



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

ANA PAULA MACÊDO SANTANA

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA E GENOTOXICIDADE DO CHÁ
DE *ALPINIA ZERUMBET* (PERS.) BURTT & SMITH EM
VOLUNTÁRIOS SADIOS**

FORTALEZA

2009

ANA PAULA MACÊDO SANTANA

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA E GENOTOXICIDADE DO CHÁ
DE *ALPINIA ZERUMBET* (PERS.) BURTT & SMITH EM
VOLUNTÁRIOS SADIOS**

Dissertação submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes

FORTALEZA

2009

S223a Santana, Ana Paula Macêdo

Avaliação da segurança e genotoxicidade do chá de *Alpinia zerumbet* (pers.) Burt & Smith em voluntários sadios/ Ana Paula Macêdo Santana. – Fortaleza, 2009.
156 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, CE.

1. *Alpinia* 2. Toxicologia 3. Genotoxicidade I. Moraes, Maria Elisabete Amaral de (orient.) II. Título.

CDD:615.1

ANA PAULA MACÊDO SANTANA

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA E GENOTOXICIDADE DO CHÁ DE
ALPINIA ZERUMBET (PERS.) BURTT & SMITH EM VOLUNTÁRIOS
SADIOS**

Dissertação submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia

A transcrição de qualquer trecho deste trabalho é permitida, desde que seja feita conforme as normas de ética científica.

Aprovada em: 14/01/2009

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes (Orientadora)

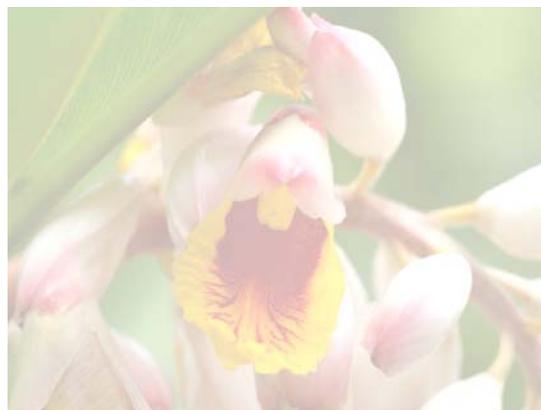
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Geanne Matos de Andrade Cunha

Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Gisela Costa Camarão

Universidade Federal do Ceará - UFC



*A Deus,
pela minha vida repleta de bênçãos,
que hoje possibilitam
a concretização de um sonho.*



AGRADECIMENTOS

Aos **Meus Pais, Firmino Miguel e Maria das Candeias**, por encherem a minha vida de amor e pelo exemplo de luta e retidão.

Aos **Meus Irmãos, Raimundo Macêdo e Ana Creusa** pelo incentivo na busca dos meus sonhos.

Aos fundadores da Unidade de Farmacologia Clínica, os **Profs. Dr^a. Maria Elisabete Amaral de Moraes, Dr. Manoel Odorico de Moraes, Dr. Fernando A. Frota Bezerra**, pela acolhida, e por dividirem comigo seus conhecimentos.

Particularmente, a **Dra. Elisabete Moraes**, minha orientadora, pela orientação, por depositar sua confiança no meu trabalho e pela oportunidade de conhecer e aprender parte do mundo da Farmacologia Clínica.

Ao **Dr. Vagnaldo Fachine** pela orientação e valiosa ajuda na análise estatística e pela ajuda na avaliação dos voluntários.

Ao **Prof. Said Fonseca**, cuja sua generosidade e saber possibilitaram o enriquecimento desta dissertação.

Aos **Professores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará**, pelo grande amor ao ensino e à pesquisa, que se reflete em cada palavra proferida e, também, pela atenção a mim dispensada. Em especial as professoras **Geanne Matos e Gisela Camarão** por terem aceitado participar da minha banca.

Aos **amigos da UNIFAC Aline, Andrea, André, Deysi, Demétrius, Ismenia, Ismael e Joelma** pelas conversas, brincadeiras, gargalhadas e companheirismo, além da valiosa ajuda durante o estudo e inúmeras trocas de confidências, experiência e inseguranças na vida pessoal e profissional.

A minha **amiga Ana Leite** pelos puxões de orelha e valiosos conselhos, além da amizade, companheirismo e valiosa ajuda no estudo.

A **Maria Teresa** (tezinha), pela amizade e por sempre estar pronta a me ajudar.

A Dra. **Wanda Andrade** e a Dra. **Jonaina**, pela ajuda nas avaliações dos voluntários.

A **Farmacêutica e amiga Júlia Aparecida**, pela ajuda na formulação do placebo.

Aos **técnicos da UNIFAC Raimundo e Jálber**, pela imensa ajuda na realização deste trabalho.

Aos **bolsistas da UNIFAC Gabriela, Hugo, Maria Paula e Sawana** pela grande ajuda durante o estudo.

Aos funcionários da UNIFAC, **Fábia, Paulo e Evanir**, pela ajuda durante o estudo.

Aos **amigos e pós-graduandos** do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, **Danilo, Tiago, Iana e Alana** pelos bons momentos.

Aos colegas do LOE **Cecília Carvalho**, pela troca de experiências, **José Roberto e Carla Sombra**, pela imensa ajuda na realização do Teste do Cometa.

Aos **voluntários**, sem os quais essa pesquisa não poderia ser realizada;

Ao **Comitê de Ética em Pesquisa Clínica**, que norteia o trabalho de pesquisa realizado por seres humanos para seres humanos.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, ao **Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq)** e ao **Instituto Claude Bernard (InCB)** pelo apoio financeiro.



RESUMO

AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA E GENOTOXICIDADE DO CHÁ DE *ALPINIA ZERUMBET* (PERS.) BURTT & SMITH EM VOLUNTÁRIOS SADIOS. Ana Paula Macêdo Santana. Orientadora: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, 2009.

Alpinia zerumbet, conhecida popularmente como Colônia, no Nordeste do Brasil, é uma planta medicinal usada amplamente na medicina popular na forma de chá, sendo tradicionalmente utilizada para o tratamento da hipertensão arterial. O objetivo desse estudo foi avaliar a segurança e o potencial genotóxico do chá de *A. zerumbet* em voluntários sadios. O ensaio clínico consistiu de um estudo duplo-cego, controlado por placebo, randomizado e paralelo, com 36 voluntários (18 homens e 18 mulheres), adultos. Os quais foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos: Colônia, constituído por 24 voluntários, e Placebo, composto por 12 sujeitos. Os voluntários foram tratados durante 28 dias ininterruptos com 540 mL de chá de Colônia ou Placebo. Avaliações clínica e laboratorial foram realizadas no pré-estudo, durante o período de tratamento, bem como após o encerramento do estudo. A genotoxicidade do chá de colônia, por sua vez, foi investigada mediante o emprego do teste do cometa. O índice de massa corpórea (IMC) foi de $25,300 \pm 2,918 \text{ Kg/ cm}^2$ para o grupo Colônia no pré-estudo e $25,289 \pm 2,965 \text{ Kg/ cm}^2$ no pós-estudo. No grupo Placebo o IMC foi de $25,179 \pm 2,564$ no pré-estudo e de $24,961 \pm 2,409$ no pós-estudo. As funções hematológica, hepática, renal e metabólica foram analisadas, antes, durante (14^o e 28^o dia) e após o estudo através dos exames laboratoriais, os quais não evidenciaram sinais de toxicidade. Cefaléia, sonolência, dor abdominal, vômito, flatulência e poliúria foram os eventos adversos atribuídos a ingestão do chá nos dois grupos. Pelo teste do cometa, não foram observados danos ($p < 0,05$) nos linfócitos periféricos dos voluntários tratados com o chá de colônia. Os estudos de toxicologia clínica e genotoxicidade não evidenciaram nenhuma toxicidade nos voluntários tratados por 28 dias ininterruptos com o chá de Colônia.

Palavras-chave: *Alpinia zerumbet*. Toxicologia. Genotoxicidade.



ABSTRACT

SAFETY AND GENOTOXICITY EVALUATION OF THE *ALPINIA ZERUMBET* (PERS.) BURTT & SMITH TEA ON HEALTHY VOLUNTEERS. Ana Paula Macêdo Santana. Advisor: Prof. Dr. Maria Elisabete Amaral de Moraes. Master's Dissertation. Post-Graduate Program in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Ceara, 2009.

Alpinia zerumbet, popularly known as Colonia in the Northeast of Brazil, is a medicinal plant widely used in the popular medicine as a tea, being traditionally used to treat arterial hypertension. The objective of this study was to evaluate the safety and genotoxic potential of the *A. zerumbet* tea in healthy volunteers. Clinical trial consisted of a double-blind study, placebo controlled, randomized and parallel, with 36 adult volunteers (18 men and 18 women), which were randomly distributed in two groups: Colonia, consisted of 24 volunteers, and Placebo, consisted of 12 subjects. The volunteers were treated for 28 consecutive days, with 540 mL of Colonia or Placebo tea. Clinical and laboratorial evaluations were performed during the pre-study and treatment, as well as during the closure of the study. The genotoxicity of the Colonia tea was investigated by the comet assay. The body mass index (BMI) was 25.300 ± 2.918 Kg/ cm² for the Colonia group in the pre-study and 25.289 ± 2.965 Kg/ cm² in the end of the study. For the Placebo group, BMI was 25.179 ± 2.564 in the pre-study and 24.961 ± 2.409 after the study. The blood, liver, kidney and metabolic functions were analyzed before, during (14th and 28th day) and after the study by the evaluation of laboratorial exams, which did not evidence signs of toxicity. Headache, sleepiness, abdominal pain, vomit, flatulence and polyuria were the adverse events attributed to the ingestion of the tea in both groups. The comet assay did not show damage in peripheral lymphocytes of the volunteers treated with the Colonia tea ($p < 0.05$). The clinical toxicology and genotoxicity studies did not evidence any toxicity in the volunteers treated for 28 consecutive days with the Colonia tea.

Keywords: *Alpinia zerumbet*. Toxicology. Genotoxicity.



LISTA DE FIGURAS

1	Foto ilustrativa de uma espécime de <i>A. zerumbet</i>	37
2	Foto ilustrativa das flores de <i>A. zerumbet</i>	37
3	Apresentação do sachê teste.....	51
4	Apresentação do sachê placebo.....	52
5	Esquema do delineamento experimental.....	53
6	Tipos de cometas: Representação dos cometas corados com brometo de etídeo e visualizados no microscópio de fluorescência....	61
7	Valores do índice de massa corporal (IMC) calculados nas fases de pré-estudo e pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	68
8	Evolução temporal da pressão arterial média, medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia.....	69
9	Evolução temporal da pressão arterial média no grupo Placebo, mensurada com o voluntário sentado.....	69
10	Evolução temporal da pressão arterial média no grupo Colônia, mensurada com o voluntário sentado.....	70
11	Evolução temporal da pressão arterial sistólica, medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia.....	71
12	Evolução temporal da pressão arterial sistólica no grupo Placebo, mensurada com o voluntário sentado.....	71
13	Evolução temporal da pressão arterial sistólica no grupo Colônia, mensurada com o voluntário sentado.....	72
14	Evolução temporal da pressão arterial diastólica, medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia.....	73
15	Evolução temporal da pressão arterial diastólica no grupo Placebo, mensurada com o voluntário sentado.....	73
16	Evolução temporal da pressão arterial diastólica no grupo Colônia, mensurada com o voluntário sentado.....	74
17	Evolução temporal da pressão arterial média, medida com o voluntário em decúbito dorsal, nos grupos Placebo e Colônia.....	75
18	Evolução temporal da pressão arterial sistólica, medida com o voluntário em decúbito dorsal, nos grupos Placebo e Colônia.....	76
19	Evolução temporal da pressão arterial diastólica, medida com o voluntário em decúbito dorsal, nos grupos Placebo e Colônia.....	76
20	Evolução temporal da pressão arterial média, medida com o voluntário em posição ortostática, nos grupos Placebo e Colônia.....	77
21	Evolução temporal da pressão arterial sistólica, medida com o	

	voluntário em posição ortostática, nos grupos Placebo e Colônia.....	78
22	Evolução temporal da pressão arterial diastólica, medida com o voluntário em posição ortostática, nos grupos Placebo e Colônia.....	78
23	Evolução temporal da frequência de pulso nos grupos Placebo e Colônia.....	79
24	Evolução temporal da frequência de pulso no grupo Placebo.....	80
25	Evolução temporal da frequência de pulso no grupo Colônia.....	80
26	Contagem de hemácias realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	81
27	Quantificação da hemoglobina realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dia e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	82
28	Contagem de plaquetas realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	82
29	Valores do hematócrito mensurados no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	83
30	Valores do TAP mensurados no pré-estudo, nos dias 14 e 28 e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	83
31	Contagem de leucócitos realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	84
32	Quantificação de eosinófilos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos voluntários dos grupos Placebo e Colônia.....	85
33	Quantificação de neutrófilos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	85
34	Quantificação de basófilos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	86
35	Quantificação de linfócitos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	86
36	Quantificação de monócitos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	87
37	Concentração sanguínea de AST mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	87
38	Concentração sanguínea de ALT mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	88

39	Concentração sangüínea da fosfatase alcalina mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	88
40	Concentração sangüínea de bilirrubina total mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	89
41	Concentração sangüínea de albumina mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	89
42	Concentração sangüínea da uréia mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	90
43	Concentração sangüínea da creatinina mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	90
44	Concentração sangüínea de colesterol total mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	91
45	Concentração sangüínea da glicose mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	92
46	Concentração sangüínea de triglicerídeos mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia.....	92
47	Índice de dano do DNA no pré e pós-estudo dos voluntários participantes do ensaio clínico.....	95



LISTA DE TABELAS

1	Características dos voluntários selecionados para o estudo.....	67
2	Ocorrência de cefaléia entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.....	93
3	Ocorrência de sonolência entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.....	93
4	Ocorrência de dor abdominal entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.....	94
5	Ocorrência de poliúria entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.....	94
6	Ocorrência de vômito entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.....	94
7	Ocorrência de flatulência entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.....	95



LISTA DE QUADROS

1	Equipamentos utilizados na avaliação clínica dos voluntários.....	56
2	Equipamentos utilizados no Teste do Cometa.....	62
3	Reagentes utilizados no Teste do Cometa.....	62



LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

β-hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana Beta
a.C.	Antes de Cristo
ACO	Anticoncepcional
ALT	Alanina Aminotransferase
ANOVA	Análise de Variância
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	Aspartato Aminotransferase
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
COMEPE	Comitê de Ética em Pesquisa da UFC
CRF	Formulário para Relato de Caso
d.C.	Depois de Cristo
DDK	Dihidro-5,6-deidrokawaina
DL₅₀	Dose Letal para 50% dos indivíduos
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DP	Desvio Padrão
EA	Evento Adverso
ECG	Eletrocardiograma
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
FDA	Food and Drugs Administration
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana

IMC	Índice de Massa Corpórea
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IVAS	Infecção das vias aéreas superiores
MS	Ministério da Saúde
LMP	Low melting point
NMP	Normal melting point
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAM	Pressão Arterial Média
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PBS	Tampão fosfato de sódio
POP	Procedimento Operacional Padrão
RBC	Rede Brasileira de Calibração
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RPM	Rotações por minuto
SCGE	Single Cell Gel Electrophoresis Assay
Sindusfarma	Sindicato da Indústria de Produtos Farmacêuticos
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNIFAC	Unidade de Farmacologia Clínica
WHO	World Health Organization



SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
1.1	Fitoterapia: um breve histórico	29
1.2	Medicamentos fitoterápicos no Brasil	33
1.3	<i>Alpinia zerumbet</i>	35
1.4	Toxicologia clínica	39
1.5	Genotoxicidade	40
1.6	Justificativa	41
2	OBJETIVOS	44
2.1	Objetivo geral	44
2.2	Objetivos específicos	44
3	PROTOCOLO DE ESTUDO	46
3.1	Tipo de estudo	46
3.2	Local do estudo	46
3.3	Sujeitos da pesquisa	47
3.3.1	Seleção dos voluntários.....	47
3.3.2	Critérios de inclusão.....	47
3.3.3	Critérios de exclusão.....	48
3.3.4	Critérios de admissão.....	49
3.3.5	Critérios para retirada do estudo.....	49
3.3.6	Restrições aos voluntários.....	50
3.4	Produto avaliado	50
3.4.1	Identificação da planta.....	50

3.4.2	Parte da planta utilizada.....	50
3.4.3	Preparação do produto.....	50
3.4.4	Constituintes do produto teste e placebo.....	51
3.5	Delineamento do estudo.....	52
3.5.1	Caracterização dos grupos.....	53
3.5.2	Método de Randomização e Mascaramento.....	53
3.6	Tratamento.....	54
3.6.1	Preparo do chá.....	54
3.6.2	Administração do chá.....	54
3.6.3	Posologia.....	55
3.7	Avaliação clínica e Laboratorial.....	55
3.7.1	Sinais vitais.....	55
3.7.2	Exame clínico.....	56
3.7.3	Exames laboratoriais.....	56
3.7.4	Eventos adversos.....	57
3.8	Toxicogenética.....	59
3.8.1	Teste do cometa.....	59
3.8.2	Protocolo do teste do cometa.....	59
3.8.3	Material utilizado.....	62
3.8.4	Soluções Utilizadas.....	63
3.9	Análise estatística.....	63
3.10	Aspectos éticos.....	64
3.10.1	Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	64
3.10.2	Termo de consentimento.....	65
4	RESULTADOS.....	67
4.1	População estudada.....	67
4.2	Avaliação Cardiológica.....	68
4.3	Sinais Vitais.....	68

4.4	Exames laboratoriais.....	81
4.5	Eventos Adversos.....	92
4.6	Genotoxicidade.....	95
5	DISCUSSÃO.....	97
6	CONCLUSÃO.....	105
	REFERÊNCIAS.....	107
	GLOSSÁRIO.....	117
	APÊNDICES.....	122
	ANEXOS.....	154



1 INTRODUÇÃO

1.1 Fitoterapia: um breve histórico

No processo evolutivo da arte de curar, atormentados pelos eternos sonhos de encontrar o elixir da longa vida e sempre procurando evitar doenças, sofrimentos físicos e mentais, o homem não mediu esforços para buscar no seu próprio meio métodos de mitigar o seu sofrimento. Do seu poder observador nasceu a medicina popular, a qual adquiriu características típicas de cada cultura, e as plantas foram o principal instrumento utilizado pelo homem para a cura de seus males (SOUZA, 1993).

Desde os primórdios da civilização, o homem vem desenvolvendo e experimentando o tratamento de doenças através do uso de plantas. Numerosas etapas marcaram a evolução da arte de curar, porém, torna-se difícil delimitá-las com exatidão, já que a medicina esteve longamente associada a práticas místicas e ritualísticas. Os curandeiros foram os primeiros a utilizar as plantas medicinais e observar os seus efeitos curativos. Entretanto, as receitas mais antigas registradas sobre o uso de plantas para fins medicinais datam de aproximadamente 3700 anos a.C. e foram encontradas na pirâmide do faraó Quéops, no Egito (MOUSSATCHÉ, 1991).

A história da terapêutica começa, provavelmente, por Mitridates, rei de Pontos, século II a.C., sendo ele o primeiro farmacologista experimental. Nessa época, já eram conhecidos os opiáceos, a cila e inúmeras plantas tóxicas. No Papiro de Ebers, de 1550 a.C., descoberto no século XIX em Luxor, no Egito, foram mencionadas cerca de 700 drogas diferentes, incluindo extratos de plantas, metais (chumbo e cobre) e venenos de animais (ALMEIDA, 1993; CARNEIRO, 1997).

A arte de embalsamar cadáveres, evitando que estes entrassem em estado de putrefação, foi desenvolvida pelos antigos egípcios. Foram necessários vários experimentos com diferentes plantas para dar conhecimento ao mundo e deixar a arte como herança (ALZUGARY; ALZUGARY, 1983).

Assírios e hebreus, ao que se sabe, também cultivaram diversas plantas úteis. Os primeiros elaboravam águas aromáticas, tinturas e unguentos, enquanto os hebreus empregavam, em seus rituais religiosos e sacrifícios, plantas como a mirra e o incenso, entre outras (LYONS, 1987).

Markapal-Iddina II da Babilônia (772 - 710 a.C.) construiu um jardim com 64 espécies de plantas medicinais. A Farmacopéia Babilônica e Sumeriana englobavam 250 plantas, 120 substâncias minerais e 180 de origem animal. Muitas das plantas são as mesmas citadas nos papiros egípcios, que mais tarde foram incorporadas pelos gregos, romanos e, posteriormente, pelos árabes (LYONS, 1987).

Pela riqueza e exuberância de sua flora medicinal, alguns autores cognominaram a Índia como o “Eldorado dos medicamentos ativos”. Dentre os mais importantes substratos de drogas indianas estão o sândalo, a canela e o cardamomo. Do segundo período bramânico, datam três obras fundamentais - o Caraca, o Susruta e o Vagabhta, que discorrem sobre essências, elixires, purgantes, tinturas e extratos aquosos e exaltam as virtudes de certos vegetais, bem como de diversos outros medicamentos e receitas (LYONS, 1987).

Na Idade Antiga, os gregos foram, praticamente, os iniciadores dos primeiros ensaios médico-botânicos, usando para isso, os cultos aos deuses vegetais nas suas curas milagrosas, através das plantas. O valor terapêutico ou tóxico de algumas delas era bastante conhecido na Antiga Grécia. Em muitos jardins e hortas cultivavam-se determinadas espécies medicinais. Hipócrates (460-377 a.C.), denominado o “Pai da Medicina”, reuniu em sua obra *Corpus Hippocraticum* a síntese dos conhecimentos médicos de seu tempo, indicando, para cada enfermidade, o remédio e o tratamento adequado. Prescrevia para os seus pacientes regimes e dietas nos quais incluía o uso de plantas com propriedades medicinais (LYONS, 1987; GUILLÉM, 1987).

A produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de doenças começaram com o uso de plantas medicinais. No começo da Era Cristã, Pedanius Dioscórides, médico grego que trabalhou nas legiões romanas, coletou e descreveu muitas plantas ao redor do mar Mediterrâneo e publicou a obra *De Matéria Médica*, usada há mais de 15 séculos, em cinco volumes, com mais de 500 produtos de origem vegetal, descrevendo o emprego terapêutico de muitas delas. A farmacopéia

grega assimilou grande parte das farmacopéias cretense e micênica, que conheciam várias plantas medicinais como o sésamo e o açafrão (LYONS, 1987).

Galeno (Claudius Galenus), nascido em Pérgamo, Ásia Menor, iniciou sua carreira como médico dos gladiadores, em Alexandria, e mais tarde foi o médico particular do Imperador Marco Aurélio (161 - 180 d.C.) em Roma. Desenvolveu a ciência de preparação de medicamentos sendo por isso considerado como “O Pai das Ciências Farmacêuticas”. Até os nossos dias, preparações de origem natural são classificadas como “galênicas” (GUILLÉM, 1987; MARGOTA, 1989).

Na Idade Média, ocorreu o triunfo da “medicina dos signos”, que postulava a cura de determinadas partes doentes do corpo por meio de plantas que lhes fossem semelhantes. Durante esse período a botânica passou a ser estudada apenas nos mosteiros, onde os hortos de plantas medicinais eram conhecidos como “jardins do paraíso”. No ano de 812, Carlos Magno, que reinou em Roma e sobre grande parte da Europa Central e metade norte da Itália de 771 a 814, emitiu um edital dando aos mosteiros e aos monges a responsabilidade sobre a manutenção de hortos de plantas medicinais nativas e introduzidas, uma vez que os hospitais ficavam dentro ou ligados aos mosteiros (GUILLÉM, 1987).

Paracelso preconizava que as plantas poderiam ser empregadas em medicina dentro de seus três estados: vivas, mortas ou ressuscitadas. A planta viva, principalmente se aromática, modificava o centro ou corpo interior, o seu perfume tonificava todas as inflamações das mucosas respiratórias. A planta colhida podia ser utilizada esotericamente em sumo, em pó, em infusão, em decocção, em magistério (pela fórmula e preparação mágicas), em tinturas e em quintessência. Um medicamento vegetal seria tanto mais ativo se a pessoa que o manipulasse, além de sadia, tivesse a intenção sincera de curar (GUILLÉM, 1987).

Os árabes, que foram os primeiros a distinguir a medicina da farmácia, contribuíram muito para a difusão de diversas plantas medicinais nas costas do Mediterrâneo (França, Itália e Espanha). Dentre os principais médicos árabes que se ocuparam das plantas medicinais estão, Avicena (978-1036), que se tornou tão famoso quanto Hipócrates e Galeno, e Ibn Baithar, que em sua obra Kitabal-Dschamial kabu (grande compilação de medicamentos e alimentos simples) trata de 1.400 drogas, das quais 200 citadas ineditamente (GUILLÉM, 1987).

No século XVI, Valérius Cordus escreveu vários tratados contendo inclusive plantas das Américas, sendo considerado o pai da Farmacognosia, termo

idealizado por Seydler, em 1815, para designar um dos ramos da farmacologia que se ocupa em examinar e caracterizar as drogas ou bases medicamentosas de origem natural, utilizadas como matéria-prima para preparação de medicamentos (DI STASI, 1996).

Ao final do século XIX, o desenvolvimento da química abriu caminho para a pesquisa dos princípios farmacológicos ativos obtidos de fontes naturais. Até 1828, quando Friedrich Wöhler produziu a síntese da uréia a partir de uma substância inorgânica, o cianato de amônio, o homem não concebia como fonte de matéria orgânica qualquer coisa que não fosse vegetal ou animal. Isto significa que, descontado praticamente o século XX, toda a história da medicina encontra-se intimamente ligada às plantas medicinais (GUILLÉM, 1987).

A utilização de plantas na prevenção e cura das doenças, condicionadas a um processo de experimentação que vem se desenvolvendo desde os tempos mais remotos, constitui a base da medicina popular. Em maio de 1978, através de uma resolução de sua XXXI Assembléia Geral, a Organização Mundial de Saúde - OMS, órgão das Nações Unidas, determinou o início de um programa mundial com o fim de avaliar e utilizar estes métodos.

A grande invasão do mercado Sul-americano pelas indústrias farmacêuticas multinacionais veio facilitar a distribuição dos medicamentos oriundos da síntese química, distanciando, assim, os profissionais da área de saúde dos conhecimentos populares regionais (CALIXTO, 1996). O desinteresse pelo desenvolvimento de pesquisa, produção, controle e dispensação de plantas medicinais contribuiu com a expansão do comércio de medicamentos produzidos por síntese com conseqüente elevação de preços (SINDUSFARMA, 1995), deixando a população de baixa renda excluída do uso desses fármacos e tendo que optar pelo uso de produtos naturais oferecidos por "curandeiros" sem nenhum conhecimento científico de seus reais efeitos farmacológicos e/ou toxicológicos (GOLDFRANK, 1982).

A grande maioria da população tem fácil acesso às ervas e plantas medicinais, enquanto os medicamentos industrializados apresentam como principal obstáculo o alto custo, tanto para o consumidor individual, como para as entidades previdenciárias, não mencionando os efeitos colaterais ocasionados pelo seu uso extensivo. Diante disso, fazem-se necessários o isolamento desses princípios ativos e a comprovação da atividade farmacológica daqueles fármacos, para que esses

possam se tornar medicamentos de eleição. Como exemplo de medicamento de origem vegetal com perfil farmacológico definido, pode-se destacar o digital, extraído da *Digitalis purpurea* e da *Digitalis lanata*, usado no tratamento da insuficiência cardíaca (BRAGA, 1976; MATOS; ANJOS, 1989).

