-Ciocalteu relatado por Kähkönen et al. (1999), sendo o resultado obtido de CFT= 3550 mg equivalentes de ácido gálico/100g (35).

Outro estudo descreve a determinação do teor de OE de folhas, rizomas e flores de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) e CFT deste OE com o reagente de Folin-Ciocalteu segundo metodologia descrita por Kaur et al. (2008) sendo relatado um CFT = 3341,2  $\pm$  92,1 GAE g/ kg. O teor de flavonóides totais do extrato etanólico de folhas (TFT) foi determinado pelo método  $AlCl_3$ , usando rutina como padrão. Os ácidos ferúlico e p - hidroxibenzóico foram os principais compostos fenólicos presentes nesses extratos e o TFT descrito foi de 244,8 g/ Kg (7).

Para o extrato etanólico de folhas *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) o CFT foi avaliado através do método de Folin-Ciocalteu, e apresentou como resultado 2.72  $\pm$  1.37 (mg equivalentes de ácido gálico / g amostra) (154). A avaliação da eficiência da extração com metanol de folhas, rizomas e inflorescências de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) através da determinação do CFT, sendo que este apresentou valores de 3,55  $\pm$



304 mg GAE/100 g,  $3750 \pm 555$  mg AA/100 g, e  $19,6 \pm 2,1$  mg GAE para as folhas,  $295 \pm 24$  mg GAE/ 100 g,  $268 \pm 45$  mg AA/ 100 g , e de  $1,5 \pm 0,2$  mg GAE/ g para inflorescências, e  $187 \pm 46$  mg GAE /100 g,  $185 \pm 59$  mg AA/100 g, e de  $0,9 \pm 0,2$  mg GAE/ g para rizomas, respectivamente. Os resultados possibilitaram recomendar esse solvente para a extração de compostos fenólicos de tecidos vegetais frescos devido a sua capacidade de inibir a polifenol-oxidase (35).

Dentre os treze estudos direcionados ao derivado vegetal que citam diferentes extratos, apenas sete relataram a quantificação dos componentes químicos e suas concentrações. Os rizomas secos (16 Kg) de *Etingera elatior* (sin. *A. speciosa*) foram extraídos sucessivamente com  $\text{CHCl}_3$ , acetona e metanol, para fornecer 120, 50 e 8 g de extrato, respectivamente. Esses extratos foram utilizados para obter diferentes constituintes isolados, sendo majoritários 1,7-bis(4-hidroxifenil)-2,4,6-heptatrienona, desmetoxicurcumina, 1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,4,6-heptatrien-3-ona, 16-hidroxiabda-8 (17),11,13-trieno-16,15-olideo, stigmast-4-en-3-ona, stigmast-4-eno-3,6-diona, stigmast-4-en-6- $\beta$ -ol-3-ona, 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxiergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol (70).

O extrato metanólico de rizomas de *Catimbum speciosum* (sin. *A. zerumbet*) foi utilizado para obter quatro frações (frações solúveis em hexano, acetato de etila, butanol e em água). Estas foram submetidas ao fracionamento por processos cromatográficos, através dos quais foram isolados os constituintes: Pinocembrina, naringenina, 3-metoxicanferol, pinocembrina chalcona, 5,6-deidrokawaina, cardamomina, sendo os dos últimos os constituintes majoritários (99).

Extratos aquosos, alcoólicos e hidroalcoólicos de folhas de *A. zerumbet* foram obtidos por diferentes métodos: extração por micro-ondas, ultrassom, maceração e agitação com ultraturrax. Os extratos aquosos e hidroalcoólicos (70%) apresentaram como constituintes majoritários rutina e canferol 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronídeo. Os teores de flavonoides foram determinados por HPLC, com detecção por UV-vis e variaram de acordo com o método extrativo, sendo apresentados na forma de gráficos, que demonstram que a extração por ultrassom em etanol a 70% é o método de escolha para a extração de rutina, enquanto que no caso do derivado do caferol, micro-ondas e ultrassom apresentam a mesma eficiência quando etanol a 70% é utilizado (49).

Outro estudo cita folhas frescas como uma boa fonte de compostos fenólicos, enquanto que folhas secas em estufa a 70 °C foram consideradas a matéria prima de escolha para a obtenção de diidro-5-6-deidrokawaina (DDK), obtida através do fracionamento por partição líquido-líquido (55).

Rizomas frescos (100 g) extraídos separadamente em etanol e hexano (500 mL) tiveram o teor de acetato de 1'-acetoxichavicol (ACA) determinado por HPLC, sendo obtidos valores de 3,8 mM para o extrato etanólico e 2 mM para o extrato de hexânico (18).

Os extratos aquoso e etanólico de seis órgãos vegetais de *A. zerumbet* (rizomas, caules, folhas, flores, pericarpos e sementes) foram preparados por ebulição em água e imersão em etanol por 24h. Os rizomas foram utilizados no isolamento de constituintes, apresentando como majoritários 5,6-deidrokawaina (DK), diidro-5,6-deidrokawaina (DDK), e 8(17),12-labdadien-15,16-dial (LDD), quantificados nos seis órgãos vegetais utilizando HPLC com detector UV, com base na área do pico e resultados expressos em mg/ g de extrato bruto. Os teores do constituinte DK para os extratos aquosos dos rizomas foi de 1,23 mg/ g, enquanto que no pericarpo foi de 1,15 mg/ g. Já para o extrato etanólico foram obtidos valores de 1,14 mg/ g para os rizomas. Os teores de DDK para os extratos aquosos foram de 0,85 e 0,62 mg/ g para pericarpos e rizomas, respectivamente. No caso do LDD, os teores encontrados para os extratos aquosos foram de 0,96 mg/ g (sementes), 0,81 mg/ g (pericarpos) e 0,75 mg/ g (rizomas). Esse constituinte também foi detectado no extrato etanólico de sementes (1 mg/ g). Também foi determinado o teor de compostos fenólicos totais (CFT) pelo método de Folin-Ciocalteu. O extrato aquoso apresentou maior teor de CFT, com maiores valores em sementes (187,75 mg de equivalentes de ácido gálico/ g de extrato [mg AGE/ g]), seguidas dos rizomas (124,51 mg AGE/ g), flores (75,15 mg AGE/ g), caules (59,41 mgAG/ g), pericarpos (58,42 mg AGE/ g) e folhas (47,80 mg AGE/ g) (85).

Diferentes órgãos vegetais de *A. zerumbet* (rizomas, caules, folhas, flores, pericarpos e sementes) foram extraídos por imersão em acetona 70% (24h). A quantificação de constituintes foi obtida por CG-EM, sendo que sua porcentagem variou de acordo com órgão vegetal. Os rizomas apresentaram sitosterol (8,25%), enquanto que nos caules esse constituinte foi detectado na porcentagem de 14,49% e nas folhas seu teor foi de 2,86%. No entanto, para as flores e pericarpo foi quantificado o stigmaterol,

com teores de 1,46 e 1,72%, respectivamente. Já nas sementes foi detectada a colest-4-eno-3,6-diona (1,84%) (42).

Os extratos clorofórmico e acetato de etila de folhas de *A. zerumbet* tratados com cobre pulverizado por 24 h foram avaliados quanto ao CFT, bem como quanto à determinação das substâncias hidro-5,6-deidrokawaina (DDK), vanilina e ácido cinâmico. Os conteúdos de DDK, vanilina e ácido cinâmico foram significativamente maiores nos extratos clorofórmico e acetato de etila obtidos de plantas tratadas com cobre. Os componentes voláteis que aumentaram após o tratamento com cobre incluíram: 1,8-cineol, cânfora, borneol e terpineno-4-ol. Segundo os autores, a aplicação foliar do sulfato de cobre pode regular a presença de compostos antioxidantes, influenciando, portanto, a sua atividade antioxidante (5).

Foi avaliado o CFT dos extratos hexânico e acetato de etila de flores e sementes de *A. zerumbet*. Os resultados relatam um CFT de 56,7 e 13,7 mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/ 100 g, respectivamente (4).

Os extratos metanólicos de folhas e rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) nas concentrações de 0, 2, 4, 6 e 8 mg/ mL, tiveram o CFT determinado, sendo que as folhas da espécie apresentaram  $392 \pm 50$  mg GAE/ 100 g, já para os rizomas os valores foram de  $214 \pm 20$  mg GAE/ 100 g (32).

Folhas de *A. zerumbet* foram submetidas a cinco diferentes métodos de secagem (microondas, em estufa, sob o sol, por congelamento e secagem ao ar), sendo obtidos o extrato metanólico e o chá. O CFT dos extratos foi determinado utilizando o ensaio de Folin-Ciocalteu. Os resultados indicaram que todos os métodos de secagem térmica (microondas, estufa, e secagem ao sol) resultaram em reduções drásticas no CFT. Com relação à secagem por métodos não-térmicos, perdas significativas no CFT foram observadas nas folhas secas ao ar, enquanto que a liofilização resultou em valores significativamente maiores do CFT (33).

Nos extratos metanólicos de folhas, rizomas e flores de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) e de folhas de *A. zerumbet* foi determinado o CFT através do método de Folin-Ciocalteu modificado por Kähkönen et al. (1999). Para obtenção do teor de fenólicos totais foram utilizados 300  $\mu$ L dos extratos. O CFT para o extrato de folhas de *A. zerumbet* foi de  $2012 \pm 289$  mg GAE/ 100 g, para as folhas de *A. galanga* foi de 392

$\pm 50$  mg GAE/ 100 g, no entanto para os rizomas dessa espécie vegetal o resultado foi de  $214 \pm 20$  mg GAE/ 100 g e para suas flores foi de  $302 \pm 91$  mg GAE/ 100 g (176).

O CFT também foi determinado nos extratos, frações fenólicas não poliméricas e frações contendo taninos poliméricos de folhas e rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) através do método de Folin-Ciocalteu. Os rendimentos de fenólicos nas frações não-poliméricas foram de 66-92%, já as frações poliméricas apresentaram um teor de 0,5-10% de taninos (57).

A quantidade de compostos fenólicos também foi determinada através do método de Folin-Ciocalteu (2006) nos extratos aquoso e etanólico de rizomas, sementes, pericarpo, flores, caules e folhas de *A. zerumbet*. Também foram isolados de rizomas da mesma os seguintes constituintes: 5,6-deidrokawaina (DK), diidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e 8 (17),12-labdadien-15,16-dial. Nesse estudo foi verificado que os extratos aquosos de sementes e rizomas continham quantidades mais elevadas de compostos fenólicos ( $187,75 \pm 0,97$  e  $124,51 \pm 0,57$  mg GAE/ g, respectivamente) do que as demais partes da planta (86).

### **3.3 Produto final**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

## **4 INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA E EFICÁCIA**

### **4.1 Usos populares/ Tradicionais**

As formas mais comuns de utilização popular são por infusão e decocção, porém a população também faz uso das espécies através do OE e de tintura. Geralmente o modo de uso é interno por via oral, porém no caso de tintura, o uso é externo, por via tópica. A posologia não foi informada na maioria das referências pesquisadas, entretanto em um dos artigos o estudo foi baseado na administração do preparado três vezes ao dia (8, 13, 21, 67, 68, 113, 131, 161).

As alegações de uso mostraram-se bem ecléticas, ou seja, compreendem desde atividade diurética moderada, antitussígena, antitérmica, analgésica, antimicrobiana, anti-estresse, nos casos de dores corporais, como expectorante, no tratamento de doenças infecciosas, dermatológicas, distúrbios gastrintestinais, como estimulante, nos casos de flatulência como carminativo, nos casos de dispepsia como laxante, em casos de vômitos e doenças do estômago, inflamação, alergia de pele causada por insetos ou microrganismos, distúrbios endócrinos, nutricionais e metabólicos, doenças do sistema osteomuscular e tecido conjuntivo, até no tratamento da malária, icterícia e diabetes. Esses dados são referentes a levantamentos realizados com amostras variáveis de indivíduos da população e incluíram entre 10 e 370 adultos (8, 13, 21, 67, 68, 113, 131, 161).

É válido ressaltar que nos estudos realizados referentes aos usos populares, dados relativos aos efeitos adversos e contraindicações não foram descritos (8, 13, 21, 67, 68, 113, 131). Porém, uma das alegações de uso compreende o suposto efeito abortivo ocasionado pelas espécies em questão (161).

## **4.2 Presença na notificação de drogas vegetais**

As espécies não constam na RDC 10/2010.

## **4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS**

### **4.3.1 Estudos toxicológicos**

Os quatro estudos toxicológicos encontrados na literatura foram feitos com preparações à base de folhas (extrato aquoso, OE, pó da droga vegetal e extrato hidroalcoólico).

#### **4.3.1.1 Toxicidade aguda**

Os efeitos de toxicidade subaguda, em consequência da administração diária do extrato hidroalcolico de folhas de *A. Speciosa* por via oral (vo) e intraperitoneal (ip) durante 30 dias foram analisados em ratos Wistar, através do método de Miller & Tainter (1944). As doses administradas foram dependentes da via de administração (vo: 2500-18000 mg/ kg; e ip: 100 a 1400 mg/ Kg). Os parâmetros observados compreenderam glicose, ureia, creatinina, transaminase, lactato desidrogenase, fosfatase alcalina, tendo sido realizada também uma análise histopatológica. Os resultados indicaram que o extrato causou um aumento da transaminase e lactato desidrogenase, enquanto que outros parâmetros como glicose, ureia e creatinina, apresentaram valores normais. As análises histopatológicas do fígado, baço, intestino, pulmão e coração também não apresentaram alterações. Quando injetado via ip na dose de 100 a 1400 mg/ Kg, (ou 2500-18000 mg/ kg vo), o extrato produziu contorção, excitação psicomotora, hipocinesia e prurido. A DL<sub>50</sub> para o extrato administrado via ip foi de 0,760 ±0,126 g / Kg, enquanto que vo foi de 10,0 ±2,5 g/ kg, apresentando uma dose letal elevada, e a recomendação dos autores é o controle das enzimas pancreáticas quando a administração ocorrer via oral (116).

A atividade tóxica do extrato metanólico de flores de *Etilingera elatior* (sin. *A. speciosa*) foi avaliada nas concentrações de 2,52, 9,14 e 8,08 mg/ mL, através de ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina*. O extrato não apresentou toxicidade significativa (CL<sub>50</sub>= 2,52 mg/ mL) contra *Artemia salina* (149).

#### **4.3.1.2 Toxicidade subcrônica**

A toxicidade da administração diária vo do pó de *L. galanga* (sin. *A. zerumbet*) a 1%, obtido da planta inteira, foi avaliada em 120 ratos machos F344 com seis semanas de idade. Os animais do grupo tratado receberam 1% de pó de *L. galanga* mais 0,03% de 2-amino-3,8-dimetilimidazo(4,5-f)quinoxalina na dieta durante seis semanas. O tratamento teve início duas semanas após uma única injeção ip de dietilnitrosamina/DEN (200 mg/ kg de peso corporal, dissolvida em salina). O grupo tratado recebeu 1% *L. galanga*. Todos os ratos foram submetidos à hepatectomia parcial de dois terços no final da terceira semana. Os animais sobreviventes foram eutanasiados na oitava

semana, e imediatamente o fígado foi removido, pesado, cortado em fatias de  $2 \pm 3$  mm de espessura, e resfriado em acetona para posterior análise imuno-histoquímica e subsequente avaliação da forma placentária da glutatona S-transferase (GST- P). Os focos positivos para GST-P com mais de 0,2 mm de diâmetro total de área nas secções do fígado foram determinados. Os demais parâmetros como peso corporal, sinais clínicos, aumento/ diminuição da GST-P, peso dos rins e do fígado foram observados por oito semanas. Nenhum sinal clínico anormal foi observado nos animais tratados e nenhuma morte ocorreu durante o período experimental. O peso corporal médio dos animais do grupo tratado foi significativamente menor quando comparado ao controle. O peso do fígado do grupo tratado aumentou significativamente, enquanto que o peso dos rins diminuiu significativamente no grupo controle. Os resultados sugerem que *L. galanga* pode conter substâncias que aumentam a hepatocarcinogênese da 2-amino-3,8-dimetil-imidazo(4,5-f)quinoxalina (53).

#### **4.3.1.3 Toxicidade crônica**

Dados não encontrados na literatura pesquisada.

#### **4.3.1.4 Genotoxicidade**

Um estudo toxicológico pré-clínico foi realizado com o extrato aquoso (2, 3,5 e 5 g/ Kg) e com o OE das folhas de *A. zerumbet* (400 mg/ Kg). O extrato aquoso e o OE foram administrados separadamente vo em 10 camundongos albinos Swiss (5 fêmeas e 5 machos, com idade de três semanas). O extrato aquoso foi administrado numa frequência de três doses diárias, já o OE foi administrado em dose única. A metodologia utilizada incluiu os testes de hemólise, toxicidade aguda, ensaio cometa e ensaio do micronúcleo. Outros parâmetros também foram observados como alterações das células sanguíneas periféricas, toxicidade sobre as células e danos ao DNA. Cada ensaio apresentou um período de observação diferente, de forma geral este variou entre 60 minutos a 14 dias. Os resultados permitiram concluir que o extrato aquoso e o OE de folhas de *A. zerumbet* não apresentaram efeitos citotóxicos nem genotóxicos nos modelos testados (29).

O OE de folhas de *A. zerumbet* foi administrado em ratos com idade de sete semanas na dosagem de 50-500 µg/ mL em dose única, juntamente com o óxido de etileno, na dosagem de 400 mg/ kg. Grupos controle negativo (solução salina) e positivo (ciclofosfamida, 25 mg/ kg) também foram incluídos no ensaio. A metodologia incluiu a avaliação de micronúcleos em medula óssea de camundongos (MN)/ Ensaio cometa sob condições alcalinas/ Teste com Azul de Alamar/ DPPH através do método de Blois (1958)/ Peroxidação lipídica pelo ensaio de TBARS/ Viabilidade celular e caracterização morfológica dos leucócitos apoptóticos (teste de exclusão com corante azul de tripano/ teste para verificar aberrações cromossômicas/ determinação de purinas oxidadas e de espécies reativas de oxigênio intracelulares). Após 24 e 48 h da administração da droga, foi observado que o OE de *A. zerumbet*, nas concentrações de 50-300 µg/ mL, não induziu genotoxicidade em leucócitos humanos. No entanto, na concentração mais elevada (500 µg/ mL) causou uma redução na proliferação celular e na viabilidade e aumentou os danos ao DNA. Os experimentos *in vivo* mostraram que OE (400 µg/ kg) não apresentou mutagenicidade em células sanguíneas periféricas e na medula óssea dos ratos. No teste de DPPH, o OE mostrou atividade antioxidante, exercendo efeitos benéficos sobre os níveis de GSH intracelular e de peroxidação lipídica. Adicionalmente, o OE foi capaz de reduzir os níveis intracelulares de ROS, prevenindo danos oxidativos. A capacidade do OE em reduzir a toxicidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi observada em células tratadas durante e após a exposição a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. O pré e pós-tratamento com OE diminuiu a frequência de leucócitos apoptóticos e micronucleados, bem como os danos ao DNA. No entanto, um efeito sinérgico ao descrito anteriormente foi observado em culturas expostas a 500 µg/ mL de OE. Em conclusão, o OE, em concentrações de até 300 µg/ mL ou doses de até 400 mg/ kg não causou sinais de mutagenicidade nos leucócitos de ratos, mas apresentou efeitos antioxidante e protetor frente à citotoxicidade induzida por clastogenese e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(27).

#### **4.3.1.5 Sensibilização dérmica**

Dados não encontrados na literatura pesquisada.

#### **4.3.1.6 Irritação cutânea**



Dados não encontrados na literatura pesquisada.

#### 4.3.1.7 Irritação ocular

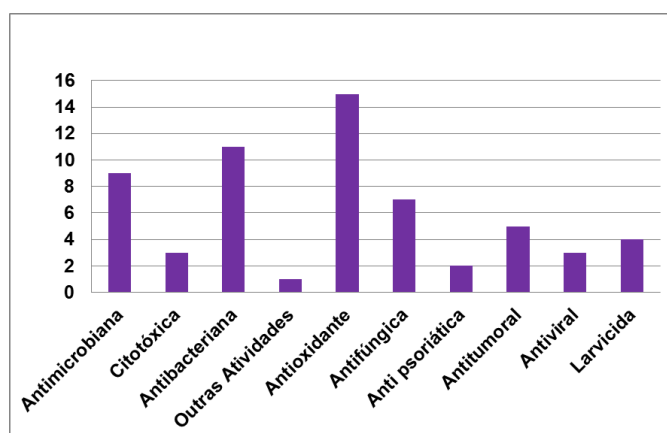
Dados não encontrados na literatura pesquisada.

### 4.3.2 ESTUDOS FARMACOLÓGICOS

#### 4.3.2.1 Ensaios *in vitro*

Foram encontrados 78 artigos referentes aos estudos *in vitro*, que relatam a avaliação de várias atividades (Figura 5).

Dentre as atividades com prevalência igual a 1 (representadas pela coluna denominada “Outras atividades”) foram englobadas as atividades antifagocitária, antialérgica, antiamebiana, antiapoptótica, antiteratogênica, anti-helmíntica, anti-inflamatória, citoprotetora, antiparasitária, antiproliferativa, inibitória das enzimas colagenase, elastase, hialuronidase, acetilcolinesterase, e ATPases de larvas de *Aedes Aegypti*, inibitória do  $\beta$ -interferon e fator nuclear-KB (NF-KB), inibitória da formação dos produtos finais da glicação avançada (compostos  $\alpha$ -dicarbonílicos e frutosamina), inibitória do citocromo P450 3A4 (CYP3A4) e 2D6 (CYP2D6) e inibitória da expressão do gene MMP-9.



**Figura 5:** Prevalência das atividades testadas *in vitro* em estudos referentes às espécies de interesse *Alpinia zerumbet* e *A. speciosa*.

Segue abaixo uma síntese referente aos 22 estudos que abordaram as atividades antimicrobiana, antibacteriana e antifúngica das espécies em questão. Destes, sete relatam estudos realizados com o OE e 14 descrevem bioensaios com extratos, enquanto em um trabalho foram utilizados ambos, OE e extrato.

A atividade antifúngica do OE de folhas de *A. speciosa* foi avaliada através do método de disco-difusão utilizando cepas de dermatófitos. Segundo os autores, o OE inibiu 80% das cepas testadas, produzindo uma zona de inibição de mais de 10 mm de diâmetro. No entanto o resumo não informa quais as cepas incluídas nos ensaios e o artigo completo encontra-se indisponível (101). Outro trabalho, que relata a atividade bacteriostática e fungistática do OE de folhas de *A. speciosa*, também encontra-se indisponível. No resumo são descritos ensaios frente a cinco cepas de bactérias e seis fungos, resultando numa CIM de 2.000 ppm para fungos e bactérias Gram-positivas (172). O OE de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) foi testado quanto à atividade antifúngica através de microdiluição em caldo e disco-difusão, sendo utilizados os seguintes fungos no ensaio: *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Microsporum canis*, *M. nanum* e *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Mucor* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *Torulopsis glabrata*. Segundo os autores, os resultados não evidenciam atividade antifúngica para o OE, porém não são relatadas maiores informações referentes ao estudo (98). A atividade antibacteriana do OE de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) também foi avaliada pelo método de disco-difusão e pela determinação da concentração inibitória mínima. Os seguintes microrganismos foram incluídos no estudo: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*. Segundo os autores, o OE não apresentou atividade antibacteriana frente às cepas bacterianas testadas (163). O OE de folhas de *A. zerumbet* e suas frações foram avaliados quanto às atividades antibacteriana e antifúngica na concentração de 10 µL, através do método de disco-difusão segundo Hill et al. (1997), frente às seguintes bactérias: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, MRSA e *S. epidermidis*, bem como frente aos seguintes fungos: *Cryptococcus neoformans* e *Candida albicans*. O OE inibiu o crescimento de todos os micro-organismos testados, enquanto que as frações ricas em monoterpenoides oxigenados inibiram apenas o crescimento de *C. neoformans* (60). O OE de folhas, flores e rizomas de *Etilingera elatior* (sin. *A. speciosa*) foi avaliado quanto

à atividade antibacteriana através do método de disco-difusão e determinação da concentração inibitória mínima, frente aos seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis* ( $5 \times 10^5$  a  $10^6$  UFC/ mL). A CIM para *S. aureus* foi de 10 mg/ mL, sendo a zona de inibição de 75 mm, enquanto que *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis* e *Bacillus subtilis* foram resistentes ao OE (7). A atividade antifúngica e antimicrobiana do OE também foi avaliada através do método de disco-difusão frente aos seguintes micro-organismos: *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Escherichia coli*, *Edwardsiella tarda*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* e *Salmonella* sp. Os micro-organismos mostraram-se sensíveis ao OE, com halos de inibição variando de 7 a 14 mm. Esses dados são provenientes de um artigo de revisão, que não relata maiores informações sobre o estudo (57).

