

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

**ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS, NEUROQUÍMICOS E  
TÓXICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* Roscoe**

**CÍCERO FRANCISCO BEZERRA FELIPE**

**Fortaleza-Ce**  
**2004**

CÍCERO FRANCISCO BEZERRA FELIPE

ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS, NEUROQUÍMICOS E  
TÓXICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* Roscoe

Fortaleza-Ce

2004

F353e

Felipe, Cícero Francisco Bezerra

Estudo dos efeitos comportamentais, neuroquímicos e tóxicos do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe/ Cícero Francisco Bezerra Felipe; orientador: Glauce Socorro de Barros Viana. – Fortaleza, 2004.

166f. :il.

Dissertação. Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, 2004.

1. Gengibre – química 2. Memória 3. Escopolamina 4. Oxotremorina 5. Pilocarpina I.Viana, G.S.B (Orient.) II. Título

CDD: 615.32421

Cícero Francisco Bezerra Felipe

Estudo dos efeitos comportamentais, neuroquímicos e tóxicos do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe.

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará - UFC, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora:

Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana

Fortaleza-Ce

2004

Cícero Francisco Bezerra Felipe

Estudo dos efeitos comportamentais, neuroquímicos e tóxicos do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe.

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará - UFC, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Data da aprovação: 02 de Fevereiro de 2004.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana**  
**Orientadora da Dissertação**

---

**Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles**  
**Co-orientadora da Dissertação**

---

**Prof. Dr. Carlos Maurício de Castro Costa**  
**Depto. de Fisiologia e Farmacologia - UFC**

“Finalmente, irmãos, tudo que é verdadeiro, tudo o que é respeitável, tudo o que é justo, tudo o que é puro, tudo o que é amável, tudo o que é de boa fama, se alguma virtude há, e se algum louvor existe, seja isso que ocupe o vosso pensamento.”

Filipenses 4:8

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por Seu amor incondicional e Sua maravilhosa graça, sem os quais, a vida não teria sentido;

Aos meus pais, Felipe e Necí, por todo amor, esforço e tempo dedicados ao longo da minha caminhada;

As minhas irmãs, Aparecida Fátima e Virgínia, pelo carinho e alegria que transmitem tão espontaneamente;

À Profa. Dra. Glauce Viana, pelo exemplo de profissionalismo e por acreditar que vale a pena investir e capacitar o futuro pesquisador a assumir uma postura íntegra e relevante na sociedade;

À Profa. Dra. Marta Fonteles, pelo compromisso, amizade, dedicação e amor à profissão, ao ensino e à pesquisa;

Ao prof. Dr. Maurício por ter prontamente aceito fazer parte da banca de avaliação deste trabalho e pelas sugestões apontadas para o aprimoramento desta dissertação;

À Profa. Dra. Maria Goretti, pelo apoio e incentivo demonstrados antes, durante e depois do meu ingresso no mestrado;

À Profa. Dra. Geanne Matos, por sua grande amizade e por ter aceitado o convite de fazer parte da banca do meu exame de qualificação;

Ao Prof. Dr. Manoel Andrade, por ter disponibilizado parte do seu tempo para contribuir com a realização deste trabalho;

Ao Iri Sandro, pela valiosa amizade e por estar sempre disposto a ajudar;

À Lissiana Magna, por seu jeito meigo e carinhoso e por ser uma grande amiga, a quem tenho grande estima, carinho e admiração;

À Danielle Silveira, outra grande amiga a quem sou bastante grato pela ajuda e companheirismo demonstrados durante a execução deste trabalho;

Às amigas Silvânia Vasconcelos e Kalyne Leal pela valiosa contribuição e apoio no meu processo de aprendizado no dia-a-dia do laboratório;

Aos amigos Aline, Emanuelle, Flávio, Gislei, Juvênia, Lyvia, Patrícia e Rivellilson, pelo companheirismo e amizade cultivados durante os dias de aprendizado;

Aos bolsistas Kamyla Sales, André Luiz, Emídio Alves e Norberto, pela preciosa ajuda e empenho prestados para a realização deste trabalho;

Às técnicas Vilani e Jacqueline, pela seriedade, zelo e profissionalismo em tudo que fazem;

À Dra. Artemiza, pela sua atenção e por ter disponibilizado os animais utilizados neste trabalho;

Ao Laboratório de Neurofarmacologia, pela receptividade junto à excelente equipe de profissionais que fazem desse laboratório um referencial de seriedade, qualidade e compromisso com a pesquisa;

Ao CNPq, pelo apoio financeiro, sem o qual seria impossível a realização deste trabalho.

## **SUMÁRIO**

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>xvi</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>xviii</b>
<b>RESUMO</b>	<b>xix</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xxii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>01</b>
<b>1.1.GENERALIDADES</b>	<b>01</b>
<b>1.2. ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE (GENGIBRE)</b>	<b>04</b>
• Historico	04
• Aspectos botânicos	05
• Aspectos químicos	08
• Aspectos farmacológicos	16
• Aspectos toxicológicos	25
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>27</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>29</b>
<b>3.1. ANIMAIS</b>	<b>29</b>
<b>3.2. DROGAS</b>	<b>29</b>
<b>3.3. ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO OEG</b>	<b>31</b>
• Procedimento experimental	31
• Teste do labirinto em cruz elevado (avaliação da atividade ansiolítica)	34

• Teste do campo aberto (avaliação da atividade locomotora)	36
• Teste do <i>rota rod</i> (avaliação da coordenação motora)	38
• Teste da esquiva-passiva (avaliação da memória recente e tardia)	40
• Teste dos tremores induzidos por oxotremorina (avaliação dos efeitos colinérgicos)	42
<b>3.4. ESTUDO DOS EFEITOS NEUROQUÍMICOS DO OEG</b>	<b>43</b>
• Método da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	43
• Procedimento experimental	44
• Soluções reagentes	47
<b>3.5. ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS DO OEG</b>	<b>48</b>
• Avaliação dos efeitos gerais (teste hipocrático) e da toxicidade do OEG	48
• Avaliação do OEG sobre a função hepática de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl <sub>4</sub> )	49
• Determinação da concentração de bilirrubina	50
• Determinação da atividade das enzimas alanina transaminase (ALT/TGP) e aspartato transaminase (AST/TGO)	52
• Determinação da enzima fosfatase alcalina (FA)	55
<b>3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	<b>57</b>

<b>4. RESULTADOS</b>	<b>58</b>
<b>4.1. ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO OEG</b>	<b>58</b>
• Teste do labirinto em cruz elevado (avaliação da atividade ansiolítica)	58
• Teste do campo aberto (avaliação da atividade locomotora)	61
• Teste do <i>rota rod</i> (avaliação da coordenação motora)	69
• Teste da esquiva-passiva (avaliação da memória recente e tardia)	72
• Teste dos tremores induzidos por oxotremorina (avaliação dos efeitos colinérgicos)	79
<b>4.2. ESTUDO DOS EFEITOS NEUROQUÍMICOS DO OEG</b>	<b>81</b>
• Determinação da concentração das monoaminas e seus metabólitos em hipocampo e corpo estriado de camundongos	81
<b>4.3. ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS DO OEG</b>	<b>84</b>
• Avaliação dos efeitos gerais (teste hipocrático) e da toxicidade do OEG	84
• Avaliação do OEG sobre a função hepática de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl <sub>4</sub> )	85
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>91</b>
<b>5.1. ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO OEG</b>	<b>91</b>
<b>5.2. ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS DO OEG</b>	<b>105</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>111</b>

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**114**

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

- Figura 1.2.1.** Aspectos botânicos de *Zingiber officinale* Roscoe. 07
- Figura 1.2.2.** Cromatograma do óleo essencial extraído do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) proveniente do município de Baturité – Ce. 11
- Figura 1.2.3.** Estruturas químicas dos principais componentes do óleo essencial do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) proveniente do município de Baturité – Ce. 12

### MATERIAIS E MÉTODOS

- Figura 3.3.1.** Labirinto em Cruz Elevado (LCE). 35
- Figura 3.3.2.** Campo aberto (CA). 37
- Figura 3.3.3.** *Rota rod* (RR). 39
- Figura 3.3.4.** Esquiva-passiva (EP).
- Figura 3.4.1.** Aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência –CLAE. 46

### RESULTADOS

- Figura 4.1.1.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste do campo aberto (NC). 63
- Figura 4.1.2.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste do campo

aberto (NG).

- Figura 4.1.3.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste do campo aberto (NR). 65
- Figura 4.1.4.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste do campo aberto (NC). 66
- Figura 4.1.5.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste do campo aberto (NG). 67
- Figura 4.1.6.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste do campo aberto (NR). 68
- Figura 4.1.7.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste da esquiva passiva (Esquiva 15 min). 75
- Figura 4.1.8.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste da esquiva passiva (Esquiva 24 h). 76
- Figura 4.1.9.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste da esquiva passiva (Esquiva 15 min). 77
- Figura 4.1.10.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste da esquiva passiva (Esquiva 24 h). 78

<b>Figura 4.1.11.</b>	Efeito do OEG (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre os tremores induzidos por oxotremorina em camundongos.	80
<b>Figura 4.3.1.</b>	Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a concentração plasmática de bilirrubina em ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl <sub>4</sub> ).	88
<b>Figura 4.3.2.</b>	Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a atividade da enzima ALT/TGP em soro de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl <sub>4</sub> ).	89
<b>Figura 4.3.3.</b>	Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a atividade da enzima AST/TGO em soro de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl <sub>4</sub> ).	90

## LISTA DE TABELAS

### INTRODUÇÃO

- Tabela 1.2.1.** Identificação e valores percentuais dos principais constituintes químicos presentes no óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), proveniente do município de Baturité - Ce. 13
- Tabela 1.2.2.** Concentração de minerais presentes no rizoma do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe). 14
- Tabela 1.2.3.** Perfil fitoquímico dos constituintes presentes no rizoma do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) proveniente do município de Baturité - Ce. 15

### MATERIAIS E MÉTODOS

- Tabela 3.3.1.** Padrão de administração das drogas ao longo dos oito dias de tratamento. 33

### RESULTADOS

- Tabela 4.1.1.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado. 59
- Tabela 4.1.2.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado. 60
- Tabela 4.1.3.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste do *rota rod*. 70

<b>Tabela 4.1.4.</b> Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste do <i>rota rod</i> .	71
<b>Tabela 4.2.1.</b> Efeito do OEG (100 mg/Kg, i.p.) sobre a concentração das monoaminas e seus metabólitos em hipocampo e corpo estriado de camundongos.	83
<b>Tabela 4.3.1.</b> Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a atividade da enzima fosfatase alcalina em soro de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl <sub>4</sub> ).	87

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**ANOVA-** Análise de Variância

**AMPC-** Adenosina Monofosfato Cíclico

**ALT-** Alanina Transaminase

**AST-** Aspartato Transaminase

**CA-** Campo Aberto

**DA-** Dopamina

**DOPAC- Ácido** 3,4-diidroxifenilacético

**EP-** Esquiva-passiva

**GABA-** Ácido Gama Aminobutírico

**HPLC-** High Performance Liquid Cromatography

**HVA-** Ácido Homovanílico

**IP-** Intraperitoneal

**RR-** *Rota Rod*

**LCE-** Labirinto em Cruz Elevado

**NC-** Número de Cruzamentos

**NG-** Número de Grooming

**NR-** Número de Rearing

**NE -** Norepinefrina

**OEG-** Óleo Essencial de Gengibre

**USA-** United States of América

**VO-** Via Oral

**5HT-** 5-hidroxitriptamina

**5HIAA-** 5-hidroxiindolacético

## RESUMO

**ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS, NEUROQUÍMICOS E TÓXICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* Roscoe. CÍCERO FRANCISCO BEZERRA FELIPE. Orientadora: Dra. Glauce Socorro de Barros Viana. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFC.**

O Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é uma planta bastante apreciada em todo o mundo, não apenas como um condimento, mas também por suas importantes propriedades medicinais. Os efeitos comportamentais e neuroquímicos do óleo essencial do gengibre - OEG foram estudados em camundongos tratados diariamente com o óleo essencial de gengibre (OEG 25, 50 e 100 mg/Kg, i.p. e v.o.). No sétimo dia de tratamento foram realizados os testes do labirinto em cruz elevado (LCE), campo aberto (CA), *rota rod* (RR), esquivapassiva (EP) e teste dos tremores induzidos por oxotremorina. No oitavo dia do protocolo, os animais que receberam OEG (100 mg/Kg, i.p.) foram sacrificados para o estudo dos efeitos neuroquímicos do OEG em hipocampo e corpo estriado. Os efeitos tóxicos do OEG foram estudados em camundongos (tratados com única administração de OEG 200, 400 e 800 mg/Kg, i.p.) e ratos (nos quais foi induzida lesão hepática por CCl<sub>4</sub>, e tratados com OEG 50, 100 e 200 mg/Kg, i.p. em única administração). Os resultados mostraram que o OEG não possui efeito ansiolítico de acordo com o modelo do LCE; no CA, o OEG (50 e 100 mg/Kg, i.p.) apresentou efeito sedativo ao reduzir o NC, o NG e NR em 37%, 28% e 75%, respectivamente. Foi observada, também, a ocorrência de efeito dose-dependente da droga, cujo efeito máximo parece ser obtido com a dose de 100 mg/Kg (i.p.). A administração oral do OEG também produziu sedação, porém o efeito só foi observado no grupo tratado com a dose maior do óleo essencial. No modelo do RR, o OEG não produziu alteração significativa na coordenação motora dos animais tratados. No modelo da EP, o OEG produziu um dano cognitivo nos animais tratados com a dose de 100 mg/Kg, i.p. e v.o. Mesmo após 24 horas da administração da droga, o dano ainda era evidente. Quando associado à escopolamina, o OEG (50 e 100 mg/Kg, i.p. e v.o.) potencializou o efeito amnésico da droga. O efeito anticolinérgico do OEG (100 mg/Kg, i.p.) foi comprovado ao reverter os tremores induzidos por oxotremorina em camundongos. Em relação aos efeitos neuroquímicos do OEG em corpo estriado, a droga diminuiu a concentração de DA, aumentou NE, DOPAC e 5HT em 40%, 22%, 15% e 81%, respectivamente. No hipocampo observou-se que houve uma diminuição de DA, DOPAC e um aumento de 5HT em 75%,

64% e 81%, respectivamente. A diminuição de DA no corpo estriado explicaria o efeito sedativo da droga, e o conjunto de alterações observadas no hipocampo parece contribuir também para o efeito amésico do OEG. O estudo dos efeitos tóxicos do OEG revelou que a droga é relativamente segura e destituída de efeitos tóxicos significativos nos protocolos utilizados no presente estudo. A administração aguda do óleo essencial (200, 400 e 800 mg/Kg, i.p.) não produziu outro efeito sobre os animais, a não ser a sedação, efeito já observado com doses menores do óleo essencial. A administração diária do OEG também não produziu efeitos tóxicos além de diarreia observada nos animais tratados com a droga nas doses de 50 e 100 mg/Kg, i.p. e v.o. O OEG (200 mg/Kg, i.p.) mostrou-se efetivo ao reverter a lesão hepática induzida por CCl<sub>4</sub> em ratos. O tratamento com o óleo essencial na dose de 200 mg/Kg, i.p. reduziu em 35% e 23% a atividade das enzimas ALT e AST, respectivamente. O OEG parece exercer a ação hepatoprotetora ao combater a peroxidação lipídica gerada pelo metabolismo hepático do CCl<sub>4</sub> que produz radicais livres, altamente lesivos.

Palavras-chave: *Zingiber officinale* Roscoe, memória, escopolamina, oxotremorina e pilocarpina.

## ABSTRACT

**STUDY OF THE BEHAVIORAL, NEUROCHEMICAL AND TOXIC EFFECTS FROM THE ESSENTIAL OIL OF *Zingiber officinale* Roscoe. CÍCERO FRANCISCO BEZERRA FELIPE. Supervisor: Dr. Glauce Socorro de Barros Viana. Master degree's thesis. Graduation program in Pharmacology. Department of Phisiology and Pharmacology - UFC.**

Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is a plant largely used around the world, not just as a spice, but also for its medicinal properties. The behavioral and neurochemical effects were studied in mice daily administered with the essential oil of Ginger (EOG 25, 50 e 100 mg/Kg, i.p. and p.o.). In the 7th day of treatment, it was assessed the elevated-plus maze (EPM), open field (OF) rota rod (RR), passive avoidance (PA) and oxotremorine-induce tremor tests, to evaluate the behavioral effects of the drug. In the 8th day of the protocol, mice that received EOG (100 mg/Kg, i.p.) were killed to study the neurochemical effects of EOG on hippocampus and striatum. Toxic effects of EOG were studied in mice (that received a single administration of EOG 200, 400 e 800 mg/Kg, i.p.), and rats (with hepatic injury induced by CCl<sub>4</sub>, and treated with EOG 50, 100 e 200 mg/Kg, i.p. in a single administration). Results showed that OEG does not have anxiolytic effects on EPM test; in OF test, EOG (50 e 100 mg/Kg, i.p.) showed a sedative effect, decreasing the number of crossings, grooming and rearing in 37%, 28% and 75%, respectively, with OEG 100 mg/Kg. It was also observed a dose-dependent effect of the drug, which maximum effect observed with 100 mg/Kg (i.p.) of the drug. The oral administration of EOG also induced a sedative effect, occurring only in the group treated with the highest dose of the essential oil. In RR test, EOG did not induce any significant alteration on motor coordination of the animals. In PA test, EOG produced a cognitive impairment in animals treated with EOG 100 mg/Kg, i.p. and p.o. Even 24h after the drug administration, the cognitive impairment was still evident. When associated with scopolamine, EOG (50 e 100 mg/Kg, i.p. and p.o.) potentiated the amnesic effect of scopolamine. The anticholinergic effect of EOG (100 mg/Kg, i.p.) was proved to reverse the tremors induced by oxotremorine in mice. EOG, in striatum decreased DA and increased the concentrations of DOPAC, NE and 5HT in 40%, 15%, 22% and 81%, respectively. In hippocampus, OEG decreased DA, DOPAC and increased 5HT in 75%, 64% e 81%, respectively. The decrease of DA in striatum justifies the sedative effect of the drug and the aterations observed on hippocampus seem to contribute to the amnesic effect of EOG. The study of toxic effects of EOG showed that the drug is relatively

safe and it does not have any toxic effects, according to the protocols established in the present work. The acute administration of the essential oil (200, 400 and 800 mg/Kg, i.p.) did not induce any other toxic effect besides sedation. The daily administration of EOG did not produce any toxic effect, besides the diarrhea, observed in animals that received EOG 50 and 100 mg/Kg, i.p. and p.o. EOG (200 mg/Kg, i.p.) was effective in reversing the hepatic injury induced by CCl<sub>4</sub> in rats. The treatment with the essential oil (200 mg/Kg, i.p.) reduced in 35% and 23% the activity of the enzymes ALT and AST, respectively. EOG seems to exert its hepatoprotective action by decreasing lipid peroxidation generated by the hepatic metabolism of CCl<sub>4</sub>, which produces extremely dangerous free radicals.

Key words: *Zingiber officinale* Roscoe, memory, scopolamine, oxotremorine and pilocarpine.

### **1.1. GENERALIDADES:**

Dentre todas as terapias complementares disponíveis, a fitoterapia (a prática do uso de plantas medicinais com finalidade terapêutica) vem-se impondo atualmente e já não pode ser mais considerada como simples modismo (Ávila et al., 1999). Segundo Oliveira & Akisue (1998), planta medicinal é todo vegetal que contém em um ou vários de seus órgãos, substâncias que podem ser empregadas para fins terapêuticos ou precursores de substâncias para tais fins.

As drogas de origem natural têm sido usadas desde a antiguidade como remédios para o tratamento de uma série de doenças. Apesar dos grandes avanços observados na medicina moderna nas últimas décadas, as plantas ainda apresentam importante contribuição à saúde da população. Desde a década passada, o interesse em drogas derivadas de plantas, especialmente os fitoterápicos, tem aumentado expressivamente. Estima-se que cerca de 25% de todos os medicamentos modernos são direta ou indiretamente derivados de plantas (Cragg et al., 1997; De Smet et al., 1997; Shu, 1998). Atualmente, as principais companhias farmacêuticas têm demonstrado grande interesse em investigar as plantas medicinais como princípios para novas drogas, bem como para o desenvolvimento de agentes fitoterápicos padronizados com eficácia, segurança e qualidade comprovadas (Blumenthal, 1999; De Smet et al., 1997).

Comparados com os medicamentos sintéticos, os fitoterápicos possuem algumas diferenças bem claras (Calixto, 2000):

O(s) princípio(s) ativo(s) são por vezes desconhecidos;

- Controle de qualidade e estabilidade é possível, mas não facilmente realizável;
- Estudos toxicológicos e farmacológicos clínicos são relativamente poucos;
- São amplamente utilizados pela população em geral;
- Possuem um amplo espectro de indicações terapêuticas e são úteis no tratamento crônico;
- A ocorrência de efeitos colaterais parece ser menos freqüente com os fitoterápicos, porém estudos bem controlados têm revelado que eles também ocorrem;
- Possuem em geral menor custo em relação aos medicamentos sintéticos.

As preparações medicinais à base de plantas são normalmente muito populares nos países em desenvolvimento que possuem uma longa tradição no uso destes vegetais, bem como em alguns países desenvolvidos (Blumenthal et al., 1998; Grunwald, 1995; Roberts et al., 1998). Na Europa, com o avanço dos métodos analíticos, o controle de qualidade de drogas vegetais usadas no sistema alopático de medicina tem-se tornado bem estabelecido e padronizado. Em países como a Alemanha, estão oficializadas em torno de 300 monografias publicadas pela Comissão E, relacionando sobre cada planta, nomenclatura, composição química, indicações, contra-indicações, efeitos colaterais, interação medicamentosa, dosagem, ações farmacológicas, farmacocinética e toxicologia (Blumenthal, 1999). Desde 1980, mais de 300 estudos clínicos têm sido realizados com fitoterápicos padronizados, incluindo Ginkgo, Hypericum, Kava-kava e outros (Wagner, 1999).

Apesar da sua imensa flora, aspectos culturais e o grande uso de ervas medicinais, ainda são poucos os esforços feitos no Brasil para estabelecer a qualidade, segurança e eficácia desses produtos. Em 1994, o Ministério da Saúde criou uma comissão para avaliar a situação dos agentes fitoterápicos no país. A comissão propôs uma diretriz baseada, principalmente, nos regulamentos francês e alemão (Calixto, 2000). Atualmente, os medicamentos fitoterápicos, no Brasil, devem ser preparações padronizadas e, segundo a RDC N° 17, 24/02/2000, devem ser obtidos por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico, devendo ser caracterizados pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seus usos, assim como pela reprodutibilidade e constância de suas qualidades. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais.

Indiscutivelmente o reino vegetal tem contribuído com inúmeras substâncias bioativas, o que justifica o número crescente de plantas que vêm sendo investigadas quanto a suas possíveis propriedades farmacológicas (Evans, 1996). O organismo vegetal pode ser considerado um laboratório biossintético não só no que se refere aos compostos químicos (carboidratos, proteínas e gorduras) utilizados como alimentos pelos seres humanos e outros animais, mas também no que se refere a uma infinidade de compostos, incluído cumarinas, flavonóides, taninos, saponinas, alcalóides, terpenóides e ácidos fenólicos, que representam o grupo de metabólitos secundários, que são, em geral, responsáveis pelas ações biológicas da planta (Bruneton, 1999; Robbers et al., 1997).

### 1.2. ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE (GENGIBRE):

- **Histórico:**

Os efeitos terapêuticos do gengibre são reconhecidos há milhares de anos. O gengibre tem um papel importante na medicina popular tradicional em várias partes do mundo, sendo mencionado, inclusive, em certas escrituras religiosas. Por volta do ano 2000 a.C., a literatura védica da Índia já mencionava o uso de vários condimentos e suas respectivas indicações terapêuticas. Esta tradicional forma de medicina, denominada medicina Ayurvedica, ainda é sistematicamente e fielmente praticada na Índia (Lawless, 1995), na qual utiliza o gengibre como remédio caseiro para o tratamento de problemas pediátricos como a tosse por exemplo (Kapil et al., 1990; Mishra et al., 1994).

O gengibre é uma planta altamente valorizada e estimada na China, onde seus usos são diversos, seja na culinária chinesa, ou em cerimônias religiosas (Ghazanfar, 1994). Na China e Japão, o gengibre é um ingrediente bastante utilizado para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, hepáticas e para o tratamento da hipertensão arterial (Iwu, 1993).

O mundo árabe há muito tempo reconhece as vantagens do uso do gengibre o qual é utilizado como remédio para constipação, catarro, acidez do estômago, bronquite e catarata. O suco do extrato do gengibre é usado algumas vezes até como colírio, e o chá, como um tônico geral. Acredita-se também no uso do gengibre como um afrodisíaco (Ghazanfar, 1994). A medicina popular africana também

valoriza bastante o uso deste rizoma como composto carminativo, diurético e antiemético (Iwu, 1993).

Foi no primeiro século d.C. que os negociantes europeus introduziram o gengibre na região do mediterrâneo, o qual chegou à Inglaterra por volta do século 11 d.C. Logo após a conquista espanhola, o gengibre foi introduzido nas Índias Ocidentais e México pelos espanhóis e, a partir de então, foi comercializado e consumido no mundo inteiro (The New Encyclopedia Britannica, 1991). A introdução do gengibre no Brasil é atribuída, por alguns autores, aos holandeses (Corrêa, 1926).

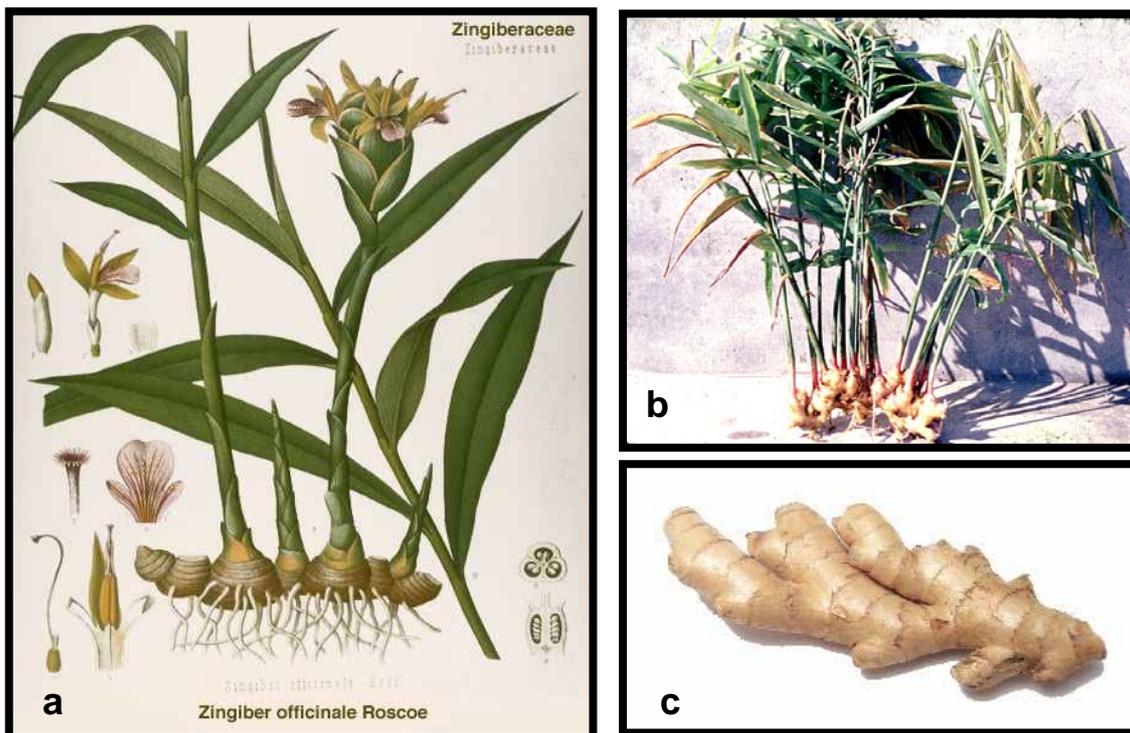
- **Aspectos botânicos:**

Plantas aromáticas são definidas como vegetais que apresentam algum tipo de aroma, caracterizado pela presença de componentes voláteis, como os óleos essenciais. Várias plantas aromáticas podem ser encontradas crescendo livremente ou cultivadas desde o litoral e montanhas até o interior do nordeste do Brasil. Algumas dessas plantas são espécies exóticas trazidas da Europa, África e Ásia ao Brasil durante o período colonial, sendo cultivadas atualmente para o uso como preparações medicinais caseiras (Matos et al., 1999).