No momento, existe uma grande necessidade de realizar uma avaliação científica, metódica e exata que permita constatar as propriedades terapêuticas propaladas de certas ervas medicinais, bem como descobrir outras de suas propriedades benéficas. O nordeste brasileiro, devido às suas características peculiares, embora com uma flora pouco diversificada quando comparada à região amazônica, por exemplo, possui muitas espécies que lhe são exclusivas e tem se caracterizado pela riqueza em produtos naturais com propriedades medicinais (BRAGA, 1976; MATOS; ANJOS, 1989)..

Muitos trabalhos já foram produzidos acerca do uso terapêutico das plantas medicinais do Brasil. Na Universidade Federal do Ceará, o grupo coordenado pelo Prof. Dr. Francisco José de Abreu Matos e o Departamento de Fisiologia e Farmacologia muito tem contribuído para o entendimento e melhor utilização das plantas de uso popular através de suas caracterizações farmacológicas. Apesar disso, o potencial terapêutico desses vegetais ainda é praticamente inexplorado e desconhecido.

1.2 Medicamentos fitoterápicos no Brasil

A flora brasileira, dada a sua vastidão e diversificação de espécies, constitui-se em um dos maiores celeiros de matéria-prima de produtos naturais existentes no mundo (MORS *et al.*, 2000). Embora a cultura popular faça uso de plantas medicinais há milênios (GUILLÉM *et al.*, 1987), apenas nas últimas décadas a ciência tem se preocupado em industrializá-las na forma de fitoterápicos e em descobrir quais os seus princípios ativos, seu modo de ação, bem como seus possíveis efeitos adversos (KIRGORN; BALANDRIN, 1993; NEWALL *et al.*, 1996; ALONSO, 1998).

Embora eficientes, os medicamentos sintéticos industrializados são, geralmente, de custo elevado e de difícil acesso à população de baixa renda. Esses fatores, aliados a uma cultura milenar do uso de recursos naturais, fazem com que uma grande parcela da população busque, nos fitoterápicos, a eficiência terapêutica para o tratamento das suas doenças (ELIZABETSKY, 1987; GILBERT *et al.*, 1997; MATOS, 2000).

Na cultura popular afirma-se que “o que é natural não faz mal”, o que induz muitas pessoas a usarem os fitoterápicos como medicamentos de primeira escolha, em substituição aos medicamentos convencionais, ou, como adjuvantes, numa terapia complementar, sem a orientação adequada. Entretanto, não podemos esquecer que os fitoterápicos possuem moléculas ativas que podem apresentar eficácia terapêutica, mas também inúmeros efeitos adversos (LEWIS, 1977; MATOS, 1989; PEREIRA, 1992). Além disso, não se conhece, devidamente, a sua posologia e, na grande maioria das vezes, a existência de um marcador que possa lhe conferir a credibilidade no controle de qualidade (ROBBERS *et al.*, 1996; SOUZA, 2000). Portanto, os fitoterápicos, quando usados de forma incorreta, podem agravar o estado de saúde do paciente, por não apresentarem eficácia ou em função de efeitos adversos ainda não elucidados (PETROVICK *et al.*, 1997).

A medicina é uma ciência experimental, baseada em evidências claras e inequívocas. Por isso, somente estudos clínicos sérios e bem conduzidos (MEITNERT, 1986; POCOCK, 1987; FRIEDMAN, 1995; SPILKER, 1991) poderão contribuir para introduzir os fitoterápicos no arsenal terapêutico e no receituário de prescrição médica (GARCIA *et al.*, 1998). Portanto, é necessária, o mais rápido possível, a comprovação de que os fitoterápicos são realmente eficazes no tratamento das doenças para as quais estão indicados e, principalmente, verificar se os mesmos não apresentam toxicidade significativa, que possa inviabilizar o seu uso terapêutico (PETROVICK, 1997; FERREIRA, 1998; CALIXTO, 2000).

Diversos fitoterápicos usados no Brasil têm sido documentados como sendo seguros e eficazes, baseados apenas em estudos pré-clínicos *in vitro* ou *in vivo*, realizados em animais. Entretanto, esses estudos não garantem evidências suficientes para assegurar a sua eficácia e segurança em seres humanos (PIMENTEL *et al.*, 2001).

É importante ressaltar que quando não é possível avaliar de imediato a eficácia terapêutica de um fitoterápico, deve-se pelo menos demonstrar a sua segurança em seres humanos (KINGORN; BALANDRIN, 1993; WHO, 1998).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da RDC 48 de março de 2004 dispõe sobre registro dos fitoterápicos no Brasil. Por essa resolução, consideram-se fitoterápicos produtos obtidos exclusivamente de matérias-primas vegetais e são estabelecidas normas para garantir qualidade, segurança e eficácia para produtos novos bem como aqueles de uso tradicional que tem sua utilização baseada em levantamentos etnofarmacológicos.

A garantia da qualidade de um fitomedicamento constitui a primeira etapa antes de se testá-lo em seres humanos. Nesta etapa, são exigidas informações gerais da droga vegetal desde sua descrição botânica, parte da planta empregada, testes de identificação, pureza, presença de contaminantes e análise qualitativa e quantitativa do(s) princípio(s) ativo(s) (MORAES *et al.*, 2004).

A segurança deve ser o principal critério na escolha de um fitoterápico. A seleção criteriosa, análises químicas, ensaios clínicos e medidas regulatórias restritivas devem ser seguidas e respeitadas com relação aos fitoterápicos (WHO, 1993). Ensaios clínicos controlados devem confirmar se esses medicamentos são realmente seguros para uso a curto, médio e longo prazo. Não é eticamente aceitável, nem moralmente justificável prescrever fitoterápicos sem a evidência científica de sua qualidade, eficácia e segurança. Portanto, a pesquisa clínica cientificamente conduzida é necessária para proporcionar informações adicionais aos pacientes (SPRIET, 1994).

1.3 *Alpinia zerumbet*

Alpinia zerumbet pertence à família Zingiberaceae, sendo esta a maior da ordem Zingiberales, constituída de 53 gêneros e mais de 1.200 espécies nativas de regiões tropicais, especialmente do sul e sudeste da Ásia (CRONQUIST, 1981), expandindo-se através da África tropical até a América do Sul e Central (TOMLINSON, 1969). Suas espécies, principalmente da floresta primária, crescem

em habitats sombreados ou semi-sombreados, ricos em húmus (DAHLGREN *et al.*, 1985).

A. zerumbet é uma planta herbácea, rizomatosa, perene, com colunas de 2 a 3 metros de altura, lisas, verde-claras, agrupadas em touceiras, com caule aéreo curto (Figura 1). As folhas são curto-pecioladas, com longa bainha aberta e lígula desenvolvida, pontudas, invaginantes, verde-luzidias, de margens ciliadas de 50 a 70 cm de comprimento sobre 10 a 12 de largura e apresentam nervura paralela (Figuras 1 e 2A). As flores são ligeiramente aromáticas, dispostas em cachos grandes e pendentes, amarelo-róseas com três lobos e um grande lábio (Figura 2) (ALBUQUERQUE; NEVES, 2004; CAMARGO, 1998; ALICE *et al.* 1995; PANIZZA, 1997). O fruto é uma cápsula globosa com dois centímetros de diâmetro e abriga várias sementes. Sua propagação se dá por meio da divisão de rizomas (FLORES; FOLHAS, 2008).

Alpinia é o maior gênero da família, com mais de 200 espécies (CRONQUIST, 1981). A espécie estudada, *A. zerumbet* (Pers.) Burt & Smith, muito cultivada pela beleza de suas flores (JOLY, 1993), é conhecida pelos nomes vulgares de colônia, paco-seroca, cuité-açu, pacova (ALMEIDA, 1993), gengibre-concha (LORENZI; SOUZA, 1995), cardamono-falso, cana-do-brejo, cana-do-mato e paco-seroso (MACHADO, 1996).

Muitas espécies da família têm valor econômico fornecendo alimentos (féculas dos rizomas), perfumes, condimentos de propriedades aromáticas, corantes, fibras e papel (TOMLINSON, 1969). No aspecto ornamental, destacam-se os gêneros *Zingiber*, *Alpinia*, *Nicolaia*, *Hedychium* e *Kaempferia* pela beleza da folhagem e da inflorescência (WINTERS, 1995).



Figura 1-Foto ilustrativa de uma espécime de *A. zerumbet*.



Figura 2-Foto ilustrativa das flores de *A. zerumbet*, evidenciando a coloração externa (A) e interna (B) das flores.

A colônia foi trazida para o Brasil no século XIX para o Jardim Botânico do Rio de Janeiro, onde recebeu o nome de *flor-da-redenção* e *bastão-do-imperador*, o qual, segundo se admite, devem-se ao fato de terem sido usadas as flores dessa planta para presentear a princesa Isabel, logo após ter assinado a Lei Áurea, em 13 de maio de 1888 (CAMARGO, 2008).

O gênero *Alpinia* inclui um largo número de espécies aromáticas que são extensamente utilizadas na medicina popular (LAHLOU *et al.*, 2003). A espécie *A. zerumbet* é abundante no norte e no nordeste do Brasil, onde é popularmente conhecida como Colônia.

Preparados à base de *A. zerumbet* são utilizados na medicina popular para o tratamento de diversos males. Segundo Almeida (1993) as propriedades medicinais da espécie estão relacionadas às folhas, flores e rizoma sendo consideradas depurativas, diuréticas, anti-histéricas, estomáquicas e vermífugas. É tradicionalmente usada para o tratamento da hipertensão e como agente antiespasmódico (BEZERRA *et al.*, 2000). Seu uso como anti-hipertensivo e diurético tem sido consagrado pelo povo sob a forma de chá, cujo emprego é generalizado entre os cardíacos e hipertensos, no Nordeste (MATOS, 2007). É ainda utilizada por lavradores da região de Ribeirão Preto (SP) no tratamento de reumatismo e males cardíacos (CARLINE, 1973).

As atividades farmacológicas descritas na literatura fornecem indícios que podem explicar, pelo menos em parte, alguns dos usos terapêuticos da *A. zerumbet* na medicina popular. A espécie tem sido largamente estudada em relação às suas propriedades farmacológicas.

Diversos estudos confirmam sua ação anti-hipertensiva aliada a uma atividade sedativa (MATOS, 2007). Os estudos com o extrato hidroalcoólico da folha da colônia realizados por Mendonça *et al.* (1991) e Moura *et al.* (2005) e o estudo realizado por Lahlou *et al.* (2002) com o óleo essencial da colônia confirmaram o seu efeito hipotensor. Fonteles e Oliveira (1984 *apud* ALMEIDA, 1993) obtiveram resultados significativos quanto ao efeito diurético em estudos realizados com *A. zerumbet*. Um ensaio clínico realizado por Vargas (2002), envolvendo vinte e dois pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial que fizeram uso de uma a seis cápsulas contendo 250 mg cada do extrato seco de *Alpinia speciosa* mostrou que houve uma queda da pressão arterial sistólica e diastólica, sendo o estudo esento de efeitos colaterais e com boa tolerabilidade.

A colônia também tem sido estudada em relação às suas propriedades antifúngicas (LIMA *et al.*, 1993) e antiinflamatória (SANTANA *et al.*, 1966).

De acordo com Singer *et al.* (2003) os compostos fenólicos compreendem o principal grupo de metabólitos secundários da planta. Foram isolados dos rizomas de *A. zerumbet*, os compostos dihidro-5,6-dehidrokawaina, e 5,6-dehidrokawaina que demonstraram serem os responsáveis pela atividade protetora da mucosa gástrica e duodenal em modelos de úlceras induzidas experimentalmente em roedores (HSU, 1987). Também foram isolados dos rizomas de *A. zerumbet* derivados de dehidrokawaina com atividade antiplaquetária (TENG *et al.*, 1990).

A fração de óleo essencial é rica em terpinen-4-ol, 1,8-cineol e metil – eugenol (CRAVEIRO *et al.*, 1976). O óleo essencial extraído das folhas de colônia apresentou atividades relaxantes e anti-espasmódicas no íleo de ratos (BEZERRA *et al.*, 2000). Essa atividade anti-espasmódica é provocada por moléculas de sesquiterpenos presentes nos extratos metanólicos dos rizomas e das folhas de *A. zerumbet* e *A. japonica* (MORITA *et al.*, 1996). Em ensaios fitoquímicos realizados por Elzaawely *et al.* (2007a; 2007b), foram isolados óleo essencial, compostos fenólicos e dihidro-5,6-dehidrokawaina das folhas, rizoma, flores e sementes de *A. zerumbet*, onde foi demonstrado que esses compostos apresentam uma atividade antioxidante.

A administração do extrato hidroalcolico de *A. zerumbet* em animais, produziu excitação psicomotora, contorções, hipocinese, além de prolongar o tempo de sono (DI STASI, 2002).

Relevante estudo toxicológico pré-clínico foi realizado por Oliveira (2008). O estudo avaliou o perfil toxicológico e genotoxicológico do extrato aquoso e do óleo essencial das folhas de *A. zerumbet*, além de estabelecer a DL₅₀ do extrato aquoso. Segundo Oliveira, o extrato aquoso e o óleo essencial não se mostraram citotóxicos e nem genotóxicos. A DL₅₀ do extrato aquoso das folhas de *A. zerumbet* foi > 5 g/Kg demonstrando que os princípios ativos do extrato aquoso apresentam baixa toxicidade.

1.4 Toxicologia clínica

Os fitoterápicos são considerados medicamentos e, portanto, a toxicidade, as possíveis interações medicamentosas e as reações adversas (RAM) devem ser consideradas e avaliadas pelo médico durante o tratamento (WONG; CASTRO, 1997).

Não existe forma de eliminar completamente a possibilidade de alguma substância, incluindo fitoterápicos, produzir efeitos colaterais como reações alérgicas em pessoas sensíveis às mesmas (D'ARCY, 1991; 1993; PILLANS, 1995). A Organização Mundial de Saúde (OMS), na Declaração de 1978, abriu a

possibilidade de um diálogo entre os métodos tradicionais e os modernos de cuidados com a saúde, num entendimento de que práticas médicas inseguras devem ser eliminadas e somente aquelas seguras e eficazes devem ser consideradas (WHO, 1998).

A segurança deve ser o principal critério na escolha de um fitoterápico. A seleção criteriosa, análises químicas, ensaios clínicos e medidas regulatórias restritivas devem ser seguidas e respeitadas com relação aos fitoterápicos (WHO, 1993). Não é eticamente aceitável, nem moralmente justificável, prescrever fitoterápicos sem a evidência científica da sua qualidade, eficácia e segurança. Portanto, a pesquisa clínica cientificamente conduzida é necessária para proporcionar informações adicionais aos pacientes (SPRIET, 1994).

O desenho experimental de toxicologia clínica consiste de um estudo aberto, não randomizado, com 20 a 26 voluntários saudáveis de ambos os sexos, com idade variando entre 18 a 50 anos. Os voluntários, que forem considerados qualificados para inclusão no estudo, receberão ambulatorialmente, a dose diária da posologia especificada, durante um período de tempo variável que pode ser de 07 a 28 dias ininterruptos, dependendo da indicação terapêutica (MEITNERT, 1986).

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o “termo de consentimento livre e esclarecido” deverão ser submetidos e aprovados por um CEP credenciado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) - CNS/MS. O Estudo deve ser conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), África do Sul (1996) e Edimburgo (2000) e a Resolução 196/96 e 251/97 do CNS-MS (BRASIL, 1996; BRASIL, 1997; POCOCK, 1987; SPILKER, 1991).

1.5 Genotoxicidade

A genotoxicidade é um campo de conhecimento relativamente recente, e se situa na interface entre toxicologia e genética, por isso denominada, freqüentemente, também de genética toxicológica. Esta visa o estudo dos processos que alteram a base genética da vida, quer seja em sua estrutura físico-química, o

DNA (ácido desoxirribonucléico), processo classificado como mutagênese; quer seja na alteração do determinismo genético a níveis celulares ou orgânicos, identificados respectivamente como carcinogênese e teratogênese. Estas três especialidades são agrupadas em uma área de estudo, pois um mesmo produto pode desencadear os três efeitos, a mutagênese, a carcinogênese e a teratogênese, como por exemplo, as radiações gama (PEGAS HENRIQUES, 2003).

Inúmeras técnicas que detectam danos no DNA têm sido utilizadas para identificar substâncias com atividade genotóxica (TICE *et al.*, 2000). Na última década, a técnica de ensaio do cometa ou eletroforese em gel de núcleo individual, permitiu avaliar um maior número de pessoas. A grande vantagem dessa metodologia é ser simples, rápida, e de baixo custo. O teste também tem suas limitações, necessita de controles muito bem estabelecidos por ser muito sensível, o tempo entre a exposição e análise deve ser o mais curto possível, não é um teste de mutagenicidade, pois o dano pode ser reparado, por isto o tempo curto de detecção.

1.6 Justificativa

Estudos farmacológicos envolvendo plantas medicinais têm sido temas de inúmeras análises nos mais variados tipos de eventos; entretanto, apesar de discutido há décadas, o tema ainda é polêmico, especialmente quando são analisadas questões como: estratégias a serem empregadas nesses estudos, tipos de extratos a serem preparados, modelos empregados e posologia empregada popularmente (ELISABETSKY; WANNAMACHER, 1993).

Embora a resposta a estas perguntas não seja consensual, há um aspecto neste tipo de investigação com o qual todos concordam: se as pesquisas sobre as plantas forem respaldadas pelo seu uso popular, a chance de se obter sucesso será maior (ELISABETSKY; WANNAMACHER, 1993).

O fato do chá de colônia ser um produto de reconhecida aceitação popular, especialmente pela população do nordeste brasileiro, que em sua grande maioria não tem acesso a produtos farmacêuticos e a serviços de saúde, justifica um

maior esforço que permita viabilizar seu emprego como fitoterápico, de uma forma segura, eficaz e com qualidade.

Apesar da ampla utilização popular da Colônia, nenhum ensaio clínico, até o momento, tinha sido realizado com o chá, forma usualmente utilizada pela população, com o intuito de avaliar sua segurança.

Seguindo as determinações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) esse trabalho testará cientificamente a segurança terapêutica do chá de colônia, em seres humanos.



2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a segurança do chá de *Alpinia zerumbet* em voluntários saudáveis de ambos os sexos.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar possíveis eventos adversos em voluntários saudáveis;
- Avaliar alterações laboratoriais, de significado clínico, que denotem comprometimento hematológico, metabólico, renal, hepático e cardiovascular;
- Avaliar a possibilidade de potencial genotóxico do chá de *Alpinia zerumbet* em linfócitos humanos.



3 PROTOCOLO DE ESTUDO

3.1 Tipo de estudo

O estudo foi do tipo prospectivo, duplo cego, controlado por placebo, randomizado e paralelo.

3.2 Local do estudo

O estudo foi desenvolvido na Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

A Unidade de Farmacologia Clínica, credenciada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), dispõe de uma estrutura assistencial própria que consiste de salas para consultório, enfermarias, posto de enfermagem perfazendo um total de 25 leitos, destinados exclusivamente para ensaios clínicos e fármaco-clínicos, além de toda infra-estrutura para internamento de voluntários. Está equipada com uma unidade de procedimentos especiais, dotada de monitores de eletrocardiografia, oxímetro de pulso, cardioversor/desfibrilador, ventilador artificial, bombas de infusão e toda a medicação necessária para procedimentos de urgência, inclusive ressuscitação cardiopulmonar.

A UNIFAC ainda possui um setor responsável pelo desenvolvimento de ensaios analíticos, tendo a sua área física distribuída entre laboratórios de equivalência farmacêutica, cromatografia e bioequivalência; salas de preparo de amostras, suporte, apoio, pesagem e Núcleo da Garantia da Qualidade.

3.3 Sujeitos da pesquisa

3.3.1 Seleção dos voluntários

Os voluntários foram selecionados por meio de uma avaliação clínica, conduzida por um profissional médico, que incluía a realização de exames laboratoriais e eletrocardiograma (ECG) para subsidiar a avaliação das funções metabólica, renal, hepática, hematológica e cardíaca.

3.3.2 Critérios de inclusão

Os seguintes critérios foram satisfeitos para que os voluntários participassem do estudo:

- Voluntários de ambos os sexos, com idade entre 18 e 50 anos;
- Voluntário com Índice de Massa Corpórea (IMC) maior ou igual a 19 e menor ou igual a 30;
- Boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a juízo médico, de acordo com as regras definidas no Protocolo, e avaliações a que foi submetido: história clínica, medidas de pressão e pulso, exame físico, ECG e exames laboratoriais complementares.
- Capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o Investigador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B).

3.3.3 Critérios de exclusão

A presença de qualquer um dos seguintes critérios excluiu o voluntário do estudo:

- Os resultados dos exames laboratoriais complementares encontravam-se fora dos valores considerados normais ($\pm 10\%$), a menos que fossem considerados clinicamente irrelevantes;
- Participação em qualquer estudo experimental ou ingestão de qualquer droga experimental nos três meses que antecederam o início do estudo;
- Uso regular de medicação dentro das quatro semanas que antecederam o início do estudo, ou uso de qualquer medicação uma semana antes do início;
- Internamento até oito semanas antes do início do estudo;
- História de abuso de álcool ou drogas;
- Fumar mais que 10 cigarros por dia;
- História ou presença de doenças hepáticas, gastrintestinais, renais ou outra condição que possa interferir na absorção, distribuição, excreção ou metabolismo do produto sob investigação;
- Ter história de doença pulmonar, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica; tem hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que necessite de tratamento farmacológico; tem história ou teve infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;
- Achados eletrocardiográficos não recomendados, a critério do investigador, para participação no estudo;
- História de reações adversas sérias a qualquer medicamento;
- Doação ou perda de 450 mL ou mais de sangue dentro dos três meses que antecederam o estudo.
- Pressão sistólica abaixo de 100 ou acima de 160 mmHg e/ou pressão diastólica abaixo de 70 ou acima de 100 mmHg.
- Uso de terapia de manutenção com qualquer fármaco, exceto ACO;
- Voluntária grávida ou amamentando;
- Tratamento dentro dos três meses prévios ao estudo com qualquer fármaco conhecido de ter um potencial tóxico bem definido nos grandes órgãos;

- O voluntário tem qualquer condição que o impede de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

3.3.4 Critérios de admissão

Os voluntários foram admitidos no estudo, somente se considerados saudáveis pela avaliação clínica.

Uma vez avaliada a higidez, os voluntários foram submetidos a uma nova entrevista para esclarecimento do protocolo clínico e avaliação da real disponibilidade para a participação na investigação. Após terem suas dúvidas sanadas, os voluntários, que estavam de acordo com o protocolo clínico, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.3.5 Critérios para retirada do estudo

As condições consideradas como critérios de retirada do estudo foram: desejo do voluntário de não continuar no estudo; indisponibilidade ou intolerância aos procedimentos do estudo; reações adversas atribuídas a fármacos; não aderência às exigências do protocolo; resposta positiva à reavaliação de qualquer um dos critérios de exclusão, no momento da admissão ao primeiro período de tratamento ou em ocasião subsequente; qualquer outra condição que, a juízo do investigador, seja do interesse para manutenção da saúde do voluntário.

3.3.6 Restrições aos voluntários

O consumo de bebidas alcoólicas durante o período do estudo não foi permitido. Medicamentos concomitantes foram evitados quando possível, e, quando utilizadas, tiveram registro em campo apropriado no CRF (APÊNDICE A).

3.4 Produto avaliado

3.4.1 Identificação da planta

A identificação botânica da planta encontra-se no Herbário Prisco Bezerra – EAC da Universidade Federal do Ceará sob o número 41.041.

3.4.2 Parte da planta utilizada

Foram utilizadas as folhas de *A. zerumbet*, para a fabricação dos sachês usados no ensaio clínico, sendo essas oriundas de uma plantação localizada no distrito de Ladeira Grande no município de Maranguape – Ceará, a exata localização encontra-se a 3°59'26.49" de latitude sul e a 38°42'59.10" de longitude oeste.

3.4.3 Preparação do produto

- **Sachê de Colônia**

O sachê foi formulado, utilizando-se as folhas secas de *A. zerumbet*. Somente as folhas que apresentavam aspecto sadio e bom desenvolvimento sem sinais de envelhecimento, de doenças e pragas foram colhidas. A secagem das

folhas foi feita à sombra, em área coberta, limpa e ventilada. Após a secagem, as folhas foram devidamente embaladas e encaminhadas a uma indústria para processamento e formulação dos sachês que foram utilizados no estudo.

- **Sachê Placebo**

Para a formulação do sachê Placebo, tentou-se seguir ao máximo os padrões do sachê teste. Buscou-se padronizar os tamanhos dos sachês, a quantidade de substância e o aspecto da embalagem de acordo com as características do teste. Os sachês placebo foram formulados no laboratório de Farmacotécnica da Faculdade de Farmácia e no laboratório de Equivalência Farmacêutica da UNIFAC, ambos, localizados na Universidade Federal do Ceará sob a supervisão de um profissional farmacêutico.

3.4.4 Constituintes do produto teste e placebo

O sachê teste (Lote L0108) desenvolvido para a pesquisa contém 1,5 g da folha, pulverizada, de *A. zerumbet*.



Figura 3-Apresentação do sachê teste.

O sachê placebo (Lote L-0108) formulado para a pesquisa contém 1,5 g de uma mistura de celulose microcristalina e corante.



Figura 4-Apresentação do sachê placebo.

3.5 Delineamento do estudo

O desenho consistiu de um estudo duplo cego, controlado por placebo, randomizado e paralelo, com 36 voluntários sadios, adultos, de ambos os sexos.

Depois de selecionados os voluntários receberam o chá durante quatro semanas. Ao final de cada semana e no período de pós-estudo, eles foram submetidos à nova avaliação clínica, além das avaliações laboratoriais que foram realizadas nos 14º e 28º dias e no pós-estudo.

O estudo foi delineado de forma a permitir a obtenção de parâmetros clínico-laboratoriais, relevantes, para a identificação de possíveis efeitos toxicológicos do chá de colônia. A dose estabelecida para a avaliação da tolerância, segurança e genotoxicidade da *A. zerumbet*, foi de 9,0 g, diárias, da folha seca pulverizada o que respeitou a dose popularmente utilizada, de 1 a 3 folhas frescas ao dia (MATOS, 2000), o que equivale, aproximadamente, 4 a 13 g da folha seca.