O OE e extrato metanólico de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) foram avaliados quanto à atividade antibacteriana pelo método de disco-difusão, enquanto que para o OE também foi determinada a concentração inibitória mínima. Os discos de papel de filtro foram impregnados separadamente com aproximadamente 4-5 mg de OE e cerca de 1,65 mg do extrato metanólico. Para a determinação da CIM, a solução de OE em metanol foi avaliada nas concentrações de 1,0-3,5 mg/ mL para o teste antibacteriano, e de 0,1-1,6 mg/ mL para o teste antifúngico. Os microrganismos testados foram cepas tipificadas de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium phlei*, *Candida albicans*, *C. parasilosis* e *C. tropicalis*. Os resultados foram avaliados por comparação com padrões de antibióticos: canamicina, ampicilina, gentamicina, oxacilina e nistatina. O inóculo no caso da disco-difusão foi de  $1 \times 10^8$  UFC / mL e para a determinação da CIM, de  $5 \times 10^4$  UFC/ mL. O extrato e o OE de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) não mostraram atividade antimicrobiana contra os micro-organismos testados (112).

Dos estudos realizados com extratos, uma revisão cita um ensaio utilizando o extrato etanólico de *A. zerumbet* (0,64 a 10,24 mg/ mL), que foi testado frente à bactéria *Helicobacter pylori*. Os extratos hidroalcoólico e hexânico de folhas, bem como o extrato clorofórmico de rizomas também foram avaliados quanto à atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Mycobacterium smegmatis* e

*Candida albicans*. Foram relatados bons resultados para o extrato clorofórmico do rizoma frente a *E. faecalis* e para o extrato hexânico de folhas frente a *C. albicans*. No entanto, o artigo de revisão não relata maiores informações sobre os estudos realizados (57). Os extratos clorofórmico, alcoólico, aquoso e éter de petróleo de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) foram avaliados quanto à atividade antibacteriana na concentração de 100 mg/ 100 mL, através da determinação da atividade da fosfodiesterase, segundo metodologia de Thompson e Michael (1971), com modificações. Os extratos apresentaram atividade antibacteriana na concentração testada, entretanto, o trabalho completo não está disponível e no resumo os autores não relatam maiores informações (50). O extrato etanólico de rizomas e pedúnculos de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) (2 mg) foram avaliados quanto à atividade antifúngica, através do método de disco-difusão segundo Jones et al., 2000. Os micro-organismos testados foram: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Wangiella dermatitidis*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum*, *Microsporium gypseum*, *Pseudallescheria boydii*, *Rhizopus sp.* e *Trichophyton mentagrophytes*. O extrato de rizomas de *A. galanga* apresentou pronunciada atividade inibidora contra uma ampla gama de fungos, incluindo cepas resistentes aos antifúngicos convencionais anfotericina B e cetoconazol. No entanto, não foram disponibilizadas maiores informações referentes ao estudo, caracterizando uma limitação (60). Já outro estudo, realizado na Tailândia, relatou que o extrato de rizomas de *Kaempferia galanga* (sin. *A. zerumbet*) apresentou CIM de 25,0 µg/ mL frente à bactéria *Helicobacter pylori* (26). O extrato clorofórmico de folhas de *Alpinia galanga* (sin. *A. zerumbet*) foi avaliado através dos métodos de disco-difusão, microdiluição e diluição em ágar, determinação das concentrações inibitória mínima e bactericida mínima, assim como da zona de inibição. Os micro-organismos testados foram: *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA), *Streptococcus mutans* e *Salmonella typhi*. Ao final do experimento, os autores relataram que as bactérias Gram-positivas foram suscetíveis ao extrato e as maiores zonas de inibição, de 29,1 e 23,7 mm, foram detectadas contra *Staphylococcus aureus* e MRSA, respectivamente. As CIM deste extrato contra *S. aureus* e MRSA foram de 128 e 256 µg/ mL, enquanto que as CBM foram de 256 e 256 µg/ mL, respectivamente. Um constituinte ativo desta espécie vegetal, o acetato de 1'-acetoxi-chavicol foi identificado e teve sua atividade antimicrobiana avaliada, tendo apresentado CIM frente a MRSA e *S. aureus* de 64 e 128 µg/ mL, respectivamente (169). O extrato etanólico de raízes de *A. speciosa* foi avaliado quanto à atividade

antibacteriana, determinando-se a zona de inibição na concentração de 0,2 g/ mL, conforme o método de Johoson e Chistine (1995). Já o método de diluição de caldo foi usado para a determinação da CIM. No experimento, o inóculo foi de 0,5–1,0 x 10<sup>6</sup> UFC/ mL, sendo testadas cinco cepas tipificadas de *Helicobacter pylori* e cinco isolados clínicos da mesma bactéria. Após 72 h, os autores observaram forte inibição apenas frente à cepa tipificada BCRC 17026, com CIM de 5,12 mg/ mL, enquanto que para as demais cepas a inibição foi moderada (cinco cepas), fraca (três cepas) ou o extrato mostrou-se inativo (uma cepa) (170). O extrato metanólico de folhas de *Etlingera elatior* (sin. *A. speciosa*) foi avaliado na concentração de 1 mg através do método de disco-difusão, contra os seguintes micro-organismos: *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*. A estreptomicina foi utilizada como controle positivo e o metanol como controle negativo. Os resultados foram expressos em porcentagem, baseando-se nos seguintes critérios: intensa inibição < 70 %, inibição moderada para 50-70 %, e fraca para a inibição < 50 %. O extrato inibiu moderadamente as cepas de *B. cereus*, *M. luteus* e *S. aureus*, não tendo apresentado atividade antibacteriana sobre as bactérias Gram-negativas (35). O extrato etanólico e de éter de petróleo de rizomas de *Alpinia galanga* (sin. *A. zerumbet*), na concentração de 6,25 e 50 µg/ mL, respectivamente, foram avaliados quanto à atividade antibacteriana através do ensaio de disco-difusão e determinação da CIM. Os resultados evidenciaram ausência de atividade antibacteriana significativa frente ao inóculo de 1,5x10<sup>8</sup> UFC/ mL das bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*. No entanto, o presente estudo não relata maiores informações referentes ao experimento (122). Os extratos metanólicos de folhas, rizomas e flores de *Alpinia galanga* (sin. *A. zerumbet*) (20 µL) e de folhas de *A. zerumbet* (20 µL) foram avaliados frente ao inóculo de 1 x 10<sup>5</sup> esporos/ mL de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* e *Penicillium albicans*, através do método de disco-difusão. Os resultados indicaram que o extrato de flores de *A. galanga* apresentou a maior zona de inibição frente a *Micrococcus luteus*. O extrato de rizomas apresentou atividade antifúngica frente a *Aspergillus niger*, já os demais extratos foram inativos na concentração avaliada. No presente estudo não foram mencionadas maiores informações relacionadas ao experimento com essas espécies vegetais (176). O extrato bruto de *Alpinia galanga* (sin. *A. zerumbet*) foi avaliado quanto à atividade antifúngica

frente a uma cepa tipificada de *Candida albicans*, através do método de disco-difusão e determinação da CIM, obtendo-se para esta a concentração de 6,25 mg/ mL. Dentre as diferentes soluções de limpeza para dentaduras avaliadas, aquela contendo extrato de *A. galanga* foi a mais efetiva no combate da aderência de *C. albicans*. Ao final dos tempos de observação de 60, 90 e 180 min, foi evidenciada atividade antifúngica nas concentrações de 1/6, 1/8 e 1/4 vezes a CIM, respectivamente. Neste estudo o órgão vegetal do qual o extrato foi obtido não é mencionado, o que caracteriza uma limitação (141). O extrato metanólico de flores secas de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*), obtido por maceração, foi testado frente a cepas de bactérias, leveduras e fungos de importância médica nas concentrações de 1,563-50 mg/ mL. Os micro-organismos testados incluíram *Staphylococcus aureus*, *Bacillus thuringiensis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Proteus mirabilis*, *Micrococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, sendo avaliada a atividade antimicrobiana por disco-difusão e determinação da CIM. Os resultados indicaram inibição do crescimento microbiano, com resultados positivos para *S. aureus* (23 mm de halo de inibição/ HI; CIM = 1.563 mg/ mL), *B. thuringiensis* (HI = 21 mm; CIM = 6,25 mg/ mL), *B. subtilis* (HI = 19 mm; CIM = 25 mg/ mL), *Salmonella* sp. (HI = 18 mm; CIM = 12.5 mg/ mL) e *P. mirabilis* (HI = 18 mm; CIM = 25 mg/ mL). Já frente às bactérias *E.coli* e *Micrococcus* sp. foi detectada fraca atividade (HI = 16 e 12 mm, respectivamente; CIM = 12,5 e 50 mg/ mL, respectivamente), enquanto que para os fungos, os resultados foram promissores para *C. albicans* (HI = 22 mm; CIM = 3,12 mg/ mL) e *A. niger* (HI = 20 mm, CIM = 1,563 mg/ mL) (149).

Os extratos aquoso, etanólico e hexânico de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. speciosa*) foram avaliados quanto à atividade antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, através do método de disco-difusão e diluição em caldo. No teste de disco-difusão, o extrato aquoso apresentou um halo de inibição de 5,5 mm frente a todas as cepas bacterianas avaliadas. O extrato etanólico apresentou halo de inibição de 5,6, 5,5, 14,5, 29,1 mm frente às cepas de *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* e *S. aureus*, respectivamente. O extrato hexânico promoveu a formação de halos de inibição de 8,8, 6, 19,6 e 34,1 mm frente às bactérias *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* e *S. aureus*, respectivamente. Entretanto, no teste de diluição em caldo, o extrato hexânico de *A. galanga* apresentou intensa atividade contra *S. aureus* e *L. monocytogenes*, sendo

quea CIM detectada foi  $<0,625\text{mg/ mL}$  (24h) para as bactérias *L. monocytogenes* e *S. aureus*, enquanto que após 48h, a CIM foi de  $<0,625\text{ mg/ mL}$  para *S. aureus* e de  $1,25\text{ mg/ mL}$  para *L. monocytogenes*. O extrato aquoso apresentou CIM  $>5\text{ mg/ mL}$  frente a todas as bactérias testadas, já o extrato etanólico apresentou CIM  $>5\text{ mg/ mL}$  para *E. coli* e *S. typhimurium* em 24 e 48h, entretanto para *L. monocytogenes*, a CIM foi de  $2,5$  (24h) e  $>5\text{ mg/ mL}$  (48h), enquanto que para *S. aureus* a CIM foi  $< 0,625$  (24h) e de  $1,25\text{ mg/ mL}$  (48h) (124).

Em um dos estudos foi avaliada a atividade antibacteriana do extrato metanólico, frações fenólicas não poliméricas e frações poliméricas contendo taninos, obtidos de folhas e rizomas de *A. galanga* e de folhas e inflorescências de *E. elatior* frente a cepas de *S. aureus*, *Micrococcus luteus* e *Bacillus cereus*, através do método de disco-difusão, na concentração de  $2\text{ mg/ disco}$ , e da determinação da dose inibitória mínima (DIM). Porém foi realizada uma repetição do ensaio com a adição de  $0,01\text{ mg/ mL}$  de ácido etileno-diaminotetracético (EDTA) ao extrato e às frações no teste. A estreptomicina foi utilizada como controle positivo e o extrato de folhas e frações de *A. galanga* não demonstraram atividade contra *S. aureus*, *M. luteus* e *B. cereus* na concentração testada. Já o extrato de rizomas e frações de *A. galanga* não apresentou efeito inibitório sobre *M. luteus* e *S. aureus*. No entanto com a adição de EDTA, extratos e frações de *A. galanga* mostraram resposta moderada. Porém, intensa atividade antibacteriana foi observada para a fração polimérica contendo taninos, com DIM de  $0,06\text{ mg/ disco}$  contra as três espécies bacterianas (57).

A atividade antibacteriana de uma associação contendo extratos de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) e das espécies *Rosmarinus officinalis* e *Eucalyptus staigerana* foi avaliada frente às bactérias *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, através da avaliação da capacidade de inibição do crescimento de *L. monocytogenes* inoculada em camarões pré-cozidos e armazenados, bem como contra *S. aureus* naturalmente presente na microflora de deterioração nesses camarões, armazenados durante 16 dias a  $4$  ou  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Uma combinação de *A. galanga*, alecrim e casca de limão rica em ferro reduziu significativamente os níveis de bactérias aeróbicas e bactérias lácticas, a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  no 12º dia ( $1,6$  e  $1,59\text{ UFC/ g}$ , respectivamente). Por volta do 16º dia, os níveis destas bactérias foram equivalentes aos dos controles. Os camarões tratados com a associação apresentaram oxidação lipídica menor no 4º ao 16º dia. Do mesmo modo, uma associação de *A. galanga* e alecrim reduziram significativamente os níveis de bactérias

aeróbicas e bactérias lácticas a 8 °C no 8° dia (2,82 e 2,61 UFC/ g, respectivamente). No 12° e 16° dias, as concentrações bacterianas foram equivalentes às dos controles. Os camarões tratados com esta associação apresentaram uma menor oxidação lipídica no 4° e 16° dias. Nenhuma das associações apresentou efeito sobre a cor e o pH dos camarões. Os resultados deste estudo indicam que as associações de *A. galanga*, alecrim, e extratos de casca de limão rica em ferro podem ser usados para controlar o crescimento da microflora responsável pela deterioração do camarão industrializado. O presente estudo encontra-se indisponível e no resumo a parte vegetal da qual o extrato é proveniente não é relatada (172).

A atividade antibacteriana do extrato etanólico de *A. speciosa* foi avaliada frente a cinco bactérias Gram-positivas, sete bactérias Gram-negativas e três fungos, na concentração de 200 e 400 mg/ kg pelo método de disco-difusão. O extrato apresentou melhor atividade antibacteriana do que atividade antifúngica, sendo que as bactérias Gram-positivas foram mais susceptíveis do que as bactérias Gram-negativas. O presente estudo não está disponível na versão completa e o órgão vegetal do qual o extrato foi obtido, bem como as cepas dos micro-organismos utilizadas no ensaio não foram mencionados no resumo (178).

Apenas um estudo foi encontrado descrevendo a avaliação da atividade antiaterogênica, utilizando o extrato acetônico de amostras secas de rizomas, caules, folhas, flores, pericarpos e sementes de *A. zerumbet*, nas concentrações de 10 e 100 µL, através dos seguintes ensaios: anti-tirosinase (Tadtong et al., 2009); inibição da lipase pancreática (Kim et al., 2007); inibição da enzima lipoxigenase (Lyckander et al., 1996); inibição da oxidação do LDL (Rattan e Arad, 1988); e TBARS (Steinbrecher et al., 1984). Adicionalmente, a atividade estrogênica foi determinada pelo kit EnBio RCAS para o receptor estrogênico  $\mu$  (ER $\mu$ ), enquanto que a quercetina e a curcumina foram utilizados como controles positivos. O extrato de sementes apresentou a atividade inibitória mais intensa frente à tirosinase, lipase pancreática, 15-lipoxigenase e da oxidação do LDL (IC<sub>50</sub> = 2,30 ± 0,02; 5,00 ± 0,07; 1,29 ± 0,07 e 15,40 ± 0,86 µg/ mL, respectivamente), dentre as diferentes partes vegetais avaliadas. No entanto, o extrato desse órgão vegetal apresentou efeitos semelhantes aos dos controles positivos. Os autores atribuíram a responsabilidade da atividade pronunciada à colest-4-eno-3,6-diona presente no extrato de sementes. Os resultados revelaram que a colest-4-eno-3,6-diona apresenta capacidade semelhante à curcumina e quercetina quanto à inibição da lipase



pancreática e da oxidação de LDL ( $IC_{50} = 19,50 \pm 1,17$  e  $16,12 \pm 1,43 \mu\text{g/ mL}$ , respectivamente). Além disso, a colest-4-eno-3,6-diona ( $IC_{50} = 34,21 \pm 1,31 \mu\text{g/ mL}$ ) apresentou inibição da 15-lipoxigenase mais intensa do que a quercetina ( $IC_{50} = 54,79 \pm 1,12 \mu\text{g/ mL}$ ) (51).

Apenas um estudo *in vitro* foi encontrado descrevendo a avaliação da atividade antiamebiana. Esse estudo foi realizado com os extratos clorofórmico, metanólico e aquoso de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) (31,25 a 1.000  $\mu\text{g/ mL}$ ) frente a  $2 \times 10^5$  trofozoítos de *E. histolytica/ mL* na temperatura de 37 °C, sob condições anaeróbicas durante 24 h. As culturas foram examinadas com microscópio invertido e foram observados a aparência e o número de trofozoítos. O extrato apresentou  $IC_{50} = 55,2 \mu\text{g/ mL}$ , sendo classificado como "ativo" contra *E. histolytica*, comparado ao  $IC_{50}$  de um fármaco de referência, o metronidazol, que foi de 1,1  $\mu\text{g/ mL}$  (144).

Apenas um relato referente à avaliação da atividade anti-apoptótica foi encontrado. Nesse, o extrato etanólico de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) na concentração de 0,1, 1, 10 e 100  $\mu\text{g/ mL}$  foi avaliado frente a  $1 \times 10^4$  queratinócitos humanos HaCaT/ poço, através do ensaio de MTT, observando-se a viabilidade celular. Segundo os autores, após 48h o extrato aumentou significativamente a apoptose na concentração de 100  $\mu\text{g/ mL}$ . Nas demais concentrações a alteração não foi significativa (160).

A atividade anti-enzimática dos extratos aquoso e etanólico de sementes, rizomas, folhas, flores, caules e pericarpos de *A. zerumbet* e das substâncias isoladas 5,6-deidrokawaina (DK), diidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e 12-labdadien-15,16-dial foi avaliada através de vários métodos, como nos ensaios de inibição da colagenase, elastase, hialuronidase, e tirosinase. Ao término do experimento, os autores observaram uma atividade inibitória mais intensa para o extrato se rizomas, em comparação com aqueles obtidos de outras partes da planta, com  $IC_{50} = 57,43 \pm 0,18$  sobre a elastase,  $35,02 \pm 0,75$  sobre a tirosinase e  $21,84 \pm 0,77 \mu\text{g/ mL}$  sobre a hialuronidase. Já o pericarpo apresentou atividade inibitória maior contra colagenase ( $IC_{50} = 45,67 \pm 0,50 \mu\text{g/ mL}$ ). No entanto, as amostras em teste apresentaram inibição menor do que o controle positivo, o ácido oleanólico ( $IC_{50} = 17,95 \pm 0,23$ ;  $10,91 \pm 0,03$  e  $5,28 \pm 0,19 \mu\text{g/ mL}$ , respectivamente sobre a colagenase, elastase e hialuronidase) e também um efeito inibitório menor do que o ácido kójico ( $IC_{50} = 8,90 \pm 0,22 \mu\text{g/ mL}$ ) sobre a

atividade da tirosinase. A DK apresentou as maiores propriedades inibitórias na eliminação dos radicais livres em ensaios de DPPH, ABTS e PMS-NADH ( $IC_{50} = 1,40 \pm 122,14$ ,  $110,08 \pm 3,34$  e  $127,78 \pm 4,75 \mu\text{g/ mL}$ , respectivamente). Entre os compostos isolados, a DK demonstrou atividades inibidoras mais intensas frente à colagenase, elastase, hialuronidase e tirosinase ( $IC_{50} = 24,93 \pm 0,97$ ,  $19,41 \pm 0,61$ ,  $19,48 \pm 0,24$  e  $76,67 \pm 0,50 \mu\text{g/ mL}$ , respectivamente) do que a DDK e o 12-labdadien-15,16-dial. No entanto, os constituintes isolados apresentaram menor efeito inibitório do que o ácido oleanólico (85).

A atividade anti-helmíntica do extrato aquoso bruto de folhas de *A. speciosa* foi testada frente a ovos, larvas e vermes adultos de trichostrongilídeos (parasitas gastrintestinais de ovinos), com objetivo de observar alterações na motilidade dos vermes, eclodibilidade de ovos e inibição da viabilidade larval durante 4 h. Segundo o autor, não foi evidenciado efeito anti-helmíntico, porém o presente estudo trata-se de uma tese e o resumo não relata maiores informações (105).

O constituinte 1'-etil-acetoxichavicol, isolado a partir do extrato acetato de etila de rizomas de *L. galanga* (sin. *A. zerumbet*), foi testado quanto à atividade antifagocitária. Segundo os autores, o constituinte em questão inibiu intensamente a fagocitose de macrófagos peritoniais presentes no exsudato de células peritoniais de camundongos, com uma  $IC_{50}$  de  $1,2 \mu\text{M}$ , tendo apresentado efeitos insignificantes sobre pinocitose e viabilidade celular (171).

O extrato etanólico de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) foi testado na concentração de  $100 \mu\text{g/ mL}$  quanto às atividades anti-inflamatória e citoprotetora. O efeito citotóxico foi determinado pelo ensaio quantitativo de fragmentação do DNA, descrito por Sellins e Cohen (1987). O ensaio imunoenzimático (ELISA) para avaliar a secreção de IL-8, bem como citometria de fluxo para detectar as espécies reativas de  $O_2$  intracelular também foram realizados. A atividade foi testada frente a células de câncer gástrico humano linhagem AGS, cultivadas na presença de *Helicobacter pylori*. Após o término do período de observação, de dois a três dias, o extrato não apresentou efeito significativo frente à viabilidade ou toxicidade sobre o micro-organismo *H. pylori* na concentração de  $100 \mu\text{g/ mL}$ , entretanto apresentou intensa atividade inibitória da secreção de IL-8 ( $<1000 \text{ pg/ mL}$ ) por células infectadas com *H. pylori* (181).

Vários estudos foram encontrados referentes à avaliação da atividade antioxidante das espécies em questão.

Os extratos clorofórmico e acetato de etila de folhas de *A. zerumbet* tratados com cobre pulverizado por 24 h foram avaliados quanto à atividade antioxidante, através dos métodos de descoloração do  $\beta$ -caroteno e DPPH. Segundo os autores, o extrato acetato de etila de folhas tratadas com cobre, que continha um maior teor de fenólicos totais, apresentou também maior atividade antioxidante pelo método de DPPH e os melhores resultados no método de descoloração do  $\beta$ -caroteno do que o extrato correspondente obtido de plantas não-tratadas (5).

As atividades antioxidante e antimicrobiana foram avaliadas para o extrato de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), nas concentrações de 0, 0,05 e 0,10%, pelo monitoramento da formação de malonaldeído através do método de TBARS e da oxidação lipídica em carne picada. Os resultados demonstraram que o extrato foi útil na inibição da oxidação lipídica e aumentou a estabilidade microbiana da carne. Nas concentrações de 0,05 e 0,10%, o extrato prolongou a vida de prateleira de carne de gado picada. A adição de  $\alpha$ -tocoferol (0,02%) diminuiu a oxidação, mas não a estabilidade microbiana de carne durante o armazenamento de sete dias. No presente estudo não foram mencionados a parte da planta e o solvente utilizados para obtenção do extrato (38).