*Zingiber officinale* Roscoe (Figura 1.2.1a e 1.2.1b), membro da família Zingiberaceae, apresenta-se como uma erva de rizoma perene, reptante, articulado, anguloso e muito ramoso, de 1-2cm de espessura, ligeiramente achatado, carnoso, revestido de epiderme rugosa, amarelada ou pardacenta, tendo na parte superior, pequenos

tubérculos anelados e muito aproximados, resultantes da base dos antigos caules aéreos, e na parte inferior numerosas raízes adventíceas, cilíndricas, brancas e carnosas (Figura 1.2.1c); os caules são eretos, de 30-120cm de altura, guarnecidos de bastante folhas dísticas, sendo as basilares reduzidas a simples bainhas glabras e estriadas no sentido longitudinal; as bainhas superiores, amplexicaules na base, terminam com um limbo séssil, linear, lanceolado, acuminado, até 28cm de comprimento e 3cm de largura, com numerosas punctuações translúcidas e as nervuras secundárias finas, aproximadas e paralelas, partindo da nervura média e dirigindo-se muito obliquamente para o ápice do limbo, sendo que no ponto de junção deste com a bainha há uma língua bífida prolongada lateralmente em duas aurículas; flores verde-amareladas, hermafroditas, zigomorfas, dispostas em espigas ovóides ou elipsóides, de 4-6cm, no ápice dos escarpou ou pedúnculos de 15-20cm, emitidos diretamente dos rizomas, revestidos, como as próprias espigas, por grandes escamas invaginantes e imbricadas, obtusas, decrescentes na base para o ápice; brácteas florais suborbiculares, às vezes obovadas, até 25mm, esverdeadas, frequentemente com margens as amareladas, punctuadas de roxo, cada uma envolvendo uma só flor, curto-pedicelada; cálice de 1cm, 3 denteado, corola com tubo de 2cm e lobos lanceolados, agudos; labelo ovado-oblongo, purpúreo e com punctuações amarelas, mais curtos que os lobos da corola; fruto cápsula 3-locular, abrindo-se em três valvas; sementes azuladas e com albúmen carnoso (Corrêa, 1926).

Figura 1.2.1. Aspectos botânicos de *Zingiber officinale* Roscoe.



As figuras a e b mostram um exemplar de *Zingiber officinale* Roscoe, onde podem ser observados os componentes aéreos (caule, folhas e flores) do vegetal; a figura c apresenta mais detalhadamente o rizoma da planta. As ilustrações foram retiradas, respectivamente, dos seguintes sites:

<http://www.healathsma.com>

<http://www.dominioherbal.com>

<http://www.agriculture-industry-india.com>

- **Aspectos químicos:**

Purseglove (1972) afirma que o gengibre apresenta suas propriedades organolépticas características em função de duas principais classes de constituintes químicos: os constituintes voláteis, presentes no óleo essencial, e os não voláteis.

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos etéreos ou voláteis, são essências aromáticas concentradas que conferem proteção à planta. Esses óleos são uma mistura de vários componentes que podem ser encontrados nas mais variadas partes das plantas, tais como nos brotos florais, folhas, casca, sementes, lenho e raízes. Destas partes, os óleos essenciais podem ser extraídos especialmente por destilação, mas também por outros processos. Os componentes químicos dos óleos essenciais são geralmente mono e sesquiterpenos e seus derivados, ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas e fenóis. Devido à diversidade da composição química, estes compostos podem apresentar diferentes efeitos e indicações terapêuticas. Dentre os hidrocarbonetos, existem as de cadeias alifáticas, tais como os hidrocarbonetos mono e sesquiterpenos, que são anti-sépticos e bactericidas, analgésicos, antiinflamatórios, tranquilizantes e hipotensores. Os diterpenos são expectorantes, e purgativos, enquanto alguns outros são anti-fúngicos anti-virais e estimulantes. Estes compostos são geralmente atóxicos e não causam reação cutânea (Matos et al., 1999).

Os constituintes voláteis presentes no rizoma do gengibre são responsáveis por seu aroma característico, o qual é descrito como doce, caloroso, delicado e cítrico (Van Beek et al., 1987). Os principais constituintes do óleo essencial são os hidrocarbonetos

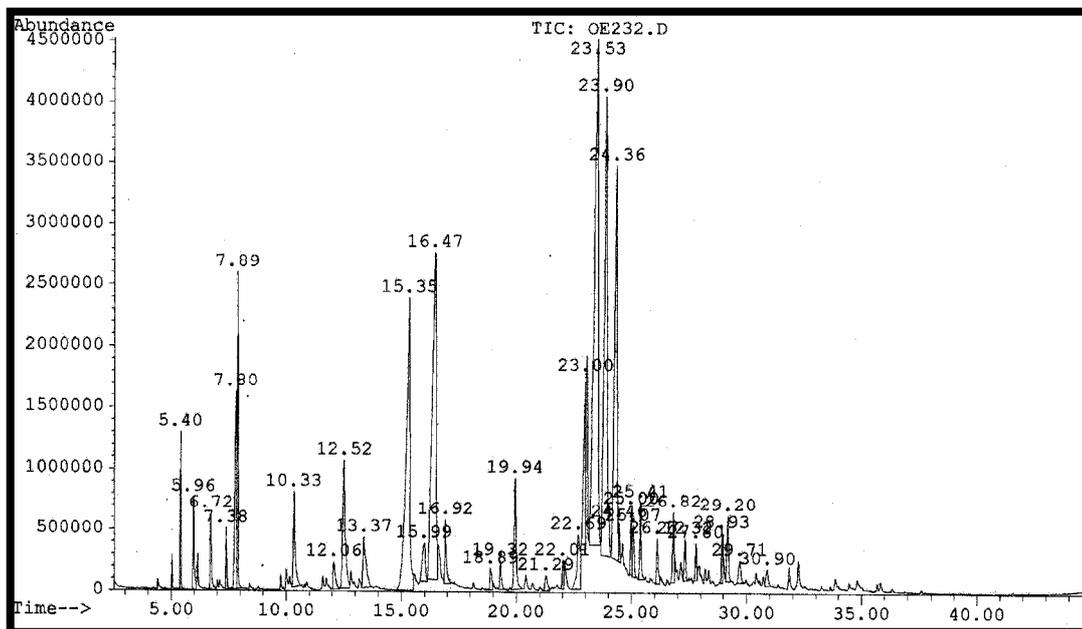
sesquiterpenos: zingibereno (35%, sendo o mais abundante) e farneseno (10%). Bisaboleno e  $\beta$ -sesquifelandreno contribuem com uma menor parte desses constituintes. Os hidrocarbonetos monoterpênicos, encontrados em quantidades menores, ocorrem em muitas formas: 1,8-cineol, linalol, borneol, neral e geraniol (Andrews et al., 1995; Govindarajan, 1982).

Existem diferenças substanciais na composição de óleos extraídos de rizomas cultivados em regiões diferentes ou até em uma mesma região (Van Beek et al., 1987). A análise química do óleo essencial do gengibre proveniente do município de Baturité - Ce é mostrada nas figuras 1.2.2 e 1.2.3 e tabela 1.2.1. A análise dos constituintes químicos do OEG foi realizada no Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da Universidade Federal do Ceará. O procedimento empregou um cromatógrafo Gás-líquido acoplado a Espectrômetro de Massa; a identificação dos constituintes químicos foi feita por pesquisa em espectroteca, comparação visual com espectros da literatura (Adams, 1989) e determinação dos Índices de Kovats simulados (Alencar et al., 1990).

Os principais constituintes químicos não voláteis encontrados no rizoma do gengibre são os gingeróis, os quais formam uma família de compostos homólogos, diferenciados entre si pelo número de átomos de carbono em sua cadeia lateral: 10, 12 e 14 átomos de carbono dão origem ao [6]-, [8]- e [10]-gingerol, respectivamente, sendo o [6]-gingerol o composto mais abundantemente encontrado. A desidratação dos compostos ora citados origina [6]-, [8]- e [10]-shogaol (Govindarajan, 1982). Além destes constituintes químicos, a composição remanescente do gengibre inclui gorduras (~7%), fibras (~2-4%), carboidratos, cêras, vitaminas e minerais (Tabela 1.2.2.)

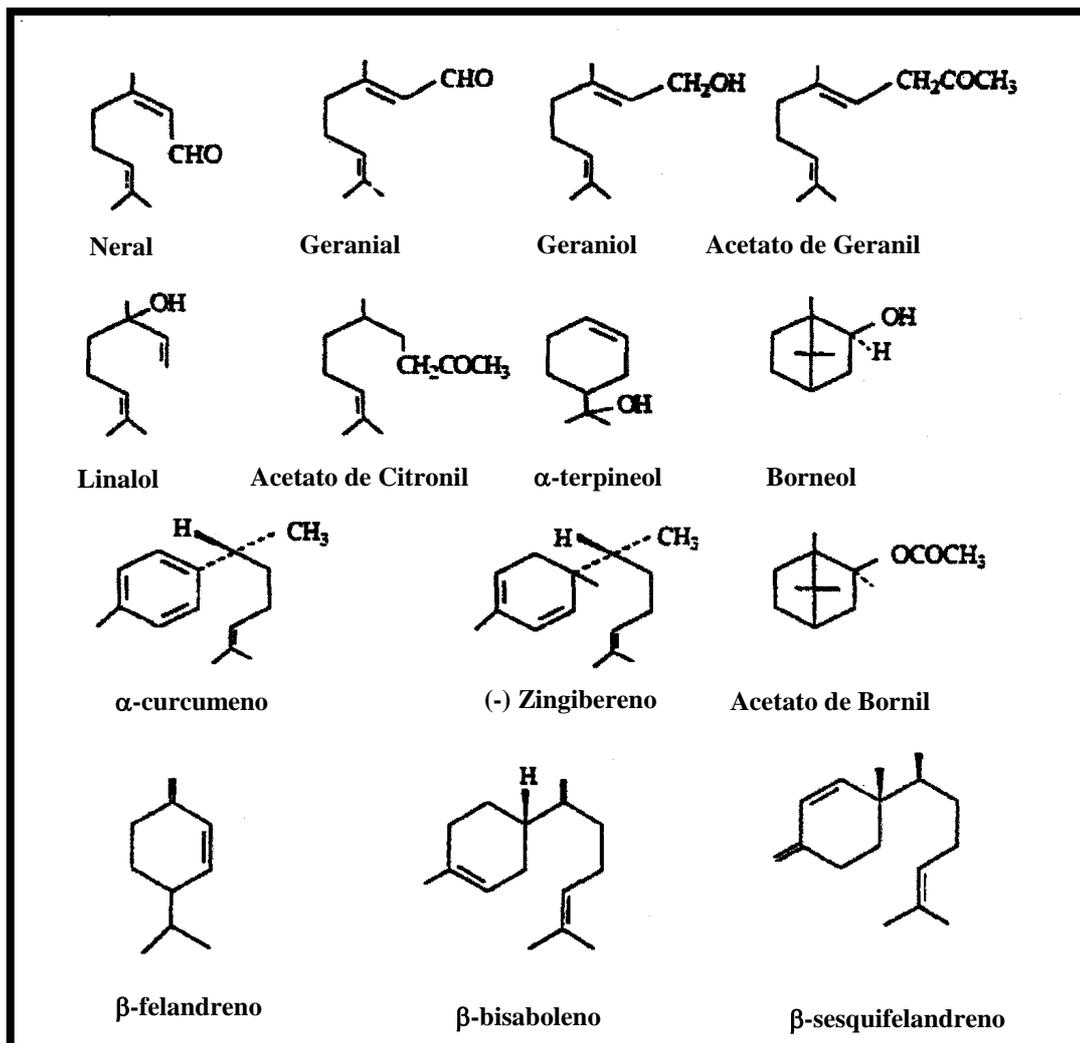
(Afzal et al., 2001). Uma análise fitoquímica realizada no Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Farmácia, da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará (dados não publicados) mostrou a presença de outros componentes químicos com conhecidas atividades farmacológicas. Tais componentes são apresentados na tabela 1.2.3.

**Figura 1.2.2.** Cromatograma do óleo essencial extraído de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) proveniente do município de Baturité - Ce.



O cromatograma acima consiste no registro dos principais constituintes químicos presentes no óleo essencial do gengibre. A técnica utilizada permite a separação, identificação e quantificação de cada um dos componentes existentes no óleo essencial extraído dos rizomas da planta.

Figura 1.2.3. Estruturas químicas dos principais componentes do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe.



A figura mostra as estruturas químicas de alguns dos constituintes do óleo essencial do gengibre apresentados na tabela 1.2.1.  
 Fonte: Afzal et al., 2001.

**Tabela 1.2.1.** Identificação e valores percentuais dos principais constituintes químicos presentes no óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), proveniente do município de Baturité - Ce.

<b>Constituinte</b>	<b>I Kovak</b>	<b>%</b>
Canfeno	937	1,17
Benzaldeído	954	1,04
Beta-mirceno	977	0,83
Delta-9-careno	998	0,56
Beta-felandreno	1011	3,56
1,8-cineol	1013	2,78
Alfa-terpinoleno	1089	1,75
Citronelal	1142	0,53
Endo-borneol	1156	3,12
Alfa-terpineol	1182	1,48
Z-citral	1243	10,9
E-citral	1278	12,23
2-undecanona	1292	0,89
Propionato de citronelila	1352	0,37
Alfa-copaeno	1366	0,41
Formiato de geranila	1385	2,07
Z,E-alfa-farneseno	1426	0,37
Trans-cariofileno	1449	0,44
Zingibereno	1495	18,39
Farneseno	1507	12,5
Beta-sesquifelandreno	1521	10,08
E-farneseno	1543	0,84
Nerolidol	1553	1,05
Trans-beta-farneseno	1575	0,69
Beta-farneseno	1597	0,98
Beta-eudesmol	1627	0,46

**Tabela 1.2.2.** Concentração de minerais presentes no rizoma de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe).

<b>Elemento</b>	<b>Concentração μg/g (peso seco)</b>
Cr	0,89 (± 0,02)
Mn	358 (± 10)
Fe	145 (± 9)
Co*	18 (± 2)
Zn	28,2 (± 2)
Na	443 (± 13)
K	129000 (± 1100)
As*	12 (± 10)
Se	0,31 (± 0,02)
Hg*	6,0 (± 1)
Sb*	39 (± 3)
Cl	579 (± 23)
Br	2,1 (± 0,2)
Hf	0,07 (± 0,003)
Rb	2,7 (± 0,6)
Cs*	24 (± 2)
Sc*	42 (± 4)
Eu*	44 (± 3)

\* Concentração em ng/g (Afzal et al., 2001)

**Tabela 1.2.3.** Perfil fitoquímico dos constituintes presentes no rizoma de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) proveniente do município de Baturité - Ce.

<b>Constituintes</b>	<b>Resultado</b>
Alcalóides	Positivo
Flavonóides	Positivo
Digitálicos	Negativo
Saponinas	Positivo
Taninos Catéquicos	Positivo
Taninos Pirogálicos	Negativo

- **Aspectos farmacológicos:**

Os princípios ativos presentes no gengibre parecem estar representados pelos constituintes voláteis (cujos principais componentes são os sesquiterpenos bisaboleno, zingibereno e zingiberol) e não voláteis (gingeróis) os quais possuem uma variedade de efeitos fisiológicos (Connell et al., 1969; Govindarajan, 1982; Newall et al., 1996; Yoshikawa et al., 1993).

Já é bem conhecido que vários compostos presentes no gengibre possuem efeitos inibitórios sobre a síntese de prostaglandinas e leucotrienos através da inibição direta da prostaglandina sintetase e 5-lipoxigenase. Gingeróis, shogaóis e várias gingerodionas são particularmente ativos (Kiuchi et al., 1992). Os níveis de tromboxano que contribuem para a agregação plaquetária são também reduzidos pelo consumo do gengibre (Srivastava, 1986). De acordo com (Backon, 1986; Srivastava, 1984; Srivastava, 1986) extratos obtidos do gengibre inibem a produção da ciclooxygenase plaquetária, a geração de tromboxano e a agregação plaquetária, de maneira dose-dependente. O gingerol também é capaz de inibir a agregação plaquetária mediada por tromboxano (Guh et al., 1995). O tromboxano A<sub>2</sub>, um composto com atividade pró-agregante, é fortemente inibido com um pequeno volume do extrato aquoso do gengibre. Este fenômeno é acompanhado pela redução da síntese de endoperóxidos e prostaglandinas, de maneira dose-dependente (Srivastava, 1984).

O uso do gengibre tem sido sugerido para o tratamento da doença de Kawasaki. Esta doença é uma síndrome mucocutânea dos nódulos linfáticos com alta incidência em crianças. Postula-se que,

uma vez que o tromboxano está envolvido no desenvolvimento da doença de Kawasaki e o gengibre inibe potencialmente a biossíntese do composto, o uso deste rizoma, portanto, parece ser uma escolha interessante para o tratamento desta patologia (Backon, 1991).

O gengibre também apresenta efeitos sobre a pressão sanguínea e ritmo cardíaco. Em um estudo realizado para investigar esses efeitos farmacológicos, observou-se que extratos do gengibre diminuem a pressão sanguínea quando injetados na veia femoral de ratos. Este efeito é produzido de maneira dose-dependente com a administração de [6]-shogaol (1-100 $\mu$ g/Kg) e [6]-gingerol (0,1-100  $\mu$ g/Kg). Em doses mais elevadas, [6]-shogaol e [6]-gingerol causam uma diminuição imediata da pressão sanguínea, seguida por um aumento significativo dos valores pressóricos e subsequente queda da pressão (Suekawa et al., 1984).

Há dez anos atrás, descobriu-se que o gengibre estimula a atividade da bomba de  $Ca^{2+}$  de retículo sarcoplasmático (RS) fragmentado, preparado a partir de músculos cardíacos de coelhos e cães. O gingerol (3-30  $\mu$ M) aumenta a atividade da bomba de  $Ca^{2+}$  do RS do músculo esquelético e cardíaco de forma dose-dependente (Kobayashi et al., 1987). Dados in vitro mostram que o gingerol aumenta a contratilidade do músculo atrial de cobaia em preparações isoladas e em animais, apresenta efeitos inotrópicos e cronotrópicos. Neste estudo [8]-gingerol apresentou efeitos inotrópicos e cronotrópicos positivos dose-dependentes, em concentrações que variaram de  $1 \times 10^{-6}$  a  $3 \times 10^{-5}$  (Kobayashi et al., 1988; Shoji et al., 1982).

Estudos que utilizaram veias e artérias mesentéricas isoladas de camundongos mostraram que [6]- e [8]-gingerol aumentam a contração causada por várias prostaglandinas (PGF<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> e PG<sub>12</sub>). Por outro lado, o efeito constrictor causado pelo tromboxano A<sub>2</sub> e leucotrienos é inibido (Kimura et al., 1989). Além disso, observou-se que tanto o [6]-gingerol quanto o [6]-shogaol inibem a contração induzida pela norepinefrina e estimulam a contração induzida pela PGF<sub>2</sub>- $\alpha$  (Pancho et al., 1989).

Estudos sobre os efeitos hipolipemiantes do gengibre têm apresentado resultados ainda controversos (Bhrandari et al., 1998). Alguns desses estudos confirmam que a administração oral ou intragástrica dos extratos obtidos do gengibre reduz os níveis de colesterol sérico e hepático, aumentando, conseqüentemente, a concentração de colesterol nas fezes. Estes resultados sugerem que o gengibre pode reduzir a absorção intestinal do colesterol (Tanabe et al., 1993).

Em ratos com hipercolesterolemia, alguns dados sobre os efeitos do gengibre são conflitantes; alguns estudos mostram efeitos positivos e outros, entretanto, não mostram efeito algum (Sambaiah et al., 1991; Srinivasan et al., 1991). Mais recentemente, um estudo analisou os efeitos do gengibre e do alho, associados, sobre os níveis séricos de glicose e colesterol. Neste estudo, o qual utilizou ratos Wistar machos, descobriu-se que todos os animais apresentaram aumento de peso corpóreo, exceto aqueles que receberam uma combinação de gengibre e alho. Além deste resultado, ocorreu também uma redução significativa da glicose e do colesterol sanguíneos e fosfatase alcalina sérica. As lipoproteínas de alta densidade (HDL) apresentaram-se aumentadas (Ahmed et al., 1997).

Em homogenatos de fígado de camundongos e ratos, extratos de gengibre interferem no metabolismo do colesterol (Tanabe et al., 1993). Para tanto, o gengibre teve seus efeitos testados sobre o sistema hepático de oxigenase de função mista. Este complexo de enzimas está envolvido na hidroxilação dos esteróides e no metabolismo de diversos fármacos no organismo. Experimentos *in vivo* realizados em ratos albinos adultos (fêmeas) mostraram que o gengibre (10 e 40 mg%) aumenta os níveis microssomais hepáticos do citocromo P450 e citocromo b5. A atividade da glicuronil transferase e NADPH-citocromo c redutase não foi alterada (Sambaiah et al., 1989). A atividade da enzima colesterol-7-hidroxilase (uma enzima hepática limitante para o processo da biossíntese do colesterol e ácidos biliares), entretanto, apresentou-se significativamente elevada nos ratos alimentados com gengibre (Kimura et al., 1989). O gengibre, portanto, não afeta diretamente as concentrações séricas do colesterol, e sim, as enzimas envolvidas na conversão do colesterol a ácidos biliares no fígado, o que leva a uma diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol (Afzal, et al., 2001).

O gengibre exibe seus efeitos mais proeminentes no sistema gastrointestinal, onde parece estimular a motilidade gastrointestinal. Doses orais do extrato orgânico do gengibre, administrado em camundongos (75 mg/Kg; 2,5 mg/Kg de [6]-shogaol ou 5mg/Kg de [6]-, [8]- ou [10]-gingerol) parecem estimular o transporte intestinal de alimentos. Alguns estudos sugerem que a via de administração dos extratos pode alterar o efeito resultante. Desta forma, a administração intravenosa de 3,5 mg/Kg de [6]-gingerol e [6]-shogaol em ratos inibe a motilidade intestinal. Entretanto, quando administrado via oral, o shogaol aumenta a motilidade intestinal com a dose de 35 mg/Kg (Suekawa et al., 1984; Suekawa et al., 1986) Em camundongos, os

efeitos do gengibre em aumentar a motilidade intestinal são similares aos efeitos da metoclopramida (Yamahara et al., 1990). Por outro lado, um composto diterpenóide presente em extratos do gengibre, conhecido como galanolactona, apresenta efeitos antagonistas sobre o receptor da serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT). A galanolactona inibe as respostas contráteis do íleo de cobaia, frente a ação da 5-HT, especificamente sobre os receptores 5-HT<sub>3</sub>. Desta forma, o efeito do gengibre sobre a motilidade gastrointestinal parece ocorrer devido à ação antagonista da planta sobre os receptores 5-HT<sub>3</sub> (Huang et al., 1991).

A emese é um sintoma comum tanto à cinetose, quanto à náusea pós-operatória. Em função disto, muitas investigações foram realizadas para estudar as ações antieméticas do gengibre (Grontved et al., 1988). Em cães e ratos, extratos do rizoma reduzem efetivamente o vômito associado à quimioterapia (Yamahara et al., 1989; Sharma et al., 1997). De acordo com (Frisch et al., 1995), uma combinação de ervas incluindo gengibre e ginkgo é tão eficaz quanto a metoclopramida em modelos de náusea induzida experimentalmente. Estudos em ratos e camundongos sugerem que o gengibre exerce seus efeitos antieméticos estimulando receptores colinérgicos e histaminérgicos e/ou antagonizando os receptores para 5-hidroxitriptamina (serotonina) no intestino (Huang et al., 1991; Qian et al., 1992). Micklefield et al., 1999, afirmam que em seres humanos, durante o jejum ou após uma refeição padrão, extratos do gengibre aumentam significativamente a motilidade gastroduodenal.

Outros estudos têm avaliado a efetividade do gengibre na prevenção da cinetose, bem como os mecanismos potenciais para esta ação farmacológica (Anônimo, 1997). Em um estudo aberto,

composto por 1741 turistas que viajavam em um navio, uma suplementação à base de gengibre (250 mg a cada duas horas) foi tão efetiva em prevenir a cinetose, quanto os medicamentos frequentemente prescritos para este fim (Schmid et al., 1994).

Historicamente, o gengibre tem sido usado como um composto carminativo, que aumenta a motilidade gastrointestinal e diminui a flatulência. Em camundongos, o zingibereno e o gingerol reduzem significativamente a ulceração gástrica induzida experimentalmente por etanol e ácido clorídrico (Yamahara et al, 1985). Estes resultados foram confirmados em vários estudos subsequentes, nos quais, alguns constituintes do gengibre, incluindo beta-sesquifelandreno, beta-bisaboleno, ácido gingerosulfônico, curcumeno e 6-shogaol demonstraram efeitos antiúlcera, protegendo a mucosa gástrica contra a ação do álcool, de drogas antiinflamatórias não esteroidais e do ácido clorídrico (Al-Yahya et al., 1989; Yamahara et al, 1992). Lesões gástricas induzidas por esses compostos em ratos são inibidas pela administração oral do extrato acetônico do gengibre (1 g/Kg), zingibereno e [6]-gingerol (100 mg/Kg) em 97,5%, 53,6% e 54,5%, respectivamente (Yamahara et al., 1988). Extratos de gengibre administrados em ratos promoveram um aumento da secreção biliar (Yamahara et al., 1985).

Os eicosanóides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, leucotrienos e lipoxinas) são formados a partir do ácido araquidônico (AA), em resposta a um dano tecidual qualquer. Em tecidos inflamados, as quantidades de prostaglandinas e leucotrienos encontram-se aumentadas pela atividade elevada das enzimas ciclooxigenase e 5-lipoxigenase, respectivamente (Mustafa et al., 1993).

Sabe-se que vários compostos presentes no gengibre possuem atividades inibitórias sobre a síntese de prostaglandinas e leucotrienos pela inibição direta da enzima prostaglandina sintetase e 5-lipoxigenase. Os gingeróis, shogaóis e algumas gingerodionas são particularmente ativos (Kiuchi et al., 1992). Dados in vitro mostram que extratos do gengibre bloqueiam a formação de compostos inflamatórios como tromboxanos, leucotrienos e prostaglandias (Flynn et al., 1986; Kiuchi et al., 1982).

Na medicina Ayurvedica, o gengibre é usado como um remédio antiinflamatório para artrite e dor de cabeça (Mustafa et al., 1990). Muitos estudos têm mostrado o efeito antiinflamatório do gengibre na artrite e doenças relacionadas. A artrite é uma condição inflamatória crônica, cujo processo é mediado por eicosanóides: prostaglandina E2 e leucotrieno B4. A ingestão diária de gengibre (5g do rizoma fresco ou 0,5-1 g do rizoma pulverizado) alivia a dor, melhora os movimentos e reduz o edema em pacientes com artrite reumatóide (Srivastava et al., 1989). Em um estudo com sete pacientes que apresentava artrite reumatóide, Srivastava et al., (1989) demonstraram que uma suplementação à base de gengibre produziu uma melhora dos sintomas apresentados pelos pacientes. Em outro estudo contendo 56 voluntários (28 com artrite reumatóide, 18 com osteoartrite e 10 com desconforto muscular), os quais receberam gengibre pulverizado como suplementação, mais de 3/4 dos pacientes que apresentavam artrite relataram alívio da dor e inflamação em graus variáveis; todos os pacientes com desconforto muscular relataram também alívio do sintoma. Nenhum dos pacientes relatou a ocorrência de qualquer efeito adverso durante o consumo do gengibre, o qual teve uma duração que variou de três meses a dois anos e meio (Srivastava et al., 1992). Sharma et al., (1994) demonstraram em modelos animais de

artrite crônica que o óleo essencial do gengibre (33 mg/Kg) administrado em ratos, reduz efetivamente a inflamação e o edema da artrite induzida nos joelhos e patas.

O gengibre possui, também uma efetiva atividade antipirética. Mais especificamente, o [6]-shogaol apresenta este efeito quando administrado endovenosamente na dose de 1,75-3,5 mg/Kg (Srivastava et al., 1992).

Em vários países tropicais, alguns condimentos como o gengibre, são utilizados para conservar alimentos que se deterioram muito facilmente, como as frutas, por exemplo, (Chen et al., 1985; Ejechi et al., 1998). Denyer et al., (1994) afirmam que alguns sesquiterpenos presentes no gengibre possuem atividade in vitro antirrhinoviral. Extratos do gengibre também apresentam atividade antibacteriana contra microorganismos gram-positivos e gram-negativos, tais como *Clostridium*, *Listeria*, *Enterococcus* e *Staphylococcus*; entretanto, este efeito é perdido com o calor (cozimento) (Chen et al., 1985; Janes et al., 1999; Mascolo et al., 1989). Alguns constituintes químicos do gengibre, como as gingerenonas A, B e C e isogingerenona B mostraram alguma atividade antifúngica in vitro (Vimala et al., 1999).

