Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.04,2024

ISSN 2178-6925

ANÁLISE TOXICOLÓGICA DO EXTRATO BRUTO SECO DAS FOLHAS DE ALPINIA SPECIOSA K. SHUM. (COLÔNIA)

TOXICOLOGICAL ANALYSIS OF THE DRY CRUDE EXTRACT OF THE DRY CRUDE LEAVES OF ALPINIA SPECIOSA K. SHUM. (COLÔNIA)

Gleiciane Adrielli Souza Guinho

Iris Paula de Araujo Torres

Elayne Rayane Diniz Melo

Pedro Arthur Martins Farias

Gustavo Henrique da Silva

Kellvin Costa Maciel

Matheus Givanildo da Silva

Maria Heloísa Aquino Alves

Risonildo Pereira Cordeiro

Ana Catarina Simonetti Monteiro

RESUMO

Objetivo: Testar a toxicidade do extrato bruto seco da planta medicinal Alpinia speciosa K. Shum. (colônia) frente à testes com microcrustáceos de Artemia salina Leach, bem como analisar sua fragilidade osmótica eritrocitária (FOE). Métodos: A partir da maceração em álcool absoluto, filtração e evaporação das folhas de Alpinia speciosa, obteve-se o seu extrato bruto seco. Os testes toxicológicos foram realizados a partir da determinação da fragilidade osmótica eritrocitária e toxicidade frente à Artemia salina L. do extrato. Os resultados obtidos foram calculados por técnicas estatísticas descritivas. Resultados: Diante dos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade através dos microcrustáceos de Artemia salina L. e da FOE do extrato bruto seco de colônia, a espécie demonstrou características tóxicas. Conclusão: Concluiu-se que o extrato bruto seco das folhas da A. speciosa possui atividade toxicológica considerável. Portanto, a constatação do perfil tóxico da espécie vegetal em questão deve ser levado em consideração, tendo em vista a grande aceitação do uso empírico dessa planta pela população.

Palavras-Chave: *Alpinia speciosa*, Plantas Medicinais, Toxicidade.

ABSTRACT

Objective: To test the toxicity of the dry crude extract of the medicinal plant Alpinia speciosa K. Shum. (colônia) against tests with Artemia salina Leach microcrustaceans, as well as analyzing their erythrocyte osmotic fragility (EFO). Methods: From maceration in absolute alcohol, filtration and evaporation of Alpinia speciosa leaves, its dry crude extract was obtained. Toxicological tests were carried out by determining erythrocyte osmotic fragility and toxicity to Artemia salina L. in the extract. The results obtained were calculated using descriptive statistical techniques. Results: Given the results obtained in toxicity tests using Artemia salina L. microcrustaceans and the FOE of the dry crude colony extract, the species demonstrated toxic characteristics. Conclusion: It was concluded that the dry crude extract of A. speciosa leaves has considerable toxicological activity. Therefore, the verification of the toxic profile of the plant species in question must be taken into consideration, given the great acceptance of the empirical use of this plant by the population.

Key words: *Alpinia speciosa*, Plants, Medicinal, Toxicity.

ISSN 2178-6925

INTRODUÇÃO

Indícios da utilização de plantas medicinais foram encontrados nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas milenares empregadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de enfermidades, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (FIRMO WC, et al., 2011). Devido a isso, pesquisas científicas a respeito do tema se intensificaram, e diversas plantas já tiveram sua eficácia e segurança comprovadas, o que possibilita sua utilização como recurso terapêutico benéfico à humanidade (REBOUÇAS FS, 2009).

O Brasil, caracterizado por sua grande diversidade de espécies vegetais, conta com inúmeras plantas medicinais que se aplicam como matérias-primas para a fabricação de fitoterápicos e outros produtos com fins medicamentosos (FIGUEIREDO CA, et al., 2014). Isso, associado ao crescimento da fitoterapia no país, correlaciona-se aos avanços ocorridos na área científica, que permitiram a busca por terapias menos industrializadas e mais naturais, destinadas ao atendimento primário à saúde; bem como ao desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidos pela sua segurança e eficácia (BRUNING MC, et al., 2012).

