

VERA LÚCIA MAIA MENDONÇA

ESTUDO FARMACOLÓGICO E TOXICOLÓGICO
DE ALPINIA SPECIOSA SCHUM

Dissertação apresentada à UFCe como parte dos re-
quisitos necessários à obtenção do grau de mestre em Farma-
cologia.

Vera Lúcia Maia Mendonça

Aprovada em 04/08/1989

Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles

Prof. Titular

Prof. Dr. Afrânio Aragão Craveiro

Prof. Titular

Prof. Dr. Manoel Odório de M. Filho

Prof. Adjunto

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

- 1989 -

VERA LÚCIA MAIA MENDONÇA

ESTUDO FARMACOLÓGICO E TOXICOLÓGICO
DE **ALPINIA SPECIOSA** SCHUM

Dissertação submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação, no Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFCe, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles, PhD.

FORTALEZA - CEARÁ

- 1989 -

Fac. Farm.
615
1453

"Brilhante é a sabedoria, e
sua beleza é inalterável.

Os que a amam, descobrem-na
facilmente.

Os que a buscam encontram-na".

Ao meu esposo Luiz, pelo seu amor
que é guia em meus caminhos e aos
meus filhos Isabela e Luis Rafael,
pelo tempo que lhes deixei de de
dicar.

A meu pai, a quem devo tudo, com
todo amor.

A minha mãe e meus irmãos.

A meu sogro e sogra, cunhados e
amigos pelo carinho a mim dedicado
do.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com a colaboração de várias pessoas a quem gostaria de agradecer sincera e carinhosamente.

Ao Prof. Manassés Claudino Fonteles, pela minha iniciação científica, pela orientação desse trabalho, confiança na minha capacidade de trabalho, pela sua dedicação, competência científica e exemplo de exímio pesquisador, os meus sinceros e respeitosos agradecimentos.

Ao Prof. Vietla Satyanarayana Rao, que além de co-orientar sempre me ajudou em várias etapas desse trabalho e estimulou a prosseguir, por isso lhe dedico grande estima.

A Dra. Elisa de Oliveira Matos, pela valiosa parcela de contribuição e amizade desinteressada, sempre auxiliando, com valiosas sugestões e incentivo.

A colega Dra. Terezinha de Jesus Teixeira dos Santos, externo meu especial agradecimento, por sua dedicação, incentivo e amizade no transcorrer dessa dissertação.

Ao Dr. Francisco Eudes Apoliano Gomes, amigo e mestre, pelo estímulo, ajuda e sobretudo pelo exemplo de estudo e trabalho.

A Dra. Mary Anny Bandeira, pelo excelente trabalho de abordagem fitoquímica da planta.

A minha grande amiga Dra. Rita Mariney de Vasconcelos, pela valiosa colaboração na parte hematológica.

Ao Dr. Geraldo de Souza Tomé, pelo seu inestimável auxílio durante os estudos Bioquímicos e Histopatológicos.

Ao Prof. Francisco Ruy Capaz, pelas sugestões e auxílio na realização de alguns experimentos, bem como pela sua relevante contribuição na parte estatística, na simples satisfação de ajudar.

Ao Prof. Fco. José de Abreu Matos, grande mestre, amigo, idealizador e fonte de consultas útil para conclusão desta dissertação e por tudo que tem feito pelo desenvolvimento do estudo em produtos naturais.

Ao Prof. Afrânio Aragão Craveiro, membro dessa banca examinadora, pela amizade e atenção a mim dispensada sempre que solicitado.

Ao Prof. Manoel Odorico de Moraes Filho, que aceitou gentilmente participar como membro dessa banca examinadora.

As Dras. Maria do Socorro Vieira Moreira e Ana Célia Fialho, técnicos farmacêuticos da Farmácia Escola, que sempre me auxiliaram desinteressadamente neste período nos momentos mais difíceis, tomando como suas as minhas tarefas.

A todos que fazem o Departamento de Farmácia e Farmácia Escola, por compreenderem os momentos em que me fiz ausente, durante todo esse período.

Ao Sr. Milton Nascimento pelo excelente trabalho

micrográfico e fotográfico,

A Bibliotecária Dra. Norma Cavalcante, pela boa vontade em orientar e ajudar a organizar as Referências Bibliográficas.

Ao Prof. Krishnamurti de Moraes Carvalho, pelo incentivo e apoio ao enveredar no caminho da ciência.

As Dras. Glauce S. Barros Viana e Maria Gláucia Teixeira Gadelha, pelo apoio, com o qual sempre foi possível contar nas ocasiões necessárias.

Um agradecimento especial ao meu esposo, Luiz Gonsaga, pela compreensão e paciência durante a elaboração desse trabalho e pelo excelente desempenho datilográfico.

A CEME e FINEP, pelo suporte financeiro.

Aos Professores, colegas do curso de pós-graduação (Ana Durce O. Paixão, Fernanda R. Castro Almeida e Tarcísio Diniz), funcionários (Adelcir Oliveira e Sr. Vicente Vasco) e técnicos (José Valdir de Oliveira e Nísia Rodrigues) pela grande parcela de contribuição e a todos que de qualquer maneira influenciaram direta ou indiretamente no transcorrer de nosso trabalho.

SUMÁRIO

	Página
<u>RESUMO</u>	
<u>ABSTRACTS</u>	
1 - <u>INTRODUÇÃO</u>	1
1.1 - <u>Generalidades</u>	1
1.2 - <u>A Planta</u>	10
1.2.1 - <u>Descrição Botânica</u>	10
1.2.2 - <u>Estudo Farmacológico e Fitoquímico</u>	13
1.2.3 - <u>Uso Popular</u>	13
1.3 - <u>Objetivos</u>	17
2 - <u>MATERIAL</u>	18
2.1 - <u>Folha</u>	18
2.2 - <u>Soluções Fisiológicas</u>	18
2.3 - <u>Drogas</u>	19
2.4 - <u>Reagentes e Corantes</u>	19
2.5 - <u>Aparelhagem</u>	19
2.6 - <u>Material Diversos</u>	21
2.7 - <u>Animais</u>	21
2.8 - <u>Código Usado</u>	23
3 - <u>MÉTODOS</u>	24
3.1 - <u>Preparação do Material Usado nos Tratamentos</u>	24

	Página
3.1.1 - Extrato Hidroalcoólico e Chá	24
3.2 - <u>Dosagens de Sódio e Potássio e Medida de pH do Extrato Hidroalcoólico de Alpinia speciosa</u>	25
3.3 - <u>Abordagem Fitoquímica do Extrato Hidroalcoólico da Alpinia speciosa</u>	25
3.4 - <u>Experimentos "In Vivo"</u>	25
3.4.1 - Toxicidade Aguda e Efeitos Comportamentais	25
3.4.2 - Toxicidade Subaguda	27
3.4.3 - Sleeping Time	28
3.4.4 - Pressão Arterial	29
3.4.4.a - Pressão Arterial Carotidiano em Ratos ..	29
3.4.4.b - Pressão Arterial de Cão	30
3.4.5 - Atividade Diurética	30
a) Chá da Folha da Alpinia speciosa	30
b) Extrato Hidroalcoólico de Alpinia speciosa	31
3.5 - <u>Experimentos "In Vitro"</u>	32
3.5.1 - Átrio Isolado de Rato	32
3.5.2 - Coração Isolado de Sapo	33
3.5.3 - Íleo Isolado de Cobaia	34
3.5.4 - Duodeno de Coelho	35
3.5.5 - Reto Abdominal de Sapo	36
3.5.6 - Útero Isolado de Rata Virgem	36
3.6 - <u>Método Estatístico</u>	38

	Página
4 - <u>RESULTADOS</u>	39
4.1 - <u>Dosagens de Sódio, Potássio e Medida do pH</u> <u>do Extrato Hidroalcoólico e Chá da folha da</u> <u>Alpinia speciosa Schum</u>	39
4.2 - <u>Abordagem Fitoquímica</u>	39
4.3 - <u>Experimentos "In Vivo"</u>	43
4.3.1 - <u>Efeitos Comportamentais e Toxicidade Agu-</u> <u>da</u>	43
4.3.2 - <u>Toxicidade Subaguda</u>	48
4.3.3 - <u>Atividade do Tempo de Sono</u>	64
4.3.4 - <u>Pressão Arterial Carotidiana em Ratos</u> ...	67
4.3.5 - <u>Pressão Arterial de Cão</u>	73
4.3.6 - <u>Atividade Diurética do Chá da Folha da</u> <u>Alpinia speciosa Schum</u>	73
4.3.7 - <u>Atividade Diurética do Extrato Hidroalcoó-</u> <u>lico de Alpinia speciosa Schum</u>	74
4.4 - <u>Experimentos "In Vivo"</u>	83
4.4.1 - <u>Atrio Isolado de Rato</u>	83
4.4.2 - <u>Coração Isolado de Sapo</u>	83
4.4.3 - <u>Íleo de Cobaia</u>	87
4.4.4 - <u>Duodeno de Coelho</u>	93
4.4.5 - <u>Reto Abdominal de Sapo</u>	98
4.4.6 - <u>Útero de Rata Virgem</u>	98
5 - <u>DISCUSSÃO</u>	106
6 - <u>CONCLUSÃO</u>	127
7 - <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	129

LISTA DE TABELAS

TABELA	página
I - Abordagem fitoquímica da folha de <u>Alpinia speciosa</u> Schum	42
II - Toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> Schum	44
III - Toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> Schum em camundongos por via oral	45
IV - Toxicidade subaguda do chá e do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> ou <u>nutans</u> no rato	49
v - Leitura diferencial em % (células por campo) ..	57
VI - Peso dos animais, durante o tratamento crônico, com chá e extrato de <u>Alpinia speciosa</u> , pesados em dias alternados, no período de 30 dias	58
VII - Avaliação dos efeitos do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> e clorpromazina na determinação do tempo de sono induzido por pentobarbital em ratos	65
VIII - Efeito do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> na pressão arterial de rato anestesiado com uretana 1,5 g/kg	68
IX - Ação do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> na pressão arterial de rato, expressa em percentagem de queda da pressão arterial média.	72

X - Efeitos do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> , na pressão arterial de cães anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/kg) por via intravenosa	74
XI - Avaliação do efeito diurético do chá da folha da <u>Alpinia speciosa</u> em ratos, medida de sódio (Na^+) e Potássio (K^+) urinário	77
XII- Avaliação do efeito diurético do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> em ratos, e medida dos eletrólitos sódio (Na^+) e potássio (K^+) urinário	80
XIII- Avaliação dos efeitos do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> em âtrio isolado de rato ...	84
XIV- Efeito do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> em contrações induzidas por acetilcolina, histamina, serotonina e bradicinina em íleo isolado de cobaia	91
XV- Percentagem da resposta do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum em contrações induzidas por acetilcolina, histamina, serotonina e bradicinina em íleo isolado de cobaia	92
XVI- Efeito da curva dose resposta do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum em duodeno de coelho	94
XVII- Resposta do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum expresso em percentagem, em contrações induzidas por acetilcolina em duodeno de	

	página
coelho	96
XVIII - Efeitos do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum em contrações induzidas por acetilcolina em reto abdominal de sapo	100
XIX - Efeito do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum em contrações induzidas por acetilcolina, ocitocina e cloreto de bário em útero isolado de rata virgem	103
XX - Resposta do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum expresso em percentagem do efeito máximo, em contrações induzidas por acetilcolina, ocitocina e cloreto de bário em útero de rata virgem	105

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 - <u>Alpinia speciosa</u> Schum	11
2 - Abordagem fitoquímica da folha de colônia	41
3 - Toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> em camundongos por via intraperitoneal	56
4 - Toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> por via oral em camundongos	47
5 - Efeito do extrato hidroalcoólico e do chá das folhas de <u>Alpinia speciosa</u> no rato, obtido durante o tratamento crônico de 30 dias	50
6a - Corte do fígado de rato albino (Wistar) tratado com água destilada (Controle) durante 30 dias	51
6b - Corte de rim de rato albino (Wistar) tratado com água destilada (Controle), durante 30 dias	52
6c - Corte de fígado de rato albino (Wistar) tratado com chá da folha de <u>Alpinia speciosa</u> 1,5% durante 30 dias	53
6d - Corte de rim de rato albino (Wistar) tratado com chá da folha de <u>Alpinia speciosa</u>	

	Página
1,5% durante 30 dias	45
6e - Corte de fígado de rato albino (Wistar) tratado com extrato hidroalcoólico da folha de <u>Alpinia speciosa</u> 140 mg/ml, durante 30 dias	55
6f - Corte de rim de rato albino (Wistar) tratado com extrato hidroalcoólico da folha de <u>Alpinia speciosa</u> 140 mg/ml, durante 30 dias	56
7a - Histograma do grupo controle tratado com água destilada (1,5% ml/kg/V.O.) durante 30 dias	61
7b - Histograma do grupo de ratos tratado com chá de colônia 1,5% (1,5 ml/kg/V.O.) durante 30 dias	62
7c - Histograma do grupo tratado com extrato hidroalcoólico de colônia (5 g/kg/V.O.) durante 30 dias	63
8 - Efeito do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum e clorpromazina em teste de tempo de sono induzido por pentobarbital em ratos	66
9 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum na pressão arterial de rato	69
10 - Representação gráfica dos efeitos do extrato da <u>Alpinia speciosa</u> ou nutans na	

	Página
pressão arterial de rato	70
11 - Histograma representativo da ação do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> na pressão arterial de rato	71
12a - Efeitos do extrato hidroalcoólico da folha e do rizoma da <u>Alpinia speciosa</u> na pressão arterial de cão	75
12b - Histograma representativo do efeito do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> na pressão arterial de cão	76
13a,b,c - Avaliação dos efeitos diuréticos do chá da folha de <u>Alpinia speciosa</u>	78
14 - Histograma representativo da avaliação do efeito diurético do extrato hidroalcoólico da folha da <u>Alpinia speciosa</u> ...	81
15 e 16 - Histograma representativo da avaliação do efeito diurético do extrato hidroalcoólico da folha da <u>Alpinia speciosa</u>	82
17 - Efeitos do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> em átrio isolado de rato.	
18 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> em coração de anfíbio!...	86
19 - Efeito do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> Schum em contrações provocadas por acetilcolina e histamina em íleo de cobaia	88
20 - Efeito do extrato hidroalcoólico de <u>Al-</u>	

<u>pinia speciosa</u> Schum em contrações induzidas por serotonina em íleo isolado de cobaia	89
21 - Efeito do extrato hidroalcoólico de <u>Alpinia speciosa</u> em contrações provocadas por bradicinina em íleo isolado de cobaia	90
22 - Curva dose resposta do extrato de <u>Alpinia speciosa</u> Schum e efeito das contrações provocadas por acetilcolina em duodeno de coelho	95
23 - Curva dose resposta do isoproterenol e efeito do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum em respostas ao isoproterenol em duodeno de coelho ...	97
24 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum em contrações provocadas por acetilcolina em reto abdominal de sapo	99
25 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum em contrações induzidas por acetilcolina e ocitocina em útero isolado de rata virgem	101
26 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da <u>Alpinia speciosa</u> Schum, em contrações induzidas por cloreto de bário em útero isolado de rata virgem	102

RESUMO

Alpinia speciosa Schum ou nutans é uma planta da família das zingiberáceas. É conhecida popularmente por "colônia", planta indígena da Ásia tropical e naturalizada em algumas partes da América tropical e adaptada no Brasil.

A planta é usada em muitas partes do norte e nordeste do Brasil para controle da hipertensão e como diurético, além de ser utilizada para o tratamento de muitas outras moléstias.

A sua farmacologia foi avaliada em alguns modelos experimentais.

Determinamos a quantidade de Na^+ e K^+ encontrados no extrato e no chá. Os valores observados foram 51,0 mEq para o Na^+ e 132 mEq para K^+ no extrato, e 0,0 mEq para Na^+ e 26 mEq para o K^+ no chá.

As análises fitoquímicas da folha, demonstraram a presença de taninos catêquicos, fenóis e alcalóides ao lado de algumas essências.

O extrato hidroalcoólico quando injetado por via IP na dose de 100 a 1400 mg/kg em camundongos ou 2500 a 18000mg/kg por via oral produziram: "Writing", excitação psicomotora, hipocinesia e prurido.

Pelo uso dos testes de TAINTER e MILLER encontramos uma DL_{50} por via IP de $0,760 \pm 0,126$ g/kg e $10,0 \pm 2,5$ g/

kg por via oral para administração do extrato hidroalcoólico.

A toxicidade subaguda foi realizada pela injeção de 1/4 da DL_{50} durante 30 dias e os resultados mostraram um aumento nas transaminases e lactatodesidrogenases, onde outros parâmetros tais como glucose, uréia sanguínea e creatinina foram consideradas normais. As análises patológicas dos tecidos (fígado, baço, rim, pulmão e coração) não mostraram alterações.

O hemograma feito com sangue periférico demonstrou somente níveis elevados para linfócitos. Os animais tratados com o extrato apresentaram 50% de perda de peso corporal.

A droga promoveu também um prolongamento de tempo de sono.

O extrato hidroalcoólico induziu no rato uma queda de pressão sanguínea dose dependente, com doses que variam de 10 a 30 mg/kg.

Encontramos ainda que os bloqueadores colinérgicos ou adrenérgicos foram incapazes de bloquear esses efeitos. Efeitos análogos sobre a pressão sanguínea foi demonstrada no cão.

No átrio isolado o extrato induziu uma redução das respostas inotrópica e da frequência, mas ambos extrato e chá tem efeito sob a diurese em ratos.

SUMMARY

Alpinia speciosa Schum or *nutans* is a plant of the zingiberaceae family. It is known popularly as "colony" (colônia), an indigenous plant of the tropical Asia and naturalized in some parts of the tropical America and adapted in Brazil.

The plant is used in many parts of the north and northeast Brazil to control hypertension and as diuretic, besides being used to control many other diseases.

We have made a pharmacological evaluation of its effects on some experimental models.

We have also determined its composition of Na^+ and K^+ found in the alcoholic extract and tea. The values observed were 51.0 mEq for Na^+ , and 132 mEq for K^+ in the extract, and 0,0 mEq of Na^+ and 26 mEq for K^+ in the tea.

A phytochemical analysis of the leaves demonstrated the presence of catequic tanins, phenols and alkaloids besides some essences.

When injected by intra peritoneal route the hydroalcoholic extract, in dose range of 100 to 1400 mg/kg, or 2500-18000 mg/kg oral route in mice produced: writhing, psychomotor excitation, hypokinesia and pruritus.

By using the ^{test} of Tainter and MILLER we found a LD_{50} by ip route of $0,760 \pm 0,126$ g/kg and $10,0 \pm 25$ g/kg by oral administration for the hydroalcoholic extract.

A subacute toxicity was made by injecting 1/4 of the LD₅₀ for 30 days and the results show an increase in transaminases and lactate dehydrogenases, whereas other parameters such as glucose, blood urea and creatinine were considered normals.

A histopathological analysis of some organs (Liver, spleen, gut, lung and heart) showed no alterations.

A hemogram made with peripheral blood demonstrated only elevated lymphocytes counting. The animals treated with the extract showed a 50% loss of body weight.

The drug promoted also a prolongation of the sleeping time. The hydroalcoholic extract induced in the rat a dose dependent fall in blood pressure in doses of 10 to 30 mg/kg.

We found that cholinergic or adrenergic blockers were unable to block this effect. A similar effect on blood pressure was shown in dog.

In the isolated atria the extract induced a reduction of the frequency and the inotropic responses, but both the extract and the tea had no effect on the diuresis of the rat.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Generalidades

Desde os primórdios da colonização brasileira os produtos naturais originados de plantas nativas vem despertando o interesse e tem sido explorados. A importância destes produtos naturais, no entanto, transcende desses limites de pura exploração da Natureza (GOTTLIEB & KAPLAN, 1983).

As plantas não só nos proporcionam alimentos mas também remédios para a recuperação ou conservação da nossa saúde.

Por muito tempo a fitoterapia vegetal esteve sob o domínio do povo comum, e especialmente dos homens do campo, em cujas mãos indoutas, o conhecimento empírico do valor medicinal das plantas lhes tem prestado um serviço inestimável.

Muitos profissionais, desprezavam a botânica farmacêutica como curandeirismo ou charlatanismo, hoje, porém, graças ao progresso das investigações científicas, a fitoterapia alcançou lugar de destaque (BALBACH, SD).

Os antigos egípcios, que se desenvolveram na arte de embalsamar os cadáveres para guardá-los da deterioração, experimentaram muitas plantas, cujo poder curativo descobriram de outras civilizações, aí cresceu a fitoterapia.

A fase seletiva da fitoterapia começou praticamen-

te com SCHMIEDEBERG (1839 - 1921) e seus inúmeros discípulos (GOMES, 1972).

Os egípcios, que então estavam relativamente adiantados na arte de curar, usavam, além das plantas aromáticas, muitas outras, cujos efeitos bem conheciam, como seja a papoula (sonífera), a cila (tônico cardíaco), a babosa e óleo de rícino (catárticos) etc... O papiro descoberto por Ebers em 1873, está repleto de receitas médicas em que entravam plantas em mistura com outras substâncias.

Os assírios, que também eram adiantados em medicina, incluíam no seu receituário nada menos do que 250 plantas terapêuticas, entre as quais o açafraão, a assa fétida, o cardamomo, a papoula, o tremoço etc.

Hipócrates (460 - 361 - a.c), da Grécia, que é considerado o pai da medicina, empregava centenas de drogas de origem vegetal.

Teofrasto (372 - 285 - a.c) em sua história das plantas, catalogou nada menos de 500 espécies vegetais.

Crateus, que viveu no século - I antes de Cristo, publicou a primeira obra de que se tem conhecimento na história - O RHIZOTOMIKON - sobre plantas medicinais com ilustração (BALBACH, SD).

Além desses, muitos outros como Dioscorídes, Plínio e os árabes Abd-Allah Ibn Ab-Bailar e Avicena, produziram obras valiosíssimas, em que descreveram e catalogaram numerosas espécies vegetais úteis a medicina (NEVES, 1982).

No que se refere a Galeno é interessante mencionar

o herbário medicinal descrito na idade média chamado de Alfabetum Galieni, onde cerca de 300 vegetais, minerais e animais são descritos (HALLEUX & OPSOMER, 1981).

A medicina tradicional moderna tem cada vez mais sido olhada com interesse na medicina chinesa.

As primeiras investigações de farmacologia de ervas chinesas começaram em 1918 por um jovem chinês de Pequim, K.K. CHEN que se interessou pelas propriedades do óleo essencial do cinnamon chinês (GRIFFIN, 1979).

Atualmente maior ênfase tem sido dada a este estudo graças aos esforços da união da medicina tradicional chinesa e ocidental, com maior intercâmbio de pesquisadores e com o despertar do interesse de cada país por sua própria farmacopeia popular (GRIFFIN, 1979).

O interesse pelas plantas úteis do Brasil remonta desde os tempos coloniais, até mesmo com tratado volumoso como o de Gabriel Soares de Souza (1587) e a obra de Piso (1658). Desde os primeiros dias de sua estada no Brasil, o colonizador tentou obter do índio informações sobre plantas úteis (GOTTLIEB & MORS, 1978).

Em todos os séculos encontramos cientistas e viajantes preocupados com o assunto, passando por Martius, até a década de 30 com HOEHNE (1939) e outros estudiosos (BERG, 1983).

A menção de uso popular remonta no ocidente a quase 2000 anos, tendo sido mencionado esse fato no livro de

Gaius Plinius Secundus (história naturalis, escrito 27-79 d.c), o qual secundou naturalmente as contribuições de Hipócrates, Aristóteles e Galeno (STANNARD, 1982).

Gomes Filho, médico cirurgião de Lisboa já dizia "A experiência feita com agentes naturais, nas diversas condições de saúde e doença do organismo" era e é efetivamente o único meio de poder apreciar os efeitos de que tais agentes possam possuir (GOMES, 1972).

Podemos dizer que o Brasil foi premiado pela natureza, em termos de riquezas de flora, pois possui uma infinidade de espécies com aplicações terapêuticas. Várias de nossas plantas são inclusive exportadas para todo o mundo (PLANTAS, que curam, 1983) e no entanto, embora seja um país possuidor da maior cobertura vegetal primitiva de todo o globo importa 85% dessa mesma matéria prima, agora já isolada e purificada para a fabricação de medicamentos (INGLÊS JÚNIOR-informação pessoal), (SATO et alii, 1987). Essa dependência externa, além de pressionar a níveis insuportáveis a nossa balança de pagamentos, determina uma defasagem que se aprofunda no campo da pesquisa e da tecnologia (MEDEIROS, 1983).

As presentes dificuldades de importação são conhecidas por todos. Não somente resultam de restrições governamentais brasileiras, mas também de recusa de embarque por muitos exportadores devido a lentidão de pagamento pelo Banco Central. A situação ameaça a indústria nacional de extinção.

Muitos fármacos são fabricados no país, entretanto, quase todos são feitos a partir de intermediários importados. As empresas multinacionais podem recorrer as suas sedes para suprir estes intermediários, mas as nacionais enfrentam as mesmas dificuldades de importação que enfrentariam com as próprias drogas (GILBERT, 1983).

A crise na qual o Brasil destes anos 80 se debate, reverte em benefício do interesse por produtos naturais. Importações ficando fora de cogitações dirigem-se as atenções para as matérias primas vegetais, a maior riqueza renovável no país (GOTTLIEB & KAPLAN, 1983).

Como é visto o Brasil possui um bom número de espécies vegetais de renomado uso medicinal (GOTTLIEB & MORS, 1979b). Assim mesmo são reduzidíssimas as descobertas de princípios terapêuticos baseado em nossa flora feitas nestes últimos decênios. Entre nós essa difícil tarefa é restrita a pós-graduandos que através dela recebem o seu treinamento em química orgânica (GOTTLIEB & MORS, 1979a) e farmacologia ao identificarem suas atividades farmacológicas.

No outro extremo da escala está a China cujo governo deu ênfase a sistematização da medicina tradicional chinesa e na sua elevação a um nível mais alto (PEIGEN, 1981) criando institutos de matéria médica nos quais trabalham muitas centenas de profissionais (GOTTLIEB, 1983).

O alto custo dos ensaios tanto pré-clínicos como clínicos também é um fator que limita a contribuição brasileira a descrição da substância natural em um periódico cien

tífico e torna a fase dos ensaios de aplicabilidade apanágio das grandes firmas especializadas.

Um bom exemplo é a glasiovina, isolada de uma laurácea de Nova Friburgo e caracterizada por GILBERT et alii (1965), mas patenteada como anseolítico com o nome de suave-tol pela firma italiana SIMES (CASAGRANDE, et alii, 1975).

Quanto ao que se conhece sobre o efeito medicinal da nossa flora, existe um vasto campo de informações a respeito (apesar de dispersos). Desde a época do descobrimento do Brasil, os portugueses já anotavam as experiências que os índios faziam com as plantas nos tratamentos dos seus males. Através dos tempos a tradição popular incubiu-se de manter e aumentar esta sabedoria. Grande parte desse conhecimento foi e continua sendo testado e comprovado cientificamente. Muito porém está por ser descoberto e pesquisado em relação a diversas plantas nacionais (PLANTAS, que curam, 1983).

Hoje, organismos internacionais como a organização mundial de saúde (OMS), tem incentivado estudos interdisciplinares no campo da fitoterapia, a partir do cadastramento de informações obtidas através de práticas medicinais que são normalmente transmitidas de pai para filho em gerações sucessivas. Segue-se o isolamento de seus princípios ativos e o reconhecimento de suas ações farmacológicas mediante experimentação científica rigorosa e objetiva (BRITO, et alii, 1983).

Embora o desenvolvimento da química e da tecnolo-

gia tenha permitido o uso de muitas substâncias puras obtidas de plantas em larga escala, com a mesma finalidade, ainda hoje um grande número de cascas, raízes e folhas é usado em preparações simples e refinadas e muitas delas para uso caseiro. A maioria destas plantas é utilizada com base na experiência popular e, salvo aquelas que são também incluídas em diversas farmacopéias, há sobre elas enorme carência de estudo no que se refere a seu conhecimento botânico, farmacológico e químico. Sua aquisição é de modo geral, feita em pequenas hortas, geralmente caseiras, ou através de raizeiros que atuam em mercados e feiras. Alguns herbanários maiores vendem essas plantas sob a forma de "chás" empacotados (MATOS, 1988b).

Considerando-se que possuímos as maiores reservas de produtos naturais é urgente que se desenvolva no país a ciência e tecnologia necessária para se descobrir novas fontes produtoras de insumos farmacologicamente ativos, que venham a substituir essas matérias primas que são importadas pelo Brasil para produção dos medicamentos naturais.

Na realidade nos últimos 10 anos, o governo vem se preocupando com o melhor aproveitamento dessa flora tão rica existente no Brasil, dessa forma, vem financiando projetos de pesquisas através da CEME (Central de Medicamentos) que tem realizado convênios com várias entidades universitárias, onde cientistas especializados no assunto, vem desenvolvendo pesquisas com a finalidade de empregar algumas dessas plantas, no tratamento e na cura das mais variadas patologias que acometem a população de baixa renda (PROGRAMA DE PESQUI-

SA DE PLANTAS MEDICINAIS - CEME, 1985).

A importância do aproveitamento das plantas medicinais em saúde pública foi ressaltada na reunião da organização mundial de saúde em Alma Ata (URSS) marcada pelo seu tema: "Saúde para todos no ano 2000" (WHO, 1978).

Nesta reunião recomendou-se o estudo e o uso das plantas medicinais regionais como forma de baixar os custos dos programas de saúde pública e aplicar o número de beneficiários de seus programas, principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento onde persistem os grandes bolsões de pobreza. Esta recomendação aliada a outros fatores tem contribuído para fazer crescer o uso e o comércio das plantas medicinais. A adoção desta recomendação traz, porém, para os órgãos governamentais de saúde pública uma nova e custosa obrigação: criar meios que preservem a população do uso de plantas ineficazes ou tóxicas, bem como das falsificações e adulterações não menos perigosas que, provavelmente, surgirão no mercado com o aumento da procura (MATOS, 1987).

De acordo com a 31ª assembléia da O.M.S. considera-se planta medicinal, aquela que administrada ao homem ou a animais, por qualquer via e sob qualquer forma, exerce alguma espécie de ação farmacológica (MATOS, 1988b).

É provável portanto que o consumo de plantas continue crescendo, impulsionado de um lado pela tendência a sua utilização direta sob a forma de preparações caseiras simples, com chás, tinturas, tisanas, lambedores (xaropes),

pós, etc., e por outro, pela busca de novos modelos estruturais de moléculas ativas, entre os constituintes dessas plantas e que são de interesse da indústria química e farmacêutica (MATOS, 1987).

É notório para o Brasil a importância das plantas medicinais, considerando-se que a população espalha no imenso território, nem sempre encontra o medicamento industrializado adequado, ou tenha recurso para adquiri-lo. Para os que residem nessas regiões mais afastadas, carentes, o fitoterápico é da maior importância, pois eles têm, na flora uma farmácia natural para a cura de seus males (LAINETTI & BRITO, 1980).

Embora o uso da maioria das plantas medicinais, quando feito corretamente, não traga praticamente nenhum prejuízo ao usuário, o risco existe. Daí a necessidade da avaliação das propriedades atribuídas à planta com vista a sua confirmação ou invalidação (MATOS, 1988b).

A compreensão do papel dos produtos naturais no funcionamento da natureza é essencial tanto para sua exploração racional como para avaliar corretamente sua importância (GOTTLIEB & KAPLAN, 1983). Somente o cientista é capaz de identificar meios de sobrevivência no ambiente artificial que estamos preparando para as futuras gerações brasileiras.

1.2 - A Planta

1.2.1 - Descrição Botânica

Alpinia speciosa Schum ou A. nutans Roscoe é uma planta da família das zingiberáceas (figura 1). Possui a sua família, ampla dispersão nos trópicos e sub-trópicos de todo o mundo, compreendendo 49 gêneros com 1500 espécies (JOLY, 1966). Esta é a maior família da ordem.

São plantas herbáceas aromáticas, geralmente com rizomas do qual nasce o caule aéreo; este transporta folhas em geral disticamente dispostas, com larga bainha na base, e que envolve o caule. No limite da folha com a bainha se encontra uma lígula desenvolvida. As flores apresentam-se em grupos, protegidas por brácteas vistosas, hermafroditas fortemente zigomorfas. Androceu composto de um único estame fértil com grande antera e um número variável de estaminódios, em geral 4, grandes e petaloides, que desempenham a função de atração da flor.

O maior centro de dispersão encontra-se na Ásia tropical, entre nós são nativos os seguintes gêneros importantes Costus, Renealmia.

Dentre os gêneros cultivados pela beleza de suas folhas e flores destacam-se Hedychium, Kaempleria e Alpinia (JOLY, 1966).