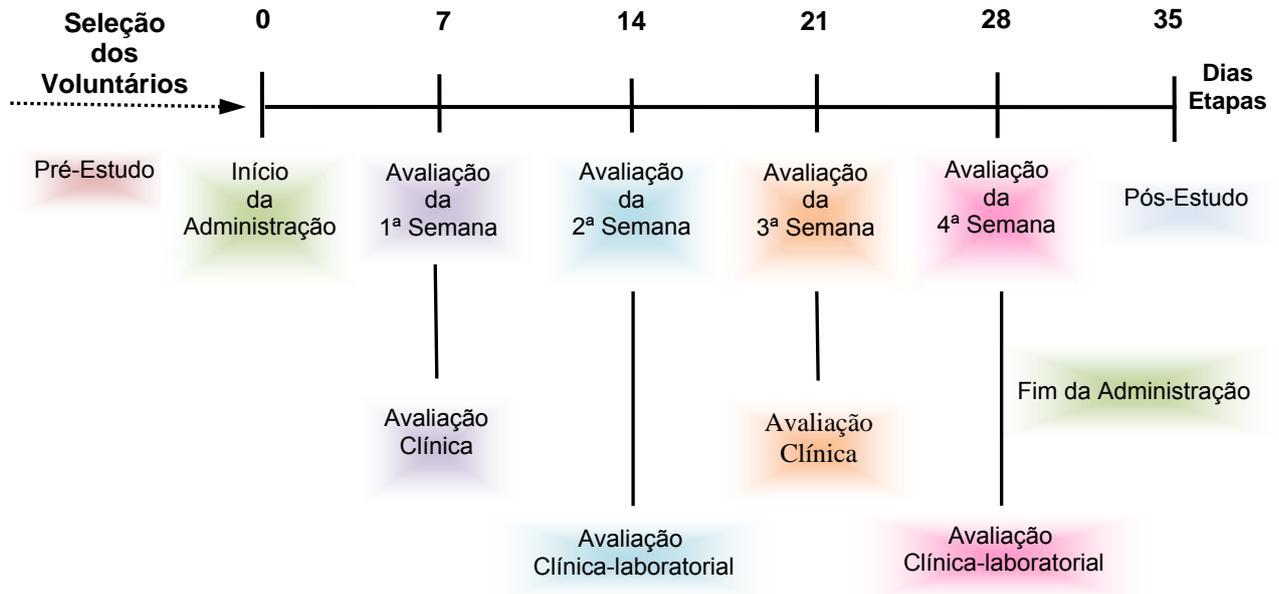


Figura 5-Esquema do delineamento experimental.

3.5.1 Caracterização dos grupos

Os 36 voluntários selecionados para participar do estudo, foram divididos aleatoriamente em dois grupos: o grupo Colônia, formado por 24 sujeitos e o grupo Placebo composto por 12 voluntários.

3.5.2 Método de Randomização e Mascaramento

Para que houvesse uma uniformidade dos grupos os voluntários foram randomizados através de sorteio, utilizando-se envelopes lacrados e opacos. Os sujeitos foram alocados nos grupos numa proporção de 2:1, ou seja, 24 voluntários foram incluídos no grupo Colônia e 12 sujeitos no grupo Placebo.

Tanto os investigadores responsáveis pelas avaliações quanto os voluntários desconheciam qual tratamento foi aplicado. Somente o farmacêutico responsável pela randomização e administração do chá tinha conhecimento acerca dos tratamentos.

3.6 Tratamento

3.6.1 Preparo do chá

Para o preparo do chá, por infusão, adicionou-se 180 mL de água fervente sobre os sachês (duas unidades). Garantida a total imersão dos sachês, o recipiente de preparo foi abafado por 5 min. Em seguida os sachês foram retirados e o infuso foi adoçado com duas colheres de chá de açúcar (APÊNDICE C). Os chás foram preparados em doses individuais e utilizados logo em seguida.

3.6.2 Administração do chá

Os voluntários compareceram três vezes por semana (segundas, quartas e sextas-feira) por volta das 7:00 horas, ao ambulatório da Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) - Faculdade de Medicina - Universidade Federal do Ceará (UFC), onde o chá foi preparado e administrado por um dos investigadores.

O preparo e administração das demais doses ficaram sob a responsabilidade dos próprios voluntários, que foram treinados quanto à técnica de preparo do chá, além de receberam orientações sobre a importância de respeitar os horários de ingestão pré-estabelecidos e registrá-los em formulário específico (APÊNDICE D) para posterior registro no CRF.

Os voluntários permaneceram em suas atividades rotineiras, mantendo, também, suas dietas habituais.

3.6.3 Posologia

Os trinta e seis voluntários participantes do estudo receberam 180 mL do chá de colônia ou do placebo administrados por via oral, três vezes ao dia, perfazendo um total de 540 mL por dia durante 28 dias consecutivos. Os horários de administração, sinais vitais, bem como todas e quaisquer intercorrências durante o estudo, foram devidamente registrados nos Formulários para Relato de Caso (APÊNDICE A).

3.7 Avaliação clínica e Laboratorial

3.7.1 Sinais vitais

Antes de iniciado o estudo, nos momentos da administração ambulatorial do chá (segundas, quartas e sextas-feiras) e no pós-estudo foram aferidas a temperatura, a frequência de pulso e a pressão arterial (em decúbito dorsal, sentado e em posição ortostática) dos voluntários, com exceção do pré-estudo onde a pressão arterial só foi medida com o voluntário sentado. As avaliações realizadas nas segundas, quartas e sextas serão representadas graficamente como E01,.....,E12, onde E01, E04, E07 e E10 representam as medidas realizadas nas segundas-feiras, E02, E05, E08 e E11 as medidas realizadas nas quartas-feiras e E03, E06, E09 e E12 as medidas realizadas nas sextas-feiras.

Os responsáveis pelas medições dos sinais vitais foram devidamente treinados para a realização de todos os procedimentos. Todos foram treinados

quanto à padronização das técnicas com o intuito de que fossem minimizadas as diferenças nas medições e com isso a obtenção de resultados mais precisos.

Os equipamentos utilizados para a obtenção e registro dos parâmetros eletrocardiográficos, dados referentes à altura, peso, temperatura, pressão arterial e pulso radial, receberam manutenção anual e quando requerido, por lei, foram certificados por instituições acreditadas pelo INMETRO - Rede Brasileira de Calibração (RBC), como forma de assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos. A listagem desses equipamentos se encontra no quadro 1.

Aparelhos	Fabricante
Termômetro thermo flat	Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda – Brasil
Esfignomanômetro Tycos	Tycos – USA
Estetoscópio	Lytman – USA
Eletrocardiógrafo	Dixtal – Brasil
Balança	Balmak- Brasil

Quadro 1-Equipamentos utilizados na avaliação clínica dos voluntários

3.7.2 Exame clínico

Antes de iniciado o estudo, a cada 7 dias durante o período de tratamento e no pós-estudo, os voluntários foram submetidos à avaliações médicas (anamnese e exame físico), e eletrocardiográficas.

3.7.3 Exames laboratoriais

Antes de iniciado o estudo, os voluntários foram submetidos a exames laboratoriais (hemograma completo, tempo de ativação da protrombina, glicemia de jejum, ALT, AST, fosfatase alcalina, bilirrubina, albumina, creatinina, triglicérides, colesterol total, e, análise sorológica para hepatite B, hepatite C e HIV, teste sorológico para gravidez - β -hCG, para as mulheres e sumário de urina). No décimo

quarto e vigésimo oitavo dias de administração do chá, e sete dias após o término das administrações (pós-estudo), os exames foram repetidos, excluindo as análises sorológicas, exceto β -hCG que também foi realizado no décimo quarto dia e no pós-estudo.

As coletas de sangue para a realização dos exames laboratoriais foram realizadas na Unidade de Farmacologia Clínica e as amostras encaminhadas para análise ao Laboratório Louis Pasteur, que tem certificação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

3.7.4 Eventos adversos

Segundo a OMS, um Evento Adverso (EA) é qualquer ocorrência médica relacionada a um paciente ou voluntário de ensaio clínico em que foi administrado um produto farmacêutico, o qual não tem, necessariamente, uma relação causal com o tratamento. Assim, um evento adverso pode ser qualquer sinal desfavorável ou não intencionado (incluindo achados anormais de exames laboratoriais, por exemplo), sintoma ou doença temporária com o uso do produto medicinal, tenha relação considerada ou não com o produto (WHO, 2004).

Os voluntários foram orientados a relatar a ocorrência de qualquer evento adverso, bem como a utilização de alguma medicação adicional. Essas informações foram registradas em um formulário de relato diário de ocorrências, para que fossem acompanhadas, clínica e laboratorialmente. Para identificar a ocorrência de algum evento adverso, sem indução da resposta, os voluntários foram abordados com perguntas gerais do tipo: “Como vai você?”.

Os eventos adversos foram classificados quanto à intensidade como leve, quando facilmente tolerado; moderado, desagradável o bastante para interferir nas atividades cotidianas; e severo, se impossibilita à realização das atividades cotidianas normais.

Para a classificação dos eventos adversos, quanto à relação de causalidade, foram utilizados os critérios descritos a seguir propostos por Guzzo (2004).

O evento é atribuído quando: (1) existem informações científicas prévias sobre o evento; (2) provas com evidências objetivas (exames laboratoriais, pressão

arterial e outros) ou subjetivas (clínicas); (3) o evento apareceu com seqüência temporal plausível após a administração do medicamento; (4) não há fatores alternativos que podem ter causado o evento observado; (5) houve melhora clínica plausível após a retirada do medicamento (após eliminação) ou pela administração de um antagonista; (6) o voluntário já apresentou reação semelhante com o uso do mesmo medicamento ou com o uso de medicamentos do mesmo grupo farmacológico ou (7) a reação reapareceu quando se re-administrou o medicamento.

O evento é provável quando: (1) existem informações científicas prévias sobre o evento; (2) provas com evidências objetivas (exames laboratoriais, pressão arterial e outros) ou subjetivas (clínicas); (3) o evento apareceu com seqüência temporal plausível após a administração do medicamento; (4) não há fatores alternativos que podem ter causado o evento observado, ou (5) houve melhora clínica plausível após a retirada do medicamento (após eliminação) ou pela administração de um antagonista, porém (1) o voluntário não apresentou reação semelhante com o uso do mesmo medicamento ou com o uso de medicamentos do mesmo grupo farmacológico e (2) a reação não reapareceu quando se re-administrou o medicamento.

O evento é possível quando: (1) existem informações científicas prévias sobre o evento; (2) provas com evidências objetivas (exames laboratoriais, pressão arterial e outros) ou subjetivas (clínicas); (3) o evento apareceu com seqüência temporal plausível após a administração do medicamento, entretanto (4) há fatores alternativos que podem ter causado o evento observado; (5) não há melhora clínica plausível após a retirada do medicamento (após eliminação) ou pela administração de um antagonista; (6) o voluntário não apresentou reação semelhante com o uso do mesmo medicamento ou com o uso de medicamentos do mesmo grupo farmacológico e (7) a reação não reapareceu quando se re-administrou o medicamento.

O evento é classificado como não atribuído quando: (1) não existem informações científicas prévias sobre o evento; (2) não há provas com evidências objetivas (exames laboratoriais, pressão arterial e outros) ou subjetivas (clínicas); (3) o evento apareceu com seqüência temporal improvável após a administração do medicamento; (4) há fatores alternativos que podem ter causado o evento

observado; (5) não há melhora clínica plausível após a retirada do medicamento (após eliminação) ou pela administração de um antagonista; (6) o voluntário não apresentou reação semelhante com o uso do mesmo medicamento ou com o uso de medicamentos do mesmo grupo farmacológico e (7) a reação não reapareceu quando se re-administrou o medicamento.

3.8 Toxicogenética

3.8.1 Teste do cometa

O Ensaio Cometa, ou Eletroforese em Gel de Célula Única é um método de estudo genotóxicológico sensível, que avalia danos ao DNA de células individuais e possibilita quantificar quebras da fita (BELPAEME *et al.*, 1998). O desenho experimental do estudo do cometa é determinado pela proposta da análise levando em consideração a investigação do dano após a administração do chá de colônia nos voluntários por 28 dias ininterruptos.

3.8.2 Protocolo do teste do cometa

- **Coleta do material**

A coleta do sangue periférico dos voluntários foi realizada nas dependências da UNIFAC, por profissionais treinados, utilizando seringa descartável com volume de 5 mL. O material obtido foi transportado para o Laboratório de Farmacogenética (FARMAGEN) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará – UFC.

- **Isolamento dos Linfócitos**

Os linfócitos foram isolados a partir de uma amostra de cerca de 3 mL de sangue, acrescida de 5 mL de PBS. As etapas até o isolamento incluíram a adição de 3 mL de Ficoll, seguida por 30 minutos de centrifugação a 1500 rpm. Foi realizada a aspiração dos linfócitos, presentes na região intermediária entre as hemácias e o soro (“nuvem de linfócitos”). A suspensão de linfócitos foi transferida

para outro tubo, o qual foi acrescido com PBS até o volume de 11 mL, sendo centrifugado por 20 minutos a 1000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* de linfócitos foi ressuspenso em 2 mL de PBS.

- **Preparo das amostras**

Foi utilizado, como controle positivo, doxorubicina 3 µg/mL, incubada com linfócitos durante 40 minutos. Como controle negativo foram utilizados linfócitos dos voluntários sem exposição a nenhuma droga, ou seja, antes da ingestão do chá.

Das amostras dos linfócitos expostos ao chá de colônia e dos controles positivo e negativo, foi retirada uma alíquota de 10 µL de linfócitos, a qual foi adicionada a 110 µL de agarose 1,5%.

- **Preparo das lâminas**

1° Passo: As lâminas foram previamente cobertas com 110 µL de agarose (NMP) a 60°C, sendo mantida a temperatura ambiente, por 24h, até a solidificação da agarose.

2° Passo: As amostras estudadas foram colocadas sobre a lâmina, sendo, em seguida, cobertas com lamínulas e mantidas a 4°C para solidificação da agarose.

- **Lise celular**

Após solidificação da agarose a lamínula foi cuidadosamente removida e imersa na solução de lise, protegida da luz, a baixa temperatura (4°C) por no mínimo 1h antes da eletroforese.

- **Neutralização e Eletroforese**

As lâminas foram removidas da solução de lise, e colocadas por 15 min na solução de neutralização. Em seguida foram dispostas horizontalmente na cuba de eletroforese e preenchida com tampão de corrida por 40 min para permitir o desempacotamento do DNA. A eletroforese foi conduzida em baixa luminosidade por 20 min, usando 25V (volts) e a corrente de 300mA. Após eletroforese as lâminas, foram retiradas e mergulhadas na solução de neutralização durante 15 min, para neutralizar a alcalinidade.

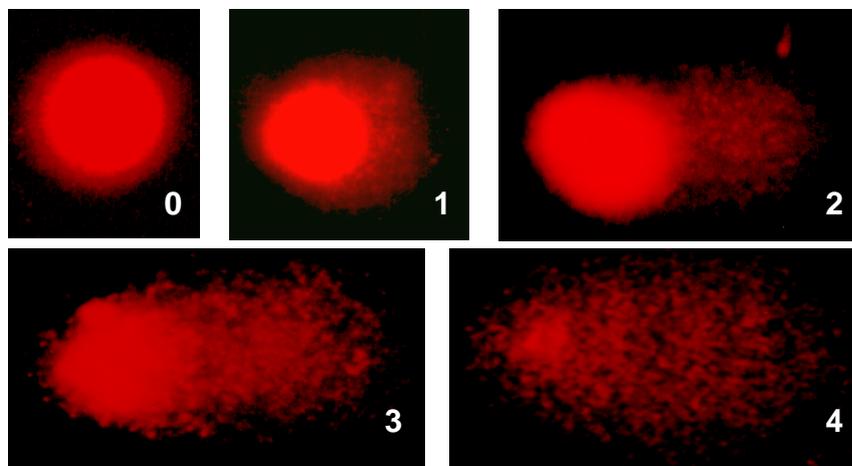
- **Fixação e Coloração**

As lâminas foram fixadas em etanol 100%. Posteriormente, aplicou-se 50 μ L da solução de Brometo de Etídio (20 μ g/mL) e foram cobertas com lamínula, sendo analisadas em microscópio de fluorescência.

- **Escores das Lâminas**

A análise foi realizada de acordo com o padrão de escores previamente determinados pelo tamanho e intensidade da cauda do cometa (Figura 6). Foram contados 100 células/lâmina e classificados, de acordo com a percentagem de DNA na cauda do cometa, indicando o grau de quebra do DNA, nas seguintes categorias:

- **0** = Sem danos (<5%)
- **1** = Baixo nível de danos (5 – 20%)
- **2** = Médio nível de danos (20 – 40%)
- **3** = Alto nível de danos (40 – 95%)
- **4** = Dano total (95%)



Singh (1988), Pool-Zobel (1994), Speit (1995)

Figura 6 - Tipos de cometas: Representação dos cometas corados com brometo de etídeo e visualizados no microscópio de fluorescência, sendo indicado o escore atribuído para cada cometa de acordo com o dano.

3.8.3 Material utilizado

Os equipamentos usados para a realização do Teste do Cometa estão listados no quadro 2.

Aparelhos	Fabricante
Banho Maria	Fanem®
Centrífuga	Eppendorf®
Cuba e fonte para eletroforese	BioRad®
Estufa	Fanem®
Microondas	Brastemp®
Microscópio de fluorescência	Olympus®
Geladeira e freezer	Brastemp®

Quadro 2 Equipamentos utilizados no Teste do Cometa.

No quadro 3 estão relacionados todos os reagentes utilizados para a realização do Teste do Cometa.

Reagentes	Fabricante
Agarose LMP	Gibco®
Agarose NMP	Gibco®
N-Lauroylsarcosine	Sigma®
Brometo de Etídio	Sigma®
Ficoll	Sigma®
Trizma	Sigma®
Triton X-100	Isofar®
DMSO - Dimetilsufóxido	Vetec®
Etanol 100%	Tedia®
EDTA	Proquimios®
NaOH	Tedia®
NaCl	Tedia®

Quadro 3 Reagentes utilizados no Teste do Cometa.

3.8.4 Soluções Utilizadas

As soluções que foram utilizadas para a realização do Teste do Cometa foram preparadas de acordo com os Procedimentos Operacionais Padrão (POP) do Laboratório de Farmacogenética (FARMAGEN) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará - UFC.

- **Agarose NMP (1,5%):** 1,5 g de agarose, 100 mL de PBS
- **Agarose LMP (0,75%):** 0,75 g de agarose, 100 mL de PBS
- **Solução de lise:** NaCl 2,5M, EDTA 100mM, Tris 10mM, N-Lauroyl sarcosine 1%, pH 10,0; Triton X-100 1%, DMSO 10%
- **Solução neutralizante:** 0,4M Tris, pH 7,5
- **Tampão de corrida:** Na₂EDTA 1mM, NaOH 300mM; pH>13,0
- **Solução de Brometo de etídio:** 200µg/mL

3.9 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram, inicialmente, analisadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição. Para a estatística descritiva, calcularam-se a média e o desvio padrão (dados paramétricos) ou a mediana e intervalo interquartil (dados não paramétricos). Comparações intergrupos (Colônia *versus* Placebo) em cada tempo foram realizadas mediante o uso do teste *t* para variáveis não emparelhadas (dados paramétricos) ou do teste de Mann-Whitney (variáveis não paramétricas). Comparações intragrupo, ou seja, entre os diversos tempos num mesmo grupo, foram feitas pela análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas (dados paramétricos) associada ao teste de comparações múltiplas de Tukey, (para verificar diferenças entre os tempos dois a dois) ou do teste de comparações múltiplas de Dunnett (para verificar diferenças entre um dado tempo e o pré-estudo, considerando o valor basal), ou pelo teste de Friedman

complementado pelo teste de comparações múltiplas de Dunn (dados não paramétricos) (ARMITAGE; BERRY, 1994; MOTULSKY, 1995).

No ensaio de genotoxicidade, as comparações entre os grupos controle positivo, controle negativo e colônia foram feitas pela análise de variância (ANOVA) complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, para verificar diferenças entre os grupos dois a dois (ARMITAGE; BERRY, 1994; MOTULSKY, 1995).

As variáveis qualitativas, por sua vez, foram expressas como frequência absoluta e relativa (proporção) e analisadas pelo teste exato de Fisher (ARMITAGE; BERRY, 1994; MOTULSKY, 1995)

Em todos os casos, estabeleceu-se em 0,05 (5%) a probabilidade α do erro tipo I (nível de significância), sendo considerado como estatisticamente significativo um valor P bicaudal menor que 0,05.

O *software* GraphPad Prism[®] versão 5.00 para Windows[®] (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, USA, 2007) foi utilizado tanto para a realização dos procedimentos estatísticos como para a elaboração dos gráficos.

3.10 Aspectos éticos

3.10.1 Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

O projeto de pesquisa, o protocolo experimental e o termo de consentimento livre e esclarecido foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFC (COMEPE), credenciado pelo Conep - CNS/MS (ANEXO A).

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (WMA-2008) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), África do Sul (1996), Edimburgo (2000) e as Resoluções 196/96 e 251/97 do CNS-MS.

3.10.2 Termo de consentimento

Todos os voluntários foram informados previamente das condições, dos objetivos e da importância do estudo, sendo esclarecidos de que eram livres para se retirar a qualquer momento do estudo, sem que isto causasse qualquer prejuízo no atendimento junto a Unidade de Farmacologia Clínica da Universidade Federal do Ceará. Aqueles que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE B).



4 RESULTADOS

4.1 População estudada

O desenho consistiu de um estudo duplo cego, controlado por placebo, randomizado e paralelo, com 36 voluntários sadios, adultos, de ambos os sexos. Na tabela 1 estão relacionadas às características dos voluntários incluídos no estudo.

Tabela 1—Características dos voluntários selecionados para participar do estudo.

<i>Característica</i>	<i>Grupo</i>	
	Colônia	Placebo
Tamanho da amostra	24	12
Idade (anos)^A	29,958 ± 9,120	27,417 ± 7,786
Gênero^B	M = 12/24 (50,0%)	M = 06/12 (50,0%)
	F = 12/24 (50,0%)	F = 06/12 (50,0%)
IMC pré-estudo (kg/m²)^C	25,300 ± 2,918	25,179 ± 2,569

A) Média ± desvio padrão. P = 0,4150 (teste *t*).

B) M: masculino; F: feminino.

C) Média ± desvio padrão. P = 0,9039 (teste *t*).

O índice de massa corpórea (IMC) dos voluntários foi de 25,179±2,569 para o grupo Placebo, e de 25,300±2,918 para o grupo Colônia no pré-estudo. No pós-estudo o IMC do grupo Placebo foi de 24,961±2,409 e de 25,289±2,965 para o grupo Colônia. A comparação entre os grupos não revelou diferenças estatisticamente significantes em nenhuma das fases: pré-estudo (P=0,9039) e pós-estudo (P=0,7423). A análise intragrupo também não revelou diferenças estatisticamente significantes entre os períodos avaliados: Placebo (P=0,2257), Colônia (P=0,9200).

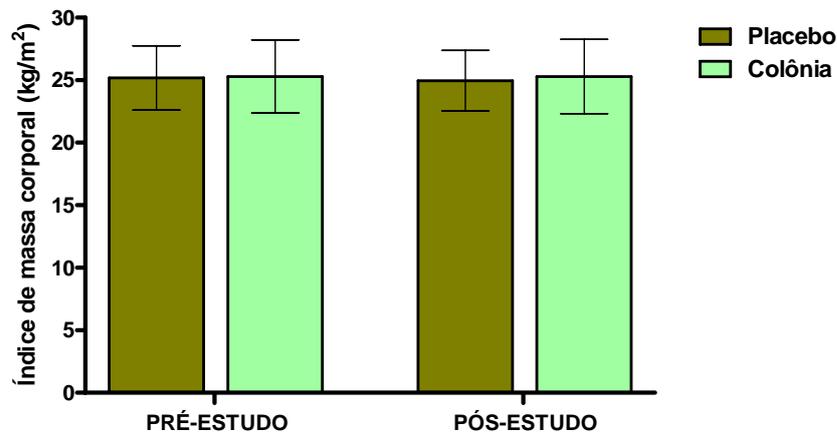


Figura 7- Valores do índice de massa corporal (IMC) calculados nas fases de pré-estudo e pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

4.2 Avaliação Cardiológica

O ECG convencional de todos os voluntários foi considerado normal, ou anormal sem significado clínico, antes do tratamento, persistindo com esse padrão de laudo, nos 24 voluntários do grupo Colônia e nos 12 do grupo Placebo, durante todo o estudo.

4.3 Sinais Vitais

Não foram evidenciadas alterações, clinicamente relevantes, na pressão arterial, na frequência de pulso e na temperatura dos 24 voluntários do grupo Colônia e nos 12 sujeitos do grupo Placebo que participaram do estudo.

A análise da pressão arterial média (PAM), medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia, realizada na fase de pré-estudo, durante o estudo e no período de pós-estudo não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos (Figura 8).

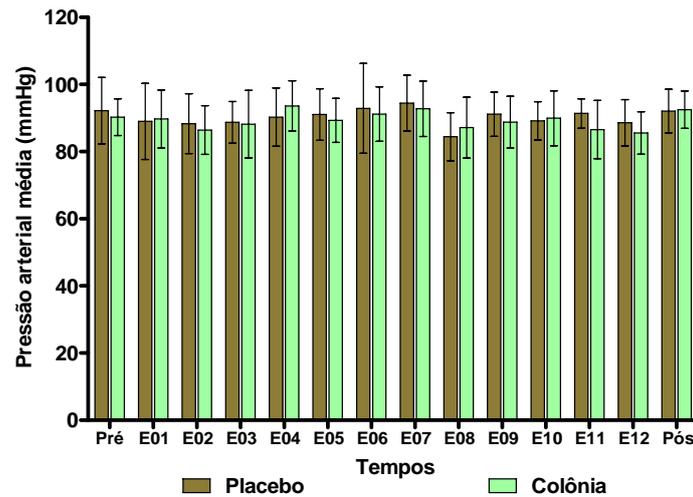


Figura 8-Evolução temporal da pressão arterial média (PAM), medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01,..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

Analisando a evolução temporal da PAM, no grupo Placebo, mensurada com o voluntário sentado, em todas as fases do estudo, constatou-se que a PAM medida em E08 foi significativamente menor que a verificada no pré-estudo (medida basal) (Figura 9).

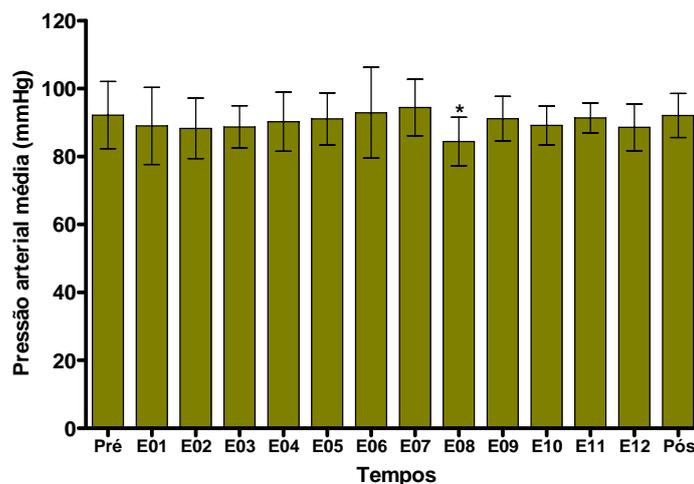


Figura 9-Evolução temporal da pressão arterial média (PAM) no grupo Placebo, mensurada com o voluntário sentado na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários. *P < 0,05: E08 < Pré-estudo (teste de Dunnett).

A análise da evolução temporal da PAM, no grupo Colônia, mensurada com o voluntário sentado, em todas as fases do estudo, mostrou que a PAM medida em E12 foi significativamente menor que a verificada no pré-estudo (medida basal) (Figura 10).