Porém, ainda há uma premente necessidade de pesquisas etnofarmacológicas para obtenção de referências fitoquímicas e toxicológicas de muitas plantas utilizadas empiricamente (GUTIÉRREZ IE, et al., 2010). Ao mesmo tempo, seja devido à transmissão de conhecimento por gerações ou ao baixo nível financeiro da população frente ao alto custo dos medicamentos, as plantas medicinais são largamente utilizadas como recurso terapêutico, muitas vezes único, de grande parte da população brasileira, assim como de mais de 2/3 da população do planeta (ARGENTA SC, et al., 2011).

No ano de 2003, o Relatório do Seminário Nacional de Plantas Medicinais, Fitoterápicos e Assistência Farmacêutica, definiu que, no Brasil, o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos deve ser integrado ao Sistema Único de Saúde - SUS (BRASIL, 2023). Tal arcabouço legal demonstra que o incentivo às pesquisas e estudos sobre o tema são ações importantes de estímulo das políticas públicas, a fim de que sensibilizar profissionais da saúde na prescrição de medicamentos e produtos fitoterápicos disponíveis; capazes de transformar, assim, a fitoterapia não apenas em uma terapia alternativa e complementar, mas, quando cabível, em um tratamento de primeira escolha para usuários do SUS (OSHIRO MC, et al., 2016).

Dada sua importância, o estudo científico das plantas medicinais têm buscado substâncias menos tóxicas e mais eficazes (OSTROSKY EA, et al., 2008). Nesse contexto, destacam-se as plantas que compõem a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) elaborada pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde, que tem como finalidade orientar a o desenvolvimento de pesquisas com espécies vegetais, e incentivar seu uso na assistência farmacêutica básica (BRASIL, 2009).

Dentre os componentes da RENISUS, encontra-se a espécie *Alpinia speciosa* K. Shum., que possui como sinonímias científicas: *Costus zerumbet* Pers., *Languas speciosa* Small e *Zerumbet speciosum* J. C. Wendel. No século XIX, quando trazida ao Jardim Botânico do Rio de Janeiro, a mesma recebeu os nomes populares de “flor-daredenção” e “bastão-do-imperador”. Atualmente, no país, é conhecida vulgarmente como “colônia”, “pacoseroca”, “cuité-açu”, “pacova” e “gengibre-concha”. Muito cultivada pela beleza de

ISSN 2178-6925

suas flores, a *Alpinia speciosa* é também muito famosa pela sua presença na ornamentação doméstica (CORREIA AJ, et al., 2010).

Nativa de regiões tropicais, especialmente tratando-se do sul e sudeste asiático, ela é integrante da família Zingiberaceae, que agrega cerca de 53 gêneros e mais de 1.200 espécies, as quais, em sua maioria, têm valor econômico a partir da produção de perfumes, temperos, corantes, alimentos (féculas dos rizomas), fibras e papel (ALBUQUERQUE ES e NEVES LJ, 2004). Quanto às suas especificações botânicas, caracteriza-se como uma planta herbácea, perene e rizomatosa, capaz de atingir de 2 a 3 metros de altura. Conta com um curto pseudocaule aéreo que surge pela sobreposição das bainhas. Por sua vez, as folhas são esverdeada, coriáceas, lanceoladas, espessas, curto-pecioladas, com bainha aberta e língula desenvolvida (CORREIA AJ, et al., 2010).

Culturalmente, a colônia apresenta uma forte representatividade para as religiões de matriz africana, aparecendo em rituais afro-brasileiros com sua simbologia relacionada ao mundo das águas. Bela e com propriedades aromáticas-perfumantes, as indicações de cura tradicionais desta planta estão intensamente ligadas à terapêutica de problemas circulatórios, dores, inflamações, dificuldades para dormir e gripe. Para o tratamento, suas folhas, raízes ou flores são utilizadas sob a forma de banhos aromáticos, chás, macerações e aromaterapia com óleo essencial; associada ou não a outras plantas (ALMEIDA MZ, 2011).