O efeito antioxidante foi avaliado para o extrato metanólico bruto de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), onde volumes de 1, 0,6 e 0,2 mL de um extrato de rizomas foram adicionados a uma solução contendo 20  $\mu$ M de curcumina e 15  $\mu$ M de glutatona, sendo a mesma ajustada para um volume final de 5 mL, com metanol 60%. A solução controle foi obtida a partir de 40  $\mu$ M de curcumina e 75  $\mu$ M de glutatona, ajustando-se um volume final de 1,5 mL com metanol 60%. Essas soluções foram posteriormente irradiadas com 0, 25, 50, 75, 100, e 150 Gy (do Sistema Internacional de Unidades, correspondendo à dose absorvida/ Gray) e foram posteriormente submetidas ao teste de reatividade dos radicais livres de enxofre, gerados a partir da glutatona, que induziram a depleção de curcumina, utilizada como indicador de referência, bem como ao teste do índice de proteção (com irradiação de 75 Gy). O resultado foi mensurado através de espectrometria em 425 nm. Os autores relataram que, dentre as espécies em estudo, *A. galanga* apresentou o índice de proteção mais baixo (5%). Já no teste de reatividade dos radicais livres de enxofre a partir da irradiação de 0, 25, 50, 75, 100, e

150 Gy, a espécie apresentou os seguintes valores para depleção da curcumina: < 5 µM, < 10 µM, < 15 µM, < 15 µM, < 15 µM e 15 µM, respectivamente (40).

A atividade antioxidante também foi avaliada para o extrato hexânico de flores e sementes de *A. zerumbet* / Extrato acetato de etila de inflorescências e sementes de *A. zerumbet* através dos métodos do DPPH e de descoloração do β-caroteno. O extrato acetato de etila de flores e sementes apresentou uma atividade antioxidante pela inativação de radicais livres de DPPH e impediu a descoloração do β-caroteno, já os demais extratos utilizados foram considerados pouco promissores (4).

A atividade antioxidante foi avaliada para o extrato metanólico de folhas, rizomas e inflorescências de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*), através do ensaio de DPPH, poder antioxidante de redução do ferro (FRAP), ensaio de quelação do íon ferroso (FIC) e método de descoloração do β-caroteno. Os resultados mostraram que o extrato de folhas de *E. elatior* teve alta capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico (AA) e FRAP, sendo que os valores das determinações foram de  $3750 \pm 555$  mg AA/ 100 g. Já no método de descoloração do β-caroteno, o extrato de *E. elatior* apresentou valores ligeiramente mais baixos do que o controle. As análises de diferentes partes de *E. elatior* mostraram que as folhas apresentaram capacidade antioxidante equivalente ao AA e FRAP significativamente maior que inflorescências e rizomas, dado correlacionado ao conteúdo de fenólicos totais. O extrato de folhas mostrou superioridade sobre os extratos de inflorescências e rizomas, em termos de capacidade de quelação do íon ferroso. A atividade de descoloração do β-caroteno de folhas foi mais elevada do que a de rizomas, mas ligeiramente menor do que o valor obtido para o extrato de inflorescências (35).

A capacidade antioxidante total do extrato metanólico de folhas e rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), nas concentrações de 0, 2, 4, 6 e 8 mg/ mL, foi avaliada em comparação ao ácido ascórbico (AA) através do poder de quelação do íon ferroso e DPPH. No teste do DPPH o resultado foi equivalente a  $90 \pm 36$  mg AA/ 100 g para folhas, já para rizomas, os valores foram equivalentes a  $168 \pm 13$  AA/ 100 g. Quanto à capacidade de quelação do íon ferroso do extrato obtido de folhas de *A. galanga*, este foi mais de 20 vezes mais ativo do que o extrato de rizomas, o que revela uma capacidade antioxidante do extrato obtido de folhas da planta (32).

Folhas de *A. zerumbet* foram submetidas a cinco diferentes métodos de secagem (microondas, em estufa, sob o sol, por congelamento e secagem ao ar), sendo obtidos o extrato metanólico e o chá. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método de inativação do DPPH, expressando-se os resultados em IC<sub>50</sub>. O poder de redução do íon férrico, bem como a capacidade dos extratos de quelar íons ferrosos foram obtidos por espectrofotometria, enquanto que a inibição da peroxidação lipídica foi determinada pelo ensaio de descoloração do β-caroteno. Os resultados indicaram que todos os métodos de secagem térmica (microondas, estufa, e secagem ao sol) resultaram em reduções drásticas na capacidade antioxidante (DPPH) e da potência de redução do íon férrico, com efeitos mínimos sobre a capacidade quelante do íon ferroso e inibição da peroxidação lipídica. Com relação à secagem por métodos não-térmicos, perdas significativas e nas propriedades antioxidantes foram observadas nas folhas secas ao ar. A liofilização resultou em valores significativamente maiores na atividade antioxidante e na capacidade de redução do íon férrico para *A. zerumbet*. Os resultados das avaliações da atividade antioxidante têm relação direta ao conteúdo fenólico total. O liofilizado do chá foi superior ao chá comercial em todos os ensaios para as propriedades antioxidantes realizados (33).

A atividade antioxidante do extrato metanólico de folhas, rizomas e flores de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) e de folhas de *A. zerumbet* foi avaliada pelos métodos de DPPH, redução da capacidade quelante dos íons ferrosos e ensaio de descoloração do β-caroteno, nas concentrações de 1,3 e 7 mg/ mL. O extrato obtido de folhas de *A. galanga* apresentou maior atividade antioxidante na concentração de 7 mg/ mL, comparável à da quercetina na concentração de 3,3 mg/ mL. No teste de DPPH, a atividade antioxidante total do extrato de folhas de *A. zerumbet* foi mais pronunciada, com resultado de 834 ± 514 AA mg/ 100 g e IC<sub>50</sub>= 0,26 ± 0,04 mg/ mL, em comparação às folhas de *A. galanga*, que apresentaram resultado de 90 ± 36 AA mg/ 100 g e IC<sub>50</sub>= 4,7 ± 1,5 mg/ mL. No entanto, para o extrato de rizomas, foram obtidos valores de 168 ± 13 AA mg/ 100 g e IC<sub>50</sub>= 2,3 ± 0,2 mg/ mL, enquanto que para o extrato proveniente de flores os valores apresentados foram 98 ± 46 AA mg/ 100 g e IC<sub>50</sub>= 4,5 ± 1,9 mg/ mL (176).

O ensaio de DPPH também foi utilizado na avaliação da atividade antioxidante do extrato metanólico de flores de *E. elatior* (sin. *A. zerumbet*), sendo que as IC<sub>50</sub> foram

observadas nas concentrações de 9,14 mg/ mL para o extrato e 8,08 mg/ mL para o controle, butil-hidroxitolueno (149).

A atividade antioxidante do OE e extrato metanólico de folhas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), nas concentrações de 2 a 250 mg/ mL, foram avaliadas através do ensaio do DPPH, enquanto que para a avaliação do efeito sobre a peroxidação lipídica, foram utilizadas as concentrações de 25 a 200 mg/ mL. A capacidade de eliminação de radicais livres pelo OE e extrato foi comparada à atividade antioxidante da rutina, usada como controle positivo. Já no teste de inibição da peroxidação lipídica, a fisetina foi utilizada como controle positivo. O extrato metanólico e o OE não apresentaram qualquer atividade antioxidante em ambos os métodos nas concentrações testadas (92).

A atividade sequestradora de radicais livres também foi avaliada para o OE da planta inteira da espécie *E. Elatior* (sin. *A. speciosa*), através do ensaio de DPPH, com determinação por espectrofotometria, com três repetições. Segundo os autores, o OE apresentou atividade antioxidante, com uma  $IC_{50}$  de  $995,1 \pm 123 \mu\text{g/ mL}$ . Esta atividade tem relação direta com o conteúdo de fenólicos totais (7).

A atividade antioxidante foi avaliada para o OE de folhas de *A. zerumbet*, nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/ mL, sendo a vitamina E (100 mg/ mL) utilizada como antioxidante padrão. A inibição da peroxidação lipídica espontânea de homogeneizados a partir de cérebros de ratos na presença de diferentes concentrações de OE também foi avaliada através do teste de TBARS, assim como os teores de nitrito e glutathiona reduzida. Em todas as concentrações o OE diminuiu significativamente a peroxidação lipídica em cerca de 80%, em comparação ao controle positivo. As concentrações de 50 e 100 mg/ mL aumentaram significativamente os níveis de glutathiona reduzida, enquanto que todas as concentrações do OE reduziram os níveis de nitrito (18).

A atividade antioxidante do extrato, frações fenólicas não poliméricas e frações contendo taninos poliméricos de folhas e rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), foi avaliada através do ensaio de DPPH em comparação com o ácido ascórbico. O maior percentual de compostos fenólicos totais foi responsável por uma maior capacidade antioxidante, expressa em equivalentes de ácido ascórbico, que foram observados na fração polimérica dos rizomas de *A. galanga* (57).

A inibição da formação dos produtos finais da glicação avançada, como proteínas  $\alpha$ -dicarbonila e frutossamina, bem como a atividade antioxidante foram avaliadas para os extratos aquoso e etanólico de rizomas, sementes, pericarpo, flores, caules e folhas de *A. zerumbet* e para constituintes isolados dos rizomas da mesma: 5,6-deidrokawaina (DK) e diidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e 8(17),12-labdadien-15,16-dial. Para avaliar a capacidade antioxidante dos extratos foram utilizados os ensaios de DPPH, determinação de atividade antioxidante total (ABTS) e PMS-NADH modificado por Lau et al. (2002), sendo que em todos os ensaios os resultados foram obtidos por determinação espectrofotométrica. Para o ensaio de DPPH, extratos de sementes mostraram a melhor atividade ( $IC_{50} = 10,33 \pm 0,03 \mu\text{g/ mL}$ ), seguidos dos extratos de rizomas ( $IC_{50} = 25,31 \pm 0,67 \mu\text{g/ mL}$ ). No caso do ensaio de ABTS para avaliação da inativação de radicais, os valores de  $IC_{50}$  para os extratos de rizomas e sementes foram de  $73,94 \pm 1,23$  e  $84,29 \pm 0,72 \mu\text{g/ mL}$ , respectivamente. A inativação de radicais superóxido também foi mais eficiente no caso dos extratos de sementes e de rizomas do que para os extratos obtidos de outras partes da planta, com  $IC_{50}$  de  $58,55 \pm 0,31$  e  $64,70 \pm 0,72 \mu\text{g/ mL}$ , respectivamente. No entanto, extratos aquosos de sementes e rizomas tiveram efeito inibidor mais fraco do que os controles positivos (rutina e quercetina) nos ensaios de DPPH, ABTS e PMS-NADH ( $IC_{50} = 11,74 \pm 1,23$ ,  $14,26 \pm 0,16$  e  $24,80 \pm 0,98 \mu\text{g/ mL}$ , respectivamente). Já os resultados referentes à capacidade de inibição dos produtos da glicação avançada indicaram que o 8(17),12-labdadien-15,16-dial, com  $IC_{50} = 51,06 \mu\text{g/ mL}$ , teve ação similar aos controles positivos contra a frutossamina, no entanto em relação às proteínas  $\alpha$ -dicarbonila, a inibição do 8(17),12-labdadien-15,16-dial foi significativamente maior do que a inibição por resultante da presença de DK e DDK (86).

A atividade inibitória da expressão de MMP-9 (metaloproteinase-9) foi avaliada para o extrato etanólico de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), nas concentrações de 1 e 5 mg/ mL em  $2 \times 10^5$  células humanas do endotélio vascular tratadas com lipopolissacarídeo (LPS), através dos métodos de Western blotting, RT-PCR, eletroforese e ensaio colorimétrico de MTT, para verificação de viabilidade celular. O ensaio de MTT demonstrou que o LPS (2  $\mu\text{g/ mL}$ ) e o extrato metanólico (1 e 5 mg/ mL) não apresentaram efeitos citotóxicos frente às células testadas. O LPS, na concentração de 2  $\mu\text{g/ mL}$ , aumentou significativamente a secreção de MMP-9, em comparação ao controle. O extrato não apresentou efeito sobre o gene TIMP-1 mRNA

em células endoteliais vasculares tratadas com LPS, no entanto, inibiu significativamente a expressão de MMP-9 (177).

A atividade antiparasitária foi avaliada para os extratos aquoso, clorofórmico e metanólico de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), nas concentrações de 31,25 a 1000 µg/ mL. Os extratos vegetais e um fármaco padrão, o metronidazol (0,625-20 µg/ mL), foram incubados separadamente com  $2 \times 10^5$  trofozoítos de *Giardia intestinalis*/ mL de meio de crescimento, em condições anaeróbias por 24 h. Os resultados indicaram maior atividade para o extrato clorofórmico de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), com concentração inibitória mínima de 125 µg/ mL, que foi considerado ativo frente ao patógeno em questão, com IC<sub>50</sub> de 37,73 µg/mL. Os demais extratos apresentaram CIM  $\geq 1.000$  µg/ mL e IC<sub>50</sub>  $\geq 500$  µg/ mL, sendo considerados inativos frente ao patógeno (145).

A atividade antiproliferativa e morte celular ocasionada pelo acetato de 1'-acetoxichavicol (ACA), obtido por semi-síntese e adquirido comercialmente, foram avaliadas em células parenterais (3PCWT) e células 3PC-C10. As células foram semeadas em placas de 96 poços e tratadas com veículo (DMSO a 0,1%) ou ACA (2,5, 5 e 10 µM) durante 96 h. As placas foram utilizadas para o ensaio de MTT e foi observada a viabilidade celular. Os resultados demonstraram que o ACA suprimiu significativamente o desenvolvimento de cor no ensaio de MTT em aproximadamente 20% - 60%, nas concentrações de 2,5-10 µM (21).

A atividade anti-psoriática foi avaliada para o extrato etanólico de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) nas concentrações de 6.300, 3.150, 1.575 µg/ mL em  $1 \times 10^6$  células/ mL de linhagem de queratinócitos HaCaT, através do ensaio molecular semi-quantitativo da reação em cadeia da polimerase-transcriptase reversa (RT-PCR) e controle da expressão dos biomarcadores para o NF-kB. Os resultados indicaram uma diminuição significativa da expressão do fator de transcrição RelB, envolvido na síntese do NFkB para o extrato, com IC<sub>50</sub> de 6.300 µg/ mL. O extrato, na concentração 3.150 µg/ mL (IC<sub>50</sub> de 0,5), também diminuiu significativamente o CD40, envolvido na transcrição de mRNA para a síntese de NFkB. O extrato diminuiu a expressão do gene CSF-1 e poderia regular o fator NFkB, cuja disfunção está envolvida no surgimento de doenças inflamatórias como a psoríase. Adicionalmente, o aumento da expressão do gene TNFAIP3 ocasionado pelo extrato, aumentou a atividade do promotor VCAM1



(molécula de adesão celular vascular) após 24 h de tratamento. Segundo os autores, estes dados indicam sua potencial utilização no tratamento da psoríase, doença inflamatória crônica da pele caracterizada por uma rápida proliferação de queratinócitos e queratinização incompleta (36). Outro estudo utilizando as mesmas concentrações e o mesmo extrato avaliou a atividade anti-psoriática em  $3 \times 10^6$  células/ mL de linhagem de queratinócitos HaCaT. O extrato foi preparado segundo Thongrakard (2009) e Saelee et al. (2011). Os testes de Western blotting e microscopia confocal de imunofluorescência também foram utilizados, assim como a verificação dos níveis de expressão do gene da caspase 9. Não foram detectadas alterações significativas nos níveis de caspase 9 nas concentrações do extrato etanólico de rizomas de *A. galanga* avaliadas (159).

A atividade antitumoral foi avaliada em células Raji, submetidas aos extratos acetato de etila, hexânico, metanólico e clorofórmico de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*), através do ensaio EBV-EA (método utilizando o vírus Epstein-Barr EA: Ensaio imunoenzimático para a determinação qualitativa e quantitativa de anticorpos IgG contra o antígeno early do vírus Epstein-Barr). Também foram realizados testes para averiguar a atividade antitumoral e citotóxica de oito constituintes isolados a partir de frações de *E. elatior*: 1,7-bis(4-hidroxifenil)-2,4,6-heptatrienona, desmetoxicurcumina, 1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,4,6-heptatrien-3-ona, 16-hidroxiabda-8(17),11,13-trieno-16,15-olideo, stigmast-4-en-3-ona, stigmast-4-en-3,6-diona, stigmast-4-en-6- $\beta$ -ol-3-ona e 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxiergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol. Os resultados indicaram que tanto extrato CHCl<sub>3</sub> quanto o MeOH demonstram intensa atividade antitumoral, com 92,18% e 85,9% de taxa de inibição, respectivamente. Os extratos hexânico e acetato de etila foram citotóxicos contra células Raji na concentração inicial (200 mg/ mL). As frações menos polares mostraram elevada atividade antitumoral em comparação com as frações mais polares. Sete constituintes obtidos dos extratos hexânico e CHCl<sub>3</sub> (stigmast-4-en-3-ona; stigmast-4-en-3,6-diona;  $\beta$ -sitosterol e stigmasterol; ácido tetracosanoico; stigmast-4-en-6- $\beta$ -ol-3-ona; e 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxiergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol) foram selecionados para verificar a atividade antitumoral e mostraram elevada atividade, com uma taxa de inibição de 78,4%, 56,9%, 85,1%, 72,4%, 80,6% e 14,1%, respectivamente. Quatro extratos de rizomas de *Etilingera elatior* foram testados quanto a sua atividade citotóxica contra células CEM-SS e MCF-7, através da modificação do método de Monsman (ensaio de MTT). O extrato acetato de etila mostrou um efeito citotóxico

mais potente para ambas as linhagens celulares CEM-SS (IC<sub>50</sub> de 4 mg/ mL) e MCF-7 (IC<sub>50</sub> 6,25 mg/ mL). Os demais extratos (hexânico, CHCl<sub>3</sub> e MeOH) também apresentaram citotoxicidade contra ambas as linhagens de células, no entanto estes foram menos ativos (70).

A estimulação da apoptose, induzida pelo ligante do TNF- $\alpha$  TRAIL, através da estimulação dos promotores DR5 e DR4, foi avaliada para o extrato metanólico de rizomas e substâncias isoladas de *Catimbum speciosum* (sin. *A. zerumbet*): pinocembrina, naringenina, 3-metoxi-canferol, pinocembrina-chalcona, 5,6-deidrokawaina e cardamomina, em 2 x10<sup>5</sup> células/ mL, visando detectar um possível efeito antitumoral. Para o ensaio foram utilizadas duas linhagens celulares (AGS e DLD1/TR) e as substâncias isoladas foram testadas nas concentrações de 4,6, 9,3 e 18,5  $\mu$ M. O constituinte cardamomina também foi testado em associação com TRAIL (100 ng/ mL). A metodologia utilizada envolveu o ensaio de Luciferase (Kikuchi et al., 2007), análises de RT-PCR em tempo real, Western blot, Sub-G1 e coloração com anexina V/ isotiocianato de fluoresceína (Ohtsuki, et al., 2008), bem como a atividade da caspase-3 (Kikuchi et al., 2009). O extrato metanólico demonstrou regular a atividade do promotor DR5 (aumento de 3,1 vezes na concentração de 100  $\mu$ g/ mL). Das frações obtidas através de fracionamento, aquelas solúveis em hexano e acetato de etila apresentaram atividade (aumentos de 2,4 vezes e 4,8 vezes na concentração de 100  $\mu$ g/ mL, respectivamente). Os constituintes isolados, obtidos por cromatografia em coluna a partir da fração acetato de etila, foram avaliados quanto ao efeito sobre a atividade do promotor DR5, pelo ensaio de luciferase utilizando células DLD-1/SacI. A substância cardamomina ocasionou um aumento de 4,1 vezes na atividade do promotor DR5 em 18,5  $\mu$ M, mostrando maior atividade do que a luteolina (17,4  $\mu$ M), utilizada como controlo positivo. A fim de avaliar o efeito da cardamomina frente às células DLD1/TR, foram investigadas as alterações na expressão do gene nas vias relacionadas ao promotor DR5, utilizando Western blotting e PCR em tempo real. O tratamento de células DLD1/TR com a cardamomina durante 24h aumentou significativamente o nível de proteínas do promotor DR5 de uma forma dose-dependente. A análise em tempo real de RT-PCR também constatou que cardamomina reforça a expressão do gene de DR5 em 2,0 e 4,1 vezes, em concentrações de 9,3 e 18,5  $\mu$ M, respectivamente. Além disso, a expressão do gene do DR4 com tratamento com a cardamomina aumentou em comparação ao controle, de forma dose-dependente. O tratamento de células DLD1/TR

com cardamomina em concentrações de 9,3 e 18,5  $\mu\text{M}$  durante 24h diminuiu os níveis de proteína Bcl-xL (membro anti-apoptótico da família Bcl-2) de maneira dose-dependente, enquanto a expressão BAK (membro pro-apoptótico da família Bcl-2) não foi afetada pelo tratamento com cardamomina. Investigou-se também os efeitos do aumento da apoptose induzida por TRAIL em células DLD1/TR e de adenocarcinoma humano resistentes ao TRAIL(AGS), mediante tratamento com cardamomina, TRAIL, ou sua associação. Para o tratamento com 100 ng/ mL de TRAIL durante 24h, em células DLD1/TR, o sub-G1 (marcador de fragmentação apoptótica do DNA) aumentou apenas  $22,0 \pm 4,0\%$ , semelhante ao resultado obtido com a cardamomina isolada ( $15,5 \pm 1,0\%$ ). No entanto, a associação de 100 ng/ mL de TRAIL com cardamomina (9,3 e 18,5  $\mu\text{M}$ ) causou um maior aumento de sub-G1 ( $41,9 \pm 2,5\%$  e  $55,8 \pm 1,4\%$ , respectivamente). Resultados semelhantes foram obtidos quando da utilização de células AGS. Os resultados indicaram que a ativação das caspases 3, 8 e 9 é um dos mecanismos de ação envolvidos na ativação da apoptose pela associação de TRAIL + cardamomina. Também concorrem para o efeito o aumento da expressão dos genes relacionados aos promotores apoptóticos DR4 e DR5(99).

A atividade antitumoral foi avaliada para o extrato etanólico de *Kaempferia galanga* (sin. *A. zerumbet*), em células HT-29 de câncer de cólon humano e células MCF-7 de câncer de mama, utilizando ensaio colorimétrico com sal de tetrazólio para avaliar o efeito inibitório sobre o crescimento das células neoplásicas. O presente estudo não está disponível na íntegra e no resumo não foi relatada a parte vegetal utilizada para obtenção do extrato. Segundo os autores, não foi evidenciado efeito inibitório sobre o crescimento das células neoplásicas (137).

A atividade antitumoral também foi avaliada para os extratos éter de petróleo, clorofórmico e etanólico de rizomas de *L. galanga* (sin. *A. zerumbet*), nas concentrações de 20-640  $\mu\text{g/ mL}$ . Foi verificada a inibição do antígeno precoce contra o vírus Epstein-Barr (EBV-EA) induzida pelo TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoil-forbol) em células Raji. Para observar a expressão de EBV-EA em células tratadas e fixadas, uma modificação do método de imunofluorescência indireta (IFA) foi utilizada (Henle, 1966 e Henle et al., 1971). O ácido ascórbico (1000  $\mu\text{M}$ ), conhecido promotor antitumoral, foi usado como um padrão para a validação do método e ocasionou 50% de inibição induzida por TPA contra EBV-EA, em comparação ao controle negativo (0 % de citotoxicidade). A supressão da proteína do EBV-EA foi detectada por Western blot

segundo Towbin et al., 1979 e Burnette, 1981. Os extratos de *L. galanga* causaram a morte celular devido a sua toxicidade em todas as concentrações testadas (168).