Dados in vitro (Murakami et al., 1998; Vimala et al., 1999) mostraram o gengibre inibe a ativação do vírus Epstein-Barr, e que alguns de seus constituintes químicos (6-gingerol e 6-paradol) apresentaram efeitos sobre a viabilidade e síntese de DNA em células promielocíticas leucêmicas humanas (Lee et al., 1998; Surh et al., 1998). Camundongos tratados com o extrato alcoólico do gengibre

apresentaram uma proteção significativa contra tumores de pele induzidos experimentalmente (Lee et al., 1998; Matthes et al., 1980).

A peroxidação lipídica é um processo que ocorre quando espécies reativas de oxigênio atacam lipídeos (particularmente os ácidos graxos poliinsaturados), resultando na formação de lipoperóxidos, os quais são agentes potencialmente lesivos às células e ao DNA. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL), se oxidadas, podem tornar-se um fator chave para a formação de placas ateroscleróticas, o que constitui um alto fator de risco para as chamadas doenças cardíacas. Recentemente, alguns estudos têm mostrado que a peroxidação lipídica em organismos vivos está intimamente relacionada ao início de algumas doenças humanas como o câncer, doença coronariana e mal de Alzheimer (Masuda et al., 1998).

Muitas pesquisas são realizadas com o intuito de descobrir substâncias inibidoras da peroxidação lipídica. Alguns extratos do gengibre têm demonstrado possuir alguma atividade antioxidante. De fato, a zingerona atua como sequestrador de ânions superóxido, atividade esta medida através da redução do nitrobluetetrazolium em meio contendo o sistema xantina/xantina-oxidase (Krishnakantha et al., 1993). Em células endoteliais de aorta humana, a zingerona também demonstrou ter efeitos antioxidantes significativos sobre as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Pearson et al, 1997; Zhou et al., 1992). Sujatha et al., (1995) relatam que o gengibre exibe propriedades antioxidantes em membranas de eritrócitos humanos submetidos à peroxidação lipídica induzida pelo sistema FeSO<sub>4</sub>-ascorbato. Nestas condições, o gengibre inibiu a peroxidação lipídica em 72%, inibindo, também, a formação de dienos, trienos e tetraenos

conjugados nas membranas de eritrócitos humanos. Em condrócitos humanos, o óleo essencial do gengibre reduziu efetivamente a produção de peróxido de hidrogênio induzida pelo ácido fúlvico (Guo et al, 1997).

Ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol, ao receberem uma suplementação com gengibre, apresentaram efeitos antioxidantes significativos, ocorrendo um aumento das concentrações teciduais das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase, e consequente redução dos níveis de glutathiona (Jeyakumar et al., 1999).

- **Aspectos toxicológicos:**

Reações alérgicas ao gengibre têm sido relatadas apenas como dermatites de contato em indivíduos com exposição ocupacional ao condimento (Kanerva et al., 1996). Com exceção à leve indisposição estomacal em pessoas não acostumadas a comidas apimentadas, o gengibre não possui toxicidade aguda conhecida, nas doses usuais para consumo com propósitos alimentares ou medicinais. Doses de 6g ou maiores podem levar à irritação e perda da proteção da mucosa gástrica (Desai et al., 1990). Em doses normais (até 2g diárias), o gengibre não interfere com a coagulação sanguínea ou qualquer outro parâmetro individual do processo de coagulação (Bordia et al., 1997; Janssen et al., 1996; Lumb, 1994). Por outro lado, uma vez que o gengibre inibe a agregação plaquetária e a biossíntese de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, seu uso como profilático para a náusea pós-operatória e vômito pode resultar em complicações (Backon, 1991).

A DL50 aguda do gengibre em ratos é maior que 5 g do óleo por quilograma de peso corpóreo (Mascolo et al., 1989). Não se tem relatos de qualquer atividade carcinogênica ou mutagênica do gengibre (Nagabhushan et al, 1987; Nakamura et al., 1982). Alguns especialistas desaconselham o consumo do gengibre em pacientes com algumas condições cardíacas, cálculos e outras doenças do sistema biliar ou pacientes com diabetes ou hipoglicemia (Newall et al., 1996; Brinker, 1997; McGuffin et al., 1997). O uso durante a gravidez é presumidamente seguro, baseado na sua longa história de uso como alimento, entretanto, devido à atividade uterotônica de uma espécie relacionada (*Zingiber cassumunar*), alguns especialistas recomendam evitar o consumo do gengibre durante a gravidez (Newall et al., 1996; Brinker, 1997; Kanjanapothi, 1987).

### **2.1. OBJETIVO GERAL:**

Em função do reduzido número de artigos existentes na literatura que abordam os efeitos do óleo essencial do gengibre sobre o SNC, o presente trabalho teve como objetivo estudar os efeitos comportamentais, neuroquímicos e tóxicos do óleo essencial de gengibre (OEG).

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Estudar os efeitos comportamentais da administração diária do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p. e v.o.) em camundongos submetidos aos testes do Labirinto em Cruz Elevado (LCE), Campo Aberto (CA), *Rota Rod* (RR) e Esquiva Passiva (EP);
- Avaliar o efeito do OEG (100 mg/kg, i.p.) sobre os tremores induzidos por oxotremorina (0,5 mg/Kg, i.p.) em camundongos;
- Verificar a ocorrência de possíveis alterações no conteúdo das monoaminas e seus metabólitos em hipocampo e corpo estriado de camundongos tratados diariamente com OEG (100 mg/Kg, i.p.);
- Verificar a ocorrência de possíveis efeitos tóxicos do OEG quando administrado em dose única (200, 400 e 800 mg/Kg, i.p.) ou diária (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p. e v.o.) em camundongos;
- Avaliar o efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a função hepática de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>), através da análise dos marcadores de função hepática:

## **2. OBJETIVOS**

---

alanina transaminase (ALT), aspartato transaminase (AST), fosfatase alcalina (FA) e bilirrubina.

#### **3.1. ANIMAIS:**

Para a realização do presente estudo, foram utilizados camundongos Swiss machos, com peso médio de 25 g e ratos Wistar machos, com peso médio de 150 g. Os animais utilizados foram provenientes do Biotério Central do Departamento de fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará e mantidos em ambiente com temperatura constante e ciclo claro/escuro de 12 horas cada. Todos os experimentos foram realizados de acordo com “National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals”.

#### **3.2. DROGAS:**

- **Atropina:**

Atropina (Sigma Chemical, Co, USA) foi dissolvida em água destilada e administrada na dose de 10 mg/Kg, i.p., como droga padrão de efeito anticolinérgico no teste dos tremores induzidos por oxotremorina.

- **Diazepam:**

Ampolas de diazepam (União Química, Brasil) 20 mg/2mL foram utilizadas. O diazepam foi diluído em água destilada e administrado na dose de 1,0 mg/Kg, via intraperitoneal, como droga padrão no modelo do Labirinto em Cruz Elevado.

- **Escopolamina:**

O cloridrato de escopolamina (Sigma Chemical, Co, USA) foi dissolvido em água destilada e administrado na dose de 0,5 mg/Kg, via intraperitoneal, como droga padrão no modelo da esquiva-passiva.

- **Oxotremorina:**

Oxotremorina (Sigma Chemical, Co, USA) foi dissolvida em água destilada e administrado na dose de 0,5 mg/Kg, via intraperitoneal, no teste da indução de tremores.

- **Óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe:**

O material vegetal (rizomas) utilizado para a extração do óleo essencial foi proveniente do município de Baturité-Ce. Um exemplar deste material encontra-se devidamente acondicionado e registrado no Herbário Prisco Bezerra da UFC (exsicata n. 32.420).

Para a extração do óleo essencial, os rizomas do gengibre foram lavados em água corrente para retirar algumas impurezas e em seguida triturados. O material vegetal foi então transferido para um balão, ao qual foi adicionada água destilada em quantidade suficiente para imergir todo o material. A mistura foi submetida à ebulição por aproximadamente três horas. A fase orgânica (OEG) foi separada da fase aquosa (hidrolato) por separação simples em camada de sulfato de sódio anidro, para retirar traços de água ainda presentes no óleo essencial.

Em seguida, o óleo essencial foi emulsificado em água destilada com Tween 80 a 0,5% com auxílio de um aparelho sonicador. Três soluções de concentrações diferentes do OEG foram preparadas, nas doses de 25 mg/Kg (G25), 50 mg/Kg (G50) e 100 mg/Kg (G100).

- **Tetracloroeto de carbono (CCl<sub>4</sub>):**

Tetracloroeto de carbono (Proquímicos) foi diluído em óleo de oliva à uma concentração final de 50%. A mistura foi administrada via intraperitoneal em um volume de 0,5 mL/Kg.

#### **3.3. ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO OEG:**

- **Procedimento experimental:**

Os animais (camundongos) foram divididos em nove grupos diferentes, com oito animais cada: grupo controle (C), diazepam (D), escopolamina (E), gengibre 25 (G25), gengibre 50 (G50), gengibre 100 (G100), gengibre 25 + escopolamina (G25/E), gengibre 50 + escopolamina (G50/E) e gengibre 100 + escopolamina (G100/E).

O protocolo experimental consistiu em tratar os animais durante oito dias consecutivos, obedecendo sempre o mesmo horário e padrão de administração (Tabela 3.3.1). No sétimo dia de tratamento, os camundongos dos grupos C, D, G25, G50 e G100 foram submetidos ao teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE), seguido pelos testes do Campo Aberto (CA) e *Rota Rod* (RR). No oitavo dia de tratamento, os animais dos grupos C, E, G25, G50, G100, G25/E, G50/E e G100/E foram submetidos ao teste da Esquiva-Passiva (EP), o qual foi repetido no dia seguinte, desta vez, na ausência das drogas. Para

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

efeito de comparação, o protocolo experimental foi realizado administrando-se as drogas (veículo e OEG) via intraperitoneal (i.p.) e oral (v.o.). Todos os testes comportamentais foram realizados sempre no horário de 12:30 às 17:30 horas, em uma sala fechada de temperatura constante ( $23 \pm 1^\circ \text{C}$ ) e iluminação de pouca intensidade (lâmpada vermelha de 15V).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

**Tabela 3.3.1.** Padrão de administração das drogas ao longo dos oito dias de tratamento.

<b>GRUPOS</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D5</b>	<b>D6</b>	<b>D7</b>
<b>C</b>	Veíc.						
<b>D</b>	Veíc.	Veíc.	Veíc.	Veíc.	Veíc.	Veíc.	Dzp
<b>E</b>	Veíc.						
<b>G25</b>	OEG						
<b>G50</b>	OEG						
<b>G100</b>	OEG						
<b>G25/E</b>	OEG						
<b>G50/E</b>	OEG						
<b>G100/E</b>	OEG						

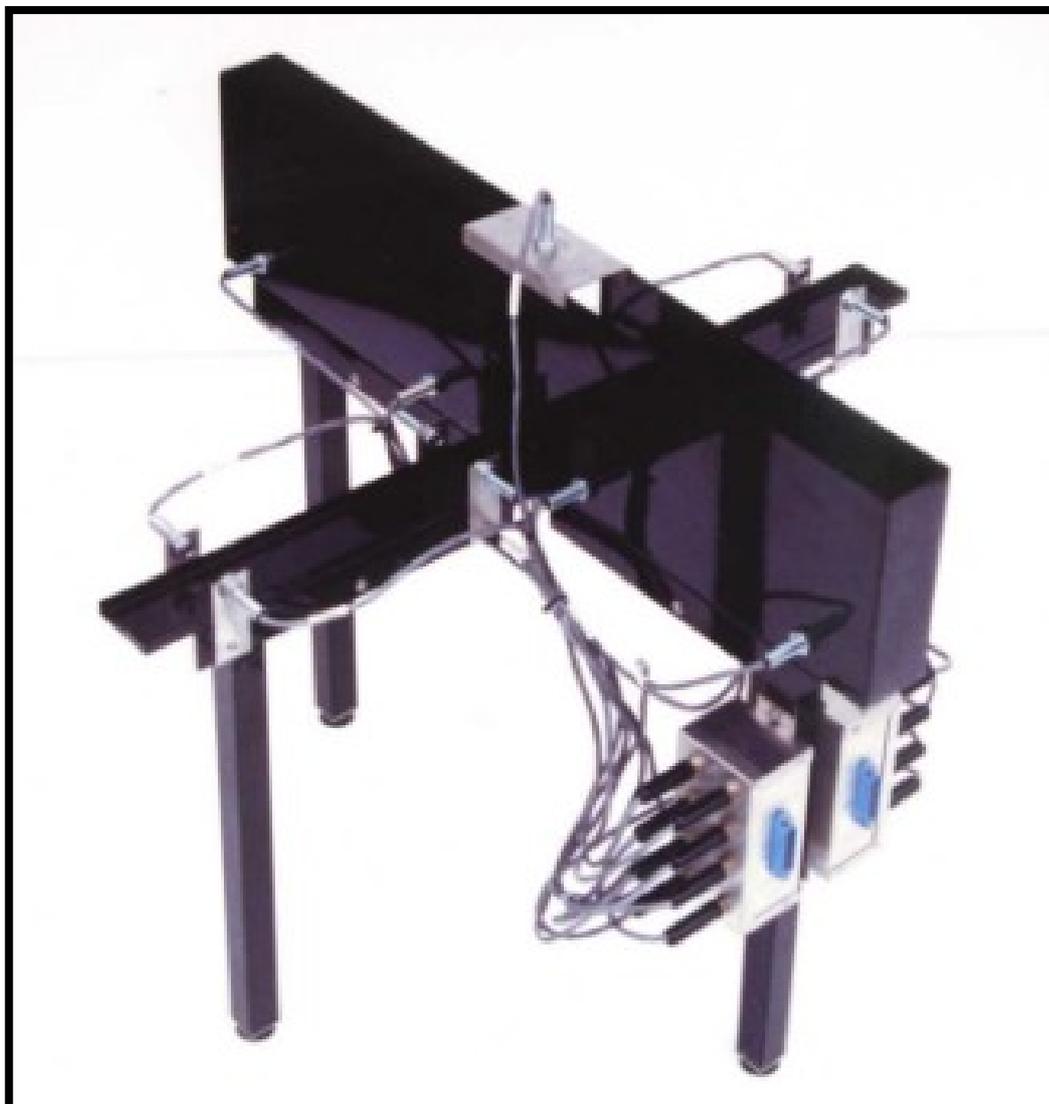
Legenda: Veíc. (veículo – Tween 80, 0,5%, i.p. ou v.o.), Dzp. (diazepam 1,0 mg/Kg, i.p.), OEG (óleo essencial de Zingiber officinalis, i.p. ou v.o.), Esc. (escopolamina 0,5 mg/Kg i.p.; quando associada ao OEG, sua administração foi realizada 30min após a do óleo essencial).

- **Teste do labirinto em cruz elevado (avaliação da atividade ansiolítica):**

O labirinto em cruz elevado (LCE) para camundongos (Lister, 1987) é um aparelho constituído por dois braços abertos (30 x 5 cm) e dois braços fechados (30 x 5 x 25 cm), unidos entre si por uma plataforma central (5 x 5cm), formando uma cruz, a qual encontrava-se elevada a 45cm do solo. As paredes do labirinto foram confeccionadas em acrílico transparente, e o piso, confeccionado em acrílico preto (Figura 3.3.1.).

Decorrido o tempo de administração das drogas (30 min para a administração i.p. ou 1 h para a administração v.o.), cada animal foi colocado na plataforma central do labirinto com o focinho voltado para um dos braços fechados, e seu comportamento observado por 5 minutos. Neste teste foram observados os seguintes parâmetros de comportamento: o número de entradas do animal nos braços abertos (NEBA) e o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA). O modelo utilizou o diazepam (1,0 mg/Kg, i.p.) como droga padrão para a ação ansiolítica.

**Figura 3.3.1.** Labirinto em Cruz Elevado (LCE).



Aparelho utilizado para avaliar a atividade ansiolítica de drogas. O modelo do LCE é bastante utilizado para o estudo de fármacos com ação do tipo benzodiazepínica.

Fonte: <http://www.colinst.com>

- **Teste do campo aberto (avaliação da atividade locomotora):**

O aparelho do campo aberto (CA) (Figura 3.3.2.) consistiu em uma arena de formato quadrado, com as paredes confeccionadas em acrílico transparente (30 x 30 x 15 cm) e piso em acrílico preto, dividido em nove quadrantes iguais (Archer, 1973).

Após o teste o LCE, cada camundongo foi colocado com as quatro patas no centro da arena do campo aberto, e o seu comportamento foi observado por cinco minutos. Os parâmetros comportamentais observados neste teste foram: o número de cruzamentos (NC); o número de rearing (NR), postura na qual o animal ficava na posição vertical, apoiado somente pelas patas traseiras, e o número de grooming (NG), ato de auto-limpeza do animal. Para o registro do NC, foram contados todos os quadrantes cruzados pelo animal, quando este se encontrava com as quatro patas dentro do mesmo quadrante.

**Figura 3.3.2.** Campo Aberto (CA).

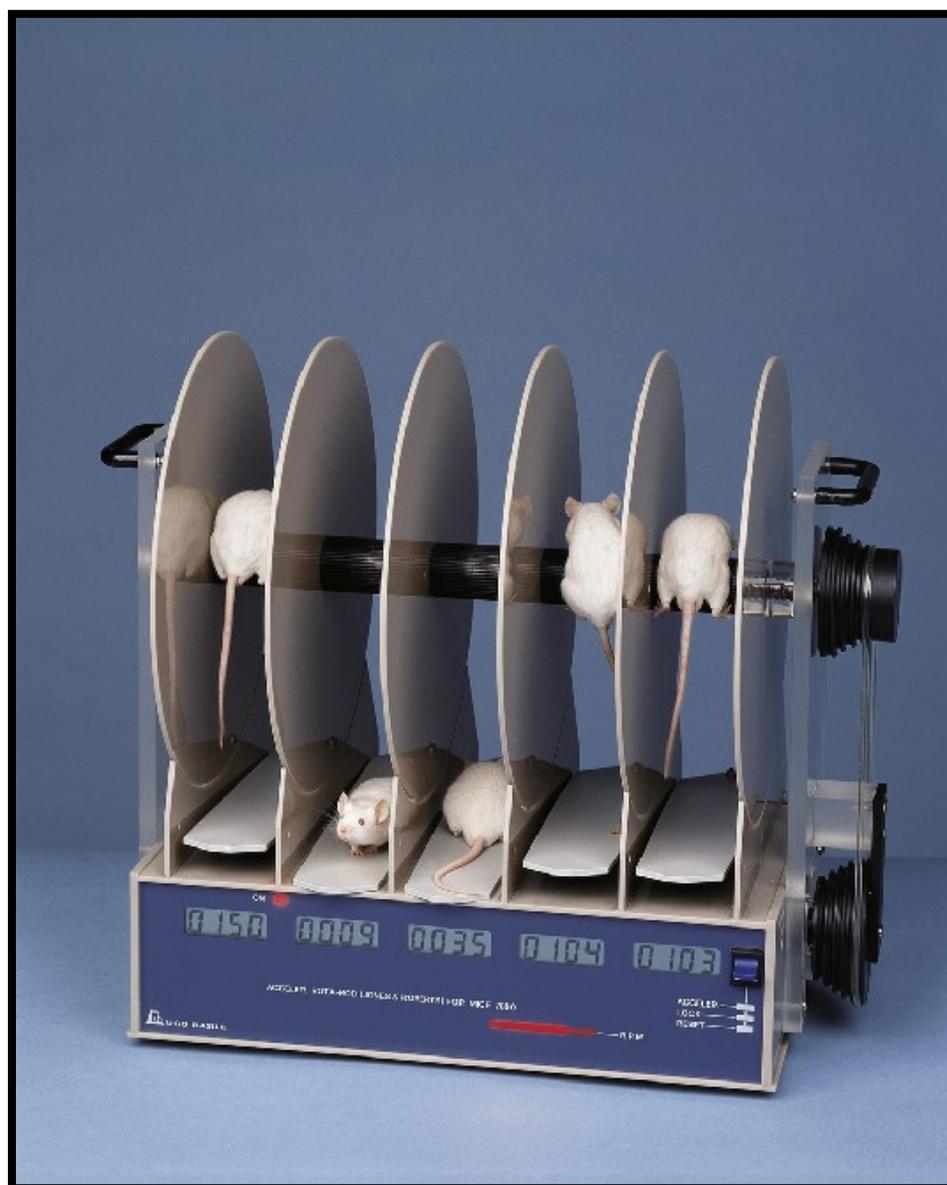


Aparelho utilizado para o estudo da ação de drogas sobre a atividade locomotora espontânea (ALE). A avaliação é feita mediante a observação de três parâmetros: o número de cruzamentos (NC), o número de rearing (NR) e o número de grooming (NG), durante 5 min.

- **Teste do *Rota rod* (avaliação da coordenação motora):**

No teste do *Rota rod*, cada camundongo foi colocado com as quatro patas sobre uma barra giratória de 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso (Figura 3.3.3.), a uma rotação de 12rpm, durante 1 minuto. Para cada animal, foram registrados os seguintes parâmetros comportamentais: o número de quedas (NQ) sofridas (sendo o limite máximo de 3 quedas para cada animal) e o tempo de permanência (TP) na barra giratória (Dunham & Myia, 1957). O teste do RR foi realizado em sequência ao teste do CA.

Figura 3.3.3. Rota rod (RR).



Aparelho utilizado para o estudo da ação de drogas sobre a coordenação motora. A avaliação desta ação é feita mediante a observação de dois parâmetros: o tempo de permanência (TP) do animal sobre a barra giratória e o número de quedas (NQ) sofridas, durante 1 min.

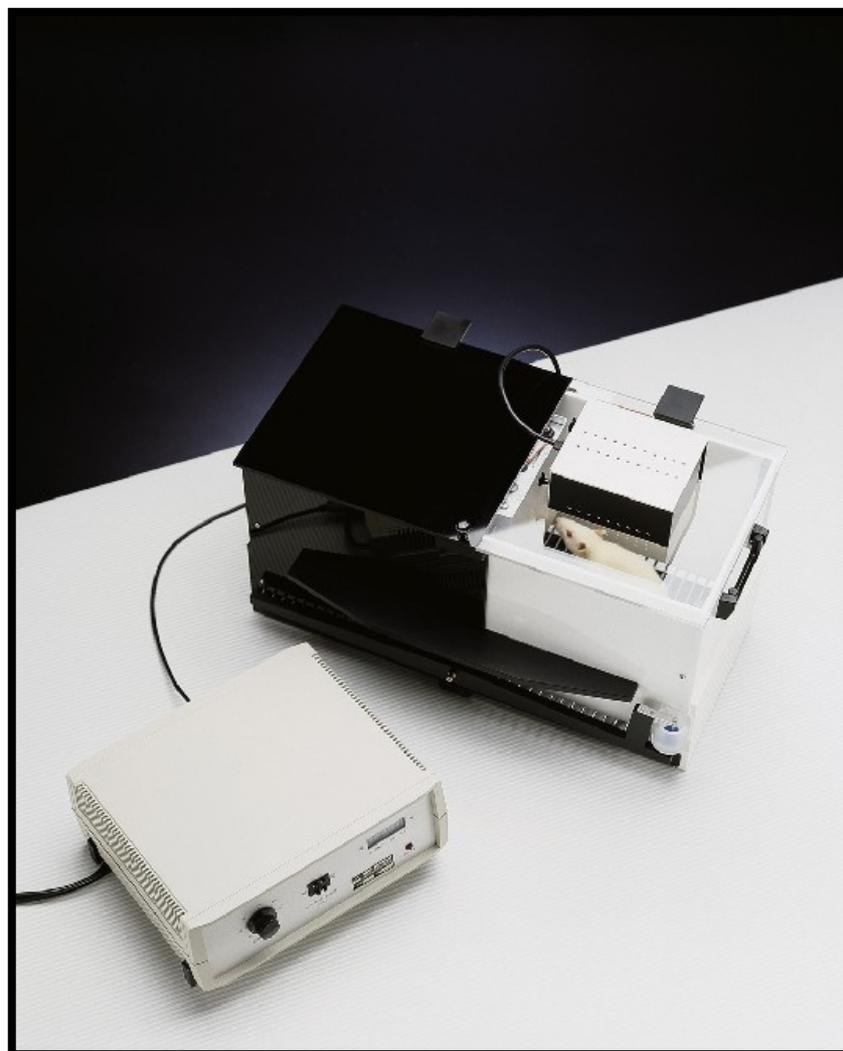
Fonte: <http://www.ugobasile.com>

- **Teste da esquiva-passiva (avaliação da memória recente e tardia):**

O aparelho da esquiva-passiva consistiu em uma caixa de acrílico (48 x 22 x 22 cm), dividida em dois compartimentos (um claro, iluminado por uma lâmpada e um compartimento escuro, com piso eletrificado), separados por uma porta (Figura 3.3.4.).

O protocolo foi realizado de acordo com Imanishi et al (1996). Após o tratamento com as drogas (Tabela 3.3.1.), cada animal foi colocado no equipamento (desligado) durante 1 min para habituação. Decorrido este tempo, o animal era retirado e após 30 segundos, recolocado no compartimento claro do aparelho (desta vez, ligado) para iniciar a fase de treino. Ao passar do compartimento claro para o escuro, o animal recebia um choque de 1,0 mA de intensidade, durante 1 segundo, e era retirado do aparelho logo em seguida. Após 15 minutos, o procedimento era repetido para registrar o tempo que o animal levava para entrar no compartimento escuro do aparelho (latência) e receber o choque novamente. Esta fase avaliava o aprendizado do camundongo (esquiva 15 min). Decorridas 24 h, o procedimento era realizado mais uma vez para avaliar a memória do animal (esquiva 24 h). O tempo limite de permanência do camundongo no compartimento claro era de 300 seg. O modelo utilizou escopolamina (0,5 mg/Kg, i.p.) como padrão para indução de amnésia.

**Figura 3.3.4.** Esquiva-passiva (EP).



Aparelho utilizado para o estudo de drogas com possíveis ações sobre o aprendizado e a memória. O equipamento possui um compartimento claro, iluminado por uma lâmpada, e outro compartimento escuro, com piso eletrificado, separado por uma porta. O modelo fundamenta-se no uso de um estímulo aversivo (choque elétrico) para que o processo de formação e retenção da memória ocorra.

Fonte: <http://www.ugobasile.com>

- **Teste dos tremores induzidos por oxotremorina (avaliação dos efeitos colinérgicos):**

O experimento foi realizado segundo a técnica descrita por Fukuzaki et al. (2000): camundongos Swiss foram divididos em quatro grupos, tratados com veículo (grupo C), atropina 10 mg/Kg (grupo A/O), OEG 50 mg/Kg (G50/O) e OEG 100 mg/Kg (G100/O). Todas as drogas foram administradas via i.p. Decorridos 30 min da administração das drogas, cada animal recebeu uma injeção de oxotremorina (0,5 mg/Kg, i.p.) e teve seu comportamento avaliado 10, 20 e 30 min após a administração da oxotremorina. A intensidade dos tremores apresentados pelos animais foi avaliada de acordo com uma escala descrita por Coward et al. (1977):

- 0- Ausência de tremores;
- 1- Tremores fracos e isolados;
- 2- Tremores moderados e pouco persistentes;
- 3- Tremores intensos e persistentes.

#### **3.4. ESTUDO DOS EFEITOS NEUROQUÍMICOS DO OEG:**

- **Método da cromatografia líquida de alta performance (CLAE):**

Para a determinação dos níveis de monoaminas e seus metabólitos, foi utilizado o aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE (Figura 3.4.1.). Na cromatografia líquida clássica, um adsorvente (alumina ou sílica) é empacotado em uma coluna, e eluído por um líquido ideal (fase móvel). Uma determinada mistura a ser separada é então introduzida na coluna, a qual é carregada através da mesma por um líquido eluente. Caso um composto presente na mistura (soluto) seja adsorvido fracamente pela superfície da fase sólida estacionária, este atravessará a coluna mais rapidamente que um outro soluto que seja mais fortemente adsorvido. A separação dos solutos, então, torna-se possível caso existam diferenças na adsorção pelo sólido.

Os detectores eletroquímicos medem a condutância do eluente, ou a corrente associada com a oxidação ou redução dos solutos. Para que a detecção ocorra, faz-se necessário que, no primeiro caso, os solutos sejam iônicos, e, no segundo caso, os solutos devem ter a característica de serem relativamente fáceis de sofrerem oxidação ou redução. Os detectores eletroquímicos são também chamados de detectores amperimétricos ou coulométricos, uma vez que medem a corrente associada com a oxidação ou redução de solutos. No presente estudo, foi utilizado o tipo amperométrico, o qual reage com uma quantidade muito menor de soluto (em torno de 1%). Todas as técnicas eletroquímicas envolvem a aplicação de um potencial para um eletrodo (geralmente de carbono vítreo), oxidação da substância

que está sendo estudada, próxima à superfície do eletrodo, seguindo a amplificação e medida da corrente produzida. As catecolaminas (monoaminas e metabólitos) sofrem oxidação nos grupos de anel hidroxil, com conseqüente produção de um derivado ortoquinônico, com liberação de dois elétrons.