Para mais, muitos dos membros do gênero *Alpinia* estão inseridos na medicina ayurvédica e chinesa (BARCELOS FF, et al., 2010). Têm-se que as suas propriedades medicinais estão relacionadas com as folhas, flores e rizomas: órgãos são considerados depurativos, anti-histéricos, estomáquicos e vermífugos. Tradicionalmente, é aplicada como diurética, sedativa e no tratamento de hipertensão arterial e úlceras, através do consumo do chá ou infuso de suas folhas (ARAÚJO PF, et al., 2005; ALBUQUERQUE ES e NEVES LJ, 2004).

No que se refere às suas aplicações para o tratamento da hipertensão arterial e seus agravos, investiga-se que seu mecanismo de ação anti-hipertensivo esteja relacionado com propriedades vaso-relaxantes do endotélio dependentes pela estimulação da NOS (óxido nítrico sintetase) via GMPc (monofosfato de guanilil cíclico), que promovem a diminuição da pressão arterial (P.A) (LAHLOU S, et al., 2003). Também apresenta atividade antioxidante (ELZAAWELY AA, et al., 2007), anti-hiperlipidêmica, reduzindo os níveis de colesterol do tipo LDL e aumentando os níveis de HDL (LIN LY, et al., 2008) e antiplaquetária, devido ao bloqueio da formação de tromboxano A_2 via COX (TENG CM, et al., 1990).

O óleo essencial (OE) das folhas de colônia exibe também efeito ansiolítico, antimicrobiano, miorrelaxante, antinociceptivo e antioxidante. Tais atividades farmacológicas são atribuídas à presença de flavonoides, podendo ser citados a rutina, 3-O-glicosil-campferol, e o monoterpeno terpinen-4-ol, presentes no seu OE. Porém, a composição química desse óleo pode variar com a época do ano que foi extraído, e origem geográfica da planta. A exemplo disso, viu-se que no outono as folhas são mais ricas em terpinen-7-al (40,5%), porém no inverno o OE é acrescido principalmente por terpinen-4-ol (29,4%) e 1,8-cineol (23,1%) (CANUTO KM, et al., 2015).

Contudo, publicações para área citotóxica de *A. speciosa* não se fazem presentes em bancos de dados de pesquisa para periódicos, demonstrando que a espécie ainda

ISSN 2178-6925

possui aspectos tóxicos importantes a serem descobertos. Visto isso, o estudo visa empreender uma análise preliminar, delineando o perfil toxicológico do extrato bruto seco (EBS) obtido das folhas de *Alpinia speciosa*, aspirando não só a inserção de novos dados na tessitura da literatura científica, mas, sobretudo, trazendo novos informativos para comunidade, dada a preeminência do uso popular vinculado à espécie.

MÉTODOS

O presente estudo caracteriza-se por um delineamento transversal de cunho laboratorial experimental, conduzido nos laboratórios do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita). Com finalidade de realizar a identificação apropriada da espécie vegetal em consideração, foi produzida uma exsicata; entretanto, em razão das restrições impostas pelo vigente cenário pandêmico, inviabilizou-se a efetivação do processo identificatório em colaboração com o Instituto de Agronomia. Este projeto de pesquisa foi realizado de fevereiro a junho de 2022 e a análise dos resultados obtidos foi realizada de maio a junho do mesmo ano.

Produção do extrato bruto da A*lpinia speciosa* K. Shum.