A atividade antiviral foi avaliada para o constituinte acetato 1'S-1'-acetoxichavicol (ACA) isolado de *L. galanga* (sin. *A. zerumbet*), nas concentrações de 100, 50, 5, 1,5 e 0,5  $\mu\text{M}$ , em  $5 \times 10^5$  células Raji/ mL, obtidas de pacientes com carcinoma de nasofaringe. A amostra foi submetida ao ensaio de inibição da ativação de EBV, conforme Kondo et al. (1993). A citotoxicidade do constituinte em teste foi avaliada através da viabilidade celular, determinada após a coloração das células com azul de tripan, em esfregaços obtidos a partir da suspensão celular. As células positivas para o vírus EBV foram detectadas por técnica convencional de imunofluorescência indireta, seguida por IgG marcada com FITC (fluorescência pelo isotiocianato), enquanto que o bloqueio da esterase foi determinado de acordo com Irie et al. (1985). Através de um ensaio de 16 derivados, obtidos por modificações estruturais do ACA, foram encontradas as seguintes relações estrutura-atividade: a configuração absoluta na posição 1' não afeta a atividade; a hidrogenação do grupo metileno terminal origina um derivado inativo; ambos os grupos hidroxilas fenólico e alcoólico devem ser obrigatoriamente acetilados, é necessário que o primeiro esteja em posição *para* em relação à cadeia lateral; um grupo acetoxila adicional pode ocorrer em posição *orto* ou *meta*; a substituição do hidrogênio na posição 1' por um grupo metila reduz a atividade. Através do bloqueio da esterase em células Raji, o (1'R,S)-ACA suprimiu a ativação do vírus EBV (Epstein-Barr), sugerindo que os dois grupos acetoxi ligados ao ACA são pré-requisitos para a atividade. O presente estudo sugere que o ataque nucleofílico na posição 3' é importante e está envolvido na interação do ACA com molécula(s) alvo não identificada(s), que participam do processo de ativação do vírus EBV (120).

A atividade antiviral também foi avaliada para os extratos metanólico e aquoso de rizomas frescos de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) nas concentrações de 20 e 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  através da inibição de proteases dos vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), da hepatite C (VHC) e citomegalovírus humano (HCMV). O extrato metanólico apresentou forte inibição da protease do HIV-1 com  $97,5 \pm 0,4\%$  (na concentração de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e  $98,2 \pm 1,0\%$  (na concentração de 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). No entanto, foi detectada uma inibição fraca das proteases HCV e HCMV com  $58,7 \pm 1,8\%$  (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),  $82,8 \pm 0,9\%$  (200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e  $77,1 \pm 0,3\%$  (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )  $96,6 \pm 0,3\%$  (200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), respectivamente. No caso do extrato aquoso, a inibição da protease HIV-1 apresentou valor de  $16,5 \pm$

0,1% (na concentração de 20 µg/ mL) e  $37,9 \pm 1,0\%$  (na concentração de 200 µg/ mL), para HCV o resultado foi de  $12,3 \pm 0,8\%$  (20 µg/ mL) e  $75,7 \pm 5,2\%$  (200 µg/ mL), enquanto que para as proteases do HCMV a inibição foi de  $5,2 \pm 3,0\%$  (20 µg/ mL) e  $10,7 \pm 3,9\%$  (200 µg/ mL) (147).

No mesmo sentido, a atividade antiviral foi avaliada para o extrato aquoso de folhas e rizomas de *A. zerumbet* sobre as enzimas integrase (IN) e neuraminidase (NA) do vírus HIV-1. Uma atividade inibitória foi detectada frente à IN, com  $IC_{50} = 30$  (para folhas) e 188 µg/ mL (para rizomas), enquanto que frente a NA, os extratos demonstraram 50% de inibição nas concentrações de 43 e 57 µg/ mL, respectivamente. Os constituintes isolados a partir de rizomas, 5,6-deidrokawaina (DK), diidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e 8(17),12-labdadieno-15,16-dial foram testados quanto à inibição das enzimas. Verificou-se que a DDK é um inibidor reversível lento e tempo-dependente de NA, provavelmente com um grupo metóxi como seu sítio funcionalmente ativo. Segundo os autores, esses resultados sugerem que a espécie *A. zerumbet* poderia ser utilizada como fonte de substâncias bioativas contra as enzimas do HIV-1, integrase (IN) e neuraminidase (NA). Já os constituintes DK e DDK poderiam ser utilizados como medicamentos para o tratamento desta doença viral (162).

A atividade antiviral do acetato 1'S-1'-acetoxichavicol, isolado da *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) foi avaliada na inibição da replicação do HIV. O resumo relata que o constituinte ativo, pertencente à classe dos fenilpropanóides, possui atividade anti-HIV. No entanto não foi mencionado o órgão vegetal utilizado para obtenção do constituinte isolado (93).

A atividade citotóxica dos extratos clorofórmico, éter de petróleo e metanólico de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) foi avaliada nas concentrações de 30, 15, 7,5, 3,75, 1,875, 0,9375 e 0,46875 mg/ mL em  $5 \times 10^5$  células/ mL da linhagem celular HL-60 (células de leucemia promielocítica humana). O método descrito por Sukari, et al. (2007) e o teste colorimétrico de MTT foram utilizados. Os extratos éter de petróleo e clorofórmico apresentaram intensa atividade frente às células HL-60, com valores de  $IC_{50}$  de 4,7 e 5,6 µg/ mL, respectivamente. O extrato metanólico foi inativo nesta triagem, com  $IC_{50}$  maior do que 30 µg/ mL. No presente estudo os autores não relataram o órgão vegetal utilizado para obtenção dos extratos, o que caracteriza uma limitação (150).

O OE de folhas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), na concentração de 10 µL, foi avaliado quanto à atividade inibitória da acetilcolinesterase, através do método colorimétrico de Ellman (Ellman e Courtney, 1961). A capacidade inibitória do OE foi de  $83,9 \pm 1,8\%$  frente à enzima testada (30).

A atividade de monoterpenos presentes no OE de folhas de *A. speciosa* foi avaliada quanto à inibição de ATPases de larvas de *Aedes aegypti*, através do método de Western blotting. Atividades F-ATPásicas (ATPases do tipo F), V H<sup>+</sup>-ATPásicas (H<sup>+</sup>-ATPases do tipo V) e Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPásicas de larvas de *Aedes aegypti* foram utilizadas como parâmetros de avaliação. Segundo os autores, o OE e o α-pineno inibiram a expressão das subunidades B, C e G do complexo V1, embora inibam a V H<sup>+</sup>-ATPase em concentrações mais elevadas, inicando uma atividade larvicida (61).

Microsomas hepáticos humanos foram submetidos ao extrato metanólico de rizomas de *Alpinia galanga* (sin. *A. zerumbet*), na concentração de 0,5 mg/ mL, para avaliar a inibição dos citocromos P450 3A4 (CYP3A4) e P450 2D6 (CYP2D6), via N-desmetilação da eritromicina, e O-desmetilação do dextrometorfano. O extrato mostrou um aumento superior a 30% de inibição do CYP2D6, já frente ao CYP3A4 não foi detectada inibição na concentração avaliada (148).

Visando determinar o mecanismo de ação da inibição da produção de óxido nítrico pelo do 1'S-1' acetato de acetoxichavicol, isolado de rizomas de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*), foi avaliada sua capacidade de inibição do interferon-β (IFN-β) e do fator nuclear-KB (NF-KB) nas concentrações de 0, 0,3, 1, 3, 10 µM, em macrófagos ativados por lipopolissacarídeos (LPS) de exsudato peritoneal de camundongos machos ddY. A produção de óxido nítrico (NO) em cada poço foi avaliada por determinação da acumulação de nitrito; a citotoxicidade foi determinada pelos ensaios MTT, RT-PCR e eletroforese. O IFN-β, o IRF1 (fator regulador de interferon 1), e as expressões de mRNA-iNOS (óxido nítrico sintase) produzidas por LPS em macrófagos peritoneais foram determinados por meio de RT-PCR. O constituinte isolado inibiu a produção de IFN-β, bem como a ativação do NF-KB, os quais participam na indução de iNOS nos macrófagos ativados por lipopolissacarídeos (LPS). Este constituinte também inibiu a produção de óxido nítrico estimulado por ácido poliribocitidílico (14).

A atividade inibitória da formação dos produtos finais da glicação avançada, proteínas α-dicarbonila e frutossamina, foi avaliada para o extrato hexânico de rizomas

de *A. zerumbet* e para as seguintes substâncias isoladas: 5,6-deidrokawaina (DK), diidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e 8(17),12-labdadien-15,16-dial. Os resultados indicaram que o 8(17),12-labdadien-15,16-dial ( $IC_{50} = 51,06 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) apresentou atividade similar à rutina e quercetina (controles positivos) na inibição da formação da frutossamina, agindo em três fases diferentes da via. A inibição da formação de compostos  $\alpha$ -dicarbonílicos pelo 8(17),12-labdadien-15,16-dial foi significativamente maior do que aquela ocasionada pela DK e DDK. Estes dados indicam que o 8(17),12-labdadien-15,16-dial poderia ser utilizado para prevenir as complicações associadas à glicação na diabetes (86).

#### 4.3.2.2 Ensaios *in vivo*

A atividade ansiolítica o OE de folhas de *A. zerumbet* na dose de 3,5 mg/ L foi avaliada em camundongos por via inalatória, utilizando o teste de labirinto em cruz elevado, teste do compartimento claro e escuro e teste de campo aberto. O período de observação foi de até 120 min e foi verificado um efeito ansiolítico significativo, particularmente evidente no tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado, nos tempos de 90 e 120 min após inalação. No entanto, 150 min após exposição, não foi observado efeito ansiolítico nos animais (196; 184).

Em outro estudo os autores compararam a atividade ansiolítica do OE de folhas de *A. zerumbet* com a 5-HTP e fluoxetina. As doses utilizadas foram de 10 mg/ kg de 5-HTP; 10 mg/ kg de fluoxetina; 0,087 e 8,7 ppm de OE. No caso da utilização de pré-tratamento com 5-HTP ou fluoxetina, as frequências de saltos foram significativamente reduzidas. No teste de labirinto em cruz elevado com OE nas concentrações de 0,087 e 8,7 ppm observou-se uma atividade ansiolítica nos camundongos (121).

Para avaliação da atividade anti-úlceras dos constituintes isolados a partir de rizomas de *A. speciosa*, diidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e 5,6-deidrokawaina (DK), foram administrados separadamente por via ip e vo em ratos. Foram utilizados três tipos de ensaios de úlceras agudas (Shay úlcera, úlcera induzida por histamina e úlcera induzida por aspirina) e dois tipos de ensaios envolvendo úlceras crônicas (úlceras induzida por ácido acético e úlcera induzida por termocautério), sendo estudados os efeitos dos constituintes sobre a secreção gástrica, atividade ulcerativa da pepsina e

atividade protetora. Após o período de observação de 10 dias, DDK e DK inibiram significativamente as ulcerações Shay após 17 h de ligadura do piloro. A DK vo foi capaz de inibir a úlcera gástrica induzida por injeção intraperitoneal de histamina (1,81 mg/ kg), enquanto que DDK e DK vo reduziram significativamente a úlcera induzida por aspirina (300 mg/ kg). Já quando administradas vo e ip duas vezes ao dia durante 10 dias sucessivos, aceleraram o processo de cura da úlcera induzida por ácido acético. DDK e DK, quando administradas vo duas vezes ao dia por 10 dias sucessivos, aceleraram a cicatrização da úlcera ocasionada pelo termocautério, enquanto que a DK administrada ip também apresentou efeito cicatrizante, que não foi observado para a DDK (80).

A atividade diurética e anti-hipertensiva foi avaliada para a infusão e extrato hidroalcoólico de folhas de *A. speciosa* vo e ip, nas doses de 10 a 30 mg/ kg em ratos e cães, segundo a metodologia Martz, et al. (1962), sendo determinados também os teores de sódio e potássio nas preparações a partir da droga. O extrato apresentou efeito hipotensivo na dose de 10 a 30 mg/kg. O extrato continha 51,0 mEq Na<sup>+</sup>, e 132 mEq de K<sup>+</sup>, enquanto que para a infusão foram descritos 0,0 mEq de Na<sup>+</sup> e 26 mEq de K<sup>+</sup>, porém, o extrato e a infusão não apresentaram efeito diurético (116).

O OE de *A. zerumbet*, em doses de 0,1-600 µg/ mL, foi administrado em ratos para verificar a atividade antiespasmódica. Os resultados indicaram uma ação relaxante e antiespasmódica sobre o íleo, no entanto, os autores não informam a via e o intervalo de administração nem o órgão vegetal utilizado para a obtenção do OE (47).

A atividade anti-hipertensiva e redutora da hipertrofia cardíaca foi avaliada através da administração de 10 mg/ kg diários do OE de folhas de *A. zerumbet* ip, em ratos espontaneamente hipertensos Wistar-Kyoto e seus respectivos controles. Foram avaliados os registros da pressão arterial média (PAM), pulsátil (PAP) e frequência cardíaca (FC). Ao final do protocolo experimental, os animais foram sacrificados e o coração foi isolado e pesado. Os pesos ventriculares (ventrículos esquerdo/VE e direito/VD) também foram determinados e a razão do peso ventricular pelo peso corporal (VE/PC ou VD/PC) foi usada como índice para a estimativa da hipertrofia cardíaca. Outros parâmetros como a análise do peso corporal e do coração também foram avaliadas. Após o período de observação de 30 dias, os dados revelaram redução da pressão arterial média (PAM) no grupo tratado. A relação entre peso do ventrículo



esquerdo e peso corporal (VE/PC) dos animais tratados mostrou-se inferior ao controle, confirmando a redução da hipertrofia cardíaca. Os resultados indicaram que o tratamento crônico com OE foi capaz reduzir, mas não normalizar a PAM e da hipertrofia cardíaca de ratos, provavelmente pela presença dos componentes terpinen-4-ol e 1,8-cineol (23).

O extrato hidroalcoólico de *A. zerumbet* foi administrado por via oral em 15 ratos Wistar machos, a fim de testar a atividade hipotensora, utilizando como controle positivo o inibidor da síntese de óxido nítrico L-NAME, na dose de 30mg/ Kg/ dia. O grupo tratado recebeu Alpinia (200 mg/ Kg/ dia) + L-NAME. Os tratamentos foram colocados na água do bebedouro e o ensaio teve a duração de 31 dias. Os resultados indicaram que a administração crônica do extrato hidroalcoólico de *A. zerumbet* teve efeito hipotensor significativo, porém não é capaz de reduzir significativamente a remodelagem miocárdica que ocorre nos animais hipertensos. No entanto, os autores não citaram o órgão vegetal utilizado no estudo, o que caracteriza uma limitação (58).

A atividade cardiovascular (hipotensora) também foi testada em ratos anestesiados ou conscientes, com a administração via intravenosa (iv) de 1 a 20 mg/ kg de OE de folhas de *A. zerumbet*. Os resultados indicaram reduções imediatas e dose-dependentes na pressão arterial ocasionada em ambos os grupos de animais tratados (conscientes e anestesiados). No entanto, estes efeitos hipotensores foram significativamente maiores quando da administração de terpinen-4-ol (1 a 10 mg/ kg) do que os efeitos das mesmas doses de OE. Pré-tratamento intravenoso de ratos conscientes com qualquer um dos seguintes fármacos, metilatropina (1 mg/ kg) ou hexametônio (30 mg/ kg), não teve efeitos significativos sobre a hipotensão induzida pelo OE, indicando que a hipotensão ocorre independente da presença de um sistema nervoso simpático operacional, o que sugere que o OE seja um agente vaso-relaxante direto. Os autores do estudo atribuíram as ações do tratamento iv com OE em ratos ao efeito do terpinen-4-ol (95).

O extrato hidroalcoólico obtido a partir de folhas de *A. zerumbet* foi testado em ratos hipertensos, utilizando sal DOCA como indutor da hipertensão, visando avaliar a atividade vasodilatadora e anti-hipertensiva. Estudos mecanísticos aprofundados indicam como prováveis mecanismos de ação para a redução na pressão arterial sistólica, média e diastólica, um efeito vasodilatador dependente da ativação da via NO-

cGMP, com participação adicional dos receptores da bradicinina. Os autores evidenciaram suporte experimental para a indicação de *A. zerumbet* como uma planta medicinal anti-hipertensiva (118).

Doses de 0,01-3.000 µg/ mL do OE de partes aéreas de *A. zerumbet* e seu principal constituinte, 1,8-cineol, foram testados em ratos por via dérmica (banho), para avaliar a atividade vasorelaxante, através do método de contração induzida por fenilefrina. O OE e a substância isolada não afetaram o tônus basal da aorta e apresentaram efeito vasorelaxante, que não pode ser totalmente atribuído às ações do 1,8-cineol e parece ser totalmente dependente da integridade da funcionalidade do endotélio vascular (131).

Outro estudo também avaliou a atividade hipotensora do OE de folhas de *A. zerumbet* e seu principal constituinte, terpinen-4-ol, além do extrato aquoso, infusão e extrato hidroalcoólico de folhas de *A. speciosa*, em ratos Wistar machos. A administração do OE de *A. zerumbet* foi iv nas doses de 1, 5, 10 e 20 mg/ kg, enquanto que para o terpinen-4-ol foram administradas as doses de 1, 5 e 10 mg/ kg. Todos os animais foram submetidos à nefrectomia unilateral e a hipertensão foi induzida por sal DOCA por via subcutânea/ sc. A pressão arterial foi mensurada na aorta abdominal. Tanto em ratos hipertensos quanto em animais normotensos uninefrectomizados foi observada uma diminuição significativa de pressão arterial, de uma maneira dose-dependente. No entanto, as respostas hipotensoras ao terpinen-4-ol foram significativamente maiores do que as respostas provocadas pelas mesmas doses de OE (96).

Adicionalmente, uma revisão da literatura relata a atividade hipotensora do extrato aquoso de folhas de *A. speciosa*, porém o efeito hipotensor não é explicado por ações exercidas em nível de sistema nervoso autônomo, mas parece estar relacionado à atividade antagonista do influxo de  $Ca^{2+}$ . Esta atividade seria responsável pelo relaxamento da musculatura lisa vascular, pela diminuição da força contrátil do miocárdio e pela paralisia muscular esquelética. O extrato também apresentou efeito depressor do sistema nervoso central, possivelmente relacionado à atividade antagonista do  $Ca^{2+}$  (63).

O extrato hidroalcoólico de folhas de *A. speciosa* promoveu, em ratos e em cães, potentes efeitos hipotensores e demonstrou também não possuir atividade diurética nos

modelos experimentais utilizados, chegando mesmo a apresentar um efeito anti-diurético. Com a finalidade de comprovar os possíveis mecanismos de ação, estudos realizados com órgãos isolados como útero de rata virgem, duodeno de coelho, íleo isolado de cobaia, coração de anfíbio e átrio isolado de rato, foi observado que o extrato apresentou um efeito miorelaxante significativo, além de produzir um efeito depressor em coração de anfíbio e átrio isolado. A infusão e o extrato hidroalcoólico de folhas de *A. speciosa* apresentaram baixa toxicidade de acordo com a autora, que também relata importante atividade depressora ou tranquilizante do SNC para o extrato, segundo estudos de observação do tempo de sono (164).

A atividade anti-hepatotóxica foi testada em 24 ratos Sprague Dawley, através da administração de 300 mg/ kg diários de extrato de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) vo por 21 dias, visando avaliar seu efeito protetor frente à toxicidade hepática induzida por chumbo. Os resultados indicaram que o tratamento com o extrato reduziu significativamente as mudanças induzidas pelo chumbo na anatomia hepática, reduzindo também os níveis de chumbo no sangue e os danos oxidativos, e sugerem um efeito antioxidante intenso para o extrato de *E. elatior*. No entanto, o resumo omite a parte da planta utilizada e o solvente extrator, caracterizando uma limitação (72).

A atividade antioxidante do OE de folhas de *A. zerumbet* foi avaliada nas concentrações de 50 e 100 mg/ Kg, administrados por via ip em camundongos machos. Os níveis de nitrito e malonildialdeído (MDA) foram mensurados na urina e no sangue dos animais. Segundo os resultados, a atividade antioxidante do OE foi capaz de retornar os níveis de nitrito a parâmetros normais e reduziu os níveis de MDA (59).

O extrato metanólico de *A. speciosa*, nas doses de 200 e 400 mg/ kg, foi testado em ratos quanto à atividade anti-inflamatória aguda, através do teste de edema de pata induzido por carragenina. O extrato não apresentou atividade anti-inflamatória nas doses avaliadas e a leitura do resumo possibilitou a detecção de uma limitação, uma vez que o órgão vegetal utilizado no estudo não foi citado (178).

O OE de *A. zerumbet* foi administrado nas doses de 30, 100 e 300 mg/ kg vo, a 30 camundongos Swiss machos, para avaliar a atividade antinociceptiva através do teste da placa quente. Os resultados sugeriram um efeito antinociceptivo dose-dependente para o OE, com mecanismo de ação que envolve, provavelmente, a participação dos

receptores opióides (47). Outro estudo utilizou as mesmas doses de OE de *A. zerumbet*, o mesmo animal e a mesma via de administração, no entanto com um número de animais diferente. No teste de contorções produzidas pelo ácido acético o n= 38 e para os demais testes (placa quente, formalina) o n= 10. Também nesse caso os autores relataram um efeito antinociceptivo dose-dependente, com um mecanismo de ação que provavelmente envolve a participação de receptores opióides. Já a eficácia do OE no teste da placa quente indica um efeito analgésico, com ação principalmente na medula espinhal e/ ou no sistema nervoso central (20). Em ambos os estudos, não foi mencionado o órgão vegetal utilizado para a extração de OE.

O OE de folhas de *A. zerumbet* foi administrado pelas vias ip/ intraplantar/ vo em camundongos Swiss Abinos machos, nas doses de 10, 30, 100 e 300 mg/ kg. Os animais foram submetidos a modelos de analgesia como o teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, teste da placa quente e teste da formalina. Os resultados do teste da formalina na dose de 300 mg/ kg indicam redução da resposta à dor, o que pode indicar uma atuação do OE em diferentes rotas neuronais, e/ ou um efeito indireto como agente anti-inflamatório, assim como sua possível ação em receptores opióides (62).

O extrato etanólico de flores de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) foi testado nas doses de 50, 100 e 200 mg/ kg vo em ratos machos Sprague-Dawley, com o objetivo de verificar sua atividade antioxidante frente à intoxicação por chumbo, através da avaliação da hidroperoxidação lipídica total, do teor de proteína carbonila, da atividade da superóxido dismutase e glutathione peroxidase, bem como dos níveis de chumbo no sangue. Ao final de 14 dias, os resultados sugeriram que o extrato tem efeito antioxidante pronunciado frente à intoxicação por chumbo. Os autores relataram que o estresse oxidativo induzido por chumbo pode ser tratado com a utilização do extrato (153).

Os constituintes isolados dos rizomas de *A. speciosa*, 5,6-deidrokawaina (DK) e diidro-5,6-deidrokawaina (DDK), foram testados quanto à atividade antiplaquetária em coelhos. As substâncias provocaram inibição da agregação plaquetária e liberação de ATP das plaquetas, induzidas pelo ácido araquidônico e colágeno, com IC<sub>50</sub> de 10 e 60 µg/ mL, respectivamente, e não afetaram aquelas induzidas pelo ADP, pelo fator de ativação plaquetária (FAP) e pela trombina. A formação de tromboxano B2 pelo ácido

araquidônico também foi suprimida por ambos os constituintes. A DK também inibiu a agregação secundária, mas não a agregação primária induzida pelo ADP e por epinefrina. Os autores concluíram que o efeito antiplaquetário de ambas as substâncias, DK e DDK, é devido à inibição da formação de tromboxano A<sub>2</sub> (156).

O OE de folhas de *A. zerumbet* foi testado ip em diferentes estudos, com o objetivo de avaliar sua atividade antipsicótica, hipnótica e miorelaxante. Em um dos relatos, o OE foi testado em ratos Swiss nas doses de 50, 100, 200 mg/ kg, enquanto que a cetamina foi testada na dose de 20 mg (n= 6-10). A hiperlocomoção por cetamina, a atividade hipnótica induzida pelo pentobarbital (40 mg/ kg ip), teste do rotarod, coordenação motora, recuperação do reflexo e equilíbrio foram avaliados. O estudo demonstrou a atividade antipsicótica do OE em modelo farmacológico de esquizofrenia (hiperlocomoção por cetamina); também foi detectado seu efeito sedativo (18).