- **Procedimento experimental:**

Após a realização do último experimento (esquiva 24h), os animais dos grupos C e G100, tratados via i.p., foram sacrificados por deslocamento cervical e decapitados com uma tesoura cirúrgica. Seus cérebros foram removidos e dissecados rapidamente sob gelo para retirada do hipocampo (H) e corpo estriado (CE), os quais foram armazenados em papel-alumínio e mantidos a uma temperatura de 70° C abaixo de zero para posterior análise do conteúdo de monoaminas (noradrenalina, dopamina e serotonina) e seus metabólitos (HVA, DOPAC e 5-HIAA).

O H e CE foram utilizados para preparar homogenatos a 20% e 10% respectivamente. Os tecidos cerebrais foram sonicados em ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) por 30 seg e centrifugados em seguida por 15min em uma centrífuga refrigerada (4° C) a 15.000 rpm. Uma alíquota de 20 µL do sobrenadante foi, então, injetada no equipamento de HPLC para análise química.

Para a análise das monoaminas, uma coluna CLC-ODS(M) com comprimento de 25 cm, calibre 4,6 mm e diâmetro de partícula de 3µm (Shimadzu, Japão) foi utilizada. A fase móvel foi composta por tampão de ácido cítrico 0,163M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

sódico, 0,69M (SOS), como reagente formador do par iônico; acetonitrila 4% v/v e tetrahidrofurano 1,7% v/v.

**Figura 3.4.1.** Aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE.



Aparelho utilizado na análise do conteúdo das monoaminas e seus metabólitos em hipocampo e corpo estriado de camundongos tratados diariamente com OEG (100 mg/Kg, i.p).

Fonte: <http://www.shimadzu.com>

- **Soluções reagentes:**

**FASE MÓVEL:** A fase móvel foi preparada pesando-se 17,75 g de ácido cítrico (Grupo Química, Rio de Janeiro, Brasil), o qual foi dissolvido com água milli-Q para um volume de 400 mL. A solução preparada teve seu pH ajustado para um valor igual a 3,0 com hidróxido de sódio 12,5 M (Reagen, Rio de Janeiro, Brasil). A esta solução foram adicionados 75mg de SOS (ácido octanosulfônico sódico - Sigma Chemical, Co, USA) e o volume acrescido para 471,5 mL com água milli-Q. A solução preparada foi então filtrada e degaseificada e acrescidos 20mL de acetonitrila (Carlo Erba Reagenti, MI, Itália) e 10 mL de tetrahydrofurano (Sigma Chemical, Co, USA), completando um volume final de 500 mL.

**ÁCIDO PERCLÓRICO 0,1M:** A 1,8 mL de ácido perclórico (Sigma Chemical, Co, USA) foi adicionada água destilada em quantidade suficiente para 300 mL. O procedimento de diluição foi realizado com auxílio de um balão volumétrico.

**PADRÕES:** Os padrões foram preparados em uma concentração final de 4ng de DA, NA, 5-HT, DOPAC, HVA e 5-HIAA (Sigma Chemical, Co, USA). A partir da altura ou área dos picos destes padrões, as amostras foram calculadas no programa Microsoft Excel em um computador PC, e os resultados expressos em ng/g de tecido.

#### **3.5. ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS DO OEG:**

- **Avaliação dos efeitos gerais (teste hipocrático) e da toxicidade do OEG:**

Para a avaliação da toxicidade do OEG foram utilizados camundongos Swiss machos, com peso médio de 25 g. Os animais foram divididos em quatro grupos de seis animais cada. Cada grupo recebeu o óleo essencial nas doses de 200, 400 e 800 mg/Kg, i.p., em um volume de 10 mL/Kg. O grupo controle recebeu igual volume de veículo (Tween 80 à 0,5 %). Neste experimento (Teste Hipocrático) foram avaliados os seguintes parâmetros: motilidade, respiração, contorção, ataxia, tremor, convulsão, postura, ereção da cauda, catalepsia, estereotipia, ptose palpebral, piloereção, cianose, salivação, lacrimejamento, diarreia, analgesia, anestesia, sudorese, sedação, coma e morte. Os animais foram observados 5, 10, 15, 30, 60, 120 minutos e em intervalos de 24, 48 e 72 horas após a administração do OEG.

A avaliação da toxicidade do OEG também foi realizada ao longo do tratamento diário (8 dias) dos animais com o óleo essencial, nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o. e i.p.

- **Avaliação do efeito do OEG sobre a função hepática de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>):**

A realização do experimento foi feita segundo modificações da metodologia empregada por Janakat et al. (2003): ratos Wistar machos (150 g) foram divididos em cinco grupos contendo seis animais cada: grupo controle (C), tetracloreto de carbono (T), OEG 50 mg/Kg (G50), OEG 100 mg/Kg (G100). E OEG 200 mg/Kg (G20). Os animais do grupo controle receberam veículo (Tween 80 à 0,5% em água destilada, i.p.) e, passados 30min, receberam óleo de oliva via i.p. na proporção de 0,5mL/Kg. Os animais dos grupos T, G50, G100 e G200 receberam, respectivamente, veículo (Tween 80 à 0,5% em água destilada, i.p.) e OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.). Meia hora após a administração das drogas, cada animal recebeu uma injeção intraperitoneal de CCL<sub>4</sub> (50% em óleo de oliva), na dose de 0,5mL/Kg.

Todos os animais foram mantidos em jejum e submetidos à coleta de sangue através do plexo orbital 24 h após a administração das drogas. As amostras de sangue foram submetidas à centrifugação (3000 r.p.m. durante 10 min) para separação do soro e posterior análise bioquímica (atividade das enzimas AST, ALT, FA e concentração plasmática de bilirrubina). Imediatamente após a coleta de sangue, os animais foram sacrificados, seus fígados removidos e conservados em solução de formaldeído à 10% para posterior análise histopatológica.

- **Determinação da concentração de bilirrubina:**

O método empregado neste trabalho encontra-se descrito em <http://www.labtest.com.br>. A bilirrubina é dosada por diazotização e formação de azobilirrubina vermelha com absorção máxima em 525 nm. A bilirrubina direta (diglicuronídeo) é dosada em meio aquoso, enquanto que a total (direta e indireta) é dosada por ação de potente solubilizador de ação catalisadora.

Adicionou-se uma gota do nitrito de sódio a 1,5 ml do Ácido Sulfanílico. A mistura preparada deve ser utilizada no dia da preparação. Em seguida, foram tomados 3 tubos de ensaio e o procedimento foi realizado como mostrado a seguir:

	<b>Branco</b>	<b>Direta</b>	<b>Total</b>
<b>Água destilada</b>	1,8 mL	1,8 mL	–
<b>Acelerador</b>	–	–	1,8 mL
<b>Ácido sulfanílico</b>	0,15 mL	–	–
<b>Diazo reagente</b>	–	0,15 mL	0,15 mL
<b>Soro ou plasma</b>	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL

Após a devida agitação das misturas, as mesmas foram deixadas em repouso durante 5 minutos. Em seguida, foram determinadas as absorbâncias das bilirrubinas direta e total em 525 nm ou filtro verde (500 a 540 nm), zerando o aparelho com o branco. A cor é estável por 30 minutos. Os valores foram expressos em mg/dL para as bilirrubinas direta e total utilizando o fator de calibração obtido

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

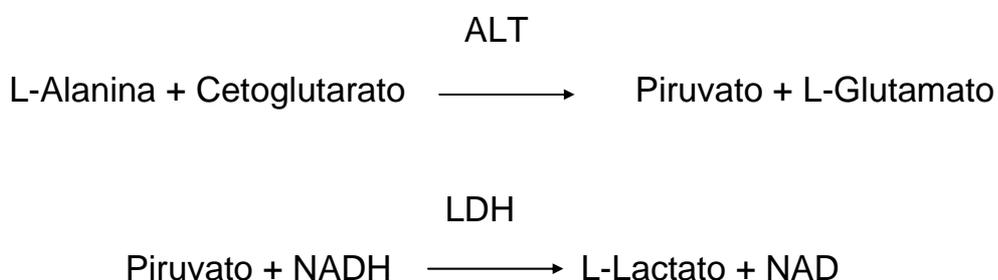
com o Padrão de Bilirrubina. A bilirrubina indireta é obtida pela diferença das bilirrubinas total e direta.

Na técnica descrita, a reação é linear até 45 mg/dL. Para valores maiores, a amostra deve ser diluída com NaCl 150 mmol/l, (0,85%) e repetir a determinação. O resultado obtido deverá ser multiplicado pelo fator de diluição. A amostra deverá ser diluída de tal modo que o valor encontrado se situe 10 e 30 mg/dL. Soros fortemente hemolisados podem fornecer valores falsamente diminuídos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

- **Determinação da atividade das enzimas alanina transaminase (ALT/TGP) e aspartato transaminase (AST/TGO):**

O método empregado encontra-se descrito em <http://www.labtest.com.br>. A determinação da alanina transaminase ou transaminase glutâmico pirúvica (ALT/TGP) em amostras de sangue é útil na avaliação da função hepática, sendo mais sensível na detecção de lesão hepatocelular que de obstrução biliar. A ALT catalisa a transferência de grupos amina da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e piruvato. Este é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD<sup>+</sup>. A conseqüente redução da absorbância em 340 ou 365 nm, monitorizada espectrofotometricamente, é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra.



Comprimento de onda de 340 ou 365 nm; cubeta termostaticada a 30° C com 10 mm de espessura de solução; banda de passagem de 8 nm ou menos e luz espúria menor que 0,1%. A 1,0 ml do reagente de trabalho, adicionou-se 0,1 ml de amostra. A mistura foi homogeneizada, transferida para uma cubeta termostaticada a 30° C e deixada em repouso durante 1min. Em seguida foi feita uma leitura inicial, a qual foi repetida após 1, 2 e 3 minutos. A média das

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

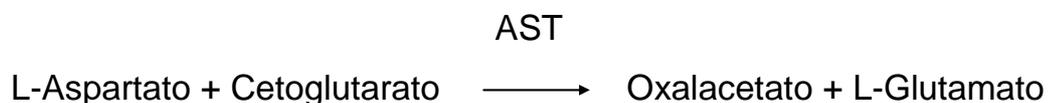
diferenças de absorvância por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$ ) foi determinada, e utilizada para calcular o resultado:

$$\text{ALT/TGP (U/L) } 340 \text{ nm} = \Delta A/\text{minuto} \times 1746$$

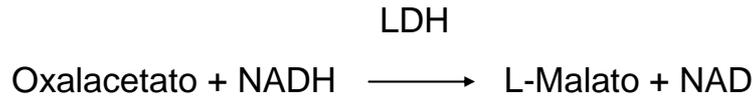
$$\text{ALT/TGP (U/L) } 365 \text{ nm} = \Delta A/\text{minuto} \times 3333$$

Quando o  $\Delta A/\text{minuto}$  for maior que 0,220 em 340 nm ou maior que 0,100 em 365 nm, amostra deve ser diluída com NaCl 150 mmol/l e repetida a determinação. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Amostras fortemente lipêmicas e ictericas aumentam acentuadamente a absorvância em 340 nm. Quando a atividade enzimática destas amostras estiver muito aumentada, ocorre consumo bastante rápido do substrato sem haver diminuição significativa na absorvância. Nestes casos, quando a diferença de absorvância por minuto for muito pequena, deve-se repetir a determinação utilizando a amostra diluída 1:2 com NaCl 0,85%, multiplicando o resultado por 2. A hemólise prejudica o teste devido a elevada concentração de ALT nas hemácias, fornecendo valores falsamente elevados.

A determinação da aspartato transaminase ou transaminase glutâmico oxalacética (AST/GOT) em amostras de sangue é útil na avaliação da função hepática. A AST catalisa a transferência de grupos amina da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e oxalacetato. Este é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD<sup>+</sup>. A conseqüente redução da absorvância em 340 ou 365 nm, monitorizada espectrofotometricamente, é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra.



### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**



Foi adicionado 0,1 ml de amostra a 1,0 ml do reagente de trabalho, homogeneizando-se adequadamente. A mistura foi transferida para uma cubeta termostaticada a 30° C e deixada em repouso durante 1 min. Em seguida foi feita uma leitura inicial, a qual foi repetida após 1, 2 e 3 minutos. A média das diferenças de absorbância por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$ ) foi determinada, e utilizada para calcular o resultado

$$\text{AST/TGO (U/L) } 340 \text{ nm} = \Delta A/\text{minuto} \times 1746$$

$$\text{AST/TGO (U/L) } 365 \text{ nm} = \Delta A/\text{minuto} \times 3333$$

Quando o  $\Delta A/\text{minuto}$  for maior que 0,220 em 340 nm ou maior que 0,1000 em 365 nm, a amostra deve ser diluída com NaCl 150 mmol/l e repetida a determinação. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Amostras fortemente lipêmicas e ictericas aumentam acentuadamente a absorbância em 340 nm. Quando a atividade enzimática destas amostras estiver muito aumentada, ocorre consumo bastante rápido do substrato sem haver diminuição significativa na absorbância. Nestes casos, quando a diferença de absorbância por minuto for muito pequena, deve-se repetir a determinação utilizando a amostra diluída 1:2 com NaCl 0,85%, multiplicando o resultado por 2. A hemólise prejudica o teste devido a elevada concentração de AST nas hemácias, fornecendo valores falsamente elevados.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

- **Determinação da atividade da enzima fosfatase alcalina (FA):**

Método descrito em <http://www.labtest.com.br>. A determinação da fosfatase alcalina em amostras de sangue é útil na avaliação de doenças hepáticas e ósseas. A fosfatase alcalina do soro hidrolisa a timolftaleína monofosfato liberando timolftaleína, que tem cor azul em meio alcalino. A cor formada, diretamente proporcional a atividade enzimática, é medida em 590 nm. O produto final da reação se constitui de uma mistura de cor azul e a cor própria do substrato.

	<b>Branco</b>	<b>Teste</b>	<b>Padrão</b>
<b>Substrato</b>	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml
<b>Tampão</b>	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
<b>Padrão</b>	–	–	0,05 ml

Os tubos contendo as misturas foram colocados em banho-maria a 37° C 2 minutos. Em seguida foram adicionados 0,05 ml de amostra nos tubos teste. As misturas foram incubadas em banho-maria a 37° C por 10 minutos. Ao final dos 10min, foram adicionados 2,0 mL do reagente de cor nº 3 a todos os tubos, os quais foram devidamente homogeneizados. As absorbâncias do controle, teste e padrão foram determinadas em espectrofotômetro a 590 nm ou filtro laranja (580 a 590 nm), acertando o zero com água destilada.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

$$\text{Fosfatase alcalina(U/l)} = \frac{\text{Abs do teste}}{\text{Abs do padrão}} \times 45$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, o método do fator pode ser empregado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{45}{\text{Abs do padrão}}$$

Unidade de medida U/l: Uma unidade é igual a quantidade de enzima que libera por hidrólise 1 micromol de timolftaleína por minuto, por litro de soro nas condições do teste.

A reação é linear, com cinética de ordem zero, até 500 U/l. Quando a absorbância do teste for maior que 0,8, diluir o produto corado e o branco com o Reagente de Cor, fazer nova leitura e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Se após a diluição for obtido um valor igual ou maior que 500 U/l, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/l, realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Diluir a amostra de tal modo que o valor encontrado se situe entre 40 e 150 U/l.

Interferentes: Citrato, fluoreto, oxalato e EDTA são inibidores da atividade da fosfatase alcalina porque formam complexos com o magnésio. Elevações nos níveis de fosfatase alcalina podem ocorrer 2 a 4 horas após refeições gordurosas. Valores de bilirrubina até 32 mg/dl não interferem na reação. Valores de triglicérides maiores que 1800 mg/dl produzem resultados falsamente elevados. Estrógenos em

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

altas doses, contraceptivos orais, agentes hipoglicemiantes, fenotiazina, eritromicina encontram-se entre as drogas que podem provocar aumento dos níveis de fosfatase alcalina.

#### **3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM e analisados através da ANOVA, seguido do teste Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Foram considerados estatisticamente significativos todos os valores que obtiveram  $p < 0,05$ .

### **4.1. ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO OEG:**

- **Teste do labirinto em cruz elevado (avaliação da atividade ansiolítica):**

O tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e o número de entradas nos braços abertos (NEBA) foram os parâmetros avaliados para o estudo da atividade ansiolítica do OEG, no modelo do LCE. O diazepam (1 mg/Kg, i.p.) foi utilizado como droga padrão, e como tal, foi capaz de reduzir a ansiedade dos animais, aumentando os valores de TPBA e NEBA (Tabelas 4.1.1. e 4.1.2.), de forma que os animais não só entravam mais vezes nos braços abertos do labirinto, como também ficavam lá por mais tempo.

O óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe(OEG), nas doses (25, 50 e 100 mg/Kg) e vias (oral e intraperitoneal) utilizadas, não apresentou efeito algum sobre os parâmetros estudados, quando comparado aos grupos C e D. Observou-se, entretanto, um pequeno aumento no TPBA no grupo G100, tratado com o OEG via i.p (Tabela 4.1.1.). O NEBA, no entanto, não sofreu alteração alguma neste grupo. Este comportamento reflete apenas uma tendência para uma possível atividade ansiolítica do OEG quando administrado i.p., na dose de 100 mg/Kg. Entretanto, os resultados obtidos não se equivalem aqueles apresentados pelo diazepam. Os demais grupos não apresentaram qualquer alteração comportamental (Tabelas 4.1.1. e 4.1.2.) para os parâmetros estudados.

## 4. RESULTADOS

**Tabela 4.1.1.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado - LCE.

GRUPOS	LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	
	TPBA (seg)	NEBA
<b>C</b>	121,00 ± 9,18 (26)	6,48 ± 0,43 (25)
<b>D</b>	163,31 ± 10,91 a (28)	11,08 ± 0,80 a (26)
<b>G25</b>	94,53 ± 6,34 b (15)	6,50 ± 0,29 b (16)
<b>G50</b>	84,38 ± 7,58 b (13)	6,08 ± 0,38 b (13)
<b>G100</b>	129,81 ± 11,45 b,c (16)	5,86 ± 0,44 b (16)

O tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e o número de entradas nos braços abertos (NEBA) foram os parâmetros estudados no modelo do LCE. Os resultados foram expressos em média ± EPM; o número de animais utilizados encontra-se entre parentesis. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b, c; quando comparado ao controle (C), diazepam (D) e OEG 50 mg/Kg (G50), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

**Tabela 4.1.2.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado - LCE.

GRUPOS	LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	
	TPBA (seg)	NEBA
<b>C</b>	129,31 ± 8,28 (13)	7,4 ± 0,46 (15)
<b>D</b>	184,21 ± 11,75 a (14)	11,9 ± 0,98 a (10)
<b>G25</b>	135,75 ± 10,62 b (12)	6,33 ± 0,47 b (12)
<b>G50</b>	119,42 ± 9,83 b (12)	6,67 ± 0,41 b (15)
<b>G100</b>	118,00 ± 10,50 b (11)	6,08 ± 0,37 b (13)

O tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e o número de entradas nos braços abertos (NEBA) foram os parâmetros estudados no modelo do LCE. Os resultados foram expressos em média ± EPM; o número de animais utilizados encontra-se entre parentesis. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b; quando comparado ao controle (C) e diazepam (D), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

- **Teste do campo aberto (avaliação da atividade locomotora):**

A administração do OEG durante sete dias provocou alterações significativas nos animais, quando estes foram submetidos ao teste do campo aberto (CA). Em relação ao parâmetro número de cruzamentos (NC), os grupos apresentaram os seguintes valores: C [49,61 ± 2,78 (26)], G25 [44,26 ± 2,38 (15)], G50 [35,40 ± 2,16 (15)] e G100 [30,77 ± 2,87 (18)], para a administração i.p., e C [61,00 ± 4,99 (14)], G25 [52,57 ± 3,37 (14)], G50 [49,84 ± 2,54 (13)] e G100 [41,91 ± 3,18 (12)], para a administração v.o. As figuras 4.1.1. e 4.1.4. mostram o efeito do OEG sobre o NC exibido pelos animais. De acordo com a figura 4.1.1., a administração i.p. do OEG diminuiu, de maneira dose-dependente, o NC dos animais em aproximadamente 37% no grupo G100, em relação ao grupo C. A administração oral do OEG não foi capaz de promover as mesmas alterações observadas nos grupos que receberam as drogas via i.p. O grupo que recebeu o OEG na dose de 100 mg/Kg, v.o., apresentou redução do NC (31%) em relação ao grupo C (Figura 4.1.4.), não sendo observado efeito dose-resposta entre os outros grupos tratados com o óleo essencial via oral.

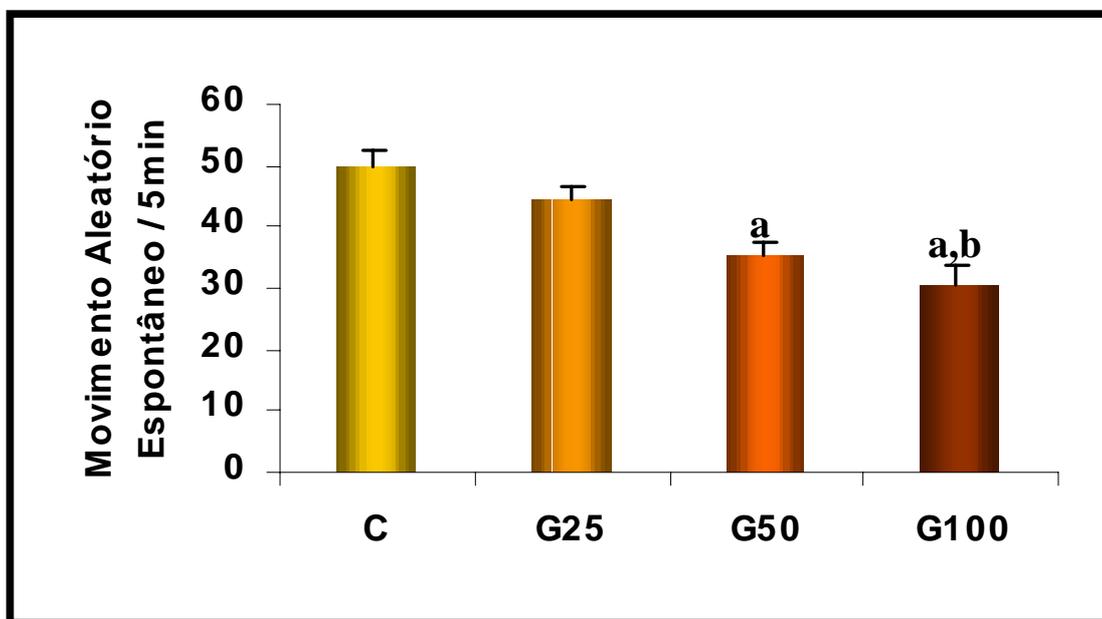
O número de grooming (NG) foi outro parâmetro que apresentou alterações frente a administração do OEG, via intraperitoneal e oral, respectivamente: C [4,10 ± 0,29 (28)], G25 [3,07 ± 0,45 (14)], G50 [1,78 ± 0,26 (14)], G100 [1,50 ± 0,27 (18)] e C [2,78 ± 0,47 (14)], G25 [3,92 ± 0,50 (14)], G50 [3,30 ± 0,62 (13)], G100 [2,00 ± 0,22 (13)]. Através da figura 4.1.2. observa-se que o OEG, nas doses de 50 e 100mg/Kg, i.p., foi capaz de reduzir significativamente o NG, e tal redução parece ser obtida em seu efeito máximo com a dose de 100 mg/Kg (redução de aproximadamente 63%). A administração oral do

OEG na dose de 100 mg/Kg provocou uma redução do NG de aproximadamente 28%, em relação ao grupo C.

O número de rearing (NR) apresentou também alterações significativas nos grupos que receberam OEG via intraperitoneal e oral: C [ $13,33 \pm 2,44$  (27)], G25 [ $18,21 \pm 2,03$  (14)], G50 [ $5,53 \pm 1,81$  (13)], G100 [ $3,22 \pm 0,86$  (18)], para a administração i.p e C [ $8,92 \pm 1,27$  (13)], G25 [ $12,58 \pm 2,96$  (12)], G50 [ $4,33 \pm 0,99$  (12)], G100 [ $5,33 \pm 1,22$  (12)]. A figura 4.1.3. mostra que a administração i.p. do OEG promove uma redução no NR, da ordem de 75% para G100 e 58% para o grupo G50, ambos comparados ao grupo C. Não se observa, entretanto, diferença de efeito do ponto de vista estatístico entre as doses de 50 e 100 mg/Kg de OEG. Tal fato sugere que o efeito máximo (diminuição do NR) seja alcançado com a dose de 100 mg/Kg, quando administrado via i.p. A administração oral, por sua vez, apresenta efeitos farmacológicos semelhantes aqueles apresentados pelo OEG, quando administrado via intraperitoneal: as doses de 50 e 100 mg/Kg reduzem o NR em torno de 51% e 40%, respectivamente, quando comparado ao grupo C, não apresentando diferenças significativas entre si.

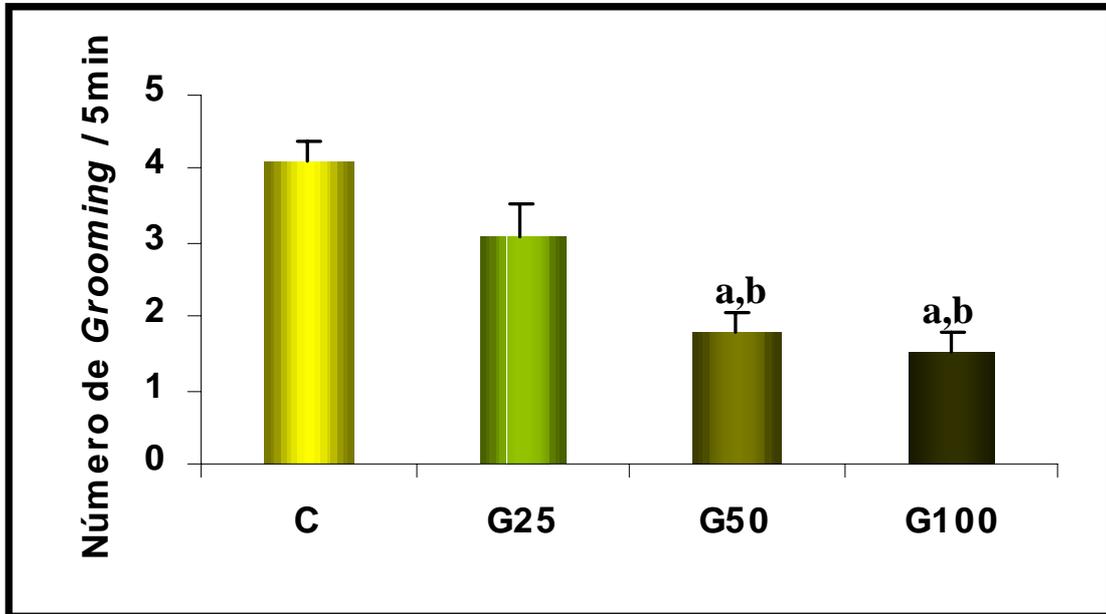
Os dados apresentados para os parâmetros movimento aleatório espontâneo, número de grooming e rearing corroboram para o fato de que a ação do OEG sobre a atividade locomotora de camundongos ocorre de maneira dose-dependente, sendo seu efeito máximo obtido com a dose de 100 mg/Kg, seja a administração i.p. ou v.o.