Para produção do extrato bruto da espécie, foi utilizada a técnica de maceração, na qual, as folhas de A*lpinia speciosa* foram colhidas na horta escola do Centro Universitário Tabosa de Almeida pela manhã às 8h do dia 10 de março de 2022, selecionando amostras com aspectos saudáveis, ou seja, sem apresentar nenhuma alteração física nas folhas ou qualquer deterioração e/ou ataque de insetos ou fungo. Em seguida, foram pesadas frescas em balança industrial e lavadas sob água corrente.

Posteriormente ocorreu a separação e seleção manual das folhas mais adequadas. As partes vegetais foram secas com papel toalha e trituradas em moinho industrial e maceradas com solução etanólica a 95% na proporção de 200g de material vegetal para 1L de solução extrativa. Os balões de fundo chato para maceração foram reservados à sombra, sob temperatura ambiente de 22ºC, envoltos com papel alumínio e tamponados com algodão hidrofóbico por 7 dias.

Após esse procedimento, as soluções passaram por um processo de extrusão e filtração com papel filtro, resultando no extrato bruto fluído (EBF). O EBF teve sua solução etanólica concentrada em banho maria sob a temperatura de 60ºC. Após a evaporação de grande parte da solução (aproximadamente 90%), o extrato teve sua secagem complementada em estufa de ar circulante com temperatura de 50ºC até apresentar características de uma pasta espessa concentrada, no qual foram armazenados sob refrigeração, ao abrigo de luz, em vidrarias de cor âmbar, o então extrato bruto seco (EBS) das folhas de A*lpinia speciosa*.

Concentração Letal média (CL_{50}) da A*lpinia speciosa* K. Shum.

A determinação da Concentração Letal Média (CL_{50}) seguiu a metodologia descrita e validada por Meyer BN et al. (1982), onde ovos de *Artemia salina* Leach foram incubados em uma solução com sal marinho na concentração de 30 g/L. O pH foi ajustado entre 8,0 e 9,0, por meio de solução 0,1 mol L -1 de NaOH. Os ovos foram submetidos a iluminação artificial (lâmpada de 40W) e temperatura constante de 28ºC por um período de 48 horas. Em seguida a este procedimento, obteve-se o estágio de meta-náuplio dos microcrustáceos, modelo padrão para testes toxicológicos devido a sua maior sensibilidade.

ISSN 2178-6925

Foram pesados em um cadinho 50 mg de Extrato Bruto Seco de A*lpinia speciosa* K. Shum. em uma balança analítica e posteriormente adicionado 1mL de Tween 80%, para auxiliar na solubilização de cada extrato. A solução foi adicionada de água salina com pH 8, completada para 5 mL e homogeneizada. Posteriormente foram retirados alíquotas de 500, 375, 250, 125, 50 e 25µL com o auxílio de pipetas automáticas e transferidas para tubos de ensaio que já continham 5mL de água salina e 12 metanáuplios, obtendo-se concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50mg/mL para cada amostra.

O teste foi realizado em triplicata e as amostras foram novamente submetidas à iluminação artificial durante 24 horas. Após esse período, foi realizada a contagem do número de microcrustáceos vivos e mortos, realizada uma porcentagem com os valores obtidos e os dados foram tabulados e analisados no programa computacional Microcal Origin 8.0, determinando o valor da atividade toxicológica e um gráfico do teste. Os dados foram transformados por logit e o valor final foi derivado de regressão linear, onde o programa nos forneceu os valores de inclinação representado por ‘’b’’ e interseção em y (a) e então a CL50 foi calculada a partir da seguinte equação: Y = A + B * X.

Fragilidade Osmótica Eritrocitária da A*lpinia speciosa* K. Shum.

A determinação da fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) objetiva mensurar a resistência dos glóbulos vermelhos à hemólise, frente a extratos de espécies vegetais, utilizando-se da metodologia validada por Dacie JV e Lewis SM (1975), Foram utilizados 50mg do EBS de A*lpinia speciosa* K. Shum. diluído com soro fisiológico e Tween 80% para auxiliar na solubilização, o EBS da folha foi homogeneizado e teve seu volume completado para 5 mL.