O OE de folhas de *A. zerumbet* foi testado em ratos Swiss (n= 6-11), nas doses de 50 e 100 mg/ kg, em teste de campo aberto, catalepsia, avaliação da estereotipia induzida por apomorfina, teste de labirinto em cruz elevado, nado forçado e suspensão da cauda, tendo o haloperidol como controle positivo. Da mesma forma que o haloperidol, o OE, na dose de 100 mg/ kg, aumentou a atividade cataléptica (167%), o tempo de imobilidade no nado forçado e no teste de suspensão da cauda. Nenhuma alteração no teste do labirinto em cruz elevado foi registrada. Os autores relataram um efeito depressor e possível atividade antipsicótica do OE (19). O OE de folhas da mesma espécie também foi testado em outro estudo, nas doses de 50 e 100 mg/ kg, em camundongos machos. Foram utilizados os testes de campo aberto, rotarod, suspensão da cauda, nado forçado, labirinto cruz elevado, convulsões induzidas por eletrochoque, avaliação da estereotipia induzida por apomorfina e hiperlocomoção induzida por cetamina. Também foi realizado um estudo neuroquímico, através da determinação da concentração de dopamina. No ensaio de campo aberto, os resultados indicaram um efeito do OE sobre o sistema dopaminérgico. Não foi observado efeito sobre a coordenação motora dos animais, no entanto o OE mostrou uma ação depressora sobre o SNC, pois foi observado um aumento do tempo de imobilidade dos animais nos testes de nado forçado e suspensão da cauda. Não houve alteração do desempenho dos camundongos no teste do labirinto cruz elevado, sugerindo que o OE, nas doses utilizadas, não apresenta atividade ansiolítica/ ansiogênica. Por outro lado, o OE apresentou efeito anticonvulsivante na dose de 100 mg/ Kg. O OE também foi capaz de

reverter de maneira dose-dependente os comportamentos estereotipados induzidos por apomorfina, indicando a participação de receptores de dopamina na sua atividade, hipótese confirmada pela diminuição dos níveis deste neurotransmissor no corpo estriado dos animais. Quanto à hiperlocomção induzida por cetamina, o OE reduziu a atividade locomotora, ação decorrente do bloqueio de receptores dopaminérgicos (59).

O acetato de 1'-acetoxichavicol (ACA) obtido por processo de síntese e o mesmo constituinte (ACA) obtido a partir do extrato hexânico de rizomas de *Alpinia galanga* (sin. *A. zerumbet*) foram testados quanto a atividade antitumoral. Ambos foram administrados por via tópica em camundongos transgênicos com expressão do gene Stat3 e do tipo selvagem (WT) na dose de 340 nmol, com frequência de duas vezes por semana durante 14 dias (n=14). Ao final do estudo, os camundongos foram sacrificados, e a pele e os tumores foram removidos para análise histopatológica e imunohistoquímica, tendo sido realizadas análise de peso úmido, biópsia, análise histológica e análise de Western blot para relatar os efeitos dos diferentes tratamentos sobre o alvo molecular. Os resultados indicaram que o ACA sintético inibiu fortemente a ativação do NF-kB em ambas as linhagens de camundongos e demonstrou uma supressão promissora da carcinogênese em camundongos com expressão do gene Stat3, algo que o ácido *trans*-retinóico não foi capaz de fazer. A epiderme no grupo tratado com ACA/TPA (13-acetato de 12-*o*-tetradecanoil forbol) assemelhava-se à epiderme do grupo tratado apenas com TPA. O peso úmido no grupo tratado com o ACA obtido do extrato/grupo TPA foi significativamente menor do que o peso úmido no grupo tratado com ACA sintético/TPA. A expressão do gene Stat3 permaneceu inalterada nos grupos tratados de camundongos do tipo selvagem. O ACA obtido do extrato causou uma supressão eficaz na hiperproliferação induzida por TPA, quando avaliado o peso úmido da pele, e da espessura da epiderme em ambos os grupos de camundongos. Portanto, os resultados sugerem que o ACA proveniente do extrato é um agente eficaz na modulação dos eventos celulares associados com o câncer de pele (18).

A bioacumulação do OE de folhas de *A. zerumbet* foi testada através da sua administração por inalação em camundongos e observação da distribuição dos componentes do OE nos tecidos e órgãos através de CG-EM, assim como a quantificação dos principais componentes do OE ( $\alpha$ -pineno, *p*-cimeno, 1,8-cineol, e limoneno). Já a atividade ansiolítica foi avaliada pelo teste do compartimento claro e escuro, teste de campo aberto e teste de labirinto em cruz elevado. O acúmulo do  $\alpha$ -

pineno no cérebro foi praticamente equivalente àquele observado no fígado. No entanto, os componentes do OE acumularam-se principalmente nos rins. Os autores concluíram que a maioria dos constituintes não se distribui necessariamente pelos diferentes órgãos do organismo nas mesmas quantidades e/ ou proporções, sendo necessário considerar a distribuição nos tecidos para investigar os efeitos da inalação do OE. Com relação às avaliações comportamentais, os resultados indicaram uma atividade ansiolítica para o OE (142).

Em ratos Wistar pré-tratados com OE de folhas de *A. zerumbet* por 14 dias consecutivos na dose de 100 mg/kg, com administração posterior de isoproterenol (substância indutora de infarto do miocárdio) na dose de 150 mg/ kg, foi verificada a atividade cardiovascular, através da observação dos seguintes parâmetros: Elevação de marcadores de lesão miocárdica (transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e troponina I), redução dos níveis de catalase e glutatona), bem como as alterações histopatológicas avaliadas no ápice do ventrículo esquerdo. Avaliou-se ainda a mortalidade, os níveis de hemoglobina, contagem de leucócitos e neutrófilos e níveis de marcadores da função renal. Ao final do experimento constatou-se que o pré-tratamento com o OE apresentou efeitos protetores, prevenindo o infarto do miocárdio induzido por isoproterenol, uma vez que atenuou o aumento das taxas de TGO e troponina I; atenuou a elevação do número de neutrófilos e preservou os níveis de catalase e de glutatona no miocárdio. No entanto, o OE não exerceu efeitos sobre a mortalidade, variação do peso dos animais; níveis séricos de transaminase glutâmico pirúvica (TGP), de hemoglobina e contagem de leucócitos, níveis séricos de marcadores da função renal, bem como alterações histopatológicas no ápice do ventrículo esquerdo (75).

A distribuição dos componentes do OE de folhas de *A. zerumbet* foi avaliada após inalação dos componentes majoritários do OE ( $\alpha$ -pineno, p-cimeno, 1,8-cineol e limoneno) de forma individual e na forma de associação. As doses avaliadas foram de 10 mL/ L de ar para os componentes individuais; de 40 mL/ L de ar para a associação de quatro componentes; ou de 20 mL/ L de ar para a associação de dois componentes. A adsorção e metabolização no cérebro e no fígado foram analisadas quantitativamente por CG-DIC, sendo que os níveis dos componentes do OE no cérebro e no fígado foram observados por 90 minutos. Os resultados indicaram que a quantidade de  $\alpha$ -pineno no cérebro e no fígado foi duas vezes maior após a inalação do componente em associação do que após a inalação do componente isolado. Numa comparação entre os

componentes da associação, a proporção de  $\alpha$ -pineno nos órgãos foi cerca de três vezes maior do que 1,8-cineol. Os autores sugeriram que a absorção através da mucosa nasal influenciou esse fenômeno. (143)

O efeito de dietas suplementadas com o pó de sementes, a mistura dos pós de sementes e de cascas, na proporção de 40/ 60, e o OE de sementes (0,01-0,10%) de *A. zerumbet* foram testados quanto à atividade hipolipemiante. Os pós foram administrados por via oral em 11 grupos de ratos Sprague-Dawley (um deles recebeu dieta com altos teores de gordura), e a atividade hipolipidêmica foi observada por oito semanas. Ao final desse período, os grupos que receberam dieta com elevado teor de gordura com as três suplementações acima descritas, apresentaram aumento da excreção fecal de colesterol e redução significativa da taxa de triglicérides séricos totais; No entanto, as atividades da superóxido dismutase e glutathione peroxidase apresentaram-se praticamente inalteradas, enquanto que as taxas de lipoproteínas de alta densidade foram elevadas no grupo com suplementação como OE. Já os níveis de lipoproteínas foram reduzidos no tratamento com o pó de sementes, os níveis de ácido araquidônico foram aumentados principalmente pelo OE, em comparação ao grupo controle. Os autores relataram que a redução significativa de triglicerídeos e colesterol hepático total implicam em um efeito protetor hepático, e que o efeito hipolipidêmico pode ser atribuído à combinação do OE com a fibra bruta (46).

A capacidade de inibição do desenvolvimento de alterações morfológicas da mucosa do colon (focos de criptas aberrantes) induzidas pelo azoximetano através da administração do acetato de 1'-acetoxichavicol (ACA), presente em sementes e nos rizomas de *Languas galanga* (sin. *A. zerumbet*), foi avaliada em ratos machos F344 (n= 60). Os ratos receberam dieta com ou sem ACA, entre 15,1 e 15,4 g/ rato /dia. A metodologia utilizada incluiu a técnica AgNOR (marcador de proliferação celular e/ ou de malignidade), exames histopatológicos no fígado, rins e pulmões, punção cardíaca para obtenção de sangue, além da expressão de marcadores de proliferação celular tais como ornitina descarboxilase (ODC), pontos nucleares com reação positiva à prata em células do cólon, núcleos de células da mucosa e nível de poliaminas no sangue. Além disso, a frequência de micronúcleos no epitélio do cólon de ratos expostos a azoximetano com ou sem ACA na dieta e alterações carcinogênicas relacionadas à dieta também foram observadas. Após o período de observação (cinco semanas), os autores



detectaram a inibição significativa dos eventos acima descritos, que indicam a inibição dos critérios de malignidade pela dieta contendo ACA (154).

A capacidade de inibição de alterações morfológicas relacionadas à malignidade (focos de criptas aberrantes induzidas pelo azoximetano) também foi testada frente ao extrato aquoso de inflorescências de *Etlíngera elatior* (sin. *A. speciosa*) utilizando ratos Sprague-Dawley, porém o artigo está indisponível e o resumo não relata os resultados obtidos neste experimento (1).

O OE de folhas de *A. zerumbet* e um de seus constituintes, o terpinen-4-ol, foram testados quanto à interferência com o potencial de ação composto no nervo ciático. Este experimento foi baseado na estimulação elétrica em ratos e, após o período de observação de 3 h, tanto o OE quanto o terpinen-4-ol inibiram a propagação do impulso nervoso, a amplitude pico a pico, bem como a velocidade de condução do potencial de ação composto, de forma dose-dependente, sendo que o efeito foi revertido após 180 min da remoção das amostras por lavagem. Segundo os autores, as atividades apresentadas pelas amostras tornam verossímil a hipótese de que possam ocorrer efeitos sobre tecidos nervosos, em tratamentos aromaterapêuticos com o OE (114).

O OE de folhas de *A. zerumbet* foi testado na dose de 0,1- 600 µg/ mL quanto à atividade miorelaxante e antiespasmódica, através da avaliação contração induzida por KCl ou acetilcolina em ratos machos. Os autores relataram atividade relaxante e antiespasmódica sobre o íleo de ratos para o OE (25). Outro estudo também avaliou as mesmas atividades nas mesmas doses de OE, porém neste estudo de revisão não estão disponíveis maiores detalhes referentes a esse experimento (47).

O extrato de inflorescências de *Etlíngera elatior* (sin. *A. speciosa*) na dose de 100 mg/ Kg /dia vo por 14 dias, foi avaliado quanto à atividade protetora contra a intoxicação por chumbo em 40 ratos Sprague-Dawley machos. Os animais foram divididos em cinco grupos experimentais (n=8): Grupo I - controle (sem tratamento), grupo II - acetato de chumbo (500 ppm em água potável), grupo III - extrato, grupo IV - acetato de chumbo com extrato, o grupo V - acetato de chumbo. Os tratamentos foram feitos durante 14 dias e, em seguida, o extrato foi administrado por mais 14 dias (100 mg/ Kg). Ao final do período experimental, os ratos foram pesados e anestesiados com pentobarbital sódico, e amostras de sangue foram coletadas para as análises bioquímicas. O fêmur esquerdo e direito foram retirados para avaliar a medula. A partir

das amostras de soro, lípidios peroxidados (LPO), conteúdo de proteína carbonila (PCC), superóxido dismutase (SOD), glutathiona-peroxidase (GPx), glutathiona-S-transferase (GST), antioxidantes totais (TA), níveis de proteína e de fosfatase alcalina foram determinados por kits comerciais. As amostras de soro foram testadas quanto aos níveis de chumbo, através de espectrofotometria de absorção atômica. Para as análises histopatológicas, o osso íliaco com a parte proximal do fêmur foi excisado. Os resultados revelaram um aumento significativo na peroxidação lipídica, proteína carbonila e uma redução significativa de antioxidantes totais, superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e glutathiona-S-transferase na medula óssea, após exposição ao acetato de chumbo. O tratamento com o extrato diminuiu a peroxidação lipídica e o conteúdo de proteína carbonila e aumentou significativamente o nível de antioxidantes totais e enzimas antioxidantes e também reduziu o dano histopatológico induzido por chumbo na medula óssea. Os autores concluíram que o extrato de inflorescências de *E. elatior* (sin. *A. speciosa*) tem efeito antioxidante pronunciado e protege a medula óssea de ratos dos danos oxidativos induzidos pelo acetato de chumbo (73).

O extrato de *Etilingera elatior* (sin. *A. speciosa*), obtido por soxhlet e liofilizado, foi administrado na dose de 100 mg/ Kg / dia vo em ratos Sprague-Dawley machos por 14 e 28 dias, para avaliar a atividade a protetora contra dano testicular por acetato de chumbo. Os 36 animais foram divididos em seis grupos: controle negativo (água); controle positivo (acetato de chumbo); extrato de *Etilingera elatior*; acetato de chumbo+ extrato por 14dias; acetato de chumbo por 14 dias + extrato por 14 dias; extrato por 14 dias + acetato de chumbo por 14 dias. Ao final do período de tratamento, os ratos foram sacrificados, os testículos foram excisados e o homogeneizado foi utilizado para a determinação das atividades da superóxido dismutase (SOD), glutathiona-peroxidase (GPx) e conteúdo de proteínas carboniladas (PCC) através de kits comerciais, sendo feita também a análise histopatológica dos testículos, enquanto que o soro foi utilizado para o ensaio de testosterona. Os resultados mostraram que o extrato induziu uma redução significativa na atividade das PCC e provocou um aumento significativo na atividade da SOD e GPx nos testículos, e também aumentou o nível de testosterona no soro. O extrato também melhorou a histologia dos testículos quando comparada com o grupo tratado com acetato de chumbo. Segundo os autores, o extrato foi eficaz contra os danos oxidativos causados pelo acetato de chumbo nos testículos. No entanto, o artigo não cita o órgão vegetal e nem o solvente extrator, o que caracteriza uma limitação (74).

#### 4.3.2.3 Ensaios *ex vivo*

Foram localizados dez artigos que fazem referência à utilização de OE e extratos de *A. speciosa*, OE e substâncias isoladas de *A. zerumbet* em ensaios *ex vivo*. Segue abaixo uma síntese dos artigos, em ordem cronológica.

A atividade antioxidante foi avaliada para o extrato de *A. speciosa* e para substâncias isoladas em suspensão de fígado de rato irradiada com luz visível, avaliando-se a diminuição da peroxidação lipídica e a inativação de espécies reativas de oxigênio (ERO). O extrato de *A. speciosa* e o dimetil [6-(2-feniletil)-2-oxo-2H-piran-4-il] fosfotonato (derivado semissintético da kawaina) inibiram a formação de ERO. Das cinco substâncias obtidas por semissíntese, o derivado acima citado apresentou a atividade mais intensa. O artigo não está disponível e no resumo os autores não citam qual a parte da planta utilizada para obter o extrato, assim como o solvente utilizado e o método de extração (100).

O efeito vasodilatador do extrato hidroalcolico de folhas de *A. zerumbet*, nas doses de 3-100 µg, foi avaliado no leito vascular mesentérico (LVM) isolado de ratos Wistar machos. A acetilcolina (10 pmol) e nitroglicerina (1 µM) foram utilizadas como controles. O extrato, na dose de 6 µg, promoveu um potente efeito vasodilatador, que é inibido parcialmente pelo L-NAME, tendo também participação dos canais de potássio dependentes de cálcio e de ATP, já que o mesmo é inibido por concentrações elevadas de potássio. Segundo os autores, os resultados fornecem subsídios farmacológicos para o emprego do extrato em pacientes hipertensos (15).

A atividade antiespasmódica e espasmogênica do OE de folhas de *A. zerumbet* e seus principais constituintes químicos (terpinen-4-ol e 1,8-cineol) foram avaliados nas doses de 1-1000 µg/ mL, com a adição de 30 µM em músculo respiratório liso de rato. O OE e seus constituintes não alteraram o tônus basal, exceto para OE (100 µg/ mL) e 1,8-cineol (600 µg/ mL), que induziram pequena contração. O OE (1-1000 µg/ mL) bloqueou, com similar potência, contrações induzidas pela acetilcolina (30 µM), prostaglandina F2 (30 µM), 5-hidroxitriptamina (10 µM) e 60 mM de K<sup>+</sup> (IC<sub>50</sub>= 280,76 µg/ mL, 194,73 µg/ mL, 315,05 µg/ mL e 162,56 µg/ mL, respectivamente). O OE relaxou preparações pré-contraídas e mantidas em presença de prostaglandina F2 (PGF2), 5-hidroxitriptamina (5-HT) e K<sup>+</sup> e também preparações previamente relaxadas

pela epinefrina (EPIN). O relaxamento induzido pelo OE não foi alterado pela presença do éster metílico da 1-nitro-L-arginina (L-NAME, 500  $\mu$ M), cafeína (1 mM) e indometacina (2  $\mu$ M). O OE (600  $\mu$ g/ mL) bloqueou contrações induzidas por acetilcolina (60  $\mu$ M) em soluções nutritivas contendo nifedipina (10  $\mu$ M) ou em solução livre de  $\text{Ca}^{2+}$ . O OE (1.000  $\mu$ g/ mL) bloqueou completamente a contração induzida por  $\text{Ca}^{2+}$  em solução com 80 mM de  $\text{K}^+$  na presença de cafeína (5 mM). O terpinen-4-ol bloqueou contrações induzidas por acetilcolina e prostaglandina F2 com potências similares ( $\text{IC}_{50}$ = 342,88  $\mu$ g/ mL e 129,64  $\mu$ g/ mL, respectivamente) e com menor efeito na contração induzida por 60 mM de  $\text{K}^+$  ( $\text{IC}_{50}$ = 24,90  $\mu$ g/ mL). O terpinen-4-ol (600  $\mu$ g/ mL) relaxou preparações submetidas à EPIN. Esse relaxamento, entretanto, não diferiu daquele na ausência deste mediador. Na mesma concentração, esse constituinte bloqueou a contração induzida por acetilcolina (60  $\mu$ M) em soluções nutritivas contendo nifedipina (10  $\mu$ M) ou em solução livre de  $\text{Ca}^{2+}$ . O 1,8-cineol bloqueou a contração induzida por 60 mM de  $\text{K}^+$  e com menor potência do que quando esta foi induzida por 30  $\mu$ M de acetilcolina. Também induziu relaxamento, com efeitos similares, em preparações pré-contraídas e mantidas em presença de PGF2 (30  $\mu$ M) e 60 mM de  $\text{K}^+$  ( $\text{IC}_{50}$ = 479,13  $\mu$ g/ mL e 78,98  $\mu$ g/ mL, respectivamente). O 1,8 cineol (600-1000  $\mu$ g/ mL) não relaxou a contração induzida por 5-HT (10  $\mu$ M) e, nas concentrações de 30-600  $\mu$ g/ mL, no entanto potencializou as contrações induzidas por ACh. Na concentração de 600  $\mu$ g/ mL, relaxou preparações submetidas à EPIN. O relaxamento induzido pelo constituinte foi amplificado pela cafeína (1 mM), sendo que o 1,8-cineol (1.000  $\mu$ g/ mL) amplificou as contrações induzidas por 1,0; 3,0 e 10 mM de  $\text{Ca}^{2+}$  em solução com 80 mM de  $\text{K}^+$  e 5 mM de cafeína, não bloqueando os efeitos de altas concentrações extracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$ . Os resultados deste estudo demonstraram que OE e o terpinen-4-ol possuem efeito antiespasmódico em músculo liso traqueal de rato, enquanto o 1,8-cineol apresenta efeito espasmogênico, no qual ocorre o envolvimento do neurotransmissor colinérgico (109).

Outro estudo também utilizou o OE de folhas de *A. zerumbet*, porém com o objetivo de verificar a ação sobre a amplitude e velocidade de condução do potencial de ação do nervo ciático de ratos Wistar machos. As concentrações foram de 100, 300, 600 e 2.000 mg/ mL, os fármacos/ amostras a serem testadas foram dissolvidos em solução de Locke e administrados através do banho por 180 min. Os nervos foram escarificadas por deslocamento cervical e estimulados a uma frequência de 0,2 Hz, com pulsos

elétricos de 50-100 ms de duração, de 10-20 V. A concentração de 60 µg/ ml de OE não alterou o potencial de ação do composto. A velocidade de condução da preparação foi significativamente reduzida em 180 min de exposição a 100 µg/ ml do OE. Nas concentrações de 300, 600 e 2000 µg/ mL do OE, as amplitudes pico-a-pico na sequência de tampões com 180 min de exposição do nervo à amostra foram reduzidos de forma significativa, para 75,37; 50,45 e 0 % respectivamente, em comparação ao controle. A velocidade de condução foi reduzida significativamente por 300, 600 e 2000 µg/ mL de OE, em 180 min, para 83,61; 64,06 e 22,77%, respectivamente, comparado ao controle. Todos estes efeitos originaram-se lentamente e foram reversíveis após lavagem (99).

A atividade vasodilatadora do extrato hidroalcoólico de folhas de *A. zerumbet* oriundas de culturas mantidas em meio contendo AIA (ácido indol acético) foi avaliada no leito mesentérico de ratos Wistar machos (n=6) nas doses de 1, 3, 6, 10, 30, 60 e 90 µg injetada em "bolus". A metodologia seguiu McGregor, 1965. O extrato produziu efeito vasodilatador com padrão de resposta dose-dependente de duração prolongada, inibindo o relaxamento (17,4%) na dose de 90 µg em relação ao controle. Estes resultados estão de acordo com a concentração de fenóis totais, que foi 50% menor para o extrato de plantas cultivadas *in vitro* na presença de AIA (52).

A ação espasmolítica de *A. zerumbet* em íleo de cobaia foi observada através da inibição da contração, provocada pela ação de histamina ou cloreto de bário. Os constituintes, responsáveis pela ação espasmolítica observada, foram os sesquiterpenoides β-edesmol, nerolideo, epóxido de humuleno II e α-hidroxiidroagarofurano. Estas informações são provenientes de um artigo de revisão, que não menciona maiores detalhes sobre o experimento (47).

O OE de folhas de *A. speciosa*, nas concentrações de 3–1500 µg/mL, foi avaliado quanto à atividade cardiodepressora no coração de ratos adultos. O OE foi solubilizado em cremofor EL, cuja concentração final no banho de órgãos nunca excedeu 0,01%, concentração que também foi adicionada à solução controle. Os efeitos do OE sobre a força de contração do átrio esquerdo foram avaliados através da passagem de uma força elétrica de 0,5 Hz pelo átrio e sua posterior exposição a concentrações crescentes de OE. O efeito destas concentrações crescentes também foi investigado sobre a contração espontânea do átrio direito (ritmo sinusal). Para comparar

os efeitos do OE na fibrilação e na contração, foi realizada uma série de experimentos usando a nifedipina (bloqueador do canal L  $\text{Ca}^{2+}$ ) como controle positivo. O OE diminuiu a força de contração atrial com uma  $\text{EC}_{50}$  de  $292,2 \pm 75,7 \mu\text{g/ mL}$ , enquanto que a nifedipina reduziu a força de contração atrial de forma dose-dependente, com uma  $\text{EC}_{50}$  de  $12,1 \pm 3,5 \mu\text{g/ mL}$ . O ritmo sinusal foi diminuído pelo OE, com uma  $\text{EC}_{50}$  de  $595,4 \pm 56,2 \mu\text{g/ mL}$ . O OE a 25 e a 250  $\mu\text{g/ mL}$  inibiu os canais de  $\text{Ca}^{2+}$  do tipo L em  $32,6 \pm 9,2\%$  e  $89,3 \pm 7,4\%$ , respectivamente, sendo esta inibição envolvida no seu efeito cardiodepressor (140).