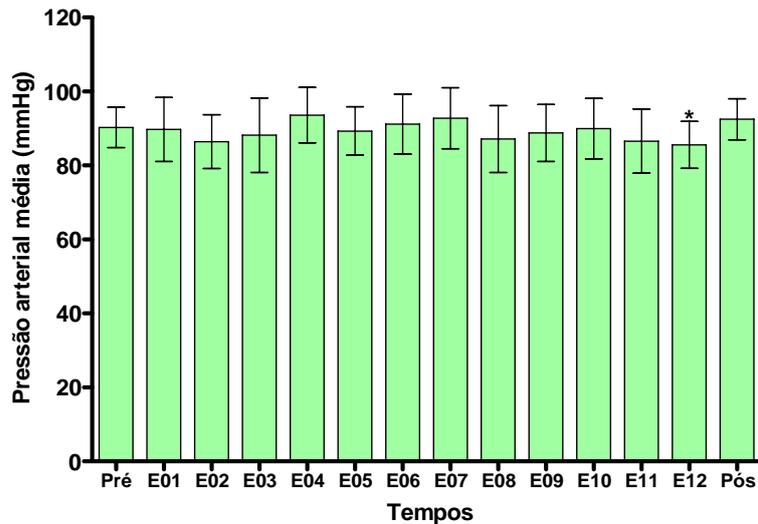


Figura 10-Evolução temporal da pressão arterial média no grupo Colônia, mensurada com o voluntário sentado na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. * $P < 0,05$: E12 < Pré-estudo (teste de Dunnett).

A análise da pressão arterial sistólica (PAS), medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia, realizada na fase de pré-estudo, durante o estudo e no período de pós-estudo não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos (Figura 11).

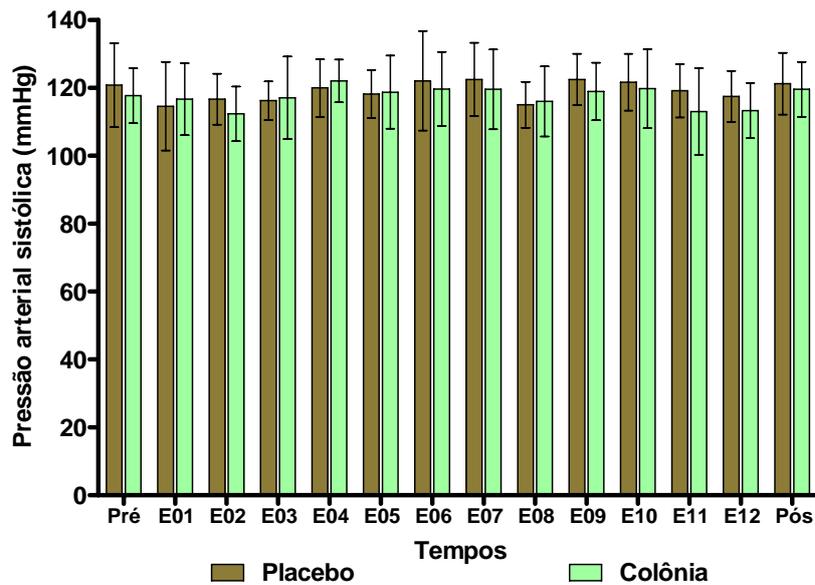


Figura 11-Evolução temporal da pressão arterial sistólica, medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

Analisando a evolução temporal da PAS, no grupo placebo, mensurada com o voluntário sentado, não se evidenciou diferenças estatisticamente significantes entre as medições efetuadas durante o estudo e no pós-estudo e a PAS verificada no pré-estudo (medida basal) (Figura 12).

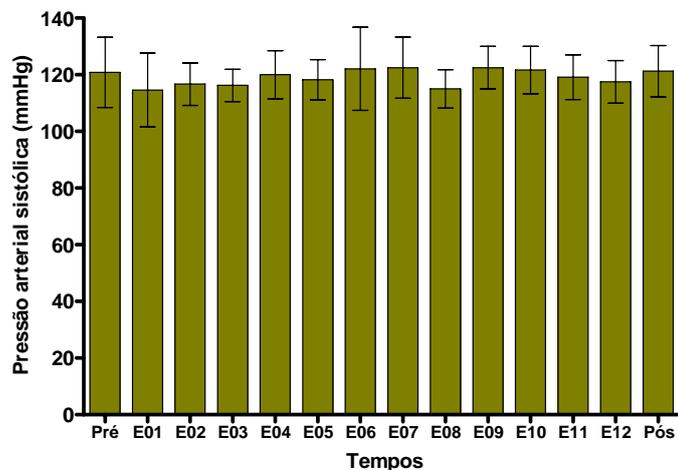


Figura 12-Evolução temporal da pressão arterial sistólica no grupo Placebo, mensurada com o voluntário sentado na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários.

Na análise da evolução temporal da PAS, no grupo colônia, mensurada com o voluntário sentado, não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre as medições efetuadas durante o estudo e no pós-estudo e a PAS verificada no pré-estudo (medida basal) (Figura 13).

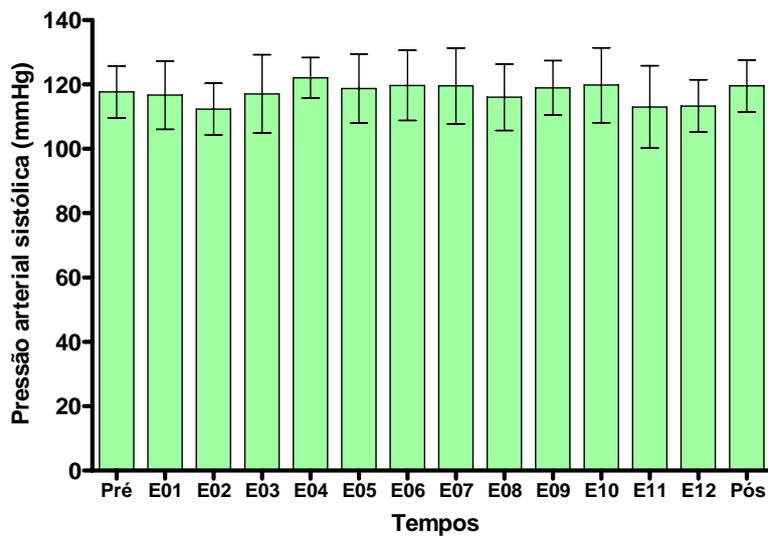


Figura 13-Evolução temporal da pressão arterial sistólica no grupo Colônia, mensurada com o voluntário sentado na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários.

A análise da pressão arterial diastólica (PAD), medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia, realizada na fase de pré-estudo, durante o estudo e no período de pós-estudo não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos (Figura 14).

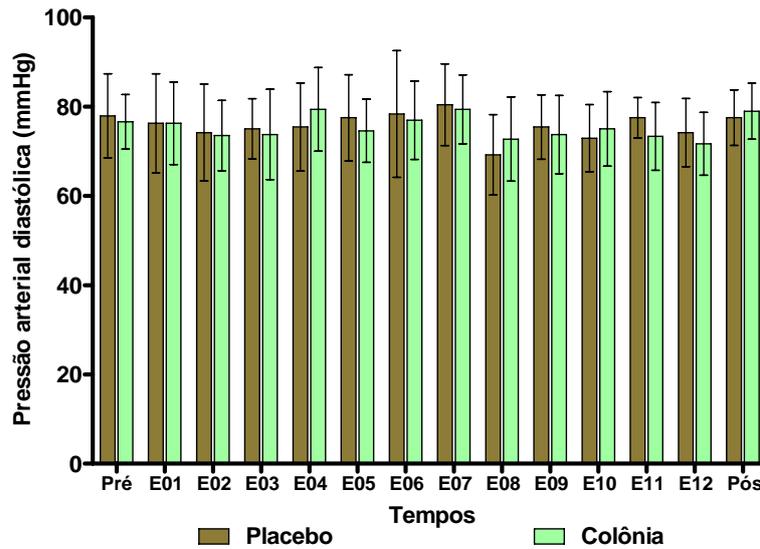


Figura 14-Evolução temporal da pressão arterial diastólica, medida com o voluntário sentado, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

Analisando a evolução temporal da PAD, no grupo placebo, mensurada com o voluntário sentado, constatou-se que a PAD medida em E08 foi significativamente menor que a mensurada no pré-estudo (medida basal) (Figura 15).

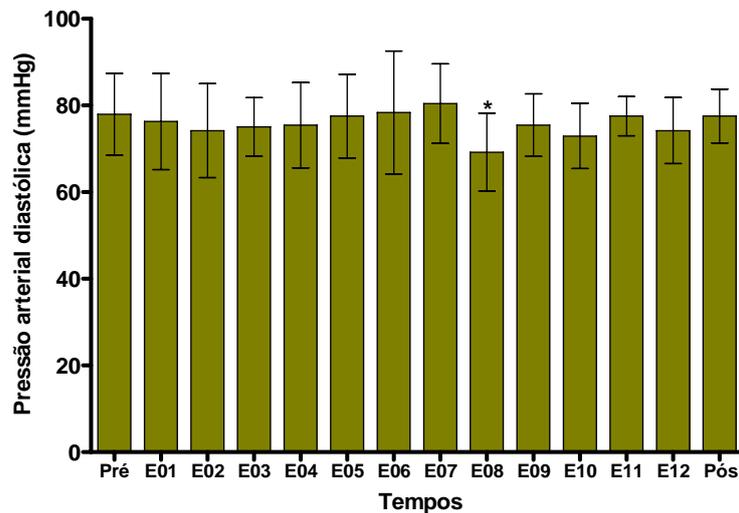


Figura 15-Evolução temporal da pressão arterial diastólica no grupo Placebo, mensurada com o voluntário sentado na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários. *P < 0,05: E08 < Pré-estudo (teste de Dunnett).

Na análise da evolução temporal da PAD, no grupo colônia, mensurada com o voluntário sentado, não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre as medições efetuadas durante o estudo e no pós-estudo, e a PAD mensurada no pré-estudo (medida basal) (Figura 16).

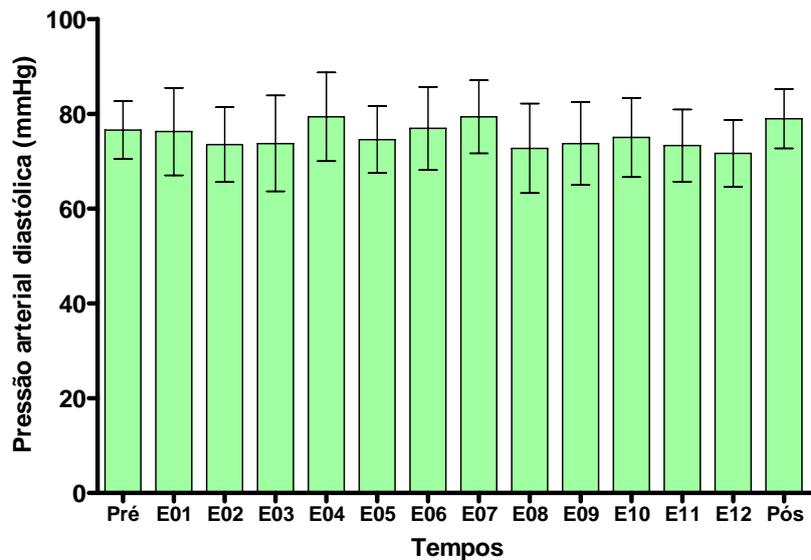


Figura 16-Evolução temporal da pressão arterial diastólica no grupo Colônia, mensurada com o voluntário sentado na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários.

A figura 17 ilustra o comportamento temporal durante o estudo e pós-estudo da PAM medida nos grupos Placebo e Colônia com o voluntário em decúbito dorsal. Observa-se que não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos em nenhum dos tempos analisados.

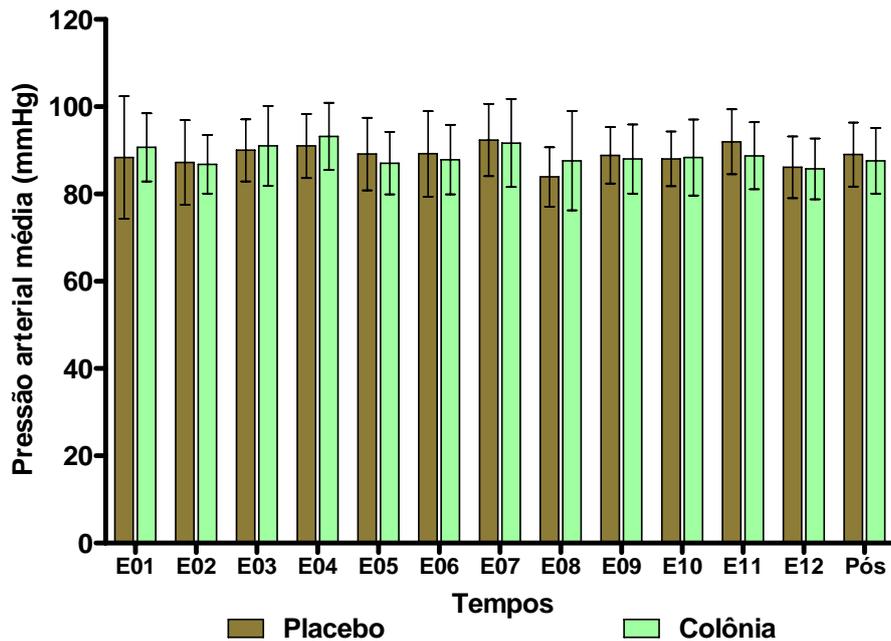


Figura 17-Evolução temporal da pressão arterial média, medida com o voluntário em decúbito dorsal, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

A figura 18 ilustra o comportamento temporal durante o estudo e pós-estudo da PAS medida nos grupos Placebo e Colônia com o voluntário em decúbito dorsal. Observa-se que não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos em nenhum dos tempos analisados.

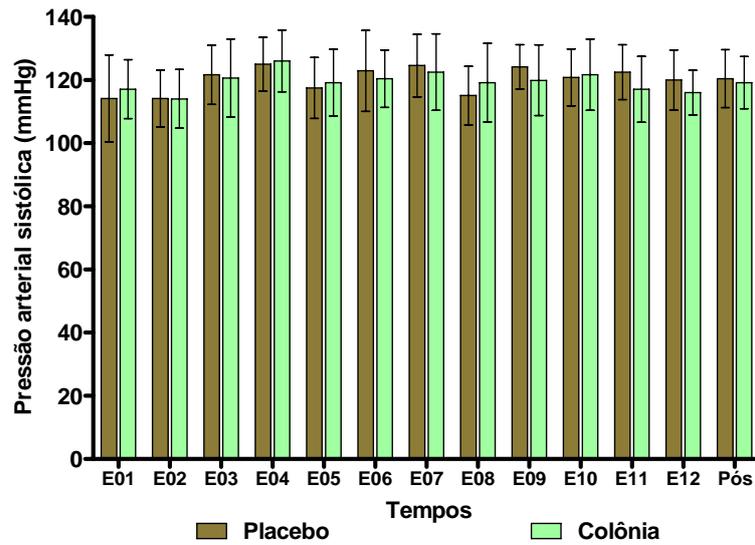


Figura 18-Evolução temporal da pressão arterial sistólica, medida com o voluntário em decúbito dorsal, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas durante o estudo (E01,... E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

A figura 19 ilustra o comportamento temporal durante o estudo e pós-estudo da PAD medida nos grupos Placebo e Colônia com o voluntário em decúbito dorsal. Observa-se que não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos em nenhum dos tempos analisados.

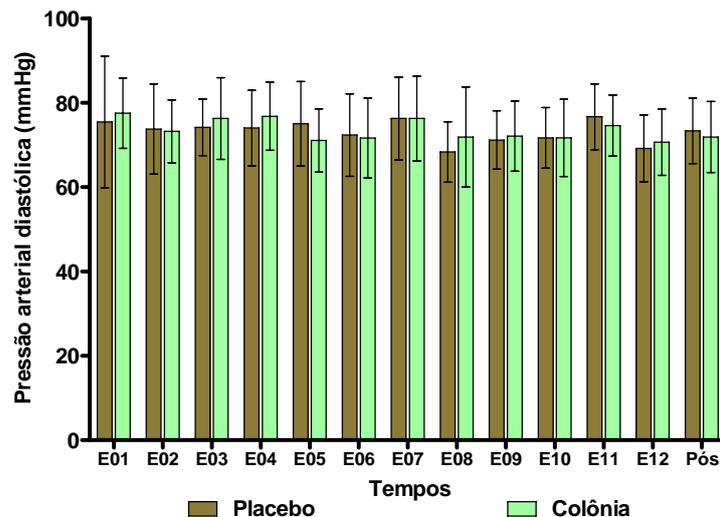


Figura 19-Evolução temporal da pressão arterial diastólica, medida com o voluntário em decúbito dorsal, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

A figura 20 ilustra o comportamento temporal durante o estudo e pós-estudo da PAM medida nos grupos Placebo e Colônia com o voluntário em posição ortostática. Constatou-se que a PAM do grupo Colônia foi significativamente menor que a do grupo Placebo no tempo E12.

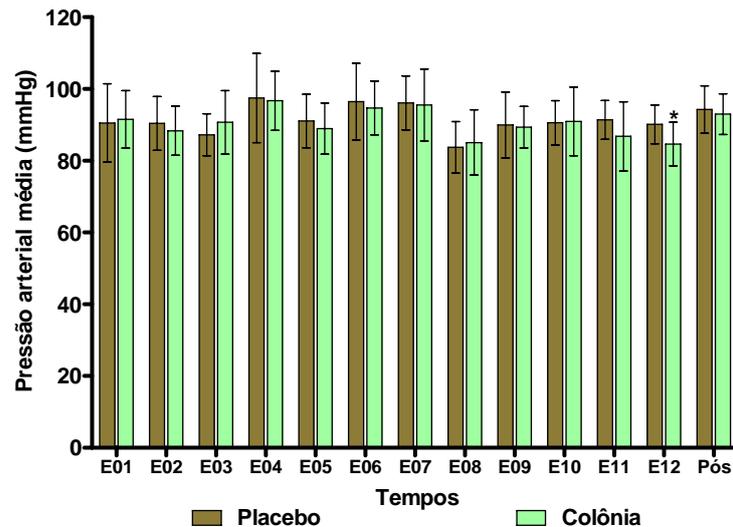


Figura 20-Evolução temporal da pressão arterial média, medida com o voluntário em posição ortostática, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. *P = 0,0120. (teste t).

A figura 21 ilustra o comportamento temporal durante o estudo e pós-estudo da PAS medida nos grupos Placebo e Colônia com o voluntário em posição ortostática. Constatou-se que a PAS do grupo Colônia foi significativamente menor que a do grupo Placebo no tempo E12.

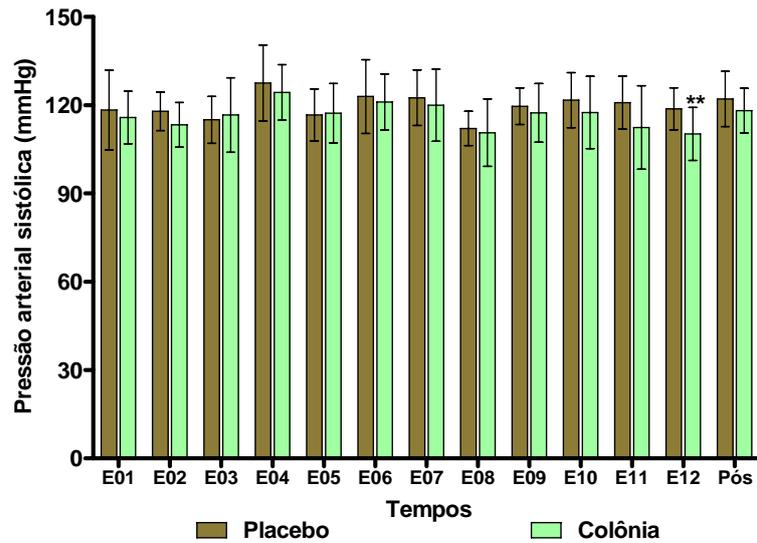


Figura 21-Evolução temporal da pressão arterial sistólica, medida com o voluntário em posição ortostática, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (**P = 0,0072).

A figura 22 ilustra o comportamento temporal durante o estudo e pós-estudo da PAD medida nos grupos Placebo e Colônia com o voluntário em posição ortostática. Observa-se que não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos em nenhum dos tempos analisados.

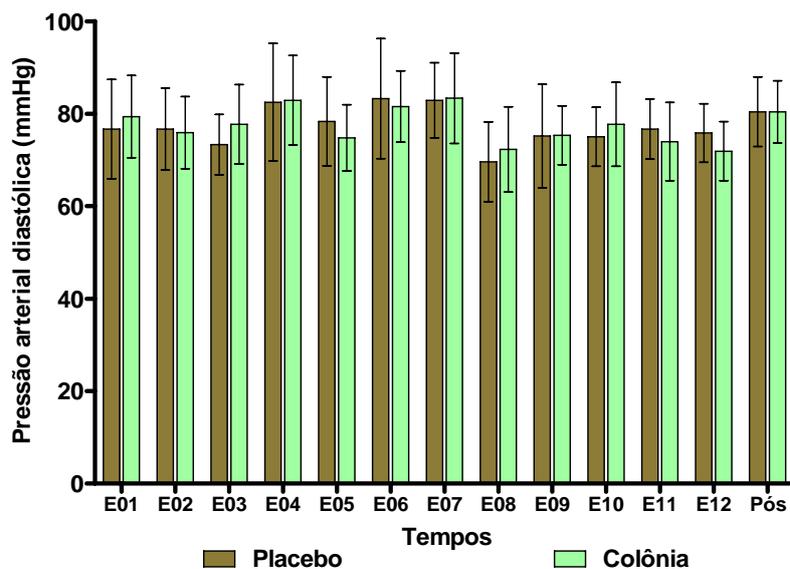


Figura 22-Evolução temporal da pressão arterial diastólica, medida com o voluntário em posição ortostática, nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas durante o estudo (E01,... E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia.

Analisando a evolução da frequência de pulso, nos grupos Placebo e Colônia, medida no pré-estudo, durante o estudo e no pós-estudo, constatou-se que a frequência de pulso do grupo Colônia foi significativamente menor que a do grupo Placebo nos tempos E05, E06 e E10. (Figura 23).

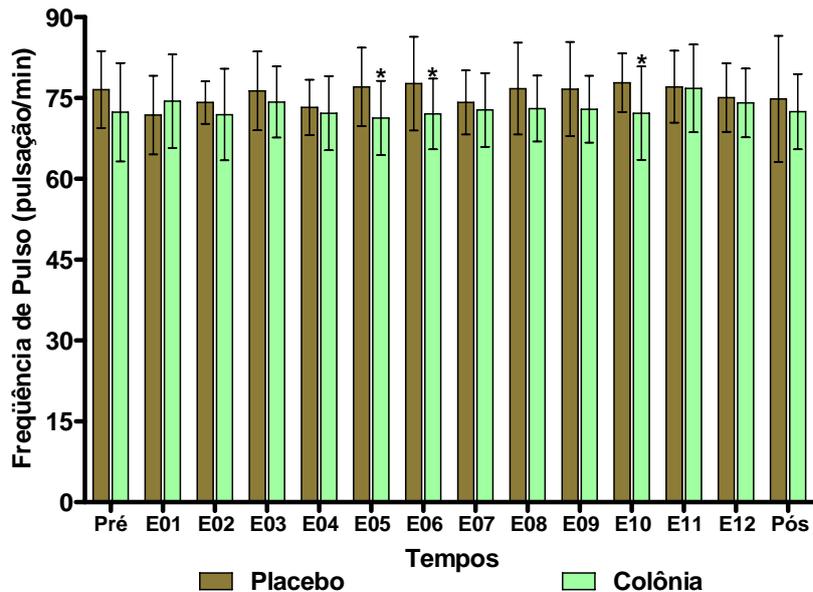


Figura 23-Evolução temporal da frequência de pulso nos grupos Placebo e Colônia. As medições foram efetuadas na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01, ..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. E05 (*P = 0,0257), E06 (*P = 0,0366) e E10 (*P = 0,0469).

A análise da frequência de pulso, no grupo Placebo, não apresentou diferença estatisticamente significativa entre as medições efetuadas durante o estudo e pós-estudo e a frequência de pulso mensurada no pré-estudo. (Figura 24).

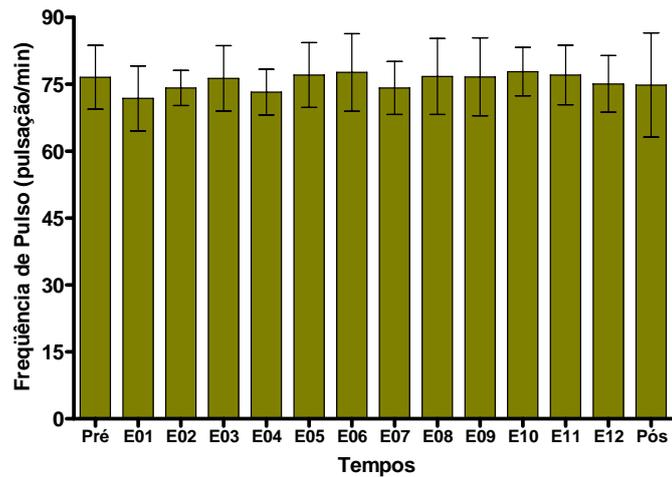


Figura 24. Evolução temporal da frequência de pulso no grupo Placebo, mensurada na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01,..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários

A análise da frequência de pulso, no grupo Colônia, não apresentou diferença estatisticamente significativa entre as medições efetuadas durante o estudo e pós-estudo e a frequência de pulso mensurada no pré-estudo. (Figura 25).

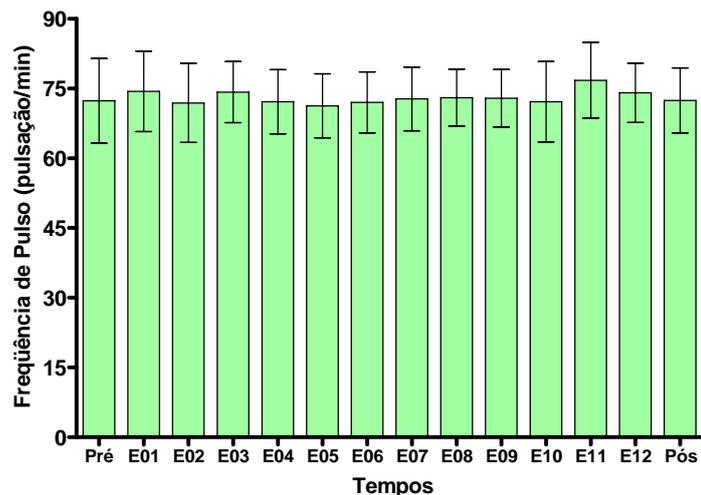


Figura 25-Evolução temporal da frequência de pulso no grupo Colônia, mensurada na fase de pré-estudo, durante o estudo (E01,..., E12) e no período pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários.

4.4 Exames laboratoriais

Exames hematológicos, bioquímicos e de urina foram realizados antes, durante (14º e 28º dias) e depois do tratamento, para avaliar as funções hematológica (Figuras 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 e 36), hepática (Figuras 37, 38, 39, 40 e 41), renal (Figuras 42 e 43) e metabólica (Figuras 44, 45 e 46).

Para avaliar a função hematológica, foram analisados importantes parâmetros como: contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina, determinação do hematócrito, contagem total e diferencial de leucócitos, contagem de plaquetas e o TAP.

Nas avaliações dos parâmetros, contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina e contagem de plaquetas, não foram verificadas nenhuma alteração, tanto na comparação intragrupo quanto na intergrupo em todos os períodos (Figuras 26, 27 e 28).