Alpinia speciosa Schum conhecida popularmente por colônia, nome que se deve a circunstâncias de haver sido in-



FIGURA 1 - Alpinia speciosa Schum - (foto tirada no horto de plantas medicinais do LPN da Universidade Federal do Ceará)

roduzida no jardim botânico do Rio de Janeiro, logo após a assinatura da Lei Áurea, que extinguiu a escravidão no Brasil. Trata-se de uma erva rizomatosa, robusta, com colmos de 2 - 3m de altura, lisos, verde claro, agrupados em torceiras. As folhas são lanceoladas, pontudas, verdes, de margens ciliadas de 50 a 70 cm de comprimento sobre 10 - 12 cm de largura. As flores são ligeiramente aromáticas dispostas em cachos grandes, amarelo róseas, ou branca avermelhadas, com 3 lobos e 1 grande lábio, cápsula sub-globosa, de 2 cm de diâmetro polispérmica.

Flores, folhas e rizomas são diuréticos e depurativos (BRAGA, 1976).

Planta indígena da Ásia tropical e naturalizada em algumas partes da América tropical (BAILY, 1953), inclusive vulgarizada no Brasil, (BRAGA, 1976) através do seu cultivo doméstico, desde longos anos, apenas como planta ornamental de belo efeito em lugares frescos e sombrios; Por isso é muito cultivada em nossos jardins (CORREA, 1926). Crescia com a mesma finalidade na maioria dos jardins do Cairo e Alexandria, além de serem especialmente cultivadas para estabilizar rios, canais e diques e fortalecer terrenos em lugares úmidos (TACKHOLM, 1969).

É comum no sudeste, bem como na região norte e nordeste do Brasil. No Ceará é encontrada em abundância na serra de Guaramiranga, Messejana, e em sítios, hortas e jardins da periferia da cidade de Fortaleza.

1.2.2 - Estudo Farmacológico e Fitoquímico

Pesquisadores em Taiwan, demonstram que a Alpinia speciosa (Wendl) K. Schum, apresentava atividade antioxidativa (LEE et alii, 1982). Seu rizoma também é usado lá, na medicina popular para o tratamento da úlcera gástrica. A eficácia da droga deve-se a dois compostos que foram isolados do rizoma, o dihidro-5,6-desidrokwain (DDK) e o 5,6-desidrokwain (DK), que tem potente atividade cicatrizante (HSU, 1987).

Normalmente na medicina tradicional chinesa utiliza-se várias espécies de plantas medicinais em alguns tipos de afecções, que tem passado de gerações para gerações através do uso popular pelos benefícios com elas obtidos. Por exemplo a Zingiber officinalis Rosc, planta da mesma família da Alpinia é utilizada como decoto, pela utilização de 9g do rizoma seco, para tratamento da asma brônquica, (SHENFA - WEN, 1983).

Também a Alpinia officinarum, tem sido relatada na literatura chinesa por (KEJI, 1981) por ter um efeito vasodilatador coronário, com uso para o tratamento do infarto do miocárdio e da insuficiência coronária.

Na Índia e Moluccas a Hedychium coronarium Kolning, foi muito utilizada na medicina popular como Antihelmíntico, estomático, carminativo, estimulante, anticéptico em gargarejos, antiemético e diarreia (HAGGAG & SHAMY, 1977).

No Japão, os grãos ou sementes da Alpinia speciosa

têm sido usados como estomâquicos, mas nenhum de seus constituintes ativos foram caracterizados (KIMURA et alii, 1960).

Algumas espécies da família das zingiberáceas, destacam-se na literatura por apresentarem reputados efeitos terapêuticos:

- Alpinia racemosa Well, Alpinia aromatica Aubl, e Alpinia occidentalis; Seus rizomas desprendem suave aroma e são estomâquicos, carminativos tônicos e anti-sifilíticos, sendo também úteis na cura de úlceras, cólicas flatulentas e tiveram outrora largo emprego por parte dos escravos para provocarem aborto.

- R. Sylvestris Horan (Amomum sylvestre SW; Zingiber silvestre-majus Sloane). Os rizomas são tônicos e anti-reumáticos. As sementes são aromáticas e picantes e tem os mesmos empregos assinalados para as espécies anteriores.

- Costus speciosa Smith (Amomum hirsutum Lam., C. arabicus L.); fornece rizoma estomâquico, tônico e diurético (CORREA, 1931).

- Alpinia spicata Jacq.; suas hastes encerram ácido oxálico. São utilizados como tônicos, diuréticos, depurativos etc. O suco acídulo e mucilaginoso que delas se obtém quando ainda fresco é refrigerante, febrífugo e útil contra as nefrites, inflamações da uretra, catarro da bexiga, cálculos renais, gonorréia e leucorréia (CORREA, 1926).

- Costus spiralis Rosc (Alpinia spiralis Jacq.); Seu suco é utilizado para aliviar arteriosclerose, como calmante das excitações nervosas e do coração, assim como na lavagem

de quaisquer ferida de origem sifilítica; as flores frescas são aplicadas topicamente como resolvente de tumor (CORREA, 1926).

(HAGGAG & SHAMY, 1977) publicaram um screening fitoquímico realizado com a folha da Alpinia nutans Rosc e outra espécie da mesma família (Hedychium coronarium Koenig). O trabalho foi realizado com o intuito de elucidar os diferentes constituintes da folha e do rizoma da planta, especialmente do seu óleo volátil, esforçando-se para encontrar a potencialidade para o seu uso econômico. Demonstraram a presença de sublimato cristalino para ambas, folha e rizoma, óleo volátil, carboidratos e/ou glicosídeos, saponinas, esteróis insaturados e/ou triterpenos e ausência de taninos pirogálicos, taninos catêquicos, alcalóides e/ou bases nitrogenadas e enzimas oxidases.

(MATOS et alii, 1966), realizaram uma marcha sistemática e de abordagem fitoquímico de algumas espécies regionais em Fortaleza (CE) com observações que foram efetuadas em extratos aquosos, alcoólicos e benzênicos. Dentre as plantas utilizadas destaca-se a Alpinia speciosa (Wendl) Schum. Verificaram a presença de oses e osídes, ácidos, e 0,02% de ácido orgânico e ausência de antocianos, flavônicos, esteróis, fenois, taninos flobafênicos, taninos pirogálicos e alcalóides, em extrato obtido da folha.

(CARLINE, 1972), realizou um screening de extratos de plantas brasileiras a fim de descobrir aquelas que pudessem possuir atividade farmacológica de interesse. Dentre as

plantas selecionadas foi estudada a Alpinia speciosa ou nutans. Neste estudo foi utilizado o extrato aquoso da flor da A. speciosa (liofilizado), devido a dificuldade de solubilizar extratos obtidos com outros solventes. Alguns dos extratos, em particular, demonstraram efeitos interessantes que merecerão melhor atenção e estudos mais detalhados.

1.2.3 - Uso Popular

No nordeste, bem como na região amazônica, o chá obtido por infusão da folha, tem sido utilizado pelo efeito cardiovascular e hipotensor (MAIA, observações pessoais - 1982). Entre outros efeitos da medicina popular, verifica-se também propriedades como calmante, antiasmático, diurético e anti-hipertensivo (MATOS, 1987). Seu emprego sob a forma de chá ou infusão é generalizado entre cardíacos e hipertensos (MATOS, 1988b). Normalmente é usado 4 g da folha para 250 ml da água fervida, no tratamento da asma e dispnéas e também para o tratamento da hipertensão e da hidrôpsia (barriga d'água). Utiliza-se 2 a 3 xícaras do chá por dia (MATOS, 1987).

A utilização de forma generalizada da folha de Alpinia speciosa Schum, (vulgarmente conhecida como colônia), como chá ou infusão no norte e nordeste do Brasil (MATOS, 1988b) sem registro de efeitos colaterais, e a consagração popular de suas propriedades terapêuticas principalmente como hipotensor e diurético (MATOS, 1988b); MATOS, 1987; MAIA, 1982), além de ser utilizada para o tratamento de outras mo-

léstias, nos chamou a atenção para a comprovação de algumas dessas propriedades através de modelos experimentais.

1.3 - Objetivos

Tendo em vista esses fatores resolvemos aprofundarmos informações sobre o extrato hidroalcoólico obtido da folha de colônia e procedermos as seguintes investigações:

- Determinação de suas propriedades farmacológicas gerais, em preparações específicas e, sua toxicidade aguda e crônica.
- Avaliação da sua ação antihipertensiva e diurética.
- Verificação da toxicidade do extrato e do chá.

2 - MATERIAL

2.1 - Folha

A folha fresca de Alpinia speciosa, (colônia), utilizada para a preparação do extrato hidroalcoólico a 50% e do chá obtido por infusão a 1,5%, foi coletada em jardins da periferia da cidade de Fortaleza - Ceará. Foi identificada como pertencente a espécie Alpinia speciosa Schum (Alpinia nutans Rosc) de acordo com informações fornecidas pelo herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará.

2.2 - Soluções Fisiológicas

Todas as concentrações foram expressas em milimolar (mm).

Solução de cloreto de sódio 0,9%: NaCl 154.

Solução de De Jalon: NaCl 154; KCl 5,3; CaCl₂ 0,6; NaH₂PO₄ 0,3; NaHCO₃ 6,9; Glicose 2,7.

Solução de Tyrode: NaCl 136; KCl 2,68; CaCl₂ 1,8; MgCl₂ 0,92; NaH₂PO₄ 0,36; NaHCO₃ 11,9; Glicose 5,5.

Solução de Ringer Batráquio: NaCl 111,2; KCl 1,8; NaH₂PO₄ 0,07; NaHCO₃ 2,38; Glicose 11,1.

2.3 - Drogas

Bradicinina (Sigma); Citrato de sódio (Herzog); Cloreto de Acetilcolina (Merck); Cloridrato de Clopromazina (Amplictil - Rhodia); Cloreto de Bário (Sigma); Dietilestilbestrol (Sigma); 5.Hidroxitriptamina (Sigma); Di-hidroclorato de histamina (Sigma); Heparina (Liquemine - Roche. Solução de 5.000 UI/ml); Hidroclorato de Adrenalina (Sigma); Hidroclorato de isoprenalina (Sigma); Hidroclorato de Norepinegrina (Sigma), Ocitocina (Majer-CEME) 5000 UI/ml; Pentobarbital sódico (abbot); propranolol - HCl (Ayerst); Sulfato de atropina (Sigma); Uretana (Crema puro).

2.4 - Reagentes e Corantes

Ácido Etilenodiamino Tetracético (EDTA) Merck solução a 1%.

- Ácido ascórbico - Reagen
- Álcool etílico absoluto - Merck
- Clorofórmio - Merck
- Éter etílico - Merck
- Formaldeído solução a 10% - Herzog
- Xilol - Reagen

2.5 - Aparelhagem

Analizador de gás (Instrumentation Laboratory); Modelo 213.

- Balança - Mettler
- Balança de um prato - Marte
- Balança de precisão - Mettler
- Cilindros de Metal esfumaçado
- Cilindro com mistura carbônica sob alta pressão
- Contador de minutos - M.H. Rhodes inc avon conn
- Dilutor 144 - (Instrumentation Laboratory)
- Estufa - modelo 119 - Fabber
- Fotômetro de chama (Instrumentation Laboratory)
modelo 143.
- Freezer Brastemp - 270 litros
- Fisiógrafo Narco Bio-Systems
- Gaiolas metabólicas
- Goteira de Claud Bernard
- Liquidificador Arno
- Manta aquecedora modelo 52 - marca Fisaton
- Microscópio binocular, Nikon
- Medidor de PH - MV.85 e Metrohm AG Herison
Konpensator E-322
- Physiograph Desk model DMP - 4B
- Prancha de metal
- Quimógrafos - SPS, Palmer e E. Zimmermann Lei-
pzing
- Relógio Tecnos - Marcador de tempo
- Refrigerador Brastemp - 440 litros
- Spot para iluminação
- Secador de cabelos - Spam Jet
- Termostat, - tipo Eer-MV

2.6 - Materiais Diversos

- Agulhas curvas de aço Inox, para administração por via oral em animais experimentais.
- Agulhas hipodérmicas, 20-5, 30-7; BD.
- Balões volumétricos de 1000 e 2000 ml, Pyrex.
- Becker de 10, 50, 100, 500, 1000 e 2000 ml.
- Funis de vidro Pyrex, diâmetros variados.
- Lâminas e lamínulas.
- Material cirúrgico: pinças, bisturí e tesouras.
- Placas de Petri (Pyrex).
- Provetas graduadas de 50, 100, 250 e 1000 ml, (Pyrex).
- Seringas de 1, 3 e 5 cc, BD.
- Cânula arterial de François Frank.
- Tubos de ensaios.
- Tubo de látex.
- Pinça de Mohr.
- Algodão, gaze, etc.

2.7 - Animais

- Camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade Swiss Webster, de ambos os sexos, adultos, com peso variável entre 23 e 28 gramas, provenientes do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

- Ratos albinos (*Rattus norvegicus*) pertencentes a

família Wistar, adultos, de ambos os sexos, com peso variável, de acordo com as necessidades de cada experimento, provenientes do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

- Cobaias albinos (*Cavia porcellus*), de ambos os sexos, com peso variável entre 280 - 380 gramas, provenientes do biotério de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

- Coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), peso médio em torno de 600 g, obtidos do biotério do Departamento de Zootécnica da Universidade Federal do Ceará, adaptados durante alguns dias as condições ambientais do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

- Sapos (*Bufo paracnemis*, Lutz), de ambos os sexos, com peso variável entre 180 a 300 gramas, colhidos ao acaso nos arredores de Fortaleza - Ceará.

- Cães (*Canis familiares*), de ambos os sexos, com peso variável entre 7 e 12 kg, fornecido pelo canil municipal de Fortaleza, ou apreendidos ao acaso na periferia da cidade. Os animais eram mantidos por um período de no mínimo 10 dias no canil do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, para que fossem eliminados os possíveis animais doentes e para que pudessem habituar-se as novas condições ambientais. As cadelas grávidas não eram utilizadas, a não ser que os experimentos assim o exigissem.

Os camundongos, ratos e cobaias, eram mantidos em

condições ambientais adequados, todos recebendo água "ad libitum" e ração "coelhex".

2.8 - Código Usado

SM - Sem marca

ODA - Orelha direita ápice

ODB - Orelha direita base

OEA - Orelha esquerda ápice

OEB - Orelha esquerda base

ODEA - Orelha direita e esquerda ápice

OEAB - Orelha esquerda ápice e base

ODAB - Orelha direita ápice e base

ODEB - Orelha direita e esquerda base

ODEAB - Orelha direita e esquerda ápice e base

3 - MÉTODOS

3.1 - Preparação do Material Usado nos Tratamentos

3.1.1 - Extrato Hidroalcoólico e Chá

O extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa foi obtido por trituração em liquidificador de 250 g de folha fresca da planta e 2500 ml de uma solução extratora hidroalcoólica a 50%. Em seguida a preparação foi aquecida em manta elétrica até o ponto de ebulição, assim permanecendo por 5 minutos. Após um período de repouso de 24 horas o extrato foi filtrado em papel e evaporado em banho maria a uma temperatura de 60°C, por meio de um secador. A concentração final do extrato após o cálculo do peso seco foi de 20 mg/ml, acondicionado em frasco de vidro cor ambar, mantido em geladeira a uma temperatura de 20 ± 5°C.

O chá foi preparado por infusão, a partir de 3 g de folhas frescas que, previamente foram cortadas, pesadas e empacotadas em saquinhos de tecido os quais foram colocados a imergir em 200 ml de água destilada em ebulição, sendo utilizados no mesmo dia.

3.2 - Dosagens de Sódio e Potássio e Medida de pH do Extrato Hidroalcoólico de *Alpinia speciosa*

As dosagens de Sódio (Na⁺) e Potássio (K⁺) foram estabelecidas segundo (MOURA, 1982), pelo método de espectro_fotometria de chama. Utilizou-se um fotômetro de chama (Instrumentation Laboratory, modelo - 443) para estas dosagens e para a medida do pH urinário, em analisador de gás (Instrumentation Laboratory, modelo - 213).

3.3 - Abordagem Fitoquímica do Extrato Hidroalcoólico da *Alpinia speciosa*

A obtenção das soluções extrativas e testes químicos da folha fresca e seu extrato hidroalcoólico, foram desenvolvidas no laboratório de controle de qualidade de produtos naturais da Farmácia Escola do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, segundo (MATOS, 1988a) em introdução a fitoquímica experimental.

3.4 - Experimentos "In Vivo"

3.4.1 - Toxicidade Aguda e Efeitos Comportamentais

Foram usados camundongos de ambos os sexos, com peso variável entre 23 e 28 gramas e feita avaliação hipnótica de alguns efeitos comportamentais e de toxicidade aguda. Os animais foram escolhidos aleatoriamente, pesados e separados

em grupos de 10. Naqueles em cujo tratamento procedeu-se com administração por via oral, suspendeu-se o alimento por toda a noite. Nos que foram tratados por via intraperitoneal utilizou-se um volume de 0,1 a 1,0 ml por 100 gramas de peso. Observações foram feitas durante 60 min e 24 horas após as injeções. Após esse teste avaliou-se a toxidez pelo método de (MILLER & TAINTER, 1944) determinando-se a DL_{50} (dose que mata 50% dos animais). Por esse método calculou-se a percentagem de morte, para cada grupo que é transformada em próbitos segundo uma tabela (CARLINE, 1973) e aplicada na ordenada, enquanto o logarítimo da dose (logdose) do extrato fica na abcissa, determina-se dessa forma a DL_{50} através dos dados obtidos no gráfico.

As doses do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa injetadas, por via intraperitoneal, variaram entre 100 e 1400 mg/kg de peso. Quando foi usada a via oral as doses variaram entre 2500 e 18000 mg/kg de peso para diferentes grupos de animais, que em seguida foram observados por 60 min., 24, 48 e 72 horas e uma semana respectivamente. Para cada tratamento, foi utilizado um grupo controle ao qual administrou-se água destilada.

Para averiguação dos efeitos comportamentais administrou-se $1/4$ da DL_{50} - tanto por via oral quanto por via intraperitoneal. Os efeitos comportamentais observados segundo (CARLINE, 1972) foram: Writing, pêlos arrepiados e ptose, movimentação, tremores ou convulsões, sedação ou hipnose, lacrimejamento e secreção nos olhos, salivação, prurido, micção e defecção, coma e morte.

3.4.2 - Toxicidade Subaguda

Foram usados ratos albinos, de ambos os sexos, com peso variável entre 120 e 250 gramas. Os animais foram pesados e separados em gaiolas aleatoriamente em grupos de 10. Durante 30 dias foram tratados diariamente com extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa 140 mg/ml, chá 1,5% e água destilada como controle, mantendo-se um volume de 1,5 ml/100 g de peso, os quais eram pesados em dias alternados.

Ao final de 30 dias os animais foram heparinizados por via subcutânea e em cerca de 10 a 30 min foram retiradas amostras de sangue para dosagem de uréia, creatinina, glicose, transaminases (TGP e TGO), desidrogenase lática (LDH) e fosfatase alcalina.

A seguir foi feita uma incisão nas cavidades abdominal e torácica, retirando-se cerca de 2 a 4 mm de algumas vísceras como fígado, rim, baço, pulmão e coração.

Os fragmentos das vísceras foram colocados em frascos contendo formol a 10%, devidamente identificados para o preparo das lâminas para realização dos exames histopatológicos.

Foi preparado esfregaço de sangue em lâminas devidamente marcadas para os três grupos tratados com chá (A) e extrato (B) e H₂O (C) respectivamente, a fim de que fosse realizado a leitura diferencial em percentagem (células por campo). Foram preparadas 2 lâminas para cada animal, dos 3 grupos e para leitura as lâminas foram escolhidas aleatoria-

mente.

3.4.3 - Sleeping Time

O método utilizado para a avaliação do tempo de sono dos animais foi o de (DANDIYA & COLLUMBINE, 1959).

Foram escolhidos aleatoriamente ratos albinos machos com peso variável entre 150 e 220 gramas, os quais foram marcados e divididos em 4 (quatro) grupos de animais que receberam o seguinte tratamento por via oral:

- Grupo I - Salina (0,9%)
- Grupo II - Hidroclorato de Clorpromazina (5 mg/kg de peso)
- Grupo III - Extrato Hidroalcoólico de folha de Alpinia speciosa (0,5 g/kg de peso)
- Grupo IV - Extrato Hidroalcoólico de folha de Alpinia speciosa (1,0 g/kg de peso)

Passado 1,0 hora desse tratamento, foi injetado em todos os animais, pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso) por via intraperitoneal. Logo que adormeceram os animais eram colocados em cima de uma bancada em posição de decúbito dorsal, em local isolado com ausência de ruídos, à temperatura ambiente de 27°C.

Considerou-se o despertar o momento em que o animal movimentou algum de seus membros; o tempo de sono foi calculado isoladamente para cada animal de acordo com a seguinte fórmula: $T_2 - T_1$; onde T_2 representa o tempo em que o

animal despertou e T_1 o tempo em que o animal adormeceu.

3.4.4 - Pressão Arterial

3.4.4.a - Pressão Arterial Carotidiana em Ratos

Foram utilizados ratos machos adultos, normotensos, com peso em torno de 320 gramas. Os animais foram anestesiados com uretana (1,5 g/kg de peso) injetados intraperitonealmente. Uma vez em estado de anestesia cirúrgica, o animal era fixado em posição de decúbito dorsal, a uma prancha de metal, pelas patas traseiras e dianteiras e por meio de um fio aos dentes incisivos superiores. A seguir feita canulação da veia ilíaca externa para injeção de soluções e da artéria carótida para introdução da cânula que registrava as alterações pressóricas através de um fisiógrafo Narco Bio-Systems.

A seguir injetamos noradrenalina (10 $\mu\text{g/ml}$) e solução do extrato hidroalcoólico da folha de Alpinia speciosa em doses que variam de 10 a 40 mg/kg de peso. A cânula era lavada com 0,1 ml de salina a fim de que não ficasse substâncias ativas na cânula. As injeções não ultrapassavam a quantidade de 0,4 ml, a fim de que não houvesse interferências de volume nas respostas de preparação.

Em outra etapa, após administração do extrato em doses de 10, 20 e 30 mg/kg de peso, incubou-se por 30 minutos, atropina 1 mg/kg/i.v. e propranolol 2 mg/kg/i.v. antagonistas colinérgicos e adrenérgicos do tipo alfa e beta res-

animal despertou e T_1 o tempo em que o animal adormeceu.

3.4.4 - Pressão Arterial

3.4.4.a - Pressão Arterial Carotidiana em Ratos

Foram utilizados ratos machos adultos, normotensos, com peso em torno de 320 gramas. Os animais foram anestesiados com uretana (1,5 g/kg de peso) injetados intraperitonealmente. Uma vez em estado de anestesia cirúrgica, o animal era fixado em posição de decúbito dorsal, a uma prancha de metal, pelas patas traseiras e dianteiras e por meio de um fio aos dentes incisivos superiores. A seguir feita canulação da veia ilíaca externa para injeção de soluções e da artéria carótida para introdução da cânula que registrava as alterações pressóricas através de um fisiógrafo Narco Bio-Systems.

A seguir injetamos noradrenalina (10 μ g/ml) e solução do extrato hidroalcoólico da folha de Alpinia speciosa em doses que variam de 10 a 40 mg/kg de peso. A cânula era lavada com 0,1 ml de salina a fim de que não ficasse substâncias ativas na cânula. As injeções não ultrapassavam a quantidade de 0,4 ml, a fim de que não houvesse interferências de volume nas respostas de preparação.

Em outra etapa, após administração do extrato em doses de 10, 20 e 30 mg/kg de peso, incubou-se por 30 minutos, atropina 1 mg/kg/i.v. e propranolol 2 mg/kg/i.v. antagonistas colinérgicos e adrenérgicos do tipo alfa e beta res-

pectivamente.

3.4.4.b - Pressão Arterial de Cão

Cães adultos de ambos os sexos, pesando entre 8 e 10 kg, foram anestesiados com onetobarbital sódico (30mg/kg de peso corporal), por injeção endovenosa na veia braquial. Uma vez em estado de anestesia cirúrgica, o animal era colocado em decúbito dorsal, em uma goteira de Claude Barnard. A seguir, através de uma incisão feita na região inguinal, foram dissecados a artéria e a veia femural. Uma cânula foi introduzida na veia femural, para posterior injeção de drogas. Uma outra cânula de vidro heparinizada (Cânula de Francois Franx). Foi introduzida na artéria femural e conectada a um tubo de hark, que por sua vez encontra-se ligado a um manômetro de mercúrio tipo LUDWIG para medir a pressão arterial. Os registros eram feitos em cilindros esfumados. Foram administradas doses do extrato hidroalcoólico da folha de Alpinia speciosa, com prévia eliminação do álcool, bem como do chá. Em outra etapa, foram injetadas doses de 20 mg/kg de peso do extrato hidroalcoólico da folha em comparação com o extrato hidroalcoólico do rizoma (4 mg/kg de peso).

3.4.5 - Atividade Diurética

a) Chá da Folha da Alpinia speciosa: foram utilizados 70 ratos Wistar, de ambos os sexos, pesando entre 190 e 210 gra-

mas, mantidos a $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$, separados em 7 (sete) grupos de 10; com peso aproximadamente iguais. Dois dos grupos foram utilizados como controle e administrados água destilada. O tratamento foi feito com chá da folha de Alpinia speciosa a 1,5%. Foi mantida a relação de volume para todos os grupos, controle e tratamento de 1,5 ml/100 g de rato, administrados por via oral. Os animais foram colocados em gaiolas metabólicas imediatamente após a administração. Coletou-se o volume urinário (UV) excretado durante 4 horas, de hora em hora, de forma cumulativa para cada grupo e foram feitas dosagens do volume urinário de sódio (Na^+) e Potássio (K^+).

b) Extrato Hidroalcoólico de Alpinia speciosa: o procedimento metodológico empregado neste experimento foi baseado nos métodos de (TIMMERMANN et alii, 1964, e ASTON, 1959), com algumas modificações. Para esta avaliação, experiências foram realizadas com 150 ratos Wistar de ambos os sexos, pesando entre 160 e 210 gramas, mantidos a $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e desenvolvidas em 3 etapas; em cada etapa selecionava-se 50 ratos do mesmo sexo, que foram separados em 5 grupos. Cada grupo continha 10 animais, com peso aproximadamente iguais. Alimento e água foram retirados na noite anterior e uma dose inicial de salina (0,9%) foi administrada por via oral (25 ml/kg). Dezesseis horas mais tarde iniciou-se a administração das drogas, extrato de Alpinia speciosa em doses que variaram de 250 a 1000 mg/kg de peso; um padrão de hidroclorotiazida (10 mg/kg), foi igualmente administrado. As drogas foram suspensas em água destilada e administradas oralmente em um volume

de 25 mg/kg. Os animais controle receberam o mesmo volume do veículo. A seguir os ratos foram colocados dois a dois em gaiolas metabólicas imediatamente após a medicação. Coletou-se o volume urinário (UV) excretado de hora em hora, de forma cumulativa até 5 horas após a administração do respectivo tratamento (MARTZ et alii, 1962). Além de efetuar o estudo comparativo entre o volume de diurese dos diversos grupos, ao final do teste, foi aquilatado o nível de sódio (Na^+) e potássio (K^+) através de fotômetro de chama e o pH urinário em um analisador de gás.

3.5 - Experimentos "In Vitro"

3.5.1 - Átrio Isolado de Rato

Foram utilizados ratos albinos, variedade Wistar, adultos, machos, pesando 200 a 300 gramas que foram anestesiados com uretana 1,5 g/kg por via intraperitoneal e imediatamente seus vasos cervicais seccionados. A seguir o coração foi removido e dissecado.

A preparação atrial foi usada sem distinção dos segmentos direito e esquerdo, isto é, conjuntamente. O átrio foi montado verticalmente, sob tensão diastólica de 1g em banho para órgão isolado contendo 7 ml de solução de Krebs-Henseleit. O líquido de incubação foi borbulhado continuamente com 95% O_2 - 5% CO_2 , o pH foi ajustado em 7,2 - 7,4 e a temperatura mantida a $36,5 \pm 1$ °C, com auxílio de um banho maria do tipo Haake (modelo FEM). As doses do extrato hidroal-

coólico variaram de 0,05 a 1,0 mg/ml, chegando-se a doses cumulativas de até 1,5 mg/ml. Para registro das concentrações espontâneas da preparação foi utilizado um transdutor Narco Bio-Systems, modelo F-50, acoplado a um registrador Narco Bio-Systems, modelo DMP-4:

As preparações foram incubadas até a obtenção de uma frequência inicial (bat/min) e de um efeito inotrópico (Inot/mm) estáveis. Após um período de equilíbrio foram obtidas curvas concentração-efeito, para o efeito cronotrópico do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa, utilizando-se o método cumulativo (VAN ROSSUM, 1963), registrou-se também a frequência cardíaca (Efeito cronotrópico).

3.5.2 - Coração Isolado de Sapo

Utilizamos o método descrito por (BULBRING, 1930).

A mobilização do animal foi feita após a destruição do sistema nervoso central pelo uso de estilete de aço. Em seguida o animal foi fixado em posição de decúbito dorsal, e a parede torácica aberta com remoção dos ossos coracoides e das clavículas. Logo após, o pericárdio foi cuidadosamente aberto, os vasos da base seccionados e o coração removido rapidamente e transferido para o recipiente contendo solução Ringer batráquio provida de aeração. Após a eliminação residual do sangue nele contido o órgão foi fixado através da veia cava a um sistema de perfusão à temperatura ambiente de 27°C.

Na massa ventricular foi introduzido, de maneira superficial um pequeno gancho de metal, o qual encontrava-se conectado através de uma roldana a uma alavanca inscritora do tipo Starling, para o registro quimográfico das alterações do músculo cardíaco, que pudesse ocorrer. Aguardou-se por alguns minutos, após a montagem, a estabilização da preparação, sendo em seguida registrada respostas contráteis para acetilcolina ($5,5 \times 10^{-5}$), iniciando-se a administração de doses crescentes do extrato hidroalcoólico em doses que variam de 1,0 a 4,0 mg.

3.5.3 - Íleo Isolado de Cobaia

Usou-se o método de (MAGNUS, 1904).

Foram utilizadas cobaias com peso variável entre 250 e 300 gramas, de ambos os sexos, privados de alimentos por 12 a 24 horas, que foram sacrificados com pancadas na região occipital e seguida de secção dos vasos cervicais. Após esta operação colocou-se o animal em posição de decúbito dorsal sobre uma placa de cortiça expondo-se a cavidade abdominal através de incisão em forma de "V" no abdome. A porção terminal do íleo foi retirada, cerca de 2 a 3 cm, foi lavada com solução de Tyrode e montado em um banho para musculatura lisa em câmara de vidro com capacidade para 10 ml, contendo solução de Tyrode que era continuamente aerada e mantida a 37°C. O tecido foi estabilizado durante 30 minutos com uma tensão de repouso de 0,5 g. Após este período, respostas para as doses de acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6}$ M), histamina

($8,9 \times 10^{-7} \text{M}$), serotonina ($5,6 \times 10^{-7} \text{M}$) e bradicinina ($9,4 \times 10^{-8} \text{M}$), foram obtidas antes e na presença de diferentes concentrações do extrato (0,1 a 0,5 $\mu\text{g/ml}$) incubados por 5 minutos.

3.5.4 - Duodeno de Coelho

A preparação foi montada de modo semelhante ao íleo de cobaia, pelo método de (MAGNUS, 1904).

Foram utilizados coelhos, com peso médio em torno de 600 gramas. Após ser sacrificado e feita a incisão no abdome, foi retirado a porção proximal do intestino delgado, nos seus 10 a 12 cm de extensão, e uma peça foi montada conforme o método supracitado. Após um período de estabilização de cerca de 30 minutos, foram registradas respostas controles para acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6} \text{M}$) e em seguida doses crescentes do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa que variaram de 0,1 a 0,5 mg/ml . A dose média do extrato (DME) que correspondeu a 0,3 mg/ml foi incubada por 5 minutos e após esse período o padrão de acetilcolina na presença do extrato.

Foi usado o isoproterenol ($4,7 \times 10^{-6} \text{M}$) como padrão em doses crescentes que variaram de 0,1 a 0,5 $\mu\text{g/ml}$ incubadas por 5 minutos. Logo após, na presença da dose média do extrato (0,3 mg/ml) administrou-se 0,3 $\mu\text{g/ml}$ de isoproterenol.

3.5.5 - Reto Abdominal de Sapo

O método utilizado foi o de (JALON, 1947), onde sa-
pos de ambos os sexos foram utilizados e imobilizados atra-
vés da destruição do sistema nervoso central, por meio de es-
tiletos de aço. A pele da região abdominal foi dissecada, o
músculo foi retirado e transferido para um recipiente conten-
do solução nutritiva de Ringer batráquio aerada continuamen-
te a temperatura ambiente. Procedeu-se a dissecação dos mús-
culos, que livre das aponeuroses foi transferido para uma
cuba de vidro com capacidade para 10 ml, contendo solução
nutritiva de Ringer, aerada e mantida à temperatura ambien-
te.

O tecido foi mantido em repouso por um período de
30 minutos e as respostas graduais da acetilcolina ($5,5 \times 10^{-5} M$) foram registradas por 60 segundos antes e após a in-
cubação de 5 minutos, das diferentes doses do extrato hidro-
alcoólico 0,1 a 1,0 mg/ml.

O registro quimográfico das contrações produzidas
pelo músculo foi feito através de uma alavanca isotônica de
inscrição frontal, sendo aplicada uma tensão de 1,5 g com
uma amplificação de 6 vezes.