**Figura 4.1.1.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos de camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



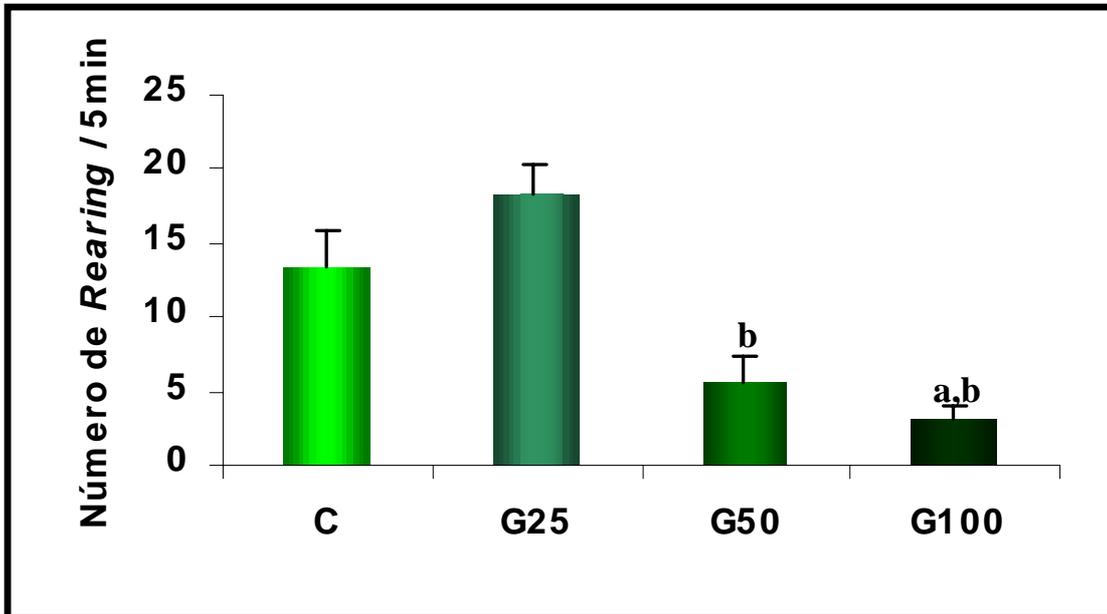
A atividade locomotora (número de cruzamentos) foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b; quando comparado ao controle (C) e OEG 25 mg/kg (G25), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

**Figura 4.1.2.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de grooming de camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



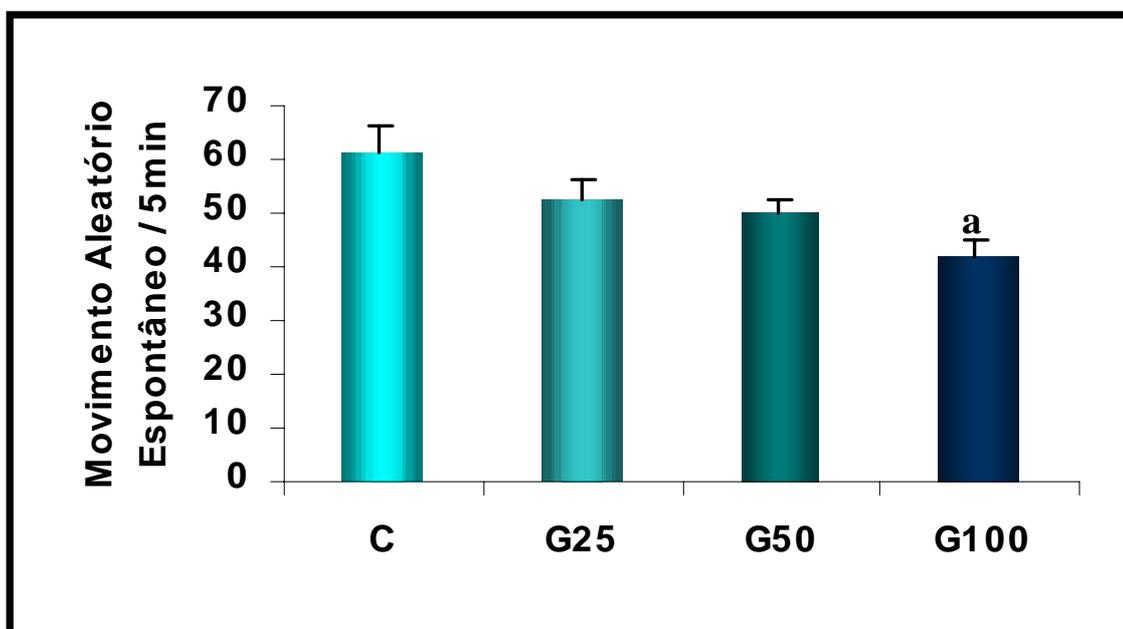
O número de grooming foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b; quando comparado ao controle (C) e OEG 25 mg/kg (G25), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

**Figura 4.1.3.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de rearing de camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



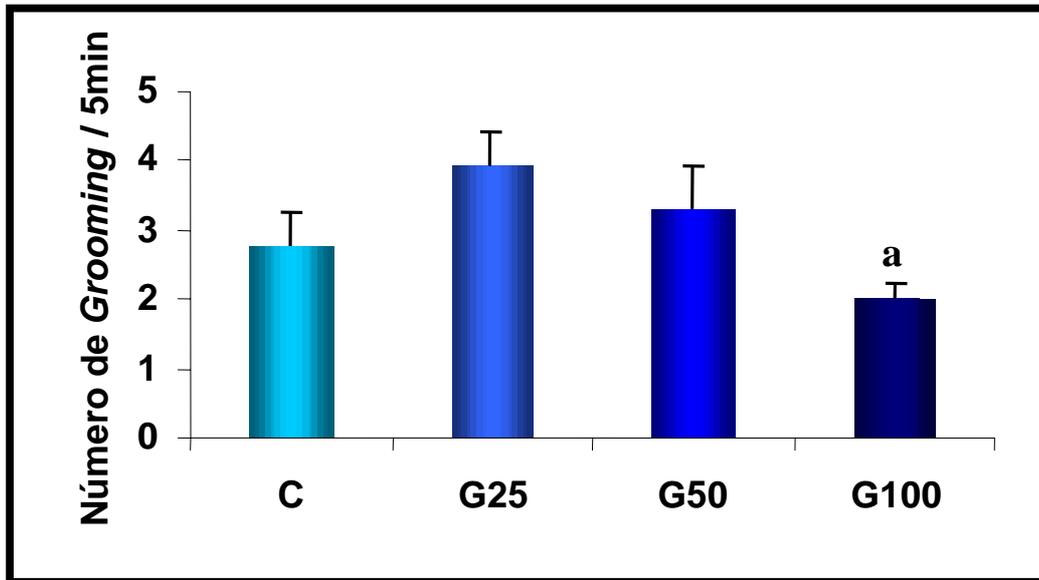
O número de rearing foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b; quando comparado ao controle (C) e OEG 25 mg/kg (G25), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

**Figura 4.1.4.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) sobre o número de cruzamentos de camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



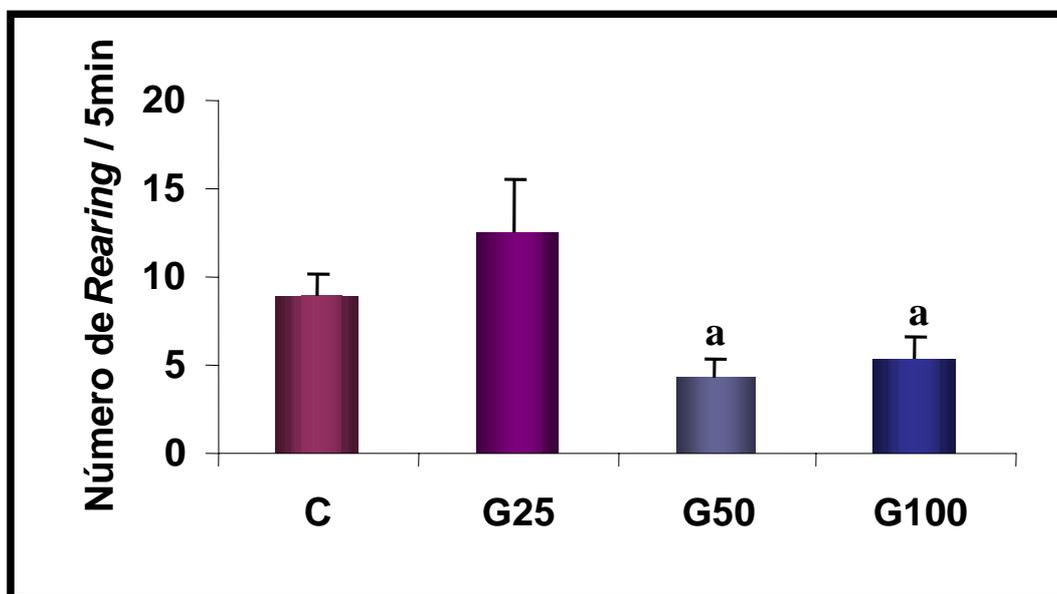
A atividade locomotora (número de cruzamentos) foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a; quando comparado ao controle (C)) para valores de  $p < 0,05$ .

**Figura 4.1.5.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) sobre o número de grooming de camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



O número de grooming foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a; quando comparado a OEG 25 mg/kg (G25), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

**Figura 4.1.6.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) sobre o número de rearing de camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



O número de rearing foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a; quando comparado a OEG 25 mg/kg (G25), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

- **Teste do *rota rod* (avaliação da coordenação motora):**

Os animais tratados por sete dias com o OEG, nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, via intraperitoneal ou oral, não apresentaram alteração alguma na coordenação motora (número de quedas - NQ e tempo de permanência - TP na barra giratória), quando comparados aos animais do grupo C (ver Tabelas 4.1.3. e 4.1.4.).

## 4. RESULTADOS

**Tabela 4.1.3.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste do *rota rod*.

GRUPOS	"ROTA ROD"	
	TP (seg)	NQ
<b>C</b>	44,12 ± 2,98 (25)	2,37 ± 0,17 (27)
<b>G25</b>	52,42 ± 2,97 (14)	2,20 ± 0,26 (15)
<b>G50</b>	52,15 ± 2,72 (13)	2,07 ± 0,30 (14)
<b>G100</b>	44,94 ± 3,93 (17)	2,11 ± 0,26 (17)

O tempo de permanência (TP) e o número de quedas (NQ) foram os parâmetros estudados. Os resultados foram expressos em média ± EPM. O número de animais utilizados encontra-se entre parentesis. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*.

**Tabela 4.1.4.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste do *rota rod*.

GRUPOS	"ROTA ROD"	
	TP (seg)	NQ
<b>C</b>	37,50 ± 4,06 (14)	2,56 ± 0,18 (16)
<b>G25</b>	41,84 ± 3,75 (13)	2,69 ± 0,17 (13)
<b>G50</b>	44,53 ± 3,24 (13)	2,26 ± 0,22 (15)
<b>G100</b>	34,75 ± 4,76 (12)	2,61 ± 0,21 (13)

O tempo de permanência (TP) e o número de quedas (NQ) foram os parâmetros estudados. Os resultados foram expressos em média ± EPM. O número de animais utilizados encontra-se entre parentesis. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*.

- **Teste da esQUIVA-passiva (avaliação do aprendizado e da memória):**

A avaliação dos efeitos do OEG sobre o aprendizado e memória foi realizada através do teste da esQUIVA-passiva (EP). Neste modelo, foi utilizado cloridrato de escopolamina (0,5 mg/Kg, i.p.) como droga padrão para efeito amnésico. O aprendizado (esQUIVA 15 min) e a memória (esQUIVA 24 h) foram os parâmetros avaliados neste teste. Para a esQUIVA 15 min, os resultados da administração i.p. foram os seguintes: C [257,65 ± 13,71 (31)], E [44,52 ± 5,21 (26)], G25 (270,88 ± 22,48 (9)), G25/E (52,98 ± 9,81 (14)), G50 (253,49 ± 23,22 (7)), G50/E (51,48 ± 6,40 (12)), G100 (167,20 ± 43,29 (9)) e G100/E [72,18 ± 21,18 (14)]. Através da figura 4.1.7. pode-se observar que a administração da escopolamina, sozinha ou associada ao OEG, causou dano ao aprendizado dos camundongos, o qual foi refletido no curto período de tempo que o animal levou para entrar no compartimento escuro do aparelho e receber o choque elétrico (latência). A escopolamina reduziu o tempo de latência do grupo E em aproximadamente 82%, comparado ao grupo C. Os valores de latência dos grupos E, G25/E, G50/E e G100/E não apresentam diferenças significativas entre si, de forma que o OEG, uma vez associado à escopolamina, não é capaz de reverter os efeitos amnésicos desta droga. Por outro lado, quando administrado sozinho, o OEG não produz alterações cognitivas nos animais, nas doses de 25 e 50 mg/Kg. A dose de 100 mg/Kg, entretanto, promoveu uma redução da latência, da ordem de 35% em relação ao grupo C, indicando que a administração diária (8dias) do OEG, na dose de 100 mg/Kg, via i.p., causou dano no aprendizado dos camundongos.

## **4. RESULTADOS**

---

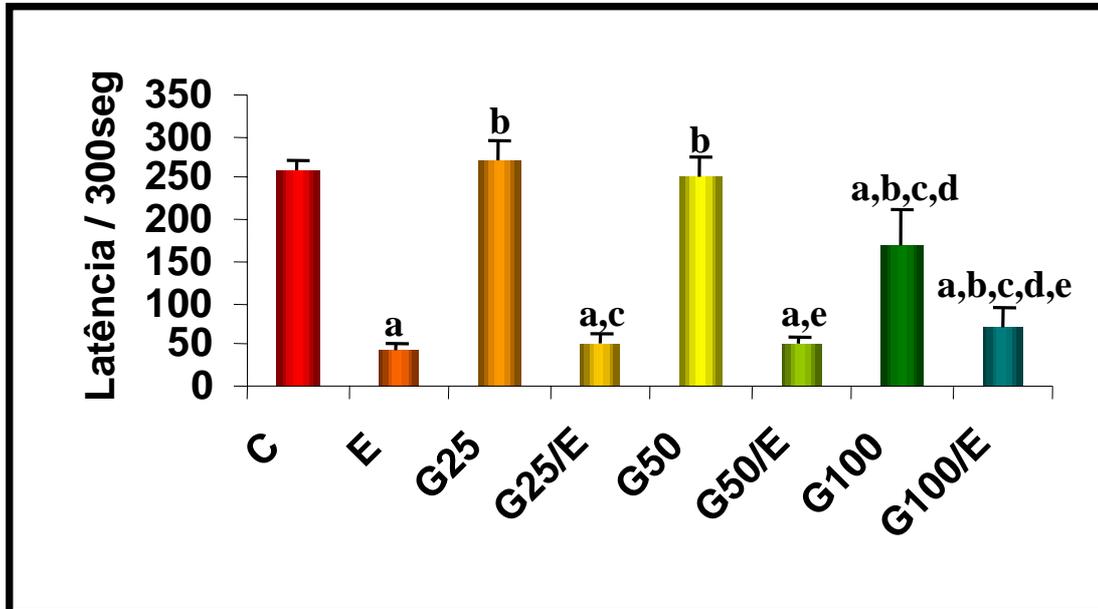
Os valores da esQUIVA 24 h, por sua vez, diferem bastante daqueles apresentados pelos mesmos grupos de animais tratados com OEG via i.p.: C [295,42 ± 3,71 (34)], E [102,44 ± 15,96 (24)], G25 [293,06 ± 6,94 (10)], G25/E [177,75 ± 30,89 (13)], G50 [300 ± 0,00 (7)], G50/E [187,39 ± 34,84 (12)], G100 [256,05 ± 37,91 (6)] e G100/E [65,18 ± 17,00 (14)]. Os valores mostram que, após 24 h, os animais tratados com escopolamina sozinha ou associada ao OEG apresentam melhora das funções cognitivas, o que pode ser observado pelo aumento nos valores das latências dos grupos (Figura 4.1.7.), quando comparados aos valores da esQUIVA 15 min. O grupo G100, 24 h após a administração da droga, ainda apresenta um certo dano cognitivo, o qual é mais acentuado quando o OEG é associado à escopolamina (grupo G100/E). A associação parece potencializar o efeito amnésico da escopolamina. Isto pode ser observado na figura 4.1.7. onde o valor da latência para o grupo G100/E ainda permanece bastante diminuído, mesmo após um período de 24 h da administração das drogas.

Os efeitos cognitivos observados com a administração oral do OEG assumem um perfil semelhante àquele visto com a administração i.p. do óleo: C [205,08 ± 26,59 (17)], E [38,81 ± 8,73 (10)], G25 [149,53 ± 33,76 (10)], G25/E [35,83 ± 8,77 (9)], G50 [164,5 ± 39,78 (10)], G50/E [36,91 ± 4,87 (9)], G100 [126,43 ± 33,51 (10)], G100/E [26,56 ± 5,62 (8)], para esQUIVA 15 min e C [297,48 ± 1,77 (16)], E [156,41 ± 42,41 (10)], G25 [277,31 ± 18,11 (9)], G25/E [266,34 ± 37,21 (10)], G50 [300,00 ± 0,00 (10)], G50/E [108,8 ± 33,94 (10)], G100 [300,00 ± 0,00 (9)], G100/E [54,58 ± 9,71 (9)], para esQUIVA 24 h.

Seja para a esQUIVA 15 min ou 24 h, a administração oral do OEG não é capaz de reverter os efeitos amnésicos da escopolamina,

como pode ser visto nas figuras 4.1.8. e 4.1.9. No primeiro gráfico, os grupos tratados com OEG associado à escopolamina apresentam valores de latência semelhantes aos do grupo E. Neste mesmo gráfico, a administração do OEG sozinho não provoca alterações cognitivas nas doses de 25 e 50 mg/Kg. Ocorreu, entretanto, uma tendência para a redução da latência no grupo G100. Este fenômeno ocorreu, provavelmente, devido à via de administração utilizada (v.o.) não favorecer a completa absorção da droga. Ao se observar a figura 4.1.9. percebe-se que, 24 h após a administração das drogas, os grupos tratados com escopolamina (sozinha ou associada) apresentam uma melhor performance no teste da EP, indicando recuperação dos efeitos amnésicos da escopolamina. Estes grupos, entretanto, ainda apresentam diferenças significativas em relação aos grupos que receberam apenas veículo ou OEG. Observa-se também que o OEG, nas doses de 50 e 100 mg/Kg, quando associado à escopolamina, potencializa os efeitos desta última droga.

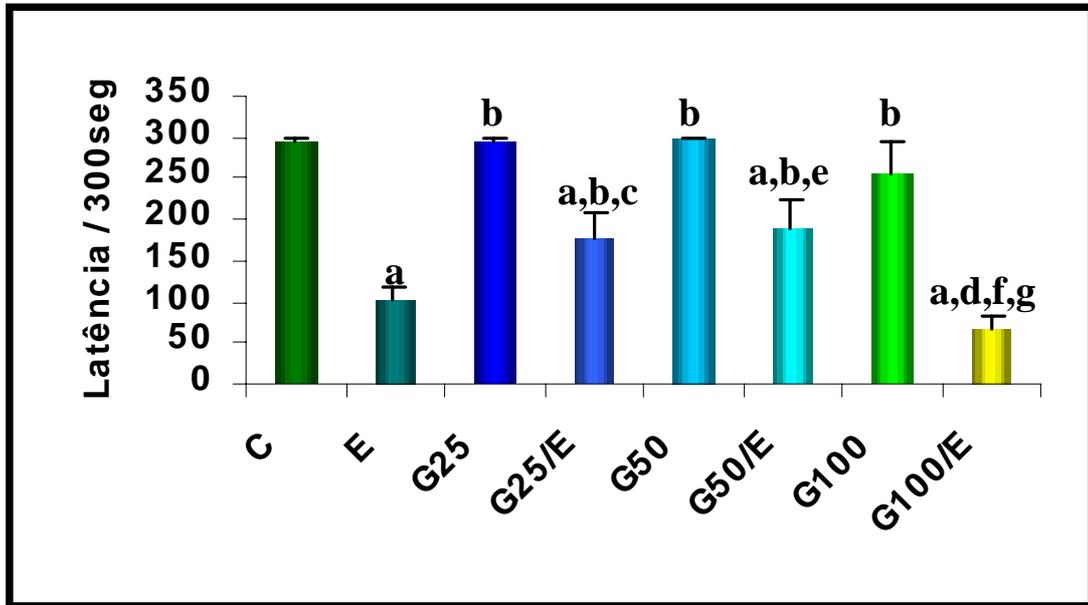
**Figura 4.1.7.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste da esqui-passiva (esqui 15 min).



A latência para entrar no compartimento escuro, 15 min após o treino, foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b, c, d, e; quando comparado ao controle (C), escopolamina (E), OEG 25mg/kg (G25), OEG 50 mg/Kg (G50) e OEG 100 mg/Kg (G100), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

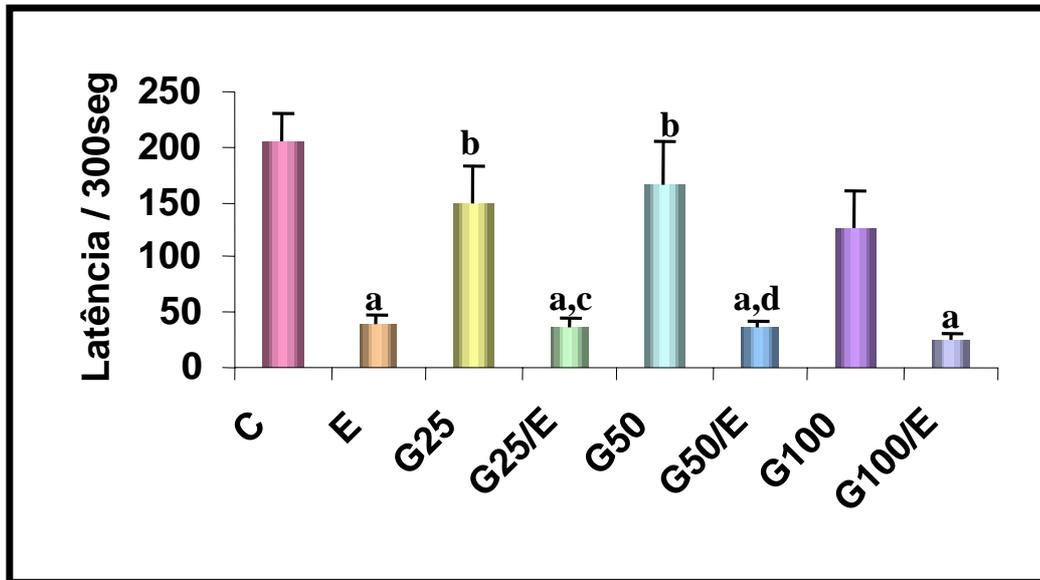
## 4. RESULTADOS

Figura 4.1.8. Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) em camundongos submetidos ao teste da esquiva-passiva (esquiva 24 h).



A latência para entrar no compartimento escuro, 24 h após o treino, foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b, c, d, e, f, g; quando comparado ao controle (C), escopolamina (E), OEG 25 mg/kg (G25), OEG 25 mg/kg + escopolamina (G25/E), OEG 50 mg/Kg (G50), OEG 50 mg/Kg + escopolamina (G50/E), OEG 100 mg/Kg (G100), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

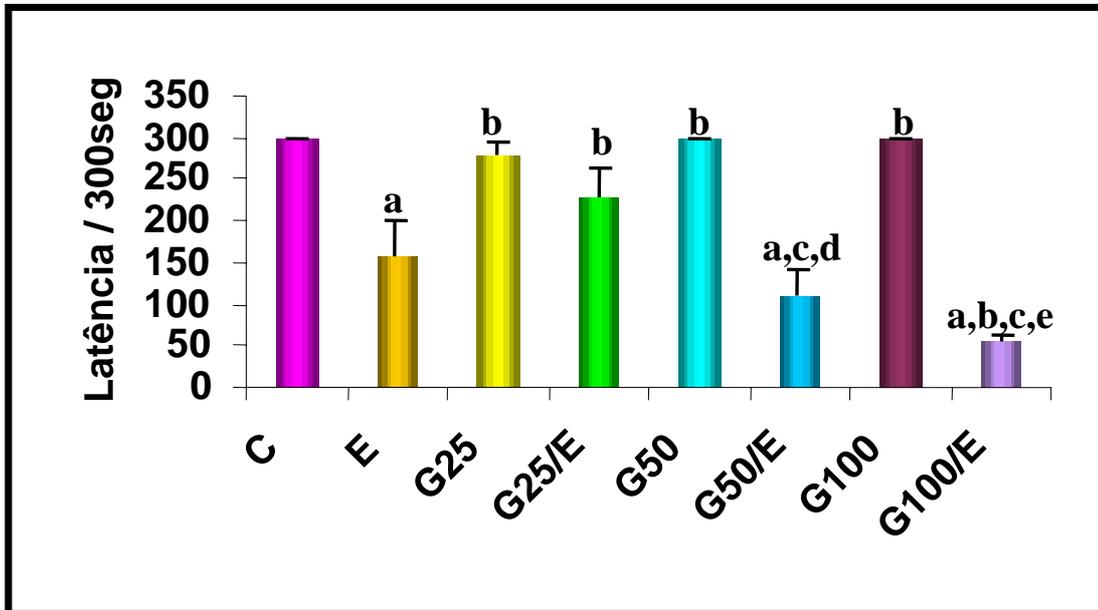
**Figura 4.1.9.** Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste da esquiva-passiva (esquiva 15 min).



A latência para entrar no compartimento escuro, 15 min após o treino, foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b, c, d; quando comparado ao controle (C), escopolamina (E), OEG 25 mg/kg (G25), e OEG 50 mg/Kg (G50), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

Figura 4.1.10. Efeito do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o.) em camundongos submetidos ao teste da esquiva-passiva (esquiva 24 h).

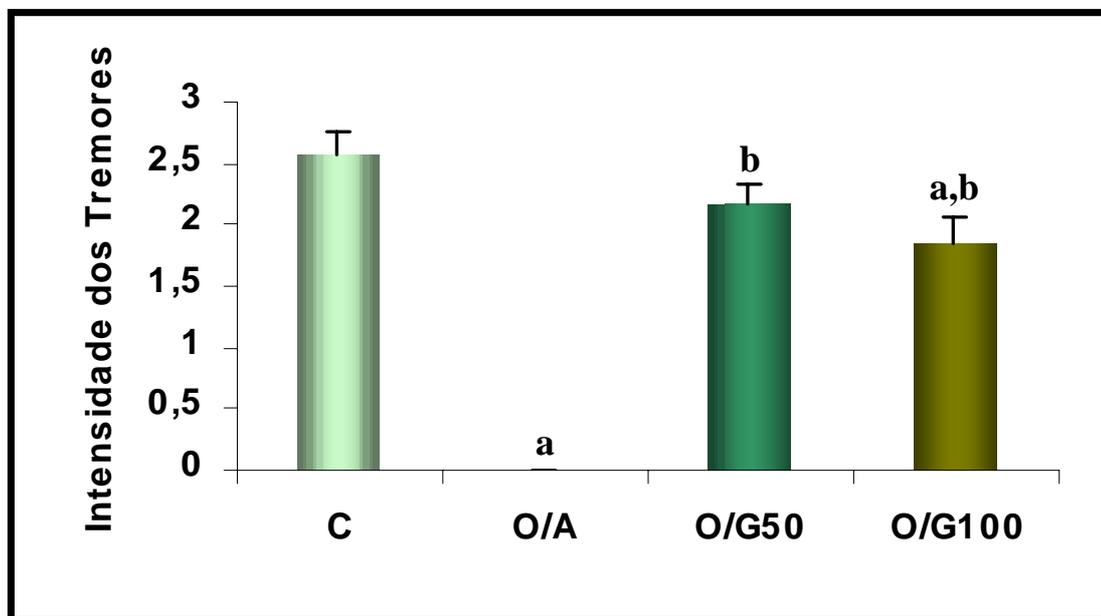


A latência para entrar no compartimento escuro, 24 h após o treino, foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b, c, d, e; quando comparado ao controle (C), escopolamina (E), OEG 25 mg/kg + escopolamina (G25/E), OEG 50 mg/Kg (G50) e OEG 100 mg/Kg (G100), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

- **Teste dos tremores induzidos por oxotremorina:**

A administração do OEG (100 mg/Kg, i.p.) reduziu, significativamente, a intensidade dos tremores induzidos por oxotremorina em aproximadamente 27%, quando comparado ao grupo C. O mesmo efeito, entretanto, não foi observado com a dose menor do óleo essencial (50 mg/Kg, i.p.): C [ $2,56 \pm 0,19$  (10)], O/A [ $0,00 \pm 0,00$  (10)], G50 [ $2,16 \pm 0,17$  (10)] e G100 [ $1,86 \pm 0,19$  (10)].

**Figura 4.1.11.** Efeito do OEG (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre os tremores induzidos por oxotremorina em camundongos.



A intensidade dos tremores induzidos por oxotremorina foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a, b; quando comparado ao controle (C) e oxotremorina + atropina (O/A), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

### **4.2. ESTUDO DOS EFEITOS NEUROQUÍMICOS DO OEG:**

- **Determinação da concentração das monoaminas e seus metabólitos em hipocampo e corpo estriado de camundongos:**

A análise química realizada pelo método da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em amostras de tecido cerebral (hipocampo e corpo estriado) de camundongos, mostrou que o tratamento diário com OEG (100 mg/Kg, i.p.) promoveu alterações na concentração de alguns neurotransmissores e metabólitos no hipocampo e corpo estriado daqueles animais. Os resultados estão devidamente representados na tabela 4.2.1.

A análise dos resultados obtidos em hipocampo mostram que o OEG promoveu uma diminuição da concentração de DA e seu metabólito DOPAC em aproximadamente 75% e 64%, em relação aos seus respectivos controles; o tratamento, entretanto, não alterou a concentração de HVA, um outro metabólito da DA. Observa-se também que houve um aumento da concentração de 5HT de aproximadamente 80% em relação ao grupo controle; o seu metabólito (5HIAA), entretanto, não apresentou alteração significativa.