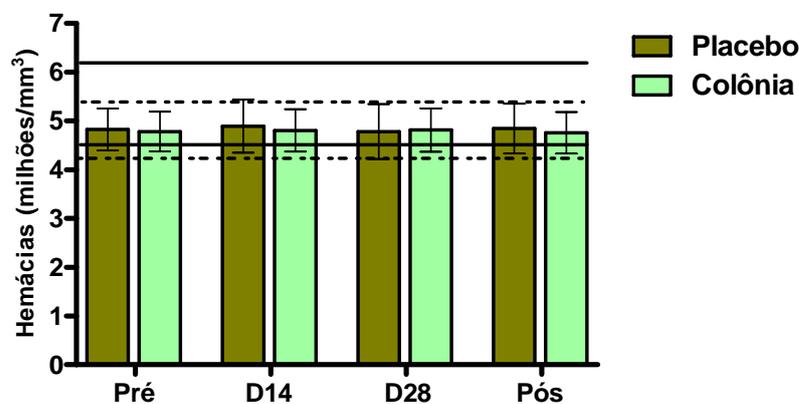


Figura 26-Contagem de hemácias realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 voluntários do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. Valores de referência (—Homem: 4,6 a 6,2 milhões/mm³); - - - Mulher: 4,2 a 5,4 milhões/mm³).

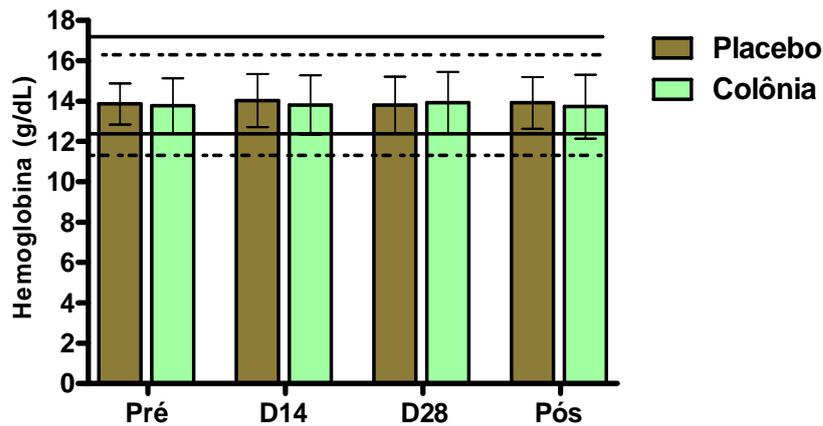


Figura 27 – Quantificação da hemoglobina realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dia e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. Valores de referência (—Homem: 12,8 a 17,8 g/dL) ; - - - Mulher: 11,5 a 16,4 g/dL).

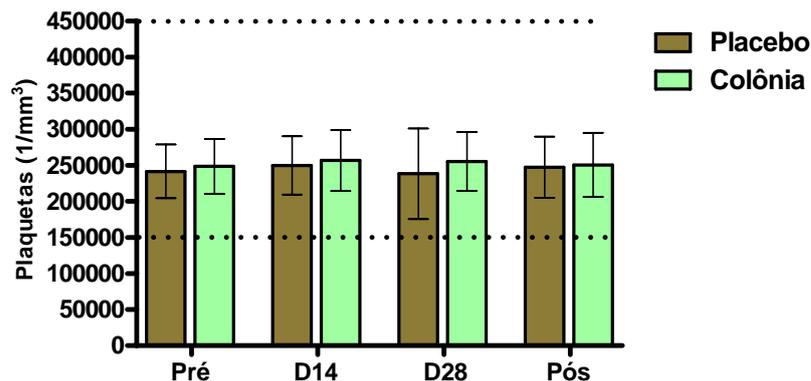


Figura 28—Contagem de plaquetas realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (.....Limites de normalidade: 15 a 45 x 10⁴/mm³).

Nas comparações intergrupos, do parâmetro hematócrito, não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos períodos. Porém, quando realizadas comparações intragrupo, verificou-se que no grupo Placebo o hematócrito mensurado no 14º dia foi significativamente maior que o observado no pré-estudo. No grupo Colônia, observou-se que os valores do hematócrito mensurado no 14º e 28º dias também foram significativamente maiores que o mensurado no pré-estudo (Figura 29).

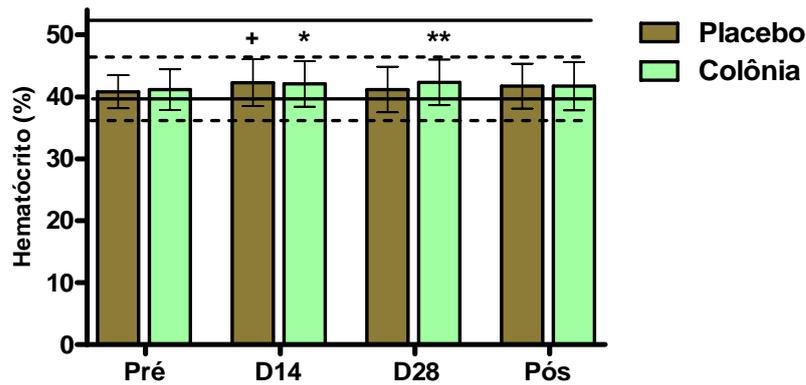


Figura 29-Valores do hematócrito mensurados no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. ⁺p<0,05 (hematócrito do grupo placebo mensurado no 14º dia foi significamente maior que no pré-estudo); ^{*}p<0,05; ^{**}p<0,01 (hematócrito do grupo Colônia mensurado no 14º e 28º dias foi significamente maior que no pré-estudo). Valores de referência (— Homem: 40,0 a 54,0 % ; - - - Mulher: 36,0 a 48,0 %).

Na avaliação do tempo de ativação de protrombina (TAP), verificou-se que nas comparações intergrupos, não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos períodos, porém nas comparações intragrupo, observou-se que, no grupo Placebo, o TAP mensurado no 14º dia foi significamente maior que o observado no pré-estudo, no 28º dia e no pós-estudo. No grupo Colônia, o TAP mensurado no 14º dia foi significamente maior que o verificado no pós-estudo (Figura 30).

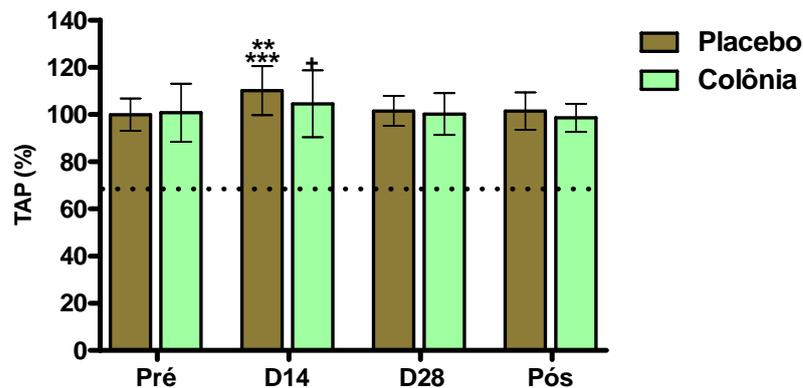


Figura 30-Valores do TAP mensurados no pré-estudo, nos dias 14 e 28 e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. ⁺p<0,05 (TAP do grupo Colônia mensurado no 14º dia foi significamente maior que o do pós-estudo); ^{**}p<0,01; ^{***}p<0,001 (TAP do grupo Placebo mensurado no 14º dia foi significamente maior que o do pré-estudo e o do 28º dia). (..... Limite de normalidade: ≥ 70%).

As comparações, dos leucócitos totais, realizadas entre os grupos Placebo e Colônia mostraram que houve uma redução significativa de leucócitos no grupo Colônia no pós-estudo. Todavia, nas comparações intragrupo, não foram verificadas diferenças estatisticamente significantes entre os períodos (Figura 31).

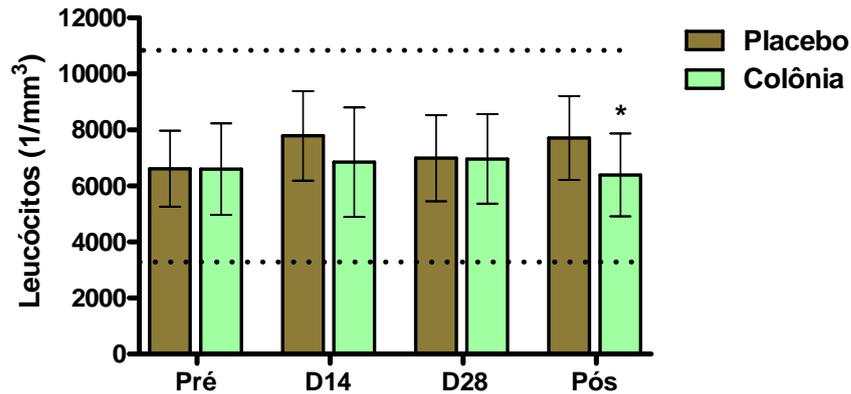


Figura 31-Contagem de leucócitos realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. * $p=0,05$ (a contagem de leucócitos do pós-estudo no grupo Colônia foi significativamente menor que no grupo Placebo). (..... Limites de normalidade: $3,6$ a $11 \times 10^3/\text{mm}^3$).

Na análise da contagem diferencial dos leucócitos, verificou-se que somente nos eosinófilos (Figura 32) houve diferenças estatisticamente significantes no 28º dia quando realizada a comparação entre os grupos Placebo e Colônia. As análises dos demais leucócitos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes (Figuras 33, 34, 35 e 36).

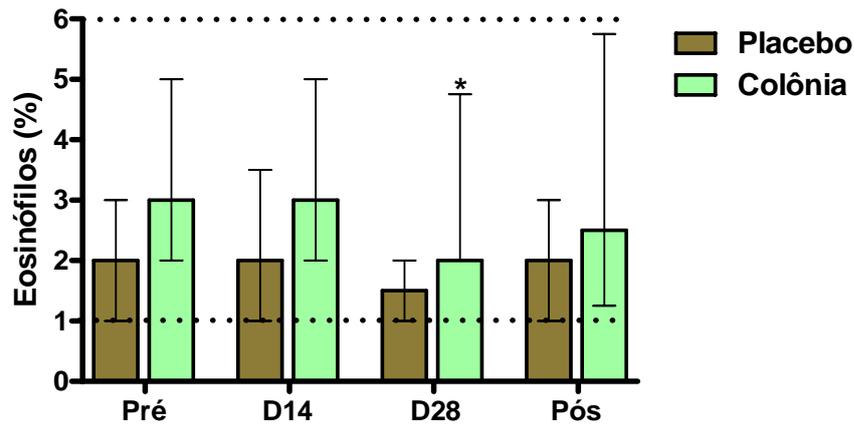


Figura 32-Quantificação de eosinófilos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos voluntários dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. * $p=0,0167$ (a contagem de eosinófilos do 28º dia foi menor no grupo Placebo do que no grupo Colônia). (..... Limites de normalidade: 1 a 6%).

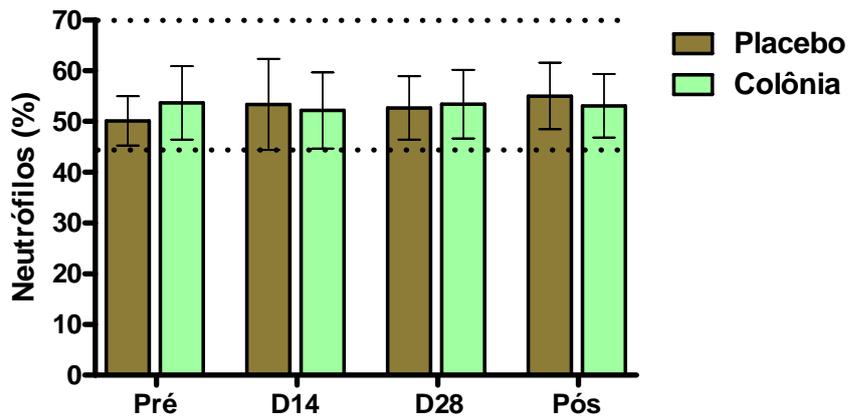


Figura 33-Quantificação de neutrófilos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (..... Limites de normalidade: 45 a 70%).

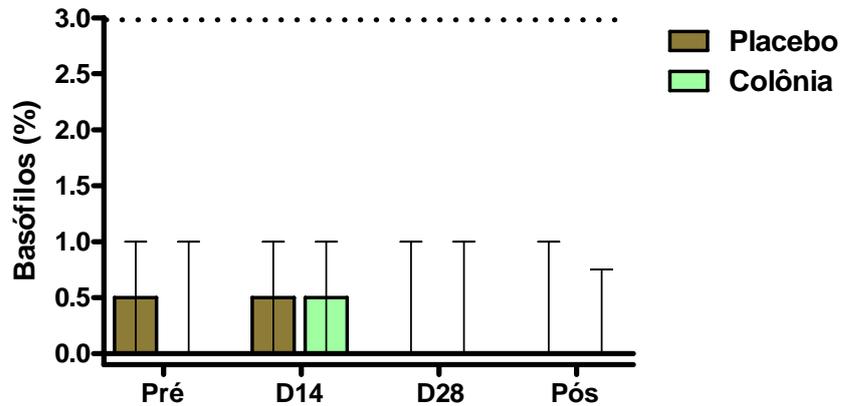


Figura 34-Quantificação de basófilos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (..... Limites de normalidade: 0 a 3%).

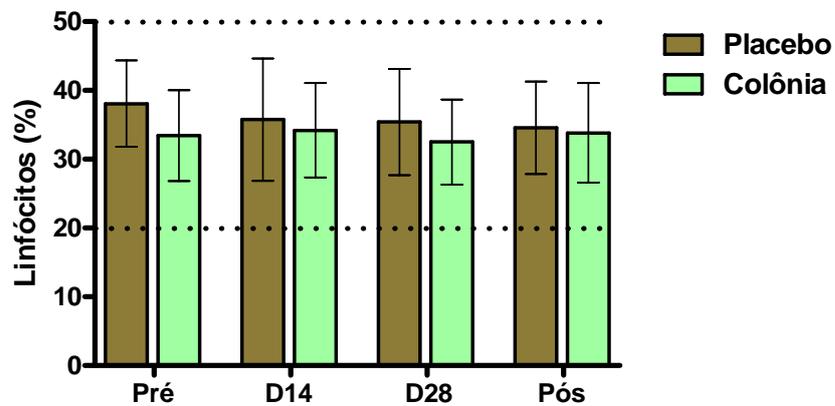


Figura 35-Quantificação de linfócitos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (..... Limites de normalidade: 20 a 50%).

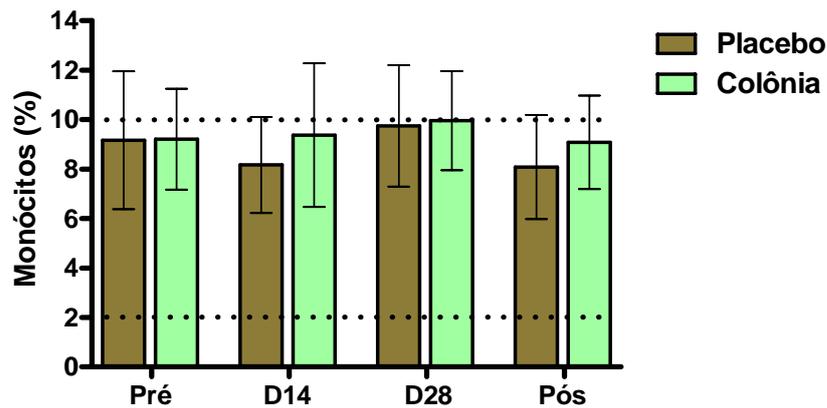


Figura 36-Quantificação de monócitos, em termos relativos (percentuais), realizada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (..... Limites de normalidade: 2 a 10%).

A avaliação da função hepática foi realizada através da dosagem das enzimas hepáticas AST e ALT, da bilirrubina total, fosfatase alcalina e albumina.

Na análise das transaminases, observou-se que na dosagem da AST houve uma diferença estatisticamente significativa apenas no pré-estudo nas comparações intergrupos. Todavia, nas comparações intragrupo não foram verificadas diferenças estatisticamente significantes entre os períodos (Figura 37). Na dosagem de ALT não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes em nenhuma das comparações. (Figura 38).

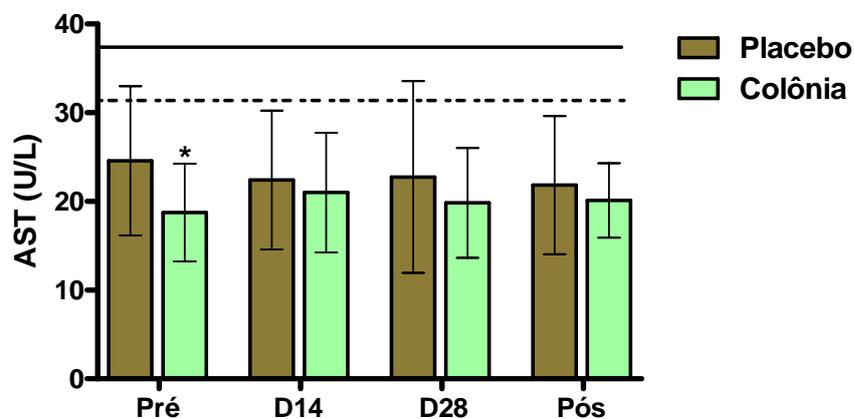


Figura 37-Concentração sanguínea de AST mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. * $p=0,0170$ (AST do grupo Colônia foi significativamente menor do que o grupo Placebo no pré-estudo). Valores de referência (— Homem: Até 38 U/L ; - - - Mulher: Até 32 U/L).

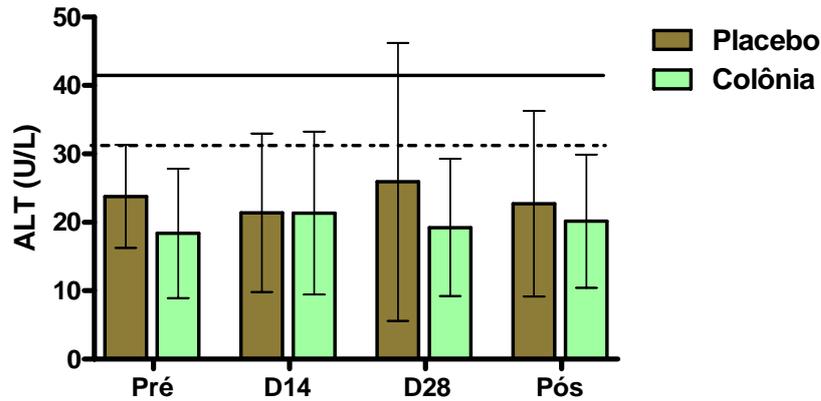


Figura 38-Concentração sanguínea de ALT mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. Valores de referência (— Homem: Até 38 U/L ; - · - Mulher: Até 32 U/L)

Nas dosagens de fosfatase alcalina não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos Placebo e Colônia em nenhum dos períodos. Já na avaliação intragrupo, tanto no grupo Placebo como no grupo Colônia, verificou-se que a fosfatase alcalina mensurada no 14º dia foi significativamente maior que a observada no pré-estudo (Figura 39).

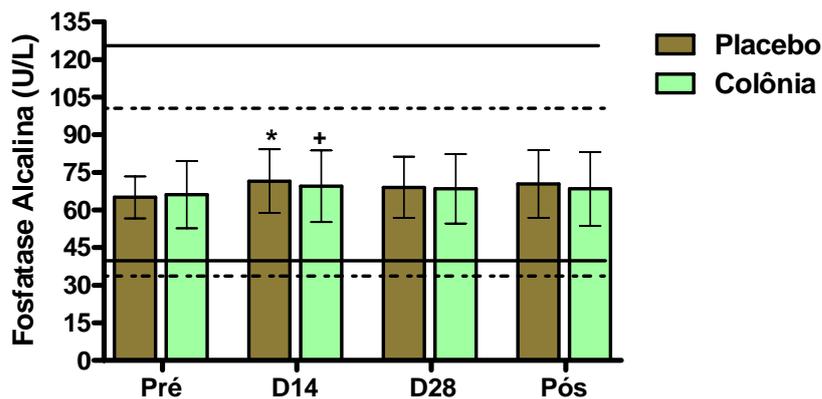


Figura 39-Concentração sanguínea da fosfatase alcalina mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. * $p < 0,05$; + $p < 0,05$ (No grupo Placebo e no grupo Colônia a fosfatase alcalina mensurada no 14º dia foi significativamente maior que a observada no pré-estudo). Valores de referência (— Homem: 40 a 129 U/L, - - - Mulher: 35 a 104 U/L).

A avaliação das dosagens da bilirrubina total não mostrou diferenças estatisticamente significantes em nenhuma das comparações (Figura 40).

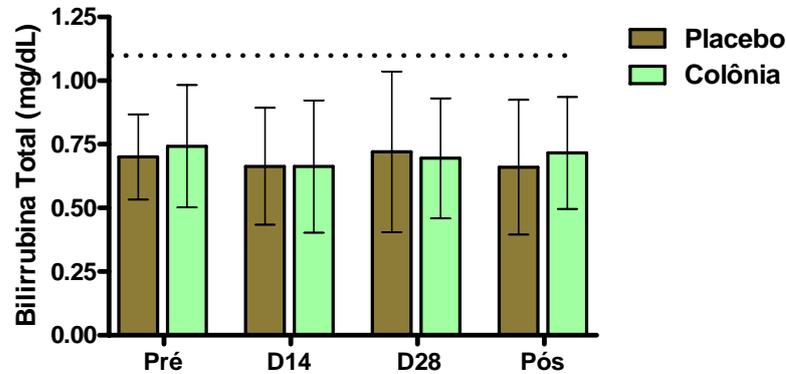


Figura 40-Concentração sanguínea de bilirrubina total mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (..... Limite de normalidade: Até 1,1 mg/dL).

Na dosagem de albumina não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em nenhum dos períodos. Nas comparações intragrupo, verificou-se que, no grupo Colônia, a albumina mensurada no 14º dia foi significativamente menor que a observada no pré-estudo (Figura 41).

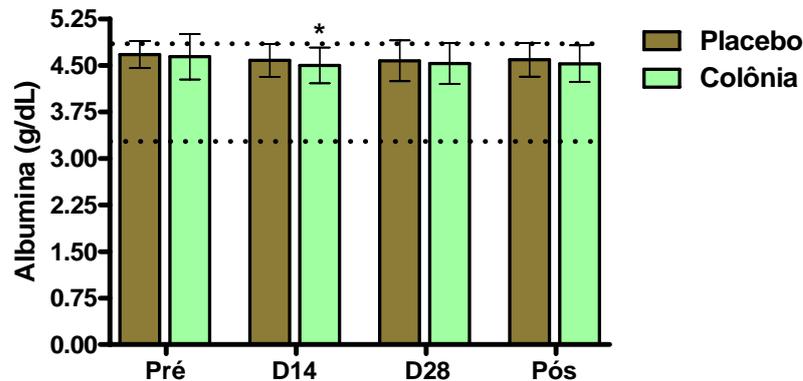


Figura 41-Concentração sanguínea de albumina mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. * $p < 0,05$ (no grupo Colônia, a albumina mensurada no dia 14 foi significativamente menor que a observada no pré-estudo. (..... Limites de normalidade: 3,4 a 4,8 g/dL).

A função renal foi avaliada através da análise dos parâmetros uréia e creatinina. Na dosagem de uréia não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes em nenhuma das comparações (Figura 42). A determinação da concentração de creatinina sérica não mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em nenhum dos períodos. Na avaliação do grupo Placebo, verificou-se que a creatinina mensurada no 28º dia foi significativamente maior que a observada no pré-estudo e no 14º dia. No grupo Colônia, por outro lado, não foram verificadas diferenças estatisticamente significantes entre os períodos (Figura 43).

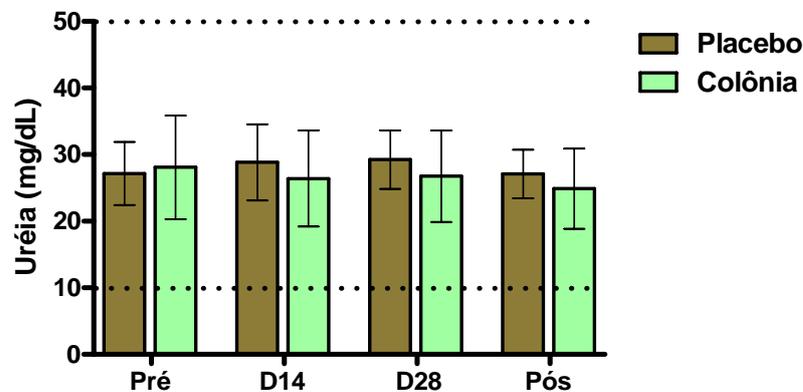


Figura 42-Concentração sanguínea da uréia mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (.....Limites de normalidade: 10 a 50 mg/dL).

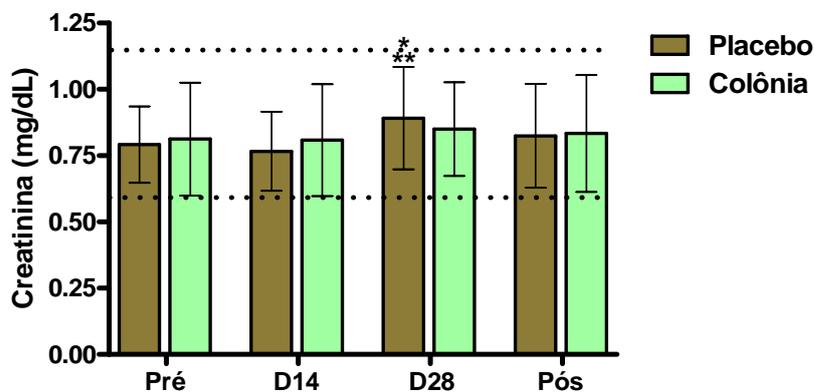


Figura 43-Concentração sanguínea da creatinina mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ (no grupo Placebo, a creatinina mensurada no 28º dia foi significativamente maior que a observada no pré-estudo e no 14º dia). (..... Limites de normalidade: 0,6 a 1,2 mg/dL).

Na análise dos parâmetros bioquímicos, nenhuma alteração significativa no colesterol total foi evidenciada nos voluntários que receberam o Placebo ou a Colônia (Figura 44). Entretanto, ao se avaliar as dosagens de glicose nos voluntários do grupo placebo verificou-se que houve uma redução significativa no 28º dia em relação à observada no 14º dia e no pré-estudo. Já no grupo Colônia, observou-se que a glicose medida no pré-estudo foi significativamente maior que a verificada no 28º dia e no pós-estudo (Figura 45). Nas comparações intergrupos, dos triglicerídeos, constatou-se diferença estatisticamente significativa apenas no 14º dia. Todavia, nas comparações intragrupo não foram verificadas diferenças estatisticamente significantes entre os períodos, tanto no grupo Placebo como no grupo Colônia (Figura 46).