3.5.6 - Útero Isolado de Rata Virgem

O método utilizado foi o de (HOLTON, 1948), onde
ratas virgens com peso em torno de 180 gramas, eram estroge-
nizadas 18 a 20 horas antes com dietiletilbestrol - 1 mg/kg

de peso corporal, por via intraperitoneal.

O animal era sacrificado com uma pancada na nuca e colocado em posição de decúbito dorsal, após terem sido seccionados seus vasos cervicais. Em seguida fazia-se uma incisão em forma de "V" no abdome e a pele e a camada muscular eram rebatidas e os intestinos afastados. O útero foi dissecado e os dois cornos uterinos foram cortados em suas extremidades, 1/3 distais do ovário e colo uterino. O útero foi colocado imediatamente em uma placa de petri contendo o líquido nutritivo de De Jalon, aerado continuamente.

Retirou-se de cada corno uterino, um segmento de cerca de 1,5 a 2,0 cm de comprimento, que foi em seguida montado em banho para musculatura lisa, adaptado a uma câmara de 10 ml de capacidade, contendo a solução de De Jalon, aerada e mantida à temperatura constante de 29°C.

As contrações foram registradas em um tambor móvel de quimógrafo através de uma alavanca isotônica, com uma tensão de repouso de 0,5 g e com uma ampliação de 6 vezes.

Após um período de estabilização de cerca de 30 a 40 minutos, foram registradas respostas controles da contração do útero para acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6} M$), ocitocina ($9,9 \times 10^{-5} M$) e cloreto de bário ($9,0 \times 10^{-4} M$). O extrato foi incubado em concentração crescente que variou de 0,1 a 0,5 mg/ml permanecendo em contacto com o líquido do banho por 5 minutos, a partir do qual as doses dos agonistas foram repetidas.

3.6 - Método Estatístico

Todos os resultados foram expressos em média \pm E. P.M. Nos experimentos que exigiam cálculos estatísticos foram empregados o teste "t" de Student. As comparações entre as duas médias de amostras correlacionadas foram realizadas pelo mesmo teste pareado (DIXON & MASSEY, 1969; COSTA NETO, 1978). As diferenças eram consideradas significativas para $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

4 - RESULTADOS

4.1 - Dosagens de Sódio, Potássio e Medida do pH do Extrato Hidroalcoólico e Chá da Folha da Alpinia speciosa Schum

Na avaliação quantitativa dos teores dos eletrólitos sódio e potássio, contidos no extrato e chá, determinados pelo método espectrofotométrico de chama, os valores encontrados foram 51,0 mEq para o sódio e 132,0 mEq para o potássio; no chá 0,0 mEq para o sódio e 26,0 mEq para o potássio, respectivamente.

Dependendo do teor de íons encontrados e da concentração do extrato utilizado nas preparações biológicas, os íons podem interferir significativamente nos testes farmacológicos realizados com o extrato bruto.

Nos estudos dos eletrólitos, em extrato e chá, foi determinado um grande conteúdo de íons potássio no extrato, o que de certo modo prejudicou a observação dos efeitos fisiológicos.

O valor medido para o pH do extrato por meio de analisador de gás foi de 4,5.

4.2 - Abordagem Fitoquímica

O extrato hidroalcoólico a 50% apresentou um odor

sui generis, agradável, muito característico, provavelmente devido a presença de óleo essencial, sabor levemente amargo e cor esverdeada.

A abordagem fitoquímica da folha de colônia demonstrou traços positivos para taninos catêquicos, fenóis livres e alcaloides além de óleo essencial e traços negativos para heterosídeos flavonóicos, saponinas e heterosídeos antraquinônicos. Foi obtido um rendimento de 2% de extrato seco, 11,60% de umidade e 6,76% de cinzas.

A presença de alcaloides pode ser observada na figura 2, e os resultados na tabela I.

A abordagem fitoquímica do extrato, revelou de forma semelhante na folha, presença de taninos catêquicos, fenóis livres e alcalóides.

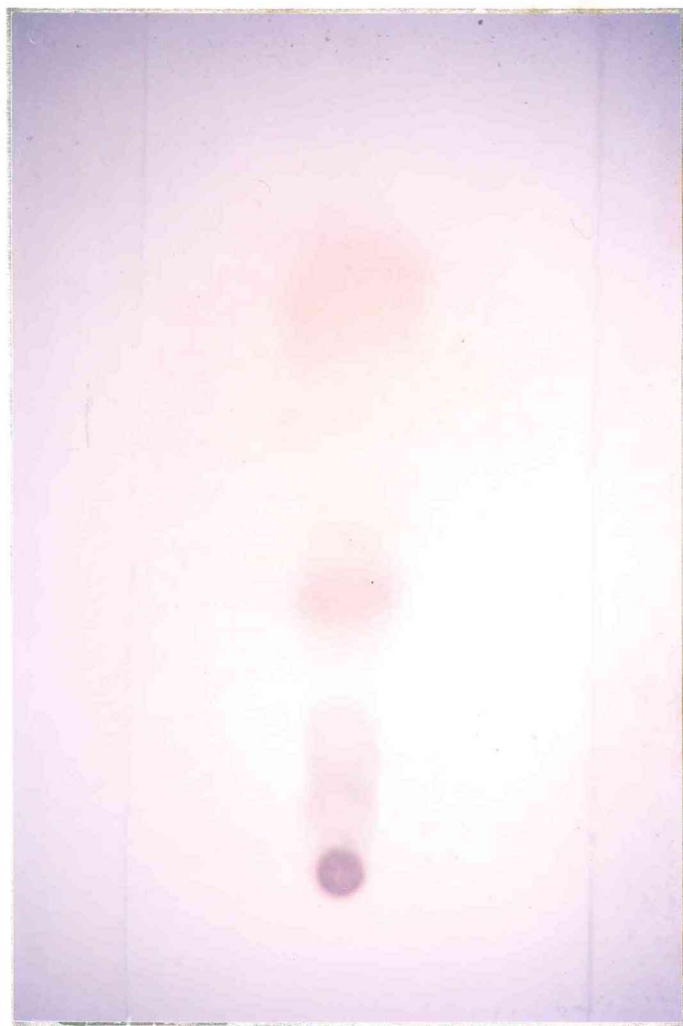


FIGURA 2 - Abordagem fitoquímica da folha de colônia. (CCD)^{*}

a) Presença de alcalóides (cor laranja) revelado com o reagente de Dragendorff.

b) Coloração verde, indicando a presença de pigmentos (Provavelmente taninos, fenois).

(*) CCD - Cromatografia em camada delgada).

TABELA I - Abordagem fitoquímica da folha de
Alpinia speciosa Schum

Testes	Resultados
Extrato seco %	2,0
Teor Umidade %	11,60
Cinzas %	6,76
Óleo Essencial	Positivo
Taninos Catéquicos *	Positivo
Alcaloides *	Positivo
Fenois Livres *	Positivo
Heterosídeos flavonoides	Negativo
Saponinas	Negativo
Heterosídeos Antraquinônicos	Negativo

(*) Também estão presentes no extrato hidroalcoólico da
folha.

4,3 - Experimentos "In Vivo"

4.3.1 - Efeitos Comportamentais e Toxicidade Aguda

Os principais efeitos produzidos pelo extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa, administrados por via intraperitoneal (100 a 1400 mg/kg de peso) em camundongos e administrados por via oral (2500 a 18000 mg/kg de peso) foram: Contrações abdominais (Writhing), excitação psicomotora seguida de depressão com diminuição dos movimentos espontâneos (hipocinesia) e coceira (prurido). Os sinais foram observados durante maior tempo naqueles animais administrados por via intraperitoneal. Com doses a partir de 400 mg/kg de peso administrados por via intraperitoneal e 5000 mg/kg por via oral os animais entravam em depressão, seguida de coma e morte, precedido de parada respiratória. A morte dos primeiros ocorreu dentro de 24 horas e da maioria dos restantes administrados por via oral ocorreu de 24 a 72 horas.

Os animais controle, tratados com água destilada, não demonstraram qualquer alteração comportamental.

A DL₅₀ (dose que mata 50% dos animais experimentais) do extrato hidroalcoólico, nos diferentes animais e vias de administração foi estabelecida segundo (MILLER & TAINTER, 1944). E os resultados são demonstrados nas tabelas II e III e graficamente nas figuras 3 e 4.

Doses de até 100 mg/kg de peso por via intraperitoneal e 2500 mg/kg por via oral, não chegaram a matar nenhum

TABELA II - Toxicidade aguda do extrato Hidroalcoólico de Alpinia speciosa em camundongos por via intraperitoneal.

Grupo ⁿ	Dose (mg/kg)	Nº de animais mortos	% de mortali dade	% de mortalida de corrigida	Probita	DL ₅₀ ± E.P.M.* mg/kg
I	100	0/10	0	2,5	3,04	
II	400	2/10	20	20,0	4,15	
III	700	5/10	50	50,0	5,00	760 ± 1,26
IV	1000	7/10	70	70,0	5,52	
V	1400	10/10	100	97,5	6,96	

n - 10 animais por grupo

* (MILLER & TAINTER, 1944)

TABELA III - Toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa em camundongos por via oral.

Grupo ⁿ	Dose (mg/kg)	Nº de animais mortos	% de mortali dade	% de mortalida de corrigida	Probito	DL ₅₀ ± E.P.M.* mg/kg
I	2500	0/10	0	2,5	3,04	
II	5000	1/10	10	10,0	3,71	
III	8000	3/10	30	30,0	4,47	10000 ± 2500
IV	12000	6/10	60	60,0	5,25	
V	18000	10/10	100	97,5	6,96	

n - 10 animais por grupo

* (MILLER & TAINTER, 1944)

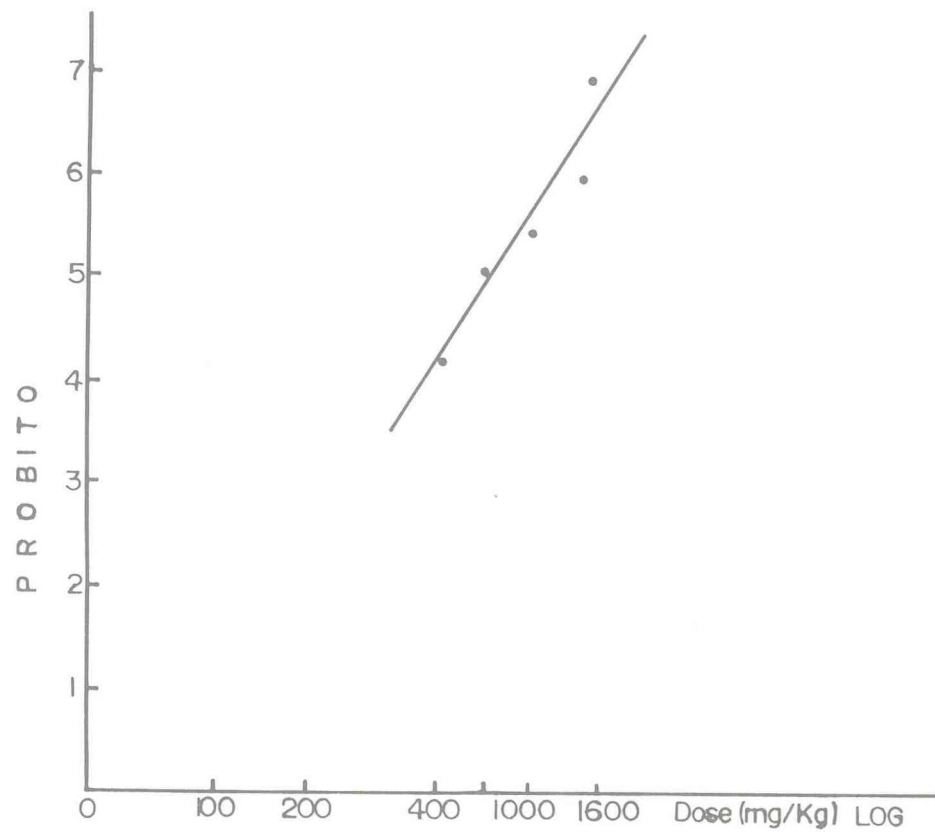


FIGURA 3 - Toxicidade Aguda do Extrato Hidroalcoólico de Alpinia speciosa por via intraperitoneal em camundongos.

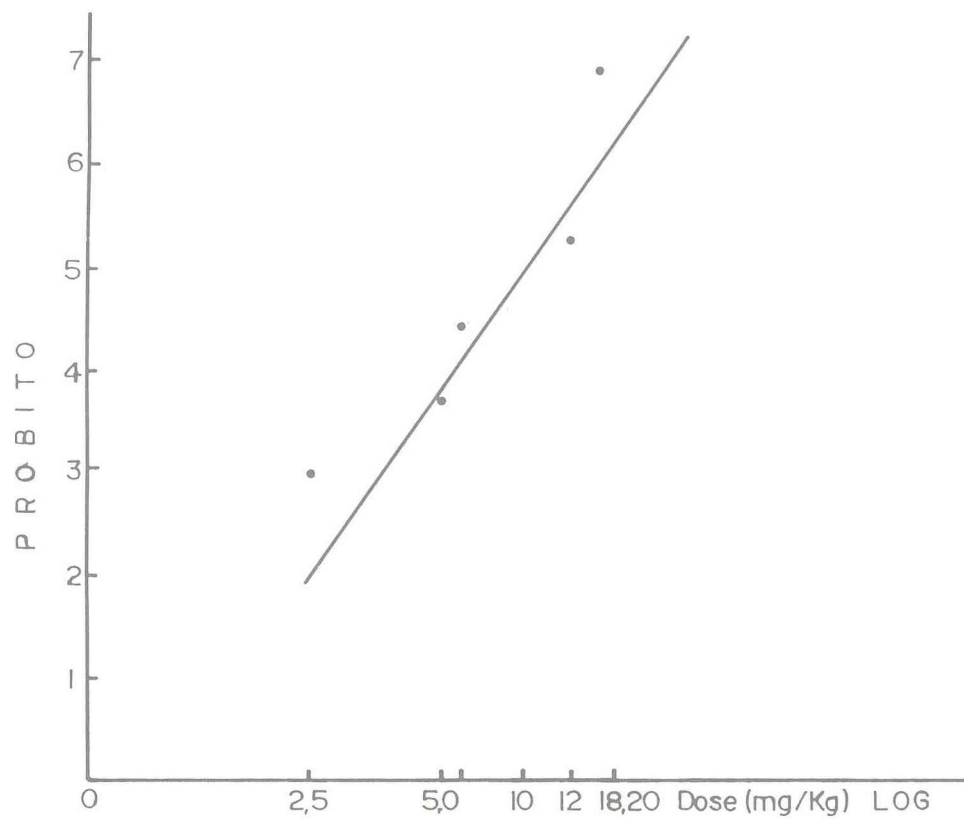


FIGURA 4 - Toxicidade Aguda do Extrato Hidroalcoólico de Alpinia speciosa por via oral em camundongos.

dos animais experimentais.

Os animais que foram tratados com 1/4 da DL_{50} exibiram uma ligeira excitação seguida de hipocinesia.

4.3.2 - Toxidez Subaguda

Após o tratamento crônico realizado em ratos para determinação da toxidez subaguda, com administração do extrato e do chá durante 30 dias com doses em torno da DL_{10} . Foram analisados os parâmetros sanguíneos (glicose, uréia, creatinina, desidrogenase láctica (LDH), transaminases (TGP e TGO) e fosfatase alcalina). Os resultados revelaram um aumento significativo das transaminases e da lactatodesidrogenase, conforme observa-se na tabela IV e figura 5. Os outros parâmetros observados estão todos normais, assim como exame histopatológico das vísceras (fígado, baço, rim, pulmão e coração) pela microscopia óptica, observados nas figuras 6a, 6b, 6c, 6d, 6e e 6f.

Foi feito um esfregaço de sangue de ratos, tratados durante 30 dias com extrato, chá e água, e os resultados obtidos com a leitura diferencial das lâminas, escolhidas aleatoriamente, encontra-se na tabela V. Demonstrando níveis elevados para linfócitos, segmentados e eosinófilos.

Os animais foram pesados em dias alternados durante o tratamento crônico. A variação de peso está demonstrada na tabela VI e figuras 7a, 7b e 7c.

8 (oito) dos 10 (dez) animais tratados com chá e

TABELA IV - Toxidez subaguda do chá e do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa ou nutans no rato.

Parâmetros Bioquímicos

Transaminase (U/ML x 0,482)					Desidrogenase Lática (U/ML x 0,482)			
TGO _(A)	TGO _(B)	TGO _(C)	TGP _(A)	TGP _(B)	TGP _(C)	LDH _(A)	LDH _(B)	LDH _(C)
111,90 [±] 3,95*	77,40 [±] 27*	64,0 [±] 11,3	63,40 [±] 8,76 ^{NS}	64,22 [±] 11,09*	47,10 [±] 2,64	1000,27 [±] 82,75*	866,2 [±] 108,6*	272,6 [±] 53,9

n - 10 animais por grupo

Grupos de ratos:

(A) Tratados com chá (1,5 ml/kg de peso - 1,5%)

(B) Tratados com extrato hidroalcoólico (5 g/kg de peso)

(C) Grupo controle - Ratos tratados com água destilada (1,5 ml/kg de peso)

NS - (não significativo)

* - P < 0,01

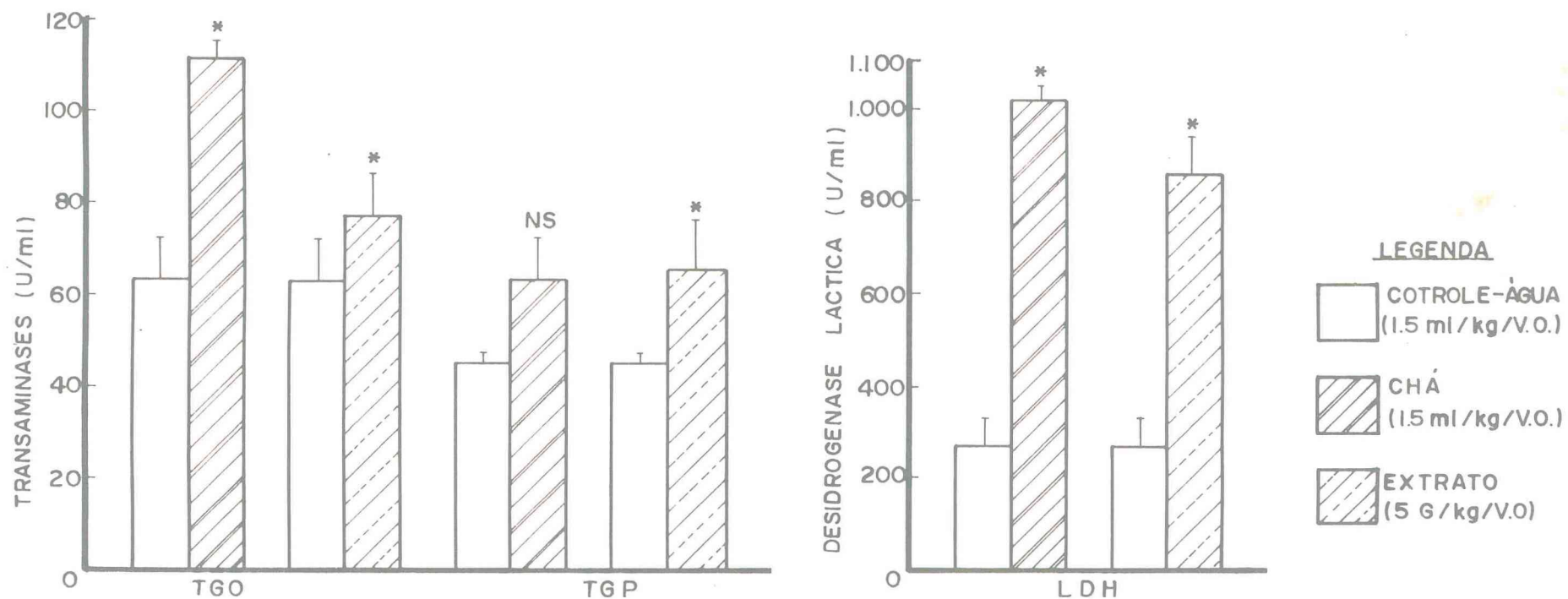


FIGURA 5 - Efeito do extrato hidroalcoólico e do chá das folhas de *Alpinia speciosa* no rato, obtido durante um tratamento crônico de 30 dias.

TGO = Transaminase Glutâmico Oxalacético.

TGP = Transaminase Pirúvica.

LDH = Lactatodesidrogenase.

* $P < 0,01$

NS = (Não Significativo)

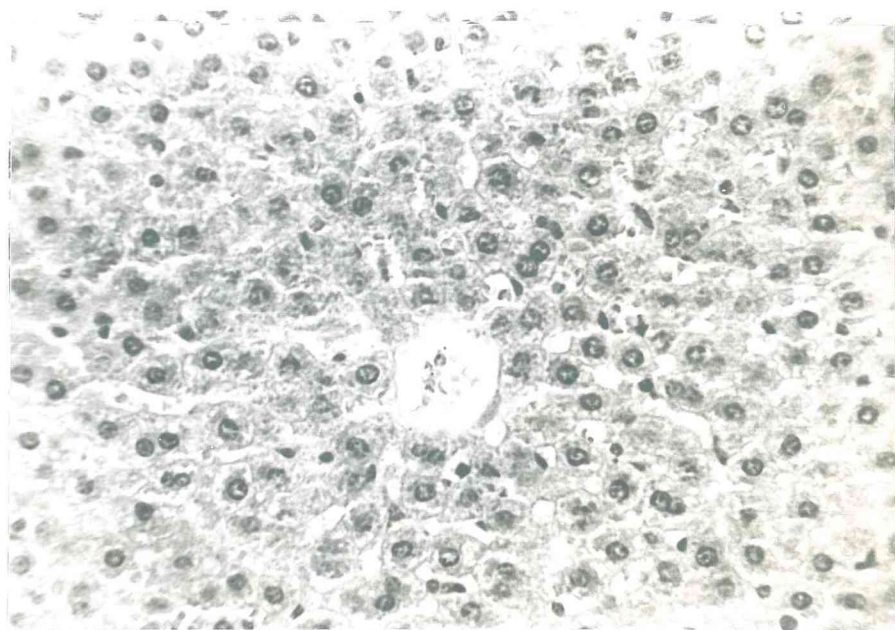


FIGURA 6a - Corte do fígado de rato albino (Wistar) tratado com água destilada (Controle) durante 30 dias, mostrando ausência de fenômenos mitóticos além de regularidade de volumes nucleares e presença da veia centro-lobular (H.E.; ocular, 6,3 x objetiva 16).

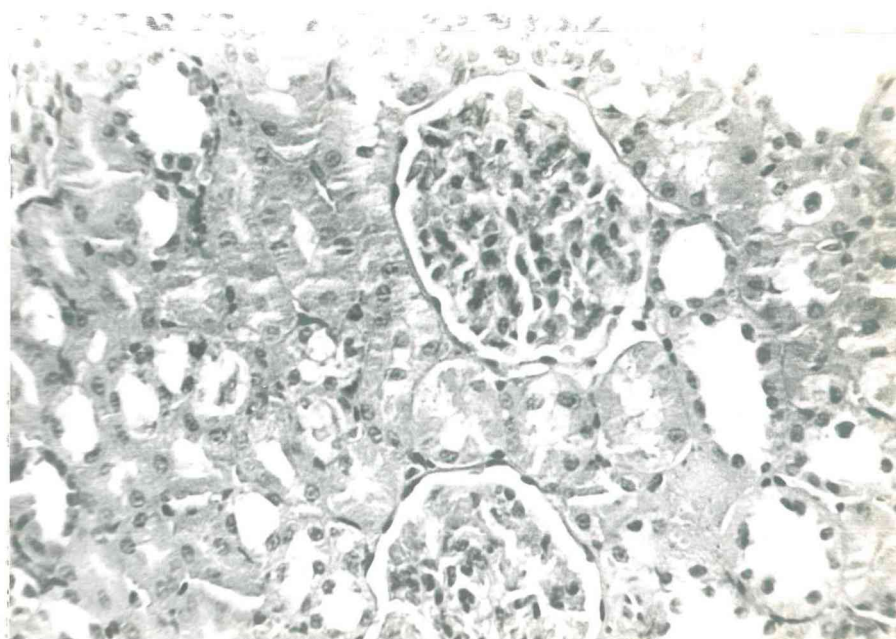


FIGURA 6b - Corte de rim de rato albino (Wistar) tratado com água destilada (Controle) durante 30 dias, mostrando detalhes da presença do glomérulo com seus lóbulos e os túbulos ao seu redor (Características de rim normal). (H.E.; ocular 6,3 x objetiva 16).

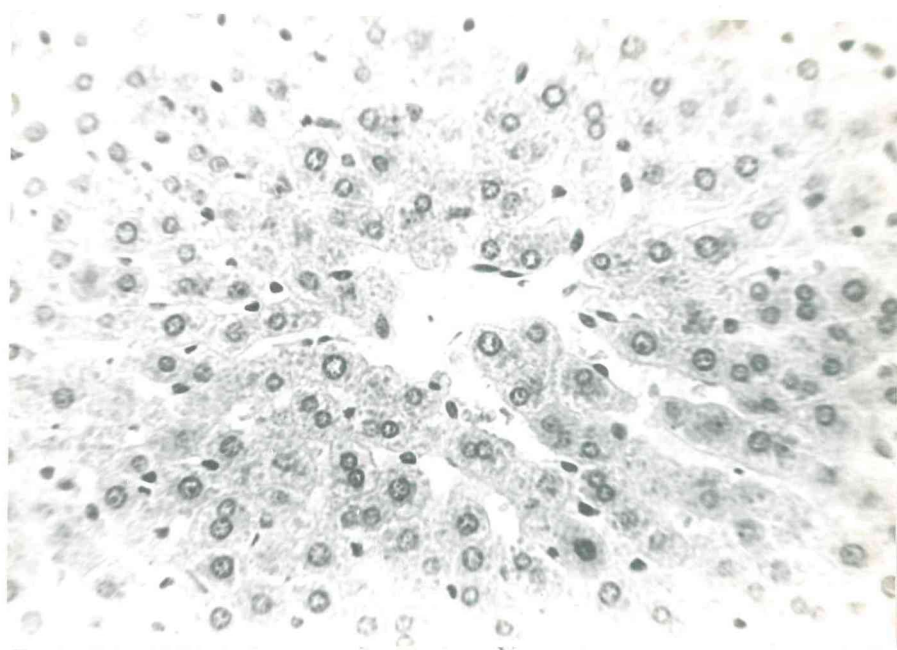


FIGURA 6c - Corte de fígado de rato albino (Wistar) tratado com chá da folha de Alpinia speciosa 1,5%, durante 30 dias, mostrando a veia Centro-lobular, ausência de fenômenos mitóticos, além de regularidade de volumes nucleares. (H.E., ocular 6,3 x objetiva 16).

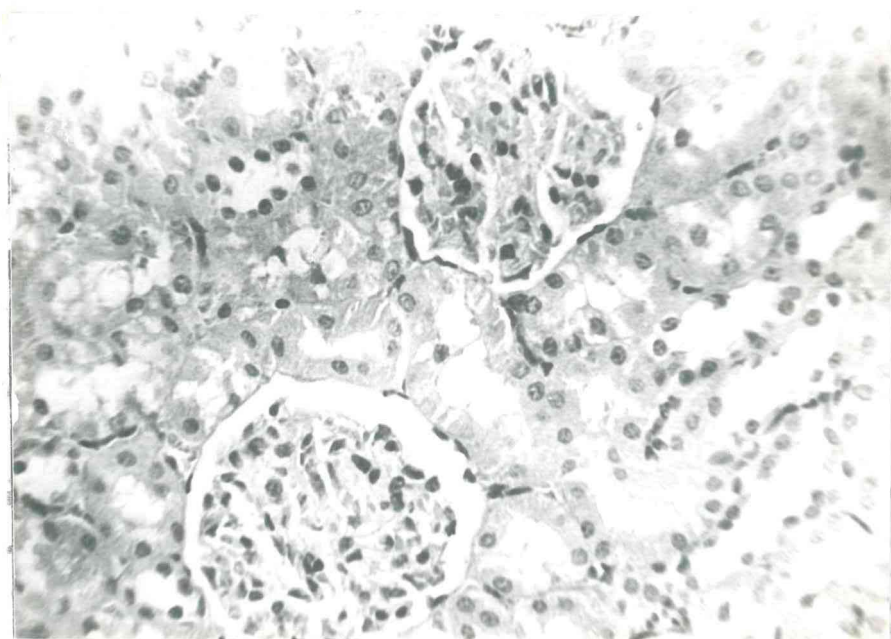


FIGURA 6d - Corte de rim de rato albino (Wistar) tratado com chá da folha de Alpinia speciosa 1,5% durante 30 dias, mostrando o glomérulo com seus lóbulos e os túbulos em sua volta (H.E.; Ocular 6,3 x objetiva 16).

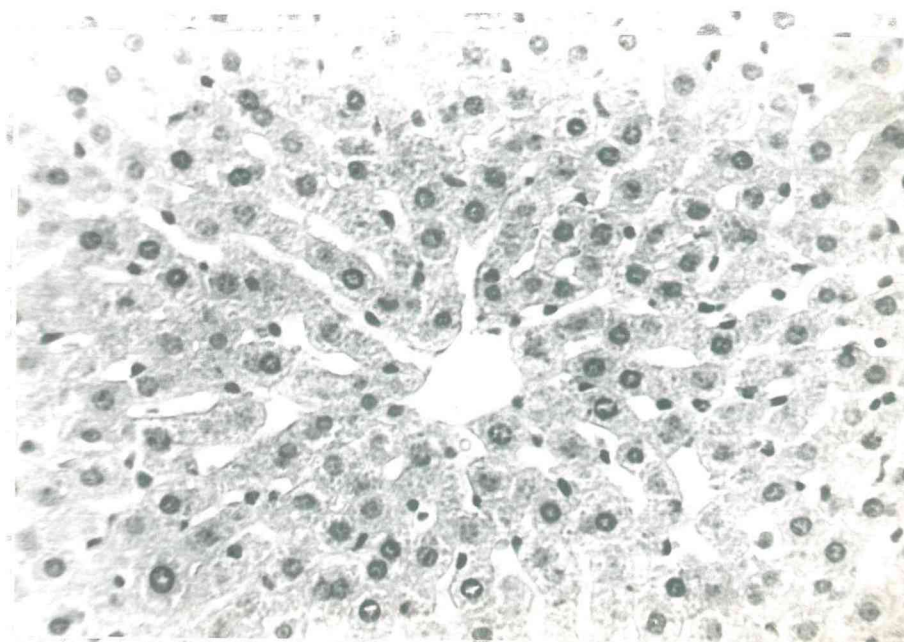


FIGURA 6e - Corte de fígado de rato albino (Wistar) tratado com extrato hidroalcoólico da folha de Alpinia speciosa 140 mg/ml durante 30 dias; mostrando a Veia Centro-lobular. Ausência de fenômenos mitóticos, além da regularidade de volumes nucleares. (H.E., ocular 6,3 x objetiva 16).

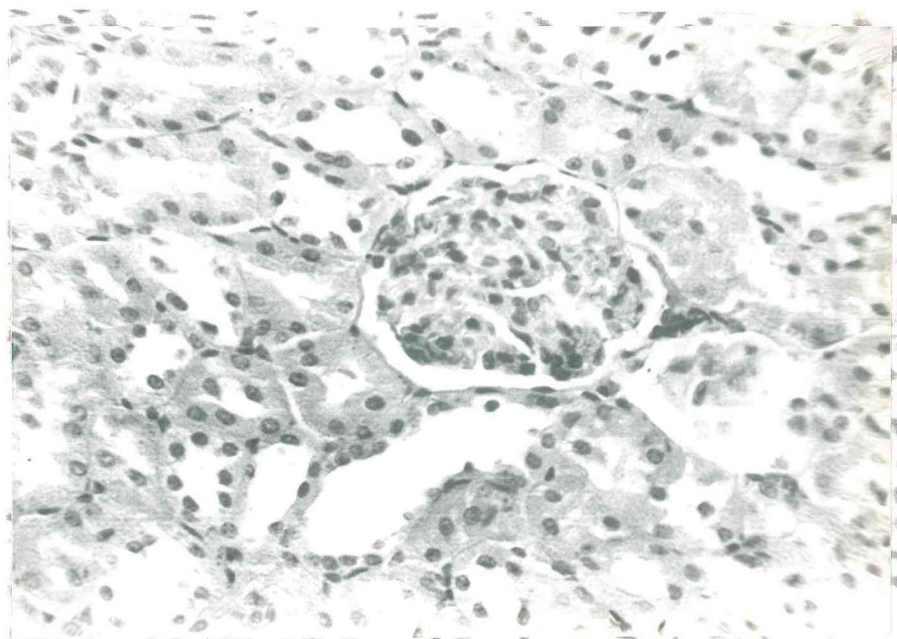


FIGURA 6f - Corte de rim de rato albino (Wistar) tratado com extrato hidroalcoólico da folha de Alpinia speciosa, 140 mg/ml, durante 30 dias, mostrando o detalhe da presença do glomérulo, seus lóbulos e os túbulos (H.E.; Ocular 6,3 x objetiva 16).