A análise dos resultados obtidos em corpo estriado forneceu alguns valores, cujo perfil difere daquele descrito no parágrafo anterior: a concentração de DA mostrou-se diminuída aproximadamente 40% em relação ao grupo controle e o seu metabólito (DOPAC) apresentou um aumento de concentração de aproximadamente 15% em relação ao seu respectivo grupo controle. A concentração de HVA não sofreu modificação significativa. Os níveis de 5HT aumentaram (81%) com a

#### **4. RESULTADOS**

---

administração diária do OEG, porém, o seu metabólito 5HIAA não sofreu alterações. A análise do conteúdo de NE no corpo estriado mostrou um aumento significativo (aproximadamente 22%) da concentração do neurotransmissor, em relação ao grupo controle.

## 4. RESULTADOS

**Tabela 4.2.1.** Efeito do OEG (100 mg/Kg, i.p.) sobre a concentração das monoaminas e seus metabólitos em hipocampo e corpo estriado de camundongos.

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)			
MONOAMINAS METABÓLITOS	GRUPO	CONCENTRAÇÃO (ng/g Tecido)	
		HIPOCAMPO	C. ESTRIADO
NE	C	–	189,21 ± 15,20 (8)
	G100	–	243,86 ± 26,11*(13)
DA	C	50,41 ± 15,74 (5)	1.846,63 ± 186,52 (9)
	G100	12,58 ± 3,61*(7)	1.104,00 ± 80,65*(12)
DOPAC	C	54,53 ± 15,71 (5)	1.442,67 ± 174,49 (9)
	G100	19,15 ± 3,96*(6)	1.700,51 ± 282,10*(13)
5HT	C	32,36 ± 7,00 (6)	51,05 ± 12,12 (7)
	G100	166,14 ± 38,41*(6)	273,39 ± 52,38* (13)
5HIAA	C	247,06 ± 41,95 (7)	64,25 ± 16,91 (7)
	G100	321,71 ± 64,67 (7)	94,16 ± 14,47 (12)
HVA	C	70,37 ± 9,18 (6)	708,07 ± 76,07 (8)
	G100	88,87 ± 20,51 (9)	336,96 ± 60,01 (13)

A concentração das monoaminas e metabólitos em hipocampo e corpo estriado de camundongos foram os parâmetros estudados. Os resultados foram expressos em média ± EPM. O número de animais utilizados encontra-se entre parentesis. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste t de Student; os resultados foram considerados estatisticamente significativos (\*) para valores de  $p < 0,05$ .

### **4.3. ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS DO OEG:**

- **Avaliação dos efeitos farmacológicos gerais (teste hipocrático) e da toxicidade do OEG:**

A administração aguda do OEG (200, 400 e 800 mg/Kg, i.p.) promoveu sedação em todos os animais tratados. Este efeito ocorreu de maneira dose-dependente e a ação da droga teve início por volta de 10-15 minutos após a administração do óleo. Durante a ação da droga os animais mostravam-se bastante passivos, apresentando diminuição da motilidade e do comportamento exploratório.

As doses de 200 e 400 mg/Kg não apresentaram nenhum outro efeito farmacológico; a dose de 800 mg/Kg, entretanto produziu uma leve diminuição da frequência respiratória, sem que houvesse prejuízo às condições vitais dos animais. Durante todo o período de observação (08 dias) não foi observada a ocorrência de morte dos animais tratados.

A administração diária (8 dias) do OEG (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o. e i.p.) não produziu outro efeito farmacológico diferente daqueles já observados. Alguns animais tratados com OEG (50 e 100 mg/Kg, v.o. e i.p.) apresentaram diarreia.

- **Avaliação do efeito do OEG sobre a função hepática de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>):**

Os resultados referentes à ação do OEG sobre a função hepática de ratos tratados com CCl<sub>4</sub> estão representados na tabela 4.3.1. e figuras 4.3.1., 4.3.2. e 4.3.3. Como se pode observar, os valores da atividade da enzima fosfatase alcalina não sofreram alteração alguma de acordo com o protocolo experimental utilizado (Tabela 4.3.1.). Os valores de bilirrubina também não apresentaram alterações significativas, com exceção do grupo G200, que mostrou um aumento da concentração plasmática do pigmento em torno de 40% em relação ao grupo controle e 35% em relação ao grupo T. Os resultados sugerem, portanto, que o OEG na dose de 200 mg/Kg, i.p. parece potencializar os efeitos hepatotóxicos do tetracloreto de carbono.

A análise da atividade da enzima ALT/TGP apresentou os seguintes valores (U/L): C [14,68 ± 1,02 (11)], T [92,34 ± 11,87 (15)], G50 [120,40 ± 13,83 (10)], G100 [87,50 ± 4,45 (12)] e G200 [43,50 ± 6,48 (6)]. Pode-se observar que a administração do OEG reduziu em 53% a lesão hepática induzida por tetracloreto de carbono. Observa-se ainda que tal redução ocorreu de maneira dose-dependente (Figura 4.3.2.).

A atividade da enzima AST/TGO, por sua vez, apresentou os seguintes valores (U/L): C [55,25 ± 3,16 (12)], T [145,4 ± 9,20 (15)], G50 [139,11 ± 6,23 (9)], G100 [125,00 ± 6,36 (10)] e G200 [111,00 ± 7,18 (6)]. Estes resultados reforçam a hipótese de que a dose de 200 mg/Kg de OEG protegeu o tecido hepático contra os efeitos tóxicos do

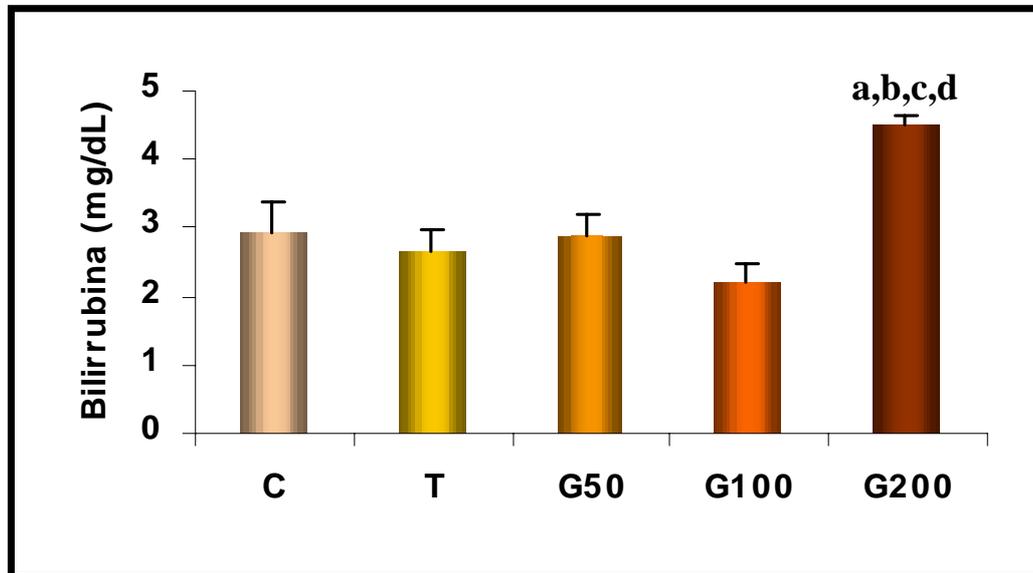
tetracloroeto de carbono, mostrando uma redução da lesão hepática de aproximadamente 23% em relação ao grupo T. Observa-se, também, a ocorrência de um efeito dose-dependente muito sutil, de acordo com a figura 4.3.3.

**Tabela 4.3.1.** Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a atividade da enzima fosfatase alcalina em soro de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>).

<b>GRUPOS</b>	<b>ATIVIDADE DA ENZIMA FOSFATASE ALCALINA</b>
<b>C</b>	3,14 ± 0,30 (7)
<b>T</b>	3,98 ± 0,35 (6)
<b>G50</b>	4,15 ± 0,66 (6)
<b>G100</b>	4,91 ± 0,67 (6)
<b>G200</b>	3,80 ± 0,15 (6)

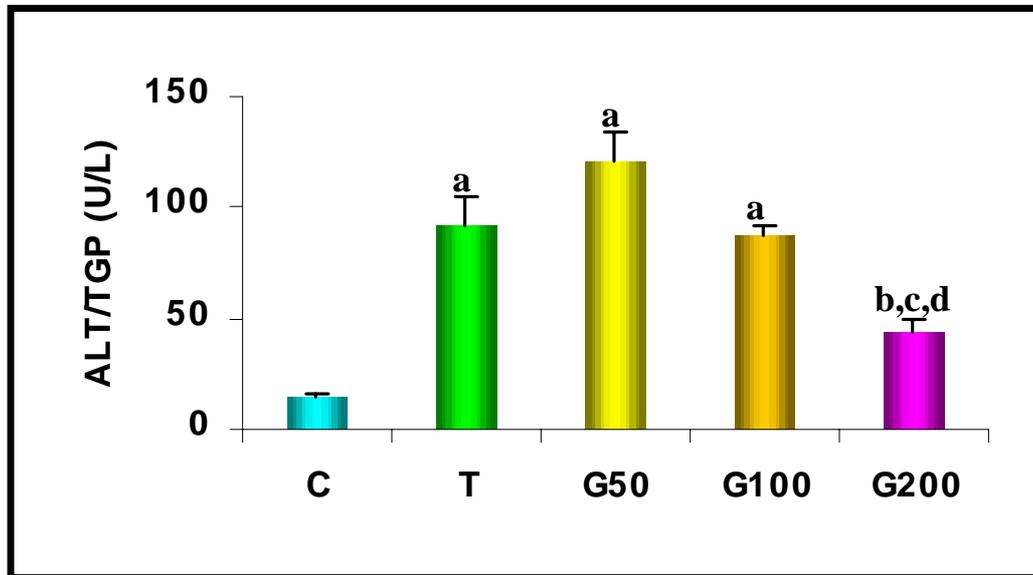
A atividade da enzima fosfatase alcalina foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média ± EPM. O número de animais utilizados encontra-se entre parentesis. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*.

**Figura 4.3.1.** Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a concentração plasmática de bilirrubina em ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>).



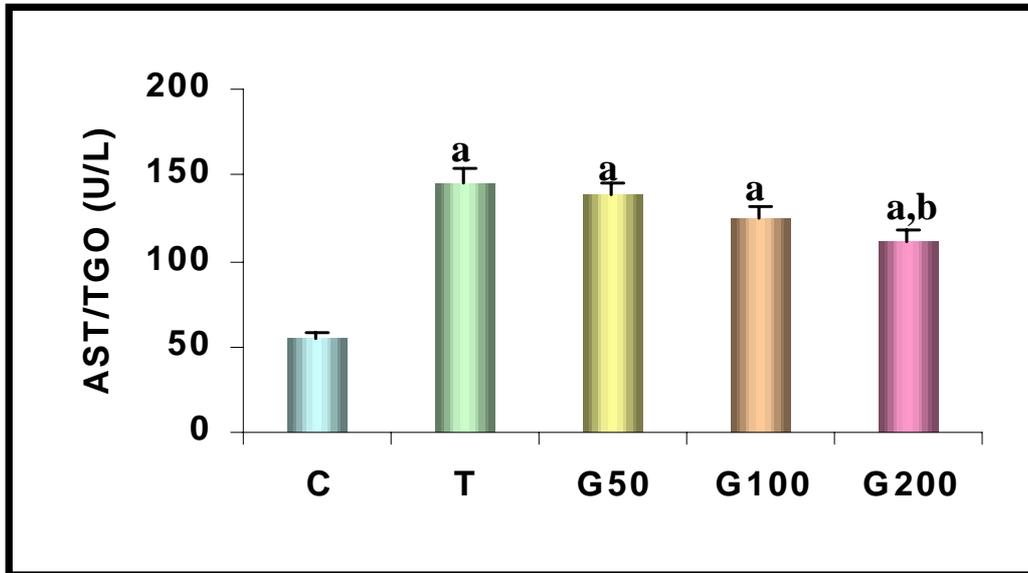
A concentração plasmática de bilirrubina foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a,b,c,d; quando comparado a C, T, OEG 50 mg/Kg (G50) e OEG 100 mg/kg (G100), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

**Figura 4.3.2.** Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a atividade da enzima ALT/TGP em soro de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>).



A atividade da enzima ALT/TGP foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a,b,c,d; quando comparado a C, T, OEG 50 mg/Kg (G50) e OEG 100 mg/kg (G100), respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

**Figura 4.3.3.** Efeito do OEG (50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a atividade da enzima AST/TGO em soro de ratos tratados com tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>).



A atividade da enzima AST/TGO foi o parâmetro estudado. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foram utilizados ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos (a,b; quando comparado a C e T, respectivamente) para valores de  $p < 0,05$ .

### 5.1. ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO OEG:

*Zingiber officinale* Roscoe, membro da família Zingiberaceae, conhecido popularmente como gengibre, é amplamente utilizado como condimento em muitas partes do mundo. Durante séculos, os rizomas desta planta têm sido utilizados como remédio natural na tradicional medicina chinesa e indiana para o tratamento de uma série de doenças, tais como reumatismo, asma, constipação, diabetes e etc. O gengibre contém um grande número de ingredientes ativos presentes em seus rizomas. Estas estruturas, ao sofrerem o processo de destilação, produzem um óleo essencial que contém uma grande quantidade de hidrocarbonetos sesquiterpenos, sendo o zingibereno o principal constituinte do óleo essencial (Govindarajan, 1982). Outro constituinte químico abundante no óleo essencial do gengibre é o citral, composto bastante conhecido por sua atividade depressora central (Vale et al., 1999).

A literatura disponível ainda não oferece informações suficientes a respeito das ações centrais do óleo essencial de gengibre e de seus principais constituintes químicos. Com o intuito de contribuir para um maior conhecimento dos efeitos do óleo essencial de gengibre sobre o sistema nervoso central, o presente trabalho estudou a possível utilidade do óleo essencial como uma droga adjuvante no tratamento de alguns transtornos comportamentais. Desta forma, o óleo essencial do gengibre apresentou efeitos farmacológicos interessantes, cuja importância será discutida a seguir.

A ansiedade é um termo utilizado para descrever um estado emocional normal associado ao stress ou dificuldade psicológica

associada a uma condição patológica. Quando a ansiedade é crônica e não está claramente associada a um evento bem definido, ela é geralmente considerada anormal e própria para uma intervenção psicológica ou psiquiátrica. Embora muitas formas de tratamento sejam aplicadas, a ansiedade é atualmente tratada com drogas ansiolíticas (Sanger, 1991).

Atualmente, o Labirinto em cruz elevado (LCE) é um dos métodos mais populares, através do qual a ansiedade pode ser medida em roedores (Montgomery, 1958; Pellow et al., 1985). Neste modelo um rato (ou camundongo) é colocado no centro do labirinto para livre exploração daquele ambiente (Rodgers et al., 1993; Rodgers et al., 1997; Andersen et al., 2000).

Sabe-se que a relutância dos roedores em explorar os braços abertos do labirinto é causada mais pelo medo que esses animais têm de espaços abertos, do que pela própria altura do aparelho (Pellow et al., 1985; Falter et al., 1992; Fernandes et al., 1996). Treit et al. (1993) forneceram evidências de que a ausência da proteção lateral nos braços abertos seria mais importante do que a altura, no desencadeamento do medo no LCE, ou seja, o labirinto é um modelo de ansiedade animal baseado no medo inato de que os roedores possuem de ficar em espaços abertos e elevados.

Várias drogas ansiolíticas usadas rotineiramente (benzodiazepínicos e alguns anticonvulsivantes) estão entre as classes de drogas que modulam alostericamente os receptores GABA (Olson, 2002). O ácido gama-amino butírico (GABA) é o neurotransmissor inibitório predominante no sistema nervoso central e

o seu receptor (GABAA) é o principal alvo farmacológico de drogas usadas em psiquiatria para induzir ansiólise e sedação.

Nos testes realizados no presente trabalho, o composto ansiolítico diazepam (1,0 mg/Kg) comprovou sua atividade ansiolítica no teste do LCE ao aumentar os parâmetros estudados (TPBA- tempo de permanência nos braços abertos e NEBA- número de entradas nos braços abertos) em relação ao grupo controle. A administração diária do OEG, entretanto não alterou o comportamento dos animais tratados no modelo do LCE, quando comparado ao diazepam e ao grupo controle; isto ocorreu possivelmente pelo fato do constituinte químico majoritário do óleo essencial (zingibereno) ser destituído de atividade farmacológica do tipo benzodiazepínica (ansiolítica). Hasenorhl et al. (1996) afirmam que o extrato padronizado hidrossolúvel (Zingicomb) preparado a partir dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe e das folhas de *Gingko biloba* apresenta potente ação ansiolítica no modelo do LCE. Os resultados obtidos no presente trabalho discordam, em parte, daqueles apresentados por Hasenorhl. A disparidade de resultados pode ser justificada pelo fato do material utilizado nos trabalhos (óleo essencial e extrato padronizado - Zingicomb) apresentar composição química diferente e, conseqüentemente, ação farmacológica distinta.

O efeito ansiolítico do fitofármaco Zingicomb, portanto, parece ocorrer em função da associação entre os rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe e as folhas de *Gingko biloba*, visto que os autores ora citados (Hasenorhl et al., 1996) afirmam que os componentes isolados do fitofármaco não apresentam efeito farmacológico no teste do labirinto em cruz elevado. Esta última observação reforça o fato de que o rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe, per si, parece ser

destituído de constituintes químicos com efeito ansiolítico comprovado no teste do LCE.

Hasenohrl et al. (1998) afirmam ainda que algumas drogas de origem vegetal, como os rizomas pulverizados de gengibre, possuem a propriedade de antagonizar os receptores para o neurotransmissor serotonina (5HT). Na busca de drogas alternativas ao uso de compostos benzodiazepínicos, antagonistas do receptor serotoninérgico (5HT<sub>3</sub>) têm sido estudados por causa de seus potenciais usos no tratamento de desordens relacionadas ao medo e ansiedade (Costall et al., 1992). Alguns constituintes químicos dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe, tais como os gingeróis e galactonas diterpenóides são potentes antagonistas dos receptores serotoninérgicos (Huang et al, 1990; Huang et al, 1991), os quais se encontram localizados no hipocampo e amígdala, regiões do sistema límbico envolvidas na gênese do medo e ansiedade (Kilpatrick et al., 1987). A administração diária do OEG promoveu um aumento significativo da concentração de serotonina no hipocampo dos animais tratados. Isto explicaria o fato de o OEG ser destituído da atividade ansiolítica, relatada por alguns autores.

O LCE é uma excelente ferramenta para detectar compostos que tenham ação com o complexo receptor GABAA/Benzodiazepínico. Este teste mostra-se muito sensível para determinar a influência do receptor GABAA/Benzodiazepínico no processo de ansiedade, visto que, outras drogas como a buspirona, que envolvem receptores serotoninérgicos, apresentam resultados muito variáveis em relação ao modelo citado (Rodgers et al., 1997). Esta afirmação reforça os resultados obtidos com o OEG no labirinto em cruz elevado,

mostrando a ausência de efeito ansiolítico do óleo essencial nas doses e vias de administração utilizadas.

Pellow et al. (1985) afirmam que compostos que aumentam o número de entradas nos braços abertos do LCE, como os benzodiazepínicos, diminuem o comportamento exploratório e a atividade motora de animais tratados; entretanto, compostos que não apresentam efeito sobre a ansiedade, como o haloperidol e antidepressivos tricíclicos, também diminuem o comportamento exploratório e a atividade locomotora. Esta afirmação reforça os resultados obtidos com o OEG no modelo do campo aberto, pois a administração diária (i.p. ou v.o.) do óleo essencial diminuiu a atividade exploratória (MAE, grooming e rearing) dos animais sem, no entanto, apresentar efeito algum no modelo do LCE.

Testes de atividade locomotora e exploração em roedores são largamente utilizados na avaliação de agentes psicotrópicos. Para tanto, uma grande variedade de aparatos são utilizados como, por exemplo, o campo aberto (Archer, 1973).

Atualmente, o campo aberto é um dos modelos animais mais populares no campo da psicologia (Belzung, 1999). Neste modelo, um animal (usualmente um roedor) é inserido em um ambiente desconhecido, cuja escapatória seja impossibilitada pela presença de paredes laterais que cercam este ambiente (Walsh et al., 1976).

Os efeitos de diferentes tipos de drogas têm sido investigados no modelo do campo aberto, incluindo compostos com efeitos ansiolíticos (benzodiazepínicos, neuropeptídeos e drogas serotoninérgicas), estimulantes (anfetaminas, cocaína), sedativos

(neurolépticos) ou indutores de prostração (drogas epileptogênicas) (Prut et al., 2003). O modelo do campo aberto, portanto, possibilita discutir a especificidade do efeito de uma droga, caso ela seja estimulante, sedativa, ansiolítica ou ansiogênica (Lister, 1987).

O aumento da atividade locomotora pode ser considerado um efeito estimulante, enquanto que a diminuição da atividade vertical (NR) e horizontal (NC) são relacionados à sedação (Prut et al., 2003). A administração diária do OEG promoveu diminuição da atividade exploratória horizontal (NC), vertical (NR) e do comportamento de auto-limpeza (NG) nos animais tratados com o óleo essencial nas doses de 50 e 100mg/Kg.

A diminuição da atividade motora espontânea fornece uma indicação do nível de excitabilidade do sistema nervoso central (Mansur et al., 1971). Desta forma, os resultados revelam um interessante efeito depressor (sedativo) do óleo essencial, o qual ocorre de forma dose-dependente e cujo efeito máximo é obtido com a dose de 100 mg/Kg, quando administrada via intraperitoneal. O mesmo não pode ser observado com a administração oral da droga, devido possivelmente à via de administração utilizada, a qual favorece uma menor biodisponibilidade e o efeito farmacológico esperado não ocorre em toda a sua plenitude.

Algumas plantas aromáticas do Nordeste do Brasil, como, por exemplo, *Lippia alba*, apresentam efeito depressor no sistema nervoso central, o qual parece ocorrer devido à presença de citral, um componente químico presente em grande quantidade no óleo essencial extraído das folhas da planta. O efeito deste constituinte assemelha-se aquele observado com o composto diazepam (Matos et

al., 1999). Estudos das ações farmacológicas do citral sobre o sistema nervoso central revelam que esta substância diminui a atividade locomotora no campo aberto, reduz o tempo total de imobilidade e potencializa a ação da imipramina do teste do nado forçado (Komori et al., 1995). Desta forma, a presença de citral como um dos constituintes químicos majoritários do OEG reforça o fato de que o óleo essencial apresenta importante efeito sedativo no modelo do campo aberto.

Quase todas as espécies de animais passam uma grande parte do tempo em comportamento de grooming (MacFarland et al., 1974). Embora vários neurotransmissores possam modular a expressão desse comportamento (Moody et al., 1988; Traber et al., 1988), a dopamina está particularmente envolvida no processo (Cools et al., 1988; Drago et al., 1999). O comportamento de grooming em roedores ocorre pela estimulação e bloqueio dos sub-tipos de receptores dopaminérgicos (Starr et al., 1986; Cromwell et al., 1996). Os receptores dopaminérgicos dividem-se em duas famílias: a família D1-símile, a qual inclui os subtipos D1 e D5 e a família D2-símile, que inclui os subtipos D2, D3 e D4. Esses receptores realizam suas ações por se acoplarem e ativarem diferentes complexos de proteínas G. Os receptores D1-símile interagem com o complexo de proteínas Gs, resultando em ativação da adenilil ciclase e aumento nos níveis de AMPc intracelular. Os receptores D2-símile interagem com um complexo de proteínas Gi com conseqüente inibição da produção de AMPc (Cooper et al., 1991; Civelli et al., 1993; De Keyser, 1993).

A administração diária do OEG provocou uma diminuição do número de “grooming” apresentado pelos animais no teste do CA. O efeito apresentado pelo OEG sobre o número de grooming corrobora com o fato de que o óleo essencial parece exercer um importante

efeito farmacológico sobre o sistema dopaminérgico, o qual é o principal alvo farmacológico da terapia antipsicótica. A diminuição da atividade locomotora e do comportamento exploratório nos grupos tratados com OEG revela a ocorrência de efeitos farmacológicos comuns àqueles observados com o uso de drogas antipsicóticas (Bruhwylér et al., 1991). A análise da concentração das monoaminas e seus respectivos metabólitos em corpo estriado dos animais tratados com OEG revelou que o óleo essencial de gengibre diminuiu os níveis de DA e aumentou a concentração do metabólito DOPAC. A diminuição do neurotransmissor naquela área cerebral justifica a ocorrência do efeito sedativo da droga em estudo. O mecanismo envolvido neste processo parece ocorrer em função de um possível aumento do metabolismo da DA, o que leva a uma diminuição do neurotransmissor e conseqüente aumento da concentração do seu respectivo metabólito (DOPAC).

A coordenação motora é um comportamento complexo e pode refletir equilíbrio, força muscular e alterações na deambulação. Dificuldades na performance motora pode prejudicar a realização de testes comportamentais, tais como aprendizado e memória, exploração e motivação. Um dos testes mais utilizados para o estudo da coordenação motora é o teste do *rota rod* (Bogo et al., 1981). Este teste foi popularizado por Dunham e Miya com a finalidade de avaliar déficits neurológicos em ratos e camundongos (Rustay et al., 2003).

O tratamento diário com o OEG não produziu qualquer alteração da coordenação motora nos animais submetidos ao teste do *rota rod*. Este fato reflete a segurança quanto ao uso da droga, que, nas doses e vias de administração utilizadas mostrou-se desprovida de qualquer efeito tóxico central que comprometa a coordenação motora. De

acordo com Massaquoi et al. (1998), a perda da coordenação motora é uma característica comum de muitas desordens neurológicas e um dos efeitos farmacológicos mais facilmente observáveis em casos de intoxicação. Sob este ponto de vista, o óleo essencial do gengibre parece ser desprovido de qualquer potencial neurotóxico, de acordo com o protocolo utilizado neste trabalho.

Rustay et al. (2003) recomendam que sejam utilizadas múltiplas doses de drogas a serem testadas no modelo do *rota rod*, porque muitos agentes depressores, como o etanol (Pohorecky 1977; Dudek et al., 1994), barbitúricos (Dudek et al., 1994), benzodiazepínicos (Crabbe et al., 1998) e alguns antagonistas glutamatérgicos (Diana et al., 1994; Starr et al., 1994) podem apresentar efeito locomotor bifásico, isto é, produzir estimulação em baixas doses e sedação em doses maiores. O efeito bifásico mencionado anteriormente não foi observado com a administração do OEG nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, via oral ou intraperitoneal. A ocorrência de sedação com a dose de 100 mg/Kg, entretanto, não foi capaz de produzir qualquer déficit motor no teste do “*rota rod*”.

Drogas com ação depressora central alteram a coordenação motora e habilidades manuais (Dale et al., 2001), prejudicando a execução de atividades que exigem reflexo e um bom controle motor. Este efeito de relaxamento muscular é observado com drogas do grupo dos hipnóticos-sedativos, particularmente os benzodiazepínicos. Estas drogas inibem os reflexos polissinápticos e a transmissão internuncial e, em altas doses, podem deprimir a transmissão na junção neuromuscular esquelética (Katsung, 2003). Os resultados obtidos com o OEG no teste do *rota rod* são de fato importantes, pois revelam que o óleo essencial, no protocolo utilizado, é desprovido de

efeitos prejudiciais ao desempenho motor e esta característica é de grande valia quando se deseja uma droga com ação sedativa que não cause comprometimento da coordenação motora.

Em poucas áreas das neurociências houve tantos avanços nos últimos 10 anos como no referente aos mecanismos fisiológicos e moleculares da formação ou consolidação da memória. Memória é a aquisição, a formação, a conservação e a evocação de informações. A aquisição é também chamada de aprendizagem: só se “grava” aquilo que foi aprendido. A evocação é também chamada de recordação, lembrança, recuperação (Izquierdo, 2002).

Evidências clínicas e experimentais têm dado suporte para a hipótese de que o sistema colinérgico no cérebro está envolvido em processos mnemônicos (Decker et al., 1991; Fibiger, 1991; Gallagher et al., 1995). Hasselmo e colaboradores (Hasselmo et al., 1993; Hasselmo, 1995) estudaram a influência neuromodulatória colinérgica sobre o aprendizado e memória no hipocampo e córtex.

A acetilcolina é o neurotransmissor responsável pela transferência de impulsos dos neurônios colinérgicos de células nervosas colinoceptivas para células de tecidos inervados (Tucek et al., 1993). Estudos fisiológicos sobre a acetilcolina indicam que o seu efeito neuromodulador em nível celular é diverso, causando facilitação sináptica e supressão, bem como hiperpolarização direta e despolarização, tudo isto na mesma área cortical (Kimura et al., 1999). Há mais de 86 anos atrás, Dale em 1914, dividiu as ações da acetilcolina em muscarínicas e nicotínicas. Estes efeitos são mediados por duas classes distintas de receptores que possuem pouca coisa em

comum, a não ser a habilidade de se ligar à acetilcolina (Ehlert et al., 1995).