Dessa solução-matriz foram retiradas alíquotas de 500, 375, 250, 125, 50 e 25µL com o auxílio de pipetas automáticas e colocadas em tubos de ensaio que já continham 5mL de soro fisiológico. Após esse procedimento e homogeneização foram obtidas concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50µL/mL, onde, para cada amostra foram adicionados 25µL de sangue de carneiro, realizando a análise em duplicata.

As amostras foram submetidas à centrifugação de 3300 rpm (marca Bioplus, modelo BIO-2000 IL) durante 15 minutos em temperatura ambiente. Após o processo, a absorbância do sobrenadante de cada amostra localizada no tubo de ensaio foi mensurada em espectrofotômetro a 545 nanômetros. A determinação da FOE do EBS se baseou no valor da absorbância média da hemoglobina do sobrenadante (obtida no espectrofotômetro) multiplicada pelo percentual total (100%) e dividido pelo valor da absorbância média da hemólise completa dos eritrócitos (1,32), conforme descrito na metodologia citada.

$$\text{Fórmula: } \% = \frac{Ab \times 100\%}{1{,}32}$$

Análise estatística

Os resultados obtidos foram calculados por técnicas estatísticas descritivas através de distribuições absolutas e percentuais. O software utilizado foi o Microcal Origin 8.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de extração do extrato bruto seco das folhas de *Alpinia speciosa* K. Shum., obtido por meio de maceração em álcool absoluto, resultou em um rendimento de

ISSN 2178-6925

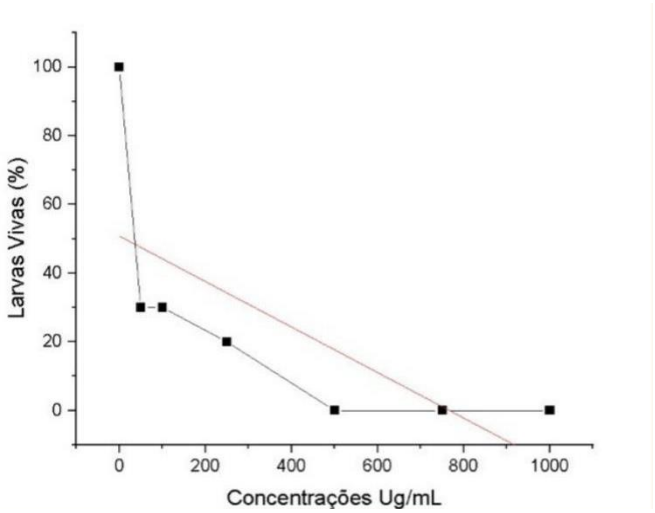
3,25%. Essa porcentagem foi calculada pela relação entre o peso do extrato bruto seco em gramas (43g) e o peso da droga vegetal fresca, também em gramas (853g).

Existem, na literatura, diferentes padrões para classificação da toxicidade de um extrato pelo teste de *Artemia salina*. Para Nguta JM, et al. (2012), os ensaios com *A. Salina* são classificados seguindo os seguintes parâmetros: CL_{50} menor que 100 µg/mL são para extratos de alta toxicidade; entre 100 e 500 µg/mL para moderado potencial tóxico; e 500 a 1000 µg/mL para fraca atividade toxicológica, sendo os extratos que superarem a CL_{50} de 1000 µg/mL considerados atóxicos (FREITAS VM et al., 2019).

Para Bussmann RW, et al. (2011), tanto para extratos etanólicos quanto aquosos, os valores de CL_{50} menores que 249 µg/mL apresentam toxicidade elevada, CL_{50} entre 250 e 499 µg/mL são os de toxicidade moderada, CL_{50} entre 500 e 1000 µg/mL representam toxicidade leve, e CL_{50} acima de 1000 µg/mL são os considerados atóxicos.