TABELA V - Leitura diferencial em % (células por campo)*

Células	ODA	ODEA	ODAB/EA	ODB	ODEA	OEB	OEAB	ODEA
	L _{A1}	L _{A5}	L _{A9}	L _{B2}	L _{B7}	L _{C4}	L _{C5}	L _{C7}
Eosinófilo	02	01	01	03	03	02	05	03
Bastonete	01	00	-	01	-	-	-	-
Segmentado	27	06	19	37	30	12	14	30
Linfócito	69	09	79	58	67	85	78	66
Monócito	01	03	01	01	-	01	03	01
Hemáceas	N-N	-	-	-	-	-	N-N	-
Plaquetas	-	-	-	-	-	-	*	*

Obs.: L_{B8} (ODEB) - Apresentou degeneração no rim esquerdo

* - Aparentemente normais

N-N - Não detectados

L_A, L_B e L_C (Lâminas que foram preparadas com sangue dos animais tratados com chá, extrato e água destilada respectivamente).

TABELA VI - Peso dos animais, durante o tratamento crônico, com chá e extrato de Alpinia speciosa, pesados em dias alternados, no período de 30 dias.

Grupo I * Controle/Água destilada (1,5 ml/kg/V.O)	$(\bar{X} \pm \text{E.P.M.})$ Dias			
	Pi (gramas)	$\bar{P}\bar{X}_{10}$ (gramas)	$\bar{P}\bar{X}_{20}$ (gramas)	$\bar{P}\bar{X}_{30}$ (gramas)
ODA	185,0	190,8 \pm 1,6	197,3 \pm 1,05	202,2 \pm 0,36
ODB	185,0	184,4 \pm 1,09	187,0 \pm 1,22	186,2 \pm 0,79
OEA	183,0	185,0 \pm 0,84	195,2 \pm 1,16	196,6 \pm 0,38
OEB	188,0	187,2 \pm 1,10	192,0 \pm 1,02	198,0 \pm 0,83
ODEA	203,0	201,8 \pm 0,43	208,4 \pm 0,50	213,6 \pm 0,83
ODEB	195,0	196,8 \pm 1,4	191,0 \pm 1,58	189,8 \pm 1,18
ODAB	165,0	173,0 \pm 1,5	192,2 \pm 1,4	185,8 \pm 2,9
OEAB	192,0	194,2 \pm 0,54	185,6 \pm 3,1	190,6 \pm 1,73
ODEAB	168,0	171,8 \pm 1,03	190,6 \pm 3,53	201,2 \pm 0,92
SM	197,0	200,4 \pm 0,76	204,0 \pm 0,73	214,0 \pm 1,15

Pi - Peso inicial, no primeiro dia de tratamento (em gramas)

$\bar{P}\bar{X}_{10}$, $\bar{P}\bar{X}_{20}$ e $\bar{P}\bar{X}_{30}$ - Média de peso, nos 10 primeiros dias, entre 10 e 20 dias e entre 20 e 30 dias respectivamente.

* 80% dos animais aumentaram de peso

TABELA VI - continuação

Grupo II * Tratado com Chá (1,5 ml/kg/V.O)	$(\bar{X} \pm \text{E.P.M.})$ Dias			
	Pi (gramas)	$\bar{P}\bar{X}_{10}$ (gramas)	$\bar{P}\bar{X}_{20}$ (gramas)	$\bar{P}\bar{X}_{30}$ (gramas)
ODA	205,0	189,0 \pm 2,9	200,4 \pm 3,59	196,0 \pm 1,6
ODB	190,0	204,0 \pm 2,69	218,0 \pm 1,54	200,6 \pm 4,9
OEA	170,0	204,0 \pm 2,69	188,4 \pm 0,62	203,8 \pm 4,6
OEB	180,0	188,5 \pm 1,77	200,4 \pm 1,89	204,4 \pm 1,21
ODEA	183,0	193,2 \pm 1,09	203,2 \pm 1,09	203,2 \pm 0,64
ODEB	200,0	201,8 \pm 0,59	213,6 \pm 1,62	205,2 \pm 0,96
ODAB	190,0	181,0 \pm 1,81	185,6 \pm 0,50	202,2 \pm 5,4
OEAB	195,0	201,8 \pm 1,4	216,2 \pm 0,76	198,6 \pm 4,7
ODEAB	210,0	206,4 \pm 1,06	209,2 \pm 1,03	211,2 \pm 0,86
SM	168,0	167,0 \pm 3,39	177,8 \pm 3,0	181,8 \pm 1,6

* 80% dos animais ganharam peso

TABELA VI - continuação

Grupo III* Tratado com extrato (5 g/kg/V.O)	$(\bar{X} \pm \text{E.P.M.})$ Dias			
	Pi (gramas)	$P_{\bar{x}10}$ (gramas)	$P_{\bar{x}20}$ (gramas)	$P_{\bar{x}30}$ (gramas)
ODA	225,0	225,2 \pm 0,72	227,0 \pm 0,76	220,8 \pm 1,58
ODB	171,0	172,2 \pm 1,1	173,4 \pm 0,5	175,4 \pm 0,5
OEA	190,0	179,2 \pm 2,3	177,2 \pm 1,9	184,0 \pm 0,97
OEB	210,0	210,8 \pm 1,38	216,2 \pm 1,6	194,8 \pm 1,7
ODEA	175,0	173,6 \pm 1,3	178,8 \pm 1,44	177,6 \pm 1,5
ODEB				
ODAB	187,6	182,4 \pm 1,26	205,0 \pm 7,9	210,0 \pm 1,16
OEAB	212,0	212,6 \pm 1,93	196,8 \pm 0,80	198,4 \pm 5,83
ODEAB	189,0	190,0 \pm 1,29	192,2 \pm 1,66	186,2 \pm 0,43
SM	195,0	204,0 \pm 2,06	209,4 \pm 1,53	209,8 \pm 1,0

* 55,5% dos animais perderam peso

ODEB - Morreu durante administração da droga por via oral.

Os pesos estão expressos em média \pm erro padrão de média.

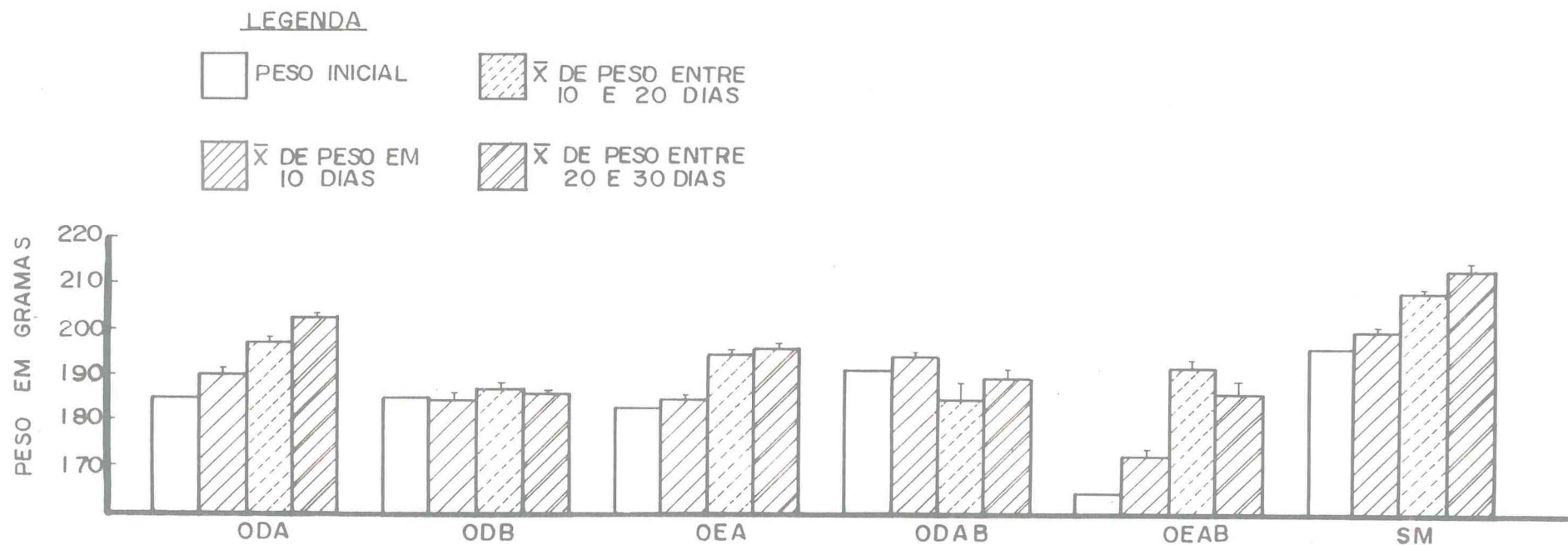


FIGURA 7a - Grupo controle tratado com água destilada (1,5ml/kg/V.O).

A ordenada representa o peso dos animais expresso em gramas, enquanto a abscissa a média de peso, nos 10 primeiros dias, entre 10 e 20 dias e entre 20 e 30 dias, de cada um dos animais escolhidos aleatoriamente (ODA, ODB, OEA, ODAB, OEAB e SM). Onde as siglas representam as marcas dos animais e cada letra significa: A=Âpice, B=Base, D=Direita, E=Esquerda e O=Orelha.

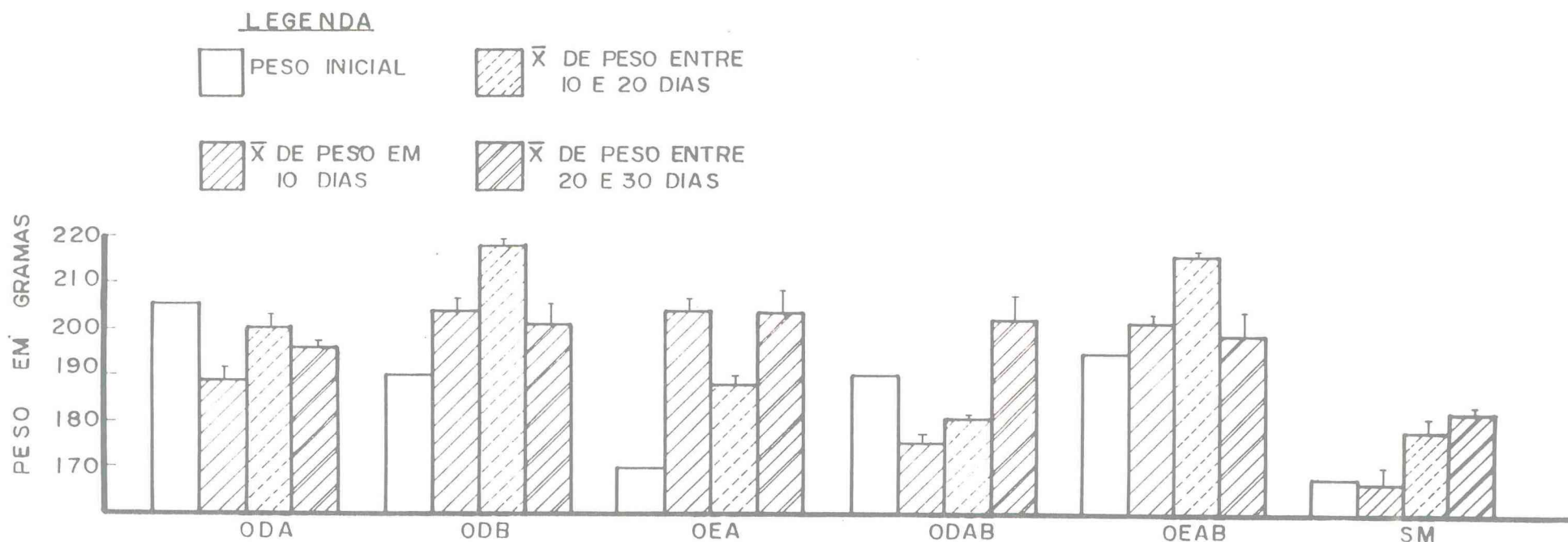


FIGURA 7b - Grupo tratado com chá de Colônia 1,5% (1,5ml/kg/V.O).

A Ordenada representa o peso dos animais expresso em gramas, enquanto a abcissa representa a média de peso nos 10 primeiros dias, entre 10 e 20 dias e entre 20 e 30 dias, de cada um dos animais que foram escolhidos aleatoriamente (ODA, ODB, OEA, ODAB, OEAB e SM). Onde as siglas representam as marcas dos animais e cada letra significa: A=Ápice, B=Base, D=Direita, E=Esquerda e O=Orelha.

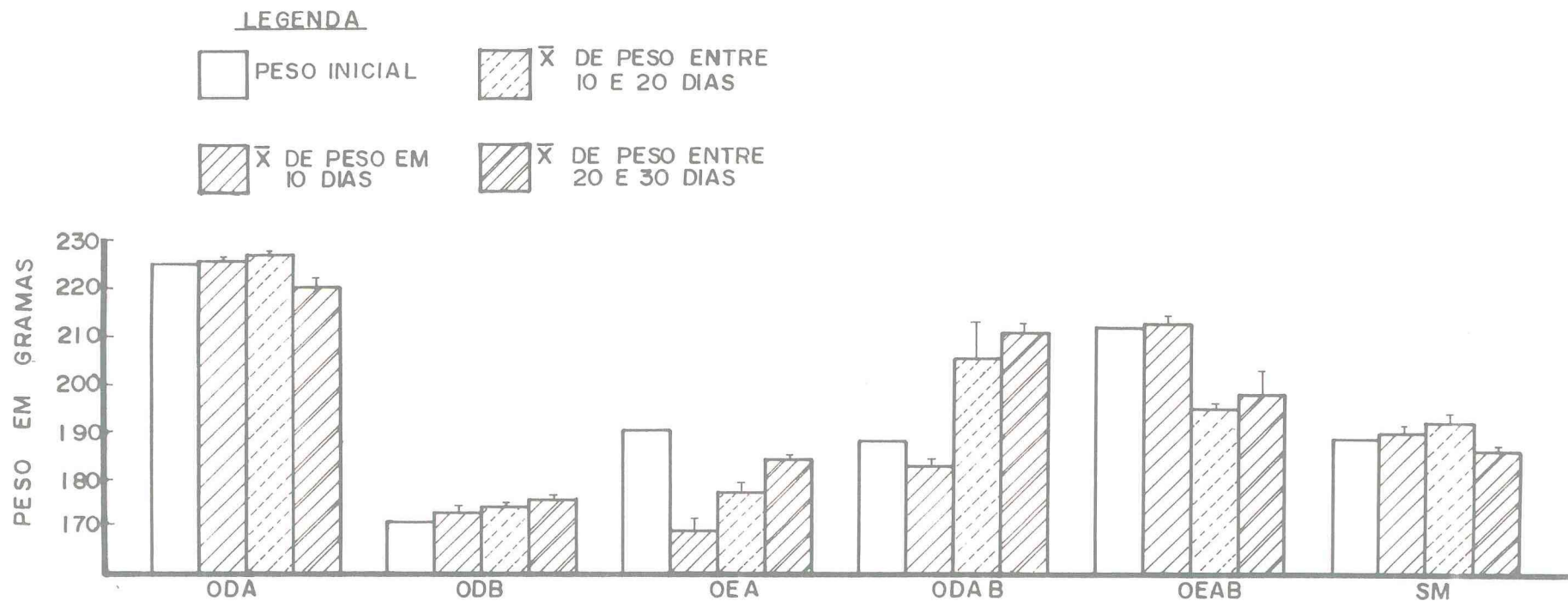


FIGURA 7c - Grupo tratado com extrato hidroalcoólico de Colônia (5g/kg/V.O.)

A Ordenada representa o peso dos animais expresso em gramas, enquanto a abscissa a média de peso nos 10 primeiros dias, entre 10 e 20 dias e entre 20 e 30 dias de cada um dos animais que foram escolhidos aleatoriamente (ODA, ODB, OEA, ODAB, OEAB e SM). Cujas siglas representam as marcas dos animais e cada letra significa: A=Âpice, B=Base, D=Direita, E=Esquerda e O=Orelha.

água destilada, ganharam peso durante o tratamento crônico e 2 (dois) perderam peso. Daqueles tratados com extrato, 1 (um) morreu durante a aplicação do extrato por via oral, 4 (quatro) aumentaram de peso e 5 (cinco) perderam peso, apresentando em termos de porcentagem um ganho de 80% para os dois primeiros grupos e perda de 55,5% para o terceiro grupo.

4.3.3 - Atividade do Tempo de Sono

O estudo do sleeping time em ratos demonstrou um prolongamento do tempo de sono induzido pelo extrato hidroalcoólico de colônia. Esses achados, encontram-se sumarizados na tabela VII e figura 8.

Os tempos de sono para os animais tratados com salina e tratados com extrato (500 mg/kg/V.O) e 1000 mg/kg/V.O) foram 133,6 min \pm 7,02; 185 min \pm 14,69 e 188,8 min \pm 15,06 respectivamente. Demonstrando diferença significativa indicando que o extrato apresentou um efeito depressor ou tranquilizante no SNC.

As doses respostas do extrato não mostraram diferença significativa entre si, levando a crer na não existência de uma relação dose resposta dependente, para a determinação do tempo de sono expresso em minutos.

Os grupos tratados com extrato não foram significativos quando comparados ao grupo controle, tratado com clorpromazina 5 mg/kg por via oral.

TABELA VII - Avaliação dos efeitos do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa e Clorpromazina na determinação do tempo de sono induzido por pentabarbital em ratos.

Controle		Extrato (mg/kg/V.O)	
Salina	Clorpromazina (5 mg/kg/V.O)	500	1000
133,6 min \pm 7,02	170,3 min \pm 12,33*	185,0 min \pm 14,69*	188,8 min \pm 15,06*

Os resultados estão expressos em média \pm E.P.M.

* P < 0,05 (significativamente diferente do grupo controle com a salina)

NS - não significativo (comparado ao controle com clorpromazina)

Para cada grupo foram usados 6 animais

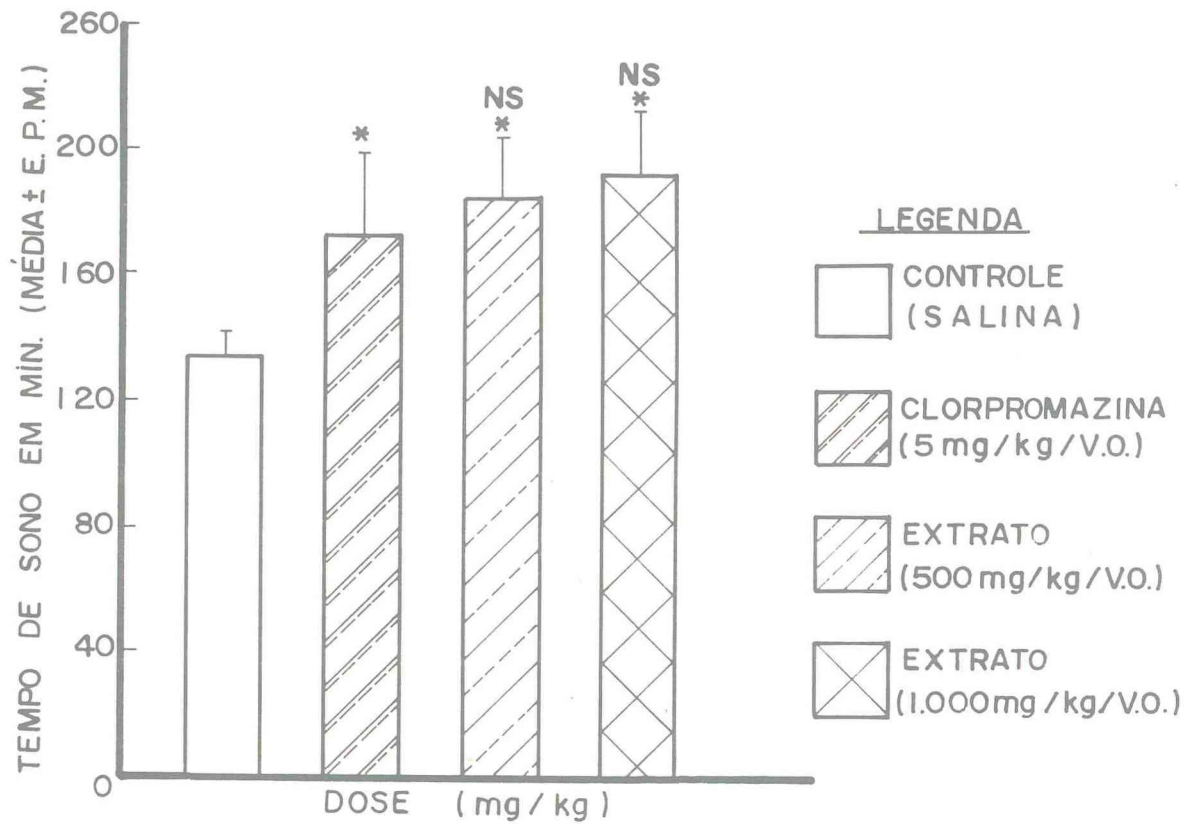


FIGURA 8 - Efeito do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum e clorpromazina em teste de tempo de sono induzido por pentobarbital em ratos. Houve diferença significativa do extrato em relação ao grupo controle com salina a nível de 5% e em relação a clorpromazina não foi significativo. Os valores são expressos como média \pm E.P.M. obtidos de 6 animais.

* $P < 0,05$

** NS - (Não Significativo)

4.3.4 - Pressão Arterial Carotidiana em Ratos

Ratos anestesiados com uretana 1,5 g/kg de peso, tratados com extrato hidroalcoólico (10 a 40 mg/kg) intraperitonealmente, demonstraram potentes efeitos hipotensores, com doses que variaram de 10 a 30 mg/kg sendo mantida a relação dose efeito, conforme poderá ser visto na tabela VIII e figuras 9, 10 e 11.

Acima da dose máxima de 30 mg/kg verificou-se que a queda pressórica é máxima e que doses acima de 35 mg/kg podem induzir toxicidade e morte do animal.

A recuperação da primeira dose ocorreu aproximadamente aos 6 minutos, enquanto para a segunda e terceira doses, ocorreram respectivamente com mais de 30 e 60 minutos.

Os resultados apresentaram uma percentagem hipotensora de 19,76; 33,44 e 42,13% para as três doses sucessivamente, conforme pode ser visto na tabela IX.

O efeito hipotensor não foi alterado por bloqueadores específicos como atropina (1 mg/kg) e propranolol (2 mg/kg).

TABELA VIII - Efeito do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa na pressão arterial de rato - anestesiado com uretana 1,5 g/kg.

Média ¹ da pressão arterial em mm Hg \pm E.P.M.			
Controle	Dose do extrato hidroalcoólico		
	10 mg/kg	20 mg/kg	30 mg/kg
97,5 \pm 4,3	79,85 \pm 1,57*	66,5 \pm 3,65*	57,76 \pm 4,07*

1 - Valor médio de 5 experimentos

Estatística - Teste "t" de Student

* P < 0,01

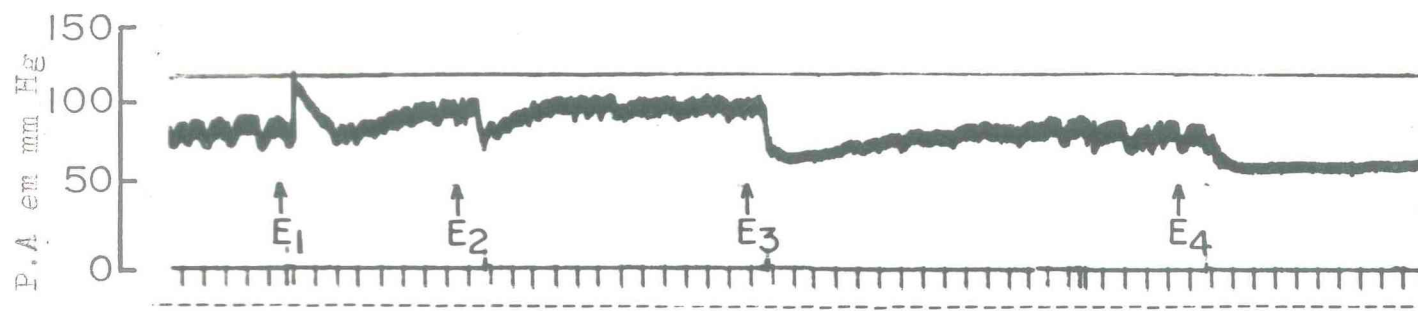


FIGURA 9 - Efeitos do Extrato Hidroalcoólico da Alpinia speciosa na Pressão Arterial de Rato.

E₁ - Noradrenalina ($5,9 \times 10^{-5}$ M)

E₂ - Extrato (10 mg/kg)

E₃ - Extrato (20 mg/kg)

E₄ - Extrato (30 mg/kg)

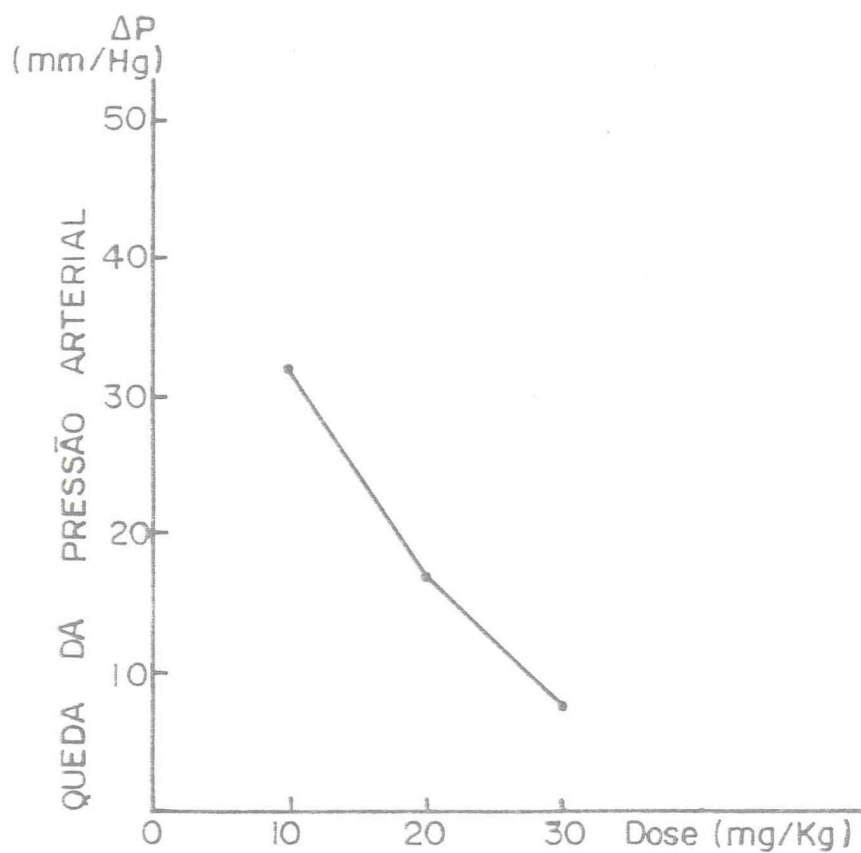


FIGURA 10 - Efeitos do extrato hidroalcoólico de *Alpinia speciosa* ou *nutans* na pressão arterial de rato. A Ordenada representa a variação ΔP em (mm/Hg) da queda da pressão arterial e a Abcissa a dose em mg/kg.

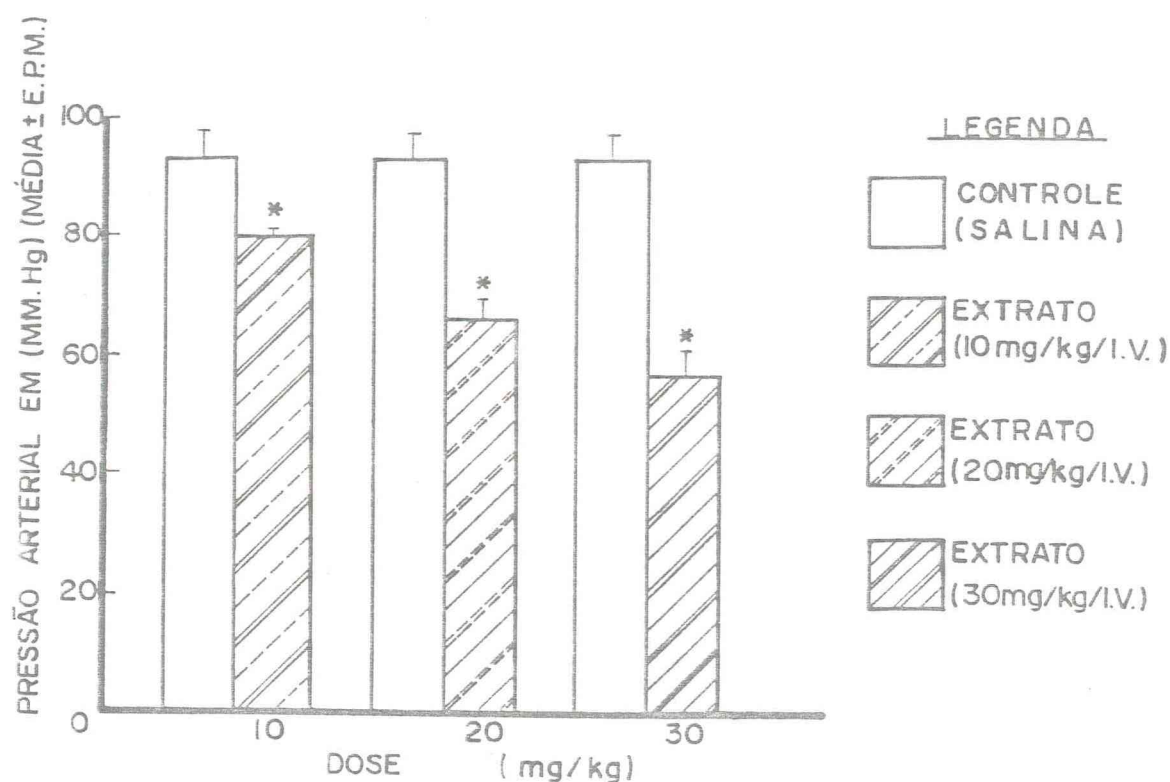


FIGURA 11 - Ação do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa na pressão arterial de rato. Expressa (média \pm E.P.M.) da queda da pressão arterial em mm.Hg. A pressão arterial caiu significativamente obedecendo uma relação dose dependente do extrato que variou de 10 a 30 mg/kg de peso administrados por via intravenosa; chegando a atingir uma queda de 42,13% de mm.Hg.

TABELA IX - Ação do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa na pressão arterial de rato, expressa em percentagem de queda da pressão arterial média.

Dose (mg/kg)		
10	20	30
19,76 \pm 1,28	33,44 \pm 3,25	42,12 \pm 3,54

A dose expressa o peso seco do extrato hidroalcoólico

Os resultados estão expressos em média \pm E.P.M.

4.3.5 - Pressão Arterial de Cão

O extrato hidroalcoólico da folha de colônia 20mg/kg de peso, em experimentos sobre a pressão arterial de cão, administrados por via intravenosa, induziu um efeito hipotensor rápido e sustentado, que surgia alguns minutos após a administração da droga (tabela X), apresentando uma percentagem hipotensora de 41,0% em relação ao controle.

O extrato hidroalcoólico da folha em comparação com o extrato hidroalcoólico do rizoma 4 mg/kg de peso demonstra claramente uma maior potência do rizoma em relação à folha (figura 12a e 12b). O efeito hipotensor induzido pelo extrato do rizoma, foi mais lento e demorado que o induzido pelo extrato da folha; conforme se vê na figura anterior.

4.3.6 - Atividade Diurética do Chá da Folha da Alpinia speciosa Schum.

Na tabela XI, e figuras 13 (a, b e c); demonstra-se os efeitos do chá da Alpinia a 1,5% administrados a um volume constante de 1,5 ml/kg de peso de rato por via oral. Os efeitos do chá nesses animais são muito pequenos.

Os resultados não foram significativos quando comparados ao controle, as medidas de volume urinário (U_V), $U_{Na}V$ (sódio do volume urinário) e U_KV (potássio do volume urinário) respectivamente, medidos em 4 horas e expresso em miliequivalente por kg^{-1} .

TABELA X - Efeito do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa Schum, na pressão arterial de cães anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/kg) por via intravenosa.

Média ¹ da Pressão Arterial em mm Hg \pm E.P.M.