O extrato aquoso de folhas de *A. zerumbet* e suas frações (hexânica, acetato de etila, diclorometânica) nas doses de 0,15; 0,5; 1,5; 5; 15 e 50  $\mu\text{g/ mL}$ , foram testados quanto à atividade vasodilatadora em 17 ratos machos Wistar, sendo também avaliada a integridade do endotélio. O extrato e as frações hexânica e acetato de etila foram capazes de relaxar significativamente a aorta torácica isolada de rato, atividade que foi mais pronunciada para a fração acetato de etila. Entretanto, a fração diclorometânica não apresentou atividade vasodilatadora. A atividade da fração acetato de etila foi abolida em preparações desprovidas de endotélio tratadas com L-NAME (inibidor da óxido nítrico sintase), ODQ (inibidor da guanilato ciclase solúvel) e PEG-Catalase. Entretanto, o efeito vasodilatador da fração acetato de etila permaneceu inalterado após tratamento da aorta com caribdotoxina mais apamina, catalase e SOD. Os resultados sugerem que a fração acetato de etila continha as substâncias ativas responsáveis pela atividade vasodilatadora do extrato aquoso, sendo que a atividade produzida foi dependente do endotélio e via NO-GMPc, contando com a participação das espécies reativas do oxigênio em nível intracelular (16).

Dois estudos avaliaram a atividade do OE de *A. zerumbet* sobre o potencial de ação composto no nervo ciático de ratos. Um deles utilizou as concentrações de 60, 100, 300, 600 e 2.000  $\mu\text{g/ mL}$ , enquanto que o outro foi realizado com as doses de 300 e 600  $\mu\text{M}$ . Ambos os experimentos tiveram período de observação de 180 minutos, sendo avaliados o pico de amplitude e a velocidade de condução do potencial de ação composto. Ao final do primeiro experimento, os autores observaram que a concentração de 60  $\mu\text{g/ mL}$  não induziu efeito sobre a amplitude do pico e nem sobre a velocidade de condução do potencial de ação composto. Porém, em 100  $\mu\text{g/ mL}$ , houve redução significativa da velocidade de condução. As concentrações de 300, 600 e 2.000  $\mu\text{g/ mL}$  também reduziram significativamente a amplitude do pico, sendo esse efeito também

observado no segundo estudo, para as doses de 300 e 600  $\mu\text{M}$ . Neste artigo de revisão os autores não relataram o órgão vegetal do qual foi obtido o OE (47).

O OE de folhas de *A. zerumbet* e seu principal constituinte, 1,8-cineol, foram testados em ratos quanto à atividade relaxante vascular, através do método isométrico convencional, nas concentrações de 0,01-3.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , sendo observadas as contrações induzidas pelo neurotransmissor fenilefrina (FE). O OE, na concentração de 0,03  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , induziu relaxamento da contração induzida por FE (0,1  $\mu\text{M}$ ), já o 1,8-cineol, nas concentrações de 300 e 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , provocou um relaxamento da contração induzida por FE em preparações na presença e na ausência de endotélio, porém o efeito máximo induzido pelo constituinte ocorreu na concentração de 3.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e, em ambas as preparações, bloqueou 100 % da contração promovida pela FE. O éster metílico da L-nitro arginina (L-NAME, 100  $\mu\text{M}$ ) bloqueou o relaxamento induzido pelo OE e pelo 1,8-cineol sobre a contração de FE. O bloqueio por L-NAME foi superior nas concentrações de 30 e 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  do OE e do 1,8-cineol, respectivamente. Em presença de uma solução nutritiva sem adição de  $\text{CaCl}_2$  e inclusão de EDTA (10 mM), o OE e o 1,8-cineol não relaxaram a contração induzida por FE. Segundo os autores, estes resultados indicam que o OE possui efeito dependente de óxido nítrico e dos níveis extracelulares de cálcio, ao contrário do constituinte isolado (123).

Foi avaliada a capacidade anti-inflamatória do éster metílico álcool- $\gamma$ -*O*-cumarílico isolado de *A. galanga* (sin *A. zerumbet*) nas concentrações de 0, 5, 10, 30  $\mu\text{mol}/\text{L}$ . Estas concentrações foram aplicadas em  $2 \times 10^6$  Th CD4+/ $\text{mL}$  que foram isolados a partir de camundongos C57BL6 e estimuladas com um anticorpo contra os receptores de células T na presença de fenilpropanoides. A produção de citocinas foi medida através de ELISA (ensaio imunoenzimático) e da coloração das citocinas intracelulares. Gene knockout de camundongos e tetraciclina induzida nos camundongos transgênicos foram utilizados para examinar os mecanismos moleculares da fenilpropanoides sobre a modulação da produção de citocinas. Produção de citocinas, nível intracelular de espécies reativas de oxigênio (ROS), apoptose celular, viabilidade celular foram avaliados. Os resultados relatam que o tratamento com o fenilpropanoide diacetato de *p*-cumarila (DAC) reduziu significativamente os níveis de ROS intracelulares. No entanto, o éster metílico de álcool- $\gamma$ -*O*-cumarílico (EMAC) foi um inibidor mais potente da geração intracelular de ROS. A ação dose-dependente do DAC aumentou a apoptose celular e diminuiu a viabilidade celular das células primárias

ThCD4+, reforçando a hipótese de uma atividade pró-apoptótica por acetóxi fenilpropanoides. Já o EMAC não afetou a apoptose celular ou a viabilidade das células primárias Th CD4 +. Diferentes concentrações de EMAC não apresentaram efeito sobre as quantidades da interleucina IL-2 produzida pelas células Th CD4+, porém a produção de IFN $\gamma$  (interferon) foi suprimida pela inibição da proteína T-bet, sugerindo que o EMAC tenha efeito modulador moderado. Os resultados indicam efeito benéfico de EMAC em células Th CD4+ na modulação inflamatória imune mediada pelo excesso de produção de IFN $\gamma$  (180).

## 4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

### 4.4.1 Fase I

Os primeiros ensaios clínicos de fase I ocorreram no ano de 1991 e são referentes à atividade diurética das espécies vegetais em questão. Posteriormente, outros estudos foram sendo realizados nos anos de 1992 e 2010, procurando avaliar o potencial diurético das espécies *A. speciosa* e *A. zerumbet*, respectivamente. Já em 2009 foi realizado um estudo referente à genotoxicidade e avaliação da segurança da administração do chá de *A. zerumbet*.

A atividade diurética foi avaliada através da intervenção de 0,8 g/ 100 mL de chá de folhas de *A. speciosa* comparadas a 0,8 g/ 100 mL de chá de placebo (baunilha e água) ambas administradas por via oral a dez voluntários saudáveis. Foi realizada a avaliação laboratorial dos seguintes teores no plasma e na urina: creatinina (método de picrato alcalino por reação de Jaffé segundo Mofate, et al., 1954), cálcio (espectrofotômetro Perkin Elmer 290-B), fosfato (método de Fisk & Sulbarow, 1925), ácido úrico (método Folin & Denis, modificado por Erichorn, 1967) e sódio e potássio (fotômetro de chama modelo Pegasus II, TECNOW). Já no sedimento urinário, os glóbulos vermelhos e leucócitos foram determinados, assim como proteinúria, glicosúria e volume total de urina. Os autores evidenciaram que a *A. speciosa* apresenta ligeira diurese nas doses testadas e também diminuiu a pressão sanguínea diastólica e sistólica. Não foram observados efeitos sobre eletrólitos ou parâmetros da função renal e, segundo os



autores, essa ausência provavelmente exclui qualquer efeito tubular ou glomerular renal dessa preparação (97).

A intervenção por vo da preparação de folhas de *A. speciosa*/ água, na concentração de 7,5 g/ 100 mL, 0,8 g/ 100 mL e 25 g/ 100 mL em um grupo de dez participantes foi avaliada, sendo observados os seguintes parâmetros: Exame físico, parâmetros plasmáticos e urinários de sódio, potássio, ácido úrico, cálcio, fosfato, além de ureia, creatinina e volume urinário total. Os autores relataram que a preparação causou leve aumento da diurese e diminuição da pressão sanguínea diastólica e sistólica dos participantes, porém o artigo encontra-se indisponível na versão completa e, no resumo disponibilizado pelos autores, os mesmos não especificam qual método foi utilizado para obter essa preparação (98).

A ação diurética de *A. zerumbet* foi avaliada a partir de uma amostra de dez participantes que receberam uma dose de 0,8 g de folhas de *A. zerumbet*/ 100 mL de água e um período de observação de 21 dias. Após a observação dos níveis de sódio plasmático e urinário, potássio, ácido úrico, cálcio, fosfato, uréia e creatinina, os autores constataram a ação diurética da *A. zerumbet* no grupo experimental avaliado (47).

A genotoxicidade do chá de folhas de *A. zerumbet* (540 mL de chá preparado por infusão de 9 g de folhas secas) foi avaliada em comparação a um chá placebo (1,5 g de mistura de celulose microcristalina e corante). Ambos foram administrados por vo a 36 participantes em ensaio duplo-cego/ teste cometa, sendo observados também os linfócitos periféricos. Após o período de observação de 21 dias, os autores relataram que o chá de folhas de *A. zerumbet* é seguro na dose utilizada, não apresentando genotoxicidade frente aos linfócitos humanos (12).

#### **4.4.2 Fase II**

Apenas um estudo clínico de fase II foi realizado com a espécie *A. speciosa*. Na intervenção foi utilizado o extrato hidroalcoólico (70%) de folhas por vo, na dose de 250 mg por cápsula, sendo que os pacientes receberam de 1-6 capsulas por dia. A população em estudo compreendeu 22 pacientes, com diagnóstico de hipertensão leve ou moderada, sem uso de anti-hipertensivo nos últimos 30 dias, com mais de 35 anos e índice de massa corporal inferior a 27. Dos voluntários, 13 tomaram apenas uma

cápsula, oito tomaram duas cápsulas e apenas um tomou a dose máxima (seis cápsulas). Os seguintes parâmetros foram avaliados: hemograma completo, glicose, uréia, creatinina, colesterol total, triglicéridos, ácido úrico, transaminases, bilirrubinas, fosfatase alcalina, sódio e potássio séricos, exame qualitativo de urina e eletrocardiograma. Ao final do período de observação de seis semanas, os resultados evidenciaram que a dose máxima não teve efeitos colaterais, indicando boa tolerabilidade. O extrato foi eficaz na redução da dor de cabeça em todos os pacientes que apresentaram diminuição da pressão arterial. Estes voluntários também mostraram diminuição da insônia e agitação, indicativos de efeitos no sistema nervoso central. Segundo os autores, os resultados demonstraram a eficácia após seis semanas de tratamento na redução da pressão sanguínea sistólica, em 20 dos 22 pacientes submetidos ao tratamento. A eficiência do extrato na redução da pressão arterial diastólica também foi demonstrada após seis semanas, em 19 dos 22 pacientes submetidos ao tratamento (163).

#### **4.4.3 Fase III**

Um estudo do tipo prospectivo, analítico, aleatório com a utilização do OE de folhas de *A. speciosa* em 75 pacientes com síndrome piramidal e em tratamento fisioterapêutico foi realizado. Além do estudo de casos clínicos em tratamento de espasticidade crônica, foi avaliado o comportamento da pressão arterial. A amostra era composta de 36 adultos e 39 crianças, sendo avaliados 978 diferentes grupos musculares. Do grupo de crianças, 24 foram divididas em quatro grupos: dois grupos denominados Shantala, sendo um tratado e outro controle, por via dérmica; e dois grupos denominados cinesioterapia, sendo um tratado e outro controle, por via inalatória. As demais crianças (N= 15) foram tratadas por via dérmica. Em crianças, o grau do tônus dos músculos espásticos, as atividades estáticas e dinâmicas funcionais foram mensuradas através do protocolo Durigon et al. (2004). Já em adultos mensurou-se o tônus, a goniometria passiva e ativa e grau de força. Em crianças, o grupo submetido à Shantala (via dérmica) e grupo tratado por inalação apresentaram resultado significativo para tônus, avaliação da função estática e dinâmica. Em adultos, o grau do tônus dos músculos espásticos, a goniometria passiva e ativa e grau de força também apresentaram resultado favorável e significativo. Portanto, segundo os autores, a

utilização do OE como tratamento associado à fisioterapia em pacientes com a síndrome piramidal é indicado, devido à modificação da espasticidade e em específico pela influência sobre as cadeias polipeptídicas pesadas da miosina. O OE em músculos espásticos revelou-se uma alternativa de intervenção eficaz para tratar esta síndrome incapacitante (54).

A intervenção com o extrato de *A. galanga* (sin. *A. zerumbet*) versus placebo, ambos por vo duas vezes ao dia, com acetaminofeno como medicação de resgate, foi utilizada para investigar a eficácia na redução da dor em consequência de osteoartrite ("dor no joelho em pé"). A aleatorização dos 261 pacientes com osteoartrite no joelho e dor moderada a grave foi incluída em um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, multicêntrico, de grupos paralelos. Os resultados foram observados no período de seis semanas e o parâmetro de observação foi a redução da dor de  $>$  ou  $=$  15 mm numa escala análoga à visual. Dos pacientes avaliados, o percentual dos que tiveram uma redução na dor foi superior no grupo tratado, em comparação ao controle (63% versus 50%). Foram analisados os valores médios dos seguintes parâmetros: redução da dor no joelho quando em pé (24,5 mm no grupo tratado contra 16,4 mm no grupo controle), redução da dor no joelho após andar 15,24 m (15,1 mm do grupo tratado contra 8,7 mm no grupo controle) e redução no índice de osteoartrite segundo a WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Arthritis), com 12,9 mm no grupo tratado contra 9,0 mm no controle. Alteração do estado global e uma redução no consumo de medicação de resgate foram numericamente maiores no grupo tratado, no entanto um número maior de pacientes tratados sofreram efeitos adversos gastrintestinais leves, em comparação ao grupo controle (59 versus 21). Esse estudo não está disponível na versão completa e no resumo não foi mencionado o órgão vegetal utilizado para obtenção do extrato, assim como o solvente utilizado na extração (10).

#### **4.4.4 Fase IV**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

#### **4.4.5 Estudos observacionais**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

#### **4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO**

De acordo com os relatos da medicina popular as espécies em questão apresentam atividades diurética moderada, antitussígena, antitérmica, analgésica, antimicrobiana, antiestresse, sendo utilizadas também como expectorantes, no tratamento de doenças infecciosas, dermatológicas, distúrbios gastrintestinais, carminativo, laxante, bem como em casos de vômitos e doenças do estômago, inflamação, alergia na pele causada por insetos ou micro-organismos, problemas endócrinos, distúrbios nutricionais e metabólicos, doenças do sistema osteomuscular e tecido conjuntivo, até no tratamento da malária, icterícia e diabetes (8, 13, 21, 67, 68, 113, 131, 161).

Em estudos pré-clínicos *in vitro*, os extratos, OE, frações e constituintes isolados das espécies vegetais em questão apresentam atividades antitumoral, apoptótica, antiproliferativa, antiparasitária, antiamebiana, anti-inflamatória, antifúngica, antipsoriática, antiaterogênica, antioxidante, larvicida frente a *A. aegypti*, antibacteriana, na ativação do NF-KB, ação inibitória na produção de IFN- $\beta$  e óxido nítrico, bem como sobre a acetilcolinesterase, peroxidação lipídica e na expressão do citocromo CYP2D e de MMP-9 (4, 5, 7, 14, 18, 24, 26, 30, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 41, 42, 44, 47, 50, 57, 59, 60, 61, 64, 70, 81, 85, 86, 92, 93, 101, 105, 106, 120, 122, 124, 125, 127, 134, 137, 141, 144, 145, 147, 148, 149, 150, 157, 159, 160, 162, 168, 169, 170, 171, 172 e 176). A DK apresentou ação inibitória intensa frente à colagenase, elastase, hialuronidase e tirosinase (85). Já o 8(17),12-labdadieno-15,16-dial foi considerado um potente agente antiglicante, pois se verificou que é capaz de inibir a formação de produtos AGEs (produtos de glicação avançada) em três fases diferentes na via (86). O acetato de 1'S-1'-acetoxichavicol possui atividade antiviral frente ao HIV e o 1'etil-acetoxichavicol inibiu intensamente a fagocitose de macrófagos peritonias (93, 171). Entretanto, nos estudos toxicológicos o extrato hidroalcoólico de folhas de *A. speciosa* desencadeou contorções, excitação psicomotora, hipocinesia e prurido em ratos, com DL<sub>50</sub> (via ip) de

0,760 ±0,126 g/ Kg e DL<sub>50</sub> (vo) de 10,0 ±2,5 g/ kg (115). O pó de *L. galanga* provocou aumento da hepatocarcinogenese em ratos (53). O extrato aquoso e o OE de folhas de *A. zerumbet* não apresentaram efeitos citotóxicos nem genotóxicos em camundongos Swiss, ademais o OE de folhas de *A. zerumbet* não causou sinais de mutagenicidade nos leucócitos de ratos, mas apresentou efeitos antioxidantes e protetores frente à citotoxicidade induzida por clastogenese e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (26,29).

Já nos estudos pré-clínicos *in vivo*, os derivados vegetais das espécies de interesse demonstraram as atividades antipsicótica, hipotensora, anticonvulsivante, analgésica, ansiolítica, antioxidante, sedativa, redutora do pico de amplitude da estimulação do nervo ciático, antinociceptiva, antiplaquetária, vasorelaxante, anti-úlceras, cardiovascular, antiespasmódica sobre o íleo de ratos, hipnótica, antitumoral e anti-inflamatória, bem como inibição do desenvolvimento de focos de criptas aberrantes induzidas pelo azoximetano e protetora no infarto do miocárdio, contra a intoxicação por chumbo e os danos ocasionados por esse metal pesado. Estudos envolvendo o pré-tratamento com o OE detectaram efeitos protetores no infarto do miocárdio. Ambos os constituintes, diidro-5,6-deidrokawaina (DDK) e 5,6-deidrokawaina (DK), inibiram significativamente as úlceras gástricas e também possuem efeito antiplaquetário, devido à inibição da formação de tromboxano A<sub>2</sub>. Porém há um estudo que relata a ação hipertensiva destes constituintes (1, 16, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 46, 47, 58, 59, 62, 63, 72, 73, 74, 75, 80, 95, 96, 114, 116, 118, 121, 123, 131, 142, 143, 152, 153, 154, 156, 164 e 178).

Em seres humanos (estudos clínicos), as espécies de interesse promoveram leve aumento da diurese (três estudos com o chá de folhas) e diminuição da pressão sanguínea diastólica e sistólica (dois estudos com chá de folhas), ou seja, atividades hipotensora e diurética, bem como analgésica (para o extrato hidroalcoólico de folhas e um estudo sem especificação do órgão vegetal e solvente extrator utilizados – trabalho indisponível na íntegra). Estudos também relataram a ausência de genotoxicidade do chá de folhas frente a linfócitos humanos (10, 47, 54, 97, 98, 263).

#### **4.5.1 Vias de administração**

Dentre os estudos realizados com as espécies abordadas nesta monografia, várias vias de administração foram relatadas, porém a via de maior prevalência foi a oral, seguida da via intraperitoneal. Em consequência, é recomendada a administração por via oral de preparações a partir das espécies de interesse (12, 13, 15, 18, 19,20, 21,23, 24, 29, 46, 47, 52, 53, 58, 59, 62, 113, 72, 73, 74, 80, 95, 96,97, 98, 99, 116, 121, 131, 142, 143, 152, 153, 154, 161 e 163 ).

#### **4.5.2 Dose diária**

Nos estudos clínicos a maior dose diária relatada foi de 1500 mg/ Kg vo (163).

#### **4.5.3 Posologia (Dose e intervalo)**

Com base nas informações existentes na literatura e descritas nessa monografia, principalmente considerando-se os estudos clínicos, a administração diária por via oral do chá de folhas de *A. speciosa* deve ser em dosagem inferior a 7,5 g/ 100 mL (98). Já no caso de extratos hidroalcoólicos secos de folhas de *A. speciosa*, a dose máxima permitida é de 1500 mg/ Kg (163).

#### **4.5.4 Período de utilização**

O estudo clínico avaliado propõe a utilização por 42 dias (seis semanas) por via oral (163). Entretanto, nos estudos pré-clínicos foram observados efeitos de toxicidade subaguda em consequência da administração diária via ip do extrato hidroalcoólico de *A. speciosa* durante 30 dias (116). Já a administração diária por vo de 1% do pó de *A. zerumbet* por oito semanas desencadeou o aumento da hepatocarcinogênese (53).

#### **4.5.5 Contra Indicações**

Extratos, OE e constituintes isolados de *A. speciosa* e *A. zerumbet* são contraindicados para pacientes com histórico de hipersensibilidade e alergia

reconhecida às espécies vegetais ou a outras espécies da família Zingiberaceae. Preparações à base dessas espécies não devem ser utilizadas durante a gravidez sem orientação médica, uma vez que existe um relato de possível efeito abortivo na medicina popular (161).

#### **4.5.6 Grupos de Risco**

Gestantes e hipotensos (23, 47, 58, 96 e 161).

#### **4.5.7 Precauções de Uso**

Não utilizar durante a gravidez (161).

#### **4.5.8 Efeitos Adversos Relatados**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

#### **4.5.9 Interações Medicamentosas**

##### **4.5.9.1 Descritas**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

##### **4.5.9.2 Potenciais**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

##### **4.5.9.3 Informações de Superdosagem**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

#### **4.5.9.4 Descrição do quadro clínico**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

#### **4.5.9.5 Ações a serem tomadas**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

### **5 INFORMAÇÕES GERAIS**

#### **5.1 Formas farmacêuticas/ formulações descritas na literatura**

Cápsulas de extrato hidroalcoólico seco de folhas e chá de folhas, preparado por infusão, foram utilizados em estudos clínicos. Na medicina popular são utilizados a tintura de rizomas e o chá de flores, de folhas e de raízes (10, 98, 113, 161,163).

#### **5.2 Produtos registrados na anvisa e outras agências reguladoras**

A tintura preparada a partir de folhas de *A. zerumbet* consta do Formulário Nacional de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira. Entretanto, as espécies vegetais *A. speciosa* e *A. zerumbet* não possuem registro na ANVISA (11).

#### **5.3 Embalagem e armazenamento**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

#### **5.4 Rotulagem**

Dado não encontrado na literatura pesquisada.



## 5.5 Monografias em compêndios oficiais e não oficiais

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

## 5.6 Patentes solicitadas para a espécie vegetal

Patentes referentes às espécies de interesse revisadas nesta monografia foram encontradas nas seguintes bases de dados: Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), Patentes dos Estados Unidos (US Patents), Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO), Gabinete Europeu de Patentes (EPO) e Gabinete de Patentes do Japão (JPO).

**Quadro I:** Levantamento de informações científicas nas bases de dados de patentes

<b>Base de dados</b>	<b>Estratégia de busca</b>	<b>Data da busca</b>	<b>Resultados</b>	<b>Patentes relacionadas à monografia</b>
INPI	<i>Alpinia speciosa</i> or <i>Alpinia zerumbet</i>	16/02/2013	1	1
WIPO	<i>Alpinia speciosa</i> or <i>Alpinia zerumbet</i>	16/02/2013	171	13
EUROPEAN	<i>Alpinia speciosa</i> or <i>Alpinia zerumbet</i>	16/02/2013	110	8
Us Patents	<i>Alpinia speciosa</i> or <i>Alpinia zerumbet</i>	16/02/2013	5	2
JPO	<i>Alpinia speciosa</i> or <i>Alpinia zerumbet</i>	16/02/2013	8	1

No INPI, o documento com número BR19990003144 19990316, intitulado fitoterápicos com ações anti-hipertensiva e tranquilizante a partir da espécie vegetal *Alpinia speciosa*, refere-se à preparação de fitoterápicos para uso oral a partir de folhas, tubérculos e raízes de *A. speciosa* ou *A. zerumbet*. Os fitoterápicos podem ser preparados a partir da planta seca pulverizada e encapsulada ou na forma de infusos,

colutórios, chás, tinturas, extratos aquosos e hidroalcolicos, podendo ser utilizado também o OE da planta.