O gráfico representado pela Figura 1 demonstra os resultados da concentração de larvas de *Artemia salina* mortas em diferentes concentrações da solução do EBS obtido das folhas de *A. speciosa* com água do mar. A natatória das Artemias apresentou uma diminuição notável a partir da concentração de 50 µg/mL, podendo, assim, considerar que a menor concentração do extrato das folhas de colônia são suficientes para causar alterações motoras nos espécimes de crustáceos, sendo esta primeira concentração responsável pela morte de 75% das larvas.

Figura 1: Gráfico de percentual de Artemias mortas frente ao extrato das folhas de *A. speciosa* K. Shum.



Fonte: GUINHO GA, et al., 2023.

Em concordância com o esperado, a quantidade de larvas vivas tende a se aproximar de zero à medida que a concentração do extrato aumenta. Notavelmente, em concentrações superiores a 400 µg/mL, não foi registrada nenhuma porcentagem de sobrevivência das larvas de *Artemia salina*, indicando, assim, um efeito significativo do extrato bruto seco.

Ainda através da linha de tendência obtida no gráfico em questão (Figura 1), pode-se construir pelos parâmetros a e b, o valor numérico exato da CL_{50} do nosso extrato, sendo este de 12,214 µg/mL, o qual, pelas referências de Nguta JM, et al. (2012) e Bussmann

ISSN 2178-6925

RW, et al. (2011), classificam o extrato obtido como produto de alto potencial tóxico frente às larvas de *Artemia salina* testadas.

Para melhor compreensão dos resultados obtidos, buscou-se na literatura testes toxicológicos de metodologia semelhante com a aplicada no presente trabalho. Amparando-se na pesquisa de Santos CP, et al. (2010), que encontrou toxicidade não somente nas folhas, como no rizoma da espécie vegetal colônia, também pelo bioensaio com *A. salina*, explicitando uma CL_{50} de 740 ppm; caracteriza-se, pelos testes realizados no presente trabalho, um valor próximo e condizente ao encontrado.

Em outra abordagem toxicológica foi testado o mesmo extrato pelo bioensaio de fragilidade osmótica eritrocitária (FOE) validado por Dacie JV e Lewis SM (1975), que segue como recurso para avaliação toxicológica de espécies vegetais e avalia a concentração do extrato obrigatória para processo de ruptura celular da hemácia. O percentual de hemólise de acordo com as diferentes concentrações testadas está representado na Tabela 1.

Tabela 1: Percentual de hemólise em diferentes concentrações de extrato de folhas de *A. speciosa* K. Shum.

Concentração	Ab1	Ab2	AbM	PH (%)
1000µg/mL	1,138	1,555	1,146	86,85
750µg/mL	0,843	0,838	0,840	63,63
500µg/mL	0,556	0,604	0,580	43,90
250µg/mL	0,303	0,365	0,333	25,26
100µg/mL	0,101	0,126	0,113	08,60
50µg/mL	0,061	0,070	0,065	04,96

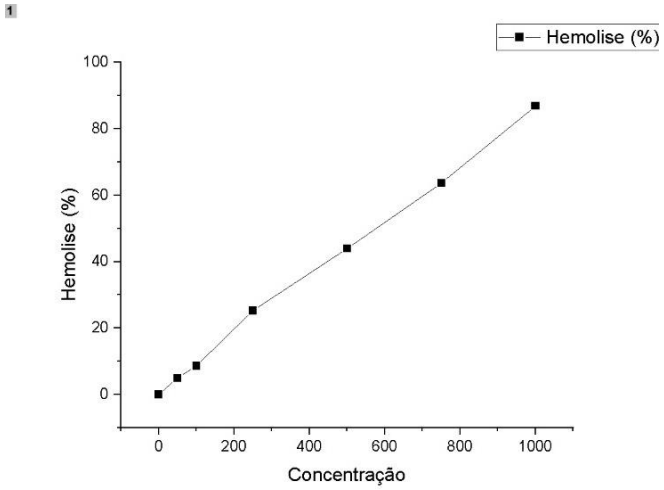
Legenda: Ab1: Absorbância 1; Ab2: Absorbância 2; AbM: Absorbância Média; PH%: Percentual de Hemólise.