Controle	Extrato 20 mg/kg
127,5 \pm 2,88	52,38 \pm 3,85 *

1 - Valor médio de 5 experimentos

Estatística - Teste "t" de Student

* P < 0,01

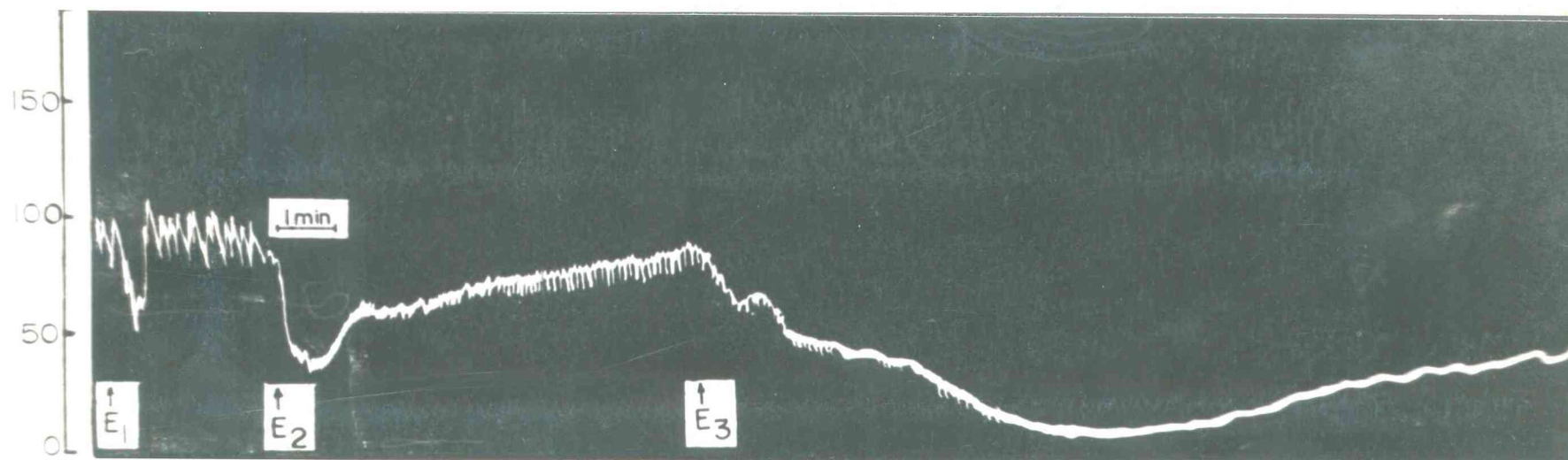


FIGURA 12a - Efeitos do Extrato Hidroalcoólico da Folha e do Rizoma da Alpinia speciosa na Pressão Arterial do Cão.

- E₁ - Acetilcolina ($5,5 \times 10^{-5}$)
 E₂ - Extrato Hidroalcoólico da Folha de Alpinia speciosa (20 mg/kg)
 E₃ - Extrato Hidroalcoólico do Rizoma de Alpinia speciosa (4 mg/kg)

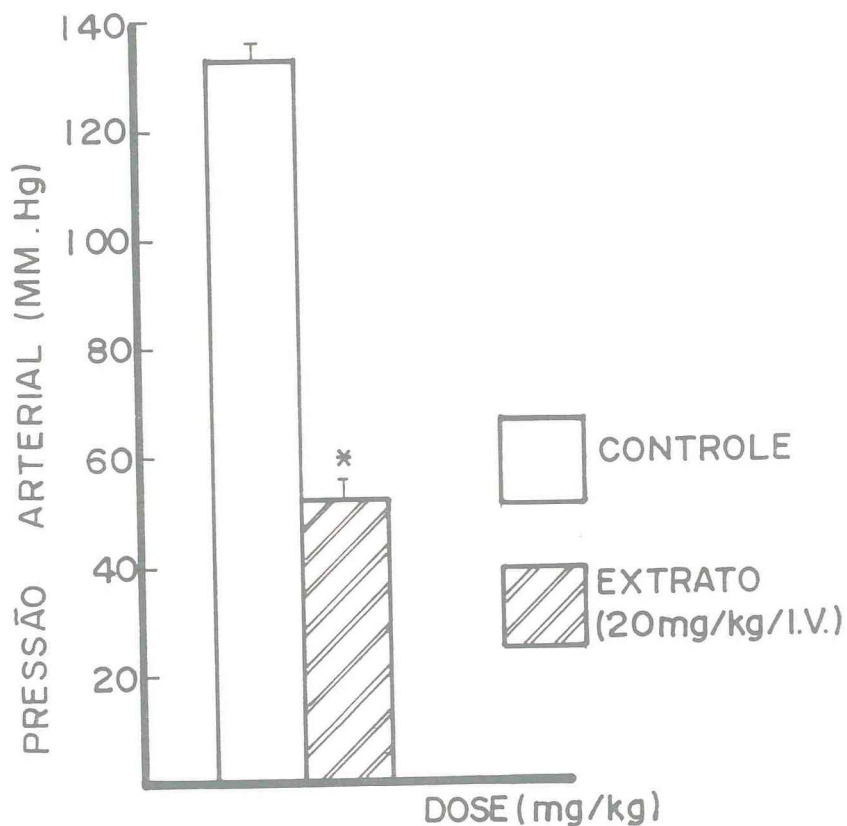


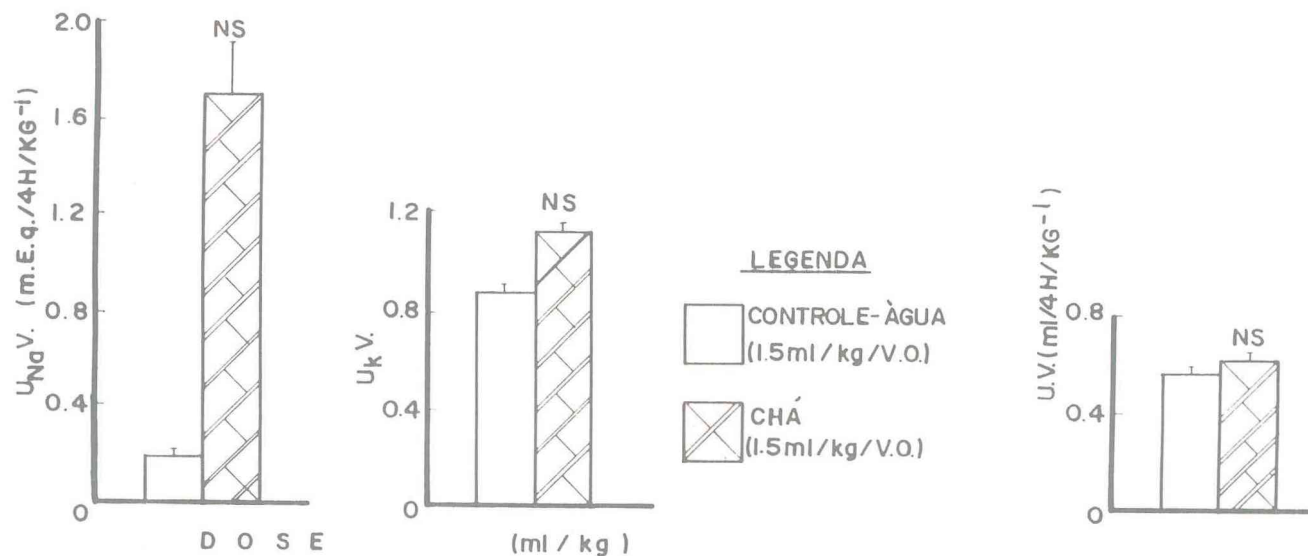
FIGURA 12b - Efeito do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa na pressão arterial de cão. A pressão arterial está expressa em mm.Hg na Ordenada. A AbcÍssia expressa a dose em mg/kg. O extrato induziu um efeito hipotensor, de 41,0% em relação ao controle.

TABELA XI - Avaliação do efeito diurético do chá da folha da Alpinia speciosa em ratos, e medi-
da de Sódio (Na⁺) e Potássio (K⁺) urinário.

Parâmetros Renais	Controle	Chá
UV (ml/4H/kg ⁻¹)	13,9 ± 0,47	15,4 ± 0,57 NS
U _{Na} V (mEq /4H/kg ⁻¹)	0,2 ± 0,02	1,7 ± 0,24 NS
U _K V (mEq/4H/kg ⁻¹)	0,88 ± 0,08	1,15 ± 0,07 NS

Os resultados estão expressos em média ± E.P.M.

NS = não significativo



FIGURAS 13 (a, b e c) - Avaliação dos efeitos diuréticos do chá da folha da *Alpinia speciosa*. A ordenada representa o volume urinário, a medida de sódio e a medida de potássio do volume urinário, obtido em 4 horas em mEq/kg^{-1} . A Abcísia representa a dosagem de chá em ml/kg administrado por via oral. NS - não significativo (em relação ao grupo controle tratado com água destilada).

4.3.7 - Atividade Diurética do Extrato Hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum.

A avaliação dos efeitos diuréticos do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa 250, 500 e 1000 mg/kg de peso de ratos, administrados por via oral, está demonstrado na tabela XII e figuras 14, 15 e 16.

Houve uma inibição do volume urinário obtido em 5 horas, que foi significativamente diferente dos grupos controle tratados com água destilada (1,5 mg/kg) e hidroclorotiazida (10 mg/kg). Parece todavia claro que o extrato apresentou até mesmo um efeito antidiurético. O estudo dos eletrólitos contidos no volume urinário obtido dos animais tratados com o extrato hidroalcoólico, demonstrou grande conteúdo de potássio comparado ao grupo controle tratado com água destilada. Por outro lado o extrato apresenta uma relativa quantidade de eletrólitos; 132 mEq de potássio e 51 mEq de sódio, o que de certo modo prejudicou a observação dos efeitos fisiológicos.

TABELA XII - Avaliação do efeito diurético do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa em ratos, e medida dos eletrólitos Sódio (Na⁺) e Potássio (K⁺) urinário.

Parâmetros Renais	Controle		Extrato (mg/kg)		
	H ₂ O	Hidroclorotiazida 10 mg/ml	250	500	1000
$\frac{U_V}{5H} / kg^{-1}$	14,09 ± 1,17	30,66 ± 2,05	10,43 ± 1,24	10,67 ± 0,99	13,19 ± 0,49
$\frac{U_{Na}}{5H} / kg^{-1}$	0,389 ± 0,075	1,010 ± 0,28	0,321 ± 0,11	0,400 ± 0,03	0,206 ± 0,03
$\frac{U_K}{5H} / kg^{-1}$	0,678 ± 0,09	2,740 ± 0,28	1,24 ± 0,16**	0,950 ± 0,08**	1,380 ± 0,08*
U_{pH}	5,5 ± 0,15	4,52 ± 0,05	6,92 ± 0,10**	5,10 ± 0,09	6,70 ± 0,07

n = 10 animais por grupo

* P < 0,01

** P < 0,05

Os resultados estão expressos em (MÉDIA ± E.P.M.)

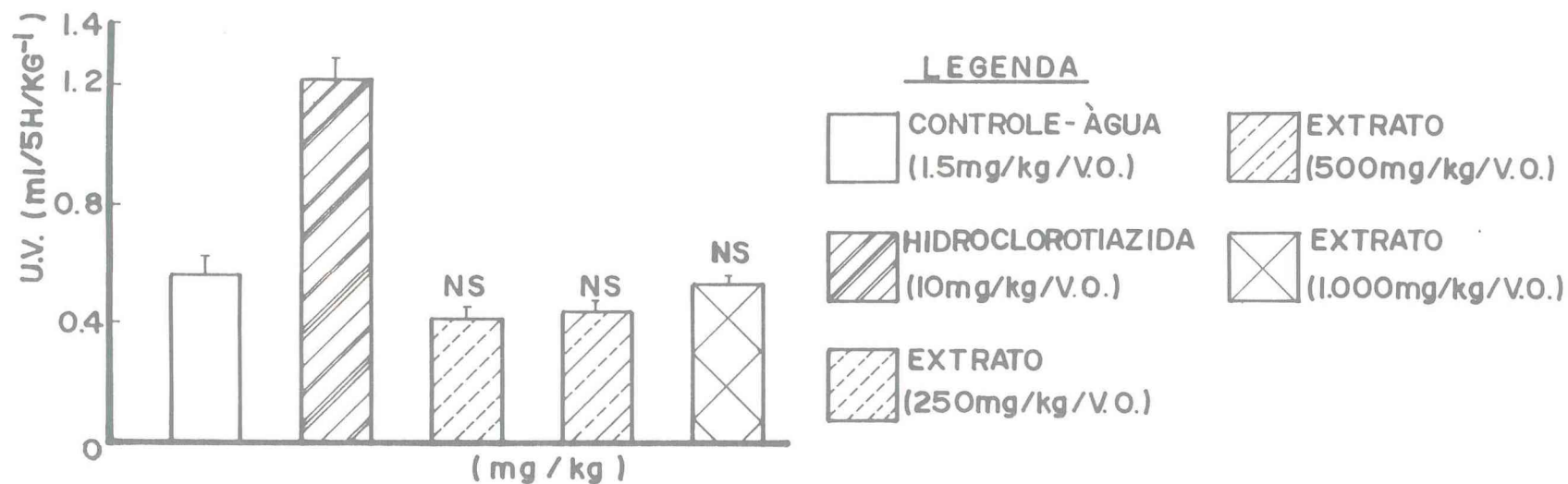


FIGURA 14 - Avaliação do efeito diurético do extrato hidroalcoólico da folha da Alpinia speciosa. A ordenada representa o volume urinário medido durante 5 horas em ml/kg⁻¹. A abcíxxia representa as dosagens do extrato em mg/kg administrados por via oral.

NS - não significativo (relação aos controles tratados com água destilada 1,5 ml/kg e hidroclorotiazida 10 mg/kg por via oral).

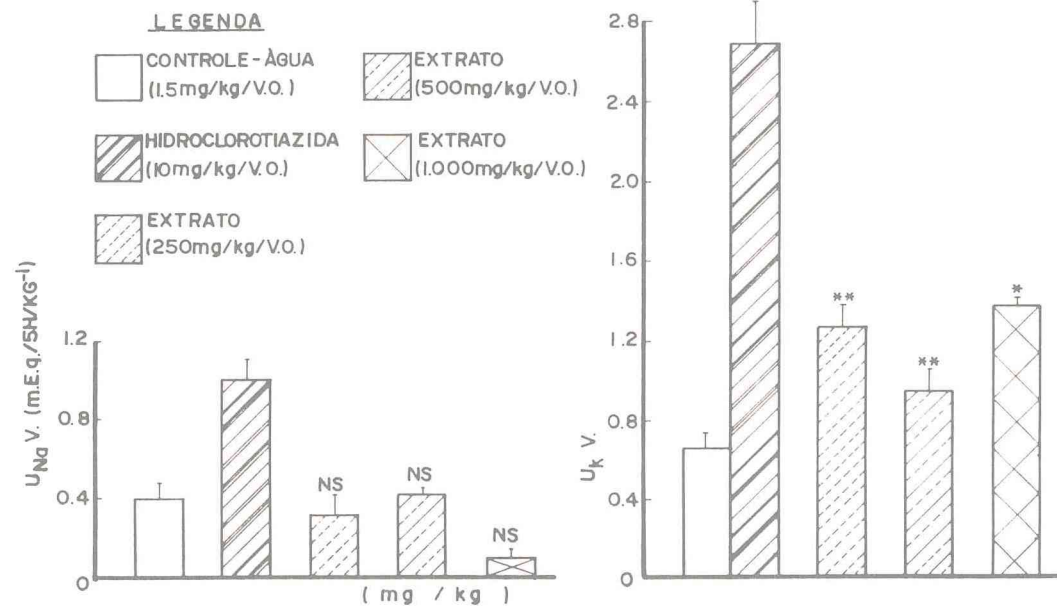


FIGURA 15 e 16 - Avaliação do efeito diurético do extrato hidroalcoólico da folha de Alpinia speciosa. A ordenada representa a medida de sódio e potássio do volume urinário obtido em 5 hs em mEq/kg⁻¹. A abcíssia representa as dosagens do extrato em mg/kg por via oral.

NS - não significativo (comparado aos grupos controle tratados com água destilada da 1,5 mg/kg e hidroclorotiazida 10 mg/kg por via oral.

* P < 0,01

** P < 0,05

4.4 - Experimentos "In Vivo"

4.4.1 - Átrio Isolado de Rato

Em preparações de átrio isolado de rato, a planta tem um efeito bem claro, que está sumarizado na tabela XIII e figura 17. Na presença de 0,8 mg e 1,0 mg/ml do extrato hidroalcoólico, a frequência dos batimentos do átrio, montado sem distinção dos seguimentos direito e esquerdo foi reduzida de 300 para 240 batimentos por minutos, enquanto o efeito inotrópico (amplitude) foi reduzido de 0,16 para 0,055 gramas.

Com doses cumulativas do extrato que atingiram 1,5 mg/ml a preparação mostrou toxicidade após 1 minuto, paralisando todas as contrações que, entretanto mostraram-se reversíveis após lavagens sucessivas do tecido.

4.4.2 - Coração Isolado de Sapo

Em preparações de coração isolado de anfíbio, o extrato hidroalcoólico em doses de 0,1; 0,2 e 0,4 mg/ml, demonstraram poucas alterações no ritmo conforme poderá ser visto na figura 18. A medida que a dose do extrato aumentava, havia uma diminuição no ritmo dos batimentos cardíacos (efeito cronotrópico) e da amplitude (efeito inotrópico).

TABELA XIII - Avaliação dos efeitos do extrato hidroalcoólico de Alpinia speciosa em átrio isolado de rato.

Período	Controle		Extrato	
	Bat/min	Inot/(g)	Bat/min	Inot/(g)
Equilíbrio	288,00 ± 8,66	0,136 ± 0,061	282,86 ± 5,12	0,11 ± 0,05
Estabilização	285,13 ± 9,10	0,119 ± 0,16	224,27 ± 24,77*	0,10 ± 0,03

Os resultados estão expressos em média ± E.P.M.

* P < 0,05

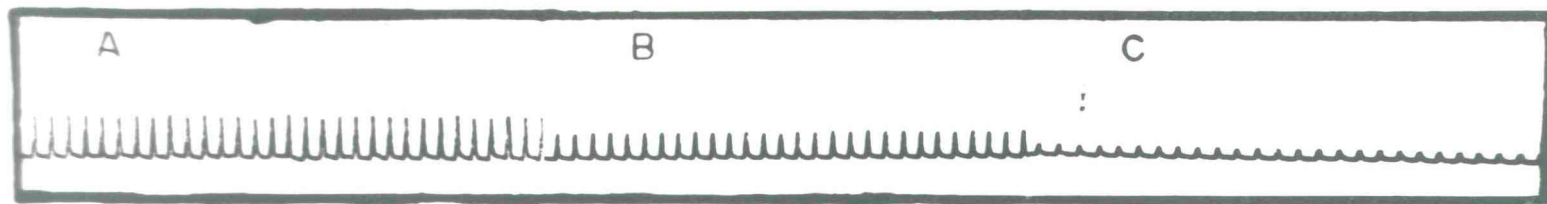


FIGURA 17 - Efeitos do Extrato Hidroalcoólico de Alpinia speciosa em Átrio Isolado de Rato

Frequência

Inotropismo

Bat/min

G

A - 300

0,166 (Controle)

B - 280

0,11 (Extrato 800 µG/ml)

C - 240

0,055 (Extrato 1000 µG/ml)

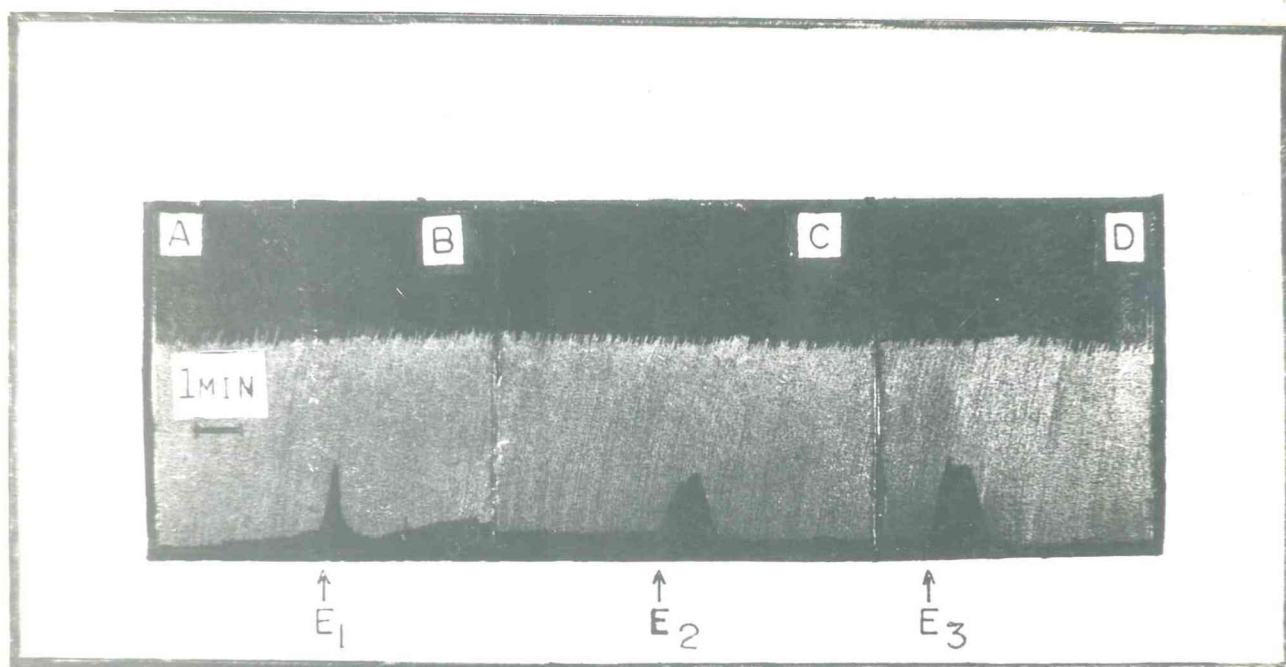


FIGURA 18 - Efeitos do Extrato Hidroalcoólico da Alpinia speciosa em Coração Isolado de Anfíbio

E ₁ - Extrato (0,1 mg/ml)	A - 18 Bat/min
E ₂ - Extrato (0,2 mg/ml)	(Controle)
E ₃ - Extrato (0,4 mg/ml)	B - 18 Bat/min
	C - 15 Bat/min
	D - 12 Bat/min

4.4.3 - Íleo de Cobaia

A preparação do extrato da planta (0,1 a 0,5 mg/ml) apresentou efeito inibitório concentração dependente, sobre íleo isolado de cobaia em relação as contrações induzidas por acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6}M$), serotonina ($5,6 \times 10^{-7}M$) e bradicinina ($9,4 \times 10^{-8}M$), Figuras (19, 20 e 21). Em concentrações similares, as respostas contráteis induzidas por histamina ($8,9 \times 10^{-7}M$), foram ligeiramente potenciadas nas doses 0,1 e 0,2 mg/ml e inibida na dose de 0,5 mg/ml, (figura 19).

As respostas provocadas pela droga na presença do extrato, incubado durante 5 minutos, eram totalmente reversíveis em cerca de 40 a 60 min., após sucessivas lavagens do tecido. As mesmas concentrações "per se" não produziram qualquer contração no íleo isolado.

A diminuição da amplitude das contrações das respostas induzidas por acetilcolina, serotonina e bradicinina de forma significativa para níveis de ($p < 0,01$) foi observado com extrato nas concentrações de 0,2 e 0,5 mg/ml. Todavia, a amplitude das concentrações da resposta provocada pela histamina, demonstrou ser significativa ($p < 0,01$) somente com a concentração do extrato de 0,5 mg/ml, conforme poderá ser visto na tabela XIV. A tabela XV demonstra as percentagens das respostas induzidas pelas drogas supra citadas após a incubação do extrato.

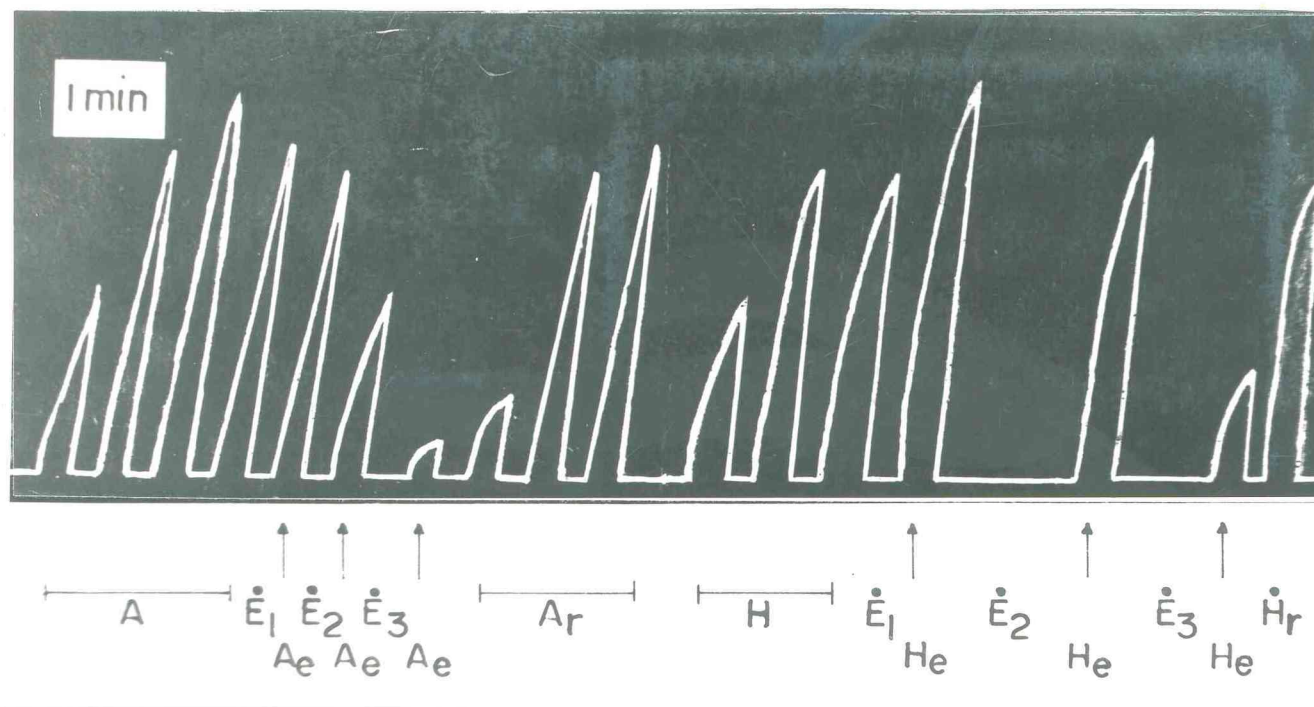


FIGURA 19 - Efeito do extrato Hidroalcoólico de *Alpinia speciosa* Schum em contrações provocadas por Acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6}M$) e Histamina ($8,9 \times 10^{-7}M$) em íleo isolado de cobaia.

A, H - Acetilcolina e Histamina na ausência do extrato.

E₁ - Extrato (0,1 mg/ml) A_e, H_e - Acetilcolina e Histamina na presença do extrato
 E₂ - Extrato (0,2 mg/ml)

E₃ - Extrato (0,5 mg/ml) A_r, H_r - Acetilcolina (20, 40 e 60 min.) e, Histamina (40 e 60 min.) após retirada do extrato.

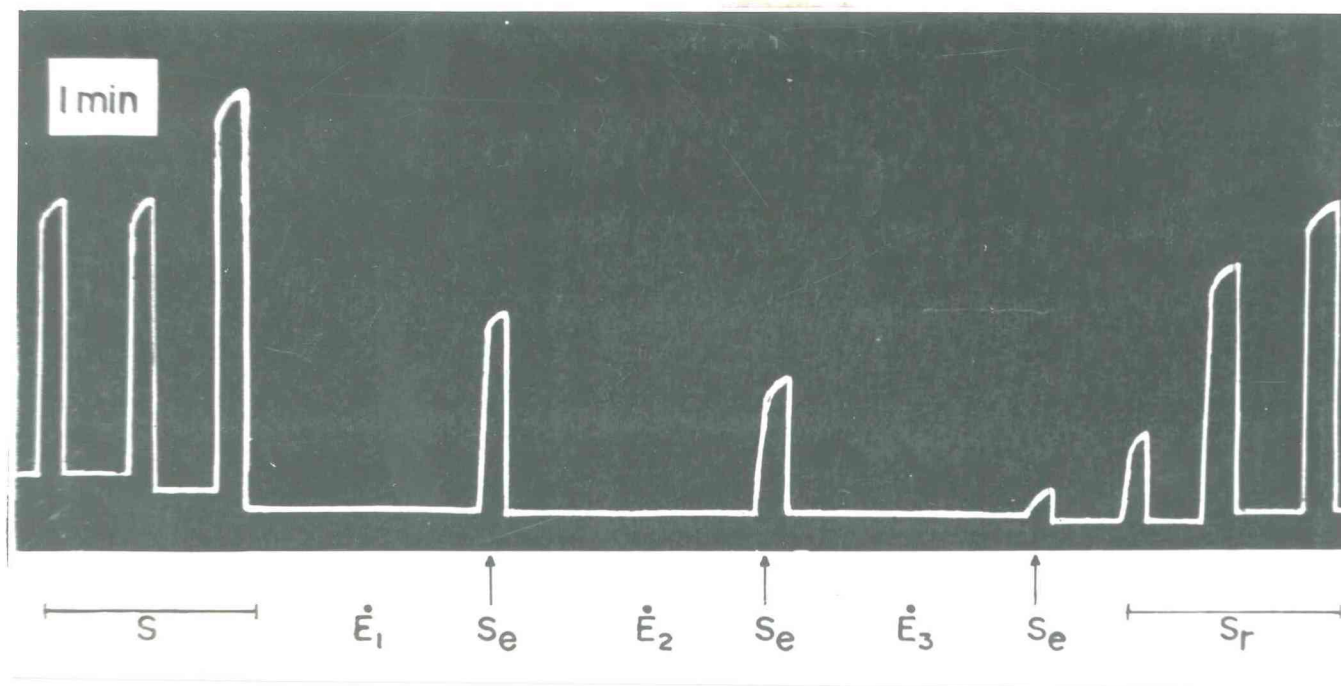


FIGURA 20 - Efeito do extrato Hidroalcoólico de *Alpinia speciosa* Schum em contrações induzidas por Serotonina (5Ht) - ($5,6 \times 10^{-7}$ M) em íleo isolado de cobaia.

S - Serotonina na ausência do extrato.

E₁ - Extrato (0,1 mg/ml)

E₂ - Extrato (0,2 mg/ml)

E₃ - Extrato (0,5 mg/ml)

S_e - Serotonina na presença do extrato.

S_r - Serotonina (20, 40 e 60 min. após retirada do extrato do banho.

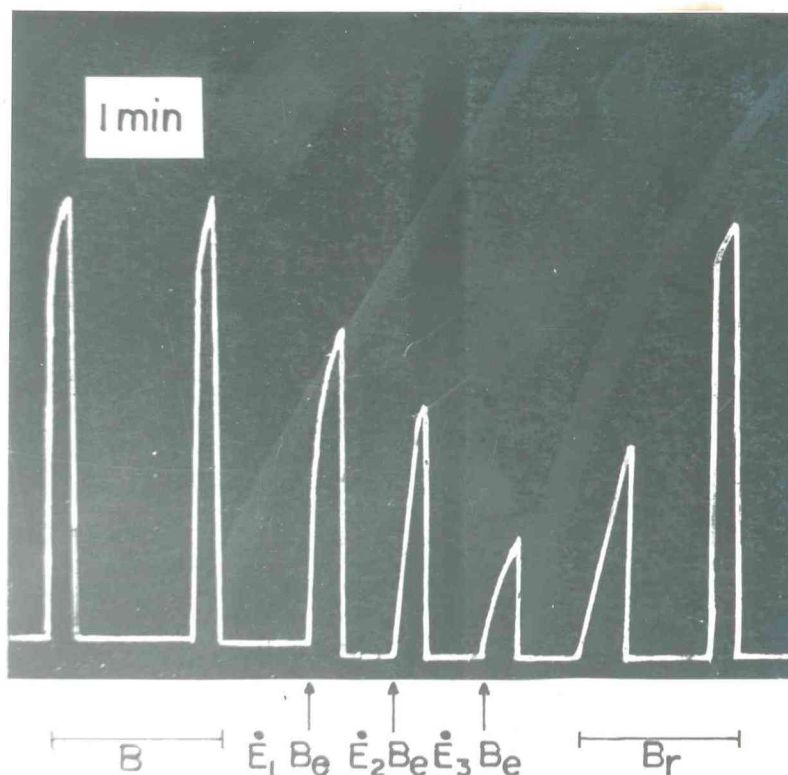


FIGURA 21 - Efeito do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa em contrações provocadas por Bradicininina ($9,4 \times 10^{-8} M$) em íleo isolado de cobaia.

B - Bradicininina na ausência de extrato

E₁ - Extrato (0,1 mg/ml)

E₂ - Extrato (0,2 mg/ml)

E₃ - Extrato (0,5 mg/ml)

B_e - Bradicininina na presença do extrato

B_r - Bradicininina, após 20 e 40 min. respectivamente da retirada do extrato do banho.

TABELA XIV - Efeito do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum em contrações induzidas por Acetilcolina, Histamina, Serotonina e Bradicinina em íleo isolado de cobaia.