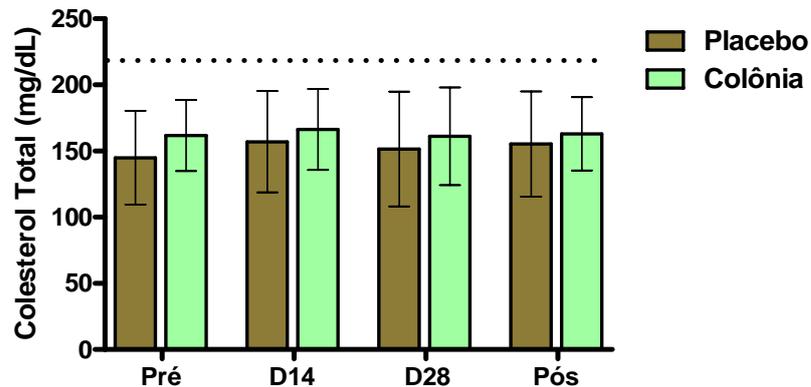


Figura 44-Concentração sanguínea de colesterol total mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. (..... Limites de normalidade: até 239 mg/dL).

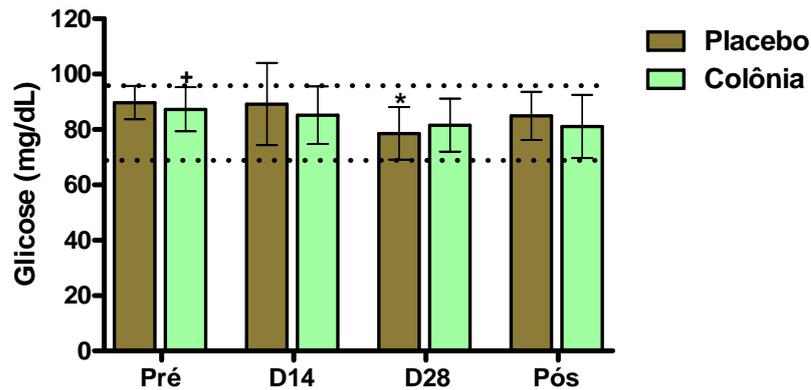


Figura 45-Concentração sangüínea da glicose mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 22 do grupo Colônia. † $p < 0,05$ (No grupo Colônia, observou-se que a glicose medida no pré-estudo foi significativamente maior que a verificada no 28º dia e no pós-estudo); * $p < 0,05$ (No grupo Placebo, verificou-se que a glicose mensurada no dia 28 foi significativamente menor que a observada no 14º dia e no pré-estudo). (..... Limites de normalidade: 70 a 99 mg/dL).

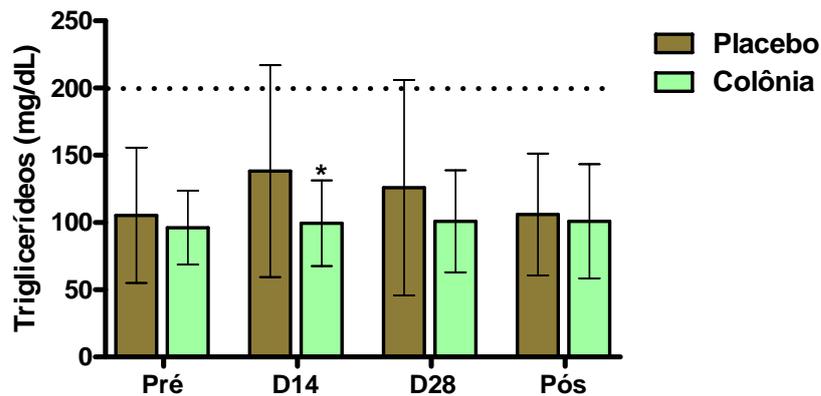


Figura 46-Concentração sangüínea de triglicerídeos mensurada no pré-estudo, no 14º e 28º dias e no pós-estudo nos sujeitos dos grupos Placebo e Colônia. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 12 sujeitos do grupo Placebo e 24 do grupo Colônia. * $p = 0,0427$ (Nas comparações intergrupos, constatou-se diferença estatisticamente significativa apenas no 14º dia. (..... Limites de normalidade: ate 200 mg/dL).

4.5 Eventos Adversos

A formulação foi bem tolerada, entretanto, alguns eventos adversos foram relatados durante o período de tratamento.

Dos eventos adversos considerados relacionados ao tratamento, os mais referidos foram os episódios de cefaléia, de intensidade leve e moderada. A análise comparativa, desse evento, entre os grupos Placebo e Colônia não mostrou diferença estatisticamente significativa em relação à proporção de voluntários com esta queixa ($P=1,0000$). Na maioria dos casos, esses episódios se repetiram durante todo o período de estudo. (Tabela 2).

Tabela 2-Ocorrência de cefaléia entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.

<i>Grupo</i>	<i>Cefaléia</i>		<i>Total</i>
	<i>Presente</i>	<i>Ausente</i>	
Colônia	5 (20,83%)	19	24
Placebo	2 (16,67%)	10	12
Total	7	29	36

Nota: Dados analisados pelo teste exato de Fisher ($P=1,0000$)

Em segundo lugar ficaram os episódios de sonolência, relatados por seis voluntários, que classificaram os episódios como sendo de intensidade leve, exceto um, que classificou como intenso. A análise comparativa, deste evento, entre os grupos Placebo e Colônia não mostrou diferença estatisticamente significativa em relação à proporção de voluntários com esta queixa ($P=1,0000$). (Tabela 3).

Tabela 3-Ocorrência de sonolência entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.

<i>Grupo</i>	<i>Sonolência</i>		<i>Total</i>
	<i>Presente</i>	<i>Ausente</i>	
Colônia	4 (16,67%)	20	24
Placebo	2 (16,67%)	10	12
Total	6	30	36

Nota: Dados analisados pelo teste exato de Fisher ($P=1,0000$)

Dor abdominal foi referida por três voluntários, tendo sido todos os episódios de intensidade leve. A análise comparativa, deste evento, entre os grupos

Placebo e Colônia mostrou diferença estatisticamente significativa em relação à proporção de voluntários com esta queixa (*P = 0,0308). (Tabela 4).

Tabela 4-Ocorrência de dor abdominal entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.

Grupo	Dor abdominal		Total
	Presente	Ausente	
Colônia	0 (0%)*	24	24
Placebo	3 (25,00%)	9	12
Total	3	33	36

Nota: Dados analisados pelo teste exato de Fisher (P=0,0308)

Também classificados como relacionados ao estudo, foram referidos os eventos poliúria, vômito e flatulência relatados apenas uma vez. Não tendo sido constatada diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em relação à proporção de voluntários com essas queixas (P=1,0000). (Tabelas 5, 6 e 7 respectivamente).

Tabela 5-Ocorrência de poliúria entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.

Grupo	Poliúria		Total
	Presente	Ausente	
Colônia	1 (4,17%)	23	24
Placebo	0 (0,00%)	12	12
Total	1	35	36

Nota: Dados analisados pelo teste exato de Fisher (P=1,0000)

Tabela 6-Ocorrência de vômito entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.

Grupo	Vômito		Total
	Presente	Ausente	
Colônia	1 (4,17%)	23	24
Placebo	0 (0,00%)	12	12
Total	1	35	36

Nota: Dados analisados pelo teste exato de Fisher (P=1,0000)

Tabela 7-Ocorrência de Flatulência entre os voluntários dos grupos Placebo e Colônia.

<i>Grupo</i>	<i>Flatulência</i>		<i>Total</i>
	Presente	Ausente	
Colônia	1 (4,17%)	23	24
Placebo	0 (0,00%)	12	12
Total	1	35	36

Nota: Dados analisados pelo teste exato de Fisher (P=1,0000)

Nenhum dos voluntários que apresentou eventos adversos interrompeu o tratamento com a formulação estudada.

4.6 Genotoxicidade

A genotoxicidade do chá de colônia foi avaliada pelo teste do cometa em dezoito voluntários (08 homens e 10 mulheres). Observou-se que o índice de dano ao DNA no controle positivo (doxorrubicina 3 µg/mL) foi significativamente maior que no controle negativo (voluntário antes da ingestão do chá) e no grupo colônia. Além disso, o índice de dano ao DNA no grupo tratado com o chá de colônia foi significativamente menor que no controle negativo o que mostra que o chá não foi genotóxico aos linfócitos dos voluntários (Figura 47).

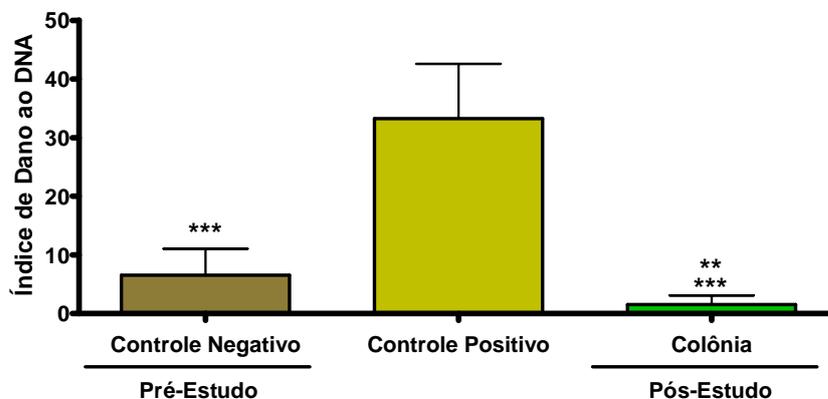


Figura 47-Índice de dano do DNA no pré e pós-estudo dos voluntários participantes do ensaio clínico. ***P<0,001(o índice de dano ao DNA no controle positivo foi significativamente maior que no controle negativo e colônia); **P<0,01(o índice de dano ao DNA no grupo tratado com o chá de colônia foi significativamente menor que no controle negativo).



5 DISCUSSÃO

Uma vez que, devido à ausência de uma legislação específica, grande parte dos fitoterápicos encontrados e comercializados livremente no Brasil não possui o status de medicamento, a Portaria nº 116/SVS, de 08 de agosto de 1996 da então Secretaria de Vigilância Sanitária, normatizou os estudos de toxicidade de produtos fitoterápicos (BRASIL, 1996a). Segundo a mesma, os protocolos clínicos destes estudos deveriam seguir as determinações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996b).

No Brasil, a legislação de fitoterápicos vem sofrendo modificações nos últimos anos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) elaborou normas para regulamentação desses medicamentos, desde a Portaria nº. 6 de 1995, onde prazos foram estabelecidos para que dados de segurança e eficácia dos fitoterápicos comercializados fossem fornecidos pela indústria farmacêutica, passando pelas RDC nº. 17 de 2000 e nº. 48 de 2004, atualmente em vigor.

Essa preocupação dos órgãos regulatórios com a normatização dos medicamentos fitoterápicos propicia a avaliação de quesitos importantes, como o controle de qualidade do produto, além de estudos de eficácia e segurança desses medicamentos (NISHIOKA, 2006).

De acordo com a norma em vigor, além da realização do controle de qualidade “*in vitro*”, a eficácia e segurança terapêutica de um fitoterápico devem ser determinadas através de avaliações não somente em animais experimentais, mas também em humanos. Essas medidas visam evitar ou ao menos minimizar o risco de surgirem efeitos adversos graves ou fatais após a liberação para a comercialização.

Estudos de toxicologia clínica visam estabelecer o grau de segurança da substância em teste. Em se tratando, portanto, de estudos de Fase I, trata-se da fase mais dramática e a mais nobre de acesso aos efeitos de nova molécula em seres humanos, pois, com freqüência, não existe correspondência bem firmada entre a segurança em animais e em seres humanos (OLIVEIRA, 2006). Devem ser desenvolvidos em voluntários saudáveis e, juntamente com o respectivo protocolo clínico, seguir a regulamentação específica vigente no país, além das demais

normas do Conselho Nacional de Saúde, a Resolução nº 196/96, que regulamenta a pesquisa em seres humanos. Esta Resolução fundamenta-se na declaração de Helsinque e nas diretrizes internacionais sobre pesquisas, no que se refere aos princípios éticos, científicos e técnicos (BRASIL, 1996c).

De acordo com as Resoluções nº 196/96 (que revogou a Resolução nº 01/88 MS/CNS), nº 251/97 MS/CNS, RDC nº 48, de 16 de março de 2004, da Anvisa e a Portaria 116/96 da Secretaria de Vigilância Sanitária, um estudo toxicológico deve seguir um protocolo com parâmetros o mais próximo possível dos usados na prática clínica. A metodologia necessária deverá abranger entre outros critérios: 1) a seleção de, no mínimo, 14 voluntários saudáveis; 2) técnicas de administração do fármaco: as doses usadas devem variar entre 50 e 200% da usada popularmente; 3) critérios éticos envolvidos; 4) avaliação dos efeitos adversos que, por ventura, possam ocorrer no decorrer do estudo.

Apesar de não ser exigido um grupo controle nos estudos de segurança clínica, optamos por utilizar um controle com o intuito de eliminar ou reduzir os efeitos de variáveis não relacionadas à substância em teste, e, por conseguinte, dar uma maior relevância científica ao estudo, pois além das comparações intragrupo foram realizadas comparações entre os grupos.

O chá das folhas de *A. zerumbet* foi à formulação escolhida para investigar a segurança terapêutica da colônia, já que é a forma usualmente utilizada pela população, e que, portanto, deve ser avaliada quanto a possíveis efeitos toxicológicos.

O número de sujeitos utilizados na pesquisa obedeceu à legislação vigente que preconiza o uso de no mínimo 14 voluntários saudáveis para a realização de estudos de toxicologia.

No estudo, a seleção dos voluntários ocorreu de forma criteriosa, dada a necessidade da confirmação do estado de hígidez dos voluntários.

O protocolo clínico e o termo de consentimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, onde foi realizado, obedecendo todos os aspectos na Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde do Brasil.

É importante ressaltar que os voluntários foram devidamente informados da real natureza do experimento, dos objetivos e procedimentos a serem realizados antes, durante e após a administração do chá, além dos possíveis riscos e efeitos adversos associados com a administração de qualquer medicamento. O termo de consentimento deu ênfase aos objetivos, procedimentos que seriam utilizados, desconfortos e possíveis riscos previsíveis e idiossincrasias. Também foi assegurado o acompanhamento multiprofissional durante todo o estudo e a liberdade do sujeito em recusar-se a participar ou retirar-se em qualquer fase do ensaio, sem nenhuma penalização ou prejuízos ao seu cuidado, bem como a garantia do sigilo.

Para avaliar a possível toxicidade do chá de *A. zerumbet*, foram analisados, como auxílio de diagnóstico, relevantes parâmetros clínicos e laboratoriais.

As alterações observadas nos níveis pressóricos dos voluntários, por se caracterizarem como eventos isolados, foram consideradas flutuações fisiológicas, levando-se em consideração que essas variações de pressão arterial podem se manifestar ao longo do dia, de acordo com o estado de movimento ou repouso, estresse emocional e condições nutricionais.

O papel do hemograma na análise toxicológica de um fármaco é verificar se sua administração é capaz de interferir na produção ou na remoção das células sanguíneas da linhagem linfóide ou eritróide (LORENZI, 2003). Apesar do aumento significativo do hematócrito nos dois grupos, esse parâmetro se manteve nos limites de normalidade.

Quanto à análise do TAP verificou-se que o aumento apresentado tanto no grupo Placebo quanto no grupo Colônia, manteve-se dentro dos limites da normalidade, portanto sem significado clínico.

A redução dos leucócitos totais, no grupo Colônia, observada no período de pós-estudo, quando realizada a comparação entre os grupos, e o aumento de eosinófilos no grupo Colônia no 28º dia do estudo mantiveram-se dentro dos limites de normalidade. Variações na contagem dos leucócitos pode ser resultado de leves alterações que ocorrem como resposta da medula óssea normal a inflamações ou infecções, estresse físico ou emocional (SOARES *et al.*, 2002). Além disso, não foi

encontrado na literatura, nenhum indício de que o chá de colônia provocasse alterações nas células sanguíneas em indivíduos adultos saudáveis.

Quanto à análise da função hepática, as variações estatisticamente significativas observadas, entre os grupos Placebo e Colônia, na AST, ocorreram durante o período de pré-estudo, portanto, essa variação não está relacionada à ingestão do chá de colônia e sim, a variações individuais dos voluntários, estando essa variação dentro dos limites de normalidade.

O aumento da fosfatase alcalina e a redução da albumina, ambos ocorridos na comparação do 14º dia com pré-estudo, tanto no grupo Placebo como no grupo Colônia, mantiveram-se dentro dos limites de normalidade.

Apesar das variações, dentro dos limites de referência, encontradas em alguns dos parâmetros hepáticos, não houve indícios de hepatotoxicidade ocasionada pelo chá de colônia, até porque os voluntários não apresentaram queixas compatíveis com doenças hepáticas, de acordo com a anamnese e o exame físico realizados. Além disso, na bibliografia pesquisada, não foi localizado nenhum achado sobre alterações que o chá de colônia possa deflagrar nos parâmetros hepáticos em indivíduos adultos saudáveis. Em um estudo, com as cápsulas de extrato seco de colônia, realizado por Vargas (2002) com pacientes portadores de hipertensão não foram observadas alterações laboratoriais nas enzimas hepáticas dos mesmos.

Fatores, como massa muscular, nutrição e ocorrência de edema, além da função renal, podem influenciar na variação dos níveis de creatinina (SOARES *et al.*, 2002). O aumento dos níveis de creatinina, ocorridos no 14º e 28º dias, foi verificado somente no grupo placebo, não tendo, portanto, relação com o uso do chá de Colônia.

Ao se avaliar as dosagens de glicose nos voluntários do grupo Placebo verificou-se que houve uma redução significativa no dia 28 em relação à observada no dia 14 e no pré-estudo. Já no grupo Colônia, observou-se que a glicose medida no pré-estudo foi significativamente maior que a verificada no dia 28 e no pós-estudo. Os valores da glicemia variam, dentro da faixa de normalidade, de acordo com a dieta e/ou tempo de jejum. Logo, deve-se ressaltar que nenhuma das

alterações apontou para a presença de qualquer distúrbio, já que estas oscilações ocorreram dentro da faixa de valores esperados.

A redução nos níveis de triglicérides no grupo Colônia, observada na avaliação do 14º dia, pode ter ocorrido por modificação na dieta dos voluntários, já que não houve nenhuma restrição quanto aos hábitos alimentares. Além disso, a análise toxicológica das cápsulas de Colônia não mostrou tal redução (VARGAS, 2002).

Vale ressaltar que as diferenças estatisticamente significantes que ocorreram tratam-se, de fato, de um preciosismo estatístico, uma vez que correspondem a variações pequenas nos valores médios, que se mantiveram dentro dos limites de normalidade e que, portanto, não têm relevância clínica.

Durante os vinte e oito dias de estudo, ocorreram alguns eventos adversos que foram atribuídos ao uso da formulação.

O evento adverso mais proeminente no estudo foi à cefaléia, porém os dados analisados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à proporção de voluntários com queixa de cefaléia. Um experimento com animais mostrou que a *A. zerumbet* apresenta um efeito vasodilatador (LAHLOU, 2002). Segundo Gilman (2007) um dos efeitos adversos dos fármacos vasodilatadores é a cefaléia.

A sonolência também foi um dos eventos bastante referido pelos voluntários, porém não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em relação à proporção de voluntários com essa queixa. Em um estudo clínico realizado por Vargas (2002) com cápsulas, contendo extrato seco, de colônia, os pacientes apresentaram uma melhora da insônia e da agitação, resultados indicativos de efeito central de acordo com estudo pré-clínico demonstrado em camundongos (MAIA *et al.*, 1992).

A ocorrência de poliúria também não se mostrou significativa entre os grupos em relação à proporção de voluntários com essas queixas. Em um estudo clínico, realizado com cápsulas de Colônia, Vargas (2002) relata que houve poliúria na maioria dos pacientes estudados.

Quanto aos eventos vômito e flatulência relatados por alguns voluntários não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em

relação à proporção de voluntários com essas queixas. Não foram encontrados dados, na literatura, que atestem que o chá de Colônia possa provocar os eventos descritos.

Quanto ao evento dor abdominal foi constatada diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à proporção de voluntários com essa queixa, esse evento pode ter ocorrido por modificação na dieta dos voluntários, já que não houve nenhuma restrição quanto aos hábitos alimentares.

Outro aspecto avaliado foi o potencial genotóxico do chá de colônia. Quando o material genético de uma célula é lesado, esta pode reparar este dano, sofrer apoptose (morte celular programada) ou não reparar este dano sendo chamada de célula transformada (VASCONCELLOS, 2004). A exposição a agentes físicos, químicos, e biológicos podem resultar em alterações no DNA que podem desencadear doenças como o câncer.

Estudos de genotoxicidade devem ser efetuados quando houver indicação de uso contínuo ou prolongado de medicamentos em humanos. De maneira geral, as plantas medicinais são usadas pela população durante longos períodos para o tratamento de doenças, tendo em vista que não possuem ação terapêutica imediata. Apesar do vasto uso a maioria dessas plantas não foi suficientemente estudada, no que se refere ao seu potencial genotóxico. Vicentini *et al.* (2001), relataram que os chás e infusões de plantas medicinais podem conter substâncias tóxicas com efeitos mutagênicos.

Diante disso, o estudo avaliou a genotoxicidade do chá de *A. zerumbet* em dezoito voluntários. Os resultados obtidos mostram que o índice de dano ao DNA no controle positivo foi significativamente maior que no controle negativo e no grupo colônia ($p < 0,001$) e que o índice de dano ao DNA no grupo tratado com o chá de colônia foi significativamente menor que no controle negativo ($p < 0,01$), o que mostra que o chá de *A. zerumbet* não foi genotóxico nos linfócitos dos voluntários.

O protocolo utilizado foi capaz de demonstrar que os dados colhidos através de anamnese, exame físico, laboratoriais e eletrocardiográficos dos voluntários encontraram-se dentro dos limites de normalidade ou apresentaram alterações discretas sem significância clínica.

Essas evidências indicam ausência de toxicidade sistêmica com a utilização do chá de *Alpinia zerumbet* na dose utilizada durante o período de 28 dias.

O conjunto de respostas geradas por este estudo de toxicologia é base para futuros ensaios clínicos que comprovem a eficácia da *Alpinia zerumbet* nas suas diversas indicações populares.



6 CONCLUSÃO

O ensaio clínico em estudo mostrou que o chá de *Alpinia zerumbet* é seguro na dose empregada.

O chá da *Alpinia zerumbet* não demonstrou atividade genotóxica frente a linfócitos humanos.



REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, E. S. B.; NEVES, L. J. Anatomia foliar de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith (Zingiberaceae). **Rev. Acta Bot. Bras.**, v.18, n. 5, p. 109-121, 2004.

ALICE, C. B.; SIQUEIRA, N. C. S.; MENTZ, L. A.; SILVA, G. A. A. B.; JOSÉ, K. F. D. **Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacognóstico**. Porto Alegre. EdULBRA, 1995.

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Hemus, 1993.

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina**. Buenos Aires: Isis Ediciones SRL, 1998

ALZUGARY, D.; ALZUGARY, C. **Plantas que curam**. Rio de Janeiro: [s.n.], 1983.

ARMITAGE, P.; BERRY, G. **Statistical methods in medical research**. 3. ed. Oxford: Blackwell, 1994. 620 p.

BELPAEME, K.; COOREMAN, K.; VOLDERS, M. K. Development and validation of the in vivo alkaline comet assay for detecting genomic damage in marine flatfish. **Mutat.Res.Genet.Toxicol.Environ.Mutag.**, v. 415, n. 3, p. 167-184, 1998.

BEZERRA, M. A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H.; COELHO-DE-SOUSA, A. N.; CRIDDLE, D. N.; FONTELES, M. C. Myorrelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Alpinia speciosa* on rat ileum. **Phytother. Res.**, v.14, p. 549-551, 2000.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3. ed. Fortaleza: Progresso, 1976.

BRASIL. Resolução nº 116, de 8 de agosto de 1996. Publica proposta de Norma para estudo da Toxicidade e da Eficácia de Produtos Fitoterápicos (anexos I e II). Estabelece o prazo de 60 (sessenta) dias, a contar da publicação desta Portaria, para que interessados apresentem sugestões, junto à Secretaria de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 ago. 1996a.

BRASIL. Resolução nº 17, de 24 de fevereiro de 2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 fev. 2000.

BRASIL. Resolução nº 196, de 10 de agosto de 1996. Publica diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 ago. 1996b.

BRASIL. Resolução nº 251, de 7 de agosto de 1997. Publica normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF, 7 ago. 1997.

BRASIL. Resolução nº 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2004.

BRASIL. Resolução nº 6, de 31 de janeiro de 1995. Instituir e normatizar o registro de produtos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 jan. 1995.

CALIXTO, J. B. Fitofármacos no Brasil: agora ou nunca! **Ciênc. Hoje**, v. 21, n. 123, p. 26-30, 1996.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, n. 2, p. 179-190, 2000.

CAMARGO, M. T. L. A. **Plantas medicinais e de Rituais Afro-Brasileiros II: estudo etnofarmacobotânico**. São Paulo: Ícone, 1998.

CAMARGO, M. T. L. A. Estudo etnofarmacobotânico de *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt & R.M.Sm. *Zingiberaceae*, empregada na medicina popular e em rituais afro-brasileiro. **Herbarium: Estudos de Etnofarmacobotânica**. Disponível em: <<http://www.aguaforte.com/herbarium/Alpinia.html>>. Acesso em: 29 nov. 2008.

CARNEIRO, S. M. B. **Plantas medicinais como instrumento didático nos livros de ciências da 6ª série do 1º grau maior**. Recife: [s.n.], 1997.

CARLINE, E. A. **Farmacologia prática sem aparelhagem**. São Paulo: Sarvier, 1973.

CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W. A simple and inexpensive steam generator for essential oils extraction. **J. Chem. Educ.**, v. 53, n. 10, p. 652, 1976.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the Monocotyledons: Structure, evolution, and taxonomy**. Berlin: Springer-Verlag, 1985.

D'ARCY, P. F. Adverse reactions and interactions with herbal medicines. Part 2. Drug interactions. **Adv. Drug React. Toxicol. Rev.**, v. 12, n. 3, p. 147-162, 1993.

D'ARCY, P. F. Adverse reactions and interactions with herbal medicines. Part 1. Adverse reactions. **Adv. Drug React. Toxicol. Rev.**, v. 10, n. 4, p. 189-208, 1991.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. rev. ampl. São Paulo: Ed. UNESPE, 2002.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: UNESP, 1996.

ELISABETSKY, E. Pesquisas em Plantas Medicinais. **Ciênc. Cult.**, v. 39, n. 8, p. 697-702, 1987.

ELISABETSKY, E.; WANNAMACHER, L. The status of ethnopharmacology in Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 38, n. 2, p. 137-143, 1993.

ELZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Essential oils, kava pyrones and phenolics compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M.Sm. and their antioxidant activity. **Food Chem.**, v.103, p. 486-494, 2007a.

ELZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet*. **Food Chem.**, v.104, p. 1648-1653, 2007b.

FERREIRA, S. **Medicamentos a partir de Plantas Medicinais no Brasil**. 1. ed. Academia Brasileira de Ciências, 1998.

FLORES e folhas: *Alpinia* ou Colônia (*Alpinia zerumbet*). Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A20alpinia.htm>>. Acesso em: 29 nov. 2008.

FRIEDMAN, L. M.; FURBERG, C. D.; DeMETS, D. L. **Fundamentals of clinical trials**. 3. ed. St. Louis: Mosby, 1995.

GARCIA, A. **Fitoterapia: Vademécum de Prscripción**. 3. ed. Madrid: Masson, 1998.