Fonte: GUINHO GA, et al., 2023.

Segundo Aldrich K e Saunders DK (2006), a FOE tem a capacidade de expressar a habilidade das membranas em manterem sua integridade estrutural quando expostas a um estresse osmótico. Para a nossa pesquisa, a média aritmética das absorbâncias contidas na técnica foi calculada, desta forma, pode-se observar no gráfico, representado pela Figura 2, que o maior percentual de hemólise foi identificado nas concentrações de 1000µg/mL e 750 µg/mL. Ambos apresentaram um percentual de 86,85% e 63,63% respectivamente, sendo um alto percentual de lise das hemácias, principalmente tomando como comparação o padrão de Dacie JV e Lewis SM (1975), que considera percentuais próximos a 40% com um alto poder de hemólise diante dos parâmetros e condições testadas. Para o padrão de Nofiani R, et al. (2011), a ação hemolítica deve ser considerada elevada quando os percentuais alcançam valores superiores a 40%, e baixos quando são inferiores a 10%.

Figura 2: Gráfico com a curva de concentração – resposta da toxicidade aguda do EBS de folhas de *Alpinia speciosa* K. Shum.

ISSN 2178-6925



Fonte: GUINHO GA, et al., 2023.

Nos estudos toxicológicos referentes à amostra não foram encontrados na literatura trabalhos que tratassem a respeito da fragilidade osmótica da planta. No entanto, a correlação desse resultado toxicológico com o ensaio biológico utilizando *Artemia salina* L. reforça nossos resultados, evidenciando uma característica de elevado potencial tóxico para o extrato bruto seco proveniente da espécie *Alpinia speciosa* K. Shum.

O resultado positivo em uma investigação toxicológica envolvendo uma planta medicinal popularmente utilizada, como é o caso da colônia, levanta preocupações sobre a segurança do uso desse vegetal. A popularidade da espécie na medicina tradicional coloca em destaque a importância de compreender, de forma mais abrangente, seus efeitos no organismo humano. Além disso, enfatiza a necessidade de outras pesquisas e revisões para considerações sobre o potencial impacto do uso dessa espécie para saúde humana.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade envolvendo microcrustáceos da espécie *Artemia salina* L. e na avaliação da fragilidade osmótica eritrocitária do extrato bruto seco proveniente da espécie vegetal *Alpinia speciosa*, a planta demonstrou características tóxicas frente ao teste com *Artemia*, evidenciadas pela obtenção de uma CL_{50} de 12,214 µg/mL na concentração mais elevada utilizada. A confirmação dessa toxicidade foi evidenciada pelo alto percentual de hemólise apresentado pelo EBS diante dos parâmetros e condições testadas, atingindo aproximadamente 86,85% na concentração máxima do extrato. Com isso, os resultados sugerem a realização de testes *in vivo* mais abrangentes, capazes de oferecer uma avaliação mais fidedigna diante do resultado encontrado, tendo em vista o uso popular dessa espécie e a aceitação significativa da colônia na prática empírica da comunidade. Tal abordagem é capaz de aprimorar a compreensão dos riscos associados ao uso, e contribuirá para delineamentos mais seguros sobre sua aplicação.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE ES, NEVES LJ. Anatomia foliar de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burtt & Smith (Zingiberaceae), 2004, Acta bot. bras. 18(1): 109-121.

ALDRICH K, SAUNDERS DK. Comparison of erythrocyte osmotic fragility among ectotherms and endotherms at three temperatures. Journal of Thermal Biology, 2001, 26(3): 179-182.

ALMEIDA MZ. Plantas Medicinais [online]. 3ed. Salvador: EDUFBA, 2011.

ARAÚJO PF, et al. Antinociceptive effects of the essencial oil of *Alpinia zerumbet* on mice. Phytomedicine, 2005, 12: 482-486.