		Média ¹ da amplitude das contrações em (cm) ± E.P.M.			
Droga	Dose	Concentrações do extrato no líquido do banho			
		Controle	0,1 mg/ml	0,2 mg/ml	0,5 mg/ml
Acetilcolina	$5,5 \times 10^{-6}$	3,85 ± 0,53	3,06 ± 0,52 ^{NS}	1,32 ± 0,36*	0,26 ± 0,09*
Histamina	$9,0 \times 10^{-7}$	3,96 ± 0,45	4,86 ± 0,54 ^{NS}	4,28 ± 0,51 ^{NS}	1,81 ± 0,46*
Serotonina	$5,6 \times 10^{-7}$	3,32 ± 0,49	2,36 ± 0,27 ^{NS}	1,6 ± 0,36*	1,03 ± 0,47*
Bradicinina	$9,4 \times 10^{-8}$	4,38 ± 0,63	3,48 ± 0,60 ^{NS}	2,2 ± 0,40*	0,81 ± 0,13*

1 - Valor médio de 6 experimentos

Estatística - Teste "t" Student

* p < 0,01

TABELA XV - Resposta do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum expresso em percentagem do efeito máximo, em contrações induzidas por acetilcolina, histamina, serotonina e bradicinina em íleo isolado de cobaia.

Droga	Concentração do banho (M)	($\bar{x} \pm$ E.P.M.)			
		Antes da incubação com o extrato	Após a incubação com o extrato		
			0,1 mg/ml	0,2 mg/ml	0,5 mg/ml
Acetilcolina	$5,5 \times 10^{-6}$	100,0 \pm 0,00	31,7 \pm 9,8 ^{NS}	73,3 \pm 7,9*	93,6 \pm 2,2*
Histamina	$9,0 \times 10^{-7}$	100,0 \pm 0,00	22,2 \pm 2,5 ^{NS} (p)	7,5 \pm 3,5 ^{NS} (p)	52,65 \pm 11,6*
Serotonina	$5,6 \times 10^{-7}$	100,0 \pm 0,00	12,0 \pm 4,0 ^{NS}	42,3 \pm 7,5*	71,7 \pm 12,8*
Bradicinina	$9,4 \times 10^{-8}$	100,0 \pm 0,00	21,7 \pm 4,1 ^{NS}	47,7 \pm 8,1*	79,54 \pm 3,6*

* p < 0,01

Estatística - Teste "t" Student

(p) - Percentagem de potenciação

NS - não significativo

4.4.4 - Duodeno de Coelho

O extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa produz um relaxamento no músculo liso do duodeno de coelho com doses dependentes do extrato (0,1 a 0,5 mg/ml) (tabela XVI).

As contrações produzidas por acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6}$ M), foram inibidas em 40,3% quando incubadas com a dose média de 0,3 mg/ml do extrato durante 5 minutos. Ambas respostas podem ser observadas na figura 22 e tabela XVII.

Por outro lado o isoproterenol, não produziu qualquer resposta quando incubado com extrato conforme pode ser visto na figura 23.

TABELA XVI - Efeito da curva dose resposta do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum em duodeno de coelho.

Média da amplitude das contrações (mm) \pm E.P.M.

Concentrações do extrato no líquido do banho

0,1 mg/ml	0,2 mg/ml	0,3 mg/ml	0,5 mg/ml
9,66 \pm 0,85	15,33 \pm 1,07	24,33 \pm 1,35	27,0 \pm 1,45

Estatística - Teste "t" Student.

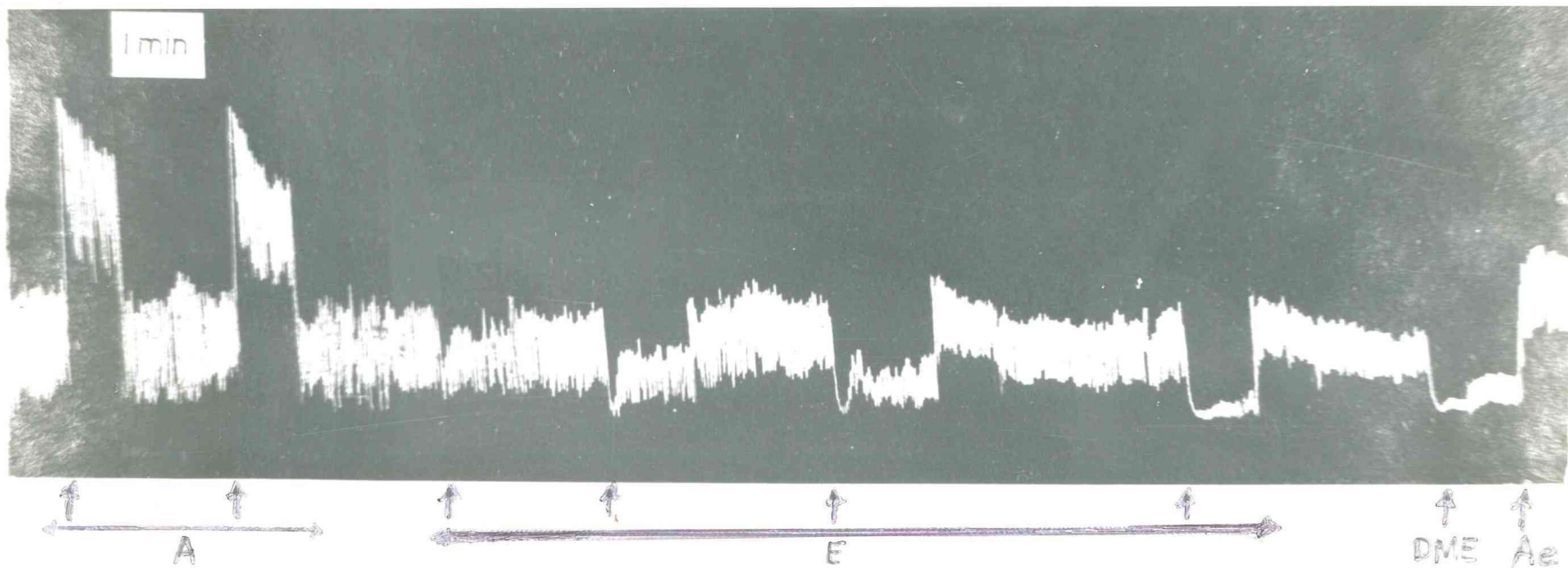


FIGURA 22 - Curva dose resposta do extrato de *Alpinia speciosa* Schum e efeito das contrações provocadas por Acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6} M$) em duodeno de coelho.

A - Acetilcolina na ausência de extrato.

E - Extrato (0,1; 0,2; 0,3; e 0,5 mg/ml).

DME - Dose média do extrato (0,3 mg/ml).

A_e - Acetilcolina na presença do extrato.

TABELA XVII - Resposta do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum expresso em porcentagem em contrações induzidas por acetilcolina em duodeno de coelho.

Droga	Concentração no banho (M)	Contração (%)	
		Antes da in- cubação	Após a incubação com o extrato 0,3 mg/ml
Acetilcolina	$5,5 \times 10^{-6} M$	$100,0 \pm 0,00$	$40,3 \pm 10,0^*$

Estatística - Teste "t" Student

* $p < 0,01$

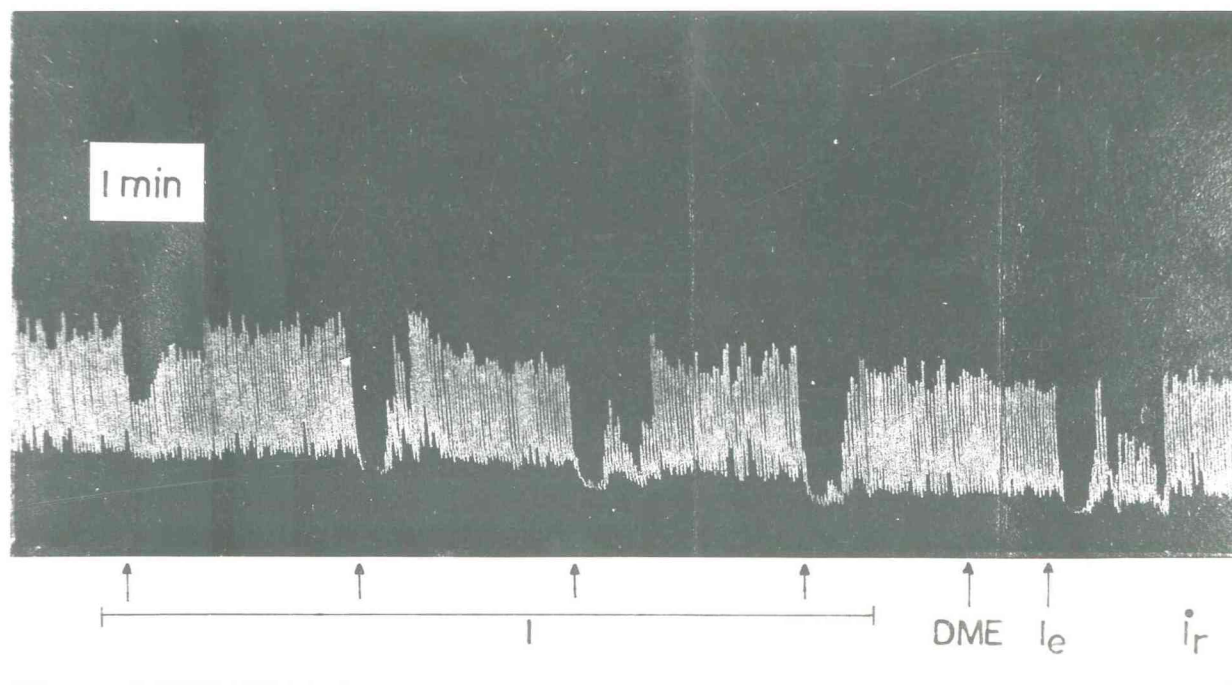


FIGURA 23 - Curva dose resposta do Isoproterenol e efeito do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum em resposta ao Isoproterenol ($4,7 \times 10^{-6} M$) em duodeno de coelho.

I - Isoproterenol na ausência do extrato em dose crescente.
(0,1;0,2;0,3;0,5 $\mu g/ml$).

DME - Dose média do extrato (0,3 mg/ml).

I_e - Isoproterenol (0,3 $\mu g/ml$) na presença do extrato (DME).

I_r - Isoproterenol 30 min. após retirada do extrato.

4.4.5 - Reto Abdominal de Sapo

O extrato hidroalcoólico em doses variáveis de 0,1; 0,5 e 1,0 mg/ml, nessa preparação, modificou muito pouco as respostas contráteis para acetilcolina $5,5 \times 10^{-5}M$ como mostrado na figura 24 e tabela XVIII, onde o extrato potencia o efeito da acetilcolina, porém a níveis não significativos.

4.4.6 - Útero de Rata Virgem

Resultados semelhantes ao íleo de cobaia, foram observados nesse tipo de tecido após a incubação por 5 minutos do extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa nas concentrações de 0,1 a 0,5 mg/ml, no líquido do banho, que apresentaram efeito inibitório concentração dependente, em relação as contrações induzidas por acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6}M$), ocitocina ($9,9 \times 10^{-5}M$) e cloreto de bário ($9,0 \times 10^{-4}M$). (Figuras 25 e 26).

O efeito do extrato, foi reversível requerendo 20, 40 e 60 minutos para a recuperação, após sucessivas lavagens do tecido quando incubados com acetilcolina, ocitocina e cloreto de bário na presença do extrato respectivamente.

A inibição dose dependente na amplitude das respostas estão representadas na tabela XIX, assim como a inibição significativa ($p < 0,05$) observada somente para respostas provocadas por doses de cloreto de bário 0,2 mg/ml e acetilcolina 0,5 mg/ml, sendo significativa ($p < 0,01$) para ocitocina

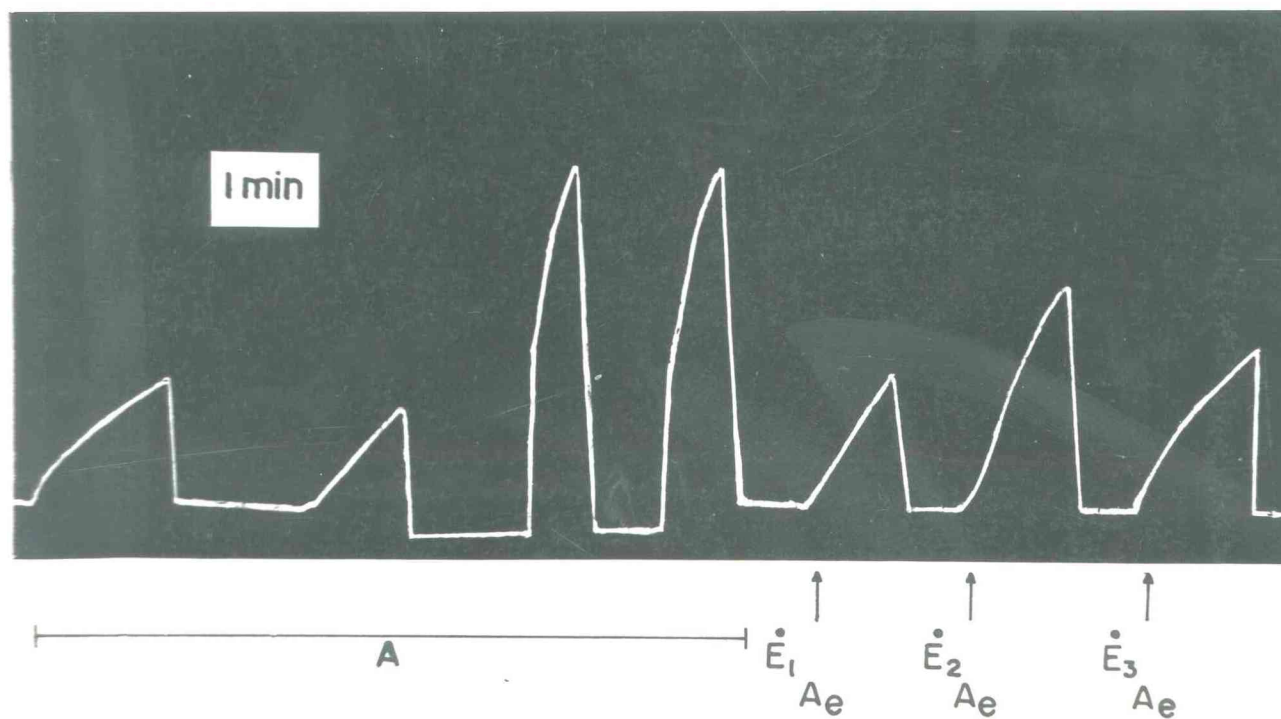


FIGURA 24 - Efeitos do extrato Hidroalcoólico da Alpinia speciosa Schum em contrações provocadas por Acetilcolina ($5,5 \times 10^{-5} M$) em reto abdominal de sapo.

A - Acetilcolina (Ach) na ausência do extrato

E₁ - Extrato (0,1 mg/ml)

E₂ - Extrato (0,5 mg/ml)

E₃ - Extrato (1,0 mg/ml)

A_e - Acetilcolina na presença do extrato.

TABELA XVIII - Efeitos do extrato hidroalcoólico da *Alpinia speciosa* Schum em contrações induzidas por acetilcolina em reto abdominal de sapo.

Droga	Dose (M)	Média ¹ da amplitude das contrações em (cm) ± E.P.M.			
		Concentrações do extrato no líquido do banho			
		Controle	0,1 mg/ml	0,5 mg/ml	1,0 mg/ml
Acetilcolina	$5,5 \times 10^{-5}$	$2,2 \pm 0,37$	$3,0 \pm 0,67^{NS}$	$3,5 \pm 0,97^{NS}$	$3,2 \pm 0,5^{NS}$

1 - Valor médio de 5 experimentos

Estatística - Teste "t" Student

NS - Não significativo

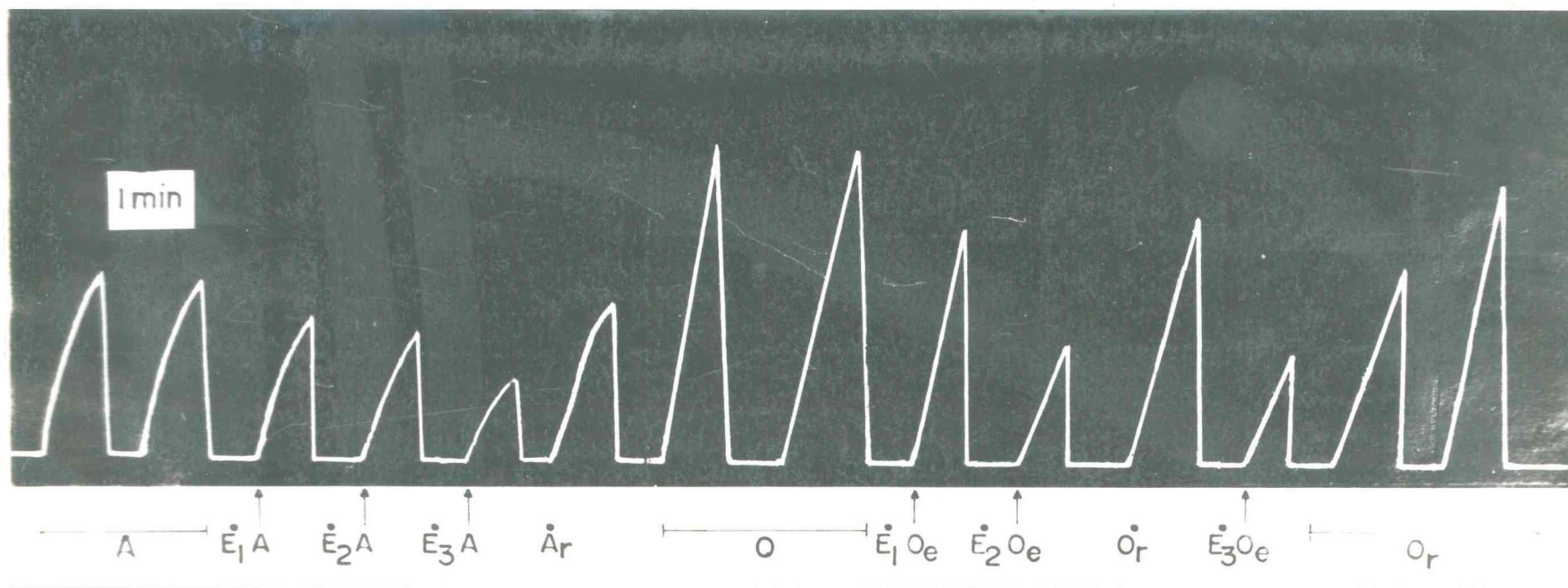


FIGURA 25 - Efeitos do extrato Hidroalcoólico da *Alpinia speciosa* Schum em contrações induzidas por Acetilcolina ($5,5 \times 10^{-6}M$) e Ocitocina ($9,9 \times 10^{-5}M$) em útero isolado de rata virgem.

A,O - Acetilcolina e Ocitocina na ausência do extrato

E₁ - Extrato (0,1 mg/ml) A_e,O_e - Acetilcolina e Ocitocina na presença do extrato.
 E₂ - Extrato (0,2 mg/ml)

E₃ - Extrato (0,5 mg/ml) A_r,O_r - Acetilcolina (20 min.) e Ocitocina (20 e 40 min.), após retirada do extrato do banho.

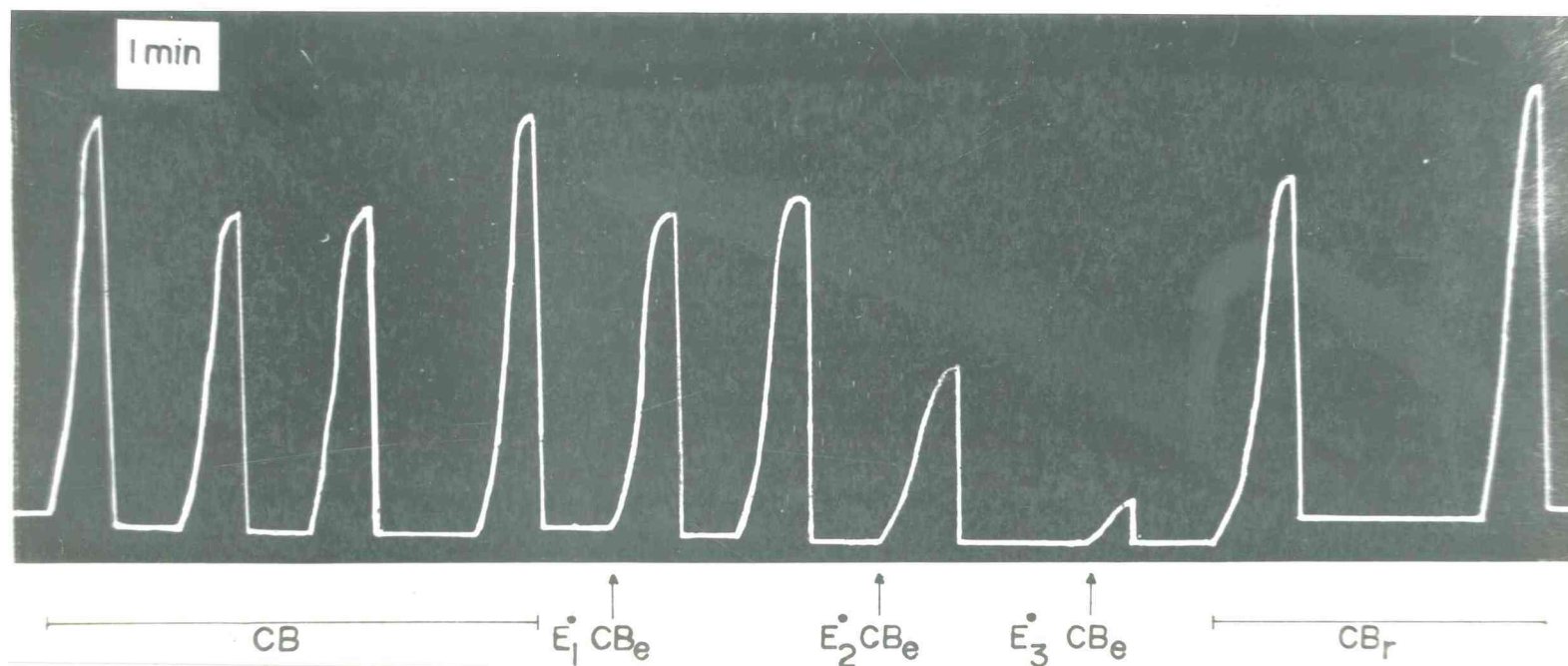


FIGURA 26 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da *Alpinia speciosa* Schum, em contrações induzidas por cloreto de bário (BaCl_2) - ($9,0 \times 10^{-4}\text{M}$) em útero isolado de rata virgem.

CB - Cloreto de Bário na ausência do extrato

E_1 - Extrato (0,1 mg/ml)

CB_e - Cloreto de bário na presença do extrato

E_2 - Extrato (0,2 mg/ml)

CB_r - Cloreto de bário 40 e 60 min. após retirada do extrato.

E_3 - Extrato (0,5 mg/ml)

TABELA XIX - Efeito do extrato hidroalcoólico da *Alpinia speciosa* Schum em contrações induzidas por acetilcolina, ocitocina e cloreto de bário em útero isolado de rata virgem.

Média ¹ da amplitude das contrações (cm) \pm E.P.M.					
Droga	Dose	Concentrações do extrato no líquido do banho			
		Controle	0,1 mg/ml	0,2 mg/ml	0,5 mg/ml
Acetilcolina	$5,5 \times 10^{-6}$	3,69 \pm 1,03	3,0 \pm 0,98 ^{NS}	2,24 \pm 0,74 ^{NS}	0,88 \pm 0,29*
Ocitocina	$9,9 \times 10^{-5}$	3,74 \pm 0,73	2,94 \pm 0,59 ^{NS}	1,12 \pm 0,58**	0,62 \pm 0,34**
BaCl ₂	$9,0 \times 10^{-4}$	4,56 \pm 0,49	3,68 \pm 0,54 ^{NS}	2,60 \pm 0,53*	1,2 \pm 0,45**

1 - Valor médio de 5 experimentos

Estatística - Teste "t" de Student

* p < 0,05

** p < 0,01

0,2; 0,5 mg/ml e cloreto de bário 0,5 mg/ml. Contrações do extrato "por se" não mostraram efeito contrátil no útero.

A tabela XX, mostra em percentagem dos efeitos máximos, as respostas induzidas pelas drogas supra citadas após incubação do extrato. Os resultados estão expressos em média \pm E.P.M.

TABELA XX - Resposta do extrato hidroalcoólico da *Alpinia speciosa* Schum expresso em percentagem do efeito máximo, em contrações induzidas por acetilcolina, ocitocina e cloreto de bário em útero de rata virgem.

Droga	Concentração no banho (M)	Contração (%) ($\bar{x} \pm E.P.M.$)			
		Antes da in- cubação com o extrato	Após a incubação com o extrato		
			0,1 mg/ml	0,2 mg/ml	0,5 mg/ml
Acetilcolina	$5,5 \times 10^{-6}$	100,0 \pm 0,00	21,35 \pm 13,58 ^{NS}	36,0 \pm 14,4 ^{NS}	68,6 \pm 11,9 *
Ocitocina	$9,0 \times 10^{-5}$	100,0 \pm 0,00	21,7 \pm 3,69 ^{NS}	67,76 \pm 4,35**	83,67 \pm 6,3 **
Cloreto de Bário	$9,0 \times 10^{-4}$	100,0 \pm 0,00	20,0 \pm 5,2 ^{NS}	43,86 \pm 8,4 *	69,1 \pm 5,79**

* p < 0,05

** p < 0,01

Estatístico - Teste "t" de Student.

NS - Não significativo

5 - DISCUSSÃO

As plantas medicinais vêm sendo objeto de investigações farmacológicas e químicas, há muitos anos, e atualmente existe tendência de substituição dos produtos sintéticos pelas naturais. Diversos vegetais da região norte e nordeste do Brasil têm sido estudados no campo farmacológico em busca de evidências de ações terapêuticas partindo-se, em geral de indicações da medicina popular (ARBAR et alii, 1985; ALMEIDA et alii, 1985; IONOKUCHI et alii, 1986; SALAS et alii, 1987; PARRY et alii, 1988, AKUBUE et alii, 1983; OGUNDAIN et alii, 1983; IROSTA et alii, 1984; TODOROV et alii, 1984; HAGNON, 1984; FUCHAS et alii, 1986; FERREIRA, 1984; MENEZES, 1986; MARTINS, 1983; MATOS, 1980).

O largo uso indiscriminado das folhas da Alpinia nutans Roscoe (Syn. A. speciosa), colônia, como é vulgarmente conhecida, torna patente a ausência de toxidez do chá ou infusão, forma em que é comumente utilizada pela população brasileira como remédio caseiro para pressão alta e como diurético, além dessas propriedades é indicado também para diversas finalidades terapêuticas tais como: Calmante, antiasmático, podendo ainda ser usado generalizadamente entre cardíacos e hipertensos, (MAIA, 1982; MATOS, 1987; MATOS, 1988a; LUZ, et alii, 1984).

Este amplo leque de indicações populares, bem como o agradável sabor e aroma, tornaram a Alpinia speciosa um interessante espécime vegetal de uso medicinal popular.

O extrato hidroalcoólico do vegetal foi investigado farmacologicamente em vários modelos experimentais "in vivo e in vitro". Investigou-se o efeito do extrato sobre a pressão arterial em ratos e cães e diurese em ratos, determinou-se o tempo de potenciação de sono pelo pentobarbital sódico e sua toxicidade aguda e crônica em camundongos, além de estudar-se vários órgãos isolados.

A literatura encontrada sobre o estudo da folha é mínima. A maioria das publicações é de origem japonesa e referem-se especialmente aos constituintes químicos e farmacológicos do rizoma (HAGGAG & SHAMY, 1977; ITOLAWA et alii, 1981; ITOKAWA et alii, 1980b; KAFUKU, 1917; LUZ et alii, KIMURA et alii, 1966).

Na abordagem fitoquímica que realizamos com a folha de A. speciosa, detectamos traços positivos para óleo essencial, taninos catêquicos, fenóis livres e alcaloides. Entretanto não foram positivos heterosídeos flavônicos, saponinas e heterosídeos antraquinônicos.

Em 1966, MATOS e colaboradores realizaram um screening fitoquímico com várias espécies de plantas da região norte brasileira, onde detectaram ausência de alcalóides no extrato aquoso, alcoólico e benzênico preparado a partir da folha de Alpinia speciosa. Os extratos foram submetidos a prova de antibiose, entretanto nenhum deles apresentou halo de inibição nas condições da experiência.

Da mesma forma HAGGAG, (1977) evidenciou em seus resultados ausência de taninos catêquicos e alcalóides e pre

sença de saponinas para ambos, folhas e rizoma da planta, após realização de um screening fitoquímico preliminar. Ao realizar análise do óleo volátil pelos métodos de TLC e GLC verificou-se a presença de β -pineno, mirceno, limoneno, cineol, p-cimeno, canfeni α -pineno, cânfora e γ -terpineno.

O óleo volátil da Alpinia nutans Roscoe rizoma e folha foi referido como rico em cineol (57-60%) e hidrocarboretos (51-52%), (KAFUKU, 1917; FUGITA, 1951).

Enquanto LUZ et alii, (1984) descreveram recentemente a presença de alguns compostos químicos da Alpinia speciosa: Sesquiterpenos (ITOKAWA et alii, 1980a), diterpenos (ITOKAWA et alii, 1980b), flavonoides (RAY & MAYUMDAR, 1976; WILLIAMS & HARBONE, 1977), agentes picantes (ITOKAWA et alii, 1981a; ITOKAWA et alii, 1981b) e constituintes do óleo essencial (ITOKAWA et alii, 1981b; SAIKI et alii, 1978); foi também caracterizado o óleo volátil da A. speciosa e R. floribunda pertencente a família das zingiberáceas.

No óleo essencial da Alpinia galanga Wild ou Languas galanga Stuntz, de acordo com BURKILL, (1966) (galanga grande), preparado a partir de rizomas frescos e secos, foram identificados quarenta (40) componentes (três dos quais foram previamente identificados). Somente metil eugenol, acetato de eugenol, chavicol (4-alifenol) e acetato de chavicol estavam presentes além de monoterpenos e álcoois monoterpenos e sequisterpenos.

A Alpinia oxiphilla, originária da China, tem sido muito usada na medicina oriental, na forma de droga bru

ta "YAKUCHI" preparada a partir do fruto; seus componentes químicos consistem principalmente de monoterpenos (pineno, cânfora e 1,8 cineol) e sesquiterpenos (Zingibereno e Zingiberol) que tem sido estudados por (KARIONE et alii, 1927) e AKABORI et alii, 1965) de uma fração neutra do extrato metanólico deste fruto foi isolado um novo composto que é 125 vezes mais picante que o zingerone (gingibre).

Do rizoma da Alpinia speciosa K. Schum, foram isolados duas substâncias ativas obtidas do gênero Alpinia (TAKAHASHI et alii, 1980). São elas o dihidrochalcone e um dihidroflavokawin-B. Labda-8, 12-diene-15, 16 dial e 15,16-bisnorlabda, 11-dien-13-one (ITOKAWA et alii, 1980b). Juntamente com estes foram isolados mais seis compostos fenólicos conhecidos. O primeiro destes o metil-trans-cinnamate ($P_h CH = CHCO_2Me$) é frequentemente isolado das plantas zingiberáceas (ITOKAWA et alii, 1981b). Do ponto de vista biogênético é digno de nota que os fenóis agora isolados do rizoma da A. speciosa possuem um grupo fenil não substituído em sua estrutura. Entretanto, a mesma parte estrutural é encontrada em fenóis isolados do rizoma de outras espécies de Alpinia, denominadas Alpinia oxyphylla (ITOKAWA et alii, 1981b); Alpinia officinarum (INOUE et alii, 1978); Alpinon da A. Japonesa (KIMURA, 1937); Izalpinin da A. Japônica (KIMURA, 1937) e Alpinia intermediária (KIMURA, 1940); galangin de A. galanga (VON BLIER & CHIRIKADJAN, 1972) e Cardamonin da Alpinia katsumadai (KIMURA et alii, 1968). Há somente duas exceções Kaempherol e kumatakenin na Alpinia kumatake (KIMURA et alii, 1967). Entretanto, esta caracte-

rística é própria dos constituintes fenólicos do rizoma no gênero Alpinia (ITOKAWA et alii, 1981b). O rizoma da Alpinia speciosa é usada na medicina popular em Taiwan para o tratamento da úlcera gástrica; os compostos que foram isolados e identificados por exercerem essa atividade foram dihidro-5, 6-dihidroxikawain (DDK) e 5,6 dihidroxikawain (DK) (HSU, 1987).

De acordo com estudos realizados de 1980 a 1983 com 180 pacientes com úlcera péptica tratados em hospitais com uma combinação de ervas medicinais chinesa e medicina ocidental, observou-se um aumento no número de cura (68%) comparado à aqueles tratados somente com medicina tradicional (41%) e somente com ervas chinesas (55%) (JIUCHUN, W. et alii, 1985).

Em termos de botânica a planta tem uma importância considerável, pelo fato de seus rizomas possuírem uma estrutura hexagonal, que permite um crescimento intensivo e programado e que torna rentável num sistema de cultivo (BELL, 1979). Também tem adquirido grande importância na indústria de fibras, sendo largamente usada na manufatura de papel de boa qualidade (ANONIMOUS, 1913; 1927) e seus rizomas para preparação de fécula (MARTINS, 1948).