Experimentos comportamentais indicam que a acetilcolina está envolvida em uma grande variedade de funções cognitivas, tais como percepção, atenção seletiva, aprendizado associativo e memória (Hasselmo, 1995; Everit et al., 1997; Holland, 1997). O papel do sistema colinérgico sobre o aprendizado e memória tem sido exaustivamente estudado (Watts et al., 1981; Bartus et al., 1982; Murray et al., 1986).

Os receptores muscarínicos são amplamente distribuídos em todo o corpo e exercem inúmeras funções vitais no cérebro e no sistema nervoso autonômico. No cérebro, os receptores muscarínicos são importantes na memória (Drachman et al., 1974; Safer et al., 1971) e na fisiopatofisiologia de doenças afetivas (Janowsky et al., 1972; Sitaram et al., 1980) e esquizofrenia (Tandon et al., 1991; Tandon et al., 1992). Devido ao seu possível papel na função cognitiva os receptores muscarínicos são alvo de pesquisa no caso da doença de Alzheimer.

A doença de Alzheimer é caracterizada por uma disfunção colinérgica no neocórtex e hipocampo, a qual é diretamente proporcional à severidade do déficit cognitivo em pacientes que apresentam a doença (Perry et al., 1978; Wilcock et al., 1982). Esses achados levaram à busca de agentes que aumentem o nível de acetilcolina no cérebro (Isoame et al., 2003). Com este propósito, foram estudadas as ações do OEG sobre as funções cognitivas (aprendizado e memória) de camundongos submetidos ao teste da esquiva-passiva. Este teste mimetiza um déficit colinérgico, como

aquele observado na doença de Alzheimer, o qual se reflete nas funções cognitivas do animal. Tal efeito é obtido com a administração intraperitoneal de um antagonista colinérgico (escopolamina), o qual altera a performance cognitiva de animais experimentais em uma grande variedade de testes de aprendizado e memória, como no caso da esquiva-passiva (Isoame et al., 2003).

O OEG apresentou um efeito inesperado, porém bastante interessante: a administração do óleo essencial promoveu um déficit no aprendizado e na memória dos camundongos, quando submetidos à esquiva de 15 min e 24 horas, respectivamente. Este efeito foi mais evidenciado com a dose de 100mg/Kg, i.p. e v.o. Quando associado à escopolamina, o OEG parece potencializar os efeitos cognitivos da droga. No modelo da esquiva-passiva, o OEG aparenta possuir um efeito anticolinérgico. Tal evidência é apoiada por Prado-Alcalá et al. (1993), ao afirmar que em muitos casos, a administração central ou sistêmica de drogas anticolinérgicas ou lesões do sistema colinérgico causam déficit na memória, enquanto que drogas que aumentam a atividade colinérgica exercem o efeito contrário. Este resultado, um tanto desapontador, descarta a possibilidade do OEG ser uma droga adjuvante no tratamento da doença de Alzheimer, visto que o uso do óleo essencial poderia piorar o déficit cognitivo causado pela patologia.

Hasenohrl et al. (1998) ao estudar o efeito do fitofármaco Zingicomb sobre a memória de ratos submetidos aos testes da esquiva-passiva e do labirinto aquático de Morris, concluíram que o fitofármaco é desprovido de qualquer efeito negativo sobre as funções cognitivas (aprendizado e memória). Estes resultados contrastam com aqueles obtidos no presente trabalho, uma vez que o OEG, no teste da esquiva-passiva, parece potencializar o efeito amnésico da

escopolamina. Em adição, o efeito positivo do Zingicomb sobre a memória pode ser o resultado da ação farmacológica do *Gingko biloba*, componente do fitofármaco com comprovada atividade neuroprotetora (Oberpichler et al., 1988; Droy-Lefaix et al., 1995). Sabe-se ainda que extratos de *Gingko biloba* causam melhora do aprendizado (Stoll et al., 1996) e da memória em ratos velhos (Petkov et al., 1993) e atenuam a amnésia induzida pela escopolamina no teste da esquiva-passiva (Chopin et al., 1992). É bem possível, portanto, que o efeito do Zingicomb sobre as funções cognitivas dos animais seja exercido pelo *Gingko biloba*, e não pela associação com *Zingiber officinale* Roscoe.

A oxotremorina é uma droga agonista dos receptores muscarínicos e sua atividade tremorogênica parece ser mediada principalmente através da estimulação central do sistema colinérgico (Bebbington et al., 1966). Ao reverter os tremores induzidos por oxotremorina, o OEG (100 mg/Kg, i.p.) comprovou exercer um efeito antagonista sobre o sistema colinérgico, confirmando a hipótese de que o óleo essencial produz déficit cognitivo sozinho ou quando associado à escopolamina, potencializando os efeitos anticolinérgicos desta droga no modelo da esquiva-pasiva.

A análise do conteúdo das monoaminas e seus metabólitos em hipocampo de camundongos tratados com OEG mostrou que o óleo essencial diminuiu significativamente os níveis de DA, DOPAC. A diminuição dessas substâncias parece ter participação no déficit cognitivo induzido pelo OEG. Denenberg et al. (2004) afirmam que o sistema dopaminérgico está implicado em processos cognitivos em uma grande variedade de áreas cerebrais, incluindo o sistema mesolímbico, e que a dopamina endógena parece ser um fator

regulador importante em alterações sinápticas observadas durante certos estágios dos processos de aprendizado, memória e plasticidade sináptica (Weiss et al., 2003). Em adição, Jay (2003) afirma que a administração de serotonina (5HT) produz um déficit significativo no teste da esquiva-passiva; isto ocorre porque os receptores 5HT estão envolvidos nos efeitos amnésicos da serotonina. O aumento da concentração de 5HT e a diminuição de DA e DOPAC no hipocampo dos animais tratados com OEG parece exercer um efeito adicional sobre o déficit cognitivo observado nos animais tratados com OEG.

### 5.2. ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS DO OEG:

A administração aguda do OEG, nas doses de 200, 400 e 800 mg/Kg não provocou qualquer efeito tóxico nos animais tratados. Mascolo et al., (1989) afirmam que a DL50 aguda do gengibre em ratos é maior que 5 g do óleo por quilograma de peso corpóreo, mostrando que o composto em questão apresenta uma baixa toxicidade. Os efeitos farmacológicos obtidos com a administração aguda do óleo essencial diferem muito pouco daqueles observados quando o OEG é administrado durante oito dias consecutivos, nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o. e i.p. A administração diária do OEG, entretanto, provocou diarreia em alguns animais que receberam a droga nas doses de 50 e 100 mg/Kg, v.o. e i.p. O gengibre exibe seus efeitos mais proeminentes no sistema gastrointestinal, onde parece estimular a motilidade gastrointestinal (Suekawa et al., 1984; Suekawa et al., 1986). De fato, os efeitos do gengibre em aumentar a motilidade intestinal são similares aos efeitos da metoclopramida (Yamahara et al., 1990), o que justifica a ocorrência de diarreia em alguns animais tratados com o óleo essencial.

Existe um grande número de drogas de origem natural, utilizadas como hepatoprotetores na tradicional medicina chinesa e indiana. Os mecanismos de ação envolvidos no processo diferem bastante; muitas dessas drogas agem como sequestradores de radicais livres, outras como inibidoras enzimáticas ou até mesmo como mitógenos. Os antioxidantes e sequestradores de radicais livres têm sido usados particularmente no estudo do mecanismo de toxicidade induzido pelo tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>), protegendo as células hepáticas contra o dano induzido pelo CCl<sub>4</sub>, ao quebrar a reação em cadeia da peroxidação lipídica (Weber et al., 2003).

De Groot et al., (1986) afirmam que a ação tóxica de alguns compostos químicos parece ser originada da destruição dos ácidos graxos poliinsaturados ligados à membrana durante o processo de peroxidação lipídica. De fato, a toxicidade de compostos químicos ou de seus metabólitos pode ser o resultado de interações covalentes (primárias) com alvos moleculares críticos, tais como o DNA, lipídeos, proteínas e carboidratos, ou de alterações de processos bioquímicos (peroxidação lipídica e geração de espécies reativas de oxigênio) (Weber et al., 2003).

O fígado é o principal sítio para que os efeitos tóxicos do tetracloreto de carbono se manifestem. Mudanças patológicas que seguem o envenenamento por CCl<sub>4</sub> têm sido identificadas a nível bioquímico e ultraestrutural (Reynolds, 1963). O tetracloreto de carbono CCl<sub>4</sub>, uma hepatotóxina, tem sido usado durante décadas para induzir dano hepático em vários modelos experimentais para elucidar os mecanismos envolvidos no processo de hepatotoxicidade (Hardin, 1954). Após a administração oral, o CCl<sub>4</sub> é concentrado no fígado e atinge um nível máximo de cerca de 1 mg por grama de tecido hepático em um intervalo de tempo de 1 a 2 horas (Reynolds, 1963). Os primeiros achados histológicos de dano hepático podem ser observados de 5 a 6 horas após a administração do composto, tempo no qual o processo de necrose tem início (Lockard et al., 1983). Após 12 horas, uma zona central de necrose torna-se evidente, que evolui para uma necrose maciça no intervalo de 24 a 48 horas (Zimmermann, 1976).

O dano hepático induzido por CCl<sub>4</sub> é caracterizado pela alteração de um grande número de funções celulares e as alterações bioquímicas ocorrem antes que o dano histológico seja evidente.

Nesse período ocorre um aumento nos lipídeos microsossomais, que pode ser observado 3 horas após a administração de CCl<sub>4</sub>, porém o dano mitocondrial ainda não é evidente (Recknagel et al., 1959).

O CCl<sub>4</sub> pertence ao grupo de hepatotoxinas que necessitam de ativação metabólica para desencadear suas ações tóxicas (Monks et al., 1988; Nelson et al., 1990). O metabolismo da droga tem início com a formação do radical livre triclorometil CCl<sub>3</sub><sup>\*</sup> (McCay et al., 1984) através da ação do sistema de oxigenases de função mista do citocromo P450 do retículo endoplasmático (Slater, 1984; Nelson et al., 1987). Este processo envolve a clivagem redutora da ligação carbono-cloro. O radical CCl<sub>3</sub><sup>\*</sup> formado reage com várias substâncias de importância biológica, tais como os aminoácidos, nucleotídeos, ácidos graxos, proteínas, ácidos nucléicos e lipídeos (Castro, 1984), retirando delas um átomo de hidrogênio, especialmente dos ácidos graxos insaturados, com conseqüente formação de moléculas de clorofórmio. Na presença do hidrogênio, o radical CCl<sub>3</sub><sup>\*</sup> é convertido a outro radical livre, o preoxil-triclorometil (CCl<sub>3</sub>OO<sup>\*</sup>).

O radical CCl<sub>3</sub>OO<sup>\*</sup> reage prontamente com os ácidos graxos poliinsaturados, retirando átomos de hidrogênio destes compostos, dando início ao processo de peroxidação lipídica. A retirada de átomos de hidrogênio dos ácidos graxos inicia uma série complexa de reações que culminam com a desintegração completa das moléculas de ácidos graxos poliinsaturados e a formação aldeídos, grupamentos carbonil e alcanos (Cheeseman et al., 1985; Comporti, 1985; Tribble et al., 1987).

Na China e Japão, o gengibre é um ingrediente bastante utilizado para o tratamento de desordens gastrointestinais e hepáticas (Iwu, 1993). Tal fato tem sido comprovado com os resultados do

presente estudo, os quais mostraram que o OEG realmente apresenta ação hepatoprotetora, ao diminuir a lesão hepática induzida por tetracloreto de carbono em ratos, como foi evidenciado através da análise da atividade das enzimas ALT/TGP e AST/TGO.

O aumento plasmático das enzimas aminotransferases ocorre como consequência da peroxidação lipídica induzida pelo CCl<sub>4</sub>. Este processo destrói a membrana plasmática dos hepatócitos, promovendo a liberação daquelas enzimas para a corrente sanguínea. A determinação de ALT e AST em amostras de sangue fornece, portanto, um perfil da função hepática, sendo a ALT mais sensível na detecção de lesão hepatocelular. Valores de ALT são iguais ou superiores aos de AST na maioria dos casos de hepatite viral, icterícia pós-hepática ou colestase intra-hepática. Nos casos de cirrose hepática, hepatite alcóolica ou carcinoma metastático, os valores de ALT são inferiores aos de AST (<http://www.labtest.com.br>). O processo de cirrose induzido em ratos através do CCl<sub>4</sub> parece ser similar ao que ocorre em seres humanos (Tamayo, 1983). A administração do OEG (200 mg/Kg, i.p.) ao reduzir os valores das aminotransferases mostrou-se eficaz no tratamento da cirrose hepática quimicamente induzida.

Dhuley et al. (1997); Goleet al. (1997) e Mitra et al. (1999) afirmam que 2 mL de CCl<sub>4</sub> corresponde à melhor dose para induzir o dano hepático, uma vez que ocorre um aumento significativo da atividade das enzimas ALT, AST e FA e dos níveis séricos de bilirrubina, sem que ocorra a morte dos animais. Doses menores de tetracloreto de carbono causam um aumento da atividade das enzimas ALT e AST e pouca alteração da atividade da FA e dos níveis de bilirrubina (Janakat et al., 2002). Um perfil semelhante a este foi reproduzido no presente trabalho: a administração de 0,5 mL/Kg de

CCl<sub>4</sub> (50% em óleo de oliva, i.p.) aumentou a atividade das enzimas ALT e AST e o tratamento com o OEG diminuiu, de maneira dose-dependente, a atividade das aminotransferases. A enzima FA não sofreu alteração alguma. Os valores de bilirrubina, entretanto, apresentaram-se surpreendentemente elevados no grupo G200. Tal fato, entretanto, não contradiz os resultados obtidos através da atividade das enzimas ALT e AST, visto que estas enzimas são marcadores mais sensíveis da lesão aguda dos hepatócitos. A bilirrubina, entretanto, pode apresentar-se elevada no plasma como uma consequência de vários fatores, a saber: hemólise; incapacidade do mecanismo de conjugação no interior do hepatócito e obstrução do sistema biliar (Gaw et al., 2001).

O mecanismo bioquímico envolvido no desenvolvimento da hepatotoxicidade induzida por CCl<sub>4</sub> já é bastante conhecido, de forma que a geração do radical livre triclorometil a partir do metabolismo do CCl<sub>4</sub> é o fator crucial na patogênese da lesão hepática quimicamente induzida (Clawson, 1989). Ahmed et al. (1999) comprovaram a ação anti-oxidante do gengibre em animais experimentais. Este fato reforça a hipótese de que o OEG parece exercer uma ação hepatoprotetora ao combater a peroxidação lipídica gerada pelo metabolismo hepático do CCl<sub>4</sub> com a formação subsequente de radicais livres, altamente lesivos.

Alguns achados mostram que a toxicidade induzida por CCl<sub>4</sub> pode ser revertida por meio de um pré-tratamento com inibidores do metabolismo do CCl<sub>4</sub> (Brady et al., 1991) e compostos com ação antioxidante (Min et al., 1992; Paduraru et al., 1996). Ahmed et al. (2000) mostraram que o gengibre inibe a peroxidação lipídica ao modular a atividade das enzimas anti-oxidantes (SOD, Catalase,

Glutathiona peroxidase), o que protegeria o tecido hepático contra o stress oxidativo. Este, portanto, parece ser o mecanismo responsável pelo efeito hepatoprotetor do OEG, em ratos.

### **6. CONCLUSÕES:**

- O OEG, nas doses e vias de administração utilizadas, não apresentou efeito ansiolítico no modelo do LCE;
- O OEG diminuiu o número de cruzamentos, de grooming e de rearing dos animais tratados diariamente com o óleo essencial nas doses de 50 e 100 mg/Kg, i.p.;
- O efeito sedativo do OEG ocorre de forma dose-dependente e o efeito máximo da droga parece ocorrer com a dose de 100 mg/Kg, i.p.;
- A administração oral do OEG diminuiu o movimento aleatório espontâneo, o número de grooming e rearing dos animais tratados diariamente com o óleo essencial na dose de 100 mg/Kg, i.p.;
- O OEG, nas doses e vias de administração utilizadas, não alterou a coordenação motora dos animais no teste do RR;
- No teste dos tremores induzidos por oxotremorina o OEG (100 mg/Gg, i.p.) apresentou efeito anticolinérgico ao reduzir a intensidade dos tremores;
- A administração diária do OEG diminuiu os níveis de DA e aumentou a concentração de DOPAC e 5HT em hipocampo de camundongos tratados com OEG (100 mg/Kg, i.p.);

- A administração diária do OEG diminuiu os níveis de DA, DOPAC e aumentou a concentração de 5HT em corpo estriado de camundongos tratados com OEG (100 mg/Kg, i.p.);
- O efeito sedativo do OEG parece ocorrer como o resultado da diminuição de DA e conseqüente aumento do seu metabólito (DOPAC) no corpo estriado dos animais tratados com o óleo essencial;
- A administração do OEG (50 e 100 mg/Kg, i.p. e v.o.), sozinho ou associado à escopolamina, promoveu uma perda de memória nos animais no teste da EP. Este efeito ainda era evidente mesmo após o tempo de 24 horas da administração do óleo essencial;
- O efeito amnésico do OEG ocorre como o resultado da ação do óleo essencial sobre o sistema colinérgico (ação anti-colinérgica);
- A diminuição da concentração de DA e o aumento de 5HT no hipocampo de camundongos tratados com OEG parece influenciar no dano cognitivo observado nos animais tratados com OEG;
- O OEG administrado diariamente (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p. e v.o.) mostrou ser uma droga relativamente segura, visto que não apresentou outros efeitos tóxicos além de diarreia apresentada por alguns animais tratados com OEG nas doses de 50 e 100 mg/Kg, i.p e v.o.;

- A administração de doses maiores do OEG (200, 400 e 800 mg/Kg, i.p.) não apresentou outro efeito, além da sedação já observada com doses menores da droga;
- O OEG (200 mg/Kg, i.p.) apresentou efeito hepatoprotetor, reverter a lesão hepática induzida por CCl<sub>4</sub>. Este efeito foi observado através da diminuição da atividade das enzimas AST e ALT no soro dos animais;
- O efeito hepatoprotetor do OEG parece ocorrer como o resultado da ação anti-oxidante do óleo essencial sobre os radicais livres formados a partir do metabolismo hepático do CCl<sub>4</sub>.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ADAMS RP, Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. San Diego. Academic Press Inc 1989, San Diego.

AFZAL M, AL-HADIDI D, MENON M, PESEK J, DHAMI MSI. Ginger: na ethnomedical chemical and pharmacological review. Drug Metabolism and Drug Interactions 2001; 18: 160-190.

AHMED RS, SHARMA SB. Biochemical studies on combined effects of garlic (*Allium sativum* Linn.) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) in albino rats. Indian J Exp Biol 1997; 35: 841-843.

AHMED RS, SETH V, BANERJEE BD. Influence if dietary ginger (*Zingiber officinale* Rosc) on the antioxidant defensesystem in rat: comparision with ascorbic acid. Indian Journal of Experimental Biology 1999.

AHMED RS, SETH V, PASHA ST, BANERJEE BD. Influence if dietary ginger (*Zingiber officinale* Rosc) on oxidative stress induced by malathion in rats. Food and Chemical Toxicology 2000; 38:433-50.

AL-YAHYA MA, RAFATULLAH S, MOSSA JS, AGEEL AM, PARMAR NS, TARIQ M. Gastroprotective activity of ginger *Zingiber officinale* Rosc., in albino rats. Am J Chin Med 1989; 17:51-6.

ALENCAR JW, CRAVEIRO AA, MATOS FJA. Kovats indices simulation essential analysis. Quimica Nova 1990; 13 (4): 282-284.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ANDERSEN IL, BOE KE, FOEREVIK G, JANCZAK AM, BAKKEN M. Behavioural evaluation of methods for assessing fear responses in weaned pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2000; 69; 227–240.

ANDREWS LS, CADWALADER KR, GRONDER RM, CHUNG HY. Chemical and microbial quality of irradiated ground ginger. *J Food Sci* 1995; 60: 829-832.

ANONYMOUS. *Monographs on the medicinal uses of plants*. Exeter: European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 1997.

ÁVILA JR, FETROW CW. *Manual de Medicina Alternativa para o Profissional*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2000.

BACKON J. Ginger as antiemetic: possible side effects due to its thromboxane syntetase activity. *Anaesthesia* 1991; 46: 705-706.

BACKON J. Ginger: inhibition of thromboxane synthetase and stimulation of prostacyclin: relevance for medicine and psychiatry. *Med Hypotheses* 1986; 20:271-8.

BACKON J. Implication of thromboxane in the pathogenesis of Kawasaki disease and suggestion for using novel thromboxane syntetase inhibitors in its treatment. *Med Hypotheses* 1991; 34: 230-231.

BARTUS RT, DEAN RL, BEER B, LIPPA AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction critical review. *Science* 1982; 217: 408– 414.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEBBINGTON A, BRIMBELCOMBE R W, SHAKESHAFT D. The central and peripheral activity of acetylenic amines related to oxotremorine. Br. J. Pharmacol. 1966; 26:56–67.

BELZUNG C. Measuring exploratory behavior. In: Crusio, W.E., Gerlai, R.T. (Eds.), Handbook of Molecular Genetic Techniques for Brain and Behavior Research (Techniques in the Behavioral and Neural Sciences). Elsevier, Amsterdam 1999; pp. 739– 749.

BORDIA A, VERMA SK, SRIVASTAVA KC. Effect of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and fenugreek (*Trigonella foenumgraecum* L.) on blood lipids, blood sugar and platelet aggregation in patients with coronary artery disease. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1997; 56:379-84.

BHANDARI U, SHARMA JN, ZAFAR R. The protective action of ethanolic ginger (*Zingiber officinale*) extract in cholesterol fed rabbits. J Ethnopharmacol 1998; 61:167-71.

BLUMENTHAL M. Herb industry sees mergers, acquisitions and entry by pharmaceutical giants in 1998. Herbal Gram 1999; 45: 67-68.

BLUMENTAL M, BRUSSE WR, GOLDBERG A, GRUENWALD J, HALL T, RIGGINS CW, RISTER RS. The complete german commission E monographs. Therapeutic guide to herbal medicines. The American Botanical Council, Austin, TX, USA 1998.

BOGO V, HILL TA, YOUNG RW. Comparison of accelerod and rotarod sensitivity in detecting ethanol- and acrylamide-induced performance

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

decrement in rats: review of experimental considerations of rotating rod systems. *Neurotoxicology* 1981; 2:765–87.

BRADY JF, XIAO F, WANG MH, LI Y, NING SM, GAPAC JM, YANG CS. Effects of disulfiram on hepatic P-450 2E1, other microsomal enzymes, and hepatotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991; 108: 366-73.

BRINKER FJ. Herb contraindications and drug interactions : with appendices addressing specific conditions and medicines. Sandy, Or.: Eclectic Institute, 1997:146.

BRUHMYLER J, CHLEIDE E, LIEGEOIS JF, DELARGE J, MERCIER M. Effects of specific dopaminergic agonists and antagonists in the open-field test. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1991; 39: 367-371.

CASTRO JA. Mechanistic studies and prevention of free radical cell injury. In: Paton W., Mitchell J., and Turner P. (Eds.), *Proceedings of IUPHAR 9th Int. Congress Pharmacol.*, MacMillan, London, 1984; pp. 243–250.

CHEESEMAN KH, ALBANO EF, TOMASI A, SLATER TF. Biochemical studies on the metabolic activity of halogenated alkanes. *Environ. Health Perspect.* 1985; 64:85–101.

CHEN HC, CHANG MD, CHANG TJ. Antibacterial properties of some spice plants before and after heat treatment. *Chung Hua Min Kuo Wei Sheng Wu Chi Mien I Hsueh Tsa Chih* 1985; 18:190-5.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHOPIN P, BRILLEY M. Effects of four non-cholinergic cognitive enhancers in comparison with tacrine and galanthamine on scopolamine-induced amnesia in rats. *Psychopharmacol* 1992; 106:26-30.

CIVELLI O, BUNZOW JR, GRANDY DK. Molecular diversity of the dopamine receptors. *Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1993; 32: 281-307.

CLAWSON GA. Mechanism of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pathol Immunopathol Res* 1989; 8: 104-12.

COMPORTI M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest.* 1985; 53:599–623.

COLE BJ, HILLMANN M, SEIDELMANN D, KLEWER M, JONES GH. Effects of benzodiazepine receptor partial inverse agonists in the elevated plus maze test of anxiety in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* 1995; 121: 118-126.

CONNELL D, SUTHERLAND M. A re-examination of gingerol, shogaol and zingerone, the pungent principles of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Aust J Chem* 1969; 22: 1033-43.

COOLS AR, SPRUIJT BM, ELENBROEK BA. Role of central dopamine in ACTH-induced grooming behaviour in rats. In: Colbern DL & Gispen WH (Editors). *Neural mechanisms and biological significance of grooming behaviour.* *Annals of the New York Academy of Sciences* 1988; 252: 338-350.

CORRÊA MP, *Dicionário das plantas úteis no Brasil e das exóticas cultivadas por M. Pio Corrêa.* Imprensa Nacional- Ministério da

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Agricultura, Serviço de Informação Agrícola 1926; Volume III: 380-384.

COOPER JR, BLOOM FE, ROTH RH. The Biochemical basis of neuropharmacology 6th ed. New York: Oxford University 1991.

COSTALL B, NAYLOR RJ. Anxiolytic potential of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. Pharmacol. Toxicol. 1992; 70: 157–162.

COWARD D M, DOGGETT N S, SAYERS A C. The pharmacology of N-carbamoyl-2-(2,6-dichlorophenyl)acetamide hydrochloride (LON-954) a new tremorogenic agent. Drug Res. 1977; 27:2326–2332;

CRABBE JC, GALLAHER EJ, CROSS SJ, BELKNAP JK. Genetic determinants of sensitivity to diazepam in inbred mice. Behav Neurosci 1998; 112: 668–77.

CRAGG GM, NEWMAN DJ, SNADER KM, natural products in drug discovery and development. Journal of Natural Products 1997; 60: 52-60.

CROMWELL HC, BERRIDGE KC. Implementation of action sequences by a neostriatal site: a lesion mapping study of grooming syntax. Journal of Neuroscience 1996; 16: 3444-3458.

DECKER MW, MCGAUGH JL. The role of interactions between the cholinergic system and other neuromodulatory systems in learning and memory. Synapse 1991; 7:151–168.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE GROOT H, NOLL T. The crucial role of low steady state oxygen partial pressure in haloalkane free radical induced lipid peroxidation. Possible implications in haloalkane liver injury. *Biochem. Pharmacol* 1986; 35:15-19.

DE KEYSER J. Subtypes and localization of dopamine receptors in human brain. *Neurochem. Int.* 1993; 22: 83-93.

DENYER CV, JACKSON P, LOAKES DM, ELLIS MR, YOUNG DA. Isolation of antirhinoviral sesquiterpenes from ginger (*Zingiber officinale*). *J Nat Prod* 1994; 57:658-62.

DESAI HG, KALRO RH, CHOKSI AP. Effect of ginger & garlic on DNA content of gastric aspirate. *Indian J Med Res* 1990; 92:139-41.

DE SMET PAGM. The role of plant-derived drugs and herbal medicines in health care. *Drugs* 1997; 54: 801-840.

DIANA G, SAGRATELLA S. Different capability of N-methyl-D-aspartate antagonists to affect locomotor/exploratory activity of mice in a computerized on-line open field test. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 48: 291–5.

DHULEY JN, NAIK SR. Protective effect of Rhinax, a herbal formulation, against CCl<sub>4</sub>-induced liver injury and survival in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 1997; 56:59–164.

DRACHMAN DA, LEAVITT J. Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Arch Neurol.* 1974; 30(2):113-21.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DRAGO F, CONTARINO A, BUSA L. the expression of neuropeptide-induced excessive grooming behaviour in dopamine D1 and D2 receptor-deficient mice. *European Journal of Pharmacology* 1999; 365: 125-131.

DROY-LEFAIX MT, MENERATH JM, SZABO-TOSAKI E, GUILLAUMIN D, DOLY M. Protective effect of Egb 761 on ischemia-reperfusion damage in the rat retina. *Transolant Proc.* 1995; 27:2861-62.

DUDEK BC, TRITTO T, UNDERWOOD KA. Genetic influences on locomotor activating effects of ethanol and sodium pentobarbital. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 48: 593–600.

DUNHAM MW, MIYA TS. A note of a simple apparatus detecting neurological deficit in rats and mice. *Journal of American Pharmaceutical Science.* 1957; 46: 208-209.

EHLERT FJ, THOMAS EA. Functional role of M2 muscarinic receptors in the guinea pig ileum. *Life Sci.* 1995; 56(11-12):965-71.

EJECHI BO, SOUZEY JA, AKPOMEDAYE DE. Microbial stability of mango (*Mangifera indica* L.) juice preserved by combined application of mild heat and extracts of two tropical spices. *J Food Prot* 1998; 61:725-7.