Na base de dados US Patents foram encontrados cinco resultados, porém apenas dois documentos, 7.252.845 e 6.566.405, fazem referência às espécies, que descrevem composições sinérgicas contendo constituintes aromáticos e terpenoides presentes em *A. galanga*.

Nas bases de dados EPO, WIPO, JPO foram encontrados 21 documentos referentes à busca, que encontram-se sumarizados no quadro II.

**Quadro II:** Documentos relacionados ao uso medicamentoso de *Alpinia speciosa* e *Alpinia zerumbet*, encontrados nas bases de dados EPO, WIPO e JPO.

<b>N° do documento</b>	<b>Base de Dados</b>	<b>Breve resumo referente ao documento</b>
JP2007077154	EPO	Solução a partir de <i>A. speciosa</i> utilizada para a desinfecção na cavidade oral e garganta. O órgão vegetal não foi especificado no resumo do documento.
JP2007197377	EPO	Extrato aquoso de folhas de <i>A. speciosa</i> e suas aplicações em produtos para a pele, produtos farmacêuticos, bem como alimentícios.
11172588	WIPO	Método para produção de polpa de <i>A. speciosa</i> . O órgão vegetal não foi especificado no resumo do documento.
11199891	WIPO	Método de obtenção de extrato de folhas de <i>A. speciosa</i> .
JP19980375507 19981127	EPO	Bebida medicinal à base de raízes, caules e folhas de <i>A. zerumbet</i> .
JP20040019644 20040128	EPO	Utilização do suplemento associando coenzima Q10 a um constituinte ativo do extrato de folhas de <i>A. speciosa</i> na profilaxia da arteriosclerose, na proteção dos vasos sanguíneos, alívio da fadiga, melhora da função

		motora e da eficiência metabólica.
JP20040056994 20040302	EPO	Método para uso e fabricação de resíduos de madeira à base de <i>A. speciosa</i> com efeito inseticida, antisséptico e desodorizante na construção de edifícios. O órgão vegetal não foi especificado no resumo do documento.
JP20040071173 20040312	EPO	Extrato de <i>A. speciosa</i> juntamente, com outras substâncias, para tratar a enfermidade “pé de atleta”. O órgão vegetal não foi especificado no resumo do documento.
JP20050212293 20050722	EPO	Preparo do chá de folhas de <i>A. speciosa</i>
US201113178596 20110708	EPO	Medicamento inibidor da armazenagem de gordura nos adipócitos à base de extrato de <i>A. galanga</i> . O órgão vegetal não foi especificado no resumo do documento.
2000069950	WIPO	Substituto do tabaco livre de nicotina produzido a partir de folhas de <i>A. speciosa</i> .
2001122638	WIPO	Método de fabricação de produtos de vidro com propriedades antimicrobianas à base de constituintes de <i>A. speciosa</i> . O órgão vegetal não foi especificado no resumo do documento.
2002206099	WIPO	Método de extração de constituinte de <i>A. speciosa</i> . O órgão vegetal não foi especificado no resumo do documento.
2002302453	WIPO	Método para diminuir o amargor e a adstringência de folhas de <i>A. speciosa</i> e extrato do caule.
2003199541	WIPO	Efeito preventivo na disgeusia e envelhecimento, bem como ativação de hormônios, metabolismo e crescimento celular através da utilização do chá de sementes de <i>A.</i>

		<i>speciosa</i> .
2004010757	WIPO	Extrato de flores de <i>A. speciosa</i> como antioxidante e na prevenção do envelhecimento acelerado da pele por radiação ultravioleta.
2004137202	WIPO	Creme à base do OE de folhas de <i>A. speciosa</i> para melhorar a imunidade e nos casos de polinose.
2005053863	WIPO	Ação profilática e terapêutica de substância proveniente da fermentação de folhas de <i>A. speciosa</i> para tratamento da diabetes mellitus.
2007028911	WIPO	Preparação de chá de sementes de <i>A. speciosa</i> .
2008013481	WIPO	Utilização do extrato ou constituinte isolado de rizomas de <i>A. speciosa</i> como inibidor da atividade da tirosinase e/ ou lipoxigenase.
2010195747	WIPO	Uso do extrato de cascas de <i>A. speciosa</i> como promotor na produção de glutathiona.

## 5.7 DIVERSOS

### 5.7.1 Curiosidades

A colônia, como é conhecida popularmente a espécie vegetal em questão, foi trazida para o Brasil no século XIX para o Jardim Botânico do Rio de Janeiro, onde recebeu o nome de flor-da-redenção e bastão-do-imperador. Este nome é atribuído ao fato de ser esta a flor que a rainha Isabel recebeu de presente após ter assinado a Lei aurea em 13 de maio de 1888 (SANTANA, 2009).

## REFERÊNCIAS

1. Abdah, M.A.; Meng, L.B.; Fauziah, O.; Asmah, R. Effect of *Etilingera elatior* (Kantan) inflorescence aqueous extract on aberrant crypt foci in sprague dawley rats. *Malaysian Journal of Microscopy* 2009; 5 (1): 179-184.
2. Abdelmageed AHA, Faridah QZ, Nur Amalina A, Muhamad Yaacob. The influence of organ and post-harvest drying period on yield and chemical composition of the essential oils of *Etilingera elatior* (Zingiberaceae). *Journal of Medicinal Plants Research* 2011; 5 (15): 3432-3439.
3. Abdelnaser A. Elzaawely; Tran D. Xuan; Haruo Koyama; Shinkichi Tawata. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. *Food Chemistry* 2007; 104 (4): 1648-1653.
4. Abdelnaser AE, Tran DX, Shinkichi T. Changes in essential oil, kava pyrones and total phenolics of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. leaves exposed to copper sulphate. *Environmental and Experimental Botany* 2007; 59 (3): 347-353.
5. Abdelnaser AE, Tran DX, Shinkichi T. Essential oils, kava pyrones and phenolic compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. and their antioxidant activity. *Food Chemistry* 2007; 103 (2): 486-494.
6. Abdelwahab SI, Zaman FQ, Mariod AA, Yaacob M, Abdelmageed AH, Khamis S. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of the essential oils of *Etilingera elatior* and *Cinnamomum pubescens* Kochummen. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2010; 90 (15): 2682-2688.
7. Ahsan SK, Shah AH, Tanira MOM, Ahmad MS, Tariq M, Ageel AM. Studies on some herbal drugs used against kidney stones in Saudi folk medicine. *Fitoterapia* 1990; 61 (5): 435-438

8. Albuquerque, E. S. B. D.; L. D. J. Neves. Anatomia foliar de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith (Zingiberaceae). Acta Botanica Brasilica 2004; 18 (1): 109-121.
9. Alexander M., Aromatherapy & immunity how the use of essential oil aids immune potentiality: Part 3: Immune responses to inflammation and essential oils useful in inhibiting them. International Journal of Aromatherapy 2011; 11 (4): 220-224.
10. Altman, R. D.; K. C. Marcussen. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. Arthritis and Rheumatism 2001; 44, 2531-2538.
11. Ana Cecília Bezerra de Carvalho. Plantas medicinais e fitoterápicos: Regulamentação Sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil. Universidade de Brasília 2011.
12. Ana Paula Macedo Santana. Avaliação da segurança e genotoxicidade do chá de *Alpinia zerumbet* em voluntários sadios. Universidade Federal do Ceará - Farmacologia 2009.
13. Ana Paula Rodrigues Cordeiro. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade rural de Inhamã, Abreu e Lima, zona da mata norte de Pernambuco. Universidade Federal de Pernambuco - Biologia Vegetal 2008.
14. Ando S; Matsuda H; Morikawa T; Yoshikawa M. 1'S-1'-Acetoxychavicol acetate as a new type inhibitor of interferon-(beta) production in lipopolysaccharide-activated mouse peritoneal macrophages. Bioorganic and Medicinal Chemistry 2005; 13 (9): 3289-3294.
15. Andréa Fernandes Emiliano. Efeito vasodilatador do extrato hidro-alcóolico da *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith no leito vascular mesentérico. Universidade do Estado do Rio de Janeiro - Fisiopatologia Clínica e Experimental 2002.
16. Antonio Jorge de Vasconcelos Forte. Estudo comparativo da atividade vasodilatadora de diferentes frações obtidas de um extrato aquoso da planta *Alpinia zerumbet* na aorta isolada de rato. Universidade Federal do Ceará - Farmacologia 2009.

17. AP Raina; S Walia; Z Abraham; SK Mishra; SK Sharma. Essential oil constituents of rhizome oil of *Alpinia* species from South India. *Planta Medica* 2009; 75 (9): P140.
18. Araújo FY; de Oliveira GV; Gomes PX; Soares MA; Silva MI; Carvalho AF; de Moraes MO; de Moraes ME; Vasconcelos SM; Viana GS; de Sousa FC; Macêdo DS. Inhibition of ketamine-induced hyperlocomotion in mice by the essential oil of *Alpinia zerumbet*: Possible involvement of an antioxidant effect. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2011; 63 (8): 1103-1110.
19. Araújo FY; Silva MI; Moura BA; de Oliveira GV; Leal LK, Vasconcelos SM; Viana GS; de Moraes MO; de Sousa FC; Macêdo DS. Central nervous system effects of the essential oil of the leaves of *Alpinia zerumbet* in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2009; 61 (11): 1521-1527.
20. Araújo PF; Coelho-de-Souza NA; Morais SM; Ferreira SC; Leal-Cardoso JH. Antinociceptive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* on mice. *Phytomedicine* 2005; 12 (6-7): 482-486.
21. Ayyanar, M.; Ignacimuthu S. Ethnobotanical survey of medicinal plants commonly used by Kani tribals in Tirunelveli hills of Western Ghats, India. *Journal of Ethnopharmacology* 2011; 134 (3): 851-864.
22. Baranwal VK, Irchhaiya R, Alok S. Antiarthritic activity of some indigenous plants: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2012; 3 (4): 981-986.
23. Barcelos, F.F; Oliveira, M.L; Giovaninni, N.P.B; Lins, T.P; Filomeno, C.A; Schneider, S.Z; Pinto, V.D; Endringer, D.C; Andrade, T.U. Estudo químico e da atividade biológica cardiovascular do óleo essencial de folhas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm. em ratos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 2010; 12 (1): 48-56
24. Batra V; Syed Z; Gill JN; Coburn MA; Adegboyega P; DiGiovanni J; Mathis JM; Shi R; Clifford JL; Kleiner-Hancock HE. Effects of the tropical ginger compound, 1-acetoxychavicol acetate, against tumor promotion in K5.Stat3C

- transgenic mice. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* 2012; 31 (1): 57.
25. Bezerra MA; Leal-Cardoso JH; Coelho-De-Souza NA; Criddle DN; Fonteles MC. Myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Alpinia speciosa* on rat ileum. *Phytotherapy Research* 2000; 14 (7): 549-551.
  26. Bhamarapravati S; Pendland SL; Mahady GB. Extracts of spice and food plants from Thai traditional medicine inhibit the growth of the human carcinogen *Helicobacter pylori*. *In Vivo* 2003; 17 (6): 541-544.
  27. Cavalcanti BC., et al. Genetic toxicology evaluation of essential oil of *Alpinia zerumbet* and its chemoprotective effects against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage in cultured human leukocytes. *Food and Chemical Toxicology* 2012; 50 (11): 4051-4061.
  28. Carmem Lucia Arruda de Oliveira. Contribuição ao estudo químico de plantas do nordeste *Alpinia speciosa* Schum. (Zingiberaceae) e *Physalis angulata* L. (Solonaceae). Universidade Federal do Ceará - Química Orgânica 1994.
  29. Cecília Carvalho De Oliveira. Estudo toxicológico pré-clínico do extrato aquoso e do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith. Universidade Federal do Ceará - Farmacologia 2008.
  30. Chaiyana, W.; Okonogi S. Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant. *Phytomedicine* 2012; 19 (8-9): 836-839.
  31. Chan E.W.C.; Lim Y.Y.; Ling S.K.; Tan S.P.; Lim, K.K.; Khoo M.G.H. Caffeoylquinic acids from leaves of *Etlingera* species (Zingiberaceae). *Lwt - Food Science and Technology* 2009; 42 (5): 1026-1030.
  32. Chan E.W.C.; Lim Y.Y.; Wong L.F.; Lianto F.S.; Wong S.K.; Lim K.K.; Joe C.E.; Lim T.Y. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry* 2008; 109 (3): 477-483.
  33. Chan E.W.C.; Lim Y.Y.; Wong S.K.; Lim K.K.; Tan S.P.; Lianto F.S.; Yong M.Y. Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry* 2009; 113 (1): 166-172.



34. Chan EW, Lim YY, Tan SP. Standardised herbal extract of chlorogenic acid from leaves of *Etilingera elatior* (Zingiberaceae). *Pharmacognosy Research* 2011; 3 (3): 178-184.
35. Chan EWC; Lim YY; Omar M. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etilingera* species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry* 2007; 104 (4): 1586-1593.
36. Chanachai Saelee; Visa Thongrakard; Tewin Tencomnao. Effects of Thai medicinal herbal extracts containing anti-psoriatic activity on the expression on NF-KB signaling biomarkers in hacat keratinocytes. *In Vivo* 2011; 25 (3): 563-564.
37. Charles Santharaju Vairappan; Nagappan, Thilahgavani; Palaniveloo, Krishneth. Essential oil composition, cytotoxic and antibacterial activities of five *Etilingera* species from Borneo. *Natural Product Communications* 2012;7 (2): 239-242.
38. Cheah, P. B.; Gan S. P. Antioxidative/antimicrobial effects of galangal and (alpha)-tocopherol in minced beef. *Journal of Food Protection* 2000; 63 (3): 404-407.
39. Chilwan Pandji; Claudia Grimm; Victor Wray; Ludger Witte; Peter Proksch. Insecticidal constituents from four species of the Zingiberaceae. *Phytochemistry* 1993;34 (2): 415-419.
40. Chirangini P; Sharma GJ; Sinha SK. Sulfur free radical reactivity with curcumin as reference for evaluating antioxidant properties of medicinal Zingiberales. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 2004; 23 (3): 227-236.
41. Chit K.; Myint W.; Thein K.; Maw W.W.; Myint M.M.; Than A.; Khin M. Cyclic AMP phosphodiesterase inhibitory activity and chemical screening of four medicinal plants. *Pharmaceutical Biology* 2001; 39 (3): 181-183.
42. Chompoo J; Upadhyay A; Gima S, Fukuta M; Tawata S. Antiatherogenic properties of acetone extract of *Alpinia zerumbet* seeds. *Molecules* (Basel, Switzerland) 2012; 17 (6): 6237-6248.

43. Chong Hueh Zan; Asmah Rahmat; Abdah Md. Akim; Norjahan Banu Mohd. Alitheen; Fauziah Othman; Gwendoline Ee Cheng Lian. Anti-proliferative effects of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius*), kantan flower (*Etilingera elatior*) and turmeric leaves (*Curcuma longa*). Nutrition and Food Science 2011; 41 (4): 238-241.
44. Choochote W; Chaithong U; Kamsuk K; Jitpakdi A; Tippawangkosol P; Tuetun B; Champakaew D; Pitasawat B. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. Fitoterapia 2007; 78 (5): 359-364.
45. Christian Gilli; Z. He; Paul Pui-Hay But; Johann Schinnerl; Karin Vetschera; Harald Greger. Chemodiversity and biological activity of the genus *Alpinia* (Zingiberaceae). Planta Medica 2011; 77 (12): 1349 - 1349
46. Chuang CM; Wang HE; Peng CC; Chen KC; Peng RY. Hypolipidemic effects of different angiocarp parts of *Alpinia zerumbet*. Pharmaceutical Biology 2011; 49 (12): 1257-1264.
47. Correa AJC, Lima CE, Costa MCCD. *Alpinia zerumbet* (Pers.) B. L. Burtt & R. M. Sm. (Zingiberaceae): levantamento de publicações nas áreas farmacológica e química para o período de 1987 a 2008. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 2010; 12 (1): 113-119.
48. Costa LAMA, Morais SM, Dantas MCBR, Lobo RACM, Fonteles MC. Flavonoides com atividade hipotensora de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt et Smith (colônia). Revista Brasileira de Farmacologia 1998; 79: 96-98.
49. Cristiane P. Victório; Celso Luiz S. Lage; Ricardo M. Kuster. Flavonoid extraction from *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burtt et Smith leaves using different techniques and solvents. Eclética Química 2009; 35 (1): 35 -40.
50. Cristiane P. Victório; Daniela S. Alviano; Celuta S. Alviano; Celso L. S. Lage. Chemical composition of the fractions of leaf oil of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. and antimicrobial activity. Brazilian Journal of Pharmacognosy 2009; 19: 697-701.
51. Cristiane Pimentel Victório. Cultura de tecidos e metabólitos especiais em "colônia" (*Alpinia zerumbet* pers. Burtt et smith) e *A. purpurata* (Vieill) K.

- Schum e estudos preliminares da atividade biológica. Universidade Federal do Rio de Janeiro - Ciências Biológicas (Biofísica) 2008.
52. Cristiane Pimentel Victório; Ricardo Machado Kuster; Roberto Soares de Moura; Celso Luiz Salgueiro Lage. Vasodilator activity of extracts of field *Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum and *A. zerumbet* (Pers.) Burt et Smith cultured *in vitro*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 2009; 45 (3): 507-514.
  53. Danai Tiwawech; Masao Hirose; Mitsuru Futakuchi; Cui Lin; Witaya Thamavit; Nobuyuki Ito; Tomoyuki Shirai. Enhancing effects of Thai edible plants on 2-amino-3,8-dimethylimidazo(4,5-f)quinoxaline-hepatocarcinogenesis in a rat medium-term bioassay. Cancer Letters 200; 158 (2): 195-201.
  54. Edna Aragão Farias Cândido. Utilização do óleo essencial da *Alpinia speciosa* Schum, Zingiberaceae, no tratamento fisioterapêutico de pacientes com síndrome piramidal. Universidade Estadual do Ceará - Biotecnologia 2010.
  55. Elzaawely, A. A.; Tawata S. Effect of extraction and drying methods on the contents of kava pyrones and phenolic compounds in *Alpinia zerumbet* leaves. Asian Journal of Plant Sciences 2011; 10 (8): 414-418.
  56. Eric WC Chan; Voon Pei Ng; Vi Vian Tan; Yin Yin Low. Antioxidant and antibacterial properties of *Alpinia galanga*, *Curcuma longa*, and *Etilingera elatior* (Zingiberaceae). Pharmacognosy Journal 2011; 3 (22): 54-61.
  57. Eric Chan WC; YY Lim; SK Wong. Phytochemistry and pharmacological properties of *Etilingera elatior*: A review. Pharmacognosy Journal 2011; 3 (22): 6-10.
  58. Erika Cristina de Oliveira Chaves. Efeito do extrato hidroalcoólico de *Alpinia zerumbet* na estrutura e remodelagem do miocárdio na hipertensão causada por bloqueio de síntese do óxido nítrico em ratos. Universidade Do Estado Do Rio De Janeiro - Morfologia 2001.
  59. Fernanda Yvelize Ramos de Araújo. Avaliação dos possíveis efeitos antipsicóticos da *Alpinia zerumbet* em camundongos. Universidade Federal do Ceará - Farmacologia 2011.

60. Ficker CE, Smith ML, Susiarti S, Leaman DJ, Irawati C, Arnason JT. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 85 (2-3): 289-293.
61. Flávia Paiva de Freitas. Efeito de monoterpenos de óleos essenciais presentes em *Alpinia speciosa*, *Cymbopogon citratus* e *Rosmarinus officinalis* sobre atpases de larvas de *Aedes aegypti*. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - Biociências e Biotecnologia 2007.
62. Francisca Valéria Soares de Araújo Pinho. Efeito antinociceptivo do óleo *Alpinia speciosa*. Universidade Estadual do Ceará - Ciências Fisiológicas 2002.
63. Frederico A. Vanderlinde. Ação hipotensora e outras atividades farmacológicas do extrato aquoso da *Alpinia speciosa* Schum (colônia). Universidade Federal de São Paulo - Farmacologia 1990.
64. Freitas FP; Freitas SP; Lemos GC; Vieira IJ; Gravina GA; Lemos FJ. Comparative larvicidal activity of essential oils from three medicinal plants against *Aedes aegypti* L. *Chemistry and Biodiversity* 2010; 7 (11): 2801-2807.
65. Fujita H, Yamashita M. The constituents of the essential oil from *Alpinia speciosa* K. Schum (Japanese). *Yakugaku Zasshi* 1973; 93 (12): 1635-1638.
66. Fujita T, Nishimura H, Kaburagi K, Mizutani J. Plant growth inhibiting alpha-pyrone from *Alpinia speciosa*. *Phytochemistry* 1994; 36 (1): 23-27.
67. Gabriella Silva de Almeida. Estudo etnobotânico na APA do Engenho Pequeno, São Gonçalo, RJ. Universidade Federal do Rio de Janeiro - Ciências Biológicas (Botânica) 2009.
68. Gisele Lopes de Oliveira. Etnobotânica nordestina: plantas medicinais da comunidade Muribeca (Jaboatão dos Guararapes – PE, Brasil). Universidade Federal de Pernambuco - Biologia Vegetal 2007.
69. Guo Qiang, Zheng; Patrick M. Kenney; Luke K. T. Lam. Potential anticarcinogenic natural products isolated from lemongrass oil and Galanga root oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1993; 41 (2): 153-156.

70. Habsah M; Ali AM; Lajis NH; Sukari MA; Yap YH; Kikuzaki H; Nakatani N. Antitumour-promoting and cytotoxic constituents of *Etilingera elatior*. Malaysian Journal of Medical Sciences 2005; 12 (1): 6-12.
71. Habsah Mohamad; Nordin H. Lajis; Faridah Abas; Abdul Manaf Ali; Mohamad Aspollah Sukari; Hiroe Kikuzaki; Nobuji Nakatani. Antioxidative constituents of *Etilingera elatior*. Journal of Natural Products 2005 68 (2): 285-288.
72. Haleagrahara N; Jackie T; Chakravarthi S; Rao M; Kulur A. Protective effect of *Etilingera elatior* (torch ginger) extract on lead acetate - Induced hepatotoxicity in rats. Journal of Toxicological Sciences 2010; 35 (5): 663-671.
73. Haleagrahara N; Jackie T; Chakravarthi S; Rao M; Pasupathi T. Protective effects of *Etilingera elatior* extract on lead acetate-induced changes in oxidative biomarkers in bone marrow of rats. Food and Chemical Toxicology 2010; 48 (10): 2688-2694.
74. Haw KY; Chakravarthi S; Haleagrahara N; Rao M. Effects of *Etilingera elatior* extracts on lead acetate-induced testicular damage: A morphological and biochemical study. Experimental And Therapeutic Medicine 2012; 3 (1): 99-104.
75. Heraldo Guedis Lobo Filho. Pré-condicionamento com óleo essencial de *Alpinia zerumbet* no infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos. Universidade Federal do Ceará - Cirurgia 2011.
76. Hideji Itokawa; Makoto Morita; Susumu Mihashi. Phenolic compounds from the rhizomes of *Alpinia speciosa*. Phytochemistry 1981; 20 (11): 2503-2506.
77. Hock-Hin Y, Yeow-Chin W, Watson L. Taxonomic variation in total leaf protein amino acid compositions of monocotyledonous plants. Biochemical Systematics and Ecology 1986; 14 (1): 91-96.
78. Hong-Xi X, Dong H, Sim KY. Labdane diterpenes from *Alpinia zerumbet*. Phytochemistry 1996; 42 (1): 149-151.
79. Hong-Xi Xua; Dong Huib; Keng-Yeow Sim. The isolation of a new labdane diterpene from the seeds of *Alpinia zerumbet*. Natural Product Letters 1995; 7 (1): 29-34.