Possivelmente a determinação da presença de alcalóides e taninos e ausência de saponinas, obtidas nos testes realizados recentemente como mostra a figura 2 possa ser atribuída a variações sazonais e genéticas, manuseio inadequado da droga, diferenças geográficas dos habitat, época da colheita do material dentro da mesma região, evolu-

ção paralela de certos processos bioquímicos (TYLER, 1968) além da metodologia empregada para realização de abordagem fitoquímica.

Segundo TYLER a melhor maneira de se explicar a produção dos alcalóides será considerá-los como produtos de uma evolução metabólica que se reflete nas etapas sucessivas alcançadas pelas plantas.

A maior parte dos óleos essenciais encontrados é constituído principalmente por terpenos, com traços de diterpenos e sequiterpenos (MATOS, 1979). Por outro lado os taninos produzem efeitos farmacológicos não específicos, tais como depressão do SNC, diminuição da pressão arterial sanguínea e antagonismo dos efeitos estimulatórios de vários agonistas do músculo liso intestinal e útero (CALISTO, 1982; TOKAHASNI, 1982). Estes efeitos foram claramente demonstrados em nossos resultados. A depressão do SNC foi verificada através do estudo dos efeitos comportamentais e do sleeping time, representado na tabela VIII e figura 8. Foi observado também o efeito hipotensor cuja relação dos res-
posta ficou claramente definida nas figuras 9, 10, 11 e 12.

Conforme nossos resultados, os testes de toxicidade em camundongos realizados pelo método de (MILLER & TAIN-
TER, 1944), indicaram uma DL_{50} , por via intraperitoneal de $0,760 \pm 0,126$ g/kg, enquanto, por via oral foi de $10 \pm 2,5$ g/kg, tabelas II e III e figuras 3 e 4. O que representa uma baixa toxicidade da droga. Entretanto, o extrato aquo-
so das flores (liofilizado) da mesma planta revelou-se mui-
tóxico (CARLINE, 1972), já o extrato aquoso da folha, em es-
tudo realizado por VANDERLINDE et alii (1986), também de-

monstrou baixa toxicidade corroborando com nossos resultados, nesse e em alguns outros aspectos.

Observamos, que o extrato apresentou reação de "Writing", sugerindo tratar-se de irritação abdominal, provocada pelo extrato vegetal, efeito semelhante aquele obtido por CARLINE (1972) com o extrato da flor da A. speciosa. O extrato hidroalcoólico também demonstrou piloereção em camundongos, efeito considerado inespecífico e atividade no sistema nervoso central, com aparecimento de excitação psicomotora, seguido de depressão e diminuição dos movimentos espontâneos.

Na determinação da toxidez subaguda, a coleta de amostras de sangue realizou-se no trigésimo dia do experimento, quando também grupos de ratos foram sacrificados e avaliados histologicamente. Os parâmetros sanguíneos analisados, uréia, creatinina glicose, transaminases (TGP e TGO), desidrogenase láctica (LDH) e fosfatase alcalina, estavam normais com exceção particularmente dos resultados relacionados aos níveis séricos das transaminases (TGP e TGO) e lactatodesidrogenase (LDH), que estavam aumentados, tabela IV e figura 5 e que poderiam sugerir alterações das vísceras, que no entanto não sofreram qualquer alteração, figuras 6a, 6b, 6c, 6d, 6e e 6f,

Todavia, é preciso salientar que observações recentes de (FONTELES, 1984) em humanos que tomaram o chá por vários meses não corroboraram qualquer alteração dessas duas enzimas. Entretanto o extrato da flor liofilizado dessa mesma planta se revelou muito tóxico segundo estudos de (CARLINE, 1972), além de produzir alteração hepática, doses de 100 a 200 mg/kg matavam os animais em 24 e 48 horas.

As transaminases são amplamente distribuídas nos tecidos predominando a TGO no coração, fígado, músculo estriado, rim e pâncreas; a TPG, no fígado, rim e coração e a LDH no coração e fígado (MILLER, 1977). A transaminase glutâmico oxalacética (TGO e a transaminase pirúvica (TGP) e LDH, são de grande importância clínica e de valor inquestionável em diagnósticos e controles de doenças do fígado, nos quais o TGO, TGP e LDH são sensíveis indicadores de lesões em células hepáticas. Elevações das transaminases ocorrem na hepatite (virótica e tóxica), na mononucleose, cirrose, colestase hepática, pancreatite, traumatismo extenso e no choque prolongado. (LABTEST, 1985a,b; VARLEI, 1967. A LDH, assume maior importância no caso do infarto do miocárdio e no estudo das hepatopatias. Com relação ao fígado, a dosagem da desidrogenase láctica (LDH) tem mais valor em caso de tumores e abscessos (MILLER, 1977).

A alteração dos níveis de TGP, TGO e LDH, no rato observados nas experiências, correspondem possivelmente a variação da espécie.

Com base no exposto, podemos concluir, que o chá e o extrato da folha da Alpinia speciosa é atóxico para ratos haja vista o resultado dos exames histopatológicos, embora o exame bioquímico do sangue, deixe em aberto a possibilidade de hepato e/ou nefrotoxicidade. Apesar dos tecidos examinados não demonstrarem alterações pela análise histológica.

A eosinofilia apresentada na leitura diferencial

ocorreu provavelmente devido a processo alérgico ou stress do animal durante o processo de administração da droga. A alteração no número de linfócitos nos chama a atenção, o que poderia sugerir a presença de substâncias que poderiam induzir a síntese ou inibir a degradação de hormônios tireoideanos, ou ainda deprimir a produção hormonal da adrenal.

No estudo do sleeping time, verificou-se um claro efeito da droga, o que foi comprovado pelos testes comportamentais sobretudo quando se injetou doses de extrato hidroalcoólico de A. speciosa em torno da DL_{10} . Esse fato demonstra que a planta possui um efeito no SNC ou que interfere com o metabolismo hepático do pentobarbital, prolongando o seu metabolismo. Essa dose promoveu também nos animais uma diminuição da atividade motora espontânea, o que por si só sugere um efeito neural ou mioneural, de natureza periférica ou mesmo central.

O citado extrato apresentou significativa atividade antihipertensiva demonstrando atividade em várias preparações cardiovasculares.

Os ensaios farmacológicos realizados em ratos e cães, demonstraram potentes efeitos hipotensores rápido com recuperação lenta, sendo mantida a relação dose-efeito, (tabelas VIII, IX, X e figuras 9, 10 e 11). O efeito hipotensor não foi alterado por bloqueadores específicos atropina e propranolol. O extrato hidroalcoólico da folha 20 mg/kg quando comparado ao extrato hidroalcoólico do rizoma 4mg/kg, demonstrou uma queda de pressão arterial bem maior, conforme se observa nas figuras 12a e 12b.

a) Este fato poderá estar relacionado com o efeito depressor da droga, ou seja a uma ação depressora central associada a uma ação inibitória do influxo de cálcio durante o processo contrátil.

b) A queda da pressão arterial provocada pelo extrato em ratos e cães, é rápida e o seu efeito demorado. Com certeza esta ação não deve ser atribuída a presença do elevado teor de eletrólitos encontrados no extrato, principalmente potássio (K^+), pois sua presença no extrato produz queda e recuperação rápida, devido ao K^+ ser imediatamente consumido.

Em estudos anteriores VANDERLINDE et alii, (1986) verificou que o extrato aquoso (EA) da planta produziu depressão do SNC em ratos, porém em trabalhos mais recente, demonstrou confirmando nossos resultados, efeito hipotensor, que não foi alterado por atropina (1 mg/kg) e propranolol (2 mg/kg) ou hexametonio (1 mg/kg).

De forma semelhante, este estudo realizado recentemente por VANDERLINDE, (1988), reafirmou nossos resultados em relação a outros parâmetros estudados, sobre o sistema cardiovascular, como em coração isolado de rato onde observamos uma diminuição da frequência dos batimentos cardíacos (efeito cronotrópico negativo) e diminuição da amplitude (efeito inotrópico negativo) que foram observados em átrio isolado de rato.

Durante os 15 anos passados tornou-se claro que o sistema nervoso é o principal sítio de ação de várias drogas anti-hipertensivas. Os resultados de muitos experimentos

têm levado a uma série de generalizações relatados para o mecanismo de ação desses agentes (WEINSHILBOUM, 1980).

Há mais de 2100 anos atrás, comprovou-se a existência de doenças coronárias na China, e já nesse tempo surgiu o interesse pelas ervas medicinais tradicionais para o tratamento das doenças coronárias. Observações experimentais e clínicas provaram que Huoxue - hyayu, possui ação contra a agregação de plaquetas sanguíneas e efeito contra o ataque coronário. Dentre as ervas utilizadas para o tratamento coronário encontra-se o rizoma da Alpinia officinarum e o zingiberis ambos da família das zingiberáceas. Essas ervas mostraram-se eficientes em diminuir a frequência cardíaca, diminuir infarto do miocárdio, alívio dos espasmos das artérias coronárias (KEJI, 1981). Essas e outras, são ervas convencionais usadas atualmente na medicina tradicional chinesa para curar doenças do coração.

RIBEIRO et alii (1986) realizou uma triagem farmacológica de plantas com atividade antihipertensora e diurética, em 32 espécies vegetais referidas popularmente como dotadas de atividades antihipertensora e/ou diurética. A espécie que mais se diferenciou pela sua eficácia farmacológica foi a Hedichium coronarium Koenk, conhecida também como palma do brejo (OLIVEIRA APUD: RIBEIRO, 1986; CORREA, 1926), que também pertence a família das zingiberáceas.

A medicina popular utiliza várias plantas medicinais no tratamento da hipertensão. (TOSCANO, 1988), realizou uma experiência clínica onde empregou algumas delas no

combate a hipertensão moderada e leve obtendo resultados satisfatórios.

Várias outras plantas foram estudadas e confirmadas sua atividade com ações significativas sobre o sistema cardiovascular nas preparações de pressão arterial, coração isolado de rato e outros modelos experimentais, aconthospermum hispidum (espinho cigano) (MEDEIROS, 1988) isolamento dos princípios farmacologicamente ativos. Piper sp (pariparoba), resultados preliminares de seu estudo sugerem a presença de componentes vasodilatadores no extrato dessa planta (SILVA et alii, 1988) e Elephantopus scaber L (língua de vaca) (RIBEIRO DO VALE, et alii, 1988). Thynanthus fusciculatus Miess (bigoniaceae) cipõ de cravo, seus ensaios farmacológicos mostraram atividade hipotensora (MORENO, et alii, 1988). Pithecellobium niopoides, spr. O estudo da atividade farmacológica de seu extrato etanólico do pó da casca e entrecasca do caule, produziu hipotensão não bloqueada pela atropina, além de outros efeitos (JACOMINI et alii, 1988). Mandevilla velutina, extrato bruto hidroalcoólico e compostos MU-8612 e MU-8608 isolados da planta, causaram efeitos sobre a PA e broncoconstrição por ação de vários agentes agonistas (BAUMANN et alii, 1988). Cuphea aperta koenich (sete sangrias) (SETSUKO et alii, 1986) que comprovou que o extrato dessa planta possui atividade hipotensora e anticonvulsivante, provavelmente de origem central, o que justifica o uso popular da planta.

Atualmente ênfase vem sendo dada ao estudo de plantas medicinais com efeito sobre a pressão arterial, re-

centemente na IV Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental em Caxambu, MOITA et alii, 1989) apresentou duas comunicações, na primeira descreve os efeitos da infusão da folha de Bryophyllum colycinum sobre a pressão arterial sistólica (P.A.S.) e diastólica (P.A.D.) e sobre a frequência cardíaca (F.C.) de cães normais e atropinizados. Aqui verificou a presença de pelo menos um princípio ativo hipotensor e bradicardizante, nas folhas de Bruophullum colycinum. Na segunda comunicação descreve os efeitos de administração endovenosa de extratos aquosos de Asparagus plumasus, Bryophyllum Calycinum, Mimosa verrucosa, Spondias Tuberosa e Asparagus densiflorus Var. sobre a pressão arterial sistólica e diastólica e sobre a frequência cardíaca em cães mestiços anestesiados com pentobarbital sódico. De forma semelhante LEMOS et alii (1989) em um screening farmacológico realizado com extrato etanólico das partes aéreas da planta Aristolochia papillanis Mast (Aristolochiaceae) demonstrou efeitos diuréticos em ratos e anti-diarréico em camundongos, diminuição da pressão arterial em ratos, inibição das contrações induzidas por ocitocina em útero de ratas, por histamina em íleo de cobaia, por adrenalina em canal deferente de ratos e produziu pronunciado efeito relaxante dose-dependente, em traquéia isolada de cobaia.

AGUIAR et alii, (1985) em suas primeiras experiências sobre a ação farmacológica cabacinha (Momordia bucha L.) apresentou como resultado hipotensão acentuada no cão, a qual não foi bloqueada pela atropina, além de outros re-

sultados que os levaram a concluir que o cabacinho não age como parassimpaticomimético, porquanto não sofre bloqueio da atropina, resultado esse semelhante aquele encontrado por nós em nossos resultados com a Alpinia speciosa e confirmado por VANDERLINDE et alii, (1988).

FUCHAS et alii, (1988), para investigar a prevalência e forma de emprego de tratamento alternativo para hipertensão, em Porto Alegre, com fins de testá-los em estudos de eficácia, realizou um levantamento etnofarmacológico com cento e um (101) adultos, que se afirmaram hipertensos, responderam a um questionário, no qual 72% referiram ao uso de 22 plantas para o tratamento de sua doença, com nítida predominância do chuchu (Sechium edule).

Entretanto FUCHAS et alii (1986) havia investigado o efeito agudo do chá do chuchu sobre a pressão arterial, frequência cardíaca, volume urinário e as taxas urinárias de sódio e potássio, contra-placebo, randomizado e duplo-cego. Os resultados demonstraram aumento significativo do volume urinário quando da ingestão do chá, não se evidenciando, o propalado efeito hipotensor do chuchu. Uma outra planta utilizada indiscriminadamente pela população como hipotensor e diurético é a Zea mays. Nos resultados obtidos com o estudo do extrato do estigma de milho concluiu que este apresenta efeito hipotensor e diurético e que estes são significativamente maiores, quando utilizados após o seu preparo (CHAGAS et alii, 1988).

Os testes realizados com o chá e extratos na diurese de ratos com o objetivo de verificar a relação hipoten

são-diurese, indicaram que os extratos não apresentam efeitos diuréticos mesmo em doses altas, pelo menos nesse modelo; todavia o chá demonstrou ligeira diurese, mas não significativa, para um intervalo de 4 horas; isso não corrobora com os achados de FONTELES no homem (FONTELES, 1986). Contudo, o estudo dos eletrólitos nos extratos demonstrou um grande conteúdo de potássio o que, possivelmente poderá ter contribuído para um certo bloqueio dos efeitos fisiológicos do extrato por si. Parece claro, portanto, que o extrato apresenta até mesmo um efeito antidiurético.

Neste estudo biológico, os resultados demonstraram que o extrato hidroalcoólico da folha da Alpinia speciosa, inibia as contrações induzidas na musculatura lisa por vários agonistas. Reduziu de forma inespecífica e dose dependente as contrações induzidas por acetilcolina (Ach), serotonina (5-HT) e bradicinina (B) e potenciou os efeitos da histamina inicialmente (nas duas primeiras doses) e depois o inibiu significativamente em íleo de cobaia (IC), produzindo assim uma resposta bifásica, figuras 19, 20 e 21 e tabela XIV. O extrato também inibiu acetilcolina (Ach), ocitocina (O) e cloreto de bário (CB) em útero de rata (UR), figuras 25 e 26 e tabela XIX. Produziu potente inibição da acetilcolina (Ach), todavia não teve atividade sobre o isoproterenol (ISO) em duodeno de coelho, figuras 21 e 23 e tabela XVII. Este efeito miorelaxante tornou-se reversível após algumas lavagens, a recuperação demonstrou ser mais lenta e até mesmo parcial, em algumas preparações de órgãos isolados mesmo com múltiplas lavagens ao longo de 1 hora. O

extrato aquoso da mesma planta (VANDERLINDE et alii, (1986) mostrou inibição da musculatura lisa.

ITOKAWA et alii 1981b, ao avaliar o extrato metanólico da Alpinia speciosa, conseguiu detectar uma fração que possui significativa atividade inibitória contra histamina e cloreto de bário em íleo de cobaia, segundo estudos realizados pelo método de Magnus.

As observações feitas por (CARLINE, 1972) utilizando o extrato aquoso da flor da planta, mostrou efeitos interessantes em relação ao íleo de cobaia e duodeno de coelho, onde observou uma nítida potenciação do efeito espasmogênico da histamina, em doses do extrato inativo por si e bloqueio parcial do relaxamento produzido por norepinefrina em duodeno de coelho, porém seus dados em relação a este último não puderam ser confirmados. (VIEIRA et alii, 1968) ao realizar uma abordagem farmacológica de plantas do nordeste brasileiro, estudou o extrato aquoso e etanólico da folha Alpinia speciosa; aqui observou interessante efeito contrátil sobre íleo de cobaia com o extrato aquoso. Em outras preparações de órgãos isolados foram observados com esses extratos alguns efeitos que não foram significativos. Em duodeno de coelho (diminuição do tônus e da motilidade) em coração de sapo (inibição) e em útero de rata efeito inibitório apenas com o extrato etanólico.

A ativação de receptores muscarínicos geralmente produz contração ou aumenta a frequência e/ou a força de contração do músculo liso, este efeito ocorre normalmente

"in vitro" com preparações de músculo isolado. Agonistas como acetilcolina e um número de outros compostos, podem produzir efeito sob o músculo pela combinação com receptores muscarínicos que são bloqueados pela atropina, hyocina, N-escopolamina e outras substâncias, (BOLTON, 1979).

A ativação de receptores- α adrenérgico de vasos sanguíneos, vasos deferentes ou útero também produzem contração (BOLTON, 1979). Os efeitos da ativação dos receptores- α em relação ao potencial de membrana são frequentemente indistinguíveis dos efeitos de outros estimulantes a acetilcolina. Entretanto algumas vezes, existem diferenças na resposta máxima da membrana que pode ser elucidada pela ação estimulante significativa dos diferentes tipos de receptores. (BULBRING, 1973a, BULBRING, 1973b; BULBRING et alii, 1968; BULBRING & SZURSZEWI, 1974; HOLMAN et alii, 1968; OHKAWA, 1976).

Se a ativação de receptores- α produz inibição ou redução na frequência de contração, tem sido frequentemente encontrado ocorrer hiperpolarização do potencial de membrana e inibição da descarga do potencial de ação (AXELSSON et alii, 1961; BULBRING, 1954; BULBRING & KURIYAMA, 1963; EL-SHARKAWY & DANIEL, 1976; WESTON, 1971). O aumento na condutância da membrana implica que a ativação dos adrenoceptores- α abre o canal iônico na membrana do músculo liso (CREED, 1975; CREED et alii, 1975; KLEVETC & SHUBA, 1966; MAGARIBUCH et alii, 1972; SZURSZEWSKI &

BULBRING, 1973). Entretanto se realmente a ativação do receptor- α abre os canais operados por receptores (ROCs) na membrana do músculo é ainda um ponto controverso (BOLTON, 1979).

Estudos sobre o músculo liso indicaram que os canais iônicos quando operados por um tipo de receptor em particular, mostram que as respostas dependem da ligação do agonista com o receptor e da dissociação deles. Um outro efeito reconhecido é que a ligação com receptores é influenciada pela contração causada por íons inorgânicos na solução do banho (TAGAGI *et alii*, 1972). A adição do extrato pode causar mudanças do ambiente iônico do tecido do órgão no banho e induzir a inibição do músculo. Outro mecanismo pelo qual uma substância pode causar relaxamento do músculo liso, é pelo aumento dos níveis intracelulares do AMP cíclico (PHILLIPSON, 1979). Entretanto, BOLTON, (1979) declara que o papel do AMP_c em células do músculo liso não está claro. Outros autores confirmam que a ativação do receptor- β no músculo liso realmente aumenta os níveis de AMPc dependendo da dose. Todavia o aumento dos níveis de AMPc aparentemente não são específicos para os estimulantes dos receptores- β e nem estão invariavelmente associados com a atividade de relaxamento ou inibição do músculo, (BOLTON, 1979).

Constituintes de plantas são conhecidos por produzirem tais mudanças. Por exemplo, os biflavonoides e xantonas, inibem o AMPc fosfodiesterase (BERETZ, 1979) enzima responsável pelo metabolismo desse nucleotídeo. Além disso um diterpeno recentemente isolado, denominado "forskollin" da

Coleus forskolii (SEAMON, 1983) estimula a atividade da enzima "adenil ciclase" necessária para a síntese de AMP cíclico. Assim, esses agentes flavonoides ou dipertenos, por mecanismos diferentes, aumentam o nível intracelular de AMP cíclico, produzindo dessa maneira relaxamento do músculo liso. É importante notar que um novo diterpendiol isolado das folhas de Iboza riparia Hoehs (BOGAERT, 1983) também tem ações espamolíticas parecidas com a papaverina, isto é, relaxam o músculo liso por aumentar os níveis de AMP cíclico (DOBBS & ROBISON, 1968); INATOMI et alii, 1974; KROEGER & MARSHALL, 1974; KUKOVETS & POCH, 1970; LUGNIER et alii, 1972; POLACEK et alii, 1971; TRINER et alii, 1971; TRINER et alii, 1970.

Vários músculos lisos podem possuir canais iônicos que são sensíveis ao potencial e que admitem sódio e cálcio (ALTURA, 1976; BOLTON, 1972; SZURSZEWSKI, 1977) e que podem ser influenciados pelos receptores por diferentes substâncias estimulantes em diferentes preparações de músculo liso, quando estes são ativados. A ativação do receptor- α produz despolarização e contração ou produz relaxamento do músculo dependendo do tipo de receptor operado por canais (ROC) ao qual está ligado. Se a estimulação ocorre em vasos sanguíneos, vasos deferentes, ou útero, o ROC pode admitir os íons sódio (Na^+), cloro (Cl^-) e potássio (K^+). Se ocorre inibição é visto que o ROC admite principalmente potássio. O cálcio é visto por ter vários papéis na resposta observada sob a ativação do receptor- α necessariamente para a reação do agonista com o receptor (BULBRING & TOMITA, 1969; BULBRING & TOMITA, 1977). A ativação dos receptores- α abrem os canais iônicos

que podem induzir cálcio a entrar na célula. Alguns autores tem encontrado um influxo de cálcio (Ca^{+2}) i aumentado durante a ativação do receptor- α (CASTEELS et alii, 1977; GODFRAIND, 1976; GREENBERG et alii, 1973; KEENE et alii, 1972; WAHLSTROM, 1973; TURLAPATY et alii, 1976) seguido de aumento no Pk (potencial do potássio) (DETH & BREEMEN, 1977; DROOGMANS et alii, 1977; HUDGINS, 1969) causado pela ligação do cálcio com receptor- α .

É certo entretanto que o aumento da permeabilidade da membrana celular para o Ca^{+2} , K^{+} e Na^{+} parecem ser os determinantes primários da tensão da proteína contrátil de células do músculo liso sob condições normais. O cálcio parece entrar na célula provavelmente através de canais iônicos existentes na membrana.

Supõem-se entretanto que o mecanismo pelo qual a planta (extrato hidroalcoólico da Alpinia speciosa) produz depressão do SNC, bloqueio neuromuscular e inibição da musculatura lisa ocorre provavelmente por diminuição do influxo de íons cálcio durante o processo de contração.

Evidências da participação do íon Na^{+} na manutenção do componente tônico da resposta do músculo liso longitudinal do íleo de cobaio a agonistas foi visto (SHIMUTA et alii, 1989). Seus dados experimentais indicaram que provavelmente o mecanismo tônico da troca Na^{+}/Ca^{+} está envolvido na manutenção do componente tônico.

No que diz respeito aos efeitos obtidos sobre o músculo esquelético observamos que o extrato potencia o efei

to da acetilcolina (Ach) numa relação dose-dependente porém a níveis não significativos em reto abdominal de sapo.

A caracterização química da folha e da raiz desta planta está sendo desenvolvida no curso de pós-graduação do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, como tema de dissertação de mestrado.

Não tendo ainda identificado a(s) substância(s) responsáveis pelas atividades observadas, pode-se somente especular sobre sua natureza.

Algumas frações já foram isoladas e testadas farmacologicamente, aqui verificamos que a fração seis (6) obtida em cromatografia de sílica foi a mais potente em produzir queda de pressão arterial rápida com retorno demorado.

Assim sendo, essa abordagem farmacológica inicial com a A. speciosa, abre perspectivas para um aprofundamento das ações farmacológicas e seus mecanismos, aliado a um estudo químico paralelo que culmine com o isolamento, purificação e identificação das substâncias detentoras de tais propriedades farmacológicas.

6 - CONCLUSÃO

Quando objetivamos estudar plantas, quanto ao seus usos terapêuticos, como fármaco ou precursores de fármacos enfrentamos muitas dificuldades, que começam com seleção de plantas.

Baseado nos resultados obtidos com o estudo hidroalcoólico da folha da Alpinia speciosa concluímos que:

1 - A toxidez da droga é baixa no que diz respeito a seus efeitos agudos e crônicos, de acordo com os estudos realizados com a determinação da DL_{50} e os exames histopatológico das vísceras de animais tratados por 30 dias com chá e extrato hidroalcoólico da planta. Nos animais tratados com o chá e o extrato, observou-se todavia aumento de transaminases e LDH.

2 - O extrato possui significativa atividade anti-hipertensiva, produzindo queda da pressão arterial rápida com recuperação lenta, comprovando assim a perspectiva do seu emprego como droga para hipertensão pela população brasileira principalmente no norte e nordeste.

3 - Esta atividade não está associada aos níveis elevados dos íons potássio, presentes no extrato, pois sua concentração alta produz queda de pressão rápida e recuperação lenta, uma vez que o potássio é rapidamente redistribuído pelos espaços extracelulares ou eliminados pelos rins.

4 - O extrato tem um efeito geral depressivo ou tranquilizante no sistema nervoso central (SNC). Comprovado com os resultados obtidos com os testes comportamentais e no estudo do "Sleeping Time".

5 - O extrato hidroalcoólico e o chá da planta não são diuréticos, pelo menos foi o que ficou comprovado no modelo experimental empregado

6 - O extrato é um relaxante da musculatura lisa, pois produziu potente inibição com vários agonistas em íleo de cobaia, útero de rata e duodeno de coelho, numa relação dose-dependente, além de promover diminuição do tônus e peristaltismo.

7 - O extrato não tem efeito significativo sobre a musculatura esquelética, conforme observação em reto abdominal de sapo.

8 - O extrato produz no coração de anfíbios efeito depressor, bem como no átrio isolado betendo espontaneamente.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - AGUIAR, F.J.C.; PINTO, N.; MACHADO, R. Estudo Farmacológico Preliminar do Cabacinho (Momordica bucha, L.). Preliminary Pharmacological study of the Cabacinho (Momordica bucha L.). Folha Med., 91 (2): 151-5, 1985.
- 2 - AKABAR, A.; TARIQ, M.; NISA, M. Pharmacological studies on Salvia haematodes Wall Acta Trop. (BASEL) 42 (4): 371-4, 1985.
- 3 - AKOBORY, Y.; SAIKI; FUKUSHIMA, S. APUD: ITOKAWA, H.; AIYAMA, R.; IKUTA, A. A Pungent Diasyltheptanoid from Alpinia Oxyphylla. Phytochemistry, 20(4): 769-71, 1981.
- 4 - AKUBUE, P.I.; MITTAL, G.; AGUWA, N. Preliminary pharmacological study of some Nigerian Medicinal plants. J. Ethnopharmacol., 8(1): 53-63 1983.
- 5 - ALMEIDA, R.N.; FILHO, J.M.; NAIK, S.R.; Chemistry and pharmacology of on ethanol extract of Brumelia sar torum. J. Ethnopharmacol., 14(2-3): 173-85, 1985.
- 6 - ALTURA, B.M. Prostaglandin induced relaxations and contractions of arterial smooth muscle: effects of anoxia and glucose. Artery, 2: 18-25, 1976.
- 7 - ANONYMOUS, A. APUD: HAGGAG, M.Y. & EL-SHAMY, A.M. Phytochemical study of Alpinia nutans (Roscoe) and Hedychium coronarium (Koenig). Egypt. J. Pharm.

- Sci., 18(4): 465-76, 1977,
- 8 - ASTON, D.W. A rat diuretic screening procedure. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1: 277-82, 1959.
 - 9 - AXELSSON, J.; BUERDING, E.; BULBRING, E. The inhibitory action of adrenaline on intestinal smooth muscle in relation to its action on phosphorylase activity. J. Physiol., 156: 357-74, 1961.
 - 10 - BAILY, L.H. APUD: HAGGAG, M.Y. & EL-SHAMY, A.M. Phytochemical Study of Alpinia nutans (Roscoe) of Hedy-chium Coronarium (Koenig). Egypt. J. Pharmacol. Sci., 18 (4): 465-76, 1977.
 - 11 - BALBACH, Alfons. A flora nacional na medicina doméstica 15. ed. São Paulo, M.V.P., s.d. v.1, p.6-7.
 - 12 - ———. ———. 15. ed. São Paulo, M.V.P., s.d. v.2, pt. 3, p. 405-6.
 - 13 - BAUMANN, Y.; DUARTE, D.F.; MEDEIROS, Y.S.; CRUZ, A.E.; YUNES, R.A.; CALISTO, J.B. Efeito do extrato e de compostos obtidos da Mandevilla velutina sobre a pressão arterial e a broncoconstrição em cobaias sensibilizadas ativamente pela ovoalbumina. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10º, São Paulo, 1988, Resumo ... Paineis 719.18.
 - 14 - BELL, A.D. The hexagonal Branching Pattern of rhizomas of Alpinia speciosa L. (zingiberaceae). Ann. Bot., 43: 209-33, 1979.
 - 15 - BERETZ, A.; JOLY, M.; STOCLET, J.G.; ANTON, R. Inhibition of 3'5' AMP Phosphodiesterase by biflavonoids and Xanthons. Planta Médica, 36: 193-4, 1979.

- 16 - BERG, M.E.V.B. Etonbotânica: A experiência brasileira do Museu Goeldi. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2ª, João Pessoa, 1983. Anais ... p. 195-201.
- 17 - BOGAERT, M.; De KIMPE, N.; De SCHÄEPDRYVER, A.; LEFEBURE, R.; MUGABO, P. APUD: GEORGE, T. Comentários sobre a pesquisa de plantas medicinais no LTF./N: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2ª, João Pessoa, 1983. Anais ... p. 212.
- 18 - BOLTON, T.B. The effects of varying the concentrations of ions in the external solution on the oscillations of the membrane potential (Slow Waves) produced by carbachol in longitudinal ileal muscle. Pflügers Arch., 335: 85-96, 1972.
- 19 - ———. ———. Mechanisms of action of transmitters and other substances of smooth muscle. Physiol. Rev., 59(3): 607-718, 1979.
- 20 - BRAGA, R. Colônia. In: Plantas do Nordeste especialmente do Ceará, 3 ed. Mossoró, 1976, p. 205.
- 21 - BRITTO, I.C.; BORGES, K.N.; NOBLICK, L.R.; PEDREIRA, R.H. de A Flora com atributos medicinais de Lamação do Passé, São Sebastião do Passé, Ba. In: SIMPÓSIO DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2ª, João Pessoa, 1983. Anais ... p. 302.
- 22 - BULBRING, E. Action of catecolaminas on the smooth muscle cell membrane. In: RANG, H.P. ed Drug receptors. London, MacMillan, 1973a. p. 1-13.