ARGENTA SC, et al. Plantas Medicinais: Cultura Popular *versus* Ciência. Vivências: Revista Eletrônica de Extensão da URI, 2011, 7(12): 51-60.

BARCELOS FF, et al. Estudo químico e da atividade biológica cardiovascular do óleo essencial de folhas de *Apinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. em ratos. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 2010, 12: 48-56.

BRASIL. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Ministério da Saúde, 2003. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acessado em: 28 de dezembro de 2023.

BRASIL. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). Ministério da Saúde, 2009. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnpmf/ppnpmf/arquivos/2017/renisus1.pdf. Acessado em: 28 de dezembro de 2023.

BRUNING MC, et al. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. Ciência e Saúde coletiva, 2012, 17(10): 2.675-2.685.

BUSSMANN RW, et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. Journal of ethnopharmacology, 2011, 137(1): 121-140.

CANUTO KM, et al. Influência do horário de colheita das folhas na composição química do óleo essencial de colônia (*Alpinia zerumbet*). 1 Ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2015.

CORREA AJ, et al. *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (Zingiberaceae): levantamento de publicações nas áreas farmacológica e química para o período de 1987 a 2008. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 2010, 12(1): 113-119.

DACIE JV, LEWIS SM. Practical Hematology. 5ed. London: Churchill Livingstone. 1975.

ELZAAWELY AA, et al. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. Food Chemistry, 2007, 104(4): 1648-1653.

FIGUEIREDO CA, et al. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. Physis Revista de Saúde Coletiva, 2014, 24(2): 381-400.

FIRMO WC, et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Caderno de Pesquisa, 2011; 18: 90-95.

FREITAS VM, et al. Avaliação Da Atividade Toxica E Citotóxica De Extratos Da Planta *Syzygium Malaccense* (L.) Merr. & Perry. South American Journal Of Basic Education, Technical And Technological, 2019, 6(1).

GUTIÉRREZ IE, et al. Plantas medicinais no semiárido: conhecimentos populares e acadêmicos. 1ª ed. Salvador: EDUFBA, 2010.

LAHLOU S, et al. Antihypertensive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. Fundamental & Clinical Pharmacology, 2003, 17(3): 323–330.

LIN LY, et al. *Alpinia zerumbet* Potentially Elevates High-Density Lipoprotein Cholesterol Level in Hamsters. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(12): 4435-4443.

MEYER BN, et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents, Planta Med., 1982, 45(5): 31-34.

NGUTA JM, et al. Evaluation of acute toxicity of crude plant extracts from Kenyan biodi-versity using brine shrimp, *Artemia salina* L. (artemiidae). The open conference proceedings journal, 2012, 3(1): 30-34.

NOFIANI R, et al. Antimicrobial, antioxidant, hemolytic activities and toxicity of ethyl acetate extract from an unidentified coral-associated fungus, Aspergillus brevipes RK06. Indones J Cancer Chemoprevention, 2011, 2(2): 212-216.

OSHIRO MC, et al. A evolução do registro e prescrição de fitoterápicos no Brasil sob a perspectiva legal e sanitária. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia, 2016, 4(4):116- 122.

OSTROSKY EA, et al. Métodos para avaliação a atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2008, 18(2):301-307.

REBOUÇAS FS. Cultivo *in vitro* de plantas medicinais: *Ocimum basilicum* L. e *Cissus sicyoides* L. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Curso Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Área de concentração Fitotecnia. Cruz das Almas, 2009.

SANTOS CP, et al. Avaliação da toxicidade das espécies medicinais *Alpinia zerumbet* (Pers.) e Sambucus australis Cham. & Schltdl. frente Artemia salina Leach. Revista Ambientale, 2010, 2.

TENG CM, et al. Antiplatelet action of dehydrokawain derivatives isolated from *Alpinia speciosa* rhizoma. The Chinese journal of physiology, 1990, 33(1): 41-48.