GILBERT, B.; FERREIRA, J. L. P.; ALMEIDA, M. B. S.; CARVALHO, E. S.; CASCON, V.; ROCHA, L. M. The official use of medicinal plants in public health. *Ciência e Cultura. J. Braz. Assoc. Adv. Sci.*, v. 49, n. 5/6, p. 339-344, 1997.

GILMAN, G. A.; HARDMAM, J. G.; LIMBIRD, L. E. **The Goodman & Gilman's: pharmacological basis of therapeutics**. 11th ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2007.

GOLDFRANK, L. The Pernicious Panacea: Herbal Medicine. **Hosp. Phys.**, v. 10, p. 64-86, 1982.

GUILLÉM, M. D. G.; ALBARRACIN, A.; ARQUIOLA, E.; ERILL, S.; MONTIEL, L.; PESET, J. L.; ENTRALGO, P. L. **Historia del Medicamentos**. 4. ed. [S.I.]: Ediciones Doyma, 1987.

GUZZO, G. C. **Estudo da freqüência e causalidade dos eventos adversos registrados nos estudos de bioequivalência realizados na unidade de farmacologia clínica nos anos de 2000 a 2003**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

HSU, S. Y. Effects of the constituents of *Alpinia speciosa* rhizoma on experimental ulcers. **Taiwan Yi Xue Hui Za Zhi.**, v.86, n.1, p.58-64, 1987.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993.

KINGORN, A.; BALANDRIN, M. **Human medicinal agents from plants**. 1. ed. Washington: American Chemical Society, 1993.

LAHLOU, S.; GALINO, C.A.; LEAL-CARDOSO, J. H.; FONTELES, M. C.; DUATE, G.P. Cardiovascular effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* leaves and its main constituent, terpinen-4-ol, in rats: role of the autonomic nervous system. **Planta Med.**, v. 68, p. 1097-1102, 2002.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, L. F. L.; LEAL-CARDOSO, J. H.; DUARTE, G. P. Antihypertensive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v.17, p. 323-330, 2003.

LEWIS, W. **Medical Botany Plants Affecting Man's Health**. 1st ed. New York: Wiley-Interscience, 1977.

LIMA, E. O.; GOMPERTZ, O. F.; GIESBRECHT, A. M.; PAULO, M. Q. In vitro antifungal activity of essential oils obtained from officinal plant against dermatophytes. **Mycoses**, v. 36, p. 333-336, 1993.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. São Paulo: Editora Plantarum, 1995.

LORENZI T. F. **Manual de Hematologia: propedêutica e clínica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Medsi, 2003.

LYONS, A.S.M.D.; PETRUCCELLI, R.J.II, M.D. **Medicine an illustrated history**. New York: Abradale Press, 1987.

MACHADO, L. D. *Alpinia*. **Rev. Natureza**, v. 101, n. 5, p. 39-42, 1996.

MAIA, S. B.; RAO, V. S.; MATOS, F. J. A. Constituintes e atividades farmacológica no SNC do óleo essencial de *Alpinia speciosa* Roscoe. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 1992, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 1992, p. 39.

MARGOTTA, R. **Farmácias vivas: história ilustrada da medicina**. [S.l: s.n.], 1989.

MATOS, F. J. A.; ANJOS, M. I. L. **Farmácias vivas: sistema de uso de plantas medicinais cientificamente comprovadas para pequenas comunidades**. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 1989.

MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 2000.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 3. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2007.

MEITNERT, C. **Clinical Trials: design, conduct and analysis**. 1st ed. Oxford: University Press, 1986.

MENDONÇA, V. L. M.; OLIVEIRA, C. L. A.; CRAVEIRO, A. A.; RAO, V. S.; FONTELES, M. C. I. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 86, suppl. 2, p. 93-97, 1991.

MORAES, M. O.; BEZERRA, F. A. F.; LOTUFO, L. C.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A. Avaliação clínica da eficácia e segurança de fitoterápicos no Brasil. **Arq. Bras. Fitomedicina Científica**, v. 1, n. 1, p. 30-39, 2004.

MORITA, M.; NAKANISHI, H.; MORITA, H.; MIHASHI, S.; ITOKAWA, H.; Structures and spasmolytic activities of derivatives from sesquiterpenes of *Alpinia speciosa* and *Alpinia japonica*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 44, n.8, p. 1603-1606, 1996.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A.; DEFILIPPS, R. A. **Medicinal plants of Brazil**. 1st ed. Algonac, Michigan: Reference Publications, 2000.

MOTULSKY, H. **Intuitive biostatistics**. Oxford: Oxford University Press, 1995.

MOURA, R. S.; EMILIANO, A. F.; CARVALHO, L. C. R. M.; SOUZA, M. A. V.; GUEDES, D. C.; TANO, T.; RESENDE, A. C. Antihypertensive and endothelium-dependent vasodilator effects of *Alpinia zerumbet*, a medicinal plant. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** v.46, n. 3, p. 288-294, 2005.

MOUSSATCHÉ, H. Pening of the first Brazil and China symposium of chemi and pharmacology os natural products. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 86, p.1-2, 1991.

NEWALL, C.; ANDERSON, L.; PHILLIPSON, J. **Herbal Medicines a guide for health-care professionals**. 1st ed. London: Pharmaceutical Press, 1996.

NISHIOKA, S. A. Como é feito o registro de medicamentos novos no Brasil. **Prática Hospitalar**, n. 45, 2006.

OLIVEIRA, G. G. **Ensaio Clínicos: princípios e prática**. 1. ed. Brasília: Editora ANVISA, 2006.

OLIVEIRA, C. C. **Estudo toxicológico pré-clínico do extrato aquoso e do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. São Paulo: IBRASA, 1997.

PEGAS HEENRIQUES, J. A.; ERDTMANN, B.; SILVA, J. **Genética Toxicológica**. 1. ed. Porto Alegre: Ed. Alcance, 2003.

PEREIRA, S. M. N. Ocorrência de acidentes tóxicos com plantas. **Infarma**, p. 16-19, 1992.

PETROVICK, P. R.; ORTEGA, G. G.; BASSANI, V. L. From a medicinal plant to a pharmaceutical dosage form. A (still) long way for the Brazilian medicinal plants. **J. Braz. Assoc. Adv. Sci.**, v. 49, n. 5/6, p. 364-369, 1997.

PILLANS, P. L. Toxicity of herbal products. **N Z Med. J.**, v. 108, p. 469-471, 1995.

PIMENTEL, M. E. L.; MORAES, M. O.; MELO, G. S.; VIANA, G. S. B.; BEZERRA, F. A. F. Estudo de Toxicologia Clínica e Laboratorial do Elixir de Aroeira do Sertão – *Myracrodrum urudeuva* Fr.All.(Fitoterápico). In: CONGRESSO DA FESBE, 13., 2001, Caxambu. **Anais...** Caxambu, MG, 2001. p. 441.

POCOCK, S. J. **Clinical Trials: a practical approach**. London: Wiley Medical Publications, 1987.

ROBBERS, E.; SPEEDIE, K.; TYLER, E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. 1. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.

SANTANA, C. F.; PINTO, K. V.; D'ALBUQUERQUE, I. L. Estudos farmacológicos de antiinflamatórios de alguns vegetais. **Rev. Inst. Antibióticos**, n. 1/2, p. 75-89, 1966.

SINDICATO DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS. **Contribuição do Subgrupo de Fitoterápicos do Sindusfarma-SP à Estruturação da Fitoterapia no Brasil**. São Paulo, 1995.

SINGER, A. C.; CROWLEY, D. E. & THOMPSON, I. P. Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. **Trends Biotechnol.**, v.21, p.1517-1524, 2003.

SOARES, J. L. M. F.; PASQUALOTTO, A. C.; ROSA, D. D.; LEITE, V. R. S. **Métodos Diagnósticos:** consulta rápida. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SOUZA, M. F. **Atividade anti-inflamatória, antitrombótica e anti-anafilática da Ternatina, um novo flavonóide de *Egletes viscosa*, Less.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1993.

SOUZA, C. M. Extratos Secos de Fitoterápicos: Como Acreditar Neles? **Racine**, v. 59, n. 6, p. 34-36, 2000.

SPIPKER, B. **Guide to Clinical Trials.** 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1991.

SPRIET, A.; DUPIN-SPRIET, T.; SIMON, P. (Ed). **Methodology of clinical drug trials.** 2nd ed. London: Karger, 1994.

TENG, C. M.; HSU, S. Y.; LIN, C. H. YU, S. M.; WANG, K. J.; LIN, M. H. Antiplatelete action of dehidrokawaina derivatives isolated from *Alpinia speciosa* rhizoma. **Chin. J. Physiol.**, v. 33, n.1, p. 41-48, 1990.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J. C.; ANDSASAKI, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environ. Mol. Mutagen.**, v.35, n. 3, p. 206-221, 2000.

TOMLINSON, P. B. Commelinales-Zingiberales. *In*: METCALF, C. R. **Anatomy of the monocotyledons.** Oxford: Clarendon Press, 1969. p. 341-359.

VARGAS, J. H. A. **Avaliação clínica e toxicológica do extrato seco de *Alpinia speciosa schum* em pacientes com hipertensão arterial.** Monografia (Especialização) - Faculdade de Ciências da Saúde de São Paulo, Vitória, 2002.

VASCONCELLOS M. C. **Estudo de toxicologia clínica e genotoxicidade do fitoterápico Tamaril® cápsula, em voluntários sadios.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

VICENTINI, V. E. P.; CAMPAROTO, M. L.; TEIXEIRA, R. O.; MANTOVANI, M. S *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scient.**, v. 23, p. 593-598, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine.** Geneva, 1993.

_____. **Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review.** Geneva, 1998.

WINTERS, G. Jardinagem-Zingiberáceas. **Rev. Natureza**, v. 91, n. 7, p. 14-23, 1995.

WONG, A.; CASTRO, E. G. R. Aspectos toxicológicos dos fitoterápicos. **Arq. Bras. Fitomed. Méd.**, v. 1, n. 2, p. 97, 1997.



GLOSSÁRIO

Adjuvante: Substância de origem natural ou sintética adicionada ao medicamento com a finalidade de prevenir alterações, corrigir e/ou melhorar as características organolépticas, biofarmacotécnicas e tecnológicas do medicamento (BRASIL, 2004).

Comitês de Ética em Pesquisa: Colegiados interdisciplinares e independentes, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criados para defender os interesses dos sujeitos da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos (BRASIL, 1996b).

Derivado de droga vegetal: Produtos de extração da matéria prima vegetal: extrato, tintura, óleo, cera, exsudato, suco, e outros (BRASIL, 2004).

Droga vegetal: Planta medicinal ou suas partes, após processos de coleta, estabilização e secagem, podendo ser íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada (BRASIL, 2004).

Estudo Clínico: Qualquer investigação em seres humanos, objetivando descobrir ou verificar os efeitos farmacodinâmicos, farmacológicos, clínicos e/ou outros efeitos de produto(s) e/ou identificar reações adversas ao produto(s) em investigação, com o objetivo de averiguar sua segurança e/ou eficácia. (Anvisa, 2004)

Fase Pré-Clínica: É realizada a aplicação de nova molécula em animais, após experimentos in vitro através dos quais aparenta demonstrar potencial terapêutico. São obtidas informações preliminares sobre atividade farmacológica e segurança, porém mais de 90% das substâncias estudadas nesta fase são eliminadas por não demonstrarem suficiente atividade farmacológica ou por mostrarem ser tóxicas. As moléculas que exibirem ação farmacológica específica e perfil de toxicidade aceitável passam à fase seguinte.

Fase I: É o primeiro estudo em seres humanos em pequenos grupos de pessoas voluntárias, em geral sadias de um novo princípio ativo, ou nova formulação,

realizado em pessoas voluntárias. Estas pesquisas se propõem estabelecer uma evolução preliminar da segurança e do perfil farmacocinético e quando possível, um perfil farmacodinâmico.

Fase II - Estudo Terapêutico Piloto: Os objetivos do Estudo Terapêutico Piloto visam demonstrar a atividade e estabelecer a segurança em curto prazo do princípio ativo, em pacientes afetados por uma determinada enfermidade ou condição patológica. As pesquisas realizam-se em um número limitado (pequeno) de pessoas e freqüentemente são seguidas de um estudo de administração. Deve ser possível, também, estabelecerem-se as relações dose-resposta, com o objetivo de obter sólidos antecedentes para a descrição de estudos terapêuticos ampliados (Fase III).

Fase III - Estudos Terapêuticos Ampliados: São estudos realizados em grandes e variados grupos de pacientes, com o objetivo de determinar o resultado do risco/benefício a curto e longo prazo das formulações do princípio ativo e o valor terapêutico relativo, de maneira global (geral). Exploram-se nesta fase o tipo e perfil das reações adversas mais freqüentes.

Fase IV: São pesquisas realizadas depois de comercializado o produto e/ou especialidade medicinal. Estas pesquisas são executadas com base nas características com que o medicamento foi autorizado. Geralmente são estudos de vigilância pós-comercialização, para estabelecer o valor terapêutico, o surgimento de novas reações adversas e/ou confirmação da freqüência de surgimento das já conhecidas, e as estratégias de tratamento (BRASIL, 1997).

Fórmula Fitoterápica: Relação quantitativa de todos os componentes de um medicamento fitoterápico (BRASIL, 2004).

ICH (International Conference on Harmonization): Órgão dos Estados Unidos para requerimentos técnicos para registro de produtos farmacêuticos destinados a uso em humano (GUZZO, 2004).

Instituição de pesquisa: Organização, pública ou privada, legitimamente constituída e habilitada na qual são realizadas investigações científicas (BRASIL, 1996b).

Marcadores: componentes ou classes de compostos químicos (ex: alcalóides, flavonóides, ácidos graxos, etc.), presentes na matéria-prima vegetal, preferencialmente os próprios ativos, destinados ao controle de qualidade da matéria-prima vegetal, dos preparados fitoterápicos intermediários e dos produtos fitoterápicos (BRASIL, 2004).

Matéria prima vegetal: Planta medicinal, droga vegetal ou derivados (BRASIL, 2004).

Medicamento: Produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnósticos (BRASIL, 2004).

Medicamento fitoterápico novo: Aquele cuja eficácia, segurança e qualidade, sejam comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro, podendo servir de referência para o registro de similares.

Medicamento fitoterápico tradicional: Elaborado a partir de planta medicinal de uso alicerçado na tradição popular, sem evidências, conhecidas ou informadas, de risco à saúde do usuário.

Medicamento fitoterápico similar: Aquele que contém as mesmas matérias-primas vegetais, na mesma concentração de princípio ativo ou marcadores, utilizando a mesma via de administração, forma farmacêutica, posologia e indicação terapêutica de um medicamento fitoterápico considerado como referência. (BRASIL, 2000).

National Heart, Lung, and Blood Institute: Divisão dos National Institutes of Health, Órgão do Departamento de Saúde dos Estados Unidos (U.S. Department of Health and Human Services), que por meio do “The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High

Blood Pressure”, estabeleceu os novos parâmetros para o controle da pressão arterial.

Pesquisa: Classe de atividades cujo objetivo é desenvolver, ou contribuir para o conhecimento generalizável. O conhecimento generalizável consiste em teorias, relações ou princípios, ou no acúmulo de informações sobre as quais está baseado, que possam ser corroborados por métodos científicos aceitos de observação e inferência (BRASIL, 1996b).

Pesquisador responsável: Pessoa responsável pela coordenação e realização da pesquisa e pela integridade e bem-estar dos sujeitos da pesquisa (BRASIL, 1996b).

Pesquisas com novos fármacos, medicamentos, vacinas ou testes diagnósticos: Refere-se às pesquisas com estes tipos de produtos em fase I, II ou III, ou não registrados no país, ainda que fase IV quando a pesquisa for referente ao seu uso, com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas quando da autorização do registro, incluindo seu emprego em combinações, bem como os estudos de biodisponibilidade e ou bioequivalência.

Pesquisas envolvendo seres humanos: Pesquisas que, individual ou coletivamente, envolvam o ser humano, de forma direta ou indireta, em sua totalidade ou partes dele, incluindo o manejo de informações ou materiais (BRASIL, 1996b).

Preparado fitoterápico intermediário: Produto vegetal triturado, pulverizado, rasurado, extrato, tintura, óleo fixo ou volátil, cera, suco e outros, obtido de plantas frescas e de drogas vegetais, através de operações de fracionamento, extração, purificação ou concentração, utilizado na preparação de produto fitoterápico (BRASIL, 1995).

Princípio ativo: substância ou classes químicas, quimicamente caracterizadas, cuja ação farmacológica é conhecida e responsável, total ou parcialmente, pelos efeitos terapêuticos do produto fitoterápico (BRASIL, 2004).

Produto Fitoterápico: Todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais com finalidade profilática ou curativa, com benefício para o usuário. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade: é o produto final embalado e rotulado. Na sua preparação, podem ser utilizados adjuvantes farmacêuticos permitidos pela legislação vigente. Não podem estar incluídas substâncias ativas de outras origens, não sendo considerado produto fitoterápico quaisquer substâncias ativas, ainda que de origem vegetal, isoladas ou mesmo suas misturas (BRASIL, 2004; BRASIL, 1995).

Protocolo de Pesquisa: Documento contemplando a descrição da pesquisa em seus aspectos fundamentais, informações relativas ao sujeito da pesquisa e à qualificação dos pesquisadores e a todas as instâncias responsáveis (BRASIL, 1996b).

Raízeiro: Aquele que coleta plantas medicinais no todo ou em parte (não somente raízes) e as vende (MATOS, 2007).

Ressarcimento: Cobertura, em compensação, exclusiva de despesas decorrentes da participação do sujeito na pesquisa (BRASIL, 1996b).



Apêndices



APÊNDICE A – Formulário de Relato de Caso (CRF)

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

FOLHA DE CADASTRO

DADOS DO VOLUNTÁRIO					
Nome					
Nascimento:	Data: _____	Idade: _____	Cidade: _____		
Sexo:	<input type="checkbox"/> Masculino		<input type="checkbox"/> Feminino		
Grau de Instrução:					
Raça:	<u>C</u> aucasóide C <input type="checkbox"/>	<u>M</u> ulata M <input type="checkbox"/>	<u>N</u> egra N <input type="checkbox"/>	<u>A</u> marela A <input type="checkbox"/>	<u>O</u> utra O <input type="checkbox"/>
Ocupação:					
Estado Civil:	<input type="checkbox"/> Solteiro(a)	<input type="checkbox"/> Casado(a)	<input type="checkbox"/> Viúvo(a)	<input type="checkbox"/> Divorciado(a)	
Filiação:	Mãe: _____				
Endereço Residencial:	Rua: _____				
	Bairro: _____ CEP _____				
	Cidade: _____				
Telefone(s):	Residencial: _____	Celular: _____	Recados: _____		
e-mail:					
RG	Nº _____	Órgão Emissor: _____	Data Emissão: _____		
CPF	Nº _____				
Data abertura prontuário: ____/____/____					

*O nome e o N° Protocolo, N° e código do Voluntário são preenchidos quando da inclusão do voluntário no estudo

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

1- PRÉ-ESTUDO - HISTÓRIA CLÍNICA 1/1

Medidas Antropométricas					
Pressão Arterial Sistólica/Diastólica (Após 5 min sentado)	Pulso Arterial	Altura	Peso Corporal (Roupas leves)	Índice de Massa Corporal - IMC	Temperatura (axilar)
mm/Hg	batimentos/min	m	kg	Kg/m ²	°C

Revisão de Sistemas			
Sistema / História	NÃO	SIM	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Alergias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Alergia a fármacos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Qual (is)?
Olhos-ouvidos-nariz-garganta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratório	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gastrointestinal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Geniturinário	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sistema Nervoso Central	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hematopoiético-Linfático	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Endócrino-Metabólico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dermatológico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Estabilidade Emocional	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abuso de Álcool ou Drogas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
História Cirúrgica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
História Familiar			
Obs:			

Outras Informações		O profissional deve também averiguar se há suspeita de não enquadramento do voluntário em função dos Critérios de Inclusão / Exclusão, assinalando o campo apropriado nas folhas onde constam estes critérios.				
Voluntárias Mulheres	Hist. Obstétrica	Gest.:	Partos:	Abortos:	Cesáreas:	DUM:
	Método Anticoncepcional	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Outro:
Tabagismo	<input type="checkbox"/> Fumante	Qtde:	Doação de Sangue			<input type="checkbox"/> Nunca Doou
<input type="checkbox"/> Nunca Fumou	<input type="checkbox"/> Ex-Fumante	Época:				<input type="checkbox"/> Última doação:
Café	<input type="checkbox"/> Nega Consumo	Qtde. / dia:	Outras inf: Informar p.ex., o nome do anticoncepcional.			
Chá	<input type="checkbox"/> Nega Consumo	Qtde. / dia:				
Álcool	<input type="checkbox"/> Nega Consumo	Qtde. / sem.:				

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

1- PRÉ-ESTUDO (cont.) EXAME FÍSICO

1/2

Exame Físico			
Item	Normal	Anormal	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Aparência	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele/Mucosas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Segmento cefálico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Segmento torácico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abdômen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gânglios Linfáticos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Condição Neurológica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Comentários Adicionais:			

Recomendações	
Reiteradas as restrições quanto ao uso de medicamentos?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Reiteradas as restrições de dieta (alimentos e bebidas)?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Reiterada a possibilidade de falha do ACO / DIU, bem como a recomendação do uso de preservativos?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se Aplica
Reiteradas as demais diretrizes e restrições previstas em protocolo?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Solicitado exames laboratoriais e ECG?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

2- CRITÉRIOS DE ADMISSÃO

2/1

Critérios de Inclusão		
1.	Voluntário tem entre 18 e 50 anos de idade.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
2.	Índice de massa corpórea do voluntário é maior ou igual a 19 e menor ou igual a 30.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
3.	Voluntário foi examinado e considerado com boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a juízo médico, de acordo com as regras definidas no Protocolo e avaliações a que foi submetido: história clínica, medidas de pressão e pulso, exame físico, ECG, e exames laboratoriais complementares.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
4.	Voluntário é capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o pesquisador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Critérios de Exclusão		
1.	O voluntário tem sabidamente uma hipersensibilidade aos componentes da formulação estudada ou história de reações adversas sérias a alimentos e medicamentos;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
2.	História ou presença de doenças hepáticas ou gastrointestinais ou outra condição que possa interferir com a absorção, distribuição, excreção ou metabolismo do produto sob investigação;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
3.	Voluntários com pressão sistólica abaixo de 100 e acima de 160 mmHg e pressão diastólica abaixo de 70 e acima de 100 mmHg.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
4.	Uso de terapia de manutenção com qualquer fármaco; exceto anticoncepcional	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
5.	Tem história de doença hepática, renal, pulmonar, gastrointestinal, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica; tem hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que necessite de tratamento farmacológico; tem ou teve infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
6.	Achados eletrocardiográficos não recomendados, a critério do investigador, para participação no estudo;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
7.	Os resultados dos exames laboratoriais complementares estão fora dos valores considerados normais, de acordo com as normas deste protocolo, a menos que sejam considerados clinicamente irrelevantes pelo investigador;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
8.	Voluntário fuma mais que dez cigarros por dia.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
9.	Voluntário ingere mais do que 5 xícaras de café ou chá por dia.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
10.	Teste positivo de gravidez, mulheres amamentando;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
11.	Faz uso de álcool ou drogas ilícitas;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
12.	Fez uso de medicação regular dentro das 4 semanas que antecedem o início do tratamento deste estudo, ou fez uso de qualquer medicação dentro de uma semana antes do início do tratamento deste estudo. Ou os casos em que, com base na meia-vida do fármaco e/ou metabólitos ativos, possa ser assumida a completa eliminação;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
13.	Foi internado por qualquer motivo durante as oito semanas que antecedem o início do tratamento deste estudo;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
14.	Tratamento dentro dos três meses prévios ao estudo com qualquer fármaco conhecido de ter um potencial tóxico bem definido nos grandes órgãos;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
15.	O voluntário participou de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer fármaco experimental dentro dos três meses que antecedem o início deste estudo;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
16.	Voluntário doou ou perdeu 450 mL ou mais de sangue dentro dos três meses que antecedem o início do tratamento deste estudo ou que doou mais de 1500 mL dentro dos 12 meses anteriores ao início do tratamento deste estudo;	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
17.	Voluntário tem qualquer condição que o impede de participar do estudo pelo julgamento do investigador.	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

3-AVALIAÇÃO DE PERMANÊNCIA NO ESTUDO (anterior à administração)

3/1

* Teste Gravidez	Coletado em:		<input type="checkbox"/> ↺ Repetição solicitada quando necessário
			NÃO APLICÁVEL <input type="checkbox"/>
βHCG	<input type="checkbox"/> Positivo	<input type="checkbox"/> Negativo	Comentários:

* Solicitado βHCG quando cabível

Avaliação Inicial Segurança / Aderência			
Algum sinal, sintoma ou doença desde o exame de seleção?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Preencher a folha de Sinais e Sintomas Pré-Dose (ANEXO I)
Ingeriu medicamentos nos 28 dias que precedem a data do início do estudo?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Preencher folha de medicação Pré-dose (ANEXO I)
Suspeita de abuso de fármacos ou ingeriu bebidas alcoólicas nas últimas 12 horas ?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Comentários:
Ingeriu alimentos ou bebidas constantes nas restrições de dieta?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Comentários:
Foi hospitalizado por qualquer motivo?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Comentários:
Doou ou perdeu Sangue (> 450 mL) ?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Comentários:
Encontra-se enquadrado em qualquer outro Critério de Exclusão?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Comentários:

Avaliação Pré-dose de Aderência			
Deixou de cumprir as restrições de dieta?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Comentários:
Deixou de cumprir qualquer outra restrição? (ou resposta positiva na reavaliação dos critérios acima)	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Comentários:
O voluntário assinou o Termo de Consentimento?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	↺ Caso assinalada a coluna à direita em qualquer dos 11 itens acima <i>Preencher abaixo</i> ↻	
O investigador decidiu que o voluntário:	<input type="checkbox"/> Permanece <u>apto</u> para participar do Estudo <input type="checkbox"/> Deve ser <u>desligado</u> do Estudo		

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

Responsável pela administração

Assinatura

Data

 UNIFAC 10/08 - Alpinia zerumbet Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
	Número do Voluntário

5- PRIMEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA

5/1

Medidas			Pulso Arterial	Temperatura (axilar)	Peso Corporal (Roupas leves)
Pressão Arterial (Sist/Diast)					
Decúbito	Sentado	Ortostase			
mm/Hg			batimentos/min	°C	kg

Revisão de Sistemas			
Sistema / História	NORMAL	ANORMAL	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Aspecto geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cabeça-pescoço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Olhos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ouvidos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Nariz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Boca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Garganta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tórax	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Coração	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abdome	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Linfonodos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurológico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Outros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Observações

Responsável pela administração

Assinatura

Data

 UNIFAC 10/08 Alpinia-zerumbet	Unidade de Farmacologia Clínica Fórmulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

5- SEGUNDA AVALIAÇÃO CLÍNICA

5/2

Medidas			Pulso Arterial (batimentos/min)	Temperatura (axilar)	Peso Corporal (Roupas leves)
Pressão Arterial (Sist/Diast)	Decúbito	Sentado			
mm/Hg			batimentos/min	°C	kg

*Teste Gravidez	Coletado em:		<input type="checkbox"/> ⇐ Repetição solicitada quando necessário
			NÃO APLICÁVEL <input type="checkbox"/>
βHCG	<input type="checkbox"/> Positivo	<input type="checkbox"/> Negativo	Comentários:

Revisão de Sistemas			
História/Exame Físico	NORMAL	ANORMAL	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Aspecto geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cabeça-pescoço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Olhos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ouvidos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Nariz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Boca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Garganta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratório	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardíaco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gastrointestinal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Geniturinário	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurológico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Linfonodos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Outros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Observações

--

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

 UNIFAC 10/08 - Alpinia zerumbet Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
	Número do Voluntário

5- TERCEIRA AVALIAÇÃO CLÍNICA

5/3

Medidas			Pulso Arterial	Temperatura (axilar)	Peso Corporal (Roupas leves)
Pressão Arterial (Sist/Diast)					
Decúbito	Sentado	Ortostase			
mm/Hg			batimentos/min	°C	kg

Revisão de Sistemas			
História/Exame Físico	NORMAL	ANORMAL	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Aspecto geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cabeça-pescoço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Olhos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ouvidos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Nariz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Boca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Garganta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratório	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardíaco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gastrintestinal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Geniturinário	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurológico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Linfonodos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Outros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Observações

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

5- QUARTA AVALIAÇÃO CLÍNICA

5/4

Medidas			Pulso Arterial	Temperatura (axilar)	Peso Corporal (Roupas leves)
Pressão Arterial (Sist/Diast)					
Decúbito	Sentado	Ortostase			
mm/Hg			batimentos/min	°C	kg

Revisão de Sistemas			
História/Exame Físico	NORMAL	ANORMAL	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Aspecto geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cabeça-pescoço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Olhos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ouvidos - Nariz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Boca - Garganta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratório	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardíaco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gaстрintestinal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Geniturinário	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurológico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Linfonodos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Outros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Observações

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

 UNIFAC 10/08 - Alpinia zerumbet Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
	Número do Voluntário

6-AVALIAÇÃO MÉDICA – PÓS-ESTUDO 6/1

ASSINALE SE NÃO REALIZADO* (Ver Encerramento do Estudo)

Como vai você?	<input type="checkbox"/> Sem queixas <input type="checkbox"/> Com queixas (*)	(*) Preencher a folha de Comentários Adicionais (ANEXO IV) ou de Eventos Adversos, se necessário (ANEXO III)
----------------	--	--

Exames Laboratoriais Pós-estudo	
Hematologia	Normal: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
Coagulação	Normal: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
Bioquímica	Normal: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
Sumário de urina	Normal: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
β-HCG	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> NA <input type="checkbox"/>

⇔ Marque quando solicitar repetição e registre o exame solicitado nos **comentários adicionais** abaixo.