- 23 - ———. ———. Membrane potentials of smooth muscle fibres of the taenia coli of the Guinea-pig. J. Physiol., 125: 302-15, 1954.
- 24 - ———. ———. Possible mechanisms of the action catecholamines on muscle. In: USDIN, E. & SNYDER, J. eds. Frontiers incatecholamines research. Oxford, Pergamon, 1973b, p. 389-91.
- 25 - BULBRING, E. APUD: MENEZES, A.M.S. Atividade anti inflamatória e anti ulcerogênico de Astronium urundeuva ENGL. Fortaleza, 1986. Dissertação (Mestrado) Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará.
- 26 - BULBRING, E. & KURIYAMA, H. Effects of changes in ionic environment on the action of acetylcholine and adrenaline on the smooth muscle cells of the Guinea-pig taenia coli. J. Physiol., 166:59-74,1963.
- 27 - BULBRING, E. & SZURSZEWSKI, J.H. The estimulant action of noradrenaline (α -action) on ghineapig miometrium compared with thar of acetilcholine. Proc. R. Soc., Lond Serie B, 185: 225-62, 1974.
- 28 - BULBRING, E. & TOMITA, T. Calcium requeriment for the α -action of catecholamines on guinea-pig taenia coli. Proc. R. Soa Lond Ser. B., 197:271-84, 1977.
- 29 - ———. ———. Effect of calcium, barium and manganese on the action of adrenaline in the smooth muscle of the guinea-pig Taenia coli. Proc. R. Soc. Lond. Ser.B., 172: 121-36, 1969.
- 30 - BULBRING, E.; CASTEELS, R.; KURIYAMA, H. Membrane potential and ion content in cat and guineapig myo

- metrium and the response to adrenaline and noradrenaline. Br. J. Pharmacol., 34: 388-407, 1968.
- 31 - BURKILL, I.H. APUD: De POOTER, H.L.; NOR OMAR, M.; COOLSAET, B.; SCHAMP, N.M. The essential oil of greater galanga (*Alpinia Galanga*) from Malaysia. Phytochemistry, 24(1): 93-6, 1985.
- 32 - CALISTO, J.B. & NICOLAU, M. Ações farmacológicas do Ac. Tânico I. Efeitos sobre o músculo liso e o sistema cardiovascular. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 7º. Belo Horizonte, 1982. Resumo ... p. 51.
- 33 - CARLINE, E.A. Farmacologia prática sem aparelhagem. São Paulo, Sauvier, 1973. p. 139-42.
- 34 - ———. ———. Screening farmacológico de plantas brasileiras. Rev. Bras. Biol., 32(2): 265-74, 1972.
- 35 - CASAGRANDE, C.; CANONICA, L.; SEVERINI - RICA, G. Studies on proaporphine and aporphine alkaloids. VI Synthesis of (\pm) - glaziovine by spiran ring construction on a Cylopent /ij/ isoquinoline; Stereochemistry of reduced proaporphines. J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1(15): 1652-8, 1975.
- 36 - CASTEELS, R.; KITAMURA, K.; KURIYAMA, H.; SUZUKI, H. Excitation-contraction coupling in the Ayrrooth muscle of the rabbit ear pulmonare artery. J. Physiol. Lond., 271: 63-79, 1977.
- 37 - CEME. Programa de Plantas Medicinais. s.n.T.
- 38 - CEME. APUD: THOMÁS, G. Comentários sobre a pesquisa de Plantas Medicinais no LTF. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE

- FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 29,
João Pessoa, 1983. Anais ... p. 212.
- 39 - CHAGAS, A.M.; AZZOLIN, E.; PADOIN, L.V.; SIHIRMER, B.
Influência do extrato aquoso de Zea mays sobre a
pressão arterial, diurese, coração isolado e mus-
culatura lisa. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS
DO BRASIL, 109, São Paulo, 1988. Resumos ... COM.
519.2.
- 40 - CORREA, M.P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e
das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa
Nacional, 1926. v.1, p. 483-6.
- 41 - ———. ———. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura,
1931. v.2, p.40-1.
- 42 - COSTA NETO, P.L.O. Estatística. São Paulo, Blucher,
1978. p. 108-15.
- 43 - CREED, K.E. Membrane properties of the smooth muscle
cells of the rat anococcygeus muscle. J. Physiol.,
245: 49-62, 1975.
- 44 - CREED, K.E.; GILLESPIE, J.S.; MUIR, T.C. The electrical
basis of excitation and inhibition in the rat ana-
coccygeus muscle. J. Physiol., 245: 33-47, 1975.
- 45 - DANDIYA, P. & COLLUMBINE, H. Studies on ocorius ca-
lomis II. Some pharmacological actions of the vola-
tile oil. J. Pharmacol. Exp. Therap., 125: 353-9,
1959.
- 46 - De POOTER, H.L.; NOR OMAR, M.; COOLSAET, B.; SCHAMP,
N.M. The essential oil of greater Galanga (Alpinia
Galanga) from Malaysia. Phytochemistry, 24(1): 93-

- 6, 1985.
- 47 - DETH, R. & VAN BREEMEN, C. Agonist induced release of intracellular Ca^{+2} in the rabbit aorta. J. Membr. Biol., 30: 363-80, 1977.
- 48 - DIXON, W.J. & MASSAY, J.P.F.J. Introduction to statistical analysis 3 ed. New York, McGraw-Hill, 1969, p. 116-9.
- 49 - DOBBS, J.W. & ROBISON, G.A. Functional biochemistry of beta receptors in the uterus. Fed. Proc., 27: 352, 1968.
- 50 - DROOGMANS, G.; RAEYMAEKERS, L.; CASTEELS, R. Electro- and pharmacomechanical coupling in the smooth muscle cells of the rabbit ear artery. J. Gen. Physiol., 70: 129-48, 1977.
- 51 - EL-SHARKAWY, T.Y. & DANIEL, E.E. The Electrophysiological basis of the motor inhibitory effect of adrenaline on rabbit small intestinal smooth muscle. Can. J. Physiol. Pharmacol., 54: 446-56, 1976.
- 52 - FERREIRA, M.S.C. "Estudo Farmacológico do Cymbopon Citratus (DE) Saff". Fortaleza, 1984. Dissertação (Mestrado). Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará.
- 53 - FONTELES, M.C. A atividade diurética do infuso de folhas de Alpinia speciosa Schum (Colônia). Fortaleza, comunicação pessoal, 1986.
- 54 - ———. ———. Uma avaliação clínica do chá de Colônia (Alpinia speciosa): Efeito diurético. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 7º, Manaus, 1984.

- 55 - FUCHAS, F.D.; MONTE, T.L.; FERREIRA, M.B.; CARDOSO, M. B.; BECKER, A.L.; KOENING, A.; ROSITO, G. B. A.; ARANHA GALTADO, G.; SCHIMIDT, M.I.; WANNMACHER, L.; BERNADES, M. O efeito do chá do chuchu (Sechium edule) sobre a pressão arterial e outros parâmetros em voluntários jovens normotensos, the of Sechium edule leaves infusion on blood pressure and other parameters in normotensive young voluteers. Rev. HCPA, (P. Alegre), 6 (2): 61-4, 1986.
- 56 - FUCHAS, F.D.; PAOLI, C.L.; CORREA, F.A.; HESSEGAWA, C. Y.; FERREIRA, E.; NETTO, M.S.; ROSITO, G.A.: O chá do chuchu (Sechium edule) no tratamento da hipertensão: Evidência Etnofarmacológica de largo emprego em Porto Alegre, RS. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10ª, São Paulo, 1988. Resumos ... Painei 5/9.1.
- 57 - FUGITA, Y. APUD: HAGGAG, M.Y. & EL-SHAMY, A. M. Phytochemil Study of Alpinia nutans (Roscoe) and Hedychium coronarium (Koenig). Egypt. J. Pharm. Sci., 18(4): 465-76, 1977.
- 58 - GILBERT, B. A síntese de fármacos para a indústria nacional. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2ª. João Pessoa, 1983. Anais ... p. 123.
- 59 - GILBERT, B.; GILBERT, M.E.; OLIVEIRA, M.M.; RIBEIRO, O.; WENKERT, E.; WICKBERT, B.; HOLLSTEIN, Y.; RAPOPORT, H. The aporphine and isoquinolinedienone alkaloides of Ocotra glaziovii. J. Amer. Chem.Soc.,

- 86(4): 694-6, 1965,
- 60 - GODFRAIND, T. Calcium exchange in vascular smooth muscle, action of noradrenaline and lanthanum. J. Physiol., 260: 21-35, 1976.
- 61 - GOMES, B.A. Plantas Medicinais do Brasil. São Paulo, s. ed., 1972, v.5.
- 62 - GOTTLIEB, O.R. Ciência e tecnologia, um casamento infeliz. Ciênc. Cult., 35(2): 185-9, 1983.
- 63 - GOTTLIEB, O.R. & KAPLAN, M.A.C. A importância dos produtos naturais para o homem. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2º, João Pessoa, 1983. Anais ... p. 167-75.
- 64 - GOTTLIEB, O.R. & MORS, W.B. Estado atual da investigação em química de produtos naturais no Brasil. Química Nova, 2(1): 31-4, 1979a.
- 65 - ———. ———, Fitoquímica Amazônica: uma apreciação em perspectiva. Interciência, 3(4):252-63, 1978.
- 66 - GOTTLIEB, O.R.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, P.H.; ROCHA, A.I.; SILVA, M. L.; WILBERG, V.C. Óleos Essenciais da Amazônia, VII. Acta Amazônica, 11(1): 143-8, 1981.
- 67 - GOTTLIEB, O.R. & MORS, W.B. APUD: GOTTLIEB, O.R. & KAPLAN, M.A.C. A importância dos produtos naturais para o homem. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2º, João Pessoa, 1983. Anais ... p. 174.
- 68 - GREENBERG, S.; LONG, I.P.; DIECKE, F.P.I. Differentiation of calcium pools utilized in the contractile

- response of conine arterial and venous smooth muscle to norepinephrine. J. Pharmacol. Exp. Ther., 183: 493-504, 1973.
- 69 - GRIFFIN, R.J. JR. Herbal medicine revisited. Am. Pharmacol., 19 (10): 528, 1979.
- 70 - HAGGAG, M.Y & SHAMY, A.M. Phytochemical Study of *Alpinia nutans* (Roscoe) and *Hedychium coronarium* (Koenig). Egypt. J. Pharm. Sci., 18 (14): 465-76, 1977.
- 71 - HAGNÓN, M. Inventaire pharmacologique general des plants Medicinales Rwandaises (General pharmacology inventory of Rwandese medicinal plants). J. Ethnopharmacol., 12(3): 239-51, 1984.
- 72 - HALLEUX-OPSOMER, C. Un herbier médicinal du haut moyen âge: l'alfabetum Galieni. Pub. Staz. Zool. Napoli, 4(1): 65-97, 1982.
- 73 - HOEHNE, F.C. Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais. São Paulo, Graphicars, 1939, 335 p.
- 74 - HOLMAN, M.E. · KASBY, C.B.; SUTHERS, M.B.; WILSON, J. A.F. Some properties of the smooth muscle of rabbit portal vein. J. Physiol., 196: 111-32, 1968.
- 75 - HOLTON, P.W. A modification of the method of Dole and Laidlan for standardization of posterior pituitary extract. Br. J. Pharmacol. Chemoter., 3:328, 1948.
- 76 - HSU, S.Y. Effects of the constituents of *Alpinia speciosa* Rhizoma on Experimental Ulcers. J. Formosan Med. Assoc., 86: 58-64, 1987.
- 77 - HUDGINNS, P.M. Some drug effects of calcium move

- ments in aortic strips. J. Pharmacol. Exp. Ther., 170: 303-10, 1969.
- 78 - INATOMI, N.; TAKAYANAGI, I.; UCHIDA, M.; TAKAGI, K. Intracellular cyclic AMP level and intestinal smooth muscle relaxation. Eur. J. Pharmacol., 26: 73-6, 1974.
- 79 - INOUE, T. APUD: ITOKAWA, H.; MORITA, M.; MINASHI, S. Phenolic Compounds from the Rhizomes of Alpinia speciosa. Phytochemistry, 20(11): 2503-6, 1981b.
- 80 - IONOKUCHI, J.; OKABE, H.; YAMAUCHI, T.; NAGAMATSU, A.; MONAKA, G.; NISHIDKA, I. Antihypertensive substance in seeds of ARECA CATECHUL. Life Sci., 38(15): 1375-82, 1986.
- 81 - IROSTA, OHIUTO F.; RAGUSA, S.; TROVATO, A.; TUMINO, G.; BRIGUGLIO, F.; DE PASQUALE, A. A drug used in traditional medicine: Harpagophytum proumbens D.II. Cardiovascular activity. J. Ethnopharmacol., 11(3): 259-74, 1984.
- 82 - ITOKAWA, H.; MIHASHI, S.; WATANABE, K.; MORITA, M.; NAKANISHI, H.; HAMANAKA, T. APUD: TAKAHASHI, K.; SHIBATA, S.; YANO, S. HARADA, M.; SAITO, H.; TAMURA, Y.; KUMAGAI, A. Labdane and Bisporlabdane Type Diterpenes from Alpinia speciosa K. Schum. Chem. Pharm. Bull., 28(11): 3452-4, 1980a.
- 83 - ITOKAWA, H.; MORITA, M.; MIHASHI, S. Phenolic compounds from the rhizome of Alpinia speciosa. Phytochemistry, 20(11): 2503-6, 1981b.
- 84 - ———. ———. Two new diarylheptanoids from Alpinia officinarum Hance. Chem. Pharm. Bull., 29: 2383, 1981a.

- 85 - JACOMINI, L.C.L.; TAVEIRA, E.F.; FERREIRA, T. M. S.; CERQUEIRA, M.B.; VARIZO, F.C.M.; OLIVEIRA, M.R.; RICARDO, A.F.; RIZZO, J.A. Atividade Farmacológica do Extrato Bruto do PITHECELOBIUM NIOPOIDES, SPR (Angico Branco). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10º, São Paulo, 1988. Resumo ... Painei 5/9.43.
- 86 - JALON, P.D.G. A simple biological assay of curare preparations. Q. J. Pharm. Pharmacol., 20: 28-33, 1947.
- 87 - JIUCHUN, W. et al. The effect of Chinese Herbal medicine, western medicine, and Chinese and western medicine combined in the treatment of peptic ulcer. Chin. J. Integ. Med., 5(1): 20-2, 1985.
- 88 - JOLY, A.B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo, EDUSP, 1966, v.4, p.578-83. (Série Ciências Pura, 3).
- 89 - KAFUFU, J. Volatile Constituents of the leaves of Alpinia nutans Roscoe. Chem. Ind. Tokio, 20: 349, 1917.
- KAFUFU, K.; ZASSHI, K.K. APUD: HAGGAG, M.Y.; EL-SHAMY, A.M. Phytochemical study of Alpinia nutans (Roscoe) and Hedychium Coronarium (Koenig). Egypt. J. Pharm. Sci., 18(4): 465-76, 1977.
- 90 - KARIYONE, T. & MATUSHIMA, Y. APUD: ITOKAWA, H.; ATYAMA, R.; IKUTA, A. A Pungent Diarylheptanoid from Alpinia Oxyphylla. Phytochemistry, 20(4):769-71, 1981a.

- 91 - KEENE, J.J.; SEIDEL, C.L.; BOHR, D.F. Manganese on
-calcium flux and norepinephrine induced tension in
arterial smooth muscle. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,
139: 1083-5, 1972.
- 92 - KEJI, C. Certain Progress in the Treatment of Coronary
Heart Disease With Tradicional Medicinal plantas
in China. Am. J. Chin. Med., 9 (3): 193-6, 1981.
- 93 - KIMURA, Y. Chemical Study of the seeds of Alpinia
japônica MIQ. VI. Constituents of the seeds of
Alpinia chinese Roscoe. J. Pharmacol. Soc. Japan,
60: 145-61, abstracts, 51-4, 1940.
- 94 - KIMURA, Y. APUD: ITOKAWA, H.; MORITA, M.; MIHASHI, S.
Phenolic Compounds from the rhizomas of Alpinia
speciosa. Phytochemistry, 20(11): 2503-6, 1981b.
- 95 - KIMURA, Y.; TAKAHASNI, S.; YOSHIDA, I. Constituents
of Alpinia. XII. Constituents of the seeds of. A.
katsumadai. I. The structure of Cardamonin.
Yakugaku Zasshi, 88 (2): 239, 1968.
- 96 - KIMURA, Y.; TAKIDO, M.; NAKANO, K.; TAKISHITA, M.
Constituents of Alpinia Plants. X. on the Cons-
tituents of the rhizomata of A. speciosa and a
KUMATAHE. Yakugaku Zasshi, 86(12): 1184-7, 1966.
- 97 - KIMURA, Y.; TAKIDO, M.; TAKASHI, S.; KIMISHIMA, M.
APUD: ITOKAWA, H.; MORITA, M.; MIHASHI. Phenolic
Compounds from the rhizomas of Alpinia speciosa.
Phytochemistry, 20(11): 2503-06, 1981.
- 98 - KLEVETC, M.Y. & SHUBA, M.F. APUD: BOLTON, T.B. Me-
chanisms of action of transmitters and other subs-

- tances of smooth muscle, Physiol. Rev., 59 (3):607-92, 1979.
- 99 - KROEGER, E.A. & MARSHALL, J.M. Beta adrenergic effects on rat myometrium role of cyclic AMP. Am. J. Physiol., 226: 1298-303, 1974.
- 100 - KUKOVETZ, W.R. & POCH, G. Inhibition of cyclic-3'5'-nucleotide - phosphodiesterase as a possible mode of action of papaverine and similiary action drugs. Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol., 267: 189-94, 1970.
- 101 - LABTEST, Sistemas para diagnóstico. Oxalacetate Transaminase. Belo Horizonte, 1985a.
- 102 - ———. ———. Pyruvate Transaminase. Belo Horizonte, 1985b.
- 103 - LAINETTI, R. & BRITO, N.R.S. A saúde pelas plantas e ervas do mundo inteiro. Rio de Janeiro, Tecnoprint, 1980. p.17.
- 104 - LEE, C.Y.; CHIOV, J.W.; CHANG, W.H. Studies on the antioxidative Activities of. Spices Gromn in Taiwan (II). J. Chin. Agricult. Soc., 20(1-2): 61-6, 1982.
- 105 - LEMOS, V.S.; THOMAS, G.; ARAÚJO, C.C.; PAULO, M. Q.; BARBOSA, F.J.M. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADE DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 49, Caxambu, 1989. Resumos ... p. 228.
- 106 - LUGNIER, C.; BERTRAND, Y.; STOCLET, J.C. Cyclic nucleotide pnosphodiesterase inibition and vascular smooth muscle relaxation. Eur. J. Pharmacol., 19: 134-36, 1972.
- 107 - LUZ, A.I.R.; ZOGHBI, M.G.B.; RAMOS, L.S.; MAIA, J.G.S.;

- SILVA, M.L, Essential oils of some Amazonian Zingiberaceae, 3 genera *Alpinia* and *Rengalmia*. J. Nat. Prod., 47(5): 907-8, 1984.
- 108 - MAGARIBUCHI, T.; OHBU, T.; SAKAMOTO, Y.; YAMAMOTO, Y. Some electrical properties of the slow potential changes recorded from the guinea-pig stomach in relation to drug actions. Jpn. J. Physiol., 22: 333-52, 1972.
- 109 - MAGNUS, R. Versuche am Uberlerben den durdarm Von Sangetieren I. Mitterlung. Arch. F.D. Ge. Physiol., 102: 123-51, 1904.
- 110 - MAIA, J.G.S. Observações pessoais, 1982.
- 111 - MARTINS, A.Q. APUD: HAGGAG, M.Y. & EL-SHAMY, A. M. Phytochemical study of *Alpinia speciosa* nutans (Roscoe) and *Hedychium Coronarium* (Koenig). Egypt. J. Pharmacol. Sci., 18(4): 465-76, 1977.
- 112 - MARTINS, D.T.V. "Efeitos farmacológicos de *Kalanchoe brasilienses Camb*". Fortaleza, 1983. Dissertação (Mestrado). Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará.
- 113 - MARTZ, B.L.; COKINOS, C.G.; SCHIMID, L.D. A Diuretic assay utilizing normal subjects. Clin. Pharmacol. Ther., 3: 340-4, 1962.
- 114 - MATOS, F.F. "Efeitos de Lippia of sidoides Cham". Fortaleza, 1980. Dissertação (Mestrado). Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará.
- 115 - MATOS, F.J.A. O formulário fitoterápico do Prof. Dias

- da Rocha. s.l., s. ed., 1987, p. 11-8, 205. (Coleção ESAM, Ano 20, v. 18).
- 116 - ———. ———. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza, Ed. UFC, 1988a. p.27-61. (Coleção Ciência)
- 117 - ———. ———. Plantas medicinais: Boldo, Colônia, e mentrasto. O POVO, Fortaleza, 27 jan. 1988b. Universidade Aberta. p.3.
- 118 - ———. ———. Iscos no uso de plantas medicinais. O POVO, Fortaleza, 6 jan. 1988, Universidade Aberta. p.3.
- 119 - MATOS, F.J.A.; ANDRADE, F.J.; SILVA, G.L. Constituintes químicos de Alpinia speciosa Schum (Revisão). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10., São Paulo, 1988. Anais ... p. 18.
- 120 - MATOS, F.J.A.; SOUSA, M.P.; BARROS, M.M.; LIMA, M.E.; NASCIMENTO, M.C. Marcha sistemática da abordagem fitoquímica, II. Rev. Bras. Farm., 47(6): 3-16, 1966.
- 121 - MATOS, J.M.D. Manual prático de Farmacologia. Fortaleza, Imprensa Universitária, 1979. p. 76-104.
- 122 - MEDEIROS, O.F. O LTF como programa multidisciplinar e interdepartamental. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2º, João Pessoa, 1983, Anais ... p. 31.
- 123 - MEDEIROS, I.A.; BRANDÃO, V.J.; CÔRTEZ, S.F.; MARÇAL, Q.P.; ROLIM, D.A.L.; AGRA, M.F.; BRITO, A.R. Isolamento do(s) princípio(s) farmacologicamente ativo(s) sobre o sistema cardiovascular de Aconthospermum hispidum (Asteraceae). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10º, São Paulo, 1988.

Resumos ... Painei 5/9,7,

- 124 - MENEZES, A.M.S, Atividade antiinflamatória anti-ulcerogênica de Astronium urundeuva Engl. Fortaleza, 1986. Dissertação (Mestrado), Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará.
- 125 - MILLER, L.C. & TAINTER, M.L. Estimulation of the DL₅₀ and ist error by means of logarithmic probit graph paper. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 57: 261-4,1944.
- 126 - MILLER, O.; GONÇALVES, R.R.; PENTEADO, J.F.; PORTO, J.A.F.; NERY, A.L.B.; PECEGO, G.F.; FERREIRA, A. C.; ARANTES, M. R.; ALVES, J.M.R.; BARRETO, C.M.; GRANATO, P.D.; FREIER, M.K. Laboratório para o clínico, 3. ed. Rio de Janeiro, Atheneu, 1977. p. 73-4.
- 127 - MOITA, M.M.L.; CORTEZ, J.A.M.; NUNES, P.H.M. Efeito do extrato Bruto de Bryophyllum calycinum sobre a Pressão Arterial e Frequência de Cães Normais e Atropinizados. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 49. Caxambu, 1989. Resumos ... p. 227.
- 128 - MOITA, M.M.L.; CORTEZ, J.A.M.; ATAYDE, E.S.; NUNES, P.H.M. Plantas Medicinais com Efeito sobre a Pressão Arterial e Frequência Cardíaca em Cães. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 49. Caxambu, 1989. Resumos ... p. 227.
- 129 - MORENO, R.M.; VILEGAS, G.L.P.; VILEGAS, J.H.Y.: Al-

- guns aspectos do estudo do cipô-cravo, In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10º, São Paulo, 1988. Resumo ... Painei 5/9. 34.
- 130 - MOURA, R.A.A. Técnica de laboratório. 2 ed. Rio de Janeiro, Atheneu, 1982. p. 94-6.
- 131 - NEVES, E.S. APUD: SATO, S.; PEREIRA, C.A.S.; CAVASSAN, O.; KUBO, M.; SAURON, V.B.; LAZARINI, C.A.; CURY, A.P.; GOULART, F.C. O uso de plantas nativas de cerrados da região de Bauru, na medicina popular - O Pequi (Caryocar brasiliense Camb.). Salusvita, 6(1): 32-40, 1987.
- 132 - OGUNDAIN, A.O.; YISAK, W.A.; OJEWOLE, J.A. Preliminary phytochemical studies of Ombreto dendron Maroarpum (p. Beauv) Keay with reference to its hypotensive principles. J. Ethnopharmacol., 9(2-3):337-45, 1983.
- 133 - OHKAWA, H. Evidences for alpha excitatory action of catecholamines on the eletrical activity of the guineapig stomach. Jpn. J. Physiol., 26: 41-52, 1976.
- 134 - PARRY, O.; OKWUASABA, F.; EIIKE, C. Effect of an aqueous extract of portulaca oleraceai leaves on smooth muscle and rat blood pressure. J. Ethnopharmacol., 22(1): 33-44, 1988.
- 135 - PEIGAN, X. APUD: GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C. A Importância dos Produtos Naturais para o Homem. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2º, João Pessoa, 1983. Anais ... P. 171-2.

- 136 - PHILLIPSON, J.D. Natural products as a basis for new drugs. Trends Pharmacol. Sci., 1: 36-8, 1979.
- 137 - PISO, W. APUD: BERG, M.E. Etnobotânica. A Experiência Brasileira do Museu Goeldi. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS, 2ª, João Pessoa, 1983. Anais ... P. 195-201.
- 138 - PLANTAS QUE CURAM: A natureza a serviço de sua saúde. São Paulo, Três, 1983. 18 p.
- 139 - POLACEK, I.; BOLAN, J.; DANIEL, E.E. Accumulation of adenosine 3'5' - monophosphate and relaxation in the real uterus in vitro. Can. J. Physiol. Pharmacol., 49: 999-1047, 1971.
- 140 - RAY, P.G. & MAYUMDAR, S.K. APUD: LUZ, A.I.R.; ZOGBI, M.G.B.; RAMOS, L.S.; MAIA, J.G.S.; SILVA, M. L. Essential Oils of some Amazonian Zingiberaceae, 3. Genera, Alpinia and Rengalmia. J. Nat. Prod., 4(5): 907-8, 1984.
- 141 - RIBEIRO, R. de A.; GOMES, C.; TROLIN, G.; MELO, F.; MARGARIDA, M.; BARROS, F. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 9ª, Rio de Janeiro, 1986. Anais ... p. 41.
- 142 - RIBEIRO DO VALLE, R.M.; NICOLAU, M.; SIMÕES, C.M.C.; SCREMIN, A.; POLI, A. Efeitos do extrato de Elephantopus scaber L. (língua de vaca) FAM. composita sobre a musculatura lisa "in vitro"; e na pressão arterial de rato. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10ª, São Paulo, 1988. Resumo ... Paineis 5/9.14.

- 143 - SAIKI, Y.; ISHIKAWA, Y.; UCHIDA, M.; FUKUSHIMA, S.
Essencial oil from chinese drug caodoukon; the
seeds of *Alpinia katsumadai*. Phytochemistry, 17
(4): 808-9, 1978.
- 144 - SALAS, I.; BRENES, JR.; MORALES, O.M. Antihyperten-
sive effect of *cecropia obtusiflolia* (Moraceae)
leaf extract on. Rev. Biol. Trop., 35(1): 127-
30, 1987.
- 145 - SATO, S.; PEREIRA, C.A. dos S.; CAVASSAN, O.; KUBO,
M.; SAVRON, V.B.; LAZARINI, C.A.; CUTY, A. P.;
GOULART, F.C. O uso de plantas nativas de cerrados
da região de Bauru, na medicina popular - O Pequi
(*Caryocar brasiliense* Camb.). Salvsvita, 6 (1):
32-40, 1987.
- 146 - SEAMON, K.B. & DALY, J.W. Forskolin, cyclic AMP. and
cellular physiology. Trends Pharmacol. Sci., 4:
120-23, 1983.
- 147 - SETSUKO, N.S.; SOUCCAR, G.; LAPA, A.J. Atividade far-
macológica dos extratos de *Cuphea aperta* Kehn (Se-
te sangrias). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS
DO BRASIL, 9º, Rio de Janeiro, 1986. Anais ... p.
30.
- 148 - SHENFA, W.E.N. Tradicional Chinese herbal and medici-
nal remedies. Practitioner, 227:1599-600, 1983.
- 149 - SHIMUTA, S.I.; KAMASHIRO, C.A.; OSHIRO, M.E.M.; PAIVA,
A.C.M. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADE
DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 4º. Caxambu, 1989.
Resumos ... p: 249.

- 150 - SILVA, F.A.; ALMEIDA, T.R.V.; MUCCILLO, A.L.B.; RIVERA, L.; CONRADO, R.M. Efeitos da Piper, sp sobre a musculatura lisa dos vasos mesentéricos. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10º., São Paulo, 1988. Resumo ... Painel 5/9.2.
- 151 - SOUSA, G.S. Tratado descritivo do Brasil em 1587. São Paulo, Nacional/EDUSP, 1971 (Brasiliana, v. 117).
- 152 - STANNARD, J. Medical plants and folk remedies in pliny, história naturalis. Pub. Staz. Zool. Napoli, 4(1): 3-23, 1982.
- 153 - SZURSZEWSKI, J.H. Modulation of smooth muscle by nervous activity. A review and a hypothesis. Fed. Proc., 36: 2456-61, 1977.
- 154 - SZURSZEWSKI, J.H.; BULBRING, E. The stimulant action of acetylcholine and catecholamines on the uterus. Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B., 265: 149-56, 1973.
- 155 - TACKHOLM, V. & DRAR, M. APUD: HAGGAG, M.Y. & EL-SHAMY, A.M. Phytochemical study of Alpinia nutans (Roscoe) and Hedychium Coronarium (Koenig). Egypt. J. Pharm. Sci., 18(4): 465-76, 1977.
- 156 - TAKAGI, K.; TAKAYANAGI, I.; LIÃO, C.S. The effect of calcium and magnesium ions on drug-receptor interactions. Eur. J. Pharmacol., 19: 330-42, 1972.
- 157 - TAKAHASHI, K.; SHIBATA, S.; YANO, S.; HARADA, M.; SAITO, H.; TAMURA, Y.; KUMAGAI, A.: Labdane and Bisnorlabdane type Diterpenes from Alpinia speciosa K. Schum. Chem. Pharmacol. Bull., 28(11): 3452-4,

1980.

- 158 - TIMMERMANN, R.J.; SPRINGMAN, F.R.; THOMAS, R.K. Evaluation of furosemide, a new diuretic agent. Curr. Therap. Res., 6: 88-94, 1964.
- 159 - TODOROV, S.; PHILLIANOS, S.; PETKOV, V.; HARVALA; ZAMFIROVA, R.; OLIMPIOU, H. Experimental pharmacological study of three species from Genus *Salvia*. Acta Physiol. Pharmacol. Bulg., 10(2):13-20, 1984.
- 160 - TOKAHASNI, R.N.; LIMA, T.C.N.; MORALI, G.S. Ações farmacológicas do ácido tânico. II. Atividade sobre o SNC. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 7ª., Belo Horizonte, 1982. Resumos ... p. 52.
- 161 - TOSCANO, M.G.: Plantas medicinais hipotensoras. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10ª., São Paulo, 1988. Resumos ... Paineis 5/9.2.
- 162 - TRINER, L.; NAHAS, G.G.; VOLLIEMOZ, Y.; OVERWER, N. I. A.; VEROSKY, M.; HABIF, D.V.; NGAI, S.H. Cyclic Amp and Smooth muscle function. Ann. Acad. Sci., 185: 458-76, 1971.
- 163 - TRINER, L.; VULLIEMOZ, W.; SCHWARTZ, I.; NAHAS, G. G. Cyclic phosphodiesterase and the action of papaverine. Diochem. Biophys. Res. Commun., 40: 64-9, 1970.
- 164 - TURLAPATY, P.D.M.V.; HESTER, R.K. CARRIER, O. Role of the calcium in different layers of vascular smooth muscle in norepinephrine contraction. Blood Vessels, 13: 193-202, 1976.
- 165 - TYLER, V.E. & CLAUS, E.P. Alcaloides. In: --, Farmacognosia. Buenos Aires, El Ateneo, 1968. Cap. 9, p.

- 239-315.
- 166 - VANDERLINDE, F.A.; SOUCCAR, C.; LAPA, J.A.: Atividade Farmacológica do extrato de Alpinia speciosa Schum. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 9º, Rio de Janeiro, 1986. Anais ... p. 36.
- 167 - ———. ———. Efeitos cardiovasculares do extrato aquoso da Alpinia speciosa. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10º, São Paulo, 1988. Resumos ... p. 20.
- 168 - VAN ROSSUN, J.M. & VAN DERS, F.V. Cumulative dose response curves. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 143: 244- 6, 1963.
- 169 - VARLEY, H. APUD: LABTEST sistemas para diagnóstico, transaminasa pirúvica. Belo Horizonte, 1985.
- 170 - VIEIRA, J.E.V.; BARROS, G.S.G.; MEDEIROS, M.C.; MATOS, F.J.A.; SOUZA, M.P. MEDEIROS, M.J. Abordagem farmacológica de plantas do nordeste brasileiro, II. Rev. Bras. Farm., 44(2): 67, 1968.
- 171 - VON BLEIER, W. & CHIRIKDJA, J.J. APUD: ITOKAWA, N.; MORITA, M.; MIHASHI, S. Phenolic Compounds from the Rhizomas of Alpinia speciosa. Phytochemistry, 20 (11): 2503-6, 1981b.
- 172 - WAHLSTROM, B.A. A study on the action of noradrenaline on ionic content and sodium, potassium and chloride effluxes in the rat portal vein. Acta Physiol. Scand., 89: 522-30, 1973.
- 173 - WEINSHILBOU, R.M. Drogas anti-hipertensivas. Mayo Clin. Proc., 55: 390-402, 1980.
- 174 - WESTON, A.H. Inhibition of the longitudinal muscle

of rabbit duodenum. Br. J. Pharmacol., 43: 428-29, 1971.

175 - WHO HEALTH ORGANIZATION. APUD: MATOS, F.J.A. O Formulário Fitoterápico do Professor Dias da Rocha. s.l., s.ed., 1987. p. 11. (Coleção ESAM, Ano XX, v. 18).

176 - WILLIAMS, C.A. & HARBONE, J.B. APUD: LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M.G.B.; RAMOS, L.S.; MAIA, J.G.S., SILVA, M.L. Essential oils of some Amazonian zingiberaceae, 3. Genera, Alpinia and Rengalmia. J. Nat. Prod., 4(5): 907-8, 1984.