ENDO K, KANNO E, OSHIMA Y. Structures of antifungal diarylheptenones, gingerenones A, B, C and isogingerenone B, isolated from the rhizomes of *Zingiber officinale*. *Phytochemistry* 1990; 29:797-9.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FALTER U, GOWER AJ, GOBERT J. Resistance of baseline activity in the elevated plus-maze to exogenous influences. *Behav. Pharmacol.* 1992; 3: 123-128.

FERNANDES C, FILE SE. The influence of open arm ledges and maze experience in the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1996; 54: 31–40.

FIBIGER HC. Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends Neurosci.* 1991; 14:220–223.

FLYNN D, RAFFERTY M, BOCTOR A. Inhibition of human neutrophil 5-lipoxygenase activity by gingerdione, shogaol, capsaicin and related pungent compounds. *Prostaglandins Leukotrienes Med* 1986; 24:195-8.

FRISCH C, HASENOHRL RU, MATTERN CM, HACKER R, HUSTON JP. Blockade of lithium chloride-induced conditioned place aversion as a test for antiemetic agents: comparison of metoclopramide with combined extracts of *Zingiber officinale* and *Ginkgo biloba*. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 52:321-7.

FUKUZAKI K, KAMENOSONO T, NAGATA R.. Effects of ropinirole on various parkinsonian models in mice, rats, and cynomolgus monkeys. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 65 (3): 503–508.

GALLAGHER M, COLOMBO PJ. Aging and the cholinergic hypothesis of cognitive decline. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1995; 5:161–168.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GAW A, COWAN RA, O'REILLY DSJ, STEWART MJ, SHEPHERD J. Bioquímica Clínica. Ed. Guanabara Koogan, 2 ed., 2001, Rio de Janeiro.

GHAZANFAR AS. Handbook of arabian medicinal plants. Boca raton, FL; CRC press, 1994; 214-215.

GOLE MK, DASGUPTA S, SUR RK, GHOSAL J. Hepatoprotective effect of Amoora rohituka. International Journal of Pharmacology 1997; 35(5):318–322.

GOVINDARAJAN VS. Ginger chemistry, technology and quality evaluation: part 1. CRC Crit Rev Sci Nutr 1982; 17: 1–96.

GRONTVED A, BRASK T, KAMBSKARD J, HENTZER E. Ginger root against seasickness. A controlled trial on the open sea. Acta Oto-Laryngol 1988; 105: 45-49.

GRUNWALD J. The european phytomedicines market: figures, trends, analysis. HerbalGram 1995; 34: 60-65.

GUH JH, KO F-N, JONG T-T, TING C-M. Antiplatelet effect of gingerol isolated from *Zingiber officinale*. J Pharmacy Pharmacology 1995; 47:329-32.

GUO P, XU J, XU S, WANG K. Inhibition of hydrogen peroxide production in chondrocytes induced by fulvic acid by ginger volatile oil. China J Chinese Materia Medica 1997; 22:559-61.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HALL CS. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. J. Comp. Psychol. 1934; 18: 385– 403.

HASENÖHRL RU, NICHAU CH, FRISCH CH, DE SOUZA SILVA MA, HUSTON JP, MATTERN CM, HÄCKER R. Anxiolytic-like effect of combined extracts of *Zingiber officinale* and ginkgo biloba in the elevated plus-maze. Pharmacol. Biochem. Behav. 1996; 53: 271–275.

HASENÖHRL RU, TOPIC B, FRISCH CH, HÄCKER R, MATTERN CM, HUSTON JP. Dissociation between anxiolytic and amnesic effects of combined extracts of *Zingiber officinale* and *Ginkgo biloba* as opposed to diazepam. Pharmacol. Biochem. Behav. 1998; 59: 527-535.

HARDIN BL. Carbon tetrachloride poisoning:/a review. Ind. Med. Surg. 1954; 23, 93\_/105.

HASSELMO ME, BOWER JM. Acetylcholine and memory. Trends in Neuroscience 1993: 16(6): 218–222.

HASSELMO ME. Neuromodulation and cortical function: Modeling the physiological basis of behavior. Behavioural Brain Research 1995; 67(1):1-26.

HASSELMO ME, CEKIC M. Suppression of synaptic transmission may allow combination of associative feedback and self-organizing feedforward connections in the neocortex. Behavioural Brain Research 1996; 79: 153–161.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

<http://www.agriculture-industry-india.com>

<http://www.colinst.com>

<http://www.dominioherbal.com>

<http://www.healathsma.com>

<http://www.labtest.com.br>

<http://www.ugobasile.com>

<http://www.shimadzu.com>

HUANG Q, MATSUDA H, SAKAI K, YAMAHARA J, TAMAI Y. The effect of ginger on serotonin induced hypothermia and diarrhea. Yakugaku Zasshi 1990; 110: 936–942.

HUANG Q, IWAMOTO M, AOKI S, TANAKA N, TAJIMA K, YAMAHARA J. Anti-5-hydroxytryptamine effect of galanolactone, diterpenoid isolated from ginger. Chem Pharm Bull 1991; 39:397-9.

HUANG Q, IWAMOTO M, AOKI S, TANAKA N, TAJIMA K, YAMAHARA J, TAKAISHI Y, YISHIDA M, TOMIMATSU T, TAMAI Y. Anti 5-hidroxitryptamine 3 effect of galanolactone, a diterpenoid isolated from ginger. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1991; 3: 397-399.

IMANISHI T, SAWA A, ICHIMARU Y, MIYASHIRO M, KATO S, YAMAMOTO T, UEKI S. Ameliorating effects of rolipram on

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

experimentally induced impairments of learning and memory in rodents. *European Journal of Pharmacology* 1996; 321: 273-278.

ISOMAE K, MORIMOTO S HASEGAWA H, MORIT K, KAMEI J. Effects of T-82, a novel acetylcholinesterase inhibitor, on impaired learning and memory in passive avoidance task in rats. *European Journal of Pharmacology* 2003; 465: 97– 103.

IZQUIERDO I. *Memória*. Ed. Artmed 2002, Porto Alegre- RS.

IWU MM. *Handbook of african medicinal plants*. Boca raton, FL; CRC press, 1993; 263-265.

JANAKAT S, MERIE H. Hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca* against carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology* 2002; 83:135– 138.

JANAKAT S, AL-MERIE H. optimization of the dose and the route of injection, and characterisation of the time course of carboun tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2003; 48: 41-44.

JANES ME, NANNAPANENI R, JOHNSON MG. Identification and characterization of two bacteriocin-producing bacteria isolated from garlic and ginger root. *J Food Prot* 1999; 62:899-904.

JANOWSKY DS, EL-YOUSEF MK, DAVIS JM, HUBBARD B, SEKERKE HJ. Cholinergic reversal of manic symptoms. *Lancet*. 1972 Jun3;1(7762):1236-7.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JANOWSKY DS, EL-YOUSEF K, DAVIS JM, SEKERKE HJ. Parasympathetic suppression of manic symptoms by physostigmine. Arch Gen Psychiatry. 1973 Apr;28(4):542-7.

JANSSEN PL, MEYBOOM S, VAN STAVEREN WA, DE VEGT F, KATAN MB. Consumption of ginger (*Zingiber officinale* roscoe) does not affect ex vivo platelet thromboxane production in humans. Eur J Clin Nutr 1996; 50:772-4.

JAY TM. Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms. Prog. Neurobiol. 2003; 69:375-90.

JEYAKUMAR S, NALINI N, VENUGOPAL M. Antioxidant activity of ginger in rats fed a high fat diet. Med Sci Res 1999; 27:341-44.

KANERVA L, ESTLANDER T, JOLANKI R. Occupational allergic contact dermatitis from spices. Contact Derm 1996; 35:157-62.

KANJANAPOTHI D. A uterine relaxant compound from *Zingiber cassumunar*. Planta Med 1987; 53:329-32.

KATZUNG BG. Farmacologia básica e clínica. Ed. Guanabara Koogan, 8 ed. 2003, Rio de Janeiro.

KAPIL U, SOOD AK, GAUR DR. Maternal beliefs regarding diet during common childhood illnesses. Indian Pediatr 1990; 27:595-9.

KILPATRICK GJ, JONES BJ, TYERS MB. Identification and distribution of 5-HT<sub>3</sub> receptors in rat brain using radioligand binding. Nature 1987; 330: 746–748.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

KIMURA F, FUKUDA M, TSUMOTO T. Acetylcholine suppresses the spread of excitation in the visual cortex revealed by optical recording: Possible differential effect depending on the source of input. *European Journal of Neuroscience* 1999; 11(10): 3597–3609.

KIMURA I, KIMURA M, PANCHO LR. Modulation of eicosanoid-induced contraction of mouse and rat blood vessels by gingerols. *Jpn J Pharmacol* 1989; 30: 253-261.

KIUCHI F, SHIBUYA M, SANKAWA U. Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from ginger. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1982; 30:754-7.

KIUKHI F, IWAKAMI S, SHIBUIA M, HANAOKA F, SANKAWA U. Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diary heptanoids. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1992; 40: 387-391.

KOBAYASHI M, ISHIDA Y, SHOJI N, OHIZUMI Y. Cardiotonic action of [8]-gingerol, an activator of the Ca<sup>++</sup>-pumping adenosine triphosphatase of sarcoplasmic reticulum, in guinea pig atrial muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 246:667-73.

KOBAYASHI M, SHOJI N, OHIZUMI Y. Gingerol, a novel cardiotonic agent, activates the Ca<sup>2+</sup>-pumping ATPase in skeletal cardiac sarcoplasmic reticulum. *Biochim Biophys Acta* 1987; 903: 96-102.

KRISHNAKANTHA T, LOKESH B, scavenging for superoxide anions by spice principles. *Indian J Biochem Biophys* 1993; 30: 133-134.

LAWLESS J, *Illustred encyclopedia of essential oils*. Dorset: element books, 1995; 14, 236.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LEE E, PARK KK, LEE JM, Suppression of mouse skin tumor promotion and induction of apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxyphylla* Miquel (Zingiberaceae). *Carcinogenesis* 1998; 19:1377-81.

LEE E, SURH Y. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids, 6-gingerol and 6-paradol. *Cancer Letters* 1998; 134:163-8.

LISTER RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 1987; 29: 180-185.

LOCKARD VG, MEHENDALE HM, O'NEAL RM. Chlordecone-induced potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity: a light and electron microscopy study. *Exp. Mol. Pathol.* 1983; 39:230–245.

LUMB AB. Effect of dried ginger on human platelet function. *Thromb Haemost* 1994; 71:110-1.

MACFARLAND CG, REEDER WC. Cleaning symbiosis involving Galapagos tortoises and two species of Darwin's finches. *Zeitschrift fur Tierpsychologie* 1974; 34: 464-483.

MASCOLO N, JAIN R, JAIN SC, CAPASSO F. Ethnopharmacologic investigation of ginger (*Zingiber officinale*). *J Ethnopharmacol* 1989; 27:129-40.

MASSAQUOI SG, HALLETT M. Ataxia and other cerebellar syndromes. In: Jankovic J, Tolosa E, editors. *Parkinson's disease and movement disorders*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

MASUR J, MARTZ RMW, CARLINI EA. Effects of acute and chronic administration of Cannabis sativa and (-)  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol on the behaviour of rats in an open-field arena. *Psychopharmacology* 1971; 19: 338-397.

MATOS FJA, VIANA GSB. Aromatic medicinal plants from northeast brazil. *Pharmaceutical News* 1999; 6: 29-33.

MATSUDA T, MATSUMURA H, OYAMA Y, TAKEDA Y. Synthesis of  $\pm$ -cassumunins A and B, new curcuminoid antioxidants having protective activity in the living cell agonist oxidative damage. *J Nat Prod* 1998; 61: 609-613.

MATTHES H, LUU B, OURISSON G. Cytotoxic components of Zingiber zerumbet, curcuma deoaria and C. domestica. *Phytochemistry* 1980; 19:2643-50.

MCCAY PB, LAI EK, POYER JL, DUBOSE CM, JANZEN EG. Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. *J. Biol. Chem.* 1984; 259:2135–2143.

MCGUFFIN M, HOBBS C, UPTON R, GOLDBERG A. American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook. Boca Raton. New York: CRC Press, 1997:231.

MICKLEFIELD GH, REDEKER Y, MEISTER V, JUNG O, GREVING I, MAY B. Effects of ginger on gastroduodenal motility. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1999; 37:341-6.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

MIN KS, TERANO Y, ONOSAKA S, TANAKA K. Induction of metallothionein synthesis by menadione or carbon tetrachloride is independent of free radical production. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992; 113: 74-9.

MISHRA S, KUMAR H, SHARMA D, How do mothers recognize and treat pneumonia at home? *Indian Pediatr* 1994; 31: 15-18.

MITRA S, VENKATARANGANNA M, SUNDARAM R, GOPUMADHAVAN S. Antioxidant activity of AO-8, a herbal formulation in vitro and in vivo experimental models. *Phytotherapy Research* 1999; 13:300–303.

MONKS TJ, LAU SS. Reactive intermediates and their toxicological significance. *Toxicology* 1988; 52:1–53.

MONTGOMERY KC. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. *J Comp Physiol Psychol* 1958; 48: 254–60.

MOODY TW, MERALI Z, CRAWLEY JN. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behaviour. In: ColbernDL & Gispen WH (Editors). *Neural mechanisms and biological significance of grooming behaviour*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1988; 525: 281-290.

MURAKAMI A, MORITA H, SAFITRI R, RAMLAN A, KOSHIMIZU K, OHIGASHI H. Screening for in vitro anti-tumorpromoting activities of edible plants from Indonesia. *Cancer Detect Prev* 1998; 22:516-25.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MURRAY CL, FIBRIGER HC. Pilocarpine and physostigmine attenuate spatial memory impairments produced by lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behav. Neurosci.* 1986; 100: 23– 32.

MUSTAFA T, SRIVASTAVA KC. Ginger (*Zingiber officinale*) in migraine headache. *J Ethnopharmacol* 1990; 29:267-73.

MUSTAFA T, SRIVASTAVA KC, JENSEN KB. Drug development report (9): Pharmacology of ginger, *Zingiber officinale*. *J Drug Dev* 1993; 6: 25-39.

NAGABHUSHAN M, AMONKAR AJ, BHIDE SV. Mutagenicity of gingerol and shogaol and antimutagenicity of zingerone in Salmonella/microsome assay. *Cancer Lett* 1987; 36:221-33.

NAKAMURA H, YAMAMOTO T. Mutagen and anti-mutagen in ginger, *Zingiber officinale*. *Mutat Res* 1982; 103:119-26.

NELSON SD, HARRISON PJ. Roles of cytochrome P450 in chemically induced cytotoxicity. In: Guengrich F.P. (Ed.), *Mammalian Cytochromes P450*. CRC Press, Boca Raton 1987; pp. 19–80.

NELSON SD, PEARSON PG. Covalent and non-covalent interaction in acute lethal cell injury caused by chemicals. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1990; 30:169–195.

NEWALL CA, ANDERSON LA, PHILLIPSON JD. *Herbal medicines: a guide for health-care professionals*. London: Pharmaceutical Press, 1996:ix, 296.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

OBERPRICHLER H, BECK T, ABDEL-RAHMAN MM, BIELENBERG GW, KRIEGELSTEIN J. Effects of Gingko biloba constituents related protection against brain damage caused by hypoxia. *Pharmacol. Res. Commum.* 1988; 20:349-68.

OLIVEIRA F, AKISUE G. *Fundamentos de Farmacobotânica*. 2. ed. São Paulo, Atheneu, 1997.

OLSON R. GABA. In: Davis K, Charney D, Coyle J, Nemeroff C, editors. *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins 2002.

PADURARU I, SARAMET A, DANILA GH, NICHIFOR M, JERCA L, IACOBOVICI A, UNGUREANU D, FILIP M. Antioxidant action of a new flavonic derivative in acute carbon tetrachloride intoxication. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1996; 21: 1-6.

PANCHO L, KIMURA I, UNNO R, KURONO M, KIMURA M. Reversal effects between crude and processed ginger extracts on PGF 2 alpha-induced contraction in mouse mesenteric veins. *Jpn J Pharmacol* 1989; 50: 243-246.

PEARSON D, FRANKEL E, AESCHBACH R. Inhibition of endothelial cell-mediated oxidation of low-density lipoprotein by rosemary and plant phenolics. *J Agric Food Chem* 1997; 45:578-82.

PELLOW S, CHOPIN P, FILE SE, BRILEY M. Validation of open, closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods* 1985; 14: 149-167.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

PERRY EK, TOMLINSON BE, BLESSED G, BERGMAN K, GIBSON PH, PERRY RH. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *Br. Med. J.* 1978; 2: 1457– 1459.

POHORECKY LA. Biphasic action of ethanol. *Biobehav Rev* 1977; 1: 231–40.

PETKOV VD, KEHAYOV R, BELCHEVA S, KONSTANTINOVA E, PETKOV VV, GETOVA D, MARKOVSKA V. Memory effects of standardized extracts of *Panax ginseng* (G115), *Gingko biloba* (GK501) and their combination Ginkosan (PHL-00701). *Planta Medica* 1993; 59:106-14.

PRADO-ALCALA RA, FERNANDEZ-RUIZ J, QUIRART GL. Cholinergic neurons and memory, in: T.W. Stone (Ed.), *Synaptic Transmission 2*, Taylor and Francis Ltd, London, 1993, pp. 57–69.

PRADO-ALCALA RA, SOLANA-FIGUEIROA R, GALINDO LE, MEDINA AC, QUIRARTE GL. Blockade of striatal 5-HT<sub>2</sub> receptors produces retrograde amnesia in rats. *Life Sci.* 2003; 74(4):481-8.

PRUT L, BELZUNG C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviours: a review. *European Journal of Pharmacology* 2003; 463: 3-33.

PURSEGLOVE, LW. *Tropical crops- monocotyledons 2*. Longman, London (1972).

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

QIAN DS, LIU ZS. Pharmacologic studies of antimotion sickness actions of ginger. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 1992; 12:95-8, 70.

RANG HP, RITTER JM, DALE MM. *Farmacologia*. Ed. Guanabara Koogan, 4 ed. 2001, Rio de Janeiro.

RECKNAGEL RO, ANTHONY DD. Biochemical changes in the carbon tetrachloride fatty liver: separation of fatty changes from mitochondrial degeneration. *J. Biol. Chem.* 1959; 234:1052–1059.

REES KR, SINHA KP. Blood enzymes in liver injury. *Journal of Pathology and Bacteriology* 1960; 80:297–307.

REYNOLDS ES. Liver parenchymal cell injury. I. Initial alterations of the cell following poisoning with carbon tetrachloride. *J. Cell Biol.* 1963; 19:139–157.

ROBERTS JE, TYLER VE. *Tyler's herbs of choice. The therapeutic use of phytomedicinals.* The Haworth Press, Inc., New York 1998.

RODGERS RJ, COLE JC. Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors. *Physiol. Behav.* 1993; 53:383-388.

RODGERS RJ, DALVI A. Anxiety, defence and the elevated plus maze. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1997; 21:801-810.

SAFER DJ, ALLEN RP. The central effects of scopolamine in man. *Biol Psychiatry* 1971;3(4):347-55.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SANGER DJ. Animal models of anxiety and the screening and development of novel anxyolytic drugs in Boulton A, Barker G and Martin-Iverson M (eds.) Neuromethods, v. 19, Animal Models in Psychiatry, II, 1991.

SAMBALIAH K, SRINIVASAN K. Effect of cumin, cinnamon, ginger, mustard and tamarind in induced hypercholesterolemic rats. *Nahrung* 1991; 35:47-51.

SAMBALIAH K, SRINIVASAN K. Influence of spice principles on hepatic mixed function oxygenase system in rats. *Indian J Biochem Biophys* 1989; 26: 254-258.

SCHMID R, SCHICK T, STEFFEN R, TSCHOPP A, WILK T. Comparison of Seven Commonly Used Agents for Prophylaxis of Seasickness. *J Travel Med* 1994; 1:203-206.

SHARMA JN, SRIVASTAVA KC, GAN EK. Suppressive effects of eugenol and ginger oil on arthritic rats. *Pharmacology* 1994; 49:314-8.

SHARMA SS, KOCHUPILLAI V, GUPTA SK, SETH SD, GUPTA YK. Antiemetic efficacy of ginger (*Zingiber officinale*) against cisplatin-induced emesis in dogs. *J Ethnopharmacol* 1997; 57:93-6.

SHOJI N, IWASA A, TAKEMOTO T, ISHIDA Y, OHIZUMI Y. Cardiotonic principles of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J Pharm Sci* 1982; 71:11745.

SHU YZ. Recent natural products based drug development. A pharmaceutical industry perspective. 1998; 61: 1053-1071.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SITARAM N, GILLIN JC. Development and use of pharmacological probes of the CNS in man: evidence of cholinergic abnormality in primary affective illness. *Biol. Psychiatry*. 1980; 15(6): 925-55.

SLATER TF, DELANEY VB. Liver adenosine triphosphate content and bile flow rate in the rat. *Biochem. J.* 1970; 116:303–308.

SMEJKALOVA J, SIMEK J, ROUCHAL J, DVORACKOVA I. Biochemical and histological changes following carbon tetrachloride induced liver damage in rats of both sexes. *Physiologia Bohemoslovaca* 1985; 34 (6):494–501.

SRIVASTAVA KC. Aqueous extracts of onion, garlic and ginger inhibit platelet aggregation and alter arachidonic acid metabolism. *Biomed Biochim Acta* 1984; 43:S335-46.

SRIVASTAVA KC. Isolation and effects of some ginger components of platelet aggregation and eicosanoid biosynthesis. *Prostaglandins Leukot Med* 1986; 25:187-98.

SRIVASTAVA KC, MUSTAFA T. Ginger (*Zingiber officinale*) and rheumatic disorders. *Med Hypotheses* 1989; 29:25-8.

SRIVASTAVA KC, MUSTAFA T. Ginger (*Zingiber officinale*) in rheumatism and musculoskeletal disorders. *Med Hypotheses* 1992; 39:342-8.

SRINIVASAN K, SAMBIAIAH K. The effect of spices on cholesterol 7 alpha hydroxylase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. *Internat J Vit Nutr Res* 1991; 61:364-69.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

STARR BS, STARR MS. Differential effects of dopamine D1 and D2 agonists and antagonists on velocity of movement, rearing and grooming in the mouse. Implications for the roles of D1 and D2 receptors. *Neuropharmacology* 1986; 25: 613-619.

STARR MS, STARR BS. Comparison of the effects of NMDA and AMPA antagonists on the locomotor activity induced by selective D1 and D2 dopamine agonists in reserpine-treated mice. *Psychopharmacology* 1994; 114: 469–76.

STOLL S, SCHEUER K, POHL O, MULLER WE. Gingko biloba extract (Egb 761) independently improves changes in passive avoidance learning and brain membrane fluidity in the ageing mouse. *Pharmacopsychiat.* 1996; 24:144-49.

SUEKAWA M, ISHIGE A, YUASA K, SUDO K, ABURADA M, HOSOYA E. Pharmacological studies on ginger. I. Pharmacological actions of pungent constituents, (6)-gingerol and (6)-shogaol. *J Pharmacobio-Dynamics* 1984; 7:836-48.

SUEKAWA M, YUASA K, ISONO M, SONE H, IKEYA Y, SAKAKIBARA I, ABURADA M, HOSOYA E. Pharmacological studies on ginger. I. Pharmacological actions of pungent constituents (6)-gingerol and (6)-shogaol. *J Pharmacobio-Dynamics* 1984; 7: 836-848.

SUEKAWA M, YUASA K, ISONO M, SONE H, IKEYA Y, SAKAKIBARA I, ABURADA M, HOSOYA E. Pharmacological studies on ginger. IV. Effect of (6)-shogaol on the arachidonic cascade. [*Nippon Yakurigaku Zasshi*] *Folia Pharmacolog Jpn* 1986; 88: 263-269.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

SUJATHA R, SRINIVAS L. Modulation of lipid peroxidation by dietary componenets. *Toxicology in vitro* 1995; 9:231-36.

SURH YJ, LEE E, LEE JM. Chemoprotective properties of some pungent ingredients present in red pepper and ginger. *Mutat Res* 1998; 402:259-67.

TAMAYO RP. Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl<sub>4</sub> na adequate model of human cirrhosis? *Hepatology* 1983; 3:112-120.

TANABE M, CHEN YD, SAITO K, KANO Y. Cholesterol biosynthesis inhibitory component from *Zingiber officinale* Roscoe. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1993; 41:710-3.

TANDON R, GREDEEN JF. Negative symptoms of schizophrenia: the need for conceptual clarity. *Biol Psychiatry*. 1991 15;30 (4):321-5.

TANDON R, SHIPLEY JE, TAYLOR S, GREDEEN JF, EISER A, DEQUARDO J, GOODSON J. Electroencephalographic sleep abnormalities in schizophrenia. Relationship to positive/negative symptoms and prior neuroleptic treatment. *Arch Gen Psychiatry*. 1992; 49(3):185-94.

TRABER J, SPENCER DG, GLASTER T, GISPEN WH. Actions of psychoactive drugs on ACTH-and novelty-induced behaviour in the rat. In: ColbernDL & Gispem WH (Editors). *Neural mechanisms and biological significance of grooming behaviour*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1988; 525: 270-280.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

TREIT D, MENARD J, ROYAN C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1993; 44: 463-469.

TRIBBLE DL, AW TY, JONES DP. The pathophysiological significance of lipid peroxidation in oxidative cell injury. *Hepatology* 1987; 7:377–386.

TUCEK S, DOLEZAL V. The non-quantal release of acetylcholine from motor nerve terminals: comment on its likely size. *Prog Brain Res.* 1993; 98:209-12

VAN BEEK TA, POSTHUMUS MA, LELYVED GP, PHIET HV, YENT BT. Investigation of the essential oil of vietnamese ginger. *Phytochemistry* 1987; 11: 3005-3010.

VALE TG, MATOS FJA, LIMA TCM, VIANA GSB. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown chemotypes. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 167: 127-133.

VIMALA S, NORHANOM AW, YADAVM. Anti-tumour promoter activity in Malaysian ginger rhizobia used in traditional medicine. *Br J Cancer* 1999; 80:110-6.

WATTS J, STEVENS R, ROBINSON C. Effects of scopolamine on radial maze performance in rats. *Physiol. Behav.* 1981; 26, 845–851.

WEBER LWD, BOLL M, STAMPFL A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology* 2003; 33(2):105–136.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WEISS T, VEH RW, HEINEMANN U. Dopamine depresses cholinergic oscillatory network activity in rat hippocampus. Eur. J. Neurosci. 2003; 18(9):2573-80.

WILCOCK GK, ESIRI MM, BOWEN DM, SMITH CCT. Alzheimer's disease: correlation of cortical choline acetyltransferase activity with the severity of dementia and histological abnormalities. J. Neurol. Sci. 1982; 57: 407-417.

YAMAHARA J, MOCHIZUKI M, RONG HQ, MATSUDA H, FUJIMARA H. The anti-ulcer effect in rats of ginger constituents. J Ethnopharmacol 1988, 23: 299-304.

YAMAHARA J, RONG HQ, NAITOH Y, KITANI T, FUJIMURA H. Inhibition of cytotoxic drug-induced vomiting in suncus by a ginger constituent. J Ethnopharmacol 1989; 27:353-5.

YAMAHARA J, HUANG QR, LI YH, XU L, FUJIMURA H. Gastrointestinal motility enhancing effect of ginger and its active constituents. Chem Pharm Bull (Tokyo) 1990; 38:430-1.

YAMAHARA J, HATAKEYAMA S, TANIGUCHI K, KAWAMURA M, YOSHIKAWA M. Stomachic principles in ginger. II. Pungent and anti-ulcer effects of low polar constituents isolated from ginger, the dried rhizoma of *Zingiber officinale* Roscoe cultivated in Taiwan. The absolute stereostructure of a new diarylheptanoid. Yakugaku Zasshi 1992; 112:645-55.

YAMAHARA J, MIKI K, CHISAKA T. Cholagogic effect of ginger and its active constituents. J Ethnopharmacol 1985; 13:217-25.

## **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

YOSHIKAWA M, HATAKEYAMA S, CHATANI N, NISHINO Y, YAMAHARA J. Qualitative and quantitative analysis of bioactive principles in Zingiberis Rhizoma by means of high performance liquid chromatography and gas-liquid chromatography. On the evaluation of Zingiberis Rhizoma and chemical change of constituents during Zingiberis Rhizoma processing. Yakugaku Zasshi 1993; 113:307-15.

ZHOU Y, XU R. Antioxidative effect of Chinese drugs. Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih 1992; 17:368-9.

ZIMMERMANN HJ. Experimental hepatotoxicity. In: Eichler O. (Ed.), Handbook of Experimental Pharmacology, 1976; Vol. 16, part 5, Springer, New York, pp. 1–120.