Medidas			Pulso Arterial (Sentado)	Temperatura (axilar)	Peso Corporal (Roupas leves)
Pressão Arterial (Sist/Diast)					
Decúbito	Sentado	Ortostase			
mm/Hg			batimentos/min	°C	kg

Exame Físico			
Item	Normal	Anormal	Forneça os detalhes que julgar pertinentes
Aparência	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele/ Mucosas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Segmento cefálico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Segmento torácico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abdômen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gânglios Linfáticos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Condição Neurológica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Comentários Adicionais:

- ✦ Assinalar somente no encerramento do estudo, já que o voluntário pode vir a comparecer em uma nova convocação
 ✦✦ (Se necessário, preencher Folha de EAs, **Anexo III**)
 NA – Não aplicável

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

 UNIFAC 10/08 - Alpinia zerumbet Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
	Número do Voluntário

7-ENCERRAMENTO DA ETAPA CLÍNICA**7/1**

Avaliação			
Foram evidenciadas diferenças significativas entre os achados de exame clínico / físico pré e pós-estudo? *	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Preencher a folha de <i>Eventos Adversos</i> , indicando o as condições pré e pós-estudo
Foram evidenciadas diferenças significativas entre os resultados de exame hematológico pré e pós-estudo? *	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	Preencher a folha de <i>Eventos Adversos</i> , indicando o exame e os valores pré e pós estudo Preencher demais folhas complementares se necessário
Compareceu à Avaliação Pós-Estudo ou parte dela?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	
Reiteradas as restrições de doação de sangue e participação em estudos?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	

* As alterações hematológicas ou de história clínicas-físicas consideradas *não significativas* (N.S.) **não devem** ser assinaladas como "Sim"

Término Prematuro	ASSINALE SE NÃO HOUVE TÉRMINO PREMATURO ☞ <input type="checkbox"/>
Ocasião em que foi observada a saída: Data: _____	<input type="checkbox"/> Antes da 1ª administração Durante a _____ Administração <input type="checkbox"/> Após a _____ administração da medicação, durante o estudo <input type="checkbox"/> Após ter recebido alta do estudo
O fato ocorreu em Função:	Devido a
<input type="checkbox"/> da decisão da Equipe	<input type="checkbox"/> Resposta positiva à reavaliação de Critério de Exclusão <input type="checkbox"/> Não Aderência às exigências do Protocolo <input type="checkbox"/> EAs <input type="checkbox"/> Outras razões, a juízo do investigador
<input type="checkbox"/> da decisão do Voluntário	<input type="checkbox"/> Razões Pessoais <input type="checkbox"/> Retirada Consentimento <input type="checkbox"/> EAs <input type="checkbox"/> Intolerância aos Procedimentos <input type="checkbox"/> Outras razões <input type="checkbox"/> Informação Não Disponível
<input type="checkbox"/> Outros	<input type="checkbox"/> Constatação de Simples Abandono (Não houve retorno por parte do voluntário)

Comentários Adicionais:

Responsável pelas informações

Assinatura

Data

 UNIFAC 10/08 - Alpinia zerumbet Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
	Número do Voluntário

7-ENCERRAMENTO DA ETAPA CLÍNICA (cont.) 7/2

Informações Finais

Encerramento:

- Conclusão do Estudo - Alta regular da Etapa Clínica após todas as avaliações
- Desistência / Retirada do Consentimento antes da 1ª administração
- Alta regular após Término Prematuro, com as avaliações aplicáveis *
- Encerramento Administrativo do CRF por abandono, sem completar as Avaliações Pós-Estudo **
- Encerramento Administrativo do CRF; o Voluntário permanece sob acompanhamento ***
(a documentação do acompanhamento ou abandono após o encerramento do CRF será anexada ao Arquivo do Estudo)
- Encerramento devido a óbito (ver Eventos Adversos e Término Prematuro)

Observações:

* O voluntário desistiu ou foi desligado do estudo por qualquer motivo (inclusive EAs), mas compareceu em todos os exames de alta e/ou outras avaliações aplicáveis

**O voluntário abandonou durante as administrações ou durante as avaliações pós-estudo, ou não retornou para acompanhamento de EAs.

***Inclui os casos em que está prevista a conclusão das avaliações e os casos em que EAs permanecem em aberto, sob acompanhamento após o encerramento do CRF. Envolve os casos em que, por questão de prazos, há necessidade de encerramento administrativo do CRF, independentemente do potencial de retorno/comparecimento do voluntário.

(Mesmo com Alta regular, o surgimento de Eventos Adversos pode ensejar acompanhamento *a posteriori* do encerramento deste CRF, que serão documentadas à parte e anexadas ao Arquivo do Estudo)

Comentários Adicionais:

Eu certifico que:

Revisi todos os dados em todas as páginas deste CRF e, até onde é de meu melhor conhecimento, eles estão corretos, completos e, quando transcritos, correspondem exatamente aos registros originais.

 Responsável pela Garantia da Qualidade

Assinatura

Data

 Investigador Principal

Assinatura

Data


 Unidade de Farmacologia Clínica
 Formulário de Relato de Caso (CRF)

Código do Voluntário

Número do Voluntário

ANEXO I**INTERCORRÊNCIAS PRÉ-DOSE****SINAIS E SINTOMAS E UTILIZAÇÃO DE MEDICAÇÕES PRÉ-DOSE**

Sinal e Sintoma 1	Descrição:			
	Princípio Ativo:		Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:		Via de Administração:	
	Dose:		Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:		Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa	<input type="checkbox"/> Automedicação
Comentários				

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

Sinal e Sintoma 2	Descrição:			
	Princípio Ativo:		Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:		Via de Administração:	
	Dose:		Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:		Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa	<input type="checkbox"/> Automedicação
Comentários				

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

INTERCORRÊNCIAS DURANTE AS ADMINISTRAÇÕES**SINAIS E SINTOMAS E UTILIZAÇÃO DE MEDICAÇÕES – PRIMEIRA SEMANA**

Sinal e Sintoma 1	Descrição:			
	Princípio Ativo:		Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:		Via de Administração:	
	Dose:		Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:		Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa	<input type="checkbox"/> Automedicação

Comentários	
--------------------	--

Responsável pela Avaliação	Assinatura	Data	
Sinal e Sintoma 2	Descrição:		
	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa
Comentários	<input type="checkbox"/> Automedicação		

Responsável pela Avaliação	Assinatura	Data
 UNIFAC 10/08 - Alpinia zerumbet	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

ANEXO I

INTERCORRÊNCIAS DURANTE AS ADMINISTRAÇÕES

SINAIS E SINTOMAS E UTILIZAÇÃO DE MEDICAÇÕES - SEGUNDA SEMANA

Responsável pela Avaliação	Assinatura	Data	
Sinal e Sintoma 3	Descrição:		
	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa
Comentários	<input type="checkbox"/> Automedicação		

Responsável pela Avaliação	Assinatura	Data
----------------------------	------------	------

Responsável pela Avaliação	Assinatura	Data	
Sinal e Sintoma 4	Descrição:		
	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa
Comentários	<input type="checkbox"/> Automedicação		

Responsável pela Avaliação	Assinatura	Data
----------------------------	------------	------

INTERCORRÊNCIAS DURANTE AS ADMINISTRAÇÕES

SINAIS E SINTOMAS E UTILIZAÇÃO DE MEDICAÇÕES - TERCEIRA SEMANA

Responsável pela Avaliação	Assinatura	Data	
Sinal e Sintoma 5	Descrição:		
	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa
Comentários	<input type="checkbox"/> Automedicação		

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

Sinal e Sintoma 6	Descrição:		
Medicação 6	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa
Comentários			

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

 UNIFAC - 10/08 - Alpini Farmácia	Unidade de Farmacologia Clínica Fórum de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

ANEXO I

INTERCORRÊNCIAS DURANTE AS ADMINISTRAÇÕES

SINAIS E SINTOMAS E UTILIZAÇÃO DE MEDICAÇÕES - QUARTA SEMANA

Sinal e Sintoma 7	Descrição:		
Medicação 7	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa
Comentários			

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

Sinal e Sintoma 8	Descrição:		
Medicação 8	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa
Comentários			

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

INTERCORRÊNCIAS PÓS-DOSE

SINAIS E SINTOMAS E UTILIZAÇÃO DE MEDICAÇÕES PÓS-DOSE

Sinal e Sintoma 1	Descrição:		
Medicação 1	Princípio Ativo:	Nome Comercial:	
	Forma farmacêutica:	Via de Administração:	
	Dose:	Posologia:	
	Data de Início:	Hora de Início:	Data do Término:
	Responsável pela prescrição:	<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa

Comentários	
--------------------	--

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

Sinal e Sintoma 2	Descrição:					
Medicação 2	Princípio Ativo:			Nome Comercial:		
	Forma farmacêutica:			Via de Administração:		
	Dose:			Posologia:		
	Data de Início:		Hora de Início:		Data do Término:	
Comentários	Responsável pela prescrição:		<input type="checkbox"/> Equipe UNIFAC	<input type="checkbox"/> Presc. Externa	<input type="checkbox"/> Automedicação	

Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

ANEXO II - E C G – PRÉ-ESTUDOASSINALE SE NÃO REALIZADO* (Ver Encerramento do Estudo)

Parâmetros	ECG 12 derivações			
Ritmo Cardíaco:		FC	bpm	
		PRi	s	
		QRS	s	
		QT	s	
Diagnóstico:	Normal	<input type="checkbox"/>		
	Anormal	<input type="checkbox"/>	Não clinicamente significativo	
		<input type="checkbox"/>	Clinicamente significativo (preencher abaixo) [↗]	
Especificação da Anomalia:				
Conclusão:	<input type="checkbox"/> Apto para participação no Estudo	<input type="checkbox"/> Apto com restrições →	Indique as restrições específicas [↗]	
Observações:				

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

ANEXO II - ECG – PRIMEIRA AVALIAÇÃO

 ASSINALE SE NÃO REALIZADO* (Ver Encerramento do Estudo) ☞

Parâmetros	
<input type="checkbox"/> Sem alterações relevantes em relação ao ECG basal	
<input type="checkbox"/> Com alterações relevantes em relação ao ECG basal (preencher abaixo) ↗	
Descrever as alterações relevantes:	
Observações:	

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

ANEXO II - ECG – SEGUNDA AVALIAÇÃO

 ASSINALE SE NÃO REALIZADO* (Ver Encerramento do Estudo) ☞

Parâmetros	
<input type="checkbox"/> Sem alterações relevantes em relação ao ECG basal	
<input type="checkbox"/> Com alterações relevantes em relação ao ECG basal (preencher abaixo) ↗	
Descrever as alterações relevantes:	
Observações:	

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

 UNIFAC 10/08 - Alpinia zerumbet	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

ANEXO II - ECG – TERCEIRA AVALIAÇÃOASSINALE SE NÃO REALIZADO* (Ver Encerramento do Estudo)

Parâmetros	
<input type="checkbox"/> Sem alterações relevantes em relação ao ECG basal	
<input type="checkbox"/> Com alterações relevantes em relação ao ECG basal (preencher abaixo) ²³	
Descrever as alterações relevantes:	
Observações:	

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

ANEXO II - ECG – QUARTA AVALIAÇÃOASSINALE SE NÃO REALIZADO* (Ver Encerramento do Estudo)

Parâmetros	
<input type="checkbox"/> Sem alterações relevantes em relação ao ECG basal	
<input type="checkbox"/> Com alterações relevantes em relação ao ECG basal (preencher abaixo) ²³	
Descrever as alterações relevantes:	
Observações:	

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

ANEXO II - ECG – PÓS-ESTUDOASSINALE SE NÃO REALIZADO* (Ver Encerramento do Estudo)

Parâmetros

<input type="checkbox"/> Sem alterações relevantes em relação ao ECG basal	
<input type="checkbox"/> Com alterações relevantes em relação ao ECG basal (preencher abaixo) ↗	
Descrever as alterações relevantes:	
Observações:	

Médico Responsável pela Avaliação

Assinatura

Data

	Unidade de Farmacologia Clínica Formulário de Relato de Caso (CRF)	Código do Voluntário
		Número do Voluntário

ANEXO III - FOLHA DE EVENTO ADVERSO

Nº de Ordem do Evento _____

Assinale caso se trate de uma nova versão relativa ao mesmo evento ↗

Detalhes Evento		
Início do Evento Adverso	Data:	<input type="checkbox"/> Antes da administração do Produto sob Investigação * <input type="checkbox"/> Durante as administrações <input type="checkbox"/> Após ter recebido alta do estudo
	Hora:	
Queixa / Diagnóstico		

* Ocorrências antes da administração do Produto sob Investigação no 1º Período **não** são Eventos Adversos

Classificações	
Seriedade	<input type="checkbox"/> Não Sério <input type="checkbox"/> Sério
Intensidade	<input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Severo
Relação c/ Terapia	<input type="checkbox"/> Provável ↗ <input type="checkbox"/> Possível ↗ <input type="checkbox"/> Não Relacionado <input type="checkbox"/> Desconhecido
Expectativa	<input type="checkbox"/> Somente no caso de Reações Adversas <input type="checkbox"/> Esperado <input type="checkbox"/> Não Esperado → <small>Quando a natureza, intensidade ou frequência não é consistente com a informação disponível na literatura</small>

Conduta	
Conduta Imediata	<input type="checkbox"/> Tratamento Farmacológico * <input type="checkbox"/> Outra Terapia <input type="checkbox"/> Hospitalização <input type="checkbox"/> Observação (ou nenhuma ação imediata) <input type="checkbox"/> Outros <input type="checkbox"/> Não Aplicável
	Exames Complem. <input type="checkbox"/> Desnecessário <input type="checkbox"/> Solicitados Exames:
Detalhes	* Os Tratamentos Farmacológicos são descritos na Folha de Medicação concomitante constante no CRF.
Próximo Acomp.	<input type="checkbox"/> Retornos já programados <input type="checkbox"/> Solicitado retorno adicional em:
Desligamento	<input type="checkbox"/> O médico retirou o Voluntário do Estudo em função do Evento <input type="checkbox"/> O voluntário resolveu interromper sua participação no estudo em função do Evento
Outras Informações:	

Desfecho	Avaliado em _____ Data: _____
-----------------	-------------------------------

***Registrar a hora da evolução quando necessário**

UNIFAC 10/08 - *Alpinia zerumbet*



Apêndice B

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

“Avaliação da Toxicologia Clínica do Chá de *Alpinia zerumbet* em voluntários sadios.”

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

O abaixo-assinado, _____, _____ anos, RG nº _____ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade dos Médicos/Pesquisadores: Prof^a. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes, Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes, Prof. Dr. Fernando Antonio Frota Bezerra, Célia Regina Amaral Uchoa e Ana Paula Macêdo Santana da Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) da Universidade Federal do Ceará. O abaixo-assinado está ciente que:

NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO

O objetivo da pesquisa é avaliar a segurança do Chá de Colônia (*Alpinia zerumbet*) em voluntários sadios.

A Colônia é uma planta utilizada pela população para controlar a pressão alta e como calmante, seu uso geralmente se dá sob a forma de chá.

A avaliação da toxicologia clínica do chá de Colônia deverá contribuir para determinar a ocorrência de possíveis reações desagradáveis. Os resultados desse estudo repassados à população possibilitarão o seu uso no tratamento da pressão arterial elevada com um baixo custo, mas dentro dos padrões de segurança.

PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES

Durante o período de 28 dias você tomará 180 mL do chá de colônia ou do chá placebo (o **placebo** é uma substância inofensiva, sem propriedades medicamentosas), três vezes ao dia, na Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) e em sua residência ou em seu local de trabalho.

Antes de sua participação no estudo, durante e após a sua participação você será convidado a ir à Unidade de Farmacologia Clínica para avaliar a sua condição de saúde. Você será examinado por um médico que fará histórico de sua saúde, e um exame clínico completo, medindo o seu pulso, sua temperatura, sua pressão arterial, além do seu peso e altura. Também será feito um exame do coração (eletrocardiograma) e uma coleta de sangue para exames laboratoriais. O médico lhe perguntará se você teve ou tem alguma doença e se você faz uso de algum medicamento.

Durante a visita serão coletadas amostras de sangue e urina para exames laboratoriais. Os exames laboratoriais incluem exame de sangue completo como hemograma completo (hemoglobina, hematócrito, contagem diferencial de glóbulos brancos, contagem de glóbulos vermelhos e plaquetas); bioquímica sangüínea (creatinina, bilirrubina total, albumina, glicose em jejum, fosfatase alcalina, transaminases oxalacética (AST) e pirúvica (ALT), colesterol total e triglicérides). Tempo de atividade de protrombina (TAP); sumário de urina (Urina I). Exames para a hepatite B e C; AIDS (HIV 1 e HIV 2) e β -hCG (para as mulheres), no sangue, serão realizados somente no pré-estudo. No pré-estudo, no vigésimo oitavo dia e no pós-estudo será realizada uma coleta de 5 mL de sangue para a realização do Ensaio Cometa. O Ensaio Cometa é um teste que serve para avaliar se uma substância causa lesão ou não nas células.

A duração total de sua participação na pesquisa está estimada em 60 dias, a contar da primeira administração do chá, após o processo de seleção.

RESPONSABILIDADES

É condição indispensável, para participação no ensaio clínico, que esteja em boa saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer fármacos ou medicações e que tampouco tenha participado de outro estudo clínico com medicamentos nos últimos 3 meses. Algumas regras deverão ser seguidas para sua participação no estudo: a) não pode ser dependente de fármacos ou álcool e caso o investigador tenha alguma suspeita, poderá solicitar exame de urina para detecção do uso de fármacos; b) não pode ter doado (ou retirado/perdido por qualquer motivo) sangue ou plasma dentro dos três meses que antecedem o estudo ou ter doado 1500 mL (um litro e meio) no período de um ano antecedendo o estudo. É ainda de sua **RESPONSABILIDADE** em relação a sua participação no ensaio clínico: a) comparecer às administrações nas datas e horários informados; b) **não engravidar, conforme orientação, durante a participação no estudo (desde a seleção até o pós-estudo)**; c) tomar todo o produto sob investigação previsto; d) retornar à Unidade de Farmacologia Clínica na data, horário e local combinados, para realização da consulta e exames de alta, independentemente de haver sido interrompida sua participação no estudo ou de sua desistência.

POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

A administração oral do chá de *Alpinia zerumbet* em altas doses poderá causar possíveis reações ainda desconhecidas, embora o mesmo já venha sendo utilizado sem relatos conhecidos de efeitos tóxicos.

A retirada de sangue é um procedimento seguro e pode causar um leve desconforto, além de uma mancha roxa pequena no local da picada que freqüentemente desaparece sem maiores problemas.

BENEFÍCIOS OU COMPENSAÇÕES

A participação neste estudo, não tem objetivo de submetê-lo a um tratamento para uma doença específica. Conseqüentemente, não se espera que a sua participação no estudo traga qualquer benefício imediato para você.

INTERCORRÊNCIAS (efeitos indesejáveis)

Se você sofrer algum malefício em decorrência direta de sua participação no estudo, você receberá tratamento nesta Instituição. Eventuais custos decorrentes de internamentos e tratamentos hospitalares, bem como óbito, se comprovadamente decorrentes de reações adversas provocadas pelo produto sob investigação, serão de responsabilidade do Patrocinador do Estudo.

RESSARCIMENTO

De acordo com valores previamente estabelecidos, você será ressarcido das despesas e tempo despendidos na realização do supracitado estudo clínico, após a consulta de alta. Caso desista, ou seja, dispensado antes do estudo ser finalizado você receberá valores proporcionalmente ao tempo despendido, no final do estudo. A desistência ou dispensa antes do comparecimento para a primeira administração não lhe dá direito a ressarcimento.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

Todas as informações e esclarecimentos necessários para você poder decidir conscientemente sobre a sua participação no referido ensaio clínico, estão sendo dadas:

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar. Neste caso, você deve informar imediatamente sua decisão ao pesquisador ou a um membro de sua equipe, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isto venha interferir no seu atendimento médico desta Instituição.

Independente de seu desejo e consentimento, sua participação no ensaio clínico poderá ser interrompida, em função: **a)** da ocorrência de eventos adversos; **b)** da ocorrência de qualquer doença que, a critério médico, prejudique a continuação de sua participação no estudo; **c)** do não cumprimento das normas estabelecidas; **d)** de qualquer outro motivo que a critério médico seja do interesse de seu próprio bem-estar ou dos demais participantes; **e)** da suspensão do Estudo como um todo.

A Unidade de Farmacologia Clínica o manterá informado, em tempo oportuno, sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação. A interrupção não causará prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento pela equipe da Unidade de Farmacologia Clínica.

DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO A PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em sigilo, a não ser que haja obrigação legal de divulgação. A Unidade de Farmacologia Clínica não identificará o voluntário por ocasião da publicação dos resultados obtidos.

Contudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, ou autoridades do(s) órgão(s) governamentais envolvido(s) na fiscalização e acompanhamento do estudo terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela lei e regulamentações aplicáveis, com o propósito de verificar os procedimentos e dados do ensaio, sem no entanto violar a condição de que tais informações são confidenciais. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você está também autorizando tal acesso, mesmo se você se retirar do Estudo.

CONTATOS E PERGUNTAS

Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar a Unidade de Farmacologia Clínica (Fone: 85 3366-8250) e solicitar que a mesma contate os médicos responsáveis pelo ensaio

clínico ou então entrar em contato diretamente com os mesmos nos telefones indicados no final deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Poderá contatar a Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes e o Dr. Fernando Antônio Frota Bezerra para receber informações adicionais, relacionadas à pesquisa ou quanto aos seus direitos como voluntário.

Poderá contatar a Secretaria do Comitê em Pesquisa do complexo hospitalar da UFC, fone (85) 3366-8338, para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico.

Se você concorda com o exposto acima leia e assine o documento abaixo.

ASSINATURAS

Eu declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado "Termo de Consentimento Livre e Esclarecido" e que, após, tive nova oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo, como também, sobre o Estudo, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidindo participar do Estudo.

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, incluindo minha história médica, é verdadeira e correta até onde é de meu conhecimento, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, estou autorizando o acesso às minhas informações, conforme explicitado anteriormente. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, eu não renunciei qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste Estudo.

Fortaleza, ____/____/____

Nome do voluntário	Data	Assinatura
Nome da pessoa que está obtendo o termo de consentimento	Data	Assinatura
Nome da Testemunha (se o voluntário não souber ler)	Data	Assinatura

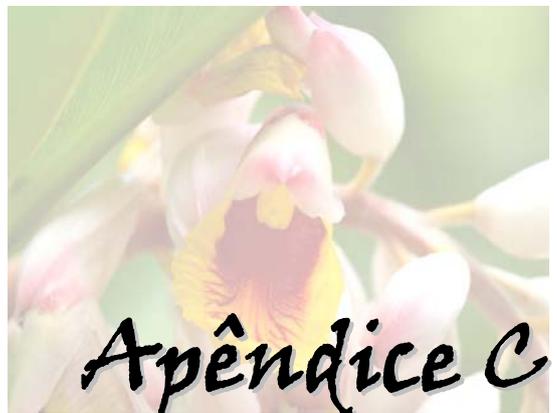
CONTROLE INTERNO

Nº do Estudo:

Nº do Voluntário:

TELEFONES PARA CONTATO

UNIDADE DE FARMACOLOGIA CLÍNICA	(85) 3366 8250
Dr. Manoel Odorico de Moraes	(85) 3366 8201
Dr. Fernando Antônio Frota Bezerra	(85) 3366 8346
Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes	(85) 3366 8346
Farm. Ana Paula Macedo Santana	(85) 3366 8250



APÊNDICE C – Modelo do modo de preparo do chá de colônia**PREPARO DO CHÁ DE COLÔNIA**

- ✓ Ferva 180 mL de água
- ✓ Adicione a água fervente sobre 02 sachês de chá

O sachê deve ficar totalmente imerso na água

- ✓ Cubra e aguarde 5 minutos
- ✓ Retire o sachê
- ✓ Adoce com 02 colheres de chá de açúcar
- ✓ Tome todo o chá

UNIFAC 10/08







ANEXO A - Aprovação pelo CEP do projeto de pesquisa do estudo de toxicologia clínica do chá de Colônia



Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. Nº 176/08

Fortaleza, 28 de março de 2008

Protocolo COMEPE nº 38/ 08

Pesquisador responsável: Ana Paula Macêdo de Santana

Deptº./Serviço: Unidade de Farmacologia Clínica/ UFC

Título do Projeto: "Avaliação da toxicologia clínica do chá de *Alpinia zerumbet* em voluntários sadios"

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 e complementares, aprovou o projeto supracitado na reunião do dia 27 de março de 2008.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório final do referido projeto.

Atenciosamente,

Mirian Parente Monteiro.

Dra. Mirian Parente Monteiro
Coordenadora Adjunta do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/UFC