80. Hsu, S. Y. Effects of the constituents of *Alpinia speciosa* rhizoma on experimental ulcers. *Journal of the Formosan Medical Association* 1987; 86 (1): 58-64.
81. Ibrahim bin Jantan; Mohd Salleh Mohd Yassin; Chen Bee Chin; Lau Lee Chen; Ng Lee Sim. Antifungal activity of the essential oils of nine Zingiberaceae species. *Pharmaceutical Biology* 2003; 41 (5): 392-397.
82. Indrayan AK, Agrawal NK, Tyagi DK. Naturally occurring odd number fatty acids in the rhizome oil of *Alpinia speciosa* K. Schum. *Journal of The Indian Chemical Society* 2009; 86 (11): 1246-1248.
83. Indrayan AK, Tyagi PK, Agrawal NK. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Alpinia speciosa* K. Schum. rhizome from India. *Journal of Essential Oil Research* 2010; 22 (2): 179-182.
84. Itokawa H, Morita M, Mihashi S. Labdane and bisnorlabdane type diterpenes from *Alpinia speciosa* K. Schum. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1980; 28 (11): 3452-3454.
85. Jamnian Chompoo; Atul Upadhyay; Masakazu Fukuta; Shinkichi Tawata. Effect of *Alpinia zerumbet* components on antioxidant and skin diseases-related enzymes. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2012; 12.
86. Jamnian Chompoo; Atul Upadhyay; Wataru Kishimoto; Tadahihiro Makise; Shinkichi Tawata. Advanced glycation end products inhibitors from *Alpinia zerumbet* rhizomes. *Food Chemistry* 2011; 129 (3): 709-715.
87. Jeevani Osadee Wijekoon M.M.; Rajeev Bhat; Alias A. Karim. Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bunga kantan (*Etilingera elatior* Jack.) inflorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* 2011; 24 (4-5): 615-619.
88. Jeevani Osadee Wijekoon, M.M.; Karimand, A.A.; Bhat, R. Evaluation of nutritional quality of torch ginger (*Etilingera elatior* Jack.) inflorescence. *International Food Research Journal* 2011; 18 (4): 1415-1420.

89. Jennifer C, Stephanie CM, Abhishri SB, Shalini BU. A review on skin whitening property of plant extracts. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2012; 3 (4): 332-347.
90. Juhari N. H.; Lasekan O.; Kharidah M.; Ab Karim S. Optimization of hot-air drying conditions on the physicochemical characteristics of torch ginger (*Etilingera elatior*). *Journal of Food, Agriculture and Environment* 2012; 10 (2): 64-72.
91. Juntachote, T.; Berghofer E. Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. *Food Chemistry* 2005; 92 (2): 193-202.
92. Jurathip Wungsintaweekul; Worapan Sitthithaworn; Waraporn Putalun. Antimicrobial, antioxidant activities and chemical composition of selected Thai spices. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 2010; 32 (6): 589-598.
93. Kaur, R.; Kharb R. Anti-HIV potential of medicinally important plants. *International Journal of Pharma and Biosciences* 2011; 2 (3): 387-398.
94. Kirana, Chandra; Record, Ian Ronald; McIntosh Graeme H.; Jones, Graham Peter. Screening for antitumor activity of 11 species of Indonesian Zingiberaceae using human MCF-7 and HT-29 cancer cells. *Pharmaceutical Biology* 2003; 41 (4): 271-276.
95. Lahlou S; Galindo CA; Leal-Cardoso JH; Fonteles MC; Duarte GP. Cardiovascular effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* leaves and its main constituent, terpinen-4-ol, in rats: Role of the autonomic nervous system. *Planta Medica* 2002; 68 (12): 1097-1102.
96. Lahlou S; Interaminense LF; Leal-Cardoso JH; Duarte GP. Antihypertensive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 2003; 17 (3): 323-330.
97. Laranja SM; Bergamaschi CM; Schor N. Evaluation of acute administration of natural products with potential diuretic effects, in humans. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1991; 86 (Suppl II): 237 – 240

98. Laranja SM; Bergamaschi CM; Schor N. Evaluation of three plants with potential diuretic effect. *Revista da Associação Médica Brasileira* 1992; 38: 13-16
99. Leal-Cardoso JH; Moreira MR; da Cruz GM; de Moraes SM; Lahlou MS; Coelho-de-Souza AN. Effects of essential oil of *Alpinia zerumbet* on the compound action potential of the rat sciatic nerve. *Phytomedicine* 2004; 11 (6): 549-553.
100. Liao MC; Arakaki H; Li Y; Takamiyagi A; Tawata S; Aniya Y; Sakurai H; Nonaka S. Inhibitory effects of *Alpinia speciosa* K. Schum on the porphyrin photooxidative reaction. *Journal of Dermatology* 2000; 27 (5): 312-317.
101. Lima E. O.; Gompertz O. F.; Giesbrecht A. M.; Paulo M. Q. *In vitro* antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. *Mycoses* 1993; 36 (9-10): 333-336
102. Limmatvapirat, C.; Sang-Uthai, K.; Charoenteeraboon, J.; Phaechamud, T. Heavy metal contents of the rhizomes in Thai Zingiberaceae plants. *Drug Metabolism Reviews* 2009; 41: 63.
103. Li-Yun Lin; Chiung-Chi Peng; Yu-Jing Liang; Wan-Ting Yeh; Hui-Er Wang; Tung-Hsi Yu; Robert Y. Peng. *Alpinia zerumbet* potentially elevates high-density lipoprotein cholesterol level in hamsters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008; 56 (12): 4435-4443.
104. Luiz Antonio Mendonça Alves da Costa. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste do Brasil: *Alpinia zerumbet* (Pers.) B. L. Burttet Smith. Universidade Federal do Ceará - Química Orgânica 1999.
105. Luiz Eduardo Ferreira. Prospecção *in vitro* e *in vivo* de ativos naturais com ação anti-helmíntica para parasitas gastrointestinais de ovinos. Universidade de Ribeirão Preto - Biotecnologia 2011.
106. Macedo IT; Bevilaqua CM; de Oliveira LM; Camurça-Vasconcelos AL; Moraes SM; Machado LK; Ribeiro WL. *In vitro* activity of *Lantana camara*, *Alpinia zerumbet*, *Mentha villosa* and *Tagetes minuta* decoctions on



- Haemonchus contortus* eggs and larvae. *Veterinary Parasitology* 2012; 190 (3-4): 504-509.
107. Makoto M, Hiroshi N, Hiroshi M, Susumu M, Hideji I. Quantitative structure-spasmolytic activity relationships of terpenoids and their derivatives from *Alpinia speciosa*, *Alpinia japonica* and *Atractylodes lancea*. *Natural Medicines* 1998; 52 (1): 22-31.
108. Maria Amelia Carneiro Bezerra. *Alpinia speciosa* Schum estudo de frações fixas e do óleo essencial. Universidade Federal do Ceará – Farmacologia 1994.
109. Maria Amélia Carneiro Bezerra. Estudo farmacológico do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (Pers) B.L. Burt et R.M. e seus principais constituintes químicos, 4-terpinaol e 1,8-cineol, em músculo liso respiratório da rato. Universidade Federal do Ceará - Farmacologia 2004.
110. Maria Athana Mpalantinos. Identificação de substâncias anti-hipertensivas de *Alpinia zerumbet* Pers. Universidade Federal do Rio de Janeiro - Química de Produtos Naturais 2001.
111. Maria das Graças B. Zoghbi; Eloisa Helena A. Andrade; José Guilherme S. Maia. Volatile constituents from leaves and flowers of *Alpinia speciosa* K. Schum. and *A. purpurata* (Viell.) Schum. *Flavour and Fragrance Journal* 1999; 14 (6): 411-414.
112. Maria Gorreti Vascelos Silva. Contribuição ao gênero *Ocimum* e análise por RMN13C. Universidade Federal do Ceará - Química Orgânica 1996.
113. Marinho ML, Alves MS, Rodrigues MLC, Rotondano TEF, Vidal IF, Silva WW, Athayde ACR. The use of medicinal plants in veterinary medicine: Rescuing the popular knowledge. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 2007; 9 (3): 64-69.
114. Marta da Rocha Moreira. Efeitos do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* e o terpinen-4-ol em nervo ciático de rato. Universidade Estadual do Ceará - Ciências Fisiológicas 2000.

115. Masuda T, Mizuguchi S, Tanaka T, Iritani K, Takeda Y, Yonemori S. Isolation and structure determination of new antioxidative ferulic acid glucoside esters from the rhizome of *Alpinia speciosa*, a Zingiberaceae plant used in Okinawan food culture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000; 48 (5): 1479-1484.
116. Mendonça V. L. M.; Oliveira C. L. A.; Craveiro A. A.; Rao V. S.; Fonteles M. C. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1991; 86 (2): 93-97
117. Morita M, Nakanishi H, Morita H, Mihashi S, Itokawa H. Structures and spasmolytic activities of derivatives from sesquiterpenes of *Alpinia speciosa* and *Alpinia japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1996; 44 (8): 1603-1606.
118. Moura RS; Emiliano AF; de Carvalho LC; Souza MA; Guedes DC; Tano T; Resende AC. Antihypertensive and endothelium-dependent vasodilator effects of *Alpinia zerumbet*, a medicinal plant. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2005; 46 (3): 288-294.
119. Mpalantinos MA, Soares de Moura H, Parente JP, Kuster RM. Biologically active flavonoids and kava pyrones from the aqueous extract of *Alpinia zerumbet*. *Phytotherapy Research* 1998; 12 (6): 442-444.
120. Murakami A; Toyota K; Ohura S; Koshimizu K; Ohigashi H. Structure-activity relationships of (1'S)-1'-acetoxychavicol acetate, a major constituent of a Southeast Asian condiment plant *Languas galanga*, on the inhibition of tumor-promoter-induced Epstein-Barr virus activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000; 48 (5): 1518-1523.
121. Murakami S; Matsuura M; Satou T; Hayashi S; Koike K. Effects of the essential oil from leaves of *Alpinia zerumbet* on behavioral alterations in mice. *Natural Product Communications* 2009; 4 (1): 129-132.
122. Natta, L.; Orapin, K.; Krittika, N.; Pantip, B. Essential oil from five Zingiberaceae for anti food-borne bacteria. *International Food Research Journal* 2008; 15 (3): 337-346.

123. Nilson Vieira Pinto. Efeito relaxante do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* e seu principal constituinte 1,8-cineol na contratilidade do músculo liso vascular em ratos. Universidade Estadual do Ceará - Ciências Fisiológicas 2005.
124. Nimsha S. Weerakkodya; Nola Caffina; Mark S. Turnera; Gary A. Dykes. *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. Food Control 2010; 21 (10): 1408-1414.
125. Norajit K; Laohakunjit N; Kerdchoechuen O. Antibacterial effect of five Zingiberaceae essential oils. Molecules 2007; 12 (8): 2047-2060.
126. Nurain Aziman; Noriham Abdullah; Zainon Mohd Noor; Khairusy Syakirah Zulkifli; Wan Saidatul Syida Wan Kamarudin. Phytochemical constituents and *in vitro* bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. Sains Malaysiana 2012; 41 (11): 1437-1444.
127. Ohtsuki T, Kikuchi H, Koyano T, Kowithayakorn T, Sakai T, Ishibashi M. Death receptor 5 promoter-enhancing compounds isolated from *Catimbum speciosum* and their enhancement effect on TRAIL-induced apoptosis. Bioorganic and Medicinal Chemistry 2009; 17 (18): 6748-6754.
128. Padalia RC, Chanotiya CS, Sundaresan V. Compositional variability in essential oil from different parts of *Alpinia speciosa* from India. Natural Product Communications 2010; 5 (2): 279-282.
129. Padalia RC, Verma RS, Sundaresan V, Chanotiya CS. Chemical diversity in the genus *Alpinia* (Zingiberaceae): Comparative composition of four *Alpinia* species grown in Northern India. Chemistry and Biodiversity 2010; 7 (8): 2076-2087.
130. Pandey Govind. Some important anticancer herbs: A review. International Research Journal of Pharmacy 2011; 2 (7): 45-52.
131. Patzlaff RG. Estudo etnobotânico de plantas de uso medicinal e místico na comunidade da capoeira grande, Pedra de Guaratiba, RJ, Brasil. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro - Botânica 2007.

132. Pinto NV; Assreuy AM; Coelho-de-Souza AN; Ceccatto VM; Magalhães PJ; Lahlou S; Leal-Cardoso JH. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Alpinia zerumbet* and its main constituent 1,8-cineole in rats. *Phytomedicine* 2009; 16 (12): 1151-1155.
133. Pooter HL, Aboutabl EA, El Shabrawy AO. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of leaf, stem and rhizome of *Alpinia speciosa* (J.C.Wendl.) K.Schum. grown in Egypt. *Flavour and Fragrance Journal* 1995; 10 (2): 63-67.
134. Prakash D, Suri S, Upadhyay G, Singh BN. Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2007; 58 (1): 18-28.
135. Prudent, D.; Perineau, F.; Bessiere, J.M.; Michel, G.; Bravo, R. Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of the Atoumau from Martinique (*Alpinia speciosa* K. Schum.). *Journal of Essential Oil Research* 1993; 5 (3): 255-264.
136. Raina AP, Walia S, Abraham Z, Mishra SK, Sharma SK. Essential oil constituents of rhizome oil of *Alpinia* species from South India. *Planta Medica* 2009; 75 (9): PI40.
137. Ricardo M. Kuster; Maria A. Mpalantinos; Maria C. de Holanda; P. Lima; Elimar T. Brand; José P. Parente. GC-MS determination of kava-pyrone in *Alpinia zerumbet* leaves. *Hrc Journal of High Resolution Chromatography* 1990; 22 (2): 129-130.
138. Roosevelt Hada Leal. Prospecção de plantas aromáticas na região do médio e baixo Amazonas. Universidade Federal do Amazonas – Química 2010.
139. Rupesh K. Gautam; Divya Singh; Rahul Nainwani. Medicinal plants having anti-arthritic potential: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 2013; 19 (1): 96-102.
140. Santos B.A.; Roman-Campos D.; Carvalho M.S.; Miranda F.M.F.; Carneiro D.C.; Cavalcante P.H.; Cândido E.A.F.; Xavier Filho L.; Cruz J.S.; Gondim A.N.S. Cardiodepressive effect elicited by the essential oil of *Alpinia*

- speciosa* is related to L-type Ca<sup>2+</sup> current blockade. *Phytomedicine* 2011; 18 (7): 539-543.
141. Saraya, S.; Puttikulbovorn, J.; Temsiririrkkul, R. Herbal denture-cleansing solution. *Drug Metabolism Reviews* 2009; 41: 83.
  142. Satou T; Murakami S; Matsuura M; Hayashi S; Koike K. Anxiolytic effect and tissue distribution of inhaled *Alpinia zerumbet* essential oil in mice. *Natural Product Communications* 2010; 5 (1): 143-146.
  143. Satou T; Takahashi M; Kasuya H; Murakami S; Hayashi S; Sadamoto K; Koike K. Organ accumulation in mice after inhalation of single or mixed essential oil compounds. *Phytotherapy Research* 2013; 27 (2): 306-311.
  144. Sawangjaroen N; Phongpaichit S; Subhadhirasakul S; Visutthi M; Srisuwan N; Thammapalerd N. The anti-amoebic activity of some medicinal plants used by AIDS patients in southern Thailand. *Parasitology Research* 2006; 98 (6): 588-592.
  145. Sawangjaroen N; Subhadhirasakul S; Phongpaichit S; Siripanth C; Jamjaroen K; Sawangjaroen K. The *in vitro* anti-giardial activity of extracts from plants that are used for self-medication by AIDS patients in southern Thailand. *Parasitology Research* 2005; 95 (1): 17-21.
  146. Shio Murakami; Wei Li; Mariko Matsuura; Tadaaki Satou; Shinichiro Hayashi; Kazuo Koike. Composition and seasonal variation of essential oil in *Alpinia zerumbet* from Okinawa Island. *Journal of Natural Medicines* 2009; 63 (2): 204-208.
  147. Sookkongwaree K; Geitmann M; Roengsumran S; Petsom A; Danielson UH. Inhibition of viral proteases by Zingiberaceae extracts and flavones isolated from *Kaempferia parviflora*. *Pharmazie* 2009; 61 (8): 717-721.
  148. Subehan; Usia T; Iwata H; Kadota S; Tezuka Y. Mechanism-based inhibition of CYP3A4 and CYP2D6 by Indonesian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 2006; 105 (3): 449-455.

149. Subramanion Jo Thy Lachumy; Sreenivasan Sasidharan; Vello Sumathy; Zakaria Zuraini. Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etilingera elatior* (torch ginger) flowers. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 2010; 3 (10): 769-774.
150. Sukari, M. A.; Tang, S. W.; Neoh, B. K.; Ee, G. C. L.; Rahmani, M. Antileukemic activity and chemical constituents of some Zingiberaceae species. Asian Journal of Chemistry 2010; 22 (10): 7891-7896.
151. Sutthanont N, Choochote W, Tuetun B, Junkum A, Jitpakdi A, Chaithong U, Riyong D, Pitasawat B. Chemical composition and larvicidal activity of edible plant-derived essential oils against the pyrethroid-susceptible and -resistant strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Journal of Vector Ecology 2010; 35 (1): 106-115.
152. Tadaaki Satou; Hikaru Kasuya; Mizuho Takahashi; Shio Murakami; Shinichiro Hayashi; Kiyomi Sadamoto; Kazuo Koike. Relationship between duration of exposure and anxiolytic-like effects of essential oil from *Alpinia zerumbet*. Flavour and Fragrance Journal 26 2011; (3): 180-185.
153. Tan Jackie; Nagaraja Haleagrahara; Srikumar Chakravarthi. Antioxidant effects of *Etilingera elatior* flower extract against lead acetate - Induced perturbations in free radical scavenging enzymes and lipid peroxidation in rats. BMC Research Notes 2011; 4: 67
154. Tanaka T; Makita H; Kawamori T; Kawabata K; Mori H; Murakami A; Satoh K; Hara A; Ohigashi H; Koshimizu K. A xanthine oxidase inhibitor 1'-acetoxychavicol acetate inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. Carcinogenesis 1997; 18 (5): 1113-1118.
155. Tawata S, Taira S, Kobamoto N, Ishihara M, Toyama S. Syntheses and biological activities of dihydro-5,6-dehydrokawain derivatives. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 1996; 60 (10): 1643-1645.
156. Teng CM; Hsu SY; Lin CH; Yu SM; Wang KJ; Lin MH; Chen CF. Antiplatelet action of dehydrokawain derivatives isolated from *Alpinia speciosa* rhizoma. Chinese Journal of Physiology 1990; 33 (1): 41-48.

157. Tewtrakul, S.; Subhadhirasakul S. Anti-allergic activity of some selected plants in the Zingiberaceae family. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 109 (3): 535-538.
158. Thenmozhi S, Palanisamy P, Vinu Augustine T, Chatakonda R, Singh RK. Pharmacognostical and preliminary phytochemical investigation of *Alpinia speciosa* K. Schum. *International Journal of Pharmaceutical Research* 2010; 2 (3): 44-49.
159. Thitiporn Charueksereesakul; Visa Thongrakard; Tewin Tencomnao. *In vitro* effect of Thai herbal extracts with anti-psoriatic activity on the expression of caspase 9. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2011; 3 (4): 196-203.
160. Thongrakard, V.; Tencomnao T. Modulatory effects of Thai medicinal plant extract on proinflammatory cytokines-induced apoptosis in human keratinocyte HaCat cells. *African Journal of Biotechnology* 2010; 9 (31): 4999-5003.
161. Tushar; Basak S; Sarma GC; Rangan L. Ethnomedical uses of Zingiberaceae plants of Northeast India. *Journal of Ethnopharmacology* 2010; 132 (1): 286-296.
162. Upadhyay A; Chompoo J; Kishimoto W; Makise T; Tawata S. HIV-1 integrase and neuraminidase inhibitors from *Alpinia zerumbet*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011; 59 (7): 2857-2862.
163. Vargas J.H.A.; Carvalho J.C.T. Study of the efficacy and clinical safety of *Alpinia speciosa* (JC Wendl.) K. Schum crude extract on arterial hypertension. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 2010; 4 (1): 27-33
164. Vera Lucia Maia Mendonca. Estudo farmacológico e toxicológico da *Alpinia speciosa* Schum. Universidade Federal do Ceará - Farmacologia 1989.
165. Victório CP, Arruda RdoC, Riehl CA, Lage CLL. Leaf volatiles and secretory cells of *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt et Smith (Zingiberaceae). *Natural Product Research* 2011; 25 (10): 939-948.

166. Victório, C. P. Therapeutic value of the genus *Alpinia*, Zingiberaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2011; 21 (1): 194-201
167. Victório CP, Riehl CAdAS, Lage CLS. Simultaneous distillation-extraction, hydrodistillation and static headspace methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt et Smith, from Southeast Brazil. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 2009; 12 (2): 137-143.
168. Vimala S; Norhanom AW; Yadav M. Anti-tumour promoter activity in Malaysian ginger rhizobia used in traditional medicine. *British Journal of Cancer* 1999; 80 (1-2): 110-116.
169. Voravuthikunchai, S. P.; Phongpaichit, S.; Subhadhirasaru, S. Evaluation of antibacterial activities of medicinal plants widely used among AIDS patients in Thailand. *Pharmaceutical Biology* 2005; 43 (8): 701-706.
170. Wang, Y. C.; Huang T. L. Screening of anti-*Helicobacter pylori* herbs deriving from Taiwanese folk medicinal plants. *Fems Immunology and Medical Microbiology* 2005; 43 (2): 295-300.
171. Watanabe N; Kataoka T; Tajika T; Uramoto M; Magae J; Nagai K. 1'-Acetoxychavicol acetate as an inhibitor of phagocytosis of macrophages. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 1995; 59 (8): 1566-1567.
172. Weerakkody NS; Caffin N; Dykes GA; Turner MS. Effect of antimicrobial spice and herb extract combinations on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Spoilage microflora* growth on cooked ready-to-eat vacuum-packaged shrimp. *Journal of Food Protection* 2011; 74 (7): 1119-1125.
173. Weerakkody NS; Smith WM; Mikkelsen D; Waanders J; Kerven G; Caffin N; Dykes GA; Turner MS. Purified 1'-acetoxychavicol acetate (1'ACA) from galangal spice affects membrane fatty acid composition and triggers a cell envelope stress response in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2012; 39 (3): 269-271.



174. Wong JH, Ng TB, Zhang KY, Sze SC, Wang HX. Isolation of a mitogenic agglutinin with relatively high thermostability from seeds of the variegated shell ginger. *Protein and Peptide Letters* 2010; 17 (1): 38-43.
175. Wong KC, Ong KS, Lim CL. Composition of the essential oil of rhizomes of *Kaempferia galanga* L. *Flavour and Fragrance Journal* 1992; 7 (5): 263-266.
176. Yanti. Anti-metalloproteinase-9 activities of selected Indonesian Zingiberaceae rhizome extracts in Lipopolysaccharide-induced human vascular endothelial cells *in vitro*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2011; 7 (1): 1-9.
177. Yogeshkumar K. Vaghasiya; Jigna P. Parekh; Vinay J. Shukla; Sumitra V. Chanda. Antimicrobial and anti-inflammatory screening of four Indian medicinal plants. *Latin American Journal of Pharmacy* 2011; 30 (4): 661.
178. Yong Qin Chang; Swee Ngin Tan; Jean W. H. Yong; Liya Ge. Determination of flavonoids in *Costus speciosus* and *Etilingera elatior* by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical Letters* 2012; 45 (4): 345-355.
179. Yu ES; Min HJ; Lee K; Lee MS; Nam JW; Seo EK; Hong JH; Hwang ES. Anti-inflammatory activity of p-coumaryl alcohol-(gamma)-O-methyl ether is mediated through modulation of interferon-(gamma) production in Th cells. *British Journal of Pharmacology* 2009; 156 (7): 1107-1114.
180. Zaidi SF; Muhammad JS; Shahryar S; Usmanghani K; Gilani AH; Jafri W; Sugiyama T. Anti-inflammatory and cytoprotective effects of selected Pakistani medicinal plants in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *Journal of Ethnopharmacology* 2012; 141 (1): 403-410.